



УДК 57.012.4:581.174:582.394:575.16

ПІГМЕНТИ Й УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННИХ ОРГАНЕЛ ПАПОРОТІ *POLYSTICHUM ACULEATUM* (L.) ROTH. У РІЗНІ ФАЗИ 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 01601, 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

Встановлено якісний і кількісний склад фотосинтетичних пігментів у ваях спорофіта *P. aculeatum* у різні фази онтогенезу. Максимальний вміст фотосинтетичних пігментів зафіксовано у фази спороношення і зимової вегетації. Специфічною ознакою вай спорофіта *P. aculeatum* є відносно високий вміст каротиноїдів. У фазу формування сорусів (травень–червень) у клітинах мезофілу вай *P. aculeatum* наявні хлоропласти округлої та видовженої, лінзоподібної форми. Хлоропласти округлої форми мають відносно електронно-нещільну строму і грани, сформовані малою кількістю тилакоїдів. Хлоропласти лінзоподібної форми – з електронно-щільною стромою і гранами, які наповнюють їхній об'єм. Ці хлоропласти містять великі крохмальні зерна і зрідка пластоглобули. Диференціація хлоропластів за ультраструктурою не пов'язана з певними анатомічними ділянками вай. Наприкінці весни в клітинах паренхіми хлоропласти розташовуються в безпосередній близькості до плазмалемми. На ультраструктурну впорядкованість внутрішньої мембранної системи хлоропластів мезофілу вай *P. aculeatum* впливають сезонні температурні зміни, а також зміни умов освітлення. У фазу осінньої вегетації у хлоропластів клітин асимілюючої паренхіми іноді формуються вирости. Зафіксовано часткове руйнування їхньої внутрішньої мембранної системи і поява численних пластоглобул. Кількість крохмальних зерен у пластидах значно зменшується. У клітинах паренхіми кореневища *P. aculeatum* міститься значна кількість амілопластів, як навесні, у фазу формування сорусів, так і в період осінньої вегетації. Ці органели щільно наповнені крохмальними зернами і практично не мають розвиненої внутрішньої мембранної системи. Відсутність суттєвих змін їхньої ультраструктури насамперед пов'язана з оптимальними умовами існування рослини в умовах відкритого ґрунту (експозиційні ділянки спорових рослин Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна КНУ імені Тараса Шевченка).

Ключові слова: *Polystichum aculeatum* (L.) Roth., онтогенез, пігменти, хлоропласти, ультраструктура

ВСТУП

Морфоструктурні особливості листових пластинок і характер фізіологічних процесів, що в них відбуваються, належать до факторів, котрі забезпечують успішність адаптації рослин до умов освітлення, інтенсивність якого для рослин різних ярусів може відрізнятися у десятки разів [27, 30]. Рослини, еволюційно пристосовані до високої (геліофіти) або низької (сціофіти) освітленості, відрізняються за загальною площею і товщиною листків, кількістю фотосинтетичних органел, вмістом і співвідношенням пігментів, які формують світлозбиральні комплекси [17]. Ці питання досить добре вивчені для квіткових рослин, тоді як для папоротей досліджені все ще недостатньо. Порівняльним дослідженням шести видів папоротей, які віддають перевагу затіненим ділянкам, і світлолюбних з'ясовано цілу низку фізіологічних відмінностей між ними. Зокрема, для світлолюбних видів зафіксовано вищий вміст як хлорофілів, так і розчинного білка на одиницю сирої ваги, а у ізольованих хлоропластах – вищий рівень активності фотохімічних реакцій фотосистеми I і фотосистеми II, а також вищий вміст цитохромів. Для ізольованих мітохондрій світлолюбних видів встановлено інтенсивніший транспорт електронів під час використання екзогенного НАДН як субстрату [19].

Серед інших рослин папороті вирізняє ціла низка структурно-біохімічних особливостей. Це, наприклад, значно нижча, ніж у покритонасінних, субстратна специфічність Рубіско до CO_2 [10], повільна реакція замикаючих клітин продихів на зміни в інтенсивності освітлення та концентрації CO_2 , низька провідність мезофілу для вуглекислого газу (карбонат-іонів) [10, 29]. Проте, незважаючи на цілу низку ендогенних обмежуючих чинників, папоротеподібні досить поширені й характеризуються значною різноманітністю форм, успішно конкуруючи з іншими рослинами. Фактично, більш широке розповсюдження папоротеподібних лімітується лише відсутністю повітряно-крапельної води у посушливих екосистемах [9, 18].

За звичайних умов продуктивність фотосинтетичних процесів у папоротей, порівняно з покритонасінними рослинами, нижча і становить у середньому від 1,5 до $13 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Таку незначну продуктивність пов'язують із низькою швидкістю карбоксилювання і повільною дифузією розчиненого CO_2 в апо- і симпласті (листових пластинок) вай [10, 12, 20, 29]. Однак з'ясування багатьох деталей, що стосуються структурних і біохімічних особливостей у цієї групи рослин, потребує подальших досліджень. Також невивченими залишаються ультраструктурні особливості будови фотосинтетичного апарату папоротеподібних і сезонна динаміка вмісту фотосинтетичних пігментів.

