

УДК 580.7:581.44 (477)

КП 34

РК 0117U007031

Національна академія наук України

Інститут екології Карпат

(ІЕК НАН України)

790266 м. Львів, вул. Козельницька, 4, тел./факс (032) 2707430

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор Інституту,

д.б.н.,с.н.с.

М.П. Козловський

З В І Т

ПРО ВИКОНАННЯ НАУКОВОГО ПРОЕКТУ

“Дослідження гравічутливості та гравітропних реакцій мохів в умовах космічного польоту як адаптивного чинника в онтогенезі рослин”

(16.02 – 28.12. 2018 р.)

Керівник робіт,
завідувач відділу
екоморфогенезу рослин,
канд. біол. наук



О.В. Лобачевська

4 грудня 2018 р.

Львів –2018

Реферат

Проаналізовано гравічутливість *Weissia tortilis* Spreng., поширеної переважно в аридних і субаридних умовах, часто на півдні, у степовій зоні України. Визначено, що реакція на дію гравітації і морфологічна диференціація протонеми у *Weissia tortilis* – корелятивні процеси, а мінливість гравітропних реакцій – результат приуроченості його місцезростань до екстремальних умов водозабезпечення і сонячної радіації. Спеціалізованим ростом гаметофіту *W. tortilis* є негативний гравітропізм довгих підземних каулонемних стolonів, котрі ростуть плагіотропно на незначній глибині у субстраті, а морфофізіологічна відмінність між хлороневою і каулоневою сприяла модифікаційній мінливості виду.

Проаналізовано причинний зв'язок між стійкістю аридного моху *Weissia tortilis* до УФ-опромінення, морфологічною структурою дернини та гравічутливістю клітин протонеми. Встановлено, що зміна векторної направленості сили тяжіння впливає на спрямованість метаболізму вуглеводів, які задіяні на різних рівнях трансдукції гравісигналу *Weissia tortilis* і *Ceratodon purpureus*, та можуть забезпечувати контроль за вмістом АФК. У гравічутливого виду *Ceratodon purpureus* відзначено нагромадження крохмалю у темряві під час гравістимуляції та інтенсивну його утилізацію на світлі. Редукція крохмалю прямо корелювала із зростанням рівня α -амілазної активності. Водночас, в умовах гравістимуляції протонеми *W. tortilis* з низькою гравічутливістю на хлоронемній стадії, представленій у формі дендродів, зміни щодо нагромадження крохмалю були менше виражені. За впливу симульованої мікрогравітації метаболізм карбогідратів спрямований у бік гідролізу полісахаридів та накопичення розчинних вуглеводів і є свідченням їх участі у нейтралізації вільних радикалів, що можуть генеруватися під час порушень векторної направленості гравітації.

Отже, гравітація як ключовий екологічний фактор стимулює модифікаційні екотипні зміни в онтогенезі мохів та клітинні системи захисту, що підвищують резистентність і можливість виживання рослин у стресових умовах сонячної радіації та водного дефіциту.

Вступ

У фенотипі рослин першочерговою ростовою реакцією є гравітропізм і залежно від життєвої стратегії – це адаптивна форма росту в локальних умовах екотипу (Mouliа, Fournier, 2009; Kordyum, 2014). На підставі досліджень гравічутливості і морфогенезу мохоподібних встановлено різномаття гравіреакцій бріофітів (Chaban et al., 1998; Cove et al., 2006; Демків

та ін., 2009; Лобачевська та ін., 2015; Хоркавців та ін., 2015) і зроблені висновки, що гравітропізми є видоспецифічними, змінюються на різних стадіях розвитку гаметофіту, залежать від екологічних факторів й часто приурочені до життєвої стратегії виду. Вивчення і аналіз морфо-фізіологічних властивостей гравічутливих видів мохів свідчать, що умови імітованої мікрогравітації і відсутність однонаправленої векторної дії модифікують метаболічні процеси та ініціюють поліфункціональні ростові реакції на різних стадіях онтогенезу.

Беручи до уваги, що заселення Місяця або Марса реально можлива, в умовах космічних польотів аналізують вплив супутніх стресових факторів, напр., УФ-випромінювання та іонізуючої радіації, що здатні модифікувати дію мікрогравітації та впливати на цикли росту рослин. Відносно небагато даних про вплив радіації на рослинні організми, однак проведені дослідження свідчать, що низько енергетична сонячна радіація може бути використана для вивчення впливу на проростання насіння та розвиток рослин (Гродзинский, 2013; Hasenstein, 2016; Yatagai et al., 2018).

Методи досліджень

Об'єктом дослідження були природні зразки та лабораторні культури таких видів мохів: *Weissia tortilis* Spreng., *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., *Funaria hygrometrica* Hedw. Зразки мохів відібрано в околицях м. Львова в майже однакових кліматичних умовах, окрім *Weissia tortilis*, зразок якої зібраний у Запорізькій області.

Лабораторну стерильну культуру мохів отримували із спор або регенерацією пагонів на поживному середовищі Кноп II з 0,2 % глюкозою в чашках Петрі і вирощували у люмінестаті з 16 год фотоперіодом у контрольованих умовах: освітлення $70 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^2 \cdot \text{сек}^{-1}$, температура 20–22°C, відносна вологість 85–90 %. Через 7 днів протонемні дернини збирали у клубки і переносили на 5–7 днів у темряву для гравістимуляції. Для моделювання мікрогравітації використовували горизонтальний кліностат, який обертався зі швидкістю 2 об./хв.

