

УДК 582.32:581.5

## ТОЛЕРАНТНІСТЬ МОХУ *DREPANOCCLADUS ADUNCUS* (HEDW.) WARNST. І ЙОГО АДАПТАЦІЯ ДО ВПЛИВУ ІОНІВ СВИНЦЮ

О.І. ЩЕРБАЧЕНКО, О.Т. ДЕМКІВ

*Інститут екології Карпат Національної академії наук України  
79003 Львів, вул. Козельницька, 4  
e-mail: scherbachenko@ukr.net*

Встановлено, що регенераційні процеси ізольованих листків лабораторних клонів моху *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. із сильнозабруднених екоотопів менш чутливі до токсичного впливу свинцю, ніж із слабозабруднених. Отримані результати підтверджено даними люмінесцентного аналізу хлорофілу в листках пагонів моху, що сформувались унаслідок регенерації. Ймовірно, що в рослин із сильнозабруднених екоотопів активуються захисно-приспосувальні механізми й формується стійкість до впливу важких металів. Доведено, що лабораторні кло-ни моху із сильнозабруднених екоотопів стійкіші до впливу підвищених концен-трацій свинцю, ніж із слабозабруднених, що свідчить про високий адаптивний потенціал моху за умов техногенно забрудненого природного середовища.

*Ключові слова:* *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst., мох, регенераційна здатність, інтенсивність люмінесценції хлорофілу, толерантність, адаптація, важкі метали.

Через збільшення антропогенного тиску на природні екосистеми техногенне забруднення стає екологічним чинником, який істотно впливає на ріст, розвиток і продуктивність організмів та їхніх угруповань. Виживаність на забруднених територіях забезпечується лабільністю функціональних систем рослин.

Проблеми підвищення стійкості рослин зі зростанням техногенного навантаження на екосистеми роблять особливо актуальним вивчення механізмів адаптації рослин до несприятливих умов навколишнього середовища. Клітинні реакції на дію екстремальних чинників вивчаються давно, механізми адаптації рослин, у тім числі й мохів, досліджувались в різноманітних напрямках. Значну увагу зосереджено на встановленні шляхів сприйняття клітиною ендогенних і екзогенних сигналів, їх трансформації у фізіологічні відповіді, з'ясуванні молекулярних механізмів реакцій клітин на дію несприятливих чинників навколишнього середовища, їх адаптації до цих умов, поглибленні уявлень про загальний адаптаційний потенціал, взаємозв'язок між нелетальними стресовими впливами і старінням клітин, виявленні генетично запрограмованих відповідей на дію хімічних і фізичних чинників, їх використанні для кількісного оцінювання стану довкілля.

Мохи — важливий компонент техногенних екоотопів, вони здатні накопичувати підвищені концентрації токсичних речовин, тому придатні для моніторингу атмосферного забруднення [4, 10, 16—18]. В умовах тех-

ногенного забруднення природного середовища мохоподібні відіграють роль деструкторів шкідливих сполук, сприяють відновленню забруднених ґрунтів, що є передумовою для розвитку інших організмів. У зв'язку з цим дослідження мохоподібних як модельної системи для вивчення еволюції толерантності до токсичного впливу техногенного забруднення особливо актуальні [9, 13]. Залишаються маловивченими особливості реакцій мохів перезволожених місцезростань на вплив високих концентрацій забруднювачів, що важливо для підвищення толерантності рослин, діагностики рівнів забруднення й очищення природного середовища.

Метою роботи було порівняльне оцінювання чутливості моху з різних за рівнем забруднення перезволожених екоотопів та його морфологічних реакцій на дію забруднювачів, виявлення якісних і кількісних показників толерантності й адаптації виду до впливу важких металів.

### Методика

Досліджували зразки моху *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. із перезволожених екоотопів м. Львова, які знаходились на різних відстанях від вулиць з інтенсивним рухом транспорту: у регіонально-ландшафтному парку «Знесіння» (~400 м), лісопарку «Погулянка» (~500 м), поблизу ЗАТ «Ізоляторний завод» (~5 м), поблизу перехрестя вулиць Стрийська—Наукова (~50 м), неподалік вул. Шевченка (~150 м). Досліджено природні зразки моху і лабораторні культури, отримані внаслідок вегетативного розмноження.

Для визначення впливу свинцю на регенераційну здатність із середньої частини пагонів моху відокремлювали листки і вміщували їх у чашки Петрі на 0,8 %-ві агаризовані поживні середовища Кноп-II [3] з 0,1—100,0 мкМ  $Pb(NO_3)_2$  (дослід) і без металу (контроль) для регенерації. Роботи проводили в асептичних умовах. Мохи росли в контрольованих умовах температури (20—22 °С), вологості (85—90 %) та освітлення (2500 лк) за 16-годинного світлового періоду. Ріст регенерантів аналізували за допомогою біокулярного мікроскопа МБС-1.

