

---

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2019.07.089>

УДК 581.45:58.032:549.514.5

**О.М. Недуха, Є.Л. Кордюм**

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ

E-mail: o.nedukha@hotmail.com

## **Участь іонів кремнію в стійкості рослин *Phragmites australis* до зниження вологості в ґрунті**

*Представлено членом-кореспондентом НАН України Є.Л. Кордюм*

Наведено результати дослідження локалізації та вмісту кремнію в листках повітряно-водних та суходільних рослин *Phragmites australis*, які зростали в природних умовах на березі р. Дніпро (в зоні Києва). Для визначення вмісту кремнію в листках використовували цитохімічні та ультраструктурні методи. Для аналізу вмісту води в зразках та визначення вологості ґрунту, на якому зростали рослини очерету, використовували класичні біохімічні методи. Для дослідження брали листові пластинки у фазі вегетативного росту. Наявність та субклітинну локалізацію іонів кремнію вивчали з використанням лазерного конфокального мікроскопа (LSM 5, "Zeiss", Німеччина) та сканувального електронного мікроскопа (із рентгенівською установкою EX-S4175GMU, "JEOL", Японія). Методом конфокальної мікроскопії встановлено наявність кремнієвих аморфних та кристалічних включень у периклінальних клітинних стінках основних клітин епідермісу, трихом, замикальних клітин продихів та над жилками листків повітряно-водних та суходільних рослин очерету. Вперше виявлено значне підвищення вмісту аморфного та кристалічного кремнію в епідермісі листків суходільних рослин цього виду методами мікроскопії та рентгенівського аналізу. Встановлено, що клітини абаксіального епідермісу, зокрема клітини навколо продихів та трихом, трихоми та клітини над жилками, є головними акумуляторами кремнію в листках. Припускається, що такі локалізація та підвищений вміст кремнію оптимізують водний баланс наземних рослин і сприяють підвищенню їх стійкості до ґрунтової посухи. Пропонується посилити увагу до вивчення ролі кремнію в адаптації рослин до несприятливих змін абіотичних факторів довкілля.

**Ключові слова:** *Phragmites australis*, епідерміс листків, іони кремнію, ґрунтова посуха.

Флуктуації водного балансу ґрунту в біотопах, зокрема затоплення чи ґрунтова посуха, викликають зміни в структурно-функціональній організації рослин, що спричиняють активацію адаптаційних механізмів у відповідь на дію стресора [1, 2]. Кремній у рослині знаходиться у вигляді монокремнієвої кислоти або ж у вигляді аморфної чи кристалізованої форми [3]. Встановлено, що іони кремнію певним чином пов'язані зі стійкістю рослин до зміни водного балансу рослин, зокрема, кремній посилює лігніфікацію та суберинізацію коренів, що супроводжується активацією генів, зв'язаних із ферментами біосинтезу осмопротекторів, лігніну та суберину [4–6]. Кремній також задіяний у збільшенні вмісту хлорофілів та каротиноїдів у надземних органах і потовщенні клітинних стінок листків [7].

© О.М. Недуха, Є.Л. Кордюм, 2019

ISSN 1025-6415. Допов. Нац. акад. наук Укр. 2019. № 7

89

Враховуючи, що вода є одним із основних чинників, що забезпечують ріст, розвиток та продуктивність рослин, а епідерміс листків — це головна тканина надземних органів, що регулює водний баланс рослини [8], ми поставили за мету дослідити локалізацію і вміст іонів кремнію в листках повітряно-водних та суходільних рослин *Phragmites australis*.

