

## УЛЬТРАСТРУКТУРА ХЛОРОПЛАСТІВ І ФОТОСИНТЕТИЧНІ ПІГМЕНТИ ПЛАВАЮЧИХ ТА ЗАНУРЕНИХ ВАЙ ВОДНОЇ ПАПОРОТІ *SALVINIA NATANS* (L.) ALL. В ОНТОГЕНЕЗІ

Микола Щербатюк \*, Лідія Бабенко, Ірина Косаківська

**Анотація.** Представлені результати порівняльного аналізу ультраструктури хлоропластів мезофілу і вмісту фотосинтетичних пігментів у плаваючих і занурених у воду ваях однорічної різноспорової папороті-гідрофіта *Salvinia natans* (L.) All. на різних стадіях онтогенезу. Встановлені чіткі відмінності в ультраструктурній організації фотосинтетичних органел та вмісті пігментів плаваючих і занурених вай. Хлоропласти клітин мезофілу плаваючих вай мають добре розвинену систему тилакоїдних мембран з чисельними гранами і містять багато крохмальних зерен. Показано, що у занурених ваях відбувається формування менших за розміром хлоропластів із незначним вмістом крохмалу у стромі. Зафіксовані також відмінності в кількості та розмірі гранальних комплексів хлоропластів. На стадії формування спорокарпіїв відмічені деструктивні зміни у фотосинтетичних мембранах хлоропластів обох типів вай. Показано, що вміст фотосинтетичних пігментів у плаваючих ваях удвічі, а на окремих стадіях онтогенезу втричі перевищував такий у занурених. У процесі онтогенезу зафіксований ріст вмісту фотосинтетичних пігментів у плаваючих ваях. На стадії формування спорокарпіїв відбувалось зменшення вмісту хлорофілів і каротиноїдів у занурених ваях. Обговорюється зв'язок між виявленими відмінностями і функціональною активністю плаваючих і занурених вай у процесі онтогенезу водної папороті *S. natans*.

**Ключові слова:** *Salvinia natans*, ультраструктура хлоропластів, вай, онтогенез, фотосинтетичні пігменти

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, вул. Терещенківська, 2, 01601, Київ, Україна; \* mshcherbatyuk@ukr.net

### Вступ

Вивчення структурно-функціональних особливостей різних органів рослин-гідрофітів, які зростають на межі повітряного і водного середовищ важливі для розуміння механізмів адаптації рослин до умов надмірного зволоження. Для багатьох видів таких рослин характерна гетерофілія, яка проявляється у структурно-функціональних відмінностях листових пластинок, тобто у формуванні різних за морфологією та анатомією листків на одній рослині в залежності від комбінації умов існування (BERCU 2004; НЕДУХА 2011а).

Сальвінія плаваюча (*Salvinia natans* (L.) All.) – однорічна папороть-гідрофіт (Рис. 1) з літньо-зеленим феноритмотипом, спорадично розповсюджена в Україні (ЧОРНА 2001; ДУБИНА та ін. 2003). Рослина існує на межі повітряного й водного середовищ і характеризується відмінною

будовою плаваючих і занурених у воду фотосинтезуючих органів.

*S. natans* формує занурені ваї досить специфічної анатомічної будови (BERCU 2006), котрі за морфологією більше нагадують корені (Рис. 2), однак чітко встановлено, що вони закладаються апікальною меристемою стебла, як один з трьох листових примордіїв на кожному кільці-мутовці (PRINGSHEIM 1863; CROXDALE 1978, 1981). В пізніших роботах вказується, що занурені органи у представників роду *Salvinia* є фактично видозміненими листками (LEMON & POSLUSZNY 1997; BARTHLOTT *et al.* 2009). Два листові примордії розвиваються у плаваючі ваї, а третій формує розсічену на багато сегментів коренеподібну структуру (Рис. 2). Повідомлялось, що фотосинтетичний апарат занурених вай *S. natans* в процесі онтогенезу папороті швидко деградує і вони виконують лише всисну функцію, забезпечуючи



**Рис. 1.** Загальний вигляд спорофіту *Salvinia natans* у природних умовах на поверхні стоячої водойми (Міжріччинський регіональний ландшафтний парк).

**Fig. 1.** *Salvinia natans* in wild nature on the surface of the pond (Mizhrichynskiy Regional Landscape Park).

мінеральне живлення та газообмін із водним середовищем (Холодний 1956). Встановлено, що для підводних листків квіткових рослин-гідрофітів характерним є зниження активності асиміляції вуглекислого газу (SAND-JENSEN & FROST-CHRISTENSEN 1999) і зменшення інтенсивності біосинтезу фотосинтетичних пігментів, порівняно із надводними та плаваючими листками (RYEN 1985; YANG *et al.* 1987; НЕКРАСОВА *и др.* 2003). Вивчення електронно-мікроскопічної будови хлоропластів переважно проводилось у квіткових водних рослин (Недуха 2011б; Клименко 2014), тоді як ультраструктуру фотосинтетичних органел та вміст фотосинтетичних пігментів у плаваючих і занурених ваях папоротей-гідрофітів не досліджували. Тому, метою нашої роботи було дослідити ультраструктурну будову хлоропластів та фонд фотосинтетичних пігментів для пошуку зв'язку між виявленими відмінностями й

функціональною активністю плаваючих і занурених вай у процесі онтогенезу водної папороті *S. natans*.

