



УДК 57.012.4:581.174:582.394:575.16

ФОТОСИНТЕТИЧНІ ПІГМЕНТИ Й УЛЬТРАСТРУКТУРА ХЛОРОПЛАСТІВ ПАПОРОТІ *DRYOPTERIS FILIX-MAS* (L.) SCHOTT НА РІЗНИХ ФЕНОЛОГІЧНИХ ФАЗАХ РОЗВИТКУ

М. М. Щербатюк¹, Л. М. Бабенко¹, О. В. Вашека², І. В. Косаківська¹

¹Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, Київ 01030, Україна

²ННЦ “Інститут біології та медицини”
Київського національного університету імені Тараса Шевченка
просп. Академіка Глушкова, 2, Київ 03022, Україна
e-mail: chrom.botany@ukr.net

Shcherbatiuk M. M., Babenko L. M., Vasheka O. V., Kosakivska I. V. Photosynthetic pigments and ultrastructure of chloroplasts of the fern *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott in various phenological phases of development. **Studia Biologica**, 2018: 12(2); 77–86 • DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.1202.559>

Здійснено порівняльний аналіз вмісту фотосинтетичних пігментів, анатомічної будови вай і ультраструктури хлоропластів у клітинах паренхіми вай на різних фенологічних фазах розвитку спорофіту лептоспорангіатної папороті *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott, котра належить до рослин нижнього ярусу і росте за умов затінення. Спостереження проводили у фазах інтенсивного росту (квітень), дозрівання сорусів (травень), висівання спор (червень), літньої вегетації (липень) та завершення вегетації й відмирання надземної частини (жовтень). Встановлено, що вміст хлорофілів *a* і *b* у ваях зростав упродовж перших трьох фенологічних фаз і досягав максимуму у фазі висівання спор. Специфічною ознакою виявився відносно високий вміст каротиноїдів, зафіксований на перших чотирьох фазах розвитку. У фазі завершення вегетації та відмирання надземної частини вміст пігментів у тканинах вай суттєво зменшувався. Вміст пігментів у ваях літньоозеленої папороті *D. filix-mas* був нижчим порівняно з зимозеленою папороттю *Polystichum aculeatum* (L.) Roth. Анатомічну будову вай вивчали у сканувальному електронному мікроскопі, використовуючи ліофільно висушені поперечні зрізи. Встановлено, що паренхіма вай мала чітке розділення на палісадну і губчасту тканину. Ультраструктурну будову хлоропластів досліджували у трансмісійному електронному мікроскопі. Виявлено, що у фазі дозрівання сорусів у клітинах паренхіми вай наявні хлоропласти видовженої, лінзоподібної форми з електронно-щільною строюмою, котрі містять великі крохмальні зерна і зрідка пластоглобули. У клітинах паренхіми хлоропласти

розташовані в безпосередній близькості до плазмалеми. У фазі завершення вегетації та відмирання надземної частини у хлоропластах клітин асимілюючої паренхіми зафіксовано часткову деформацію ламел строми і появу численних пластоглобул. Кількість крохмальних зерен у пластидах суттєво зменшувалася. Порівняльний аналіз складу та вмісту фотосинтетичних пігментів і ультраструктури хлоропластів на різних фенологічних фазах розвитку спорофіту *D. filix-mas* виявив, що успішність існування за умов затінення та змін температурного режиму серед інших ознак забезпечується специфічною структурно-функціональною організацією фотосинтетичного апарату.

Ключові слова: *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott, каротиноїди, онтогенез, хлорофіл, хлоропласти, ультраструктура

ВСТУП

Особливості морфологічної будови листків і характер фізіологічних процесів належать до факторів, котрі забезпечують успішність адаптації рослин до умов освітлення. У свою чергу, інтенсивність освітлення для рослин різних ярусів може різнитися до 50-ти разів [1, 23]. Рослини, котрі еволюційно пристосовані до високої або низької освітленості, відрізняються за площею і товщиною листків, кількістю хлоропластів у клітинах паренхіми, вмістом і співвідношенням фотосинтетичних пігментів [14]. Згідно зі сучасними поглядами на систематику та філогенію вищих судинних спорових рослин, лептоспорангіатні папороті підкласу *Polypodiidae* є найчисленнішою після покритонасінних групою судинних рослин, що налічує 10 323 види, об'єднані в 300 родів і 44 родини [17]. Конкурентна боротьба папоротей з квітковими рослинами за ресурси є еволюційним фактором, що призвів до диверсифікації екологічних ніш, вузької спеціалізації видів, зростання біологічного різноманіття і підвищення адаптивної спроможності багатьох їхніх таксонів [4, 16]. Нові життєві стратегії сприяли поширенню цих рослин у більш посушливих екосистемах і навіть утворенню групи папоротей-ксерофітів [9]. Незважаючи на цілу низку ендегенних обмежуючих чинників, зокрема, значно нижчу, ніж у покритонасінних, субстратну специфічність Рубіско до CO₂ [8], папороті достатньо розповсюджені й характеризуються значною різноманітністю форм, успішно конкуруючи з іншими рослинами. Ширше розповсюдження папоротеподібних лімітується лише браком повітряно-крапельної води у дуже посушливих екосистемах [7, 15]. Серед головних переваг, які дали змогу папоротям завойовувати нові місця росту, виділяють їхню здатність до фотосинтезу за низької інтенсивності освітлення [16].

