

М. Г. Малева, О. С. Синенко,
Н. В. Чукина, Г. И. Ширяев,
Г. Г. Борисова, И. С. Киселева*

Техногенное загрязнение изменяет структуру листа и фотосинтетическую активность *Calla palustris* L. из природных местообитаний¹

Фотосинтез – важнейшая функция растений, обеспечивающая их энергией и метаболитами, необходимыми для роста и развития и для осуществления всех других функций, включая поддержание гомеостаза и адаптацию к условиям среды. В неблагоприятных условиях у растений могут происходить адаптивные перестройки всех систем жизнеобеспечения, включая фотосинтетический аппарат, что обеспечивает его оптимальное функционирование [5; 9; 11]. Однако изменение структурных характеристик мезофилла листа и его функциональной активности в условиях длительного техногенного воздействия, которому растения подвергаются вблизи объектов, эмитирующих поллютанты в окружающую среду, изучено недостаточно.

Цель исследования – оценка изменений структурных параметров листа и уровня ассимиляции CO₂ прибрежно-водным растением *Calla palustris* L. из природных местообитаний с разной степенью техногенной нагрузки.

Calla palustris L. (белокрыльник болотный), семейство Araceae (ароидные) – голарктический бореальный вид, широко распространенный в Евразии и Северной Америке. Является многолетним травянистым поликарпическим растением, относится к гелофитам [2].

Объекты исследования произрастали в прибрежной зоне реки Сак-Элга выше и ниже по течению Карабашского медеплавильного комбината «Карабашмедь» (КМК), Челябинская область, Южный Урал.

Территория, примыкающая к Карабашскому медеплавильному комбинату, объявлена зоной экологического бедствия. Медеплавильное производство является причиной загрязнения близлежащей территории, осуществляемого через пылевые выбросы, кислотное загрязнение атмосферы и гидросферы, сбросы сточных вод. Помимо сернистого газа и продукта его взаимодействия с водой – сернистой кислоты, которая вызывает сильное подкисление поверхностных вод в близлежащих к КМК водных объектах, мощным источником загрязнения являются металлы (медь, кадмий, железо, никель, свинец, цинк и др.) [3; 8; 13].

На основе гидрохимических показателей и элементного состава поверхностных вод и седиментов выделено 2 участка, отличающихся степенью токсической нагрузки: фоновый (верховья р. Сак-Элга, 3 км выше КМК; 55.4466°N, 60.1685°E) и импактный (р. Сак-Элга, 2,6 км ниже КМК; 55.4456°N, 60.2256°E). В качестве интегрального показателя загрязнения вычисляли суммарный индекс токсической нагрузки (S_i), который рассчитывали как: $S_i = (1/n) \sum S_i/S_\phi$, где S_i – концентрация ТМ в воде или седиментах импактного участка, S_ϕ – концентрация металлов в фоновом участке [1]. Величина суммарного индекса загрязнения, рассчитанного по

* М. Г. Малева, О. С. Синенко, Н. В. Чукина, Г. И. Ширяев, Г. Г. Борисова, И. С. Киселева, Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина (Екатеринбург).

E-mail: maria.maleva@mail.ru

¹ Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации, соглашение № 02.А03.21.0006.

10 металлам, составила в импактном местообитании для воды – 41 отн. ед., седиментов – 16, относительно 1 в фоновом участке прибрежной зоны.

Растительный материал собирали в июле 2016 и 2017 гг. (в фазе цветения растений). Определение содержания металлов в воде, седиментах и листьях белокрыльника проводили с помощью атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивной связанной плазмой iCAP 6500 Duo (ThermoScientific, США) после мокрого озоления 70 % HNO₃ (осч.). Величину pH и электропроводности воды измеряли с помощью портативного pH-метра/кондуктометра («Hanna Instruments», Германия).

Количественную оценку структурных характеристик листа проводили согласно [9]. В каждом местообитании усредненную пробу листьев отбирали с 10–15 растений. Поперечные срезы листьев получали с помощью замораживающего микротомы МЗ-2 (Россия). Все измерения проводили с использованием специализированной программы Simagis Mesoplant (ООО «СИАМС», Россия) и светового микроскопа Meiji MT 4300L («Meiji Techno», Япония).

Содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов определяли спектрофотометрически (Spectrophotometer «APEL» PD-303UV) в 80 % ацетоновом экстракте согласно Lichtenthaler [10]. Скорость ассимиляции CO₂ измеряли на инфракрасном газовом анализаторе LI-6400XT (LI-COR, США) при насыщающей интенсивности света 1 600 мкМ/(м² с) (температура в камере 23 °С, влажность – 50 %).

Содержание металлов (в воде, седиментах, листьях), пигментов и интенсивность фотосинтеза определяли в 4-кратной повторности. Измерение параметров структуры тканей листа проводили в 30-кратной повторности. Для статистической обработки результатов использовали программы Excel 7.0 и Statistica 7.0. Достоверность различий оценивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни при уровне значимости $p < 0,05$.

Длительное техногенное воздействие КМК приводило к значительному снижению pH воды в реке Сак-Элга ниже по течению от завода – с 6,8 до 5,4 и возрастанию электропроводности в 5 раз. Содержание тяжелых металлов в листьях белокрыльника в импактном участке было существенно выше, чем в фоновом (рис. 1). Например, содержание стронция было больше в 5,4, меди, кобальта, мышьяка – в 2,0, свинца – в 1,8, цинка и магния – в 1,6 раза. Исключение составили никель и железо, содержание которых в листьях не изменилось в импактной зоне в сравнении с фоновой.

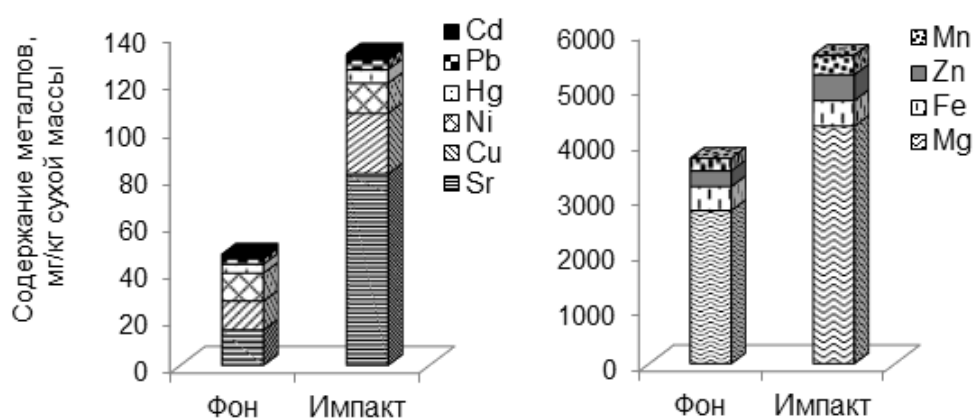


Рис. 1. Содержание металлов в листьях *C. palustris* из р. Сак-Элга (фоновый и импактный участки)

Изучение анатомической структуры листа *C. palustris* показало, что для этого вида характерен дорзовентральный тип строения мезофилла. Это подтверждается и имеющимися в литературе данными [4; 7]. Ассимиляционная ткань разделена на палисадную и губчатую. Хорошо выражены воздухоносные полости (аэренхима).

Растения из импактного участка имели более тонкую листовую пластинку по сравнению с фоновым за счет уменьшения толщины эпидермиса (на 25 %), таблица. Доля аэренхимы в листьях белокрыльника из импактного участка не изменялась, в то время как доля мезофилла незначительно возросла в сравнении с растениями из фонового местообитания.

У *C. palustris* в загрязненных условиях достоверно увеличивалось количество клеток мезофилла в единице поверхности листа, как палисадного (на 30 %), так и губчатого (на 18 %). При этом объем палисадных клеток достоверно не различался (таблица), а объем клетки губчатого мезофилла существенно (на 35 %) уменьшался в импактном участке по сравнению с фоновым.

