

РОЛЬ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ АНТИОКСИДАНТІВ В АДАПТАЦІЇ МОХУ *BRYUM CAESPITICIMUM* HEDW. ДО ЕКОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ НА ДЕВАСТОВАНИХ ТЕРИТОРІЯХ ВИДОБУТКУ СІРКИ

НАТАЛІЯ ЯРОСЛАВІВНА КИЯК

ОКСАНА ЛЬВІВНА БАЇК

Кияк Н.Я., Баїк О.Л. Роль низькомолекулярних антиоксидантів в адаптації моху *Bryum caespiticium* Hedw. до екологічних факторів на девастованих територіях видобутку сірки // Наукові основи збереження біотичної різноманітності. – 2018. – Том 9(16), № 1. – С. 137-148. – ISSN 2220-3087.

Досліджено сезонні зміни низькомолекулярних антиоксидантів (аскорбату, глутатіону, фенольних сполук і каротиноїдів) у пагонах моху *Bryum caespiticium* Hedw. на території відвалу видобутку сірки. Встановлено, що в оптимальних мікрокліматичних умовах рівновага між компонентами глутатіон-аскорбатного циклу в клітинах моху зміщена в бік накопичення аскорбінової кислоти і відновленого глутатіону, що свідчить про резервні властивості антиоксидантної системи моху. У літні місяці зафіксовано зміни у співвідношенні компонентів аскорбатного циклу. Спостерігали зменшення вмісту аскорбату та збільшення кількості дегідроаскорбінової кислоти в 1,5-2 рази, що свідчило про посилення окиснювальних процесів у клітинах мохів. У таких умовах істотно накопичувалася дикетогулонова кислота, що є результатом інтенсивного використання пулу аскорбату на ліквідацію наслідків негативного впливу факторів середовища. Уміст компонентів аскорбатзалежної системи також залежав від місцезнаходження рослин на схилах відвалу, насамперед у літній період, оскільки виявлено тенденцію зниження вмісту аскорбату та збільшення кількості її дегідроформ від основи до вершини відвалу. Показано, що співвідношення відновлених і окислених форм аскорбату та глутатіону є важливим показником окисно-відновленого статусу клітин моху та біомаркером фізіологічного стану рослинного організму в умовах інсоляційного й температурного стресу. У моху *B. caespiticium* встановлено індукцію синтезу фенолів, флавоноїдів, антоціанів і каротиноїдів, які беруть участь у формуванні стрес-толерантності до оксидативного стресу, викликаючи сигналінг для експресії захисних генів. З огляду на антиоксидантні властивості фенольних сполук і речовин терпеноїдної природи, можна допустити їх роль у нейтралізації активних форм кисню в умовах оксидативного стресу на посттехногенних територіях. Імовірно, посилений синтез фенольних сполук у моху *B. caespiticium* генетично зумовлений і є необхідною умовою виживання в умовах абіотичних стресів.

Ключові слова: мохи, аскорбінова, дегідроаскорбінова, дикетогулонова кислоти, глутатіон, феноли, флавоноїди, антоціани, каротиноїди, сезонна динаміка

У рослин адаптація до різноманітних стресових чинників забезпечується численними фізіолого-біохімічними механізмами. Під час стресу відбувається перебудова метаболічних і фізіологічних процесів, синтез біологічно активних речовин, що допомагають подолати стресовий вплив. Захист від оксидативного стресу у рослин забезпечує антиоксидантна система, що складається з ферментів (каталази, супероксиддисмутази, пероксидази, ферментів аскорбат-глу-

татіонового циклу тощо) та низькомолекулярних антиоксидантів (аскорбату, глутатіону, поліфенолів, каротиноїдів, токоферолів та ін.), які можуть або неензиматично знешкоджувати активні форми кисню (АФК), або виконувати роль субстратів для антиоксидантних ферментів (Helena, Calvalho, 2008; Обозный и др., 2012).

Ключову роль в антиоксидантній системі рослин відіграють аскорбінова кислота та глутатіон, які безпосередньо взаємодіють з активними формами кисню, а також беруть участь у відновленні інших низькомолекулярних антиоксидантів шляхом неферментативних і ферментативних реакцій (Чупахіна, 1997; Шорнинг и др., 1999; Ahmad et al., 2010; Foyer, Noctor, 2011). Глутатіоно-аскорбатний цикл є основним механізмом усунення надлишку пероксиду водню в клітинах. Його компоненти локалізовані в плазматичній мембрані та більшості клітинних органел (хлоропласти, мітохондрії, пероксисоми, гліоксисоми) (Smirnoff, 2000). Сучасні дослідження спрямовані на визначення аскорбату та глутатіону як біохімічних індикаторів стану навколишнього середовища, а також як біомаркерів фізіологічного стану рослин у стресових умовах (Smirnoff, 2005; Basile et al., 2013).

