Biol. Stud. 2016: 10(2); 149–162 • DOI: https://doi.org/10.30970/sbi.1002.476
www.http://publications.lnu.edu.ua/journals/index.php/biology

УДК 577.152.087:581.2

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ ВОДЯНОЇ ПАПОРОТІ *SALVINIA NATANS* (L.) ALL.

Л. М. Бабенко, М. М. Щербатюк, О. В. Поліщук, І. В. Косаківська

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, Київ 01601,Україна
e-mail: lilia.babenko@gmail.com

На прикладі ультраструктурної будови хлоропластів, характеристики фотосинтетичних пігментів і ефективності використання світлової енергії проаналізовано особливості фотосинтетичного апарату плаваючих і занурених вай однорічної різноспорової папороті-гідрофіта *Salvinia natans* (L.) All. в онтогенезі. Встановлено, що на стадії інтенсивного росту хлоропласти плаваючих вай мали добре розвинену систему тилакоїдних мембран із численними гранами і містили багато крохмальних зерен. Занурені ваї формували менші за розміром хлоропласти із незначним вмістом крохмалю у стромі. На стадії формування спорокарпіїв відмічені деструктивні зміни у фотосинтетичних мембранах хлоропластів обох типів вай. Зафіксовано руйнування мембран гранальних тилакоїдів, порушення міжгранальних з'єднань, зменшення кількості крохмальних зерен. У стромі хлоропластів плаваючих вай були наявні численні пластоглобули. У хлоропластах занурених вай відмічено утворення меншого числа пластоглобул. Поряд із цим, певна частина популяції хлоропластів в обох типах вай зберігає цілком інтактну структуру. Встановлено, що вміст фотосинтетичних пігментів у плаваючих ваях удвічі, а на окремих стадіях онтогенезу втричі перевищував такий у занурених. На стадії формування спорокарпіїв відбувалося зниження вмісту хлорофілів і каротиноїдів у ваях обох типів. Плаваючі ваї відзначались ефективною роботою фотосинтетичного електрон-транспортного ланцюга хлоропластів і були адаптовані до інтенсивного природного освітлення на поверхні водойм. У занурених ваях при дії світла, інтенсивність якого відповідала максимальному рівню природних показників, відмічено стресовий стан, на що вказують зниження ефективного квантового виходу ФСІІ ($Ф_{PSII}$) та підвищення дисипації надлишкової світлової енергії у вигляді тепла – збільшення рівня нефотохімічного гасіння флуоресценції хлорофілу (NPQ).

Ключові слова: *Salvinia natans* (L.) All, ультраструктура, пігменти, флуоресценція хлорофілу, онтогенез.

ВСТУП

Серед сучасних вищих спорових рослин папоротеподібні (*Polypodiophyta*) за чисельністю видів посідають перше місце [32]. Конкурентна боротьба за ресурси

з квітковими рослинами виявилася для папоротей еволюційним фактором, що призвів до диверсифікації екологічних ніш, спеціалізації видів, спалаху біологічного різноманіття й підвищення адаптивного рівня багатьох таксонів [3]. Серед переваг, які дали змогу завойовувати нові місця зростання, виділяють, зокрема, здатність папоротеподібних до фотосинтезу при низькій інтенсивності освітлення, високу стійкість до зволоження, толерантність щодо субстрату, бідного на мінеральні речовини, тоді як до причин, що лімітують розселення папоротей, належать неможливість існування в широкому діапазоні умов і слабкий контроль за транспірацією [29].

Сальвінія плаваюча (*Salvinia natans* (L.) All.) – однорічна папороть-гідрофіт, спорадично розповсюджена в Україні [12]. Рослину характеризують літньо-зеленим феноритмотипом, існує на межі повітряного й водного середовищ, формуючи плаваючі та занурені ваї [14, 35]. Занурені ваї відрізняються специфічною анатомічною будовою і за морфологічними ознаками подібні до коренів [5]. Встановлено, що занурені ваї закладаються апікальною меристемою стебла як один із трьох листових примордіїв на кожному кільці-мутовці. Два листових примордії розвиваються у плаваючі ваї, а третій формує розсічену на багато сегментів коренеподібну структуру [4, 9, 10, 20, 30].

У 1924 р. М.Г. Холодний з'ясував, що фотосинтетичний апарат занурених вай *S. natans* у процесі онтогенезу папороті швидко деградує, після чого занурені ваї починають виконувати переважно всисну функцію, забезпечуючи мінеральне живлення та газообмін із водним середовищем [8]. Відомо, що підводні листки квіткових гідрофітів порівняно з надводними та плаваючими відзначаються низьким вмістом фотосинтетичних пігментів [33, 39] і низькою асиміляційною спроможністю [34]. На сьогодні переважна більшість досліджень ультраструктурної будови хлоропластів здійснена у квіткових рослин-гідрофітів [17, 24]. Однак детальний електронно-мікроскопічний аналіз фотосинтетичних органел і вміст фотосинтетичних пігментів у плаваючих і занурених ваях папоротей-гідрофітів в онтогенезі досі не проводився. Залишаються невивченими такі характеристики фотосинтетичного апарату, як флуоресценція хлорофілу, що дає змогу оцінити функціональний стан пігмент-білкових комплексів хлоропластів і ефективність використання світлової енергії різної інтенсивності. У наших дослідженнях ми виходили з припущення, що адаптованість *S. natans* до існування на межі водного і повітряного середовищ має бути обумовлена, серед інших чинників, особливостями будови та функціонування її фотосинтетичного апарату. Тому метою нашої роботи було порівняльне вивчення структурно-функціональних особливостей фотосинтетичного апарату плаваючих і занурених вай спорофіта водяної папороті *S. natans* на різних стадіях онтогенезу і пошук адаптаційних функціональних пристосувань, які забезпечують успішність існування папороті на межі повітряного та водного середовищ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Рослини *S. natans* збирали влітку у штучних водоймах Деснянського району м. Києва, починаючи з червня 2015 р. з інтервалом один місяць. Виокремлювали занурені (підводні) та плаваючі (надводні) ваї, а на заключному етапі розвитку спорофіта – спорокарпії. Досліджували такі стадії: перша – інтенсивного росту спорофіта (червень), друга – стаціонарного росту спорофіта (липень), третя – формування спорокарпіїв (вересень).

Ультраструктурну будову хлоропластів вивчали на матеріалі, зібраному у першу і третю стадію онтогенезу. Ділянки тканин розміром 3×1 мм, які вирізали зі середньої частини пластинки між краєм і центральною жилкою плаваючих вай, і відрізки довжиною 5 мм розсічених сегментів-доль видозмінених занурених вай, фіксували розчином 3%-ного глутарового альдегіду “Fluka AG” (Німеччина) і 1%-ного чотириокису осмію, зневоднювали у серії розчинів етилового спирту зростаючої концентрації та після обробки ацетоном переносили у суміш епоксидних смол епону й аралдиту “Fluka AG” (Німеччина) за методом [36]. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція) й аналізували на електронному мікроскопі JEM-1230 (Японія). Для кожного досліджуваного варіанта було отримано не менше ніж 50 мікрофотографій хлоропластів зі зрізів, приготованих із п’яти зразків.

