

<https://doi.org/10.15407/frg2023.05.426>

УДК [582.32:581.1]:504.4

ФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ МОХІВ ЛІСОВИХ ЕКОСИСТЕМ ДО МІНЛИВИХ УМОВ ВОДНОГО РЕЖИМУ

Н.Я. КИЯК¹, О.І. ТЕРЕК²

¹Інститут екології Карпат Національної академії наук України
79026 Львів, вул. Козельницька, 4
e-mail: kyyak_n@i.ua

²Львівський національний університет імені Івана Франка
79005 Львів, вул. Грушевського, 4

Досліджено фізіологічні адаптивні реакції (особливості фракційного складу води, вміст розчинних вуглеводів, загальну антиоксидантну активність, вміст компонентів глутатіон-аскорбатного циклу) мохів *Polytrichum formosum* Hedw., *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv., *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. лісових екосистем Українського Розточчя. Рослинний матеріал для роботи відібрано з дослідних ділянок, відмінних за водним і температурним режимами зростання: 1 — територія повного заповідання у старовіковому лісі Верещицького природоохоронного науково-дослідного відділення (контроль); 2 — зона стаціонарної рекреації «Верещиця»; 3 — територія вирубки 40-річного віку Страдчівського навчально-виробничого лісокомбінату. Показано, що фракційний склад води у гаметофіті мохів залежав від видових особливостей та умов місць зростання. У пагонах ендогідричних видів *A. undulatum* і *P. formosum* у загальному водному балансі переважала вільна вода, тоді як у зразках ектогідричного виду *C. purpureus* — фракція осмотично зв'язаної води. За несприятливих водного і температурного режимів у зразках усіх досліджуваних рослин істотно збільшувався вміст зв'язаної води, що зумовлено підвищенням концентрації осмолітів у клітинах. Встановлено, що несприятливі умови водозабезпечення спрямовували вуглеводний обмін у напрямку гідролізу крохмалю та накопичення розчинних вуглеводів, насамперед цукрози (56—70 % загальної кількості розчинних вуглеводів), посилюючи водоутримувальну здатність клітин бріофітів. Важливе значення у захисних реакціях мохів у мінливих мікрокліматичних умовах має антиоксидантна система. На дослідних ділянках у зоні рекреації й території вирубки із менш сприятливим температурним і водним режимами у пагонах мохів виявлено зростання загальної антиоксидантної активності, інтенсивне використання аскорбінової кислоти і відновленого глутатіону та підвищення активності аскорбатпероксидази, що забезпечувало внутрішньоклітинний захист від вільнорадикальних ушкоджень. Пагони ектогідричного моху *C. purpureus* характеризувалися більшою пластичністю вмісту компонентів антиоксидантної системи, тоді як гаметофіт ендогідричних мохів *A. undulatum* і *P. formosum* мав більш константні показники, що, очевидно, зумовлено стабільнішим водним режимом цих рослин у мінливих мікрокліматичних умовах.

Ключові слова: мохи, фракційний склад води, вуглеводи, антиоксидантна система, лісові екосистеми.

Цитування: Кияк Н.Я., Терек О.І. Фізіологічні механізми адаптації мохів лісових екосистем до мінливих умов водного режиму. *Фізіологія рослин і генетика*. 2023. 55, № 5. С. 426—440. <https://doi.org/10.15407/frg2023.05.426>

Мохоподібні є обов'язковим компонентом лісових екосистем, беруть участь у регуляції ґрунтового мікроклімату, насамперед температурного та водного режимів, кругообігу поживних речовин [1, 2]. Фізіологічні параметри мохів слугують важливою діагностичною ознакою ступеня зволоження у лісових угрупованнях та рівня антропогенного впливу [3–5].

Відомо, що одним із наслідків впливу водного дефіциту на клітини мохів є активація окиснювального стресу, що призводить до пригнічення активності фотосистем, денатурації білків унаслідок окиснення їх SH-груп та ліпопероксидації у плазматичних мембранах [6]. За таких умов у клітинах мохів захисні функції виконують розчинні вуглеводи, а також ензиматичні й неензиматичні компоненти антиоксидантної системи, які запобігають негативним наслідкам зневоднення [7–10]. Більшість із цих механізмів є конститутивними, що забезпечують існування рослин у мінливих умовах водопостачання [11, 12]. У сучасній бріологічній літературі недостатньо інформації про специфіку функціонування таких захисних механізмів у ектогідричних і ендогідричних видів мохів.

Метою роботи було дослідження фізіологічних адаптивних реакцій (вмісту розчинних вуглеводів, загальної антиоксидантної активності та вмісту компонентів глутатіон-аскорбатного циклу) мохів лісових екосистем Українського Розточчя, що різнилися за водним і температурним режимами місць зростання.

Методика

Об'єктами досліджень були мохи лісових екосистем: *Polytrichum formosum* Hedw., *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv., *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. Дослідження проводили упродовж червня—серпня 2020—2022 рр. Для роботи використовували свіжозібраний рослинний матеріал з трьох дослідних ділянок на території природного заповідника «Розточчя» та Яворівського національного природного парку, що різнилися за водним, температурним режимами та інтенсивністю освітлення (табл. 1).

Ділянка 1 — територія повного заповідання у старовіковому буковому лісі Верещицького природоохоронного науково-дослідного відділення (показники з цієї ділянки використовували як контроль); ділянка 2 — зона стаціонарної рекреації «Верещиця» у Яворівському національному природному парку (насадження сосни з буково-грабовим підростом); ділянка 3 — територія вирубки 40-річного віку Страдцівського навчально-виробничого лісокомбінату.

Фракційний склад води визначали рефрактометричним методом із використанням зовнішнього 25 %-го розчину цукрози як осмотично активного [13].

Загальний вміст вуглеводів вимірювали додаванням до 100 мг рослинного матеріалу 1 мл 2,5 н HCl й екстрагували 3 год на киплячій водянній бані. Гомогенат охолоджували і нейтралізували кислоту додаванням Na_2CO_3 до припинення реакції, центрифугували упродовж 15 хв при 4000 g (центрифуга Опн-12, Казахстан) і викори-

ТАБЛИЦЯ 1. Характеристика мікрокліматичних умов дослідних ділянок у лісових екосистемах Українського Розточчя (червень—серпень 2020—2022 рр.)

