

doi: <https://doi.org/10.15407/knit2019.02.060>

УДК 580.7:581.44 (477)

О. В. Лобачевська, Н. Я. Кияк, Я. Д. Хоркавців

Інститут екології Карпат Національної академії наук України, Львів, Україна

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИН ПРОТОНЕМИ *WEISSIA TORTILIS* SPRENG. З РІЗНОЮ ЧУТЛИВІСТЮ ДО ГРАВІТАЦІЇ

*Гравітропізм бріофітів є видоспецифічним, залежить від екологічних факторів та життєвої стратегії виду. Мета досліджень полягала у визначенні взаємозв'язку між морфологією клітин протонемати *Weissia tortilis* Spreng. у процесі диференціювання, їхньою резистентністю до УФ-опромінення та мінливістю гравітропізму. Встановлено, що формування щільної дернини із коротких нерозгалужених хлоронемних столонів, як додаткової ростової форми протонемати моху, забезпечує екранування каулонемних столонів від радіації. Показано, що за особливостями морфогенезу та росту столонів лише каулонемні клітини протонемати *W. tortilis* є гравічутливими. На основі проведених порівняльних досліджень рівня гравічутливості та метаболізму вуглеводів *Ceratodon purpureus* Brid. і *W. tortilis* з'ясовано специфічність біохімічних реакцій залежно від умов гравістимуляції рослин та стійкості до екологічних чинників. Припускається, що виявлена специфічність обумовлена різною толерантністю мохів до впливу стресових чинників: *C. purpureus* — космополітний вид моху, гравічутливий на усіх стадіях розвитку, тоді як *W. tortilis* — аридний вид, гравічутливий лише на стадії каулонемати.*

Ключові слова: мохи, гравічутливість, УФ-опромінення, вуглеводний обмін.

ВСТУП

У фенотипі рослин важливою ростовою реакцією є гравітропізм, а у життєвій стратегії — це адаптивна форма росту в локальних умовах екотопу [29, 30]. На основі досліджень гравічутливості і морфогенезу мохоподібних встановлено різноманітність гравіреакцій бріофітів [5, 17, 20, 23, 25]. Гравітропізм є видоспецифічним, його прояв змінюється на різних стадіях розвитку гаметофіту та залежить від екологічних факторів і життєвої стратегії виду. Вивчення й аналіз морфологічних властивостей гравічутливих видів мохів свідчить, що умови імітованої мікрогравітації і втрата векторної дії сили тяжіння модифікують метаболічні процеси та ініціюють поліфункціональні ростові реакції залежно від стадій онтогенезу.

© О. В. ЛОБАЧЕВСЬКА, Н. Я. КИЯК, Я. Д. ХОРКАВЦІВ, 2019

В умовах зміненої сили тяжіння відбуваються суттєві структурно-функціональні перебудови клітин, які призводять до порушень процесів внутрішньоклітинного обміну. Літературні дані щодо модифікацій метаболізму, зокрема вуглеводів, залежно від гравітації, неоднозначні. Так, в умовах реального космічного польоту у пагонах *Ipomoea batatas* (L.) Lam. зменшувалася кількість амілопластів, знижувався рівень нагромадження крохмалю та відбувалася дезорієнтація росту коренів [22], у *Brassica rapa* L. посилювався гідроліз полісахаридів та накопичення розчинних вуглеводів [31], тоді як у *Triticum aestivum* L. вміст крохмалю та водорозчинних вуглеводів не змінювався [38].

Беручи до уваги, що заселення Місяця або Марса у майбутньому можливе, надзвичайно актуальними є дослідження впливу таких стресових фак-

торів, як УФ-випромінювання та іонізаційна радіація, що модифікують дію мікрогравітації та істотно впливають на цикли росту рослин [2, 28, 40].

Ми поставили за мету проаналізувати взаємозв'язок між морфофункціональними властивостями диференціально різних клітин протонеми аридного виду *Weissia tortilis* Spreng., їхньою гравічутливістю та резистентністю до УФ-опромінення. На основі порівняльного аналізу різних за гравічутливістю видів мохів *W. tortilis* і *Ceratodon purpureus* Brid. визначити особливості вуглеводного обміну як визначальної ланки у сприйнятті та передачі гравісигналу.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження були природні зразки та лабораторні культури видів мохів: *Weissia tortilis* Spreng., *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., *Funaria hygrometrica* Hedw. Зразки *C. purpureus* і *F. hygrometrica* відібрано в околицях м. Львова, в умовах достатнього зволоження та інтенсивності освітлення. Зразки моху *W. tortilis* зібрано у Запорізькій області на відкритій місцевості в умовах високої сонячної радіації та сухого піщаного субстрату. Лабораторну культуру протонеми мохів, отриману зі спор або шляхом регенерації листків гаметофорів, вирощували на 0.75 % агаризованому середовищі Кнопа II у фітотроні: фотоперіод — 16 год, освітлення $40 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, температура — 20 °С, вологість — 90 %. Гравістимуляцію і клиностакування протонеми проводили аналогічно як у попередній роботі [20].

Оскільки місцезростання досліджуваних видів мохів відрізнялися за рівнем УФ-фону, порівнювали чутливість клітин протонеми до УФ-випромінювання. Для цього 14-денну протонему *C. purpureus*, *F. hygrometrica* і 28-денну *W. tortilis* опромінювали УФ-променями, генерованими бактерицидною лампою OSRAM з інтенсивністю $1 \dots 4 \text{ кВт/м}^2$, і за відсотком протонемних дернинок, що вижили, оцінювали ступінь толерантності клітин залежно від енергії випромінювання. Вікова різниця між культурою протонеми мохів залежала від швидкості її росту, яка у *W. tortilis* була малою.

Для аналізу розмірів ядер та їхнього положення у клітинах каулонемних стolonів і дендродів протонеми використали методику флуоресцент-

ного фарбування барвником 4',6-діамідино-2-феніліндол — DAPI [24]. Препарати аналізували на флуоресцентному мікроскопі „Axio Image M1”.

Активність α -амілази визначали методом В. Б. Іванова [6] та модифікованим йодометричним методом відповідно до зниження інтенсивності забарвлення комплексу крохмаль-йод під дією амілази [39].

Сумарний вміст фенолів визначали фотометрично ($\lambda = 765 \text{ нм}$), використовуючи реактив Фоліна — Деніса та калібрувальну залежність за хлорогенною кислотою [37].

