

ПРИРОДА ТОЛЕРАНТНОСТІ МОХУ *DREPANOCLADUS ADUNCUS* (HEDW.) WARNST. ДО ВПЛИВУ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

ОКСАНА ІГОРІВНА ЩЕРБАЧЕНКО

ЩЕРБАЧЕНКО О. І. Природа толерантності моху *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. до впливу важких металів // Наукові основи збереження біотичної різноманітності. – 2013. – Том 4(11), № 1. – С. 181-196. – ISSN 2220-3087.

У статті розглянуто питання про природу толерантності моху перезволожений місцевиростань *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. до впливу важких металів. Наведені результати досліджень особливостей нагромадження іонів важких металів і захисних реакцій моху на токсичний вплив забруднювачів, які сприяють його виживанню й формуванню механізмів стійкості до стресових чинників. Екологічно пластичний мох *D. aduncus* росте на техногенно забруднених територіях і нагромаджує підвищені концентрації важких металів, що вказує на перспективність його використання для діагностики рівнів забруднення та очищення природного середовища.

Ключові слова: важкі метали, нагромадження, піщана і водна культури, адаптивні реакції, толерантність, *Drepanocladus aduncus*

Виживання рослин в умовах техногенного забруднення природного середовища відбувається завдяки пристосуванню до несприятливих чинників. В екологічній фізіології бріофітів розрізняють дві якісно відмінні адаптаційні стратегії до несприятливих умов – толерантності й резистентності (Glime, 2006; Proctor, 2009). Мохам, як давнім наземним рослинам, властива переважно толерантна стратегія виживання, яка вирізняється мінімалізацією життєвих процесів. Така стратегія є вичікувальною, тобто сприяє тимчасовому виживанню організму (Bryophyte Biology, 2000). Для стратегії резистентності характерна активна протидія впливу зовнішнього середовища, максималізація функцій основних фізіологічних систем рослин і в результаті – збереження активного стану або навіть гіперкомпенсація.

Мохоподібні – це витривалі до несприятливих умов природного середовища пойкилогідричні організми, які здатні припиняти метаболізм під час посухи, фотосинтезувати й рости у вологий період. Одним з проявів толерантної стратегії є виживання мохів в умовах впливу токсичних речовин, зокрема, їх висока абсорбційна здатність в умовах підвищених концентрацій важких металів (ВМ) (Glime, 2006; Proctor, 2009).

Стійкість організмів до несприятливих чинників характеризують по-різному. Її оцінку може бути багатство видового складу природної антропогенно трансформованої екосистеми, оскільки серед широкого розмаїття завжди є більша ймовірність прихованих, адаптованих до будь-яких змін форм (Benavides, Veenstra, 2005).

Під впливом урбанізаційних процесів водні ресурси, а разом із ними гігрота гідрофільний рослинний покрив, зазнають значної дегресивної трансформації. Велику цінність для міських агломерацій мають акваторії всіх типів –

водосховища, озера, ріки тощо, адже вони впливають на стабілізацію вологості повітря, пом'якшення місцевого клімату, слугують своєрідними екологічними магістралями, володіють значним рекреаційним потенціалом. Водна й прибережно-водна рослинність є одним із основних чинників формування якості води різноманітних водойм. Гігро- та гідрофільні рослини у великих кількостях поглинають не лише біогенні, а й токсичні речовини мінерального й органічного походження, виконують фільтраційну роль і позитивно впливають на фізико-хімічний стан водного середовища, відіграють важливу роль у підтриманні динамічної екологічної рівноваги водних екосистем. Тому проблема фітоіндикації антропогенних змін, які відбуваються в гідроекосистемах, є актуальною.

На території міста Львова є багато водних об'єктів, які як складові урболандшафту є, здебільшого, водоймами комплексного призначення і, крім різноманітних господарських, виконують важливі рекреаційні, естетичні та природоохоронні функції. Міські водойми, насамперед, ті, що займають значні площі, поряд із парками та лісовими масивами є ще й осередками дикої природи, резерватами біорізноманітності серед антропогенно зміненого середовища.

Вивчення мохоподібних перезволожених місцевиростань є актуальним, особливо у зв'язку з можливістю використання їх для оцінки рівня забруднення природного середовища. Дослідження розвитку угруповань мохоподібних у перезволожених ектопах урболандшафтів є важливими для оцінки ступеня антропогенного впливу на екосистеми (Bryophyte Biology, 2000; Proctor, 2009).

Прибережна бріофлора водойм Львова є досить різноманітною за видовим складом. Виявлено 37 видів, які належать до 2 класів, 10 порядків, 13 родин, 24 родів. У прибережних зонах обстежених водойм мохоподібні розподілені нерівномірно. Найсприятливіші умови для розвитку прибережних мохів є у водоймах регіонального ландшафтного парку "Знесіння" (17 видів) та Ботанічного саду Львівського національного університету імені Івана Франка (13). Найменш сприятливі – поблизу Ізоляторного заводу (7) та на вул. Княгині Ольги (8). Встановлено, що дернини мохоподібних, зібраних на берегах водойм поблизу автотрас, розвинені слабо й трапляються як компоненти угруповань вищих рослин. Краще вони розвинені на заболочених берегах у парках і лісопарках. Ні в одній із досліджених водойм не знайдено гідрофітних мохоподібних, що свідчить про чутливість водних видів до впливу поллютантів і значний рівень забруднення перезволожених ектопів. Толерантнішими до забруднення виявилися мезофітні й гірогідрофітні види мохоподібних, зокрема *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst., який траплявся в перезволожених ектопах усіх досліджених водойм міста Львова.

Переважає більшість мохоподібних з перезволожених місцевиростань належить до мезофільної групи (мезофіти – 27%, мезогідрофіти – 24,3%), приуроченої до достатньо вологих субстратів. Мезоксерофіти становили 16,2%, гідрофіти – 18,9% та гірогідрофіти – 10,9%. За трюфністю субстрату

більша частина мохоподібних (56,0%) – це евтрофні види, що зумовлено відносно високим умістом у субстраті доступних елементів живлення. Для перезвожених екотопів водойм Львова характерні мезофільні евтрофи – види мохоподібних, які властиві багатим субстратам. Велика кількість евтрофних видів свідчить про загрозу евтрофікації водойм під впливом антропогенних чинників, яка, як відомо, розпочинається у прибережній зоні (Щербаченко, Рабик, 2004). Дослідження мохів, які домінують у перезвожених екотопах і здатні адекватно реагувати на зміни умов середовища, є актуальними.

