

ОБ АНАТОМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЯХ, ПРОИСХОДЯЩИХ В ЛИСТЬЯХ *POPULUS BALSAMIFERA* L. НА ФОНЕ ИЗБЫТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ МЕТАЛЛОВ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ

© 2005 А.А. Кулагин, Н.Г. Кужлева

Институт биологии Уфимского научного центра РАН

Изучены особенности анатомических изменений листьев тополя бальзамического под влиянием ионов различных металлов. Выявлена тенденция изменения толщины и доли мезофилла в общем объеме тканей листа под действием ионов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} и Pb^{2+} . Под влиянием K^+ , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} и Cu^{2+} отмечаются достоверные изменения толщины покровных тканей листьев опытных растений по сравнению с контролем. Полученные экспериментальным путем данные позволяют сделать заключение о наличии прямой зависимости между степенью анатомических изменений ассимиляционных тканей листа (мезофилл) по сравнению с покровными тканями и степенью загрязнения окружающей среды ионами металлов. В целом анатомические изменения листьев тополя бальзамического не могут быть использованы в качестве биоиндикационных признаков при загрязнении окружающей среды металлами.

В условиях загрязнения окружающей среды выбросами промышленных предприятий и автотранспорта древесные растения выступают в роли естественного барьера на пути их распространения. Благодаря аккумулялирующей способности растений часть загрязнителей накапливаются в их органах и тканях. Проникновение токсичных соединений в растительный организм сопровождается негативными изменениями на различных уровнях организации. Эти изменения тем более серьезные и глубокие, чем большие количества токсикантов попадают внутрь растения и чем меньше устойчивость древесных растений к действию поллютантов [1, 2, 3, 4, 5].

Особенности строения отдельных органов и тканей в условиях техногенеза могут быть использованы для биоиндикации состояния окружающей среды и оценки устойчивости растений [6, 7, 8, 9]. Однако, следует отметить, что в состав выбросов входит огромное количество токсичных компонентов, значительную часть которых могут составлять металлы (до 80% от общего объема выбросов), а какой именно из токсичных ингредиентов многокомпонентных отходов оказывает наибольший токсический эффект на растения остается только догадываться. Разобраться с вопросами токсичности отдельных металлов-загрязнителей окружающей среды

и изучить анатомические особенности листьев древесных растений под действием ионов отдельных металлов позволяет вегетационный эксперимент.

Таким образом, целью настоящих исследований явилось изучение анатомических изменений листьев тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) в условиях длительного 90-суточного вегетационного эксперимента при загрязнении окружающей среды металлами.

Объект и методы исследований

Объект исследований - тополь бальзамический (*Populus balsamifera* L.) – дерево первой величины, характеризующееся быстрым ростом, высокой засухо- и морозоустойчивостью, малотребовательностью к плодородию почв, хорошо переносящее переувлажнение и подтопление, обладающее хорошей устойчивостью к болезням и вредителям. Кроме того данный вид характеризуется достаточной декоративностью и повсеместно используется в “зеленом строительстве” [10, 11].

Древесные черенки тополя бальзамического (длина черенков – $25 \pm 0,5$ см, диаметр – $4,5 \pm 1$ мм, количество живых почек 7-8 шт., пол деревьев не определялся) заготавливали в насаждении, представляющем 50-летнюю монокультуру. Черенки отбирали из средней части

