

О.М. НЕДУХА

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

ГЕТЕРОФІЛІЯ У *SAGITTARIA SAGITTIFOLIA* L. II. УЛЬТРАСТРУКТУРА ПОВЕРХНІ НАДВОДНИХ І ПІДВОДНИХ ЛИСТКІВ

Ключові слова: гетерофілія, листки, ультраструктура поверхні епідермісу, *Sagittaria sagittifolia*

Вступ

Затоплення рослин спричиняє різні зміни в їх структурно-функціональній організації залежно від тривалості дії чинника та глибини водного паводку. Тривале затоплення призводить не тільки до зменшення товщини листкових пластинок і розмірів їхніх клітин, а також до зниження фотосинтезу. Це обумовлено насамперед зменшенням освітленості, зміною її спектральної характеристики [2–4], а також недостатньою кількістю CO_2 , який має високу розчинність, але низький коефіцієнт дифузії у прісній воді — $1,7 \times 10,0\text{—}9,0 \text{ м}^2/\text{с}$ при 20°C [13, 15]. Тому у вищих водних рослин з'явилися певні пристосування до зниженої освітленості, а саме: збільшення площі листка, зменшення товщини пластинки й епідермальної кутикули, а також наявності хлоропластів у епідермісі, редукції продихів або повній їх відсутності. Ці ознаки знижують бар'єр і скорочують шляхи транспорту газів із водного оточення до поверхні органів, занурених у воду. Попри численні дані стосовно вивчення впливу затоплення на ріст і функціонування вищих рослин, для з'ясування адаптаційних пристосувань рослини до дії зовнішнього водного оточення, на більшу увагу заслуговує вивчення структурної організації листків вищих водних рослин, які характеризуються природною гетерофілією. У цій статті ми наводимо результати дослідження ультраструктурних ознак епідермісу надводних і підводних листків *Sagittaria sagittifolia* L.

Об'єкти та методи дослідження

Надводні та підводні листки *S. sagittifolia* (родина *Alismataceae*) були зібрані на березі річки Псел (м. Велика Багачка Полтавської обл.). Для досліджень відбирали рослини, які зростали на мілководді, на глибині близько 40–60 см. Листки збирали у фазі вегетативного росту й початку бутонізації. У польових умовах вирізки середньої частини пластинки фіксували для скануючої електронної мікроскопії сумішшю 2,5 %-ного глютарового альдегіду й 0,5 %-ного параформальдегіду (1 : 1, об'єми) на 0,5 М фосфатному буфері, рН 7,2, протягом 24 год при $+6^\circ\text{C}$, промивали, обезводнювали етанолом і ацетоном, прикріплювали на столики за загальноприйнятою методикою. Структуру поверхні епідерми вивчали в скануючому електронному мікроскопі JSM-6060 LA після

попереднього напилення вуглецем і золотом. Для фіксації матеріал відбирали із трьох рослин: із кожної з них брали два надводні листки (один — стрілоподібної форми, другий — видовженої) та два підводні, однакові за розміром і забарвленням. Середні розміри клітин епідермісу та продихів надводних листків визначали на електронограмах епідерми. Для цього вимірювали по 30—40 основних клітин епідермісу та 30—40 продихів на верхній епідермі й по стільки ж клітин на нижній епідермі кожного листка. Матеріал обробляли статистично, використовуючи програму ВІО—8.

Результати та обговорення

1. Загальна характеристика листків. Рослини *S. sagittifolia* у фазі вегетативного росту й початку бутонізації характеризувалися гетерофілією, яка проявлялася в різній формі листків (рис. 1, *a—в*). Надводні листки кожної особини виду мали дві форми: 2—7 листків стрілоподібну і один-два листки — продовгувату (рис. 1, *a, б*). Підводні листки вузькі, лінійні (рис. 1, *б, в*).