Для аналізу фотосинтетичних пігментів матеріал фіксували у рідкому азоті та зберігали при температурі -40 °С. Фотосинтетичні пігменти екстрагували 80%-ним ацетоном і визначали за методом [38]. Вимірювання екстинції розчинів проводили на спектрофотометрі Shimadzu UV-1800 (Японія). Функціональний стан хлорофілу визначали на флуориметрі XE-PAM “Walz” (Німеччина), реєструючи масив даних у режимі реального часу на комп’ютері, обладнаному аналого-цифровим перетворювачем зі спеціалізованою програмою UT60E Software. З отриманих показників розраховували максимальний (F_v/F_{max}) та ефективний (Φ_{PSII}) квантові виходи, фотохімічне (qP) і нефотохімічне гасіння (NPQ) за формулами [7, 19, 21]. Досліди проводили у дворазовому біологічному і триразовому аналітичному повторах. Отримані результати статистично обробляли у програмі Excel стандартного пакета Microsoft Office 2013. Достовірність різниці оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента, використовуючи 5 % рівень значущості (P≤0,05).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведених досліджень нами були виявлені чіткі відмінності ультраструктурної будови хлоропластів у плаваючих і занурених ваях. На стадії інтенсивного росту (червень) хлоропласти клітин мезофілу плаваючих вай мали видовжену еліпсоподібну форму, добре розвинену систему мембран тилакоїдів, які формували численні грани. Останні рівномірно розподілялися у стромі, тилакоїди гран були добре розвинені та щільно прилягали одна до одної, їхні межі були чіткими й електронно-щільними (рис. 1, *А*). У стромі відмічено значну кількість видовжених крохмальних зерен і незначне число осмієфільних структур – пластоглобул.

Хлоропласти клітин паренхіми занурених вай мали удвічі менший розмір. Мембрани тилакоїдів відзначалися вищою електронною щільністю й нечіткими межами. Зрідка відмічено формування невеликих крохмальних зерен і окремих пластоглобул (рис. 1, *Б*).

Основні морфометричні показники ультраструктурної будови хлоропластів клітин мезофілу вай *S. natans* наведені в табл.1. Як видно з таблиці, фотосинтетичні органели плаваючих і занурених вай чітко відрізняються не лише за розміром, а й за площею гран і кількістю тилакоїдів у одній грані. Для хлоропластів занурених вай чітко встановлено значне зменшення кількості крохмальних зерен у стромі та їх площі.

Виявлені відмінності у будові хлоропластів занурених вай, імовірно, пов’язані з умовами постійного затінення, спричиненого плаваючими ваями. У роботах інших дослідників відмічалося, що подібні відмінності характерні для підводних

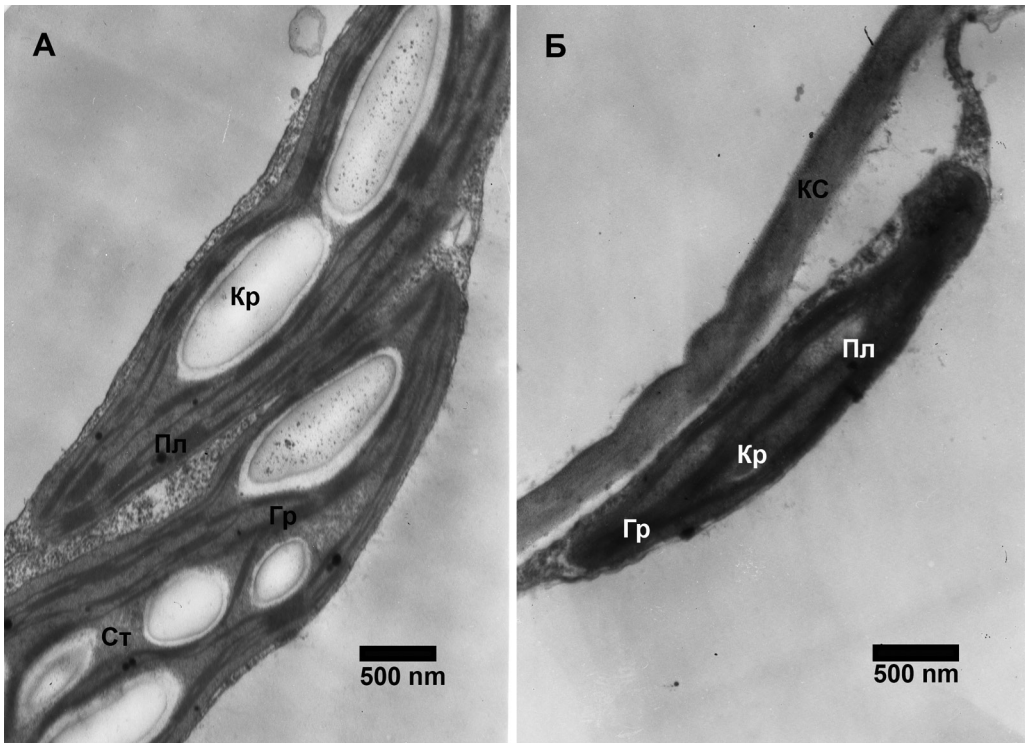


Рис. 1. Хлоропласти клітин паренхіми плаваючої (*А*) та зануреної ваї (*Б*) *Salvinia natans* на стадії інтенсивного росту спорофіта. Збільшення 15 000× (Гр – грана; Кр – крохмаль; КС – клітинна стінка; Пл – пластоглобула; Ст – строма)

Fig. 1. The chloroplasts in parenchyma cells of *Salvinia natans* floating (*A*) and submerged (*Б*) fronds at the stage of intensive growth of sporophyte. 15 000× (Гр – grana; Кр – starch grain; КС – cell wall; Пл – plastoglobule; Ст – stroma)

Таблиця 1. **Ультраструктурні параметри хлоропластів клітин мезофілу плаваючих і занурених вай *Salvinia natans* на стадії інтенсивного росту спорофіта**

Table 1. **The ultrastructural parameters of chloroplasts in the mesophyllous cells of *Salvinia natans* floating and submerged leaves at the stage of intensive growth of sporophyte**

Показник	Варіант	
	Плаваючі ваї	Занурені ваї
Середня довжина хлоропластів (довга вісь), мкм	6,59±0,27	3,06±0,33
Середня ширина хлоропластів (коротка вісь), мкм	1,41±0,14	0,92±0,16
Площа перерізу одного хлоропласта, мкм^2	5,56±0,51	2,16±0,28
Середня кількість гран на переріз одного хлоропласта	24,50±1,17	18,83±1,78
Середня кількість тилакоїдів у грані	6,54±1,52	4,3±1,04
Середня площа однієї грани, мкм^2	0,038±0,011	0,026±0,009
Середня кількість крохмальних зерен на переріз одного хлоропласта	4,11±0,48	0,81±0,48
Площа крохмальних зерен у стромі хлоропласта, мкм^2	1,63±0,23	0,14±0,10

листків квіткових рослин-гідрофітів [17, 24, 25, 28]. Отримані нами результати опосередковано вказують, що головним продуцентом асимілятів у фазу інтенсивного росту спорофіта є плаваючі ваї, тоді як фотосинтетичні органели занурених вай забезпечують незначну частку продуктів первинного синтезу.