Дослідна ділянка	Інтенсивність освітлення, тис. лк	Температура повітря на поверхні ґрунту, °С	Температура у моховій дернині, °С	Вологість повітря на поверхні ґрунту, %
Ділянка 1 (старовіковий ліс)	20,5—40,0	24,2—26,4	19,5—20,0	36,4—42,1
Ділянка 2 (зона стаціонарної рекреації «Верещиця»)	80,0—90,0	26,4—28,6	22,4—23,6	26,3—28,2
Ділянка 3 (територія вирубки)	95,0—100,0	32,5—36,0	25,2—26,5	24,5—25,8

Примітка. У таблиці представлено діапазон вимірюваних величин, похибка вимірювань яких не перевищувала 15 %.

стовували надосадову рідину для визначення загального вмісту вуглеводів фенол-сульфатним методом. Для встановлення вмісту розчинних вуглеводів 100 мг рослинного матеріалу гомогенізували у 10 мл води, переносили у пробірки та екстрагували упродовж 10—15 хв на киплячій водяній бані. Після центрифугування відбирали 1 мл фільтрату, добавляли 1 мл 5 %-го фенолу і 5 мл концентрованої сульфатної кислоти (густина 1,84). Оптичну густина вимірювали на спектрофотометрі Specord 210 Plus (Analytic Jena, Німеччина) за довжини хвилі 490 нм [14]. Вміст вуглеводів визначали за калібрувальною кривою, побудованою для глюкози, та виражали в мг сухої речовини.

Вміст моноцукрів і крохмалю визначали із застосуванням пікринової кислоти (Sigma). Наважку рослинного матеріалу (200—500 мг) гомогенізували з дистильованою водою й екстрагували на водяній бані упродовж 1 год за 40—50 °С. Після екстракції розчинних вуглеводів осаджували білки у розчині 10 %-го ацетату свинцю й 10 %-го сульфату натрію та центрифугували 15 хв при 4000 g. Надосадова рідина слугувала для визначення моноцукрів, а до осаду, сформованого після центрифугування, добавляли 10 мл 2 %-го розчину HCl і ставили на киплячу водяну баню на 1,5—2,0 год для гідролізу крохмалю. Після центрифугування надосадову рідину використовували для визначення крохмалю. Реакційна суміш містила надосадову рідину, насичений розчин пікринової кислоти та 20 %-й розчин Na₂CO₃. Оптичну густина розчинів визначали на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжини хвилі 490 нм. Концентрацію моноцукрів і крохмалю обчислювали за калібрувальним графіком, побудованим для глюкози (коефіцієнт перерахунку глюкози в крохмаль — 0,9), і виражали у мг/г сухої речовини [15].

Для дослідження вмісту цукрози наважку рослинного матеріалу (200 мг) фіксували киплячим етанолом і гомогенізували з 80 %-м етанолом. Зібрану після центрифугування (5000 g, 15 хв) надосадову рідину використовували для визначення цукрози резорциновим методом [16]. Реакційна суміш містила рослинний екстракт, 0,1 %-й спиртовий розчин резорцину та 30 %-й розчин HCl. Оптичну густина розчинів визначали на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжи-

ни хвилі 400 нм. Концентрацію цукрози обчислювали за калібрувальним графіком, побудованим для цукрози, і виражали у мг/г сухої речовини.

Антиоксидантну активність оцінювали у реакції рослинного екстракту з розчином радикала — 1,1-дифеніл-2-пікридилгідразилу (ДФПГ, Sigma) за методом Бранд—Вільямса [17]. Рослинний матеріал (100 мг) розтирали з 1 мл 50 мМ *трис*-HCl буфера (pH 8,0), центрифугували упродовж 15 хв (13 000 g, 4 °C) і використовували надосадову рідину для аналізу. Розчин ДФПГ готували у 96 %-му етиловому спирті (концентрація радикала — $6 \cdot 10^{-6}$ М). У дослідні пробірки добавляли 2,8 мл розчину радикала та 0,2 мл рослинного екстракту. Готували такі розбавлення рослинних екстрактів: 0,625; 1,25; 2,5; 5,0; 7,5 і 10,0 мг/мл. Оптичну густину суміші визначали на спектрофотометрі Spesord 210 Plus ($\lambda = 517$ нм). Антиоксидантну активність виражали як відсоток інгібування ДФПГ, і за розрахованими відсотками інгібування будували графік залежності величин інгібування забарвлення ДФПГ від концентрації екстракту. За графіком визначали концентрацію екстракту, яка спричиняла 50 % інгібування забарвлення вільного радикала (EK_{50}): чим нижчий показник EK_{50} , тим вища антиоксидантна активність рослин. Як позитивний контроль використовували водний розчин аскорбінової кислоти (Sigma) у діапазоні концентрацій 0,025—1,000 мг/мл.

Вміст аскорбінової (АК), дегідроаскорбінової (ДАК) та дикетоглулонової кислот (ДКГК) визначали методом, що ґрунтується на взаємодії 2,4-динітрофенілгідразину (Sigma) з ДАК і ДКГК з утворенням у середовищі із сульфатною кислотою відповідних озонів, які дають червоне забарвлення [18]. Наважку рослинного матеріалу розтирали у 5 %-й метафосфорній кислоті (1 : 10). Вміст АК, ДАК і ДКГК розраховували за різницею поглинання при 520 нм на спектрофотометрі Spesord 210 Plus і виражали у мкг/г сухої речовини.

Для визначення вмісту відновленого глутатіону рослинний матеріал гомогенізували у 5 %-й трихлороцтовій кислоті й центрифугували 15 хв за 4000 g. Реакційна суміш містила ферментний препарат, 15 мМ ЕДТА (Sigma), 0,02 %-й білок яєчного альбуміну (Sigma), 0,3 мМ 5,5-дитіобіс (2-нітробензойну) кислоту (Sigma), 50 мМ імідазол (Sigma) та 0,48 од. глутатіонредуктази (Sigma). Реакцію ініціювали добавлянням 0,9 мМ НАДФН₂ (Sigma). Для визначення вмісту окисненого глутатіону рослинний екстракт відновлювали 2 М розчином борогідриду натрію (Sigma). Вміст окисненого глутатіону обчислювали за різницею вмісту відновленого глутатіону, що утворився після реакції з борогідридом натрію, і вмістом глутатіону, попередньо визначеним у цьому екстракті [19]. Проби фотометрували 4 хв за довжини хвилі 412 нм. Вміст відновленого й окисненого глутатіону виражали в мкМ НАДФН₂/г сухої речовини. Концентрацію білка визначали методом Бредфорда [20].

