

УДК 581.144.2+581.524+581.55

**СТАН ПРОДИХОВОГО АПАРАТУ ЛИСТКІВ РОСЛИН *CAREX HIRTA* L.  
ЗА ВПЛИВУ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ****Г. Коровецька, Р. Соханьчак, Н. Джура, О. Цвілинюк, О. Терек***Львівський національний університет імені Івана Франка**вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна**e-mail: korovetska@ukr.net, biolog@franko.lviv.ua*

Досліджено вплив нафтового забруднення на стан продихового апарату абаксіальної поверхні листків рослин *Carex hirta* L. і встановлено, що забруднення ґрунту нафтою у кількості 50 г/кг веде до зниження апертури продохів, що дозволяє рослині зменшити витрати води і проникнення токсичних нафтових випарів у листки. Водночас величина продихового індексу та розміри продохів абаксіальної поверхні листків рослин осоки шорстковолової суттєво не змінюється за впливу нафти. У рослин, що зростали на забруднених нафтою ділянках, формуються продихові комплекси (2–3 продохи), що може свідчити про негативний вплив компонентів нафти на роботу генів, які відповідають за закладання продохів.

*Ключові слова:* *Carex hirta* L., нафтове забруднення, продохи.

До числа наймасштабніших джерел забруднення різноманітних екосистем належать добування, транспортування та переробка нафти. Відомо, що склеювання структурних частин ґрунту нафтою призводить до зростання в'язкості та щільності ґрунтової маси, що погіршує його повітряно-водний режим. Такий ґрунт набуває гідрофобних властивостей [8, 9]. На нафтозабруднених ґрунтах рослинність бідна або майже повністю відсутня. Тому актуальним є вивчення адаптації рослин до таких несприятливих умов навколишнього середовища. Серед органів рослин найбільшу пластичність до дії екологічних факторів виявляють листки. Для розуміння адаптаційних пристосувань рослинного організму необхідно дослідити стан продохів листків стійких рослин [2]. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив нафтового забруднення ґрунту на стан продихового апарату листків стійкого до нафтового забруднення виду.

Об'єктом досліджень був довгокореневищний вид – осока шорстковолоvisa (*Carex hirta* L.), яку вирощували у природних умовах Ботанічного саду Львівського національного університету імені Івана Франка. У посудини з глинистим ґрунтом (80 кг) вносили нафту густиною 0,87 г/мл, у кількості 50 г нафти на 1 кг ґрунту. Через три тижні після внесення нафти у ґрунт (необхідний термін для вивітрювання летких нафтопродуктів) висаджували вегетативні особини *Carex hirta*. Контролем слугували рослини, вирощені у ґрунті без нафти. Після двох місяців росту аналізували продиховий індекс, розміри повністю закритих продохів і величину апертури відкритих продохів сформованих листків рослин *Carex hirta*. Для цього на нижню поверхню листка наносили тонкий мазок манікюрного лаку протягом дня через кожну годину (з 9 до 19 год). Плівку знімали преларувальною голкою і пінцетом, клеїли на предметне скло та розглядали за допомогою мікроскопа “Carl Zeiss” з фотографічною приставкою. Відбитки були зроблені на 3–4 листках кожного варіанту. Розміри продохів і їх апертуру підраховували при збільшенні  $\times 800$ , а кількість продохів – при збільшенні  $\times 200$ . Підрахунки кількості, розмірів продохів і ступеня їх відкритості проводили в 20-ти полях зору в межах відбитка у

кожному варіанті досліду. Результати опрацьовували статистично за t-критерієм Стьюдента з використанням програми Microsoft Excel.

Щільність продихів на поверхні листка та продиховий індекс залежать від факторів середовища [12]. Результати наших досліджень засвідчують, що при забрудненні ґрунту нафтою продиховий індекс листків рослин *Carex hirta* становив 21,4%, тоді як у контрольних рослин – 19,8% (табл. 1). Варто зазначити, що при наявності однієї різко вираженої пристосувальної ознаки можуть бути послаблені чи зовсім не виражені інші [2, 4]. Так, види із опушеними листками мають меншу кількість продихів на одиницю поверхні, ніж види з неопушеними листками [1].