Щитник чоловічий (*Dryopteris filix-mas* (L.) Schott) – рівноспорова папороть із родини *Dryopteridaceae*. Це багаторічник із горизонтальним або косим, товстим коротким кореневищем, на якому щільно розміщені залишки черешків. Ваї завдовжки до одного метра зібрані на верхівці масивного кореневища у вигляді пучка, що лійкоподібно розходить. Вид широко розповсюджений у помірній зоні Північної півкулі і є звичайним для флори України, де трапляється в лісах, вологих місцях серед чагарників, у тріщинах скель [26]. Папороть належить до рослин, пристосованих до низької освітленості (сціофітів), і росте переважно в затінку, створеному рослинами верхнього ярусу. Проте представники цього виду можуть витримувати значний рівень сонячної інсоляції, зокрема, якщо ростуть біля підніжжя гір і в розломах скель. За феноритмотипом *D. filix-mas* належить до літньозелених рослин [24],

вегетація вай однієї генерації триває близько 6,5–7,5 місяця. Відмирання вай відбувається в кінці осені або на початку зими після пошкоджуючої дії морозу [26].

У нашій роботі ми виходили з припущення, що здатність *D. filix-mas* успішно рости і розвиватися за умови низької інтенсивності освітлення має бути пов'язана зі специфічною структурно-функціональною організацією фотосинтетичного апарату. Зважаючи на це, метою було проаналізувати вміст фотосинтетичних пігментів і дослідити ультраструктуру хлоропластів клітин мезофілу вай *D. filix-mas* на фенологічних фазах розвитку за різних температур і режиму освітлення, обумовлених динамікою сезонних змін і розвитком крон рослин верхнього ярусу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Матеріал для досліджень відбирали впродовж 2015–2016 рр. із рослин *D. filix-mas*, що зростали на експозиційній ділянці вищих спорових рослин Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна КНУ імені Тараса Шевченка у місті Києві. Фенологічні спостереження проводили згідно з методичними рекомендаціями Ю. А. Котухова [13] з модифікаціями О. В. Вашеки [25], розробленими спеціально для папороте-подібних. Початок вегетації відзначали з моменту розходження верхівок вай, інтенсивного забарвлення черешка в зелений колір і розходження плівок, після чого починалося розгортання зачатків вай. Початок інтенсивного росту характеризувався швидким розгортанням пластинок вай. По закінченні фази інтенсивного росту відбувалося повне розгортання пластинок, гачкоподібне загинання всередину верхівки пластинок і потемніння загнутої частини вай. Закінчення росту вай характеризувалося випрямленням їхніх верхівок, після чого вай набували типового для них вигляду і форми. Важливою ознакою, котра характеризує фізіологічний стан рослини за певних умов зростання, є спороношення. Поява сорусів спостерігалась у фазу інтенсивного росту з моменту розгортання першої пари вай, що несуть соруси. Фаза спороношення (розкриття спорангіїв) характеризувалась побурінням спорангіїв, розривом їхніх оболонок і висипанням спор. Спороношення реєстрували в період масового розкриття спорангіїв та візуально визначали під час струшування вай над аркушем білого паперу. Відмирання вай розпочиналося з жовтня і закінчувалося повним руйнуванням листових пластинок наприкінці листопада.

Зразки для аналізу пігментів відбирали з кінця квітня до середини осені на таких фазах: інтенсивного росту (30.04); дозрівання сорусів (29.05); висівання спор (17.06); літньої вегетації (10.07); завершення вегетації і відмирання надземної частини (21.10). Для ультраструктурного дослідження зразки відбирали у період закінчення фази інтенсивного росту й початку дозрівання сорусів (середина травня) та у фазу завершення вегетації (середина жовтня).

