

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

УДК 582.32:581.527.7+631.48

**МІНЛИВІСТЬ ВМІСТУ ВОДНЮ ПЕРОКСИДУ ТА ВУГЛЕВОДІВ
У МОХІВ ІЗ РІЗНОЮ СТІЙКІСТЮ ДО ВИСУШУВАННЯ В
УМОВАХ ДЕГІДРАТАЦІЇ ТА РЕГІДРАТАЦІЇ**

І. Бойко, О. Лобачевська

*Інститут екології Карпат НАН України
вул. Стефаника, 11, Львів 79000, Україна
e-mail: ecomorphogenesis@gmail.com*

Досліджено адаптивні реакції різних за стійкістю до водного дефіциту видів мохів *Funaria hygrometrica* Hedw. і *Bryum argenteum* Hedw. в умовах висушування та регідратації. Встановлено, що вологолюбний мох *F. hygrometrica* швидко втрачає значну кількість вологи під час дегідратації, порівняно з толерантним до висушування *B. argenteum*, який здатен не лише до утримування води, а й до інтенсивного відновлення вологоємності тканин унаслідок регідратації. Виявлено зміни адаптивних реакцій залежно від тривалості дегідратації/регідратації у мохів із різною стійкістю до висушування. У *F. hygrometrica* відзначено значне підвищення вмісту пероксиду водню внаслідок дегідратації, тоді як у *B. argenteum* зафіксовано зростання активності синтезу осмопротекторів вуглеводневої природи. Унаслідок регідратації концентрація вуглеводів та пероксиду водню у гаметофорах мохів знижувалася. Встановлено, що бріофіти з різними екологічними стратегіями проявляють подібні механізми толерантності до висушування, зокрема у *B. argenteum* стійкість реалізується завдяки вищій активності адаптивних реакцій, насамперед конститутивного клітинного захисту.

Ключові слова: толерантність до висушування, дегідратація, регідратація, пероксид водню, вуглеводи, мохи, *Funaria hygrometrica* Hedw., *Bryum argenteum* Hedw.

Відомо, що бріофіти є представниками альтернативної стратегії адаптації до нестачі води на суші, яка полягає в тому, що вони здійснюють ростову і фотосинтетичну активність, коли вода є доступною, а у разі її відсутності сповільнюють метаболізм [2, 10, 11]. Така стратегія «уникнення посухи» аналогічна толерантності до висушування насінин озимих однорічників і пустельних ефемерів [10].

Розрізняють дві стратегії стійкості до висушування: конститутивна, коли захисні механізми активні під час нормального росту і метаболізму, та індукована, що полягає в активації протекторних механізмів унаслідок стресу. Особливості стійкості до висушування конкретного виду бріофітів залежать від інтенсивності, тривалості висушування та загартованості рослин до дефіциту вологи. Вважають, що стійкі бріофіти поєднують конститутивний клітинний захист із регідратійно-індукованими відновлювальними процесами [15].

Основними проявами стійкості до висушування є здатність до захисту клітинної цілісності й відновлення гомеостазу внаслідок пошкодження під час дегідратації/регідратації. Стійкість реалізується завдяки обмеженню пошкоджень, підтриманню фізіологічної стабільності у висушеному стані та мобілізації захисних механізмів під час регідратації [8, 16].

Унаслідок висушування та регідратації у мохів пошкоджуються клітинні структури, порушується цілісність мембран, насамперед під час регідратації, посилюється генерація активних форм кисню, окиснення сульфгідрильних груп білків і їх денатурація, зростає

ліпоксигеназна активність, зменшується вміст пігментів й інтенсивність фотосинтезу, що знижує здатність протистояти оксидативному стресу [11]. Відновлення гомеостазу після висушування поєднує процеси відновлення води в макромолекулах, реконструкції мембранної цілісності, нагромадження осмотично-активних вуглеводів і синтезу характерних білків (дегідрини, LEA-протеїни) відразу після регідратації.

