

СЕЗОННІ ЗМІНИ ВМІСТУ КОМПОНЕНТІВ ГЛУТАТІОНО-АСКОРБАТНОГО ЦИКЛУ В МОХАХ НА ТЕРИТОРІЇ ВІДВАЛУ ВИДОБУТКУ СІРКИ

Н. Кияк

*Інститут екології Карпат НАН України
вул. Стефаника, 11, Львів 79000, Україна
e-mail: kyuak_n@i.ua*

Досліджено сезонні зміни вмісту аскорбінової кислоти, глутатіону та їх метаболітів у пагонах мохів *Bryum argenteum* Hedw. і *Bryum caespiticium* Hedw. на території відвалу видобутку сірки. Встановлено, що у сприятливих мікрокліматичних умовах рівновага між компонентами глутатіоно-аскорбатного циклу в клітинах мохів зміщена в бік нагромадження аскорбінової кислоти та відновленого глутатіону, що свідчить про резервні властивості антиоксидантної системи мохів. За несприятливого гідротермічного режиму виявлено зменшення вмісту низькомолекулярних антиоксидантів у рослинах і накопичення їх окиснених форм. Показано залежність вмісту аскорбату і глутатіону від видових особливостей мохів. Встановлено, що співвідношення відновлених і окиснених форм аскорбату та глутатіону є важливим показником окисно-відновного статусу клітин мохів і біомаркером фізіологічного стану рослинного організму в умовах водного й температурного стресу.

Ключові слова: аскорбінова, дегідроаскорбінова, дикетогулонова кислоти, глутатіон, сезонні зміни, мохи.

Загальним наслідком будь-якого стресового впливу на рослинний організм є продукція вільних радикалів. Фізіологічно нормальний рівень вільнорадикальних процесів у клітині забезпечується функціонуванням складної системи антиоксидантного захисту [1]. До її складу входять як низькомолекулярні антиоксиданти, так і ферментні системи. Ключову роль у рослинних клітинах відіграють аскорбінова кислота і глутатіон, які безпосередньо взаємодіють з активними формами кисню, а також беруть участь у відновленні інших низькомолекулярних антиоксидантів шляхом неферментативних і ферментативних реакцій [4, 6]. Глутатіоно-аскорбатний цикл є основним механізмом усунення надлишку пероксиду водню у клітинах. Його компоненти локалізовані у плазматичній мембрані та більшості клітинних органел, включаючи хлоропласти, мітохондрії, пероксисоми, гліоксисоми [11]. Зважаючи на важливість цих антиоксидантів, багато сучасних досліджень спрямовані на визначення аскорбату і глутатіону як біохімічних індикаторів стану навколишнього середовища, а також як біомаркерів фізіологічного стану рослин у стресових умовах [1, 8, 22].

Відомості про дію таких низькомолекулярних антиоксидантів на окиснювальний стрес у мохів досить обмежені. Наприклад, у листяного моху *Brachythecium velutinum* (Hedw.) Schimp. відзначено значно вищий вміст аскорбату в умовах водного дефіциту, порівняно з печіночником *Marchantia polymorpha* L. [17]. У толерантного до водного дефіциту виду *Tortula ruraliformis* (Besch.) Ingham висушування спричиняло зменшення пулу аскорбату, тоді як концентрація загального глутатіону в клітинах залишалася незмінною. Водночас поєднаний вплив високого рівня інсоляції та водного дефіциту призводив до значного зменшення вмісту обидвох антиоксидантів [20]. 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 (нестабільними водним і температурним режимами, високою інсоляцією). Мохоподібні одними з перших поселяються на субстратах відвалів, з часом утворюють рясні багатовидові обростання, тому важливим є пізнання особливостей їх адаптивної стратегії у несприятливих мікрокліматичних умовах.

У зв'язку з цим метою роботи було дослідити сезонні зміни вмісту компонентів глутатіоно-аскорбатного циклу в пагонах мохів *Bryum argenteum* Hedw. і *Bryum caespiticium* Hedw. залежно від інтенсивності світла й температури на території відвалу видобутку сірки.

Матеріали та методи

На території відвалу № 1 Язівського сірчаного родовища, підпорядкованого ДГХП „Сірка”, для досліджень були відібрані два домінуючі види: *Bryum argenteum* Hedw. та *Bryum caespiticium* Hedw. Для аналізу зразки мохів збирали на двох дослідних трансектах відвалу північної експозиції (схил і вершина) упродовж вегетаційного сезону.

