

ОСОБЕННОСТИ МЕЗОСТРУКТУРЫ ЛИСТА И ФОТОСИНТЕЗ У ОРХИДЕИ *PLATANThERA BIFOLIA* В УСЛОВИЯХ ЗОЛОТВАЛА

Чукина Н.В.*, Борисова Г.Г., Малева М.Г., Лукина Н.В., Елькина А.В.,
Синенко О.С., Филимонова Е.И.

Уральский федеральный университет
им. первого Президента России Б. Н. Ельцина,
г. Екатеринбург, Россия, e-mail: nady_dicusar@mail.ru

Важной предпосылкой для успешной интродукции редких и исчезающих видов растений является изучение их адаптивных возможностей в естественных условиях. Проведён сравнительный анализ морфофизиологических характеристик (мезоструктура листа, состояние пигментного комплекса и ассимиляция углекислого газа) у орхидеи *Platanthera bifolia* (L.) Rich. в трансформированном (золоотвал Среднеуральской ГРЭС) и естественном (лесной фитоценоз) местообитаниях Среднего Урала. Обнаружено, что орхидея, произрастающая на золоотвале, отличалась от растений из лесного фитоценоза достоверно большей толщиной мезофилла и эпидермиса листа. При этом была отмечена тенденция к увеличению числа клеток мезофилла в единице площади листа. По содержанию фотосинтетических пигментов между изученными популяциями различий не выявлено. Однако ассимиляция углекислоты у орхидеи с золоотвала была достоверно выше, чем в естественном фитоценозе. Проведённые исследования показали, что обнаруженные перестройки в мезоструктуре фотосинтетического аппарата *P. bifolia* способствуют натурализации этой орхидеи в неблагоприятных условиях золоотвала.

Ключевые слова: любка двулистная, зольный субстрат, морфофизиологические адаптации, фотосинтетические пигменты, ассимиляция углекислого газа.

В настоящее время в связи с активной хозяйственной деятельностью человека всё большую актуальность приобретает проблема сохранения биологического разнообразия. Интродукция растений, как отрасль ботаники, на современном этапе решает важную задачу сохранения генофонда и биоразнообразия растений [10]. Неотъемлемой частью общей стратегии охраны флоры является культивирование редких и исчезающих видов растений в ботанических садах и дендропарках.

Семейство орхидные (Orchidaceae Juss.) – одно из наиболее привлекательных среди растительного мира благодаря необычайной декоративности большинства представителей и удивительному своеобразию их биологии. Многие виды этого семейства относят к

редким и исчезающим, требующим охраны [1]. Одним из таких представителей орхидей является *Platanthera bifolia* (L.) Rich (любка двулистная), которая занесена в Красную книгу многих регионов Российской Федерации, включая Свердловскую область [5].

Сохранению редких видов растений *ex situ* часто предшествует изучение их адаптационных возможностей в естественных условиях. В связи с этим необходимо иметь достаточно полное представление об особенностях биологии орхидных, их устойчивости к неблагоприятным природным и антропогенным факторам. Отмечено, что орхидея *P. bifolia* способна к натурализации в трансформированных местообитаниях: её популяции были обнаружены на нарушенных территориях многих регионов [6, 7, 11–13]. Изучение структурно-функциональных особенностей редких видов семейства Orchidaceae в техногенно нарушенных экотопах необходимо для решения прикладных задач, связанных с выявлением оптимальных условий для их интродукции и натурализации. Однако сведения об адаптивных морфофизиологических характеристиках орхидей, способствующих формированию их популяций на техногенных субстратах, являются фрагментарными.

Цель исследования – выявить особенности мезоструктуры листа, пигментного комплекса и ассимиляции углекислого газа у орхидеи *Platanthera bifolia*, способствующие её натурализации в неблагоприятных условиях золоотвала.

Объекты и методы. *Platanthera bifolia* – это травянистый многолетник с удлинённо-веретеновидным тубероидом, мезофит, европейско-западноазиатский бореально-неморальный вид. Данная орхидея характеризуется широкой экологической пластичностью: относится к лесолуговому, опушечно-лесному виду, не обнаруживающему строгой приуроченности к определенному типу фитоценоза [1]. По типу жизненной стратегии *P. bifolia* относится к группе растений, сочетающих свойства эксплерентов и ценотических пациентов [12].

Для достижения поставленной цели у *P. bifolia* были изучены анатомо-морфологические параметры (мезоструктура) листа, содержание фотосинтетических пигментов и интенсивность ассимиляции CO_2 .