Як показали наші попередні дослідження листків рослин *Carex hirta*, що зростали на забруднених нафтою ділянках [3], змінювалися не лише їх лінійні розміри, але й характер опушення адаксіальної поверхні листків. Так, на контрольних ділянках листки особин *Carex hirta* були опушеними і мали матову поверхню, а на забруднених нафтою площах спостерігалася форма з гладенькими неопушеними листками та блискучою поверхнею, чим, можливо, і пояснюється підвищення кількості продихів. При цьому розміри продихів істотно не змінюються під впливом водного дефіциту, спричиненого нафтовим забрудненням (табл. 1), що, очевидно, вказує на фенотипічну стійкість цієї ознаки [2].

Відомо, що продиховий апарат виконує основну роль у випаровуванні води рослинами, тому швидкість транспірації значною мірою залежить від ступеня їх відкритості [6]. Апертура продихів регулюється тургор-індукованими змінами розмірів продихових замикаючих клітин [13] і відіграє важливу роль у регуляції водного статусу рослини.

Результати наших досліджень виявили, що піки відкритості продихів листків рослин *Carex hirta*, які зростали за дії нафти, зміщені у часі (на 2 год) порівняно з контрольними (рис. 1). Так, максимума відкритості продихів у рослин, що зростали на нафтозабруднених ділянках, спостерігали о 12 та 17 год (ширина апертури 3,6 та 3,4 мкм відповідно), тоді як у контрольних – о 10 та 15 год (ширина апертури 6,6 та 4,0 мкм відповідно) (рис. 2).

Апертура продихів листків дослідних рослин осоки шорстковолохистої була менша порівняно з контрольними (рис. 3).

Відомо, що протягом доби рослини зазнають комплексного впливу факторів середовища, які спричиняють різний ступінь відкритості продихів у природних умовах. За умов стресу продихи можуть мати неповний ступінь відкритості або закриватись повністю [13, 5]. Показано, що апертура продихів зменшується при тривалій недостатці вологи у ґрунті [6], – це і підтверджують отримані нами результати досліджень. Можливо, таке зниження апертури продихів листків рослин, що зростали за умов водного

Таблиця 1  
Показники структури епідермісу листків *Carex hirta* L. за дії нафтового забруднення ґрунту

| Показник  | Контроль  | Нафта, 50 г/кг |
|---|-----------|----------------|
| Кількість епідермальних клітин на 1 мм <sup>2</sup> | 914,8±2,1 | 929,9±5,1      |
| Кількість продихів на 1 мм <sup>2</sup>             | 226,8±0,8 | 257,0±1,2      |
| Довжина продиху, мкм                                | 34±0,4    | 34,2±0,3       |
| Ширина продиху, мкм                                 | 21±0,2    | 21,8±0,2       |
| Продиховий індекс, %                                | 19,8      | 21,4           |

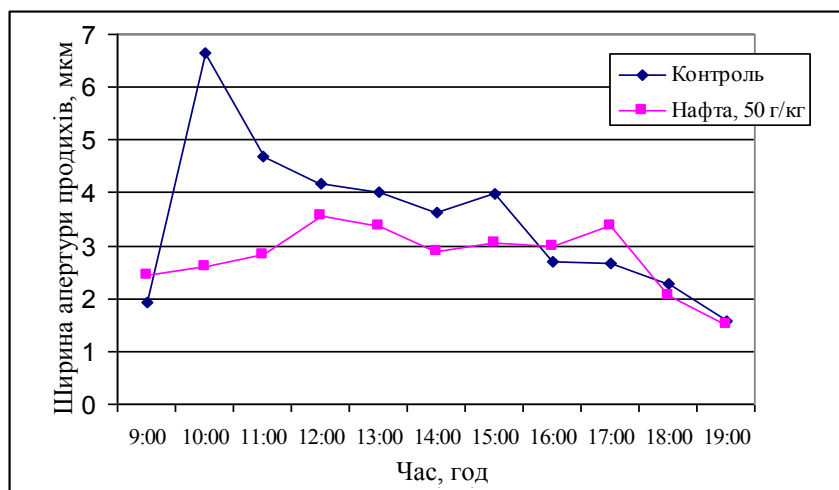


Рис. 1. Величина апертури продихів листків рослин *Carex hirta* L. за дії нафтового забруднення ґрунту (мкм).

