

DOI: <https://doi.org/10.36885/nzdpm.2023.39.123-130>

УДК 582.32:561.32

Кіт Н.А., Щербаченко О.І.

## ОСОБЛИВОСТІ МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНИХ РЕАКЦІЙ МОХІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ВОДНО-ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМУ ЇХ МІСЦЕВИРОСТАНЬ

Досліджено морфологічну структуру дернин, вміст перексиду водню і активність каталази, яка запобігає його токсичній дії, у пагонах лісових видів мохів *Ptychostomum imbricatum* та *Brachythecium rutabulum* залежно від мікрокліматичних умов їх місцевиростань. Встановлено морфологічну мінливість мохових дернин в різних екологічних умовах лісових екосистем, зокрема, виявлено вплив рівня зволоженості місцевиростання на морфометричні параметри мохів (щільність дернин, висоту пагонів та їх облистнення і розміри листочків). Виявлено, що пагони і листки досліджуваних мохів з території соснових насаджень були меншими, а щільність дернин - більшою, порівняно з іншими локалітетами. Слід відзначити, що пагони *B. rutabulum* з території соснових насаджень утворювали значно більше бічних галузок, ніж у вологіших місцевиростаннях. Показано, що морфологічна структура дернин мохів *Ptychostomum imbricatum* та *Brachythecium rutabulum* є важливою для збереження вологи і залежить від мікрокліматичних умов місцевиростання та життєвої форми видів. Показано, що підвищення вмісту перексиду водню як сигнального медіатора, є складовою системи антиоксидантного захисту. Встановлено, що найвищий вміст перексиду водню був у пагонах *P. imbricatum* з території соснових насаджень, де найменше сприятливі мікрокліматичні умови. У відповідь на зростання вмісту перексиду водню підвищувалась активність каталази у пагонах досліджуваних мохів, що свідчить про її важливу роль в процесі знешкодження надлишку  $H_2O_2$ . Отримані результати вказують на існування взаємозалежності між утворенням активних форм кисню та активністю каталази як одного з ключових ферментів антиоксидантного захисту, що свідчить про сигнальну роль активних форм кисню у клітинах мохів в умовах стресу. Встановлено залежність активності каталази в клітинах мохів від рівня оводненості їх дернин. Активація каталази в несприятливих умовах водного та температурного режиму у пагонах досліджуваних видів свідчить про участь фермента в адаптації рослин до стресу і зумовлена посиленням процесів вільнорадикального окиснення, зокрема збільшенням вмісту перексиду водню.

**Ключові слова:** мохи, мікрокліматичні умови, морфологічна структура, життєва форма, перексид водню, каталаза.

Одним з шляхів вивчення стратегії виживання рослин в несприятливих умовах є вивчення морфо-фізіологічних реакцій на стрес (Щербаченко та ін., 2015; Rabyk et al., 2018). Мохоподібні, особливостями водного режиму яких є пойкилогідричність і високий вміст поверхневої води, на відміну від гомойогідричних рослин, відзначаються високою цитоплазматичною стійкістю як до тривалого водного стресу, так і висушування. Мохи поглинають воду всією поверхнею пагонів і через відсутність коренів легко віддають її під час висушування. За високої поглинальної здатності мохи запасують воду в десятки і сотні разів більше їхньої власної ваги (Glime, 2007). Вони витривалі і не гинуть навіть в умовах водного дефіциту, зберігаючи здатність до регідратації і нормального функціонування після припинення дії стресу. Мохоподібні завдяки особливостям їхньої морфологічної будови здатні пристосовуватися до несприятливих умов зовнішнього середовища з характерними лише для них життєвими формами. Мохи завдяки унікальній фізіології і морфології виробили ефективну систему регуляції вмісту води:

приспосовування до можливих втрат вологи (загини і скручування листків), здатність до швидкої регідратації. Водний режим мохів тісно зв'язаний з їх розмірами і життєвою формою (Proctor, Tuba, 2002). Передумовою розвитку мохів є забезпечення водою, оскільки її джерела – опади, туман і роса – нерегулярні, вони володіють різноманітними механізмами толерантності до водного дефіциту.

