



О.М. НЕДУХА

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, м. Київ, 01601, Україна

**РОЗПОДІЛ ІОНІВ КАЛЬЦІЮ У КЛІТИНАХ
МЕЗОФІЛУ ТА ЕПІДЕРМІСУ ЛИСТКІВ
ПОВІТРЯНО-ВОДНОЇ ТА СУХОДІЛЬНОЇ
ЕКОФОРМ *SIUM LATIFOLIUM* L.**

Ключові слова: кальцій, *Sium latifolium* L., гетерофілія, листкова пластинка, хлорофіл

Вступ

Sium latifolium L. — повітряно-водна рослина, у якої гетерофілія виявляється на стадії вегетативного росту незалежно від умов зростання. У гетерофільних рослин перехід однієї форми листка до іншої відбувається переважно при виході стебла з води на водну поверхню і характеризується фенотипічною пластичністю анатомічних та ультраструктурних ознак листків, а також посиленням інтенсивності фіксації CO_2 , збільшенням синтезу хлорофілів і АБК [4, 11]. У підводних листках зниження активності карбоксилюючих ферментів і вмісту продуктів фотосинтезу супроводжується змінами структури кутикули оболонки епідерми, що сприяє транспорту CO_2 та HCO_3^- по апопласту [13].

У рослинних клітинах іонізований кальцій, як один із вторинних месенджерів, бере участь у регуляції фотодихання та фотосинтезу, зокрема, у відновленні реакційних центрів ФСII, активації ферменту Д-рибулозо-1,5-дифосфаткарбокиси (Рубіско) та регуляції синтезу хлорофілів [9, 14, 17]. У клітинних оболонках листків мезофітів іони кальцію, зв'язуючись із пектинами та структурними білками, знижують пластичність оболо-

нок та інгібують водний транспорт по апопласту [11, 18]. Участь іонів кальцію у вищевідмічених процесах у листках гідрофітів, які зростають в оптимальних умовах чи умовах помірного водного дефіциту, майже не досліджена. Раніше нами були виявлені певні відмінності у структурі клітин мезофілу підводних і надводних листків *S. latifolium*, а також в ультраструктурі епідермісу листків *Alisma plantago-aquatica* L., які зростали в різних умовах водопостачання [2, 3]. Ми висунули припущення: відмінності в ультраструктурі клітин мезофілу підводних і надводних листків *S. latifolium* опосередковані перерозподілом іонів кальцію у клітинах і змінами кальцій-залежного синтезу хлорофілу.

Тому метою даного дослідження було подальше вивчення розподілу іонів кальцію у клітинах мезофілу та епідермісу листків *S. latifolium* на стадії вегетативного росту залежно від умов його зростання.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом дослідження були листки *S. latifolium* (веху широколистої) на стадії вегетативного росту (третя декада травня, 2008 р.). Зразки листків відбирали із двох екологічних форм рослин. Повітряно-водні рослини виду зростали у воді (на глибині до 40—60 см) вздовж озер у Кончі-Заспі (поблизу Києва). Для вирощування суходільних рослин веху широколистої восени 2006 та 2007 років збирали насіння з відповідних його особин, які зростали на суходолі (на відстані 5—15 м від берега річки Псьол, Полтавська обл.). Насіння суходільних рослин висівали в ґрунт у культивуєчій ємності (на території Інституту), в травні на стадії вегетативного росту з цих рослин відбирали листки.