Аналіз літературних даних свідчить, що у відповідь на підвищення забруднення середовища змінюється видове різноманіття та внутрішньовидова мінливість мохів (Демків, 1996; Мамчур, 1997; Машталер, 2007). Установлена від'ємна кореляція між рівнем забруднення перезвожених екотопів і кількістю видів мохоподібних, які в них ростуть (Щербаченко, Демків, 2003).

Окрім якісних показників, на рівень забруднення перезвожених екотопів вказує і високий вміст ВМ у пагонах мохів перезвожених місцевиростань. За основними потребами щодо поживних речовин бріофіти мало чим відрізняються від судинних рослин, проте, для них властиві інші способи їх поглинання. Мохоподібні, як безсудинні рослини, поглинають воду й мінеральні речовини всією поверхнею гаметофіту не лише з повітря та опадів, а й з ґрунту, що сприяє їх успішному заселенню в місцях з обмеженим живленням, але, разом з тим, вони нагромаджують токсичні речовини у підвищених концентраціях. Такі особливості мохоподібних використовують для бріомоніторингу забруднення природного середовища (Gloschenko, 1995; Onianwa, 2001; Reimann et al., 2001; Кияк, 2005; Машталер, 2007; Bates, 2009).

На підставі результатів атомно-абсорбційного аналізу встановлено високу акумуляційну здатність *D. aduncus* і пряму залежність вмісту ВМ у його пагонах від рівня забруднення перезвожених екотопів. Істотно це проявилось для техногенно-токсичних елементів (Pb і Cd), порівняно з біогенно-активними елементами (Cu, Zn, Mn, Fe). Виявлені нами особливості нагромадження ВМ у пагонах *D. aduncus* свідчать про значну його толерантність, що забезпечує йому існування в умовах антропогенно трансформованого природного середовища.

У ході еволюції рослини виробили різноманітні морфофізіологічні та біохімічні механізми стійкості, які сприяють захисту їх метаболізму від токсичного впливу поллютантів (Proctor, 2009). До них належать: обмеження надходження іонів ВМ у клітину, активація систем їх виведення, ізоляція в метаболічно малоактивних сполуках і компартментах, зміни метаболізму, спрямовані на зниження токсичного впливу або ліквідацію його наслідків (Чиркова, 2002). За допомогою вказаних механізмів організми здатні виживати за умов стресу.

Клітинна стінка є першим бар'єром на шляху проникнення ВМ у цитоплазму клітин (Серегин, Иванов, 2001; Ramos et al., 2002). Імобілізація іонів в клітинній стінці є одним із найважливіших процесів, що впливає на стійкість рослин до надлишку поллютантів у природному середовищі (Гуральчук,

2001; Титов и др., 2007). Виділяють два типи іммобілізації: накопичення іонів металів у вільному просторі і їх зв'язування специфічними ділянками клітинної стінки (Феник и др., 1995). Накопичення ВМ у вільному просторі клітинної стінки визначається величиною іонообмінного коефіцієнта, яка значною мірою залежить від кількості гідроксильних груп, розміщених на поверхні пектинів (Krämer et al., 2000; Шевякова и др., 2003).

Важливу роль у формуванні толерантності рослин до впливу ВМ відіграє плазмалема, як компонент клітини, який слугує мішенню для токсичної дії поллютантів і як бар'єр на шляху їх проникнення в протопласт (Hall, 2002). Установлено, що плазмалема може повністю блокувати проникнення іонів металів у клітину або знижувати рівень їх пасивного трансмембранного транспорту (Meharg, 2005). Висловлюються припущення про можливу участь у підвищенні стійкості рослин до впливу ВМ транспортних білків плазматичної мембрани: АТФ-ази, катіон/ H^+ -антипортів, білків-транспортерів CDF (Cation diffusion facilitator), Nramps (Natural resistance associated macrophage proteins) і ZIP (Zinc iron permease) (Guerinot, 2000; Hall, 2002; Thomine et al., 2003).

Завдяки високій поглинальній здатності мохоподібні зазвичай нагромаджують елементи, необхідні у незначних кількостях, наприклад, Cu, Fe, Mn, Zn, або не потрібні зовсім (Cd, Cr, Hg, Ni, Pb, Se, Sr, Ti, V). Загалом ВМ активніше, ніж фізіологічні катіони K^+ і Ca^{2+} , абсорбуються бріофітами на обмінних сайтах клітинної стінки (Bates, 2009), і, конденсуючись, іммобілізуються. Такий спосіб детоксикації є одним із механізмів забезпечення захисту та підвищення толерантності моху до токсичного впливу поллютантів.

Установлено, що у клітинних стінках *D. aduncus* затримувалося $\approx 13\%$ Pb^{2+} , $\approx 32\%$ Cu^{2+} і $\approx 4\%$ Cd^{2+} , однак більшість токсичних іонів нагромаджувалася внутрішньоклітинно. Катіонообмінна система мембран мохоподібних, ізолюючи токсичні катіони, частково перешкоджала їх проникненню всередину клітин, однак надалі відбувалася поступова міграція ВМ з екстрацелюлярних іонообмінних зон у протопласт (Щербаченко, Демків, 2013).

Під впливом високих концентрацій ВМ механізми, що обмежують їх проникнення всередину клітин, є недостатніми. Важливим механізмом детоксикації токсичних катіонів у цитоплазмі є локалізація у метаболічно малоактивному компартменті клітини вакуолі (Hall, 2002; Meharg, 2005) та нагромадження у комплексах з органічними кислотами (Haydon, Cobbett, 2007), амінокислотами (Krämer et al., 2000; Серегин, Кожевникова, 2006), фітохелатинами (Cobbett, 2000; Серегин, Иванов, 2001; Nakasawa et al., 2002; Heiss et al., 2003) і металотіонеїнами (Van Hoof et al. 2001). Вважають, що більшість поллютантів у коренях рослин переважно іммобілізуються у клітинній стінці, а в листках – у вакуолях (Hall, 2002; Meharg, 2005).

