



УДК 662.271.4+541.144

ВМІСТ ПІГМЕНТІВ І СТРУКТУРА ХЛОРОПЛАСТІВ КУНИЧНИКА НАЗЕМНОГО (*CALAMAGROSTIS EPIGEIOS* (L.) ROTH) ЗА УМОВ РОСТУ НА ВІДВАЛАХ ПОРОДИ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ

В. Баранов², С. Бешлей¹, Р. Соханьчак¹, М. Козловський¹

¹Інститут екології Карпат НАН України, вул.Козельницька, 4, Львів 79026, Україна
e-mail: beshley.stepan@gmail.com; ecoinst@mail.lviv.ua

²Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

Вивчено зміни пігментного складу та структури хлоропластів у листках рослин *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth, які ростуть на різних субстратах породного відвалу вугільних шахт. Показано, що відбуваються зміни вмісту пігментів фотосинтезу та будови хлоропластів *C. epigeios* за дії несприятливих факторів едафотопу.

Ключові слова: хлоропласти, пігменти фотосинтезу, кунічник наземний, породні відвали вугільних шахт.

ВСТУП

Відвали вугільних шахт є техногенними джерелами забруднення води, землі та повітря. Особливістю породи (субстратів) відвалів є значний вміст важких металів, кислотність, яка зумовлена окисненням сірковмісного мінералу піриту тіоновими бактеріями (*Thiobacillus ferrooxidans*), малим значенням вологи, органічної речовини [1, 18]. Перші два чинники негативно впливають не лише на рослини, які ростуть у цих умовах, але й на функціонування екосистеми в цілому. Для оцінки токсичного впливу субстратів відвалів на рослинні угруповання, які формуються на відвалах, використовують різні показники, що відображають вплив стресових чинників на рослини. Це популяційні (на рівні популяцій), фізіологічні (на рівні організму) та біохімічні параметри стану живих систем, що відображають негативний вплив багатофакторного стресу на рослини. Однією з первинних ланок метаболізму, яка зазнає дії екзогенних стресових факторів, викликаних техногенним навантаженням, є фотосинтетична система, яка формується пігментами, білками, білково-ліпідними комплексами, що сконцентровані у хлоропластах [14].

Вивченню пігментного фонду рослин за дії на них різних екологічних чинників приділяється велика увага [9, 17]. Однією з найважливіших характеристик фотосинтетичного апарату, що визначає його активність і розвиток, є вміст хлорофілів. Показана пряма залежність між їх кількістю і продуктивністю рослин, життєздатністю і стійкістю до несприятливих чинників [5–7, 12, 13, 22]. Аналіз літературних даних

свідчить про негативну дію важких металів і кислотності на вміст хлорофілу. Надлишок у середовищі вирощування таких елементів, як Cd, Zn, Co, Mn зумовлює зниження рівня хлорофілу в рослинах [3, 4]. Щодо впливу малого рівня рН на рослини доведено, що за рівня показників рН 3,2–3,4 хлорофіл окислюється, а при рН 2–3 перетворюється на феофітин [15]. Однак вивчення сумісної дії важких металів і кислотності едафотопу відвалів (багатофакторного стресу) на фотосинтетичний апарат домінуючих рослин при сукцесії рослинності териконів є недостатнім.