Локалізацію та розподіл іонів кальцію визначали цитохімічним методом за Такахаші [16] із наступним використанням конфокальної мікроскопії. Серединну частину листових пластинок інкубували у 10 μM розчині кальційспецифічному флуоресцентному барвнику fluo-4, рН 7,4 (Molecular Probes, США) протягом 20 хв у темряві. Матричний розчин індикатора готували в концентрації 1 мМ у безводному диметилсульфоксиді (DMSO) за [16]. Для виявлення флуоресценції ДНК ядер матеріал після інкубації у розчині fluo-4 промивали DH_2O та інкубували у 1 μM розчині DAPI (4',6-діамідино-2-феніліндол) за [7] протягом 20 хв у темряві. Флуоресценцію іонів кальцію досліджували в конфокальному лазерному скануючому мікроскопі LSM 5 Pascal (Carl Zeiss, Німеччини); довжина хвилі збудження — 488 нм, емісії — 516 нм. Для ідентифікації ядер і хлоропластів використовували по чергово інші два лазерні канали: за довжини хвилі збудження 405 нм, емісії — 461 нм (для люмінесценції ДНК ядер) і за довжини хвилі збудження 520 нм, емісії — 662 нм (для автолюмінесценції хлорофілів *a* та *b* у хлоропласті). Сканування здійснювали поперек листка у напрямку від верхньої або нижньої епідерми до мезофілу. Дані про розподіл і відносний вміст іонів кальцію отримували, використовуючи програмне забезпечення «Pascal», яке дозволяє кодувати інтенсивність флуоресценції іонів кальцію після обробки індикатором. Для цитохімічних досліджень брали листки із шести повітряно-водних і шести суходільних рослин. У особин повітряно-

водної форми веху широколистого відбирали підводні та надводні листки: перший і третій тричіперисторозсічений листок. У суходільної форми виду відбирали листки із цільною пластинкою (перший та другий листок) і листок із перисто-розсіченою пластинкою (четвертий листок). Для кількісних вимірів інтенсивності флуоресценції іонів кальцію брали по 30 клітин мезофілу та 30 клітин епідерми для кожного листка. Статистичну обробку даних щодо відносного вмісту іонів кальцію у клітинах здійснювали за загальноприйнятою методикою [5], використовуючи програму БІО (Інститут ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України) та критерій Ст'юдента ($P < 0,05$).

Вміст фотосинтезуючих пігментів визначали спектрофотометричним методом за формулами Робелена та Веттштейна [1]. Виміри проводили на спектрофотометрі СФ 2000. Для біохімічних досліджень відбирали підводні та надводні листки (перший і третій перисторозсічені листки) із шести повітряно-водних рослин, а також листки (перший—другий листок із цільною пластинкою та четвертий — перисторозсіченою) із шести суходільних рослин. Повторність визначення чотирикратна.

Інтенсивність освітлення при збиранні рослинних зразків для досліджень вимірювали приладом LI-250 (Light Meter, LI-COR, USA). Середня інтенсивність освітлення над верхньою епідермою надводних листків повітряно-водної форми *S. latifolium* становила 400—450 μmol квантів $\cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$, підводних листків—14—16, а над верхньою поверхнею листків суходільної форми — 480—500 μmol квантів $\cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$, відповідно.

Результати досліджень та їх обговорення

***Sium latifolium* повітряно-водна екоформа** на стадії вегетативного росту характеризувався розвитком підводних і надводних листків. Ми дослідили розподіл іонів Ca^{2+} у хлоропластах, ядрах, клітинних оболонках і цитоплазмі клітин мезофілу, а також у клітинних оболонках верхньої і нижньої епідерми. Аналіз локалізації іонів кальцію за наявності специфічного флуоресцентного індикатора в клітинах мезофілу підводних і надводних листків показав рівномірну зеленого кольору люмінесценцію іонів у хлоропластах, ядрах, клітинних оболонках і цитоплазмі досліджуваних клітин (рисунок; а—г).

Використання програми «Pascal» для побудови відповідних гістограм (рисунок: е, е', і, і'; див. кольорову вклейку) дозволило визначити відносний вміст іонів Ca^{2+} в органелах клітин і клітинних оболонках листків, які були оброблені флуоресцентним індикатором. Порівняння інтенсивності флуоресценції іонів кальцію в клітинах мезофілу підводних і надводних листків *S. latifolium* показало, що у підводних листках інтенсивність флуоресценції іонів кальцію у хлоропластах, ядрі та клітинних оболонках мезофілу була в 1,7; 1,5 та 1,4 раза нижча, ніж у надводних листках; тоді як у цитоплазмі клітин — більша в 1,4 раза порівняно з надводними листками (табл. 1).