### Матеріали і методи досліджень

Рослинний матеріал для досліджень збирали впродовж 2015 р. у штучних водоймах Деснянського району м. Києва. Матеріал для визначення вмісту пігментів відбирали в середині червня (перша досліджувана стадія), в другій декаді липня (друга досліджувана стадія) і в середині вересня (третя досліджувана стадія), ультраструктуру хлоропластів вивчали з матеріалу зібраного у першу та третю стадію. Дві перші досліджувані стадії збігаються з активним вегетативним ростом стебла та вай спорофіту *S. natans*. Зокрема, між першою та другою стадіями довжина стебла збільшувалася удвічі, як і кількість кілець на ньому із яких розвивалися вай, Також зростали

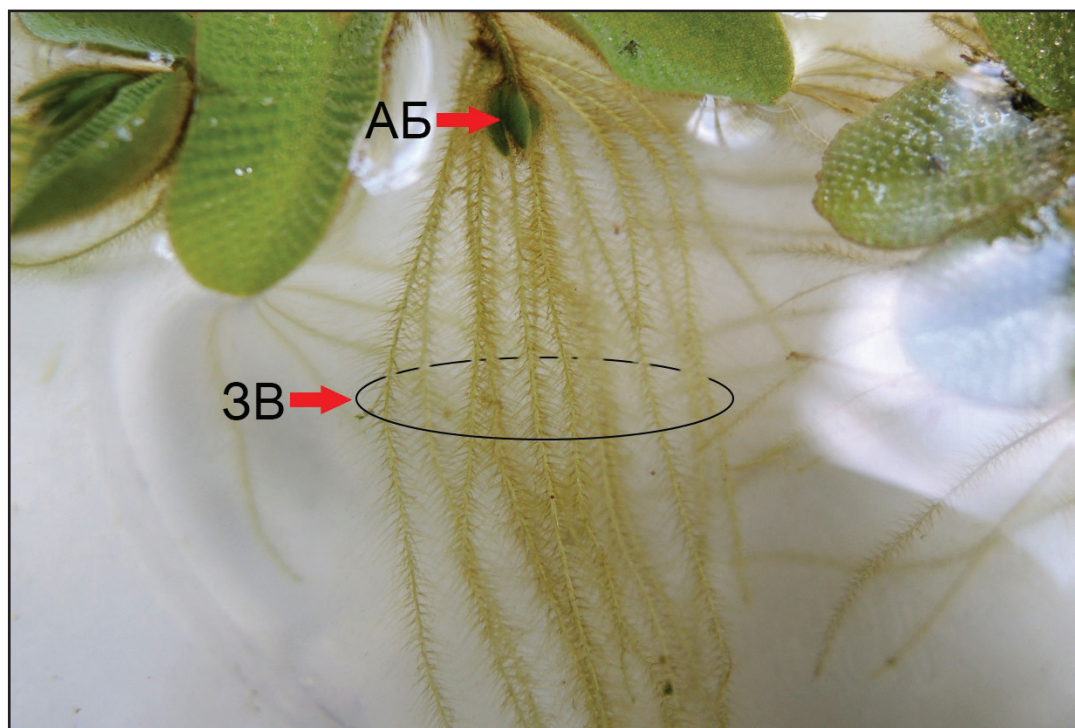


Рис. 2. Одна занурена (підводна) видозмінена вая *Salvinia natans* (3В) і апікальна брунька стебла з молодими плаваючими ваями (АБ).

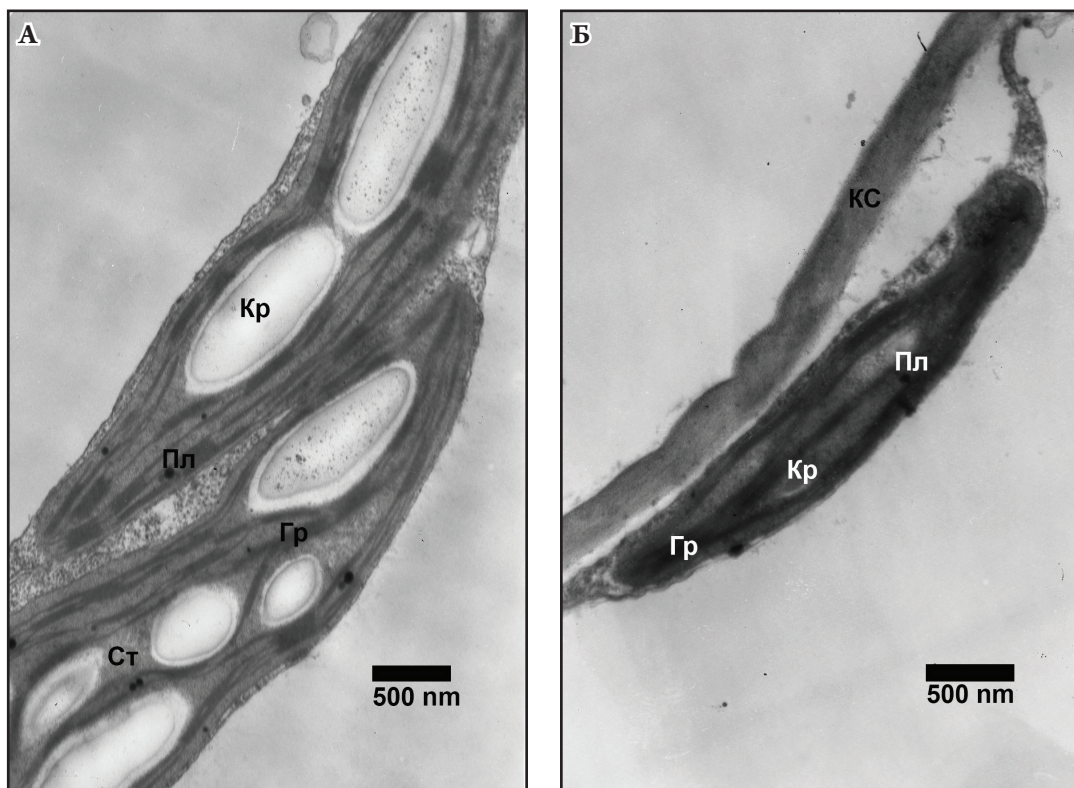
Fig. 2. The single submerged leaf of *Salvinia natans* (3B) and stem apical bud with the young floating leaves (AB).