Для аналізу ядер застосували методику флуоресцентного фарбування барвником 4',6-діамідино–2-феніліндол – DAPI (Chazotte, 2011) і фіксували положення ядер у клітинах каулонемного столону і дендродів протонемі та їх розміри. Препарати аналізували на мікроскопі „AXIO Image M1.

Активність пероксидаз визначали після екстракції матеріалу в 0,1 М ацетатному буфері (рН 5,4). Гомогенат центрифугували протягом 15 хв за 5000 об/хв. Активність ферментів визначали спектрофотометрично з використанням, як субстрату, бензидину та гваяколу й виражали у відносних одиницях на 1 г маси сирової речовини за хвилину (Методы биох. исслед. растений, 1987).

Активність α -амілази визначали за (Иванов, 1982) та модифікованим йодометричним методом за зниженням інтенсивності забарвлення комплексу крохмаль-йод за дії амілази (Xiao et al., 2006).

Сумарний вміст фенолів визначали фотометричним методом ($\lambda=765$ нм), використовуючи реактив Фоліна-Деніса і калібрувальної залежності за хлорогенною кислотою (Smirnoff, 2005).

Загальний вміст вуглеводів визначали фунол-сульфатним методом (Sadasivam, Manickam, 2007). Вміст водорозчинних вуглеводів та крохмалю оцінювали спектрофотометрично із застосуванням пікринової кислоти (Практикум 2001).

Результати досліджень

Морфо-функціональні особливості аридного виду *Weissia tortilis* Spreng. як прояв гравічутливості та стійкості до УФ-радіації

Досліджуючи гравічутливість *Weissia tortilis* Spreng., поширеної в аридних у субаридних кліматичних умовах Середньої Азії та України, ми звернули увагу на високу резистентність виду до УФ-опромінення (Кардаш та ін., 1988). Відомо, що радіація руйнує біологічні системи при високих дозах або кумулятивно на низьких унаслідок прогресивних змін в організації ДНК, що часто призводять до смерті або мутацій. Крім того, з урахуванням високої енергії опромінення їх використовуються для генерації нових мутантів рослин (Cove et al., 2006). Розуміння впливу іонізуючого випромінювання на рослини є підставою для вивчення механізмів стійкості біологічних систем і передумовою послаблення радіаційної дії на їх життєдіяльність.

Чи можна знайти зв'язок між реакцією протонеми *W. tortilis* на гравітаційне подразнення і підвищеною стійкістю рослин моху до УФ-випромінювання, унаслідок морфологічної диференціації клітин протонеми? Раніше встановлено, що УФ-мутанти *Ceratodon purpureus* зберігали негативний гравітропізм, а кінетика гравітропного згину була подібна до протонеми дикого типу (Демків та ін., 2009). У *W. tortilis* протонемна стадія зі

специфічною диференціацією клітин на каулонему і дендроїди хлоронемного типу зберігається упродовж життєвого циклу. Диференціація протонеми мохів на каулонему і хлоронему в аридних місцезростання призвела до різкої функціональної відмінності і більш інтенсивного формування дендроїдів. Роль такої морфологічної різновидності, яка пов'язана з фізіологічними функціями і відображає зміни середовища, забезпечити виживання гаметофіту у стресових кліматичних умовах.

Мохи характеризуються порівняно високою резистентністю до УФ-випромінювання, а приуроченість *W. tortilis* до місцезростань із високим рівнем УФ-фону нашттовхнуло на думку з'ясувати, як пов'язані між собою морфологічна диференціація клітин протонеми, мінливість гравітропізмів та резистентність до УФ-опромінення. Проаналізовано три види мохів – *Funaria hygrometrica*, *Ceratodon purpureus* і *W. tortilis* і встановлено, що при потужності 1000 Вт/м² вижили 60 % апікальних клітин *Weissia tortilis*, 30% *Ceratodon purpureus* і 10 % *Funaria hygrometrica*. Поріг виживання підтверджує локальну приуроченість цих видів мохів до місцезростань із високими дозами сонячної радіації, серед яких *F. hygrometrica*, порівняно з двома іншими видами, найменш стійка, проте найбільш тіневитривала. Серед факторів, котрі могли б вплинути на нижчу чутливість клітин *Weissia tortilis* до УФ-опромінення є морфологічна структура протонемної дернини: дендроїди екранують каулонемні столони. Подібну дендроїдну морфу на високих інтенсивностях освітлення (3500 лк) утворює *C. purpureus*, але такої форму росту не виявили у *Funaria hygrometrica*. На високих дозах опромінення життєздатними залишаються найбільш щільно екрановані клітини *W. tortilis* і їх регенерація значно підсилює виживання протонемної дернини. Тобто, формування щільної дернини із коротких малоклітинних столонів, як додаткової ростової форми протонеми, забезпечує екранування радіації. Не виключено, що важливість такої функції призвела до морфологічних і цитологічних змін, які не сумісні з гравітропізмом. Насамперед – це малі розміри клітин дендроїдів сповільнені темпи мітозів, обмежена довжина столонів і швидке завершення росту, порівняно з каулонемою. Така морфологічна будова клітин одношарової протонеми не сприяє гравічутлості. Параметри клітин і столонів протонемної дернини *W. tortilis* наведено у табл. 1. Ядра клітин дендроїдів і каулонемі *Weissia tortilis* менші, ніж інших видів мохів (Демків, Сьтнік, 1985; Braun et al., 2018), а як відомо, клітини з великими ядрами є радіочутливішими.