Бріофіти є одними з нащадків перших наземних рослин, тому це зручна модель для з'ясування стійкості до висушування вегетативних органів рослин і вивчення стрес-індукованих клітинних процесів [8, 9]. Вивчення екологічних стратегій стійкості бріофітів до висушування є важливим, тому що насамперед це дає можливість встановити механізми запобігання посухостійкості й генетичного конструювання стійких до висушування культурних рослин [15].

З огляду на це, метою дослідження було встановити адаптивні реакції різних за стійкістю до висушування видів мохів в умовах дегідратації та регідратації, а саме генерації активних форм кисню (АФК), зокрема пероксиду водню, та нагромадження вуглеводів.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були різні за стійкістю до висушування види мохів – *Funaria hygrometrica* Hedw. та *Bryum argenteum* Hedw. Збір зразків мохів здійснювали в околицях м. Львова на відстані 50–100 м від автодоріг. У лабораторії з мохових дернин відбирали однорідні непошкоджені гаметофори, які висушували в контрольованих умовах – температури (23 °C), освітлення (2,5 тис. лк) і вологості (85%) протягом 3 та 18 год. Після дегідратації гаметофори мохів змочували однаковою кількістю дистильованої води, регідратація тривала протягом 15, 30 та 45 хв. Контролем слугували зразки мохів, які не зазнавали дегідратації та регідратації.

Відносну оводненість гаметофорів визначали у відсотках за різницею маси моху до та після висушування і регідратації.

Вміст водню пероксиду в пагонах визначали спектрофотометрично після реакції зі сульфатом титану ($\lambda=410$ нм) [3]. Для визначення вмісту вуглеводів використовували фенол-сульфатний метод: розчинні вуглеводи екстрагували дистильованою водою, а загальний вміст вуглеводів вимірювали після кислотного гідролізу екстракту [13].

Експерименти були проведені у трикратній біологічній повторності, результати опрацьовані статистично.

Результати і їхнє обговорення

Bryum argenteum Hedw. є космополітним посухостійким видом мохів, для якого характерні ознаки толерантності до висушування [7]. *Funaria hygrometrica* Hedw. – вологолюбний мох, який, на відміну від *B. argenteum*, проявляє значно нижчу стійкість до дегідратації [17].

Установлено, що пагони *F. hygrometrica* втрачали до 50% маси після висушування незалежно від його тривалості, тоді як *B. argenteum* – 6,6% маси внаслідок 3-годинного висушування та 7,7% після 18-годинного (табл. 1).

Таблиця 1

Відносна оводненість пагонів мохів після дегідратації та регідратації

Умови досліджу	<i>Funaria hygrometrica</i> Hedw.		<i>Bryum argenteum</i> Hedw.	
	3 год	18 год	3 год	18 год
Дегідратація	- 51% *	- 49% *	- 6,6% *	- 7,7% *
15-хв регідратація	24%	31%	261%	305%
30-хв регідратація	52%	20%	215%	321%
45-хв регідратація	39%	42%	226%	323%

Примітка. * – значення характеризують зменшення оводненості тканин щодо контролю.

Окрім того, поглинання води під час регідратації відрізнялося у досліджуваних мохів залежно від тривалості висушування. Зокрема, у гаметофорах *F. hygrometrica* після дегідратації не встановлено відновлення рівня оводненості до початкового, а максимального до 50%. Взаємозв'язку між відновленням оводненості й тривалістю дегідратації і регідратації не визначено. Виявлено, що гаметофори *B. argenteum* здатні поглинати велику кількість води під час регідратації. Зокрема, після 3-годинного висушування оводненість пагонів моху була у 2,1–2,6 рази вищою, ніж до висушування, а після 18-годинного – у 3,0–3,2 рази (табл. 1). Отже, стійкіший до висушування *B. argenteum* здатен до значного водозбереження й інтенсивного відновлення вологоємності тканин унаслідок регідратації.