Однією з особливостей формування стійкості рослин до абіотичних факторів є здатність до синтезу вторинних метаболітів, до яких належать фенольні сполуки (ФС). Вони беруть участь у різних фізіологічних процесах: регуляції фотосинтезу й дихання, захисних реакціях за дії екстремальних температур та інших стресових чинників. Відомо, що ФС протидіють оксидативному стресу: знешкоджують АФК, підтримують внутрішнє середовище клітин у відновленому стані та позитивно впливають на активність антиоксидантних ферментів (Helena, Calvalho, 2008). Антиоксидантні властивості фенолів зумовлені їх високою донорною здатністю і здатністю їх радикалів стабілізувати та делокалізувати неспарений електрон, що зупиняє ланцюгові реакції. Тобто, пристосування рослин до зміни екологічних факторів забезпечується функціонуванням низькомолекулярних компонентів антиоксидантної системи.

У цьому аспекті унікальним об'єктом для досліджень є девастовані території Новояворівського державного гірничо-хімічного підприємства (ДГХП) "Сірка" з контрастними кліматичними умовами (нестабільним водним та температурним режимами, високою інсоляцією). Мохоподібні одними з перших поселилися на субстратах відвалів і поступово сформували рясні, багатовидові обростання, тому важливим є пізнання особливостей їх адаптивної стратегії в несприятливих мікрокліматичних умовах.

У зв'язку з тим, метою роботи було дослідити сезонні зміни вмісту низькомолекулярних компонентів антиоксидантної системи (аскорбату, глутатіону, фенольних сполук та каротиноїдів) у пагонах моху *Bryum caespiticium* Hedw. залежно від інтенсивності світла й температури на території відвалу видобутку сірки.

Матеріали та методика досліджень

На території відвалу № 1 Язівського сірчаного родовища, підпорядкованого ДГХП “Сірка”, для досліджень було відібрано домінуючий вид моху *Bryum caespiticium* Hedw. Для аналізу зразки моху збирали на різних трансектах відвалу північної експозиції (основа, плато, схил і вершина) упродовж вегетаційного сезону.

Інтенсивність освітлення на дослідних ділянках визначали за допомогою люксметра Ю116.

У свіжозібраному рослинному матеріалі визначали вміст аскорбінової (АК), дегідроаскорбінової (ДАК) та дикетогулонової кислот (ДКГК) за методом Г.М. Чупахіної, що базується на використанні 2,4-динітрофенілгідразину (Чупахина, 2000). Вміст АК, ДАК, ДКГК розраховували за різницею поглинання за довжини хвилі 520 нм на спектрофотометрі Specord 210 Plus і виражали в мкг/г маси сухої речовини. Уміст відновленого та окисленого глутатіону оцінювали спектрофотометрично із застосуванням 5,5-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти (Yenne, Hatzios, 1990). Проби фотометрували за довжини хвилі 412 нм протягом 4 хв. Уміст відновленого та окисленого глутатіону виражали в мкМ НАДФН₂ на 1 г маси сухої речовини.

Сумарний уміст фенолів визначали спектрофотометричним методом за довжини хвилі 765 нм із використанням реактиву Фоліна-Деніса й калібрувальної залежності за хлорогеновою кислотою (Anahita et al., 2015).

Визначення вмісту антоціанів здійснювали спектрофотометрично за модифікованим методом А. Бегса і С. Велмана за довжини хвилі 530 нм (Ніколайчук та ін., 2000). Уміст каротиноїдів визначали за методом О. Арнона (Arnon, 1949). Концентрацію білка у зразках визначали за методом М. Бредфорда (Bredford, 1976).

Усі досліди повторювали тричі, одержані цифрові результати опрацьовували статистично (Плохинский, 1970).

Результати досліджень та їх обговорення

Відомо, що в клітинах рослин присутні всі три компоненти аскорбатної системи – АК, ДАК, ДКГК. За фізіологічних умов рівновага між ними сильно зміщена в бік АК (Духовский и др., 2003). Однак, внутрішньоклітинний пул аскорбату може зменшуватися внаслідок його окиснення до дегідроаскорбінової кислоти. Остання дегідроаскорбатредуктазою відновлюється до аскорбінової кислоти або піддається незворотній гідролітичній дециклізації з утворенням 2,3-дикетогулонової кислоти (Чупахина, 1997). Досліджували вміст компонентів аскорбатної системи в пагонах моху *B. caespiticium* залежно від інтенсивності світла й температури на території відвалу видобутку сірки та виявили чітку сезонну динаміку їх розподілу. Максимальну кількість АК визначали у весняний період, що, імовірно, пояснюється сприятливими гідротермічними умовами середовища, які створювалися за середньомісячної температури пові-

тря +14,2-+17,9 °С і поверхні субстрату +13,5-+22,4 °С та інтенсивності світла 70-80 тис. лк. Для *B. caespiticium* уміст АК становив 316,8-348,9 мкг/г маси с.р., уміст ДАК та ДКГК був досить низьким (табл. 1, рис. 1). Тобто, у сприятливих умовах у клітинах моху рівновага між компонентами аскорбатного циклу зміщена до АК і цей стан характеризує резервні можливості антиоксидантної системи мохів, її потенційну здатність стабілізувати прооксидантно-антиоксидантну рівновагу в стресових умовах.

