

СТРЕС-ІНДУКОВАНІ РЕАКЦІЇ МОХІВ НА ПЕРІОДИЧНЕ КОРОТКОЧАСНЕ І ТРИВАЛЕ ВИСУШУВАННЯ ЗАЛЕЖНО ВІД ВОДНОГО РЕЖИМУ ЇХНІХ МІСЦЕВИРОСТАНЬ

О. Лобачевська

Інститут екології Карпат НАН України
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна
e-mail: ecobryologia@gmail.com

Мохоподібні – це пойкилогідричні вищі рослини, вміст води та метаболічна активність яких залежить від водного режиму навколишнього середовища. Метою дослідження було встановити особливості стрес-індукованих реакцій мохів у контрольованих умовах короткочасного і тривалого висушування залежно від водного режиму їхніх місцевиростань. Для дослідження впливу періодичного висушування використовували культуру пагонів мохів одного віку зі середовищ з однаковим рівнем відносної вологості. Дегідратацію здійснювали протягом 24 год, знімаючи поліетиленове накриття з горшечків із культурою мохів. У варіанті досліду з короткочасним висушуванням полив здійснювали двічі на тиждень: одразу після закінчення 24-годинної дегідратації та на 3-й день після висушування. У варіанті з тривалим висушуванням мохи після дегідратації поливали 1 раз на тиждень – на 3-й день після висушування. Рослини контролю обприскували двічі на тиждень. На підставі аналізу морфометричних параметрів *Barbula unguiculata* Hedw. і *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp. встановлено значне зменшення показників розмірів пагонів, листків і зростання щільності мохових дернинок під впливом тривалого й короткочасного висушування. У моху *Weissia longifolia* Mitt. тривале висушування спричинило незначне збільшення розмірів листків і видовження пагонів, порівняно з контролем і короткочасним висушуванням, при цьому воно активувало утворення хлоронемних дендродів, що засвідчило його найбільшу пристосованість і адаптаційну здатність до періодичних змін вологості. Встановлено вищу чутливість пігментної системи *B. unguiculata* та *P. patens* до висушування, порівняно з *W. longifolia*. Виявлено, що в пігментній системі гігромезофітного моху *P. patens* визначальна роль належить хлорофілу *b* та феофітину *b*, тоді як оптимальне функціонування асиміляційного комплексу ксеромезофітного моху *B. unguiculata* залежить від хлорофілу *a* та феофітину *a*, у ксерофіта *W. longifolia* – завдяки стійкості хлорофілу *a* та міцності зв'язку каротиноїдів із білковими комплексами пігментної системи. Визначено залежність компонентного складу пігментного апарату, міцності зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК), активності хлорофілази та загального вмісту вуглеводів досліджуваних мохів від тривалості висушування та їхніх видових особливостей.

Ключові слова: висушування, пігментна система, хлорофілаза, карбогідрати, мохи

Мохоподібні є представниками пойкилогідричної стратегії адаптації до нестачі води на суші [13, 16, 28]. Будучи одними з нащадків перших наземних рослин, вони є зручною моделлю для з'ясування механізмів стійкості до висушування вегетативних органів і вивчення стрес-індукованих клітинних процесів [22, 23, 32]. Толерантність до десикації, швидше за все, виникла як важливе і необхідне пристосування рослин під час переходу з води на сушу. І все ж таки мохоподібні залишаються майже унікальними у своїй стійкості до висушування у вегетативному стані, яку зберегли внаслідок зниження рівня загального

метаболізму та здатності припиняти його за відсутності води. Їхня здатність відновлюватися після зневоднення зазвичай залежить від водного режиму середовища існування. Зокрема, водні види бріофітів можуть витримувати незначну втрату води, уникаючи пошкодження, та швидко відновлювати фотосинтез, тоді як мохоподібні з посушливих місцевиростань зберігають життєдіяльність після тривалих періодів висушування [15, 29, 31].

У ксерофітних видів мохів, як правило, короткий життєвий цикл, їхня життєва стратегія адаптована до нетривалого періоду опадів. Іноді нічна роса для них – єдине джерело води. За швидкої втрати вологи протягом дня проявляються механізми конститутивної стійкості до висушування, але принаймні деяким мохоподібним також властива індукційна толерантність до десикації. Встановлено, що висушування і регідратація мохів значно збільшують потоки поживних речовин і впливають на перетворення та зберігання Карбону й Нітрогену в екосистемах [27].

Установлено, що швидкість і тривалість висушування є важливими умовами для успішного відновлення після втрати води [12, 17, 18, 28]. Толерантність мохоподібних до конститутивної десикації забезпечує відновлення після повільного висихання і здатність використовувати індукційну систему захисту проти ефектів швидкого висушування. Так, мох *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F. Weber & Mohr з місцевиростань з високою інтенсивністю світла має більшу толерантність до висушування, ніж рослини, вирощені в тіні, зі значно тривалішими періодами метаболічної активності [16, 28, 30]. Вивчення екологічної стратегії стійкості бріофітів до висушування є важливим, адже дає змогу з'ясувати механізми посухостійкості та генетичного конструювання толерантних до висушування культурних рослин [31]. Пігментна система мохів надзвичайно чутлива до зміни екологічних умов середовища, насамперед вологості [19, 24]. Дослідження кількісних і якісних змін пігментів пластид, метаболізму хлорофілу, міцності ПБК та забезпечення стабільності клітинних мембран мохів в умовах втрати води дає уявлення про пластичність їхніх обмінних процесів, виявляє ступінь пристосованості окремих видів до мінливих умов існування [16, 33]. З огляду на це, метою дослідження було встановити адаптивні стрес-реакції мохів в умовах короткочасного і тривалого висушування залежно від водного режиму їхніх місцевиростань.

Матеріали та методи

Для визначення особливостей конститутивних та індукованих морфологічних пристосувань досліджено види мохів, які відрізнялися за життєвою стратегією, життєвою формою та відношенням до водного режиму їхніх місцевиростань, до впливу короткочасного і тривалого висушування. Гігромезофітний мох *P. patens* (за життєвою стратегією однорічний човник) і ксеромезофіт *B. unguiculata* (зі стратегією поселенець) у природних умовах утворюють низьку пухку дернинку. Ксерофіт *W. longifolia* є представником мохів зі стратегією багаторічних човників і життєвою формою щільна низька дернинка.

