

**Влияние субстрата на анатомо-морфологические показатели  
*Pimpinella saxifraga* L. в условиях золоотвала**

**The effect of the substrate on the anatomical and morphophysiological  
parameters of *Pimpinella saxifraga* L. on the ash dump**

Чукина Н. В., Лукина Н. В., Глазырина М. А.

Chukina N. V., Lukina N. V., Glazyrina M. A.

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия.  
E-mails: nady\_dicusar@mail.ru; natalia.lukina@urfu.ru; puma2531@mail.ru

Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia

**Реферат.** Исследовали изменение анатомо-морфологических показателей фотосинтетического аппарата *Pimpinella saxifraga* L., произрастающего на золоотвале Верхнетагильской государственной районной электростанции, по сравнению с растениями данного вида из естественного местообитания. Изучены такие показатели, как распределение биомассы, параметры мезоструктуры листа (площадь и толщина листовая пластинки, толщина мезофилла и эпидермиса, размеры клеток и хлоропластов и их количество в единице площади листа, число хлоропластов в клетке и др.). У *Pimpinella saxifraga* на золоотвале отмечено изменение морфологических показателей, по сравнению с контролем: увеличение веса надземных органов, уменьшение веса корней, площади листовой пластинки и толщины листа. Структурная адаптация мезофилла к условиям среды у *Pimpinella saxifraga* состояла в изменении числа и размеров клеток без изменений параметров пластидного аппарата (числа и размеров хлоропластов). На величину внутренней ассимилирующей поверхности листа свойства субстрата существенно не влияли. Адаптивный характер этих изменений позволяет данному виду произрастать на техногенных субстратах.

**Ключевые слова.** Адаптация, золоотвал, мезоструктура листа, техногенные субстраты, *Pimpinella saxifraga*.

**Summary.** The structural and functional features of the species *Pimpinella saxifraga* L., which grows in the ash dump of the Verkhnetagil State District Power Station, were investigated, compared with the natural habitat. We studied such indicators as biomass distribution, parameters of the leaf mesostructure (the area and thickness of the leaf blade, the thickness of the mesophyll and epidermis, the size of cells and chloroplasts and their number per unit area of the leaf, the number of chloroplasts in cell, etc.). *Pimpinella saxifraga*, growing on the ash dump, showed a change in morphological parameters, compared with the control: a decrease in the weight of the roots, an increase in the weight of the aerial organs, a decrease in the area of the leaf blade and the thickness of the leaf. The structural adaptation of mesophyll to environmental conditions consisted in changing the number and size of cells without changing the parameters of the plastid apparatus (number and size of chloroplasts). The properties of the substrate did not significantly influence on the internal leaf area. Such adaptive changes allows this species to grow on technogenic substrates.

**Key words.** Adaptation, ash dump, leaf mesostructure, technogenic substrates, *Pimpinella saxifraga*.

Адаптация является одним из важнейших механизмов, который повышает устойчивость растительного организма в изменившихся условиях существования. У растений она основана на регуляции фотосинтеза, которая обеспечивается изменением структуры фотосинтетического аппарата на разных уровнях его организации (Мокроносов, 1978). Известно, что на параметры мезофилла листа существенное влияние оказывают экологические факторы. Фотосинтетический аппарат, являясь основным в определении роста и продуктивности растений, оказывается наиболее чувствительным к действию неблагоприятных факторов среды, что проявляется в нарушении многих параметров его функционирования (Мокроносов, 1981; Иванова, 2009).

Цель исследования – изучение влияния свойств субстрата на анатомо-морфологические показатели фотосинтетического аппарата *Pimpinella saxifraga* L. (бедренец-камнеломка), произрастающего в условиях золоотвала.

Объект исследований – *Pimpinella saxifraga* L. (Ariaceae Lindl.) – многолетнее поликарпическое растение 15–80 см высотой, с неутолщенными стержневыми корнями. На стебле расположены два вида листьев. Нижние листья непарноперистосложные, яйцевидные, по краю глубокопильчатые. Верхние листья – редуцированные, с линейно срезанной пластинкой. Растет на лугах и полях, по обочинам дорог, в разреженных лесах, в зарослях кустарников, на опушках и полянах, изредка как сорняк в посевах, растение не требовательно к почве, устойчиво к морозам и засухе. Тип стратегии по Грайму – S – стресс-толерант. Для этих растений характерны низкие значения морфологического индекса и относительной скорости роста, при этом стресс-толеранты отличаются высокой устойчивостью к экологическому стрессу (Grime, 1979).