2. Ультраструктура поверхні листків

Надводні листки. Стрілоподібні листки. Дослідження ультраструктури верхньої та нижньої поверхонь стрілоподібних листків показало, що вони належать до амфістоматичного типу (рис. 2, *a, в*). Клітини епідерми неправильної форми, з дещо вигнутими стінками. Продихи розміщені безладно. Кутикулярна поверхня майже гладка. Спільними ознаками для верхньої й нижньої епідерми були тип (парацитний) і форма (овально-видовжена) продихів, наявність кутикулярного обідка по периметру епідермальних клітин і воскового нальоту на поверхні кожної клітини (рис. 2, *б, г*). Відмінності в структурних ознаках верх-

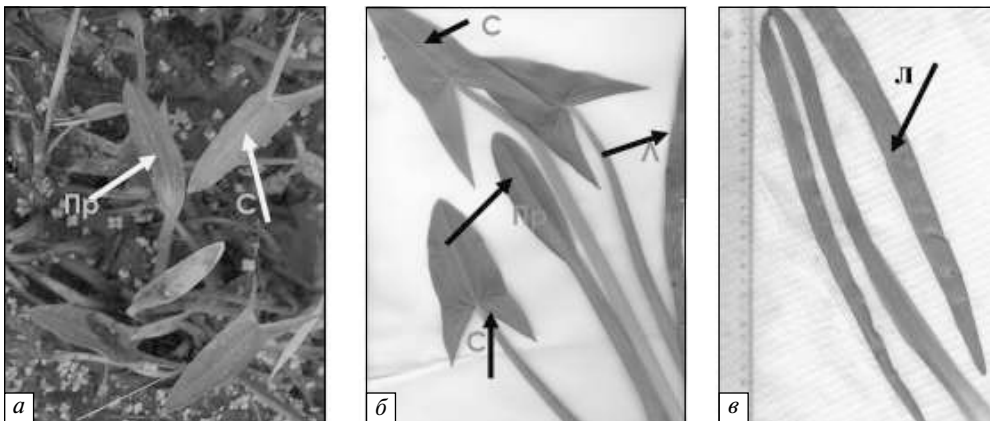


Рис. 1. Загальний вигляд рослин *Sagittaria sagittifolia* (*a*). Кожна особина характеризувалася гетерофілією листків: надводні листки мали стрілоподібну (*C*) й продовгувату форми (*Пр*) (*a, б*), підводні — лінійну форму (*Л*) (*б, в*)

Fig. 1. General view of plant *Sagittaria sagittifolia* (*a*). The heterophylly of leaves was characterized for each plant: above-water leaves had arrow-like and elongated shape (*a—г*), and submerged leaves had long ribbon shape (*a, б, в*)