Для дослідження впливу періодичного висушування стерильні культури мохів вирощували зі спор на агаризованому середовищі в контрольованих умовах освітлення (2,0–2,2 тис. лк), температури (20–22,5 °C), вологості (90–95 %) і в 16-годинному світловому режимі. За 3 місяці односпорові гаметофори моху пересаджували на стерильний пісок у горщиках. Таким чином, використовували культуру пагонів одного віку, вирощену на агаризованому середовищі з однаковим рівнем вологості. Поливали рослини двічі на тиждень, обприскуючи розчином Кюпа з мікроелементами [20], розведеним у концентрації 1:5. Через 6 тижнів вирощування культур у люмінестаті розпочинали почергове висушування їх і полив. Накриття з горщечків із рослинами контролю знімали тільки двічі на тиждень

під час обприскування. Дегідратацію здійснювали протягом 24 год, знімаючи поліетиленове накриття з горщечків із культурою мохів. У варіанті досліду з короткочасним (24 год) висушуванням полив здійснювали двічі на тиждень: одразу після закінчення 24-годинної дегідратації та на 3-й день після неї. У варіанті з тривалим (96 год) висушуванням після 24 год дегідратації горщечки накривали і поливали рослини 1 раз на тиждень – на 3-й день після висушування. Тривалість експерименту – 12 тижнів.

Після завершення експерименту з періодичним висушуванням здійснювали морфометричний аналіз рослин. Вимірювання довжини пагонів, розмірів клітин, листків і їхньої кількості на стеблі виконували на моторизованому мікроскопі Axio Imager M1 (Carl Zeiss). Вміст фотосинтетичних пігментів у пагонах мохів вимірювали за методом Г. Хольма та Д. Ветштейна [7]. Міцність пігмент-білкових комплексів розраховували, порівнюючи екстракти пігментів 100 % і 60 % ацетоном [8]. Вміст феофітинів визначали спектрофотометрично після феофітинізації хлорофіловмісних екстрактів 25 % HCl [9]. Визначення активності хлорофілази проводили методом розділення фітольних і безфітольних пігментів [2]. Загальну концентрацію вуглеводів установлювали фенолсульфатним методом після кислотного гідролізу проб [26]. Для статистичного опрацювання отриманих результатів використовували програми “Excel” і “Statistica”, вірогідність різниці між варіантами оцінювали за критерієм Стьюдента ($p \leq 0,05$ та $p \leq 0,01$) [11].

Результати і їхнє обговорення

На підставі аналізу морфометричних параметрів *B. unguiculata* і *P. patens* встановлено достовірне зменшення показників розмірів пагонів і листків та зростання щільності мохових дернинок під впливом короткочасного й тривалого висушування (рис. 1, 2). У *P. patens* довжина пагонів ($1,7 \pm 0,1$ см у контролі) зменшувалася на 18 % за короткочасного висушування та на 35 % унаслідок тривалої втрати вологи. Розміри листків зазнавали незначних змін під впливом короткого періоду висушування, а під впливом тривалого – розміри ($2,0 \pm 0,1$ мм) та їхня кількість ($30,5 \pm 3,5$ шт.) зменшувалися, порівняно з контролем, в 1,3 і 1,5 рази, відповідно. Істотно змінився характер галуження верхівки пагонів: у контролі утворювалося 3–4 бічні гілки до 1,0–1,2 см завдовжки, у варіантах досліду з короткочасним висушуванням зафіксовано переважно по 3 коротших бічних гілки (до 0,6 см). У разі тривалого висушування на верхівках пагонів виявлено поряд із дрібними гілками (0,2–0,5 см) численну кількість відмерлих бруньок, що свідчить про наявність адаптивних змін в апексі пагонів, де найактивніше відбувається “загартовування” до тривалої втрати вологи і відбір, очевидно, найстійкіших їхніх зачатків.

Відомо, що апекс пагона мохів стійкіший до висушування, ніж його нижні листки [25]. Раніше нами встановлено, що у бокоспорогонного моху *Brachythecium glareosum* (Bruch ex Spruce) Schimp. верхівки пагонів залишалися непошкодженими навіть після тривалого висушування та регенерували [5]. Високий рівень толерантності до висушування апексу пагонів моху пов’язували з ефектом «губки», який сприяв зменшенню втрати води [33].

Довжина пагонів і розміри листків *B. unguiculata* неістотно зменшувалися під впливом різної тривалості висушування, порівняно з контролем (довжина пагонів $2,0 \pm 0,2$ см, розміри листків $2,5 \times 0,1$ мм). За короткого висушування розміри пагонів і листків були меншими в 1,2 рази та за тривалого – в 1,3 і 1,4 рази відповідно (рис. 1). На відміну від гігромезофітного моху *P. Patens*, у ксеромезофіта *B. unguiculata* тривале висушування посилювало галуження верхівок пагонів, очевидно, для збільшення біомаси пагонів і водоутримувальної здатності щільніших дернин (рис. 2; табл. 1).

