

Структура и функциональная активность хвои ели сибирской и ели колючей из различных районов г. Нижнего Тагила

Дифенбах Д.Д.

Биология

11 класс, МАОУ Политехническая гимназия г. Нижний Тагил, Свердловской области

Научный руководитель: Кононова Л.А. МАОУ Политехническая гимназия г. Нижний Тагил, Свердловской области

Введение

Основная проблема: Важную роль в экологических исследованиях играет изучение структурно-функциональной характеристики листового аппарата растений. Хвоя – видоизмененный лист, основной функцией которого является фотосинтез, и активный газообмен. Хвоя в первую очередь реагирует на изменение условий среды. Структура хвои и ее фотосинтетическая активность тесно взаимосвязаны. Параметры мезоструктуры, которые включают толщину кутикулы, эпидермиса и площадь поверхности хвои, количество и размеры клеток и хлоропластов, а также количество зеленых хлорофиллов и каротиноидов, довольно сильно изменяются в зависимости от тех или иных экологических факторов, в том числе загрязнения воздуха.

Актуальность: Нижний Тагил – промышленный город, поэтому одна его из главных проблем – экологическая проблема. Именно по реакции растительного организма мы можем судить о степени загрязнения воздушной среды в любом из районов нашего города и делать вывод о том, какой район города более благоприятный для жизни растений, животных и людей.

Цель работы – по изменению структурно-функциональных показателей хвои ели сибирской и ели колючей оценить влияние атмосферного загрязнения на хвойные породы, произрастающие в разных зонах города Нижний Тагил.

Задачи:

1. Определить толщину кутикулы и эпидермиса хвои елей.
2. Определить площадь поверхности хвои елей.
3. Подсчитать количество клеток фотосинтезирующей ткани хвои.
4. Определить содержание фотосинтетических пигментов в хвое елей.
5. Оценить возможности использования ели сибирской и ели колючей в качестве биоиндикатора по состоянию фотосинтетического аппарата.

Объект – хвоя ели сибирской и ели колючей.

Предмет – структура фотосинтетического аппарата и концентрация фотосинтетических пигментов в хвое ели сибирской и ели колючей.

Гипотеза: мы предполагаем, что по анатомо-морфологическим характеристикам фотосинтетического аппарата и содержанию фотосинтетических пигментов можно оценить уровень химического загрязнения воздуха

Обзор литературы

Фотосинтез – это процесс, при котором энергия солнечного света превращается в энергию химических связей. В клетках зеленых растений в процессе эволюции возник механизм, при котором происходит восстановление углекислого газа до углеводов и окисление воды до кислорода. Только с помощью зеленых растений энергия Солнца может накапливаться в виде энергии химических связей. Запасание энергии в результате фотосинтеза происходит на различные промежутки времени: от минут, часов до сотен миллионов лет [6, с. 465; 2, с. 742].

Исследования показали также, что почти весь кислород атмосферы фотосинтетического происхождения. Все это и позволяет говорить о космическом значении фотосинтеза. Фотосинтез имеет важнейшее значение и в жизни самого растительного организма, являясь процессом воздушного питания растений.

В 1771 г. английский ученый Дж. Пристли обратил внимание на то, что в присутствии зеленых растений воздух вновь становился пригодным как для

дыхания, так и для горения. В дальнейшем было установлено, что зеленые растения из воздуха поглощают CO_2 , из которого при участии воды на свету образуется органическое вещество. Именно этот процесс в 1877 г. немецкий ученый В. Пфедфер назвал фотосинтезом. Предположение о том, что энергия, используемая растениями, – это энергия Солнца, которую растения в процессе фотосинтеза превращают в химическую энергию было развито и экспериментально подтверждено в исследованиях русского ученого К.А. Тимирязева [7, с. 464].

Методы: определение мезоструктурных характеристик фотосинтетического аппарата [1, с 25, 2, с. 742], спектрофотометрия [1, с. 25].

Материалы и оборудование.

