

УДК 582.573.21:581.144.4:581.821:58.036.5

МІКРОСТРУКТУРА ПОВЕРХНІ ЛИСТКІВ *GALANTHUS NIVALIS* L. НА РАННЬОВЕСНЯНИХ ЕТАПАХ РОЗВИТКУ

© 2018 р. Н. О. Білявська, О. М. Федюк

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного
Національної академії наук України
(Київ, Україна)

Проведено порівняльний аналіз поверхні листків *Galanthus nivalis* L., які зазнали впливу гіпотермії на початкових етапах їх розвитку. За допомогою методів сканувальної електронної мікроскопії та морфометричного аналізу виявлено особливості будови поверхні листків та проридів. Встановлено, що головною ознакою поверхні листків є добре розвинена кутикула і наявність великої кількості відкладень епікутикулярного воску. Прориди розташовані на обох сторонах листків. Стабільними показниками є ширина та довжина, а також площа проридів і їх щільність. Відзначається закритість проридів на адаксіальній поверхні молодих листків, що забезпечує ефективне збереження води за умов дії від'ємних температур. Таким чином, особливості мікроструктури адаксіальної та абаксіальної поверхонь листків *G. nivalis* на ранньовесняних етапах розвитку можна розглядати як складові адаптації для існування рослин цього виду за умов гіпотермії.

Ключові слова: *Galanthus nivalis*, гіпотермія, листок, мікроструктура поверхні, морфометричний аналіз, прориди, сканувальна мікроскопія

Температура навколишнього середовища є одним з найважливіших факторів, що зумовлюють ріст, розвиток і поширення рослин в певних кліматичних зонах (Моргун, Майор, 2009). Незважаючи на те, що в останні десятиліття спостерігається підвищення середньорічної температури, для більшості країн Європи актуальність проблеми холодо- і морозостійкості рослин не тільки не знижується, а й зростає (Колупаев и др., 2018). В останні роки в Україні відзначається велика амплітуда температур у зимовий і весняний періоди від високих до низьких, а у найближчому майбутньому прогноуються аномально холодні зими з різкими перепадами температур і недостатністю снігового покриву (Іващенко, Іващенко, 2008). Крім сільськогосподарського аспекту, проблема холодо- і морозостійкості має велике природно-екологічне значення, оскільки здатність рослин адаптуватися до певних умов перезимівлі в різних частинах планети – один з чинників, що визначає ареали поширення диких видів (Трунова, 2007).

Останнім часом набули розвитку уявлення про значення проридового апарату та стану поверхні листків у стійкості рослин до гіпотермії. Прориди відіграють ключову роль у глобальних переміщеннях води та вуглецю в рослинах (Hetherington, Woodward 2003). Рух, щільність і розподіл проридів визначають обмін водою та CO₂, отже, регулюють фотосинтез і транспірацію. Обидва процеси є необхідними для існування вищих рослин. Транспірація призводить до поглинання поживних речовин, а також підтримання температури рослинного організму, тоді як фотосинтез асимілює вуглекислий газ в фотосинтати. Через прориди у листовому епідермісі відбувається обмін води і діоксиду вуглецю між повітрям та рослинами. Закриття проридів зменшує транспірацію і зберігає воду, але обмежує обмін CO₂, що негативно впливає на фотосинтез. Вважається, що цей «конфлікт» між фотосинтезом і транспірацією на рівні проридів, очевидно, не має розв'язання (Wang et al., 2007). Проте в ході еволюції рослини розвинули складні стратегії та механізми, які дозволяють знайти компроміс між фотосинтезом та транспірацією (Boyle et al., 2016). Серед них ступінь відкриття, щільність і розмір проридів відіграють центральну роль у контролі потоків води і CO₂ через поверхню листків.

Адреса для кореспонденції: Білявська Нінель Олександрівна, Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна; e-mail: nbel2@ukr.net

У природних умовах на більшій частині території Європи ранньою весною панують низькі температури атмосферного повітря та поверхневого шару ґрунту. Для більшості рослин з тривалим літнім періодом розвитку такі умови є несприятливими (Mahajan, Tuteja, 2005). Деякі молекулярні та фізіологічні процеси, що активуються у відповідь на низьку температуру, відбуваються у продихах, які діють як сенсори змін середовища, що запускають певні сигнальні шляхи (Lawson, Morison, 2004; Lissarge et al., 2010; Miura, Furumoto, 2013; Meril et al., 2014). У ранньовесняних ефемероїдів протягом тривалої еволюції сформувалися адаптивні властивості, що забезпечують їх розвиток за гіпотермічних умов.

Одним з таких видів є підсніжник білосніжний (*Galanthus nivalis* L., Amaryllidaceae) – трав'яниста ефемероїдна цибулинна рослина, що містить ряд корисних біологічно активних сполук. Специфічні алкалоїди, що виробляються цими рослинами, привернули значну увагу через їх важливу фармакологічну активність (Berkov et al., 2012). Один з них, галантамін, є довготривалим, селективним і конкурентним інгібітором ферменту ацетилхолінестерази, який використовується в медицині для полегшення травматичних ушкоджень нервової системи при лікуванні хвороби Альцгеймера, поліомієліту, деменції та інших неврологічних захворювань (Kim, Park, 2017; Naharci et al., 2015). Аглютинін *G. nivalis* (GNA), що належить до родини лектинів, суперродини тісно зв'язаних з маннозою специфічних лектинів, як відомо, має широкий спектр біологічних функцій, (протипухлинна, антивірусна, протигрибкова та ін.) (Wu, Bao, 2013). Цей лектин демонструє значну активність проти вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) (Akkouh et al., 2015). GNA також є ефективним інсектицидом проти різноманітних комах-шкідників, що належать до порядків *Homoptera*, *Coleoptera* та *Lepidoptera*, та практично не впливає на інших комах і ґрунтові бактеріальні спільноти (Macedo et al., 2015). Рослини *G. nivalis* використовуються як джерела гідроксицинамової та інших органічних кислот, що мають сильні антирадикальні та антиоксидантні властивості; вони також виявляють протизапальну, противірусну та імуностимулюючу активність (Vokov et al., 2017a).

