

УДК 581.145:576.311.34: 582.746.51

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ХЛОРОПЛАСТІВ МЕЗОФІЛУ ЛИСТКІВ З РІЗНИХ РІВНІВ КРОНИ ТА ЇХ ПЛАСТИЧНІСТЬ У *ACER PLATANOIDES* І *A. TATARICUM*

© 2012 р. Н. Ю. Волошина, Н. О. Білявська

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного

Національної академії наук України

(Київ, Україна)

Вивчали вплив градієнта освітленості в кроні дерев двох видів клену (*Acer platanoides*, *A. tataricum*), що росли в заказнику «Лісники» Київської обл., на ультраструктуру клітин мезофілу і хлоропластів листків. Ультраструктуру клітин досліджували методом трансмісійної електронної мікроскопії та морфометричного аналізу. Підвищена освітленість призводила до зниження розмірів хлоропластів у верхніх листках *A. platanoides* и не впливала у *A. tataricum*, тоді як кількість хлоропластів на зріз клітини підвищувалась у обох видів. Фракція хлоропластів зростала у *A. tataricum* і знижувалася у *A. platanoides* при збільшенні освітленості. Підвищений доступ світла також призводив до зниження парціальних об'ємів гран у обох видів, при цьому фракція тилакоїдів строми зростала у *A. platanoides* і залишалася незмінною у *A. tataricum*. Серед парціальних об'ємів компонентів хлоропласта найменшою варіабельністю вирізнявся об'єм строми у обох видів, а найбільш пластичним був об'єм крохмалю. Зроблено висновок, що різні види клену, які відрізняються за чутливістю до світла, можуть також відрізнятися за ультраструктурними характеристиками та пластичністю листків у градієнті освітлення у кроні.

Ключові слова: *Acer platanoides*, *Acer tataricum*, хлоропласт, ультраструктура, індекс пластичності, листок

Види родини клен (*Acer*) широко розповсюджені в природі різних континентів. Завдяки їх широкій екологічній ніші і господарській цінності, ці рослини є об'єктом вивчення багатьох біологічних наук: екології, таксономії, морфології, анатомії, фізіології, біохімії та молекулярної біології (Delagrang et al., 2004; Сенчишина, 2005; Beaudet et al., 2007; Renner, 2008; Gabarayeva et al., 2010; Tobita et al., 2010; Емельянов, Фролова, 2011). Такий інтерес зумовлений, перш за все, їх стійкістю до різноманітних чинників навколишнього середовища та високим рівнем виживаності за несприятливих умов, наприклад, у затіненому підліску (Delagrang et al., 2004). Очевидно, високий адаптаційний потенціал і широка розповсюдженість кленів зумовлені розвитком стратегій метаболічної та структурної адаптації цих рослин.

Положення листків відносно світлового потоку є важливим фактором, що контролює еволюцію будови листка рослини та їх здатність до адаптації (Горышина, 1979). Останнім часом вважається доцільним проводити вивчення адаптаційної здатності рослин до різних рівнів освітлення, порівнюючи листки з різних частин крони одного й того ж дерева, тобто в градієнті освітленості вздовж крони, на противагу дослідженням тих рослин, які ростуть за різних умов освітлення, внаслідок очевидної генетичної гетерогенності їх екотипів (Clair, Sniezko, 1999).

Морфологія та анатомія листків двох видів кленів, *Acer platanoides* і *A. tataricum*, ретельно вивчена нами за умов градієнта освітлення в кроні (Волошина та ін., 2008; Волошина, Білявська, 2009). У наших попередніх дослідженнях характеристик листка обох видів кленів, які відрізняються за тінюстійкістю, були показані статистично достовірні відмінності між верхніми та нижніми листками у морфологічних показниках, а саме, відносному вмісті води, питомій площі та питомій масі листка, що свідчило

Адреса для кореспонденції: Білявська Нінель Олександрівна, Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, вул. Терещенківська 2, Київ, 01601, Україна; e-mail: nabel2@yandex.ru

про існування у них різних стратегій пристосування до протилежних умов освітлення в кроні дерев. Це підтверджено даними стосовно функціонального стану фотосинтетичного апарату, які вказують на наявність міжвидових відмінностей у ступені фотоінгібування за умов високих рівнів освітлення (Волошина та ін., 2008).

Анатомічні характеристики, виявлені на поперечних зрізах листків цих видів, показали істотні відмінності між видами (Волошина, Білявська, 2009). Так, у *A. platanoides* на верхівках крони середня товщина листка в 1,3 раза перевищувала товщину нижніх листків за рахунок збільшення висоти палісадної паренхіми та губчастої паренхіми і потоншення нижньої епідерми, тоді як у *A. tataricum* не було виявлено різниці між товщиною верхніх та нижніх листків. Види також відрізнялися за парціальними об'ємами тканин листків вздовж крони. Істотні відмінності між дослідженими видами визначено в пластичності дев'яти з десяти показників. Також ми встановили, що тіншовитривалий вид *A. platanoides* виявляє вищу мінливість більшості ознак тканин листків, ніж *A. tataricum*, що може пояснювати високий ступінь адаптації анатомічної будови цього виду до різних умов освітлення та його ширше екологічне розповсюдження в лісах зони помірного клімату.

Таким чином, на рівні цілого листка та його тканинної будови нами виявлено міжвидові розбіжності в адаптаційній здатності у двох видів род. *Acer*. Завдяки пластичності структури листка, зокрема ультраструктурної будови його фотосинтетичного апарату, відбувається пристосування рослин до різних умов освітленості (Niinemets, Anten, 2009). Можна припустити, що рослини різних видів кленів, які відрізняються за чутливістю до світла, можуть також відрізнятися за ультраструктурними характеристиками та пластичністю листків у градієнті освітлення у кроні.

За наявною у нас інформацією, публікації, присвячені вивченню ультраструктурних характеристик клітин листків та їх пластичності всередині крони, були відсутніми. Тому метою нашого дослідження була оцінка ступеня варіабельності параметрів ультраструктури клітин мезофілу листків між різними за висотою частинами крони дерева, що може бути індикатором здатності до адаптації дерев видів *A. platanoides* і *A. tataricum*, які відрізняються за тіньостійкістю, та визначення стратегій їх пристосування на клітинному рівні до градієнта освітленості вздовж крони.