Отбор растительного материала проводили в течение 2 лет в период цветения орхидеи (середина июля 2018–2019 гг.) на золоотвале Среднеуральской государственной районной электростанции (СУГРЭС), расположенной на берегу Исетского озера в 26 км от г. Екатеринбурга. В качестве контроля отбирали образцы растений в естественном растительном сообществе (сосняк-черничник, сомкнутость крон – 0,7–0,8), расположенном в окрестностях биологической станции УрФУ, в 50 км к юго-востоку от г. Екатеринбурга [14].

Для изучения характеристик мезоструктуры фотосинтетического аппарата с 10 генеративных особей данного вида из каждого местообитания отбирали высечки с нижних, полностью сформированных листьев. Поперечные срезы получали с использованием замораживающего микротомы МЗ-2 (Россия). Мезоструктурные характеристики (толщина листа, эпидермиса и мезофилла, количество и объём клеток мезофилла и хлоропластов) определяли согласно [8] в 30 повторностях при помощи системы Siams Mesoplant (Россия) с использованием светового микроскопа Meiji MT 4300L (Япония). Удельную поверхностную плотность листа (УППЛ) рассчитывали, как отношение сухой массы к площади.

Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов) определяли в четырёх повторностях спектрофотометрически на PD-303UV («APEL», Япония) при длинах волн 470, 647 и 663 нм после экстракции в 80%-ном ацетоне и рассчитывали согласно Lichtenthaler [19].

Для оценки интенсивности фотосинтеза из каждого местообитания отбирали по 3 генеративных особи. Растения аккуратно выкапывали вместе с корневой системой и частью субстрата (глубина 25–30 см), помещали в стерильный пакет и доставляли в лабораторию. Скорость ассимиляции CO₂ измеряли на портативном инфракрасном газовом анализаторе LI-6400XT («LICOR», США) при насыщающей интенсивности света 1 600 мкМ/(м² с), температуре в камере – 23 °С и 50%-ной влажности.

В таблице и на рисунках представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. Звёздочками отмечены достоверные различия между изученными популяциями. Достоверность различий оценивали в программе Statistica 10.0 по критерию Манна-Уитни при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Известно, что на анатомо-морфологическую структуру листа растений оказывают существенное влияние как природные факторы: влажность, освещённость, солевой состав почвы и другие, так и уровень загрязнённости окружающей среды [4]. Зольные субстраты, на которых произрастают растения в трансформированных местообитаниях, характеризуются неблагоприятными физико-химическими свойствами и низким плодородием [13, 17, 18, 20]. Адаптация растений к неблагоприятным условиям местообитания возможна благодаря перестройке фотосинтетического аппарата и регуляции фотосинтеза на морфогенетическом уровне, что внешне проявляется как изменение мезоструктуры листа [8].

Важнейшим показателем физиологических процессов в растении является УППЛ, поскольку он отражает сухой вес единицы площади листа, и зависит от скорости роста, интенсивности фотосинтеза и газообмена

[14]. Достоверных различий между изученными популяциями по данному показателю обнаружено не было. В среднем для растений *P. bifolia* величина УППЛ составляла 332 ± 10 мг/дм², однако удельная плотность листа растений с золоотвала варьировала в более широких пределах (табл. 1).

Орхидеи, произрастающие на зольном субстрате, отличались от растений из лесного фитоценоза достоверно большей толщиной листа. Эти изменения связаны со статистически значимым увеличением толщины эпидермиса и мезофилла листа (рис. 1). Подобные данные были получены и в других исследованиях [14, 16].

Сравнительный анализ мезоструктуры фотосинтетического аппарата показал, что число клеток мезофилла в единице площади листа у *P. bifolia* на зольном субстрате в среднем на 10 % больше, чем у растений из контрольного местообитания. Обнаружена аналогичная тенденция по числу пластид в единице площади: их максимальное количество достигало $9 \cdot 10^6$ /см². Это может оказывать положительное влияние на интенсивность фотосинтеза, поскольку внутренняя архитектура листа обеспечивает оптические свойства и скорость диффузии углекислого газа внутри листа к центрам карбоксилирования [9]. Вероятно, это позволяет растениям адаптироваться к стрессу в условиях техногенного местообитания за счёт увеличения внутренней ассимилирующей поверхности листа [8, 15].

При этом у орхидеи из исследованных местообитаний достоверных различий по объёму хлоропластов не найдено. Известно, что объём хлоропластов достаточно стабильная величина, которая мало подвержена фенотипическим изменениям [8].