Число хлоропластов в расчете на клетку мезофилла было достоверно меньше (в среднем на 14 %) у растений из импактного участка, а при пересчете на единицу площади листа не изменялось. Наблюдалась тенденция к увеличению объема хлоропластов в клетках листа белокрыльника из загрязненного местообитания, однако различия по этому параметру у растений из обоих участков были недостоверными.

Таблица

**Структурные характеристики тканей листа
и скорость ассимиляции CO₂ *C. palustris***

Параметры		Фоновый участок	Импактный участок
Толщина листа, мкм		370,9 ± 7,2	311,3 ± 8,0*
Толщина эпидермиса, мкм		70,2 ± 4,2	52,4 ± 3,5*
Доля аэренхимы в листе, %		27,6 ± 1,6	27,6 ± 1,1
Доля мезофилла в листе, %		33,8 ± 3,3	36,1 ± 2,4
Количество клеток мезофилла, тыс/см ²	палисадный	262,4 ± 9,5	340,2 ± 13,7*
	губчатый	370,7 ± 15,3	435,8 ± 12,8*
Объем клетки мезофилла, тыс. мкм ³	палисадный	15,2 ± 1,4	14,2 ± 1,2
	губчатый	23,7 ± 2,5	15,3 ± 1,5*
Количество хлоропластов в клетке	палисадный	22,0 ± 1,0	18,0 ± 1,0*
	губчатый	20,0 ± 1,0	18,0 ± 1,0*
Количество хлоропластов. 10 ⁶ /см ²	палисадный	5,7 ± 0,2	6,0 ± 0,2
	губчатый	7,5 ± 0,3	7,6 ± 0,2
Объем хлоропласта в клетке мезофилла, мкм ³	палисадный	63,5 ± 4,8	68,0 ± 4,4
	губчатый	74,4 ± 5,0	77,0 ± 7,5
Содержание хлорофилла в хлоропласте, мг/10 ⁹		1,7 ± 0,1	1,4 ± 0,1
Поглощение CO ₂	мкмоль/(м ² с)	3,7 ± 0,5	2,0 ± 0,2*
	мкмоль/(г хлорофилла с)	16,9 ± 2,0	10,8 ± 1,4*
	мкмоль/(10 ¹² хлоропластов с)	28,3 ± 4,0	14,7 ± 1,9*

Представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.
* – различия между фоновым и импактным участками достоверны при $p < 0,05$.

Содержание хлорофилла *a* (Хл *a*) в листьях растений из импактного участка было достоверно меньше по сравнению с фоновым (на 18 % в расчете на сухую массу, рис. 2А). При этом содержание хлорофилла *b* (Хл *b*) и каротиноидов оставалось неизменным. Аналогичная тенденция наблюдалась при пересчете содержания фотосинтетических пигментов на единицу площади листа. Среднее количество хлорофилла в расчете на хлоропласт было ниже у *C. palustris* из импактно-

го участка, в сравнении с фоновым (таблица), однако различия не были достоверными.