МЕТОДИКА

Рослинний матеріал

Дослідження проводили в середині липня протягом трьох років (2006-2008 рр.) на рослинному матеріалі, який відбирали у ботанічному заказнику загальнодержавного значення "Лісники" (30°32' східної довготи та 50°17' північної широти) в межах кленово-ясеневовільхового лісу (Дідух та ін., 2000). У дослідженнях використовували листки з п'яти дерев тіншовитривалого виду *A. platanoides* та напівтіншовитривалого виду *A. tataricum*. Верхні листки бралися з гілок на верхівках молодих дерев на висоті більше ніж 4 м, тоді як нижні листки – нижче 1 м. Щільність потоку фотонів над відібраними листками на поверхні листків визначалася безпосередньо в природних умовах за допомогою приладу LI-250–Light Meter фірми «LI-COR» (США).

Гілки з листками, які збирали в лісі і одразу ж вміщували в ємкості з водою, протягом однієї години доставляли в лабораторію. Ультраструктурну будову клітин вивчали на 10 непошкоджених, повністю розтягнутих зрілих листках з п'яти дерев на кожному рівні (верхня або нижня частина крони); висічки брали з середньої частини листків справа від центральної жилки.

Електронна мікроскопія

З повністю розвинутих листків вирізали фрагменти довжиною 2-3 мм. Попередня фіксація відбувалася при вакуумній інфільтрації зразків в 1% глутаровому альдегіді на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,0) при кімнатній температурі, потім зразки переносили в свіжий фіксуєчий розчин того ж складу на 4-6 год. Після короткої промивки у 0,1 М фосфатному буфері (дві зміни), рослинний матеріал постфіксували у 1% OsO₄ протягом ночі. Фіксований матеріал потім промивали у тому ж буфері, зневоднювали у серії спиртів та ацетоні, просочували та заливали у суміш смол (епон/аралдит) за загальноприйнятою в електронній мікроскопії методикою. Ультратонкі зрізи листків отримували на ультрамікромомі, фарбували ацетатом уранілу та цитратом свинцю і вивчали у трансмісійному електронному мікроскопі JEM 1230 фірми «JEOL» (Японія). Зрізи фотографували та їх зображення сканували для кількісної обробки цифрових зображень.

Статистика

Лінійні розміри та площі визначали з мікрофотографій, використовуючи програму UTHSCSA ImageTool 3.0 (Сан Антоніо, США).

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Таблиця 1. Щільність потоку фотонів і їх співвідношення (градієнт світла) між верхніми листками (ВЛ) і нижніми листками (НЛ) в кроні клену

| Вид клену | Розташування листків у кроні | Щільність потоку фотонів над листком, мкмоль · м ⁻² · с ⁻¹ | Відносна щільність потоку фотонів, % від повного потоку світла | Співвідношення щільності потоку фотонів у кроні |
|-----------------------|------------------------------|--|--|---|
| <i>A. platanoides</i> | ВЛ | 133,25 ± 12,34 | 11,76 ± 1,01 | 7,49 ± 0,54 |
| | НЛ | 17,75 ± 1,58 | 1,57 ± 0,12 | |
| <i>A. tataricum</i> | ВЛ | 314,52 ± 28,00 | 27,76 ± 2,14 | 14,85 ± 1,09 |
| | НЛ | 21,25 ± 1,68 | 1,87 ± 0,14 | |

Лінійні розміри хлоропласта (довжину і ширину) вимірювали як найдовшу і найкоротшу вісь на зрізі. Також визначали відношення суми площ усіх хлоропластів до площі клітини у %. Об'єм хлоропласта визначали за формулою об'єму еліпсоїда:

$$V = \pi \cdot W/2 \cdot (L/2)^2,$$

де V – об'єм хлоропласта, W – його ширина і L – його довжина.

У таблицях представлено середні значення зі стандартними похибками, які вираховували з 30-38 зображень хлоропластів кожного варіанта. Середні значення порівнювали, використовуючи тест Student-Newman-Keuls.

Парціальні об'єми компонентів хлоропластів підраховували на зображеннях їх зрізів. Площу стромы визначали як різницю між загальною площею хлоропласта і сумою площ усіх компонентів всередині нього за допомогою програми UTHSCSA ImageTool 3.0. Статистичну обробку даних виконували за допомогою програм Microsoft Office Excel і Statistica 6.0.

Індекс фенотипічної пластичності, що варіює в межах від нуля до одиниці, визначали для кожного показника і виду за різного освітлення як відношення різниці максимального і мінімального середніх значень до максимального середнього значення (Valladares et al., 2000). Середній індекс фенотипічної пластичності підраховували для кожного виду як середнє суми значень індексів пластичності, отриманих для всіх показників стосовно лінійних розмірів, площ та парціальних об'ємів окремих компонентів клітин листків.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Умови освітленості в градієнті висоти дерев (від основи крони до її верхівки) істотно відрізнялися у різних видів клену, що зустрічаються на території лісового урочища «Лісники» (табл. 1). Найвища щільність потоку фотонів виявлена над верхніми листками *A. tataricum*, найнижча – над нижніми листками *A. platanoides*,

що можна пояснити ареалом зростання кожного з видів, а саме, клена татарського – на узліссях і клена гостролистого – в гущавині лісового урочища. У *A. tataricum* абсолютна і відносна щільність потоку фотонів над верхніми листками виявилися вищими, ніж такі у *A. platanoides*, тоді як нижні листки його крони виявилися достатньо затіненими, очевидно, через високу щільність розташування листків в кроні. Менший градієнт освітленості, що визначається як співвідношення щільностей потоку фотонів між верхніми і нижніми листками, виявлено у *A. platanoides*, і майже вдвічі більший у *A. tataricum* (табл. 1).