Метою роботи було дослідити особливості морфо-фізіологічних реакцій лісових видів мохів *Ptychostomum imbricatum* та *Brachythecium rutabulum* залежно від екологічних умов їх місцевиростань.

Вплив несприятливих факторів середовища призводить до збільшення вмісту перексиду водню в клітинах, що викликає активацію захисних механізмів і сприяє підвищенню стресостійкості рослин.

#### Матеріал і методика досліджень

Об'єктами дослідження були два види мохів, які є представниками різних життєвих форм: *Ptychostomum imbricatum* – низька щільна дернинка і *Brachythecium rutabulum* – пухке плетиво, зібрані на дослідних ділянках природного заповідника «Розточчя» та Яворівського національного парку (старовікові букові ліси, зона стаціонарної рекреації «Верещиця» і територія соснових насаджень) (рис. 1).



А

Б

Рис. 1. Дернини досліджуваних мохів (А – *Ptychostomum imbricatum*, Б – *Brachythecium rutabulum*).

Морфометричний аналіз рослин (вимірювання довжини пагонів, розмірів клітин, листків та їх кількості на стеблі) виконували на моторизованому мікроскопі Axio Imager M1 (Carl Zeiss) з використанням програмного забезпечення Carl Zeiss AxioVision 4.6 та UTHSCSA Image Tool 3.0, стереобінокулярі Stemi 2000-C (Carl Zeiss) з фотонасадкою та цифровою камерою „Nikon” та мікроскопі МБС-1 (Демків, Сытник, 2005).

Вміст гігроскопічної вологи у субстраті визначали за методикою О.В. Аринушкіної (Аринушкіна, 1970). Вміст вологи у мохових дернинах визначали ваговим методом та обчислювали у відсотках від маси абсолютно сухої речовини (Польчина, 1991).

Активність каталази визначали після екстракції у 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,8). Екстракт центрифугували протягом 15 хв за 5000 g. Активність фермента визначали у надосадовій рідині спектрофотометрично на основі реакції з 4% розчином молібдату амонію. Активність фермента виражали в мкМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> на мг білка за хв (Королук та ін., 1986).

Для визначення вмісту пероксиду водню рослинний матеріал гомогенізували та екстрагували у 50 мМ фосфатному буфері рН 7,0. Гомогенат центрифугували протягом 15 хв за 13 000 g та +5°C. Вміст пероксиду визначали калориметрично. Для визначення пероксиду до 1 мл супернатанту додавали 3 мл 0,1%  $Ti(SO_4)_2$ . Інтенсивність забарвлення визначали за довжини хвилі 410 нм. Калібрувальну криву будували за  $H_2O_2$ . Вміст пероксиду водню розраховували у мг на 1 г сухої речовини.

Отримані дані опрацьовували методами статистичного аналізу (Лакин, 1990).

### Результати досліджень

Здатність мохоподібних підтримувати оптимальну вологість дернин є видоспецифічною ознакою бріофітів, яка значною мірою визначається їх життєвою формою. У зв'язку з тим проведено дослідження впливу мікрокліматичних умов місцевиростань лісових екосистем на морфо-фізіологічні параметри двох видів мохів з відмінними формами росту: *Ptychostomum imbricatum* і *Brachythecium rutabulum*.

Мікрокліматичні умови на дослідних ділянках соснових насаджень (температура повітря 28-30°C, вологість повітря 20-22%, інтенсивність світла 80-90 тис. лк) були відмінними, ніж в рекреаційній зоні (температура повітря 24-26°C, вологість повітря 26-28%, інтенсивність світла 90-100 тис. лк) і на дослідних ділянках старовікових букових лісів (температура повітря 21-23°C, вологість повітря 33-35%, інтенсивність світла 40-50 тис. лк). Вміст вологи у верхніх шарах ґрунту на території соснових насаджень був нижчим порівняно з ділянками у старовікових букових лісах в 1,4 рази, а в зоні рекреації – в 1,2 рази.