Исследования проводили в луговом фитоценозе, формирующемся в процессе самозарастания на рекультивированном участке золоотвала Верхнетагильской государственной районной электростанции (ВТГРЭС). Золоотвал расположен на Среднем Урале в Свердловской области в 5 км от г. Верхний Тагил (таежная зона, подзона южной тайги). По гранулометрическому составу зола, складированная в золоотвал, представлена фракциями песка и пыли с примесью измельченного шлака. Аэрация золы от 40 до 58 %, водопроницаемость – в 5–8 раз выше, чем почвы, теплопроводность слабая. Зола золоотвала ВТГРЭС крайне бедна азотом (практически его не содержит), достаточно высоко обеспечена подвижными фосфатами (23,5 мг/100 г золы), и имеет низкое обеспечение калием (7,0 мг/100 г золы). Реакция среды слабощелочная. Содержание микроэлементов выше, чем в почве (Лукина и др., 2019). Рекультивация на золоотвале ВТГРЭС была начата в 1968–1970 гг. На высохшую часть золоотвала был нанесен глинистый грунт полосами, шириной 6–8 м, толщина наносимого слоя – 15–20 см. Полосы с покрытием чередовались с полосами золы такого же размера. По механическому составу субстрат – глина (частиц < 0,005 мм содержится от 30 до 60 %). Субстрат не засолен, pH водной вытяжки – 6,5–7,5. Содержание общего азота – 0,03 %; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 9 мг на 100 г субстрата; K<sub>2</sub>O – 10,7 мг на 100 г субстрата (Чукина и др., 2017).

В качестве контроля были отобраны растения *P. saxifraga* в злаково-разнотравном луговом фитоценозе в районе биологической станции Уральского федерального университета, расположенной в 50 км от г. Екатеринбурга. В почвенном покрове района преобладают дерново-подзолистые почвы разной степени оподзоливания. Дерново-подзолистые почвы характеризуются низким содержанием питательных элементов (N, P, K) и, следовательно, относительно невысоким плодородием. Условия освещения во всех исследуемых местообитаниях *P. saxifraga* сходны.

Для определения надземной и подземной фитомассы было выкопано по 15 особей *P. saxifraga* в каждом из местообитаний. Далее в лаборатории растения тщательно отмывали и высушивали до воздушно-сухого состояния, а затем взвешивали на лабораторных весах подземную и надземную часть отдельно.

Для изучения мезоструктурных характеристик фотосинтетического аппарата растений из каждого местообитания отбирали по 3–5 сформированных нижних листьев с 10–15 особей исследуемого вида, находившихся в генеративной фазе. Листовые высечки фиксировали в 3,5%-м растворе глутарового альдегида в фосфатном буфере (pH = 7,0). Измерения толщины листа, мезофилла и эпидермиса (n = 15) проводили на полученных с использованием замораживающего микротомы МЗ-2 (Россия) поперечных срезах листьев. Подсчет числа клеток в единице площади листа выполняли в счетной камере Горяева после мацерации тканей в 20 %-м растворе КОН (n = 20). Измерение и расчет размеров клеток мезофилла и хлоропластов (n = 30) осуществляли с использованием программы Simagis Mesoplant (ООО «СИАМС», Россия), с помощью светового микроскопа Meiji MT 4300L («Meiji Techno», Япония) согласно методике (Ivanova, P'yankov, 2002).

Результаты исследований показали, что общий вес особей *P. saxifraga* на золоотвале (как на золе, так и на полосах грунта) и в естественном местообитании не отличался. Однако растения с золоотвала существенно отличались от растений из естественного местообитания по распределению биомассы и соответственно по соотношению веса надземной фитомассы к весу корней (табл. 1). Так, у растений с

золоотвала вес корней был в среднем в 2,5 раза больше, а вес надземных органов – в 1,5 раза меньше, чем у растений с биостанции. Соотношение веса надземных и подземных органов *P. saxifraga* на золоотвале составило 1,8, а на биостанции – 6,6. Известно, что соотношение надземной и подземной массы растения зависит от его индивидуальных особенностей и от условий среды; чем выше это соотношение, тем благоприятнее условия произрастания (Качинский, 1925). Наибольшие значения соотношения «побег–корень» наблюдались в естественном местообитании в районе биостанции, наименьшие – на золоотвале. Одной из причин относительно более интенсивного нарастания корневой системы по сравнению с надземными органами может быть недостаток в почве минеральных веществ (Колосов, 1962).

