

УДК 58.036.2:574.24:582.572.225

Влияние температуры на анатомическое строение и пигментный состав листьев двух широкоареальных видов рода *Allium* L. (Amaryllidaceae J.St.-Hil.)

The influence of temperature on anatomical features and pigment composition of leaves of two wide areal species of the genus *Allium* L. (Amaryllidaceae J.St.-Hil.)

Криницына А. А.¹, Сперанская А. С.¹, Лабунская Е. А.¹, Купцов С. В.², Чурикова О. А.¹

Krinititsina A. A.¹, Speranskaya A. S.¹, Labunskaya E. A.¹, Kuptsov S. V.², Churikova O. A.¹

¹ Биологический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова
E-mail: krinititsina@mail.ru

¹ Lomonosov Moscow State University, Biological faculty

² Ботанический сад Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова

² Botanical Garden of Lomonosov Moscow State University

Реферат. Приведены результаты изучения влияния повышенной температуры на анатомическое строение и пигментный состав листьев *Allium fistulosum* L. и *A. schoenoprasum* L. Отмечено усиление черт ксероморфной организации листа. Возрастание уровня каротиноидов у *A. fistulosum* в верхней части листьев при незначительном снижении хлорофиллов, вероятно, свидетельствует о достаточно эффективной фотозащите. Сильное падение уровня всех пигментов у *A. schoenoprasum* во всех частях листьев может свидетельствовать об отсутствии таковой.

Summary. The results of high temperature influence on anatomical features and pigments composition of leaves of *Allium fistulosum* L. and *A. schoenoprasum* L. are revealed. The strengthening of leaf xeromorphic organization is noticed. The increasing of carotenoides level in the upper part of leaves of *A. fistulosum* along with nonsignificant decreasing of chlorophylls, probably gives evidence about sufficiently effective fotoprotection. Powerful fall of all pigments level in all leaf parts of *A. schoenoprasum* is the evidence of its absence.

Род *Allium*, один из крупнейших в мировой флоре, насчитывает в своем составе около 800 видов. Многие представители этого рода широко используются человеком, например, *A. sativum* (чеснок), *A. cepa* (репчатый лук), *A. fistulosum* (лук-батун), *A. schoenoprasum* (шнитт-лук) и др. Некоторые виды смогли приспособиться к выживанию в неблагоприятных условиях, в частности, в местах с большими перепадами суточных температур. Воздействие высоких температур обуславливает ряд морфолого-анатомических, физиологических и биохимических изменений, которые, в свою очередь, приводят к серьезным потерям, если речь идет об экономически важных растениях. При этом практически нет данных, которые описывают изменения листьев, формирующиеся уже после окончания воздействия стрессового фактора. Целью данной работы являлось выявление изменений в содержании и соотношении пигментов и анатомическом строении разных частей листьев двух видов рода *Allium* после продолжительного воздействия повышенной температуры.

Allium fistulosum L. – культивируемое растение, в диком виде неизвестен. В культуре в Японии и Китае выращивался на протяжении более 2000 лет, в России интенсивно разводится на Дальнем Востоке и Сибири (Введенский, 1935). Может произрастать как в довольно холодных регионах с морозными зимами (Сибирь), так и в условиях повышенных температур с высокой влажностью (Браззавиль, Киншаса в Центральной Африке), наиболее часто встречающаяся высота н. ур. м. – 500 м. Однако на Яве (Индонезия) произрастает на высоте около 200 м н.ур.м. (Grubben, 2004), а в условиях культуры выдерживает высоты до 3100–3850 м н. ур. м. (Verma et al., 2008).