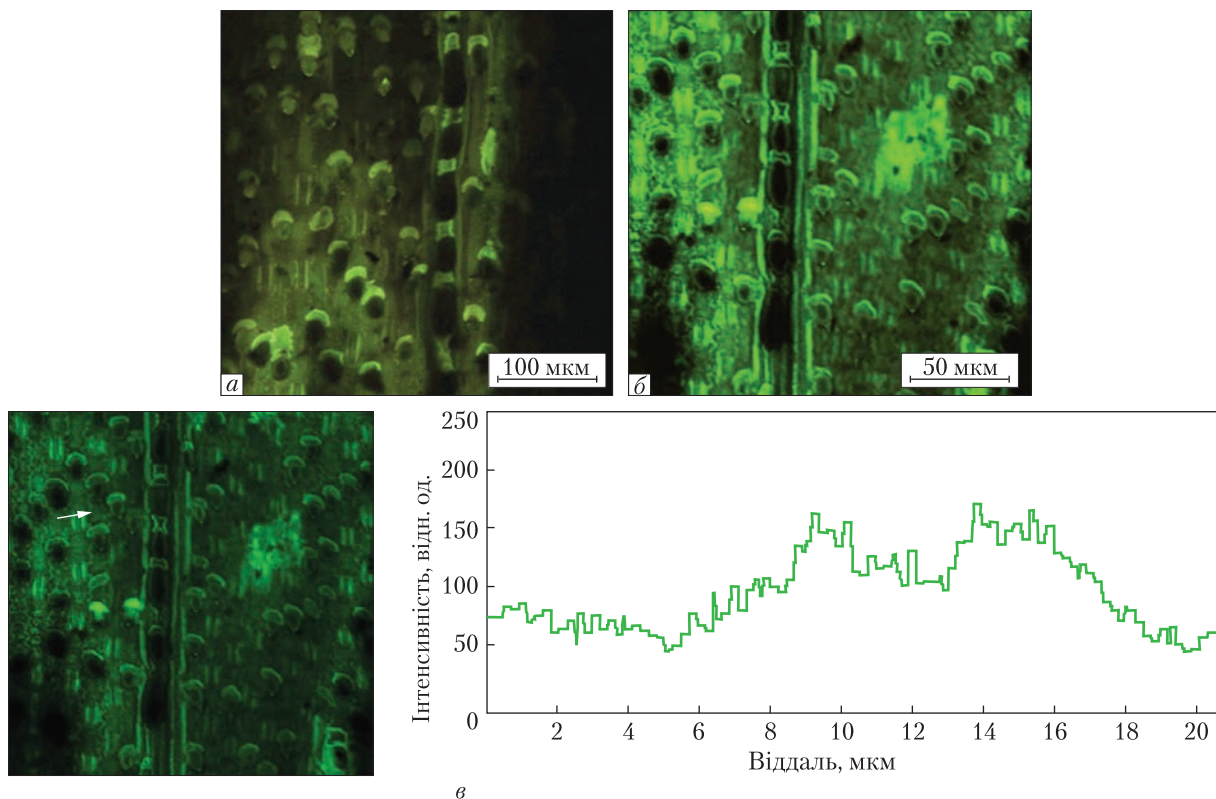
**Матеріали та методи досліджень.** Об'єктом дослідження були листки повітряно-водного очерету звичайного *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud, які зростали на глибині до 50 см на лівому березі р. Дніпро (у зоні Києва) на піщаному ґрунті на віддалі 12–15 м від берега. Матеріал збирали на початку червня у фазі вегетативного росту. Для визначення відносного вмісту води в ґрунті та листках використовували стандартні біохімічні методи [9]. Для цитохімічних досліджень локалізації та вмісту кремнію відбирали вирізки із середньої частини зрілих листків, між другою та сьомою жилками від краю листка. Препарати готували за протоколом Дебні із співавт. [10] та досліджували у конфокальному мікроскопі LSM 5 (“Zeiss”, Німеччина) при довжині хвилі збудження 480 нм та емісії 500–530 нм. Інтенсивність флуоресценції кремнію визначали за програмою Pascal (“Zeiss”, Німеччина). Рентгеноструктурний аналіз листків проводили за методом Бакінга та Хейзера [11] у сканувальному електронному мікроскопі JSM 6060 LA із рентгенівською установкою EX-S4175GMU (“JEOL”, Японія). Для стандартного кількісного аналізу хімічних елементів використовували програму ZAF, вміст кремнію визначали у відсотках сканованої маси листових пластинок.

**Результати та обговорення.** Методом конфокальної мікроскопії визначено наявність кремнієвих дрібних (менших за 10 нм) аморфних і кристалічних включень, які називають фітолітами, різних за розмірами та формою в основних клітинах епідермісу, трихомах, замикальних клітинах продихів та над жилками в епідермісі листків повітряно-водних і суходільних рослин очерету (рис. 1). Так, у зоні трихом кремнієві фітоліти мали сідлоподібну форму, у клітинах над жилками — дволопатеву або гантелеподібну. Встановлено, що відносна інтенсивність флуоресценції кремнієвих тілець та аморфних включень кремнію залежала від типу клітин та поверхні листка (таблиця). Інтенсивність флуоресценції кремнію в клітинах абаксіального епідермісу була достовірно більшою порівняно з такою адаксіального епідермісу. У листках суходільних рослин відносна інтенсивність флуоресценції кремнію була удвічі вищою порівняно із листками повітряно-водних рослин, особливо в клітинах абаксіального епідермісу.