У роботі досліджували вплив едафічних умов субстратів породного відвалу Центральної збагачувальної фабрики (с. Сілець Львівської області) на вміст пігментів і структуру хлоропластів куничника наземного (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth), який одним із перших поселяється на відвалах вугільних шахт і стає домінуючим видом у рослинному угрупованні на кореневищній стадії сукцесії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для визначення пігментів фотосинтезу зважували 0,5 г листків, розтирали їх у фарфоровій ступці з 10 мл 100% ацетону, настоювали 10–15 хв і фільтрували через скляний фільтр Шота № 2 в колбу Бунзена. Оптичну густину вимірювали на фотоколориметрі КФК-3 у кюветах з товщиною шару 10 мм при довжинах хвиль 662, 644, 450 та 445 нм [16]. Обрахунок вмісту пігментів фотосинтезу проводили за формулами Ветштейна [8]. Для дослідження ультраструктурних змін хлоропластів у клітинах листків куничника наземного їх фіксували в 1,5% розчині OsO₄ у какодилатному буфері (рН 7,2) протягом 180 хв при 0–4°C. Фіксовані клітини зневоднювали у розчинах, збільшуючи концентрації етанолу і пропіленоксиду, та переносили в епоксидну смолу Ерон-812. Ультратонкі зрізи клітин отримували на ультрамікроскопі УМТП-6 і контрастували плюмбум цитратом за Рейнольдсом [27]. Перегляд і фотографування зразків здійснювали на електронному трансмісійному мікроскопі ПЕМ-100 за прискорювальної напруги 75 кВ і збільшення у 4 000 разів.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Під час формування едафотопу відвалів визначальна роль належить автотрофному блоку, а особливо видам, які забезпечують його оптимізацію та створюють сприятливі мікрокліматичні умови для поселення інших видів. Важливу роль у цьому відіграє асиміляційний апарат. Пігментна система, яка є основною структурою цього апарату, є дуже чутливою до екзогенних впливів. За впливу багатофакторного стресу на рослинний організм зміни можуть відбуватись як на рівні клітин, органел, так і на рівні молекул. Більшість політантів, які потрапляють у рослинні клітини, акумулюються у хлоропластах, спричиняючи їх деструкцію, що призводить до підвищення активності хлорофілази, яка руйнує хлорофіл-білково-ліпідний комплекс фотосинтетичного апарату і призводить до зменшення інтенсивності фотосинтезу [2]. Тому вміст пігментів у фотосинтезуючих органах рослин є важливим показником, що не лише характеризує їх життєвий стан, а й може бути використаний як біомаркер стану навколишнього середовища.

Під час визначення вмісту пігментів у листках куничника спостерігалася класична закономірність їх розподілу з невеликими відхиленнями на різних субстратах відвалу ЦЗФ (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст пігментів фотосинтезу в листках *Calamagrostis epigeios* за умов росту на різних субстратахTable 1. Content of photosynthesis pigments in leaves of *Calamagrostis epigeios* under growth on different substrates

Місцезростання	Вміст пігментів у мг/г сирової маси			
	Хлорофіл <i>a</i>	Хлорофіл <i>b</i>	Сума каротиноїдів	Хл. <i>a</i> /Хл. <i>b</i>
Насадження сосни	1,07±0,07	0,62±0,03	0,20±0,01	1,71
Чорна порода	1,35±0,02	0,78±0,01	0,16±0,01	1,72
Червона порода	0,89±0,02	0,51±0,02	0,29±0,01	1,74

За умов росту на чорному (перегорілому) субстраті відвалу спостерігали зменшення вмісту хлорофілів порівняно з контрольними рослинами (відібраними в насадженнях сосни навколо фабрики). Поясненням цього може бути те, що відбувається порушення біосинтезу хлорофілу, спричинене більшою кількістю рухомих форм важких металів, які є доступними для рослин.

Окрім цього, спостерігається незначна зміна співвідношення хлорофілу *a* і *b* на різних субстратах. У нормі співвідношення між хлорофілом *a* та *b* не може бути менше 1,4, а зазвичай становить 2,1 та вище [25], але за дії стресових факторів (нафтове забруднення [10], низькотемпературний стрес на стадії цвітіння [23], забруднення повітря в межах промислового міста [20]) їх співвідношення може значно коливатися.

Співвідношення пігментів хл.*a*/хл.*b* були обчислені для виявлення ознак світлолюбності чи тіневитривалості у рослин *C. epigeios* із різних місцезростань на відвалах вугільних шахт. Кунічник наземний – світлолюбна рослина [11], і на плоских ділянках породного відвалу, де немає затіненості (більша інтенсивність світла), потрібно менше світлозбиральних пігментів антенних комплексів, менше синтезується хлорофіл *b*, знижується його вміст і збільшується співвідношення хлорофілів *a/b* за умов росту на субстратах породного відвалу.