A. schoenoprasum L. – очень распространенный вид. Широко известен как культивируемое пищевое и декоративное растение. Встречается практически по всей Северной Евразии от Британских островов до Камчатки, а также в Северной Америке на лугах, в долинах рек, реже – на каменистых склонах (Введенский, 1935). Приурочен в основном к нелесным участкам с бедными минеральными почвами и достаточным увлажнением, обычен на мерзлотных грунтах, полностью отсутствует в аридных областях. Благодаря способности выдерживать низкие температуры растет в Арктических регионах до 70°N. На низких высотах растет в горных районах, например, в Северной Индии, в субальпийском и альпийском поясе, на высоте 1600–2200 м (Fritsch, Friesen 2002, Terpin et al., 2012) и до 3300 м над ур. м. (Tuncer et al., 2016). В условиях культуры выдерживает высоты до 4060 м над ур. м. (Verma et al., 2008).

Для изучения долгосрочного воздействия высоких температур мы использовали растения *A. schoenoprasum* и *A. fistulosum* из коллекции Ботанического сада МГУ им. М. В. Ломоносова (БС МГУ). После хранения в темноте при +4...+6 °С в течение 4 месяцев (в зимний период) их высаживали в горшки с компостно-песчаной смесью. Выращивание контрольных растений проводили при +21...+23 ° (контроль), выращивание экспериментальных растений – при повышенной температуре +32...+37 °С (опыт) в течение трех недель. Растения, которые выращивали при повышенной температуре, через 3 недели перемещали в условия контроля (+21...+23 °С), где выращивали еще 7 дней. По окончании этого времени анализировали анатомическое строение верхней и нижней частей листьев, их пигментный состав. Интенсивность освещения, режим полива и фотопериод (16 часов день – 8 часов ночь) в опыте и контроле были одинаковыми. Перепад между дневными и ночными температурами составлял +5...+6 °С.

Анатомию листьев анализировали у экспериментальных и контрольных растений. Листовые пластинки: верхнюю и самую нижнюю (молодую) части – фиксировали в RNA-later. Поперечные срезы делали вручную и окрашивали метиленовым синим и суданом III.

Определение количественного состава пигментов проводили для верхней и нижней частей листьев. Экстракцию пигментов проводили 80%-м ацетоном. Спектрофотометрические измерения проводили по стандартной методике (Гавриленко, Жигалова, 2003) при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения пигментов: 470, 646 и 663 нм. Расчет производили по формуле Лихтенхалера (Lichtenthaler, Wellburn, 1983).

В результате проделанной работы было показано, что в условиях длительного воздействия повышенной температуры растения *A. schoenoprasum* продолжали развиваться так же, как и при нормальной температуре, но быстрее переходили к цветению. У *A. fistulosum* при повышенной температуре рост новых листьев затормаживался. К цветению растения этого вида не переходили.

Листья растений *A. schoenoprasum*, которые развивались при 21°С, имели тонкую мелкокладчатую кутикулу, которая у более молодой части листа (нижней) тоньше, чем у верхней. Клетки эпидермиса нижней части листа тонкостенные, однако, у более старой части листа наружная часть клеточной стенки утолщается и составляет около 1/6 просвета. 2–3 субэпидермальных слоя мезофилла богаты цитоплазматическим содержимым и хлоропластами, полости нет.

Листья *A. schoenoprasum*, которые начинали отрастать у растений по окончании длительного воздействия стрессового фактора, визуально четко делились на две части: верхнюю и нижнюю. У той части листа, которая формировалась при воздействии повышенной температуры (верх) и продолжала развиваться при нормальной температуре, поверхность покрыта тонкой гладкой кутикулой. Эпидермальные клетки с утолщенной внешней клеточной стенкой (1/6 от просвета клетки), клетки мезофилла (4–5 слоев) с многочисленными хлоропластами, в последнем слое клеток с хлоропластами встречаются полости округлой формы, которые по размеру равны клеткам мезофилла. Внутри листьев формировалась полость. Часть листа, которая отрастала уже после окончания воздействия стрессового фактора, визуально сильно отличается от более старой светло-зеленым цветом. При этом в течение 7 дней цвет не менялся. Эта часть листа также покрыта тонкой гладкой кутикулой, но эпидермальные клетки имеют утолщенные как наружные, так и внутренние стенки, мезофилл представлен 2–3 слоями округло-диаметрических клеток, богатых хлоропластами. Полость внутри листа не формируется, внутренняя часть листа заполнена клетками изодиаметрической формы.