Наявність кремнію в клітинах адаксіального та абаксіального епідермісу досліджуваних екотипів очерету незалежно від місця зростання також встановлено за допомогою рентгеноструктурного аналізу (рис. 2).

Кремній виявлено в основних клітинах епідермісу, трихомах, замикальних клітинах продихів і клітинах над жилками. Відносний вміст кремнію в клітинах адаксіального епідермісу варіював від 0,49 % у замикальних клітинах продихів до 27,69 % у клітинах над жилками, в клітинах абаксіального епідермісу він був значно підвищений (рис. 3). Наприклад, в замикальних клітинах продихів абаксіального епідермісу відносний вміст кремнію збільшувався в 1,6 раза, у трихомах — у 2,5 раза. У листках суходільних рослин відносний вміст кремнію достовірно перевищував такий у листках повітряно-водних рослин (див. рис. 3).

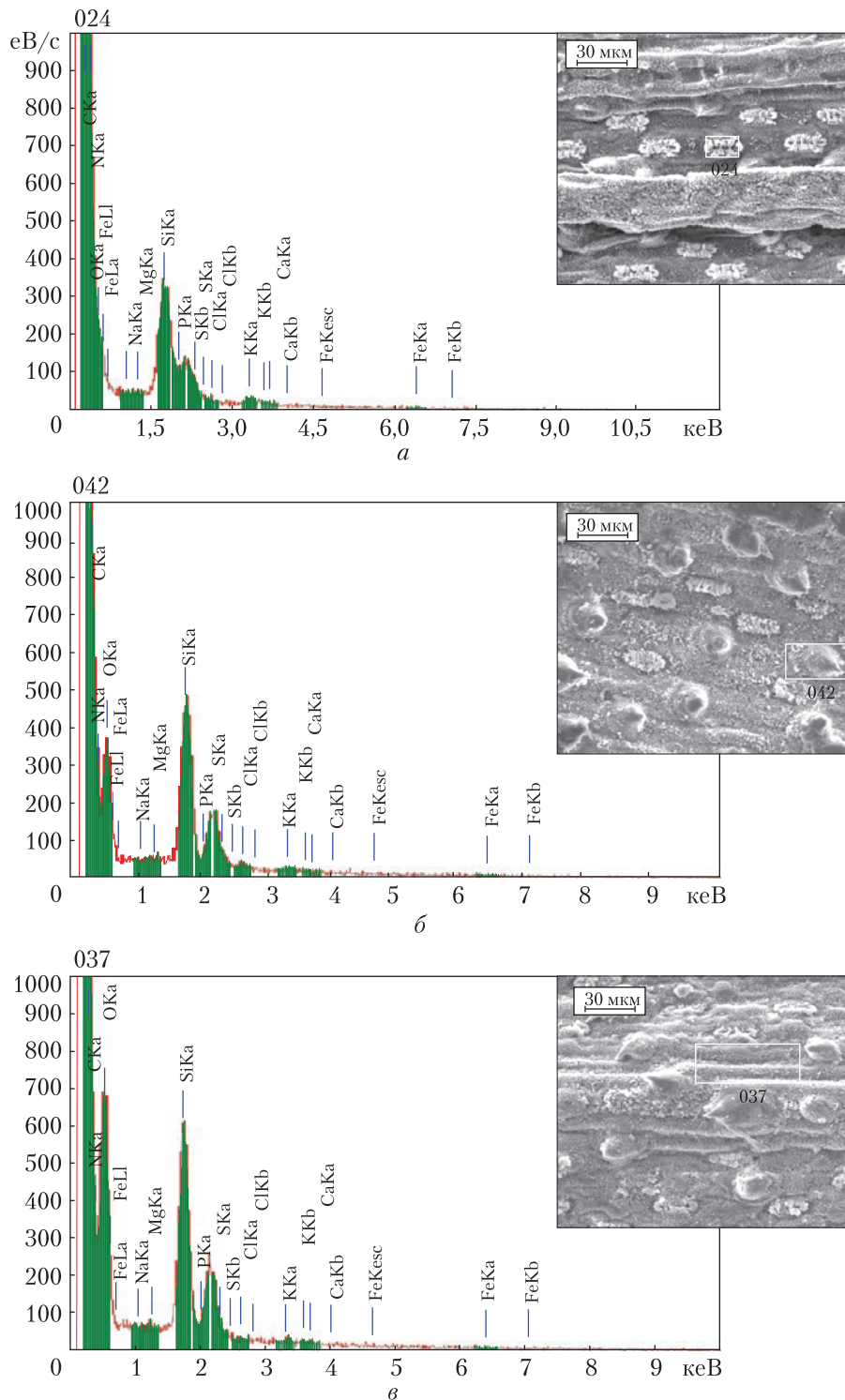
Проведені раніше порівняльні дослідження листків повітряно-водних і суходільних рослин очерету показали подібність морфології та анатомії листків [12]. Відносний вміст води в листках повітряно-водних рослин становив  $62,8 \pm 0,5$  % при вологості ґрунту  $77,4 \pm 2,1$  %,



