

ФУНКЦІОНУВАННЯ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ КУШИРА ЗАНУРЕНОГО (*CERATOPHYLLUM DEMERSUM* L.) В УМОВАХ ВПЛИВУ ДІЯЛЬНОСТІ ШАХТ У М. КРИВИЙ РІГ

Алексєєва А.А., Маренков О.М.

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара
пр. Гагаріна, 72, 49010, м. Дніпро
ann.alekseeva21@gmail.com

На сьогодні регулярний контроль якості природних водойм на території індустріальних міст є актуальним і необхідним. Водні екосистеми малих річок гірничопромислових регіонів зазнають особливого антропогенного тиску. Річка Саксагань є прикладом водотоку із сильнозміненим природним режимом, розташованого в центрі промислової агломерації Кривого Рогу. Вища водна рослинність у водоймах збагачує водні маси киснем, органічними і мінеральними речовинами. Тому дослідження морфо-анатомічних та фізіолого-біохімічних властивостей макрофітів в урбосередовищі викликають інтерес у науковців. Одним із найчутливіших метаболічних процесів до впливу у рослин є фотосинтез, зокрема, всі процеси біосинтезу фотосинтезувальних пігментів чутливі до екоумов. Рівень пластидних пігментів та їх стан визначають стійкість, життєздатність і продуктивність рослин. Мета роботи – визначити вміст і співвідношення хлорофілів у листках кушира зануреного (*Ceratophyllum demersum* L.) з різних ділянок р. Саксагань, поблизу шахт «Тернівська» та «Октябрська». Відбір зразків рослин *C. demersum* здійснювали у вересні 2019 року на дослідних ділянках, розташованих вище випусків зворотних (дошових і талих) вод, у місцях випусків зворотних (дошових і талих) вод та нижче випусків зворотних (дошових і талих) вод. Вміст хлорофілів (Chl *a*, Chl *b* і загального хлорофілу) визначали за методом Wintermans J. F. G. M. De Mots A. (1965) в етанольних екстрактах листків дерев за допомогою спектрофотометра «КФК-3». Математичну обробку результатів проводили варіаційно-статистичним методом. Достовірність відмінності одержаних експериментальних даних із контрольними оцінювали за допомогою *t*-критерію Стьюдента. Нульову гіпотезу відкидали при $P \leq 0,05$. Всі розрахунки проводили за допомогою програмного пакета Statistica 6.0. У ході дослідження встановлено, що вміст хлорофілів та співвідношення форм хлорофілу (Chl *a*/Chl *b*) варіювали в листках *C. demersum* залежно від умов впливу діяльності обох шахт. Враховуючи інформативність показників вмісту пластидних пігментів у листках *C. demersum* і чутливість виду до антропогенного забруднення, перспективним є його використання як біоіндикатора при здійсненні оцінки екологічного стану водойм урбанізованих територій. *Ключові слова:* *Ceratophyllum demersum*, водні рослини, фотосинтез, хлорофіл *a*, хлорофіл *b*, забруднення водойм, біомоніторинг.

The functioning of the photosynthetic apparatus of the rigid hornwort (*Ceratophyllum demersum* L.) under the influence of mines in the Kryvyi Rih city. Alexeyeva A., Marenkov O.

