

doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.11.096>

УДК 58.036:577/.112/.152.1./19:582.542.11

**К.О. Романенко¹, Л.М. Бабенко¹, О.В. Вашека²,
П.О. Романенко², І.В. Косаківська¹**

¹ Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ

² ННЦ “Інститут біології та медицини”

Київського національного університету ім. Тараса Шевченка

E-mail: katerynaromanenko4@gmail.com

Фітогормональна регуляція розвитку гаметофіта *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott в культурі *in vitro*

Досліджено вплив екзогенних фітогормонів цитокінінової природи: кінетину, зеатину, 6-бензиламінопурину, N⁶-2-ізопентеніладеніну на морфологію і особливості росту гаметофіта папороті *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott в культурі *in vitro*. Встановлено, що всі досліджені цитокініни в концентрації 10⁻⁵ М затримували ріст гаметофіта, спричиняли деформацію і зменшення розмірів талому, пригнічували розвиток статевих структур та ріст спорофіта. Зменшення концентрації гормонів до 10⁻⁸ М стимулювало розвиток гаметофіта, індукувало поділ клітин, особливо в апікальній зоні, через що відбувалася деформація таломів, активувало утворення ризоїдів, впливало на формування антеридіїв та архегоніїв і затримувало розвиток спорофіта.

Ключові слова: *Dryopteris filix-mas*, гаметофіт, проталій, талом, цитокініни, кінетин, зеатин, 6-бензиламіноурин, N⁶-2-ізопентеніладенін.

Характерною ознакою папоротей є чергування поколінь, що забезпечує незалежний розвиток нестатевого спорофіта і статевого гаметофіта. Процеси росту і розвитку гаметофіта і спорофіта у папоротей, як і у представників інших таксонів, контролюються багатоконпонентною гормональною системою [1]. Фітогормони — низькомолекулярні органічні сполуки координують генетично визначений ріст і розвиток рослин, а також безперервну інтеграцію екологічних сигналів. Як правило, вони діють у низьких концентраціях, а місце дії цих сполук часто відокремлено від місця їхнього синтезу. Транспортування на короткі та великі відстані в рослині створює необхідні морфогенетичні градієнти для кожного гормону в окремих тканинах та органах [2].

Доведено, що екзогенні фітогормони впливають на морфогенез, розвиток та статевий поліморфізм гаметофітів. Зокрема, високі концентрації гіберелової кислоти (ГК₃) пригнічували ріст проталія *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. [3], тоді як низькі не впливали на його розвиток або сприяли розтягуванню клітин [4]. ГК₃ індукувала поділ та збільшення

© К.О. Романенко, Л.М. Бабенко, О.В. Вашека, П.О. Романенко, І.В. Косаківська, 2018

розмірів клітин апікальної та антеридіальної зон проталія *Anemia phyllitidis* (L.) Sw. [5]. Під впливом жасмонової кислоти відбувався перехід гаметофітів *Platyserium bifurcalum* (Cav.) C. Chr. від нитчастої до лопаткоподібної форми, збільшувалася кількість ризоїдів, активувався поділ клітин [6]. Показано, що синтетичні ауксини спричиняли подовження клітин та індукували розвиток нитчастого талому гаметофітів, тоді як у комбінації з абсцизовою кислотою цей вплив нівелювався, внаслідок чого розвивалися пластинчасті таломі [4].

Переважає більшість папоротей — рівноспорові рослини. Проте в природних популяціях та лабораторних умовах у рівноспорових папоротей спостерігався розвиток чоловічих і жіночих гаметофітів та поява безстатевих індивідів [1]. З'ясовано, що ключову роль у формуванні статевого поліморфізму папоротей відіграють гібереліни та гібереліноподібний гормон антеридіоген [1]. Екзогенна обробка гіберелінами в більшості випадків активувала утворення антеридіїв та сповільнювала розвиток архегоніїв. Екзогенні ж ауксини в культурі *in vitro* індукували апогамний розвиток спорофітів із стерильних гаметофітів [7].

Цитокініни (ЦТК) використовують для регуляції росту під час мікроклонального розмноження, культивування та вкорінення спорофітів у культурі *in vitro* [1, 8]. ЦТК контролюють поділ клітин, стимулюють утворення та активність меристем пагонів, формують атрагуючу здатність тканин, затримують процес старіння листків, інгібують ріст та галузження кореня, беруть участь у регуляції процесу проростання насіння, формуванні відповіді на стресові впливи тощо [2, 9]. Показано, що екзогенні ЦТК пригнічували розвиток гаметофітів, спричиняли зменшення розмірів або численні розростання і деформації серцеподібного талому, впливали на утворення статевих клітин [10, 11]. Встановлено, що ЦТК індукували фотоморфогенез вирощених без освітлення гаметофітів, впливали на швидкість росту, поділ, розтягування та диференціацію клітин [12]. Визначено, що бензиламінопури (БАП) інгібував розвиток гаметофіта *Polystichum aculeatum* (L.) Roth. в культурі *in vitro* [13]. Водночас роль ЦТК у регуляції морфогенезу та реалізації статевого диморфізму гаметофітів у культурі *in vitro* залишається малодослідженою.