Об'єктом нашого дослідження були листки *G. nivalis* L., які адаптуються на ранніх стадіях розвитку до низьких температур. Раніше ми виявили, що в природних умовах при низь-

ких температурах атмосферного повітря спостерігаються зміни форм і морфометричних показників ультраструктури мітохондрій та хлоропластів в мезофільних клітинах листків *G. nivalis* впродовж їх весняного розвитку (Федюк, Білявська, 2015; Федюк та ін., 2017). Ці особливості, очевидно, зумовлюють адаптацію до гіпотермічних умов функціонування клітинних систем у листках, зокрема їх дихання та фотосинтез (Федюк та ін., 2016; 2017).

Ми припускаємо, що стан поверхні та розвиток продихів в листках *G. nivalis* залежать від дії факторів зовнішнього середовища, зокрема гіпотермії, і з'ясування їх структурних особливостей дозволить наблизитися до розкриття ролі продихового апарату та кутикули у механізмах виживання ранньовесняних ефемероїдів за умов дії низьких температур.

МЕТОДИКА

Galanthus nivalis L. належить до роду Підсніжник (*Galanthus* L.), родини Амарилісові (Amaryllidaceae Jaume St-Hil.), порядку *Asparagales*, підкласу *Liliidae*, класу Однодольні *Liliopsida*, відділу Покритонасінні *Magnoliophyta*.

У дослідженні використовували рослини *G. nivalis*, що росли в природних умовах у відкритому ґрунті Моквинського лісництва Костопільського району Рівненської області. З ґрунту вилучали рослини п'ятого року вегетації, в яких передбачалася поява квітки навесні того ж року. Відібрані рослини висаджували на ділянки Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України і розміщували у відкритому ґрунті, де вони перебували до часу проведення експерименту.

Веgetація цього виду починається в лютому при середній температурі повітря від $-6,8$ до $-6,5$ °C. Через 14-18 днів після початку вегетації у *G. nivalis* починається цвітіння в інтервалі температур від $-6,5$ до $+4,9$ °C. Наприкінці квітня у *G. nivalis* надземна частина рослин жовтіє і відмирає.

Для сканувальної електронної мікроскопії поздовжні висічки, які робили з середньої частини листової пластинки, наклеювали на латунні предметні столики за допомогою двосторонньої клейкої стрічки, для надання кондуктивності покривали тонким шаром золота (10 нм) в юнному запилювачі і вивчали в сканувальному електронному мікроскопі JSM 6060 LA (JEOL, Японія). Кількість, лінійні розміри та площі продихів визначали на зображеннях мік-