У загальній оцінці впливу багатофакторного стресу на зміну пігментного фонду рослин значний інтерес становлять як зміни вмісту хлорофілів, так і кількісні зміни каротиноїдів, оскільки ці пігменти відіграють важливу роль у функціонуванні фотосинтетичного апарату [13, 24, 26]. Вони мають фітопротекторні й антиоксидантні властивості. У нашому випадку за умов росту кунічника наземного на неперегорілій породі каротиноїди захищають хлорофіли від фотоокиснення, і їх вміст знижується. На противагу цьому на перегорілій породі вміст каротиноїдів є вищим, ніж у контрольних рослин, отже, вони не виконують своїх протекторних властивостей, і відбувається зниження вмісту хлорофілів. Зниження рівня каротиноїдів і втрата ними фітопротекторних властивостей призводить до порушення нормального функціонування структур хлоропласта, що видно на електронних фотографіях хлоропластів (рис. 1).

За умов впливу негативних чинників субстратів відвалу в пігментному комплексі спостерігаються не тільки кількісні, а й значні якісні зміни, зокрема зміна кількості та структури хлоропластів.

Електронно-мікроскопічне дослідження показало, що у хлоропластів рослин, які росли на чорному (неперегорілому) та червоному (перегорілому) субстратах, які відрізняються між собою вмістом важких металів, органічної речовини, значен-

ням рН, польовою вологістю, спостерігається збільшення їх розмірів, порівняно з контрольними (табл. 2).

Таблиця 2. Лінійні розміри хлоропластів у листках

Table 2. Linear sizes of chloroplasts in leaves

Місцезростання	Довжина, мкм	Ширина, мкм	Площа, мкм ²
Насадження сосни	3,71±0,27	1,52±0,07	4,68±0,51
Червона порода	6,26±0,38	2,23±0,07	10,23±0,45
Чорна порода	3,98±0,12	1,97±0,05	5,98±0,19

На деяких фотографіях видно, що мембрани хлоропластів були набряклими, місцями відшарованими і частково розірваними. Строма була більш грубозернистою, місцями значно просвітленою. У хлоропластах рослин, які росли на субстратах відвалу, відбувалося утворення вуглеводнів, які накопичувалися у вигляді крохмальних зерен. Накопичення крохмалю є однією із ознак стійкості рослин до водного дефіциту [21], адже субстрат відвалів є крупнозернистим і характеризується провальною водопроникністю, відсутністю водопідйомної здатності та характеризується малою вологоємністю [19].

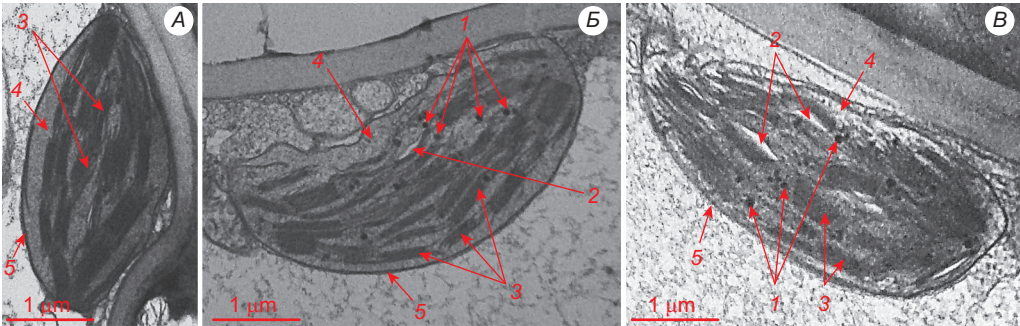


Рис. Електронно-мікроскопічні фотографії хлоропластів *Calamagrostis epigeios*, за умов росту на різних субстратах: А – насадження сосни; Б – чорна порода; В – червона порода.