Папороті здатні до фотосинтезу за низької інтенсивності освітлення [9]. Це одна з переваг, яка забезпечує їхню витривалість до затінення. Тому рослини *P. aculeatum*, що в основному зростають за таких умов [7, 34], повинні мати специфічну структурно-функціональну організацію фотосинтетичного апарату.

Зважаючи на це, метою нашої роботи було вивчення вмісту фотосинтетичних пігментів і ультраструктури органел клітин пластинки вай та кореневища *P. aculeatum* за різних температур і умов освітлення, зумовлених сезонними змінами.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Матеріал для досліджень (листки та кореневища) відбирали упродовж 2015–2016 рр. з рослин *P. aculeatum*, що росли на експозиційній ділянці вищих спорових рослин Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна КНУ імені Тараса Шевченка у місті

Києві. Багаторядник шипуватий (*P. aculeatum*) – природний європейський вид із центром розповсюдження в тінистих лісових масивах гір південної та західної Європи [7]. В Україні вид утворює природні популяції в Карпатах, Гірському Криму, а також у Лісостеповій зоні [34]. *P. aculeatum* за феноритмотипом належить до вічнозелених рослин, тобто поява нових вай у рослин цього виду відбувається поступово, одночасно з відмиранням вай минулорічної генерації [33]. Фенологічні спостереження за рослинами проводили згідно з методичними рекомендаціями [15] з модифікаціями [32], розробленими спеціально для папоротеподібних. Були виділені шість фенологічних фаз розвитку спорофіта: 1) інтенсивного росту (квітень); 2) формування сорусів (травень-червень); 3) спороношення (червень); 4) літньої вегетації (липень-серпень); 5) осінньої вегетації (вересень-листопад); 6) зимової вегетації (грудень-березень).

Вміст пігментів визначали у кожну з фаз, конкретні дати вказані у підписі до рис. 1. Для ультраструктурного дослідження зразки відбирали у період закінчення фази інтенсивного росту рослини, початку формування сорусів (середина травня) й у фазу осінньої вегетації (середина жовтня).

Вміст фотосинтетичних пігментів у тканинах вай визначали спектрофотометричним методом [35]. Екстракцію пігментів здійснювали ацетоном і вимірювали оптичне поглинання розчинів за допомогою спектрофотометра Shimadzu UV-1800 (Японія).

Для ультраструктурного дослідження ділянки тканин розміром 3×1 мм вирізали зі середньої частини сегментів другого порядку повністю сформованих вай між краєм і центральною жилкою, фіксували розчином 3% глутарового альдегіду “Fluka AG” (Німеччина) на фосфатному буфері з рН 7,4 протягом чотирьох годин, відмивали чистим буфером і заливали 1%-ним 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 і аралдиту “Fluka AG” (Німеччина) за методом [23]. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікромомі LKB-3 (Швеція) й аналізували на електронному мікроскопі JEM-1230 (Японія).

Морфометричний аналіз проводили за допомогою програми ImageJ v1.49 для Windows, використовуючи масштабну лінійку електронно-мікроскопічних зображень. Отримані результати статистично обробляли в програмі Excel стандартного пакету Microsoft Office 2013. Достовірність різниці оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента, використовуючи 5%-ний рівень значущості ($P < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Успішність адаптації до умов навколишнього середовища значною мірою залежить від оптимального функціонування асиміляційного апарату, показниками стану якого є вміст і співвідношення фотосинтетичних пігментів у тканинах фотосинтезуючих органів.

Біохімічний аналіз фотосинтетичних пігментів вай *P. aculeatum* на всіх стадіях онтогенезу виявив хлорофіли *a* і *b*, а також каротиноїди у тканинах (рис. 1). Було встановлено, що вміст фотосинтетичних пігментів у ваях зростав у міру проходження спорофітом фенологічних фаз і характеризувався наявністю двох піків – літнього та зимового, що припадали на фази спороношення (3) і зимової вегетації (6) (рис. 1).