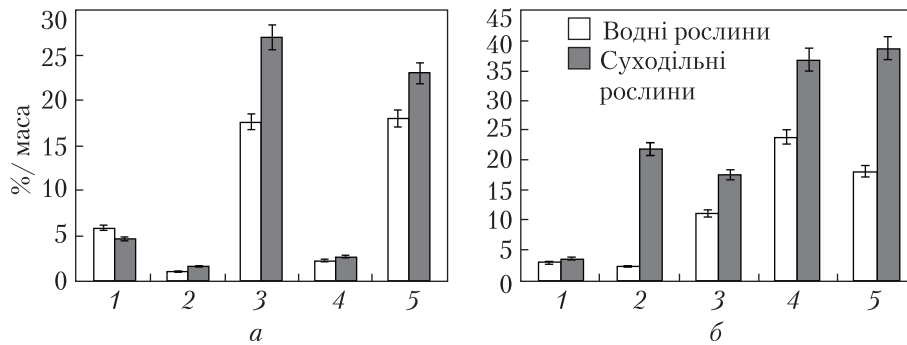
**Рис. 1.** Мікрофотографії флуоресценції кремнію (зеленого кольору) у клітинах епідермісу листків повітряно-водного (а) та суходільного (б, в) екотипів *Phragmites australis* у фазі вегетативного росту. На рисунку в – гістограма інтенсивності флуоресценції кремнію (зелена лінія): по осі ординат – інтенсивність флуоресценції (відн. од.), по осі абсцис – віддаль, яка була просканована на верхній частині цього рисунка

**Інтенсивність флуоресценції аморфного і кристалічного кремнію в клітинах епідермісу листків *Phragmites australis*, які зростали у воді та на суходолі (відн. од.). Дані отримані з використанням програми Паскаль при вивченні на лазерному конфокальному мікроскопі**

Екотип очерету	Поверхня листка	Основа трихом, кристалічний Si	Клітини між трихомами, аморфний Si	Клітини продихів, аморфний Si	Клітини навколо продихів, аморфний Si	Клітини над жилками, кристалічний Si	Максимальна інтенсивність флуоресценції, пікселі
Водний	Верхня	82 ± 7,9	47 ± 3,9	60 ± 4,1	61 ± 5,2	155 ± 12	290106
	Нижня	131 ± 10,1	45 ± 3,7	57 ± 5,7	63 ± 4,7	170 ± 13	334108
Суходільний	Верхня	135 ± 12,7	50 ± 4,3	100 ± 9,6	77 ± 6,6	223 ± 31	524904
	Нижня	250 ± 19,1	57 ± 3,4	150 ± 11	70 ± 3,7	250 ± 21	749834



**Рис. 2.** Мікрофотографії фрагментів епідермісу листків повітряно-водного (*a*, *б*) та суходільного (*в*) екотипів *Phragmites australis* із спектром іонів кремнію та інших хімічних елементів, отриманих за допомогою рентгеноструктурного аналізу. На верхній частині рисунка зеленим кольором позначена клітина епідермісу, що була просканована. На нижній частині кожного рисунку – діаграма вмісту хімічних елементів, включаючи кремній: по осі ординат – вміст іонів у вигляді імпульсів (eB/c), по осі абсцис – енергія (keV)



**Рис. 3.** Вміст кремнію у клітинах адаксіального (а) та абаксіального (б) епідермісу листків повітряно-водного та суходільного екотипу *Phragmites australis* за даними рентгеноструктурного аналізу: 1 – продиhi; 2 – клітини навколо продиhiв; 3 – клітини над жилками; 4 – трихоми; 5 – клітини навколо трихом