У свіжозібраному рослинному матеріалі визначали вміст аскорбінової (АК), дегідроаскорбінової (ДАК) та дикетогулонової кислот (ДКГК) за методом Г.М. Чупахіної [5]. Метод ґрунтується на взаємодії 2,4-динітрофенілгідразину з ДАК і ДКГК з утворенням у середовищі зі сірчаною кислотою відповідних озонів, які дають червоне забарвлення. Наважку рослинного матеріалу розтирали в 5%-ній метафосфорній кислоті (1:10). Вміст АК, ДАК, ДКГК розраховували за різницею поглинання при 520 нм на спектрофотометрі Spereord 210 Plus і виражали у мкг/г маси сухої речовини.

Для визначення вмісту відновленого глутатіону рослинний матеріал гомогенізували в 5%-ній трихлороцтовій кислоті й центрифугували протягом 15 хв за 4000 g. Реакційна суміш містила ферментний препарат, 15 мМ ЕДТА, 0,02%-ний білок яєчного альбуміну, 0,3 мМ 5,5-дитіобіс (2-нітробензойну) кислоту, 50 мМ імідазол та 0,48 од. глутатіонредуктази. Реакцію ініціювали додаванням 0,9 мМ НАДФН₂. Для визначення вмісту окисленого глутатіону рослинний екстракт відновлювали 2 М-ним розчином борогідриду натрію. Вміст окисленого глутатіону визначали за різницею вмісту відновленого глутатіону, що утворився після реакції з борогідридом натрію і вмістом глутатіону, попередньо визначеним у цьому екстракті [25]. Проби фотометрували за довжини хвилі 412 нм протягом 4 хв. Вміст відновленого й окисленого глутатіону виражали в мкМ НАДФН₂ на 1 г маси сухої речовини. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорда [9].

Вміст вологи у мохових дернинах визначали ваговим методом і обчислювали у відсотках від маси абсолютно сухої речовини [2]. Інтенсивність освітлення на дослідних ділянках визначали за допомогою люксметра Ю116.

Усі досліді повторювали тричі, одержані цифрові результати опрацьовували статистично [3].

Результати і їхнє обговорення

Відомо, що в клітинах рослин наявні усі три компоненти аскорбатної системи – АК, ДАК, ДКГК. За фізіологічних умов рівновага між ними сильно зміщена в бік АК [1]. 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 [4]. Досліджували вміст компонентів аскорбатної системи у пагонах мохів *B. argenteum* і *B. caespiticium* залежно від інтенсивності світла й температури на території відвалу видобутку сірки та виявили чітку сезонну динаміку їх розподілу. У досліджуваних видів максимальну кількість АК визначали у весняний та осінній період,

що, ймовірно, пояснюється сприятливими гідротермічними умовами середовища, які створювалися за середньомісячної температури повітря $+14,2 \dots +17,9^{\circ}\text{C}$ і поверхні субстрату $+13,5 \dots +22,4^{\circ}\text{C}$ та інтенсивності світла 70–80 тис. лк. Для *B. argenteum* вміст АК становив 388,8–493,2 мкг/г маси с.р., для *B. caespitium* – 140,2–348,9 мкг/г маси с.р. Вміст ДАК і ДКГК був досить низьким у обох видів (111,7–228,1 мкг/г маси с.р. та 89,2–133,6 мкг/г маси с.р., відповідно) (табл. 1, рис. 1). Тобто в сприятливих умовах у клітинах мохів рівновага між компонентами аскорбатного циклу зміщена до АК і цей стан характеризує резервні можливості антиоксидантної системи мохів, її потенційну здатність стабілізувати прооксидантно-антиоксидантну рівновагу у стресових умовах.

У літні місяці, коли середньомісячна температура становила $+22,6 \dots +23,20^{\circ}\text{C}$, поверхня субстрату на схилах відвалу прогрівалася до $+37,5^{\circ}\text{C}$, на вершині – до $+40,5^{\circ}\text{C}$, а інтенсивність світла підвищувалася до 100–110 тис. лк, зафіксовано зміни у співвідношенні компонентів аскорбатного циклу. Спостерігали зменшення вмісту АК у обох видів до 111,7–329,8 мкг/г маси с.р., натомість, відзначено збільшення кількості ДАК у 1,5–2 рази, що свідчило про посилення окиснювальних процесів у клітинах мохів.