1 – пластоглобула; 2 – крохмальне зерно; 3 – грана; 4 – строма; 5 – зовнішня мембрана хлоропласта

Fig. Electron microscopy study of chloroplasts of *Calamagrostis epigeios* under growth on different substrates: А – plantation of the pine; Б – black rock; В – red rock.

1 – plastoglobule; 2 – starch granule; 3 – grana; 4 – stroma; 5 – outer chloroplast membrane

Таким чином, зміни співвідношення пігментів фотосинтезу, розмірів хлоропластів, нагромадження у них вуглеводнів є адаптивними реакціями рослини породного відвалу – куничника наземного до негативних факторів едафотопу.

1. Баранов В. І., Книш І. Б. Хіміко-мінералогічний склад порід відвалу вугільних шахт ЦЗФ „Львівсистеменерго” та їх вплив на проростання насіння. **Промислова ботаніка: стан та перспективи розвитку**. Матеріали V міжнар. наук. конф. Донецьк, 2007: 36.
2. Бессонова В.П. Вплив важких металів на пігментну систему листка. **Український ботан. журнал**, 1992, 49(2): 63–66.

3. Бессонова В.П., И.И. Лыженко И.И., О.Ф. Михайлов О.Ф., Кулаева О.И. Влияние кинетина на рост проростков гороха и содержание пигментов при избытке цинка в питательном растворе. **Физиология растений**, 1985, 32(1): 153–159.
4. Бессонова В.П., Лыженко И.И., Михайлов О.Д., Кулаева О.Н. Влияние цитокинина на рост растений и содержание хлорофилла в листьях в условиях загрязнения среды. **Физиология растений**, 1984, 31(6): 1149–1153.
5. Бессонова В.П., Михайлов О.Ф., Корытова А.И. Динамика пигментов и углеводов в листьях акации белой, произрастающей в различных лесорастительных условиях. **Вопросы степного лесоведения и охраны природы**. Днепропетровск: ДГУ, 1976: 100–105.
6. Володарский Н. И., Быстрых Е.Б., Николаев Е.К. Об эффективности фотосинтеза у озимой пшеницы и высокопродуктивных сортов. **Научн. докл. высш. шк. Биол. науки**, 1980. 9: 84–90.
7. Володарский Н.И., Быстрых Е.Е. Особенности световой стадии фотосинтеза в онтогенезе высокопродуктивных сортов озимой пшеницы. **С.-х. биология**, 1981; 16(6): 847–854.
8. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. **Фотосинтез. Дыхание**. Москва: Высшая школа, 1975. 392 с.
9. Гетко Н.В. **Растения в техногенной среде**. Минск: Наука и техника, 1989. 209 с.
10. Джура Н., Цвілінюк О., Терек О. Реакції осоки на нафтове забруднення. **Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.**, 2006; 2: 142–146.
11. **Злаки Украины**. Київ: Наук. думка, 1977. 519 с.
12. Куренкова С.В. Содержание и состояние пигментов. **Физиология и биохимия многолетних трав на севере**. Ленинград: Наука, 1982: 19–30.
13. Курчій Б.О. Абсцизова кислота як кінцевий продукт антиокислювального метаболізму ксантофілів, зумовленого дією диквату. **Физиология и биохимия культ. растений**, 2000, 32(4): 334–338.
14. Мокронос А. Т., Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. **Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты**. Москва: Академия, 2006. 448 с.
15. Мусієнко М.М. **Фізіологія рослин**: Підручник. Київ: Фітосоціоцентр, 2001. 392 с.
16. Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славиий П.С. **Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин**. Київ: Фітосоціоцентр, 2001: 49–50.
17. Николаевский В.С. **Биологические основы газоустойчивости растений**. Новосибирск: Наука, 1979. 280 с.
18. Попович В.В. Характеристика осередків самозаймання породних відвалів вугільних шахт Нововолинського гірничопромислового району. **Наук. вісн. УкрДЛТУ**, 2009; 19(12): 77–82.
19. **Почвоведение** / Под ред. И.С. Кауричева. Москва: Агропромиздат, 1989. 719 с.
20. Приступа І.В., Шалімов І.В., Романчук Т.В. Динамика вмісту фотосинтезуючих пігментів як фітоіндикаційний показник у представників р. *Junciregus*, що зростають в умовах промислового міста південного сходу України. **Питання біоіндикації та екології**. Запоріжжя: ЗНУ, 2009; 1: 23–30.
21. Сакало В.Д., Марченко К.А., Курчій В.М. Синтез і метаболізм сахарози в листках проростків кукурудзи за умов водного дефіциту. **Физиология и биохимия культ. растений**, 2009; 41(4): 305–313.
22. Сергейчик С.А. **Древесные растения и оптимизация промышленной среды**. Минск: Наука и техника, 1984. 168 с.
23. Станецька Д. М., Коваль І. В., Джуренко Н. І. та ін. Вплив високотемпературного стресу на пігментний комплекс видів роду *Solidago L.* в репродуктивний період. **Вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол.**, 2011: 30; 192–196.
24. Таран Н.Ю. Каротиноїди фотосинтетичних тканин за умов посухи. **Фізіологія і біохімія культ. рослин**, 1999, 31(6): 414–422.