Currently, regular quality control over natural water bodies in industrial cities is relevant and necessary. Water ecosystems of small rivers in mining regions are under particular anthropogenic pressure. The Saksahan river is an example of a watercourse with a strongly changed natural regime, it is located in the center of the industrial agglomeration of Kryvyi Rih. Higher water vegetation in reservoirs enriches water masses with oxygen, organic and mineral substances. Therefore, the study on the morphological, anatomical, physiological and biochemical properties of macrophytes from urban areas is of scientists' interest. Metabolic processes in plants called photosynthesis is especially sensitive to the effects of anthropogenic factors, in particular, all processes of photosynthetic pigment biosynthesis are sensitive to environmental conditions. The level of plastid pigments and their state determine the stability, viability and productivity of plants. The aim of the work is to determine the content and ratio of chlorophylls in the leaves of common hornwort (*Ceratophyllum demersum* L.) collected in different sites of the Saksahan river near the Ternivskay and Oktyabrskay mines. Sampling of *C. demersum* plants took place in September 2019 at experimental sites located above the discharge of return water (rain water and meltwater) in the places of discharge of return water (rain water and meltwater) and below the discharge of return water (rain water and meltwater). The content of chlorophylls (Chl *a*, Chl *b*, and total chlorophyll) has been determined using the J. Wintermans F. G. M. method. De Mots A. (1965) in ethanol extracts of tree leaves using the KFK-3 spectrophotometer. The results were mathematically processed using the variable-based statistical method. The significance of differences between the experimental data obtained and the control data was evaluated using the Student's *t*-test. The null hypothesis was rejected at $P \leq 0.05$. All calculations were performed using the Statistica 6.0 software package. The study has revealed that the chlorophyll content and the ratio of chlorophyll forms (Chl *a*/Chl *b*) varied in *C. demersum* leaves depending on the influence of both mines. Taking into account the informative content of plastid pigments in the *C. demersum* leaves and the sensitivity of the species to anthropogenic pollution, its use as a bioindicator in the assessment of the ecological state of reservoirs in urban areas is promising. *Key words:* *Ceratophyllum demersum*, aquatic plants, photosynthesis, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, water pollution, biomonitoring.

Постановка проблеми. Кількість хімічних елементів, що надходять у навколишнє середовище в результаті техногенезу, останнім часом значно перевищує рівень їхнього природного надходження. Включаючись у біогеохімічні цикли міграції, антропогенні потоки призводять до швидкого поширення

забруднюючих речовин в компонентах міського ландшафту. Обсяги поллютантів, що містять важкі метали (ВМ) та синтетичні поверхнево-активні речовини (СПАР), щорічно зростають і завдають шкоди навколишньому середовищу, порушуючи існуючу екологічну рівновагу [12; 13]. До прикладу, надлишок

свинцю в рослинах, пов'язаний з високою його концентрацією в ґрунті, пригнічує дихання і процес фотосинтезу, іноді призводить до збільшення вмісту кадмію та зниження надходження цинку, кальцію, фосфору, сірки. Унаслідок цього відбувається зменшення урожайності та різке погіршення якості виробленої продукції. Зовнішніми симптомами негативного впливу свинцю є поява темно-зеленого листя, скручування старого листя, в'янення листя [10].

Актуальність дослідження. Інтерес до вищих водних рослин (макрофітів) обумовлений їх роллю у водних екосистемах. Вважається, що вища водна рослинність у водоймах відіграє подвійну роль: позитивну – збагачення водної маси киснем, органічними і мінеральними речовинами, і негативну – накопичення в період розпаду рослинних залишків у воді легкоокиснюючих органічних і токсичних речовин, природу яких до теперішнього часу остаточно не з'ясовано. У літературі відомості про пігментний склад більшості прибережно-водних і водних рослин незначні [14; 17], а детальні дослідження пігментного комплексу виконані на обмеженій кількості найбільш поширених видів гідрофітів [18].

Адаптаційні процеси до стресових факторів залежать головним чином від оптимального функціонування асиміляційного апарату рослини, одним із показників якого є рівень фотосинтетичних пігментів і їхнє співвідношення [8]. Уміст пластидних пігментів та їх стан визначають стійкість, життєз-

датність і продуктивність рослин [16]. Порушення фотосинтезу є найпершими невидимими пошкодженнями, які з'являються у рослин, призводячи до появи видимих морфологічних і анатомічних змін, пов'язаних із руйнуванням пігментних комплексів [7]. Зменшення вмісту пластидних пігментів у листках в міру зростання антропогенного навантаження на екотопи зумовлено здатністю окремих екоотоксикантів, зокрема важких металів, акумулюватися у хлоропластах, інтенсифікувати процеси вільнорадикального окислення ліпідів їх мембран та інгібувати синтез фотосинтетичних ферментів [9; 11; 14].

Метою даної роботи було визначити вміст і співвідношення хлорофілів у листках кушира зануреного (*Ceratophyllum demersum* L.) з різних ділянок р. Сакагань.