Загальний вміст вуглеводів визначали фенол-сульфатним методом [36]. Вміст водорозчинних вуглеводів та крохмалю оцінювали спектрофотометрично із застосуванням пікринової кислоти [19].

Досліди проводили у 3-кратній повторності, отримані дані опрацьовували статистично. Вірогідність різниці між середніми значеннями показників встановлювали за критерієм Стьюдента [16].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

При вивченні поширення *W. tortilis* в аридних та субаридних умовах Середньої Азії та півдня України у роботі [1] було зроблено висновок про високу резистентність виду до УФ-опромінення. Відомо, що великі або кумулятивно малі дози радіації руйнують біологічні системи унаслідок змін в організації ДНК, які часто призводять до мутацій або загибелі організму. Окрім того, радіаційне опромінення високої енергії використовується для генерації нових мутантів рослин [2, 3]. Підставою для вивчення впливу іонізаційного випромінювання на рослини є з'ясування механізмів стійкості біологічних систем.

Чи є зв'язок між морфофункціональною організацією протонеми *W. tortilis* та її реакцією на гравітаційне подразнення і підвищеною стійкістю рослин моху до УФ-випромінювання? Раніше було встановлено, що УФ-мутанти *C. purpureus* зберігали негативний гравітропізм, а кінетика гравітропного згину була подібною до протонеми дикого типу [5]. У *W. tortilis* протонемна стадія зі специфічним диференціюванням клітин на каулонему і дендроді хлоронемного типу зберігається упродовж життєвого циклу. Таке диференціювання протонеми мохів роду *Weissia* на

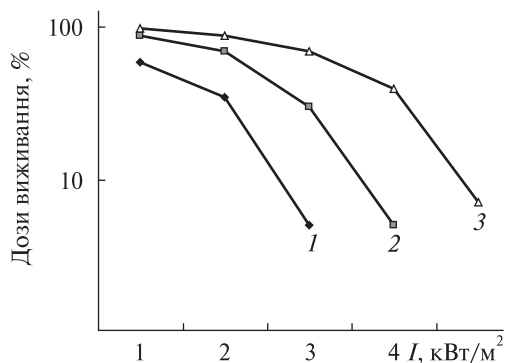


Рис. 1. Дози виживання клітин протонеми *Funaria hygrometrica* (крива 1), *Ceratodon purpureus* (2) і *Weissia tortilis* (3) залежно від інтенсивності I УФ-опромінення

каулонему і хлоронему в умовах аридних місцезростань призвело до різкої функціональної відмінності клітин та інтенсивнішого формування дендроїдів, наприклад, як у *W. papillosissima* [15]. Роль таких морфологічних особливостей, пов'язаних з фізіологічними функціями і екологічними умовами середовища, полягає у забезпеченні виживання гаметофіту у стресових кліматичних умовах [7, 14].

Бріофіти є домінантами серед вищих рослин за поширенням у локалітетах природного середовища з високим рівнем УФ-випромінювання (альпійські і полярні регіони), які проявляють специфічну стратегію захисту від його шкідливого впливу. Важливо й те, що мохи, пристосовані до місцезростань в умовах високого випромінювання, мають більші фотосинтетичні можливості та вищі пороги чутливості до надлишку освітлення, ніж ті, що адаптувалися до низьких інтенсивностей світла [32, 34].

Проаналізовано три види мохів — *F. hygrometrica*, *C. purpureus* і *W. tortilis* і встановлено, що за потужності УФ-випромінювання 3 кВт/м² ви-

жили 100 % апікальних клітин *W. tortilis*, 30 % — *C. purpureus* і 10 % — *F. hygrometrica*. Середнє значення доз, що спричинили загибель 90 % клітин у різних видів, істотно відрізнялися (рис. 1). Поріг виживання підтверджує локальну приуроченість цих видів мохів до місцезростань із високими дозами сонячної радіації і УФ-фону, серед яких *F. hygrometrica*, порівняно з двома іншими видами, виявилася найменш стійкою. У природних умовах мох утворює нещільні дернинки до 1 см заввишки, блідо-зелені, листки брунькоподібно складені з тонкостінних клітин, які надзвичайно чутливі до зміни екологічних умов місцезростань. Серед факторів, котрі можуть впливати на нижчу чутливість клітин *W. tortilis* до УФ-випромінювання, є морфологічна структура протонемної дернини, у якій хлоронемні дендроїди екранують каулонемні столони. Подібну дендроїдну форму на високих інтенсивностях освітлення (50–70 мкмоль·м⁻²·с⁻¹) утворює *C. purpureus* та інші види роду Pottiaceae, але у *F. hygrometrica* таких ростових реакцій не виявлено.

На високих (4...5 кВт/м²) дозах УФ-опромінення життєздатними залишалися найбільш щільно екрановані клітини каулонемою *W. tortilis*, а їхня регенерація значно підсилювала виживання протонемної дернинки. Тобто, формування щільної дернини із коротких нерозгалужених хлоронемних столонів як додаткової ростової форми протонеми забезпечувало екранування радіації. Не виключено, що специфіка такої функції призвела до морфологічних змін, які виключають гравітропізм. Морфологічна організація клітин хлоронеми: малі розміри клітин, сповільнені темпи їхніх мітозів, обмежена довжина столонів і швидке завершення росту дендроїдів, порівняно з каулонемою не сприяли гравічутливості. Параметри клітин і столонів протонемної

Таблиця 1. Морфофункціональні показники клітин та ядер протонеми моху *Weissia tortilis*

Тип протонемних столонів	Розміри апікальних клітин, мкм		Довжина столонів, мкм (кількість клітин)	Об'єм ядер, мкм ³	Люмінесценція ДНК-ДАPI, відн. од.
	довжина	ширина			
Хлоронемні дендроїди	34.7 ± 1.5	21.4 ± 0.9	166.4 ± 3.1 (4–5 клітин)	77.3 ± 8.9	56.8 ± 2.1
Каулонемні столони	182.3 ± 3.4	20.8 ± 1.1	2759.6 ± 16.7 (14–15 клітин)	199.0 ± 12.7	79.5 ± 4.9

дернини *W. tortilis* наведено у табл. 1. Ядра клітин дендроїдів і каулономи *W. tortilis* були меншими, ніж у інших видів мохів [4, 21], а як відомо, клітини з великими ядрами є радіочутливішими.