Установлено, що *D. aduncus* акумулює високі концентрації іонів ВМ, які іммобілізуються переважно внутрішньоклітинно. У його клітинах більшість рухомих іонів транспортується із клітинних стінок у протопласт, імовірно, у вакуолю, запобігаючи їх подальшому токсичному впливу (Щербаченко, Демків, 2013). Компартменталізація ВМ у вакуолі у вигляді важкорозчинних

комплексів призводить до зменшення їх концентрації у цитозолі. Таким чином, толерантність мохоподібних перезвожених місцевиростань до впливу полютантів переважно пов'язана з особливостями їх нагромадження і детоксикації в цитозолі.

Цитохімічно встановлено, що іони свинцю локалізуються в клітинах жилки, верхівки та основи листової пластинки *D. aduncus*, що, мабуть, зумовлено поглинанням металу в цих частинах листка, а надалі його транспортом по клітинах жилки і кайми листків. Механізм такого вибіркового поглинання клітинами верхівки, жилки та основи листків може мати принципове значення для перерозподілу поглинутих іонів ВМ між клітинами листової пластинки.

Толерантність мохів перезвожених місцевиростань до токсичного впливу ВМ зумовлена регуляцією їх поглинання та розподілу на рівні цілої рослини та окремих органів і внутрішньоклітинної детоксикації: знешкодження металу всередині клітин унаслідок зв'язування його у нерозчинні комплекси або переведення у вакуолю та/або у клітинну стінку й виведення у зовнішнє середовище. Виявлені особливості нагромадження й розподілу іонів ВМ у клітинах *D. aduncus* свідчать про значну толерантність моху в умовах техногенно трансформованого природного середовища й підтверджує перспективність використання бріофітів для оцінки рівнів забруднення перезвожених місцевиростань (Щербаченко, Демків, 2013).

Однією із проблем техногенного забруднення природного середовища є виживання рослин в екстремальних умовах. До впливу техногенних стресорів мохоподібні виробили різноманітні морфологічні, фізіологічні та біохімічні пристосування. Принциповий підхід до оцінки впливу ВМ на морфологічні процеси мохів із різних за рівнем забруднення перезвожених екоотопів полягає в установленні достовірної різниці окремих показників ростової та асиміляційної діяльності рослин. У широкому спектрі інтенсивності металевого стресу можна очікувати чітких реакцій рослинного організму на вплив досліджуваного антропогенного чинника (Reimann et al., 2001).

У техногенно забруднених екотопах для рослин першою візуальною неспецифічною реакцією є знебарвлення, а відтак і руйнування хлорофілу, за яким настає некроз і відмирання клітин, що свідчить про пошкодження асиміляційних органів полютантами (Коршиков, 1996). У листках *D. aduncus* насамперед зазнають хлорозу клітини з найвищою поглинальною здатністю – поблизу крайової зони (облямівки), жилки і в основі листка (вухках). Звідси хлороз поширюється на інші клітини листової пластинки. Встановлено взаємозв'язок між вмістом ВМ та інтенсивністю люмінесценції хлорофілу в *D. aduncus* – спостерігалася тенденція до поступового її зниження зі збільшенням рівня забруднення, тобто із наближенням до автошляхів (Щербаченко, Демків, 2003).

Особливістю мохів є висока регенераційна здатність до вегетативного розмноження, яку досліджували в умовах токсичного впливу ВМ. Експериментально встановлено, що регенераційна здатність ізольованих листків

лабораторних клонів *D. aduncus* із сильнозабруднених екоотопів менше чутлива до токсичного впливу свинцю, ніж із слабозабруднених. Так, у зразків моху із сильнозабруднених перезволожених екоотопів ростові процеси були менше чутливі до вмісту металу в середовищі, ніж у зразків з парку й лісопарку. Це може свідчити про те, що токсичний вплив іонів свинцю стимулює захисні преадаптаційні механізми *D. aduncus*, які рослина “пам’ятає” у перших поколіннях, посилює вегетативне розмноження, однак до певних концентраційних меж, після чого відбувається його пригнічення. Одержані результати підтверджено даними люмінесцентного аналізу хлорофілу у листках пагонів моху, отриманих унаслідок регенерації. Встановлено, що в листках лабораторних клонів *D. aduncus* із сильнозабруднених екоотопів, які вирощували на середовищах зі свинцем, інтенсивність люмінесценції хлорофілу була вищою, ніж у рослин із парку та лісопарку. Очевидно, що в рослинах, які виростили в сильнозабруднених екоотопах, активізуються захисно-приспосувальні механізми, у результаті чого формується стійкість до подальшого впливу ВМ (Щербаченко, Маєвська, 2006).

Важливого значення набувають морфологічні й біохімічні дослідження мохів, основне завдання яких полягає у виділенні тих змін, які пов’язані з їхньою толерантністю до несприятливих чинників (Proctor, 2009). Експериментально рівень стійкості або чутливості конкретного організму можна визначити за його здатністю виживати в умовах високих концентрацій ВМ. На підставі результатів досліджень з неадапованими зразками гігрогідрофітного моху *D. aduncus* показано, що ступінь інгібування росту й розвитку є одним з початкових візуальних симптомів токсичності поллютантів, які надалі призводять до зменшення темпів вегетативного відтворення.

Із підвищенням у середовищі концентрації солей свинцю або кадмію спостерігали значне пригнічення регенераційної активності, визначене за допомогою індексу толерантності й зменшення довжини пагонів *D. aduncus*, порівняно з контролем. Вплив підвищених концентрацій ВМ призводив до значного порушення ростових процесів і, навіть, загибелі рослин. Подібні ростові зміни було виявлено й в інших вищих рослинах під впливом ВМ (Караваєв и др., 2001; Таланова и др., 2001; Титов и др., 2007; Sandalio et al., 2001).