Усі дослідження проводили у триразовій повторності. Отримані дані опрацьовували методами статистичного аналізу з використанням пакета програмного забезпечення Microsoft Excel.

Результати та обговорення

За відношенням до вологості субстрату *Ceratodon purpureus* є ксеромезофітом, *Polytrichum formosum* і *Atrichum undulatum* — мезофітами. Тollerантний до водного дефіциту *C. purpureus* є ектогідричним видом, у його дернині переважає зовнішня капілярна вода. Рослини цього виду приурочені до відкритих місць зростання на дослідних ділянках, тому вміст вологи у пагонах низький (23,8—26,2 %) (табл. 2). Ендогідричним видам мохів *P. formosum* й *A. undulatum* властива внутрішня провідність води. Ці рослини у стеблах мають центральний пучок з трахеїдоподібними провідними клітинами (гідроїдами) і ситоподібними трубками (лептоїдами), які проводять воду і цукри відповідно [21]. Крім того, ендогідричні види мохів мають поверхні з водонепроникними клітинними оболонками, що значно зменшує втрату вологи рослинами за несприятливого водного й температурного режимів середовища [22]. У літній період вміст вологи у дернинах *P. formosum* й *A. undulatum* вищий і стабільніший (у діапазоні 43,0—76,1 %). Наприклад, у пагонах *P. formosum* вміст вологи у різних умовах водозабезпечення становив 52,4—64,2 % (див. табл. 2).

Вода у рослинному організмі наявна у вільній і зв'язаній формах. У ектогідричних видів мохів фракція вільної води знаходиться у зовнішньому капілярному просторі між пагонами та листками мохової дернини, в гіалінових клітинах і міжклітинному просторі. В ендогідричних видів мохів вільна вода міститься також у провідних елементах стебла — гідроїдах. Фракція зв'язаної води у рослинному організмі представлена осмотичнозв'язаною водою, що утримується осмолітами (цукри, органічні кислоти, мінеральні солі), та колоїдно-

ТАБЛИЦЯ 2. Вміст води (%) у пагонах мохів *Polytrichum formosum*, *Atrichum undulatum* і *Ceratodon purpureus* із дослідних ділянок лісових екосистем ($n = 4$, $x \pm SD$)

Вид	Вміст води, %		
	загальний вміст	вільна вода	зв'язана вода
Ділянка 1			
<i>Atrichum undulatum</i>	76,1±8,2	55,6±6,3	20,5±2,3
<i>Polytrichum formosum</i>	64,2±5,8	52,4±5,9	11,8±1,2
<i>Ceratodon purpureus</i>	25,7±3,1	12,3±1,5	13,4±1,5
Ділянка 2			
<i>Atrichum undulatum</i>	56,7±5,9*	32,4±2,9*	24,3±2,1
<i>Polytrichum formosum</i>	52,0±5,7*	31,1±3,3*	20,9±1,9*
<i>Ceratodon purpureus</i>	26,2±2,2	10,1±9,6	16,1±1,7
Ділянка 3			
<i>Atrichum undulatum</i>	43,0±3,8*	18,8±2,1*	24,2±2,3
<i>Polytrichum formosum</i>	46,2±4,9*	20,2±2,2*	26,0±2,8*
<i>Ceratodon purpureus</i>	23,8±2,5	9,5±1,1	14,3±1,3

*Тут і у табл. 3—5: різниця між зразками одного виду статистично достовірна порівняно з показниками ділянки 1 (контроль) за $p < 0,05$.

зв'язаною водою, яка зв'язана з білками цитоплазми та іншими полімерами. Фізіологічне значення вільної та зв'язаної води різне. Високий вміст вільної води забезпечує інтенсивніший обмін речовин та ріст рослин. Збільшення кількості зв'язаної води підвищує стійкість до несприятливого температурного та водного режимів місць зростання [23].

За фракційним складом води досліджувані види істотно різнилися. У дернинах *P. formosum* й *A. undulatum* із дослідної ділянки старовікового букового лісу, де умови водозабезпечення були найоптимальнішими, переважала вільна вода (67,8—81,64 % загального вмісту вологи у рослині). За погіршення умов водозабезпечення фракційний склад води істотно змінювався. У дернинах *A. undulatum* з ділянки старовікового лісу вміст вільної та зв'язаної води становив 55,6 та 20,5 % відповідно, тоді як на ділянці вирубки із вищою напруженістю екологічних чинників вміст вільної води був майже у 3 рази меншим (18,8 %), а вміст зв'язаної води залишався практично незмінним (24,2 %) (див. табл. 2). Подібну тенденцію визначено й у дернинах *P. formosum*: в умовах погіршення водозабезпечення вміст зв'язаної води збільшувався більш як у 2 рази, вільної — зменшувався в 1,6 рази порівняно з показниками для рослин із дослідної ділянки старовікового лісу. У пагонах ксеромезофітного моху *C. purpureus* із усіх досліджуваних місць зростання переважала фракція зв'язаної води (52,1—60,1 % загального вмісту вологи у рослинах).

Отже, фракційний склад води у мохів лісових екосистем залежав від їх видових особливостей та умов місць зростання. У пагонах ендогідричних видів мохів у загальному водному балансі переважала вільна вода, у зразках ектогідричного моху *C. purpureus* — фракція осмотично зв'язаної води. В умовах несприятливого водного і температурного режимів у всіх досліджуваних мохів істотно збільшувався вміст зв'язаної води, що зумовлено підвищенням концентрації осмолітів у клітинах і свідчить про пластичність їх водного режиму.

Збільшення вмісту розчинних вуглеводів у клітинах, що супроводжується підвищенням внутрішньоклітинного осмотичного тиску, є одним із найважливіших механізмів адаптації бріофітів до водного дефіциту [1]. Проаналізовано загальний вміст, а також концентрацію крохмалю й розчинних вуглеводів (моноцукрів, цукрози) у пагонах мохів (табл. 3).

Досліджувані види мохів різнилися за загальним вмістом вуглеводів. У рослин із дослідної ділянки старовікового букового лісу вміст вуглеводів був у діапазоні 1352,8—2038,4 мкг/г сирової речовини. У мохів *P. formosum* й *A. undulatum* із зони рекреації та *C. purpureus* із території вирубки, де найнесприятливіші мікрокліматичні умови, зафіксовано збільшення загального пулу вуглеводів у 1,3—1,5 рази та зменшення вмісту крохмалю. У пагонах мохів із ділянки старовікового лісу вміст крохмалю становив 9,5—10,2 % загальної кількості вуглеводів у рослинах. У зоні вирубки частка крохмалю в загальній кількості вуглеводів зменшувалася до 5,9—7,5 %. Тобто у несприятливих умовах водозабезпечення вуглеводний обмін модифікувався у напрямку гідролізу крохмалю і накопичення розчинних вуглеводів, які підвищували водоутримувальну здатність клітин мохів.