Резистентність *W. tortilis* до УФ-випромінювання сформувалася як адаптивна реакція на дію високих доз сонячної радіації, при цьому рівень стійкості зумовлений як морфофізіологічними особливостями, так й ефективністю функціонування репараційних систем в екологічних умовах поширення виду. Відомо, що характерною особливістю мохів є високий вміст фенолів. У *W. tortilis* фенольні сполуки з максимумом поглинання $\lambda = 310...410$ нм забарвлюють клітинні стінки каулономних столонів у червоно-коричневий колір і виконують фотозахисну функцію.

Вміст фенольних сполук у клітинах природних зразків і лабораторної культури відрізнявся та був більшим у каулономних столонах, ніж у дендроїдах (табл. 2). Окрім того, вміст фенольних сполук у *W. tortilis* значно перевищував показники, отримані для інших видів мохів [9]. Таким чином, у природних умовах поширення *W. tortilis* фенольні сполуки є одним із чинників захисту рослин від УФ-опромінення.

Отже, відмінні життєві форми протонемної дернини *W. tortilis* сформувалися залежно від умов середовища, зокрема високих доз сонячної радіації, унаслідок чого гравічутливість змінювалася упродовж онтогенезу, а гравітропізм розвинувся як важлива ланка екологічного диференціювання ростових реакцій моху.

Проаналізовано гравічутливість *W. tortilis* і встановлено, що довгі каулономні столони ростуть плагіотропно на незначній глибині і реагують на векторну дію гравітації, тоді як напрям росту дендроїдної наземної протонеми не залежить від сили тяжіння. Завдячуючи галуженню клітин і негативному гравітропному росту каулонами, на поверхню ґрунту підіймаються хлоронемні столони, які утворюють щільний покрив з ортотропних дендроїдів, що мають вигляд густих зелених асиміляційних куртин (рис. 2). Таке пристосування каулонами до підземного росту А. С. Лазаренко [14] оцінив як адаптацію до аридного клімату, що забезпечує виживання під час висихання наземних органів рослини. Варто

звернути увагу на високу здатність мохів до регенерації та дедиференціювання, унаслідок чого з поодиноких тотипотентних клітин відновлюється нова рослина. Подібну аналогію можна провести у *W. tortilis*, коли унаслідок галуження клітин каулономного столону, що росте у субстраті, на світло підіймаються гравічутливі клітини хлоронеми (їх 2-3), які розростаються у фотосинтектичну дендроїдну дернинку.

Спеціалізованою реакцією гаметофіту *W. tortilis* на аридні умови місцезростань є плагіотропний ріст підземної каулонами, який часто поєднаний з негативним гравітропізмом головного столону і бокових хлоронемних галузок. Галузка росте вертикально вгору завдяки чутливості клітин до поляризаційної дії гравітації під час перших 2—3 поділів, що значно скорочує шлях протонеми з-під ґрунту до світла. На відміну від інших видів мохів, переважно з гравічутливою хлоронемою, гравітропний згин *W. tortilis* відбувається в апікальних клітинах і заповнених амілопластами субапікальних клітинах каулонами. Аналогічно, як і під час гравітропного росту коренів чи протонеми мохів, амілопласти седиментують на нижню клітинну стінку, ініціюючи гравітропізм (рис. 3).

В умовах експериментального дефіциту води, імітованого 1...5 % концентраціями ПЕГу, спостерігали появу столонів *W. tortilis*, які росли позитивно гравітропно [17]. У дернинці моху із природного середовища також знаходили значну кількість позитивно гравітропних каулономних столонів. Тому мінливість гравізалезного росту протонеми *W. tortilis* слід розглядати як адаптивну ознаку, що розвинулася відповідно до кліматичних умов місцезростання моху. Це розширює різноманіття форм росту протонеми *W. tortilis* і підвищує ймовірність виживання гаметофіту в екосистемах з посушливими умовами (рис. 4).

Таблиця 2. Вміст фенольних сполук у дендроїдах і каулономних столонах *Weissia tortilis*

Тип протонемних столонів	Вміст фенолів, мг на 100 г сирої ваги	
	Природні зразки	Лабораторна культура
Хлоронемні дендроїди	87.6 ± 0.4	62.3 ± 0.7
Каулонома	120.3 ± 1.6	78.0 ± 0.5



Рис. 2. *Weissia tortilis*: а — поодинокі дендроїди; б — суцільний асиміляційний покрив хлоронеми дендроїдів; в — дернинка з гаметофорами (масштабний відрізок має довжину 100 мкм)



Рис. 3. Гравітутливі каулонемні столони і дендроїдна протонемна дернина *Weissia tortilis*: а — амілопласти переважають у субапикальній клітині, б — протонема росте гравітропно, і амілопласти седиментують на нижню клітинну стінку, в — клітини каулонемного столону часто галузяться і у вигляді коротких ниток підіймаються над субстратом, утворюючи щільну дернину, г — дендроїдна протонемна дернинка з пучками хлоронемних клітин на каулонемному столоні (масштабний відрізок має довжину 70 мкм)

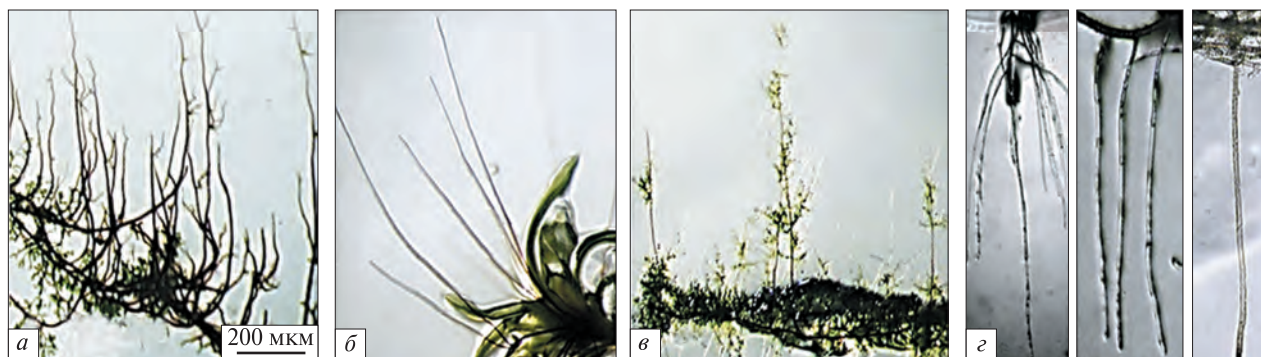


Рис. 4. Гравітропізм каулонеми *Weissia tortilis*: а — негативний гравітропний ріст, б, в — негативний гравітропний ріст регенеративної протонеми, г — позитивний гравітропний ріст бічних столонів каулонеми