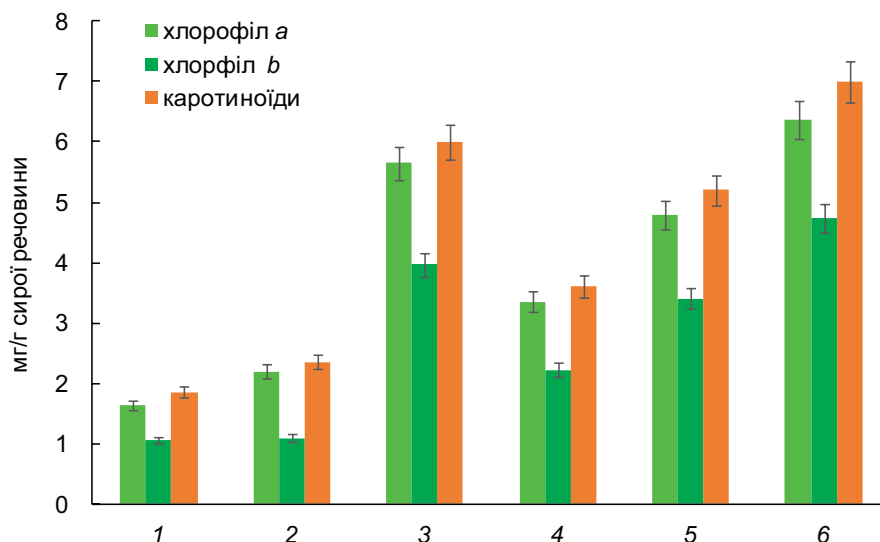


Рис. 1. Вміст пігментів у тканинах вай *P. aculeatum* на різних фенологічних фазах: 1 – фаза інтенсивного росту (30.04); 2 – фаза формування сорусів (29.05); 3 – фаза спороношення (17.06.); 4 – фаза літньої вегетації (10.07); 5 – фаза осінньої вегетації (21.10); 6 – фаза зимової вегетації (23.02)

Fig. 1. The content of pigments in fronds of *P. aculeatum* at the different stages of ontogeny: 1 – the stage of intensive growth (30.04); 2 – the stage of sori formation (29.05); 3 – the stage of spores fructification (17.06.); 4 – the stage of summer vegetation (10.07); 5 – the stage of autumn vegetation (21.10); 6 – the stage of winter vegetation (23.02)

У фазу спороношення, яка збігалася з повним розвитком листків крон дерев верхнього ярусу, зменшувалась інтенсивність освітлення досліджуваних папоротей. Сума хлорофілів а і b при цьому зростала в 4 рази порівняно з фазою інтенсивного росту (табл. 1), коли інтенсивність освітлення була значно вищою. Відомо, що зростання сумарного вмісту хлорофілів а і b при зниженні інтенсивності освітлення розглядається як адаптивна реакція, результатом якої є поліпшення світлозбиральних властивостей фотосинтетичного апарату [4].

Таблиця 1. Співвідношення основних класів пігментів у ваях *P. aculeatum* у різні фази онтогенетичного розвитку спорофіта

Table 1. The ratio of main pigments classes in the fronds of *P. aculeatum* at the different stages of ontogeny

Фенологічна фаза спорофіта	a/b	(a+b)*	a+b/кар.
Інтенсивний ріст	1,5	2,7	1,5
Формування сорусів	2,0	3,3	1,4
Спороношення	1,4	9,62	1,6
Літня вегетація	1,5	5,6	1,6
Осіння вегетація	1,4	8,2	1,6
Зимова вегетація	1,3	11,1	1,5

Примітка: * – мг/г сирої речовини

Comment: * – mg/g of fresh weight

Специфічною ознакою вай *P. aculeatum* виявився відносно високий вміст каротиноїдів (рис. 1). У фазу спороношення спостерігалось значне збільшення вмісту каротиноїдів, які в умовах низької інсоляції виконують світлозбиральну функцію [13], що, у свою чергу, є додатковим адаптивним фактором для успішного існування папоротей в умовах підліску. Водночас високий вміст каротиноїдів, відзначений нами взимку, коли зростає інсоляція рослин нижнього ярусу через відсутність листяного покриву у верхніх ярусах, пов'язаний, на нашу думку, із фотопротекторною функцією цих пігментів. Так, у роботах інших дослідників встановлено, що за надмірної інсоляції каротиноїди захищають фотосинтетичний апарат від фотоінгібування [4, 11]. Стійкість фотосинтетичного апарату рослин формується завдяки зміні концентрації та перерозподілу зелених і жовтих пігментів у світлозбиральному комплексі. Важливу роль у цьому відіграють каротиноїди, які задіяні у гасінні триплетного стану хлорофілу, забираючи від нього енергію, і запобігають утворенню синглетного кисню [6].

Відомо, що у квіткових рослин за низької інтенсивності світла відбувається зниження співвідношення хлорофіл *a/b*, що свідчить про більш високий відносний вміст пігментів зв'язуючих білків світлозбирального комплексу фотосистеми II [16]. Співвідношення хлорофілів *a/b* у ваях *P. aculeatum* для всіх досліджених фенологічних фаз було низьким і не перевищувало 2 (табл. 1). Порівняно з квітковими рослинами нижнього ярусу [1], загальний вміст пігментів у ваях *P. aculeatum* був трохи нижчий.

З'ясовано, що вміст фотосинтетичних пігментів залежить не лише від інтенсивності і спектрального складу світла [17, 28], а й від фізіологічного стану рослинної клітини, та постійно контролюється сигналами, що надходять від атрагуючих центрів рослини [26]. Проведені нами ультраструктурні дослідження клітин вай *P. aculeatum* довели, що у разі зниження температури відбувається гідроліз крохмальних зерен і вивільнення низькомолекулярних вуглеводів, які, у свою чергу, здатні, як встановлено, зокрема, для вищих рослин, гальмувати фотосинтетичний процес без суттєвої реутилізації пігментів [26]. Водночас відомо, що у фазу осінньої вегетації може зменшуватись оводненість тканин. Це також впливає на вміст пігментів на одиницю ваги сирої речовини.