Тому мета нашого дослідження полягала у вивченні впливу фітогормонів цитокінінової природи на морфологію і особливості розвитку гаметофіта *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott в культурі *in vitro* для з'ясування можливостей подальшого використання екзогенних цитокінінів для керування цими процесами.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження були гаметофіти папороті щитника чоловічого (*Dryopteris filix-mas* (L.) Schott, родина Dryopteridaceae). Папороть зростала на експозиційній ділянці спорових рослин Ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна (Київ). Спори збирали з кінця червня до середини липня. Спори стерилізували і пророщували за методом [13]. Спостереження проводили відповідно до стадій розвитку гаметофіта, які визначали за двома термінами: від появи перших екземплярів до максимальної кількості екземплярів. Екзогенні фітогормони з групи цитокінінів кінетин, зеатин, 6-бензиламінопури (БАП), N^6 -2-ізопентеніладенін (іП) вносили в живильне середовище Кнопа безпосередньо перед посівом спор у концентраціях 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} М. За контроль слугувало середовище Кнопа без додавання фітогормонів.

Морфологію гаметофітів досліджували за допомогою світлового мікроскопа Carl Zeiss Primo Star (Німеччина). Розміри талому гаметофіта визначали за програмою AxioVision Rel. 4.8. Усі досліді виконували в трьох біологічних і аналітичних повторах.