кроны с 20 деревьев, произрастающих в глубине посадки. Следует отметить, что насаждение, где заготавливали древесные черенки, располагается в южной части г. Уфы на значительном удалении от источников загрязнения – автодорог и промышленных предприятий [12, 13, 14]. Черенки выращивали в вегетационных сосудах с песком в течение 60 суток. После формирования ассимиляционного аппарата и корневой системы растения однократно были обработаны водными 1%-ми растворами ацетатов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} и 0,2%-ми растворами ацетатов Cu^{2+} и Pb^{2+} . Данные концентрации являются для многих древесно-кустарниковых растений сублетальными, а различия в концентрациях солей обусловлены неодинаковой фитотоксичностью металлов – медь и свинец являются наиболее токсичными металлами по отношению к растениям по сравнению с другими [15, 16, 17, 18, 19, 20]. Следует отметить, что ацетат-ионы являются наименее токсичными для растений по сравнению с другими анионами [21, 22, 23] и не оказывают значительного влияния на развитие растений. Таким образом, токсический эффект, наблюдаемый при действии солей металлов на растения, вызывается в большей степени ионом металла. Каждой из солей было обработано по 200 растений. Далее, по ходу эксперимента, растения поливали дистиллированной водой по мере необходимости. В качестве контрольных были использованы растения, поливаемые дистиллированной водой на протяжении всего эксперимента.

По прошествии 30 суток эксперимента из листьев опытных и контрольных растений готовили постоянные препараты и микроскопировали. Для микроскопирования с каждого черенка отбирали по 2 средних листа, затем все заготовленные листья исследовали. Делали не менее 10 срезов с каждого листа. Измерения толщины отдельных слоев листьев проводили окуляр-микрометром вручную с использованием микроскопа Amplival (Carl Zeiss Jena, Germany). Статистическую обработку полученных данных [24] проводили методом дисперсионного анализа с использованием программного пакета Microsoft Excel 2000. На рисунках представлены средние арифметические значения и ошибка среднего.

Результаты исследований и их обсуждение

Рассмотрим изменения толщины листьев в верхней, средней и нижней части. Установлено, что наиболее значительные изменения толщины листьев отмечаются при действии Mg^{2+} , Zn^{2+} и Ca^{2+} . Несколько меньшие изменения обнаруживаются при действии Cu^{2+} , K^+ , Pb^{2+} , Na^+ и Ba^{2+} (рис. 1).

Несмотря на видимые различия толщины листьев контрольных и опытных растений (рис. 1) достоверных различий между этими данными не обнаружено. Таким образом, на основании полученных результатов, представленных на рис. 1 можно сделать заключение о том, что такой показатель как общая толщина листьев тополя не может использоваться в качестве биоиндикационного показателя при избыточном содержании ряда металлов в окружающей среде.

Поскольку при проведении исследований толщины листовой пластинки металл-специфических особенностей установлено не было, то для достижения поставленной цели нами были изучены микроскопические изменения толщины отдельных структур листьев тополя под действием различных катионов. Так, установлено, что толщина покровных тканей листа – верхнего эпидермиса, верхней и нижней кутикулы, а также нижнего эпидермиса, которые выполняют защитные функции, изменяется при дифференцированном действии ионов различных металлов на растения (рис. 2).

Показано, что при действии ионов всех изученных металлов достоверные различия толщины верхней и нижней кутикулы не установлены. При этом наблюдаются достоверные увеличения толщины верхнего и нижнего эпидермиса листьев опытных растений относительно контроля под влиянием ионов K^+ , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} и Cu^{2+} .

Более серьезные изменения отмечены при изучении действия катионов на толщину мезофилла листьев тополя бальзамического (рис. 3). Мезофилл листа является функциональной основой ассимиляционного аппарата, в клетках которого протекают жизненно важные энергетические процессы. Суммарная толщина столбчатой и губчатой паренхимы