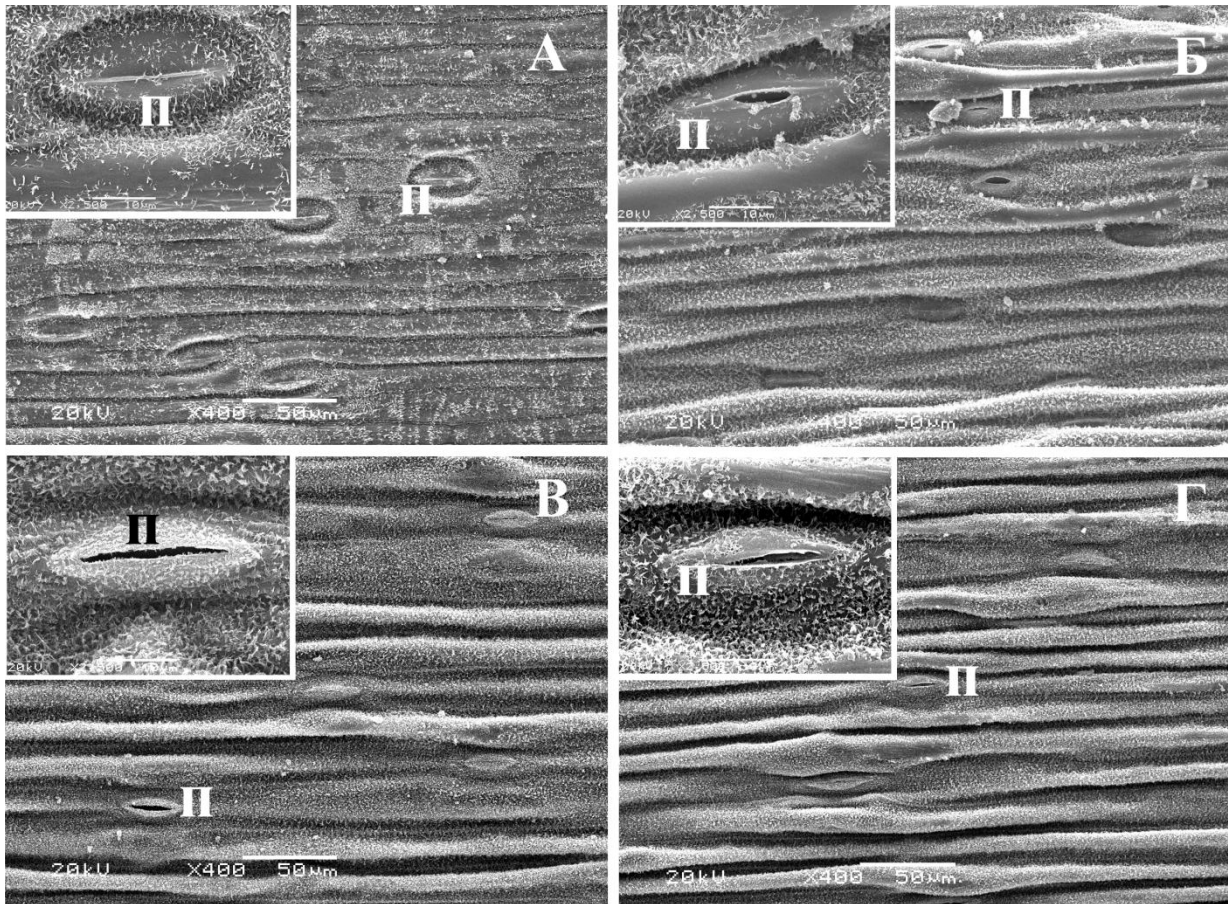


Рис. 1. Поверхня листків *Galanthus nivalis* на стадіях проростання (А, Б) та цвітіння (В, Г) на адаксіальній (А, В) та абаксіальній (Б, Г) сторонах: на вставках представлені типові продиhi (п) на великому збільшенні ($\times 2500$).

рофотографій, використовуючи програму ImageTool 3.0 (UTHSCSA, США).

У кожному варіанті оцінювали стан не менш як 80 продиhив на листках, взятих з трьох різних рослин. Досліди повторювали незалежно не менше трьох разів. Дані представлені середніми \pm стандартна похибка. Середні значення порівнювали за допомогою *t*-тесту Стьюдента для 95% рівня значущості ($P \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ

Листки *G. nivalis* плоскі, від лінійних до вузьколанцетоподібних, на верхівці загострені, темно-зелені, сизі або слабо-сизі. Листкова пластинка дорзовентрального типу. До цвітіння ширина листка досягала $6,68 \pm 0,62$ мм, а довжина $69,84 \pm 0,76$ мм, під час цвітіння ці ж параметри відповідно становили $7,57 \pm 0,18$ мм та $150,41 \pm 0,24$ мм, тобто, ширина збільшувалася на 12%, тоді як довжина зростала більш ніж вдвічі.

Листкові пластинки рослин порівнюваних вікових груп дуже схожі, без опушення, амфістоматичні (рис. 1). Епідерми адаксіальної та абаксіальної поверхонь принципово не відрізняються (рис. 1). Шар кутикули достатньо товстий, тому контури епідермальних клітин зовсім не проглядаються. Епікутикулярний віск характеризується різними типами структурованості: міститься у вигляді більш-менш цілкрайіх пластинчастих, лопатеподібних пластинчастих та загострених чи тупих на кінцях стрижнеподібних кристалоїдів, нерівномірно розташованих по всій поверхні листкової пластинки, інколи чергуючись з ділянками, де кристалоїди відсутні як на абаксіальній, так і на адаксіальній поверхнях (рис. 1).

Як і у інших однодольних, листки яких ростуть переважно в довжину, продиhi підніжника білосніжного зазвичай орієнтовані паралельно жилкам (рис. 1). Продиhi розміщуються на обох поверхнях листкової пластинки. Вони розподіляються більш-менш рівномірно по поверхні (рис. 1). Замикаючі клітини продиhив, які

МІКРОСТРУКТУРА ПОВЕРХНІ ЛИСТКІВ *GALANTHUS NIVALIS* L.