Хвоя ели сибирской и ели голубой, дистиллированная вода, 80% ацетон, ступки фарфоровые с пестиками, воронки, ножницы, пробирки, фильтры, спектрофотометр (СФ).

Основная часть

Хвоя елей отбиралась с участков города Нижний Тагил:

1. район Драматического театра – центр города, находится в непосредственной близости от проезжей части с интенсивным автомобильным движением, на расстоянии 2,5 км от ООО ЕВРАЗ НТМК
2. учебно-опытный участок Станции юных натуралистов – расположен на расстоянии 600 м от центра города, на значительном удалении от проезжей части во дворе жилых домов, на расстоянии 2 км от ООО ЕВРАЗ НТМК,
3. Рудоуправление – расположен на расстоянии 3 км от ООО ЕВРАЗ НТМК, в непосредственной близости от проезжей части с интенсивным автомобильным движением. Средний возраст хвои составлял 3–3,5 года.

Хвою фиксировали в 60% спирте в пробирках Эпиндорфа.

Определение мезоструктурных характеристик фотосинтетического аппарата хвои. При помощи микротома для оптической микроскопии изготавливали тонкие срезы хвои толщиной 30 мкм. Затем на электронном микроскопе Микромед – 3 с использованием цифровой камеры Levenhuk D2L 0,3

Мпикс получали фотографии срезов хвои. Толщину кутикулы, эпидермиса и площадь поверхности хвои определяли при помощи программы Siam's Mesoplan.

Подсчет числа клеток. Определение числа клеток проводили на суспензии клеток. Для подсчета числа клеток проводили мацерацию тканей. Для подсчета использовали камеру Горяева. Подсчет клеток осуществляли в больших квадратах камеры Горяева на электронном микроскопе Микромед – 3. Расчет числа клеток на единицу листовой поверхности проводили после усреднения данных [1, с. 25]..

Содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов определяли спектрофотометрически. Для экстрагирования пигментов из листьев использовали 80% водный раствор ацетона. Навеску растительного материала (100 мг) растирали в ступке с добавлением 1 мл 80%-го ацетона. Растертую массу переносили в пробирку. Ступку обмывали 2 мл ацетона 2 раза и сливали материал в пробирку. Итоговый объем вытяжки 5 мл. Полученный экстракт фильтровали от осадка. Полученная ацетоновая вытяжка содержит сумму зеленых и желтых пигментов. Концентрацию пигментов определяли на спектрофотометре. Для этого часть полученного экстракта наливали в кювету СФ. Вторую кювету заполняли чистым растворителем (80%-ным ацетоном) и использовали как контрольную. Кюветы помещали в кюветную камеру СФ и определяли оптическую плотность (*D*) вытяжки при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофилла *a* и *b* и каротиноидов в ацетоне. Для хлорофилла *a* максимум поглощения в 80% ацетоне наблюдается при длине волны 665 нм, для хлорофилла *b* – при 649 нм, для каротиноидов – 440,5 нм. Расчет хлорофиллов проводили по формуле Vernon, содержание каротиноидов рассчитывали по формуле Wettstein [2, с. 742]. Эксперимент был проведен в 2 биологических повторностях (по 10 растений изучаемого вида). Число аналитических повторностей при определении изученных параметров – 5.

Результаты и обсуждение

При помощи микротомы нами были получены тонкие срезы хвои (рис. 1). Установлено, что наибольшая толщина кутикулы и эпидермиса у ели сибирской и ели колючей с территории Рудуправление и района Драмтеатра.