розміри, як плаваючих так і занурених вай. Крім того, у другу досліджувану стадію спостерігалось галуження стебла. Під час третьої стадії відбувалося активне формування спорокарпіїв біля основи підводних вай і початком відмирання вегетативної маси.

Для аналізу фотосинтетичних пігментів матеріал зважували, фіксували у рідкому азоті і зберігали при температурі  $-40^{\circ}\text{C}$ . Фотосинтетичні пігменти екстрагували 80% ацетоном і визначали за загальноприйнятим методом (WELLBURN 1994). Вимірювання екстинції розчинів проводили на спектрофотометрі Shumadzu UV-1800 (Японія).

Для ультраструктурного дослідження вирізали ділянки тканин розміром  $3 \times 1$  мм з середньої частини пластинки плаваючих вай між краєм та центральною жилкою і відрізки по 5 мм розсічених сегментів-доль видозмінених занурених вай.

Матеріал фіксували опівдні охолодженням 3% розчином глутарового альдегіду ("Fluka", Німеччина) на фосфатному буфері, рН 7,2. Постфіксація відбувалася у 1% розчині тетроксиду осмію ("Pelco", США) на фосфатному буфері. Матеріал зневоднювали серією розчинів етилового спирту зростаючої концентрації й ацетоном і заливали в суміш епоксидних смол – епону з аралдитом згідно з методом ЩЕРВАТЮК та ін. (2015). Для трансмісійної електронної мікроскопії готували ультратонкі зрізи товщиною  $400\text{-}500$  Å на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція). Зрізи контрастували розчином цитрату свинцю впродовж 15 хвилин і досліджували в трансмісійному електронному мікроскопі JEM 1230 ("JEOL", Японія) за прискорюючої напруги 80 кВ. Морфометричний аналіз проводили за допомогою програми ImageJ 1.49 для Windows, використовуючи масштабну лінійку електронно-мікроскопічних



**Рис. 3.** Хлоропласти клітин паренхіми плаваючої (А) та зануреної видозміненої вай (Б) папороті *Salvinia natans* у період інтенсивного росту рослини (перша стадія). Збільшення  $\times 15000$ . Умовні скорочення: Гр – грана; Кр – крохмаль; КС – клітинна стінка; Пл – пластоглобула; Ст – строма.

**Fig. 3.** The chloroplasts in parenchyma cells of *Salvinia natans* floating (А) and submerged (Б) leaves at the stage of intensive growth (the first stage).  $\times 15000$ . Abbreviations: Гр – grana; Кр – starch grain; КС – cell wall; Пл – plastoglobule; Ст – stroma.

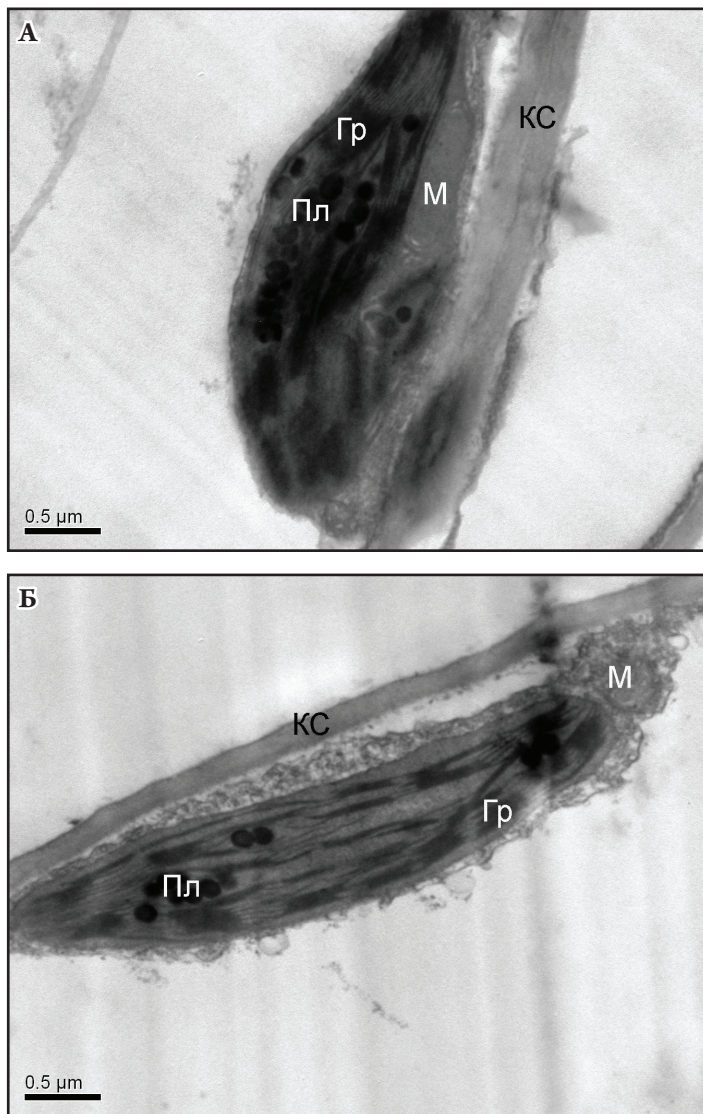
зображень. Отримані результати статистично обробляли в програмі Excel стандартного пакету Microsoft Office 2013. Достовірність різниці оцінювали за  $t$ -критерієм Ст'юдента, використовуючи 5% рівень значущості ( $P \leq 0,05$ ).

### Результати та їх обговорення

Вивчення ультраструктури хлоропластів мезофілу плаваючих та занурених вай виявили чіткі відмінності в їхній будові. У період відбору матеріалу, на стадії інтенсивного росту спорофіту, в середині червня хлоропласти клітин мезофілу плаваючих вай мали добре розвинену систему мембран тилакоїдів, які формують численні грана.