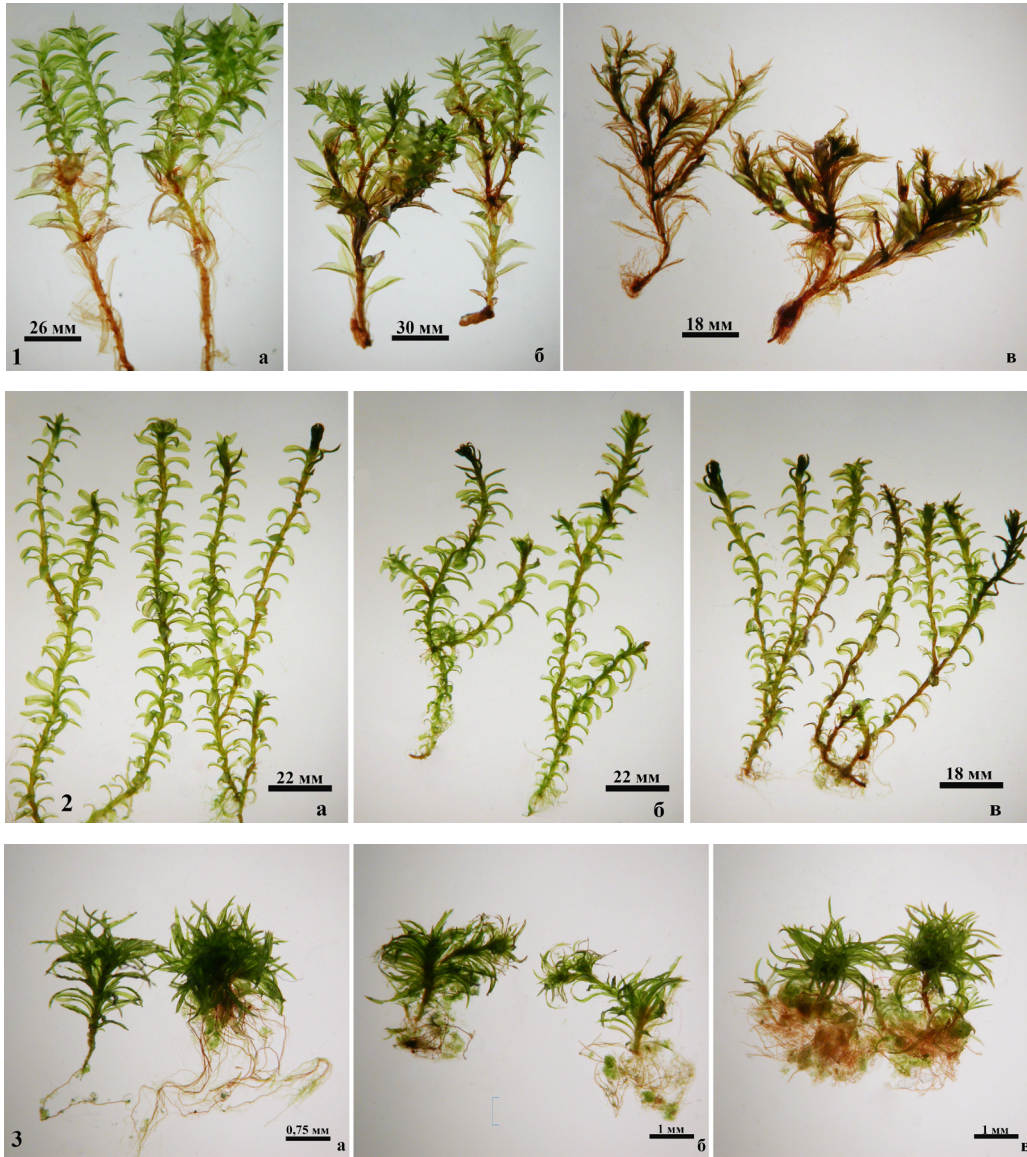


Рис. 1. Пагони *P. patens* (1), *B. unguiculata* (2) та *W. longifolia* (3) після періодичного впливу короткочасного (КВ) і тривалого висушування (ТВ): а – контроль; б – КВ (24 год); в – ТВ (96 год). Культуру всіх видів мохів вирощували в люмінестаті, в контрольованих умовах: фотоперіоду – 16 год, освітлення – $70 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{сек}^{-1}$, температури – $20\text{--}22 \text{ }^\circ\text{C}$, вологості – $90\text{--}95 \%$. Тривалість експерименту 12 тижнів

Fig. 1. Shoots of *P. patens* (1), *B. unguiculata* (2) and *W. longifolia* (3) after periodic effect of short-term (SD) and long-term drying (LD): a – control; b – SD (24 h); c – LD (96 h). The culture of all moss species was grown in a luminostat, under controlled conditions: photoperiod – 16 h, illumination – $70 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$, temperature – $20\text{--}22 \text{ }^\circ\text{C}$, humidity – $90\text{--}95 \%$. The duration of the experiment is 12 weeks

Таблиця 1

Вплив короткочасного 24 год (КВ) і тривалого 96 год (ТВ) висушування на розміри пагонів і листків у *P. patens*, *B. unguiculata* та *W. longifolia*.

Культуру мохів вирощували в люмінестаті, в контрольованих умовах: фотоперіоду – 16 год, освітлення – $70 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{сек}^{-1}$, температури – $20\text{--}22^\circ\text{C}$, вологості – 90–95 %. Тривалість експерименту 12 тижнів

The influence of short-term 24 h (SD) and long-term 96 h (LD) drying on the sizes of shoots and leaves of *P. patens*, *B. unguiculata* and *W. longifolia*. The culture of mosses was grown in a luminostat, under controlled conditions: photoperiod – 16 h, illumination – $70 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{сек}^{-1}$, temperature – $20\text{--}22^\circ\text{C}$, humidity – 90–95 %.

The duration of the experiment is 12 weeks

Тривалість висушування	Довжина пагона, см	Кількість листків на пагоні, шт.	Довжина листка, мм	Ширина листка, мм
<i>P. patens</i>				
Контроль	$1,70 \pm 0,10$	$30,5 \pm 3,5$	$2,0 \pm 0,1$	$0,45 \pm 0,01$
КВ (24 год)	$1,39 \pm 0,18$	$28,7 \pm 2,9$	$1,8 \pm 0,4$	$0,37 \pm 0,01^*$
ТВ (96 год)	$1,10 \pm 0,07^{**}$	$20,8 \pm 3,2^*$	$1,5 \pm 0,2^*$	$0,30 \pm 0,02^{**}$
<i>B. unguiculata</i>				
Контроль	$2,03 \pm 0,20$	$74,4 \pm 6,0$	$2,5 \pm 0,1$	$0,50 \pm 0,01$
КВ (24 год)	$1,69 \pm 0,19$	$62,3 \pm 4,5$	$2,1 \pm 0,3$	$0,47 \pm 0,01^*$
ТВ (96 год)	$1,53 \pm 0,11^*$	$54,6 \pm 5,8^*$	$1,8 \pm 0,2^{**}$	$0,45 \pm 0,02^*$
<i>W. longifolia</i>				
Контроль	$0,38 \pm 0,02$	$32,5 \pm 2,6$	$2,0 \pm 0,1$	$0,02 \pm 0,001$
КВ (24 год)	$0,30 \pm 0,03^*$	$24,4 \pm 3,0^*$	$1,5 \pm 0,2^*$	$0,02 \pm 0,001$
ТВ (96 год)	$0,37 \pm 0,01$	$29,0 \pm 3,5$	$1,7 \pm 0,3$	$0,01 \pm 0,001$

Примітка: * – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю статистично достовірна за $p < 0,05$; ** – за $p < 0,01$

Note: * – the difference between samples of the same species compared to control indicators is statistically reliable at $p < 0.05$; ** – at $p < 0.01$

У ксерофітного моху *W. longifolia* під впливом короткочасного висушування визначено достовірне зменшення морфометричних показників пагонів і довжини листків. Навпаки, тривале висушування спричиняло незначне збільшення розмірів листків і видоуження пагонів, порівняно з короткочасним висушуванням, при цьому значно активувало утворення хлоронемних дендроїдів (табл. 1; рис. 1). Розвиток ортотропних ниток зеленої розгалуженої хлоронеми на червоно-коричневих столонах каулонями, що росте плагіотропно, А. С. Лазаренко оцінив як адаптацію протонеми моху до аридного клімату [6]. Так, у контролі довжина пагонів була $0,38 \pm 0,02$ см, за короткого висушування – $0,30 \pm 0,03$ см і тривалого – $0,37 \pm 0,01$ см. Тенденція мінливості розміру листків залежно від тривалості висушування зберігалася: контроль – $2,0\text{--}2,1 \times 0,02\text{--}0,021$ мм, коротке висушування – $1,5\text{--}1,7 \times 0,02\text{--}0,021$ мм і тривале – $1,7\text{--}2,0 \times 0,01\text{--}0,011$ мм (табл. 1). Очевидно, дослід із тривалим періодом висушування культури максимально відповідає природним умовам місцевості посухостійкого моху *W. longifolia* та свідчить про його найбільшу пристосованість і здатність адаптуватися до таких змін. Після періодичного тривалого висушування пагони моху були яскраво-зеленого кольору й утворювали щільний моховий покрив на горщечку, тоді як у пухких дернинах *P. patens* і *B. unguiculata* пагони мали хлорозні й некротичні пошкодження (рис. 2).