ТАБЛИЦЯ 3. Вміст вуглеводів (мкг/г сухої речовини) у пагонах мохів *Polytrichum formosum*, *Atrichum undulatum* і *Ceratodon purpureus* із дослідних ділянок лісових екосистем ($n = 4$, $x \pm SD$)

Вид	Вміст вуглеводів, мкг/г сухої речовини				
	загальний вміст вуглеводів	крохмаль	розчинні вуглеводи	моноцукри	цукроза
Ділянка 1					
<i>Atrichum undulatum</i>	2038,4±134,2	209,2±14,8	305,8±33,1	67,1±7,3	155,1±17,4
<i>Polytrichum formosum</i>	1466,8±116,9	222,1±24,6	332,2±36,8	52,8±6,4	143,6±16,1
<i>Ceratodon purpureus</i>	1352,8±141,4	124,6±13,5	318,2±37,3	124,6±14,2	158,6±14,6
Ділянка 2					
<i>Atrichum undulatum</i>	2572,4±261,3*	159,7±16,8*	379,7±28,3*	50,6±4,3*	179,2±18,5*
<i>Polytrichum formosum</i>	1965,1±152,8*	184,8±19,2*	381,4±36,2*	57,9±6,2*	229,1±24,5*
<i>Ceratodon purpureus</i>	1483,6±156,2	87,5±9,3*	453,2±41,5*	53,1±6,4*	182,7±16,8*
Ділянка 3					
<i>Atrichum undulatum</i>	1877,1±193,7*	141,2±16,1*	341,1±38,2*	43,8±4,9*	191,7±17,4*
<i>Polytrichum formosum</i>	1621,8±183,1*	97,3±9,5*	308,1±33,4	47,8±5,7*	214,3±22,5*
<i>Ceratodon purpureus</i>	1963,6±205,2*	123,8±14,1	398,5±41,5*	39,4±5,2*	283,8±31,7*

На дослідній ділянці старовікового букового лісу вміст розчинних вуглеводів у досліджуваних видів мохів був подібним (див. табл. 3). На території рекреації за погіршення умов водозабезпечення у пагонах *P. formosum* вміст цукрів змінювався неістотно, в інших видів мохів зафіксовано збільшення вмісту осмолітів: у *A. undulatum* вміст розчинних вуглеводів зростав у 1,2 раза, у *C. purpureus* — в 1,4 раза. Загалом частка цукрів у загальному пулі вуглеводів в ендогідричних видів-мезофітів становила 15—22 %, а у пагонах ксеромезофіта *C. purpureus* відсоток розчинних цукрів був вищим на усіх дослідних ділянках і становив 20—30 % загальної кількості вуглеводів.

Виявлено, що у бріофітів лісових екосистем у складі розчинних вуглеводів переважала цукроза. Така специфіка вуглеводного метаболізму характерна як для ксеромезофіта *C. purpureus*, так і для представників мезофітної групи. У пагонах мохів із ділянки старовікового букового лісу вміст цукрози був у діапазоні 143,6—158,6 мкг/г сухої речовини, що становило 43—50 % загальної кількості розчинних вуглеводів (див. табл. 3). На дослідних ділянках із несприятливими температурним і водним режимами і високою інсоляцією концентрація цукрози у клітинах мохів збільшувалася. У пагонах *P. formosum* й *A. undulatum* зафіксовано в 1,2—1,5 раза вищий вміст цукрози на території вирубки порівняно зі зразками з ділянки старовікового лісу. У пагонах *C. purpureus* із території вирубки концентрація цукрози підвищилася в 1,8 раза. Загалом частка цього дицукриду в загальній кількості розчинних вуглеводів за несприятливого водного режиму збільшувалася до 56—70 %.

Аналіз вмісту моноцукрів показав, що у досліджуваних видів *P. formosum* й *A. undulatum* їх частка в сумарному пулі розчинних вуглеводів становила 12,2—21,9 % (див. табл. 3). Великої різниці щодо кількості моноцукрів у пагонах цих видів мохів із різних дослідних

ділянок не виявлено. Лише у пагонах ксеромезофіта *C. purpureus* із ділянки старовікового лісу вміст моноцукрів майже у 2 рази перевищував показники, отримані для інших видів, їхня частка в пулі розчинних вуглеводів становила 39 %.

Важливе значення для захисних реакцій мохів у мінливих мікрокліматичних умовах має функціонування антиоксидантної системи. Загальна антиоксидантна активність мохів була 0,26–1,39 мг/мл, що свідчить про високу антирадикальну активність у клітинах бріофітів (для порівняння — EK_{50} аскорбінової кислоти становила 0,06 мг/мл) (рис. 1). Для *P. formosum* і *C. purpureus* зафіксовано підвищення антиоксидантної активності в 1,3–1,5 рази у зразках із зони рекреації та ще більшою мірою у рослинах із території вирубки, де найнесприятливіші умови водозабезпечення рослин. У 3–4 рази вищу антирадикальну активність встановлено у пагонах *A. undulatum* — 0,26–0,27 мг/мл, що свідчить про значний антиоксидантний потенціал рослин цього виду.

Антиоксидантна активність мохів значною мірою зумовлена низькомолекулярними антиоксидантами аскорбатом і глутатіоном, тому ми проаналізували вміст компонентів глутатіон-аскорбатного циклу [7, 9]. На дослідній ділянці у старовіковому лісі із найсприятливішими мікрокліматичними умовами у пагонах бріофітів виявлено вищий вміст аскорбату і низьку концентрацію його дегідроформ, що вказує на резервні можливості антиоксидантної системи рослин. Вищі показники вмісту аскорбінової кислоти зафіксовано у гаметофорах *C. purpureus* і *A. undulatum* (табл. 4).