Вміст фотосинтетичних пігментів у тканинах вай визначали спектрофотометричним методом [27]. Екстракцію пігментів здійснювали 80% ацетоном і вимірювали світлопоглинання розчинів за допомогою спектрофотометра Shimadzu UV-1800 (Японія).

Для ультраструктурного дослідження ділянки тканин розміром 3×1 мм вирізали зі середньої частини сегментів вай другого порядку між краєм і центральною жилкою, фіксували розчином 3% глутарового альдегіду "Fluka AG" (ФРН) на фосфатному буфері з рН 7,4 протягом чотирьох годин, відмивали буфером без фіксатора, заливали 1% розчином чотириокису осмію на буфері (нічна обробка), зневоднювали зразки у серії розчинів етилового спирту зростаючої концентрації та після обробки ацетоном переносили у суміш епоксидних смол епону й аралдиту "Fluka AG" (ФРН)

за методом [18]. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція) й аналізували у трансмісійному електронному мікроскопі JEM-1230 (Японія).

Поперечні зрізи сегментів другого порядку вай у фазу дозрівання сорусів вивчали у сканувальному електронному мікроскопі JEOL JSM-6060 LA (Японія) після висушування їх у замороженому стані в умовах вакууму та подальшого напилення золотом для надання їхній поверхні кондуктивності.

Результати статистично обробляли у програмі Excel стандартного пакету Microsoft Office 2013. Достовірність різниці оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента, використовуючи 5% рівень значущості ($P < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

До показників фізіологічного стану асиміляційного апарату рослин належать вміст і співвідношення фотосинтетичних пігментів [11]. Нами на всіх фенологічних фазах розвитку *D. filix-mas* у ваях було виявлено хлорофіли *a* і *b* та каротиноїди. Вміст фотосинтетичних пігментів зростав упродовж перших трьох досліджуваних фаз (рис. 1). У червні, на самому початку фази висівання спор, що збігалася з активним ростом крон дерев верхнього ярусу, суттєво зменшувалась інтенсивність освітлення папороті. Сума хлорофілів *a* і *b* при цьому зростала майже утричі порівняно з фазою інтенсивного росту (див. таблицю), коли рівень освітлення вай папороті був значно вищим. Відомо, що зростання сумарного вмісту хлорофілів *a* і *b* у разі зниження інтенсивності освітлення розглядають як адаптивну реакцію, результатом чого є розширення світлозбиральних пігмент-білкових комплексів фотосинтетичного апарату [5].

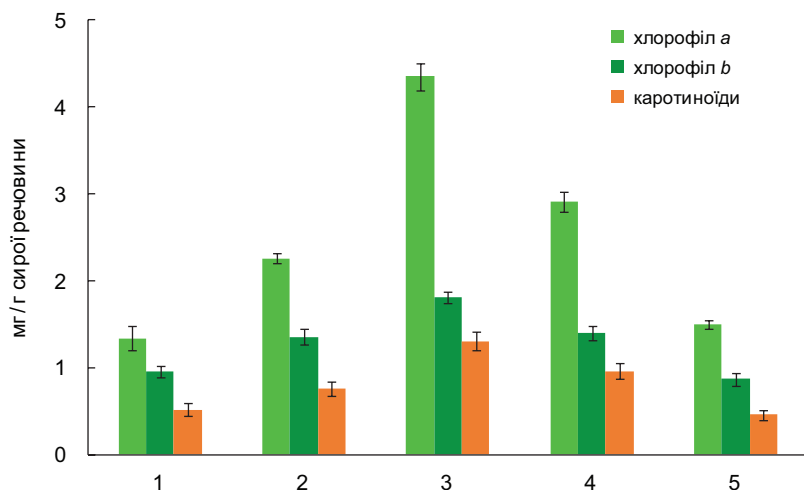


Рис. 1. Вміст пігментів у ваях *Dryopteris filix-mas* на різних фенологічних фазах: 1 – інтенсивного росту; 2 – дозрівання сорусів; 3 – висівання спор; 4 – літньої вегетації; 5 – завершення вегетації та відмирання надземної частини

Fig. 1. The content of pigments in fronds of *Dryopteris filix-mas* in the various phenological phases: 1 – the phase of intensive growth; 2 – the phase of sori ripening; 3 – the phase of spores dissemination; 4 – the phase of summer vegetation; 5 – the phase of vegetation completion and aboveground green part die-off

У фазах висівання спор і літньої вегетації спостерігалось зростання вмісту каротиноїдів (рис. 1), котрі за умов низької інсоляції виконують світлозбиральну