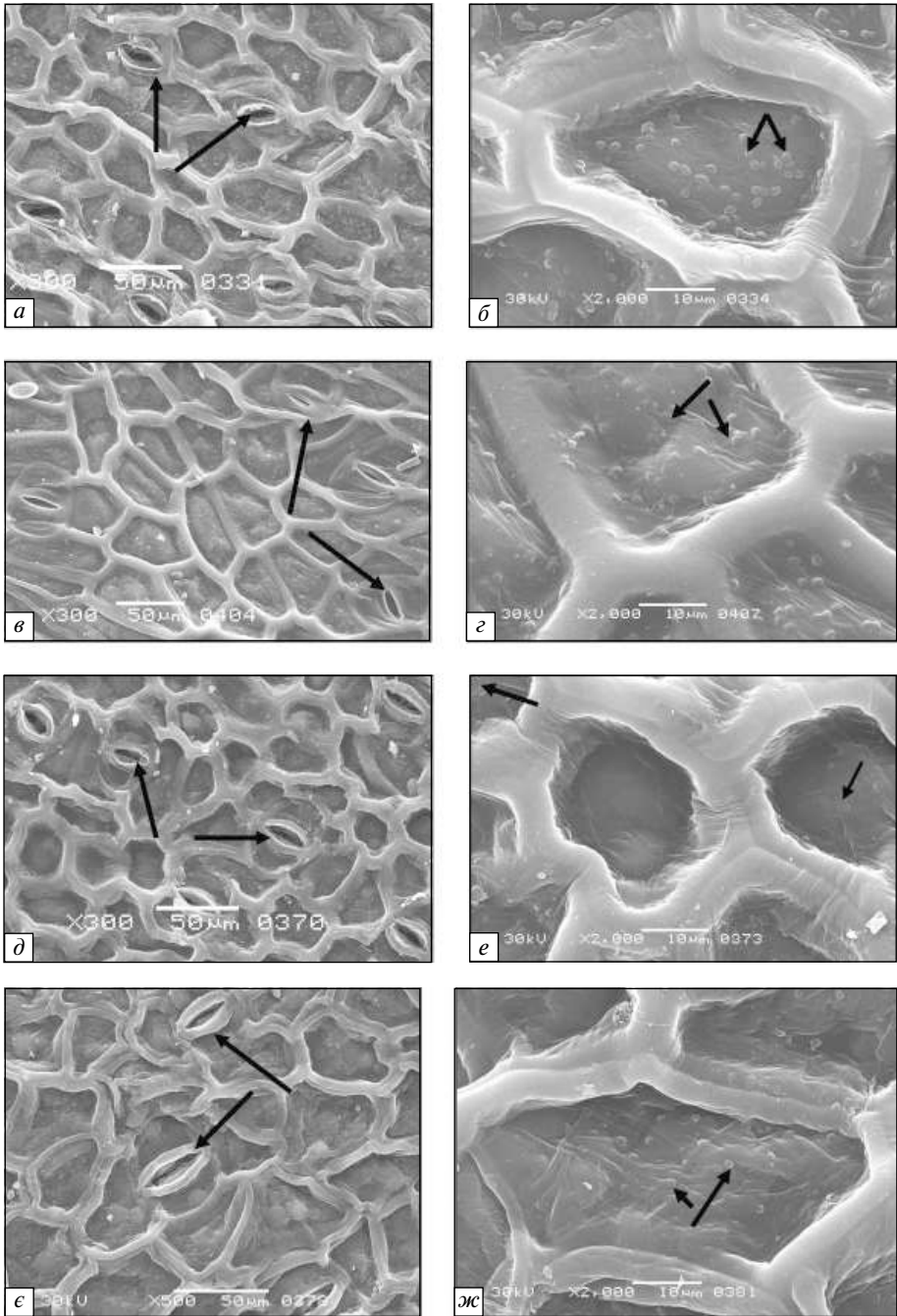


Рис. 2. Ультраструктура верхньої (а, б, д, е) та нижньої (в, з, е, ж) поверхні надводних листків *S. sagittifolia* з різною формою пластинок: а–з — листок зі стрілоподібною; д–ж — із продовговатою пластинкою. Восковий наліт (б, з, е, ж) та пориди (а, в, д, е) показано стрілками
 Fig. 2. Ultrastructure of upper (a, б, д, e) and lower (в, з, е, ж) surface of *S. sagittifolia* above—water leaves: а–з — arrow-like leaf, д–ж — elongated leaf. Wax (б, з, е, ж) and stomata (а, в, д, е) are indicated by the arrows

нього та нижнього епідермісу виявлені в розмірах клітин і воскового нальоту, зокрема: клітини нижнього епідермісу були довші, ніж верхні, а розмір воскових формувань був меншим на нижній поверхні (таблиця). Воскові горбки овальні чи округлі, їх середній розмір становив $1,49 \pm 0,13$ мкм у діаметрі, щільність воскового нальоту на одну клітину була досить великою — $30,7 \pm 2,4$ горбків. Продиховий індекс на верхньому боці листка досягав 13,6, на нижньому — 16 %. Щоб визначити мінливість епідермальних структур, ми досліджували препарати серединної частини листових пластинок із трьох рослин; жодних суттєвих відмінностей не було виявлено, а це дозволяє зробити висновок, що стоматографічні ознаки стали в межах виду та типу листків.