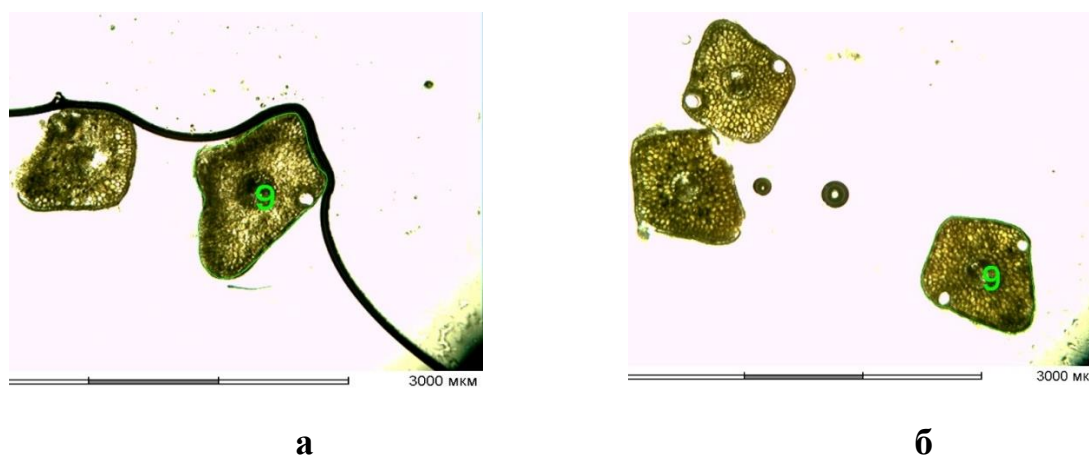


Рисунок 1. Срезы хвои: а – ель сибирская, б – ель колючая.

Наименьшее значение толщины кутикулы зафиксировано у растений с территории учебно-опытного участка Станции юных натуралистов (табл. 1).

Таблица 1.

Толщина кутикулы и эпидермиса, мкм.

Местообитание	Ель сибирская		Ель колючая	
	Толщина кутикулы	Толщина эпидермиса	Толщина кутикулы	Толщина эпидермиса
СЮН	11,7	17,5	9	15,1
Театральная площадь	17,4	27,1	10	18,3
Рудуправление	19,1	24,41	11,7	18,5

Большая толщина кутикулы и эпидермального слоя у ели сибирской говорит о ее большей чувствительности к атмосферному загрязнению, чем у ели колючей. Усилившийся показатель толщины кутикулы у ели сибирской при действии токсикантов был выявлен в исследованиях Р.О. Собчак с соавторами [3, с114-121].

Площадь листовой высежки ели сибирской ниже, чем у ели колючей со всех исследуемых участков, что говорит о большем повреждении клеток губчатой ткани (рис. 2).

Наибольшее повреждение наблюдается у хвой ели сибирской с участков Рудоуправление и района Драматического театра.

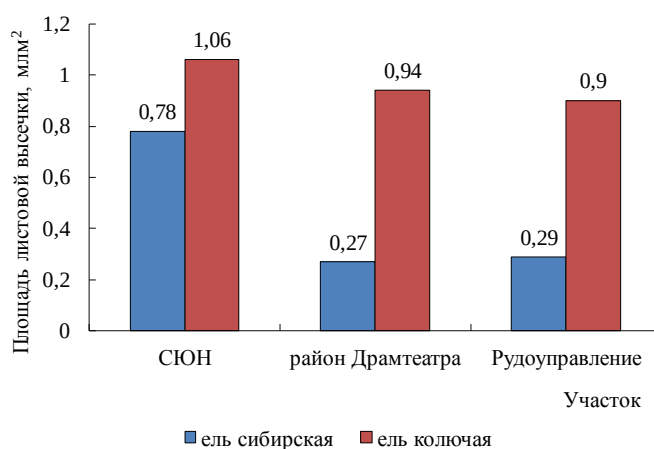


Рисунок 2. Площадь листовых высечек ели сибирской и ели колючей, мм².

Хвоя ели колючей наиболее газоустойчива по данному показателю.

Исследования других авторов подтверждают наши результаты [4, с. 89-93].

Для ели сибирской и ели колючей характерно однообразное строение мезофилла, структурная основа которого представлена преимущественно простыми клетками. Наблюдается незначительное увеличение количества клеток фотосинтезирующей ткани у ели сибирской, произрастающей на участках Рудоуправление и Театральная площадь. Анализ количества клеток у ели колючей из изучаемых участков так же не выявил существенных различий (табл. 2).