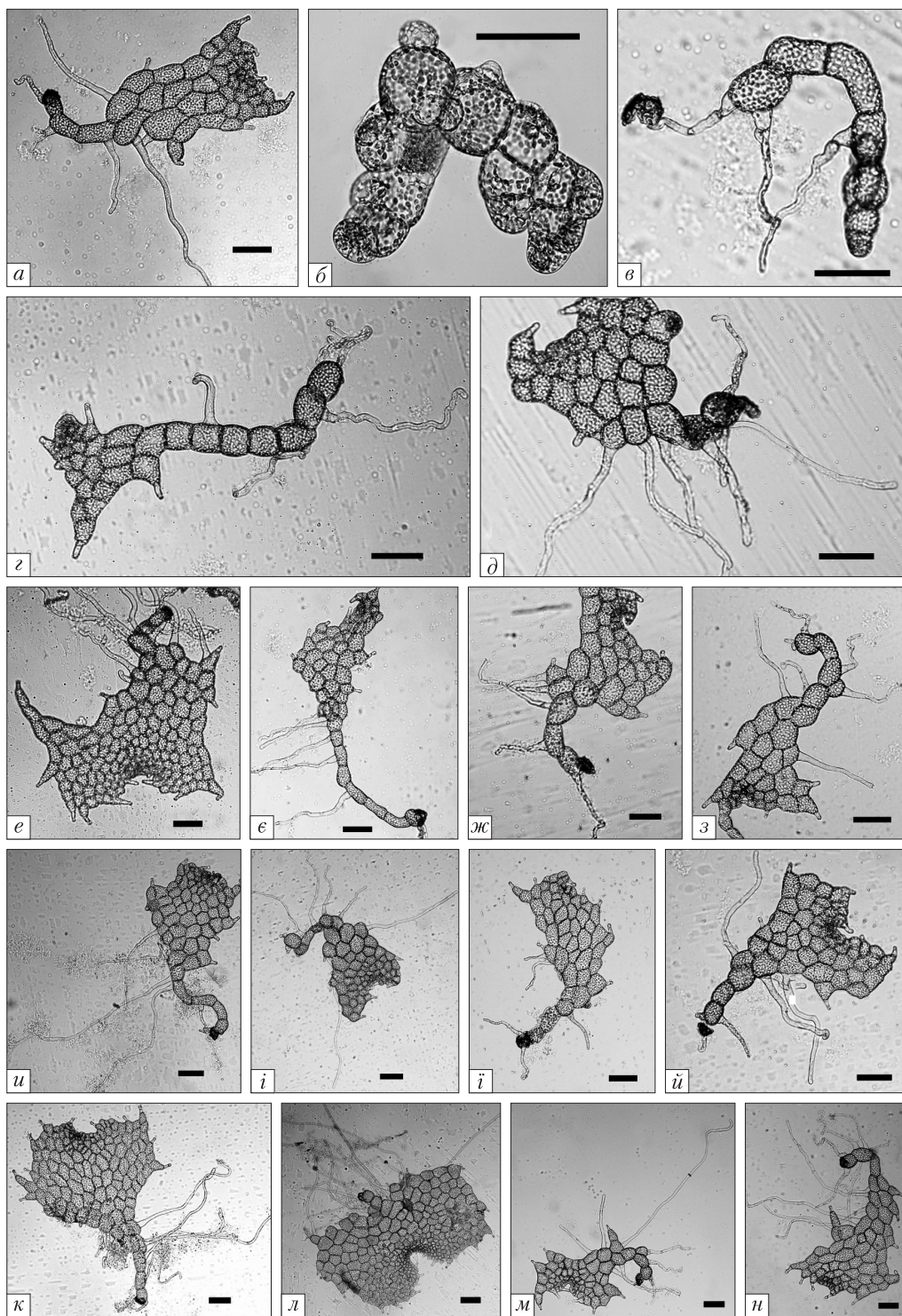


Рис. 1. Вплив цитокинінів на розвиток лопаткоподібного проталія *D. filix-mas*: а – контроль; б – іП (10^{-5} М); в – БАП (10^{-5} М); г – зеатин (10^{-5} М); д – кінетин (10^{-5} М); е – зеатин (10^{-6} М); є – БАП (10^{-6} М); ж – кінетин (10^{-6} М); з – іП (10^{-6} М); у – зеатин (10^{-7} М); і – кінетин (10^{-7} М); і̇ – іП (10^{-7} М); й̇ – БАП (10^{-7} М); к – іП (10^{-8} М); л – зеатин (10^{-8} М); м – кінетин (10^{-8} М); н – БАП (10^{-8} М). Масштаб – 100 мкм

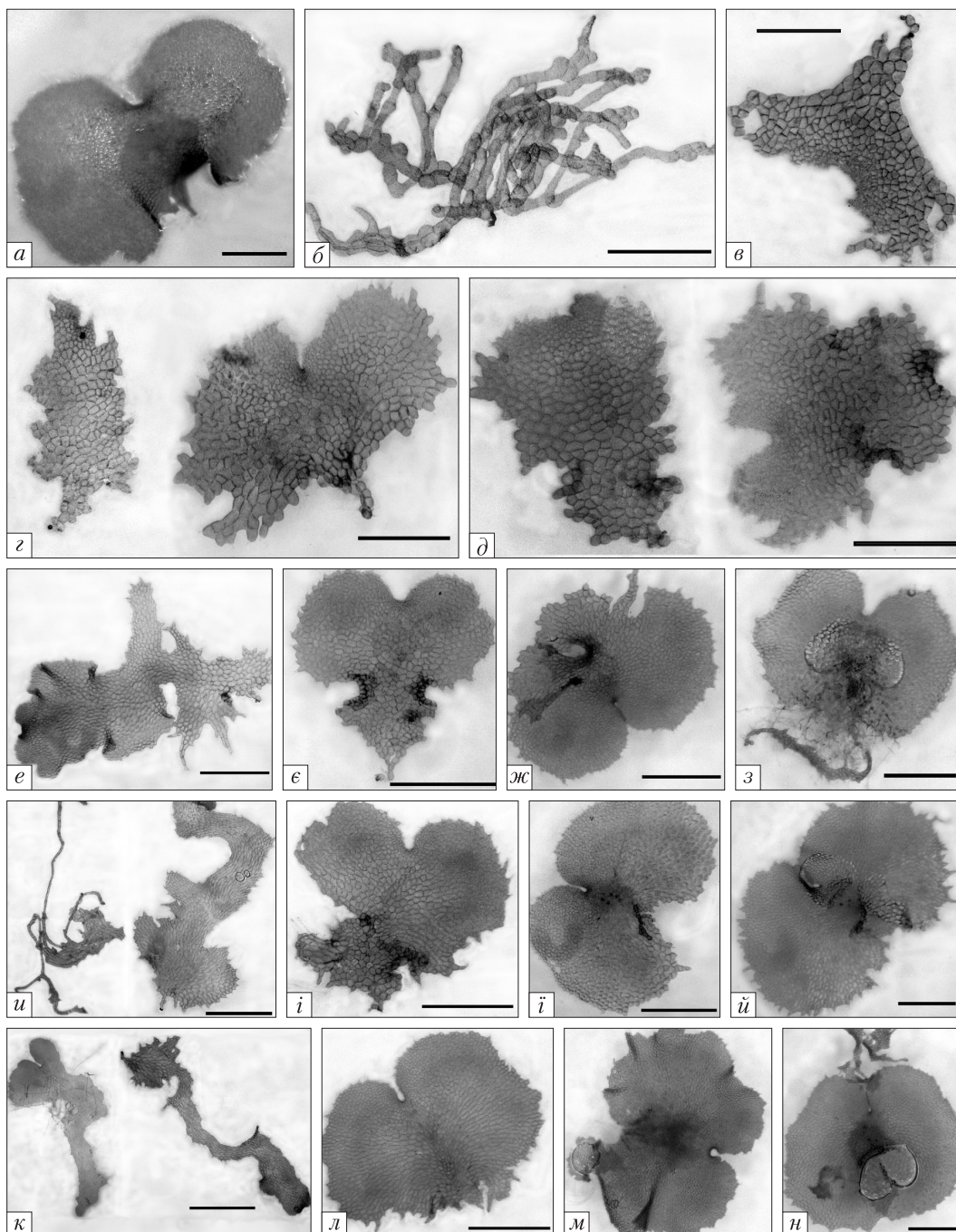


Рис. 2. Вплив цитокінінів на розвиток серцеподібного талому *D. filix-mas*: а – контроль; б – іП (10^{-5} М); в – зеатин (10^{-5} М); з – БАП (10^{-5} М); д – кінетин (10^{-5} М); е – іП (10^{-6} М); е – зеатин (10^{-6} М); ж – кінетин (10^{-6} М); з – БАП (10^{-6} М); у – іП (10^{-7} М); і – зеатин (10^{-7} М); і – кінетин (10^{-7} М); й – БАП (10^{-7} М); к – іП (10^{-8} М); л – зеатин (10^{-8} М); м – кінетин (10^{-8} М); н – БАП (10^{-8} М). Масштаб – 100 мм