У досліджуваних мохів унаслідок дегідратації зростає вміст пероксиду водню та нагромаджувалися розчинні й нерозчинні вуглеводи (рис. 1, 2). У тканинах гаметофорів *F. hygrometrica* вміст вуглеводів і пероксиду водню були вищими після 3-годинної дегідратації, ніж після 18-годинної. У *B. argenteum* ця тенденція зберігалася, окрім зростання вмісту розчинних вуглеводів після 18-годинного висушування. Також у *F. hygrometrica* інтенсивніше зростає вміст пероксиду водню, ніж вуглеводів, а у *B. argenteum* – навпаки. Таким чином, у чутливішої до висушування *F. hygrometrica* під час дегідратації значно зростає вміст водню пероксиду як сигнальної сполуки в захисних реакціях рослин, а у *B. argenteum* підвищувався вміст вуглеводів, яким властиві осмопротекторні властивості.

Варто зазначити, що рівень пероксиду водню у гаметофорах *F. hygrometrica* після регідратації залишався досить високим, тоді як у *B. argenteum* він значно знижувався – в 4 рази порівняно з контролем. Вміст вуглеводів після регідратації знижувався у обох видів мохів і все ж був вищим у *F. hygrometrica*, ніж у *B. argenteum* (рис. 1, 2).

Відомо, що розвиток стресових реакцій у клітинах рослин супроводжується нагромадженням АФК, які у кінцевому результаті перетворюються на відносно стабільний пероксид водню. Молекули пероксиду водню є високореактивними та мають широкий спектр функцій у клітині – від токсичної дії до сигнальної. Зокрема, пероксид водню має здатність запускати ряд каскадних механізмів, спрямованих на розвиток захисних реакцій. У бріофітів під час висушування встановлена посилена генерація АФК, як пряма, так і опосередкована внаслідок інгібування фотосинтезу [1, 5]. Механізми толерантності стійких до дефіциту води рослин насамперед забезпечуються вуглеводами та білками, які беруть участь у захисті цілісності клітини під час висушування [6].

У стійких видів бріофітів не виявлено високого вмісту проліну й інших осмопротекторних метаболітів, які є типовими для посухостійких рослин. Установлено, що для мохів характерними є високі концентрації сахарози, низький вміст редуруючих цукрів і відсутність крохмалю, аналогічно до ембріонів насінин, які дозрівають [14]. Зокрема, у стійкого моху *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F.Weber & D.Mohr вміст сахарози як важливого компонента біологічного «скла», що формується під час висушування внаслідок вітрифікації, може сягати 10% від сухої маси рослин [4, 11]. Відомо, що дисахариди здатні стабілізувати фосфоліпідні бішари завдяки гідрогеновим зв'язкам до полярних груп. Це забезпечує підтримання відстані між фосфоліпідними бішарами мембран і запобігає пошкодженню фазових переходів [12].

На основі отриманих результатів можна стверджувати, що висушування та, можливо, початкові стадії регідратації пов'язані зі значними змінами метаболізму рослин. Зокрема, у *F. hygrometrica* виявлено значне нагромадження пероксиду водню, який завдяки сигнальній активності здатен запускати каскад протекторних механізмів, тоді як у *B. argenteum* відзначено підвищену синтетичну активність, зокрема структурних і розчинних вуглеводів з осмопротекторною активністю. Вважається, що обидва процеси є різними

ланками одного механізму стійкості – підвищення вмісту сигнальних сполук стимулює нагромадження сполук вуглеводневої природи.