Листки продовгуватої форми. Дослідження ультраструктури верхньої та нижньої поверхонь продовгуватих надводних листків показало, що ці листки, як і стрілоподібної форми, належать до амфістоматичного типу (рис. 2, д, е). Продихи на обох епідермах паразитного типу. На верхній епідермі вони видовжено-овальні, розташовуються частіше вздовж пластинки, іноді — хаотично, середня кількість продихів на 1 мм^2 — 74 ± 3 шт. Зовнішні продихові виступи утворюють обідок, витягнутий у формі еліпса навколо продихової щілини. Контури антиклінальних оболонок основних епідермальних клітин верхньої епідерми майже прямі, форма клітин різна: від округлої чи овальної до п'ятикутної (рис. 2, е). По периметру клітин розміщується високий кутикулярний гребінь, заввишки $5,4 \pm 0,2$ мкм. Поверхня лише частини клітин епідермісу вкрита восковим нальотом овальної або округлої форми; кількість таких клітин порівняно зі стрілоподібними листками удвічі менша (таблиця). Середня кількість горбків воскового нальоту на одну клітину в п'ять разів менша, ніж у стрілоподібних листків. Продиховий індекс на верхній поверхні становить 9,3 %.

Продихи на нижній епідермі поздовжньо-овальні, продихові щілини зорієнтовані майже в одному напрямку. Показники структури клітин нижньої поверхні епідерми лопатоподібних листків наведені в таблиці. Контури антиклінальних оболонок епідермальних клітин нижньої епідерми прямі, значно вищі порівняно з центральною частиною клітинної оболонки. Як і у верхній епідермі форма клітин різна: від округлої або овальної до п'ятикутної (рис. 2, е, ж); клітини вкриті високим кутикулярним гребенем. Поверхня епідермальних клітин (до 24 %) покрита восковим нальотом. Воскові горбики овальної або округлої форми. Кількість клітин із воском на нижній поверхні листка менша майже удвічі порівняно з верхнім епідермісом. Продиховий індекс на нижній поверхні становить 10,9 %.

Підводні листки. Структура верхньої й нижньої поверхні епідермісу підводних листків *S. sagittifolia* відрізнялася від структури надводних листків відсутністю на обох поверхнях продихів. Клітини мали видовжену форму (рис. 3), їхній розмір по довгій осі був більшим, ніж у надводних листків. Клітинна оболонка на стику суміжної клітини трохи піднята, утворює невисокий «гребінь» кутикули; висота й ширина кутикулярного гребеня в п'ять-шість разів менші, ніж у надводних листків (таблиця). Крім того, на поверхні підводних листків

Показники структури клітин верхньої та нижньої епідерми надводних і підводних листків *Sagittaria sagittifolia* за даними скануючої електронної мікроскопії

Показник	Тип листка та його форма		
	Надводні листки		Підводні листки, лінійні
	стрілоподібні	продовгуваті	
Верхня епідерма			
Продихи:			
тип	парацитний	парацитний	відсутні
щільність на 1 мм ²	85 ± 6	74 ± 3	—
Розмір продихів, мкм			
довга вісь	32,8 ± 3,1	33,4 ± 2,7	—
коротка вісь	20,2 ± 4,4	23,8 ± 3,9	—
Розмір епідермальних клітин, мкм			
довга вісь	45,5 ± 3,9	44,3 ± 5,7	109 ± 7,4*
коротка вісь	35,0 ± 4,1	30,9 ± 2,7	45 ± 1,7*
Висота кутикулярних гребенів по периметру основних епідермальних клітин, мкм	5,5 ± 0,7	5,4 ± 0,2	0,82 ± 0,2*
Кількість воскових горбків на клітину епідерми, шт.	30,7 ± 5,1	6,2 ± 0,5	не виявлено
Клітини з воском, %	100	43 ± 4,5	—
Діаметр воскових горбків, мкм	1,49 ± 0,13	1,0 ± 0,04	—
Нижня епідерма			
Продихи:			
тип	парацитний	парацитний	відсутні
щільність на 1 мм ²	79 ± 5	65 ± 4	—
Розміри продихів:			
довга вісь, мкм	32,8 ± 3,1	41,8 ± 3,1	—
коротка вісь, мкм	20,0 ± 2,7	23,2 ± 2,7	—
Розміри епідермальних клітин:			
довга вісь, мкм	62,0 ± 3,9	62,3 ± 3,1	106 ± 6,5*
коротка вісь, мкм	36,3 ± 5,1	34,7 ± 2,7	42 ± 2,9
Висота кутикулярних гребенів по периметру основних епідермальних клітин, мкм	4,9 ± 0,3	5,4 ± 0,17	0,85 ± 0,14*
Кількість воскових горбків на клітину епідерми, шт.	29,3 ± 5,1	13,8 ± 2,75	не виявлено
Клітини із воском, %	100	24 ± 3	—
Діаметр воскових горбків, мкм	1,24 ± 0,1	0,8 ± 0,1	—

Примітка: * $P \leq 0,05$ (при порівнянні ознак надводних і підводних листків).