Результати і їх обговорення. Проростання спор і формування протонеми у *D. filix-mas* відбувалось за Vittaria-типом. Розвиток проталія проходив за Aspidium-типом, що притаманний папоротеподібним з родини Dryopteridaceae [14]. Розвиток гаметофіта досліджувався на стадіях лопаткоподібного проталія та серцеподібного талому.

Стадія лопаткоподібного проталія. Як видно з рис. 1, а, контрольні зразки формували асиметричний проталій. Талом складався з 20–45 клітин, були наявні від одного до чотирьох ризоїдів, проте найчастіше їхня кількість сягала двох.

Екзогенні іП, БАП та зеатин у концентрації 10^{-5} М блокували формування нормальної протонеми (див. рис. 1, б, в, г). Найвиразнішим виявився вплив іП: протонеми склалися з 3–12 клітин, переважно з бічним галузjenням від першої проталіальної клітини, ризоїди не розвивалися, були наявні лише їхні зачатки на 2–3 проталіальних клітинах (див. рис. 1, б). Під впливом БАП та зеатину протонеми набували ниткоподібної форми, склалися з 10–25 клітин, а протонеми лопаткоподібної форми з бічними відгалуженнями спостерігалися зрідка. В значній кількості формувалися невеликі ризоїди (див. рис. 1, в, г). Кінетин активував розвиток ризоїдів і спричиняв зменшення кількості клітин у проталії, через що “лопатка” виглядала більш компактною (див. рис. 1, д).

Екзогенний зеатин в концентрації 10^{-6} М викликав значне розростання проталія в ширину (див. рис. 1, е), тоді як БАП, кінетин та іП у цій концентрації істотно не впливали на морфогенез гаметофіта (див. рис. 1, е, ж, з). Під впливом усіх екзогенних цитокінінів відбувався активний розвиток ризоїдів, які були коротші за контрольні, але переважали кількісно (див. рис. 1, е–з).

Екзогенні зеатин та кінетин у концентрації 10^{-7} М на відміну від іП та БАП прискорювали розростання “лопатки” проталія за рахунок активації ініціальної клітини (див. рис. 1, у, і), яка знаходилася в центральній частині верхівки проталія. Зеатин, кінетин та БАП у концентрації 10^{-7} М стимулювали розвиток і ріст ризоїдів (див. рис. 1, у, і, й), тоді як іП затримував їх ріст (див. рис. 1, і).

Усі екзогенні цитокініни в концентрації 10^{-8} М активували поділ ініціальної клітини на верхівці лопаткоподібного проталія, за рахунок чого переважна більшість проталіїв була сформована з більшої кількості клітин (див. рис. 1, к–н). Під дією іП у концентрації 10^{-8} М відбувалося формування серцеподібного талому і утворення виїмки (див. рис. 1, к), водночас нерідко спостерігали й деформацію проталіальної “лопатки”. Зеатин у найменшій концентрації виявив сильну стимулювальну дію, що спричинило розростання проталіальної пластинки серцеподібної форми, утворення виїмки та початок формування двовимірної меристеми (див. рис. 1, л). Усі цитокініни в концентрації 10^{-8} М активували ріст і розвиток ризоїдів, найефективнішими виявилися БАП та зеатин.

Стадія серцеподібного талому. Контрольні зразки мали форму серцеподібної пластинки із симетричними крилами (рис. 2, а). Зазвичай гаметофіти *D. filix-mas* двостатеві: на їхньому таломі розвиваються антеридії і архегонії. В контролі архегоніальна подушка добре сформована, на ній починали розвиватися перші архегонії. Поодинокі антеридії розташовані по краю талому.

Екзогенний іП у концентрації 10^{-5} М блокував розвиток нормальної проталіальної пластинки. Спостерігалось сильне розгалуження талому внаслідок стимуляції гормоном множинного апікального домінування з утворенням багатьох ініціальних клітин, після по-

ділу яких утворювалися множинні бічні проліферації, що формували галузисту протонему (див. рис. 2, б). Зеатин у концентрації 10^{-5} М сприяв розростанню проталіальної пластинки, через що серцеподібний талом був сильно деформованим (див. рис. 2, в). При цьому відбувалося формування виїмки і багатоклітинної меристеми, проте розвиток архегоніальної подушки пригнічувався. Екзогенні 10^{-5} М кінетин та БАП також викликали деформацію серцеподібного талому: проталіальні пластинки набували лопаткоподібної форми з ледь помітною виїмкою або зі значними бічними розростаннями (див. рис. 2, г, д). Статеві структури (архегонії та антеридії) під дією 10^{-5} М усіх досліджених цитокінінів не формувалися. У гаметофітів у всіх варіантах, за винятком досліду з іП, були розвинуті ризоїди.