Таблиця 1

Сезонна динаміка вмісту аскорбінової та дегідроаскорбінової кислот у пагонах мохів, 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
<i>Bryum argenteum</i>									
Вершина	472,9±25,6	135,5±10,7	3,5	324,2±22,1	233,3±7,9	1,4	388,8±28,4	228,1±18,2	1,7
Схил	493,2±21,3	127,8±9,6	3,9	329,8±24,3	198,6±8,6	1,7	399,3±30,7	134,4±8,8	3,0
<i>Bryum caespitium</i>									
Вершина	316,8±22,1	102,8±9,7	3,1	111,7±9,6	189,2±33,5	0,6	181,3±13,6	113,9±9,7	1,6
Схил	348,9±31,6	117,8±10,6	2,9	142,7±13,2	207,8±8,7	0,7	140,2±12,6	141,3±11,8	1,0

У таких умовах істотно накопичувалася ДКГК, що є показником іншої спрямованості фізіологічних процесів, оскільки ДКГК є кінцевим продуктом у перетворенні аскорбату і не проявляє біологічної активності. Тому значне збільшення її вмісту у спекотні літні місяці – результат інтенсивного використання пулу АК на ліквідацію наслідків негативного впливу факторів середовища. Максимальні показники вмісту ДКГК визначали у пагонах мохів на вершині відвалу (202,7–343,9 мкг/г маси с.р.), де найменше сприятливі умови для росту рослин (рис. 1).

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

Співвідношення АК/ДАК у клітинах мохів також є важливим параметром їх окисно-відновного статусу. Упродовж вегетаційного періоду цей показник змінювався у широких межах 0,6–3,9 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 унаслідок нагромадження дегідроформ аскорбату в клітинах і, відповідно, наростання окиснювальних процесів. Можливо, це пояснюється 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 [21]. 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 у пагонах *B. argenteum* на вершині відвалу в серпні, а це було свідченням того, що рослини перебували у стані пригнічення процесів життєдіяльності.

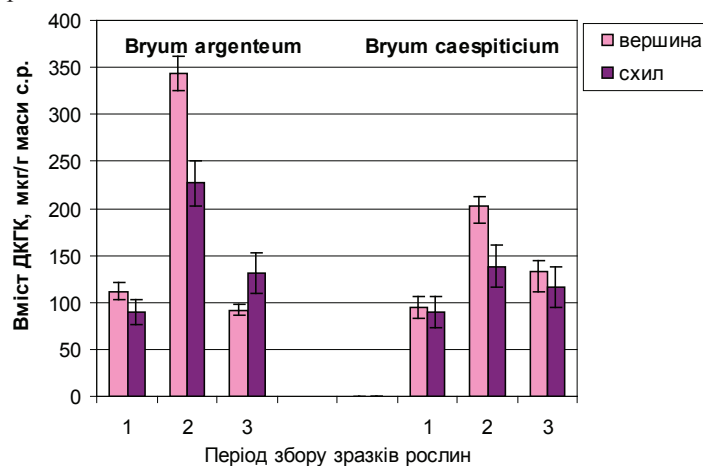


Рис. 1. Сезонні зміни вмісту дикетогулонової кислоти у пагонах мохів: 1 – квітень-травень; 2 – липень-серпень; 3 – вересень-жовтень.

Таким чином, визначено узгодженість функціонування аскорбатзалежної антиоксидантної системи, що стабілізує прооксидантно-антиоксидантну рівновагу в клітинах мохів у мінливих екологічних умовах навколишнього середовища. Одержані результати дають змогу зробити висновок, що співвідношення компонентів аскорбатного циклу в клітинах мохів може бути біомаркером фізіологічного стану рослинного організму в стресових умовах.