У літні місяці, коли середньомісячна температура становила +22,6-+23,2 °С, поверхня субстрату на схилах відвалу прогрівалася до +37,5 °С, на вершині – до +40,5 °С, а інтенсивність світла підвищувалася до 100-110 тис. лк, зафіксовано зміни у співвідношенні компонентів аскорбатного циклу. Спостерігали зменшення вмісту АК до 111,7 мкг/ г маси с.р., натомість, відзначено збільшення кількості ДАК у 1,5 рази, що свідчило про посилення окиснювальних процесів у клітинах моху.

Таблиця 1.

Сезонна динаміка вмісту аскорбінової та дегідроаскорбінової кислот у пагонах моху *Bryum caespiticium* Hedw., мкг/г маси сухої речовини

Місце збору зразків мохів	квітень-травень			липень-серпень			вересень-жовтень		
	АК	ДАК	АК/ДАК	АК	ДАК	АК/ДАК	АК	ДАК	АК/ДАК
вершина	316,8±22	102,8±9	3,1	111,7±9	189,2±33	0,6	181,3±13	113,9±9	1,6
схил	348,9±31	117,8±10	2,9	142,7±8	207,8±8	0,7	140,2±12	141,3±11	1,0

У таких умовах істотно накопичувалася ДКГК. Тому значне збільшення її вмісту в спекотні літні місяці – результат інтенсивного використання пулу АК на ліквідацію наслідків негативного впливу факторів середовища. Максимальні показники вмісту ДКГК визначали в пагонах *B. caespiticium* на вершині відвалу (202,7 мкг/г маси с.р.), де найменше сприятливі умови для росту рослин (рис. 1).

Уміст компонентів аскорбатзалежної системи також залежав і від місцезнаходження рослин на території відвалу, насамперед у літній період, оскільки простежувалася тенденція до зниження вмісту АК та збільшення кількості її дегідроформ на вершині відвалу.

Співвідношення АК/ДАК у клітинах мохів також є важливим параметром їх окисно-відновного статусу. Упродовж вегетаційного періоду цей показник змінювався в широких межах 0,6-3,1 і свідчив про фізіологічний стан рослинного організму залежно від мікрокліматичних умов: більша величина АК/ДАК була результатом високої інтенсивності процесів життєдіяльності мохів у сприятливих умовах середовища, а її зниження відбувалося внаслідок нагромадження дегідроформ аскорбату в клітинах і, відповідно, наростання окиснювальних процесів. Можливо, це зумовлене тим, що співвідношення АК/ДАК у

клітинах рослин має значний вплив на процеси дихання, оскільки ДАК інгібує активність дегідрогеназ, пригнічує інтенсивність відновлювальних процесів, утворення макроергічних зв'язків (Smirnoff, 2000). Тому підвищення величини АК/ДАК за рахунок зменшення вмісту ДАК супроводжувалося посиленням дихання і росту рослинних клітин. У наших досліджах мінімальні значення величини АК/ДАК були зафіксовані в пагонах *B. caespiticium* на території відвалу в серпні, що було свідченням того, що рослини перебували в стані пригнічення процесів життєдіяльності.

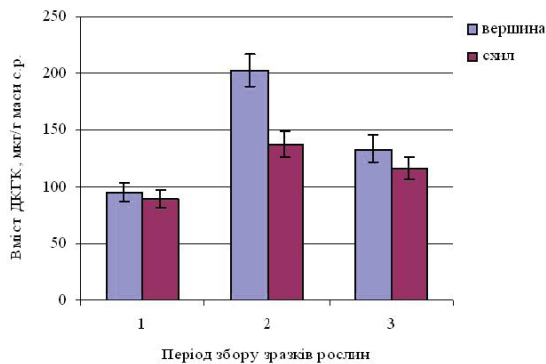


Рис. 1. Сезонні зміни вмісту дикетоглулонової кислоти в пагонах моху *Bryum caespiticium* Hedw. Умовні позначення: 1 – квітень-травень; 2 – липень-серпень; 3 – вересень-жовтень.