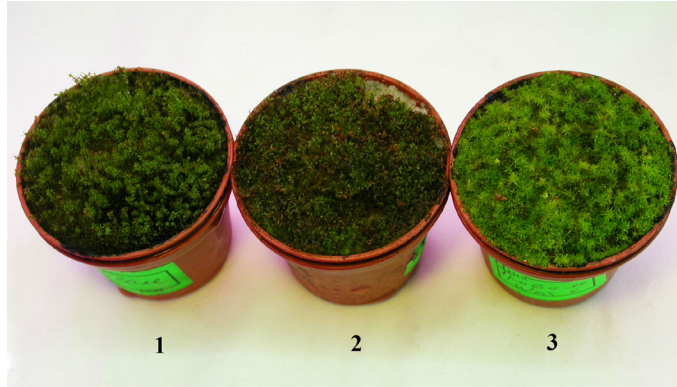


Рис. 2. Культура мохів після періодичного тривалого (96 год) висушування: 1 – *B. unguiculata*; 2 – *P. patens*; 3 – *W. longifolia*. Мохи вирощували в люмінестаті, в контрольованих умовах: фотоперіоду – 16 год, освітлення – $70 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$, температури – $20\text{--}22 \text{ }^\circ\text{C}$, вологості – $90\text{--}95 \%$. Тривалість експерименту 12 тижнів

Fig. 2. Culture of mosses after periodic long-term (96 h) drying: 1 – *B. unguiculata*; 2 – *P. patens*; 3 – *W. longifolia*. Mosses were grown in a luminstat, under controlled conditions: photoperiod – 16 h, illumination – $70 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$, temperature – $20\text{--}22 \text{ }^\circ\text{C}$, humidity – $90\text{--}95 \%$. The duration of the experiment is 12 weeks

Вміст пігментів і їхнє співвідношення є ознаками потенційної стійкості рослин до стресу, важливими показниками для визначення механізмів їхньої адаптації до умов місцевиростань і з'ясування еволюційних шляхів становлення фотосинтетичної системи [16, 19, 21]. Установлено, що під впливом висушування у *P. patens* знижувався вміст хлорофілу *a* (хл *a*) та зростав вміст хлорофілу *b* (хл *b*). Співвідношення хл *a/b* (1,3) у *B. unguiculata* зменшувалося майже в 1,85 разу під впливом як короткочасного, так і тривалого висушування, для *P. patens* (хл *a/b* = 2,1) істотне зменшення (в 1,9 разу) відзначено лише під впливом тривалого висушування. У дернинах *W. longifolia* вміст хл *a* та *b* неістотно знижувався під впливом короткочасного висушування, а в умовах тривалої нестачі вологи виявлено незначне підвищення вмісту хл *b* до $1,02 \text{ мг/г}$ маси с. р., порівняно з контролем (табл. 2).

Зменшення співвідношення хл *a/b* є проявом адаптації та захисту функціонування фотосинтетичної системи в умовах нестабільного гідротермічного режиму середовища. На відміну від хл *a*, який забезпечує фотосинтетичну активність і сприяє синтезу більшої кількості органічної речовини, хл *b* є значно стійкішим до несприятливих умов і завдяки своїй специфічній просторовій організації стабілізує пігментну систему, зміцнюючи хлорофіл-білкові комплекси (ХБК) [16, 19, 24].

Отже, в умовах лабораторної культури досліджувані види мохів здебільшого виявляли фізіологічні ознаки фотосинтезу тіневитривалих рослин, оскільки для них визначено низькі співвідношення хлорофілів *a/b* та високі показники співвідношення хлорофілів/каротиноїдів [16]. До вищої інтенсивності дефіциту вологи рослини *P. patens* і *B. unguiculata* пристосовувалися переважно за рахунок стабільного антиоксидантного захисту каротиноїдів і підвищення вмісту хл *b* – світлозбирального пігменту антенних комплексів, що компенсувало зниження вмісту хл *a* і забезпечувало підвищення ефективності поглинання світла [19]. Мабуть, конститутивна толерантність ксерофітного моху *W. longifolia* виявлялася насамперед у стійкості синтезу його хлорофілів (табл. 2; рис. 1).

Таблиця 2

Мінливість показників вмісту фотосинтетичних пігментів і їхнє співвідношення у пагонах *P. patens*, *B. unguiculata* і *W. longifolia* в умовах короткочасного (КВ) і тривалого (ТВ) висушування ($M \pm m$; $n=5$)

Variability of the content of photosynthetic pigments and their ratio in the shoots of *P. patens*, *B. unguiculata* and *W. longifolia* under conditions of short-term (KB) and long-term (TV) drying ($M \pm m$; $n=5$)

Висушування	Хлорофіл <i>a</i> , мг/г с. м.	Хлорофіл <i>b</i> , мг/г с. м.	Хлорофіли <i>a+b</i> , мг/г с. м.	Хлорофіл <i>a/b</i>	Каротиноїди, мг/г с. м.	Хлорофіли/Каротиноїди
<i>P. patens</i>						
Контроль	1,92 ± 0,09	0,92 ± 0,05	2,83 ± 0,04	2,09	0,55 ± 0,09	5,14
КВ	1,75 ± 0,07	0,94 ± 0,09	2,68 ± 0,05*	1,86	0,53 ± 0,07	5,06
ТВ	1,38 ± 0,08**	1,24 ± 0,09**	2,62 ± 0,03**	1,11	0,54 ± 0,09	4,85
<i>B. unguiculata</i>						
Контроль	1,96 ± 0,04	1,51 ± 0,05	3,47 ± 0,03	1,30	0,44 ± 0,05	7,89
КВ	0,64 ± 0,03**	0,91 ± 0,09**	1,55 ± 0,03**	0,70	0,44 ± 0,08	3,52
ТВ	0,78 ± 0,07**	1,16 ± 0,07**	1,94 ± 0,05**	0,67	0,41 ± 0,09	4,73
<i>W. longifolia</i>						
Контроль	2,00 ± 0,05	0,91 ± 0,04	2,92 ± 0,04	2,19	0,53 ± 0,03	5,51
КВ	1,98 ± 0,06	0,78 ± 0,05	2,76 ± 0,07	2,56	0,46 ± 0,05	6,00
ТВ	1,93 ± 0,08	1,02 ± 0,09	2,95 ± 0,07	1,89	0,31 ± 0,08**	7,97