функцію [10], що є додатковим фактором для успішного виживання папороті. Інформативним показником стану фотосинтетичного апарату за несприятливих умов і під час старіння є співвідношення суми хлорофілів $a + b$ /каротиноїди [11]. Чим вищим є цей показник, тим більше ушкоджень, обумовлених процесами старіння або ж дією стресорів. Величина такого співвідношення у фазу завершення вегетації була значно більшою, ніж на початкових фазах розвитку (див. таблицю). Як відомо, вміст хлорофілів і співвідношення фотосинтетичних пігментів визначаються факторами навколишнього середовища та періодами онтогенетичного розвитку рослин. Здатність рослин за будь-яких змін погодних умов протягом вегетаційного періоду ефективно використовувати світлову енергію сонця свідчить про високий адаптаційний потенціал, що простежується у динаміці змін вмісту зелених пігментів *D. filix-mas*. Співвідношення між хлорофілами досягало максимальних значень у фазу висівання спор і знижувалося після завершення вегетації (див. таблицю).

Співвідношення між основними класами фотосинтетичних пігментів і сумарний вміст хлорофілів a і b у ваях *Dryopteris filix-mas* на різних фенологічних фазах розвитку спорофіту

The ratio of main pigments classes and total chlorophylls a and b concentration in the *Dryopteris filix-mas* fronds at the various phenological phases of sporophyte development

Фенологічна фаза	a/b	$a + b^*$	$a + b$ /каротиноїди
Інтенсивного росту	1,28	2,30	4,42
Дозрівання сорусів	1,66	3,62	4,76
Висівання спор	2,40	6,16	4,70
Літньої вегетації	2,08	4,31	4,48
Завершення вегетації	1,72	2,37	5,15

Примітка: * – мг/г сирої речовини

Comment: * – mg/g of fresh weight

У травні у фазу дозрівання сорусів фотосинтезуюча паренхіма *D. filix-mas* мала досить чітке розділення на палисадну та губчасту тканину (рис. 2), що, на нашу думку, свідчить про хороше пристосування цього виду папороті як до освітлених локацій, так і до затінених ділянок.

Клітини мезофілу вай після завершення фази інтенсивного росту на початку фази дозрівання сорусів у середині травня характеризувалися низкою особливостей. Так, у клітинах паренхіми вай хлоропласти мали видовжену лінзоподібну форму і були розташовані біля плазмалеми. Фотосинтезуючі органели майже повністю заповнені мембранними компонентами із досить щільною упаковкою. Строма вирізнялася високою щільністю і мала відносно невеликий об'єм. Хлоропласти містили великі крохмальні зерна і лише зрідка пластоглобули (рис. 3, А, Б). За ультраструктурою популяція фотосинтетичних органел *D. filix-mas* має низку характерних ознак, подібних до хлоропластів покритонасінних рослин [12]. Це різко контрастує з багаторядником шипуватим (*Polystichum aculeatum* (L.) Roth.), у клітинах паренхіми якого містяться лінзоподібні хлоропласти з електронно-щільною стромою і розвиненими гранальними комплексами, утвореними великою кількістю тилакоїдів. Водночас у багаторядника шипуватого є округлі хлоропласти, котрі за ультраструктурою більше нагадують фотосинтетичні органели хвоща польового [19].

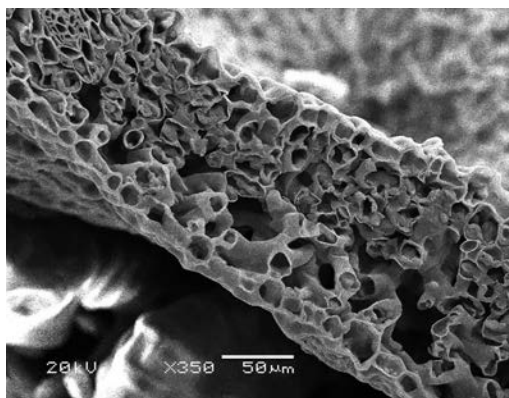


Рис. 2. Фрагмент поперечного зрізу сегментів другого порядку ваї *Dryopteris filix-mas* в сканувальному електронному мікроскопі, у верхній ділянці якого під епідермою розташовується палисадна паренхіма, а у нижній – губчаста

Fig. 2. The fragment of cross-section of second-order segments of *Dryopteris filix-mas* frond in a scanning electron microscope. Palisade mesophyll is located in the upper part under the epidermis. Spongy mesophyll is located in the lower part