Одним із найважливіших наслідків впливу дефіциту вологи на організм мохів є генерація активних форм кисню (АФК), які спричиняють суттєві пошкодження у клітинах (інгібування роботи фотосистеми II, денатурація білків унаслідок окислення їх SH-груп, зниження вмісту пігментів, ліпопероксидація та нагромадження вільних жирних кислот у мембранах) [7, 16, 23]. Показано, що у клітинах мохів такі негативні ефекти значною мірою зменшувалися під час внесення у поживне середовище екзогенного відновленого глутатіону (G-SH) [20]. Експериментально доведено, що стійкість до водного дефіциту чітко корелює із високим вмістом глутатіону в клітинах мохів, а зміни у його концентрації можуть впливати на регуляцію генів, пов'язаних зі стрес-толерантністю бріофітів [13, 19]. Наприклад, у пагонах стійкого до водного дефіциту виду моху *Tortula ruralis* (Hedw.) F. Weber & D. Mohr під час висушування пул G-SH зменшувався більш ніж на 30%, пригнічуючи тим самим накопичення у клітинах АФК і зменшуючи окиснювальні процеси [11]. Аналіз глутатіонзалежної антиоксидантної системи у чутливого до водного дефіциту виду моху *Dicranella palustris* (Dicks.) Crundw. ex Warb. і толерантного – *Tortula ruraliformis* (Besch.) Ingham свідчив про значно вищу концентрацію загального глутатіону в клітинах

T. ruraliformis, яка не змінювалася під час висушування, на відміну від *D. palustris*. З іншого боку, встановлено, що у *Tortula ruraliformis* в умовах водного дефіциту використовується інший важливий низькомолекулярний антиоксидант – аскорбат [20]. Тобто у різних видів мохів адаптивні стратегії організму в стресових умовах можуть відрізнятися, хоча функціонування систем аскорбату і глутатіону тісно взаємозв'язані, оскільки глутатіон бере участь у глутатіон-аскорбатному циклі, відновлюючи дегідроаскорбінову кислоту [18, 21].

Досліджували вміст відновленого (G-SH) та окисленого (GSSG) глутатіону в пагонах *B. argenteum* і *B. caespitium* залежно від мікрокліматичних умов на території відвалу сірчаного видобутку. Виявлено зміни у їх співвідношенні протягом вегетаційного сезону. У весняні місяці за сприятливого гідротермічного режиму відзначено максимум вмісту G-SH для обох видів (443,2–661,1 мкмоль НАДФН₂/г маси с.р.) і найнижчий вміст його окисленої форми (99,5–121,2 мкмоль НАДФН₂/г маси с.р.). У літній період зафіксовано зменшення вмісту G-SH до 210,0–296,9 мкмоль НАДФН₂/г маси с.р., насамперед у рослинах *B. argenteum* із вершини відвалу (табл. 2).

Таблиця 2

Сезонна динаміка вмісту глутатіону відновленого та окисленого у пагонах мохів, мкмоль НАДФН₂/г маси сухої речовини

Місце збору зразків мохів	Квітень-травень		Липень-серпень		Вересень-жовтень	
	GSH/GSSG	GSH/GSSG	GSH/GSSG	GSH/GSSG	GSH/GSSG	GSH/GSSG
<i>Bryum argenteum</i>						
Вершина	<u>516,5±28,3</u>	5,2	<u>266,7±14,5</u>	1,9	<u>376,4±12,6</u>	2,8
	99,5±9,2		141,2±12,8		135,2±14,5	
Схил	<u>661,1±58,5</u>	6,5	<u>296,9±25,1</u>	1,3	<u>371,5±14,2</u>	2,6
	101,2±8,9		221,1±20,1		144,1±13,8	
<i>Bryum caespitium</i>						
Вершина	<u>453,7±41,4</u>	4,2	<u>210,0±19,4</u>	1,4	<u>223,0±9,4</u>	3,1
	108,3±9,1		154,2±14,3		71,0±5,8	
Схил	<u>443,2±39,8</u>	3,7	<u>283,6±24,8</u>	1,9	<u>318,7±26,1</u>	2,8
	121,2±9,8		148,4±12,7		112,5±12,1	

Зменшення пулу відновленого глутатіону свідчить про його інтенсивне використання для інгібування вільнорадикальних реакцій, спричинених несприятливими мікрокліматичними умовами, чи у процесах ресинтезу аскорбінової кислоти. За таких умов у клітинах мохів відзначено істотне збільшення вмісту окисленого глутатіону.