Зразки *P. imbricatum* з різних локалітетів відрізнялися розмірами пагонів і листків та густотою облистнення. Листки рослин з дослідних ділянок території соснових насаджень були в 1,6 разів менші, гаметофори в 1,4 рази нижчі, порівняно з вологішими місцевиростаннями. Показники густоти облистненості пагонів *P. imbricatum* змінювалися також залежно від місцевиростання на дослідних ділянках лісових екосистем. Значні відмінності густоти облистнення виявлено у рослин з території соснових насаджень, що в 1,5 разів переважало густоту облистнення в старовікових букових лісах і в 1,3 рази – на дослідних ділянках в зоні рекреації. Такі зміни, мабуть, пов'язані з несприятливими кліматичними умовами на території соснових насаджень і сприяють утриманню вологи всередині дернин.

Таблиця 1

### Залежність морфометричних параметрів мохів *Ptychostomum imbricatum* від умов місцевиростань в лісових екосистемах

Місце виростання	Висота пагонів, см	Розміри листків, мм		Густота облистнення пагонів лист/паг.	Щільність дернин, паг/см <sup>2</sup>
		Довжина	Ширина		
Зона рекреації	0,65±0,06	0,64±0,05	0,38±0,04	30,9±0,3	56,7 ± 6,3
Насадження сосни звичайної	0,77±0,08	0,71±0,07	0,48±0,05	23,8±0,3	42,2±5,9
Старовікові букові ліси	0,84±0,07	0,78±0,06	0,55±0,04	20,6±0,2	35,2 ± 4,3

Водний режим мохів тісно пов'язаний з їх розмірами і життєвою формою, оскільки збереження вологи у моховому покриві залежить від кількості води в капілярах між пагонами у дернинці, яка характеризується певною структурою та щільністю. Щільність дернинок мохів є вагомим індикатором їхнього життєвого стану і визначається головним чином видовою специфічністю мохів, едафічним фоном, екологічними умовами виростання – рівнем освітленості, температури і вологості (Гончарова, 2005; Іващенко, Іващенко, 2019). Найбільшу щільність дернин *P. imbricatulum* визначено на території соснових насаджень за низької вологості субстрату (14,5%) порівняно з іншими локалітетами (табл. 1). Показник щільності дернинок у *Ptychostomum imbricatulum* свідчить про значні екологічні можливості цього виду в освоєнні різних за рівнем зволоження місцевиростань.

У *B. rutabulum* на дослідних ділянках території соснових насаджень також сповільнювався ріст пагонів порівняно з іншими місцевиростаннями. Для *B. rutabulum* ці відмінності були дещо менше вираженими, очевидно, через сприятливіше умови локалітетів рослин цього виду. Слід відзначити, що пагони *B. rutabulum* на території соснових насаджень утворювали значно більше бічних галузок, ніж у вологіших місцевиростаннях і їх кількість була в 1,9 разів більшою. Зменшувалися також і розміри листової пластинки в пагонах моху на території соснових насаджень порівняно з вологішими місцевиростаннями. Для *B. rutabulum* щільність дернин була менше мінливою і зменшувалась на території соснових насаджень в 1,14 рази, порівняно з вологішими локалітетами (табл. 2).