Стійкість *Weissia tortilis* до УФ-опромінення є адаптивною реакцією на дію високих доз сонячної радіації, при цьому рівень стійкості зумовлений як морфо-фізіологічними

особливостями, так ефективністю функціонування репараційних систем і екологічними умовами, в яких поширений вид. Високий вміст фенолів є характерною особливістю мохів. Фенольні сполуки з максимумом поглинання $\lambda = 310\text{--}410$ нм забарвлюють клітинні стінки каулонемних стolonів *Weissia tortilis* у червоно-коричневий колір і виконують фотозахисну функцію, екрануючи життєво важливі клітинні структури від пошкоджень.

Таблиця 1.

Морфологічні і функціональні показники протонемі *Weissia tortilis*

| Розміри апікальних клітин, мкм | | Довжина, стolonів (к-сть клітин), мкм | Об'єм ядер, мкм ³ | Люмінесценція ДНК-ДАPI, відн.од. |
|---|----------|---|---------------------------------|--|
| довжина | ширина | | | |
| Тип протонемних стolonів: хлоронемні дендрoїди | | | | |
| 34,7±1,5 | 21,4±0,9 | 166,4 ± 3,1 4-5 клітин | 77,3 ±8,9 | 56,8±2,1 |
| каулонема | | | | |
| 182,3±3,4 | 20,8±1,1 | 2759,6±16,7 14-15 клітин | 199,0±12,7 | 79,5±4,9 |

Концентрації фенольних сполук у протонемній дернині *Weissia tortilis* наведено у табл. 2. Показники природних зразків і лабораторної культури відрізнялися і були вищими у каулонемних стolонах, ніж дендрoїдах. Окрім того, вміст фенолів *Weissia tortilis* значно перевищував дані, отримані для інших видів мохів (Кияк, 2005). Таким чином, у природних умовах поширення *W. tortilis* фенольні сполуки є одним із факторів захисту рослин від УФ-опромінення.

Таблиця 2.

Вміст фенольних сполук у дендрoїдних і каулонемних стolонах *Weissia tortilis*

| Тип протонемних дернин | Вміст фенолів, мг/100 г сирової ваги | |
|------------------------|--------------------------------------|----------------------|
| | Природні зразки | Лабораторна культура |
| Хлоронемні дендрoїди | 87,6±0,4 | 62,3±0,7 |
| каулонема | 120,3±1,6 | 78,0±0,5 |

Важливим механізмом захисту від пошкоджень УФ променями є також системи дезактивації АФК, як біотест нейтралізації АФК використали пероксидазу. Активність ферменту гаметофітної дернини *Weissia tortilis* з природних умов була вдвічі вищою, ніж

лабораторної культури (рис. 1), а у *Funaria hygrometrica*, яка поширена у цілком іншому кліматичному середовищі, природні і контрольні зразки не відрізнялися.

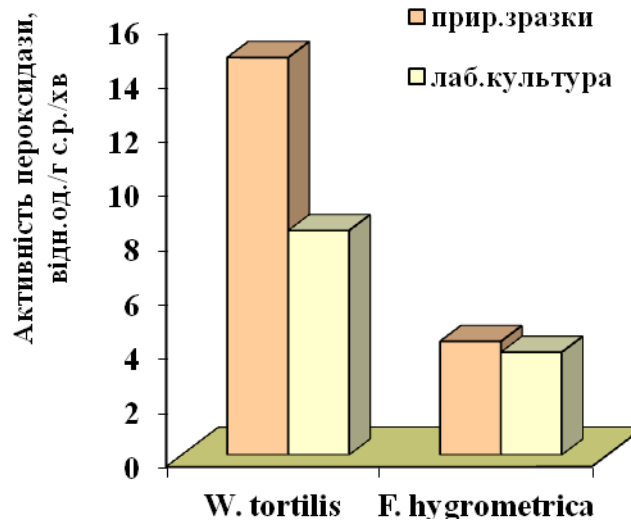


Рис. 1. Активність пероксидази природних і лабораторних зразків *Weissia tortilis* і *Funaria hygrometrica*

Отже, відмінні екотипні життєві форми протонемної дернини *Weissia tortilis* сформувалися залежно від умов середовища, зокрема, високих доз сонячної радіації, унаслідок чого гравічутливість змінювалася упродовж життєвої історії, а нові гравітропізми розвинулися як важлива ланка екологічної спеціалізації рослин моху.