У будові хлоропластів обох типів вай на стадії формування спорокарпіїв (вересень) відмічені деструктивні зміни. Зафіксовано руйнацію мембран гранальних тилакоїдів, порушення міжгранальних з'єднань (рис. 2, *А*; 3, *А*). У стромі практично немає крохмальних зерен. Спостерігається набухання зовнішньої мембрани, зміни густини строми і будови міжгранальної ламелярної мембранної системи. У периферійній частині хлоропластів плаваючих вай виявлені розташовані рядами пластоглобули, які зберігають контакт із ламелами строми (рис. 2, *А*). Як відомо, поява великої кількості пластоглобул свідчить про високий рівень окисних процесів, спровокованих дією світла надмірної інтенсивності й високої температури [1, 6, 37]. На наш погляд, виявлена на завершальній стадії онтогенезу спорофіта поява значної кількості пластоглобул відповідає активному старінню папороті, збігаючись у часі з реутилізацією хлоропластів, котра відбувається під час формування спорокарпіїв із мікро- та макроспорами.

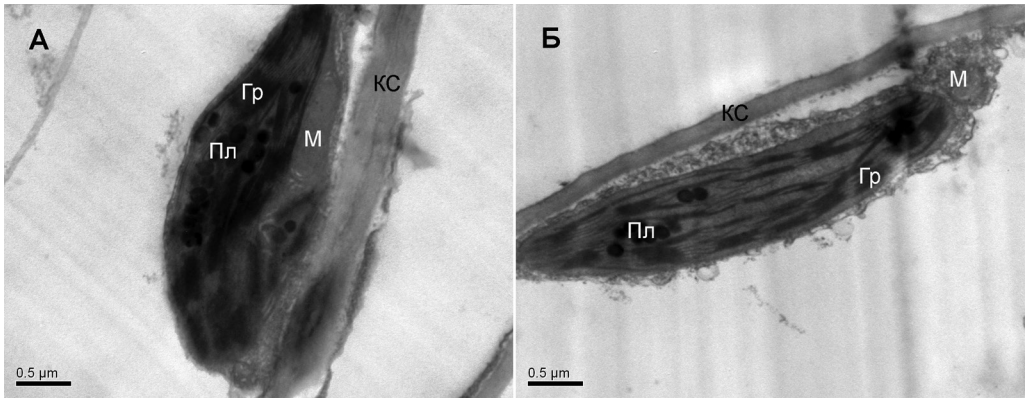


Рис. 2. Хлоропласт із частково зруйнованою мембранною системою (*А*) та хлоропласт з інтактними мембранами (*Б*) у клітинах паренхіми плаваючої вай *Salvinia natans* на стадії формування спорокарпіїв. Збільшення 15 000× (Гр – грана; КС – клітинна стінка; М – мітохондрія; Пл – пластоглобула)

Fig. 2. The chloroplast with partly destroyed membranes (*А*) and chloroplast with intact membranes (*Б*) in parenchyma cells of *Salvinia natans* floating fronds at the stage of sporocarps formation. 15 000× (Гр – grana; КС – cell wall; М – mitochondrion; Пл – plastoglobule)

Отже, стадія формування спорокарпіїв відзначається трансформацією 70 % популяції хлоропластів на структури, які частково або повністю втратили здатність до фотосинтезу і за будовою нагадують хромопласти. Поряд із цим, наявність у клітинах паренхіми плаваючих і занурених вай до 30 % інтактних хлоропластів вказує на збереження фотосинтетичної активності, необхідної для дозрівання спорокарпіїв зі спорами (рис. 2, *Б*; 3, *Б*).

Нами було встановлено, що у клітинах занурених вай на стадії формування спорокарпію хлоропласти контактують з двома–трьома, а іноді з більшою кількістю мітохондрій округлої або овальної форми з добре розвиненою системою крист (рис. 3, *А*).

В окремих випадках ми спостерігали шість контактуючих із хлоропластом мітохондрій, що опосередковано вказує на інтенсифікацію літичних процесів у цитоплазмі клітин занурених вай. Подібні відомості були отримані під час вивчення ультраструктури клітин підводних листків *Nuphar lutea* (L.) Smith [17].

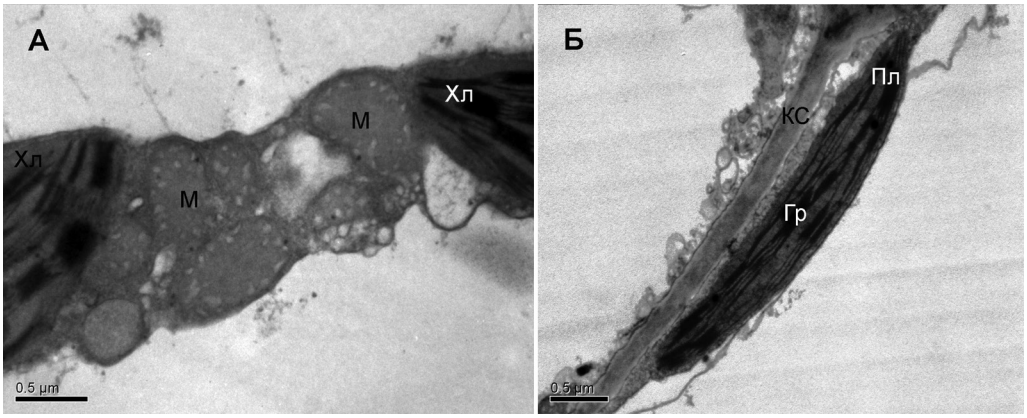


Рис. 3. Хлоропласти із частково зруйнованою мембранною системою та мітохондрії (*А*) і хлоропласт з інтактними мембранами (*Б*) у клітинах паренхіми зануреної ваї папороті *Salvinia natans* на стадії формування спорокарпіїв. Збільшення 15 000× (Гр – грана; КС – клітинна стінка; М – мітохондрія; Пл – пластоглобула)

Fig. 3. The chloroplasts with partly destroyed membranes and mitochondria (*A*) and chloroplast with intact membranes (*Б*) in parenchyma cells of *Salvinia natans* submerged fronds at the stage of sporocarps formation. 15 000× (Гр – grana; КС – cell wall; М – mitochondrion; Пл – plastoglobule)

Стадія формування спорокарпіїв характеризувалася частковою руйнацією хлоропластів і появою значної кількості пластоглобул.