Вивчення люмінесценції комплексу fluo-4-кальцій у клітинних оболонках верхньої та нижньої епідерми підводних і надводних листків показало, що в

зовнішніх оболонках основних епідермальних клітин кальцій флуоресціював у вигляді окремих зелених зерен. Флуоресценція іонів кальцію в антиклінальних оболонках тих же клітин та оболонках замикаючих клітин продохів була рівномірною (рисунок; ж, з). У замикаючих клітинах продохів досліджували клітинні оболонки, які утворювали продохову щілину. В підводних листках розподіл інтенсивності флуоресценції іонів кальцію в оболонках верхньої та нижньої епідерми відрізнявся. У верхній епідермі її інтенсивність була достовірно вищою: у 3,3 раза — в зовнішніх оболонках, у 1,7 раза — в антиклінальних оболонках та у 2,2 раза — в оболонках клітин продохів порівняно з відповідними оболонками клітин нижньої епідерми (табл. 2).

У надводних листках також відмічена подібна тенденція щодо розподілу іонів кальцію у клітинах верхньої епідерми: збільшення його вмісту в 1,3 раза в

Таблиця 1. Розподіл іонів Ca^{++} у клітинах мезофілу листків *S. latifolium* L. на стадії вегетативного росту

Структура клітини	Відносний вміст іонів кальцію, ум. од., $x \pm S_x^-$			
	Листки повітряно-водних рослин		Листки суходільних рослин	
	підводні	надводні	з цільною пластинкою	перисторозсічені
Хлоропласт	125 ± 9,0	211 ± 12**	95 ± 5,2	109 ± 7,1
Ядро	83 ± 2,7	124 ± 5,7**	87 ± 2,9	151 ± 9,1**
Клітинна оболонка	35 ± 2	50 ± 2,4*	33 ± 1,9	41 ± 1,5*
Цитоплазма	60 ± 3,7	48 ± 2,4*	53 ± 2,3	114 ± 1,2**

Позначення: * — $P \leq 0,01$; ** — $P \leq 0,001$ (При порівнянні даних двох типів листків у кожній екоформи *S. latifolium*)

Таблиця 2. Розподіл іонів Ca^{++} у клітинах епідермісу листків *S. latifolium* на стадії вегетативного росту

Епідерма / тип оболонки	Відносний вміст іонів кальцію, ум. од., $x \pm S_x^-$			
	Листки повітряно-водних рослин		Листки суходільних рослин	
	підводні	надводні	з цільною пластинкою	перисто-розсічені
Верхня епідерма:				
зовнішня болонка	87 ± 4,3	49 ± 2,1***	91 ± 3,2.	57 ± 4,4***
антиклінальна оболонка	157 ± 10,2	133 ± 11	101 ± 9,3	105 ± 10,1
оболонки продохів	174 ± 12,9	120 ± 8,9**	110 ± 8,9	190 ± 13,2***
Нижня епідерма:				
зовнішня оболонка	26 ± 1,7	43 ± ,7***	90 ± 7,0	47 ± 2,9***
антиклінальна оболонка	90 ± 4,9	99 ± 4,4	89 ± 7,8	100 ± 9,9
оболонки продохів	79 ± 6,7	107 ± 9,7*	97 ± 8,0	140 ± 12,7**

Позначення: * — $P \leq 0,05$; ** — $P \leq 0,01$; *** — $P \leq 0,001$ (При порівнянні даних двох типів листків у кожній екоформи *S. latifolium*)

антиклінальних оболонках та в 1,12 раза — в оболонках замикаючих клітин продихів порівняно з клітинами нижньої епідерми (табл. 2).

Порівняння вмісту іонів кальцію в оболонках верхньої та нижньої епідерми підводних і надводних листків *S. latifolium* показало, що ріст листків над водою супроводжувався зниженням відносного вмісту іонів у зовнішніх оболонках основних клітин та оболонках клітин продихів верхньої епідерми, а також збільшенням вмісту іонів кальцію у відповідних оболонках клітин нижньої епідерми.

Визначення вмісту фотосинтезуючих пігментів у підводних і надводних листків досліджуваного виду засвідчило, що в підводних листках вміст хлорофілу *a* та *b* і каротиноїдів був достовірно менший, ніж у надводних листках (табл. 3).