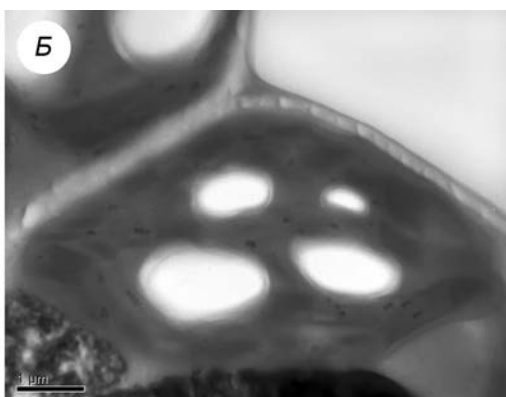
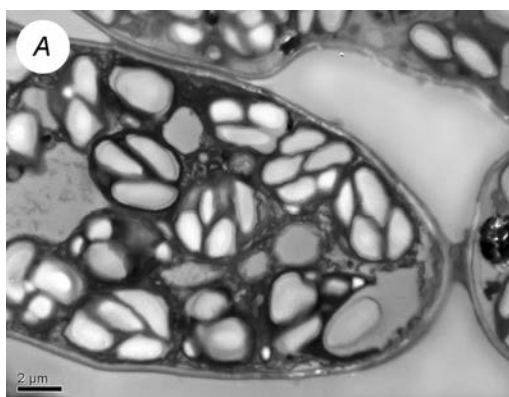


Рис. 3. Клітина мезофілу ваї *Dryopteris filix-mas* із хлоропластами (А) і окремий хлоропласт, що містить крупні крохмальні зерна (Б), на початку фази дозрівання сорусів (середина травня)

Fig. 3. The mesophyllous cell of *Dryopteris filix-mas* fronds with chloroplasts (A) and the separate chloroplast with starch grains (B) at the beginning of the phase of sori ripening (middle of May)

З настанням осінніх похолодань у фазу завершення вегетації й відмирання надземної частини в клітинах ваї відбуваються природні фізіологічні та структурні зміни, зумовлені поступовим відмиранням надземної частини. У цей період для паренхіми сегментів ваї *D. filix-mas* характерне скупчення мітохондрій та інших органел ближче до центру клітин. Також змінюється форма хлоропластів, вони часто мають вирости. Зафіксовано часткову деформацію ламел строми. Кількість крохмальних зерен у пластидах значно зменшується, в більшості фотосинтетичних органел вони зникають зовсім (рис. 4, А, Б). У цьому разі органели, як правило, зберігають чітко виражену двомембранну оболонку. В цей період частка строми у загальному об'ємі хлоропласта помітно збільшується.

Ще однією зміною, зафіксованою у фазу завершення вегетації, котра пов'язана зі зниженням температури та значною денною сонячною активністю, є поява у строми хлоропластів численних крупних пластоглобул (рис. 4, А, Б). Пластоглобули з'являються у центральній частині хлоропластів, зберігаючи контакт із ламелами строми та формуючи лінійні кластери. Відомо, що поява великої кількості пластоглобул свідчить про високий рівень окиснювальних процесів у клітинах, іноді про стресовий стан, зокрема, внаслідок дії світла надмірної інтенсивності або високої

чи низької температури [3, 6]. В одношаровій ліпідній оболонці пластоглобул наявні ліпідні компоненти тилакоїдних мембран, тоді як у їхньому ядрі знайдено структурні білки і ферменти. Із пластоглобулами асоціюють цілу низку жиророзчинних речовин [20]. Утворення значної кількості пластоглобул протягом осінньої вегетації спорофіту *D. filix-mas*, на нашу думку, пов'язане зі старінням вай цього літньозеленого виду, а також реутилізацією після завершення формування спорангіїв зі спорами частини компонентів фотосинтетичних органел.