Особливістю анатомічної будови вай папоротей (за винятком кількох видів) є наявність хлоропластів у клітинах верхньої та нижньої епідерми, що єднає їх із плаунами. Голо- та покритонасінні рослини (за деякими винятками) містять хлоропласти лише у замикаючих клітинах прорихів [31].

Клітини мезофілу вай у фазі інтенсивного росту і формування сорусів характеризувалися низкою особливостей. Нами було виявлено дві ультраструктурні видозміни (типи) хлоропластів. Перший тип – округлої форми з відносно електронно-нещільною строюю та гранами, сформованими малою кількістю тилакоїдів (рис. 2, А, Б). Такий тип має багато спільних рис із хлоропластами вегетативних пагонів хвоща польового *Equisetum arvense* L. [25]. Другий тип формують хлоропласти видовжені, лінзоподібної форми з електронно-щільною строюю і гранами, що щільно наповнюють їхній об'єм (рис. 2, В, Г). Такі хлоропласти за ультраструктурою більш схожі на фотосинтетичні органели покритонасінних рослин [8, 14]. Диференціація хлоропластів за ультраструктурою не пов'язана з певними анатомічними ділянками пластинки вай. У межах одного ультратонкого зрізу траплялися клітини з хлоропластами обох типів. Однак у межах перерізу однієї клітини, як правило, можна було виявити хлоропласти однакової форми і подібної тонкої

організації. Можливо, такі відміни пов'язані з різними онтогенетичними фазами розвитку хлоропластів.

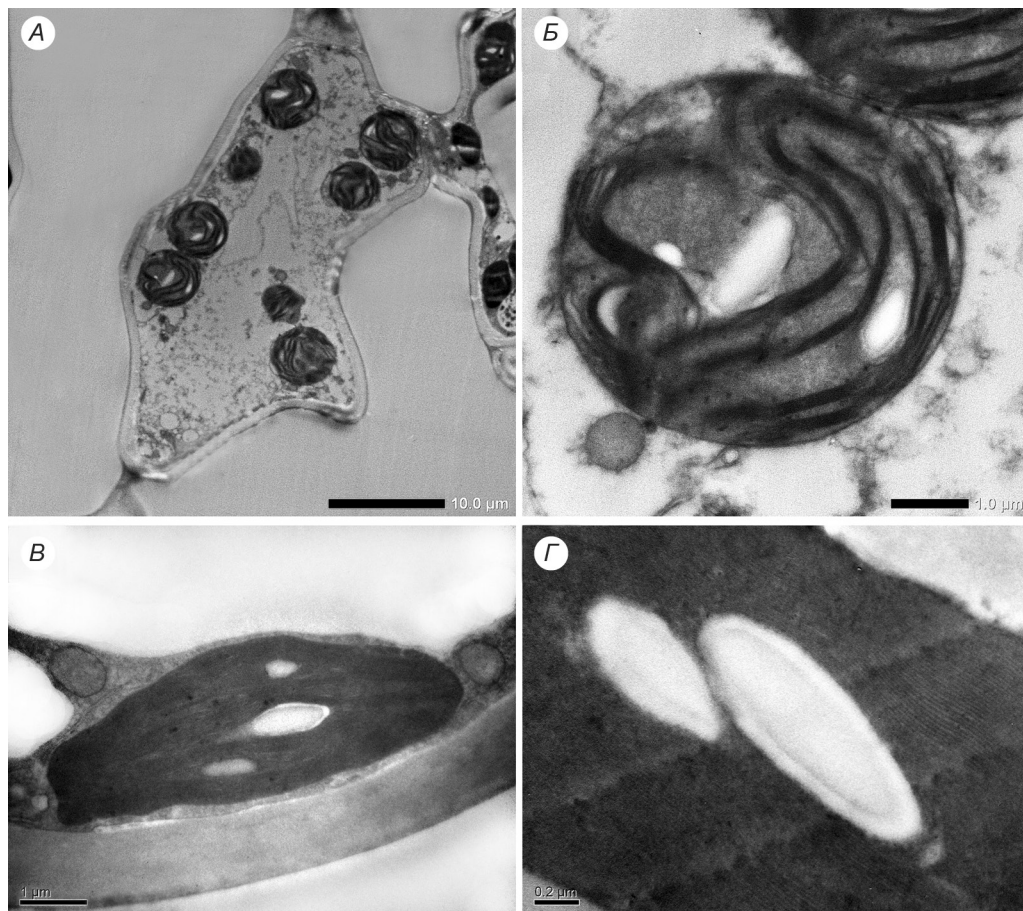


Рис. 2. Клітина мезофілу вай *P. aculeatum* із хлоропластами округлої форми (А) та окремий хлоропласт (Б); В – окремий хлоропласт лінзоподібної форми і фрагмент такого хлоропласту зі щільними численними гранами та крохмальними зернами (Г) у фазу формування сорусів

Fig. 2. The mesophyllous cell of *P. aculeatum* fronds with rounded chloroplasts (A) and separate rounded chloroplast (B); B – elongated lenticular shape chloroplast and fragment of other elongated chloroplast with numerous grana and starch grains (Г) at the stage of sori formation

Хлоропласти у клітинах мезофілу вай відрізнялися за співвідношенням довжини до ширини (товщини) і за площею крохмальних зерен, яка була більшою у лінзоподібних хлоропластах, що опосередковано може свідчити про їхню вищу продуктивність (табл. 2).