З рис. 1 (а, б) видно, що загальна будова тканин у листках клену гостролистого з верхівок та низу крони однакова. Подовжені клітини однорядної палісади листків *A. platanoides* вільно розташовувалися у міжклітинному просторі, їх нижні звужені кінці контактували з клітинами губчастої паренхіми, які мали округлу або видовжену форму та їх довга вісь часто була паралельною поверхні листка (рис. 1 а, б). Дещо більші розміри мають клітини усіх тканин у верхіткових листках, ніж у нижніх (рис. 1 а, б). Клітини стовбчастої паренхіми листків з більш освітлених верхівок дерев умов мали значно менші подовжні розміри, ніж у листках верхівки крони. Переважно у верхній частині палісадних клітин листків з верхівки крони часто спостерігалися відносно невеликі електронно-прозорі зони, які займали вакуолі, в листках з нижньої частини крони вакуолі не мали певної локалізації в клітині. Переважна частина клітин була зайнята хлоропластами, причому, незважаючи на те, що їх кількість у верхніх листках була майже на третину більшою ніж у нижніх листках, проте частка хлоропластів від загальної площі клітини була більшою у нижніх листках, очевидно, за рахунок більших розмірів цих пластид (табл. 2). Пластоглобули в обох типах листків були дрібнішими, ніж у іншого виду клену (30-40 нм) і відносно нечисленними (рис. 1 в, г). Цей феномен можна пояснити досить низькими рівнями освітлення у

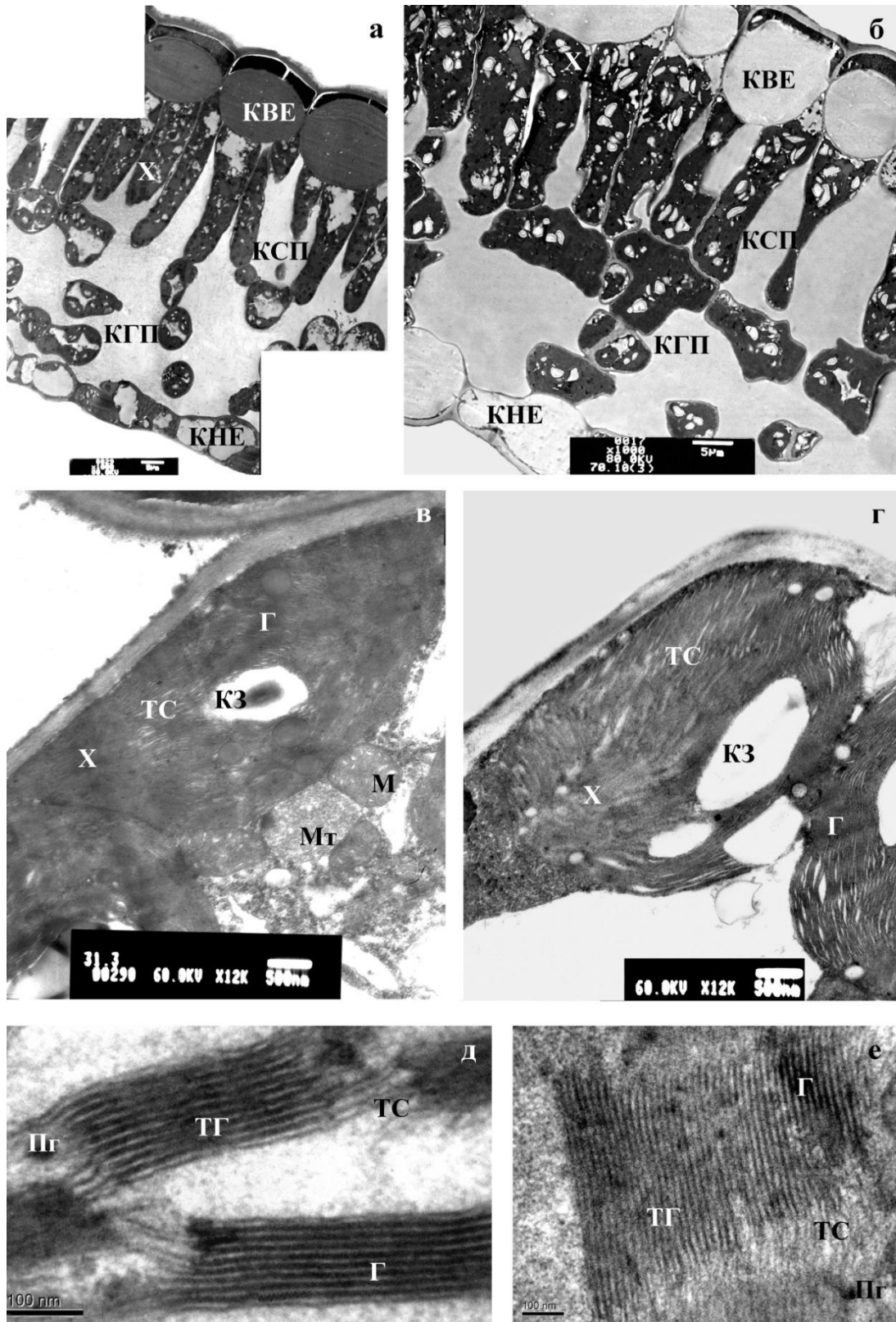


Рис. 1. Ультраструктура клітин та їх фрагментів з верхніх (а, в, д) та нижніх (б, г, е) листків дерев *A. platanoides*. Загальний вигляд (а, б), хлоропласти (в, г), грани (д, е).

Тут і на рис. 2 скорочення: Г – грана, КВЕ – клітина верхньої епідерми, КГП – клітина губчастої паренхіми, КЗ – крохмальне зерно, КНЕ – клітина нижньої епідерми, КСП – клітина стовбчастої паренхіми, М – мітохондрія, Мг – мікротільце, Пг – пластоглобула, ТГ – тилакоїди гран, ТС – тилакоїди строми.

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Таблиця 2. Ультроструктурні показники хлоропластів верхніх (ВЛ) та нижніх (НЛ) листків кленів

| Параметр | <i>A. platanoides</i> | | <i>A. tataricum</i> | |
|---|-----------------------|----------------------|---------------------|--------------------|
| | ВЛ | НЛ | ВЛ | НЛ |
| Довжина, μm | $4,58 \pm 0,20^a$ | $4,76 \pm 0,22^{ab}$ | $4,30 \pm 0,24^a$ | $4,51 \pm 0,19^a$ |
| Ширина, μm | $2,03 \pm 0,11^a$ | $2,53 \pm 0,18^b$ | $2,15 \pm 0,12^a$ | $2,14 \pm 0,10^a$ |
| Площа, μm^2 | $7,64 \pm 0,63^{ab}$ | $9,19 \pm 0,85^b$ | $7,84 \pm 0,57^b$ | $7,97 \pm 0,53^b$ |
| Об'єм, μm^3 | $13,40 \pm 1,25^a$ | $18,56 \pm 1,28^b$ | $12,35 \pm 1,14^a$ | $13,25 \pm 1,25^a$ |
| Кількість хлоропластів на зрізі клітини | $8,27 \pm 0,45^{b\#}$ | $6,46 \pm 0,21^a$ | $7,60 \pm 0,29^b$ | $6,38 \pm 0,22^a$ |
| Частка хлоропластів від загальної площі клітин, % | $67,71 \pm 2,40^b$ | $74,82 \pm 1,45^f$ | $61,57 \pm 2,27^b$ | $42,81 \pm 2,78^a$ |

Примітка. Тут і в табл. 3 різними літерами в межах одного рядка позначено різницю значень з рівнем імовірності $p \leq 0,05$.