Таким чином, визначено узгодженість функціонування аскорбатзалежної антиоксидантної системи, що стабілізує прооксидантно-антиоксидантну рівновагу в клітинах мохів у мінливих екологічних умовах навколишнього середовища.

Експериментально доведено, що стійкість мохів до абіотичних стресових чинників чітко корелює з високим умістом глутатіону в клітинах, а зміни в його концентрації можуть впливати на регуляцію генів, пов'язаних із стрес-толерантністю бріофітів (Foyer et al., 1997; Rouhier et al., 2008). Досліджували вміст відновленого (GSH) та окисленого (GSSG) глутатіону в пагонах *B. caespiticium* залежно від мікрокліматичних умов на території відвалу сірчаного видобутку. Виявлено зміни в їх співвідношенні протягом вегетаційного сезону. У весняні місяці за сприятливого водного та температурного режимів відзначено максимум умісту GSH та найнижчий уміст його окисленої форми (табл. 2). У літній період зафіксовано зменшення вмісту GSH майже вдвічі до 210,0 мкмоль НАДФН₂/г маси с.р., насамперед, у рослинах *B. caespiticium* із вершини відвалу й істотне збільшення вмісту окисленої форми. Зменшення пулу відновленого глутатіону свідчило про його інтенсивне використання для інгібування вільнорадикальних реакцій за несприятливих мікрокліматичних умов.

Оцінено співвідношення GSH/GSSG, що є індикатором окисно-відновного стану клітин у стресових умовах. Навесні та восени цей показник був у межах 2,8-4,2, у літні місяці знижувався до 1,4-1,9 унаслідок значної активації окиснювальних процесів. Отже, динаміка вмісту GSH у клітинах мохів упродовж вегетаційного сезону свідчить, що стійкість мохів до несприятливих умов корелює з рівнем низькомолекулярного антиоксиданту глутатіону в клітинах.

Таблиця 2.

Сезонна динаміка вмісту глутатіону відновленого та окисленого в пагонах моху *Bryum caespiticium* Hedw., мкмоль НАДФН₂/г маси сухої речовини

Місце збору зразків мохів	квітень-травень		липень-серпень		вересень-жовтень	
	$\frac{GSH}{GSSG}$	GSH/GSSG	$\frac{GSH}{GSSG}$	GSH/GSSG	$\frac{GSH}{GSSG}$	GSH/GSSG
вершина	$\frac{453,7 \pm 41,4}{108,3 \pm 9,1}$	4,2	$\frac{210,0 \pm 19,4}{154,2 \pm 14,3}$	1,4	$\frac{223,0 \pm 9,4}{71,0 \pm 5,8}$	3,1
схил	$\frac{443,2 \pm 39,8}{121,2 \pm 9,8}$	3,7	$\frac{283,6 \pm 24,8}{148,4 \pm 12,7}$	1,9	$\frac{318,7 \pm 26,1}{112,5 \pm 12,1}$	2,8

До неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту належать сполуки фенольної природи, які виконують важливу роль у підвищенні стійкості рослин до несприятливих умов (Dai, Mumper, 2010; Гащишин та ін., 2012). Індукція синтезу цих сполук спостерігається у відповідь на вплив патогенів, механічного пошкодження, УФ-випромінювання, високої інтенсивності освітлення та температурного стресу (Rivero et al., 2001). Низькомолекулярні феноли здатні функціонувати як антиоксиданти, зокрема діяти як скавенджери вільних радикалів і активних форм кисню, а також бути донором електронів для гваякол-пероксидаз (Michalak, 2006).

У наших дослідках встановлено збільшення вмісту фенолів у зразках моху *B. caespiticium* у літній період за несприятливого водного та температурного режимів, причому простежувалася тенденція до збільшення їх вмісту від основи до вершини відвалу. Наприклад, уміст цих сполук у рослинах із вершини становив $3,59 \pm 0,04$ мг/г с.м., зі схилу – $2,91 \pm 0,05$ мг/г с.м., а з основи – $2,06 \pm 0,05$ мг/г с.м. Восени за нижчих температур (10-15 °C) та інтенсивності освітлення 70-80 тис. лк уміст фенолів зменшувався майже вдвічі на всіх дослідних трансектах (рис. 2). Отже, активація синтезу фенольних сполук у пагонах моху *B. caespiticium* за несприятливих мікрокліматичних умов свідчить, що вони є важливим компонентом адаптивної відповіді рослин на стрес.