Методологія дослідження. Відбір зразків рослин *C. demersum* здійснювали у вересні 2019 року на 6 ділянках р. Сакагань поблизу шахт «Тернівська» та «Октябрська». Дослідні ділянки (ДД) були розташовані вище випусків зворотних (дощових і талих) вод (48°04'00.2"N 33°31'15.6"E – ДД №1; 47°59'24.6" N 33°25'50.3"E – ДД №4), у місцях випусків зворотних (дощових і талих) вод (48°03'55.0"N 33°31'29.9"E – ДД №2; 47°59'25.7" N 33°25'50.0"E – ДД №5) та нижче випусків зворотних (дощових і талих) вод (48°03'56.6"N 33°31'12.6"E – ДД №3; 47°59'31.0" N 33°26'07.9"E – ДД №6) (рис. 1).



Рис. 1. Карта-схема розташування дослідних ділянок поблизу шахт «Тернівська» (1, 2, 3) та «Октябрська» (4, 5, 6) у м. Кривий Ріг

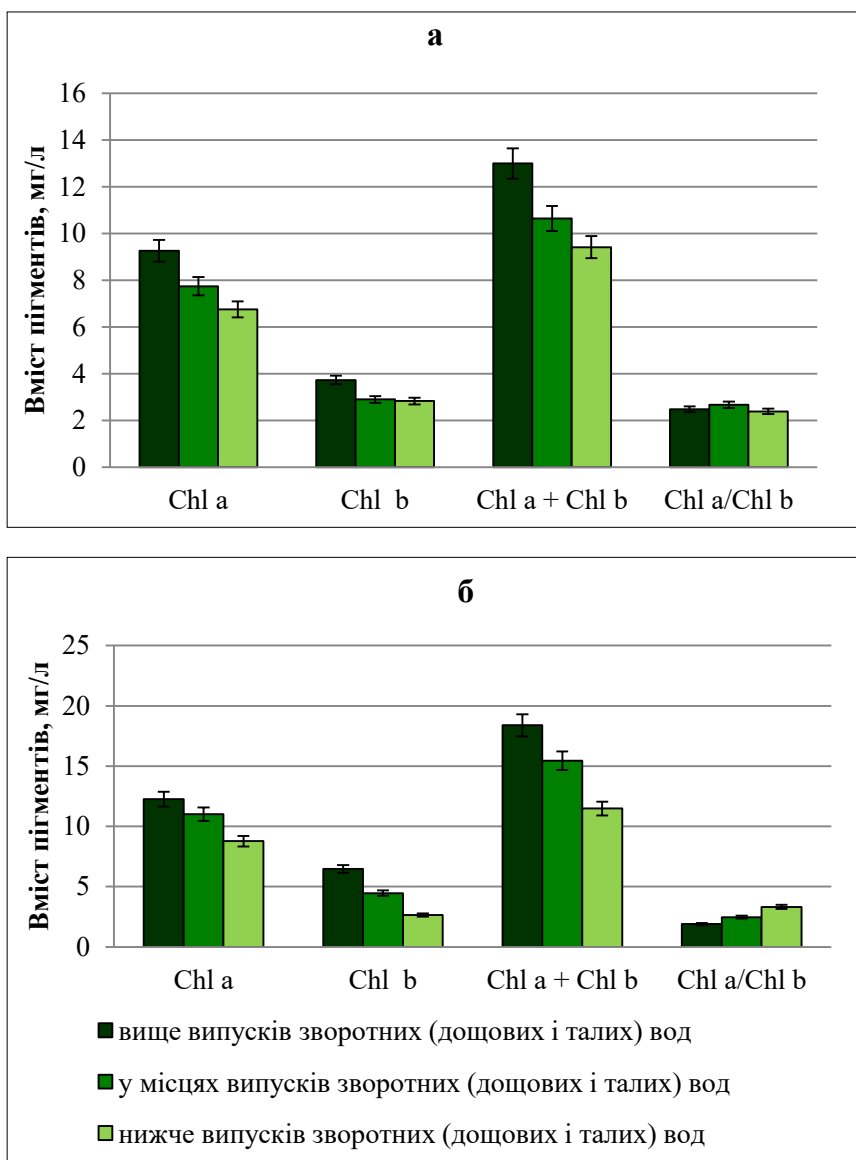


Рис. 2. Вміст і співвідношення пігментів у листках *C. demersum* з різних ділянок р. Саксагань у зоні впливу діяльності шахт «Тернівська» (а) та «Октябрська» (б): Chl a – хлорофіл a, Chl b – хлорофіл b, Chl a + Chl b – сума хлорофілу a та хлорофілу b, Chl a/Chl b – співвідношення хлорофілу a до хлорофілу b