крон *A. platanoides*, які, ймовірно, істотно не впливали на мембранну систему хлоропластів, розпад якої є основним джерелом для формування пластоглобул. В хлоропластах формувалося, як правило, по декілька крохмальних зерен (рис. 1 в, г). Гранальна система хлоропластів була представлена чітко окресленими стопками гран, кількість тилакоїдів у яких сягала до 10-13 у верхніх листках та 20-40 у нижніх листках, проте кількість гран була більшою у хлоропластів верхівки крони (рис. 1 д, е).

У листках *A. tataricum* загальна схема будови мезофілу майже не відрізнялася від такої у *A. platanoides* (рис. 2 а, б). Колоноподібна форма клітин зі звуженим нижнім кінцем була характерною для клітин стовбчастої паренхіми, тоді як клітини губчастої паренхіми були поліморфними – округлими, видовженими або п'ятигранними. Палісадні клітини вміщували вакуолярний компартмент значного розміру, особливо клітини нижніх листків, у яких поодинокі хлоропласти зустрічалися вздовж стінок клітин на відміну від клітин верхніх листків, де вони також купчасто розташовувалися і в середині клітин (рис. 2 а, б). Дещо більше половини об'єму клітини займала популяція хлоропластів в клітинах листків верхівок, тоді як в нижніх листках це значення було майже на 20% меншим (табл. 2). В стромі зустрічалися великі крохмальні зерна, кількість яких мало відрізнялася, проте їх розміри переважали в нижніх листках крони; численні пластоглобули, кількість яких була більшою на верхівках крон, досягали 200-300 нм.

Грани хлоропластів з листків верхівок крони *A. tataricum* налічували в середньому 12-18 тилакоїдів на стопку, тоді як у нижніх листках – 25-40 (рис. 1 д, е). Слід відзначити, що міжгранальні тилакоїди стромі інколи мали локальні розширення в клітинах тільки верхніх листків, що свідчить про перебудову в мембра-

нах пластид під дією відносно високих рівнів освітлення.

Необхідно також зауважити, що хлоропласти обох досліджених видів клену були позбавлені такого компонента будови пластид, як периферійний пластидний ретикулум, наявність якого пов'язують з посиленням обміном метаболітами (Wise, Harris, 1984).

У результаті проведених морфометричних досліджень електронно-мікроскопічних зображень хлоропластів було виявлено, що їх розміри в клітинах стовбчастого мезофілу *A. tataricum* з верхніх і нижніх листків статистично не відрізнялися (табл. 2). У *A. platanoides* (крім довжини) було виявлено збільшення параметрів у клітинах стовбчастого мезофілу в листках нижньої частини крони порівняно з листками верхівок дерев, а також достовірну різницю за всіма параметрами розмірів хлоропластів ($p \leq 0,05$). Найдрібнішими виявилися хлоропласти верхніх листків у дерев *A. tataricum*, в той час як найбільшими – пластиди нижніх листків у *A. platanoides* (табл. 2).

Кількість хлоропластів на зрізі клітини стовбчастого мезофілу у *A. platanoides* та *A. tataricum* була більшою ($p \leq 0,05$) у листках верхівок (табл. 2). Що стосується частки хлоропластів від загальної площі зрізу клітини, то у *A. tataricum* ця частка була більшою у клітинах стовбчастої паренхіми з листків верхівок, а у *A. platanoides* – з нижньої частини крони ($p \leq 0,05$) (табл. 2).

Порівняльний аналіз даних морфометричних досліджень парціальних об'ємів компонентів хлоропластів у верхніх і нижніх листках у багатьох випадках показав, що статистично значимі відмінності показників варіювали залежно від виду рослини й компонента, що вивчався, включаючи і протилежні реакції показників у різних видів рослин клену (табл. 3). Важливо відзначити, що листки, зібрані з