Важливими компонентами фенольної природи, які володіють антиоксидантними властивостями є флавоноїди. Показано, що вплив високої інтенсивності світла індукує синтез та наступну акумуляцію УФ-абсорбуючих флавоноїдів (Cushnie, Lamb, 2005). У наших дослідженнях виявлено, що вліт-

ку за високої інтенсивності освітлення та підвищених температур простежувалася тенденція до значного збільшення вмісту цих сполук у пагонах моху з вершини відвалу. Наприклад, в основі відвалу вміст флавоноїдів становив $14,51 \pm 0,21$ мг/г с.м, тоді як у рослинах із вершини визначено $19,56 \pm 0,21$ мг/г с.м. цих сполук (рис. 3). В осінній період у відповідь на зниження температур також відбувався інтенсивний синтез флавоноїдів, що, очевидно, було зумовлене підвищенням стійкості клітин до зниження температур, оскільки вуглеводні залишки флавоноїдів, аналогічно крохмалю, затримують кристалізацію води, а їхні гідроксильні групи можуть формувати водневі зв'язки з молекулами води (Dai, Mumper, 2010). Тобто, на основі отриманих результатів щодо вмісту флавоноїдів показано взаємозв'язок між умістом цих фенольних сполук і негативним впливом несприятливих екологічних факторів на рослини. У відповідь на високу інсоляцію влітку та зниження температур в осінній період спостерігалася накопичення флавоноїдів, спрямоване на адаптацію моху *B. caespiticium*.

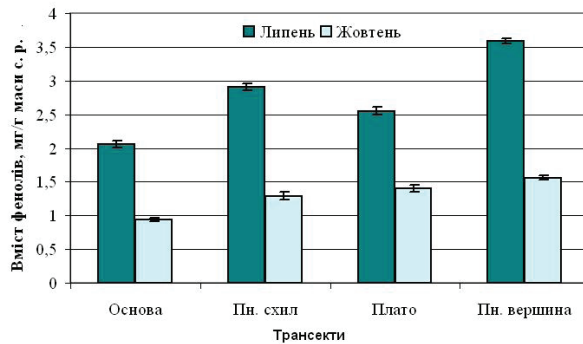


Рис. 2. Уміст фенолів у пагонах моху *Bryum caespiticium* Hedw. із різних місцевиростань відвалу видобутку сірки.

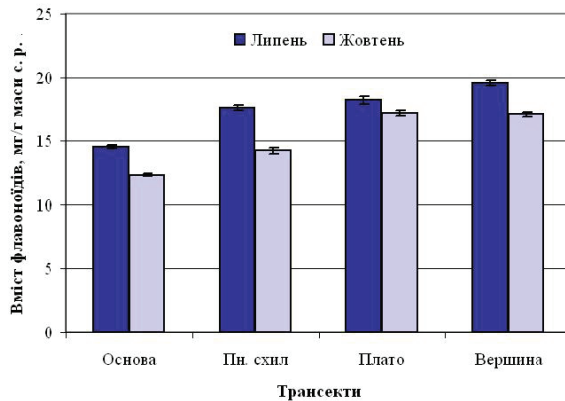


Рис. 3. Уміст флавоноїдів (мг/г сирої маси) у пагонах моху *Bryum caespiticium* Hedw. із різних місцевиростань на території відвалу видобутку сірки.

Окремою групою ФС, що мають виражені антиоксидантні властивості є антоціани, які є домінуючим компонентом фенольного комплексу. Вважають, що антоціани беруть участь у захисті мембран тилакоїдів в умовах стресу (Ahmad et al., 2010). Їх антиоксидантні властивості зумовлені високою донорною активністю і здатністю їхніх радикалів стабілізувати й делокалізувати неспарений електрон, що припиняє ланцюгові вільнорадикальні реакції (Neill et al., 2002).

Виявлено нагромадження антоціанів у пагонах *B. caespiticium* за умов підвищених температур та інтенсивності освітлення в літній період, особливо, на вершині ($9,44 \pm 0,24$ мг/г с.м) і схилі відвалу ($8,41 \pm 0,40$ мг/г с.м), порівняно з основою ($6,34 \pm 0,38$ мг/г с.м). Восени вміст антоціанів зменшувався в 1,2-1,3 рази на всіх дослідних трансектах, хоча тенденція збільшення їх умісту від основи до вершини зберігалася (табл. 3). Високий вміст антоціанів у відповідь на температурний стрес та високу інсоляцію свідчить про важливу роль цих сполук у подоланні оксидативного стресу в клітинах рослин.

Відзначено сезонну мінливість умісту каротиноїдів у пагонах *B. caespiticium* як компонентів пігментного комплексу та низькомолекулярних антиоксидантів терпеноїдної природи. Відомо, що в складі фотосистем ці пігменти не лише виконують роль додаткових світлозбиральних пігментів, а й захищають молекули хлорофілу від фотоокиснення в умовах високої інсоляції. Крім того, підвищення кількості каротиноїдів пов'язане з їх антиоксидантними властивостями, оскільки в хлоропластах вони знешкоджують синглетний кисень та інші вільні радикали (Foyer, Harbinson, 1999).