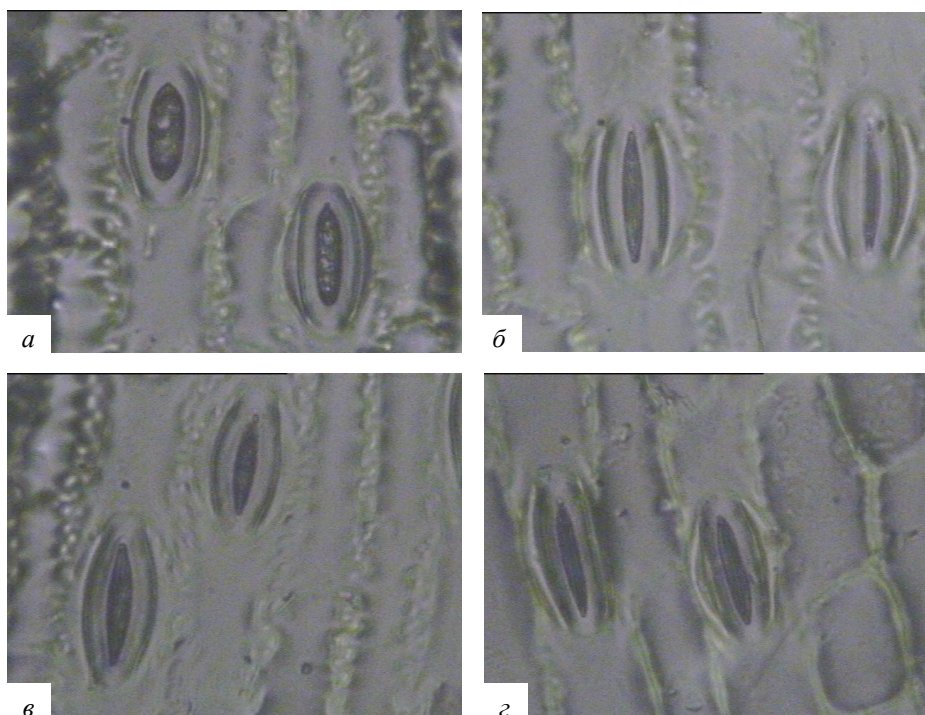


Рис. 2. Стан продихів листків рослин *Carex hirta* L. за нормальних умов (а – 10 год, б – 15 год) і за дії нафтового забруднення ґрунту, 50 г/кг (в – 12 год, г – 17 год),  $\times 800$ .

дефіциту, спричиненого нафтовим забрудненням, допомагає рослині, з одного боку, знизити витрати води, а з іншого – зменшити проникнення токсичних нафтових випарів у листки і, відповідно, зменшити включення їх у міжклітинний простір фотосинтезуючих тканин мезофілу.

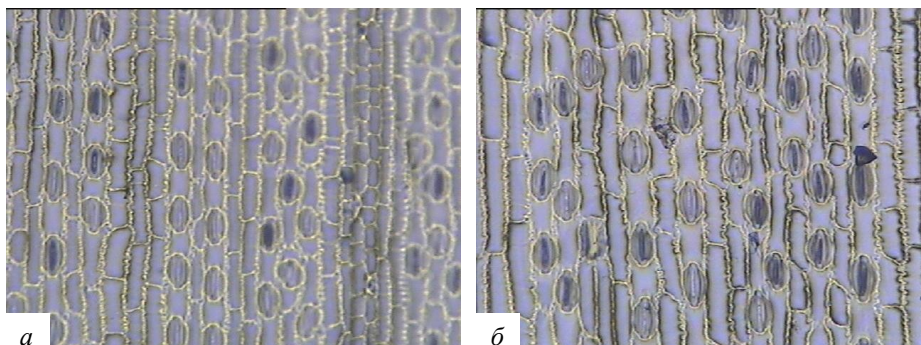


Рис. 3. Продихова плямистість абаксіальної поверхні листків рослин *Carex hirta* L. ( $\times 200$ ): *a* – контроль, *б* – за дії нафтового забруднення ґрунту, 50 г/кг.

У результаті проведених досліджень також було виявлено, що для продихів листків рослин осоки шорстковолохистої характерна так звана продихова плямистість, тобто різний ступінь відкритості продихів у певний момент часу (рис. 3).