Форма хлоропластів була еліпсоподібною, досить видовженою, грани рівномірно розподілялися у стромі, тилакоїди гран у клітинах мезофілу були добре розвинені та щільно прилягали один до одного, їхні межі – достатньо чіткі та електронно-щільні (Рис. 3 А). У стромі хлоропластів плаваючих вай відмічено значну кількість видовжених крохмальних зерен довжиною понад 0,5 мкм і незначну кількість осмієфільних структур – пластоглобул.

Хлоропласти клітин паренхіми занурених вай мали майже удвічі менший розмір (Рис. 3 Б). У порівнянні з хлоропластами плаваючих вай, мембрани тилакоїдів занурених вай відзначались дещо вищою електронною щільністю та нечіткими межами. Зрідка



**Рис. 4.** Хлоропласт із частково зруйнованою мембранною системою (А) та хлоропласт з інтактними мембранами (Б) у клітинах паренхіми плаваючої ваї *Salvinia natans* в період формування спорокарпіїв (третья стадія). Збільшення  $\times 15000$ . Умовні скорочення: **Гр** – грана; **КС** – клітинна стінка; **М** – мітохондрія; **Пл** – пластоглобула.

**Fig. 4.** The chloroplast with partly destroyed membranes (А) and chloroplast with intact membranes (Б) in parenchyma cells of *Salvinia natans* floating leaf at the stage of sporocarps formation (the third stage).  $\times 15000$ . Abbreviations: **Гр** – grana; **КС** – cell wall; **М** – mitochondrion; **Пл** – plastoglobule.

відмічено формування невеликих крохмальних зерен та окремих пластоглобул.

Основні ультраструктурні показники хлоропластів клітин мезофілу двох типів ваї *S. natans* представлені в Табл. 1. Характерно, що фотосинтетичні органили плаваючих і занурених ваї чітко відрізняються не лише за загальними розмірами, а й за площею гран та кількістю тилакоїдів у одній грані. Також для хлоропластів занурених ваї чітко встановлено значне зменшення кількості крохмальних зерен у стромі та їх площі.

Вірогідно, що виявлені відмінності у будові хлоропластів занурених ваї обумовлюються постійним затіненням, спричиненим плаваючими ваями. Загалом, подібні відомості отримані для підводних листків інших видів водних рослин (NIELSEN 1993; Неудуха 2011б; Клименко 2014; Неудуха 2015). Однак, на відміну від наземних видів рослин, котрі вегетують в умовах затінення, мембранна система хлоропластів занурених ваї *S. natans* характеризується значно меншою площею. Отримані результати опосередковано

**Табл. 1.** Ультраструктурні показники хлоропластів клітин мезофілу плаваючих і занурених вай *Salvinia natans* у першу досліджувану стадію.

**Tab. 1.** The ultrastructural parameters of chloroplasts in mesophyllous cells of *Salvinia natans* floating and submerged leaves at the first investigated stage.

Показник	Варіант	
	Плаваючі вай	Занурені вай
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 <sup>2</sup>	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 грані, мкм <sup>2</sup>	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 хлоропласту, мкм <sup>2</sup>	1,63±0,23	0,14±0,10

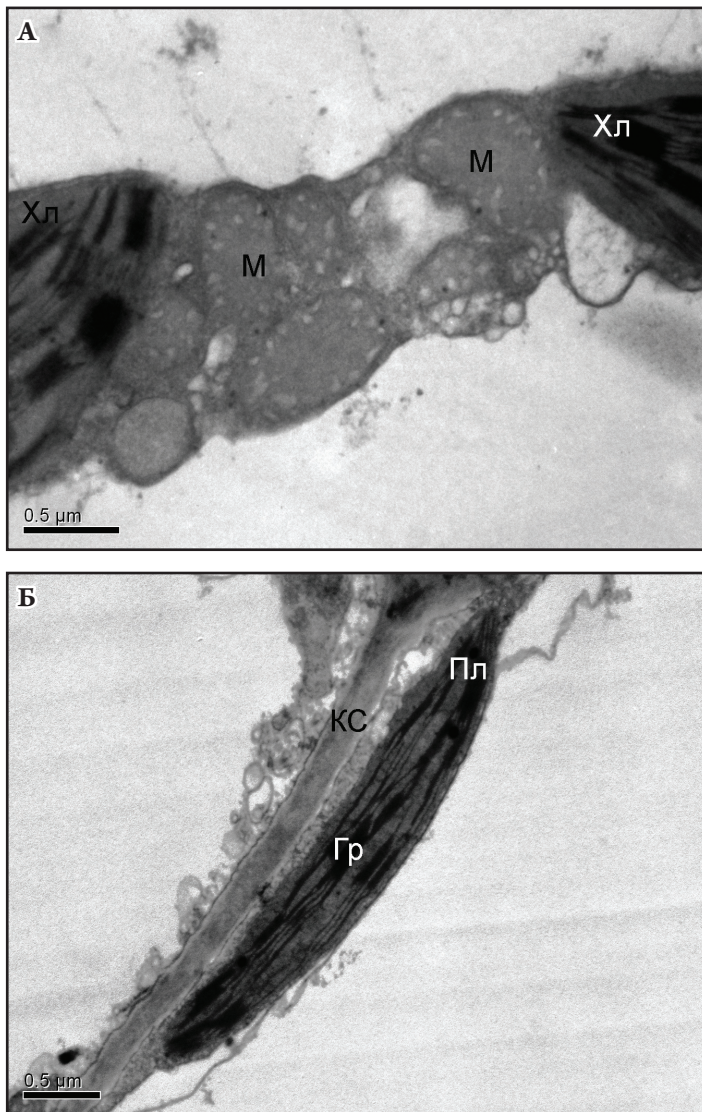
вказують на те, що основним продуцентом асимілятів є хлоропласти клітин плаваючих вай, тоді як фотосинтетичні органили занурених у воду вай, вірогідно, виконують допоміжну функцію, забезпечуючи незначну частку продуктів первинного синтезу у вегетуючої в повітряно-водних умовах папороттю *S. natans*.