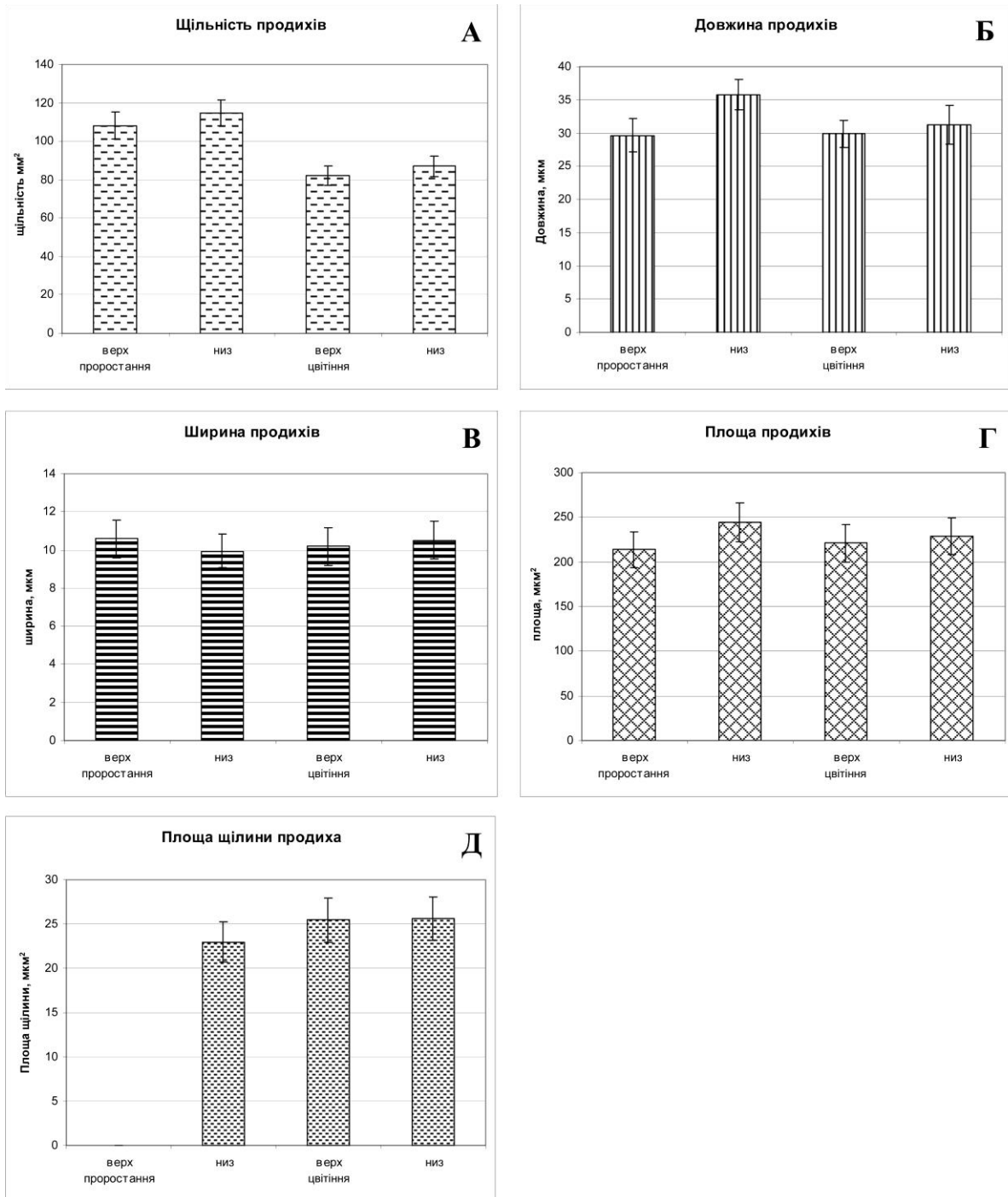


Рис. 2. Кількісні параметри продохів адаксіальної та абаксіальної сторін листків *Galanthus nivalis* на стадіях проростання та цвітіння: щільність (А), довжина (Б), ширина (В), площа (Г) продохів та площа щілини продохів (Д).

облямовані чітким кутикулярним валиком, трохи занурені в епідерму, тоді як їх центральна частина з щілиною злегка виступає над ними. За великих збільшень на поверхні листків добре розрізняються окремі воскові структури (рис. 1, вставки). Продихи аперігенного типу, оскільки у них відсутні супровідні клітини, як і у інших ефемероїдів та лілейних (Fahn, 1982; Özdemir, Alçutepe, 2010; Седельникова, 2014).

Морфометричний аналіз показує як схожі, так і відмінні ознаки продохів листків *G. nivalis*, які збиралися до та під час цвітіння (рис. 2). Щільність продохів (їх кількість на 1 мм² площі поверхні листка) досягає максимальної величини $114,75 \pm 6,56$ на абаксіальній поверхні листків на стадії проростання, що лише на 6% ($P \geq 0,05$) перевищує показник щільності на їх адаксіальній поверхні (рис. 2, А); така ж сама закономірність у щільності продохів

ОБГОВОРЕННЯ

на обох сторонах листків спостерігається і у фазі цвітіння підсніжника білосніжного. Що стосується закономірностей у щільностях продохів попарно на абаксіальній та адаксіальній поверхні у рослин порівнюваних вікових груп, то ці параметри у молодих листків на 32% (статистично значимо, $P \leq 0,05$) перевищують аналогічні значення у листків в період цвітіння рослин (рис. 2, А). За шкалою Мирославова (1974), продохи листків *G. nivalis* можуть належати до груп з дуже малою щільністю ($10-100 \text{ мм}^{-2}$) та з малою ($100-160 \text{ мм}^{-2}$).

Довжина продохів *G. nivalis* досягає близько 30 мкм за винятком цього параметра на абаксіальній стороні листків у фазі проростання ($35,78 \pm 2,27$ мкм), який на 17% ($P \leq 0,05$) перевищує цей показник на адаксіальній стороні (рис. 2, Б). Ширина продохів підсніжника білосніжного становить близько 10 мкм з обох сторін та на різних стадіях розвитку листків ($P \geq 0,05$) (рис. 2, В). Ці дані суттєво відрізняються від результатів дослідження Бокова та співавт. (Bokov et al., 2017b), де діаметр продохів листків *G. nivalis* досягав 40-50 мкм, що, очевидно, можна пояснити різними методами підготовки та дослідження матеріалу, чи морфологічними відмінностями різних популяцій підсніжника білоцвітного (Budnikov, 2011). Отже, істотних відмінностей у розмірах продохів у листків *G. nivalis* нами не встановлено. Це, очевидно, свідчить про те, що розміри продохів більшою мірою детерміновані генетично, ніж схильні до впливу внутрішніх та зовнішніх чинників (Beaulieu et al., 2008).

Закономірність розподілу площ продохів *G. nivalis* повністю повторює таку для довжин продохів (рис. 2, Г), однак статистично значимих відмінностей у цьому параметрі не спостерігається ($P \geq 0,05$).