у суходільних рослин –  $57,2 \pm 0,7$  % при вологості ґрунту  $55,6 \pm 0,9$  %. Ми припускаємо, що у збереженні оптимального водного балансу в клітинах суходільних рослин істотну роль відіграє підвищення вмісту в епідермісі листків цих рослин кремнію, який, як відомо, утворює в клітинах епідермісу листків, стебел та коренів кутикулярно-кремнієву стінку, що захищає рослини від надмірних втрат вологи та регулює поглинання води [13]. У клітинних стінках кремній входить до складу гідрофільних силікатно-галактозних комплексів, які зв'язують вільну воду і тим самим посилюють водоутримуючу здатність клітин, що істотно підвищує стійкість рослин до посухи [14]. Кремній також може активувати транспорт води від кореневої системи до листків, регулюючи роботу аквапоринів – білків водних каналів у цитоплазматичній мембрані та мембранах органел, а також впливати на осмотичний потенціал клітин. Встановлено дію кремнію на експресію генів, що кодують дегідрини, під час зневоднення рослин *Oryza sativa* за умов посухи та осмотичного стресу [15]. На підставі аналізу літературних і власних даних локалізації та вмісту кремнію в листках повітряно-водних і суходільних рослин очерету можна припустити, що саме підвищена акумуляція кремнію в клітинах епідермісу суходільних рослин сприяє збереженню оптимального водного статусу рослин при зниженні вологості ґрунту і є одним із факторів, які обумовлюють широке поширення очерету в різноманітних за екологічними умовами районах земної кулі. Отже, одержані дані вказують на перспективність подальших досліджень участі кремнію в адаптації рослин до несприятливих змін екологічних факторів у природних угрупованнях та агроценозах у сучасних умовах збільшення антропогенного навантаження та прогнозу глобальних змін клімату.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Vartapetian B., Jackson M.B. Plant adaptation to anaerobic stress. *Ann. Bot.* 1997. **79**, Suppl. A. P. 3–20. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a010303>
2. De Micco V., Aronne G. Morpho-anatomical traits for plant adaptation to drought. *Plant Responses to drought stress, from morphology to molecular features*: R. Aroca (Ed.). Berlin, Heidelberg: Springer, 2012. P. 37–61.
3. Epstein E. Silicon: its manifold roles in plants. *Ann. Appl. Biol.* 2009. **155**. P. 155–160. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00343.x>

4. Perry C.C., Lu Y. Preparation of silica from silicon complexes: role of cellulose in polymerization and aggregation control. *Faraday Trans.* 1992. **88**. P. 2915–2921.
5. Fleck A.T., Nye T., Repenning C., Stahl F., Zahn M., Schenk M. Silicon enhances suberization and lignification in root of rice (*Oryza sativa*). *J. Exp. Bot.* 2011. **62**. P. 2001–2011. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq392>
6. Manivannan A., Ahn Y.-K. Silicon regulates potentials genes involved in major physiological processes in plants to combat stress. *Front. Plant Sci.* 2017. **8**. Art. 1346. P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01346>
7. Song A., Li P., Fan F., Li Z., Liang Y. The effect of silicon on photosynthesis and expression of its relevant genes in rice (*Oryza sativa* L.) under high-zinc stress. *PLoS One*. 2014. **9**. e113782. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113782>
8. Kerstiens G. Water transport in plant cuticles: an update. *J. Exp. Bot.* 2006. **57**. P. 2493–2499. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl017/>
9. Ермаков А.И. Определение содержания воды и кислотности растительных объектов. *Методы биохимических исследований растений*: Ермакова А.И. (ред.). Ленинград: Агропромиздат, 1982. С. 21–35.
10. Dabney C. III., Ostergaard J., Watkins E., Chen Ch. A novel method to characterize silica bodies in grasses. *Plant Methods*. 2016. **12**. P. 3–10. <https://doi.org/10.1186/s13007-016-0108-8>
11. Bücking H., Heyser J.B. Subcellular compartmentation of elements in non-mycorrhizal and mycorrhizal roots of *Pinus sylvestris* an X-ray microanalysis study. II. The distribution of calcium, potassium and sodium. *New Phytol.* 2000. **145**. P. 321–331.
12. Nedukha O.M. Morphological and anatomical characteristics of *Phragmites australis* from Dnipro channel. *Modern Phytomorphology*. 2017. **11**. P. 139–146. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1133878>
13. Hodson M. J., White P.J., Mead A., Broadley M.R. Phylogenetic variation in the silicon composition of plants. *Annal. Bot.* 2005. **96**. P. 1027–1046. <https://doi.org/10.1093/aob/mci255>
14. Ahmed M., Qadeer U., Ahmed Z.I., Hazzan F.-U. Improvement of wheat (*Triticum aestivum*) drought tolerance by seed priming with silicon. *Arch. Agron. Soil. Sci.* 2016. **62**, Iss. 3. P. 299–315. <https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1048235>
15. Liu P., Yin L., Deng X., Wang S., Tanaka K., Zhang S. Aquaporin-mediated increase in root hydraulic conductance is involved in silicon-induced improved root water uptake under osmotic stress in *Sorghum bicolor* L. *J. Exp. Bot.* 2014. **65**. P. 4747–4756. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru220>