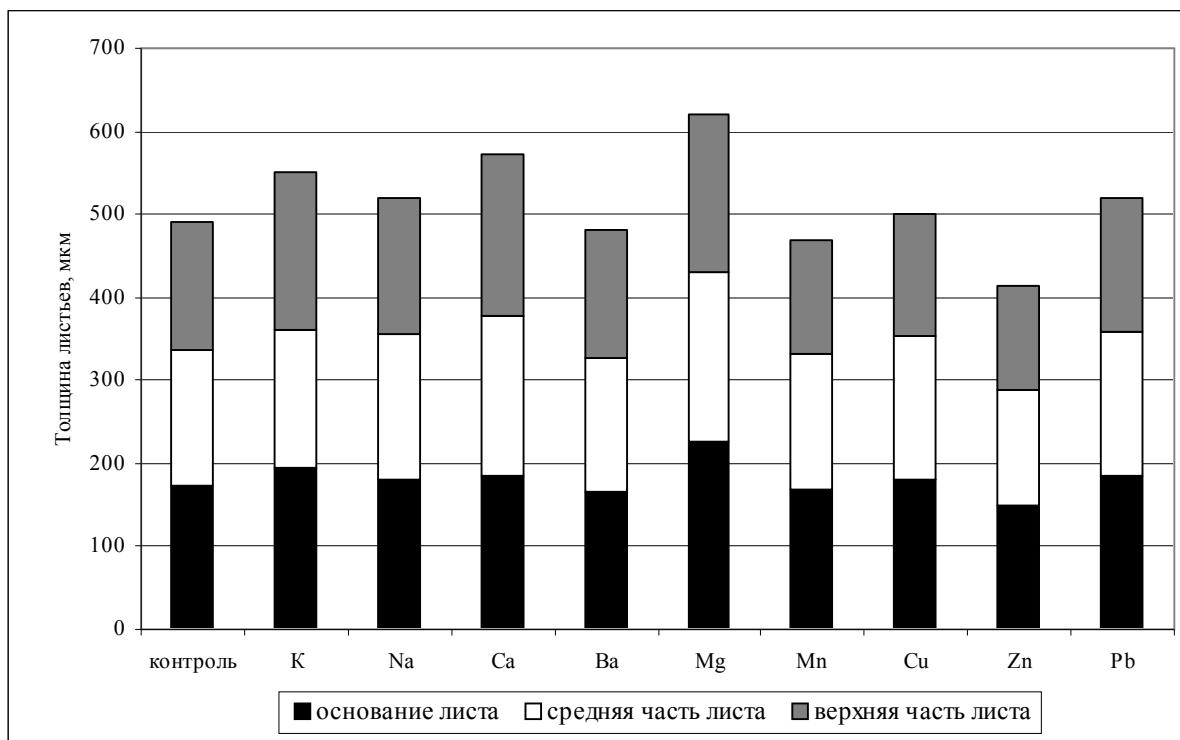


Рис. 1. Изменения толщины листьев (мкм) тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) в результате однократного действия на растения сублетальных концентраций ионов различных металлов