Підрахунок площі щілини продуху показує, що значення цього параметра є дуже близькими для абаксіальної та адаксіальної сторін листків у фазі цвітіння (відповідно, $25,44 \pm 2,51$ та $25,57 \pm 2,43 \text{ мкм}^2$) та статистично незначуще нижчим для абаксіальної поверхні листків на стадії проростання ($22,98 \pm 2,28 \text{ мкм}^2$), однак на їх адаксіальній поверхні усі продохи виявляються закритими (рис. 1, А; рис. 2, Д). Слід зазначити, що частка продохів з різним ступенем відкритості від загальної кількості продохів на абаксіальній стороні молодих листків складає близько 20%, тоді як на стадії цвітіння цей показник збільшується до 30% і на адаксіальній поверхні він досягає 59%.

Низькі температури є одним з найважливіших кліматичних чинників, які визначають географічне розповсюдження видів рослин (Pereira, 2016). Рослини мають температурний діапазон, що дозволяє їм нормально рости та розвиватися, тоді як за межами цього діапазону більшість фізіологічних процесів призупиняється або сповільнюється. Рослини можуть виживати в межах температур, ширших, ніж ті, що дозволяють їм здійснювати нормальний онтогенетичний розвиток. Виживання рослин за таких умов залежить від видової специфічності, стадій розвитку та від типу органа, а також від швидкості досягнення мінімальної температури та тривалості її впливу (Soleimani et al., 2003). Найвищий рівень морозостійкості у рослин різних сортів оливи збігався з найнижчою щільністю продохів листків (Pérez López et al., 2010). У кожній з порівнюваних вікових груп рослин *G. nivalis* нами виявлено стабільність показників щільності продохів для обох сторін листка та паралельність зниження цих показників при переході до стадії цвітіння (рис. 2, В). Зменшення щільності продохів на обох сторонах листків в період цвітіння, очевидно, можна пояснити зниженням швидкості диференціації клітин епідерми у замикаючі клітини продохів, а не ступенем розтягування клітин.

Рослини, що ростуть у холодних умовах, в ході еволюції адаптувалися до дії низьких температур. Пристосовані природним відбором до холодного середовища дикорослі види рослин мають ряд фізіологічних і морфологічних механізмів для виживання в умовах тривалих холодних періодів (Baxter, 2014). При низьких температурах підвищується в'язкість води та знижується гідравлічна провідність клітинних мембран, що призводить до зменшення водопоглинання. Рослини, пристосовані до росту та розвитку при низьких температурах, зокрема й ефемероїди, можуть поглинати воду з ґрунтів, навіть близько її точки замерзання, проте це може призвести до втрати води шляхом випаровування (Baxter, 2014). Для запобігання цьому у ефемероїдів працює механізм повного закриття продохів, що спостерігалось нами на адаксіальній поверхні, та лише часткового їх відкриття (у 20% продохів) на абаксіальній поверхні молодих листків *G. nivalis*. У період цвітіння, навпаки, відсоток відкритих продохів на адаксіальній стороні досягав 59% і на абаксіальній – 30%. Отже, на основі отриманих даних можна вважати, що рівень продохової транспірації у молодих листків *G. nivalis* є досить ни-

зким, принаймні, меншим, ніж у період цвітіння.

Слід відзначити, що лінійні розміри продихів та їх площі залишалися майже однаковими, незважаючи на фазу розвитку рослин підсніжника, як це спостерігалось і у 34 інших трав'янистих видів (Bucher et al., 2017); проте довжина продихів *G. nivalis* майже втричі перевершувала їх ширину (див. рис. 2, Б та 2, В). Згідно ж з моделлю Aasamaa et al. (2001), провідність продихів зворотно корелює з довжиною і шириною замикаючих клітин. Ширші замикаючі клітини створюють високий рівень інерції руху, що важливо для запобігання дуже високій провідності продихів (Aasamaa et al., 2001).

Окрім продихової транспірації існує також і кутикулярна. Інтенсивність кутикулярної транспірації сильно варіює у різних видів: від зовсім незначних втрат до 50% загальної транспірації (Kerstiens, 1996). Кутикула варіює як за складом, так і за товщиною. У молодих листків з тонкою кутикулою цей вид транспірації становить близько 50% від її загального обсягу; у зрілих листків із щільнішою кутикулою кутикулярна транспірація становить лише 1/10 від загальної; у старіючих листках кутикулярне випаровування води може знову зростати через руйнування і розтріскування кутикули (Машевська, Єремейчук, 2015). Кутикулярна транспірація регулюється головним чином шаром кутикули (Valeska Zeisler-Diehl et al., 2017). Більш розвинутою кутикулою характеризуються листки посухостійких порівняно з вологолюбними рослинами (Fernández et al., 2014). Види хвойних, що мають товстий кутикулярний шар, втрачають дуже мало води через епідерміс листка (Epre et al., 2017); і навпаки, види з тонким шаром кутикули продовжують втрачати воду і після того, як продихи закриються, і через це вони набагато сильніше страждають від посухи.

Кутикула є позаклітинним ліпофільним біополімером, що складається з кутину, вуглеводів клітинної стінки та розчинних кутикулярних ліпідів, які часто називають кутикулярними восками (Guzman et al., 2014). Віск занурено в полімерну матрицю (інтракутикулярний), він також може бути на поверхні листка (екстракутикулярний) (Buschhaus, Jetter, 2011). Кутин є біополімером, що складається з похідних C₁₆ та C₁₈ жирних кислот з 2-3 гідроксильними групами, ці кислоти з'єднані одна з одною в ланцюжки за допомогою ефірних зв'язків (Pollard et al., 2008; Fernández et al., 2016).