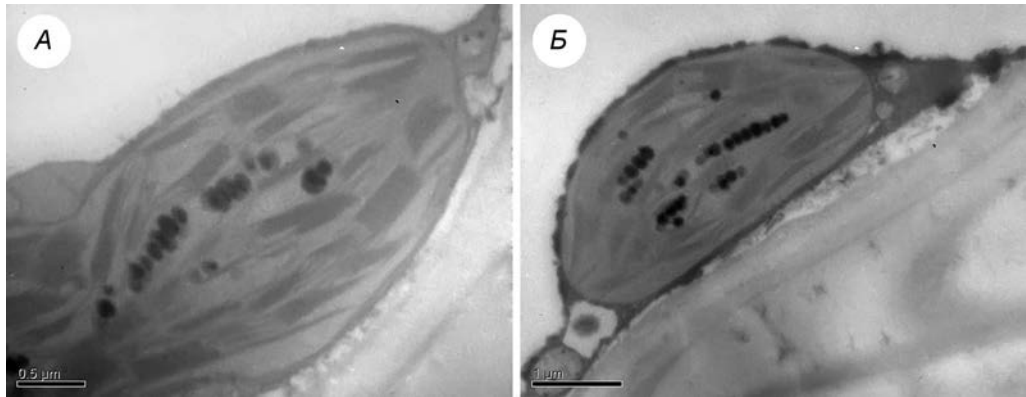


Рис. 4. Хлоропласти (А, Б) у клітинах мезофілу вай *Dryopteris filix-mas* у фазу завершення вегетації та відмирання надземної частини (жовтень) з частково деформованими ламелами строми і численними пластоглобулами

Fig. 4. The chloroplasts (A, B) in the mesophyllous cells of *Dryopteris filix-mas* fronds in the phase of vegetation completion and aboveground part die-off (October) with partly destroyed stroma lamellae and numerous plastoglobules

Відомо, що вміст фотосинтетичних пігментів залежить не лише від інтенсивності й спектрального складу світла [14, 22], а й від фізіологічного стану рослинної клітини, і постійно контролюється сигналами, що надходять від атрагуючих центрів рослини [21]. Проведені нами ультраструктурні дослідження клітин вай *D. filix-mas* довели, що зі зниженням температури внаслідок ферментативного гідролізу зникають крохмальні зерна і, відповідно, відбувається вивільнення низькомолекулярних вуглеводів. Цукри, у свою чергу, здатні гальмувати фотосинтетичний процес без суттєвої реутилізації пігментів, зокрема, у вищих рослин [21]. Водночас відомо, що у фазу завершення вегетації восени може зменшуватись оводненість тканин. Це також впливає на вміст пігментів на одиницю ваги сирої речовини.

Порівняно з покритонасінними рослинами нижнього ярусу [2, 21], загальний вміст пігментів у ваях *D. filix-mas* нижчий. За нашими даними, вміст пігментів у відповідних фенологічних фазах розвитку в *D. filix-mas* був також нижчим, ніж у папороті *P. aculeatum* [19]. Таку різницю можна пояснити особливостями будови листової пластинки літньозелених і зимозелених видів. Загальновідомо, що у листових пластинок вічнозелених і зимозелених видів рослин з'являються ознаки ксероморфізму. У зимозеленої папороті *P. aculeatum* листовая пластинка також набуває таких ознак ксероморфізму: збільшується її товщина, що сприяє адаптації до тривалої фізіологічної сухості. Представники ж літньозеленої групи, зокрема, *D. filix-mas*, навпаки, мають незначну товщину вай [24, 25]. Це відбувається внаслідок зменшення не лише товщини шару кутикули покривних тканин, а й розмірів паренхіми. Водночас фотосинтезуюча паренхіма *D. filix-mas* має чітку диференціацію на палісадну і губчасту.

ВИСНОВКИ

Отже, проведені дослідження виявили, що максимум вмісту фотосинтетичних пігментів у ваях *D. filix-mas* припадав на фазу висівання спор під час переходу від вегетативного до репродуктивного періоду розвитку і збігався зі значним затіненням папороті кронами рослин верхнього ярусу. Чітка диференціація паренхіми вай *D. filix-mas* на палісадну та губчасту тканини опосередковано засвідчила пристосованість виду до росту за умов як затінення, так і достатньо інтенсивного освітлення. На будову хлоропластів мезофілу вай *D. filix-mas* суттєво впливають сезонні зміни. Часткова деформація ламел стромы хлоропластів вказує на структурні обмеження у перебігу фотосинтетичного процесу в осінній період вегетації. Деструктивні зміни у хлоропластах збігалися в часі з природним процесом відмирання надземної частини папороті. Відсутність крохмальних зерен у стромі фотосинтетичних органел восени, очевидно, свідчить про реутилізацію і перерозподіл поживних речовин на користь кореневища для успішної перезимівлі рослини.

Публікація містить результати досліджень, проведених у рамках проекту, що фінансується НАН України III-71-14.431 "Гормональний контроль росту та розвитку спорових рослин (різної таксономічної належності)" (2014–2018 рр.).