Успішність адаптації до умов навколишнього середовища значною мірою залежить від оптимального функціонування асиміляційного апарату, показниками стану якого є вміст і співвідношення фотосинтетичних пігментів. Біохімічний аналіз плаваючих і занурених вай на всіх стадіях онтогенезу виявив наявність хлорофілів *a* і *b* та каротиноїдів. Вміст фотосинтетичних пігментів у плаваючих ваях удвічі, а на окремих етапах утричі перевищував такий у занурених (рис. 4, *А*, *Б*). Встановлено, що відношення хлорофілу *a* до хлорофілу *b*, як і сума хлорофілів, були достовірно меншими у занурених ваях, ніж у плаваючих (табл. 2). Варто відзначити, що плаваючі ваї активно фотосинтезують упродовж усього періоду вегетації, мають яскраве зелене забарвлення, обумовлене високим вмістом хлорофілу *a*. У дві перші досліджувані стадії занурені ваї мали світле буро-зелене забарвлення, що відповідає низькому вмістові хлорофілу й відносно високій кількості каротиноїдів (рис. 4, *Б*). На стадії формування спорокарпіїв у плаваючих ваях кількість хлорофілу й каротиноїдів зростала, тоді як у занурених – зменшувалась (рис. 4, *А*, *Б*). У занурених ваях на другій стадії росту спорофіта вміст фотосинтетичних пігментів зростав. Характерно, що, порівняно з листковими пластинками наземних квіткових рослин [2, 18], плаваючі та занурені ваї сальвінії плаваючої містять значно менше хлорофілів *a* та *b*. Невелика кількість фотосинтетичних пігментів зафіксована для багатьох рослин-гідрофітів і вважається адаптаційним пристосуванням, котре протидіє руйнації клітин через фотоокислення [23].

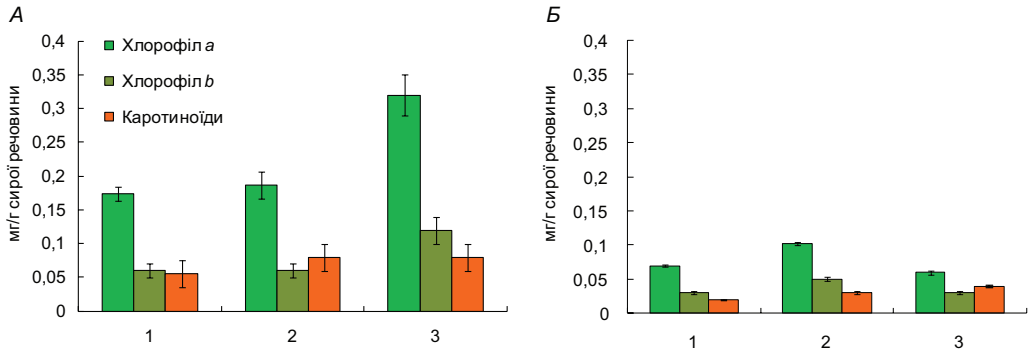


Рис. 4. Пігментний спектр плаваючих (*А*) і занурених (*Б*) вай *Salvinia natans* в онтогенезі: 1 – стадія інтенсивного росту спорофіта; 2 – стадія стаціонарного росту спорофіта, 3 – стадія формування спорокарпіїв

Fig. 4. The content of pigments in floating (*A*) and submerged (*Б*) fronds of *Salvinia natans* at different stages of ontogeny: 1 – at the stage of intensive growth of sporophyte; 2 – at the stage of stationary growth of sporophyte; 3 – at the stage of sporocarps formation

Таблиця 2. **Співвідношення основних класів пігментів в органах *Salvinia natans* на різних стадіях онтогенезу спорофіта**

Table 2. **The ratio of main pigments classes at different stages of ontogeny *Salvinia natans***

Орган	(*a*+*b*)*	*a*/*b*	*a*+*b*/каротиноїди
Стадія інтенсивного росту спорофіта			
Плаваючі ваї	0,23	2,9	4,18
Занурені ваї	0,1	2,3	5,0
Стадія стаціонарного росту спорофіта			
Плаваючі ваї	0,25	3,1	3,09
Занурені ваї	0,15	2,04	5,0
Стадія формування спорокарпіїв			
Плаваючі ваї	0,43	2,6	5,4
Занурені ваї	0,09	2	2,25

Примітка: * – мг/г сирої речовини

Comment: * – mg /g wet weight

Відомо, що основний пул фотосинтетичних пігментів локалізується у мембранах тилакоїдів гран [13, 18]. У світлі цього виявлена нами динаміка вмісту пігментів повністю відповідала результатам ультраструктурних досліджень. Так, у хлоропластах плаваючих вай наявна велика кількість гран, що складаються з 4–7 тилакоїдів, а крохмальні зерна формуються значних розмірів. У клітинах мезофілу занурених вай містилося менше хлоропластів, а їхні грани відзначалися меншою площею, що збігалося з низьким вмістом фотосинтетичних пігментів. У занурених ваях, подібно до підводних листків квіткових водяних рослин, завдяки хлорофілу *b* і каротиноїдам відбувається модифікація світлозбирального комплексу, обумовлена адаптацією до умов постійного затінення. Ознакою занурених вай є зменшення майже на порядок числа хлоропластів, що містять крохмальні зерна. Інші автори повідомляли

про достовірне зменшення включення ізотопу вуглецю в крохмаль у хлоропластах занурених листків гідрофітів [27]. Особливістю занурених вай сальвінії плаваючої виявився більш ніж удвічі менший сумарний вміст хлорофілів (*a*+*b*) і низький показник співвідношення хлорофілів *a*/*b*. Такі ознаки характерні для рослин, що ростуть у затінку за умов низької освітленості [13, 26].

Дослідження ефективності використання енергії світла виявило відмінності у функціонуванні фотосинтетичного апарату як на рівні органів папороті, так і залежно від стадії онтогенезу. Відомо, що максимальний потенційний квантовий вихід фотохімічних реакцій ФСІІ (F_v/F_{max}) характеризує ступінь її неушкодженості. Зміни в активності ФСІІ виникають під час фотоінгібування, обумовленого неадаптованістю фотосинтетичного апарату (ФСА) до дії світла певної інтенсивності, а також через патогенне ураження, посуху тощо [7, 19]. Максимальний можливий рівень квантового виходу – 0,823 характеризує оптимальний стан ФСА, а значення нижче 0,5 – глибоке пошкодження [16, 31]. Нами було встановлено, що на стадії інтенсивного росту спорофіта цей показник у занурених ваях становив 0,610, у плаваючих – 0,778, що є опосередкованим свідченням незавершеності формування ФСА (рис. 5).