Таблица 1

**Параметры мезоструктуры
листа *P. bifolia* из изученных местообитаний**

Параметр	Показатель	Лесной фитоценоз	СУГРЭС
Удельная поверхностная плотность листа, мг/дм ²	среднее	329,8 ± 9,4	334,5 ± 13,8
	lim	311,4–351,0	283,1–402,0
Толщина листа, мкм *	среднее	306,4 ± 7,8	403,0 ± 4,9
	lim	264,0–374,0	374,0–440,0
Число клеток мезофилла, *10 ³ /см ²	среднее	84,5 ± 1,8	94,1 ± 2,9
	lim	71,4–100,9	71,6–127,4
Число хлоропластов, *10 ⁶ /см ²	среднее	6,2 ± 0,1	7,1 ± 0,2
	lim	5,2–7,4	5,4–9,6
Объём клеток мезофилла, *10 ³ мкм ³	среднее	154,7 ± 13,5	168,5 ± 12,7
	lim	58,1–319,7	53,1–299,9
Объём хлоропласта, мкм ³	среднее	39,3 ± 2,9	42,9 ± 1,9
	lim	27,9–49,9	25,2–69,6

Достоверное увеличение толщины эпидермиса у растений *P. bifolia*, обитающих в условиях золоотвала (рис. 1а), может быть связано с высоким уровнем запылённости и является адаптацией к неблагоприятным условиям.

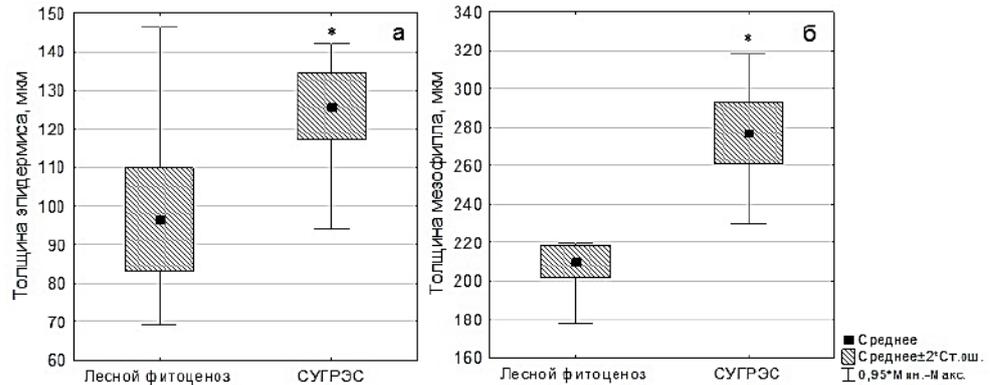


Рис. 1. Толщина эпидермиса (а) и мезофилла (б) листа *P. bifolia* из изученных местообитаний

Таким образом, у орхидеи с золоотвала наблюдались признаки ксероморфизма: утолщённый эпидермис и мезофилл. Вероятно, это связано с адаптацией растений к комплексу факторов, сформировавшихся на отвале (высокий уровень освещённости, особенности водного режима и субстрата).

Перестройка фотосинтетического аппарата позволяет растениям существовать в различных условиях, в том числе и в техногенно нарушенной среде. Имеются неоднозначные данные о состоянии пигментного комплекса в неблагоприятных условиях. Обычно в условиях стресса происходит снижение содержания фотосинтетических пигментов за счёт их деградации или ингибирования синтеза, но некоторые авторы отмечают адаптивные перестройки пигментного аппарата, вследствие чего количество пигментов может увеличиваться [2, 14, 15].

В нашем случае достоверных различий по содержанию пигментов у *P. bifolia* в естественном фитоценозе и на золоотвале не обнаружено (рис. 2а), что свидетельствует об устойчивости пигментного комплекса этой орхидеи к техногенному стрессу.

Важной характеристикой пигментного комплекса растений является не только содержание отдельных фотосинтетических пигментов, но и их соотношение. Отношение хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* у *P. bifolia* достоверно не отличалось (в среднем составляло 2,2). При этом отношение суммы хлорофиллов *a* и *b* к каротиноидам у растений

на трансформированном участке было достоверно ниже (на 17 %). Это может быть связано с более высокой инсоляцией в условиях золоотвала, поскольку увеличение количества каротиноидов способствует защите хлорофиллов от фотоингибирования [3].