1. *Anten N.P.R.* Optimal photosynthetic characteristics of individual plants in vegetation stands and implications for species coexistence. **Annals of Botany**, 2005; 95(3): 495–506. [DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mci048>]
2. *Athanasiou K., Dyson B.C., Webster R.E., Johnson G.N.* Dynamic acclimation of photosynthesis increases plant fitness in changing environments. **Plant Physiology**, 2010; 152(1): 366–373. [DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.109.149351>]
3. *Austin J.R., Frost E., Vidi P.-A., Kessler F., Staehelin L.A.* Plastoglobules are lipoprotein sub-compartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and contain biosynthetic enzymes. **Plant Cell**, 2006; 18(7): 1693–1703. [DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.105.039859>]
4. *Babenko L.M., Sheyko O.A., Kosakivska I.V., Vedenichova N.P., Nehretskiy V.A., Vasheka O.V.* Structural and functional characteristics of Pteridophytes (*Polypodiophyta*). **Bulletin of Kharkiv National Agrarian University**. Series: Biology, 2015; 34(1): 80–103 (In Ukrainian). [Google Scholar]
5. *Bailey S., Horton P., Walters R.G.* Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: the relationship between photosynthetic function and chloroplast composition. **Planta**, 2004; 218(5): 793–802. [DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1158-5>]
6. *Bréhélin C., Kessler F., Van Wijk K.J.* Plastoglobules: versatile lipoprotein particles in plastids. **Trends in Plant Science**, 2007; 12(6): 260–266. [DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.04.003>]
7. *Evert R.F., Eichhorn S.E., Raven P.H.* **Raven Biology of Plants**, 8th edn. New York: W.H. Freeman/Palgrave Macmillan, 2013. 900 p. [DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcu090>]
8. *Gago J., Coopman R.E., Cabrera H.M., Hermida C., Molins A., Conesa M.À., Galmés J., Ribas-Carbó M., Flexas J.* Photosynthesis limitations in three fern species. **Physiologia Plantarum**, 2013; 149(4): 599–611. [DOI: <https://doi.org/10.1111/ppl.12073>]
9. *Hietz P.* Fern adaptations to xeric environments. In: **Fern Ecology**. Cambridge University Press, 2010. 460 p. [DOI: <https://doi.org/10.1017/CBO9780511844898>]
10. *Johnson G.N., Rumsey F.J., Headley A.D., Sheffield E.* Adaptation to extreme low light in the fern *Trichomanes speciosum*. **New Phytologist**, 2000; 148(3): 423–431. [DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00772.x>]

11. Kiriziy D.A., Stasik O.O., Pryadkina G.A., Shadchina T.M. Photosynthesis. V. 2. **Assimilation of CO₂ and the mechanisms of its regulation**. Kiev: Logos, 2014. 480 p. (In Russian). [Google Scholar]
12. Kochubey S.M., Bondarenko O.Yu., Shevchenko V.V. Photosynthesis. V. 1. **The structure and functional peculiarities of light phase of photosynthesis**. Kiev: Logos, 2014. 384 p. (In Russian). [Google Scholar]
13. Kotukhov Yu.A. The Technique for seasonal observation of the ferns of the family *Polypodiaceae* R. Br. **Bulletin of the Main Bot. Garden**, 1974; 94: 10–18 (In Russian). [Google Scholar]
14. Lichtenthaler H.K., Ab A., Marek M.V., Kalina, J., Urban O. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. **Plant Physiology and Biochemistry**, 2007; 45: 577–588. [DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.04.006>]
15. Lotova L.I. **The morphology and anatomy of higher plant**. Moscow: Editorial URSS, 2001. 528 p. (In Russian). [Google Scholar]
16. Page C. Ecological strategies in fern evolution: a neopteridological overview. **Review of Palaeobotany and Palynology**, 2002; 119: 1–33. [DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0034-6667\(01\)00127-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0034-6667(01)00127-0)]
17. Schuettpelz E, Schneider H, Smith A. R. et al. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns The Pteridophyte Phylogeny Group. **Journal of Systematics and Evolution**, 2016; 54 (6): 563–603. [DOI: <https://doi.org/10.1111/jse.12229>]
18. Shcherbatiuk M.M., Brykov V.O., Martyn G.G. **The Preparation of Plant Tissues for Electron Microscopy** (theoretical and practical aspects). Kyiv: Talkom, 2015. 66 p. (In Ukrainian). [Google Scholar]
19. Shcherbatiuk M.M., Babenko L.M., Vasheka O.V., Kosakivska I. V. Pigments and ultrastructural peculiarities of cell organelles of fern *Polystichum aculeatum* (L.) Roth. at different stages of development. **Studia Biologica**, 2017; 11(2): 91–102 (In Ukrainian). [DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.1102.526>, Google Scholar]
20. Spicher L., Kessler F. Unexpected roles of plastoglobules (plastid lipid droplets) in vitamin K1 and E metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, 2015; 25: 123–129. [DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.05.005>]
21. Syvash O.O., Mykhaylenko N.F., Zolotareva O.K. Sugars as a key element in the regulation of metabolism of photosynthetic cells. **Ukr. Bot. J.**, 2001; 58(1): 121–127 (In Ukrainian). [Google Scholar]
22. Topchiy N.M., Sytnik S.K., Syvash O.O., Zolotareva O.K. The effect of additional red irradiation on the photosynthetic apparatus of *Pisum sativum*. **Photosynthetica**, 2005; 43(3): 451–456. [DOI: <https://doi.org/10.1007/s11099-005-0072-4>]
23. Valladares F. Light heterogeneity and plants: from ecophysiology to species coexistence and biodiversity. In: **Progress in Botany**. Berlin Heidelberg: Springer, 2003: P. 439–471. [Google Scholar]
24. Vasheka O.V., Brayon O.V. Petiole anatomical structure of evergreen ferns of the family *Dryopteridaceae* Ching. **Plant Introduction**, 2000; (1): 68–70 (In Ukrainian). [Google Scholar]
25. Vasheka O.V. The some biological characteristics of ferns of genus *Dryopteris* Adans. introduced into the open ground in the Acad. O.V. Fomin Botanical Garden. **Bulletin of the State Nikitin Botanical Garden**, 2004; 89: 12–15 (In Ukrainian). [Google Scholar]
26. Vasheka O.V., Bezsmertna O.O. **Fern Atlas of Ukrainian Flora**: monograph. Kyiv: Palyvoda A.V., 2012. 160 p. (In Ukrainian). [Google Scholar]