Інтенсивність світіння хлорофілу визначали на цитофлуориметрі ЛЮМАМ-РЗ, оснащеному цитофотометричним пристроєм з інтерференційним світлофільтром  $685 \pm 14$  нм; люмінесценцію збуджувало синьо-фіолетове світло ртутної лампи надвисокого тиску ДРШ-250 [3]. Аналізували листки із середньої частини пагона досліджуваних рослин. Вимірювання проводили у клітинах середньої частини листкової пластинки між жилкою та облямівкою. Інтенсивність люмінесценції визначали як середньоарифметичне значення.

На рисунку наведено усереднені результати трьох незалежних експериментів, проведених у 3—4-разових біологічних повтореннях, та їх стандартні відхилення. Результати досліджень статистично опрацьовані за програмою Microsoft Excel, вірогідність різниці між варіантами оцінено за критерієм Стьюдента ( $p \leq 0,05$ ) [11].

### Результати та обговорення

Під час дослідження прибережних зон водойм м. Львова із різним антропогенним навантаженням встановлено, що мох *Drepanocladus aduncus* росте в усіх обстежених перезволожених екоотопах і здатний накопичувати підвищені концентрації техногенних токсичних металів. Показано

пряму залежність вмісту важких металів у пагонах моху від рівня забруднення перезволожених екотопів, зокрема від відстані до вулиць з інтенсивним рухом автотранспорту [14].

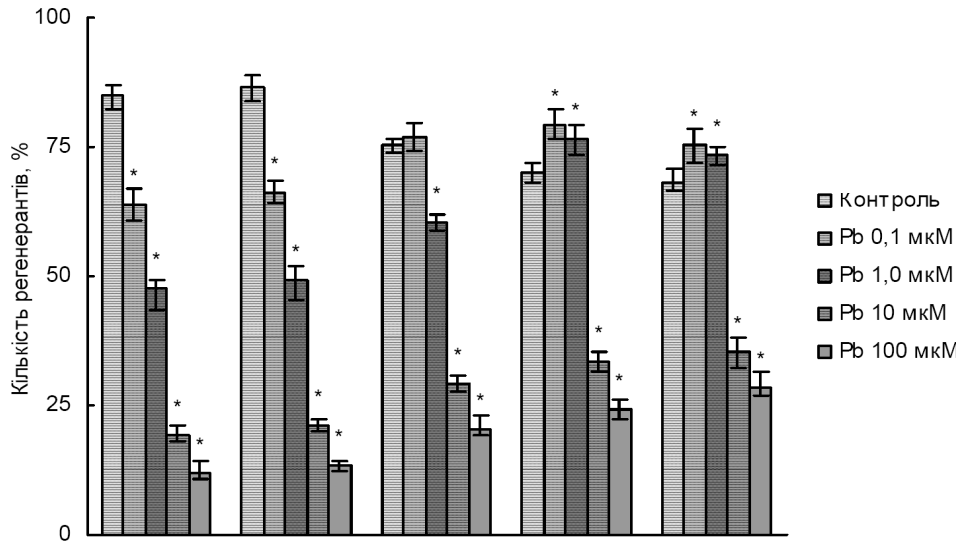
Важливою особливістю мохів, що зумовлює високу швидкість вегетативного поновлення, є здатність усіх органів цих рослин, їхніх тканин та окремих клітин гаметофіта чи спорофіта до регенерації навіть в умовах токсичного впливу важких металів. Ізольовані листки *Drepanocladus aduncus* в умовах лабораторної культури поновлювались виключно вторинною протоневою, яка розросталась і морфологічно диференціювалась у листкостеблові пагони. Регенеранти утворювались переважно з клітин листової пластинки. Очевидно, саме внаслідок швидкого розвитку вторинної протонеми й закладання пагонів *Drepanocladus aduncus* успішно розмножується фрагментами стебел і листків, швидко заселяє придатні для нього перезволожені місцезростання, пригнічує розвиток інших видів мохів у локальних умовах ценозів.