Таблиця 3.

Сезонна динаміка вмісту низькомолекулярних метаболітів у пагонах моху *Bryum caespiticium* Hedw., мг/г сирової маси

Дослідні трансекти	Антоціани		Каротиноїди	
	липень	жовтень	липень	жовтень
Основа	$6,34 \pm 0,38$	$5,96 \pm 0,30$	$0,41 \pm 0,05$	$0,38 \pm 0,02$
Пн. схил	$8,41 \pm 0,40$	$6,81 \pm 0,35$	$0,45 \pm 0,05$	$0,50 \pm 0,05$
Плато	$8,83 \pm 0,44$	$6,93 \pm 0,26$	$0,55 \pm 0,03$	$0,44 \pm 0,03$
Вершина	$9,44 \pm 0,24$	$7,83 \pm 0,21$	$0,73 \pm 0,02$	$0,61 \pm 0,05$

Встановлено збільшення вмісту каротиноїдів на всіх трансектах за високої інтенсивності освітлення та температури влітку й восени. Так, вміст каротиноїдів на вершині відвалу влітку становив $0,73 \pm 0,02$ мг/г с.м, а восени – $0,61 \pm 0,02$ мг/г с.м. (табл. 3). Таке підвищення вмісту каротиноїдів свідчить про розвиток захисних реакцій, що сприяють розсіюванню надлишкової світлової енергії та знешкоджують АФК. Найнижчим був вміст каротиноїдів у пагонах *B. caespiticium* в основі відвалу за більш оптимальних умов: влітку – $0,41 \pm 0,03$ мг/г с.м та восени – $0,38 \pm 0,05$ мг/г с.м.

Висновки

У відповідь на високу інтенсивність освітлення та температурний стрес у пагонах моху *B. caespiticium* виявлено індукцію синтезу низькомолекулярних антиоксидантів (аскорбату, глутатіону, фенольних сполук і каротиноїдів), які беруть участь у формуванні стрес-толерантності до оксидативного стресу.

Враховуючи антиоксидантні властивості фенольних сполук і речовин терпеноїдної природи (каротиноїдів), можна припустити їх роль у знешкодженні АФК в умовах оксидативного стресу. Очевидно, посилений синтез фенольних сполук у моху *B. caespiticium* є генетично зумовленим і необхідною умовою виживання в умовах абіотичного стресу.

Дослідження сезонних змін аскорбату, глутатіону та їх метаболітів в умовах водного дефіциту вказує на високу фізіолого-біохімічну пластичність *B. caespiticium* та узгодженість роботи низькомолекулярних компонентів антиоксидантного захисту, що забезпечує адаптацію рослин до широкого діапазону інтенсивності світла та нестабільного гідротермічного режиму й сприяє швидкій нормалізації метаболічних процесів у клітинах за сприятливих мікрокліматичних умов.

Співвідношення відновлених та окиснених форм аскорбату та глутатіону в клітинах мохів є важливим показником окисно-відновного статусу та біомаркером їх фізіологічного стану в стресових умовах.

-
- Гаццишин В.Р., Грохольська О.В., Пацула О.І., Терек О.І. Вплив іонів важких металів і регулятора росту трептолему на загальний вміст фенольних сполук у рослинах ріпаку та соняшнику // Біологічні Студії/Studia Biologica. – 2012. – 6, № 1. – С. 109-116.
- Духовский П., Юкнис Р., Бразайтите А., Жукаускайте И. Реакция растений на комплексное воздействие природных и антропогенных стрессоров // Физиология растений. – 2003. – 50, № 2. – С. 165-173.
- Ніколайчук В.І., Белчгазі В.Й., Блик П.П. Спецпрактикум з фізіології і біохімії рослин. – Ужгород, 2000. – 210 с.
- Обозный А.И., Колупаев Ю.Е., Швиденко Н.В., Вайнер А.А. Динамика активности антиоксидантных ферментов при кросс-адаптации проростков пшеницы к гипертермии и осмотическому шоку // Вісн. Харк. нац. аграрн. ун-ту. Серія: Біологія. – 2012. – 2, № 26. – С. 71-84.
- Плохинский Н.А. Биометрия. – Москва: Изд-во МГУ, 1970. – 367 с.
- Чупахина Г.Н. Система аскорбиновой кислоты. – Калининград: Изд-во Калининград. гос. ун-та, 1997. – 130 с.
- Чупахина Г. Н. Физиологические и биохимические методы анализа растений: практикум. – Калининград: Изд-во Калининград. гос. ун-та, 2000. – 59 с.
- Шорнинг Б.Ю., Полецук С.В., Горбатенко И.Ю., Ванюшин Б.Ф. Действие антиоксидантов на рост и развитие растений // Известия РАН. Сер. биол. – 1999. – № 1. – С. 30-38.
- AHMAD P., JALEEL C., SALEM M. Roles of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in plants during abiotic stress // Crit. Rev. Biotechnol. – 2010. – Vol. 30. – P. 161-175. doi:10.3109/07388550903524243.
- ANAHITA A., ASMAH R., FAUZIAH O. Evaluation of total phenolic content, total antioxidant activity, and antioxidant vitamin composition of pomegranate seed and juice // International Food