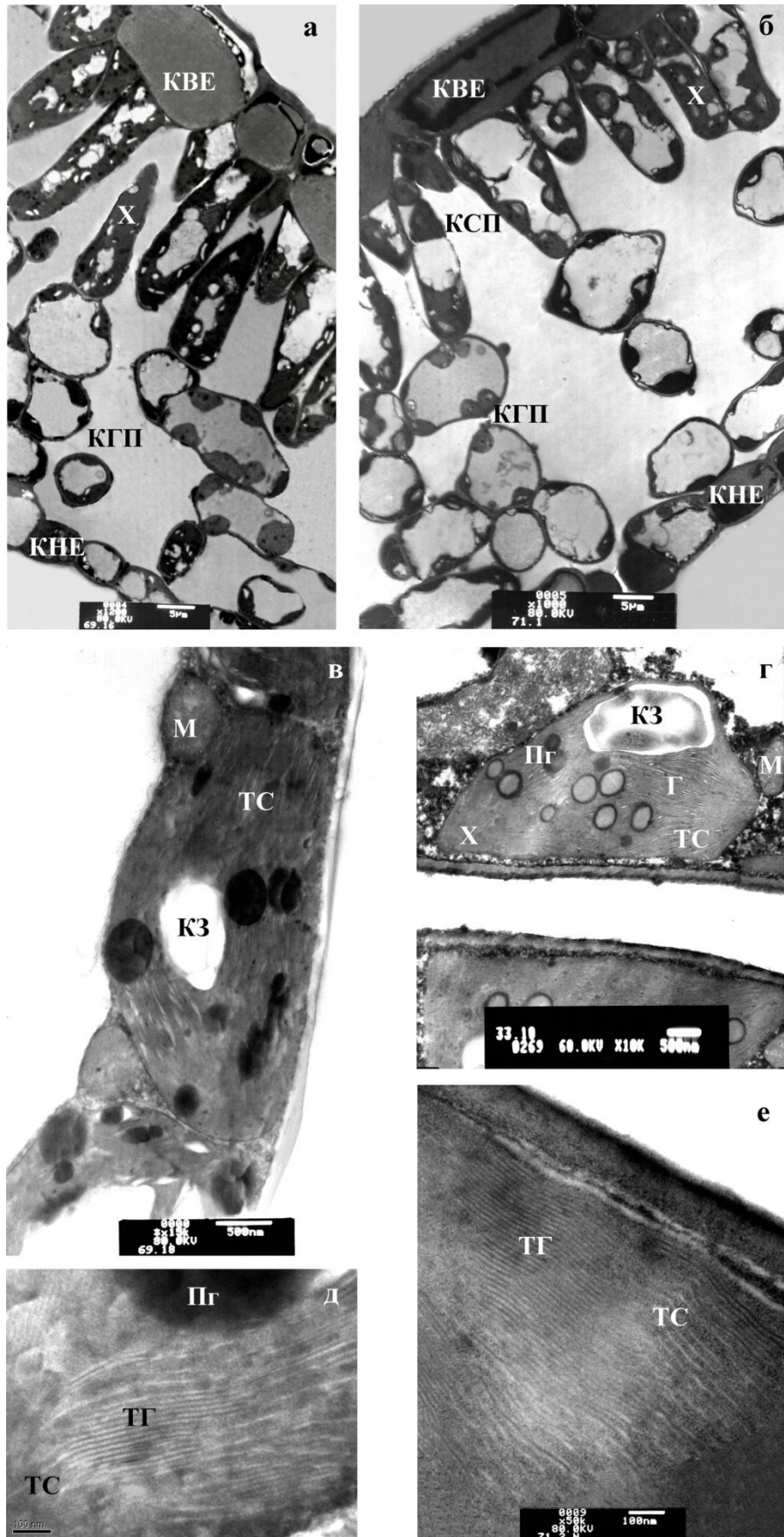


Рис. 2. Ультраструктура клітин та їх фрагментів з верхніх (а, в, д) та нижніх (б, г, е) листків дерев *A. tataricum*. Загальний вигляд (а, б), хлоропласти (в, г), грани (д, е).

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Таблиця 3. Співвідношення парціальних об'ємів компонентів хлоропластів верхніх (ВЛ) та нижніх (НЛ) листків кленів

| Параметр | <i>A. platanoides</i> | | <i>A. tataricum</i> | |
|---------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | ВЛ | НЛ | ВЛ | НЛ |
| Грани, % | 8,35 ± 0,81 ^б | 13,50 ± 1,26 ^б | 5,70 ± 0,50 ^а | 12,73 ± 1,05 ^б |
| Тилакоїди строми, % | 1,88 ± 0,18 ^б | 0,97 ± 0,08 ^а | 0,90 ± 0,09 ^а | 0,92 ± 0,08 ^а |
| Крохмаль, % | 11,99 ± 1,40 ^а | 13,06 ± 1,28 ^а | 10,94 ± 1,81 ^а | 16,16 ± 1,58 ^б |
| Пластоглобули, % | 3,59 ± 0,35 ^а | 3,37 ± 0,29 ^а | 11,50 ± 1,03 ^б | 6,74 ± 0,34 ^б |
| Строма, % | 73,25 ± 1,69 ^{бв} | 69,73 ± 1,80 ^б | 73,47 ± 2,28 ^{бв} | 63,45 ± 1,89 ^а |

різних частин крони дерев *A. platanoides*, відрізнялися за двома з п'яти показників, тоді як у *A. tataricum* не було виявлено статистично значущої різниці тільки у парціальному об'ємі тилакоїдів строми, тобто останній вид клену виявив більшу чутливість компонентів хлоропласту до градієнта освітлення в кроні.

У *A. platanoides* розбіжності стосувалися компонентів внутрішньої мембранної системи: у хлоропластах верхніх листків парціальний об'єм міжгранальних тилакоїдів був майже вдвічі вищим, тоді як об'єм гран більш ніж у півтора раза нижчим порівняно з параметрами у листках нижньої частини крони дерев ($p \leq 0,05$) (табл. 3), що може свідчити про деструкцію тилакоїдів гран у хлоропластах листків верхньої частини крони дерев.

У хлоропластах *A. tataricum* істотно змінювалися парціальні об'єми тилакоїдів гран (у 2,2 раза), крохмалю (у 1,5 раза), пластоглобул (у 1,7 раза) і меншою мірою строми (у 1,16 раза), причому якщо парціальні об'єми гран і крохмалю були вищим в нижніх порівняно з верхніми листками, то об'єми пластоглобул та строми, навпаки, перевищували в хлоропластах верхніх листків у порівнянні з нижніми у цього виду клену ($p \leq 0,05$).

Вміст крохмалю виявився важливим параметром хлоропластів *A. tataricum*, у якого його об'єм був значно вищим в нижніх листках порівняно з більш освітленими верхніми листками, що було основною причиною зниженого парціального об'єму строми в цих хлоропластах. Останній феномен, поряд зі зростанням частки пластоглобул у загальному об'ємі хлоропласта, може свідчити про початок процесів старіння й інгібування фотосинтезу у верхівках дерев.

Відомо, що крохмаль, тимчасовий запасний продукт фотосинтезу, накопичується у хлоропластах вдень і, як правило, не встигає повністю включитися в проміжний метаболізм, а якщо і нічний його розпад проходить недостатньо інтенсивно, то відбувається формуван-

ня крохмальних зерен (Lu et al., 2005). Під час старіння листків швидкість синтезу та кількість крохмалю поступово знижуються, а також продукти його розпаду можуть включатися в метаболізм (Senescence ..., 1988). Тому можна припустити, що низький рівень крохмалю у *A. tataricum* вже наприкінці липня (строк збирання матеріалу) може свідчити про початок процесу старіння його верхніх листків. Очевидно також, що в липні з листків дерев цього виду клену слабшає відтік асимілятів і/або підвищується синтез крохмалю, внаслідок чого у хлоропластах накопичується його надлишок, особливо у нижніх листках *A. tataricum*.

На користь припущення про можливе старіння верхівкових листків *A. tataricum* можуть свідчити наші дані про найбільшу серед усіх досліджених видів клену частку об'єму хлоропластів клітин стовбчастої паренхіми, яку займають в них пластоглобули (табл. 3).