Оцінено співвідношення G-SH/GSSG, що є індикатором окисно-відновного стану клітин у стресових умовах. Навесні та восени цей показник був у межах 2,6–6,5, у літні місяці знижувався до 1,3–1,9 унаслідок значної активації окиснювальних процесів. Відомо, що в умовах водного дефіциту збільшення вмісту GSSG може впливати на інтенсивність синтезу білків у клітинах мохів [11, 14, 24]. Наші дослідження також показали взаємозв'язок між збільшенням вмісту окисленого глутатіону та зниженням сумарного вмісту білків у пагонах *B. argenteum* і *B. caespitium* на 31–37% у літній період, особливо на вершині відвалу, що може бути захисною реакцією клітин мохів в умовах їх дегідратації (рис. 2).

Отже, динаміка вмісту G-SH у клітинах мохів упродовж вегетаційного сезону вказує на різноспрямовані зміни їх окисно-відновного статусу в мінливих екологічних

умовах, однак засвідчує, що стійкість мохів до несприятливих умов корелює з рівнем низькомолекулярного антиоксиданта глутатіону в клітинах.

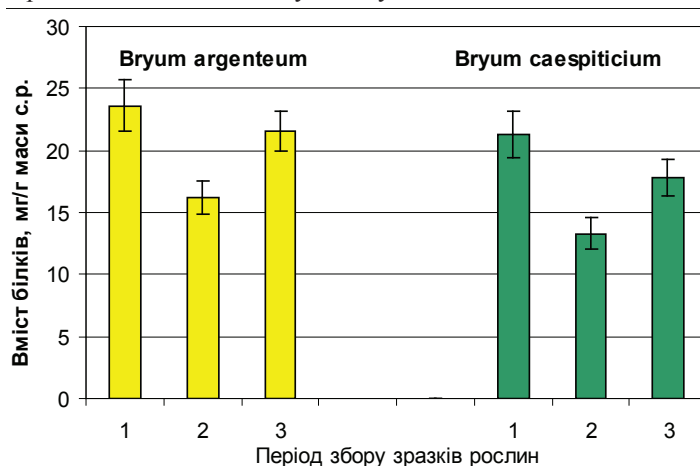


Рис. 2. Вміст білків у пагонах *B. argenteum* і *B. caespiticium* з вершини відвалу: 1 – квітень-травень; 2 – липень-серпень; 3 – вересень-жовтень.

Отримані результати показали залежність вмісту компонентів систем аскорбату і глутатіону від видових особливостей рослин. У пагонах *B. argenteum* визначено більший вміст АК упродовж вегетаційного періоду (388,8–493,2 мкг/г маси с.р.), порівняно з *B. caespiticium* (140,2–348,9 мкг/г маси с.р.). Про вищий антиоксидантний потенціал *B. argenteum* свідчив також інтенсивний синтез АК у літній період, за накопичення у клітинах значних концентрацій її дегідроформ. Вміст G-SH також залежав від видових особливостей мохів, оскільки рослини *B. argenteum* відзначалися більшим вмістом відновленого глутатіону протягом вегетаційного періоду.

Результати біохімічного аналізу узгоджуються з роботами, в яких аналізують адаптацію цих видів з точки зору їх екологічних й морфологічних особливостей. Обидва досліджені види мохів за життєвою стратегією належать до видів-колоністів [12]. Вони заселяють різноманітні субстрати, які іноді малопридатні для життя інших видів рослин. *B. argenteum* і *B. caespiticium* є однією з перших ланок ініціальної стадії заселення вільних від рослинного покриву субстратів, у тому числі й техноземів девастрованих територій. Однак ці види приурочені до різних оселищ із досить відмінними мікрокліматичними умовами і відрізняються своєю водоутримуючою здатністю. *B. argenteum* росте у сухих відкритих місцях на території відвалу сірчаного видобутку з несприятливим гідротермічним режимом, де отримує надлишок світлової енергії. Вживання моху в таких умовах суттєво залежить від механізмів, які захищають рослинний організм від висихання та фотоінгібування. Рослини *B. argenteum* здатні переживати тривале висушування до повітряно-сухого стану і швидко відновлювати життєдіяльність у період регідратації, що забезпечується цілим рядом морфоанатомічних пристосувань гаметофіту до дефіциту вологи: серезкоподібні стебла з черепичасто-налеглими дрібними листками, які мають гіалінові верхівки, що забезпечує захист від висушування й утримання вологи; клітини листків дрібні, лише у нижній половині листкової пластинки містять хлорофіл, у верхній частині – без хлорофілу, що створює захист фотосинтетичного апарату від фотоінгібування [15]. *B. argenteum* має життєву форму низької пухкої дернини, що теж відіграє важливу роль в умовах підвищеної інсоляції, оскільки пухке розташування низьких стебел сприяє кращому провітрюванню,