Мітохондрії клітин паренхіми вай *P. aculeatum* у період закінчення фази інтенсивного росту рослини, початку формування сорусів (середина травня) мали ортодоксальну структуру. Середній діаметр перерізу мітохондрій становив 1,84 мкм. Зовнішня мембрана була контрастною, електронно-щільною. Мембрани крист характеризувалися нижчою електронною щільністю. Матрикс органел був досить однорідний, незернистий.

Таблиця 2. Ультраструктурні характеристики хлоропластів клітин мезофілу вай *P. aculeatum* у фазу формування сорусів

Table 2. The ultrastructural parameters of chloroplasts in mesophyllous cells of *P. aculeatum* at the stage of sori formation

Показник	Округлі	Лінзоподібні
Середня ширина хлоропласта (довга вісь), мкм	5,12±0,10	5,87±0,14
Середня товщина хлоропласта (коротка вісь), мкм	4,17±0,22	2,22±0,15
Співвідношення довжина/ширина (товщина) хлоропласта	1,23	2,64
Площа перерізу хлоропласта, мкм ²	18,31±1,16	9,87±0,20
Середня кількість гран на переріз одного хлоропласта	15,09±0,16	15,18±0,11
Середня кількість тилакоїдів у грані	9,45±0,18	14,45±0,19
Середня кількість крохмальних зерен на переріз одного хлоропласта	1,27±0,27	3,18±0,50
Площа крохмальних зерен у стромі хлоропласта, мкм ²	0,93±0,41	2,17±0,43

Проведені нами структурні дослідження тканин кореневища *P. aculeatum* показали, що воно сформоване, головним чином, провідною тканиною та паренхімою. Зовнішні шари кореневища містили значну масу механічної тканини. Покривна тканина, крім значного захисного шару кутикули, формує на поверхні великий шар лусок і відмерлих волокон. Відомо, що паренхіма кореневища папоротей виконує запасну функцію [18, 22]. Ми виявили у клітинах паренхіми кореневища значну кількість амілопластів (рис. 3, А, Б), котрі були наповнені крохмальними зернами, не мали розвиненої внутрішньої мембранної системи і були подібними до запасючих органел клітин паренхіми кореневища *E. arvense*. [3]. Значну кількість крохмальних гранул містив як матеріал, зібраний у весняний період (середина травня), так і восени (жовтень), що, очевидно, свідчить про те, що рослини в умовах експозиційної ділянки спорових рослин перебувають в оптимальних для росту і розвитку умовах.

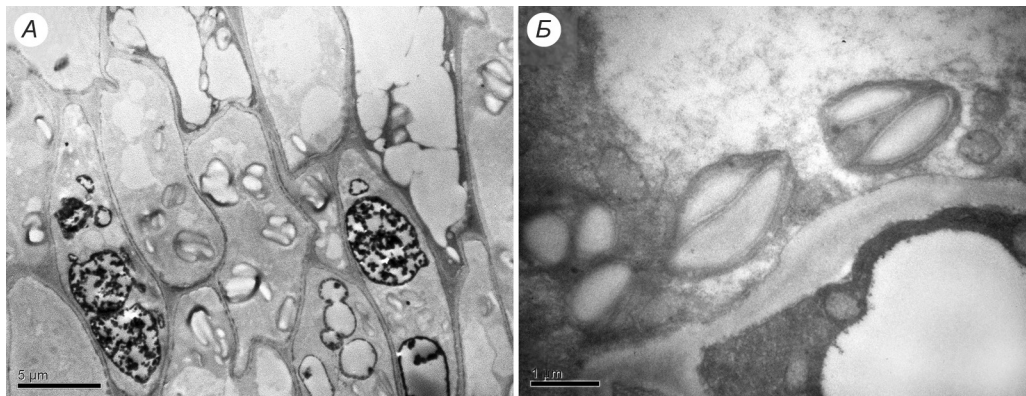


Рис. 3. Клітини запасуючої паренхіми кореневища *P. aculeatum* у фазу формування сорусів (А); фрагмент клітини основної тканини (паренхіми) кореневища з амілопластами, заповненими крохмальними зернами (Б)

Fig. 3. The cells of storage tissue of *P. aculeatum* rootstock at the stage of sori formation (A); the amyloplasts filled with starch grains in the parenchymal cell of rootstock (B)

У клітинах мезофілу вай, відібраних у фазу осінньої вегетації, спостерігалися значне руйнування і набухання ламел строми хлоропластів (рис. 4, А), часткова деструкція мембран тилакоїдів, що формують гранальні комплекси, і значне зменшення кількості запасного крохмалю (рис. 4, А, Б). Водночас мембрани тилакоїдів сусідніх гран у межах однієї органели часто залишались інтактними. Ймовірно, ці деструктивні процеси відбувалися через відчутне зниження температури.