У зразках із концентрацією іП 10^{-6} М серцеподібна форма талому відсутня, гаметофіти, як правило, сильно витягнуті, лопаткоподібної або стрічкоподібної форми з численними бічними розростаннями (див. рис. 2, е). Під дією 10^{-6} М зеатину, кінетину та БАП гаметофіти були подібними до контрольних (див. рис. 2, а, є–з). Переважала серцеподібна форма талому. Під впливом 10^{-6} М зеатину і кінетину спостерігалися також поодинокі деформовані гаметофіти з бічними відгалуженнями (див. рис. 2, є, ж), а під дією БАП – витягнуті лопаткоподібні чи стрічкоподібні з бічними розростаннями (див. рис. 2, з). Під впливом 10^{-6} М БАП та іП формувалися поодинокі антеридії. Кінетин у концентрації 10^{-6} М не сприяв формуванню чоловічих і жіночих статевих структур на поверхні талому, тоді як зеатин стимулював утворення поодиноких архегоніїв виключно у сформованих серцеподібних таломі.

У досліді з екзогенним іП у концентрації 10^{-7} М серцеподібна форма талому гаметофітів не утворювалася, переважали сильно витягнуті лопаткоподібні таломі, часто розширені на верхівці; зустрічалися таломі деформованої форми з ниткоподібними розгалуженими відростками (див. рис. 2, и). У досліді з 10^{-7} М зеатином спостерігали серцеподібну форму талому з сильним розростанням в основі (див. рис. 2, і). У разі впливу 10^{-7} М кінетину та БАП серцеподібна форма талому була подібною до контролю (див. рис. 2, а), але часто з рваним краєм (див. рис. 2, ї, й), однак нерідко в обох дослідіх зустрічалися й витягнуті лопаткоподібні таломі. У дослідіх з 10^{-7} М іП активний розвиток антеридіїв відбувався на поверхні стрічкоподібного талому та бічних ниткоподібних відростках (рис. 3). Розвиток архегоніїв не ідентифікований. На видовжених таломі гаметофітів у дослідіх з 10^{-7} М БАП відмічені поодинокі антеридії, тоді як на серцеподібних й лопаткоподібних таломі архегонії не виявлені.

Внаслідок дії 10^{-8} М іП розвивалися таломі сильно видовженої лопаткоподібної або серцеподібної форми (див. рис. 2, к). Гаметофіти з видовженою серцеподібною формою талому мали добре розвинену виїмку та архегоніальну подушку, на якій розвивалися архегонії, тоді як на видовженій частині талому ближче до основи активно формувалися антеридії. Гаметофіти під дією 10^{-8} М зеатину, кінетину та БАП були подібними до контрольних, поодинокі спостерігалися серцеподібні гаметофіти з нерівним краєм (див. рис. 2, л–н). Активний розвиток архегоніїв й повільний антеридіїв відмічений у дослідіх із використанням зеатину та кінетину (10^{-8} М), тоді як БАП у найменшій концентрації сприяв активному утворенню тільки антеридіїв.

Наші дослідження показали, що високі концентрації цитокінінів інгібують розвиток гаметофітів *D. filix-mas*, сприяють утворенню деформованих таломі, пригнічують формування статевих структур. Водночас низькі концентрації цитокінінів переважно пришвидшують

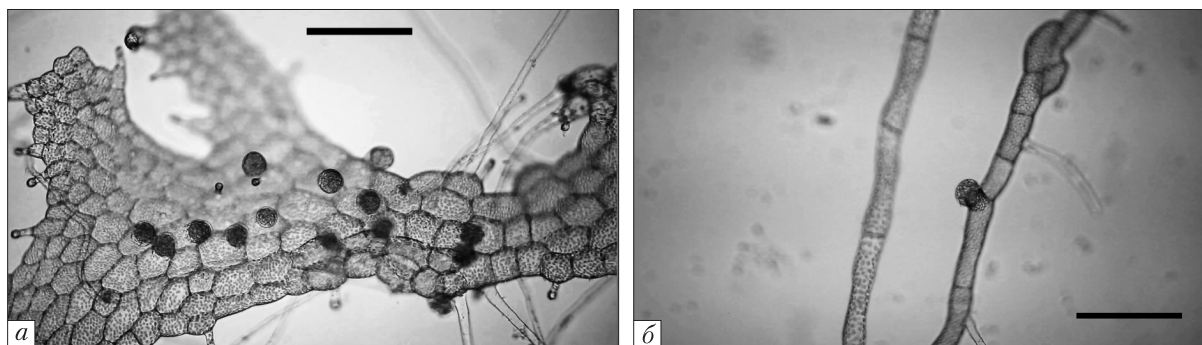


Рис. 3. Розвиток антеридіїв під дією ізопентеніладеніну в концентрації 10^{-7} М на поверхні стрічкоподібного талому (а) та ниткоподібних відростках (б) талому *D. filix-mas*. Масштаб – 200 мкм