Проаналізовано гравічутливість *Weissia tortilis* і показано, що довгі каулонемні столони ростуть плагіотропно на незначній глибині і реагують на векторну дію гравітації, тоді як напрям росту дендроїдної наземної протонемі не залежить від сили тяжіння. Завдячуючи негативному гравітропному росту каулонемі, на поверхню ґрунту підіймаються хлоронемні столони, котрі рясно галузяться і утворюють над поверхнею щільний куш ортотропних дендроїдів, що мають вигляд зелених куртин і формують суцільний асиміляційний покрив. (рис. 2). Таке пристосування каулонемі до підземного росту проф. А.С. Лазаренко оцінив як адаптацію до аридного клімату, що забезпечує виживання під час висихання наземних органів рослини (Лазаренко, 1971).



Рис. 2. *Weissia tortilis*: а, б – дендроїдна (хлоронемна) форма росту протонемної дернини; в – дернина з гаметофорами.

Спеціалізованою реакцією гаметофіту *Weissia tortilis* є плагіотропний ріст підземної каулонемі, який часто чергується з негативний гравітропізмом головного столону і бокових галузок. Галузка росте вертикально вверх завдяки чутливості клітин до поляризуючої дії гравітації під час перших 2-3 поділів, що значно скорочує шлях протонемі з-під ґрунту до світла. На відміну від інших видів мохів, переважно з гравічутливою хлоронемою, гравітропний згин *Weissia tortilis* може відбуватися в апікальній клітині каулонемі і заповнених амілопластами субапікальній клітині. Аналогічно, як під час гравітропного росту коренів чи протонемі мохів, амілопласти седиментують на нижню клітинну стінку, ініціюючи зміни цитоплазматичних процесів і гравітропізм (рис. 3).



Рис. 3. Гравічутливі каулонемні столони *Weissia tortilis* і дендроїдна протонемна дернина: а – амілопласти переважають у субапікальній клітині; б-г – протонема росте гравітропно; б – амілопласти седиментують на нижню клітинну стінку; г – кожна клітини каулонемного столону галузиться, унаслідок чого утворюється щільна надземна дернина – д; штрих = 20 мкм.

В умовах експериментального дефіциту води, імітованого 1– 5% концентраціями ПЕґу, спостерігали появу столонів, які росли позитивно гравітропно. Згодом у дернині із природного середовища також знаходили значну кількість позитивно гравітропних

каулонемних стolonів. Тому, мінливість гравізалежного росту протонеми *W. tortilis* слід розглядати як додаткову адаптивну ознаку, що розвинулася відповідно кліматичних умовах місцезростання виду. Це розширює різноманіття форм росту протонеми *W. tortilis* і підвищує ймовірність виживання гаметофіту в екосистемах посушливих і аридних кліматичних зон (рис. 4).

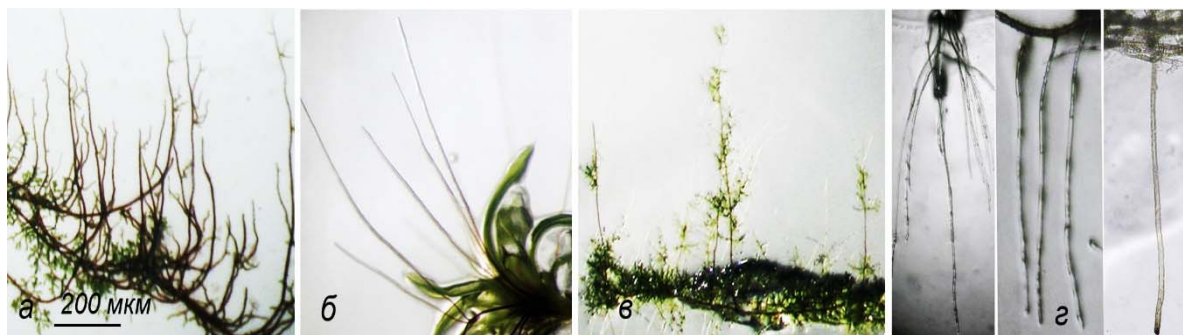


Рис.4. Фенотипна мінливість гравітропізмів каулонемми *W. tortilis*: а-в – негативний гравітропний ріст; г – позитивний гравітропізм.

Раніше встановлено, що гравітація може мінімізувати негативний вплив дефіциту води і бути важливим фактором для вегетативного розмноження і поширення рослин (Лобачевська та ін., 2015). Так, у *Leptobryum pyriforme* фенотипна пластичність завдяки гравітропізму протонеми в умовах водного стресу сприяла пришвидшеному розвитку спеціалізованих виводкових органів, що забезпечує збільшення їх чисельності і репродуктивне розмноження та розселення моху. Адаптація до різко відмінних кліматичних умов двох форм *Bryum pseudotriquetrum* з Антарктики і України теж зумовлена підвищенням гравічутливості гаметофорів арктичної форми і утворенням виводкових бульбочок на пагонах, що є надійним засобом для розмноження в умовах короткого вегетаційного періоду Антарктики.

В каулонемних стolонах *Weissia tortilis* визначено нижчу α -амілазну активність, а в апікальній і субапікальній клітинах значно більше амілопластів, ніж у хлоронемі (табл. 3). Тобто, полісахариди нагромаджуються у пластидах гравічутливих клітин каулонемми, відповідно вища активність ферменту в клітинах каулонемми стимулює біосинтез вуглеводів, необхідних для росту і галузження клітин стolonів. Одночасно висока інтенсивність фотосинтезу надземної дендроїдної дернини також є джерелом енергетичного забезпечення для підземної каулонемми і розвитку бруньок гаметофорів.