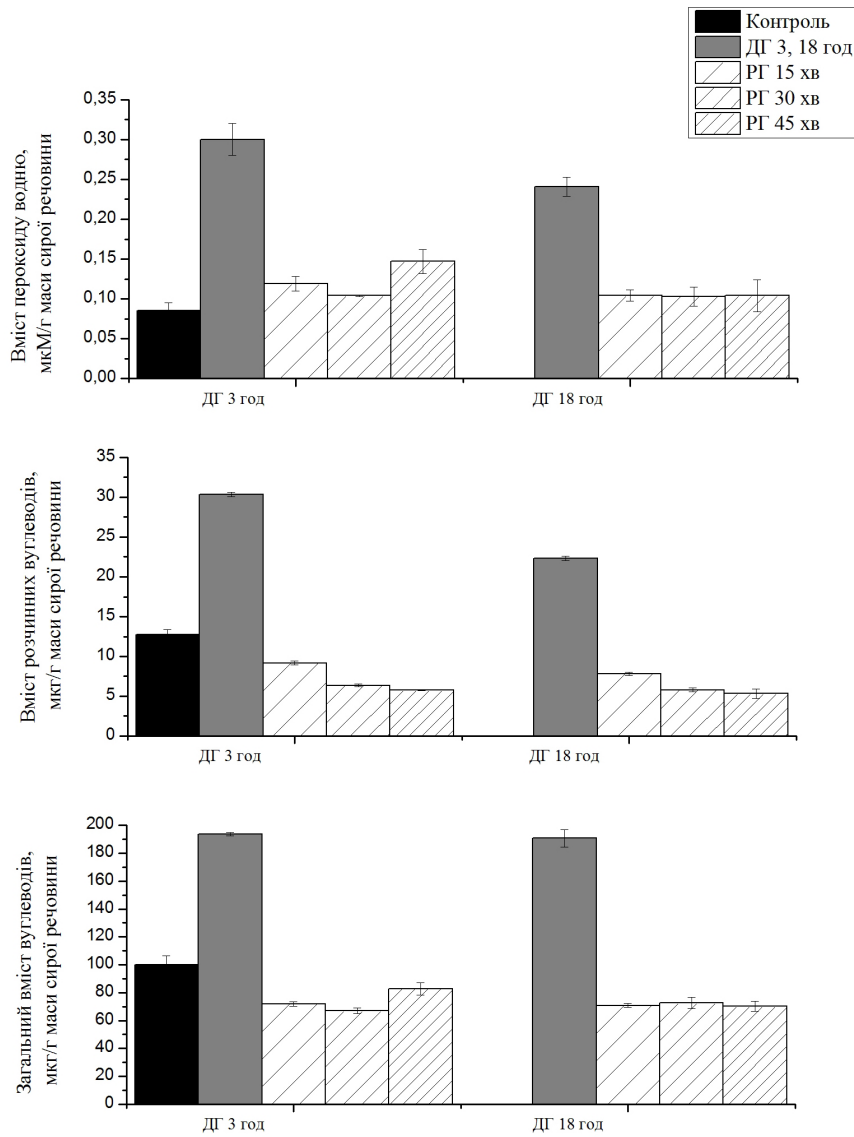


Рис. 1. Вміст пероксиду водню та вуглеводів у гаметофорах моху *Funaria hygrometrica* Hedw. після дегідратації та регідратації. ДГ – дегідратація (3; 18 год); РГ – регідратація (15; 30; 45 хв).