Пластоглобули є осміофільними включеннями хлоропластів округлої або еліпсоїдної форми, до складу яких входять ліпіди, каротиноїди, пластохінон та токоферол (Austin et al., 2006). Вважається, що пластоглобули беруть участь у відповіді рослини на стрес, оскільки показано, що їх кількість зростає у різних видів рослин за умов як абіотичних, так і біотичних стресів (Kutík et al., 1995). Крім того, збільшення кількості пластоглобул було виявлено у старіючих листках як результат розпаду тилакоїдів (Ghosh et al., 2001), а також у мутантів з порушенням біогенезу тилакоїдів, які мали хлоропласти меншого розміру з малою кількістю тилакоїдів (Rudella et al., 2006). Тобто, появу пластоглобул при старінні листка пов'язують з розпадом мембран та вивільненням жирних кислот (Bréhélin, Kessler, 2008). Результатом окислення ліпідів виявляється деградація мембран, активація ферментів розпаду білка та хлорофілу (Majudar et al., 1991; Matile, 2000).

Отже, хлоропласти з листків верхівок *A. tataricum* характеризуються високим вмістом пластоглобул і низьким гран в їх загальному об'ємі, що може свідчити про початок процесів

ВОЛОШИНА, БІЛЯВСЬКА

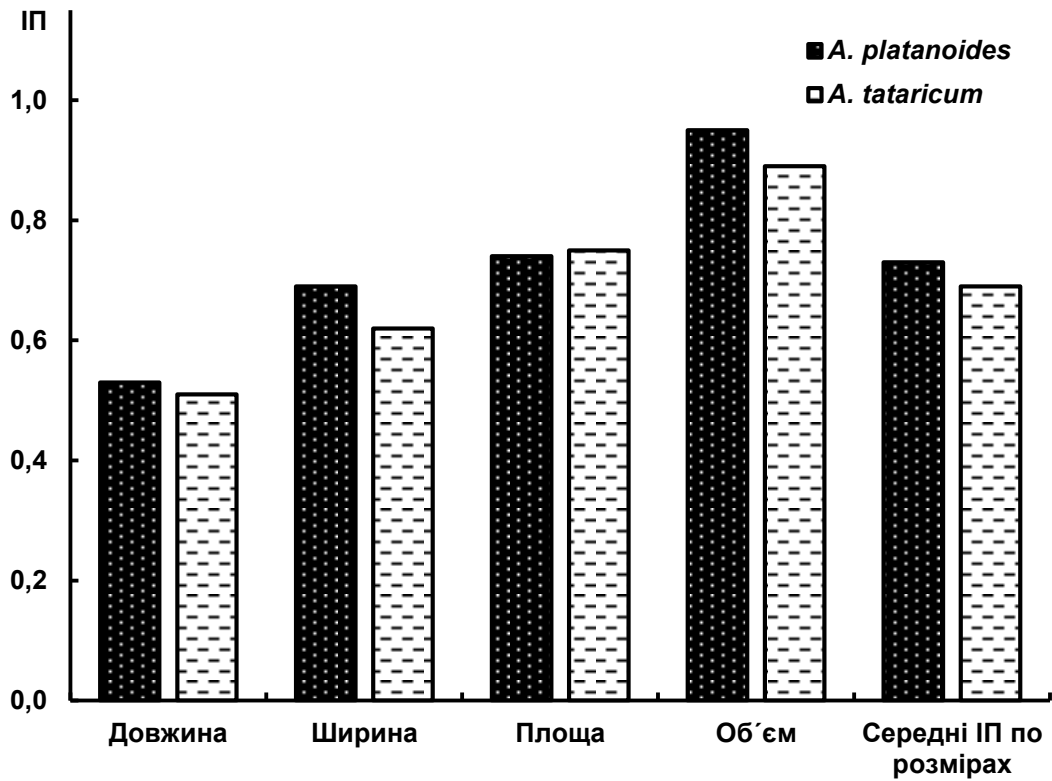


Рис. 3. Індеси пластичності (ІП) розмірів хлоропластів листків кленів.

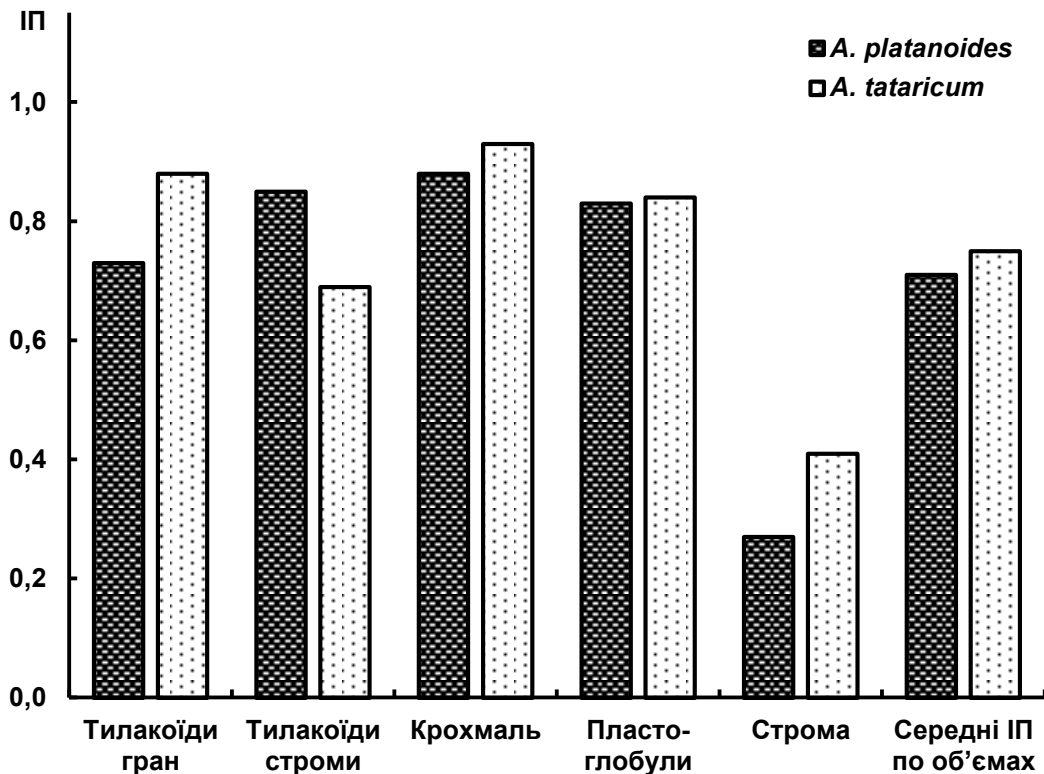


Рис. 4. Індеси пластичності (ІП) парціальних об'ємів компонентів структури хлоропластів листків кленів.

старіння й інгібування фотосинтезу у цих листках.