***Sium latifolium* суходільна екоформа.** Листки цих рослин при вирощуванні на суходолі мали різну форму пластинки: цільну (перший—третій листок) і перисторозсічену (четвертий-п'ятий листок). Флуоресценція іонів кальцію у клітинах мезофілу листків із різною формою пластинки була ідентична такій у листових пластинках повітряно-водної форми веху широколистого (рисунок; *d*, *e*). Розподіл інтенсивності флуоресценції іонів кальцію у клітинах мезофілу мав такий характер: у ядрі, клітинних оболонках і цитоплазмі клітин перших листків (із цільною пластинкою) його флуоресценція була нижчою відповідно у 1,7; 1,3 та у 2,1 раза, ніж у ідентичних структурах клітин мезофілу перисторозсічених листків (табл. 1). Водночас відносний вміст іонів кальцію у хлоропластах мезофілу в листках із різною формою пластинки достовірно не відрізнявся (табл. 1).

Розподіл іонів кальцію у клітинних оболонках верхньої та нижньої епідерми перших листків (із цільною пластинкою) суходільної екоформи *S. latifolium* достовірно не відрізнявся.

У перисторозсічених листків відносний вміст іонів кальцію в оболонках епідерми різнився: в зовнішніх оболонках основних епідермальних клітин верхньої епідерми був у 1,2 раза, в оболонках замикаючих клітин продихів — у 1,4 раза більшим, ніж в оболонках нижньої епідерми (табл. 2).

Таблиця 3. Вміст фотосинтезуючих пігментів у листках *S. latifolium* на стадії вегетативного росту

Пігмент, мг/г сирої маси	Вміст пігментів, $x \pm S_x^-$			
	Листки повітряно-водних рослин		Листки суходільних рослин	
	підводні	надводні	з цільною пластинкою	перисторозсічені
Хлорофіл <i>a</i>	1,43 ± 0,08	2,16 ± 0,08**	1,76 ± 0,2	1,590 ± 0,10
Хлорофіл <i>b</i>	0,95 ± 0,02	1,176 ± 0,04**	1,142 ± 0,11	1,210 ± 0,08
Сума хлорофілів <i>a+b</i>	2,38 ± 0,08	3,336 ± 0,09**	2,887 ± 0,12	2,791 ± 0,12
Відношення хлорофілів <i>a/b</i>	1,5	1,83	1,46	1,3
Каротиноїди	0,554 ± 0,02	1,004 ± 0,05*	0,778 ± 0,05	0,884 ± 0,06

Позначення: * — $P \leq 0,05$; ** — $P \leq 0,001$ (При порівнянні даних двох типів листків у кожній екоформі виду)

Порівняння вмісту іонів кальцію у клітинних оболонках епідерми двох типів листків суходільної екоформи веху широколистоного показало наявність суттєвої відмінності між зовнішніми оболонками та оболонками клітин продохів (табл. 2).

Визначення вмісту фотосинтезуючих пігментів у перших листках (із цільною пластинкою) та наступних перисто-розсічених листках суходільної екоформи виду засвідчило відсутність достовірної відмінності у вмісті хлорофілів *a*, *b*, їхньої суми (*a* + *b*) та каротиноїдів (табл. 3). Одержані дані щодо відсутності суттєвих змін у розподілі іонів кальцію у хлоропластах мезофілу та вмісті фотосинтезуючих пігментів у двох типів листків суходільної екоформи *S. latifolium*, очевидно, свідчать про те, що ці ознаки в листків його суходільної форми у фазі вегетативного росту залишаються стабільними.

Таким чином, цитохімічним методом і лазерно-конфокальною мікроскопією доведено, що листки гетерофільного *S. latifolium* у фазі вегетативного росту залежно від умов зростання рослини характеризуються певним розподілом іонів кальцію. Ми встановили, що в мезофілі надводних листків відносний вміст Ca^{++} у хлоропластах вищий, ніж у хлоропластах підводних листків.

Як відомо, швидкість фотосинтезу, активність карбоксилюючих ферментів і вміст продуктів фотосинтезу в затоплених листках багатьох видів диких і культурних рослин значно нижчі порівняно з такими у надводних листках тих самих видів [4, 6, 8]. Крім того, встановлено, що активність Рубіско та синтез фотосинтезуючих пігментів залежать від вмісту іонів кальцію у хлоропласті [10, 14]. Враховуючи наведені вище дані літератури та наші експериментальні результати, можна припустити, що в підводних листках *S. latifolium* зміни у синтезі хлорофілів опосередковані меншим вмістом іонів кальцію у хлоропластах.

Порівняльний аналіз вмісту хлорофілів і каротиноїдів підводних і надводних листків повітряно-водної форми веху широколистоного показав, що вміст хлорофілів і каротиноїдів був достовірно нижчим у підводних листках. Аналогічні дані низького вмісту хлорофілів у підводних листках описані іншими авторами при порівнянні підводних і плаваючих листків *Ranunculus vulgaris* L., *Marsilea quadrifolia* L. та інших видів гідрофітів [4, 6, 8, 11]. Інгібування синтезу фотосинтезуючих пігментів під водою відбувається внаслідок низької освітленості, збільшення далекого червоного світла та повільної дифузії CO_2 у воді [11, 4].

Порівняння відносного вмісту іонів кальцію у хлоропластах надводних листків повітряно-водної екоформи *S. latifolium* і вмісту цих іонів у хлоропластах мезофілу двох типів листків суходільної форми цього виду (див. табл. 1) показало, що хлоропласти мезофілу надводних листків містили вдвічі більше іонів кальцію, ніж хлоропласти мезофілу листків суходільної форми. Крім того, надводні листки містили більше фотосинтезуючих пігментів, ніж листки суходільної форми. Раніше подібна кореляція вмісту пігментів та іонів кальцію виявлена у сім'ядолях огірків, коли концентрація іонів кальцію у поживному середовищі не перевищувала 10 мМ [17].

Нами виявлено збільшення вмісту іонів кальцію у клітинних оболонках продохів перисто-розсічених листків суходільної екоформи *S. latifolium* при по-

рівнянні з такими в надводних листків повітряно-водних зразків виду. За даними дослідників [2], в регуляції величини тургору замикаючих клітин продохів та у процесі відкриття/закриття продохової щілини активну участь беруть іони кальцію, вміст яких регулюється як запасами апопластного кальцію, так і запасами кальцію, зв'язаного з ендомембранами. Враховуючи наші результати та вищевідмічені дані літератури, можна припустити інтенсифікацію роботи продохів верхньої та нижньої епідерми третіх—четвертих листків суходільної форми при порівнянні з надводними листками повітряно-водної екоформи *S. latifolium*.

Нами також виявлена відмінність розподілу іонів кальцію у клітинних оболонках верхньої та нижньої епідерми підводних листків веху широколистого: більший вміст Ca^{++} в оболонках клітин верхньої епідерми. Раніше встановлено, що підводні листки деяких гідрофітів (*Potamogeton lucens* L. та *Elodea* sp.) є полярними: на нижньому боці листка відбувається поглинання іонів HCO_3^- , а на верхньому — вивільнення гідроксилів (OH^-) [8]. У нижньому епідермісі підводних листків вищезазначених рослин активується Ca^{++} -залежна карбонілангідраза, яка бере участь в утворенні CO_2 з абсорбованих із води іонів HCO_3^- [13, 8]. До того ж відомо, що іони Ca^{++} , з'єднуючись з атомами кисню вільних карбоксильних груп пектинів та з гідроксильними групами білків, знижують еластичність, механічну міцність оболонки та її адсорбційну здатність [12, 18]. Враховуючи наші експериментальні дані по збільшенню вмісту іонів кальцію в оболонках верхньої епідерми підводних листків веху та вищевідмічені дані літератури, можна зробити припущення: оболонки верхнього та нижнього епідермісу підводних листків веху широколистого також проявляють полярність функціонування, в якому задіяні незв'язані іони кальцію.

Нами також відмічені відмінності у відносному вмісті іонів кальцію у клітинах епідерми надводних листків повітряно-водної форми веху та розсічених листків суходільної форми. Відомо, що зовнішні клітинні оболонки верхньої та нижньої епідерми листків беруть участь у кутикулярній транспірації, швидкість якої залежить від структури оболонки, вмісту кальцію, зв'язаного із пектинами, та наявності кутикулярних пор [15, 18]. Питання про зв'язок та вплив іонізованого кальцію на транспіраційні процеси в кутикулярних порах зовнішніх оболонок клітин епідерми поки лишається відкритим.

Таким чином, одержані дані щодо розподілу іонів кальцію у різних типів листків повітряно-водних і суходільних рослин веху широколистого у фазі вегетативного росту свідчать про те, що вміст іонів кальцію відіграє суттєву роль у пластичності рослин веху до змін навколишнього середовища. Подальші дослідження мають спрямуватись на встановлення механізмів перерозподілу іонів кальцію у клітинах мезофілу та епідерми листків у відповідь на зміну водного режиму.

Висновки

1. Доведена участь іонів кальцію у вияві гетерофілії повітряно-водних рослин *S. latifolium* на стадії вегетативного росту. Розподіл відносного вмісту іонів Ca^{2+} в органах мезофілу та клітинних оболонках епідермісу різних типів листків

повітряно-водних рослин виду на стадії вегетативного росту пов'язаний із умовами росту листків. Відносний вміст іонів Ca^{2+} у хлоропластах, ядрах та оболонках клітин мезофілу надводних листків був більший, ніж у підводних листків.

2. Виявлена певна кореляція між збільшенням відносного вмісту іонів Ca^{2+} у хлоропластах і вмістом хлорофілів у надводних листках повітряно-водних рослин порівняно з підводними листками, що дає змогу припустити активацію функціонування ФСII у надводних листках. Виявлено перерозподіл іонів Ca^{2+} в оболонках верхньої та нижньої епідерми у різних листках суходільних рослин *S. latifolium*.

Автор висловлює щире подяку члену-кореспонденту НАНУ Є.Л. Кордюм за критичні зауваження та цінні поради при обговоренні результатів експериментів.

1. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. — М.: Высш. шк., 1975. — 390 с.
2. Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Бараненко В.В. и др. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. — Киев: Наук. думка, 2003. — 277 с.
3. Недуха О.М. Фенотипічні зміни клітин листків при водному дефіциті // Укр. ботан. журн. — 2005. — **62**, № 2. — С. 280—288.
4. Некрасова Г.Ф., Ронжина Д.А., Малеева М.Г., Пьянков В.И. Фотосинтетический метаболизм и активность карбоксилирующих ферментов у надводных, плавающих и погруженных листьев гидрофитов // Физиол. раст. — 2003. — **50**, № 1. — С. 65—75.
5. Плохинский Н.А. Биометрия. — М.: Изд-во МГУ, 1970. — 367 с.
6. Ронжина Д.А., Некрасова Г.Ф., Пьянков В.И. Сравнительная характеристика пигментного комплекса надводных, плавающих и погруженных листьев гидрофитов // Физиол. раст. — 2004. — **51**, № 1. — С. 27—34.
7. Coleman A.W., Maguire M.J., Coleman J.R. Mythramucin- and 4'-6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)-DNA staining for fluorescence microspectrophotometric measurement of DNA in nuclei, plastids, and virus particles // J. Histochem. & Cytochem. — 1981. — **29**, N 8. — P. 959—968.
8. Bowes G., Salvucci E. Plasticity in the photosynthetic carbon metabolism of submerged aquatic macrophytes // Aquatic Botany. — 1989. — **34**. — P. 233—266.
9. Hiedema H., Prins H.B.A. Coupling of proton fluxes in the polar leaves of *Potamogeton lucens* L. // J Exp Bot. — 1992. — **43**. — P. 907—914.
10. Lechowski Z., Biatczyk J. Calcium mediated cytokinin action on chlorophyll synthesis in isolated embryo of *Scots pine* // Biol. Plant. — 1993. — **35**, N 1. — P. 53—62.
11. Mommer L., Visser E.J.W. Underwater photosynthesis in flooded terrestrial plants: a matter of leaf plasticity // Ann. Bot. — 2005. — **96**. — P. 581—589.
12. Preston R.D. Polysaccharides conformation and cell wall function // Ann. Rev. Plant Physiol. — 1979. — **30**. — P. 55—78.
13. Rascio N. The underwater life of secondarily aquatic plants: some problems and solutions // Critical Reviews of Plant Sciences. — 2002. — **21**, N 4. — P. 401—427.
14. Sai J., Johnson C.H. Dark-stimulated calcium ion in the chloroplast stroma and cytosol // The Plant Cell. — 2002. — **14**. — P. 1279—1291.
15. Schreiber L. Polar paths of diffusion across cuticles: new evidence for an old hypothesis // Ann. Bot. — 2005. — **95**. — P. 283—290.
16. Takahashi A., Camacho P., Lechleiter J.D., Herman B. Measurement of intracellular calcium // Physiological Reviews. — 1999. — **79**. — P. 1089—1125.
17. Tanaka T., Tsuji H. Effects of calcium on chlorophyll synthesis and stability in the early phase of greening in *Cucumber* cotyledons // Plant Physiol. — 1980. — **65**, N 6. — P. 1211—1215.