У клітинах паренхіми обох типів вай на стадії формування спорокарпіїв відмічено цілий ряд деструктивних змін у будові хлоропластів. Зокрема, зафіксовано руйнацію мембран гранальних тилакоїдів, порушення міжгранальних з'єднань у хлоропластах (Рис. 4 А; Рис. 5 А). У стромі хлоропластів майже не було крохмальних зерен. Крім того, відбувалося набухання зовнішньої мембрани хлоропластів, спостерігалися зміни густини строми і зміни у міжгранальній ламелярній мембранній системі. Характерною особливістю хлоропластів *S. natans* у цей період є наявність великої кількості пластоглобул у стромі, які розташовуються рядами (Рис. 4 А), часто в периферійній частині хлоропластів плаваючих вай, зберігаючи контакт з ламелами строми. Відомо, що поява великої кількості пластоглобул свідчить про високий рівень окисних процесів у клітинах, а також стресовий стан, зокрема внаслідок дії світла надмірної інтенсивності,

або високої температури (AUSTIN *et al.* 2006; BRÉNELIN *et al.* 2007). В одношаровій ліпідній оболонці пластоглобул присутні ліпідні компоненти тилакоїдних мембран, тоді як у їх ядрі знайдені структурні білки і ферменти. Із пластоглобулами асоціюють цілий ряд жиророзчинних речовин (SPICHER & KESSLER 2015). Утворення значної кількості пластоглобул на завершальній стадії онтогенезу спорофіту *S. natans* може бути пов'язане із активним старінням папороті і реутилізацію хлоропластів при завершенні формування спорокарпіїв із мікро- та макроспорами.

Таким чином, у цей період можна констатувати практично повне перетворення частини популяції хлоропластів на структури, які за будовою дещо нагадують хромопласти, і які, частково або повністю втратили здатність до фотосинтезу. Водночас, у клітинах паренхіми плаваючих і занурених вай, зафіксовано наявність (до 40% переглянутих) цілком інтактних хлоропластів (Рис. 4 Б; Рис. 5 Б), що говорить про протікання фотосинтетичного процесу на завершальних стадіях вегетації рослини. Це у свою чергу особливо важливо для дозрівання спорокарпіїв зі спорами.

Подібно до виявленої у клітинах підводних листків *Nuphar lutea* (L.) Smith взаємодії органел (Клименко 2014), у клітинах



**Рис. 5.** Хлоропласти із частково зруйнованою мембранною системою та мітохондрії (А) і хлоропласт з інтактними мембранами (Б) у клітинах паренхіми зануреної видозміненої ваї папороті *Salvinia natans* в період формування спорокарпіїв (третья стадія). Збільшення  $\times 15000$ . Умовні скорочення: Гр – грана; КС – клітинна стінка; М – мітохондрія; Пл – пластоглобула.

**Fig. 5.** The chloroplasts with partly destroyed membranes and mitochondria (A) and chloroplast with intact membranes (B) in parenchyma cells of *Salvinia natans* submerged leaf at the stage of sporocarps formation (the third stage).  $\times 15000$ . Abbreviations: Гр – grana; КС – cell wall; М – mitochondrion; Пл – plastoglobule.

занурених ваї *S. natans* з хлоропластами часто контактують 2-3, а іноді більше мітохондрій округлої або овальної форми з добре розвиненою системою крист (Рис. 5 А). В окремих випадках, ми спостерігали шість контактуючих з хлоропластом мітохондрій.

Успішність адаптації до навколишнього середовища значною мірою залежить від оптимального функціонування асиміляційного апарату, показниками стану якого є вміст і співвідношення фотосинтетичних пігментів. Біохімічний аналіз плаваючих і занурених ваї *S. natans* у

всі три досліджувані стадії показав наявність хлорофілів *a* і *b* та каротиноїдів. Вміст фотосинтетичних пігментів у плаваючих ваях удвічі, а на окремих етапах утричі перевищував такий у занурених у воду (Рис. 6 А, Б). Виявлено, що відношення хлорофілу *a* до хлорофілу *b*, як і сума хлорофілів були достовірно меншими у занурених ваях, ніж у плаваючих (Табл. 2). Динаміка вмісту пігментів корелює з даними ультраструктурного дослідження хлоропластів. Зокрема, у хлоропластах занурених ваї, формуються грани меншої

**Табл. 2.** Співвідношення основних класів пігментів в онтогенезі *Salvinia natans*.

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

Орган	$a+b$	$a/b$	$a+b/\text{кар.}$
перша досліджувана стадія			
плаваючі ваї	0,23	2,9	4,18
занурені ваї	0,1	2,3	5,0
друга досліджувана стадія			
плаваючі ваї	0,25	3,1	3,09
занурені ваї	0,15	2,04	5,0
третя досліджувана стадія			
плаваючі ваї	0,43	2,6	5,4
занурені ваї	0,09	2	2,25

площі. У свою чергу, відомо, що основний пул фотосинтетичних пігментів міститься саме в мембранах тилакоїдів гран (АНДРИАНОВА И ТАРЧЕВСКИЙ 2000; EVERT 2007; КОЧУБЕЙ *и др.* 2014). Ультраструктурний аналіз також виявив меншу кількість фотосинтетичних органел у клітинах мезофілу занурених ваї. Проте, через достатньо складну і різну форму клітин паренхіми плаваючих й занурених ваї, розрахунок кількості хлоропластів у них не проводився.