У контролі листки зразків *Drepanocladus aduncus*, зібраних у слабозабруднених екотопах (лісопарк «Погулянка», регіонально-ландшафтний парк «Знесіння») регенерували краще, ніж у дослідах із додаванням свинцю: число регенерантів становило відповідно 85,1 і 86,7 %. Листки мохів із сильнозабруднених екотопів (на розі вулиць Стрийська—Наукова, поблизу вул. Шевченка, неподалік ЗАТ «Ізоляторний завод») регенерували слабкіше: кількість регенерантів у контролі становила відповідно 75,2, 70,1 і 68,2 % (рисунок, а). На середовищах із додаванням 0,1 і 1,0 мкМ  $Pb^{2+}$  у дослідних зразках із парку й лісопарку кількість регенерантів зменшувалась, тоді як у мохів із сильнозабруднених екотопів — збільшувалась. Істотне пригнічення регенераційної здатності ізольованих листків спостерігали у варіантах досліду з додаванням 10,0 і 100,0 мкМ  $Pb(NO_3)_2$ .

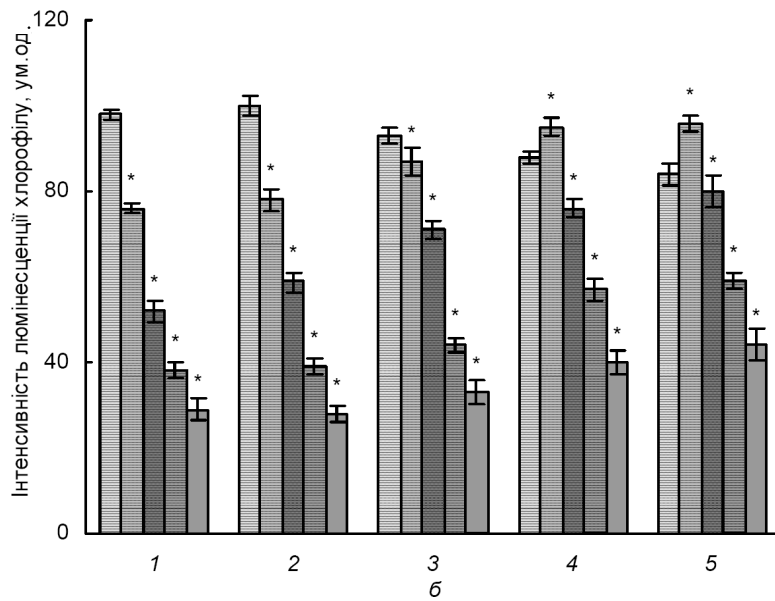
Згідно з отриманими даними, вирощування пагонів моху, відібраних із сильнозабруднених екотопів, на середовищах із 0,1 і 1,0 мкМ  $Pb(NO_3)_2$  позитивно впливало на регенераційну здатність їхніх ізольованих листків. Концентрація нітрату свинцю 100,0 мкМ виявилась сублетальною для регенерації ізольованих листків *Drepanocladus aduncus* із перезволожених екотопів парку і лісопарку. Очевидно, що під впливом такої концентрації  $Pb(NO_3)_2$  у зразків моху із слабозабруднених екотопів функціональні і структурні системи порушувались більшою мірою, ніж у рослин із сильнозабруднених екотопів.

При біоіндикації природного середовища першою візуальною ознакою техногенного забруднення є гальмування або й повне блокування генеративного розмноження мохів: переважна більшість видів за таких умов залишається стерильною і не утворює спорогонів [10]. Унаслідок високої регенераційної здатності гаметофіта мох *Drepanocladus aduncus* швидко розмножується вегетативно і заселяє забруднені перезволожені екотопи. Нами експериментально встановлено, що ізольовані листки моху із сильнозабруднених свинцем екотопів виявляють вищу регенераційну здатність порівняно з листками моху із слабозабруднених місцезростань.

Особливо цікавою є рання діагностика пошкодження рослин атмосферними забруднювачами. Перша реакція рослин на техногенне забруднення — знебарвлення, а відтак — і руйнування хлорофілу, за яким настає некроз і відмирання клітин, що свідчить про пошкодження фотосинтетичного апарату катіонами металів [6]. У мохів, листки яких пере-



а



б

Вплив нітрату свинцю на регенераційну здатність (а) та інтенсивність люмінесценції хлорофілу (б) лабораторних клонів *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. із різних за рівнем забруднення перезвожених екоотопів Львова:

1 — лісопарк «Погулянка» (~500 м від джерела забруднення); 2 — регіонально-ландшафтний парк «Знесіння» (~400 м); 3 — на розі вулиць Стрийська—Наукова (~50 м); 4 — поблизу вул. Шевченка (~150 м); 5 — поблизу ЗАТ «Ізоляторний завод» (~5 м). \*Різниця порівняно з контролем статистично вірогідна,  $p \leq 0,05$

важно одношарові, стан фотосинтетичних пігментів можна оцінити цитофлуориметричним методом [3].