У цій роботі нами показано, що товщина кутикули та/або її щільність у листків *G. nivalis* були достатньо високими, оскільки контури епідермальних клітин зовсім не піддавалися ідентифікації. На поверхні кутикули дуже часто виявлялися відкладення екстракутикулярного воску з різною структурою: від пластинчастих, лопатеподібно-пластинчастих до стрижнеподібних кристалів, які нерівномірно розподілялися по всій поверхні листової пластинки (рис. 1). Останній тип (стрижнеподібні кристали) можна бачити і на мікрофотографіях поверхні молодих листків *G. nivalis*, отриманих на СЕМ німецькими дослідниками (Koch et al., 2004), які вивчали процеси росту епікутикулярних восків за допомогою атомної силової мікроскопії (АСМ). Отримані ними результати продемонстрували, що ріст кристалів на листках підсніжника білосніжного відбувався досить швидко (в 12 разів швидше, ніж на листках *Euphorbia lathyris*). Також було виявлено, що на ранній фазі кристали росли переважно горизонтально і в одному основному напрямку, а потім починали тягнутися вгору. Дані АСМ показали, що восковий матеріал рухався до певних плям на кутикулі, вказуючи на латеральний рух молекул воску та етапи росту шарів і кристалів. Отже, регенерація епікутикулярних ліпідів на живих поверхнях рослин є дуже динамічним і порівняно стрімким процесом, що відображає важливість безперервного зовнішнього покриття листка (Koch et al., 2004). В цьому контексті Рейнхардт і Рідерер (Reynhardt, Riederer, 1994) підкресливали важливість зон кристалічного та аморфного рослинного воску в регуляції дифузії молекул через транспортний бар'єр.

Отже, головною ознакою поверхні листків *G. nivalis* є добре розвинена кутикула і наявність великої кількості відкладень епікутикулярного воску. Продихи розташовані на обох сторонах листків нижче рівня епідерми. Стабільними показниками є ширина та довжина продихів, а також площа продихів і їх щілин. Відзначається закритість продихів на адаксіальній поверхні молодих листків, що забезпечує ефективне збереження води за умов дії від'ємних температур. Таким чином, мікроструктура адаксіальної та абаксіальної поверхонь листків *G. nivalis* на ранньовесняних етапах розвитку адаптована для існування рослин цього виду за умов гіпотермії.

ЛІТЕРАТУРА

Іващенко О.О., Іващенко О.О. 2008. Шляхи адаптації землеробства в умовах змін клімату. Збірн. наук. праць Нац. наукового центру «Інститут зе-

- млеробства УААН». Київ : 15-21. (Ivashchenko O.O., Ivashchenko O.O. 2008. Ways of adaptation of agriculture to climate change conditions. In: Collection of scientific works of Nat. Scientific Center «Institute of Agriculture of NAAS» (Zbirnyk nauk. Prats Nats. Nauk. Tsentru insitut zemlerobstva UAAN. Kyiv : 15-21.)
- Колупаев Ю.Е., Горелова Е.И., Ястреб Т.О. 2018. Механизмы адаптации растений к гипотермии: роль антиоксидантной системы. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 1 (43) : 6-33. (Kolupaev Yu.E., Gorelova E.I., Yastreba T.O. 2018. Mechanisms of plant adaptation to hypothermia: role of antioxidant system. Bull. Kharkiv. Natl. Agrar. Univ. Ser. Biology. (Visnyk Kharkiv. Natsional. Agrar. Univer. Ser. Biologiya). 1 (43) : 6-33.)
- Машевська А.С., Єрмейчук Т.М. 2015. Фізіологія та біохімія рослин. Луцьк : 40 с. (Mashevska A.S., Eremeychuk E.M. 2015. Plant physiology and biochemistry (Fiziologiya ta biochimiya roslyn). Lutsk : 40 p.)
- Мирославов Е.А. 1974. Структура и функция эпидермиса листа покрытосеменных растений. Ленинград : 120 с. (Miroslavov E.A. 1974. Structure and function of the leaf epidermis of angiosperms (Struktura i funktsii epidermis lista pokrytosemennykh rastenii). Leningrad : 120 p.)
- Моргун В.В., Майор П.С. 2009. Зимо- і морозостійкість озимих злакових культур. В кн.: Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. Київ 2 : 105-165. (Morgun V.V. Mayor P.S. Winter and frost resistance of winter cereal crops. In: Plant physiology: problems and prospects of development (Fiziologiya roslyn: problem ta perspektivu rozvytku). Kyiv : 2:105-165.)
- Седельникова Л.Л. 2014. Анатомическое строение эпидермы листа у растений семейства Hyacinthaceae и Liliaceae. Вестн. КрасГАУ. 4 : 132-136. (Sedelnikova L.L. 2014. Anatomical structure of leaf epidermis in plants of Hyacinthaceae and Liliaceae families. Vestn. KrasGAU. 4 : 132-136.)
- Трунова Т.И. 2007. Растение и низкотемпературный стресс: 64-е Тимиряз. чт. Москва : 54 с. (Trunova T.I. 2007. Plant and low temperature stress, the 64th Timiryazev lecture (Rasteniye i nizkotemperaturnyy stress. 64-e Timiryazevskoye chteniye). Moscow : 54 p.)
- Федюк О.М., Білявська Н.О. 2015. Ультраструктурні зміни мітохондрій листків *Galanthus nivalis* L. при вегетації за умов гіпотермії. Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 2 (35) : 58-63. (Fediuk O.M., Bilyavska N.O. 2015. Ultrastructural changes in the mitochondria of *Galanthus nivalis* L. leaves during growing under hypothermia. Bull. Kharkiv. Natl. Agrar. Univ. Ser. Biology. (Visnyk Kharkiv. Natsional. Agrar. Univer. Ser. Biologiya). 2 (35) : 58-63.)
- Федюк О.М., Білявська Н.О., Золотарьова О.К. 2017. Ультраструктурні особливості та стан фотосинтетичного апарату листків *Galanthus nivalis* (Amaryllidaceae) на весняних етапах. Укр. бот. журн. 74 (5) : 475-487. (Fediuk O.M., Bilyavska N.O., Zolotareva O.K. 2017. Ultrastructural features and the state of the photosynthetic apparatus of *Galanthus nivalis* (Amaryllidaceae) leaves at the spring stages. Ukr. Bot. J. 74 (5) : 475-487.)
- Федюк О.М., Поліщук О. В., Білявська Н. О. 2016. Динаміка змін інтенсивності дихання листків *Galanthus nivalis* (Amaryllidaceae) за різних значень низької температури і вологості повітря. Укр. бот. журн. 73 (3) : 283-289. (Fediuk O.M., Polishchuk O.V., Bilyavska N.O. 2016. Dynamics of changes in the intensity of leaf respiration of *Galanthus nivalis* (Amaryllidaceae) at different values of low temperature and humidity. Ukr. Bot. J. 73 (3) : 283-289.)
- Аасамма К., Söber A., Rahi M. 2001. Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. Funct. Plant Biol. 28 : 765-774.
- Akkouh O., Ng T.B., Singh S.S., Yin, C., Dan X., Chan Y.S., Cheung, R.C.F. 2015. Lectins with anti-HIV activity. Molecules. 20 : 648-668.
- Baxter B. 2014. Plant acclimation and adaptation to cold environments. In: Temperature and Plant Development : 19-48.
- Beaulieu J.M., Leitch I.J., Patel S., Pendharkar A., Knight C.A. 2008. Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. New Phytol. 179 : 975-986.
- Berkov S., Codina C., Bastida J. 2012. The genus *Galanthus*: a source of bioactive compounds. In: Phytochemicals – A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health. InTech, Rijeka, Croatia : 235-254.
- Bokov D.O., Malinkin A.D., Samylina I.A., Bessonov V.V. 2017a. Hydroxycinnamic and organic acids of snowdrops (*Galanthus* L.). J. App. Pharm. Sci. 7 (2) : 036-040.
- Bokov D.O., Samylina I.A., Nikolov S.D. 2017b. Macroscopic and microscopic evaluation of *Galanthus woronowii* Losinsk. and *Galanthus nivalis* L. homeopathic crude herbal drugs. Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res. 9 : 58-64.
- Boyle R.K.A., McAinsh M., Dodd I.C. 2016. Stomatal closure of *Pelargonium hortorum* in response to soil water deficit is associated with decreased leaf water potential only under rapid soil drying. Physiol. Plant. 156 : 84-96.
- Bucher S.F., Auerswald K., Grün-Wenzel C., Higgins S.I., Jorge J.G., Römermann C. 2017. Stomatal traits relate to habitat preferences of herba-