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

| Тип протонемної дернини | К-сть амілопластів в апікальній клітині, шт. | Вміст крохмалю, мкг/г маси сирої 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 |

Спіральність є однією з головних ознак всіх організмів, що значно розширює здатність рослин виживати в екстремальних умовах. Встановлено, що після кліноостатування *W. tortilis* утворювалися спіральні каулонемні столони і дернини (рис. 5). Отже, доповнивши список видів зі спіральною формою росту, ми підтверджуємо поширення спіральної морфи та її важливість для мохоподібних. Не виключено, що така форма росту поширюється залежно від екологічних умов як необхідність найефективнішого розростання та поширення рослин.

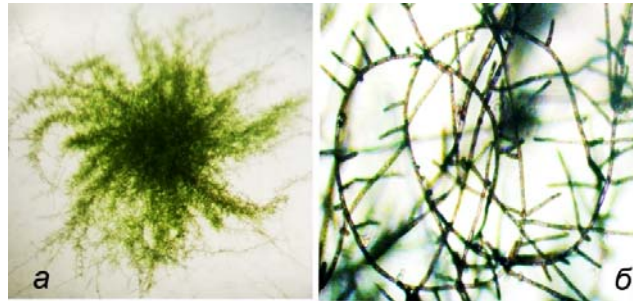


Рис. 5. Спіральна протонемна дернина *Weisia tortilis* (а) і спіральний каулонемний стolon (б).

Передумовою спіральності дернини є диференціація каулонами, яка для *W. tortilis* є спеціалізованим органом. Тільки апікальна зона каулонемних клітин, на відміну від хлоронем, утворює невеликий нахил ($\approx 20^0$) відносно поздовжньої осі клітини, від чого залежить орієнтація спірального росту.

Утворення спіральної форми на світлі, в умовах мікрогравітації і кліноостатування свідчить, що спіральність є спадковою, але переважно маскується дією сили земного тяжіння. Тобто, це результат специфічної реакції генетичної структури організму на конкретні умови середовища. Можливо, нерівномірна дія сили тяжіння і світла, чи взаємодія фото- і

гравітропізму, – і як наслідок втрата клітинами полярності та чутливості до поляризуючої дії гравітації, призводить до спірального росту.

Особливості метаболізму вуглеводів у протонемі мохів Ceratodon purpureus Brid. і Weissia tortilis Spreng., які відрізняються за гравічутливістю

В умовах зміненої сили тяжіння відбуваються суттєві структурно-функціональні перебудови клітин, які призводять до порушень внутрішньоклітинних процесів обміну. Літературні дані, які засвідчують модифікацію метаболізму вуглеводів у рослинах в умовах реального космічного польоту та симульованої мікрогравітації неоднозначні. Наприклад, у пагонах *Ipomoea batatas* (L.) Lam. в умовах реального космічного польоту виявлено зменшення кількості амілопластів та зниження рівня накопичення крохмалю, а також дезорієнтацію росту коренів через відсутність домінуючого вектора сили тяжіння (Brown et al., 1996), у *Brassica rapa* L. переважає гідроліз полісахаридів та накопичення розчинних вуглеводів (Musgrave et al., 2005), у *Triticum aestivum* L. вміст крохмалю та водорозчинних вуглеводів в умовах зміненої сили тяжіння не змінюється (Stutte et al., 2006).

Метою нашої роботи були порівняльні дослідження метаболізму вуглеводів у протонемі 2 видів мохів, які відрізняються за гравічутливістю протонемі – *Ceratodon purpureus* Brid. і *Weissia tortilis* Spreng. залежно від умов гравістимуляції.

Варто відзначити, що досліджувані види суттєво відрізнялися за гравічутливістю. Для протонемі *Ceratodon purpureus* відзначено чітку гравітропну реакцію, яка виявлялася вже через 0,5 год після гравістимуляції, тоді як хлоронемна стадія протонемі *W. tortilis* була нечутливою до гравітації.

Для обидвох видів мохів встановлено різний вміст загальних вуглеводів. Кількість карбогідратів у *Ceratodon purpureus* була у межах 1926,3–2269,1 мкг/г с.м., тоді як у протонемі *Weissia tortilis* зафіксовано удвічі більший уміст вуглеводів (4342,4–5475,3 мкг/г с.м.), що може бути зумовлене приуроченістю рослин *Weissia tortilis* до аридних умов. Висока концентрація цукрів у клітинах є свідченням адаптації до дефіциту вологи, що виражається в акумуляції осмопротекторів. Акумуляція розчинних вуглеводів забезпечує внутрішню регуляцію водного потенціалу та сприяє активному поглинанню води рослинним організмом, що є важливим в умовах несприятливого температурного та водного режиму (Greenwood, Stark, 2014).

У *C. purpureus* найбільшу кількість вуглеводів визначено у протонемі контролю, тоді як в умовах кліноостатування їх кількість зменшувалася на 15,1 %, що могло бути зумовлене сповільненням фотосинтетичних процесів рослин в умовах впливу зміненої сили тяжіння (Кияк, 2017). За умов росту протонемі у темряві різниця з протонемою контрольного варіанту була невірогідною (Табл. 1).