Таблица 2. Количество клеток в единице листовой поверхности, тыс./см².

Местообитание	Ель сибирская	Ель колючая
СЮН	46	33,8
Театральная площадь	55	35
Рудоуправление	52	37,2

Анализ содержания фотосинтетических пигментов у ели сибирской показал что наибольшее количество хлорофилла *a* и хлорофилла *b* зафиксировано у

растений, произрастающих на участках Драматический театр ($a - 3,24$ мг/л, $b - 4,27$ мг/л) и Рудоуправление ($a - 2,94$ мг/л, $b - 4,03$ мг/л). Содержание пигментов у ели сибирской с учебно-опытного участка станции юных натуралистов составил: $a - 2,73$ мг/л, $b - 4$ мг/л (рис. 3).

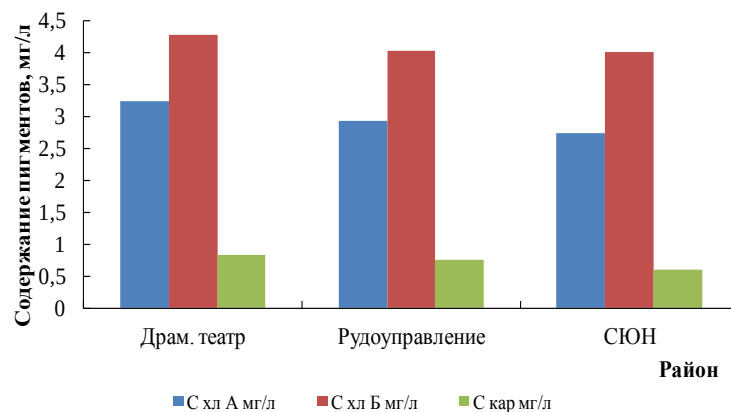


Рисунок 3. Концентрация фотосинтетических пигментов в хвое ели сибирской.

Анализ содержания хлорофилла a в хвое ели колючей, произрастающей на участках Рудоуправление и станция юных натуралистов, а также содержание хлорофилла b – с участков Драматический театр и станция юных натуралистов не выявил существенных различий (рис. 4)

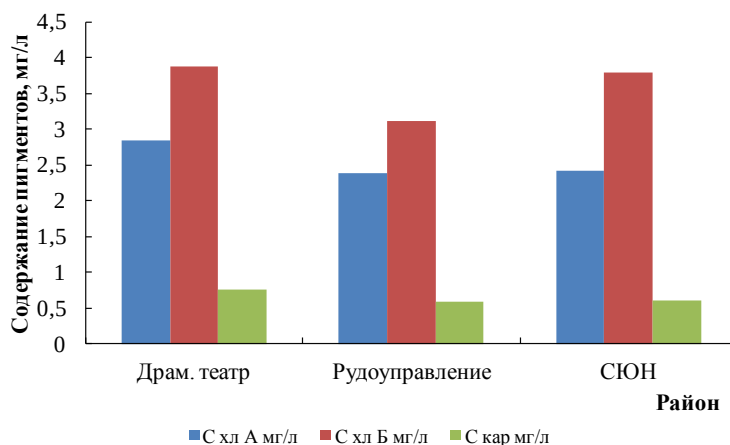


Рисунок 4. Концентрация фотосинтетических пигментов в хвое ели колючей.

Наибольшее содержание хлорофиллов a и b в хвое ели сибирской и ели колючей с участка близко расположенного к источникам загрязнения можно объяснить тем, что химическое загрязнение отрицательно сказывается на фотосинтезе растений, в результате чего они адаптируются в меняющихся условиях среды для

поддержания своей жизнедеятельности. Аналогичные данные были получены у ели сибирской и в исследованиях других авторов [5, с. 232-237].

Соотношение хлорофиллов a/b наглядно подтверждает факт более быстрого разрушения хлорофилла b , как наиболее чувствительного пигмента фотосинтетической системы, у исследуемых видов ели, произрастающих в районе Драматического театра и Рудуправления (рис. 5, 6).