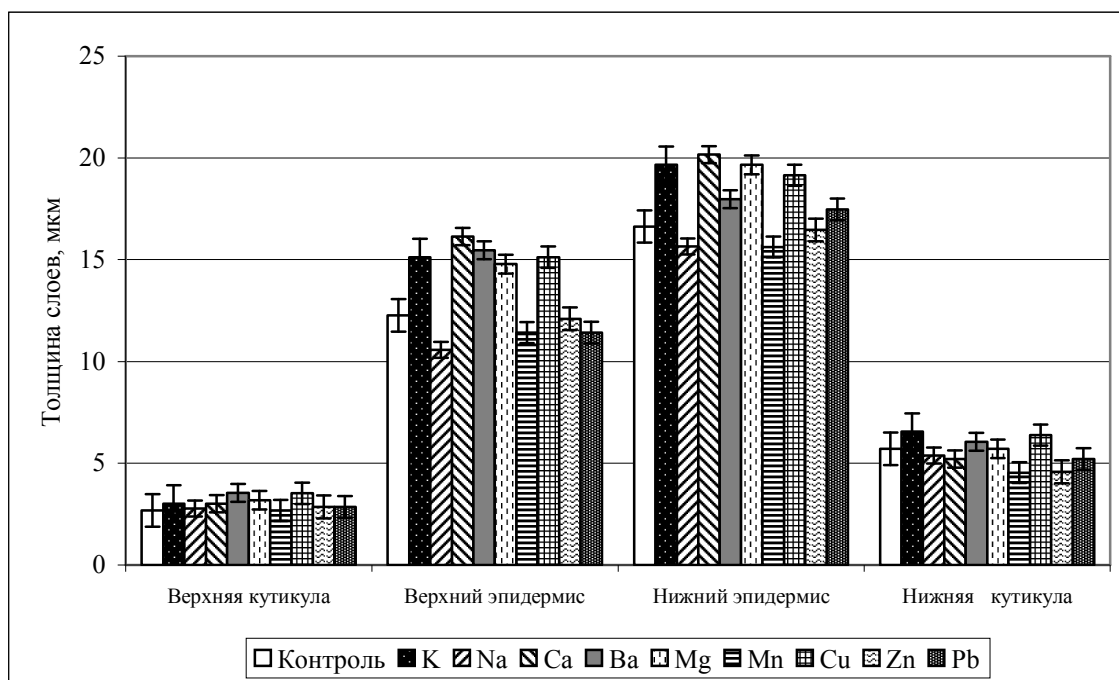


Рис. 2. Изменения толщины (мкм) покровных тканей листьев тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) в результате однократного действия на растения сублетальных концентраций ионов различных металлов (на рисунке представлены усредненные данные толщины слоев в верхней, средней и нижней частях листа)

листьев контрольных растений составляет около 80% от общей их толщины, в то время как у опытных растений этот показатель составляет от 75% (Ca^{2+} и Na^{2+}) до 60% (Zn^{2+} и Mn^{2+}), т.е. в среднем меньше по сравнению с контролем.

Анализ полученных данных позволяет утверждать, что только при действии ионов Ba^{2+} не происходит значительных изменений толщины мезофилла листьев опытных растений. В случае с Mn^{2+} и Zn^{2+} наблюдается уменьшение, а под воздействием K^+ , Na^{2+} ,

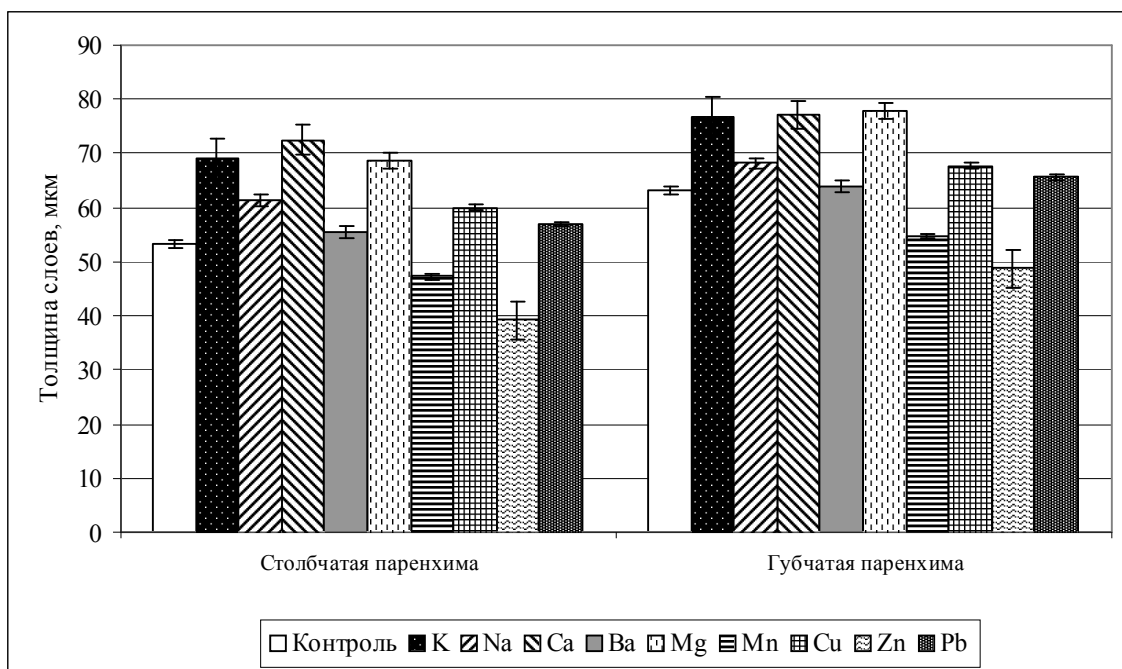


Рис. 3. Изменения толщины (мкм) мезофилла листьев тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) в результате однократного действия на растения сублетальных концентраций ионов различных металлов (на рисунке представлены усредненные данные толщины слоев в верхней, средней и нижней частях листа)

Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} и Pb^{2+} - увеличение абсолютной толщины губчатой и столбчатой паренхимы листьев.