Таблиця 1

**Вміст вуглеводів у пагонах мохів *Ceratodon purpureus* і *Weissia tortilis*,
мкг/г маси сирі речовини**

| Види мохів, варіанти дослідження | Загальний вміст вуглеводів | Вміст крохмалю | Вміст водорозчинних вуглеводів | Вміст моноцукрів |
|-------------------------------------|----------------------------------|-------------------|--------------------------------------|---------------------|
| <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 |
| Кліноостат | 1926,3±164,2 | 105,6±12,4 | 718,3±52,6 | 144,8±12,8 |
| <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 |
| Кліноостат | 5475,3±328,7 | 145,4±16,8 | 1395,2±163,1 | 269,4±16,8 |

У протонемі *W. tortilis* в умовах впливу симульованої мікрогравітації виявлено збільшення вмісту карбогідратів, в середньому, на 20%. Відомо, що реакція рослин на порушення векторної направленості сили тяжіння ініціює зміну прооксидантно-антиоксидантного статусу клітин (Кияк, Хоркавців, 2016), а цукри перехоплюють активні форми кисню (АФК) і гальмують процеси вільнорадикального окислення біологічних молекул (Карпец, Колупаєв, 2009). Крім того, вуглеводи також можуть виконувати сигнальну роль у стресових умовах, і зокрема, мікрогравітації (Rolland, Sheen, 2005).

Відомо, що в умовах симульованої гравітації посилюється гідроліз полімерних форм вуглеводів, передусім, крохмалю (Musgrave et al., 2005). У досліджуваних видів мохів також виявлено певні закономірності спрямування вуглеводного обміну. У протонемі гравічутливого виду *Ceratodon purpureus* визначено 101,5–142,9 мкг/г.с.м. крохмалю, що становило 4,5–6,4 % від загального вмісту вуглеводів у рослинному матеріалі. У темряві в умовах гравістимуляції зафіксовано підвищення вмісту полісахариду, в середньому, на 30%, що, очевидно, зумовлено процесами зворотної трансформації хлоропластів в амілопласти, які виконують ключову роль у рецепції гравітації. Під час кліноостатування кількість крохмалю у клітинах протонемі зберігалася на рівні контролю.

У протонемі *Weissia tortilis* вміст крохмалю становив 3,1–5,4 % у загальному пулі карбогідратів. В умовах гравістимуляції зміни щодо нагромадження крохмалю були менше

виражені, ніж у клітинах *Ceratodon purpureus*: відзначено підвищення вмісту полісахариду на 13%, порівняно з контролем, тоді як в умовах кліноостатування відбувався гідроліз крохмалю (його концентрація зменшувалася майже в 1,8 разів).

Враховуючи, що кінцевими продуктами гідролізу крохмалю є низькомолекулярні вуглеводи, досліджено вплив зміненої гравітації на вміст розчинних цукрів і моноцукрів. Вміст водорозчинних вуглеводів у протонемі *Ceratodon purpureus* становив 12,7–37,3 % від загального вмісту вуглеводів, а у *Weissia tortilis* – 18,2–25,5 %. В умовах кліноостатування зафіксовано збільшення їх вмісту в 1,3–1,5 разів у протонемі обох видів, що може свідчити про те, що ранні реакції мохів на порушення векторної направленості сили тяжіння подібні до впливу на рослинні організми інших абіотичних чинників, оскільки вуглеводний обмін у стресових умовах змінювався в бік накопичення розчинних цукрів, які можуть бути задіяні у реакціях нейтралізації вільних радикалів (Карпец, Колупаєв, 2009; Rolland, Sheen, 2005). Під час росту протонемі у темряві та гравістимуляції у протонемі *Ceratodon purpureus* визначено суттєве зменшення пулу водорозчинних вуглеводів (майже удвічі), що корелювало із накопиченням крохмалю у таких умовах. У *Weissia tortilis* також відзначено зниження вмісту розчинних вуглеводів, однак воно було менше виражене, ніж у *Ceratodon purpureus*.

Аналогічна тенденція виявлена й щодо вмісту моноцукрів у протонемі досліджуваних видів мохів. Їх кількість також збільшувалася в умовах впливу зміненої сили тяжіння, хоча частка моноцукрів у сумарному пулі розчинних вуглеводів у *C. purpureus* становила 20,1–24,1 %, а в протонемі *Weissia tortilis* – 13,5–19,2%. Можна припустити, що у клітинах бріофітів у складі розчинних вуглеводів переважають дисахариди, оскільки відомо, що нагромадження дисахаридів (насамперед, сахарози) у клітинах мохів чітко корелює зі стійкістю до різноманітних абіотичних стресів (Phillips et al., 2002; Glime, 2007).

Проаналізовано активність α - і β -амілаз, які каталізують гідроліз крохмалю. Виявлено, що α -амілазна активність у 3–5 разів перевищувала активність β -амілази, що свідчить про ключову роль цього ферменту у деградації крохмалю у клітинах мохів (рис. 6). Активність α -амілази відрізнялася у досліджуваних видів мохів: у протонемі *Ceratodon purpureus* становила 1,83–3,42 мкг гідролізованого крохмалю/хв/мг білка, у *Weissia tortilis* – 2,35–4,15 мкг гідролізованого крохмалю/хв/мг білка.