Слід відзначити, що плаваючі ваї активно фотосинтезують впродовж усього періоду вегетації, мають яскраво зелене забарвлення, обумовлене високим вмістом хлорофілу  $a$ . У дві перші досліджувані стадії занурені ваї мають світле буро-зелене забарвлення, що відповідає низькому вмісту хлорофілу й відносно високій кількості каротиноїдів (Рис. 6 Б). Виявлено значний фонд пігментів у плаваючих ваях на стадії формування спорокарпіїв, а у занурених ваях на стадії інтенсивного росту спорофіту. На стадії формування спорокарпіїв у плаваючих ваях кількість хлорофілу й каротиноїдів зростала, тоді як у занурених – зменшувалась (Рис. 6 А, Б). Характерно, що у порівнянні з листовими пластинками наземних квіткових рослин (КОЧУБЕЙ *и др.* 2014; ВАВЕНКО *et al.* 2014), плаваючі та занурені ваї папороті-гідрофіта *S. natans* містять значно менше хлорофілів  $a$  та  $b$ . Невелика

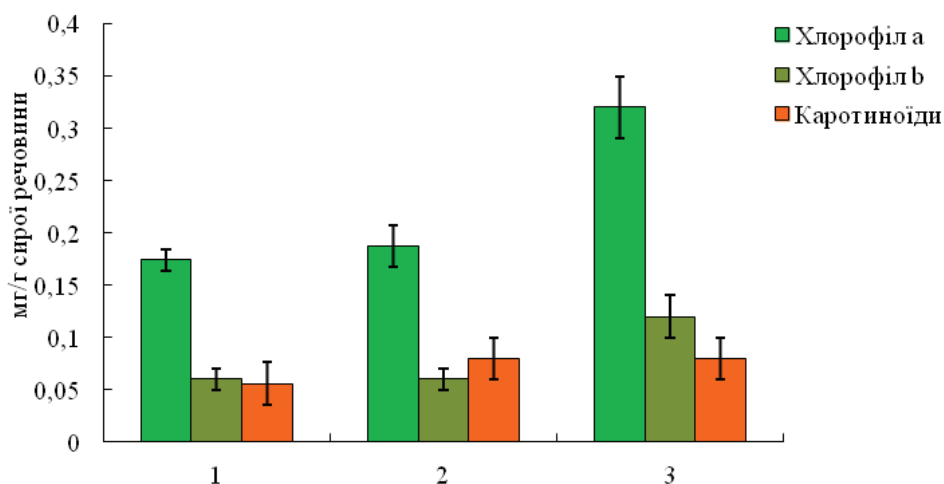
кількість фотосинтетичних пігментів зафіксована для багатьох рослин-гідрофітів і вважається адаптаційним пристосуванням, котре зменшує руйнацію клітин внаслідок фотоокислення (НЕДУХА 2011а).

Проведені дослідження виявили чіткі відмінності структури хлоропластів ваї двох типів у *S. natans*. Зокрема, у хлоропластах плаваючих ваї наявна велика кількість гран, що складаються з 4-7 тилакоїдів, а крохмальні зерна формуються значних розмірів. Тоді як ультраструктура фотосинтезуючих органел підводних ваї *S. natans* подібна до такої у підводних листків інших видів водних рослин і, очевидно, зумовлена розширенням світлозбиральних комплексів за рахунок хлорофілу  $b$  і каротиноїдів, хоча звичайно не набуває значних структурних адаптаційних пристосувань до умов постійного затінення. Другою особливістю структури хлоропластів занурених ваї, яка відрізняє їх від хлоропластів плаваючих, є значно менша кількість крохмалю. Для ваї, занурених у воду, характерне зниження кількості хлоропластів із крохмалем майже на порядок, у порівнянні із плаваючими. Це підтверджується даними, де показано достовірне зменшення включення ізотопу вуглецю в крохмаль підводних листків багатьох гідрофітів, порівняно з плаваючими і надводними листками (НЕКРАСОВА *и др.* 2003). Ще одна виявлена нами особливість занурених ваї *S. natans* – зниження сумарного вмісту хлорофілів ( $a+b$ ) у більш ніж два рази й зниження співвідношення хлорофілів  $a/b$ , порівняно з показниками плаваючих ваї. Відомо, ці ознаки характерні для рослин, що ростуть у затінку за умовах низької освітленості (НЕКРАСОВА *и др.* 1998; EVERT 2007).

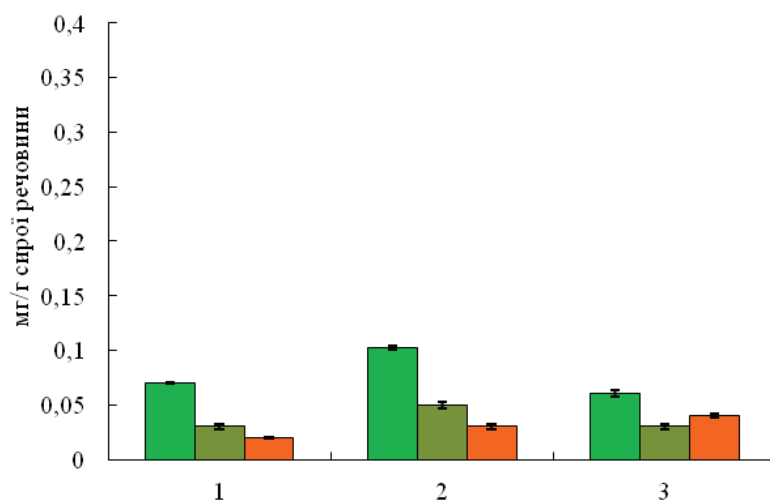
На стадії формування спорокарпіїв з початком періоду відмирання вегетативних органів, мембранна система хлоропластів у клітинах, як плаваючих, так і підводних ваї руйнується, з'являється велика кількість пластоглобул у їх стромі. Поряд з цим значна частина популяції хлоропластів зберігає цілком інтактну структуру, забезпечуючи успішне дозрівання генеративних органів рослини.