Раніше встановлено, що гравітація може мінімізувати негативний вплив дефіциту води і бути важливим фактором для вегетативного розмноження та поширення рослин [18]. Так, у *Leptobryum pyriforme* фенотипна пластичність завдяки

гравітропізму протонеми в умовах водного стресу забезпечувала пришвидшений ріст і розвиток, що сприяло збільшенню чисельності спеціалізованих виводкових органів, вегетативному розмноженню та розселенню моху. Адаптація до

різко відмінних кліматичних умов двох форм *Bryum pseudotriquetrum* з Антарктики та України так само зумовлена підвищенням гравічутливості гаметофорів антарктичної форми та утворенням виводкових бульбочок на пагонах, що є надійним засобом для розмноження в умовах короткого вегетаційного періоду Антарктики.

В апікальній і субапікальній клітинах каулонемних столонів *W. tortilis* міститься значно більше амілопластів і виявляється нижча α -амілазна активність, ніж у хлоронемі (табл. 3). Відповідно полісахариди нагромаджуються у пластидах гравічутливих апікальних, часто й субапікальних клітин каулонемі, ініціюючи гравісенсорні процеси. Висока активність ферменту у клітинах каулонемі забезпечує біосинтез вуглеводів, необхідних для росту і галуження клітин столонів. Фотосинтез надземної дендроїдної дернини також є джерелом продуктів сонячної енергії для росту і галуження підземної каулонемі та розвитку бруньок гаметофорів.

Проведено порівняльні дослідження метаболізму вуглеводів двох різночутливих до гравітації видів мохів — *C. purpureus* і *W. tortilis* залежно від умов гравістимуляції. Апікальні клітини 7-ден-

ної хлоронемі *C. purpureus* вже через 0.5 год після гравістимуляції виявляли чітку гравітропну реакцію, тоді як у *W. tortilis* хлоронемні столони не реагували на дію гравітації, а гравічутливою була лише каулонема.

Для обох видів мохів визначено різний вміст загальних вуглеводів (табл. 4). Вміст карбогідратів у *Weissia tortilis* був удвічі більшим, ніж у *Ceratodon purpureus*, можливо унаслідок їхньої приуроченості до різко відмінних місцезростань. Висока концентрація цукрів як осмопротекторів є свідченням адаптації до дефіциту вологи *Weissia tortilis*. Їхнє нагромадження забезпечує внутрішню регуляцію водного потенціалу та сприяє активному поглинанню води, що важливо в умовах високих температур та недостатнього водопостачання у посушливих місцезростаннях рослин [11, 12, 27].

Для досліджених мохів найбільше вуглеводів визначено на денному освітленні. В умовах клиностаування їхня кількість зменшувалася у *C. purpureus* на 15.1 %, що зумовлено невеликим сповільненням фотосинтетичних процесів і швидкості росту в умовах зміненої сили тяжіння і темряви. У *W. tortilis* вміст вуглеводів після клиностаування, навпаки, підвищувався приблизно на 20 %.

Таблиця 3. Залежність розподілу амілопластів і функціональної активності гаметофіту *Weissia tortilis* від диференціації клітин протонеми

Тип протонемної дернини	Кількість амілопластів в апікальній клітині, шт.	Вміст крохмалю, мкг/г маси сирової речовини	Активність α -амілази, мкг крохмалю/хв/мг білка	Інтенсивність фотосинтезу, мг CO ₂ /г маси с.р./год
Хлоронема	7 ± 3	29.7 ± 1.6	6.4 ± 0.02	5.48 ± 0.03
Каулонема	28 ± 2	48.7 ± 1.8	2.1 ± 0.07	1.13 ± 0.09

Таблиця 4. Вміст вуглеводів у дернинках мохів *Ceratodon purpureus* і *Weissia tortilis* в умовах зміненої гравітації (мкг/г маси сирової речовини)

Варіант досліді	Загальний вміст вуглеводів, мкг/г	Крохмаль, мкг/г	Водорозчинні вуглеводи, мкг/г	Моноцукри, мкг/г
<i>Ceratodon purpureus</i>				
Контроль	2269.1 ± 155.1	101.5 ± 8.4	483.5 ± 35.4	106.2 ± 10.2
Гравістимуляція	2215.6 ± 148.1	142.9 ± 11.5	282.2 ± 26.1	68.3 ± 7.2
Клиностаг	1926.3 ± 164.2	105.6 ± 12.4	418.3 ± 52.6	124.8 ± 10.8
<i>Weissia tortilis</i>				
Контроль	4521.2 ± 265.4	250.1 ± 23.4	1077.5 ± 104.4	179.2 ± 15.6
Гравістимуляція	4342.4 ± 268.6	282.8 ± 18.6	816.4 ± 92.8	113.8 ± 11.4
Клиностаг	5475.3 ± 328.7	195.4 ± 16.8	1395.2 ± 163.1	269.4 ± 16.8

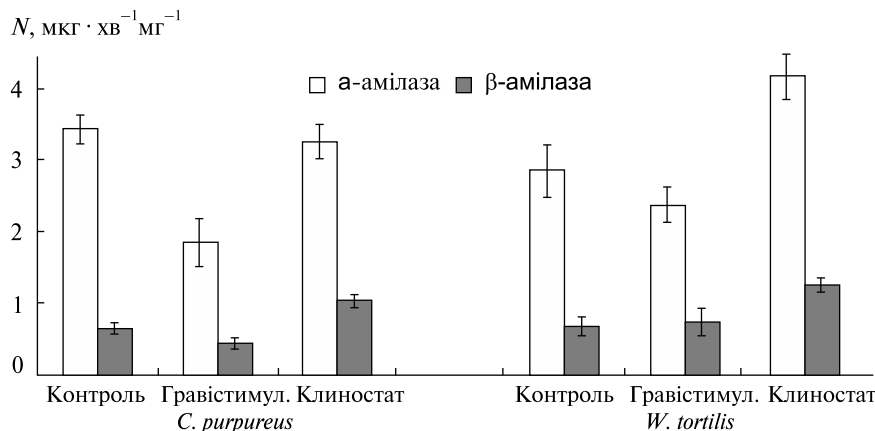


Рис. 5. Активність α - і β -амілаз (N — кількість гідролізованого крохмалю за одиницю часу на 1 мг білка) у дернинках мохів *Ceratodon purpureus* і *Weissia tortilis*

Відомо, що змінена сила тяжіння порушує прооксидантно-антиоксидантний статус клітин [13], а цукри перехоплюють активні форми кисню (АФК) і гальмують процеси вільнорадикального окислення [8]. Окрім того, вуглеводи виконують сигнальну функцію у стресових умовах, і зокрема в умовах мікрогравітації [35]. Очевидно, клиностакування *W. tortilis*, гаметофіт котрої негравітчувливий, за винятком каулонемної стадії, не впливає на обмін вуглеводів як сенсорної системи гравіподразнення, а ініціює біохімічні функції захисту від нагромадження вільних радикалів.