відсутній також і восковий наліт. Часто до поверхні підводних листків прикріплені водорості (рис. 3, а, в, г).

Отже, порівняльний аналіз ультраструктури епідерми надводних і підводних листків стрілолиста показав, що надводні листки, незалежно від форми їхньої пластинки, належать до амфістоматичного типу і характеризуються парацитними продихами за класифікацією М.О. Баранової [1]. У надводних листках ми виявили наявність товстого кутикулярного гребеня (обідка) по пе-

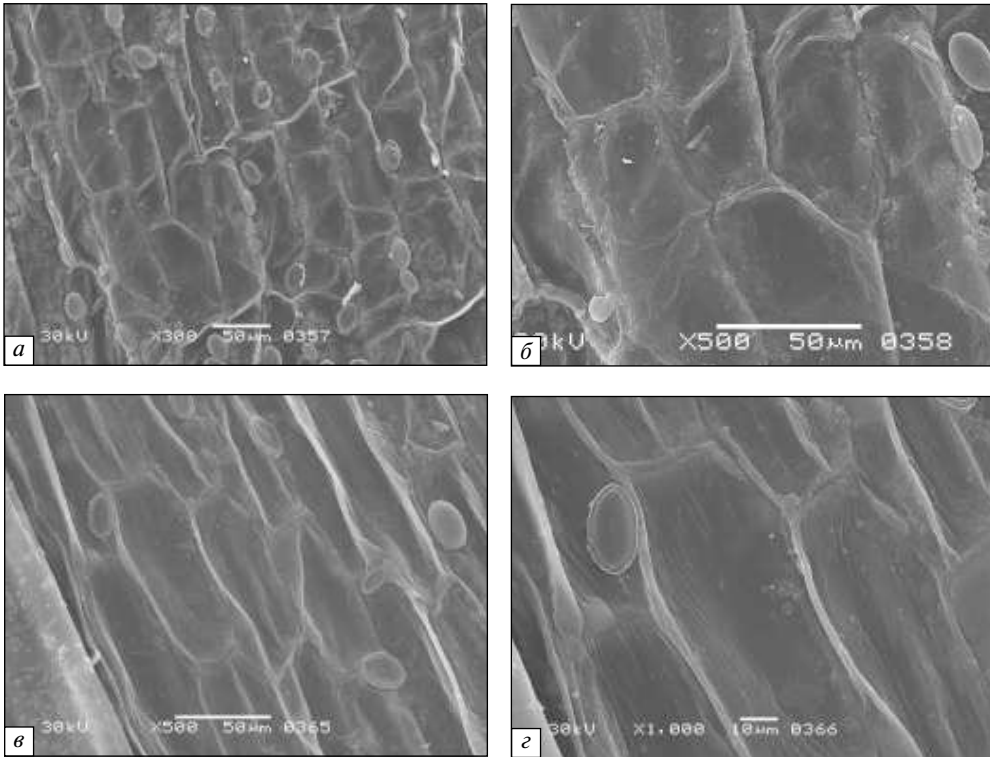


Рис. 3. Ультроструктура верхньої (а, б) і нижньої (в, г) поверхні підводних листків *S. sagittifolia*. Прорихи в епідермісі відсутні; на верхній (а) та нижній епідермах (в, г) є водорості
 Fig. 3. Ultrastructure of upper (a, б) and lower (в, г) surface of *S. sagittifolia* submerged leaves. Stomata are absent in epidermis; one-cellular algae attaches to upper and lower epidermis (в, г)