Наименее синтез хлорофилла b нарушен у изучаемых видов елей, произрастающих на учебно-опытном участке станции юных натуралистов (рис. 5, 6). Такое разрушение хлорофилла b под влиянием химического загрязнения было показано в эксперименте с хвоей сосны обыкновенной [4, с. 89-93].

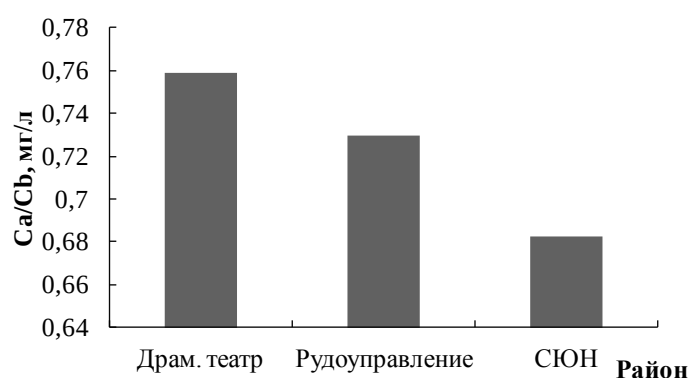


Рисунок 5. Величина отношения Ca/Cb в хвое ели сибирской с разных участков исследования.

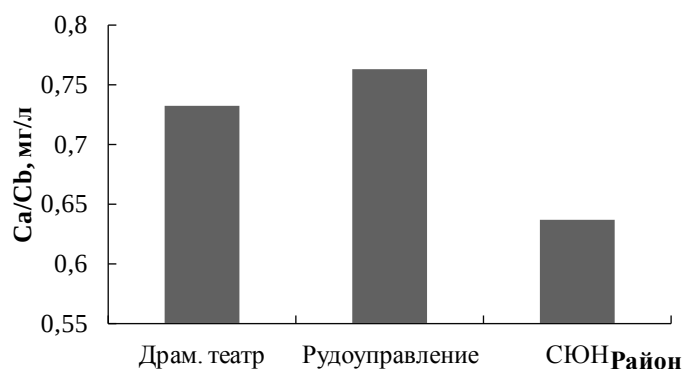


Рисунок 6. Величина отношения Ca/Cb в хвое ели колючей с разных участков исследования.

Каротиноиды выполняют в растительном организме антиоксидантную функцию, препятствуя окислительному стрессу, и их содержание может увеличиваться при

действии на растительный организм негативного фактора. В условиях возрастающих антропогенных нагрузок каротиноиды растений выполняют функцию дополнительных и защитных пигментов, таким образом, обеспечивается устойчивость фотосинтетического аппарата при стрессе. Самое высокое содержание каротиноидов было обнаружено у ели сибирской (0,9 мг/л) и ели колючей (0,8 мг/л), произрастающей на территории Драматического театра (рис. 3, 4).

При этом отношение содержания суммы хлорофиллов к каротиноидам наименьшее у изучаемых видов елей, произрастающих на участках Драматический театр и Рудоуправление (рис. 7, 8), что говорит о том, что у елей с данных местообитаний антиоксидантная функция каротиноидов выше, чем у елей, произрастающих на учебно-опытном участке станции юных натуралистов.

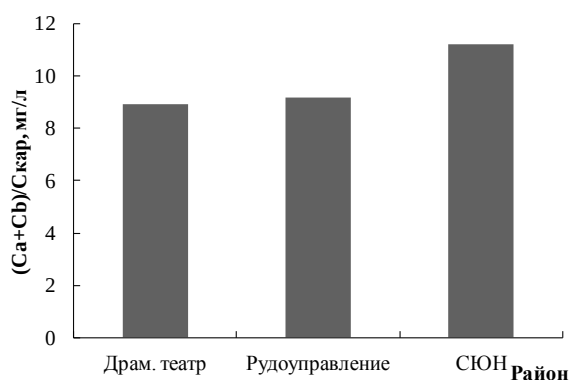


Рисунок 7. Соотношение суммы хлорофиллов к каротиноидам у ели сибирской.