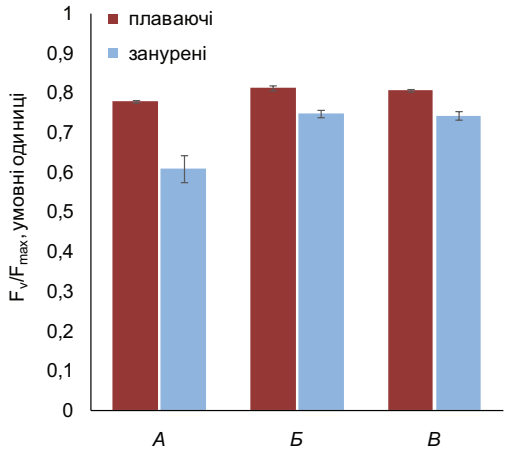
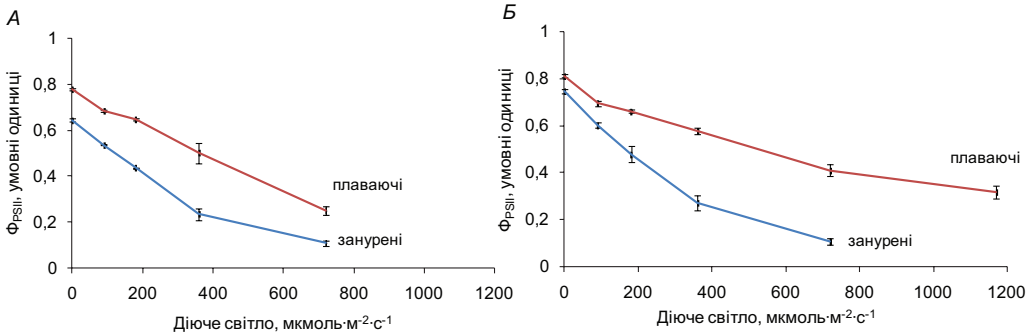


Рис. 5. Максимальний потенційний квантовий вихід фотохімічних реакцій ФСІІ у плаваючих і занурених ваях в онтогенезі: *А* – стадія інтенсивного росту спорофіта; *Б* – стадія стаціонарного росту спорофіта; *В* – стадія формування спорокарпіїв

Fig. 5. Maximum potential quantum efficiency of photochemical reactions PSII in floating and submerged fronds at different stages of ontogenesis: *A* – the stage of intensive growth of sporophyte; *Б* – the stage of stationary growth of sporophyte; *B* – the stage of sporocarps formation

На стадії росту спорофіта і формування спорокарпіїв величина потенційного квантового виходу становила 0,810 у плаваючих і 0,745 у занурених вай. Показники ефективного квантового виходу ФСІІ ($Ф_{PSII}$) та фотохімічного гасіння (qP) при різній інтенсивності освітлення були вищими у плаваючих ваях на всіх досліджених стадіях онтогенезу спорофіта (рис. 6, 7). Варто зазначити, що плаваючі ваї навіть за умов максимальної інтенсивності світла, що відповідала 1170 мкмоль·м$^{-2}$·с$^{-1}$, мали високі показники $Ф_{PSII}$ і qP, котрі дорівнювали 0,45 та 0,65, відповідно. На нашу думку, причиною цього є значна адаптаційна спроможність плаваючих вай, котрі у природних умовах нерідко зазнають дії світла, інтенсивність якого перевищує наведений показник. У занурених ваях показники $Ф_{PSII}$ і qP при дії світла інтенсивністю більше 200 мкмоль·м$^{-2}$·с$^{-1}$ були значно нижчими (рис. 6, 7). Отримані результати свідчать про зменшення частки енергії світла, яка використовується для фотохімічних реакцій, а також сповільнення електронного транспорту. Нами було встановлено, що у плаваючих ваях показники $Ф_{PSII}$ та qP зростали на стадіях росту спорофіта і формування спорокарпіїв, що свідчить про більш ефективний перебіг реакцій темнової



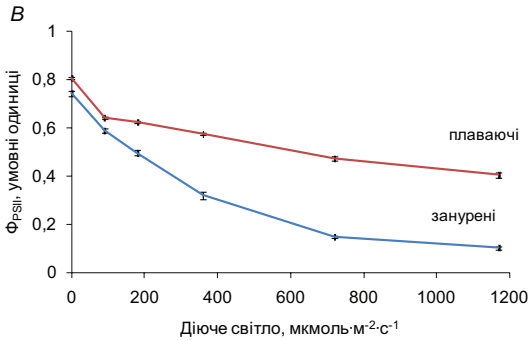
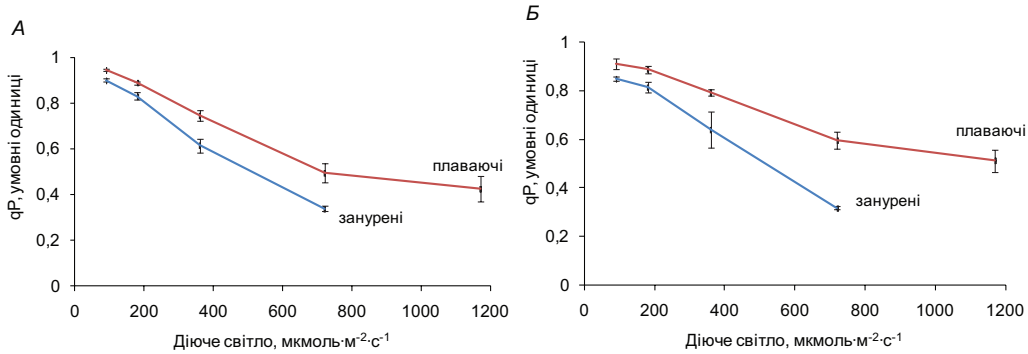


Рис. 6. Залежність ефективного квантового виходу ($Ф_{PSII}$) від інтенсивності діючого світла у плаваючих і занурених ваях в онтогенезі: *А* – стадія інтенсивного росту спорофіта; *Б* – стадія стаціонарного росту спорофіта; *В* – стадія формування спорокарпіїв

Fig. 6. Dependence of effective quantum yield (PSII) on actinic light intensity in floating and submerged fronds at different stages of ontogenesis: *A* – the stage of intensive growth of sporophyte; *Б* – the stage of stationary growth of sporophyte; *B* – the stage of sporocarps formation