Примітка: * – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю статистично достовірна за $p < 0,05$; ** – за $p < 0,01$

Note: * – the difference between samples of the same species compared to control indicators is statistically reliable at $p < 0.05$; ** – at $p < 0.01$

Значну частину пігментного фонду мохів становлять феофітини – це хлорофіли без Mg^{2+} , що утворюються внаслідок деградації хлорофілів і є першими акцепторами електронів у фотосистемі II [1, 3]. Максимальні показники конверсії хлорофілів (до 166,67 %) у феофітини встановлено для *B. unguiculata*, особливо хл *a*, які зростали зі збільшенням тривалості висушування. Значно більші показники конверсії хл *b* у феофітин *b*, порівняно з хл *a*, виявлено для пагонів *P. patens*, у яких вміст феофітинів *b* зростав під впливом тривалого висушування, зокрема, від 0,60 мг/г маси с. р. у контролі до 0,78 мг/г маси с. р. Аналогічні зміни виявлено і для *W. longifolia*, під впливом тривалого висушування встановлено достовірне збільшення вмісту феофітину *b* і показників його конверсії (табл. 3).

Отримані нами результати вказують на те, що висушування спричиняло зміни вмісту феофітинів у мохів залежно від вмісту хлорофілів і їхнього співвідношення. Стрес у пагонах, індукований втратою вологи, призводив до зниження вмісту одного з хлорофілів і до протилежної зміни вмісту феофітинів. Дослідження І. Бойко зі співавторами [1] показали підвищення вмісту феофітинів щодо контролю в листках пшениці й кукурудзи за дії іонів кадмію. Залежність між вмістом хлорофілів і феофітинів, насамперед для хлорофілу *a*, встановлено і у рослинах гречки *Fagopyrum esculentum* Moench. під впливом кадмію хлориду [3]. Отже, вміст феофітинів може бути важливою індикаційною ознакою рослинного організму на дію стресора, зокрема, на дію висушування.

Результати визначення міцності зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК) у пагонах мохів свідчать про дестабілізацію конформації пігментів на мембранах тилакоїдів досліджуваних мохів, оскільки їхня функціональна активність залежить від міцності гідрофобної взаємодії з білковоліпідним комплексом мембран (табл. 3). Показники міцності зв'язку хл *a* і *b* та каротиноїдів із ліпопротеїдними компонентами мембран *B. unguiculata*

істотно зменшувалися зі збільшенням нестачі вологи, зокрема, хл *b*, від 62,21 % у контролі до 47,27 % під впливом тривалого висушування. У *P. patens* показники були менш варіабельними, ніж у *B. unguiculata*, крім того, встановлено незначне зміцнення комплексів хл *b* за тривалого стресу. Стабільність показників стійкості ПБК відзначено для *W. longifolia*, насамперед міцності зв'язку каротиноїдів (від 91,10 % до 87,28 %), що забезпечувало блокування вільних радикалів і захист молекул хлорофілу від фотоокиснення.

Отримані результати вказують на вищу чутливість пігментної системи *B. unguiculata* та *P. patens* до висушування, порівняно з *W. longifolia*. Для *B. unguiculata* встановлено достовірне зменшення міцності ПБК для хл *b*, що може свідчити про більшу вразливість світлозбиральних комплексів фотосистеми II, тоді як виявлене для *P. patens* істотне послаблення міцності ПБК для хл *a* може бути проявом більшої чутливості антенних комплексів фотосистеми I. Для *W. longifolia* встановлено як стійкість до короткочасного висушування, так і здатність адаптуватися до тривалої нестачі вологи за всіма досліджуваними морфологічними показниками.

Таблиця 3

Вплив короткочасного (КВ) і тривалого (ТВ) висушування на деструкцію хлорофілів і міцність зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК) у пагонах *P. patens*, *B. unguiculata* і *W. longifolia* (M±m; n=5)

The influence of short-term (SD) and long-term (LD) drying on the destruction of chlorophylls and the strength of the bond of pigment-protein complexes (PPC) in the shoots of *P. patens*, *B. unguiculata* and *W. longifolia* (M±m; n=5)

Висушування	Вміст, мг/г с. м.		Показник конверсії, %		Міцність зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК), %		
	феофітин <i>a</i>	феофітин <i>b</i>	хлорофілу <i>a</i> у феофітин	хлорофілу <i>b</i> у феофітин	хлорофілу <i>a</i>	хлорофілу <i>b</i>	каротиноїдів
<i>P. patens</i>							
К	0,49 ± 0,05	0,60 ± 0,04	25,52 ± 1,71	57,39 ± 5,17	69,34 ± 5,13	71,14 ± 3,32	48,66 ± 4,14
КВ	0,37 ± 0,07	0,64 ± 0,04	21,14 ± 1,90	68,08 ± 6,03	54,61 ± 3,32*	74,21 ± 5,11	52,84 ± 4,89
ТВ	0,24 ± 0,07*	0,78 ± 0,04*	24,64 ± 1,99	74,84 ± 4,03*	51,23 ± 4,10*	87,59 ± 3,22*	55,73 ± 5,03
<i>B. unguiculata</i>							
К	1,07 ± 0,03	0,79 ± 0,04	54,59 ± 3,21	52,32 ± 3,61	82,32 ± 4,86	62,21 ± 4,32	92,53 ± 5,67
КВ	0,65 ± 0,09**	0,52 ± 0,05**	101,56 ± 5,67**	57,14 ± 4,02	79,37 ± 6,90	45,90 ± 3,87*	47,17 ± 3,42**
ТВ	1,30 ± 0,07*	0,82 ± 0,07	166,67 ± 9,52**	70,69 ± 6,98*	73,75 ± 4,75	47,27 ± 3,65*	32,53 ± 3,11**
<i>W. longifolia</i>							
К	0,25 ± 0,03	0,40 ± 0,03	12,50 ± 1,53	43,95 ± 3,99	43,97 ± 3,12	37,37 ± 2,82	91,10 ± 5,85
КВ	0,22 ± 0,08	0,35 ± 0,02	11,12 ± 0,96	44,87 ± 4,12	41,53 ± 2,87	36,63 ± 3,03	79,19 ± 4,07
ТВ	0,20 ± 0,03	0,55 ± 0,04*	10,36 ± 0,82	53,92 ± 3,50**	42,69 ± 2,12	38,91 ± 3,41	87,28 ± 4,05

Примітка: * – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю (К) статистично достовірна за p<0,05; ** – за p<0,01

Note: * – the difference between samples of the same species compared to control (C) indicators is statistically reliable at p<0.05; ** – at p<0.01

Унаслідок висушування ймовірність пошкодження фотосинтетичного апарату зростає, утворення вільних молекул хлорофілу збільшується, що може спричинити генерації активних форм кисню [14, 16, 19]. Метаболізм хлорофілу в клітинах: вміст, синтез і деградація хлорофіловмісних комплексів контролюється активністю хлорофілази (хлорофіл-хлорофілід-гідролази 3.1.1.14).