розвиток гаметофітів, що виявляється в ранньому формуванні серцеподібного талому, але залежно від ізоформи гормону по-різному впливають на характер деформації та статеву диференціацію. Встановлено, що екзогенні цитокініни активують розвиток і ріст ризоїдів, причому ступінь стимулювання збільшується залежно від концентрації гормонів у живильному середовищі. У попередньому дослідженні нами було проаналізовано вплив БАП на проростання спор та морфогенез гаметофіта *Polystichum aculeatum* [13]. Виявилось, що високі концентрації БАП істотно гальмують проростання спор та сповільнюють розвиток гаметофіта папороті на стадії протонеми за рахунок зняття апікального домінування. За даними інших дослідників, ефект БАП у концентраціях 0,01; 0,1; 1,0 мг/л на проростання спор деревовидної папороті *Alsophila odonelliana* (Alston) Lehnert в культурі *in vitro* був слабовираженим [10]. Значне зменшення розмірів проталія гаметофітів *Ceratopteris richardii* Brongn., пригнічення процесів формування серцеподібного талому та утворення гаметангіїв у *Blechnum spicant* (L.) Sm. були виявлені після екзогенної обробки гаметофітів БАП у мікро-, нано- і субнанолярній концентраціях [8, 12]. Зі збільшенням концентрації кінетину (10^{-8} , 10^{-5} , 10^{-3} М) розміри серцеподібного талому гаметофіта *Osmunda regalis* L. зменшувалися і відбувалася деформація виїмки між його крилами [11]. Водночас БАП, кінетин та іП індукували фотоморфогенез гаметофітів *C. richardii*, вирощених без освітлення [12]. У концентраціях 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-12} М кожний з цих фітогормонів змінював швидкість поділу клітин, сприяв подовженню та диференціації клітин, індукував перехід від нитчастого до проталіального росту, який виникає під дією світла, активував утворення виїмки в апікальній зоні меристеми та ризоїдів у її нижній зоні [12]. Показано, що під час вирощування гаметофіта *A. odonelliana* в культурі *in vitro* БАП, незалежно від його концентрації, впливав на утворення ниткоподібних гаметофітів та сприяв формуванню розгалуженого талому на стадії лопаткоподібного проталія, а в подальшому індукував утворення численних поліферацій талому [10]. Відомо, що БАП та іП індукують розвиток численних пазушних пагонів рослин [15]. А у випадку із гаметофітами папоротей ці гормони активують множинне апікальне домінування меристеми талому.

Результати наших досліджень та аналіз літературних джерел свідчать про те, що екзогенні цитокініни у високих концентраціях спричиняють затримку росту гаметофітів, деформацію таломів та зменшення їхніх розмірів, інгібування розвитку статевих структур.

Зменшення концентрації фітогормонів цитокінінової природи сприяє розвитку гаметофітів, індукує поділ клітин, особливо апікальної зони, що спричиняє появу таломів деформованої форми, активує утворення ризоїдів, проте по-різному впливає на формування антеридіїв та архегоніїв.

Таким чином, уперше досліджено вплив різних концентрацій екзогенних фітогормонів цитокінінової природи: зеатину, кінетину, бензиламінопурину та ізопентеніладеніну на морфогенез гаметофіта папороті *D. filix-mas* на стадіях лопаткоподібного проталія та серцеподібного талому культури *in vitro*. Під дією високих концентрацій цитокінінів сповільнювався розвиток протонеми, утворювалися серцеподібні таломи деформованої форми, повністю пригнічувався розвиток статевих структур. Низькі концентрації цитокінінів сприяли збільшенню кількості клітин проталія і залежно від ізоформи гормону по-різному впливали на деформації серцеподібного талому та статеву диференціацію. Встановлено, що екзогенні цитокініни активують розвиток і ріст ризоїдів, причому ступінь стимулювання збільшується залежно від концентрації гормонів у живильному середовищі. Серед використаних цитокінінів екзогенний іП в усіх концентраціях найінтенсивніше впливав на морфогенез гаметофіта на всіх стадіях розвитку: у найвищій концентрації блокував розвиток протонеми, у найнижчій – розвиток серцеподібного талому. Зеатин у найменших концентраціях стимулював розвиток гаметофітів, мінімізував появу деформацій талому, активував ріст і розвиток численних ризоїдів, пришвидшував появу статевих структур.