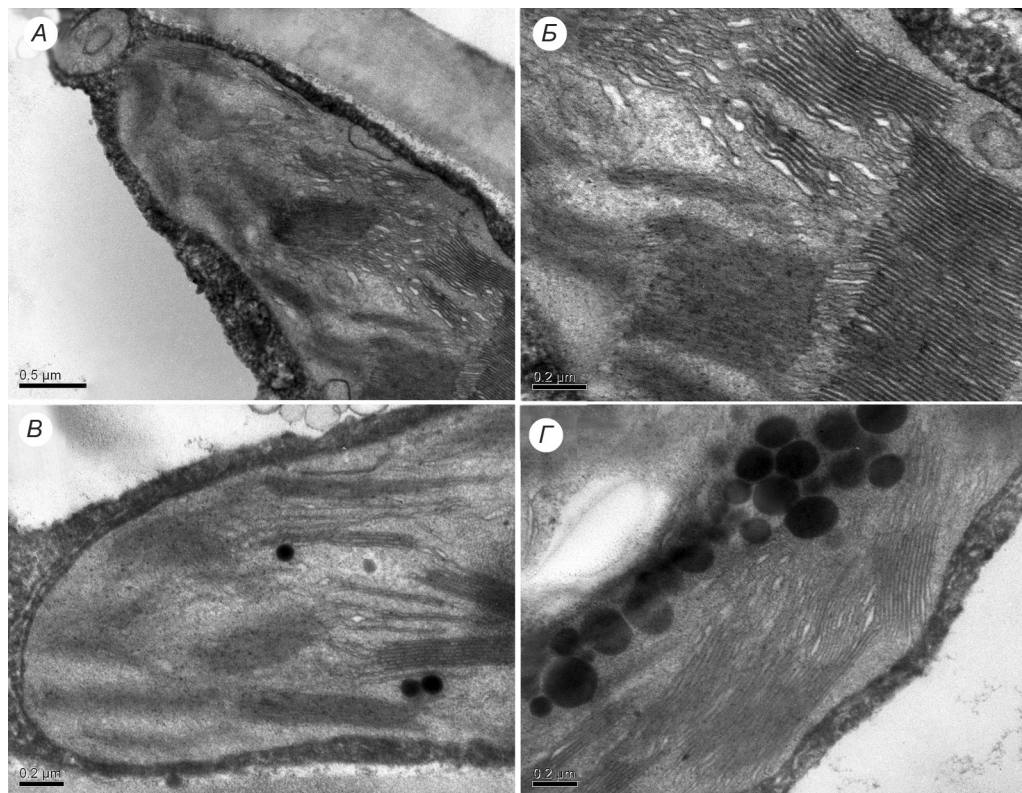


Рис. 4. Фрагменти (А, Б) хлоропластів у клітинах мезофілу вай *P. aculeatum* у фазу осінньої вегетації (жовтень) з частково зруйнованими тилакоїдами та деформованими ламелами строми; В, Г – пластоглобули у строми хлоропластів

Fig. 4. The fragments (A, B) of chloroplasts in the mesophyllous cells of *P. aculeatum* fronds at the stage of autumn vegetation (October) with partly destroyed thylakoids of grana and distorted thylakoids of stroma; B, Г – plastoglobules in the stroma of chloroplast

Ще однією зміною, пов'язаною зі зниженням температури на тлі значної денної сонячної активності (значний рівень інсоляції), була поява у строми хлоропластів численних крупних пластоглобул (рис. 4, В, Г). Пластоглобули найчастіше з'являлись у центральній частині хлоропластів, зберігаючи контакт із ламелами строми. Відомо, що поява великої кількості пластоглобул свідчить про високий рівень окисних процесів у клітинах, іноді про стресовий стан, зокрема, внаслідок дії світла надмірної інтенсивності або високої чи низької температури [2, 5]. 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 [24]. Утворення значної кількості пластоглобул протягом осінньої вегетації може бути пов'язане зі старінням вай *P. aculeatum*.

У фазу осінньої вегетації хлоропласти мали головним чином лінзоподібний профіль перерізу. Поряд із цим, ми спостерігали появу хлоропластів аномальної форми, їхнє значне витягування з одночасним руйнуванням мембран тилакоїдів гран. У цей період зафіксовано також появу хлоропластів із неконтрастними мембранами й електронно-щільною строєю. У таких органелах іноді фіксували наявність крохмальних зерен.