У контрольному варіанті в листках лабораторних клонів зразків *Drepanocladus aduncus*, зібраних у сильнозабруднених екоотопах м. Львова, встановлено тенденцію до поступового зниження інтенсивності люмінесценції хлорофілу з підвищенням рівня забруднення свинцем (див. рисунок, б). У листках моху хлорозу піддаються насамперед клітини з най-

вищою вбирною здатністю: поблизу крайової зони (облямівки), жилки, в кутах основи листка (вушках). Звідси хлороз поширювався й на інші клітини листкової пластинки. Встановлено зв'язок між вмістом свинцю у середовищі та інтенсивністю люмінесценції хлорофілу в листках моху.

Експериментальними дослідженнями доведено, що процес фотосинтезу значно чутливіший до дії підвищених концентрацій важких металів, ніж дихання, а вміст пігментів, зокрема хлорофілів, є показником стану пігментної системи рослин в умовах впливу стресових чинників [1, 2, 12]. Листки дослідних зразків моху *Drepanocladus aduncus* порівняно з контрольними містили менше хлорофілу *a*, за вишого забруднення зростав вміст хлорофілу *b*. Водночас зі зниженням вмісту хлорофілів у листках зменшувався і вміст каротиноїдів, але їх відносна кількість щодо хлорофілу збільшувалась, що ми виявили раніше [15]. Таке зростання вмісту каротиноїдів під час токсичного навантаження розглядають як захисний механізм, що запобігає фоторедукції і пероксидному окисненню хлорофілу та підвищує його стійкість до руйнівної дії токсикантів. Зазначимо, що каротиноїди розглядають як один із чинників, який забезпечує толерантність рослин до різних видів забруднення [12]. Вони виконують захисну функцію в рослинах за оксидативного стресу.

Проблеми підвищення стійкості рослин в умовах зростання техногенного навантаження на екосистеми зумовлюють особливу актуальність вивчення механізмів адаптації рослин до несприятливих впливів навколишнього середовища. У працях [1, 5, 6, 12] широко висвітлено різноманітні реакції рослинних клітин на дію стресових чинників природного середовища, які впливають на ріст і розвиток рослин. Відповідь рослин на стрес та їх адаптація до несприятливого чинника супроводжуються синтезом специфічних стресових білків, змінами ростових і метаболічних процесів, проникності мембран, змінами у фітогормональному комплексі рослин [7, 8]. Доведено, що попереднє вирощування моху *Pottia intermedia* (Turner) Furnr. на середовищі з 0,5 мкМ хлориду ртуті підвищувало стійкість наступного регенеративного покоління до 1,0 і навіть 1,7 мкМ HgCl<sub>2</sub>, що свідчить про значну стійкість і клітинне успадкування індукованих змін [13].

Таким чином, нами виявлено, що в листках лабораторних клонів *Drepanocladus aduncus* із сильнозабруднених екоотопів, які вирощували на середовищах зі свинцем, регенераційна здатність та інтенсивність люмінесценції хлорофілу були вищими, ніж у рослин із парку й лісопарку. Очевидно, що в рослин, які виростили у сильнозабруднених екоотопах, активуються захисно-приспосувальні механізми, в результаті чого формується стійкість до подальшого впливу важких металів. Отримані нами результати свідчать про значний адаптивний потенціал моху в умовах техногенно зміненого природного середовища.

Вивчення фізіолого-біохімічних шляхів адаптації стійких рослин до забруднення є важливим для наукового обґрунтування нових методів біотичного оцінювання екоотопів і рекомендацій щодо способів фіторекультивациі забруднених територій.

1. Бессонова В.П. Цитофизиологические эффекты воздействия тяжелых металлов на рост и развитие растений. — Запорожье: Изд-во Запорож. ун-та, 1999. — 208 с.