Надійшло до редакції 14.03.2019

## REFERENCES

1. Vartapetian, B. & Jackson, M.B. (1997). Plant adaptation to anaerobic stress. *Ann. Bot.*, 79, Suppl. A, pp. 3-20. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a010303>
2. De Micco, V., & Aronne, G. (2012). Morpho-anatomical traits for plant adaptation to drought. In Aroca R. (Ed.). *Plant Responses to drought stress, from morphology to molecular features* (pp. 37-61). Berlin, Heidelberg: Springer.
3. Epstein, E. (2009). Silicon: its manifold roles in plants. *Ann. Appl. Biol.*, 155, pp. 155-160. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00343.x>
4. Perry, C.C. & Lu, Y. (1992). Preparation of silica from silicon complexes: role of cellulose in polymerization and aggregation control. *Faraday Trans.*, 88, pp. 2915-2921.
5. Fleck, A.T., Nye, T., Repenning, C., Stahl, F., Zahn, M. & Schenk, M. (2011). Silicon enhances suberization and lignification in root of rice (*Oryza sativa*). *J. Exp. Bot.*, 62, pp. 2001-2011. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq392>
6. Manivannan, A., & Ahn, Y.-K. (2017). Silicon regulates potentials genes involved in major physiological processes in plants to combat stress. *Front. Plant Sci.*, 8, Art. 1346, pp.1-13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01346>
7. Song, A., Li, P., Fan, F., Li, Z. & Liang, Y. (2014). The effect of silicon on photosynthesis and expression of its relevant genes in rice (*Oryza sativa* L.) under high-zinc stress. *PLoS One*, 9, e113782. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113782>
8. Kerstiens, G. (2006). Water transport in plant cuticles: an update. *J. Exp. Bot.*, 57, pp. 2493-2499. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl017/>

9. Ermakov, A. B. (1982). Determination of water content in plants (pp. 21-35). In Ermakov A.I. (Ed.). The methods of biochemical study of plants., Leningrad: Agropromizdat.
10. Dabney, C. III., Ostergaard, J., Watkins, E. & Chen, Ch. (2016). A novel method to characterize silica bodies in grasses. *Plant Methods*, 12, pp. 3-10. <https://doi.org/10.1186/s13007-016-0108-8>
11. Bücking, H. & Heyser, J. B. (2000). Subcellular compartmentation of elements in non-mycorrhizal and mycorrhizal roots of *Pinus sylvestris* an X-ray microanalysis study. II. The distribution of calcium, potassium and sodium. *New Phytol.*, 145, pp. 321-331.
12. Nedukha, O. M. (2017). Morphological and anatomical characteristics of *Phragmites australis* from Dnipro channel. *Modern Phytomorphology*, 11, pp. 139-146. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1133878>
13. Hodson, M. J. White, P. J., Mead, A., & Broadley, M. R. (2005). Phylogenetic variation in the silicon composition of plants. *Annal. Bot.*, 96, pp. 1027-1046. <https://doi.org/10.1093/aob/mci255>
14. Ahmed, M., Qadeer, U., Ahmed, Z.I. & Hazzan, F.-U. (2016). Improvement of wheat (*Triticum aestivum*) drought tolerance by seed priming with silicon. *Arch. Agron. Soil. Sci.*, 62, Iss. 3, pp. 299-315. <https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1048235>
15. Liu, P., Yin, L., Deng, X., Wang, S., Tanaka, K. & Zhang, S. (2014). Aquaporin-mediated increase in root hydraulic conductance is involved in silicon-induced improved root water uptake under osmotic stress in *Sorghum bicolor* L. J. *Exp. Bot.*, 65, pp. 4747-4756. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru220>