риметру всіх епідермальних клітин, тоді як у підводних листках стрілолиста ширина й висота кутикулярного гребеня була в 5–6 разів менша. Відомо, що кутикула епідерми є захисним бар'єром, який контролює кутикулярне випаровування, створює повітряний шар на поверхні епідермісу (між гребенями) при дії хвиль, а також регулює вилугування поживних речовин під час омивання поверхні надводних і плаваючих листків хвилями, або ж під час дощу [16]. Крім того, зниження товщини шару кутикули сприяє прискореному як водному транспорту з листків у зовнішнє середовище, так і транспорту газів із водного середовища в листкові пластинки [11, 14]. Враховуючи одержані нами результати та наведені вище дані літератури, можна припустити, що зміни розмірів кутикулярних гребенів по периметру клітин епідерми стрілолиста є адаптаційною ознакою листків до затоплення, а також проявом фенотипічної пластичності листків вищих водних рослин, у яких виявляється гетерофілія.

Одержані нами результати про відмінності в щільності воску в епідермальних клітинах і кількості клітин із воском між стрілоподібними та продовгуватими листками *S. sagittifolia* можна пояснити наступним чином. Причинами меншої кількості воскового нальоту на поверхні продовгуватих листків порів-

няно зі стрілоподібними бувають як екзогенні, так і ендogenous фактори. Можливо, що цей феномен є адаптивною ознакою на зниження дії прямого сонячного освітлення на видовжені листки, оскільки стрілоподібні піднімаються над водною поверхнею вище, ніж видовжені. Крім цього, в продовговуватих листків продиховий індекс на обох поверхнях епідерми був менший, ніж у стрілоподібних. Враховуючи дані літератури про те, що віск гальмує кутикулярну транспірацію та відбиває (або поглинає) ультрафіолетові промені світла (залежно від форми воскового нальоту) [3, 9–11], можна припустити, що в продовговуватих листків, які розміщені ближче до водної поверхні порівняно з листками стрілоподібними, кутикулярна транспірація інтенсивніша, ніж у стрілоподібних листках, вкритих восковим нальотом. Наявність такого нальоту випуклої форми на епідермі надводних листків *S. sagittifolia*, очевидно, сприяє збереженню водного статусу та регуляції поглинання певної частини фотонів світла воском [3].

Механізм збільшення кількості та щільності воскового нальоту на поверхні стрілоподібних листків порівняно з продовговуватими надводними, а також відсутність його на поверхні підводних листків можна пояснити також і дією ендogenous факторів. Відомо, що синтез і вміст воску в рослинних клітинах залежить від вмісту попередників-субстратів (C_{12} -, C_{14} - і C_{16} - ω -гідроксижирних кислот) і активності ферменту віск-синтетази (fatty acyl-coenzyme A: fatty alcohol acyltransferase), субстратами для якої є інтегральні мембранні білки [8, 12].

Зважаючи на одержані нами результати та зазначені вище дані літератури, можна припустити, що два типи надводних листків *S. sagittifolia* різняться один від одного інтенсивністю синтезу гідроксижирних кислот, а підводні листки *S. sagittifolia* відрізняються від надводних повним інгібуванням синтезу гідроксижирних кислот для синтезу восків, а відповідно — й інгібуванням ферменту віск-синтетази. Надводні листки стрілолиста, збагачені воском, подібні до листків і стебел суходільних рослин із воском, у яких виявлені ліпід-транспортуючі білки, що беруть участь у транспортуванні та секреції фосfolіпідів у периплазматичний простір і апопласт [5–7].

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Баранова М.А. Классификация морфологических типов устьиц // Ботан. журн. — 1985. — 70, № 12. — С. 1585–1595.
2. Доронин Ю.П. Физика океана. — Санкт-Петербург: РГМУ, 2000. — 340 с.
3. Ландсберг Г.С. Элементарный учебник физики. — М: Наука, 1986. — Т. 3. — 656 с.
4. Ландсберг Г.С. Оптика. — М.: Физматлит, 2003. — 848 с.
5. Clark A., Verbeke J., Bohnert H. Epidermis-specific gene expression in Pachyphytum // Plant Cell. — 1992. — 4(10). — P. 1189–1198.
6. Clark A., Bohnert H. Epidermis-specific transcripts: nucleotide sequence of a full-length cDNA of EP112 encoding a putative lipid transfer protein // Plant Physiol. — 1993. — 103(2). — P. 677–678.
7. Clark A., Bohnert Y. Epidermis-specific expression of genes of the lipid protein transfer protein family from *Arabidopsis thaliana* // Plant and Cell Physiol. — 1999. — 40(1). — P. 69–76.