2. Горышина Т.К. Фотосинтетический аппарат растений и условия среды. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1989. — 204 с.
3. Демкив О.Т., Сытник К.М. Морфогенез архегоният. — Киев: Наук. думка, 1985. — 204 с.
4. Ермакова Е.В., Фронтасьева М.В., Стейннес Э. Изучение атмосферных выпадений тяжелых металлов и других элементов на территории Тульской области с помощью метода мхов-биомониторов // Экол. химия. — 2004. — № 13 (3). — С. 167—180.
5. Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Бараненко В.В. и др. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. — Киев: Наук. думка, 2003. — 277 с.
6. Коршиков И.И. Адаптация растений к условиям техногенно загрязненной среды. — Киев: Наук. думка, 1996. — 238 с.
7. Косаківська І.В. Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів. — К.: Сталь, 2003. — 191 с.
8. Коцюбинська Н.П. Загальні механізми адаптації рослин до негативних чинників різного походження // Фізіологія рослин на межі тисячоліть. Т. 2. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — С. 60—67.
9. Лобачевська О.В. Механізми толерантності рослин та їх адаптація до стресу: Наукові основи збереження біотичної різноманітності // Темат. зб. Ін-ту екології Карпат НАН України. Вип. 8. — Львів: Ліга—Прес, 2007. — С. 25—33.
10. Машталер О.В. Біомоніторинг видами Bryophyta техногенно трансформованого середовища південного сходу України: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Дніпропетровськ, 2007. — 20 с.
11. Плохинский Н.А. Биометрия. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1970. — 367 с.
12. Таран Н.Ю. Адаптаційний синдром рослин в умовах посухи: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. — Київ, 2001. — 42 с.
13. Хоркавців Я.Д., Ріпецький Р.Т., Байк О.Л. Фенотипна та епігенетична адаптація клону моху до ртуті // Цитология и генетика. — 2009. — № 5. — С. 22—27.
14. Щербаченко О., Демкив О. Акумуляція важких металів прибережними мохами у водних екосистемах м. Львова // Праці наук. т-ва ім. Шевченка [Екол. зб.]: Екологічні проблеми Карпатського регіону. Т. 12. — Львів: Вид-во НТШ, 2003. — С. 365—369.
15. Щербаченко О.І., Демкив О.Т. Особливості реакцій моху *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. на вплив важких металів // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2007. — Вип. 2 (11). — С. 52—57.
16. Davis D.D., McClenahan J.R., Hutnik R.J. Use of moss *Dicranum montanum* to evaluate recent temporal trends of mercury accumulation in oak forests of Pennsylvania // Northeastern Naturalist. — 2007. — 14, N 1. — P. 27—34.
17. Onianwa P.C. Monitoring atmospheric metal pollution: a review of the use of mosses as indicators // Environ. Monit. Asses. — 2001. — 71, N 1. — P. 13—50.
18. Reimann C., Niskavaara H., Kashulina G. Critical remarks on the use of terrestrial moss (*Hylocomnium splendens* and *Pleurozium schreberi*) for monitoring of airborne pollution // Environ. Pollut. — 2001. — 113, N 1. — P. 41—57.

Отримано 29.10.2012

#### ТОЛЕРАНТНОСТЬ МХА *DREPANOCLADUS ADUNCUS* (HEDW.) WARNST. И ЕГО АДАПТАЦИЯ К ДЕЙСТВИЮ ИОНОВ СВИНЦА

О.И. Щербаченко, О.Т. Демкив

Институт экологии Карпат Национальной академии наук Украины, Львов

Установлено, что регенерационные процессы изолированных листьев лабораторных клонов мха *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. из сильнозагрязненных экотопов менее чувствительны к токсическому действию свинца, чем из слабозагрязненных. Полученные результаты подтверждены данными люминесцентного анализа хлорофилла в листьях побегов мха, сформировавшихся вследствие регенерации. Вероятно, что у растений из сильнозагрязненных экотопов активизируются защитно-приспособительные механизмы и формируется устойчивость к влиянию тяжелых металлов. Доказано, что лабораторные клоны мха из сильнозагрязненных экотопов более устойчивы к влиянию повышенных концентраций

свинца, чем из слабозагрязненных, что свидетельствует о высоком адаптивном потенциале мха в условиях техногенно загрязненной природной среды.

TOLERANCE OF MOSS *DREPANOCLADUS ADUNCUS* (HEDW.) WARNST. AND ITS ADAPTATION TO THE EFFECTS OF LEAD IONS

*O.I. Scherbachenko, O.T. Demkiv*

Institute of Ecology of the Carpathians, National Academy of Sciences of Ukraine  
4 Kozelnytska St., Lviv, 79026, Ukraine

It has been established that the regeneration processes of isolated leaf laboratory clones of moss *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. from highly contaminated ecotopes are less sensitive to the toxic effects of lead than from slightly contaminated ones. The obtained results have been confirmed by fluorescence analysis of chlorophyll in the leaves of moss shoots derived from regeneration. Obviously, protective-adaptive mechanisms are activated in plants grown in highly contaminated ecotopes which resulting in emerging resistance to exposure to heavy metals. It has been found out that laboratory moss clones from highly contaminated ecotopes are more resistant to further exposure of high concentrations of lead than from slightly contaminated ones which indicates high adaptive capacity of moss in the polluted environment.

*Key words:* *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst., moss, regeneration ability, intensity of the chlorophyll luminescence, tolerance, adaptation, heavy metals.