- Research Journal. – 2015. – Vol. 22, № 3. – P. 1212-1217.
- ARNON D. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris* // Plant physiol. – 1949. – № 24. – P. 1-15.
- BASILE A. S., SORBO B. C., GOLIA S. K., MONTANARI R. C., ESPOSITO S. R. Antioxidant activity in extracts from *Leptodictyum riparium* (Bryophyta), stressed by heavy metals, heat shock and salinity // Plant Biosyst. – 2013. – Vol. 145. – P 77-80.
- BREDFORD M. A simple method for protein test // Annal. Biochem. – 1976. – № 72. – P. 248-252.
- CUSHNIE T. P., LAMB A. J. Antimicrobial activity of flavonoids // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2005. – № 25. – P. 343-356.
- DAI J., MUMPER R. J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties // Molecules. – 2010. – Vol. 15. – P. 7313-7352.
- FOYER C.H., LOPEZ-DELGADO H., DAT J.F., SCOTT I.M. Hydrogen peroxide and glutathione associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling // Plant Physiol. – 1997. – Vol. 100. – P. 241-254.
- FOYER C.H., HARBINSON J. Relationships between antioxidant metabolism and carotenoids in the regulation of photosynthesis // The photochemistry of carotenoids / eds. Frank H.A., Young A.J., Cordell R.J. – Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1999. – P. 305-325.
- FOYER C., NOCTOR G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub // Plant Physiol. – 2011. – Vol. 155. – P. 2-18. doi: 10.1104/pp.110.167569.
- HELENA M., CALVALHO C. Drought stress and reactive oxygen species. Production, scavenging and signaling // Plant Signal Behav. – 2008. – Vol. 3. – P. 156-165.
- MICHALAK A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress // Polish Journ. of Environ. Stud. – 2006. – Vol. 15, № 4. – P. 523-530.
- NEILL S.G., GOULD K.S., KILMARTIN P.A. Antioxidant activities on red versus green leaves in *Elatostema rugosum* // Plant, cell and environment. – 2002. – Vol. 25. – P. 539-547.
- RIVERO R.M., RUIZ J.M., GARCIA P.C. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants // Plant Science. – 2001. – Vol. 160. – P. 315-321.
- ROUHIER N., LEMAIRE S.D., JACQUOT J.P. The role of glutathione in photosynthetic organisms: emerging functions for glutaredoxins and glutathionylation // Ann. Rev. Plant Biol. – 2008. – Vol. 59. – P. 143-166.
- SMIRNOFF N. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-facetted molecule // Curr. Opin. in Plant Biol. – 2000. – Vol. 3. – P. 229-235.
- SMIRNOFF N. Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions // Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plan / ed. Smirnoff N. – Oxford: Blackwell Publishing Ltd., 2005. – P. 53-86.
- YENNE SP., HATZIOS K. Influence of oxime ether on glutathione content and glutathione-related enzyme activity in seeds and seedlings of grain sorghum // Z. Naturforsch. – 1990. – Vol. 45. – P. 96-106.

РОЛЬ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В АДАПТАЦИИ МХА *BRYUM CAESPITICIMUM* HEDW. К ЭКОЛОГИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ НА ДЕВАСТИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ ДОБЫЧИ СЕРЫ

Н.Я. Кияк, О.Л. Баїк

Исследовано сезонные изменения низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбата, глутатиона, фенольных соединений и каротиноидов) в побегах мха *Bryum caespiticium* Hedw. на территории отвала добычи серы. Установлено, что в оптимальных микроклиматических условиях равновесие между компонентами глутатионо-аскорбатного цикла в клетках мха смещено в сторону нако-

пления аскорбиновой кислоты и восстановленного глутатиона, что свидетельствует о резервных свойствах антиоксидантной системы мха.

В летние месяцы зафиксировано изменения в соотношении компонентов аскорбатного цикла. Наблюдали уменьшение содержания аскорбата и увеличение количества дегидроаскорбиновой кислоты в 1,5-2 раза, что свидетельствовало об усилении окислительных процессов в клетках мхов. В таких условиях существенно накапливалась дикетогулоновая кислота, подтверждая интенсивное использование пула аскорбата на ликвидацию последствий негативного влияния факторов среды.