Таблиця 2

**Залежність морфометричних параметрів *Brachythecium rutabulum* від умов місцевиростань в лісових екосистемах**

Місце виростання	Висота пагонів, см	Розміри листків, мм		Кількість бічних галузок шт./паг.	Щільність дернин, паг./см <sup>2</sup>
		Довжина	Ширина		
Зона рекреації	2,08±0,24	1,73±0,18	0,83±0,07	19,7±2,3	18,6±2,1
Насадження сосни звичайної	2,24±0,29	1,89±0,21	0,85±0,09	15,5±1,7	15,8±0,17
Старовікові букові ліси	2,29±0,32	2,09±0,23	0,89±0,10	10,6±1,2	14,7±1,6

Отже, в несприятливих мікрокліматичних умовах лісових екосистем дернини проявляли ознаки ксероморфності: мохи формували щільніші дернини з меншими листками на пагонах, що забезпечувало зниження випаровування вологи в умовах водного дефіциту. Ці дані узгоджуються з дослідженнями І.А. Гончарової (Гончарова, 2005) на дернинках сфагнових мохів, стійкість та стабільне функціонування яких визначається густотою пагонів, їх довжиною та розмірами листків.

Таким чином, показано залежність морфометричних параметрів мохових дернин *P. imbricatulum* і *B. rutabulum* від умов зростання на дослідних ділянках лісових екосистем. Встановлено морфологічну мінливість мохових дернин в різних екологічних умовах лісових екосистем, зокрема, виявлено вплив рівня зволоженості місцевиростання на морфометричні параметри мохів (висоту пагонів, густоту облістнення та щільність дернин). Показано, що морфологічна структура дернин мохів є важливою для збереження вологи і залежить від їх життєвої форми.

Одним із найважливіших наслідків будь-якого стресового впливу на організм є генерація активних форм кисню (АФК), які можуть призводити до неспецифічного окиснення протеїнів та мембранних ліпідів або пошкоджувати ДНК (Gechev, Hille, 2005). Підвищення вмісту АФК в рослинах у відповідь на дію абіотичних стресорів зареєстровано багатьма дослідниками (Mittler et al., 2011; Pucciariello, Banti, Perata, 2012). При цьому АФК розглядаються одночасно як маркери стресового стану і як сигнальні посередники, необхідні для розвитку адаптивної відповіді. Утворення АФК, до яких належить пероксид водню, під впливом абіотичного стресу ініціює в рослин каскад реакцій, що допомагає їм уникати стресових навантажень. Однією з ланок цього процесу є зміни активності антиоксидантних ферментів, зокрема такий фермент розщеплення пероксиду як каталаза може моделювати гомеостаз пероксиду і, відповідно, його сигнальну здатність (Колупаєв, 2016).

За вмістом пероксиду водню досліджувані види відрізнялися, що залежало від їх видових особливостей і умов місцевиростань. Встановлено, що у пагонах *P. imbricatum* найвищий вміст пероксиду водню був у зразках з території соснових насаджень, де найменше сприятливі мікрокліматичні умови, що свідчить про посилення генерації АФК в умовах стресу. Дещо нижчий вміст пероксиду водню визначено у зразках з зони рекреації «Верещиця», а найнижчий вміст цього метаболіту був у пагонах *P. imbricatum* з дослідних ділянок у старовікових букових лісах за оптимальної температури і вологості (рис. 2). Для *B. rutabulum* зберігалась подібна тенденція: в несприятливих мікрокліматичних умовах на території соснових насаджень вміст пероксиду водню був більшим, порівняно із рослинами з зони рекреації і старовікових букових лісів в 1,2 і 1,7 разів відповідно (рис. 2). Зростання вмісту пероксиду водню в пагонах досліджуваних мохів вказує на розвиток окислювального стресу в несприятливих умовах водного і температурного режиму лісових екосистем.

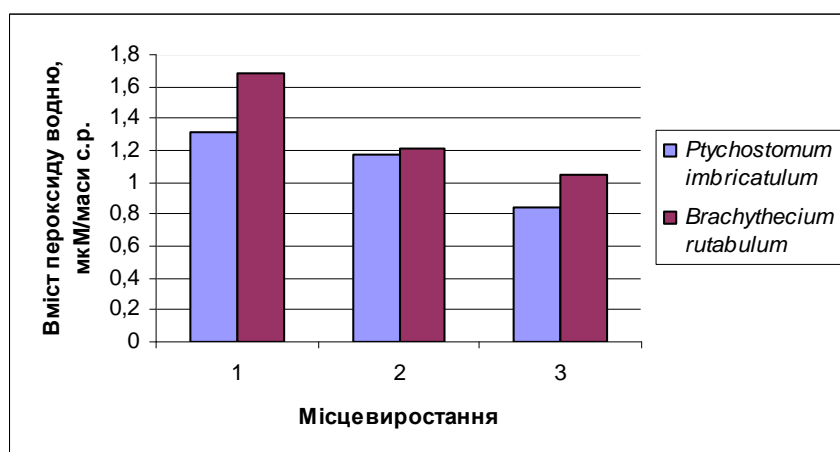


Рис. 2. Вміст пероксиду водню (μM/маси с.р.) в пагонах мохів *Ptychostomum imbricatum* і *Brachythecium rutabulum* залежно від мікрокліматичних умов їх місцевиростань (1 – насадження сосни, 2 – зона рекреації, 3 – старовікові букові ліси).

Одним із найактивніших ензимів антиоксидантної системи, що забезпечує розщеплення пероксиду водню, і таким чином, підтримуючи його нормальний рівень в клітинах, є каталаза. Специфікою каталази є її локалізація в пероксисомах і участь в процесах катаболізму, які активуються в процесі деструкції клітини. Цей фермент бере участь у підтриманні окисно-відновного балансу в клітинах за дії оксидного стресу та сприяє адаптації організму до стрес-факторів (Leung, 2018; Wang, Cheng, Liu, 2019).

Результати дослідження каталази засвідчили, що на дослідних ділянках на території соснових насаджень під впливом високих температур і дефіциту вологи у рослинах *P. imbricatulum* активність ферменту була найвищою порівняно з рослинами в зоні рекреації «Верещиця» і старовікових букових лісів у 1,2 і 1,6 разів відповідно. У *B. rutabulum* у несприятливих умовах водозабезпечення визначено незначне підвищення активності каталази: показники активності каталази на території соснових насаджень були більшими, порівняно з вологішими місцевиростаннями в 1,1–1,4 разів (рис. 3).

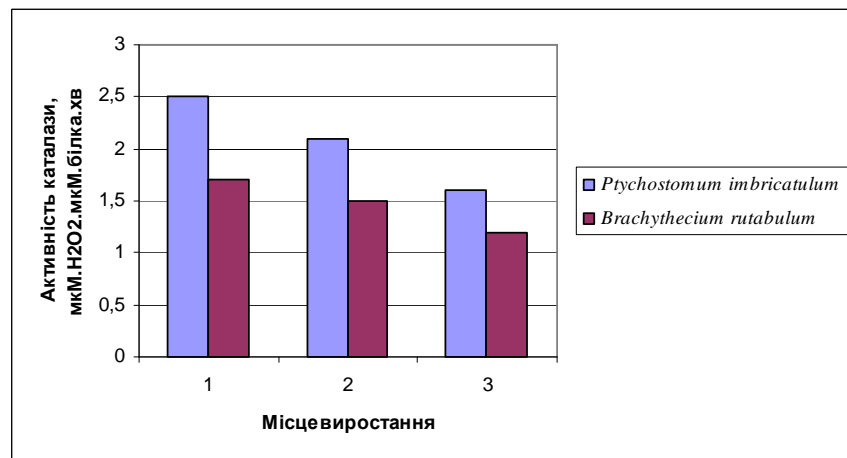


Рис. 3. Активність каталази (мкМ:Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/мг·білка хв) в пагонах мохів *Ptychostomum imbricatulum* і *Brachythecium rutabulum* залежно від мікрокліматичних умов їх місцевиростань (1 – насадження сосни, 2 – зона рекреації, 3 – старовікові букові ліси).