Таблица 1

Распределение биомассы у *Pimpinella saxifraga*

Субстрат	Показатели	Общий вес особи, г	Вес корней, г	Вес надземной части, г
Золоотвал (зола)	Хср. ± m	1,8 ± 0,3 <b>a</b>	0,6 ± 0,1 <b>a</b>	1,2 ± 0,2 <b>a</b>
	lim	1,1–2,9	0,4–1,3	0,6–1,6
	Cv, %	38,0	57,6	33,5
Золоотвал (грунт)	Хср. ± m	1,2 ± 0,2 <b>a</b>	0,5 ± 0,1 <b>a</b>	0,8 ± 0,1 <b>a</b>
	lim	0,7–2,2	0,1–1,2	0,4–1,2
	Cv, %	48,6	98,9	32,0
Биостанция	Хср. ± m	1,6 ± 0,1 <b>a</b>	0,2 ± 0,1 <b>b</b>	1,4 ± 0,1 <b>b</b>
	lim	1,1–2,2	0,1–0,5	0,9–1,7
	Cv, %	21,1	50,8	18,2

Примеч.: различные буквы в строках, соответствующих одинаковым параметрам, указывают на достоверные различия при уровне  $p < 0,05$ .

Известно, что анатомическая структура листа, особенно мезофилла (соотношение числа и размеров клеток и хлоропластов, развитие внутрилистовой поверхности), в значительной степени определяет фотосинтетическую активность листа и растения в целом. Параметры роста и общая биологическая продуктивность растения зависят от эффективности работы фотосинтетического аппарата листа (Мокроносков, 1978). Анализ параметров мезоструктуры у растений, произрастающих на золоотвале, также показал достоверное изменение размеров листа. Исследования показали, что у растений, произрастающих на золоотвале, листовые пластинки были в 3 раза меньше и на 25 % тоньше за счет уменьшения толщины эпидермиса и слоя мезофилла, чем в районе биостанции (табл. 2).

Таблица 2

Параметры листовой пластинки у *Pimpinella saxifraga*

Субстрат	Показатели	Площадь листа, см <sup>2</sup>	Толщина листа, мкм	Толщина эпидермиса, мкм	Толщина мезофилла, мкм
Золоотвал (зола)	Хср. ± m	1,1 ± 0,1 <b>a</b>	181,1 ± 4,1 <b>a</b>	50,7 ± 2,4 <b>a</b>	130,3 ± 3,9 <b>a</b>
	lim	0,4–1,4	155,0–216,0	35,0–66,0	105,0–164,0
	Cv, %	35,8	8,8	18,0	11,5
Золоотвал (грунт)	Хср. ± m	0,9 ± 0,1 <b>a</b>	175,9 ± 4,1 <b>a</b>	53,6 ± 3,6 <b>a</b>	122,3 ± 3,5 <b>a</b>
	lim	0,5–1,2	158,0–206,0	33,0–75,0	104,0–151,0
	Cv, %	27,6	9,1	25,8	11,0
Биостанция	Хср. ± m	3,2 ± 0,7 <b>b</b>	230,8 ± 5,7 <b>b</b>	65,9 ± 3,6 <b>b</b>	164,9 ± 5,2 <b>b</b>
	lim	0,3–6,2	193,0–267,0	48,0–96,0	129,0–206,0
	Cv, %	57,9	9,5	21,3	12,2

Примеч.: различные буквы в строках, соответствующих одинаковым параметрам, указывают на достоверные различия при уровне  $p < 0,05$ .

Анализ числа клеток в расчете на единицу площади листа также показал их уменьшение в условиях золоотвала. В среднем для растений с золоотвала общее количество клеток мезофилла в единице площади было на 20 % меньше по сравнению с особями из естественного местообитания.

Таблица 3

Количественные показатели клеток мезофилла и хлоропластов у *Pimpinella saxifraga*