Received 14.03.2019

О.М. Недуха, Е.Л. Кордюм

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев

E-mail: o.nedukha@hotmail.com

#### УЧАСТИЕ ИОНОВ КРЕМНИЯ В ТОЛЕРАНТНОСТИ И ПЛАСТИЧНОСТИ РАСТЕНИЙ *PHRAGMITES AUSTRALIS* К СНИЖЕНИЮ ВЛАЖНОСТИ В ПОЧВЕ

Приведены результаты исследования локализации и содержания кремния в листьях воздушно-водных и суходольных растений *Phragmites australis*, которые росли в естественных условиях на берегу р. Днепр (в зоне Киева). Для определения содержания кремния в листьях использовали цитохимические и ультраструктурные методы. Для анализа содержания воды в образцах и определения влажности почвы, на которой росли растения тростника, использовали классические биохимические методы. Для исследования брали листовые пластинки в фазе вегетативного роста. Наличие и субклеточную локализацию ионов кремния изучали с использованием лазерного конфокального микроскопа (LSM 5, "Zeiss", Германия) и сканирующего электронного микроскопа (с рентгеновской установкой EX-S4175GMU, "JEOL", Япония). Методом конфокальной микроскопии установлено наличие кремниевых аморфных и кристаллических включений в периклинальных клеточных стенках основных клеток эпидермиса, трихом, замыкающих клеток устьиц и над жилками листьев воздушно-водных и суходольных растений тростника. Впервые выявлено значительное повышение содержания аморфного и кристаллического кремния в эпидермисе листьев суходольных растений этого вида методами микроскопии и рентгеновского анализа. Установлено, что клетки абаксиального эпидермиса, в частности клетки вокруг устьиц и трихом, трихомы и клетки над жилками, являются главными аккумуляторами кремния в листьях тростника. Предполагается, что такие локализация и повышенное содержание кремния оптимизируют водный баланс наземных растений и способствуют повышению их устойчивости к почвенной засухе. Предлагается усилить внимание к изучению роли кремния в адаптации растений к неблагоприятным изменениям абиотических факторов окружающей среды.

**Ключевые слова:** *Phragmites australis*, эпидермис листьев, ионы кремния, почвенная засуха.

O.M. Nedukha, E.L. Kordyum

M.G. Kholodny Institute of Botany of the NAS of Ukraine, Kyiv

E-mail: o.nedukha@hotmail.com

PARTICIPATION OF SILICON IONS IN THE TOLERANCE  
AND PLASTICITY OF PLANTS *PHRAGMITES AUSTRALIS*  
TO A SOIL MOISTURE REDUCTION

The results of studies of the localization and the silicon content in the leaves of air-water and terrestrial plants *Phragmites australis*, which grew on the banks of the Dnipro River (in the zone of Kiev) are presented. For the study of the Si content in leaves, cytochemical and structural methods are used. Classical biochemical methods are used to analyze the water content of the samples and the moisture content of the soil, on which the reed plants grew. For the analysis, we took leaves in the vegetative growth phase. The presence and subcellular localization of silicon ions are studied with the use of a laser confocal microscope (LSM 5, Zeiss, Germany) and a scanning electron microscope (with X-ray unit EX-S4175GMU, JEOL, Japan). The presence of silicon amorphous and crystalline inclusions in the periclinal cell walls of main epidermal cells, trichomes, stomatal cells, and over the leaf veins of air-water and terrestrial reed plants is shown by confocal microscopy. For the first time, a significant increase in the content of amorphous and crystalline silicon in the epidermis of leaves of this species of terrestrial plants by microscopy and X-ray analysis is revealed. It has been established that the cells of abaxial epidermis, in particular, cells around stomata and trichomes, trichomes and cells above veins, are the main accumulators of silicon in the leaves. It is assumed that such localization and increased content of silicon optimize the water balance of terrestrial plants and thus increase their resistance to soil drought. It is proposed to strengthen attention to the role of silicon in the adaptation of plants to adverse changes in abiotic environmental factors.

**Keywords:** *Phragmites australis*, leaf epidermis, silicon ions, soil drought.