А



Б



**Рис. 6.** Пігментний спектр плаваючих (А) і занурених (Б) вай *Salvinia natans* на різних етапах онтогенезу: 1 – перша стадія; 2 – друга стадія, 3 – третя стадія.

**Fig. 6.** The content of pigments in floating (A) and submerged (B) leaves of *Salvinia natans* at the different stages of ontogeny: 1 – the first stage; 2 – the second stage; 3 – the third stage.

Таким чином, в клітинах мезофілу плаваючих й підводних вай спостерігаються відмінності на рівні фотосинтетичного апарату і вмісту пігментів, що, у свою чергу, спричинює різницю в інтенсивності протікання головного фізіологічного процесу рослин – фотосинтезу. Характер ультраструктури пластид у клітинах плаваючих вай вказує,

що саме вони є основними продуцентами асимілятів. Цю тезу також доводять результати пігментного аналізу. Результати дослідження опосередковано вказують на те, що фотосинтетичні процеси, які протікають у занурених у воду ваях забезпечують дуже незначну частину продуктивності рослини. Натомість, підводні ваї виконують функцію

газообміну з водним середовищем, функцію мінерального живлення, а також стабілізують рослину товщі води.

### Використані джерела

- АНДРИАНОВА Ю.Е., ТАРЧЕВСКИЙ И.А. 2000.** Хлорофилл и продуктивность растений. Наука, Москва.
- [Andrianova Yu.E., Tarchevskiy I.A. 2000. Chlorophyll and productivity of plants. Nauka, Moscow. (In Russian)]
- ДУБИНА Д.В., ШЕЛЯГ-СОСОНКО Ю.Р., ЖМУД О.И., ДВОРЕЦКИЙ Т.В., ДЗЮБА Т.П. 2003.** Дунайський біосферний заповідник. Рослинний світ. Фітосоціоцентр, Київ.
- [Dubyna D.V., Shelyag-Sosonko Yu.R., Zhmut O.I., Dvoretzky T.V., Dziuba T.P. 2003. Danube biosphere reserve. Plants. Phytosociocentr, Kyiv. (In Ukrainian)]
- КАИМЕНКО О.М. 2014.** Структурно-функціональні аспекти гетерофілії *Nuphar lutea* (L.) Smith.: Автореф. дис... к-та біол. наук. Київ.
- [Klymenko O.M. 2014. Structural and functional aspects of *Nuphar lutea* heterophylly (L.) Smith. Thesis of PhD manuscript. Kyiv. (In Ukrainian)]
- КОЧУБЕЙ С.М., БОНДАРЕНКО О.Ю., ШЕВЧЕНКО В.В. 2014.** Фотосинтез. Т. 1. Структурная организация и функциональные особенности световой фазы фотосинтеза. Логос, Киев.
- [Kochubey S.M., Bondarenko O.Yu., Shevchenko V.V. 2014. Photosynthesis. Vol. 1. The structure and functional peculiarities of light phase of photosynthesis. Logos, Kiev. (In Russian)]
- НЕДУХА О.М. 2011а.** Гетерофілія у рослин. Альтерпрес, Київ.
- [Nedukha O.M. 2011a. Heterophylly in plants. Alterpress, Kyiv. (In Ukrainian)]
- НЕДУХА О.М. 2011б.** Ультроструктурна характеристика клітин та аналіз пігментів плаваючих і підводних листків *Trapa natans* L. *Mod. Phytomorphol.* 1: 81–84.
- [Nedukha O.M. 2011b. The ultrastructural characteristics of cells and pigments of *Trapa natans* L. floating and submerged leaves. *Mod. Phytomorphol.* 1: 81–84. (In Ukrainian)]
- НЕДУХА О.М. 2015.** Анатомічна будова та особливості ультроструктури хлоропластів листків деяких гідрофітів. *Mod. Phytomorphol.* 8: 162–168.
- [Nedukha O.M. Anatomy of leaves and chloroplasts ultrastructure of some hydrophytes. *Mod. Phytomorphol.* 8: 162–168. (In Ukrainian)]
- НЕКРАСОВА Г.Ф., РОИЖИНА Д.А., КОРОБИЦЫНА Е.Б. 1998.** Формирование фотосинтетического аппарата в период роста погруженного, плавающего и надводного листа гидрофитов. *Физиол. раст.* 45: 539–548.
- [Nekrasova G.F., Ronzhina D.A., Korobitsina E.B. 1998. The photosynthetic system formation during the growth of submerged, floating and overwater leaves of hydrophytes. *Plant Physiol.* 45: 539–548. (In Russian)]
- НЕКРАСОВА Г.Ф., РОИЖИНА Д.А., МАЛЕВА М.Г., ПЬЯНКОВ В.И. 2003.** Фотосинтетический метаболизм и активность карбоксилирующих ферментов у надводных, плавающих и погруженных листьев гидрофитов. *Физиол. раст.* 50: 65–75.
- [Nekrasova G.F., Ronzhina D.A., Maleva M.G., Pyankov V.I. 2003. The photosynthetic metabolism and activity of the carboxylation enzymes in overwater, floating and submerged leaves of hydrophytes. *Plant Physiol.* 50: 65–75. (In Russian)]
- ХОЛОДНЫЙ Н.Г. 1956.** О метаморфозе пластид в волосках подводных листьев у *Salvinia natans*. В кн: ХОЛОДНЫЙ Н.Г. Избранные труды в 3 т. Т. 1. Работы по физиологии растений. Издательство АН УССР, Киев.
- [Kholodny N.G. 1956. About metamorphosis of plastids in hairs of *Salvinia natans* submerged leaves. In: Kholodny N.G. Selected papers in 3 vol. Vol. 1. The papers about the plant physiology. Publishing of the UkrSSR Academy of Sciences. Kiev (In Russian)]
- ЧОРНА Г.А. 2001.** Рослини наших водойм (атлас-довідник). Фітосоціоцентр, Київ.
- [Chorna G.A. 2001. The plants of our water reservoirs (guidebook). Phytosociocentr, Kyiv. (In Ukrainian)]
- ЩЕРБАТЮК М. М., БРИКОВ В. О., МАРТИН Г. Г. 2015.** Підготовка зразків рослинних тканин для електронної мікроскопії (теоретичні та практичні аспекти). Талком, Київ.
- [Shcherbatiuk M. M., Brykov V. O., Martyn G. G. 2015. The preparation of plant tissues for electron microscopy (theoretical and practical aspects). Talkom, Kyiv. (In Ukrainian)]
- AUSTIN J. R., FROST E., VIDI P.-A., KESSLER F., STAENELIN L. A. 2006.** Plastoglobules are lipoprotein subcompartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and contain biosynthetic enzymes. *Plant Cell* 18: 1693–1703.
- BABENKO L., KOSAKIVSKA I., AKIMOV YU., KLYMSHUK D., SKATERNYA T. 2014.** Effect of temperature stresses on pigment spectrum, lipoxygenase activity and cell ultrastructure of winter wheat seedling. *Genet. Plant Physiol.* 4: 117–125.
- BARTHOLOTT W., WIERSCH S., ČOLIĆ Z., KOCH K. 2009.** Classification of trichome types within species of the water fern *Salvinia*, and ontogeny of the egg-beater trichomes. *Botany* 87: 830–836.
- BERCU R. 2004.** Histoanatomy of the leaf of *Trapa natans* (Trapaceae). *Phytol. Balcan.* 10: 51–55.
- BERCU R. 2006.** Anatomical features of the vegetative organs of *Salvinia natans* (L.) All. (Salviniaceae). *USAMVBT Symposium. 5<sup>th</sup> section: Biology researchers with implications in agriculture:* 321–324.