Особливої уваги заслуговує дослідження впливу поллютантів на ріст листків, як основних органів фотосинтезу рослин. Підвищення їх концентрації у природному середовищі призводить до значного зменшення площі листової пластинки, що є однією з причин зниження інтенсивності фотосинтезу (Krämer et al., 2000; Sandalio et al., 2001). У наших дослідженнях було виявлено знебарвлення, зменшення розмірів і відмирання листків *D. aduncus*, некроз їх клітин (Щербаченко, 2005). Отримані дані свідчать про чутливість ростових процесів мохоподібних перезволожених місцевиростань до надлишку ВМ.

Регенераційна здатність пагонів *D. aduncus* залежала від вмісту іонів свинцю та/або кадмію в середовищі й умов вирощування (піщана або водна культура). У піщаних культур моху зміни ростової і фотосинтетичної активності були меншими. Можна припустити, що водні культури були чутливішими

до забруднення, ніж вирощені на піску, що, очевидно, пов'язано з різною інтенсивністю нагромадження й детоксикації ВМ у клітинах моху (Щербаченко, 2005).

Аналіз літературних даних (Di Toppi et al., 1999; Гуральчук, 2001; Караваев и др., 2001; Серегин, Иванов, 2001; Титов и др., 2003; Казнина и др., 2005), а також результати наших досліджень свідчать про концентраційну залежність між вмістом ВМ у поживному середовищі та ростовими й асиміляційними показниками рослин. Окрім того встановлено, що ступінь інгібування ростових процесів моху залежить від токсичності конкретного металу та умов вирощування (піщана або водна культура).

Вважають, що пригнічення ростових процесів під впливом поллютантів може бути наслідком як прямого їх впливу на поділ і розтяг клітин (передусім унаслідок високої спорідненості металів з SH-групами білків), так й опосередкованого їх впливу, спричиненого, наприклад, порушенням мінерального живлення (Титов и др., 2003), гормонального балансу (Шакирова, 2001), фотосинтезу й дихання (Sandalio et al., 2001; Kosobrukhov et al., 2004; Казнина, и др., 2005).

Фотосинтез є одним із найважливіших фізіологічних процесів, який визначає ріст і продуктивність рослин. Вважають, що зниження рівня фотосинтезу під впливом ВМ пов'язане, передусім, зі зміною вмісту фотосинтетичних пігментів (Бессонова, 1999; Таланова и др., 2001; Sandalio et al., 2001; Титов и др., 2003; Khudsar et al., 2004).

Під впливом поллютантів у моху перезвожених місцевиростань змінювалися й внутрішньоклітинні метаболічні процеси. Зокрема встановлено, що іони цих металів, особливо кадмію, спричиняли порушення функціонування фотосинтетичного апарату *D. aduncus* не лише внаслідок індукції процесу вільнорадикального окиснення тилакоїдних мембран хлоропластів, а й зменшення загального вмісту хлорофілу, деградації хлорофілів *a* і *b*, які відіграють основну роль у поглинанні та збереженні сонячної енергії під час фотосинтезу. Відзначено зменшення вмісту хлорофілів *a* і *b* в листках багатьох вищих рослин під впливом високих концентрацій кадмію (Khudsar et al., 2004), свинцю (Kosobrukhov et al., 2004), міді (Burzyński, Kłobus, 2004), цинку (Panda et al., 2003; Khudsar et al., 2004). Очевидно, вони, діючи на живі тканини листка, змінюють у них рівень хлорофілу, що можна розглядати як "захисну" фазу гальмування, під час якої відбувається інтенсивне поновлення пігментів.

Каротиноїди зазнають меншого негативного впливу ВМ, порівняно з хлорофілами. Оскільки каротиноїди розглядають як один з чинників, що забезпечує стійкість рослин в умовах стресу, можна припустити, що збереження вмісту цих пігментів на високому рівні пов'язано з їх захисною функцією (Таланова и др., 2001; Foyer, Harbinson, 2005).

Виявлено збільшення у загальному пігментному складі *D. aduncus* частки хлорофілу *b* і каротиноїдів – жовтих пігментів фотозахисту фотосинтетичних мембран, які перехоплюють енергію від збудженого хлорофілу й перешкоджають тим самим утворенню вільних радикалів, а також беруть участь у

регуляції в'язкості мембран тилакоїдів та їх металостійкості. Підвищення вмісту каротиноїдів на низьких концентраціях важких металів свідчить про захисну роль цих пігментів у клітинах мохів перезвожених місцевиростань від фоторедукції та пероксидного окиснення фотосинтетичних компонентів (Щербаченко, Демків, 2007).

Руйнуванню хлорофілу листків рослин під впливом несприятливих чинників передують зміни в пластидах, а саме зростання рівня пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) мембран хлоропластів. Додатковим джерелом активних форм кисню (АФК) у рослинному організмі, окрім дихання, притаманного для всіх еукаріотів, є процеси фотосинтезу. До того ж, у складі мембран рослинних клітин міститься значна кількість ненасичених жирних кислот, які є основними мішенями для АФК. Взаємодіючи з ненасиченими жирними кислотами, АФК зумовлюють пошкодження плазмалеми та мембран клітинних органел. Пошкодження плазмалеми призводить до зміни її проникності й порушення цілісності клітини. Окиснення мембран мітохондрій пригнічує дихальну активність, пошкодження гліколіпідів у мембранах хлоропластів зумовлює розпад фотосинтетичних пігментів і призводить до втрати хлоропластами карбон-фіксувальної здатності (Schopfer et al., 2001). Окиснення ненасичених жирних кислот мембран може набувати самопришвидшуваного характеру, оскільки, утворені в результаті взаємодії АФК з ненасиченими жирнокислотними групами ліпідів, радикали окислюють сусідні ліпіди мембрани. Таким чином виникає ланцюгова реакція ПОЛ.