Публікація містить результати досліджень, проведених у рамках наукової роботи № III-71-14.431 “Гормональний контроль росту та розвитку спорових рослин (різної таксономічної належності)”, державний реєстраційний номер 0114U002034.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Kosakivska I.V., Babenko L.M., Shcherbatiuk M.M., Vedenicheva N.P., Voytenko L.V., Vasyuk V.A. Phytohormones during growth and development of Polypodiophyta. *Adv. Biol. Earth Sci.* 2016. **1**. P. 26–44.
2. Davies P.J. Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action. Berlin: Springer, 2010. 816 p. doi: <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2686-7>
3. Takeno K., Furuya M. Inhibitory effect of gibberellins on archegonial differentiation in *Lygodium japonicum*. *Physiol. Plant.* 1977. **39**. P. 135–138. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1977.tb04024.x>
4. Swami P., Raghavan V. Control of morphogenesis in the gametophyte of a fern by light and growth hormones. *Can. J. Bot.* 1980. **58**. P. 1464–1473. doi: <https://doi.org/10.1139/b80-179>
5. Kaźmierczak A. Induction of cell division and cell expansion at the beginning of gibberellin A3-induced precocious antheridia formation in *Anemia phyllitidis* gametophytes. *Plant Sci.* 2003. **165**. P. 933–939. doi: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00217-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00217-6)
6. Camloh M., Ravnikar M., Zel, J. Jasmonic acid promotes division of fern protoplasts, elongation of rhizoids and early development of gametophytes. *Physiol. Plant.* 1996. **97**. P. 659–664. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00529.x>
7. Kwa S.H., Wee Y.C., Lim T.M., Kumar P.P. IAA-induced apogamy in *Platyserium coronarium* (Koenig) Desv. gametophytes cultured in vitro. *Plant Cell Rep.* 1995. **14**. P. 598–602. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00231946>
8. Menéndez V., Revilla M.A., Fal M.A., Fernández H. The effect of cytokinins on growth and sexual organ development in the gametophyte of *Blechnum spicant* L. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2009. **96**. P. 245–250. doi: <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9481-y>
9. Веденичова Н.П., Косаківська І.В. Цитокініни як регулятори онтогенезу рослин за різних умов зростання. Київ: Наш формат, 2017. 200 с.
10. Bonomo M.C., Martínez O.G., Tanco M.E., Cardozo R., Avilés Z. Spores germination and gametophytes of *Alsophila odonelliana* (Cyatheaceae) in different sterile media. *Phyton (Buenos Aires)*. 2013. **82**. P. 119–126.

11. Greer G.K., Dietrich M.A., DeVol J.A., Rebert A. The effects of exogenous cytokinin on the morphology and gender expression of *Osmunda regalis* gametophytes. *Amer. Fern J.* 2012. **102**. P. 32–46. doi: <https://doi.org/10.1640/0002-8444-102.1.32>
12. Spiro M.D., Torabi B., Cornell C.N. Cytokinins induce photomorphogenic development in dark-grown gametophytes of *Ceratopteris richardii*. *Plant Cell Physiol.* 2004. **45**. P. 1252–1260. doi: <https://doi.org/10.1093/pcp/pch146>
13. Babenko L.M., Romanenko K.O., Shcherbatiuk M.M., Vasheka O.V., Romanenko P.O., Negretsky V.A., Kosakivska I.V. Effects of exogenous phytohormones on spore germination and morphogenesis of *Polystichum aculeatum* (L.) Roth gametophyte in vitro culture. *Cytol. Genet.* 2018. **52**. P. 117–126. doi: <https://doi.org/10.3103/S0095452718020032>
14. Nayar B.K., Kaur S. Gametophytes of Homosporous Ferns. *Bot. Rev.* 1971. **37**. P. 295–396.
15. Gaba V. Plant growth regulators in plant tissue culture and development. *Plant tissue culture, development, and biotechnology*. CRC Press, 2005. P. 87–99.