Листья *A. fistulosum*, развивавшиеся в нормальных условиях, на поперечном срезе округлые, с мелкозубчатыми «ребрами», покрыты тонкой мелкозубчатой кутикулой. Клетки эпидермиса с утол-

ценной (1/4 от просвета клетки) наружной стенкой. Мезофилл состоит из 4–5 слоев клеток с богатым цитоплазматическим содержимым, многочисленными хлоропластами и четко различимыми ядрами. Во втором слое клеток мезофилла расположены округло-изодиаметрические полости. Проводящие пучки «приурочены» к «ребрам». К центральной части листа (на поперечном срезе) наблюдается плавный переход от клеток изодиаметрической формы к клеткам прозенхимной формы без цитоплазматического содержимого. В центре листа – полость.

Так же, как и у *A. schoenoprasum*, отрастающие после воздействия стрессового фактора листья *A. fistulosum* визуально делятся на 2 части: молодую – светло-зеленую и более старую – темно-зеленую. У верхней части, которая находилась непосредственно под воздействием высокой температуры, при дальнейшем развитии в условиях нормальной температуры, наблюдается сильное (1/3–1/2 от просвета клетки) утолщение наружных стенок эпидермальных клеток. В остальном строение листа оказалось сходным со строением листьев, развивавшихся при 21 °С: во втором слое клеток мезофилла также наблюдается наличие полостей округло-изодиаметрической формы, в которых, предположительно, может скапливаться слизь, предохраняющая растения от потери влаги, и полости в центре листа. Нижняя часть листа, которая развивалась уже после воздействия стрессового фактора, оказалась сходной с контролем по строению, за исключением толщины стенок эпидермальных клеток: наружная стенка оказалась утолщена, как и у тех листьев, которые развивались при воздействии стрессового фактора.

При анализе пигментного состава разных частей листьев у *A. schoenoprasum* было показано, что в нормальных условиях в молодой (нижней) части листьев количество каждого из хлорофиллов примерно в 3,5 раза меньше, чем в верхней, а количество каротиноидов оказалось настолько малым, что определить его стандартными методами оказалось невозможным (см. таблицу). У *A. fistulosum* содержание обоих хлорофиллов в нижней части листа также было ниже, чем в верхней, однако количество хлорофилла В было в 2 раза меньше, тогда как хлорофилла А примерно в 1,5 раза. В результате соотношение хлорофилл А/ хлорофилл В в нижней части листьев оказалось выше, чем в верхней части. Содержание каротиноидов в обеих частях листьев практически не отличалось.

Таблица

Пигментный состав разных частей листьев *A. schoenoprasum* и *A. fistulosum* через 7 дней после окончания воздействия стрессового фактора

| условия развития | <i>Allium schoenoprasum</i> | | | | <i>Allium fistulosum</i> | | | |
|--------------------------|-----------------------------|-------|--------------|-------|--------------------------|-------|--------------|-------|
| | +21 °С | | +32...+37 °С | | +21 °С | | +32...+37 °С | |
| часть листа | верх | низ | верх | низ | верх | низ | верх | низ |
| хл А мг/г | 2,153 | 0,615 | 0,287 | 0,185 | 1,941 | 1,180 | 1,268 | 0,316 |
| хл В мг/г | 1,199 | 0,351 | 0,129 | 0,076 | 0,884 | 0,402 | 0,504 | 0,130 |
| каротиноиды | 0,354 | – | 0,037 | 0,035 | 0,277 | 0,248 | 0,323 | 0,063 |
| хл А/хл В | 1,770 | 1,753 | 2,223 | 2,437 | 2,302 | 2,948 | 2,487 | 2,467 |
| (хл А+хл В)/ каротиноиды | 9,569 | – | 11,368 | 7,520 | 10,314 | 7,230 | 5,458 | 7,169 |