Вміст хлорофілів (Chl a, Chl b і загального хлорофілу) визначали за методом Wintermans J. F. G. M. De Mots A. (1965) [4] в етанольних екстрактах листків дерев за допомогою спектрофотометра «КФК-3». Концентрацію хлорофілів визначали за рівняннями [2]:

$$C_{\text{Chl } a} \text{ (мг/л)} = 13,70 D_{665} - 5,76 D_{649}$$

$$C_{\text{Chl } b} \text{ (мг/л)} = 25,80 D_{649} - 7,60 D_{665}$$

$$C_{\text{Chl } a+b} \text{ (мг/л)} = 6,10 D_{665} + 20,04 D_{649}$$

де: $C_{\text{Chl } a}$ – концентрація хлорофілу a; $C_{\text{Chl } b}$ – концентрація хлорофілу b; D_{665} – оптична густина екстракту за λ 665 нм; D_{649} – оптична густина екстракту за λ 649 нм.

Математичну обробку результатів проводили варіаційно-статистичним методом. Достовірність відмінності одержаних експериментальних даних із контрольними оцінювали за допомогою t-критерію

Стьюдента. Нульову гіпотезу відкидали при $P \leq 0,05$. Всі розрахунки проводили за допомогою програмного пакета Statistica 6,0.

Виклад основного матеріалу. Характер залежності функціонального стану рослин від умов їхнього росту й розвитку та пристосування до чинників зовнішнього середовища тісно пов'язаний зі складною природою фотосинтезу та, насамперед, особливістю функціонування пігментного апарату [1; 5; 6]. Хлоропласти представлені великою кількістю ферментних систем, що зумовлюють різноманіття біохімічних перетворень у цих структурних елементах протоплазми, у тому числі хлорофілом a і b. Дані вмісту головних фоторецепторів рослинних клітин дозволяють проаналізувати їх взаємодію з чинниками зовнішнього середовища.

Встановлено, що вміст хлорофілів та співвідношення форм хлорофілу (Chl *a*/Chl *b*) варіювали в листках *C. demersum* залежно від умов впливу діяльності обох шахт (рис. 2). У листках рослин кушира зануреного з ділянок у місцях та нижче випусків зворотних (дощових і талих) вод поблизу шахти «Тернівська» відмічено достовірне зниження вмісту хлорофілу *a* і *b* та їхньої суми відповідно на 16 і 27 %, 22 і 24 % й 18 і 28 % у порівнянні з варіантами з ділянки вище випусків зворотних (дощових і талих) вод (рис. 2, а).

Зменшення співвідношення Chl *a*/Chl *b* у листках *C. demersum* з ділянки у місцях випусків зворотних (дощових і талих) вод порівняно з листками з ділянки вище випусків зворотних (дощових і талих) вод вказує на підвищення кількості Chl *b*, який виконує допоміжну і захисну роль [15], сприяє підтриманню фотосинтетичної функції.

У зоні впливу шахти «Октябрська» у листках кушира зануреного з ділянок у місцях та нижче випус-

ків зворотних (дощових і талих) вод зафіксовано зменшення концентрації хлорофілу *a* і *b* та їхньої суми відповідно на 10 і 28 %, 31 і 60 % й 16 і 38 % у порівнянні з варіантами з ділянки вище випусків зворотних (дощових і талих) вод (рис. 2, б). Збільшення співвідношення Chl *a*/Chl *b* від 1,9 у листках *C. demersum* з ділянки вище випусків зворотних (дощових і талих) вод до 2,47 і 3,32 у листках макрофіта з ділянок у місцях та нижче випусків зворотних (дощових і талих) вод вказує на більш значну редукцію вмісту хлорофілу *b*. Отримані результати узгоджуються із зауваженням J. A. Ramirez-Valiente, K. Koehler, J. Cavender-Bares [3], що фотосинтез – це один із найбільш чутливих процесів до стресів навколишнього середовища.

Головні висновки. Враховуючи інформативність показників вмісту пластидних пігментів у листках *C. demersum* і чутливість виду до антропогенного забруднення, перспективним є його використання як біоіндикатора при здійсненні оцінки екологічного стану водойм урбанізованих територій.