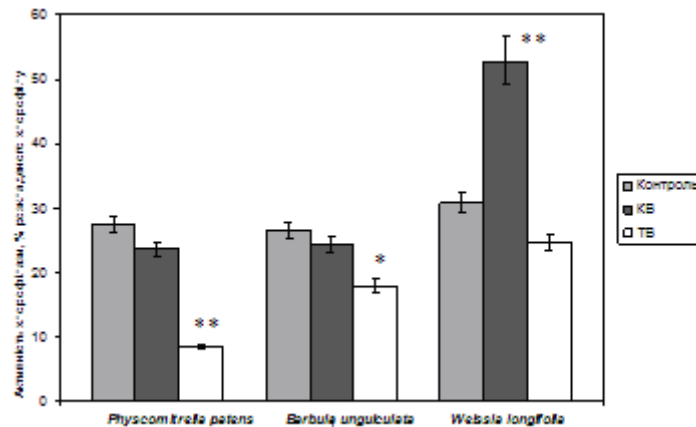


Рис. 3. Активність хлорофілази пагонів *P. patens*, *B. unguiculata* і *W. longifolia* в умовах короткочасного 24 год (KB) і тривалого 96 год (TB) висушування. **Примітка:** * – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю статистично достовірна за $p < 0,05$; ** – за $p < 0,01$

Fig. 3. Chlorophyllase activity of shoots of *P. patens*, *B. unguiculata* and *W. longifolia* under conditions of short-term 24 h (SD) and long-term 96 h (LD) drying. **Note:** * – the difference between samples of the same species compared to control indicators is statistically reliable at $p < 0,05$; ** – at $p < 0,01$

Визначено, що під впливом короткочасного висушування у *P. patens* (27,5 % розкладеного хл *a* / мг хл *a+b*) та *B. unguiculata* (28,9 % розкладеного хл *a* / мг хл *a+b*) активність ферменту зменшувалася щодо контролю на 14 % і 21 % відповідно, тоді як унаслідок тривалого – на 31,3 % і 27,5 % відповідно (рис. 3). Зниження гідролітичної активності хлорофілази вказує на уповільнення швидкості процесів перетворення зелених пігментів і її переважно мембранозв'язаний стан. Для *W. longifolia* встановлено найбільші показники активності хлорофілази (рис. 3), що може свідчити про активну участь її в метаболізмі й оновленні фонду фотосинтетичних пігментів, оскільки вища метаболізація більшого пулу пігментів потребує вищої активності ферменту [10]. Окрім того, визначено значне підвищення активності ферменту до 53 % розкладеного хл *a* / мг хл *a+b* за короткочасної втрати вологи, порівняно з контролем (31 % розкладеного хл *a* / мг хл *a+b*), очевидно, внаслідок посилення деградації пігментних комплексів хлорофілазна активність посилюється за рахунок легкокорозчинних форм, оскільки її зв'язок з мембранами слабшає [10]. Тривала втрата вологи спричиняла пригнічення активності ферменту лише на 6 % щодо контролю, що свідчить про переважання його мембранозв'язаної фракції та пригнічення обміну хлорофільного пулу.

Стійкість рослин – це генетична здатність організму завдяки відповідним фізіологічним і морфологічним механізмам витримувати стресові умови середовища, яка може бути конститутивною властивістю або ж формуватися внаслідок адаптаційних перебудов, індукованих стресовими чинниками. Конститутивні системи захисту постійно перебувають у функціонально активному стані, а індуковані – виявляються лише у відповідь на дію стресового чинника [4, 24, 29].

На основі отриманих нами результатів встановлено, що досліджені види мохів відрізнялися за загальним вмістом вуглеводів, які відіграють важливу роль у запобіганні дезінтеграції клітинних мембран, забезпеченні структурної та функціональної стабільності клітин в умовах висушування [5, 24, 34]. У пустельного моху *Syntrichia caninervis* Mitt. ви-

явлено, що стабілізації його мембран у висушеному стані під час десикації та регідратації сприяє істотне підвищення загального вмісту розчинних вуглеводів – основних “конститутивних” захисних речовин [5, 21, 24, 34].

У контролі найвищий рівень вуглеводів (11 мкг/г маси с. р.) визначено у ксеромезофіта *B. unguiculata* (рис. 4). Під впливом короткочасного висушування вміст вуглеводів майже не змінювався, тоді як тривале висушування спричиняло майже 40 % збільшення їхнього вмісту.

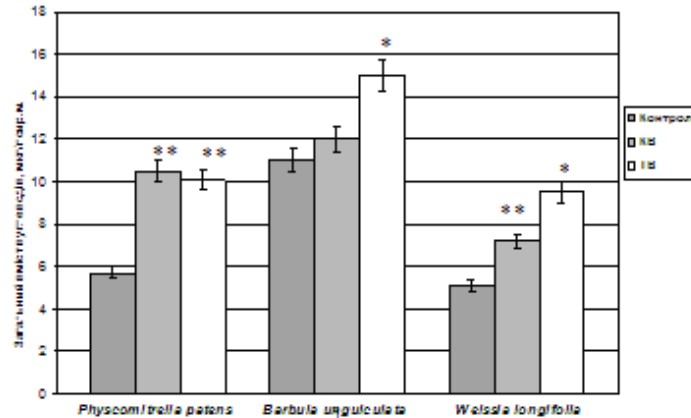


Рис. 4. Вплив короткочасного 24 год (KB) і тривалого 96 год (TB) висушування на загальний вміст вуглеводів у пагонах *P. patens*, *B. unguiculata* та *W. longifolia*. **Примітка:** * – різниця між зразками одного виду, порівняно з показниками контролю, статистично достовірна за $p < 0,05$; ** – за $p < 0,01$

Fig. 4. Influence of short-term 24 h (SD) and long-term 96 h (LD) drying on the total carbohydrate content in the shoots of *P. patens*, *B. unguiculata* and *W. longifolia*. **Note:** * – the difference between samples of the same species compared to control indicators is statistically reliable at $p < 0,05$; ** – at $p < 0,01$

Для *W. longifolia* встановлено, що загальний пул вуглеводів зростає залежно від тривалості висушування, очевидно, завдяки участі як конститутивних, так і стрес-індукованих механізмів захисту: від 5,1 мкг/г маси с. р. (контроль) до 7,2 мкг/г маси с. р. (короткочасне висушування) та 9,5 мкг/г маси с. р. (тривале). У гігромезофітного моху *P. patens*, який характеризується найнижчою посухостійкістю серед досліджених видів, вміст загальних вуглеводів збільшувався в 1,8 разу від 5,7 мкг/г маси с. р. у контролі до 10,5 мкг/г маси с. р. під впливом короткочасного висушування і зберігався майже на цьому рівні після тривалої втрати вологи, що є проявом, мабуть, лише конститутивних захисних систем (рис. 3).