Під впливом ВМ у клітинах утворюється надлишкова кількість активних форм кисню, які спричиняють окиснювальні пошкодження ліпідів, білків, нуклеїнових кислот і порушення клітинного метаболізму рослин (Клеточные механизмы..., 2003; Терек, 2004). Встановлено, що у пагонах *D. aduncus* низькі концентрації $Pb(NO_3)_2$ спричиняли неістотні зміни вмісту пероксиду водню, порівняно з контролем, тоді як під впливом надлишку іонів свинцю його вміст перевищував показники контролю в 1,3 і 1,5 рази. У варіантах дослідів із $CdCl_2$ концентрація пероксиду підвищувалася пропорційно до вмісту металу в середовищі. Підтримання вмісту пероксиду водню на низькому рівні в умовах впливу низьких концентрацій металів може свідчити про високий адаптивний потенціал рослинних антиоксидантів.

Інтенсивність вільнорадикального окиснення ліпідів рослинних мембран часто оцінюють за інтенсивністю спонтанної хемілюмінесценції та кількістю вторинних продуктів: гідропероксидів, ТБК-активних сполук, дієнових кон'югатів. У відповідь на стресові впливи у клітинах істотно підвищується вміст ТБК-активних сполук, які є одними з кінцевих продуктів ПОЛ і можуть слугувати показником активності окиснювальних процесів, зумовлених кисневими радикалами (Panda et al., 2003; Терек, 2004).

Установлено, що 10,0 і 100,0 мкМ $Pb(NO_3)_2$ та 1,0-100,0 мкМ $CdCl_2$ спричиняли достовірне збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у водних культур *D. aduncus*. У піщаних культурах моху істотне зростання рівня ПОЛ відбувалося під впливом 100,0 мкМ $Pb(NO_3)_2$ та 10,0-100,0 мкМ зна-

чно токсичнішого CdCl₂. Отже, із підвищенням вмісту ВМ відбувалося значне нагромадження ТБК-активних сполук у клітинах моху перезволожених місцевиростань, що свідчить про активацію процесів ліпопероксидації (Щербаченко, Демків, 2013).

На підставі отриманих результатів токсичного впливу полютантів установлено, що збільшене утворення високотоксичних, хоча й короткоживучих молекул АФК є загальним сигналом тривоги, який спричиняє модифікацію генної експресії (Колупаєв, 2001) та посилення метаболізму клітин (Щербаченко, Демків, 2007). За невеликих кількостей АФК відіграють роль посередників у сигнальних системах, але їх надмірне нагромадження пошкоджує мембрани та життєво важливі метаболічні шляхи клітини (Колупаєв, 2001). Іони свинцю й кадмію індукували окислювальний стрес у клітинах *D. aduncus*, який супроводжувався зростанням вмісту пероксиду водню й ТБК-активних продуктів ПОЛ.

Важливу роль у захисних реакціях рослин під впливом ВМ виконують антиоксидантні ферменти (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза), активність яких значно підвищується в умовах стресу і сприяє нейтралізації вільних радикалів і пероксидів. Тому активацію антиоксидантних ферментів вважають одним із найважливіших неспецифічних механізмів захисту рослин від окиснювальної деструкції, що виникає під впливом стресових чинників (Колупаєв, 2001; Холодова и др., 2005). Це зумовлює підвищення стійкості рослин до токсичного впливу полютантів (Кузнецов, Дмитриева, 2006; Титов и др., 2007; Трач, Стороженко, 2007). Окрім того, активація пероксидази під впливом іонів металів сприяє розвитку процесів суберинізації та лігніфікації (Холодова и др., 2005), що також є одним з механізмів підвищення стійкості рослин.

Відомо, що рівні АФК, як і їхні сигнальні властивості, задіяні в регуляції експресії геному, пов'язані з механізмами адаптації до стресу та набуття толерантності (Клеточные механизмы..., 2003). Токсичний вплив іонів свинцю й кадмію призводив до посилення ПОЛ у клітинах та індукував зростання активності ферментів антиоксидантної системи *D. aduncus* (Щербаченко, Демків, 2007).

Толерантність мохів значною мірою визначається силою та тривалістю дії стресового фактора. Залежно від умісту ВМ у середовищі, встановлено істотне зростання концентрації активних форм кисню та посилення процесів вільнорадикального окиснення в клітинах *D. aduncus*. Показано, що процеси пероксидації та антиоксидантного захисту цього виду взаємопов'язані та є важливим показником впливу іонів свинцю та кадмію на рослинний організм (Щербаченко, Демків, 2013).

Толерантність моху до техногенного забруднення прямо корелювала з підвищеним рівнем активності компонентів антиоксидантної системи захисту. Так, на підставі кореляції між підвищенням вмісту ТБК-активних продуктів та активністю СОД встановлено пряму залежність між здатністю *D. aduncus* до детоксикації АФК та його толерантністю. Окрім того, отримані нами результати можуть свідчити, що активність СОД є чутливою до редокс-стану

клітини, тому збільшення вмісту АФК в умовах оксидного стресу є сигналом до її активації. Тому про/антиоксидантна система стабільно створює динамічну метаболічну взаємодію між сприйняттям стресу рослинною клітиною та її фізіологічною відповіддю.

У стрес-реакціях піщаних культур *D. aduncus* спостерігали істотніше підвищення активності антиоксидантів, порівняно з його водними культурами. Проте, в обох випадках антиоксидантний захист моху ефективно запобігав і гальмував розвиток паталогічних змін у клітинах. Виявлено, що активність СОД підвищувалася зі зростанням умісту важких металів у середовищі. Показники активності ферменту були вищими в піщаних культур моху, порівняно з водними. Показники активності каталази й пероксидази у пагонах моху також збільшувалися з підвищенням умісту H_2O_2 . Узгоджена діяльність антиоксидантних ферментів перешкоджала утворенню високотоксичних радикалів і сприяла підтриманню їх стабільного рівня у клітині. Імовірно, що пероксидаза та каталаза задіяні в різних реакціях, оскільки мають не лише різні механізми каталітичного впливу на H_2O_2 , а й різну спорідненість і чутливість до нього (Клеточные механизмы..., 2003; Foyer, Harbinson, 2005). Збільшення активності каталази й пероксидази в листкостеблових пагонах *D. aduncus*, очевидно, є реакцією на підвищення інтенсивності окиснювальних процесів під впливом ВМ. Отже, у захисті клітин *D. aduncus* від окислювальної деструкції, зумовленої надлишком H_2O_2 , СОД, каталаза й пероксидаза відіграють значну роль.