На відміну від фази формування сорусів, коли клітинні органели розташовувались у безпосередній близькості до плазмалеми, у стані осінньої вегетації для клітин паренхіми сегментів вай *P. aculeatum* було характерне скупчення мітохондрій та інших органел, ближче до центру клітин, іноді навколо ядра. Водночас значних змін в ультраструктурній будові мітохондрій у цю фазу виявлено не було.

ВИСНОВОК

Таким чином, встановлено, що у фотосинтетичних органелах клітин мезофілу вай вічнозеленої папороті *P. aculeatum* восени відбувалися деструктивні перетворення внаслідок дії низьких температур і зміни умов освітлення. Подібні зміни, як і в інших вічнозелених рослин [21], призводять до зниження ефективності фотосинтетичних процесів.

Максимальний вміст фотосинтетичних пігментів зафіксовано у фазі спороношення (червень) та зимової вегетації (лютий). Специфічною ознакою тканин вай спорофіта *P. aculeatum* є відносно високий вміст каротиноїдів. За ультраструктурною будовою частина популяції фотосинтетичних органел вай *P. aculeatum* має низку характерних ознак, подібних до хлоропластів інших спорових рослин, зокрема, хвоща. Водночас у клітинах паренхіми містяться лінзоподібні хлоропласти з електронно-щільною строєю і гранальними комплексами, утвореними великою кількістю тилакоїдів, що за ультраструктурою більше нагадують органели покритонасінних рослин.

Крім відомих біохімічних і фізичних обмежень швидкості фотосинтетичних реакцій у папоротей (низька швидкість карбоксилювання і повільна дифузія CO₂ крізь клітинні стінки та протопласти клітин), тонка організація частини хлоропластів вказує на обмежену кількість фотосинтетичних мембран тилакоїдів гран, що, у свою чергу, також може бути причиною низької продуктивності фотосинтетичних реакцій у папоротеподібних. Незважаючи на високий вміст фотосинтетичних пігментів і, відповідно, збереження темно-зеленого забарвлення вай протягом осені та зими, значні перебудови ультраструктури хлоропластів упродовж осіннього періоду вегетації *P. aculeatum* також свідчать про структурні обмеження фотосинтетичного процесу, зокрема, вже у жовтні відбувалося часткове руйнування мембран тилакоїдів гран і ламел строми.

1. Athanasiou K., Dyson B.C., Webster R.E., Johnson G.N. Dynamic acclimation of photosynthesis increases plant fitness in changing environments. **Plant Physiol**, 2010; 152(1): 366–373.
2. Austin J.R., Frost E., Vidi P.-A., Kessler F., Staehelin L.A. Plastoglobules are lipoprotein subcompartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and contain biosynthetic enzymes. **Plant Cell**, 2006; 18(7): 1693–1703.

3. Babenko L.M., Shcherbatiuk M.M., Kosakivska I.V. Lipoxygenase activity and rhizomes ultrastructure of vegetative and generative shoots of *Equisetum arvense* L., **Studia Biologica**, 2015; 9(1): 153–162. (In Ukrainian).
4. 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.
5. Bréhélin C., Kessler F., Van Wijk K. J. Plastoglobules: versatile lipoprotein particles in plastids. **Trends Plant Sci**, 2007; 12(6): 260–266.
6. Buchov N.G. Dynamic light regulation of photosynthesis. **Russian Journal of Plant Physiology**, 2004; 51(6): 742–753.
7. De Groot G.A., Zuidema P.A., De Groot H. & During H.J. Variation in ploidy level and phenology can result in large and unexpected differences in demography and climatic sensitivity between closely related ferns. **American Journal of Botany**, 2012; 99(8): 1375–1387.
8. Evert R.F. **Esau's plant anatomy**. Hoboken, New Jersey: Wiley Interscience, 2007. 607 p.
9. Evert R.F., Eichhorn S.E., Raven P.H. **Raven Biology of Plants**. New York: W.H. Freeman and Co. Publishers, 2013. 880 p.
10. Gago J., Coopman R.E., Cabrera H.M., Hermida C. et al. Photosynthesis limitations in three fern species. **Physiologia Plantarum**, 2013; 149(4): 599–611.
11. Havaux M., Ponfils J.P., Lutz C., Nijgoi K.K. Photo-damage of the photosynthetic apparatus and its dependence on the leaf developmental stage in the NPQ1 *Arabidopsis* mutants deficient in the xanthophylls cycle enzyme violaxanthin de-epoxidase. **Plant Physiology**, 2000; 124(1): 272–284.
12. Hietz P., Briones O. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence and within-canopy distribution of epiphytic ferns in a Mexican cloud forest. **Plant Biol**, 2001; 3(3) 279–287.
13. 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.
14. 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).
15. 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).
16. Leong T.Y., Anderson J.M. Adaptation of the thylakoid membranes of pea chloroplast to light intensities. I. Study on the distribution of chlorophyll-protein complexes. **Photosynt. Res**, 1984; 5(2): 105–115.
17. 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 Physiol. Biochem**, 2007; 45: 577–588.
18. Lotova L.I. **The morphology and anatomy of higher plant**. Moscow: Editorial URSS, 2001. 528 p. (In Russian).
19. Nasrulhaq-Boyce A., Haji Mohamed M.A. Photosynthetic and respiratory characteristics of malayan sun and shade ferns. **New Phytologist**, 1987; 105(1): 81–88.
20. Nishida K., Kodama N., Yonemura S., Hanba Y.T. Rapid response of leaf photosynthesis in two fern species *Pteridium aquilinum* and *Thelypteris dentata* to changes in CO₂ measured by tunable diode laser absorption spectroscopy. **J. Plant Res**, 2015; 128(5): 777–789.
21. Öquist G., Huner N.P.A. Photosynthesis of overwintering evergreen plants. **Annu. Rev. Plant Biol**, 2003; 54: 329–355.
22. Roux J.P., Van Wyk A.E. Morphology and anatomy of the rhizome and frond in the African species of *Polystichum* (*Pteropsida: Dryopteridaceae*). **Bothalia**, 2000; 30(1): 57–68.
23. 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).