МИКРОСТРУКТУРА ПОВЕРХНІ ЛІСТКІВ GALANTHUS NIVALIS L.

- ceous species in a temperate climate. *Flora*. 229 : 107-115.
- Budnikov G. 2011. Morphological variation of specimens and populations of *Galanthus nivalis* L. in western regions of Ukraine. *J. Bot., Košice*. 21: 95-109.
- Buschhaus C., Jetter R. 2011. Composition differences between epicuticular and intracuticular wax substructures: how do plants seal their epidermal surfaces? *J. Exp. Bot.* 62 : 841-853.
- Elpe C., Knopf P., Stützel T., Schulz C. 2017. Cuticle micromorphology and the evolution of characters in leaves of Taxaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 184: 503-517.
- Fahn A. 1982. *Plant Anatomy*. 3rd ed. Oxford : 544 p.
- Fernández V., Guzmán-Delgado P., Graça J., Santos S., Gil L. 2016. Cuticle structure in relation to chemical composition: re-assessing the prevailing model. *Front. Plant Sci.* 7 : 427.
- Guzmán P., Fernández V., Graça J., Cabral V., Kayali N., Khayet M., Gil L. 2014. Chemical and structural analysis of *Eucalyptus globulus* and *E. camaldulensis* leaf cuticles: a lipidized cell wall region. *Front. Plant Sci.* 5 : 481.
- Hetherington A.M., Woodward F.I. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*. 424 : 901-908.
- Kerstiens G. 1996. Cuticular water permeability and its physiological significance. *J. Exp. Bot.* 47 : 1813-1832.
- Kim J.K., Park S.U. 2017. Pharmacological aspects of galantamine for the treatment of *Alzheimer's disease*. *EXCLI J.* 16 : 35-39.
- Koch K., Neinhuis C., Ensikat H. J., Barthlott W. 2004. Self assembly of epicuticular waxes on living plant surfaces imaged by atomic force microscopy (AFM). *J. Exp. Bot.* 55 : 711-718.
- Lawson T., Morison J.I.L. 2004. Stomatal function and physiology. In: *The Evolution of Plant Physiology* : 217-242.
- Lissarre M., Ohta M., Sato A., Miura K. 2010. Cold-responsive gene regulation during cold acclimation in plants. *Plant Signal. Behav.* 8 : 948-952.
- Macedo M.L.R., Oliveira C.F.R., Oliveira C.T. 2015. Insecticidal activity of plant lectins and potential application in crop protection. *Molecules*. 20 : 2014-2033.
- Mahajan S., Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stresses. *Arch. Biochem. Biophys.* 444 : 139-158.
- Meril E., Jõesaar I., Brosché M., Kollist H. 2014. To open or to close: species-specific stomatal responses to simultaneously applied opposing environmental factors. *New Phytol.* 202 : 499-508.
- Miura K., Furumoto T. 2013. Cold signaling and cold response in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 14 : 5312-5337.
- Naharci M.I., Ozturk A., Yasar H., Cintosun U., Kocak N., Bozoqlu E., Tasci I., Doruk H. 2015. Galantamine improves sleep quality in patients with dementia. *Acta Neurol. Belg.* 115 : 563-568.
- Özdemir C., Alçýtepe E. 2010. Morphological and anatomical study on *Galanthus gracilis* (Amaryllidaceae). *Acta Bot. Hungar.* 52 (1-2) : 151-157.
- Pereira A. 2016. Plant abiotic stress challenges from the changing environment. *Front. Plant Sci.* 7 : 1123. doi:10.3389/fpls.2016.01123.
- Pérez López D., Elvira M.A., Barnechea, M. J., Gijón López M.D.C. 2010. Water relation response to soil chilling of six olive (*Olea europaea* L) cultivars with different frost resistance. *Spanish J. Agricul. Res.* 8 : 780-789.
- Pollard M., Beisson F., Li Y., Ohlrogge J.B. 2008. Building lipid barriers: biosynthesis of cutin and suberin. *Trends Plant Sci.* 13 : 236-246.
- Reynhardt E.C., Riederer M. 1994. Structures and molecular dynamics of plant waxes. II. Cuticular waxes from leaves of *Fagus sylvatica* L. and *Hordeum vulgare*. *J. Eur. Biophys.* 23 : 59-70.
- Soleimani A., Lessani H., Talaie A. 2003. Relationship between stomatal density and ionic leakage as indicators of cold hardiness in olive (*Olea europaea* L.). *Acta Horticult.* 618 : 521-524.
- Valeska Zeisler-Diehl V., Migdal B., Schreiber L. 2017. Quantitative characterization of cuticular barrier properties: methods, requirements, and problems. *J. Exp. Bot.* 68 : 5281-5291.
- Wang Y., Chen X., Xiang C.B. 2007. Stomatal density and bio-water saving. *J. Integr. Plant Biol.* 49 : 1435-1444.
- Wu L., Bao J. 2013. Anti-tumor and anti-viral activities of *Galanthus nivalis* agglutinin (GNA)-related lectins. *Glycoconjugate J.* 30 : 269-279.