Скорость ассимиляции CO_2 у *P. bifolia* в нарушенном местообитании была достоверно выше, чем в естественном фитоценозе (рис. 2б). Вероятно, это связано с более высоким уровнем освещённости и адаптивными перестройками в мезоструктуре фотосинтетического аппарата.

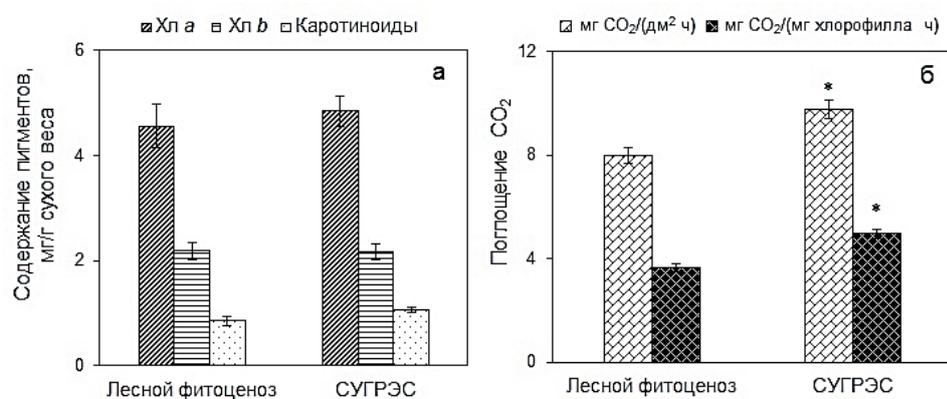


Рис. 2. Содержание фотосинтетических пигментов и скорость ассимиляции CO_2 у *P. bifolia* из изученных местообитаний

Заключение. Проведённые исследования показали, что фотосинтетический аппарат *Platanthera bifolia* характеризуется достаточно высокой устойчивостью к техногенному стрессу и, вместе с тем, пластичностью. Структурные перестройки, которые произошли в фотосинтетическом аппарате орхидеи, обеспечивают существование вида в неблагоприятных условиях. Всё это свидетельствует о том, что *P. bifolia* является перспективным видом для интродукции. Культивирование этой орхидеи в ботанических садах и дендропарках будет способствовать сохранению её генофонда.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ и Правительства Свердловской области в рамках научного проекта № 20-44-660011 и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Государственного задания Уральского федерального университета, FEUZ-2020-0057.

Библиографический список

1. Вахрамеева М.Г., Варлыгина Т.И., Татаренко И.В. Орхидные России (биология, экология и охрана). – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 475 с. – ISBN 978-5-87317-997-8.
2. Гарифзянов А.Р., Иванишев В.В., Музафаров Е.Н. Оценка устойчивости *Betula pendula* Roth. при произрастании на техногенно загрязнённых территориях. Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. – 2011. – № 2. – С. 315-324. – ISSN 2071-6176.
3. Головки Т.К., Табаленкова Г.Н., Дымова О.В. Пигментный комплекс растений Приполярного Урала // Ботанический журнал. – 2007. – Т. 92. – № 11. – С. 1732-1742. – ISSN 0006-8136.
4. Ендонова Г.Б., Анцупова Т.П. Анатомическая структура органов *Scabiosa comosa* // Учёные записки ЗабГГПУ. – 2010. – № 1. – С. 124-127. – ISSN 2308-8745.
5. Красная книга Свердловской области: животные, растения, грибы. – Екатеринбург: ООО «Мир», 2018. – 450 с. – ISBN 978-5-6042751-1-5.
6. Малева М.Г., Борисова Г.Г., Филимонова Е.И., Глазырина М.А., Лукина Н.В., Собенин А.В. Влияние рекультивационных мероприятий на накопление металлов у орхидеи *Platanthera bifolia* в условиях золоотвала // Международный научно-исследовательский журнал. – 2020. – № 9(99). – Ч. 1. – С. 88-94. – ISSN 2303-9868.
7. Мишагина Д.А. Виды семейства Orchidaceae техногенно-изменённых экосистем Ивановской области // Успехи современного естествознания. – 2018. – № 6. – С. 102-106. – ISSN 681-7494.
8. Мокронос А.Т., Борзенкова Р.А. Методика количественной оценки структуры и функциональной активности фотосинтезирующих тканей и органов // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1978. – Т. 61. – С. 119-133.
9. Мокронос А.Т., Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. – М.: Academia, 2006. – 445 с. – ISBN 5-7695-2757-9.
10. Морьякина В.А. Интродукция растений как модель развития растениеводства в регионе // Научная сессия Томского университета. – Томск: УОП ТГУ, 1993. – Ч. II. – С. 7-10.
11. Романова Н.Г., Монгуш Б.О. Состояние ценопопуляции *Platanthera bifolia* (L.) Rich. (Orchidaceae Juss.) на самозарастающем отвале горной породы // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. – 2019. – Т. 18. – № 1. – С. 377-382. – ISSN 2313-3929.
12. Стецук Н.П. Экологические особенности *Platanthera bifolia* (L.) Rich. на территории Южного Приуралья // Вестник ОГУ. – 2010. – № 6(112). – С. 34-37. – ISSN 1814-6465.
13. Филимонова Е.И., Лукина Н.В., Глазырина М.А. Орхидные в техногенных экосистемах Урала // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2014. – Вып. 11. – С. 68-75. – ISSN 2078-967X.
14. Чукина Н.В., Филимонова Е.И., Файрузова А.И., Борисова Г.Г. Морфофизиологические особенности березы повислой на золоотвалах Среднего Урала // Учёные записки Петрозаводского государственного университета. Сер. Биологические науки. – 2016. – № 6(159). – С. 68-75. – ISSN 1998-5053.
15. Чукина Н.В., Лукина Н.В., Борисова Г.Г., Ярина Ю.С. Структурно-функциональные особенности фотосинтетического аппарата растений семейства Ruholaceae в техногенных местообитаниях // Учёные записки Петрозаводского государственного университета. – 2017. – № 4(165). – С. 81-89. – ISSN 2542-1077.
16. Dineva S.B. Leaf blade structure and the tolerance of *Acer negundo* L. (Box elder) to the polluted environment // Dendrobiology. – 2005. – Vol. 53. – P. 11-16. – ISSN 2347-4009.
17. Gajić G., Djurdjević L., Kostić O., Jarić S., Mitrović M., Stevanović B., Pavlović P.