Надійшло до редакції 21.06.2018

REFERENCES

1. Kosakivska, I. V., Babenko, L. M., Shcherbatiuk, M. M., Vedenicheva, N. P., Voytenko, L. V. & Vasyuk, V. A. (2016). Phytohormones during growth and development of Polypodiophyta. *Adv. Biol. Earth Sci.*, 1, pp. 26-44.
2. Davies, P. J. (2010). *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action*. Berlin: Springer. doi: <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2686-7>
3. Takeno, K. & Furuya, M. (1977). Inhibitory effect of gibberellins on archegonial differentiation in *Lygodium japonicum*. *Physiol. Plant.*, 39, pp. 135-138. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1977.tb04024.x>
4. Swami, P. & Raghavan, V. (1980). Control of morphogenesis in the gametophyte of a fern by light and growth hormones. *Can. J. Bot.*, 58, pp. 1464-1473. doi: <https://doi.org/10.1139/b80-179>
5. Kaźmierczak, A. (2003). Induction of cell division and cell expansion at the beginning of gibberellin A3-induced precocious antheridia formation in *Anemia phyllitidis* gametophytes. *Plant Sci.*, 165, pp. 933-939. doi: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00217-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00217-6)
6. Camloh, M., Ravnkar, M. & Zel, J. (1996). Jasmonic acid promotes division of fern protoplasts, elongation of rhizoids and early development of gametophytes. *Physiol. Plant.*, 97, pp. 659-664. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00529.x>
7. Kwa, S. H., We, e Y. C., Lim, T. M. & Kumar, P. P. (1995). IAA-induced apogamy in *Platyserium coronarium* (Koenig) Desv. gametophytes cultured in vitro. *Plant Cell Rep.*, 14, pp. 598-602. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00231946>
8. Menéndez, V., Revilla, M. A., Fal, M. A. & Fernández, H. (2009). The effect of cytokinins on growth and sexual organ development in the gametophyte of *Blechnum spicant* L. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.*, 96, pp. 245-250. doi: <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9481-y>
9. Vedenicheva, N. P. & Kosakivska, I. V. (2017). Cytokinins as regulators of plant ontogenesis under different growth conditions. Kiev: Nash Format (in Ukrainian).
10. Bonomo, M. C., Martínez, O. G., Tanco, M. E., Cardozo, R. & Avilés, Z. (2013). Spores germination and gametophytes of *Alsophila odonelliana* (Cyatheaceae) in different sterile media. *Phyton (Buenos Aires)*, 82, pp. 119-126.
11. Greer, G. K., Dietrich, M. A., DeVol, J. A. & Rebert, A. (2012). The effects of exogenous cytokinin on the morphology and gender expression of *Osmunda regalis* gametophytes. *Amer. Fern J.*, 102, pp. 32-46. doi: <https://doi.org/10.1640/0002-8444-102.1.32>
12. Spiro, M. D., Torabi, B. & Cornell, C. N. (2004). Cytokinins induce photomorphogenic development in dark-grown gametophytes of *Ceratopteris richardii*. *Plant Cell Physiol.*, 45, pp. 1252-1260. doi: <https://doi.org/10.1093/pcp/pch146>
13. Babenko, L. M., Romanenko, K. O., Shcherbatiuk, M. M., Vasheka, O. V., Romanenko, P. O., Negretsky, V. A. & Kosakivska, I. V. (2018). Effects of exogenous phytohormones on spore germination and morphogenesis of *Polystichum aculeatum* (L.) Roth gametophyte in vitro culture. *Cytol. Genet.*, 52, pp. 117-126. doi: <https://doi.org/10.3103/S0095452718020032>

14. Nayar, B. K. & Kaur, S. (1971). Gametophytes of Homosporous Ferns. Bot. Rev., 37, pp. 295-396.
15. Gaba, V. (2005). Plant growth regulators in plant tissue culture and development. In Plant tissue culture, development, and biotechnology (pp. 87-99.), CRC Press.

Received 21.06.2018

Е.А. Романенко¹, Л.М. Бабенко¹, Е.В. Вашека²,
П.А. Романенко², И.В. Косаковская¹

¹ Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев

² УНЦ “Институт биологии и медицины” Киевского национального университета
им. Тараса Шевченко, Киев

E-mail: katerynaromanenko4@gmail.com

ФИТОГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РАЗВИТИЯ ГАМЕТОФИТА *DRYOPTERIS FILIX-MAS* (L.) SCHOTT В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Исследовано влияние экзогенных фитогормонов цитокининовой природы: кинетина, зеатина, 6-бензил-аминопурина, N⁶-2-изопентениладенина на морфологию и особенности роста гаметофита *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott в культуре *in vitro*. Установлено, что в концентрации 10⁻⁵ М все исследованные цитокинины задерживали рост гаметофита, вызывали деформацию и уменьшение размеров таллома, подавляли развитие половых структур и рост спорофита. Уменьшение концентрации гормонов до 10⁻⁸ М стимулировало развитие гаметофита, индуцировало деление клеток, особенно в апикальной зоне, вследствие чего происходила деформация талломов, активировало образование ризоидов, влияло на формирование антеридиев и архегониев и задерживало развитие спорофита.

Ключевые слова: *Dryopteris filix-mas*, гаметофит, споры, проталий, талом, цитокинины, кинетин, зеатин, 6-бензиламинопурин, N⁶-2-изопентениладенин.

К.О. Романенко¹, Л.М. Бабенко¹, О.В. Вашека²,
П.О. Романенко², И.В. Косаківська¹

¹ M.G. Kholodny Institute of Botany of the NAS of Ukraine, Kiev

² Institute of Biology and Medicine of Taras Shevchenko National University of Kiev

E-mail: katerynaromanenko4@gmail.com

PHYTOHORMONAL REGULATION OF THE DEVELOPMENT OF *DRYOPTERIS FILIX-MAS* (L.) SCHOTT GAMETOPHYTE *IN VITRO* CULTURE

Effects of exogenous cytokinin phytohormones such as kinetin, zeatin, 6-benzylaminopurine, and N⁶-2-isopentenyladenine on the gametophyte morphology and growth features of *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott *in vitro* culture have been studied. It is established that, at the concentration of 10⁻⁵ M, all studied cytokinins inhibit the gametophyte growth, cause deformations and changes in the thallus size, and suppress the development of reproductive structures and sporophyte growth. Reduction of the hormone concentration to 10⁻⁸ M stimulates the gametophyte development, induces cell divisions, particularly in the apical zone, due to which some of thalli are deformed, promotes the production of rhizoids, affects the formation of antheridia and archegonia, and slows the sporophyte development.

Keywords: *Dryopteris filix-mas*, gametophyte, spores, prothallium, thallus, cytokinins, kinetin, zeatin, 6-benzylaminopurine, N⁶-2-isopentenyladenine.