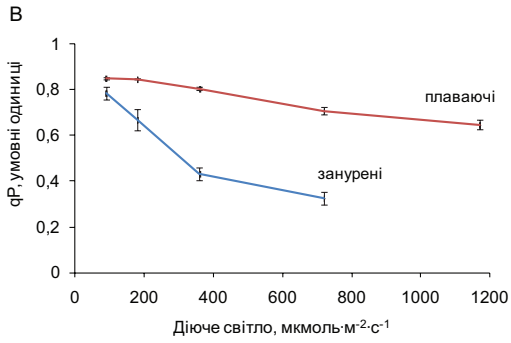


Рис. 7. Залежність фотохімічного (qP) гасіння від інтенсивності діючого світла у плаваючих і занурених ваях *S. natans* в онтогенезі: *А* – стадія інтенсивного росту спорофіта; *Б* – стадія стаціонарного росту спорофіта; *В* – стадія формування спорокарпіїв

Fig. 7. Dependence of photochemical quenching (qP) on actinic light intensity in floating and submerged fronds of *S. natans* at various stages of ontogenesis: *A* – the stage of intensive growth of sporophyte; *Б* – the stage of stationary growth of sporophyte; *B* – the stage of sporocarps formation

фази фотосинтезу, передусім про зростання активності ключового ферменту циклу Кальвіна – D-рибулозо-1,5-бісфорткарбоксилази-оксигенази (Рубіско). Для занурених вай показники ефективного квантового виходу та фотохімічного гасіння фотосинтезу були на стабільно низькому рівні на всіх досліджених стадіях онтогенезу. В роботах інших дослідників фотоінгібування пов'язують із низьким вмістом Рубіско у стромі хлоропластів [11, 15], що обумовлює фізіологічний ліміт активності темнових фотосинтетичних реакцій, виявлений нами у хлоропластах занурених вай.

Відмінність між ваями була більш виразною для величини $Ф_{PSII,}$ ніж qP. Відомо, що величина qP відображає пропускну здатність фотосинтетичного електрон-транспортного ланцюга і не залежить від нефотохімічних процесів гасіння енергії, у т.ч. пошкодження фотосистем, тоді як величина $Ф_{PSII}$ обернено залежить від цих процесів [19, 21]. Отже, можна припустити, що основною причиною виявленої нами відмінності у значені $Ф_{PSII}$ між плаваючими та зануреними ваями є різні рівні нефотохімічного гасіння енергії, яке складається з регульованого гасіння в антені (активна складова) та фотопошкодження ФСІІ (пасивна складова). Величина нефотохімічного гасіння NPQ відображає збільшення рівня дисипації енергії поглинутого світла у вигляді теплового випромінення. Цей механізм забезпечує захист реакційних центрів в умовах, коли інтенсивність світла перевищує оптимальну [21]. Показник NPQ зафіксовано нами у межах 0,9–2,4 (рис. 8), що загалом свідчить про надійну роботу механізму дисипації надлишкової енергії. У *S. natans* значення цих величин плавно підвищувалося зі збільшенням інтенсивності світла та досягало максимуму при 1170 мкмоль·м$^{-2}$·с$^{-1}$. Зафіксовані значення NPQ для занурених вай були значно вищими на другій і третій стадіях онтогенезу, ніж у плаваючих вай, що свідчить про низьку ефективність фотосинтезу та високий рівень захисних механізмів.

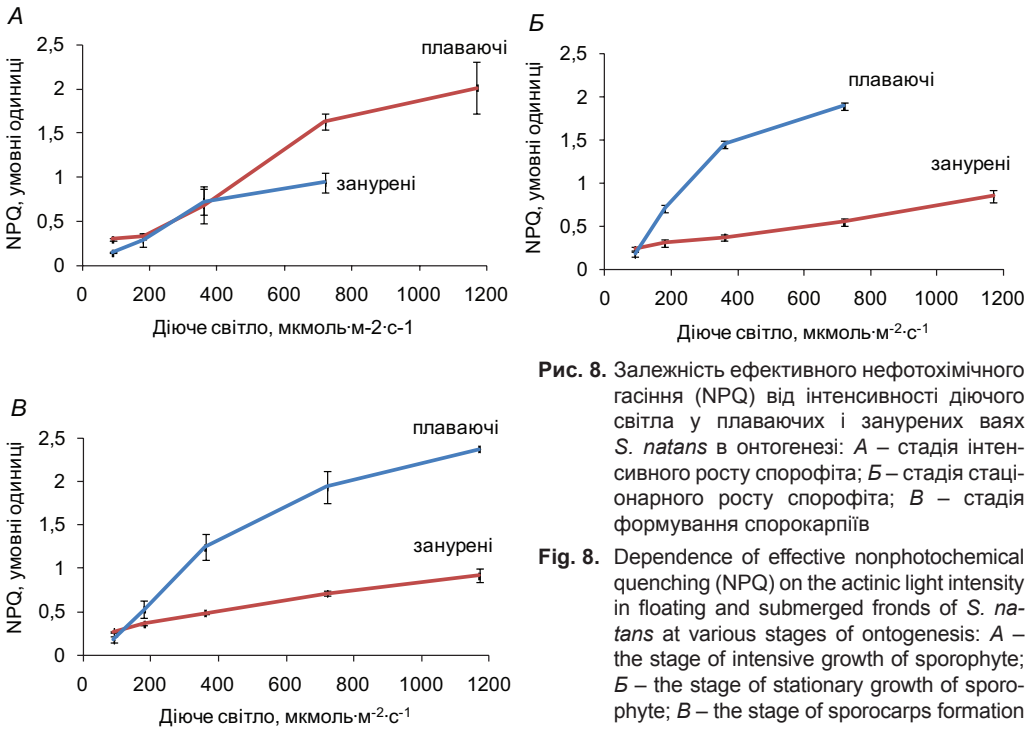


Рис. 8. Залежність ефективного нефотохімічного гасіння (NPQ) від інтенсивності діючого світла у плаваючих і занурених ваях *S. natans* в онтогенезі: *А* – стадія інтенсивного росту спорофіта; *Б* – стадія стаціонарного росту спорофіта; *В* – стадія формування спорокарпіїв

Fig. 8. Dependence of effective nonphotochemical quenching (NPQ) on the actinic light intensity in floating and submerged fronds of *S. natans* at various stages of ontogenesis: *A* – the stage of intensive growth of sporophyte; *Б* – the stage of stationary growth of sporophyte; *B* – the stage of sporocarps formation

Отже, проведені дослідження виявили, що плаваючі ваї характеризуються ефективною роботою фотосинтетичного електрон-транспортного ланцюга, що сприяє адаптації до умов інтенсивного освітлення. Низька ефективність фотосинтезу в занурених ваях за умови максимального освітлення, ймовірно, обумовлена надлишковою кількістю світлозбиральних комплексів, що необхідно для оптимального використання світла упродовж доби або ж для затінення інших занурених фотосинтезуючих організмів, які є конкурентами за ресурси [22].