Заключение

Исследования анатомических особенностей строения различных органов и тканей, а также их изменения под действием различных факторов, с одной стороны, позволяют дать оценку степени влияния конкретного экстремального фактора на растительный организм, а с другой, характеризуют отлаженность и скоординированность работы сложного и многогранного комплекса механизмов устойчивости к различным стрессорам. Кроме того, изменения, происходящие на анатомо-морфологическом уровне, характеризуют переход от молекулярно-физиологических к тканевому и организменному уровням устойчивости [25, 26, 27, 28].

Нами была выявлена тенденция изменения толщины и доли мезофилла в общем объеме тканей листа под действием ионов K^+ , Na^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} и Pb^{2+} . При этом под влиянием менее половины ионов проявлялся эффект изменения показателей толщины покровных тканей листьев опытных растений по сравнению с контролем. Полученные экспериментальным

путем данные позволяют сделать заключение о наличии прямой зависимости между степенью анатомических изменений тканей листа, несущих более значимую функциональную нагрузку (мезофилл по сравнению с покровными тканями) и степенью загрязнения окружающей среды ионами металлов. Однако данные изменения не могут быть использованы в качестве биоиндикационных маркеров, так как металл-специфических особенностей не обнаружено.

Поскольку основой биоиндикации является наличие каких-либо специфических проявлений при наступлении определенных условий, в частности, при загрязнении окружающей среды металлами, то главной проблемой биоиндикационных исследований в техногенных условиях является установление взаимосвязи между концентрацией загрязняющих веществ и состоянием живых организмов, попадающих под их воздействие. Результаты вегетационных опытов показывают, например, что эффект при действии сублетальных концентраций высокотоксичных ионов меди и свинца, выражающийся в анатомических изменениях, мало отличается от действия избытка макроэлементов – калия, натрия, кальция или жизненно важного микроэлемента магния.

Таким образом, представляется необходимым говорить не о биоиндикационных возможностях растений, а об их устойчивости к действию тех или иных стрессоров. Поскольку именно устойчивость и адаптационный потенциал растений, определяющиеся его видовыми особенностями, являются основой для выживания в жестких условиях техногенеза или экстремальных природных условиях.