24. Spicher L., Kessler F. Unexpected roles of plastoglobules (plastid lipid droplets) in vitamin K1 and E metabolism. **Curr. Opin. Plant Biol.**, 2015; 25: 123–129.
25. Sytnikov D.M., Babenko L.M., Shcherbatiuk M.M. The photosynthetic pigments and ontogeny of *Equisetum arvense* L. **Bulletin of the Odessa National University. Ser. Biology**, 2013; 18(2): 50–60.
26. Syvash O.O., Mykhalenko N.F., Zolotaryova 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).
27. Taiz L., Zeiger E. **Plant Physiology** Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., Publisher, 2003. 623 p.
28. 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.
29. Tosens T., Nishida K., Gago J. et al. The photosynthetic capacity in 35 ferns and fern allies: mesophyll CO₂ diffusion as a key trait. **New Phytologist**, 2016; 209(4): 1576–90.
30. Valladares F. Light heterogeneity and plants: from ecophysiology to species coexistence and biodiversity. In: **Progress in Botany**. Berlin Heidelberg: Springer, 2003: 439–471.
31. Vasco A., Moran R.C., Ambrose B.A. The evolution, morphology, and development of fern leaves. **Front. Plant Sci.**, 2013, 4: 1–16.
32. 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).
33. 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).
34. Vasheka O.V., Bezsmertna O.O. **Fern atlas of Ukrainian flora: monograph**. Kyiv: Palyvoda A.V., 2012. 160 p. (In Ukrainian).
35. Wellburn A. The spectral determination of chlorophyll *a* and chlorophyll *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **J. Plant Physiol.**, 1994; 144(3): 307–313.

PIGMENTS AND ULTRASTRUCTURAL PECULIARITIES OF CELL ORGANELLES OF FERN *POLYSTICHUM ACULEATUM* (L.) ROTH. AT DIFFERENT STAGES OF DEVELOPMENT

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

¹M. G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine
2, Tereshchenkivska St., 01601 Kyiv, Ukraine

²Educational 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

Qualitative and quantitative content of photosynthetic pigments in fronds of *P. aculeatum* sporophyte at different stages of ontogeny was determined. The maximum content of photosynthetic pigments was registered at the stages of spore fructification and winter vegetation. A specific feature of fronds of *P. aculeatum* sporophyte is a relatively high content of carotenoids. At the stage of sori formation (May–June) mesophyllous cells of *P. aculeatum* fronds contained chloroplasts of rounded and elongated lenticular shape. Rounded chloroplasts stroma and grana, formed with small number of thylakoids are relatively electron-loose. The lenticular chloroplasts with electron-dense stroma and grana fill their volume. These chloroplasts contain large starch grains and occasionally plastoglobules. The ultrastructural differentiation of chloroplasts was not as-

sociated with certain anatomical areas of fronds. In May, chloroplasts in mesophyllous cells are located close to the plasmalemma. The ultrastructural ordering of the inner membrane system of parenchymal chloroplasts of *P. aculeatum* fronds were affected by seasonal temperature variation and changes in the lighting conditions. At the stage of autumn vegetation in the chloroplasts of mesophyllous cells there are sometimes formed neoplasms. A partial destruction of their internal membrane system and emergence of numerous plastoglobules were observed. The number of starch granules in the plastids was significantly reduced. Parenchyma cells of *P. aculeatum* rootstock had a significant amount of amyloplasts both in spring, at the stage of sori formation, and at the stage of autumn vegetation. These organelles were densely filled with starch grains while a developed internal membrane system was practically missing. The absence of significant changes in their ultrastructure is primarily associated with the optimal conditions for *P. aculeatum* (area of the ferns in Acad. O. V. Fomin Botanical Garden of Taras Shevchenko Kyiv National University).

Keywords: *Polystichum aculeatum* (L.) Roth., ontogeny, pigments, chloroplasts, ultrastructure

Одержано: 07.06.2017