Вища активність каталази в пагонах *P. imbricatulum* в несприятливих умовах водного і температурного режиму може свідчити про активацію антиоксидантних процесів в клітинах гаметофорів моху, порівняно з *B. rutabulum*. З літературних джерел відомо, що зростання активності фермента відзначено в умовах водного, сольового і теплового стресів та переохолодження (Баїк, Кіт, 2022; Буздуга, Волков, Панчук, 2020). Встановлено залежність активності каталази від рівня оводненості дернин мохів. У рослин з території соснових насаджень, де вологість мохових дернин *P. imbricatulum* і *B. rutabulum* була найменшою (37% і 23% відповідно), показники активності каталази була найбільшими.

Отримані результати вказують на існування взаємозалежності між утворенням активних форм кисню та активністю каталази як одного з ключових ферментів антиоксидантного захисту, що свідчить про сигнальну роль АФК у клітинах мохів в

умовах стресу. Підвищення активності ферменту вказує на його важливу роль в адаптації мохів до несприятливих мікрокліматичних умов, зокрема дефіциту вологи.

### Висновки

Показано залежність морфометричних параметрів мохових дернин *P. imbricatum* і *B. rutabulum* від умов зростання на дослідних ділянках лісових екосистем. Встановлено морфологічну мінливість мохових дернин в різних екологічних умовах лісових екосистем, зокрема, виявлено вплив рівня зволоженості місцевиростання на морфометричні параметри мохів (висоту пагонів, густоту облистнення та щільність дернин). Показано, що морфологічна структура дернин мохів є важливою для збереження вологи і залежить від їх життєвої форми.

Показано, що підвищення вмісту перексиду водню як сигнального медіатора, є складовою системи антиоксидантного захисту. Підвищення вмісту перексиду водню мобілізує у мохів систему захисту від вільнорадикальних пошкоджень, що проявляється у збільшенні активності ферменту (каталази) і таким чином забезпечується адаптація рослин до змінних умов середовища.

Активність каталази в несприятливих умовах водного та температурного режиму у пагонах досліджуваних видів свідчить про участь фермента в адаптації рослин до стресу і зумовлена посиленням процесів вільнорадикального окиснення, зокрема збільшенням вмісту перексиду водню.

- Аринушкина Е. В. 1970. Руководство по химическому анализу почв. М. 488 с.
- Баїк О.Л., Кіт Н.А. 2022. Морфо-фізіологічні реакції мохів на дію абіотичних чинників на посттехногенних територіях видобутку сірки. *Вісник Львівського університету*. Серія біологічна. № 87. С. 76–89. DOI: <https://doi.org/10.30970/vlubs.2022.87.07>
- Буздуга І.М., Волков Р.А., Панчук І.І. 2020. Втрати активності каталази 2 впливає на обмін аскорбату в арабідопсису за дії важких металів. *Фізіологія рослин і генетика*. Т. 52 № 4. С. 306–319. DOI: <https://doi.org/10.15407/frg2020.04.306>
- Гончарова І.А. 2005. К вопросу о структуре дерновины и продуктивности сфагновых мхов на олиготрофных болотах. *Сибирский. экол. журн.* № 1. С. 131–134.
- Демків О. Т., Сытник К. М. 1985. Морфогенез архегоніат. Киев : Наук. думка. 204 с.
- Іващенко О.О., Іващенко О.О. 2019. Проблеми стресів у рослин і способи їх розв'язання. *Вісн. аграрн. науки*. № 7. С. 27–35. DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovysnyk201907-04>
- Лакин Г. Ф. 1990. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд. М. 352 с.
- Колупаев, Ю. Э. 2016. Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости растений. *Успехи современной биологии*. Т. 136 № 2. С. 181–198.
- Корольок М.А., Іванова Л.І., Майорова І.Г., Токарев В.Е. 1986. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. № 1. С. 16–20.
- Польчина С.М. 1991. Методичні рекомендації до лабораторних і практичних робіт з ґрунтознавства. Чернівці. 60 с.
- Щербаченко О.І., Рабик І.В., Лобачевська О.В. 2015. Участь мохоподібних у ренатуралізації дегазованих територій Немирівського родовища сірки (Львівська область) // *Укр. ботан. журн.* Т 72 № 6. С. 596–602.
- Di Toppi L., Lambardi M., Pazzagli L. et al. 1999. Response to cadmium in carrot in vitro plants and cell suspension cultures. *Plant Science*. Vol. 137. P. 119–129.
- Gechev T.S., Hille J. 2005. Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *J. Cell. Biol.* Т. 168 № 1. P. 17–20.
- Glime J. M. 2007. Bryophyte Ecology. Vol. 1. Physiological Ecology. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Accessed on: 03.11.2019 at: <http://www.bryoecol.mtu.edu>