Содержание компонентов аскорбатной системы также зависело от местонахождения растений на склонах отвала, прежде всего в летний период, поскольку выявлена тенденция снижения содержания аскорбата и увеличение количества ее дегидроформ от основания до вершины отвала.

Выявлено, что соотношение восстановленных и окисленных форм аскорбата и глутатиона является важным показателем окислительно-восстановленного статуса клеток мха и биомаркером физиологического состояния растительного организма в условиях инсоляционного и температурного стресса.

Установлено индукцию синтеза низкомолекулярных метаболитов (общего содержания фенолов, флавоноидов, антоцианов и каротиноидов) у мха, которые принимают участие в формировании стресс-толерантности к оксидативному стрессу, вызывая сигналинг для экспрессии защитных генов. Учитывая антиоксидантные свойства фенольных соединений и веществ терпеноидной природы, можно допустить их важное значение в нейтрализации АФК в условиях оксидативного стресса на посттехногенных территориях. Вероятно, усиленный синтез фенольных соединений у мха *B. caespiticium* является генетически обусловленным и необходимым условием выживания при абиотическом стрессе

Ключевые слова: мхи, аскорбиновая, дегидроаскорбиновая, дикетогулоновая кислоты, глутатион, фенолы, флавоноиды, антоцианы, каротиноиды, сезонная динамика

ROLE OF THE LOW MOLECULAR WEIGHT ANTIOXIDANTS IN THE ADAPTATION OF MOSS *BRYUM CAESPITICUM* HEDW. TO ECOLOGICAL FACTORS ON THE DEVASTATED TERRITORIES OF SULFUR DEPOSITS

N. YA. KYVAK, O. L. BAIK

Seasonal changes of the low molecular weight antioxidants (ascorbic acid, glutathione, phenols, carotenoids) in shoots of the moss *Bryum caespiticium* Hedw. on the area of sulfur deposits dump were investigated.

It was established that under favourable microclimatic conditions in the moss cells an equilibrium between components of the glutathione-ascorbate cycle displaced to the accumulation of the ascorbic acid and reduced glutathione, that reveal reserve properties of the bryophytes antioxidative system.

In the summer months changes in the ratio of the ascorbate cycle components were established. It was indicated a decrease of the ascorbate content and an increase of the dehydroascorbic acid amount in 1.5-2 times, which indicate an intensification of the oxidative processes in moss cells. In such conditions, diketogulonic acid significantly accumulated as a result of the intensive using of the ascorbate pool for the elimination of the negative influence of the environmental factors.

The content of the ascorbate cycle components depended on the plants location on the dump slopes, especially in summer, because a tendency of decrease of the ascorbate content and increase of the amount of its dehydro forms from the base to the top of the dump was indicated.

It was showed that correlation between reduced and oxidized forms of the ascorbate and glutathione is the important indicator of moss cells redox status and biomarker of the physiological state of plant organism under the conditions of insolation and temperature stress.

It was established induction of low molecular weight metabolites (total phenols, flavonoids, anthocyanins) synthesis, which involved in stress-tolerance formation to the oxidative stress, causing signaling for the protective genes expression.

The seasonal variability of carotenoids content in the *B. caespiticium* shoots was noted. The increase of its content under influence of high intensity of the light and temperature was established.

Taking into account the antioxidant properties of phenolic compounds and substances of terpenoid

nature, we can assume their role in the reactive oxygen species detoxification under conditions of oxidative stress on the post-technogenic areas. Obviously, the enhanced synthesis of phenolic compounds in the moss *B. caespiticium* is genetically determined and necessary requirement for survival under abiotic stress conditions.

Key words: moss, ascorbic, dehydroascorbic and diketogulonic acids, glutathione, phenols, flavonoids, anthocyanins, carotenoids, seasonal dynamics

Надійшла 10.09.2018

Прийнята до друку 15.11.2018

Кияк Н.Я. Інститут екології Карпат НАН України, вул. Козельницька, 4, Львів, 79026, Україна; e-mail: ecomorphogenesis@gmail.com

КУУАК N. Institute of Ecology of the Carpathians NAS of Ukraine, 4 Kozelnytska St, Lviv, 79026, Ukraine; e-mail: ecomorphogenesis@gmail.com

Баїк О.Л. Інститут екології Карпат НАН України, вул. Козельницька, 4, Львів, 79026, Україна; e-mail: ecomorphogenesis@gmail.com

BAIK O. Institute of Ecology of the Carpathians NAS of Ukraine, 4 Kozelnytska St, Lviv, 79026, Ukraine; e-mail: ecomorphogenesis@gmail.com