Настоящие исследования поддержаны РФФИ – грант №02-04-97909 и РАН – грант №250 6-го конкурса-экспертизы 1999 г. научных проектов молодых ученых РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кулагин Ю.З. Древесные растения и промышленная среда. М.: Наука, 1974.
2. Николаевский В.С. Биологические основы газоустойчивости растений. Новосибирск: Наука, 1979.
3. Тарабрин В.П. Природа устойчивости растений к промышленным эксгалатам // Адаптация древесных растений к экстремальным условиям среды. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1984.
4. Dassler H.G. Reaktionen von Geholzen auf Immissionen und Schlussfolgerungen für den Anbau. Begründung in Industriegebieten // Ref.d. VII Dendrol. Kongr. soz. Lander 29. Juni bis 3. Juli 1979 in Dresden. KB d. DDR, Graph. Werkst. Zittau. 1981.
5. Smith W.H. Air Pollution and Forests. Interaction Between Air Contaminants and Forest Ecosystems. - N.Y. e. a.: Springer, 1981.
6. Гамалей Ю.В., Куликов Г.В. Развитие хлоренхимы листа. Л., 1978.
7. Илькун Г.М. Загрязнители атмосферы и растения. Киев, 1978.
8. Гетко Н.В. Растения в техногенной среде. Минск: Наука и техника, 1989.
9. Николаевский В.С. Экологическая оценка загрязнения среды и состояния наземных экосистем методами фитоиндикации. М.: Изд-во МГУЛ, 1998.
10. Тахтаджян А.Л. Система и филогения цветковых растений. М.-Л.: Наука, 1966.
11. Кулагин А.Ю., Кагарманов И.Р., Блонская Л.Н. Тополя в Предуралье: дендроэкологическая характеристика и использование. Уфа: Гилем, 2000.
12. Комиссаров Д.А. Биологические основы размножения древесных растений черенками. М.: Лесная промышленность, 1964.
13. Плотникова Л.С., Хромова Т.В. Размножение древесных растений черенками. М.: Наука, 1981.
14. Мак-Милан Броуз Ф. Размножение растений. М.: Мир, 1987.
15. Махонина Г.И. Химический состав растений на промышленных отвалах Урала. Свердловск: Изд-во Уральского университета, 1987.
16. Загрязнение воздуха и жизнь растений / Под ред. М.Трешоу. Л.: Гидрометеоиздат, 1988.
17. Рыбальский Н.Г., Жакетов О.Л., Ульянова А.Е., Шепелев Н.П. Экологические аспекты экспертизы изобретений. М.: ВНИИПИ. Ч.1. 1989.
18. Рыбальский Н.Г., Жакетов О.Л., Ульянова А.Е., Шепелев Н.П. Экологические аспекты экспертизы изобретений (Справочник эксперта и изобретателя). М.: ВНИИПИ. Ч.2. 1989.
19. Физиология растительных организмов и роль металлов./ Под ред. Н.М. Чернавской. М.: Изд-во Московского университета, 1989.
20. Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов/ Под ред. Н.В. Алексеевой-Поповой. Л.: Ленинград, 1991.
21. Кулешова Т.Н. Изучение солеустойчивости семян тополя белого // Лесоводство и агролесомелиорация. Киев: Урожай. Вып.4. 1965.
22. Царева Р.П. Биоэлектрическая реакция тополя на солевой стресс // Достижения лес. генет.и селекции - научно-техническому прогрессу. Воронеж, 1988.
23. Кагарманов И.Р. Биологические особенности тополей в связи с лесовосстановлением в техногенных условиях Предуралья: Автореф. дисс. ... канд.

- биол. наук. Уфа: Изд-во БГУ, 1995.
24. *Плохинский Н.А.* Биометрия. М.: Изд-во МГУ, 1970
25. *Антипов В.Г.* Устойчивость древесных растений к промышленным газам. Минск: Наука и техника, 1979.
26. *Шварц С.С.* Экологические закономерности эволюции. М.: Наука, 1980.
27. *Шмальгаузен И.И.* Пути и закономерности эволюционного процесса. М.: Наука, 1983.
28. *Коршиков И.И.* Адаптация растений к условиям техногенно загрязненной среды. Киев: Наукова думка, 1996.

**ABOUT ANATOMIC CHANGES OCCURRING IN BALSAM POPLAR LEAVES
(*POPULUS BALSAMIFERA* L.) ON A BACKGROUND OF THE SUPERFLUOUS
CONTENTS OF METALS IN AN ENVIRONMENT**

© 2005 A.A. Kulagin, N.G. Kuzhleva

Institute of Biology of Ufa Science Centre of Russian Academy of Sciences

The features of anatomic changes of a balsam poplar (*Populus balsamifera* L.) leaves under influence of metal ions are investigated. The tendency of change of thickness and share of mesophyll in total amount of a leaf tissue under influence of K^+ , Na^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} и Pb^{2+} is revealed. Under influence K^+ , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} and Cu^{2+} the authentic changes of ground tissue thickness of experimental plants are marked in comparison with the control. The data, received by an experimental way, allow to make the conclusion about presence of direct dependence between a degree of anatomic changes of the leaves assimilation tissues (mesophyll) in comparison with ground tissues and degree of pollution of an environment by metal ions. In the whole anatomic changes of a balsam poplar leaves can not be used as bioindicator attributes at pollution of an environment by metals.