В умовах симульованої гравітації посилювався гідроліз полімерних форм вуглеводів, передусім крохмалю [31]. Для *C. purpureus* і *W. tortilis* також встановлено певні особливості вуглеводного обміну. У протонемі гравітчувливого *C. purpureus* вміст крохмалю становив 4.5...6.4 % від загальних вуглеводів, а після гравістимуляції кількість полісахариду підвищувалася на 40 %, очевидно унаслідок формування в апікальних клітинах амілохлоропластів. Під час клиностакування кількість крохмалю у клітинах протонемі зберігалася на рівні контролю.

У протонемі *W. tortilis* вміст крохмалю становив 3.1...5.4 % у загальному пулі карбогідратів, тобто не відрізнявся істотно від *C. purpureus*. В умовах гравістимуляції вміст крохмалю підвищувався на 11.3 %, а під час клиностакування істотно знижувався (табл. 4). Отже, клиностакування для першого виду виявилось більшим стресовим фактором, ніж для другого. Очевидно, у *C. purpureus* вуглеводний обмін прореагував

як специфічна система, що пов'язана з високою гравітчувливістю великої кількості апікальних клітин хлоронемі.

Оскільки кінцевими продуктами гідролізу крохмалю є низькомолекулярні вуглеводи, досліджено вплив зміненої гравітації на вміст розчинних цукрів і моноцукрів. В умовах клиностакування зафіксовано збільшення вуглеводів в 1.3...1.5 разів у протонемі обох видів. Це свідчить, що ранні реакції мохів на порушення векторної направленості сили тяжіння є подібними до впливу інших абіотичних чинників, оскільки вуглеводний обмін у стресових умовах змінювався в бік накопичення розчинних цукрів, задіяних у реакціях нейтралізації вільних радикалів [8, 10, 35]. Під час гравістимуляції *C. purpureus* істотно зменшувався пул водорозчинних вуглеводів, що корелювало із нагромадженням крохмалю. У *W. tortilis* відзначено таку ж залежність, однак менше виражену, ніж у *C. purpureus*.

Вміст моноцукрів у дернинці збільшувався під впливом зміненої сили тяжіння, а їхня частка від загального вмісту розчинних вуглеводів для *C. purpureus* становила 20.1...24.1 %, а *W. tortilis* — 13.5...19.2 %. Отже, достатньо високий вміст моноцукрів був характерним для обох видів, а їхнє нагромадження, очевидно, насамперед корелювало зі стійкістю до стресу [26, 33].

Проаналізовано активність амілаз у *C. purpureus* і *W. tortilis*, які каталізують гідроліз крохмалю (рис. 5). Виявлено, що α -амілазна активність у 3...5 разів перевищувала активність β -амілази, що підтверджує ключову роль цього ферменту у деградації крохмалю. Під час гравістимуляції

активність ферменту обох видів була найнижчою, і крохмаль нагромаджувався в амілопластах. Після клиностатування, а також на світлі крохмаль розпадався, відповідно активність α -амілази була високою, що корелювало із даними про вміст розчинних карбогідратів у досліджених видів мохів (табл. 4).

Визначено, що у *W. tortilis* активність α -амілази у контролі (рослини росли на світлі) була нижчою, ніж у *C. purpureus*. Різниця між активністю ферменту у гравістимульованій дернинці і після клиностатування для обох мохів була істотною і збільшувалася під час клиностатування: у *C. purpureus* у 1.8 раза, а у *W. tortilis* — у 1.6 раза. Найімовірніше, висока активність α -амілази під час клиностатування означає, що у мохів посилюється гідроліз полісахаридів як захисна реакція на зміну гравітаційної сили, а у *W. tortilis* — ще й на збереження конститутивного захисту осморегуляції в умовах стресу.

Отже, можна підсумувати, що спрямованість метаболізму вуглеводів у протонемі мохів тісно пов'язана як з гравічутливістю, так і зі стійкістю до впливу стресових чинників. У *C. purpureus* крохмаль нагромаджувався під час гравістимуляції і розпадався на світлі та після клиностатування, що прямо корелювало із зниженням рівня α -амілазної активності. Водночас вплив гравістимуляції на вміст крохмалю у *W. tortilis*, у дернинці якої домінувала негравічутлива дендродна хлоронема, був менше вираженим. Для обох досліджених видів мохів виявлено залежність метаболізму вуглеводів від гравістимуляції і клиностатування. Однак різниця активності амілази у контролі і після гравістимуляції дернин була меншою у *W. tortilis*, ніж у гравічутливішого *C. purpureus*. Очевидно, причиною є різна стійкість мохів до впливу стресових чинників: *C. purpureus* — космополітний, гравічутливий вид моху на усіх стадіях розвитку гаметофіту, тоді як *Weissia tortilis* — аридний вид, гравічутливий лише на стадії каулонемі.

ВИСНОВКИ

Встановлено залежність між морфологічною структурою дернини аридного моху *Weissia tortilis*, стійкістю до УФ-опромінення та граві-

тропізмом, яка є захисним пристосуванням до посушливих умов місцезростання виду і шкідливої дії сонячної радіації.

Модифікаційні зміни в онтогенезі моху *Weissia tortilis* та його клітинних системах захисту є адаптивними ознаками, що підвищують резистентність та можливість виживання рослин у стресових умовах.

Знайдено, що стійкість до екологічних чинників у двох видів мохів — *Weissia tortilis* і *Ceratodon purpureus* обумовлена специфічністю метаболізму вуглеводів і різною гравічутливістю на гаметофітній стадії розвитку.