доступу CO₂ та поглинанню вологи. Високий вміст низькомолекулярних антиоксидантів у пагонах цього виду також свідчить про його успішну біохімічну адаптацію до екстремальних умов існування. Інший вид – *B. caespiticium* росте у вогкіших, затінених оселищах на території відвалу видобутку сірки, утворює низьку щільну дернину, що забезпечує максимальну продуктивність моху за мінімальних втрат вологи в умовах інтенсивного освітлення. Рослини цього виду менше залежні від водного дефіциту і навіть у посушливі літні місяці відносний вміст вологи у пагонах *B. caespiticium* не падав нижче, ніж до 35–38%, у той час як у *B. argenteum* – до 12–14%. Очевидно, з цим пов'язаний і дещо нижчий вміст аскорбату і глутатіону в рослинах цього виду, порівняно з *B. argenteum*.

Встановлено високий рівень антиоксидантного захисту в клітинах мохів, що є важливим пристосуванням до існування в несприятливих умовах середовища. Це підтверджує той факт, що для бріофітів, порівняно зі судинними рослинами, властивий набагато вищий антиоксидантний потенціал, який значною мірою зумовлений низькомолекулярними компонентами глутатіоно-аскорбатного циклу [10]. Аналіз вмісту низькомолекулярних антиоксидантів у рослинах *B. argenteum* і *B. caespiticium* свідчить, що стійкість мохів до несприятливих умов корелює з високим рівнем аскорбату і глутатіону в клітинах.

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

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

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Духовский П., Юкнис Р., Бразайтите А., Жукаускайте И. Реакция растений на комплексное воздействие природных и антропогенных стрессоров // Физиология растений. 2003. Т. 50. № 2. С. 165–173.
2. Минеев В. Г. Практикум по агрохимии. М.: Изд-во МГУ, 1989. 304 с.
3. Плохинский Н. А. Биометрия. М.: Изд-во МГУ, 1970. 367 с.
4. Чупахина Г. Н. Система аскорбиновой кислоты. Калининград: Изд-во Калининград. гос. ун-та, 1997. 130 с.
5. Чупахина Г. Н. Физиологические и биохимические методы анализа растений: практикум. Калининград: Изд-во Калининград. гос. ун-та, 2000. 59 с.
6. Шорнинг Б. Ю., Полещук С. В., Горбатенко И. Ю., Ванюшин Б. Ф. Действие антиоксидантов на рост и развитие растений // Известия РАН. Сер. биол. 1999. № 1. С. 30–38.
7. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction // Ann. Rev. Plant Biol. 2004. Vol. 55. P. 373–399.
8. Basile A. S., Sorbo B. C., Golia S. et al. Antioxidant activity in extracts from *Leptodictyum riparium* (Bryophyta), stressed by heavy metals, heat shock and salinity // Plant Biosyst. 2013. Vol. 145. P. 77–80.
9. Bradford W. A simple method for protein test // Annal. Biochem. 1976. N 72. P. 248–252.
10. Dey A., Nath G. Antioxidative potential of bryophytes: stress tolerance and commercial perspectives: a review // Pharmacologia. 2012. Vol. 3. N 6. P. 151–159.