Підвищення активності антиоксидантних ферментів можна розглядати як один із найважливіших захисних механізмів протидії окислювальній деструкції в умовах стресу, що сприяє підвищенню толерантності моху перезволожених місцевиростань до токсичного впливу важких металів (Щербаченко, Демків, 2013). Нагромадження АФК є первинним медіатором стресу в клітинах, який ініціює розвиток толерантності мохоподібних. Посилення генерації АФК спричинялося особливостями стресового стану органел, унаслідок безпосередньої активації АФК-генеруючих ферментів. Клітинні системи детоксикації активних форм кисню мають високу чутливість і пластичність в умовах стресу. Загалом же індукція захисних реакцій, напевно, відбувалася як складна взаємодія сигнальних інтермедіатів за принципами взаємопідсилення (до певної межі) та/або антагонізму.

Таким чином, для рослин характерне існування великої кількості різноманітних механізмів захисту й детоксикації, що сприяють їхньому росту й розвитку в умовах надлишку ВМ у природному середовищі. Усі ці механізми й зміни метаболізму забезпечують підтримання клітинного гомеостазу й підвищення металостійкості. Ефективність захисних механізмів поруч з іншими фізіолого-біохімічними змінами визначає стійкість рослин. Однак, кожен з цих механізмів, взятий окремо, очевидно, не здатний повністю забезпечити необхідний рівень стійкості рослин і лише узгоджена діяльність різноманітних механізмів дає їм можливість переносити вплив високих концентрацій поллютантів.

На підставі проведених експериментальних досліджень впливу іонів свинцю і кадмію на ріст, розвиток та активність антиоксидантного захисту *D. aduncus* можна припустити, що саме можливість активації багатокомпонентних сигнальних систем призводить до формування толерантності бріофітів перезвожених місцевиростань до стресових чинників. Скоординована інтеграція компенсаційних систем преадаптацій, перерозподіл, компартиментация, екзоцитоз і детоксикація іонів ВМ в екстремальних умовах забруднення сприяє виживанню мохів перезвожених місцевиростань і формуванню механізмів їх толерантності.

D. aduncus завдяки особливостям мінерального живлення, простоті культивування й достатній вивченості його основних фізіологічних реакцій є адекватним об'єктом для діагностики екологічного стану природного середовища. Встановлено, що мохоподібним перезвожених місцевиростань властива висока поглинальна здатність і чутливість до надлишку поллютантів, тому їх використання для моніторингу екологічного стану природного середовища дасть можливість охопити різні рівні забруднення – від тих, які не впливають на функціонування екосистем, до тих, які становлять реальну загрозу для їх функціонування та життєдіяльності.

Наші дослідження вказують на необхідність моніторингу рівнів забруднення перезвожених екотопів, розташованих поблизу вулиць з інтенсивним транспортним рухом. У зв'язку з цим, пропонується використання *D. aduncus* для діагностики рівнів забруднення ВМ перезвожених екотопів та їх очищення:

- пасивний моніторинг – спостереження за ростом і розвитком моху на постійних дослідних ділянках для встановлення динаміки забруднення, проведення попередньої оцінки рівнів забруднення за допомогою цитохімічного експрес-методу, що дає можливість виявити вміст ВМ у гаметофіті моху перезвожених екотопів навіть за низьких їх значень;

- активний моніторинг – оцінка рівнів забруднення на підставі встановленої від'ємної кореляції між інтенсивністю ростових процесів моху, вмістом фотосинтетичних пігментів і нагромадженням іонів металів у разі пересаджування моху в забруднені екотопи. Метод доцільно застосовувати для виявлення рівнів забруднення, які наближаються до рівня гранично допустимих концентрацій ВМ;

- фіторе mediaція – метод полягає у здатності рослин поглинати підвищені рівні ВМ та акумулювати їх у біомасі. Екологічно пластичний *D. aduncus* завдяки інтенсивному вегетативному розмноженню пагонів розповсюджується на значних площах, накопичує поллютанти й зв'яже їх у клітинах, що сприяє очищенню середовища.