Роботу виконано в рамках Цільової комплексної програми НАН України з наукових космічних досліджень на 2018—2022 рр.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бачуріна Г. Ф., Мельничук В. М. *Флора мохів Української РСР*. Київ: Наук. думка, 1988. Вип. 2. 180 с.
2. Гродзинский Д. М. *Адаптивная стратегия физиологических процессов растений*. Киев: Наук. думка, 2013. 310 с.
3. Гудков І. М. *Радіобіологія*. К.: НУБіП України, 2016. 485 с.
4. Демків О. Т., Сьтнік К. М. *Морфогенез архегоніат*. Київ: Наук. думка, 1985. 204 с.
5. Демків О. Т., Хоркавців Я. Д., Пундяк О. І. Гравітація як формотворчий фактор розвитку мохів. *Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку*. 2009. 2. С. 403—410.
6. Иванов В. Б. *Активные красители в биологии*. М.: Наука, 1982. 204 с.
7. Кардаш О. Р., Хоркавців Я. Д., Демків Л. О. Ріст і морфогенез *Weissia tortilis* (Schwaegr.) C. Müll. з різних місцезростань. *Укр. ботан. журн.* 1988. 45, № 2. С. 17—21.
8. Карпец Ю. В., Колупаев Ю. Е. Ответ растения на гипертермию: молекулярно-клеточные процессы. *Вісн. Харків. нац. аграрного ун-ту. Сер. Біологія*. 2009. 1. С. 19—39.
9. Кияк Н. Я. Вплив фенольних сполук на фізіолого-біохімічні показники у пагонах водного моху *Fontinalis antyperitica* Hedw. *Наук. зап. Терноп. держав. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біологія*. 2005. № 3. С. 81—87.
10. Кияк Н. Я. Особливості фізіологічних показників водного режиму у бріофітів із різною толерантністю до дефіциту вологи. *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біологічна*. 2015. Вип. 70. С. 245—255.

11. Кияк Н. Я., Баїк О. Л., Кіт Н. А. Морфофізіологічна адаптація бріофітів до екологічних факторів на де-вастованих територіях видобутку сірки. *ScienceRise: Biol. Sci.* 2017. 5, № 8. С. 33–38. doi: <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2017.113540>.
12. Кияк Н. Я., Хоркавців Я. Д. Адаптація бріофітів до водного дефіциту на території відвалу в місцях видобутку сірки. *Укр. ботан. журн.* 2015. 72, № 6. С. 566–573.
13. Кияк Н. Я., Хоркавців Я. Д. Оцінка окиснювального стресу моху *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. залежно від впливу гравітації. *Космічна наука і технологія.* 2016. 22, № 4. С. 58–66.
14. Лазаренко А. С. Спостереження над морфологією і екологією регенеративної протонеми у тортулі — сільської (*Tortula ruralis* Hedw.) і пустельної (*T. desertorum* Broth.). *Укр. ботан. журн.* 1959. 16, № 5. С. 55–64.
15. Лазаренко А. С., Коваленко А. П., Пашук Х. Т. Деякі спіральні структури протонеми листяних мохів. *Укр. ботан. журн.* 1961. 18, № 6. С. 89–98.
16. Лакин Г. Ф. *Биометрия*. М.: Высш. школа, 1990. 352 с.
17. Лобачевська О. В., Кияк Н. Я., Хоркавців Я. Д., Кіт Н. А. Модифікація репродуктивного розвитку мохів під впливом гравітації. *Укр. ботан. журн.* 2017. 24, № 2. С. 94–101.
18. Лобачевська О. В., Хоркавців Я. Д., Кияк Н. Я., Кіт Н. А., Данилків І. С. Гравіморфогенез гаметофіту мохів. *Космічна наука і технологія.* 2015. 21, № 4. С. 94–102.
19. *Практикум по агрохімії*: Учеб. посіб. 2-е изд., перераб. и доп. В. Г. Минеева (ред.). М.: Изд-во МГУ, 2001. 689 с.
20. Хоркавців Я. Д., Кордюм Є. Л., Лобачевська О. В., Кияк Н. Я., Кіт Н. А. Галуження протонеми *Ceratodon purpureus* в умовах зміненої сили тяжіння. *Укр. ботан. журн.* 2015. 72, № 6. С. 588–595.
21. Braun M., Bohmer, H der D.-P., Hemmersbach R., Palme K. *Gravitational Biology. I. Gravity sensing and graviorientation in microorganism and plants*. Springer, 2018. 122 p. doi: [10.1007/978-3-319-93894-3_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-93894-3_5).
22. Brown C. S., Tipathy B. C., Stutte G.W. Photosynthesis and carbohydrate metabolism in microgravity. *Plants in Space Biology*. H. Suge (Ed.). Sendai: Tohoku University Press, 1996. P. 127–134.
23. Chaban Ch. I., Kern V. D., Ripetsky R. T., Demkiv O. T., Sack F. Gravitropism in caulonemata of the moss *Pottia intermedia*. *J. Bryology.* 1998. 20. P. 287–299.
24. Chazotte B. *Labeling Nuclear DNA Using DAPI. Cold Spring Harbor Protocols*. 2011. P. 83–86.
25. Cove D., Benzanilla M., Harries P., Quatrano R. Mosses as model systems for the study of metabolism and development. *Ann. Rev. Plant Biol.* 2006. 57. P. 497–520.
26. Glime J. M. (2007 onwards). *Bryophyte Ecology. Volume 1. Physiological Ecology*. E-book sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. <http://www.bryocol.mtu.edu/> (Last accessed: 15.08.2015).
27. Greenwood J. L., Stark L. R. Rate of drying determines extent of desiccation tolerance in *Physomitrella patens*. *Functional Plant Biol.* 2014. 41. P. 460–467.
28. Hasenstein K. H. Radiation effects on Brassica seeds and seedlings. *4th Cospar Scientific Assembly. Abstract.* 2016. P. 244.
29. Kordyum E. L. Plant cell gravisensitivity and adaptation to microgravity. *Plant Biol.* 2014. 16, № 1. P. 79–90.
30. Moulia B., Fournier M. The power and control of gravitropic movements in plants: a biochemical and systems biology view. *J. Exp. Bot.* 2009. 60, № 2. P. 461–486.
31. Musgrave M. E., Kuang A., Xia Y., Staut S. C., Bingham G. E., Briarty G., Levinskikh M. A., Sychev V. N., Podolski I. G. Gravity independence of seed-to-seed cycling in *Brassica rapa*. *Planta.* 2000. 210. P. 400–406.
32. Newsham K. K., Robinson S. A. Responses of plants in polar regions to UVB exposure: a meta-analysis. *Global Change Biol.* 2009. 15, № 11. P. 2574–2589. doi: [10.1111/j.1365-2486.2009.01944.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01944.x).
33. Phillips J., Oliver M., Bartels D. Molecular genetics of desiccation-tolerant systems. Desiccation and survival in plants: *Drying without dying* (Eds M. Black, H. W. Pritchard). Wallingford: CABI Publ., 2002. P. 319–341.
34. Robinson S. A., Waterman M. J. Sunsafe bryophytes: photoprotection from excess and damaging solar radiation. *Adv. Photosynthesis and Respiration.* 2014. 37. P. 113–130.
35. Rolland F. I., Sheen J. Sugar sensing and signalling networks in plants. *Biochem Soc. Trans.* 2005. 33, № 1. P. 269–271. doi: [10.1042/BST0330269](https://doi.org/10.1042/BST0330269).
36. Sadasivam S., Manickam A. *Biochemical methods*. New Delhi: New Age International, 2007. 284 p.
37. Smirnoff N. Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants* (Ed. N. Smirnoff). Oxford: Blackwell Publishing Ltd., 2005. P. 53–86.
38. Stutte G. W., Monje O., Hatfield R. D., Paul A. L., Ferl R. J., Simone C. G. Microgravity effects on leaf morphology, cell structure, carbon metabolism and mRNA expression of dwarf wheat. *Planta.* 2006. 224. P. 1038–1049.
39. Xiao Z., Storms R., Tzang A.A. Quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. *Anal. Biochem.* 2006. 351, № 1. P. 146–148.
40. Yatagai F., Honma M., Dohmae N., Ishioka N. Biological effect of Space environmental factors: A possible interaction between space radiation and microgravity. *Life Sci. in Space Res.* 2018.