18. Virk S., Cleland R. Calcium and the mechanical properties of soybean hypocotyls cell walls: Possible role of calcium and protons in cell-wall loosening // *Planta*. — 1988. — **176**, N 1. — P. 60—67.

Рекомендує до друку
І.В. Косаківська

Надійшла 30.04.2009

Е.М. Недуха

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В КЛЕТКАХ МЕЗОФИЛЛА
И ЭПИДЕРМИСА ЛИСТЬЕВ ВОЗДУШНО-ВОДНОЙ И СУХОДОЛЬНОЙ
ЭКОФОРМ *SIUM LATIFOLIUM* L.

Распределение и относительное содержание ионов кальция в клетках мезофилла и эпидермиса листьев воздушно-водной и суходольной экоформ *Sium latifolium* L. на стадии вегетативного роста исследовано цитохимическим методом с использованием лазерно-конфокальной микроскопии. Воздушно-водные растения исследуемого вида характеризовались наличием двух типов листьев: подводных (триждыперисторассеченные) и надводных (перисторассеченные). Суходольные растения имели также листья с разной пластинкой: с цельной и перисторассеченной пластинкой. Ионы кальция выявлены в хлоропластах, ядрах и цитоплазме клеток мезофилла независимо от экологической формы растения и типа листьев *S. latifolium*. С помощью программы Pascal были установлены достоверные отличия в содержании кальция в хлоропластах, ядре и клеточных оболочках мезофилла двух экологических форм растений *S. latifolium*. Выявлена определенная корреляция между снижением содержания ионов кальция и содержания хлорофиллов в подводных листьях исследуемого вида по сравнению с надводными листьями у его воздушно-водных растений. Сделан вывод также об определенном распределении ионов кальция в клеточных оболочках эпидермиса разных листьев воздушно-водных и суходольных растений *S. latifolium*. Предполагается, что выявленная пластичность в распределении ионов кальция в клетках мезофилла и эпидермиса листьев является адаптационным признаком гетерофилльного растения *S. latifolium*.

Ключевые слова: кальций, *Sium latifolium*, гетерофиллия, лист, хлорофилл.

О.М. Недуха

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

DISTRIBUTION OF CALCIUM IONS IN MESOPHYLL
AND EPIDERMIS CELLS IN LEAVES OF *SIUM LATIFOLIUM* L.
AIR-AQUATIC AND TERRESTRIAL FORMS

The distribution and the relative content of calcium ions in leaf mesophyll and epidermis cells of *Sium latifolium* L. of air-aquatic and terrestrial ecoforms in vegetative phase have been investigated by the cytochemical method and with using of laser confocal microscopy. Air-aquatic plants had aird (above-water) and submerged leaves (triple pinnatisect), while terrestrial plants had leaves with unbroken entire-kind leaflet and pinnatifid leaflet. Calcium ions were revealed in chloroplasts, nuclei, cytoplasm and cell walls of mesophyll cells independent on plant ecoform and leaf type of *S. latifolium*. The differences of calcium ions content in chloroplasts, nuclei and cell walls of mesophyll, and in cell walls of adaxial and abaxial epidermis were established in the different leaves of both plant forms by the Pascal program. The correlation of decrease of calcium ions content in the chloroplasts with the decrease of chlorophylls content in the submerged leaves has been revealed in comparison with above-water (air) leaves of *S. latifolium* of air-water form. The certain redistribution of calcium ions in cell walls of epidermis of differ leaves of *S. latifolium* air-aquatic and a terrestrial form was revealed. It is suggested that the remarkable plasticity in distribution of calcium ions in mesophyll and epidermis cells of leaves is adaptation sign for heterophyllous *S. latifolium* at vegetative stage under change of environment.

Key words: calcium, *Sium latifolium*, heterophylly, leaf, chlorophyll.