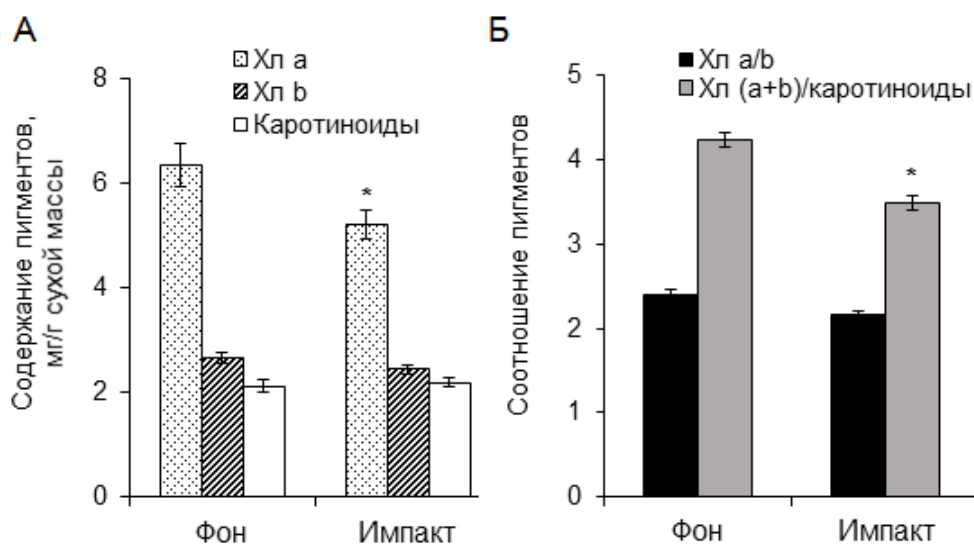


Рис. 2. Содержание фотосинтетических пигментов (А) и их соотношение (Б) в листьях *C. palustris* из р. Сак-Элга (фоновый и импактный участки). Представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. * – различия между участками достоверны при $p < 0,05$

По данным [4] у растений с надводными листьями, фотосинтез которых осуществляется в атмосфере, соотношение содержания Хл а к Хлb может варьировать от 2,7 до 4,3. По нашим данным величина этого соотношения в листьях белокрыльника составила в среднем 2,3, и достоверных различий между фоновым и импактным участками нет (рис. 2Б). Отношение суммарного содержания хлорофиллов к каротиноидам у растений в импактном местообитании было достоверно ниже (на 17 %) по сравнению с фоновым, что объясняется существенным уменьшением содержания Хл а при неизменном содержании добавочных пигментов (Хл b и каротиноидов).

Известно, что избыток тяжелых металлов может вызывать структурные и ультраструктурные изменения в хлоропластах через пероксидацию липидов мембран [11]. Избыток металлов в клетках может не только ингибировать ключевые ферменты синтеза хлорофилла, но и непосредственно вызывать разрушение молекул пигментов [11; 12]. Кроме того, некоторые металлы оказывают ингибирующее влияние как на световые, так и темновые реакции фотосинтеза. Среди металлов ртуть, кадмий, свинец и медь в высоких дозах являются наиболее фитотоксичными. Они нарушают транспорт электронов в разных участках электрон-транспортной цепи хлоропластов [6]. Избыток металлов может подавлять активность РБФ-карбоксилазы/оксигеназы (РУБИСКО), снижая карбоксилазную и повышая оксигеназную функцию фермента [11].

Исследования показали, что скорость ассимиляции углекислоты в листьях белокрыльника была достоверно ниже в импактном участке как при расчете на единицу площади и хлоропласт (почти в 2 раза), так и на г хлорофилла (в 1,6 раза), таблица. Возможно, это связано не только со снижением количества Хл а, но и нарушением работы ключевого фермента фотосинтеза РУБИСКО, поскольку существенных изменений в структуре фототрофных тканей листа, объеме аэренхимы и, следовательно, проводимости листа для CO_2 , не было выявлено. Ограничение диффузии углекислоты через устьица также маловероятно, поскольку прибрежно-водные растения всегда имеют доступ к воде. Уменьшение объема клеток

губчатого мезофилла у растений в импактном участке компенсировалось увеличением их количества, а снижение числа хлоропластов в клетке сопровождалось увеличением их объема. Таким образом, изменение численных и размерных признаков клеток мезофилла и хлоропластов обеспечивает жизнеспособность *C. palustris* в условиях длительного техногенного воздействия и демонстрирует пластичность фотосинтетического аппарата.