У пагонах рослин із території рекреації та вирубки виявлено зміни у співвідношенні компонентів аскорбатного циклу: зменшення концентрації аскорбату в 1,2–1,4 рази у *P. formosum* й *A. undulatum* і майже в 4 рази у *C. purpureus* на території вирубки із значною напруженістю кліматичних чинників, що свідчило про інтенсивне використання аскорбінової кислоти у захисних реакціях в умовах несприятливого водного режиму. Водночас помічено збільшення вмісту дегідроаскорбінової та дикетогулонової кислот. Вищу мінливість вмісту

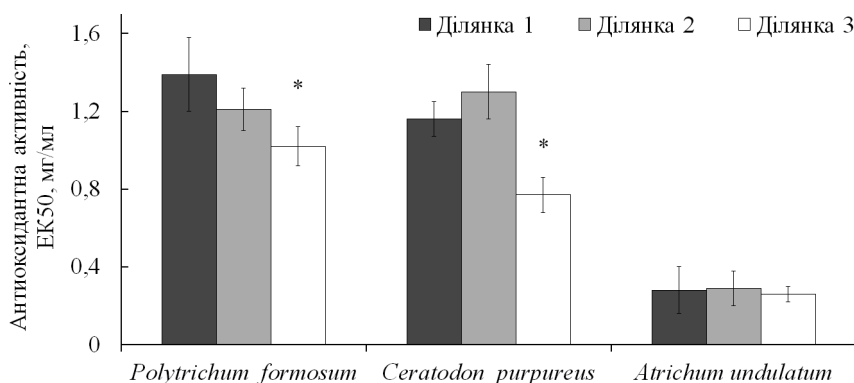


Рис. 1. Антиоксидантна активність у пагонах мохів *Polytrichum formosum*, *Atrichum undulatum* і *Ceratodon purpureus* із дослідних ділянок лісових екосистем.

Тут і на рис. 2 зірочкою позначено різницю між зразками одного виду, яка статистично достовірна порівняно з показниками ділянки 1 (контроль) за $p < 0,05$

ТАБЛИЦЯ 4. Вміст аскорбінової, дегідроаскорбінової та дикетогулонової кислот (мкг/г сухої речовини) у пагонах мохів *Polytrichum formosum*, *Atrichum undulatum* і *Ceratodon purpureus* із дослідних ділянок лісових екосистем ($n = 4$, $x \pm SD$)

Вид	Аскорбінова кислота	Дегідроаскорбінова кислота	Дикетогулонова кислота	АК/ДАК
Ділянка 1				
<i>Atrichum undulatum</i>	280,2±32,1	68,1±7,3	82,0±6,3	4,1
<i>Polytrichum formosum</i>	188,3±21,4	76,0±8,1	78,5±9,1	2,5
<i>Ceratodon purpureus</i>	244,8±23,2	51,2±6,2	56,0±7,4	4,8
Ділянка 2				
<i>Atrichum undulatum</i>	218,3±19,3*	116,1±12,4*	126,9±14,1*	1,9
<i>Polytrichum formosum</i>	156,4±162,4*	112,0±12,38	116,2±13,8*	1,4
<i>Ceratodon purpureus</i>	136,4±14,2*	158,4±16,2*	216,0±22,1*	0,9
Ділянка 3				
<i>Atrichum undulatum</i>	232,4±25,2*	94,4±11,1*	197,6±21,9*	2,4
<i>Polytrichum formosum</i>	144,6±15,6*	108,3±12,5*	176,1±19,5*	1,3
<i>Ceratodon purpureus</i>	47,2±6,4*	170,4±19,2*	106,4±11,8*	0,3

компонентів аскорбатного циклу визначено у пагонах ектогідричного виду *C. purpureus*, які найбільше зазнавали дефіциту вологи (на ділянці вирубки відносний вміст вологи у рослинах становив 23,8 %). У зразках цього виду з території вирубки виявлено зниження вмісту АК майже у 4,5 раза та підвищення концентрації ДАК і ДКГК у 3—4 рази порівняно з рослинами з ділянки старовікового лісу. Істотне збільшення концентрації ДКГК у пагонах *C. purpureus*, що є кінцевим продуктом у метаболізмі аскорбату, — результат значного стресового впливу й використання пулу АК на пригнічення окиснювальних процесів у клітинах, спричинених дефіцитом вологи.

Співвідношення АК/ДАК слугує важливим показником фізіологічного стану рослинного організму. Для *C. purpureus* він становив 0,3—4,8, для *A. undulatum* і *P. formosum* — 1,3—4,1. Збільшення цього показника було результатом високої інтенсивності метаболічних процесів у сприятливіших умовах середовища, а зниження відбувалося внаслідок накопичення окисненої форми аскорбату та активізації окиснювальних процесів.

Значне зменшення вмісту АК у клітинах мохів за несприятливих умов водозабезпечення зумовлене як безпосередньою взаємодією аскорбату з АФК, так і участю у знешкодженні H_2O_2 ферментом аскорбатпероксидазою. У пагонах мохів із дослідної ділянки старовікового лісу активність ферменту становила 0,104—0,160 мкМ АК/(мг білка · хв) (рис. 2).

У зоні рекреації та вирубки в умовах дефіциту вологи у пагонах *C. purpureus* активність ферменту зростала в 2,2—3,0 раза. У *A. undulatum* і *P. formosum*, які менше втрачали вологу, виявлено меншу мінливість активності аскорбатпероксидази. Це свідчить про залежність активності ферменту від видових особливостей мохів.

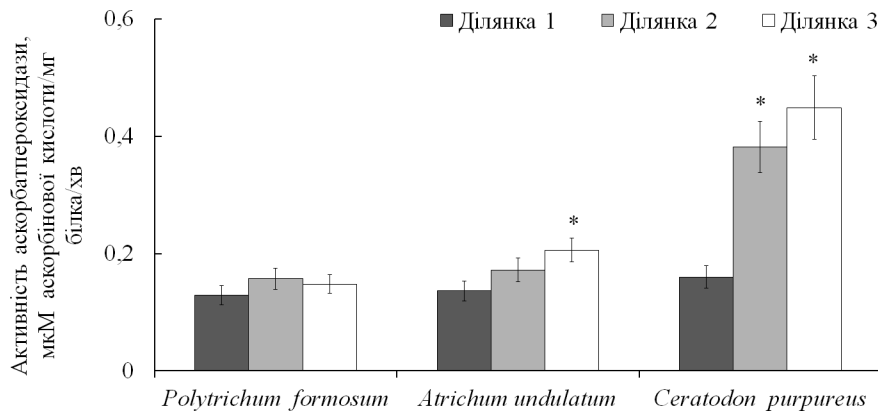


Рис. 2. Активність аскорбатпероксидази у пагонах мохів *Polytrichum formosum*, *Atrichum undulatum* і *Ceratodon purpureus* із дослідних ділянок лісових екосистем (АК — аскорбінова кислота)