Надійшла до редакції
12.04.2018 р.

БИЛЯВСЬКА, ФЕДЮК

**LEAF SURFACE MICROSTRUCTURE OF *GALANTHUS NIVALIS* L.
AT EARLY-SPRING STAGES OF ONTOGENESIS**

N. O. Bilyavska, O. M. Fediuk

*Kholodny Institute of Botany
of National Academy of Sciences of Ukraine
(Kyiv, Ukraine)
E-mail: nbel2@ukr.net*

Plant responses of leaf surfaces to changing natural conditions can be important indices of their adaptation to environment. The object of our study was the leaves of *Galanthus nivalis* L., which adapt in the early stages of development to low temperatures. A comparative analysis of the leaf surface micromorphology in plants exposed to hypothermia at the initial stages of their growth was carried out. Using the methods of scanning electron microscopy and morphometric analysis, features of the structure of the leaf surface and stomata were revealed. It was found that the main features of the leaf surface were well developed cuticle and a large number of epicuticular wax depositions. Thicknesses of the cuticle and/or its density on leaves were sufficiently high, which may indicate a low level of the cuticular transpiration. Stomata were located on both sides of the leaf. The stable parameters of stomatal apparatus were the width and length of stomata, as well as the areas of stomata and apertures of their pores. The closed stomata on the adaxial surface of young leaves, which ensured the effective preservation of water under conditions of negative temperatures, were found. Thus, specific microstructure elements of abaxial and adaxial leaf surfaces in *G. nivalis* plants at early-spring stages of development have been considered to be the adaptation components for growth and survival of this species in hypothermic conditions.

Key words: *Galanthus nivalis*, hypothermia, leaf, microstructure of surface, morphometric analysis, scanning microscopy, stomata

**МИКРОСТРУКТУРА ПОВЕРХНОСТИ ЛИСТЬЕВ *GALANTHUS NIVALIS* L.
НА РАННЕВЕСЕННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА**

Н. А. Белявская, О. М. Федюк

*Институт ботаники им. Н.Г. Холодного
Национальной академии наук Украины
(Киев, Украина)
E-mail: nbel2@ukr.net*

Проведен сравнительный анализ поверхности листьев *Galanthus nivalis* L., подвергшихся воздействию гипотермии на начальных этапах их развития. С помощью методов сканирующей электронной микроскопии и морфометрического анализа выявлены особенности строения поверхности листьев и устьиц. Установлено, что главными признаками поверхности листьев являются хорошо развитая кутикула и наличие большого количества отложений эпикутикулярного воска. Устьица расположены на обеих сторонах листа. Стабильными показателями является ширина, длина и площадь устьиц и их щелей. Отмечается закрытость устьиц на адаксиальной поверхности молодых листьев, что обеспечивает эффективное сохранение воды при отрицательных температурах. Таким образом, особенности микроструктуры адаксиальной и абаксиальной поверхностей листьев *G. nivalis* на ранневесенних этапах развития можно рассматривать как составляющие адаптации к существованию растений этого вида в условиях гипотермии.

Ключевые слова: *Galanthus nivalis*, гипотермия, лист, микроструктура поверхности, морфометрический анализ, устьица, сканирующая микроскопия