25. Green B., Pichersky E. Hypothesis for the evolution of three-helix Chl *a/b* and Chl *a/c* light-harvesting antenna proteins from two-helix and four-helix ancestors. **Photosynth. Res**, 1994, 39: 149–162.
26. Quin P.J., Williams J.P. The structural role of lipids in photosynthetic membranes. **Biochim et Biophys. Acta**, 1983, 737(2): 223–266.
27. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque in electron microscopy. **J. Cell Biol**, 1963; 17: 208–212.

СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ И СТРУКТУРА ХЛОРОПЛАСТОВ ВЕЙНИКА НАЗЕМНОГО (*CALAMAGROSTIS EPIGEIOS* (L.) ROTH) ПРИ РОСТЕ НА ОТВАЛАХ ПОРОДЫ УГОЛЬНЫХ ШАХТ

В. Баранов², С. Бешлей¹, Р. Соханьчак¹, М. Козловський¹

¹Институт экологии Карпат НАН Украины, ул. Козельницкая, 4, Львов 79026, Украина
e-mail: beshley.stepant@gmail.com; ecoinst@mail.lviv.ua

²Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

Изучены изменения пигментного состава и структуры хлоропластов в листьях растений *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth, растущих на разных субстратах породного отвала угольных шахт. Показано, что происходят изменения содержания пигментов фотосинтеза и строения хлоропластов *C. epigeios* при воздействии неблагоприятных факторов эдафотопы.

Ключевые слова: хлоропласт, пигменты фотосинтеза, вейник наземный, субстраты породных отвалов угольных шахт.

CONTENT OF PIGMENTS AND STRUCTURE OF CHLOROPLASTS OF *CALAMAGROSTIS EPIGEIOS* (L.) ROTH UNDER GROWTH ON COAL MINES ROCK DUMPS

V. Baranov², S. Beshley¹, R. Sokhanchak¹, M. Kozlovsky¹

¹Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine, 4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine
e-mail: beshley.stepant@gmail.com; ecoinst@mail.lviv.ua

²Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine

Changes in pigment composition and structures of chloroplasts in leaves of the *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth plants, growing on different substrates of coal mines rock dump were studied. Changes in content of photosynthetic pigments and chloroplast's structure of *C. epigeios* under the effect of adverse factors of soil conditions were revealed.

Keywords: chloroplast, photosynthesis pigments, *Calamagrostis epigeios*, coal mine rock dumps.

Одержано: 12.11.2011