Досліджено вплив мікрокліматичних умов місць зростання на вміст відновленого (GSH) та окисненого (GSSG) глутатіону в пагонах мохів. Максимум вмісту відновленого глутатіону та найнижчу концентрацію його окисненої форми визначено у мохів на дослідних ділянках старовікового лісу (табл. 5). На території рекреації та ще більшою мірою на ділянці вирубки у зразках *C. purpureus* зафіксовано зменшення вмісту GSH у 2,0—2,3 раза, що свідчило про його використання як для припинення вільнорадикальних реакцій, спричинених несприятливими мікрокліматичними умовами, так і в реакціях відновлення дегідроаскорбату. Натомість виявлено збільшення вмісту GSSG в 1,3—1,6 раза. Для ендогідричних видів мохів *A. undulatum* і *P. formosum* зміни у концентрації відновленого й окисненого глутатіону були менш виражені, що, очевидно, зумовлено стабільнішим водним режимом цих рослин у мінливих мікрокліматичних умовах. Співвідношення вмісту GSH/GSSG також має індикаційне значення для оцінки окисно-відновного стану клітин мохів. За сприятливого температурного та водного режимів показник становив 2,8—4,6, тоді як за несприятливих умов він знижувався до 1,0—2,4 внаслідок активації окиснювальних процесів.

Отже, отримані результати свідчать, що за мінливих умов водопостачання захисні функції у клітинах бріюфітів виконують низькомолекулярні поліфункціональні сполуки — розчинні вуглеводи й ензиматичні та неензиматичні компоненти антиоксидантної системи, які зменшують негативні наслідки зневоднення. Зокрема, у пагонах досліджуваних мохів виявлено посилення гідролізу крохмалю та збільшення вмісту розчинних вуглеводів. Отримані результати підтверджуються літературними даними. У зразках мохів *Syntrichia caninervis* Mitt. та *Plagiomnium acutum* (Lindb.) T.J. Кор. за дефіциту вологи також встановлено посилення гідролізу крохмалю [12, 24]. У пагонах *Polytrichum formosum* Hedw. за висушування зафіксовано активацію амілазної активності, зменшення вмісту крохмалю і швидкий його ресинтез під час регідратації, що засвідчує пластичність вуглеводного метаболізму мохів в умовах мінливого гідротермічного

ТАБЛИЦЯ 5. Вміст відновленого (GSH) та окисненого (GSSG) глутатіону (мкмоль НАДФН₂/г сухої речовини) у пагонах мохів *Polytrichum formosum*, *Atrichum undulatum* і *Ceratodon purpureus* із дослідних ділянок лісових екосистем ($n = 4$, $x \pm SD$)

Вид	GSH	GSSG	GSH/GSSG
Ділянка 1			
<i>Atrichum undulatum</i>	546,8±62,1	118,3±13,2	4,6
<i>Polytrichum formosum</i>	312,2±38,3	113,2±9,4	2,8
<i>Ceratodon purpureus</i>	468,0±53,1	142,8±13,8	3,3
Ділянка 2			
<i>Atrichum undulatum</i>	426,3±47,1*	172,4±18,9*	2,4
<i>Polytrichum formosum</i>	294,5±32,5	181,5±20,1*	1,6
<i>Ceratodon purpureus</i>	241,4±27,1*	180,2±19,5*	1,3
Ділянка 3			
<i>Atrichum undulatum</i>	408,7±42,8*	187,8±19,2*	2,2
<i>Polytrichum formosum</i>	276,2±27,1*	162,1±18,1*	1,7
<i>Ceratodon purpureus</i>	208,5±22,4*	201,8±21,5*	1,0

режиму [25]. Вміст розчинних вуглеводів у пагонах досліджуваних мохів залежав від їх видових особливостей, оскільки в ендогідричних видів *A. undulatum* і *P. formosum*, що характеризувалися стабільнішими показниками вмісту води у пагонах, частка цукрів у загальній кількості вуглеводів становила 15—22 %. У пагонах ектогідричного ксеромезофітного виду *C. purpureus*, для якого визначено низький вміст вологи у пагонах (23,8—26,2 %), відсоток цукрів був вищим на усіх дослідних ділянках і становив 20—30 % загальної кількості вуглеводів. У складі розчинних вуглеводів переважала цукроза, що забезпечувало захист білків від денатурації і підтримку цілісності мембранних структур за дефіциту вологи [26]. Частка цього дисахариду в загальній кількості розчинних вуглеводів становила 56—70 %. Подібні зміни виявлено також у мохів *Dicranum majus* Turner і *P. commune* Hedw. в умовах осмотичного стресу. Частка цукрози у пагонах цих рослин становила більш як 40 % загального вмісту розчинних вуглеводів [1]. Відомо, що цукроза у клітинах мохів стабілізує фосфоліпідні бішари, утворюючи водневі зв'язки з полярними кінцевими групами фосфоліпідів [27]. Очевидно, розчинні вуглеводи є одним із найважливіших осмопротекторів у клітинах бріофітів за умов водного дефіциту.

Важливу роль у захисті клітин мохів від окиснювальних пошкоджень відіграють антиоксиданти. Відомо, що бріофіти мають значний антиоксидантний потенціал, який забезпечується як неензиматичними компонентами (аскорбатом, глутатіоном, сполуками фенольної природи), так й активністю ферментних систем [28, 29], і є важливою адаптивною реакцією на існування в мінливих умовах середовища. У зразках досліджуваних видів мохів визначено високу антирадикальну активність, особливо у рослинах із зони рекреації і території вирубки, де умови водозабезпечення рослин найменш сприятливі. Визначення вмісту аскорбату, глутатіону та їхніх окиснених форм також показало залежність вмісту цих сполук від умов місць зростання

та видових особливостей мохів. За несприятливих умов температурного і водного режимів для всіх досліджуваних видів мохів виявлено зменшення вмісту неензиматичних антиоксидантів та підвищення концентрації їх дегідроформ, що засвідчує їхнє інтенсивне використання у захисних реакціях в умовах окиснювального стресу. Разом із тим істотнішу мінливість вмісту компонентів глутатіон-аскорбатного циклу й активності аскорбатпероксидази зафіксовано у пагонах ектогідричного виду *S. purpureus*, які найбільше зазнавали впливу дефіциту вологи, тоді як у пагонах ендогідричних видів *A. undulatum* і *P. formosum* показники їх вмісту були стабільнішими.