Таке явище вперше спостерігали Лайск зі співавт. [14] на листках рослин *Vicia faba* L. і *Hordeum vulgare* L. Подібне явище продихової гетерогенності спостерігали Шаркі та Сіман [15] на листках *Faseolus vulgaris* L., аналізуючи інтенсивність включення радіоактивного вуглецю в продукти фотосинтезу при дії стресу (водного дефіциту), тоді як інтенсивність фотосинтезу у контролі на всіх ділянках листкової пластинки була однаковою. На листках рослин *Arbutus unedo* L. у змодельованих світлових і температурних умовах середніх широт було виявлено, що протягом доби продихова плямистість зазвичай існує у період до і після полудневої депресії фотосинтезу, тобто в денні години [7, 11]. Повна гомогенність продихів, тобто коли на всій листковій пластинці вони відкриті однаково, була зареєстрована авторами протягом лише двох коротких періодів: на світанку та перед смерканням.

Наші дослідження показали, що продихова плямистість є характерною як для рослин *Carex hirta*, що зростали у природних умовах (контроль), так і для тих рослин, що зростали за умов стресу, спричиненого нафтовим забрудненням ґрунту. Отримані результати свідчать про те, що явище неоднакового ступеня відкритості продихів у даний момент часу є характерним для рослин не лише за стресових умов, а й за природних умов зростання.

Зазначимо, що за Бергман [10] утворення продихів підпорядковується таким правилами: 1 – формуються через асиметричний поділ; 2 – розміщуються локально так, що два продихові комплекси ніколи не є суміжними один з одним (правило одноклітинного простору); 3 – кількість продихових комплексів контролюється у відповідь на фактори середовища. Нами виявлено, що нафтове забруднення спричиняє появу продихових комплексів (2–3 продихи) у рослин осоки шорстковолохистої, тоді як у контролі таких змін не відбувається (рис. 4).

З літератури відомо [10], що мутації у будь якого гені, який відповідає за закладання продихів, ведуть до зростання продихового індексу та до невідповідності правилу одноклітинного простору. Очевидно, що такі аномалії у формуванні продихів листків рослин *Carex hirta* могли бути спричинені впливом токсичних компонентів нафти на гени, що регулюють закладання продихів.

Отже, забруднення ґрунту нафтою у кількості 50 г/кг ґрунту призводить до зменшення ширини апертури продихів листків рослин осоки шорстковолохистої протягом

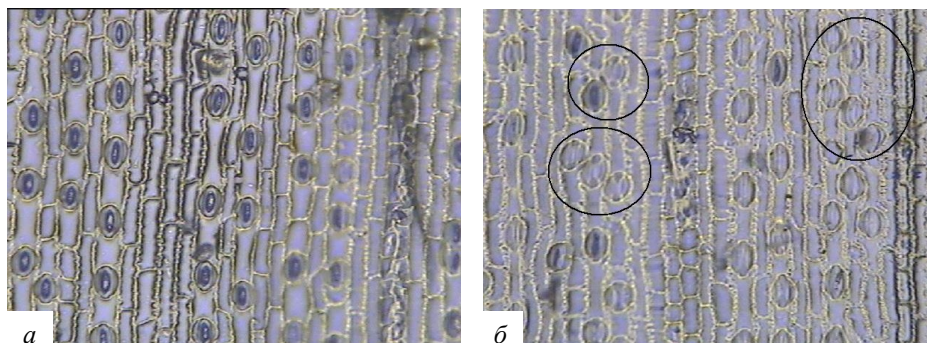


Рис. 4. Абаксiальна поверхня листкiв рослин *Carex hirta* L. ( $\times 200$ ): а – контроль, б – за дiї нафтового забруднення ґрунту, 50 г/кг.

дня. Цей факт може свiдчити про те, що рослина намагається оптимiзувати витрати води й адаптуватись до таких несприятливих умов зростання. Можна припустити, що реакцiї продихового апарату листкiв рослин *Carex hirta* (такi, як змiщення у часi пiкiв вiдкритостi продихiв та здатнiсть рослин вiдкривати їх в умовах водного дефiциту замисть очiкуваного закривання) можуть бути наслiдком змiн, спричинених нафтовим забрудненням, або залежати вiд генотипу даної рослини.