- BRÉHÉLIN C., KESSLER F., VAN WIJK K. J. 2007.** Plastoglobules: versatile lipoprotein particles in plastids. *Trends Plant Sci.* **12**: 260–266.
- CROXDALE J.G. 1978.** *Salvinia* leaves. I. Origin and early differentiation of floating and submerged leaves. *Can. J. Bot.* **56**: 1982–1991.
- CROXDALE J.G. 1981.** *Salvinia* leaves. III. Morphogenesis of the submerged leaf. *Can. J. Bot.* **59**: 2065–2072.
- EVERT R.F. 2007.** *Esau's plant anatomy*. 3<sup>rd</sup> edition. Wiley Interscience, Hoboken, New Jersey.
- LEMON G.D., POSLUSZNY U. 1997.** Shoot morphology and organogenesis of the aquatic floating fern *Salvinia molesta* D.S. Mitchell, examined with the aid of laser scanning confocal microscopy. *Int. J. Plant Sci.* **158**: 693–703.
- NIELSEN S.L. 1993.** A comparison of aerial and submerged photosynthesis in some Danish amphibious plants. *Aquat. Bot.* **45**: 27–40.
- PRINGSHEIM N. 1863.** Zur Morphologie der *Salvinia natans*. Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik. **3**: 484–541.
- RYEN F.J. 1985.** Isolation and characterization of photosynthetically active cells from submerged and floating leaves of the aquatic macrophyte *Potamogeton nodosus* Poir. *Plant Cell Physiol.* **26**: 309–315.
- SAND-JENSEN K., FROST-CHRISTENSEN H. 1999.** Plant growth and photosynthesis in the transition zone between land and stream. *Aquat. Bot.* **63**: 23–35.
- SPICHER L., KESSLER F. 2015.** Unexpected roles of plastoglobules (plastid lipid droplets) in vitamin K1 and E metabolism. *Curr. Opin. Plant Biol.* **25**: 123–129.
- WELLBURN A. 1994.** 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.* **144**: 307–313.
- YANG J.P., DENGLER N.G., HORTON R.F. 1987.** Heterophylly in *Ranunculus flabellaris*: The effect of abscisic acid on leaf anatomy. *Ann. Bot.* **60**: 117–125.

#### THE ULTRASTRUCTURE OF CHLOROPLASTS AND PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN FLOATING AND SUBMERGED LEAVES OF WATER FERN *SALVINIA NATANS* (L.) ALL DURING ONTOGENY

MYKOLA SHCHERBATIUK \*, LIDIA BABENKO, IRYNA KOSAKIVSKA

**Abstract.** The results of the comparative analysis of chloroplast ultrastructure and analysis of photosynthetic pigments content in floating and submerged leaves of water fern *Salvinia natans* (L.) All. at the different stages of ontogeny are presented. The ultrastructure of photosynthetic organelles and pigments content are significantly different in floating and submerged leaves. The chloroplasts of parenchymal cells of floating leaves have a well-developed membranous system with many grana and contain many starch grains. Submerged leaves were shown to form smaller chloroplasts with low starch content in the stroma. A smaller number and smaller size of grana complexes in chloroplasts were marked, too. Destructive changes in the photosynthetic membranes of chloroplasts in both types of leaves were observed at the stage of sporocarps formation. The content of photosynthetic pigments in the floating leaves was twice higher than in the submerged leaves, and at the certain stages of ontogeny three times higher. During development of the plant, a content of photosynthetic pigments raised up in the floating leaves. At the stage of sporocarps formation, some reduction of chlorophylls and carotenoids content in submerged leaves occurred. In this article, we discuss the relationship between the identified differences and the functional activity of floating and submerged leaves during growth and development of water fern *S. natans*.

**Key words:** *Salvinia natans*, leaf, chloroplasts ultrastructure, ontogenesis, photosynthetic pigments

M.G. Kholodny Institute of Botany of NAS Ukraine, Tereshchenkivska str. 2, 01601 Kiev, Ukraine; \*mshcherbatyuk@ukr.net