Загалом, оцінивши фізіологічні реакції на стрес досліджуваних видів мохів, виявлено, що для *S. purpureus* характерна більша пластичність вмісту неензиматичних антиоксидантів, вищий вміст осмотично активних речовин (розчинних вуглеводів) та активність аскорбатпероксидази. Це «класичний» рудеральний вид, космополіт, що підкреслюють особливості його екології (ксеромезофітність, толерантність до водного дефіциту), будови (ектогідричність) та фізіологічні адаптивні відповіді на умови мінливого водного режиму.

Таким чином, за результатами проведених досліджень встановлено, що фракційний склад води у мохів лісових екосистем залежав від їх видових особливостей та умов місць зростання. У пагонах ендогідричних видів *A. undulatum* і *P. formosum* у загальному водному балансі переважала вільна вода, тоді як у ектогідричного виду *S. purpureus* — фракція осмотично зв'язаної води. В умовах несприятливого водного і температурного режимів у зразках усіх досліджуваних рослин істотно збільшувалася кількість зв'язаної води, що зумовлено підвищенням концентрації осмолітів (розчинних вуглеводів) у клітинах і свідчило про пластичність їх водного режиму.

Вуглеводний обмін мохів за несприятливих умов водозабезпечення спрямовувався у напрямку гідролізу крохмалю та накопичення розчинних вуглеводів, насамперед цукрози (56—70 % загальної кількості розчинних вуглеводів), що підвищує водоутримувальну здатність клітин бріофітів.

У гаметофіті мохів лісових екосистем за несприятливих умов водозабезпечення відзначено комплекс захисних фізіологічних реакцій: підвищення загальної антиоксидантної активності, зумовлене як неензиматичними антиоксидантами — аскорбатом і глутатіоном, так й активністю аскорбатпероксидази; посилення гідролізу крохмалю і накопичення розчинних вуглеводів, що забезпечує внутрішньоклітинну осморегуляцію і захист від окиснювальних пошкоджень.

У пагонах ектогідричного виду *S. purpureus* виявлено більшу пластичність вмісту компонентів антиоксидантної системи, тоді як у гаметофіті ендогідричних видів *A. undulatum* і *P. formosum* показники були константнішими, що, очевидно, зумовлено стабільнішим водним режимом цих рослин у мінливих мікрокліматичних умовах.

REFERENCES

1. Glime, J.M. (2017). Water relations: movement. Chap. 7—2. In: Glime, J.M. Bryophyte ecology. Vol. 1. Physiological Ecology. E-book sponsored by Michigan Technological

- University and the International Association of Bryologists. Retrieved from <http://digitalcommons.mtu.edu/bryophyte-ecology/>
2. Turetsky, M.R., Bond-Lamberty, B., Euskirchen, E., Talbot, J., Frohling, S., McGuire, A.D. & Tuittila, E.S. (2012). The resilience and functional role of moss in boreal and arctic ecosystems. *New Phytol.*, 196, pp. 49-67. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04254.x>
 3. Kyiak, V., Danylyk, I., Shpakivska, I., Kagalo, O. & Lobachevska, O. (Eds.) (2022). Conservation of biodiversity and rare habitat types under climate change conditions. Lviv: Levada [in Ukrainian]. Retrieved from <https://ecoinst.org.ua/pdf/zberzhennia-bioriznomanittia-recomendacii-2022.pdf>
 4. Fojcik, B., Wierzoń, M. & Chmura, D. (2019). Response of bryophytes to disturbances in managed forests. A case study from a polish forest. *Cryptogamie, Bryol.*, 40, No. 10, pp. 105-118. <https://doi.org/10.5252/cryptogamie-bryologie2019v40a10>
 5. Siwach, A., Kaushal, S. & Baishya, R. (2021). Effect of Mosses on physical and chemical properties of soil in temperate forests of Garhwal Himalayas. *J. Trop. Ecol.*, 37, pp. 1-10. <https://doi.org/10.1017/S0266467421000249>
 6. Apel, K. & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 55, pp. 373-399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
 7. Lobachevska, O.V., Kyiak, N.Ya., Baik, O.L., Khorkavtsiv, Ya.D., Sokhanchak, R.R., Karpinets, L.I., Boiko, I.V., Beshlei, S.V., Rabyk, I.V., Shcherbachenko, O.V. & Kit, N.A. (2022). Resistance and adaptive structural and functional changes of mosses under the influence of abiotic stressors in conditions of the anthropogenically transformed environment: monograph. Lviv: Halych-Press [in Ukrainian].
 8. Gao, B., Li, X., Zhang, D., Liang, Y., Yang, H., Chen, M., Zhang, Y., Zhang, J. & Wood, A.J. (2017). Desiccation tolerance in bryophytes: The dehydration and rehydration transcriptomes in the desiccation-tolerant bryophyte *Bryum argenteum*. *Sci. Rep.*, No. 7, pp. 75-87. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07297-3>
 9. Kyiak, N.Y. (2022). Metabolism of carbohydrates and activity of the antioxidant system in mosses on the post-technogenic salinized territory. *Reg. Mech. Biosys.*, 13, No. 2, pp. 189-196. <https://doi.org/10.15421/022224>
 10. Thakur, S. & Kapila, S. (2017). Seasonal changes in antioxidant enzymes, polyphenol oxidase enzyme, flavonoids and phenolic content in three leafy liverworts. *Lindbergia*, 40, pp. 39-44. <https://doi.org/10.25227/linbg.01076>
 11. Proctor, M.C.F., Oliver, M.J., Wood, A.J., Alpert, P.R., Stark, L., Cleavitt, N.L. & Mishler, B.D. (2007). Desiccations-tolerance in bryophytes: a review. *Bryologist*, 110, No. 4, pp. 595-621. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/20110898>
 12. Wu, N., Zhang, Y.M., Downing, A., Zhang, J. & Yang, Ch. (2012). Membrane stability of the desert moss *Syntrichia caninervis* Mitt. during desiccation and rehydration. *J. Bryol.*, 34, No. 1, pp. 1-8. <http://doi.org/10.1179/1743282011Y.0000000043>
 13. Grabovska, O.V., Miroshnikov, O.M., Podobiy, O.V., Volovik, L.S., Kovalevska, E.I., Serbova, M.I. & Bondarenko, S.P. (2012). Physical and colloidal chemistry: Methodical recommendations for laboratory work. Kyiv: NUHT [in Ukrainian].
 14. Sadasivam, S. & Manickam, A. (2007). *Biochemical methods*. New Delhi: New Age Int.
 15. Aversi-Ferreira, T., Penha-Silva, N., Fonseca, A., Brito, A. & Penha, M. (2004). Rapid determination of reducing sugars with picric acid for biotechnological use. *Biosci. J.*, 20, pp. 183-188.
 16. Sakalo, V.D., Larchenko, K.A. & Kurchii, V.M. (2009). Synthesis and sucrose metabolism in the leaves of maize seedlings under water stress. *Physiol. Biochem. Cult. Plants*, 41, No. 4, pp. 305-313. Retrieved from <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/30280> [in Ukrainian].
 17. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.*, 28, No. 1, pp. 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
 18. Schmidt, K. & Holfelder, E. (1975). Simplification of the dinitrophenylhydrazine method for the photometric determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in fruit juices. I. Application to juice of black current. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 157, No. 4, pp. 217-220. <https://doi.org/10.1007/BF01785773>