Таким чином, порівняльне вивчення стрес-індукованих реакцій мохів залежно від водного режиму їхніх місцевиростань засвідчило функціонування різних захисних систем в адаптаційних процесах на вплив періодичного короткочасного і тривалого висушування.

На підставі аналізу морфометричних параметрів *B. unguiculata* і *P. patens* встановлено значне зменшення показників розмірів пагонів, листків і збільшення щільності мохових дернин як прояву механізму зниження втрати вологи поверхнею мохової дернини за впливу тривалого й короткочасного висушування. У *W. longifolia* тривале висушування спричиняло незначне збільшення розмірів листків і видовження пагонів й активувало утворення хлоронемних дендроїдів, порівняно з контролем та короткочасним висушуванням. Це засвідчило його найбільшу пристосованість і адаптаційну здатність до періодичних змін вологості.

Визначено залежність компонентного складу пігментного апарату досліджуваних мохів від тривалості висушування та їхніх видових особливостей. Отримані результати вказують на те, що висушування спричиняло зміни у вмісті феофітинів у мохів залежно від вмісту хлорофілів і їхнього співвідношення. З'ясовано, що в пігментній системі гігомезофітного моху *P. patens* визначальна роль належить хл *b* та феофітину *b*, тоді як оптимальне функціонування асиміляційного комплексу ксеромезофітного моху *B. unguiculata* залежить від хлорофілу *a* та феофітину *a*, у ксерофіта *W. longifolia* – завдяки стійкості хл *a* та міцності зв'язку каротиноїдів з білковими комплексами пігментної системи. Встановлено вищу чутливість пігментної системи *B. unguiculata* та *P. patens* до висушування, порівняно з *W. longifolia*. Висушування спричиняло у *B. unguiculata* достовірне зменшення міцності ПБК для хл *b* та істотне послаблення міцності ПБК для хл *a* у *P. patens*. Стабільність показників стійкості ПБК відзначено для ксерофітного моху *W. longifolia*, насамперед міцності зв'язку каротиноїдів із ліпопротеїдними компонентами мембран.

Під впливом висушування виявлено значне зниження гідролітичної активності хлорофілази у *B. unguiculata* і *P. patens*, що свідчить про уповільнення швидкості процесів перетворення зелених пігментів і про її переважно мембранозв'язаний стан. Найбільші показники активності хлорофілази встановлено у *W. longifolia*, що може вказувати на активну участь її в метаболізмі й оновленні фонду фотосинтетичних пігментів.

Під впливом висушування загальний вміст вуглеводів у мохів переважно зростає, що було проявом пристосування конститутивної стійкості, як у *P. patens*. До тривалої втрати вологи *B. unguiculata* і *W. longifolia* адаптувалися передусім завдяки стрес-індукованим адаптивним реакціям або ж взаємодії обох (конститутивних та індукованих) механізмів захисту.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бойко І., Кобилецька М., Терек О. Деградація хлорофілу в листках рослин за дії йонів кадмію та саліцилової кислоти // Фізіологія та біохімія культ. рослин. 2012. Т. 44. № 5. 108 с.
2. Войцехівська О. В., Капустян А. В., Косик О. І. та ін. Фізіологія рослин. Практикум. Луцьк: Терен, 2009. 420 с.
3. Кавулич Я., Кобилецька М., Терек О. Вплив саліцилової кислоти на пігментну систему рослин гречки за токсичного впливу кадмію хлориду // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2016. Вип. 72. С. 210–217.
4. Колупаєв Ю. Е., Карпец Ю. В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. К.: Основа, 2010. 352 с.
5. Лобачевська О. В., Бойко І. В. Морфофізіологічні пристосування мохів *Funaria hygrometrica* і *Brachythecium glareosum* (Bryophyta) до періодичного висушування // Укр. ботан. журнал. 2015. Т. 72. № 6. С. 559–565.
6. Лобачевська О. В., Кияк Н. Я., Хоркавців Я. Д. Морфофункціональні особливості клітин протонеми *Weissia tortilis* Spreng. з різною чутливістю до гравітації // Космічна наука і технологія. 2019. Т. 25. № 2. С. 60–70.
7. Мусієнко М. М., Паришкова Т. В., Славний П. С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 153 с.
8. Ніколайчук В. І., Белчгазі В. Й., Білик П. П. Спецпрактикум з фізіології і біохімії рослин. Ужгород, 2000. 210 с.
9. Романюк Н., Цвілинюк О., Микієвич І., Терек О. Фізіологія рослин. Методичні вказівки до лабораторних робіт з малого практикуму для студентів біологічного факультету. Львів: Вид-во Львів. нац. ун-ту ім. Ів. Франка, 2003. 84 с.