Очевидно, нафтове забруднення ґрунту (50 г/кг) не має суттєвого впливу на розмiри продихiв i величину продихового iндексу, що може свiдчити про розвиненi адаптацiйнi механiзми стiйкостi *Carex hirta*. Проте токсичнi компоненти нафти, проникаючи в рослину, можуть призводити до мутацiй у генах, якi вiдповiдають за закладання i формування продихiв, про що свiдчить поява продихових комплексiв.

1. Василевская В. К. Формирование листа засухоустойчивых растений. Ашхабад, 1954. С. 184.
2. Гуменюк І. Д., Мусатенко Л. І. Анатомічні особливості вегетативних органів *Persicaria amfibia* (L.) Delarbe за умов помiрного водного дефiциту // Укр. ботан. журн. 2006. Т. 63. № 5. С. 699–712.
3. Джуря Н., Цвiлинюк О., Терек О. Вплив нафтового забруднення ґрунту на морфо-фiзiологiчнi особливостi осоки шершаволистої (*Carex hirta*) // Вiсн. Львiв. ун-ту. Сер. бiол. 2005. Вип. 40. С. 51–58.
4. Заленский В. Р. Материалы к количественной анатомии различных листьев одних и тех же растений. К., 1904. С. 211.
5. Кудоярова Г. Р. и др. Реакция устьиц на изменение температуры и влажности воздуха у растений разных сортов пшеницы, районированных в контрастных климатических условиях // Физиология растений. 2007. Т. 54. № 1. С. 54–58.
6. Малофеев В. М. Исследования физиологических функций растений в природных условиях. М.: Изд-во Ун-та дружбы народов, 1988. С. 6–24.
7. Полонский В. И. Суточная динамика состояния устьиц огурца и томатов в контролируемых условиях выращивания // Физиология и биохимия культ. растений. 2003. Т. 35. № 1. С. 29–34.
8. Забруднення пiдземного середовища легкими нафтопродуктами та визначення захисних властивостей зони аерацiї / За ред. М.С. Огняник, Н.К. Парамонова, А.Л. Брикс та iншi. К.: Знання, 2000. С. 68.

9. Казенов С. М., Арбузов А. И., Ковалевский Ю. В. Воздействие объектов нефтепродуктообеспечения на геоэкологическую среду // Геоэкология. 1998. С. 54–74.
10. Bergmann D. C. Integrating signals in stomatal development // Current Opinion in Plant Biology. 2004. Vol. 7. P. 26–32.
11. Beyschlag W., Pfanz H. A fast method to detect the occurrence of nonhomogeneous distribution of stomatal aperture in heterobaric plant leaves // Oecologia. 1990. Vol. 82, N 1, P. 52–55.
12. Broadley M., Escobar-Gutiérrez A., Burns A., Burns I. Nitrogen-limited growth of lettuce is associated with lower stomatal conductance // New Phytologist. 2001. Vol. 152. P. 97–106.
13. Brownlee C. The long and the short of stomatal density signals // TRENDS in Plant Science. 2001. Vol. 6. P. 441–442.
14. Laisk A., Oja V., Kull K. Statistical distribution of stomatal aperture of *Vicia faba* and *Hordeum vulgare* and the spannungsphase of stomatal opening // J. Exp. Bot. 1980. Vol. 31. N 120. P. 49–58.
15. Sharkey D., Seeman J. R. Mild water stress effects on carbon-reduction-cycle intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity, and spatial homogeneity of photosynthesis in intact leaves // Plant Physiol. 1989. Vol. 89. N 4. P. 1060–1065.

#### STOMATAL BEHAVIOUR IN *CAREX HIRTA* L. PLANTS UNDER OIL POLLUTION

H. Korovetska, R. Sohanchak, N. Djura, O. Tsvilynjuk, O. Terek

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: korovetska@ukr.net, biofr@franko.lviv.ua*

It was investigated the influence of oil contamination on stomatal behaviour in *Carex hirta* plants. The results showed that the width of stomatal aperture in plants decreased under oil pollution level in 50 g/kg. Oil pollution had no impact on the stomatal index and stomatal dimensions of the abaxial leaf surface of *Carex hirta* plants. Stomatal complexes appeared (2–3 stoma) in sedge plants which grew in oil contaminated soil. That was probably caused by the influence of toxic oil compounds on the gene which regulates stomatal patterning.

*Key words: Carex hirta, stomata, oil contamination.*

Стаття надійшла до редколегії 22.05.08

Прийнята до друку 06.06.08