- ГУРАЛЬЧУК Ж. З. Акумуляція кадмію та вміст елементів мінерального живлення в рослинах // Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – Т. 1. – С. 183-186.
- ДЕМКІВ Л. О. Реакція мохів на токсичну дію важких металів. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – К., 1996. – 22 с.
- КАЗНИНА Н. М., ЛАЙДИНЕН Г. Ф., ТИТОВ А. Ф., ТАЛАНОВ А. В. Влияние свинца на фотосинтетический аппарат однолетних злаков // Изв. РАН. – 2005. – № 2. – С. 184-188.
- КАРАВАЕВ В. А., БАУЛИН А. М., ГОРДИЕНКО Т. В. и др. Изменения фотосинтетического аппарата листьев бобов в зависимости от содержания тяжелых металлов в среде выращивания // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, № 1. – С. 47-54.
- КИЯК Н. Я. Фізіолого-біохімічні механізми адаптації епіфітного моху *Leskea polysarpha* до токсичної дії важких металів // Живлення рослин: теорія і практика. – К.: Логос, 2005. – С. 509-519.
- КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ / [Е. Л. Кордюм, К. М. Сытник, В. В. Бараненко и др.]; под ред. Е. Л. Кордюм. – К.: Наук. думка, 2003. – 277 с.
- КОЛУПАЄВ Ю. Є. Стресові реакції рослин (молекулярно-клітинний рівень). – Харків, 2001. – 173 с.
- КОРШИКОВ И. И. Адаптация растений к условиям техногенно загрязненной среды. – К.: Наук. думка, 1996. – 238 с.
- КУЗНЕЦОВ ВЛ. В., ДМИТРИЕВА Г. А. Физиология растений. – М.: Высшая школа, 2006. – 742 с.
- МАМЧУР З. І. Епіфітні мохоподібні промислових міст Львівської області. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – К., 1997. – 22 с.
- МАШТАЛЕР О. В. Біомоніторинг видами Вгруппы техногенно трансформованого середовища південного сходу України. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Дніпропетровськ, 2007. – 20 с.
- СЕРЕГИН И. В., ИВАНОВ В. Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, № 4. – С. 606-630.
- СЕРЕГИН И. В., КОЖЕВНИКОВА А. Д. Физиологическая роль никеля и его токсическое действие на высшие растения // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 2. – С. 285-308.
- ТАЛАНОВА В. В., ТИТОВ А. Ф., БОТЕВА Н. П. Влияние свинца и кадмия на проростки ячменя // Физиология и биохимия культурных растений. – 2001. – Т. 33, № 1. – С. 33-37.
- ТЕРЕК О. І. Механізми адаптації та стійкості рослин до несприятливих факторів довкілля // Журн. агробіології та екології. – 2004. – Т. 1, № 1-2. – С. 41-56.
- ТИТОВ А. Ф., ТАЛАНОВА В. В., ЛАЙДИНЕН Г. Ф. и др. Влияние тяжелых металлов на растения: эколого-физиологические аспекты // Наземные и водные экосистемы Северной Европы: Управление и охрана. – Петрозаводск, 2003. – С. 152-157.
- ТИТОВ А. Ф., ТАЛАНОВА В. В., КАЗНИНА Н. М., ЛАЙДИНЕН Г. Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. – Петрозаводск: Карельский науч. центр, 2007. – 170 с.
- ТРАЧ В. В., СТОРОЖЕНКО В. А. Супероксиддисмутаза как компонент антиоксидантной системы растений при абиотических стрессовых воздействиях // Физиология и биохимия культурных растений. – 2007. – Т. 39, № 4. – С. 291-302.
- ФЕНИК С. И., ТРОФИМЯК Т. Б., БЛЮМ Я. Б. Механизмы формирования устойчивости растений к тяжелым металлам // Усп. соврем. биол. – 1995. – 115, № 3. – С. 261-275.
- ХОЛОДОВА В. П., ВОЛКОВ К. С., КУЗНЕЦОВ ВЛ. В. Адаптация к высоким концентрациям солей меди и цинка растений хрустальной травки и возможность их использова-

- ния в целях фиторемедиации // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 6. – С. 848-858.
- ЧИРКОВА Т. В. Физиологические основы устойчивости растений. – Санкт-Петербург, 2002. – 244 с.
- ШАКИРОВА Ф. М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. – Уфа: Гилем, 2001. – 160 с.
- ШЕВЯКОВА Н. И., НЕТРОНИНА И. А., АРОНОВА Е. Е. и др. Распределение Cd и Fe в растениях *Mesembryanthemum crystallinum* при адаптации к Cd-стрессу // Физиология растений. – 2003. – Т. 50, № 5. – С. 756-763.
- ЩЕРБАЧЕНКО О. І. Вплив свинцю на ріст і розвиток моху *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія Біологія. – 2005. – Вип. 25 – № 1-2. – С. 120-123.
- ЩЕРБАЧЕНКО О., ДЕМКІВ О. Акумуляція важких металів прибережними мохами у водних екосистемах м. Львова // Праці Наук. товариства ім. Шевченка [Екологіч. Збірник]: Екологічні проблеми Карпатського регіону. – Львів: Вид-во НТШ, 2003. – Т. 12. – С. 365-369.
- ЩЕРБАЧЕНКО О. І., ДЕМКІВ О. Т. Особливості реакцій моху *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. на вплив важких металів // Вісник Харківського національного аграрного університету. Сер. Біологія. – 2007. – Вип. 2 (11). – С. 52-57.
- ЩЕРБАЧЕНКО О. І., ДЕМКІВ О. Т. Толерантність моху *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. і його адаптація до впливу іонів свинцю // Физиология растений и генетика. – 2013. – Т. 45, № 4. – С. 227-333.
- ЩЕРБАЧЕНКО О. І., МАЄВСЬКА С. М. Адаптивні реакції мохів на вплив іонів свинцю // Вісник Львівського університету. Сер. біологічна. – 2006. – Вип. 41. – С. 137-141.
- ЩЕРБАЧЕНКО О. І., РАБИК І. В. Мохоподібні прибережної зони водойм м. Львова // Наукові записки державного природознавчого музею. – Львів, 2004. – 19. – С. 39-46.
- BATES J. W. Mineral nutrition, substratum ecology and pollution / Bryophyte Biology; eds. A. J. Shaw and B. J. Goffinet. – Cambridge University Press, 2009. – 343 p.
- BENAVIDES F., VEENSTRA J. N. The impact of tropical deforestation on river chemical pollution // Global NEST Journal. – 2005. – Vol. 7, № 2. – P. 180-187.
- BRYOPHYTE BIOLOGY / eds. A. J. Shaw, B. Coffinet. – Cambridge: Cambridge University Press, 2000. – 476 p.
- BURZYŃSKI M., KŁOBUS G. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd and Pb stress // Photosynthetica. – 2004. – Vol. 42, № 4. – P. 505-510.
- COVBETT C. S. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy metal detoxification // Current Opinion in Plant Biology. – 2000. – Vol. 3. – P. 211-216.
- DI TOPPI L. S., LAMBARDI M., PAZZAGLI L. Response to cadmium in carrot in vitro plants and cell suspension cultures // Plant Science. – 1999. – Vol. 137. – P. 119-129.
- FOYER C. H., HARBINSON J. V. Redox homeostasis and antioxidant signaling. A metabolic interface between stress perception and physiological responses // Plant Cell. – 2005. – Vol. 17, № 5. – P. 1866-1876.
- GLIME G. M. Bryophyte ecology. – 2006. <http://www.bryoecol.mtu.edu>
- GLOSCHENKO A. A. Sphagnum fuscum moss as an indicator of atmospheric cadmium deposition across Canada // Environ. Pollut. – 1995. – № 57. – P. 23-33.
- GUERINOT M. L. The ZIP family of metal transporters // Biochim. Biophys. Acta. – 2000. – Vol. 1465. – P. 190-198.
- HALL J. L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance // J. experimental botany. – 2002. – Vol. 53, № 366. – P. 1-11.