Assessment of the phytoremediation potential and an adaptive response of *Festuca rubra* L. sown on fly ash deposits: native grass has a pivotal role in ecorestoration anagement // Ecological Engineering. – 2016. – Vol. 93. – P. 250-261. – <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.05.021> 0925.

18. Gajić G., Djurdjević L., Kostić O., Jarić S., Mitrović M., Pavlović P. Ecological potential of plants for phytoremediation and ecorestoration of fly ash deposits and mine wastes // Frontiers in Environmental Science. – 2018. – Vol. 6(124). – P. 1-24. – <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00124>.

19. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes // Methods in Enzymology. – 1987. – Vol. 148. – P. 350-382.

20. Pandey V.C., Prakash P., Bajpai O., Kumar A., Singh N. Phytodiversity on fly ash deposits: Evaluation of naturally colonized species for sustainable phytorestoration // Environmental Science and Pollution Research. – 2015. – Vol. 22. – P. 2776-2787. – <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3517-0>.

LEAF MESOSTRUCTURE FEATURES AND PHOTOSYNTHESIS IN ORCHID PLATANThERA BIFOLIA IN THE ASH DUMP CONDITIONS

**Chukina N.V.*, Borisova G.G., Maleva M.G., Lukina N.V., Yelkina A.V.,
Sinenko O.S., Filimonova Ye.I.**

*Ural Federal University
named after the first President of Russia B.N. Yeltsin,
Ekaterinburg, Russia, e-mail: nady_dicusar@mail.ru*

An important prerequisite for the successful introduction of rare and endangered plant species is the study of their adaptive capabilities in natural conditions. The paper presents a comparative analysis of morphophysiological characteristics (mesostructure of leaf, state of pigment complex and assimilation of carbon dioxide) of the orchid *Platanthera bifolia* (L.) Rich. grown in the transformed (ash dump of the Sredneuralskaya GRES) and natural (forest phytocenosis) habitats of the Middle Urals. It was found that orchid growing on the ash dump differed from plants growing in the forest phytocenosis by a significantly greater thickness of the mesophyll and leaf epidermis. At the same time, there was a tendency to increase the number of mesophyll cells per unit area of the leaf. There were no differences in the content of photosynthetic pigments between the studied populations. However, the assimilation of carbonic acid in the orchid from the ash dump was significantly higher than that in the natural phytocenosis. The conducted studies have shown that the revealed rearrangements in the mesostructure of *P. bifolia* photosynthetic apparatus contribute to the naturalization of this orchid in unfavorable ash dump conditions.

Key words: lesser butterfly-orchid, fly ash substrate, morphophysiological adaptations, photosynthetic pigments, assimilation of carbon dioxide.