Порівняльний аналіз даних морфометричних досліджень парціальних об'ємів компо-

нентів хлоропластів з верхніх і нижніх листків показав, що статистично значимі відмінності показників варіювали залежно від виду рослини й компонента, що вивчається (табл. 3). Важливо відзначити, що листки, зібрані з різних час-

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

тин крони дерев *A. tataricum*, відрізнялися за чотирма показниками з п'яти, тоді як в *A. platanoides* такі розходження виявлено тільки за трьома показниками, причому вони не збігалися у цих двох видів. Так, якщо в *A. platanoides* не було виявлено відмінностей між верхніми й нижніми листками в показниках парціальних об'ємів крохмалю й строми, то в *A. tataricum* це стосувалося лише міжгранальних тилакоїдів. У обох видів однотипний характер відмінностей між листками верхнього й нижнього ярусу виявлено для гран і пластоглобул, однак якщо парціальні об'єми гран були в 2,2 й 1,6 раза вищими в нижніх листках порівняно з верхніми відповідно в *A. tataricum* й *A. platanoides*, то об'єм пластоглобул, навпаки, перевищував майже у три рази в хлоропластах верхніх листків порівняно з нижніми у обох видів кленів. У хлоропластах верхніх листків *A. platanoides* парціальний об'єм міжгранальних тилакоїдів був майже вдвічі вищим, тоді як об'єм гран значно нижчим порівняно з нижчими листками дерев.

Нами визначено пластичності усіх досліджуваних параметрів ультраструктури хлоропластів (рис. 3, 4). Слід відзначити, що в групі розмірів хлоропластів найбільша варіабельність була притаманна об'єму цих органел серед усіх визначених параметрів в обох досліджених видів клену, особливо у *A. platanoides*. Найменшою варіабельністю відзначалася довжина хлоропластів. Середній індекс пластичності показників розміру *A. platanoides* досягав 0,73 і у *A. tataricum* – 0,69 (рис. 3).

В групі парціальних об'ємів компонентів хлоропласта найменшою варіабельністю вирізнявся об'єм строми у обох видів (ПП – 0,41 і 0,27, відповідно для *A. tataricum* й *A. platanoides*), а найбільш пластичним виявився парціальний об'єм крохмалю (0,93 і 0,88), проміжні значення мали тилакоїди строми (0,69 і 0,85) та гран (0,88 і 0,73) (рис. 4). Парціальний об'єм пластоглобул мав дуже близькі і досить високі значення індексу пластичності у обох видів клену (0,84 і 0,83). Середній індекс пластичності за цією групою показників був вищим у *A. tataricum* (0,75), ніж у *A. platanoides* (0,71) (рис. 4).

Принагідно слід зазначити, що пластичність розмірних параметрів переважала у *A. platanoides*, тоді як у *A. tataricum* – за парціальними об'ємами компонентів хлоропластів, про що свідчили значення середніх індексів пластичності у цих групах.

В цілому проведені дослідження на листках двох видів клену, які росли в природних умовах, свідчать про те, що у двох видів, які відрізняються за тінюстійкістю, існує різний рівень варіабельності за кожним окремим з досліджених показників ультраструктури хлоропластів. Однак в середньому високий рівень структурної пластичності, що демонструє високий потенціал хлоропластів листків зазначених видів пристосовуватися до градієнтів факторів навколишнього середовища всередині крони, є досить стабільною їх характеристикою.

Таку варіабельність можна розглядати як адаптивну стратегію, що спрямована на збереження функціонального навантаження в умовах підвищеної сонячної радіації, температури і низької вологості. Здатність виживати за несприятливих умов забезпечується пластичністю структурних і фізіологічних показників, на основі якої рослини можуть розвивати механізми подолання стресу внаслідок гетерогенності листків й адекватності їх структури фізіологічним потребам. Оскільки світло є лімітуючим чинником для росту й розвитку рослин, адапційна здатність листків може бути важливою детермінантою їхньої конкурентної здатності. Вивчення адаптивної здатності листків з різних частин крони, що зазнають впливу світла різної інтенсивності, і пластичності їх показників, яка може вказувати на ступінь адаптації конкретного виду, має важливе значення. Порівняльний аналіз отриманих результатів, які можуть бути індикаторами впливу не тільки освітленості, але й майбутніх змін клімату, дозволяє оцінити адаптаційний потенціал видів, прогнозувати їх конкурентоздатність і можливості розповсюдження у лісах зони помірного клімату.

ЛІТЕРАТУРА

- Волошина Н.Ю., Топчій Н.М., Білявська Н.О., Дідух Я.П. Морфологічні ознаки та стан фотосинтетичного апарату листків *Acer platanoides* і *A. tataricum* з різних рівнів крони // Доповіді НАН України. – 2008. – № 8. – С. 153-159.
- Волошина Н.Ю., Білявська Н.О. Анатомічні ознаки листків з різних рівнів крони та їх пластичність у *Acer platanoides* і *A. tataricum* // Доповіді НАН України. – 2009. – № 6. – С. 173-177.
- Горьшина Т.К. Экология растений. – М.: Высш. шк., 1979. – 367 с.
- Дідух Я.П., Єрмоленко В.М., Крижанівська О.Т. Екологічна стежка (методика, організація, характеристика модельної стежки «Лісники»). – К.: Фітосоціоцентр, 2000. – 88 с.
- Емельянов А.В., Фролова С.В. Клен ясенелистний (*Acer negundo* L.) в прибрежних фітоценозах р.