Литература

1. Безель В. С., Жуйкова Т. В., Позолотина В. Н. Структура ценопопуляций одуванчика и специфика накопления тяжелых металлов // Экология. – 1998. – № 5. – С. 376–382.
2. Иллюстрированный определитель растений Пермского края / С. А. Овеснов и др. ; под ред. С. А. Овеснова. – Пермь : Книжный мир, 2007. – 743 с.
3. Линник В. Г., Хорошавин В. Ю., Пологрудова О. А. Деградация природных ландшафтов и химическое загрязнение в ближней зоне влияния Карабашского медеплавильного комбината // Вестник Тюменского государственного университета. – 2013. – № 4. – С. 105–114.
4. Лукина Л. Ф., Смирнова Н. Н. Физиология высших водных растений. – Киев : Наук. думка, 1988. – 187 с.
5. Мокроносков А. Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. – М. : Наука, 1981. – 171 с.
6. Полищук А. В., Топчий Н. Н. Влияние ионов тяжелых металлов на перенос электронов на акцепторной стороне фотосистемы II // Доклады Национальной академии наук Украины. – 2006. – № 6. – С. 203–210.
7. Ронжина Д. А., Некрасова Г. Ф., Пьянков В. И. Сравнительная характеристика пигментного комплекса надводных, плавающих и погруженных листьев гидрофитов // Физиология растений. – 2004. – Т. 51, № 1. – С. 27–34.
8. Таций Ю. Г. Эколого-химическая оценка загрязнения окружающей среды в зоне действия Карабашского медеплавильного комбината // Вестник Тюменского государственного университета. – 2012. – № 12. – С. 90–96.
9. Ivanova L. A., P'yankov V. I. Structural adaptation of the leaf mesophyll to shading // Russian Journal of Plant Physiology. – 2002. – V. 49, № 3. – P. 419–431.
10. Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes // Meth. Enzymol. – 1987. – V. 148. – P. 350–382.
11. Meitei M. D., Kumar A., Prasad M. N. V., Waloszek A., Maleva M. G., Malec P., Strzalka K. Photosynthetic pigments and pigment-protein complexes of aquatic macrophytes under heavy metal stress. In: Golovko T. K., Gruszecki W. I., Prasad M. N. V., Strzalka K. J. (Eds.), Photosynthetic Pigments: Chemical structure, biological function and ecology. Komi Sci. Centre Ural Branch RAS. – Syktyvkar, 2014. – P. 319–334.
12. Seregin I. V., Ivanov V. B. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants // Russian Journal of Plant Physiology. – 2001. – V. 48, № 4. – P. 523–544.
13. Yurkevich N. V., Saeva O. P., Karin Y. G. Geochemical anomalies in two sulfide-bearing waste disposal areas: Fe, Cu, Zn, Cd, Pb, and As in contaminated waters and snow, Kemerovo and Chelyabinsk regions, Russia // Toxicological and environmental chemistry. – 2015. – V. 97, № 1. – P. 76–89.

**M. G. Maleva, O. S. Sinenko, N. V. Chukina,
G. I. Shiryaev, G. G. Borisova, I. S. Kiseleva,**
Ural Federal University (Ekaterinburg)

TECHNOGENIC POLLUTION ALTERS LEAF MESOPHYLL STRUCTURE AND PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY IN *CALLA PALUSTRIS* L. FROM NATURAL HABITATS

Evaluation of the leaf structural parameters and the level of CO₂ assimilation changes were carried out on the emergent plant *Calla palustris* L. from natural habitats with different degrees of technogenic pollution (upstream and downstream of Sak-Elga river, Karabash copper smelter,

Chelyabinsk region, Russia). It was found that the content of chlorophyll *a* significantly decreased in plants from the impact site. The rate of CO₂ assimilation was also significantly low in the impact site, both per unit leaf area and per chloroplast (2 times) as well as per gram of total chlorophyll (1,6 times). Perhaps this decrease of photosynthetic rate was determined not only by the decrease in total chlorophyll concentration, but probably by the inhibition of RUBISCO in the contaminated area. No significant changes were observed in the structure of the phototrophic leaf tissues and the volume of the airenchyma. It was shown that a decrease in the sponge mesophyll cell volume in plants from the impact site was compensated by an increase in their number, whereas a decrease in the number of chloroplasts in the cell was accompanied by an increase in their volume. It is concluded that the changes in the numerical and dimensional characteristics of the mesophyll cells and chloroplasts ensure the viability of *C. palustris* under conditions of prolonged technogenic impact and demonstrate the plasticity of the photosynthetic apparatus.