Таким чином, порівняльне вивчення структурно-функціональних особливостей фотосинтетичного апарату плаваючих і занурених вай спорофіта водної папороті *S. natans* на різних стадіях онтогенезу дало змогу виділити окремі адаптаційні функціональні пристосування, серед яких здатність до ефективного використання енергії світла зростаючої інтенсивності, кількісний і якісний склад фотосинтетичних пігментів, ультраструктурна будова хлоропластів, котрі разом сприяють успішному існуванню папороті на межі повітряного та водного середовищ. Особливості ультраструктурної будови хлоропластів, зокрема морфометричні показники хлоропластів клітин мезофілу, на стадії інтенсивного росту спорофіта опосередковано засвідчили, що головним сайтом продукування асимілятів є плаваючі ваї, тоді як на стадії формування спорокарпіїв відбувається часткова руйнація хлоропластів і з'являється значна кількість пластоглобул. Вміст фотосинтетичних пігментів у плаваючих ваях удвічі, а на окремих етапах утричі перевищує такий у занурених. Плаваючі ваї відзначаються ефективною роботою фотосинтетичного електрон-транспортного ланцюга і, відповідно, результативним використанням світла значної інтенсивності, що забезпечує ріст і розвиток папороті-гідрофіта *S. natans* за умов значної інсоляції на поверхні водойм.

Автори статті висловлюють щиру подяку професорові, доктору біологічних наук Дмитру Васильовичу Дубині за наукові консультації під час обговорення результатів дослідження.

1. *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: 1693–1703.
2. *Babenko L.M., Kosakivska I.V., Akimov Yu.A.* et al. Effect of temperature stresses on pigment content, lipoxygenase activity and cell ultrastructure of winter wheat seedlings. **Genetics and Plant Physiology**, 2014; 4(1–2): 117–125.
3. *Babenko L.M., Sheyko O.A., Kosakivska I.V.* et al. Structural and functional characteristics of pteridophytes (*Polypodiophyta*) **The Biulleten of Kharkiv National. Agrar. University (Ser. Biology**), 2015; 1 (34): 80–103. (In Ukrainian).
4. *Barthlott W., Wiersch S., Čolić Z., Koch K.* Classification of trichome types within species of the water fern Salvinia, and ontogeny of the egg-beater trichomes. **Botany**, 2009; 87: 830–836.
5. *Bercu R.* Anatomical features of the vegetative organs of *Salvinia natans* (L.) All. (Salviniaceae). **USAMVBT Symposium.** 5th section: Biology researchers with implications in agriculture, 2006: 321–324.
6. *Bréhélin C., Kessler F., Van Wijk K. J.* Plastoglobules: versatile lipoprote in particles in plastids. **Trends Plant Sci**, 2007; 12: 260–266.
7. *Brestic M., Zivcak M.* PSII fluorescence techniques for measurement of drought and high temperature stress signal in crop plants: protocols and applications. In: Rout G.R., Das A.B. (Ed) **Molecular Stress Physiology of Plants.** Dordrecht: Springer, 2013, 87–131.

8. *Cholodny N.G*. About metamorphosis of plastids in hairs of *Salvinia natans* submerged leaves. **J. of Russian Bot. Soc**, 1924; 7: 153–160. (In Russian).
9. *Croxdale J.G.* Salvinia leaves. I. Origin and early differentiation of floating and submerged leaves. **Canadian Journal of Botany,** 1978; 56: 1982–1991.
10. *Croxdale J.G.* Salvinia leaves. III. Morphogenesis of the submerged leaf. **Canadian Journal of Botany,** 1981; 59: 2065–2072.
11. *Demming-Adams B.* Characteristics and species-dependent employment of flexible versus sustained thermal dissipation and photoinhibition. In: Demmig-Adams B., Adams III W.W., Matoo A.K., (Ed.) **Photoprotection, photoinhibition, gene regulation, and environment.** Dordrecht: Springer, 2006: 39–48.
12. *Dubyna D.B., Shelyag-Sosonko Yu.R., Zhmut O.I.* et al. **Danube biosphere reserve. Plants**. Kyiv: Phytosociocentr, 2003. 210 p. (In Ukrainian).
13. *Evert R.F.* **Esau's plant anatomy**. 3rd edition. Hoboken, New Jersey: Wiley Interscience, 2007. 607 p.
14. *Gałka A., Szmeja J.* Phenology of the aquatic fern *Salvinia natans* (L.) All. in the Vistula Delta in the context of climate warming. **Limnologica,** 2013; 43: 100–105.
15. *Genty B., Briantais J.M., Baker N.R.*, The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochim. Biophys. Acta**, 1989; 990: 87–92.
16. *Johnson, G. N., Young, A. J., Scholes, J. D., Horton, P.* The dissipation of excess excitation energy in British plant species. Plant. **Cell and Environment**, 1993; 16: 673–679.
17. *Klymenko O.M.* Structural and functional aspects of *Nuphar lutea* heterophylly (L.) Smith. Kyiv: **Thesis of PhD manuscript.** 2014. 21 p (In Ukrainian).
18. *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. 479 p. (In Russian).
19. *Korneev D.Yu.* **Information capabilities of the method of chlorophyll fluorescence induction.** Kiev: Alterpress, 2002. 188 p. (In Russian).
20. *Lemon G.D., Posluszny U*. Shoot morphology and organogenesis of the aquatic floating fern Salvinia molesta D. S. Mitchell, examined with the aid of laser scanning confocal microscopy. **Internat. Jour. of Plant Sci**, 1997; 158: 693–703.
21. *Maxwell K., Johnson G.N.* Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Jour. Exp Bot,** 2000; 345(51): 659–68.
22. *Melis A.* Solar energy conversion efficiencies in photosynthesis: minimizing the chlorophyll antennae to maximize efficiency. **Plant Science**, 2009; 177: 272–280.
23. *Nedukha O.M*. (а) **Heterophylly in Plants**. Kyiv: Alterpress, 2011. 192 p. (In Ukrainian).
24. *Nedukha O.M.* (б) The ultrastructural characteristics of cells and pigments of *Trapa natans* L. floating and submerged leaves. **Mod. Phytomorphol**, 2011; 1: 81–84. (In Ukrainian).
25. *Nedukha O.M.* Anatomy of leaves and chloroplasts ultrastructure of some hydrophytes. **Mod. Phytomorphol**, 2015*;* 8: 162–168. (In Ukrainian).
26. *Nekrasova G.F., Ronzhina D.A., Korobitsina* E.B. The photosynthetic system formation during the growth of submerged, floating and overwater leaves of hydrophytes. **Plant Physiol**, 1998; 45: 539–548. (In Russian)
27. *Nekrasova G.F., Ronzhina D.A., Maleva M.G., Pyankov V.I.* The photosynthetic metabolism and activity of the carboxylation enzymes in overwater, floating and submerged leaves of hydrophytes. **Plant Physiol,** 2003; 50: 65–75. (In Russian).
28. *Nielsen S.L. A* comparison of aerial and submerged photosynthesis in some Danish amphibious plants. **Aquat. Bot,** 1993; 45: 27–40.
29. *Page C.*. Ecological strategies in fern evolution: a neopteridological overview. **Rev. Palaeobot. Palynol**, 2002; 119: 1–33.
30. *Pringsheim N.* Zur Morphologie der *Salvinia natans*. **Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik**, 1863; 3: 484–541.