- Ворона // Рос. журн. биол. инвазий. – 2011. – № 2. – С. 40-43.
- Сенчишина І. Характеристика водного обміну у представників роду *Acer* L. // Вісн. Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2005. – Вип. 40. – С. 166-173.
- Austin J.R., Frost E., Vidi P.A. Plastoglobules are lipoprotein subcompartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and contain biosynthetic enzymes // *Plant Cell*. – 2006. – V. 18. – P. 1693-1703.
- Beaudet M., Brisson J., Gravel D. Effect of a major canopy disturbance on the coexistence of *Acer saccharum* and *Fagus grandifolia* in the understory of an old-growth forest // *J. Ecol.* – 2007. – V. 95. – P. 458-467.
- Clair St.J.B., Sniezko R.A. Genetic variation in response to shade in coastal Douglas-fir // *Can. J. For. Res.* – 1999. – V. 29, № 11. – P. 1751-1763.
- Delagrange S., Messier C., Lechowicz M.J. Physiological, morphological and allocational plasticity in understory deciduous trees: importance of plant size and light availability // *Tree Physiol.* – 2004. – V. 24. – P. 775-784.
- Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V., Rowley J.R. Sporoderm development in *Acer tataricum* (Aceraceae): an interpretation // *Protoplasma*. – 2010. – V. 247. – P. 65-81.
- Ghosh S, Mahoney S.R., Penterman J.N. Ultrastructural and biochemical changes in chloroplasts during *Brassica napus* senescence // *Plant Physiol. Biochem.* – 2001. – V. 39. – P. 777-784.
- Kutík J., Nátr L., Demmers-Derks H.H., Lawlor D.W. Chloroplast ultrastructure of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivated in normal and elevated CO₂ concentrations with two contrasted nitrogen supplies // *J. Exp. Bot.* – 1995. – V. 46, № 12. – P. 1797-1802.
- Lu Y., Gehan P., Sharkey T.D. Daylength and circadian effects on starch degradation and maltose metabolism // *Plant Physiol.* – 2005. – V. 138. – P. 2280-2291.
- Majudar S., Ghosh S., Glick B.R., Dumbroff E.B. Activities of chlorophyllase, phosphoenolpyruvate carboxylase and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in the primary leaves of soybean during senescence and drought // *Physiol. Plant.* – 1991. – V. 81. – P. 473-480.
- Matile P. Biochemistry of indian summer: physiology of autumnal leaf coloration // *Exp. Gerontol.* – 2000. – V. 35. – P. 145-158.
- Niinemets U., Anten N.P.R. Packing the photosynthesis machinery: from leaf to canopy // *Photosynthesis In Silico: Understanding Complexity from Molecules to Ecosystems*. Eds. A. Laik, L. Nedbal. – Berlin: Springer, 2009. – P. 363-399.
- Renner S.S., Grimm G.W., Schneeweiss G.M. Rooting and dating maples (*Acer*) with an uncorrelated-rates molecular clock: implications for north american/asian disjunctions // *Syst. Biol.* – 2008. – V. 57, № 5. – P. 795-808.
- Rudella A., Friso G., Alonso J.M.. Downregulation of ClpR2 leads to reduced accumulation of the ClpPRS protease complex and defects in chloroplast biogenesis in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. – 2006. – V. 18. – P. 1704-1721.
- Senescence and Aging in Plants // Eds. Noodén L.D., Leopold A.C. – San Diego: Academic, 1988. – 450 p.
- Tobita H., Utsugi H., Kitao M. Variation in photoinhibition among *Sasa senanensis*, *Quercus mongolica*, and *Acer mono* in the understory of a deciduous broad-leaved forest exposed to canopy gaps caused by typhoons // *Trees*. – 2010. – V. 24, № 2. – P. 307-319.
- Valladares F., Martinez-Ferri E., Balaguer L. Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? // *New Phytol.* – 2000. – V. 148, № 1. – P. 79-91.
- Wise R.R., Harris J.B. The three-dimensional structure of the *Cyphomandra betacea* chloroplast peripheral reticulum // *Protoplasma*. – 1984. – V. 119. – P. 222-225.

Надійшла до редакції
10.07.2012 р.

**ULTRASTRUCTURAL TRAITS OF LEAF MESOPHYLL CHLOROPLASTS
FROM DIFFERENT LEVELS OF CROWN AND THEIR PLASTICITY
IN ACER PLATANOIDES AND A. TATARICUM**

N. Yu. Voloshyna, N. O. Bilyavska

*M.G. Kholodny Institute of Botany of
National Academy of Sciences of Ukraine
(Kyiv, Ukraine)*

The effects of light gradient in tree crowns of two maple species (*Acer platanoides*, *A. tataricum*) growing in nature reserve "Lisniki" at Kyiv region on cellular ultrastructure and chloroplast in leaf mesophyll. Ultrastructure of cells was investigated by transmission electron microscopy and

quantified morphometrically. Light enhancement resulted in chloroplast size decrease in the upper leaves of *A. platanoides* and didn't affect in *A. tataricum*, while the chloroplast number on a cellular section increased in both species. Chloroplast fraction raised in *A. tataricum* and dropped in *A. platanoides* under light rise. Increased light availability also led to a decrease in granal partial volumes in *A. platanoides* and it was unchanged in *A. tataricum*. Among partial volumes of chloroplast components, the stroma ones had the smallest variability and the starch volumes were the most plastic. To prove the hypothesis, we showed that different maple species possessed of various sensitivity to a light might be characterised by diverse ultrastructural traits and plasticity in within-crown light gradient.

Key words: *Acer platanoides*, *Acer tataricum*, chloroplast, ultrastructure, plasticity index, leaf

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ХЛОРОПЛАСТОВ МЕЗОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ С РАЗНЫХ УРОВНЕЙ КРОНЫ И ИХ ПЛАСТИЧНОСТЬ У *ACER PLATANOIDES* И *A. TATARICUM*

Н. Ю. Волошина, Н. А. Белявская

*Институт ботаники им. Н.Г.Холодного
Национальной академии наук Украины
(Киев, Украина)*

Изучали влияние градиента освещенности в кроне деревьев двух видов клена (*Acer platanoides*, *A. tataricum*), выросших в заказнике «Лесники» Киевской обл., на ультраструктуру клеток мезофилла и хлоропластов листьев. Ультраструктуру клеток исследовали методом трансмиссионной электронной микроскопии и морфометрического анализа. Повышение освещенности приводило к снижению размеров хлоропластов в верхних листьях *A. platanoides* и не влияло у *A. tataricum*, тогда как количество хлоропластов на срез клетки возрастало у обоих видов. Фракция хлоропластов возрастала у *A. tataricum* и снижалась у *A. platanoides* при увеличении освещенности. Повышенный доступ света также приводил к снижению парциальных объемов гран у обоих видов, при этом фракция тилакоидов стромы возрастала у *A. platanoides* и оставалась неизменной у *A. tataricum*. Из парциальных объемов компонентов хлоропласта наименьшей вариабельностью отличался объем стромы у обоих видов, а наиболее пластичным был объем крахмала. Сделано заключение, что разные виды клена, отличающиеся чувствительностью к свету, могут также характеризоваться различными ультраструктурными параметрами и пластичностью в градиенте освещенности в кроне.

Ключевые слова: *Acer platanoides*, *Acer tataricum*, хлоропласт, ультраструктура, индекс пластичности, лист