Показатели		Золоотвал		Биостанция
		зола	грунт	
Число клеток в единице площади листа (палисадный мезофилл), тыс./см <sup>2</sup>	Хср. ± m	201,1 ± 6,0 <b>a</b>	177,6 ± 7,8 <b>b</b>	239,6 ± 12,5 <b>c</b>
	lim	138,2–243,3	121,6–243,3	169,6–383,3
	Cv, %	13,0	18,0	22,1
Число клеток в единице площади листа (губчатый мезофилл), тыс./см <sup>2</sup>	Хср. ± m	358,2 ± 7,8 <b>a</b>	275,1 ± 11,4 <b>b</b>	398,1 ± 11,7 <b>c</b>
	lim	298,6–442,3	188,0–326,2	317,0–508,7
	Cv, %	9,5	17,1	13,1
Число клеток в единице площади листа (палисадный и губчатый мезофилл), тыс./см <sup>2</sup>	Хср. ± m	559,3 ± 11,5 <b>a</b>	452,7 ± 12,8 <b>b</b>	642,1 ± 17,9 <b>c</b>
	lim	470,0–641,4	331,7–530,8	523,4–803,6
	Cv, %	9,0	11,7	12,4
Объем клетки палисадного мезофилла, тыс. мкм <sup>3</sup>	Хср. ± m	6,5 ± 0,5 <b>a</b>	10,8 ± 0,7 <b>b</b>	7,2 ± 0,7 <b>a</b>
	lim	2,7–12,8	4,8–18,0	3,4–15,2
	Cv, %	39,1	34,8	47,3
Площадь поверхности клетки палисадного мезофилла, тыс. мкм <sup>2</sup>	Хср. ± m	2,0 ± 0,1 <b>a</b>	2,7 ± 0,1 <b>b</b>	2,2 ± 0,1 <b>a</b>
	lim	1,2–3,1	1,7–4,0	1,4–3,9
	Cv, %	23,6	22,9	31,5
Объем клетки губчатого мезофилла, тыс. мкм <sup>3</sup>	Хср. ± m	6,4 ± 0,4 <b>a</b>	9,9 ± 0,6 <b>b</b>	4,7 ± 0,3 <b>c</b>
	lim	3,5–11,8	4,9–15,2	2,5–9,5
	Cv, %	33,1	29,7	36,2
Площадь поверхности клетки губчатого мезофилла, тыс. мкм <sup>2</sup>	Хср. ± m	1,8 ± 0,1 <b>a</b>	2,4 ± 0,1 <b>b</b>	1,5 ± 0,1 <b>c</b>
	lim	1,2–2,7	1,5–3,2	1,0–2,5
	Cv, %	21,0	21,0	23,8
Число хлоропластов в клетке палисадного мезофилла, шт.	Хср. ± m	22 ± 1 <b>a</b>	21 ± 1 <b>a</b>	18 ± 1 <b>a</b>
	lim	16–30	15–32	13–25
	Cv, %	18,1	18,2	15,5
Число хлоропластов в клетке губчатого мезофилла, шт.	Хср. ± m	19 ± 1 <b>a</b>	21 ± 1 <b>a</b>	17 ± 1 <b>a</b>
	lim	12–30	13–36	13–35
	Cv, %	24,2	23,6	25,5
Число хлоропластов в единице площади листа (палисадный мезофилл), млн/см <sup>2</sup>	Хср. ± m	4,5 ± 0,1 <b>a</b>	3,7 ± 0,2 <b>b</b>	4,3 ± 0,2 <b>a</b>
	lim	3,1–5,4	2,5–5,1	3,0–6,8
	Cv, %	13,0	18,0	22,1
Число хлоропластов в единице площади листа (губчатый мезофилл), млн/см <sup>2</sup>	Хср. ± m	6,7 ± 0,1 <b>a</b>	5,8 ± 0,2 <b>b</b>	6,9 ± 0,2 <b>a</b>
	lim	5,6–8,3	3,9–6,9	5,5–8,8
	Cv, %	9,5	17,1	13,1
Число хлоропластов в единице площади листа (палисадный и губчатый мезофилл), млн/см <sup>2</sup>	Хср. ± m	11,2 ± 0,2 <b>a</b>	9,5 ± 0,3 <b>b</b>	11,2 ± 0,3 <b>a</b>
	lim	9,3–12,8	6,9–11,1	9,2–14,1
	Cv, %	9,1	11,7	11,3
Объем хлоропласта, мкм <sup>3</sup>	Хср. ± m	19,3 ± 1,6 <b>a</b>	20,3 ± 1,5 <b>a</b>	15,5 ± 0,8 <b>a</b>
	lim	10,0–38,6	12,0–25,6	10,7–24,0
	Cv, %	39,9	45,9	24,4
Площадь поверхности хлоропласта, мкм <sup>2</sup>	Хср. ± m	34,3 ± 1,8 <b>a</b>	36,3 ± 1,9 <b>a</b>	29,9 ± 1,1 <b>a</b>
	lim	22,5–55,3	25,5–58,3	23,6–40,2
	Cv, %	26,2	26,2	16,1

Примеч.: различные буквы в строках, соответствующих одинаковым параметрам, указывают на достоверные различия при уровне  $p < 0,05$ .