31. *Rohacek K., Soukupova J., Bartak M.* Chlorophyll fluorescence: a wonderful tool to study plant physiology and plant stress. In: Schoefs B. (Ed) **Plant cell compartments – selected topics.** Research Signpost: Trivandrum, 2008; 41–104.
32. *Ross M.* Mapping the world's pteridophyte diversity – sistematics and floras. In. Ross M. (Ed.) **Pteridology in Perspective.** – Kyiv: Rojal Botanic Gardens, 1996: 29–42.
33. *Ryen F.J.* Isolation and characterization of photosynthetically active cells from submerged and floating leaves of the aquatic macrophyte *Potamogeton nodosus* Poir. **Plant Cell Physiol,** 1985; 26: 309–315.
34. *Sand-Jensen K., Frost-Christensen H.* Plant growth and photosynthesis in the transition zone between land and stream. **Aquat. Bot**, 1999; 63: 23–35.
35. *Shcherbatiuk M.M., Babenko L.M., Sheyko O.A., Kosakivska I.V.* Microstructural features of water fern *Salvinia natans* (L.) All. organ surfaces. **Modern Phytomorphology**, 2015; 7: 129–133 (In Ukrainian).
36. *Shcherbatiuk M.M., Brykov V.O., Martyn G.G*. **The preparation of plant tissues for electron microscopy (theoretical and practical aspects).** Kyiv: Talkom, 2015. 62 p. (In Ukrainian).
37. *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.
38. *Wellburn A*.The spectral determination of chlorophyll *a* and whlorophyll *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **J. Plant Physiol**, 1994; 144: 307–313.
39. *Yang J.P., Dengler N.G., Horton R.F.* Heterophylly in *Ranunculus flabellaris*: The effect of abscisic acid on leaf anatomy. **Ann. Bot**, 1987; 60: 117–125.

STRUCTURAL-FUNCTIONAL PECULIARITIES OF WATER FERN *SALVINIA NATANS* (L.) ALL

L. M. Babenko, M. M. Shcherbatiuk, O. V. Polishchuk, I. V. Kosakivska

M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, 2, Tereshchenkivska St., Kyiv, 01661, Ukraine
e-mail: lilia.babenko@gmail.com

The characteristics of photosynthetic pigments and efficient use of light energy are analyzed fon the example of chloroplast ultrastructure of the photosynthetic apparatus of floating and submerged fronds of annual heterosporous of water fern *Salvinia natans* (L.) All. in ontogenesis. It is established that at the stage of intensive growth chloroplasts floating fronds had a well-developed system of thylakoid membranes with many faces and contain a lot of starch grains. Submerged fronds shaped chloroplasts are smaller with little starch in the stroma. Destructive changes in chloroplast photosynthetic membranes of both frond types are observed at the stage of sporocarp formation. Particularly, decomposition of gran tylakoiod membranes, disturbances in inter-gran connections, reduction of starch grain number in stroma were revealed. In the chloroplast stroma of floating wai numerous plastoglobules were fouond. In chloroplasts submerged fronds fewer plastoglobules education were noted. In addition, a certain portion of population hloroplastoa in both types fronds retains intact structures.The photosynthetic pigment content of floating fronds was found to exceed that of submerged two times, and at some stages of ontogenesis – three times. At the stage of sporocarp formation, the chloroplast and carotinoid content in fronds of the both types decreased. Floating fronds are characterized by an effective action of the chloroplast photosynthetic electron transport chain, and are adapted to an intensive

natural lighting on a water surface. Submerged fronds affected by lighting whose intensity fits with a maximum level of natural characteristics were found to be at stress. That was confirmed by a decrease in quantum efficiency ФСII ($Ф_{PSII}$) and increase in dissipation of excessive light energy as heat in rise of the level of nonphotochemical quenching of chloroplast fluorescence (NPQ).

Keywords: *Salvinia natans* (L.) All, ultrastructure, pigments.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ВОДНОГО ПАПОРОТНИКА *SALVINIA NATANS* (L.) ALL.

Л. М. Бабенко, М. М. Щербатюк, О. В. Полищук, И. В. Косаковская

Институт ботаники им. М. Холодного НАН Украины
ул. Терещенковская, 2, Киев 01601, Украина
e-mail: lilia.babenko@gmail.com

На примере ультраструктуры хлоропластов, характеристики фотосинтетических пигментов и эффективности использования световой энергии проанализированы особенности фотосинтетического аппарата плавающих и погруженных вай однолетнего разноспорового папоротника-гидрофита *Salvinia natans* (L.) All. в онтогенезе. Установлено, что на стадии интенсивного роста хлоропласты плавающих вай имели хорошо развитую систему тилакоидних мембран с многочисленными гранами и содержали много крахмальных зерен. Погруженные ваи формировали меньшие по размеру хлоропласты с незначительным содержанием крахмала в строме. На стадии формирования спорокарпиев отмечены деструктивные изменения в фотосинтетических мембранах хлоропластов обоих типов вай. Зафиксированы разрушения мембран гранальных тилакоидов, нарушение межгранальних соединений, уменьшение количества крахмальных зерен. В строме хлоропластов плавающих вай наблюдали многочисленные пластоглобулы. В хлоропластах погруженных вай отмечено образование меньшего числа пластоглобул. Наряду с этим определенная часть популяции хлоропластов в обоих типах вай сохраняет вполне интактную структуру. Установлено, что содержание фотосинтетических пигментов в плавающих ваях вдвое, а на отдельных стадиях онтогенеза втрое превышало таковое у погруженных. На стадии формирования спорокарпиев происходило уменьшение содержания хлорофиллов и каротиноидов в ваях обоих типов. Плавающие ваи отличались эффективной работой фотосинтетической электрон-транспортной цепи хлоропластов и были адаптированы к интенсивному естественному освещению на поверхности водоемов. В погруженных ваях при воздействии света, интенсивность которого соответствовала максимальному уровню естественных показателей, отмечено стрессовое состояние, на что указывают снижение эффективного квантового выхода ФСИИ (ФPSII) и повышение диссипации избыточной световой энергии в виде тепла – увеличение уровня нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (NPQ).

Ключевые слова: *Salvinia natans* (L.) All, ультраструктура, пигменты.

Одержано: 25.04.2016