10. Фомішчина Р. М., Сиваш О. О., Захарова Т. О., Золотарьова О. К. Роль хлорофілази в адаптації рослин до умов освітлення // Укр. ботан. журнал. 2009. Т. 66. № 1. С. 94–102.
11. Baran E., Warry F. Simple data analysis for biologists. Malaysi: World Fish Center and the Fisheries Administration, 2008.
12. Brinda J. C., Stark L. R., Clark T. A., Greenwood J. L. Embryos of a moss can be hardened to desiccation tolerance: effects of rate of drying on the timeline of recovery and dehardening in *Aloina ambigua* (Pottiaceae) // Ann. Bot. 2016. Jan; Vol. 117. N 1. P. 153–163. doi: 10.1093/aob/mcv136
13. Coe K. K., Greenwood J. L., Slate M. L. et al. Strategies of desiccation tolerance vary across life phases in the moss *Syntrichia caninervis* // Am. J. Bot. 2021. Vol. 108. N 2. P. 249–262.
14. Cruz de Carvalho R., Catalá M., Branquinho C. et al. Dehydration rate determines the degree of membrane damage and desiccation tolerance in bryophytes // Physiologia Plantarum. 2017. Vol. 159. P. 277–289.
15. De Carvalho R. C., Branquinho C., Da Silva J. M. Physiological consequences of desiccation in the aquatic bryophyte *Fontinalis antipyretica* // Planta. 2011. Vol. 234. N 1. P.195–205.
16. Glime J. M. Bryophyte ecology. 2019. Vol. 1. Physiological ecology. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Website: <http://digitalcommons.mtu.edu/bryophyte-ecology1/> [accessed 7 January 2019].
17. Greenwood J. L., Chiquoine L., Stark L. R. Effects of rate of drying, life history phase, and ecotype on the ability of the moss *Bryum argenteum* to survive desiccation events and the influence on conservation and selection of material for restoration // Front. Ecol. Evol. 2019. Vol. 7. P. 388.
18. Greenwood J. L., Stark L. R. The rate of drying determines extent of desiccation tolerance in *Physomitrella patens* // Funct. Plant Biol. 2014. Vol. 41. P. 460–467.
19. Hanson D. T., Rice S. K. Photosynthesis in Bryophytes and Early Land Plants. E-Book Springer, 2014.
20. Kofler L. Contribution a l'étude biologique des mousses cultivées in vitro: Germination des spores, croissance et développement du protonema chez *Funaria hygrometrica* // Rev. Bryol. Lichenol. 1959. Vol. 28. P. 1–202.
21. Liang Y., Li X.-S., Jing Z., Lu Z. et al. Dehydration rates impact physiological, biochemical and molecular responses in desert moss *Bryum argenteum* // Environ. Exp. Botany. 2021. Vol. 183. P. 1043–1046. DOI:10.1016/j.envexpbot.2020.104346
22. Oliver M. J., Velten J., Mishler B. D. Desiccation tolerance in bryophytes: A reflection of the primitive strategy for plant survival in dehydrating habitats? // Integrative and Comparative Biology. 2005. Vol. 45. P. 788–799.
23. Pressel S., Duckett J. D. Cytological insights into the desiccation biology of a model system: moss protonemata // New Phytologist. 2010. Vol. 185. P. 944–963.
24. Proctor M. C. F. The bryophyte paradox: tolerance of desiccation, evasion of drought / M.C.F. Proctor // Plant Ecol. 2000. Vol. 151. P. 41–49.
25. Proctor M. C. F., Pence V. C. Vegetative tissues: bryophytes, vascular 'resurrection plants' and vegetative propagules. In: Pritchard H., Black M. eds. Desiccation and plant survival. Wallingford: CABI Publishing, 2002. P. 207–237.
26. Sadasivam S., Manickam A. Biochemical methods. New Delhi: New Age International, 2007. 284 p.
27. Slate M. L., Sullivan B. W., Callaway R. M. Desiccation and rehydration of mosses greatly increases resource fluxes that alter soil carbon and nitrogen cycling // J. Ecol. 2019. Vol. 107. N 4. P. 1767–1778. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13162>

28. Stark L. R. Ecology of desiccation tolerance in bryophytes: a conceptual framework and methodology // *Bryologist*. 2017. Vol. 120. P. 130–165.
29. Stark L. R., Brinda J. C. Developing sporophytes transition from an inducible to a constitutive ecological strategy of desiccation tolerance in the moss *Aloina ambigua*: effects of desiccation on fitness // *Ann. Bot.* 2015. Vol. 115. P. 593–603.
30. Stark L. R., Brinda J. C., Greenwood J. L. Propagula and shoots of *Syntrichia pagorum* (Pottiaceae) exhibit different ecological strategies of desiccation tolerance // *Bryologist*. 2016. Vol. 119. P. 181–192.
31. Stark L. R., Greenwood J. L., Brinda J. C., Oliver M. J. The desert moss *Pterygoneurum lamellatum* (Pottiaceae) exhibits an inducible ecological strategy of desiccation tolerance: effects of rate of drying on shoot damage and regeneration // *Am. J. Bot.* 2013. Vol. 100. N 8. P. 1522–1531.
32. Stark L. R., Greenwood J. L., Slate M., Brinda J. C. *Syntrichia norvegica* shoots exhibit a complex inducible response to desiccation: separating the effects of rate of drying and water content // *Botany*. 2017. Vol. 95. P. 481–491.
33. Tao Y., Zhang Y. M. Effects of leaf hair points of a desert moss on water retention and dew formation: Implications for desiccation tolerance // *J. Plant Research*. 2012. Vol. 125. P. 351–360.
34. Wu N., Zhang Y.M., Downing A., Zhang J., Yang Ch. Membrane stability of the desert moss *Syntrichia caninervis* Mitt. during desiccation and rehydration // *J. Bryol.* 2012. Vol. 34(1). P. 1–8.

Стаття надійшла до редакції 23.06.22

доопрацьована 18.07.22

прийнята до друку 20.09.22

STRESS-INDUCED REACTIONS OF MOSSES TO PERIODIC SHORT-TERM AND LONG-TERM DRYING DEPENDING ON THE WATER REGIME OF THEIR HABITATS

O. Lobachevska

*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine
4, Kozelnitska St., Lviv 79026, Ukraine
e-mail: ecomorpogenesis@gmail.com*

Bryophytes are poikilohydric higher plants and their water content as well as metabolic activity depend on the water regime of the environment. The aim of the study was to establish the features of stress-induced reactions of mosses under controlled conditions of short-term and long-term drying depending on the water regime of their habitats. A culture of shoots of the same age from agar mediums the same level of relative humidity was used to study the effect of periodic drying. Dehydration was carried out within 24 hours, removing the polyethylene cover from the pots with moss culture. Plant watering was carried out twice a week in the variant of the experiment with short-term drying: immediately after dehydration and on the third day after drying. In the variant with long-term drying plants were watered once a week – on the third day after 24-hour dehydration. Control plants were sprayed twice a week. A significant decrease in the size of shoots, leaves and an increase in the density of moss turf under the influence of short-term and long-term drying have been established, based on the analysis of morphometric parameters of *Barbula unguiculata* Hedw. and *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp. In the moss *Weissia longifolia*

Mitt. long-term drying caused a slight increase in leaf size and elongation of shoots, comparing with control and short-term drying, and at the same time activated the formation of chloronemal dendroids, which proved its greatest adaptability and ability to adapt to periodic changes in humidity. A higher sensitivity of the pigment system of *B. unguiculata* and *P. patens* to drying compared to *W. longifolia* was established. It was found that in the pigment system of the hygromesophytic moss *P. patens* the significant role belongs to chlorophyll b and pheophytin b, functioning of the assimilation complex of the xeromesophytic moss *Barbula unguiculata* depends on chlorophyll a and pheophytin a, in xerophytic moss *W. longifolia* – due to the stability of chlorophyll a and the strength of the bound of carotenoids with protein complexes of the pigment system. The dependence of the component composition of the pigment apparatus, the strength of the bond of pigment-protein complexes (PPC), the activity of chlorophyllase, and the total carbohydrate content of the studied mosses on the duration of drying and their species characteristics was determined.

Keywords: drying, photosynthetic system, chlorophyllase, carbohydrates, mosses