Снижение числа клеток мезофилла в единице площади листа сопровождалось достоверным увеличением их размеров. Более существенные отличия наблюдались у растений *P. saxifrage*, произрастающих на золоотвале на полосах грунта: объем и площадь поверхности клеток губчатого мезофилла почти вдвое превосходили соответствующие показатели у растений из естественного местообитания; а число хлоропластов в единице площади листа было достоверно меньше (табл. 3). По числу пластид в клетке, а также их размерам растения *P. saxifraga* из разных местообитаний достоверно не отличались. В среднем объем хлоропласта составлял  $18,4 \pm 0,3$  мкм<sup>3</sup>, их число в клетке не превышало 20, эти параметры не зависели от свойств субстрата. Расчет интегральных параметров, таких как индекс мембран клеток и индекс мембран хлоропластов, указывающих на развитие внутренней ассимилирующей поверхности листа, также показал отсутствие достоверных различий по этим показателям. В среднем для растений *P. saxifraga* эти показатели составили  $11,0 \pm 0,3$  и  $3,5 \pm 0,1$  соответственно, во всех местообитаниях. По данным Л. А. Ивановой с соавт. (2008), для растений со стресс-толерантными свойствами в условиях стресса более характерны изменения морфологических параметров листьев (площади и толщины листа), в меньшей степени изменения связаны с размерами клеток, при этом параметры хлоропластов остаются постоянными.

Таким образом, у растений *P. saxifraga*, произрастающих на золоотвале, по сравнению с контролем отмечено существенное изменение в распределении биомассы: увеличение веса корней, уменьшение веса надземных органов. Влияние свойств субстрата также привело к изменению параметров листовой пластинки: уменьшению площади и толщины листа. Структурные перестройки фотосинтетического аппарата у *P. saxifraga* в техногенных условиях состояли в изменении числа и размеров клеток без изменений параметров пластидного аппарата (числа и размеров хлоропластов). На величину внутренней ассимилирующей поверхности листа свойства субстрата существенно не влияли. Адаптивный характер этих изменений позволяет данному виду произрастать на техногенных субстратах.

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках выполнения государственного задания УрФУ FEUZ-2020-0057; РФФИ № 18-04-00714.

## ЛИТЕРАТУРА

- Иванова Л. А., Иванов Л. А., Ронжина Д. А., Пьянков В. И.* Структурные параметры мезофилла листа при затенении растений разных функциональных типов // Физиология растений, 2008. – Т. 55, № 2. – С. 230–239.
- Иванова Л. А.* Изучение трехмерной организации клеток и тканей при анализе мезоструктуры фотосинтетического аппарата // Фотосинтез: физиология, онтогенез, экология: [коллектив. моногр.]. – Калининград: Изд-во ФГТУ ВПО «КГТУ», 2009. – С. 153–177.
- Качинский Н. А.* Корневая система растений в почвах подзолистого типа // Тр. Моск. обл. с.-х. опыт. станции, 1925. – Вып. 7, ч. 1. – С. 124–136.
- Колосов И. И.* Поглощительная деятельность корневых систем растений. – М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 388 с.
- Лукина Н. В., Чибрик Т. С., Глазырина М. А., Филимонова Е. И.* Динамика восстановления растительности и микоризы на рекультивированных и нереккультивированных участках золоотвала Верхнетагильской ГРЭС (Средний Урал) // Экосистемы, 2019. – Вып. 20. – С. 188–196.
- Мокронос А. Т.* Мезоструктура и функциональная активность фотосинтетического аппарата // Мезоструктура и функциональная активность фотосинтетического аппарата. – Свердловск: Изд-во Урал. гос. ун-та, 1978. – С. 5–30.
- Мокронос А. Т.* Онтогенетический аспект фотосинтеза. – М.: Наука, 1981. – 196 с.
- Чукина Н. В., Лукина Н. В., Глазырина М. А., Борисова Г. Г., Бутырин К. В.* Влияние субстрата на морфофизиологические показатели и микоризообразование *Plantago media* L. и *Erigeron acris* L. в техногенно трансформированных местообитаниях // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. Сер. Биологические науки, 2017. – № 6(167). – С. 45–52.
- Grime J. P.* Plant strategies and vegetation processes. – Chichester: John Wiley and Sons, 1979. – 222 pp.
- Ivanova L. A., P'yankov V. I.* Structural adaptation of the leaf mesophyll to shading // Russian Journal of Plant Physiology, 2002. – Vol. 49, № 3. – Pp. 419–431.