27. Wellburn A. The spectral determination of chlorophyll *a* and chlorophyll *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, 1994; 144(3): 307–313.
[DOI: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)]

PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND ULTRASTRUCTURE OF CHLOROPLASTS OF THE FERN *DRYOPTERIS FILIX-MAS* (L.) SCHOTT IN VARIOUS PHENOLOGICAL PHASES OF DEVELOPMENT

M. M. Shcherbatiuk¹, L. M. Babenko¹, O. V. Vasheka², I. V. Kosakivska¹

¹ M. G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine
2, Tereshchenkivska St., 01030 Kyiv, Ukraine

² Educational and Scientific Centre “Institute of Biology and Medicine”
of Taras Shevchenko Kyiv National University
2, Academician Glushkov Ave., 03022, Kyiv Ukraine
e-mail: chrom.botany@ukr.net

A comparative analysis of the photosynthetic pigments content, frond anatomic structure and chloroplast ultrastructure in the various developmental phases of the sporophyte of the leptosporangial fern *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott that belongs to the lower layer plants and grows in shade was carried out. Observations were conducted in the phase of an intensive growth (April), sori ripening (May), spores dissemination (June), summer vegetation (July) as well as vegetation completion and aboveground part die-off (October). The chlorophyll *a* and *b* content in fronds was found to increase during the first three phenological phases and reached its maximum in the phase of spores dissemination. A specific feature turned out to be a relatively high content of carotenoids in the first four phases of development. In the phase of vegetation completion and aboveground part die-off the pigments content in frond tissues significantly decreased. The pigments content in fronds of summer green fern *D. filix-mas* was lower than that of winter green fern *Polystichum aculeatum* (L.) Roth. The frond anatomic structure was studied by means of the scanning electron microscope using freeze-dried cross-sections. The frond parenchyma was found to be divided into palisade and spongy tissues. The chloroplast ultrastructure was studied using the transmission electron microscope. It was revealed that in the phase of sori ripening the frond mesophyll cells contained elongated lens-like chloroplasts with an electron-dense stroma, which had big starch grains and sometimes plastoglobules. In the parenchyma cells, chloroplasts are in close proximity to the plasmalemma. In the phase of vegetation completion and aboveground part die-off, chloroplasts in cells of the assimilating parenchyma showed a partial deformation in the stroma lamellae and emergence of numerous plastoglobules. The number of starch grains in plastids significantly reduced. The comparison analysis of the photosynthetic pigments composition and content and chloroplast ultrastructure in the various developmental phases of the sporophyte of the *Dryopteris filix-mas* indicated that the successful existence in shade conditions and changes in the temperature regime along with other features provide a specific structural-functional organization of the photosynthetic apparatus.

Keywords: *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott, carotenoids, chlorophyll, chloroplasts, ontogenesis, ultrastructure

Одержано: 10.05.2018