11. *Dhindsa R. S.* Glutathione status and protein synthesis during drought and subsequent rehydration in *Tortula ruralis* // *Plant Physiol.* 1997. Vol. 83. P. 816–819.
12. *During H. J.* Life strategies of bryophytes: A preliminary review // *Lindbergia.* 1979. Vol. 5. P. 2–18.
13. *Foyer C. H., Lopez-Delgado H., Dat J. F., Scott I. M.* Hydrogen peroxide and glutathione associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling // *Plant Physiol.* 1997. Vol. 100. P. 241–254.
14. *Gaff D. F., Melvin O.* The evolution of desiccation tolerance in angiosperm plants: a rare yet common phenomenon // *Functional Plant Biology.* 2013. Vol. 40. N 4. P. 315–328.
15. *Glime J. M.* Bryophyte Ecology. Volume 1. Physiological Ecology. 2007. E-book sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Accessed on March 2008 at <http://www.bryocol.mtu.edu/>.
16. *McKersie B. D.* The role of oxygen free radicals in mediating freezing and desiccation stress in plants: In Pell E. and Staffen K. (eds.). *Current topics in plant physiology.* Vol. 8. Active oxygen and oxidative stress in plant metabolism. Rockville, MD: American society of plant physiologists, 1991. P. 107–118.
17. *Paciolla C., Tomassi F.* The ascorbate system in two bryophytes: *Brachytecium velutinum* and *Marchantia polymorpha* // *Biologia Plantarum.* 2003/2004. Vol. 47. N 3. P. 387–393.
18. *Parvaiz A.* Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling. Academic Press, 2014. 621 p.
19. *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.
20. *Seel W. E., Hendry G. A.F., Lee J. A.* Effects of desiccation on some activated oxygen processing enzymes and anti-oxidant in mosses // *J. Exp. Bot.* 1992b. 43. P. 1031–1037.
21. *Smirnoff N.* Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule // *Curr. Opin. in Plant Biol.* 2000. Vol. 3. P. 229–235.
22. *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.
23. *Stewart G. R., Lee J. A.* Desiccation injury in mosses. The effect of moisture stress on enzyme levels // *New Phytol.* 1972. Vol. 71. P. 461–466.
24. *Tuba Z., Slack N. G.* Bryophyte ecology and climate change. Cambridge University Press, 2012. 248 p.
25. *Yenne S. P., 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.

Стаття: надійшла до редакції 05.06.14

доопрацьована 24.11.14

прийнята до друку 05.12.14

**SEASONAL CHANGES OF THE GLUTATHIONE-ASCORBATE CYCLE
COMPONENTS CONTENT IN SHOOTS OF THE MOSSES ON THE SULFUR
DEPOSITS DUMP AREA**

N. Kyyak

*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine
11, Stefanyk St., Lviv 79000, Ukraine
e-mail: kyyak_n@i.ua*

Seasonal changes of the contents of ascorbic acid, glutathione and their metabolites in shoots of the mosses *Bryum argenteum* Hedw. and *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 is displaced to the ascorbic acid and reduced glutathione accumulation, that reveal reserve properties of the bryophytes antioxidative system. In the unfavorable hydrothermal regime the diminishing of the content of low-molecular antioxidants in plants and accumulation of its oxidized forms was indicated. It was showed that ascorbate and glutathione contents are depended on the bryophytes species features. It was established 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 water and temperature stress.

Keywords: ascorbic, dehydroascorbic and diketogulonic acids, glutathione, seasonal changes, bryophytes.

**СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КОМПОНЕНТОВ
ГЛУТАТИОНО-АСКОРБАТНОГО ЦИКЛА В МХАХ НА ТЕРРИТОРИИ
ОТВАЛА ВЫРАБОТКИ СЕРЫ**

Н. Кияк

*Институт экологии Карпат НАН Украины
ул. Стефаныка, 11, Львов 79000, Украина
e-mail: кyyak_n@i.ua*

Исследованы сезонные изменения содержания аскорбиновой кислоты, глутатиона и их метаболитов в побегах мхов *Bryum argenteum* Hedw. и *Bryum caespiticium* Hedw., произрастающих на территории отвала выработки серы. Установлено, что в благоприятных микроклиматических условиях равновесие между компонентами глутатионо-аскорбатного цикла смещено в сторону накопления аскорбиновой кислоты и восстановленного глутатиона, что свидетельствует об резервных свойствах антиоксидантной системы мхов. При неблагоприятном гидротермическом режиме уменьшается количество низкомолекулярных антиоксидантов в растениях и образуются их окисленные формы. Выявлена зависимость содержания аскорбата и глутатиона от видовых особенностей мхов. Показано, что соотношение восстановленных и окисленных форм аскорбата и глутатиона является важным показателем редокс-статуса клеток мхов и биомаркером физиологического состояния растительного организма в условиях водного и температурного стресса.

Ключевые слова: аскорбиновая, дегидроаскорбиновая, дикетоглулоновая кислоты, глутатион, сезонные изменения, мхи.