Активність ферменту суттєво залежала від умов експерименту. У темряві під час гравістимуляції активність ферменту була найнижчою в обох видів унаслідок нагромадження крохмалю. На світлі у протонемі контрольних зразків відбувалася утилізація крохмалю і,

відповідно, активація амілазної активності. Більш вираженою (у 2,7 разів) була різниця в активності ферменту між протоневою контролю та темною гравічутливою протоневою у *Ceratodon purpureus*, що корелювало із вмістом крохмалю у цих експериментальних варіантах. У протонемі *Weissia tortilis* різниця між контрольною та гравістимульованою протоневою була незначною (2,84 мкг гідролізованого крохмалю/хв/мг білка та 2,35 мкг гідролізованого крохмалю/хв/мг білка відповідно), що, очевидно, зумовлене низькою гравічутливістю дендроїдної хлоронемі цього виду та менше вираженою модуляцією пластид. Водночас, у протонемі *Weissia tortilis* активність α -амілази була найвищою в умовах кліностаування – 4,15 мкг гідролізованого крохмалю/хв/мг білка, що свідчило про посилення гідролізу полісахаридів, як захисної реакції за впливу зміненої сили тяжіння.

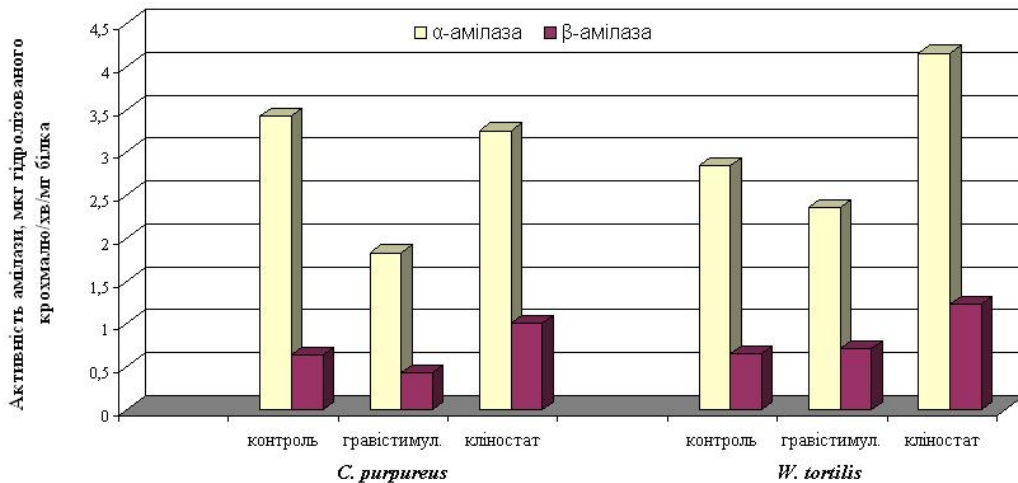


Рис. 6. Активність α - і β -амілаз у пагонах мохів *Ceratodon purpureus* і *Weissia tortilis*

Загалом, можна підсумувати, що спрямованість метаболізму вуглеводів у протонемі мохів тісно пов'язана з їх гравічутливістю. У гравічутливого виду *Ceratodon purpureus* відзначено нагромадження крохмалю у темряві під час гравістимуляції та інтенсивну його утилізацію на світлі. Редукція крохмалю прямо корелювала із зростанням рівня α -амілазної активності. Водночас, в умовах гравістимуляції протонемі *Weissia tortilis* з низькою гравічутливістю на хлоронемній стадії (дендроїдів) зміни щодо нагромадження крохмалю були менше виражені.

За впливу симульованої мікрогравітації метаболізм карбогідратів відбувався у бік гідролізу полісахаридів та накопичення розчинних вуглеводів і є свідченням їх участі у реакціях нейтралізації вільних радикалів, що генерують під час порушень векторної направленості гравітації.

Висновки

Встановлено залежність між стійкістю аридного моху *Weissia tortilis* до УФ-опромінення, морфологічною структурою дернини та гравітропізмом, що визначається приуроченістю виду в екстремальних умовах водозабезпечення і сонячної радіації.

Зміна векторної направленості сили тяжіння впливає на спрямованість метаболізму вуглеводів, які задіяні на різних рівнях трансдукції гравісигналу у клітинах протонеми *Weissia tortilis* і *Ceratodon purpureus* та можуть забезпечувати контроль за вмістом АФК.

Гравітація як ключовий екологічний фактор стимулює модифікаційні екотипні зміни в онтогенезі мохів та клітинні системи захисту, що підвищують резистентність і можливість виживання рослин у стресових умовах сонячного випромінювання та водного дефіциту.

Список літератури

Гродзинский Д.М. Адаптивная стратегия физиологических процессов растений. Наукова думка, Киев. – 2013. – 310 с.

Демків О.Т., Хоркавців Я.Д., Пундяк О.І. Гравітація як формотворчий фактор розвитку мохів / Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. – 2009, Т. 2. – С.403–410.

Иванов В.Б. Активные красители в биологии. Изд-во: Наука, Москва. – 1982. –С .204.