После окончания воздействия стрессового фактора у *A. schoenoprasum* наблюдалось сильное снижение (в 10 раз) количества обоих хлорофиллов и каротиноидов в верхней части листьев и несколько меньшее (в 5 раз) в нижней. У *A. fistulosum* также происходило снижение количества хлорофиллов (хотя и не так сильно, как у *A. schoenoprasum*), тогда как количество каротиноидов в верхней части листьев, наоборот, увеличивалось (см. табл.).

В целом, у обоих видов после окончания воздействия стрессового фактора (повышенная температура культивирования) наблюдалось усиление черт ксероморфной организации листа (утолщенные стенки эпидермальных клеток): как у той части, что развивалась при воздействии повышенной температуры, так и молодой части листа, отрастающей по окончании воздействия.

Возрастание уровня каротиноидов у *A. fistulosum* в верхней части листьев, которые развивались при повышенной температуре, при незначительном снижении хлорофиллов, вероятно, говорит о до-

статочной эффективной фотозащите при помощи каротиноидов. Похожая реакция была ранее обнаружена у некоторых других видов растений (Camejo et al., 2006; Meiri et al., 2010). В нижней части листьев, напротив, наблюдается сильная потеря хлорофиллов, а доля каротиноидов не увеличивается, т. е., их недостаточно для эффективной фотопротекции. У *A. schoenoprasum* во всех частях листьев происходит сильное падение уровня всех пигментов, что может свидетельствовать об отсутствии эффективной защиты пигментов системой каротиноидов.

Благодарности

Настоящая работа была выполнена в рамках Госзадания Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова (тема № ААА-А16-116021660105-3).

ЛИТЕРАТУРА

- Введенский А. Род лук – *Allium* // Флора СССР. – М.: Изд-во АН СССР, 1935. – Т. 4. – С. 274.
- Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Большой практикум по фотосинтезу. – М., 2003. – 256 с.
- Camejo D., Jiménez A., Alarcón J. J., Torres W., Gómez J. M., Sevilla F. Changes in photosynthetic parameters and antioxidant activities following heat-shock treatment in tomato plants // *Funct. Plant Biol.*, 2006. – Vol. 33. – P. 177–187.
- Fritsch R. M., Friesen N. Evolution, domestication and taxonomy // *Allium crop science: recent advances*. – UK: CABI Publishing, 2002. – P. 5–30.
- Grubben G. J. H. Plant resources of tropical Africa, Vegetables // *PROTA*, 2004. – Vol. 2. – P. 55.
- Lichtenthaler H. K., Wellburn A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents // *Biochem. Soc. Trans.*, 1983. – Vol. 11, No 5. – P. 591–592.
- Meiri D., Tazat K., Cohen-Peer R., Farchi-Pisanty O., Aviezer-Hagai K., Avni A., Breiman A. Involvement of Arabidopsis ROF2 (FKBP65) in thermotolerance // *Plant Mol. Biol.*, 2010. – Vol. 72. – P. 191–203.
- Terpin R. D. I. A new locality of *Allium schoenoprasum* subsp. *alpinum* in the idrija hills. // *Folia Biologica et Geologica*, 2012. – Vol. 53. – P. 1–2.
- Tuncer B., Firat M., Yarali F., Sarikamis G. Morphology and utilization of *Allium* L. species used as herbs in cheese around Van province in Turkey // *Acta Hort.*, 2016. – Vol. 1143. – P. 171–178.
- Verma V. D., Pradheep K., Khar A., Negi K., Rana J. C. Collection and characterization of *Allium* species from Himachal Pradesh // *Ind. J. Plant Genet. Resour.*, 2008. – Vol. 21, No 3. – P. 225–228.