Література

1. Brouwer B., Ziolkowska A., Bagard M., Keech O., Gardeström P. The impact of light intensity on shade-induced leaf senescence. *Plant Cell Environ.* 2012. № 35 (6). P. 1084–1098.
2. Current Protocols in Food Analytical Chemistry / E. Wrolstad (Editor-in-Chief; Oregon State University), Terry E. Acree (Cornell University), Eric A. Decker (University of Massachusetts) and other. 2001. 1000 p.
3. Ramirez-Valiente J. A., Koehler K., Cavender-Bares J. Climatic origins predict variations in photoprotective leaf pigments in response to drought and low temperature in live oaks (*Quercus series virentes*). *Tree Physiology.* 2015. № 35 (1). P. 521–534.
4. Wintermans J. F. G. M., De Mots A. Spectrophotometric Characteristics of Chlorophyll a and b and Their Phaeophytins in Etanol. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1965. № 109 (2). P. 448–453.
5. Zhang H., Zhong H., Wang J., Sui X., Xu N. Adaptive changes in chlorophyll content and photosynthetic features to low light in *Physocarpus amurensis* Maxim and *Physocarpus opulifolius* «Diabolo». *Peer J.* 2016. №4: e2125.
6. Болондинский В. К., Виликайнен Л. М. Исследование CO₂-газообмена деревьев карельской березы в условиях низкой освещенности в посадках с разным плодородием почвы. *Труды Карельского научного центра РАН.* 2017. № 5. С. 52–65.
7. Глібовицька Н. І. Вплив антропогенного забруднення довкілля на вміст пластидних пігментів у листках липи серцелистої (*Tilia cordata* Mill.). *Вісник Львівського університету. Серія біологічна.* 2014. Вип. 65. С. 197–201.
8. Гнатів П.С. Функціональна діагностика в дендроекології. Львів: Камула, 2014. 336 с.
9. Дымова О. В., Далькэ И. В. Фотосинтетические пигменты и CO₂-газообмен водных макрофитов в подзоне средней тайги. *Известия Коми научного центра УрО РАН.* 2016. № 1(25). С. 37–44.
10. Дымова О. В., Далькэ И. В. Фотосинтетические пигменты и CO₂-газообмен водных макрофитов в подзоне среней тайги. *Известия Коми научного центра УрО РАН.* 2016. № 1(25). С. 37–44.
11. Ипатова В. И. Адаптация водных растений к стрессовым абиотическим факторам среды. Москва: Графикон-принт, 2005. 224 с.
12. Кравчинський Л. Р. Характеристика кисневого режиму поверхневих вод басейну р. Ингулець. *Наук. праці УкрНДГМІ,* 2009, Вип. 258. С. 149–159.
13. Макурина О. Н., Розина С. А., Розенцвет О. А. Динамика ферментативной активности и пигментного состава в тканях водного погруженного растения *Ceratophyllum demersum* в условиях воздействия ксенобиотиков и последующей реабилитации. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук.* 2015. Т. 17, № 4(5). С. 1000–1007.
14. Новаковская Т. В., Дымова О. В. Видовое разнообразие и пигментный комплекс макрофитов водоемов окрестностей г. Сыктывкара (Республика Коми). *Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского.* 2012. № 5 (1). С. 127–134.
15. Павлов И. Н. Влияние выбросов алюминиевого завода на содержание хлорофилла в листьях деревьев и кустарников. Непрерывное экологическое образование и экологические проблемы. Сборник статей по материалам Всероссийской научно-практической конференции. Красноярск: СибГТУ, 2004. Т. 1. С. 164–170.
16. Пасічна О. О. Використання макролітів для біомоніторингу та очистки водного середовища за умови комбінованого забруднення важкими металами. *Гидробиол. журн.* 2013. № 4. Т. 49. С. 78–86.
17. Ронжина Д. А., Некрасова Г. Ф., Пьянков В. И. Сравнительная характеристика пигментного комплекса надводных, плавающих и погруженных листьев гидрофитов. *Физиология растений.* 2004. Т. 51. С. 27–34.
18. Шерстнева О. А. Пигментный комплекс подводных листьев некоторых видов *Potamogeton (Potamogetonaceae)* в разных условиях освещенности. *Ботанический журнал.* 2004. Т. 89. № 5. С. 821–829.