8. Hauke V., Schreiber L. Ontogenetic and seasonal development of wax composition and cuticular transpiration of ivy (*Hedera helix* L.) sun and shade leaves // *Planta*. — 1998. — **207**(1). — P. 65–75.
9. Kalattukudy P.E. Biosynthesis pathways of cutin and waxes and their sensitivity to environmental stresses // *Experimental*. — 1996. — **47** (Suppl.). — P. 50.
10. Kerstiens G. Cuticular water permeability and its physiological significance // *J. Exp. Bot.* — 1996. — **47**(12). — P. 1813–1832.
11. Kerstiens G. Water transport in plant cuticles: an update // *J. Exp. Bot.* — 2006. — **57**(11). — P. 2493–2499.
12. Lardizabal K.D., Metz J.G., Sakamoto T. et al. Purification of a jojoba embryo wax synthase, cloning of its *cDNA*, and production of high levels of wax in seeds of transgenic *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* — 2000. — **122**(3). — P. 645–656.
13. Madsen T.V., Maberty S.C. Diurnal variation in light and carbon limitation of photosynthesis by two species of submerged freshwater macrophytes with a differential ability to use bicarbonate // *Freshwater Biol.* — 1991. — **26**. — P. 175–187.
14. Mommer L., Pons T.L., Wolters-Arts M. et al. Submergence-induced morphological, anatomical, and biochemical responses in a terrestrial species affects gas diffusion resistance and photosynthetic performance // *Plant Physiol.* — 2005. — **139**(1). — P. 497–508.
15. Smith F.F., Walker N.A. Photosynthesis by aquatic plants: Effects of unstirred layers in relation to assimilation of CO₂ and HCO₃ and isotopic discrimination // *New Phytol.* — 1981. — **6**(1/2). — P. 245–259.
16. Stiegler J.C., Richardson M.D., Karcher D.E. et al. Leaf cuticle characteristics of cool-season and warm season putting green turfgrass species // ASA-CSSA-SSSA Intern. Annual Meetings (Nov. 12–16, 2006, Indianapolis, IN). — P. 1–4.

Рекомендує до друку
Д.В. Дубина

Надійшла 21.03.2011 р.

Е.М. Недуха

Институт ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины, г. Киев

ГЕТЕРОФИЛЛИЯ У *SAGITTARIA* *SAGITTIFOLIA* L. II. УЛЬТРАСТРУКТУРА ПОВЕРХНОСТИ НАДВОДНЫХ И ПОДВОДНЫХ ЛИСТЬЕВ

Проведен сравнительный анализ ультраструктуры поверхности надводных и подводных листьев *Sagittaria sagittifolia* L. (стрелолиста обыкновенного), для которого характерно явление гетерофиллии. Надводные листья имели стреловидную и продолговатую формы, подводные — линейную. Методом СЭМ установлено, что подводные листья стрелолиста отличаются от надводных отсутствием устьичного аппарата и воскового налета, меньшим слоем кутикулы и большими размерами основных эпидермальных клеток.

Ключевые слова: гетерофиллия, листья, ультраструктура поверхности эпидермиса, *Sagittaria sagittifolia*.

О.М. Nedukha

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

GETEROPHYLLY IN *SAGITTARIA* *SAGITTIFOLIA* L. II. SURFACE ULTRASTRUCTURE OF ABOVE-WATER AND SUBMERGED LEAVES

The comparative analysis of surface ultrastructure of submerged and above-water leaves of heterophyllous *Sagittaria sagittifolia* L. has been carried out. Above-water leaves are shown to have two distinct shapes: arrow-like and elongated; submerged leaves have a long ribbon shape. Using scanning electron microscopy, it was established that submerged leaves are distinguished from the above-water leaves by the absence of stomata and wax deposit, decrease of cuticular layer, and enlarged basic epidermal cells.

Keywords: heterophylly, leaves, surface ultrastructure of epidermis, *Sagittaria sagittifolia*.