- Leung D. 2018. Studies of Catalase in Plants Under Abiotic Stress. In book: Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plant. P. 7–39. DOI:10.1007/978-3-319-75088-0\_2
- Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Törnetti V.B., Vandepoele K., Gollery M., Shulaev V., Van Breusegem F. 2011. ROS signaling: the new wave? *Trend Plant Sc.* T. 16. P. 300-309.
- Proctor M.C.F., Tuba Z. 2002. Poikilohidry and homoiohidry: antithesis or spectrum of possibilities. *New Phytologist.* Vol. 156. P. 327–349.
- Pucciariello C., Banti V., Perata P. 2012. ROS signaling as common element in low oxygen and heat stresses. *Plant Physiol. Biochem.* T. 59. P. 3–10.
- Rabyk I.V., Lobachevska O.V., Kyyak N.Y., Shcherbachenko O.I. 2018. Bryophytes on the devastated territories of sulphur deposits and their role in restoration of dump substrate *Biosystems Diversity.* 26 (4). P. 339–353. DOI:10.15421/011850
- Wang W., Cheng D., Liu D. 2019. The Catalase Gene Family in Cotton: Genome-Wide Characterization and Bioinformatics Analysis. *Cells.* Vol. 8 № 2. P. 86–114. DOI:10.3390/cells8020086

Інститут екології Карпат НАН України, м. Львів  
e-mail: kit\_n@i.ua; shcherbachenko.oksana@gmail.com

Kit N.A., Shcherbachenko O.I.

**Peculiarities of the morpho-physiological reactions of mosses depending on the water-temperature regime of their local growth**

*The morphological structure of and the activity of the catalase of mosses *Ptychostomum imbricatum* and *Brachythecium rutabulum* depending on microclimatic conditions of their local growth were studied. The morphological variability of moss turfs in different ecological conditions of forest ecosystems was established, in particular, the influence of the level of moisture in local growth on the morphometric parameters of mosses (the density of the turf, the height of the shoots and their foliage and the size of the leaves) was revealed. It is shown that the morphological structure of the turfs of the mosses *Ptychostomum imbricatum* and *Brachythecium rutabulum* is important for moisture conservation and depends on the microclimatic conditions of local growth and the life form of the species. It is shown that the increase in the content of hydrogen peroxide as a signaling mediator is a component of the antioxidant protection system. It was established that the highest content of hydrogen peroxide was in shoots of *P. imbricatum* from the territory of pine plantations, where the microclimatic conditions are the least favorable. The obtained results indicate the existence of interdependence between the formation of reactive oxygen species and the activity of catalase as one of the key enzymes of antioxidant protection, which indicates the signaling role of reactive oxygen species in moss cells under stress conditions. The dependence of catalase activity in moss cells on the level of hydration of their turfs was established. The activation of catalase in adverse water and temperature conditions in the shoots of the studied species indicates the participation of the enzyme in the adaptation of plants to stress and is due to the strengthening of free radical oxidation processes, in particular, an increase in the content of hydrogen peroxide.*

**Key words:** mosses, microclimatic conditions, morphological structure, life form, hydrogen peroxide, catalase.