Стаття надійшла до редакції 02.01.2019

REFERENCES

1. Bachurina H. F., Melnychuk V. M. (1988). *Flora of mosses of the Ukrainian SSR*. Kyiv: Naukova Dumka.

2. Hrodzynskiy D. M. (2013) *Adaptive strategy of physiological processes in plants*. Kyiv: Naukova Dumka.
3. Hudkov I. M. (2016). *Radiobiology*. Kyiv: NUBiP Ukrainy.
4. Demkiv O. T., Sytnyk K. M. (1985). *Morphogenesis of arhegoniate*. Kyiv: Naukova dumka.
5. Demkiv O. T., Khorkavtsiv Ya. D., Pundiak O. I. (2009). Gravitation as a form-forming factor of moss development. *Plant physiology: problems and prospects of development*, No. 2, 403–410.
6. Ivanov V. B. (1982). *Active dyes in biology*. Moscow: Science.
7. Kardash O. R., Khorkavtsiv Ya. D., Demkiv L. O. (1988). Growth and morphogenesis *Weissia tortilis* (Schwaegr.) C. Müll. from different locality. *Ukr. Botanical J.*, 45(2), 17–21.
8. Karpets Yu. V., Kolupaev Yu. E. (2009). Plant response to hyperthermia: molecular-cellular processes. *Bull. Kharkiv Nat. Agrarian Univ. Ser. Biology*, No. 1, 19–39.
9. Kyyak N. Ya. (2005). Influence of phenolic compounds on physiological and biochemical parameters in shoots of water moss *Fontinalis antyperitica* Hedw. *Sci. Notes Ternopil State Pedagogical Univ. named after Volodymyr Hnatyuk. Ser: Biol.*, No. 3, 81–87.
10. Kyyak N. Ya. (2015). Peculiarities of physiological indexes of water regime in the bryophytes with a different tolerance to water deficit. *Visnyk of Lviv Univ. Biol. ser.*, 70, 245–255.
11. Kyyak N. Ya., Baik O. L., Kit N. A. (2017). Morphophysiological adaptation of bryophytes to environmental factors on the devastated territories of sulphur extraction. *ScienceRise: Biol. Sci.*, 5(8), 33–38. doi.org/10.15587/2519-8025.2017.113540.
12. Kyyak N. Ya., Khorkavtsiv Ya. D. (2015). Adaptation of the bryophytes to water deficit in the dump area at sulfur deposit sites. *Ukr. Botan. J.*, 72(6), 566–573.
13. Kyyak N. Ya., Khorkavtsiv Ya. D. (2016). Estimation of the oxidative stress in moss *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. depending on the influence of gravity. *Space Sci. and Technol.*, 22(4), 58–66. doi.org/10.15407/knit2016.04.058.
14. Lazarenko A. S. (1959). Observation of morphology and ecology of the regenerative protonemata in the tortilla rural (*Tortula ruralis* Hedw.) and desert (*T. desertorum* Broth.). *Ukr. Botan. J.*, 16(5), 55–64.
15. Lazarenko A. S., Kovalenko A. P. (1961). Some spiral structures of leafy mosses protonemata. *Ukr. Botan. J.*, 18 (6), 89–98.
16. Lakyn H. F. (1990). *Biometrics*. Moskva: Vysshaya Shkola.
17. Lobachevska O. V., Kyyak N. Ya., Khorkavtsiv Ya. D., Kit N. A. (2017). Gravity dependent modification of reproductive development of mosses. *Ukr. Botan. J.*, 74(5), 488–496.
18. Lobachevska O. V., Khorkavtsiv Ya. D., Kyyak N. Ya., Kit N. A., Danylkiv I. S. (2015). Gravimorphogenesis of the moss gametophyte. *Space Sci. and Technol.*, 21(4), 94–102.
19. *Workshop on Agrochemistry* (2001). Moskva: Izdatel'stvo MHU [in Russian].
20. Khorkavtsiv Ya. D., Kordium Ye. L., Lobachevska O. V., Kyyak N. Ya., Kit N. A. (2015). Branching protonemata of *Ceratodon purpureus* in conditions of changed gravitation. *Ukr. Botan. J.*, 72(6), 588–595.
21. Braun M., Bohmer, H der D.-P., Hemmersbach R., Palme K. (2018). *Gravitational Biology. I. Gravity sensing and graviorientation in microorganism and plants*. Berlin: Springer.
22. Brown C. S., Tipathy B. C., Stutte G. W. (1996). Photosynthesis and carbohydrate metabolism in microgravity. *Plants in Space Biol.*, Sendai: Tohoku University Press, 127–134.
23. Chaban Ch. I., Kern V. D., Ripetsky R. T., Demkiv O. T., Sack F. (1998). Gravitropism in caulonemata of the moss *Pottia intermedia*. *J. Bryol.*, 20, 287–299.
24. Chazotte B. (2011). *Labeling Nuclear DNA Using DAPI. Cold Spring Harbor Protocols*, 83–86.
25. Cove D., Benzanilla M., Harries P., Quatrano R. (2006). Mosses as model systems for the study of metabolism and development. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 57, 497–520.
26. Glime J. M. (2017). *Bryophyte Ecology. Vol. 1. Physiological Ecology*. Houghton: Michigan Technol. Univ. URL: <http://www.bryoecon.mtu.edu/> (Last accessed: 10.04.2019).
27. Greenwood J. L., Stark L. R. (2014). Rate of drying determines extent of desiccation tolerance in *Physomitrella patens*. *Functional Plant Biol.*, 41, 460–467.
28. Hasenstein K. H., Deoli N. (2016). Radiation effects on Brassica seeds and seedlings. *41st COSPAR Scientific Assembly (was cancelled). Abstracts*. URL: <http://cospar2016.tubitak.gov.tr/en/> (Last accessed: 10.04.2019).
29. Kordyum E. L. (2014). Plant cell gravisensitivity and adaptation to microgravity. *Plant Biol.*, 16(1), 79–90.
30. Moulia B., Fournier M. (2009). The power and control of gravitropic movements in plants: a biochemical and systems biology view. *J. Exp. Bot.*, 60 (2), 461–486.
31. Musgrave M. E., Kuang A., Xia Y., Staut S. C., Bingham G. E., Briarty G., Levinskikh M. A., Sychev V. N., Podolski I. G. (2000). Gravity independence of seed-to-seed cycling in *Brassica rapa*. *Planta*, 210, 400–406.
32. Newsham K. K., Robinson S. A. (2009). Responses of plants in polar regions to UVB exposure: a meta-analysis. *Global Change Biol.*, 15(11), 2574–2589.
33. Phillips J., Oliver M., Bartels D. (2002). Molecular genetics of desiccation-tolerant systems. M. Black and H. W. Pritchard (eds.). *Desiccation and survival in plants: Drying without dying*. Wallingford: CABI Publishing.
34. Robinson S. A., Waterman M. J. (2014). Sunsafe bryophytes: photoprotection from excess and damaging solar radiation. *Adv. Photosynthesis and Respiration*, 37, 113–130.