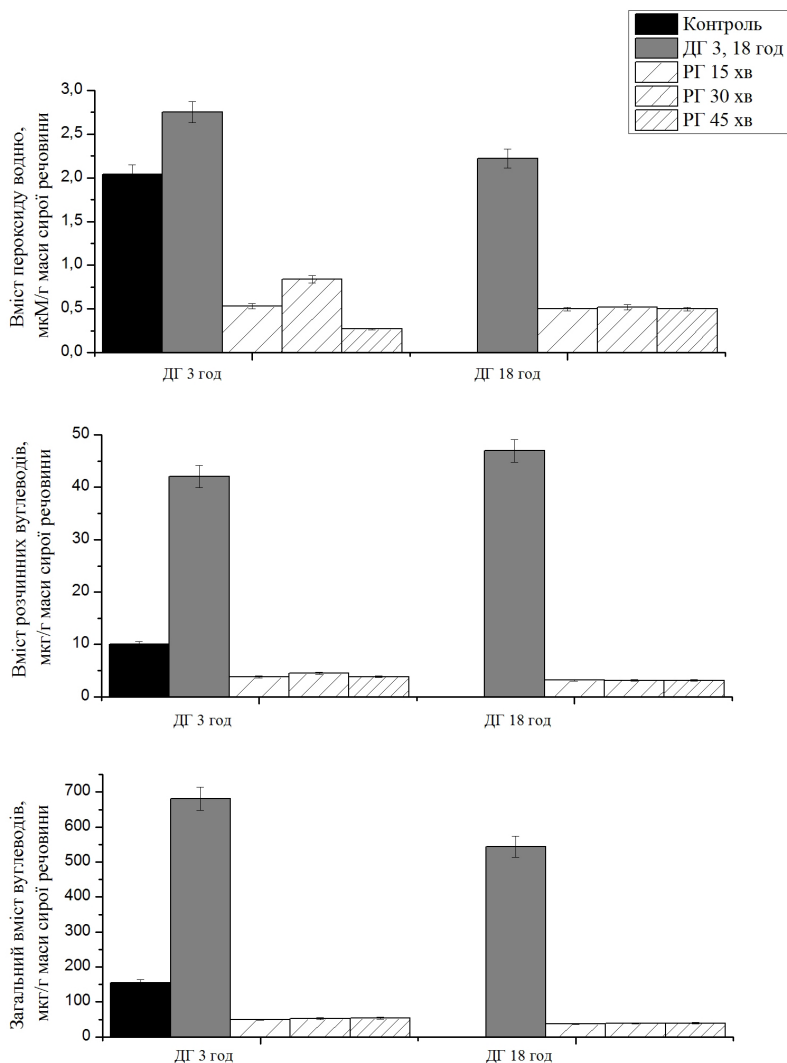


Рис. 2. Вміст пероксиду водню та вуглеводів у гаметофорах моху *Bryum argenteum* Hedw. після дегідратації та регідратації. ДГ – дегідратація (3; 18 год); РГ – регідратація (15; 30; 45 хв).

Отже, бріофіти з різними екологічними стратегіями проявляють подібні механізми толерантності до висушування. Зокрема, у *B. argenteum* стійкість реалізується завдяки вищій активності адаптивних реакцій, насамперед конститутивного клітинного захисту.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Колупаєв Ю. Є. Основи фізіології стійкості рослин: курс лекцій. Х.: Міськдрук, 2010. 21 с.

2. Лобачевська О. В. Мохоподібні як модель дослідження екофізіологічної адаптації до умов природного середовища // Чорномор. ботан. журнал. 2014. Т. 10. № 1. С. 48–60.
3. Di Toppi L., Lambardi M., Pazzagli L. et al. Response to cadmium in carrot *in vitro* plants and cell suspension cultures // Plant Sci. 1999. Vol. 137. P. 119–129.
4. Hatanaka R., Sugawara Y. Development of desiccation tolerance and vitrification by preculture treatment in suspension-cultured cells of the liverwort *Marchantia polymorpha* // Planta. 2010. Vol. 231. P. 965–976.
5. Hung S.-H., Yu C.-W., Lin C. H. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants // Bot. Bull. Acad. Sin. 2005. 46. P. 1–10.
6. Koster K. L., Balsamo R. A., Espinoza C., Oliver M. J. Desiccation sensitivity and tolerance in the moss *Physcomytila patens*: assessing limits and damage // Plant Growth Regul. 2010. Vol. 62. P. 293–302.
7. Li J., Li X., Chen C. Degradation and reorganization of thylakoid protein complexes of *Bryum argenteum* in response to dehydration and rehydration // The Bryologist. 2014. Vol. 117. N 2. P. 110–118.
8. Oliver M. J., Velten J., Wood A. J. Bryophytes as experimental models for the study of environmental stress tolerance: *Tortula ruralis* and desiccation-tolerance in mosses // Plant Ecol. 2000. Vol. 151. P. 73–84.
9. 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.
10. Proctor M. C. F. The bryophyte paradox: tolerance of desiccation, evasion of drought // Plant Ecol. 2000. Vol. 151. P. 41–49.
11. Proctor M. C. F., Oliver M. J., Wood A. J. et al. Desiccation-tolerance in bryophytes: a review // The Bryologist. 2007. Vol. 110. N 4. P. 595–621.
12. Proctor M. C. F., Tuba Z. Poikilohydry and homoihydry: antithesis or spectrum of possibilities? // New Phytologist. 2002. Vol. 156. P. 327–349.
13. Sadasivam S., Manickam A. Biochemical methods. New Age International. 2007. 284 p.
14. Smirnov N. The carbohydrates of bryophytes in relation to desiccation tolerance // J. Bryol. 1992. Vol. 17. P. 185–191.
15. 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.
16. Tuba Z. Bryophyte physiological processes in a changing climate: an overview // Bryophyte Ecology and Climate Change (eds. Z. Tuba, N. G. Slack, L. R. Stark). Cambridge University Press. 2011. P. 13–34.
17. Werner O., Espin R. M. R., Bopp M., Atzorn R. Abscisic-acid-induced drought tolerance in *Funaria hygrometrica* Hedw. // Planta. 1991. Vol. 186. P. 99–103.
18. Wood A. J. The nature and distribution of vegetative desiccation-tolerance in hornworts, liverworts and mosses // The Bryologist. 2007. Vol. 110. N 2. P. 163–177.