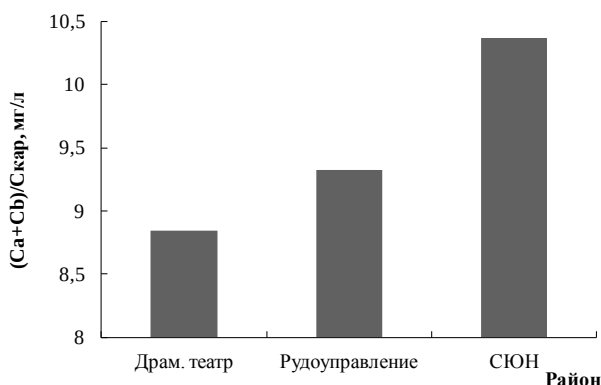


Рисунок 8. Соотношение суммы хлорофиллов к каротиноидам у ели колючей.

Выводы

1. Наибольшая толщина кутикулы и эпидермального слоя наблюдается в хвое ели сибирской и ели колючей с территорий приближенных к шоссейным дорогам с интенсивным движением автотранспорта (Рудуправление и район Драматического театра). Наименьшая толщина обнаружена в хвое ели сибирской и ели колючей с территории учебно-опытного участка Станции юных натуралистов.
2. Обнаружено усиление признаков ксероморфности хвои ели сибирской с участков Рудуправление и район Драматический театр – центр города.
3. Наибольшее содержание хлорофилла а и хлорофилла b наблюдается в хвое ели сибирской и ели колючей с территорий наиболее близко расположенных к источникам химического загрязнения, а также шоссейных дорог с интенсивным движением автотранспорта, что говорит об адаптационных процессах растительного организма к действию поллютантов. Наименьшее содержание обнаружено в хвое елей, произрастающих на территории Станции юных натуралистов.
4. Антиоксидантная функция каротиноидов выше у изучаемых видов елей из местообитаний, наиболее приближенных к источникам химического загрязнения.
5. Анатомо-морфологический комплекс ели сибирской наиболее чувствителен к химическому загрязнению атмосферного воздуха, чем ели колючей, что говорит о возможности использования данного вида в качестве индикатора при экологическом мониторинге.
6. Уровень фотосинтезирующих пигментов в хвое ели сибирской и ели колючей может служить критерием оценки адаптации растения к экологическим условиям.

Список Литературы

1. Определение мезоструктурных характеристик фотосинтетического аппарата растений. Руководство к лабораторным занятиям большого спецпрактикума по физиологии и биохимии растений. Составители Борзенкова Р.А., Храмцова Е.В. Екатеринбург, изд-во Уральского университет, 2006. 25 с.
2. Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. Учебник. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Высшая школа, 2006. 742 с.
3. Собчак Р. О., Астафурова Т. П., Зайцева Т. А., Верхотурова Г. С., Зотикова А. П., Дегтярева О. Н. Оценка состояния хвойных пород в зоне действия атмосферных загрязнителей по структурно-функциональным показателям хвои // KRYLOVIA. Сибирский ботанический журнал, Т. 3. № 2. 2001. С. 114–121.
4. Тужилкина В.В., Ладанова Н.В., Плюснина С.Н. Влияние техногенного загрязнения на фотосинтетический аппарат сосны // Экология. 1998. № 2. С. 89–93.
5. Пахарькова Н. В., Калякина О. П., Шубин А. А., Григорьев Ю. С., Пахарьков С. В., Сорокина Г. А. Различия в акклимационных стратегиях сосны обыкновенной и ели сибирской на загрязнение воздушной среды // ХБЗ. 2010. №3-4. С.232–237.
6. Якушкина Н.И. Физиология растений. Учебник для студентов вузов. М.: «ВЛАДОС», 2005. 465 с.
7. Полевой В.В. Физиология растений. Учебник для биол. спец. вузов. М.: Высшая школа, 1989. 464 с.