35. Rolland F. I., Sheen J. (2005). Sugar sensing and signalling networks in plants. *Biochem Soc Trans.*, 33(1), 269—271.
36. Sadasivam S., Manickam A. (2007). Biochemical methods. New Delhi: New Age International.
37. Smirnov N. (2005). Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. Smirnov N. (ed.). *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.
38. Stutte G. W., Monje O., Hatfield R. D., Paul A. L., Ferl R. J., Simone C. G. (2006). Microgravity effects on leaf morphology, cell structure, carbon metabolism and mRNA expression of dwarf wheat. *Planta*, 224, 1038—1049.
39. Xiao Z., Storms R., Tzang A. A. (2006). Quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. *Anal. Biochem.* 351(1), 146—148.
40. Yatagai F., Honma M., Dohmae N., Ishioka N. (2018). Biological effect of Space environmental factors: A possible interaction between space radiation and microgravity. *Life Sci. Space Res.*

Received 02.01.2019

О. В. Лобачевская, Н. Я. Кияк, Я. Д. Хоркавцев

Институт экологии Карпат Национальной академии наук Украины, Львов, Украина

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК ПРОТОНЕМЫ *WEISSIA TORTILIS* SPRENG., РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ГРАВИЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ

Гравитропизм бриофитов является видоспецифическим, зависит от экологических факторов и жизненной стратегии вида. Цель исследований заключалась в определении взаимосвязи между морфологией клеток протонемы *Weissia tortilis* Spreng. в процессе дифференцировки, их резистентностью к УФ-облучения и изменчивостью гравитропизма. Установлено, что формирование плотной дерновинки из коротких неразветвленных хлоронемных столонов как дополнительной ростовой формы протонемы мха обеспечивает экранирование каулонемы от радиации. Показано, что вследствие особенностей роста и морфогенеза клеток протонемы *W. tortilis* только каулонематические столоны реагируют на действие гравитации. На основании проведенных сравнительных исследований гравичувствительности и метаболизма углево-

дов *Ceratodon purpureus* Brid. и *W. tortilis* в зависимости от условий гравистимуляции установлена специфичность биохимических реакций и устойчивость к экологическим факторам. Предполагается, что метаболизм углеводов обусловлен различной толерантностью мхов к воздействию стрессовых факторов: *C. purpureus* — космополитный вид мха, гравичувствительный на всех стадиях развития, тогда как *W. tortilis* — аридный вид, чувствительный к гравитации только на стадии каулонемы.

Ключевые слова: мхи, гравичувствительность, УФ-облучения, углеводный обмен.

О. В. Лобачевська, Н. Я. Кияк, Я. Д. Хоркавців

Institute of Ecology of the Carpathians of the National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv, Ukraine

MORPHO-FUNCTIONAL PECULIARITIES OF THE MOSS *WEISSIA TORTILIS* SPRENG. PROTONEMATA CELLS WITH DIFFERENT GRAVISENSITIVITY

Gravitropism of bryophytes is species-specific. It depends on the ecological factors and species life strategy. The purpose of the research is to determine the relationship between the morphology of *Weissia tortilis* Spreng. protonemata cells in the process of differentiation, their resistance to UV irradiation, and the variability of gravitropism. It has been established that the formation of a dense turf from short, unramified chloronematal stolons as an additional growth form of the moss protonemata provides screening of the caulonemata stolons from radiation. We have shown that due to peculiarities of morphogenesis and stolon growth only caulonemata cells of *W. tortilis* protonemata are gravisensitive. The environmental resistance and the specificity of biochemical reactions depending on the level of gravisensitivity have been determined on the basis of comparative investigations of gravisensitivity and carbohydrate metabolism of *Ceratodon purpureus* Brid and *Weissia tortilis* Spreng. It is assumed that the revealed specificity is due to the different tolerance of bryophytes to the influence of stress factors: *Ceratodon purpureus* is a cosmopolitan gravisensitive moss species, whereas *Weissia tortilis* is an arid species with gravitropism only at the caulonemata stage.

Keywords: bryophytes, gravisensitivity, UV irradiation, carbohydrate metabolism.