Стаття: надійшла до редакції 07.05.15

доопрацьована 27.11.15

прийнята до друку 14.12.15

**VARIABILITY OF HYDROGEN PEROXIDE AND CARBOHYDRATE CONTENT
IN MOSSES WITH DIFFERENT DESICCATION TOLERANCE UNDER
CONDITIONS OF DEHYDRATION AND REHYDRATION**

I. Boiko, O. Lobachevska

Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine

11, Stefanyk St., Lviv 79000, Ukraine

e-mail: ecomorphogenesis@gmail.com

The adaptive responses of moss species with different resistance to water deficit *Funaria hygrometrica* Hedw. and *Bryum argenteum* Hedw. in terms of dehydration and rehydration were investigated. It was established that dank moss *F. hygrometrica* rapidly loses significant amounts of water during dehydration, compared with a tolerant to desiccation *B. argenteum*, which is able not only to hold water, but also to intensive restoration of tissues moisture capacity due to rehydration. The changes of adaptive responses depending on the length of dehydration/rehydration in moss with different resistance to drying were revealed. In *F. hygrometrica* a significant increase in the hydrogen peroxide content due to dehydration was observed, while in *B. argenteum* increased activity of carbohydrate osmoprotectors synthesis was recorded. As a result of rehydration concentration of carbohydrates and hydrogen peroxide in gametophores of mosses was decreased. It was established that bryophytes with different ecological strategies exhibit similar mechanisms of desiccation tolerance; particularly in *B. argenteum* stability is realized due to higher activity of adaptive response, primarily constitutive cellular protection.

Keywords: desiccation tolerance, dehydration, rehydration, hydrogen peroxide, carbohydrates, bryophytes, *Funaria hygrometrica* Hedw., *Bryum argenteum* Hedw.

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И УГЛЕВОДОВ
У МХОВ С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ВЫСУШИВАНИЮ
В УСЛОВИЯХ ДЕГИДРАТАЦИИ И РЕГИДРАТАЦИИ**

И. Бойко, О. Лобачевская

Институт экологии Карпат НАН Украины

ул. Стефаника, 11, Львов 79000, Украина

e-mail: ecomorphogenesis@gmail.com

Исследованы адаптивные реакции различных по устойчивости к водному дефициту видов мхов *Funaria hygrometrica* Hedw. и *Bryum argenteum* Hedw. в условиях высушивания и регидратации. Установлено, что влаголюбивый мох *F. hygrometrica* быстро теряет значительное количество влаги при дегидратации, по сравнению с толерантным к высушиванию *B. argenteum*, который способен не только к удерживанию воды, но и к интенсивному восстановлению влагоемкости тканей вследствие регидратации. Выявлены изменения адаптивных реакций в зависимости от продолжительности дегидратации/регидратации у мхов с различной устойчивостью к высушиванию. У *F. hygrometrica* отмечено значительное повышение содержания пероксида водорода в результате дегидратации, тогда как у *B. argenteum* зафиксирован рост активности синтеза осмолпротекторов углеродной природы. Во время регидратации концентрация углеводов и пероксида водорода в гаметофорах мхов снижалась. Установлено, что бриофиты с различными экологическими стратегиями проявляют похожие механизмы толерантности к высушиванию. В частности, у *B. argenteum* устойчивость реализуется благодаря высокой активности адаптивных реакций, прежде всего конститутивной клеточной защиты.

Ключевые слова: толерантность к высушиванию, дегидратация, регидратация, пероксид водорода, углеводы, мхи, *Funaria hygrometrica* Hedw., *Bryum argenteum* Hedw.