Кардаш О.Р., Хоркавців Я.Д., Демків Л.О. Ріст і морфогенез *Weissia tortilis* (Schwaegr.) C. Müll. з різних місцезростань // Укр. ботан. журн. – 1988. – Т.45. – №2. – С.17–21.

Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е. Ответ растения на гипертермию: молекулярно-клеточные процессы // Вісник Харківського національного аграрного ун-ту. Серія Біологія. 2009. Вип. 1. С. 19–39.

Кияк Н.Я. Вплив фенольних сполук на фізіолого-біохімічні показники у пагонах водного моху *Fontinalis antiperitica* Hedw. // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2005. – №3. – С.81-87.

Кияк Н.Я., Хоркавців Я.Д. Оцінка окиснювального стресу моху *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. залежно від впливу гравітації // Косм. наука і технол. – 2016. – Т. 22, № 4. С. 58-66.

Лазаренко А.С. Экспериментальное исследование по морфогенезу мхов // Иконф. По спорным раст. Украины: Тез. докл. – Киев: Наук. думка, 1971. – С. 9–13.

Лобачевська О.В., Хоркавців Я.Д. Гравічутливість в онтогенезі мохів // Косм. наука і технол. – 2014. – 20, 5(90). – С. 55–61.

Практикум по агрохимии: Учеб. пособие. 2-е изд., перераб. и доп. / Под ред. В.Г.Минеева. М.: Изд-во МГУ, 2001. 689 с.

Хоркавців Я.Д., Кордюм Л., Лобачевська В., Кияк Н.Я., Кіт Н.А. Галуження протонеми *Ceratodon purpureus* в умовах зміненої сили тяжіння // Т. 72, № 6. – С.588-595.

Brown C.S., Tipathy V.C., Stutte G.W. Photosynthesis and carbohydrate metabolism in microgravity. In: Plants in Space Biology. / Ed. by Suge H. Tohoku University Press, Sendai, Japan, 1996. – P. 127–134.

Chaban Ch.I., Kern V.D., Ripetsky R.T., Demkiv O.T., Sack F. Gravitropism in caulonemata of the moss *Pottia intermedia* // J. of Bryology. – 1998. – 20. – P. 287–299.

Chazotte B. Labeling Nuclear DNA Using DAPI // Cold Spring Harbor Protocols. – 2011. – pp. 83–86.

Cove D., Benzanilla M., Harries P., Quatrano R. Mosses as model systems for the study of metabolism and development // Annu.Rev.Plant Biol. – 2006. –57. – P. 497–520.

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.bryoecol.mtu.edu/> (15.08.2015).

Greenwood J.L., Stark L.R. Rate of drying determines extent of desiccation tolerance in *Physomitrella patens* // Functional Plant Biology. 2014. – Vol. 41. P. 460–467.

Hasenstein K.H. Radiation effects on Brassica seeds and seedlings // 41st Cospar Scientific Assembly, abstract. – 2016. – p. 244.

Kordyum E.L. Plant cell gravisensitivity and adaptation to microgravity // Plant Biology. – 2014. – 16 (1). – P. 79–90.

Mouliа 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.

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. – Vol. 210. P. 400–406.

Phillips J., Oliver M., Bartels D. Molecular genetics of desiccation-tolerant systems. In: M. Black and H.W. Pritchard (eds.). Desiccation and survival in plants: Drying without dying. Wallingford: CABI Publishing, 2002. P. 319–341.

Sadasivam S., Manickam A. Biochemical methods. New Delhi: New Age International, 2007. 284 pp.

Smirnoff N. Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. In: Smirnoff, N. (ed.). *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, 2005. P. 53–86.

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. – Vol. 224. – P. 1038–1049.

Xiao Z., Storms R., Tzang A.A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities // *Anal. Biochem.* — 2006. — V. 351, N 1. — P. 146–148.

Yatagai F., Honma M., Dohmae N. et al. Biological effect of Space environmental factors: A possible interaction between space radiation and microgravity // *Life Sciences in Space Reseach*. – 2018, in press

Список публікації за звітний період

1. Кияк Н.Я. Стан аскорбатної системи у пагонах моху *Bryum argenteum* Hedw. В умовах симульованої мікрогравітації. // 18-а українська конференція з космічних досліджень: тези доповідей конференції (Київ, 18 – 20 вересня 2018 р.). – Київ, 2018. – С. 76.

2. Кіт Н.А. Чутливість гаплоїдних і диплоїдних апоспоричних конів *Tortula modica* R.H. Zander до гравітації. // Там само. – С. 75.

3. Лобачевська О.В. Гравітропізми в онтогенезі мохів. Там само. – С. 79.

4. Хоркавців Я.Д., Лобачевська О.В., Кияк Н.Я. Гравітропізми як прояв екологічної та репродуктивної пластичності мохів. Там же. – С. 84.

5. Lobachevska O.V., Khorkavtsiv Ya.D., Kyiak N.Ya., Kordyum E.L. Adaptive role of gravidependent morphological variability in mosses. // 34th Annual Meeting of the American Society for gravitational Space Research: Abstracts, MD USA, Bethesda, October–November, 2018. – P. 148-152.

Науковий керівник роботи, зав. відділу
екоморфогенезу рослин
Інституту екології Карпат НАНУ, к.б.н.



О.В. Лобачевська