19. Yenne, S.P. & Hatzios, K. (1990). Influence of oxime ether on glutathione content and glutathione-related enzyme activity in seeds and seedlings of grain sorghum. *Z. Naturforsch.*, 45, pp. 96-106.
20. Bredford, W. (1976). A simple method for protein test. *Ann. Clinic. Biochem.*, 72, pp. 248-252.
21. Lobachevska, O.V. (2013). Bryophytes as a model for the study of ecophysiological adaptation to environmental conditions. *Chornomors'k. bot. z.*, 10, No. 1, pp. 48-60 [in Ukrainian]. <http://doi.org/10.14255/2308-9628/14.101/6>
22. Ligrone, R., Duckett, J.G. & Renzaglia, K.S. (2000). Conducting tissues and phyletic relationships of bryophytes. *Philosophical Transactions of the Royal Society, London*, No. 355, pp. 795-813. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0616>
23. Myalkovsky, R.O. (2017). Fragmental composition of water in leaves of potato varieties (*Solanum tuberosum* L.). *Podilian Bulletin: agriculture, engineering, economics*, No. 27, pp. 30-36 [in Ukrainian].
24. Li, J., Li, X. & Chen, C. (2014). Degradation and reorganization of thylakoid protein complexes of *Bryum argenteum* in response to dehydration and rehydration. *The Bryologist*, 117, No. 2, pp. 110-118. <https://doi.org/10.1639/0007-2745-117.2.110>
25. Pressel, S., Ligrone, R. & Duckett, J. (2006). Effects of de- and rehydration on food-conducting cells in the moss *Polytrichum formosum*: a cytological study. *Ann. Bot.*, No. 98, pp. 67-76. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl092>
26. Kolupaev, Yu.E. (2010). *Basics of plant resistance physiology*. Kharkiv: Miskdruk [in Ukrainian].
27. Proctor, M.C.F. & Tuba, Z. (2002). Poikilohydry and homiohydry: antithesis or spectrum of possibilities? *New Phytologist*, 156, pp. 327-349. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00526.x>
28. Kandpal, V., Chaturvedi, P., Negi, K., Gupta, S. & Sharma, A. (2016). Evaluation of antibiotic and biochemical potential of bryophytes from Kumaun hills and Tarai belt of Himalayas. *Int. J. Pharm. Pharmac. Sci.*, 8, No. 6, pp. 65-69.
29. Sabovljević, M.S. & Sabovljević, A.D. (2020). *Bryophytes*. London: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84587>

Received 31.10.2023

PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF THE ADAPTATION OF MOSSES FROM FOREST ECOSYSTEMS TO THE CHANGING CONDITIONS OF THE WATER REGIME

N.Ya. Kyyak¹, O.I. Terek²

¹Institute of Ecology of the Carpathians, National Academy of Sciences of Ukraine
4 Kozelnyska St., Lviv, 79026, Ukraine
e-mail: kyyak_n@i.ua

²Ivan Franko Lviv National University
4 Hrushevskiy St., Lviv, 79005, Ukraine

The physiological adaptive responses (peculiarities of the fractional composition of water, the soluble carbohydrates content, the total antioxidant activity, and the content of the glutathione-ascorbate cycle components) in the mosses *Polytrichum formosum* Hedw., *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv., *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. from the forest ecosystems of the Ukrainian Roztochia have been investigated. Freshly collected plant material was used in the work. Plant samples were selected from experimental plots that differed according to the water and temperature regimes of localities: 1 — the territory of a complete protecting in the ancient forest of the Vereshchytsky Department of the Nature Protection and Research (control); 2 — zone of stationary recreation «Vereshchytsia»; 3 — the territory of the felling of the 40-year-old of Stradch Educational and Production Forestry Plant. It was shown that the fractional composition of water in the gametophyte of mosses depended on their species characteristics and conditions of localities. In the shoots of the endohydric species *A. undulatum* and *P. formosum*, the total water balance was dominated by free water,

while in the samples of the ectohydric species *C. purpureus* — the fraction of osmotically bound water. Under the conditions of unfavorable water and temperature regime, the amount of bound water in the samples of all studied plants increased significantly, which is caused by an increase in the osmolytes concentration in the cells. It was indicated, that under unfavorable conditions of water supply, carbohydrate metabolism was directed towards the starch hydrolysis and the accumulation of soluble carbohydrates, primarily sucrose (56—70 % of the total amount of soluble carbohydrates), which increased the water-holding capacity of bryophyte cells. The antioxidant system plays an important role in the protective reactions of mosses in changing microclimatic conditions. An increase in total antioxidant activity, intensive use of ascorbic acid and reduced glutathione, as well as an increase in ascorbate peroxidase activity were observed in the experimental plots in the recreation area and in the felling territory with a less favorable temperature and water regime. In the shoots of the ectohydric moss species *C. purpureus*, higher plasticity of the antioxidant system components content was established, while in the gametophyte of the endohydric species *A. undulatum* and *P. formosum*, the indices were more constant, which is obviously due to the more stable water regime of these plants under changing microclimatic conditions.

Key words: mosses, water fractional composition, carbohydrates, antioxidant system, forest ecosystems.

ORCID

Н.Я. КИЯК — N.Ya. Kyiak <https://orcid.org/0000-0001-8965-9060>

О.І. ТЕРЕК — O.I. Terek <https://orcid.org/0000-0003-0230-4166>