- HAYDON M. J., COBBETT C. S. Transporters of ligands for essential metal ions in plants // *New Phytol.* – 2007. – Vol. 174. – P. 499-506.
- HEISS S., WACHTER A., BOGS J. ET AL. Phytochelatin synthase (PCS) protein is induced in *Brassica juncea* leaves after prolonged Cd exposure // *J. experimental botany.* – 2003. – Vol. 54, № 389. – P. 1833-1839.
- KHUDSAR T., IQBAL MAHMOODUZZAFAR M., SAIRAM R. K. Zinc-induced changes in morpho-physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* // *Biol. Plant.* – 2004. – Vol. 48, № 2. – P. 255-260.
- KOSOBROUKHOV A., KNYAZEVA I., MUDRIK V. *Plantago major* plants responses to increase content of lead in soil: growth and photosynthesis // *Plant Grow Regul.* – 2004. – Vol. 42. – P. 145-151.
- KRÄMER U., PICKERING I. J., PRINCE R. C. ET AL. Subcellular Localization and Speciation of Nickel in Hyperaccumulator and Non-Accumulator *Thlaspi* Species // *Plant Physiol.* – 2000. – Vol. 122, № 4. – P. 1343-1353.
- MEHARG A. A. Mechanisms of plant resistance to metal and metalloids ions and potential biotechnological applications // *Plant Soil.* – 2005. – Vol. 274. – P. 163-174.
- NAKASAWA R., KATO H., KAMEDA Y., TAKENADA H. Optimum assay conditions of the activity of phytochelatin synthase from tobacco cells // *Biol. Plant.* – 2002. – Vol. 45, № 2. – P. 311-313.
- ONIANWA P. C. Monitoring atmospheric metal pollution: a review of the use of mosses as indicators // *Environ. Monit. Asses.* – 2001. – Vol. 71, № 1. – P. 13-50.
- PANDA S. K., CHAUDHURY I., KHAN M. N. Heavy metals induce lipid peroxidation and affect antioxidants in wheat leaves // *Biol. Plant.* – 2003. – Vol. 46. – P. 289-294.
- PROCTOR M. C. F. *Physiological ecology / Bryophyte Biology*; eds. B. Goffinet, A. J. Shaw. – Cambridge University Press, 2009. – P. 225-248.
- RAMOS I., ESTEBAN E., LUCENA J. J., GARATE A. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants *Lactuca sp.* Cd-Mn interaction // *Plant Sci.* – 2002. – Vol. 162. – P. 761-767.
- REIMANN C., NISKAARA H., KASHULINA G. ET AL. Critical remarks on the use of terrestrial moss (*Hylocomnium splendens* and *Pleurozium schreberi*) for monitoring of airborne pollution // *Environ. Pollut.* – 2001. – Vol. 113, № 1. – P. 41-57.
- SANDALIO L. M., DALURZO H. C., GOMES M. ET AL. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants // *J. Exp. Bot.* – 2001. – Vol. 52, № 364. – P. 2115-2126.
- SCHOPFER P., PLACHY C., FRAHRY G. Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light, gibberellin and abscisic acid // *Plant Physiol.* – 2001. – Vol. 125. – P. 1591-1602.
- THOMINE S., LEEVRE F., DEBARBIEUX E. ET AL. AtNRAMP3, a multispecific vacuolar metal transporter involved in plant responses to iron deficiency // *Plant J.* – 2003. – Vol. 34. – P. 685-695.
- VAN HOOF N. A. L., HASSINEN V. H., HAKVOORT H. W. K. ET AL. Enhanced copper tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garcke population from copper mines is associated with increased transcript levels of a 2b-type metallothionein gene // *Plant Physiol.* – 2001. – Vol. 127. – P. 1519-1526.

ПРИРОДА ТОЛЕРАНТНОСТИ МХА *DREPANOCLADUS ADUNCUS* (HEDW.) WARNST. К ВОЗДЕЙСТВИЮ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

О. И. ЩЕРБАЧЕНКО

В статье рассмотрен вопрос о природе толерантности мха переувлажненных местообитаний – *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. к воздействию тяжелых металлов. Приведены результаты исследований особенностей накопления ионов тяжелых металлов в клетках мха переувлажненных местообитаний и его защитных реакций на токсическое воздействие загрязнителей, способствующих его выживанию и формированию механизмов устойчивости к стрессовым факторам. Экологически пластичный мох *D. aduncus* способен расти на техногенно загрязненных территориях и накапливать повышенные концентрации тяжелых металлов, что свидетельствует о перспективности его использования для диагностики уровней загрязнения природной среды и фиторемедиации.

Ключевые слова: тяжелые металлы, накопление, индекс толерантности, песчаная и водная культуры, адаптивные реакции, устойчивость, *Drepanocladus aduncus*

THE NATURE OF TOLERANCE OF MOSS *DREPANOCLADUS ADUNCUS* (HEDW.) WARNST. TO THE EFFECTS OF HEAVY METALS

O. I. SCHERBACHENKO

The article is devoted to investigation of the nature of tolerance of moss *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst. from overmoistened areas to the influence of heavy metals. The results of analysis of the heavy metal ions accumulation in moss cells and its protective reactions to toxic effect of pollutants, providing moss survival and its resistance to stressors, are presented. Moss ability to accumulate increased concentrations of toxic metals depending on pollution level of the overmoistened ecotopes was established for the first time. The results of investigations indicate a high plasticity of moss under heavy metal stress, which allows to use the studied species for bryoindication and phytoremediation of polluted territories.

Key words: heavy metals, accumulation, tolerance index, sandy and water cultures, adaptive reactions, tolerance, *Drepanocladus aduncus*

Надійшла 02.09.2013

Прийнята до друку 22.10.2013

ЩЕРБАЧЕНКО О. І. Інститут екології Карпат НАН України, вул. Стефаніка, 11, м. Львів, 79000, Україна; e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua

SCHERBACHENKO O. I. Institute of Ecology of the Carpathians NAS of Ukraine, 11 Stefanik St, Lviv, 79000, Ukraine; e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua