

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ ЕКОЛОГІЇ КАРПАТ НАН УКРАЇНИ**

**СТІЙКІСТЬ ТА АДАПТИВНІ  
СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ МОХІВ  
ПІД ВПЛИВОМ АБІОТИЧНИХ СТРЕСОРІВ  
В УМОВАХ АНТРОПОГЕННО ТРАНСФОРМОВАНОГО  
СЕРЕДОВИЩА**

**За редакцією  
кандидата біологічних наук  
О.В. Лобачевської**

**Львів – 2022**

Лобачевська О.В., Кияк Н.Я., Баїк О.Л., Хоркавців Я.Д., Соханьчак Р.Р., Карпинець Л.І., Бойко І.В., Бешлей С.В., Рабик І.В., Щербаченко О.І., Кіт Н.А. **Стійкість та адаптивні структурно-функціональні зміни мохів під впливом абіотичних стресорів в умовах антропогенно трансформованого середовища** : монографія / За ред. к.б.н. О.В. Лобачевської. – Львів: ГАЛИЧ-ПРЕС, 2022. – 280 с.

У книзі представлено результати досліджень екофізіологічних адаптивних реакцій мохів: конститутивного захисту та індукованих морфо-функціональних пристосувань до впливу стресових чинників на техногенно змінених територіях Язівського і Роздільського сірчаних родовищ, породних відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району, Бориславського нафтогазоконденсатного родовища та хвостосховища Стебницького гірничо-хімічного підприємства "Полімінерал". Встановлено особливості сезонних змін вмісту і співвідношення пігментів, інтенсивності фотосинтезу, збереження прооксидантно/антиоксидантної рівноваги, активності компонентів аскорбат-глутатіонового циклу та вмісту поліфункціональних низькомолекулярних сполук залежно від інтенсивності освітлення, водного і температурного режиму місцевиростань. Оцінено значення активації осморегуляційних процесів, антиоксидантної системи захисту, функцій сигнальних молекул та епігенетичних пристосувань у стійкості мохів до екстремальних умов антропогенно трансформованого середовища. Для науковців у галузі бріології, ботаніки, екології, викладачів, студентів та аспірантів природничих і біологічних спеціальностей.

Lobachevska O.V., Kyiak N.Ya., Baik O.L., Khorkavtsiv Ya.D., Sokhanchak R.R., Karpinets L.I., Boiko I.V., Beshlei S.V., Rabyk I.V., Shcherbachenko O.V., Kit N.A. **Resistance and adaptive structural and functional changes of mosses under the influence of abiotic stressors in conditions of the anthropogenically transformed environment** : monograph / Ed. by PhG. O.V. Lobachevska. – Lviv: HALYCH-PRESS, 2022. – 280 p.

ISBN 978-617-7617-93-7

The book presents results of research of such eco-physiological adaptive reactions of mosses as constitutive protection and induced morphological and functional adaptations to the influence of stress factors on the technogenically changed areas of the Yaziv and Rozdil sulfur deposits, rock dumps of coal mines in the Chervonograd Industrial Coal-Mining Region, the Boryslav oil and gas condensate field, and the tailings storage of the Stebnyk Mining and Chemical Enterprise "Polyminerall". Peculiarities of seasonal changes of the content and ratio of pigments, intensity of photosynthesis, maintenance of pro-oxidant/antioxidant balance, activity of components of the ascorbate-glutathione cycle and content of polyfunctional low-molecular-weight compounds depending on the intensity of light, water and temperature regime of localities have been established. The significance of the activation of the osmoregulation processes, the antioxidant defense system, functions of signaling molecules and epigenetic adaptations in the mosses resistance to extreme conditions of anthropogenically transformed environment was evaluated. For scientists in branches of bryology, botany and ecology, teachers, students and postgraduate students of natural and biological specialties.

Рецензенти: **Гапон С.В.**, доктор біологічних наук, професор кафедри ботаніки, екології та методології навчання біології Полтавського національного педагогічного університету імені В.Г. Короленка

**Кобилецька М.С.**, кандидат біологічних наук, завідувач кафедри фізіології рослин та екології Львівського національного університету імені Івана Франка

*Рекомендовано до друку Вченою радою Інституту екології Карпат НАН України.  
(протокол № 9 від 30 листопада 2022 року)*

Монографія містить результати досліджень з фундаментальних базових тем 0110U000206 і 0115U002646 в рамках тематики НАН України та грантового проекту УНТЦ № 5032.

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b> (Лобачевська О.В.).....	<b>5</b>
<b>1. ТЕОРЕТИЧНІ ПЕРЕДУМОВИ І ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ</b> (Лобачевська О.В.).....	<b>9</b>
1.1. Об'єкти та методики досліджень.....	11
<b>2. ФОТОСИНТЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ ДОМІНАНТНИХ ТА СУБДОМІНАНТНИХ ВИДІВ МОХІВ В УМОВАХ ТЕХНОГЕННОГО СЕРЕДОВИЩА</b> .....	<b>28</b>
2.1. Пластичність пігментів фотосинтетичного апарату мохів на породному відвалі видобутку сірки (Кирик Н.Я., Баїк О.Л.).....	28
2.2. Сезонна та добова динаміка вмісту пігментів та інтенсивності фотосинтезу мохів (Кирик Н.Я., Баїк О.Л.).....	35
2.3. Роль бріфітів у продуктивності рослинного покриву на відвалі видобутку сірки (Кирик Н.Я.).....	45
2.4. Особливості пігментної системи <i>Bryum argenteum</i> в умовах нафтового забруднення (Кирик Н.Я.).....	47
2.5. Сезонні зміни у пігментному комплексі <i>Campylopus introflexus</i> на вершині відвалу шахти “Надія” (Соханьчак Р.Р., Лобачевська О.В.).....	49
2.6. Адаптивні структурно-функціональні зміни фотосинтетичного апарату та інтенсивність фотосинтезу мохів в умовах засолення (Кирик Н.Я.).....	54
<b>3. МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ АДАПТИВНІ ПРИСТОСУВАННЯ МОХІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ВОДНОГО РЕЖИМУ НА ТЕХНОГЕННО ЗМІНЕНИХ ТЕРИТОРІЯХ</b> .....	<b>62</b>
3.1. Структурно-функціональна організація мохових дернин на території Червоноградського гірничо-промислового району (Лобачевська О.В., Соханьчак Р.Р., Бешлей С.В.).....	62
3.2. Водний режим мохів із різною чутливістю до дефіциту вологи на території відвалу видобутку сірки (Кирик Н.Я.).....	68
3.3. Фізіологічні показники водного режиму рослин <i>Bryum argenteum</i> на нафтозабрудненій території (Кирик Н.Я.).....	76
3.4. Морфо-фізіологічні адаптивні реакції <i>Bryum argenteum</i> та <i>Brachythecium salebrosum</i> на території видобутку сірки за нестачі вологи (Кім Н.А.) .....	80

3.5. Порівняльний аналіз толерантності до дефіциту вологи вегетативних та генеративних клонів мохів із фонових і порушених територій (Щербаченко О.І., Kim Н.А.).....	86
3.6. Особливості накопичення біогенних і токсичних хімічних елементів та морфо-фізіологічні пристосування мохів до змін інтенсивності освітлення, вологості і рН техногенного субстрату відвалу фосфогіпсу Новороздільського ДГХП “Сірка” (Щербаченко О.І., Рабик І.В.).....	92
<b>4. АКТИВНІСТЬ КОМПОНЕНТІВ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ МОХІВ В УМОВАХ СТРЕСУ.....</b>	<b>98</b>
4.1. Пластичність компонентів глутатіон-аскорбатного циклу в стресових умовах (Кирик Н.Я.).....	98
4.2. Прооксидантно-антиоксидантна система <i>Bryum argenteum</i> в умовах нафтового забруднення (Кирик Н.Я.).....	105
4.3. Мінливість спектрів кислих розчинних білків і термостабільність пероксидази та супероксиддисмутази мохів екстремальних умовах відвалу видобутку сірки (Баїк О.Л.).....	112
4.4. Показники оксидного стресу у <i>Ptychostomum imbricatum</i> (Müll. Hal.) Holroyd & N. Pedersen під впливом високої температури й інтенсивності освітлення (Баїк О.Л.) .....	123
4.5. Стрес-індуковані зміни загальної антиоксидантної активності у <i>Ptychostomum imbricatum</i> залежно від інтенсивності освітлення та температурного режиму на відвалах видобутку сірки (Баїк О.Л.) .....	129
4.6. Вміст фенолів і активність поліфенолоксидази в гаметофіті <i>Ceratodon purpureus</i> , <i>Campylopus introflexus</i> та <i>Bryum argenteum</i> у різних умовах місцевиростань (Бешлей С.В., Соханьчак Р.Р., Лобачевська О.В., Карпінець Л.І.).....	139
4.7. Формування адаптивних реакцій у <i>Ceratodon purpureus</i> за участі хлорофілази та метаболітів оксиду азоту (Соханьчак Р.Р., Бешлей С.В.).....	148
<b>5. ФЕНОТИПНА ПЛАСТИЧНІСТЬ ДОМІНАНТНОГО МОХУ CERATODON PURPUREUS В УМОВАХ ВІДВАЛУ ШАХТИ “НАДІЯ” ТА ЦЕМЕНТНОГО ЗАБРУДНЕННЯ</b>	

<b>ПАТ “МИКОЛАЇВЦЕМЕНТ” .....</b>	<b>155</b>
5.1. Акумулятивні властивості рослин моху в різних умовах техногенно трансформованого середовища (Лобачевська О.В.).....	155
5.2. Морфологічна структура дернин та адаптивні морфологічні модифікації пагонів моху (Лобачевська О.В.).....	158
5.3. Статева структура мохових дернин та їх репродуктивна здатність як прояв адаптогенезу до умов порушених територій (Лобачевська О.В.).....	159
5.4. Сезонна динаміка фотохімічної активності хлоропластів та кількісного й якісного складу фотосинтетичних пігментів (Лобачевська О.В.).....	160
5.5. Сезонна динаміка вмісту вільного проліну у пагонах <i>Ceratodon purpureus</i> залежно від умов місцезростання на відвалах вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового комплексу (Карпінець Л.І.).....	166
<b>6. БРЮФІТИ ЯК МОДЕЛЬ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕПІГЕНЕТИЧНОЇ ПРИРОДИ ПРИСТОСУВАНЬ РОСЛИН В УМОВАХ СТРЕСУ .....</b>	<b>169</b>
6.1. Захисні реакції клону <i>Tortula caucasica</i> Broth. до дії ртуті (Хоркавців Я.Д., Баїк О.Л., Лобачевська О.В.).....	170
6.2. Участь пероксидази в епігенетичній адаптації <i>Tortula caucasica</i> (Хоркавців Я.Д., Баїк О.Л., Лобачевська О.В.).....	175
6.3. Епігенетична адаптація <i>Tortula caucasica</i> (Хоркавців Я.Д.).....	178
6.4. Реакційні системи клітинної пам'яті рослин та основні механізми епігенетичної регуляції активності генів (Хоркавців Я.Д.).....	181
<b>7. ОЦІНКА ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКІВ КОНСТИТУТИВНОЇ СТІЙКОСТІ ТА ІНДУКОВАНИХ ЗМІН МОХІВ З РІЗНОЮ ЖИТТЄВОЮ СТРАТЕГІЄЮ У СТРЕСОВИХ УМОВАХ .....</b>	<b>189</b>
7.1. Мінливість вмісту пероксиду водню та вуглеводів в умовах дегідратації та регідратації у мохів із різною стійкістю до висушування (Лобачевська О.В., Бойко І.В.)	189
7.2. Морфо-фізіологічні пристосування мохів як прояви конститутивних і стрес-індукованих змін до періодичного висушування (Лобачевська О.В., Бойко І.В.).....	193
7.3. Стрес-індуковані реакції мохів на періодичне	

короткочасне та тривале висушування залежно від водного режиму їх місцевиростань ( <i>Лобачевська О.В.</i> ).....	199
7.4. Дослідження ролі конститутивних та індукованих адаптивних механізмів у стійкості бріофітів до засолення на території хвостосховища Стебницького ГХП “Полімінерал” ( <i>Кияк Н.Я.</i> ).....	210
<b>8. ПІДСУМКИ</b> ( <i>Лобачевська О.В.</i> ).....	<b>218</b>
8.1. Мохоподібні як модель дослідження екофізіологічної адаптації до умов природного середовища ( <i>Лобачевська О.В.</i> ).....	218
8.2. Механізми стійкості мохів до стресу та їх адаптивне значення в мінливих умовах антропогенно трансформованого середовища ( <i>Лобачевська О.В.</i> ).....	231
<b>ЛІТЕРАТУРА</b> .....	<b>240</b>

## ВСТУП

Мохоподібні є важливими компонентами в багатьох екосистемах – від тропіків до полярних регіонів. Залежно від фізіологічних реакцій, продуктивності й активності метаболізму толерантні види мохоподібних нагромаджують значні кількості поживних речовин та органічного вуглецю в несприятливих кліматичних умовах, що є визначальним для функціонування екосистем з підвищеною напруженістю абіотичних чинників. Вивчення впливу на рослинний організм екологічних факторів є однією з центральних проблем сучасної біології, яка набуває особливої актуальності у зв'язку з глобальними екологічними змінами та зростанням антропогенного навантаження на екосистеми.

Бріофіти відіграють важливу роль в успішних процесах на девастованих територіях (видобутку сірки, вугілля, нафти, торфу, магнієвих та калійних солей), на яких спочатку інші рослини не можуть рости. Заселяючи такі порушені території піонерні мохові дернини утворюють нову суцесію зі зміною вологості, мінерального та органічного статусу субстрату (Лобачевська, 2012а; Карпинець та ін., 2016; Рабик та ін., 2017; Rabyk et al., 2018). Участь мохоподібних у ревіталізації рослинного покриву техногенно порушених екосистем визначається їх високою толерантністю до висушування (Лобачевська, Бойко, 2015; Greenwood, Stark, 2014; Кияк, Хоркавців, 2015; Кууак et al., 2020), здатністю відновлювати ґрунт унаслідок структурування його верхніх горизонтів (Aronson, Alexander 2013; Carter, Arocena 2000), запобігати його ерозії, поглинати і утримувати вологу, завдяки чому зменшувати поверхневий стік (Zhao et al., 2014). Завдяки специфічним властивостям метаболізму мохові дернини здійснюють відчутний вплив на хімічну реакцію ґрунту, пришвидшуючи обмін катіонів у біогеохімічному колообігу, впливають на циркуляцію органічного вуглецю і поживних речовин через вивільнення у ґрунтові розчини мінеральних і органічних сполук, синтез фенольних речовин з широким спектром антимікробної дії, що сприяє розвитку потужної підстилки, у якій набагато повільніше відбуваються процеси мінералізації, нагромаджуються біогенні елементи та створюються сприятливі умови для росту підземних органів судинних рослин (Ross, Webster, Vitt, 1984, Сетт, 2002, 2004; Turetsky, 2003, Кууак, Baik, 2016; Cortina-Segarra et al., 2016; Bueno de Mesquita et al., 2017). Бріофітний покрив відіграє важливу роль у колообігу азоту не лише в субстраті, а й змінює його циклізацію в екосистемі (Reed et al. 2012; Ball, Guevara, 2015). Бріофіти значною мірою визначають структуру рослинного покриву, захищаючи насіння судинних рослин від дії екстремальних температур і підвищуючи життєздатність їх проростків (Трофимец, Ипатов, 1990; Herben, Wagnesova, 2004).

Вивчення механізмів стійкості рослин до абіотичних стресорів, а саме системи адаптивних реакцій, сформованих як у ході еволюції в мінливих умовах середовища, так й індукованих стресом онтогенетичних пристосувань, особливостей адаптованості морфологічної структури, репродуктивної стратегії, фізіолого–біохімічних реакцій фотосинтетичної системи, вуглеводного обміну, функцій сигнальних молекул та антиоксидантної системи захисту сприятиме розвитку наукової концепції стрес–адаптивної стратегії пойкилогідричних мохоподібних як нащадків перших наземних рослин. Окрім природно-екологічного аспекту – розширення ареалів стійких видів і збереження біорізноманіття, прогнозування розвитку і можливостей самовідновлення порушених територій, результати досліджень стрес-толерантних мохів є перспективними для створення нових біотехнологій з молекулярної селекції культурних рослин.

У пропонованій читачу колективній монографії, яку підготували співробітники відділу екоморфогенезу рослин, представлені результати довготривалих досліджень морфо–фізіологічних адаптивних реакцій мохів до впливу стресових чинників залежно від інтенсивності освітлення, водного і температурного режиму місцевиростань на техногенно змінених територіях Язівського і Роздільського сірчаних родовищ, породних відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району, Бориславського нафтогазоконденсатного родовища та хвостосховища Стебницького гірничо-хімічного підприємства “Полімінерал”.

Вважаємо, що ця книга буде корисною для ботаніків, бріологів, фізіологів рослин, біохіміків, екологів, студентів, аспірантів, викладачів біологічних та екологічних спеціальностей.

Автори завжди готові вислухати критичні зауваження і врахувати їх під час своїх подальших досліджень.



## РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНІ ПЕРЕДУМОВИ І ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Пойкілогідричність і толерантність до висушування вегетативних органів із простою безсудинною морфологією є одними з визначальних відмінностей мохоподібних. Специфіка організації гаплоїдного гаметофіту бріофітів зумовлює й відмінні від судинних рослин біологічні, морфо-фізіологічні, генетичні та екологічні особливості популяцій і динаміку угруповань. Формування потенціалу стійкості мохоподібних має багаторівневий характер і відбувається під впливом екзогенних стресорів та детермінується ендогенно генетичними механізмами. Зміна умов в антропогенно трансформованому середовищі визначає нову стратегію життєдіяльності і для її реалізації відбувається перебудова функціонування клітин, транспорту речовин та метаболізму. Виживання рослин в екстремальних умовах забезпечують: різні адаптивні стратегії, всі форми репарацій субклітинних структур і макромолекул та здатність мохів своєчасно переходити в стан анабіозу.

Стійкість – генетично детермінована ознака, що успадковується. Водночас стійкість рослин змінюється в онтогенезі і під впливом зовнішніх умов. Це значною мірою потенційна властивість рослин і може бути повністю реалізована в екстремальних ситуаціях. Лише досліджуючи характер реакції-відповіді можна отримати інформацію про стійкість організму до певного чинника. Стійкість мохів до багатьох природних чинників (стресові температури, посуха, засолення середовища) визначається функціонуванням конститутивних та індукованих захисних систем. Їх принципова відмінність полягає у тому, що конститутивні системи постійно перебувають у функціонально активному стані, а індуковані – в нормі відсутні і виявляються лише у відповідь на дію стресового чинника. Наявність у рослин конститутивних механізмів стійкості до тих чи інших чинників середовища зумовлена генетичною адаптацією протягом еволюції, тоді як індуковані механізми стійкості можуть формуватися в ході життя індивідуального організму внаслідок набутої толерантності під впливом попередньої дії на організм того самого чинника.

Лідерами розробки проблеми стійкості та стрес-адаптивних реакцій мохоподібних є бріологи США та Великобританії. Визначено стійкі та індуковано толерантні види мохоподібних залежно від механізмів виживання після, насамперед, швидкого висушування та за різної тривалості зневоднення (Wood et al., 2000; Velten, Oliver, 2001; Pressel et al., 2006; Wood, 2007; Proctor et al., 2007; Toldi et al., 2009; Pressel, Duckett, 2010; Stark et al., 2012; 2013). Природа толерантності до висушування детально проаналізована на підставі клітинних та молекулярних

досліджень у *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F.Weber & D.Mohr і *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp., (Alpert, Oliver, 2002; Oliver et al., 2005; Wood, 2007; Proctor et al., 2007; Greenwood, Stark, 2014). Окрім видів, адаптованих до умов пустелі та напівпосушливих місцевиростань (*Syntrichia ruraliformis* (Besch.) Mans., *Syntrichia caninervis* Mitt., *Pterygoneurum lamellatum* (Lindb.) Jur.), різні ступені толерантності, зокрема до висушування, виявлено у бріофітів (*Fontinalis antipyretica* Hedw. і *Marchantia polymorpha* Hedw.), які заселяють інші типи місцевиростань, у тому числі й водне середовище (Hatanaka, Sugawara, 2010; De Carvalho et al., 2011). Для *Physcomitrella patens* встановлено морфо-фізіологічні та генетичні особливості стійкості як до осмотичного й сольового стресу, так і до впливу абсцизової кислоти (Frank et al., 2005; Cuming, 2009; Koster et al., 2010; Cui et al., 2012; Shinde et al., 2012).

Тривалість висушування, інтенсивність абіотичного стресу, ступінь і швидкість втрати води та відносний вміст вологи у рослинах – основні показники, які були проаналізовані в толерантних і чутливих до висушування видів мохоподібних (Proctor, Pence, 2002; Proctor et al., 2007; Koster et al., 2010). Оскільки первинна метаболічна відповідь на стрес, зокрема висушування, у деяких толерантних і чутливих видів бріофітів була подібною, вважаємо, що механізми стійкості потрібно обґрунтовувати не лише за цими показниками. Окрім того, неконтрольовані умови висушування у проведених дослідженнях тривали від декількох років до 30 хв. з різною швидкістю зневоднення та режимами температури й освітлення, що унеможливило порівняльний аналіз отриманих результатів.

В Україні передові позиції з розробки цієї проблеми займає відділ екоморфогенезу рослин.

Вибір оптимальної життєвої стратегії у пойкилогідричних мохоподібних в умовах антропогенно трансформованого середовища, насамперед, визначається системами стійкості, які конститутивно підтримують клітинний гомеостаз та сприяють адаптогенезу до стресових абіотичних чинників різної природи внаслідок активації репараційних систем. Стійкість – це генетична здатність організму завдяки відповідним біохімічним, фізіологічним і морфологічним адаптивним механізмам витримувати стресові умови середовища, яка може бути конститутивною властивістю або ж формуватися внаслідок адаптаційних неконститутивних перебудов, індукованих стресовими факторами, через що рослини набувають підвищеної толерантності до певних абіотичних і біотичних чинників. Конститутивна стратегія адаптацій мохів пов'язана із постійним ендегенним функціонуванням захисних механізмів, що забезпечує стабільні темпи росту та метаболізму протягом онтогенезу не лише в оптимальних умовах природного середовища, а й під впливом

стресу. Індуковану адаптивну стратегію зумовлює вплив екзогенних стресорів в умовах антропогенно трансформованого середовища, які стимулюють механізми захисту від спричинених пошкоджень і/або сприяють швидкому відновленню.

Дослідження потенціалу стійкості мохоподібних із різними типами життєвих стратегій дає можливість з'ясувати особливості адаптивних реакцій на кожному рівні їх структурно-функціональної організації та формування стрес-адаптивної стратегії рослин в антропогенно трансформованому середовищі (видобутку сірки, вугілля, нафти, торфу, магнієвих та калійних солей) залежно від інтенсивності й тривалості абіотичного стресу.

Використання комплексного підходу в популяційно-онтогенетичних та екофізіологічних дослідженнях стійкості мохів у природному і техногенно трансформованому середовищі дає можливість з'ясувати багаторівневі аспекти стрес-адаптивної стратегії мохоподібних як нащадків перших наземних рослин. З'ясування механізмів толерантності вегетативних органів пойкилогідричних бріофітів до абіотичного стресу, окрім природно-екологічного аспекту, що визначає ареали видів і сприяє розвитку наукової концепції збереження біорізноманіття, має й прикладне сільськогосподарське значення у зв'язку з актуальністю підвищення посухо- та термостійкості культурних рослин.

## 1.1. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктами досліджень були бріофіти (відділи Marchantiophyta, Bryophyta) девастованих територій Язівського і Роздільського сірчаних родовищ, породних відвалів Червоноградського гірничопромислового району, колишніх торфокар'єрів смт Олеська та Лопатина і території хвостосховища Стебницького ГХП "Полімінерал".

Зовнішній відвал № 1 Язівського родовища сірки (Львівська обл., Яворівський р-н, площа 20 км<sup>2</sup>), яке підпорядковане Новояворівському ДП „Екотрансенерго” утворений відвалоутворювачем роторного комплексу протягом 1970-1989 рр. Основними породами відвалу є третинні мергелісті глини з домішками четвертинних порід, для нього характерний складний рельєф з великою кількістю замкнених котловин, заповнених дощовою водою. Домінанти угруповань судинних рослин – *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth. і *Tussilago farfara* L., у перезволожених ектопах – *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. і *Typha latifolia* L. На дослідних ділянках найчастіше трапляються такі види судинних рослин: *Calamagrostis epigeios*, *Tussilago farfara*, *Daucus carota* L., *Medicago lupulina* L., *Cirsium arvense* (L.) Scop., *C. vulgare* (L.) Scop., *Taraxacum*

*officinale* (L.) Weber, *Trifolium pratense* L., *Equisetum arvense* L., *Vicia tenuifolia* Roth.

На період експлуатації свердловин територію підземної виплавки сірчаної руди утворювали ділянки деградованих зональних ґрунтів з рН 2,5-4,4. У пониженнях, засмічених порохоподібною сіркою, практично відсутня рослинність, а на периферійних ділянках виплавки збереглися фрагменти зональної рослинності з різним ступенем порушень.

Об'єктом досліджень були домінантні види бріофітних угруповань, відібрані з різних положень на відвалах вугільних шахт Червоноградського гірничо-промислового комплексу (ЧГПК) різного ступеня рекультивації: відвал діючої шахти "Надія" – рекультивований (унаслідок нанесення прошарків глинистих ґрунтосумішей), незарослий та частково рекультивований підсипкою в окремих місцях піском відвал Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ) "Червоноградська" (початок відсипки 1979 р.) та природно зарослий відвал недіючої шахти "Візейська" (відсипання терикону завершене в 70-х роках минулого сторіччя). Забір проб мохів та технозему проводився на вершині, терасі та в основі відвалів. У межах дослідних ділянок у чотирьох місцях мохових дернин домінантних видів відбирали проби рослин та технозему під ними, з яких формували середню пробу. Контролем слугував субстрат без мохового покриву. Аналізували верхній шар технозему, товщиною 2–3 см, де бріофіти мають найбільший вплив на субстрати.

Дослідження мохоподібних здійснювали на берегах хвостосховища ПАТ Стебницького ГХП "Полімінерал", а саме техногенних водойм, у які скидали рідкі відходи флотаційного збагачення руд та виробництва калійно-магнієвого концентрату. Для експериментальних досліджень на території хвостосховища було закладено 3 дослідні ділянки на віддалі 3 м, 6 м та 9 м від водойми, які суттєво відрізнялися за рівнем засолення субстрату. Для досліджень відбирали зразки мохів *Barbula unguiculata* Hedw., *Funaria hygrometrica* Hedw., *Didymodon rigidulus* Hedw., *Ptychostomum imbricatum* (Müll. Hal.) Holoyok & N. Pedersen і *Brachythecium campestre* (Müll. Hal.) Schimp. із дослідних трансект, які суттєво відрізнялися за рівнем засолення субстрату. У роботі використовували свіжозібраний рослинний матеріал. Рослини *Barbula unguiculata*, *Funaria hygrometrica* та *Didymodon tophaceus* росли серед галофітів та солестійких видів судинних рослин, а рослини *Brachythecium campestre* відбирали на околиці хвостосховища серед різнотрав'я. Як контроль у дослідженнях використовували рослини *Barbula unguiculata* та *Brachythecium campestre*, що росли за межами хвостосховища, в околиці м. Стебник.

Територію Новороздільського ДГХП "Сірка" визнано найбільш забрудненою у Львівській області і найскладнішою в екологічному

відношенні. За даними Інституту ВАТ "Гірхімпром" тут знаходиться понад 90% небезпечних промислових відходів області. Зокрема, від виробничої діяльності на території РДГХП "Сірка" залишилися відвали фосфогіпсу, в кількості 3,5 млн. тонн на площі 17 га та висотою до 20 м. Окрім того, на промисловому майданчику "Сірки" зберігається більше 17 тис. т гудронів, завезених з Угорщини. Умови зберігання цих речовин не відповідають нормам екологічної безпеки, наявний негативний вплив їх небезпечних складників на земельні та водні природні ресурси в місцях їх зберігання.

**Систематичне опрацювання бріофітів** здійснювали за Г. Бачуриною, В. Мельничуком (1987, 1988, 1989, 2003), М. Ігнатовим, Є. Ігнатовою (Ігнатов, Ігнатова, 2003, 2004). Класифікація та номенклатура видів мохів подана Н. Хотгетсом зі співавторами (Hodgetts et al., 2020).

**Біомасу бріофітного покриву** встановлювали за методикою Б. Ван Торена із співавторами (van Tooren et al., 1990). З кожної ділянки відбирали зразки однакової площі для визначення біомаси. Бріофіти, включаючи коричневу частину, відділяли від часток ґрунту і промивали водою. Сушу масу зразка визначали після висушування протягом 48 год за 70°C.

**Для встановлення життєвих форм мохоподібних** використовували класифікацію К. Гімінгайма і Е. Робертсона (Gimingham, Robertson, 1950), модифіковану К. Мегдефрау (Mägdefrau, 1982), П. Річардсом (Richards, 1984) та доповнену Д. Гляймом (Glime, 2007).

**Екологічні групи за вологістю та трофічністю субстрату** визначали за Г. Риковським, О. Масловським (Рыковский, Масловский, 2004) та М. Бойком (1999).

**Стратегії життєвих циклів** визначали за класифікацією Г. Дюрінга (During, 1979, 1992). Основними критеріями виділення життєвих стратегій є тривалість життя, кількість та розміри спор, репродуктивне зусилля. Ця класифікація більше базується на залежності видів від комплексу абіотичних факторів, ніж на фітоценотичних відносинах.

У дернинах моху із різних локалітетів визначали кількість чоловічих і жіночих пагонів, оцінювали співвідношення фертильних та стерильних рослин (Лакин, 1990; Рагуліна, 2009; Lovelock, 2002).

З кожного місцевиростання у 10 рандомічно відібраних дернинах розміром 3 x 3 см визначали кількість чоловічих, жіночих та стерильних рослин, відсоток статевих пагонів, статеве співвідношення як частку від ділення кількості чоловічих рослин на загальну кількість фертильних рослин (Shaw et al., 1991).

**Визначення вмісту вологи у мохових дернинах.** Вміст вологи у мохових дернинах визначали ваговим методом та обчислювали у

відсотках від маси абсолютно сухої речовини (Минеев, 1989, Польшина, 1991).

**Визначення вмісту вологи у субстраті.** Вміст гігроскопічної вологи у субстраті визначали за методикою О. В. Аринушкіної (Аринушкіна, 1970).

**Визначення інтенсивності освітлення.** Інтенсивність освітлення на дослідних ділянках вимірювали люксметром Ю-116.

**Визначення температури субстрату.** Температуру верхнього шару 0–3 см субстрату ( $t_{\text{суб.}}$ ) визначали за методикою О.В. Аринушкіної (Аринушкіна, 1970).

**Визначення актуальної кислотності.** Актуальну кислотність (рН) вимірювали потенціометрично у водній витяжці субстрат-дистилят (1:5) (Ніколайчук, 1997).

**Визначення вмісту водорозчинних іонів у верхньому шарі субстрату хвостосховища (0-3 см)** здійснювали комплексометричним методом. Хімічний іонний склад фільтратів водних витяжок, приготовлених із досліджуваних зразків субстрату, визначали за стандартними методиками:  $\text{HCO}_3^-$  (ГОСТ 26424-85),  $\text{Cl}^-$  (ГОСТ 26425-85),  $\text{SO}_4^{2-}$  (ГОСТ 26426-85),  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Mg}^{2+}$  (ГОСТ 26428-85). Суму катіонів ( $\text{Na}^+$ ;  $\text{K}^+$ ) визначали за різницею між сумою аніонів ( $\text{HCO}_3^-$ ;  $\text{Cl}^-$ ;  $\text{SO}_4^{2-}$ ) і сумою катіонів ( $\text{Ca}^{2+}$ ;  $\text{Mg}^{2+}$ ) у мг-екв на 100 г субстрату.

**Отримання та ведення лабораторної культури мохів.** Об'єктами експериментальних досліджень були такі види листяних мохів:

*Amblystegium serpens* (Hedw.) Schimp.

*Bryum argenteum* Hedw.

*Ptychostomum imbricartulum* (Müll. Hal.) Holoyoak & N. Pedersen

*Barbula unguiculata* Hedw.

*Brachythecium campestre* (Müll. Hal.) Schimp.

*Brachytecium salebosum* (Hoffm. ex F. Weber & D. Mohr) Schimp.

*Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid.,

*Didymodon rigidulus* Hedw.,

*Funaria hygrometrica* Hedw.,

*Tortula caucasica* Broth.

У роботі використовували як матеріал, зібраний з природи, так і стерильну культуру. Для посіву коробочки стерилізували розчином сулеми з масовою часткою 0,1 %. Ізольовані листки, гаметофори та їх фрагменти, спорогони промивали протягом 1 год водопровідною водою, стерилізували розчином перекису водню з масовою часткою 3 % впродовж 5 хв і відмивали декілька разів стерильною водою.

Культури вирощували на субстратах: рідкому (розведене 1:2 дистильованою водою поживне середовище Кноп-II), твердому

середовищі (бакто-агар з масовою часткою 0,75 %) і на фільтрувальному папері, змоченому розведеним 1:5 розчином Кноп-П. Рослини культивували в контрольованих умовах освітлення (2,0-2,2 тис. лк.), температури (20-22,5° С), вологості (90-95 %) і в 16-годинному світловому режимі.

Досліди проводили на лабораторній культурі протонеми моху, яку вирощували зі спор на агаризованому середовищі Кнопа. Для створення кисло-лужного балансу агаризованого середовища з рН від 2,5 до 9 користувалися 0,1 М розчинами лимонної кислоти або гідроксиду калію. Для визначення площі, утвореної після 1 місяця росту протонеми, вимірювали два діаметри дернин за допомогою окулярної лінійки під бінокулярним мікроскопом.

Для посіву спор коробочки стерилізували 10 % розчином сулеми. Ізольовані листки та фрагменти гаметофорів промивали водопровідною водою, стерилізували 1 хв. 20 % дезінфікуючим розчином “Білізна” і тричі відмивали стерильною дистильованою водою. Культуру вирощували на 0,75 % агаризованому середовищі Кноп II в контрольованих умовах освітлення, температури, вологості і в 16-годинному світловому режимі. Через 7 днів протонему знімали препарувальною голкою з агару вихідної культури моху й у вигляді клубка переносили у чашки контролю (стандартне агаризоване середовище Кноп II) та дослідні (поживне середовище з 2 % і 4 % поліетиленгліколем (ПЕГ-6), 5 мкМ і 10 мкМ абсцизовою кислотою (АБК), 5 % сахарозою та 10 мкМ АБК + 5 % сахарози) згідно із загальноприйнятими методиками (Awasthi, 2010; Hellwege, 1994; Mallon, 2006; Pressel, 2007; Rowntree, 2007).

В експерименті водний дефіцит створювали додаванням до агаризованого середовища Кнопа поліетиленгліколю (ПЕГ) у концентраціях 1, 2, 3 і 4 %. Спори мохів висівали в стерильних умовах у чашки Петрі на бакто-агар із різним умістом ПЕГ та вирощували в люмінестаті у контрольованих умовах освітлення (2,5 – 3,0 тис. лк), температури (20 – 22° С) та вологості (85 – 90 %).

Для дослідження впливу періодичного висушування стерильні культури мохів вирощували зі спор на агаризованому середовищі в контрольованих умовах. За три місяці односпорові гаметофори моху пересажували на стерильний пісок у горщиках. Таким чином, використовували культуру пагонів одного віку, вирощену на агаризованому середовищі з однаковим рівнем вологості. Поливали рослини двічі на тиждень, обприскуючи розчином Кнопа з мікроелементами, розведеним у концентрації 1:5. Через шість тижнів вирощування культур в люмінестаті, розпочинали почергове їх висушування та полив. Накриття з горшечків з рослинами контролю знімали лише двічі на тиждень під час обприскування. Дегідратацію

здійснювали протягом 24 годин, знімаючи поліетиленове накриття з горщечків з культурою мохів. У варіанті досліду з короткочасним (24 год) висушуванням полив здійснювали двічі на тиждень: одразу після закінчення 24-годинної дегідратації та на третій день після неї. У варіанті з тривалим (96 год) висушуванням після 24 годин дегідратації, поливали рослини 1 раз на тиждень – на третій день після висушування. Тривалість експерименту – 12 тижнів.

Інгібітор метилювання ДНК 5-азацитидин додавали в агаризоване середовище після стерилізації у концентрації 50 мкмоль/л. Регенеранти (фрагменти пагонів) моху *A. serpens* вирощували на середовищі з інгібітром протягом 10 днів, потім переносили на середовище Кнопа для подальшої регенерації і отримання гаметофорів. Контролем були рослини, які вирощували на середовищі Кнопа без додавання 5-азацитидину. Через 20 днів гаметофори відсаджували на бакто-агар із різними концентраціями ПЕГ, де вони росли упродовж 2 тижнів і надалі рослини використовували для аналізу ядерної ДНК.

У роботі використали клон, отриманий регенерацією одного листка гаметофору із стерильної культури моху *Tortula modica* Zander (*Tortula caucasica* Broth.). Завдяки періодичній регенерації та пересадженню підтримували стерильну культуру клону різного віку – від протонеми до 1–2 місячних гаметофорів.

Листки приблизно  $0,05 \text{ мм}^2$ , з верхньої частини гаметофорів одного віку регенерували на Кноп–агарі з різним вмістом  $\text{HgCl}_2$ . До 10 мл розплавленого теплого Кноп–агару вносили 10, 20 і 30 мкл розчину 5 мМ  $\text{HgCl}_2$ , розливали агар у 6 см чашки Петрі та отримували кінцеві концентрації 0,5; 1,0 і 1,7 мкМ  $\text{HgCl}_2$ . В одну чашку клали на регенерацію 60–70 листків. Дослід проводили у контрольованих умовах освітлення –  $70,0 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^2 \cdot \text{сек}^{-1}$ , температури –  $20\text{--}25^\circ$  і 16 год фотоперіоді. Через 5–7 днів під бінокулярним мікроскопом МБС–1 визначали відсоток експлантатів, що вижили. На 30 день досліду під мікроскопом “Jenaval” вимірювали висоту гаметофорів, які росли на різних концентраціях  $\text{HgCl}_2$ , довжину і ширину одношарових листків та їх клітин.

Для оцінки післядії ртуті аналізували розміри дернин і гаметофорів що росли на середовищі з ртуттю та у наступній вегетативній репродукції на середовищі без металу.

**Морфометричний аналіз рослин.** Вимірювання довжини пагонів, розмірів клітин, листків та їх кількості на стеблі, площі клітин і листків, діаметр спор виконували на моторизованому мікроскопі Axio Imager M1 (Carl Zeiss) з використанням програмного забезпечення Carl Zeiss AxioVision 4.6 та UTHSCSA Image Tool 3.0, стереобінокулярі Stemi 2000-C (Carl Zeiss) з фотонасадкою та цифровою камерою „Nikon” та мікроскопі МБС-1 (Демків, Сьтник, 1985).



**Визначення індексу толерантності.** Для кількісного порівняння толерантності досліджуваних зразків використовували метод Д. Уілкінса (Wilkins, 1978), який ґрунтується на обчисленні індексу толерантності (ІТ):

$$\text{ІТ} = \frac{\text{приріст на середовищі з досліджуваним металом}}{\text{приріст у контролі}} \times 100\%$$

Для оцінки приросту мохів використовували регенерацію ізольованих листків та регенераційну здатність пагонів.

**Визначення кількісного вмісту хлорофілів та каротиноїдів.** Наважку рослинного матеріалу (100-200 мг) гомогенізували у 80 %-ому ацетоні за методом Д. Арнона (Arnon, 1979). Отриманий ацетоновий екстракт, який містив суму зелених та жовтих пігментів, центрифугували (10 хв, 4000 g) та спектрофотометрично визначали оптичну густину екстракту за довжин хвиль 663 та 646 нм, які відповідають максимумам поглинання хлорофілів *a* та *b*, відповідно. Для визначення суми каротиноїдів оптичну густину екстракту вимірювали за  $\lambda = 470$  нм. Варіанти контрольної та дослідних суспензій вирівнювали за вмістом хлорофілу. Отримані хлоропласти використовували для подальшого визначення біохімічних параметрів.

**Визначення вмісту антоціанів.** Вміст антоціанів визначали за М.Н. Голубчиковим (Голубчиков, 1971). Наважку рослинного матеріалу гомогенізували у 10 мл 1 % розчину соляної кислоти в етиловому спирті та витримували на водяній бані при 40-45°C протягом 20 хв. Отриманий гомогенат фільтрували, вимірювали оптичну густину фільтрату за довжини хвилі 539 нм. Вміст антоціанів виражали в мг/г маси сухої речовини.

**Визначення фотохімічної активності хлорофілу ізольованих хлоропластів.** Фотохімічну активність хлорофілу ізольованих хлоропластів визначали за реакцією хлорофілу із 2,6-дихлорфеноліндофенолом (2,6-ДХФІФ) (Гавриленко и др., 1975). Наважку рослинного матеріалу гомогенізували в 2 мл 0,1 М трис-НСІ буферу, який містив 0,4 М сахарозу та 0,01 М MgCl<sub>2</sub>, центрифугували, супернатант відбирали у мірні пробірки і гомогенізуючим буфером доводили об'єм суспензії до 5 мл. У три пробірки вносили по 5 мл гомогенізуючого буферу, у дві з них (дослід) додавали по 0,3 мл 0,33 мМ розчину 2,6-ДХФІФ, а в одну – 0,3 мл буферу (контроль). Тоді до кожного розчину додавали по 0,5 мл суспензії хлоропластів та витримували 5 хвилин за температури 20°C, дві пробірки (контроль і дослід) на світлі, а третю – у темряві. Спектрофотометрично вимірювали оптичну густину розчинів за

довжини хвилі 620 нм. Паралельно визначали вміст суми хлорофілів у суспензії хлоропластів. За різницею між вмістом 2,6-ДХФІФ у пробірках, інкубованих у темряві і на світлі, визначали інтенсивність реакції Хілла. Фотохімічну активність хлорофілу виражали у мікромолях 2,6-ДХФІФ, відновленого за годину одним міліграмом хлорофілу.

**Спектри поглинання пігментів** вимірювали на спектрофотометрі AnalytikJena Specord 210 Plus у діапазоні 400-700 нм з кроком 0,1 нм. Пігменти екстрагували 80 % розчином ацетону з додаванням кальцій карбонату (Мусієнко та ін, 2001).

**Міцність зв'язку пігмент-білкових комплексів.** Дослідження міцності зв'язку пігмент-білкових комплексів здійснювали за методикою Годнева-Осипової, яка базується на порівнянні екстракції пігментів 60 % водним розчином ацетону та 100 % ацетоном. Вважається, що 60 % розчин ацетону може екстрагувати лише ті пігменти, які не зв'язані із ліпопротеїдним комплексом мембран тилакоїда. За співвідношенням екстрагованих 60 % розчином ацетону пігментів (із зруйнованих пігмент-білкових комплексів) та їхнього загального вмісту робили висновки про характер зв'язку (Ніколайчук, 1998).

**Визначення водного потенціалу клітин рефрактометричним методом.** У пробірки із розчином сахарози у діапазоні концентрацій 0,1–1,0 М вносили по 50 мг свіжозібраних листостеблових пагонів моху і закривали корками. Проби витримували 60 хв і періодично струшували. Фіксували температуру повітря в лабораторному приміщенні. Потім проби виймали, а пробірки знову закорковували. Для визначення концентрації розчину сахарози після перебування у ньому дослідного матеріалу використовували рефрактометр марки РПЛ-2 (Григорюк та ін., 2003). На призму рефрактометра наносили по 2 краплі спочатку вихідного, а потім відповідного дослідного розчину сахарози. Знаходили розчин, концентрація котрого не змінювалася після витримання у ньому рослин. Величину водного потенціалу (ВП) виражали у МПа.

**Визначення осмотичного тиску у клітинах рослин плазмолітичним методом.** Для визначення внутрішньоклітинного осмотичного тиску у клітинах листків, пагони мохів занурювали у розчини плазмолітика (сахарози) з концентрацією від 0,1 до 1 М й експонували їх протягом 20–30 хв. Із використанням мікроскопа послідовно аналізували препарати з усіх розчинів та визначали, за якої концентрації помітно початкову стадію плазмолізу (гіпертонічний розчин плазмолітика), а за якої – не помітно (гіпотонічний розчин плазмолітика). На підставі цього визначали величину ізотонічної концентрації розчину (середнє між гіпо- та гіпертонічною концентрацією) та обчислювали осмотичний тиск клітинного соку за рівнянням Вант-Гоффа:

$$P = RTC_i, \text{ де}$$

$P$  – осмотичний тиск (МПа);  $R$  – універсальна газова стала,  $8,317 \cdot 10^{-3}$  Дж/(кМоль·К);  $T$  – абсолютна температура,  $273^\circ + t^\circ\text{C}$  (К);  $C$  – концентрація розчину, моль/л;  $i$  – ізотонічний коефіцієнт (для сахарози  $i = 1$ ) (Мусієнко та ін., 2001).

**Визначення вмісту феофітинів.** Для визначення вмісту феофітинів отримували екстракт пігментів у 100 % ацетоні. Спочатку в екстракті вимірювали оптичну густина при 662 та 644 нм, потім до нього додавали 1 краплю 25 % HCl, перетворюючи всі хлорофіли до феофітинів. Після ретельного перемішування вмісту пробірки, вимірювали його екстинцію при 665 і 653 нм. Розраховували концентрації феофітину (Романюк, 2003). За різницею концентрацій хлорофілу і феофітину обчислювали вміст феофітину у вихідному екстракті.

**Визначення інтенсивності фотосинтезу.** Інтенсивність фотосинтезу визначали безкамерним способом за методикою В.І. Ніколайчука (Ніколайчук та ін., 2000). Для цього наважку свіжозібраного рослинного матеріалу (50 мг) занурювали у пробірки з 0,4 н хромовою сумішшю і кип'ятили на водяній бані протягом 20 хв, поки проби не розчинилися (згоріли). Через 2 години дослід повторювали. Після охолодження пробірок вміст спектрофотометрично аналізували за  $\lambda=590$  нм. Інтенсивність фотосинтезу виражали в мг  $\text{CO}_2$ /мг маси сухої речовини/год.

**Оцінка хлорофільного індексу.** Для визначення хлорофільного індексу (ХІ) було використано величини вмісту хлорофілів  $a$  і  $b$  і дані по фітомасі усіх компонентів угруповання (Шмакова и др., 2002). Визначали за формулою:  $XI = (x_{л a} + x_{л в}) \times \text{фітомаса}$  і виражали у  $\text{г/м}^2$ .

**Визначення вмісту розчинних цукрів.** Для визначення вмісту розчинних цукрів використали метод У. Дюбойса (Плешков, 1976). Гаметофори гомогенізували у дистильованій воді та інкубували на киплячій водяній бані упродовж 15 хв. Супернатант, отриманий після центрифугування (10 хв, 5000 g), додавали до інкубаційного середовища, що містило 5 % р-н фенолу та концентровану сірчану кислоту. Оптичну густина розчину вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 490 нм. Вміст цукрів виражали в мкМ/ г сухої речовини.

**Визначення вмісту вільних амінокислот.** Наважку свіжого рослинного матеріалу (100–200 мг) гомогенізували із 2,0 мл 10 % етанолу та доводили до об'єму 5 мл дистильованою водою. Отриманий гомогенат центрифугували при 5000 об/хв протягом 10 хв, відбирали аліквоту 1 мл і додавали 1 мл 4,7 М Na-ацетатного буферу (рН 5,2), 3 мл нінгідринового реактиву та 0,1 мл 3 % розчину аскорбату. Суміш витримували 15 хв на киплячій водяній бані, охолоджували та доводили розчин до об'єму 10 мл 60 % етанолом. Отриманий розчин спектрофотометрували при довжині хвилі 570 нм (Xiong et al., 2006). Загальний вміст вільних амінокислот

обчислювали за калібрувальною кривою, побудованою за L-проліном (“Sigma”, США) та виражали в мкмоль/г маси сухої речовини.

**Визначення вмісту вільного проліну.** Пролін екстрагували та визначали за методикою Бейтса зі співробітниками (Bates et al., 1973). Зразки гомогенізували в 3 % сульфосаліциловій кислоті. Гомогенат суспензували 5 хв. До 1 мл супернатанту додавали 1 мл льодяної оцтової кислоти і 1 мл нінгідринового реагента (нінгідрин, льодяна оцтова кислота і 6 М фосфорна кислота), який готували перед дослідом. Суміш ретельно перемішували та інкубували на кип’ячій водяній бані 1 год. Реакцію припиняли внаслідок охолодження проб у льодяній бані. У реакційну суміш додавали 2 мл толуолу та енергійно змішували. Після 30 сек. відстоювання відбирали верхній шар і фотометрували за довжини хвилі 520 нм. Вміст проліну визначали за калібрувальною кривою, побудованою з використанням стандартних водних розчинів амінокислоти з концентрацією 0,005 – 0,1 мг/2 мл розчину.

**Цитофлуориметричний аналіз ядерної ДНК із застосуванням ДНК–ази I.** Для цитофлуориметричного аналізу ядерної ДНК використали методику флуорохромування Р. Ріглера (Rigler, 2006). Матеріалом для дослідження була протонема, що росла на середовищі без металу, на 0,5 нМ і 0,5 мкМ HgCl<sub>2</sub>. Протонему фіксували у ФОСі у співвідношенні (3,7 % формальдегід : 5 % оцтова кислота : 50 % спирт) протягом 20 хв за кімнатної температури. Матеріал фарбували 15 хв у 0,1 мМ розчині АО на фосфатному буфері рН 5,9 і тричі по 15 хв відмивали фосфатним буфером.

Для обробки протонеми ДНК–азою I використали метод, описаний у роботі Р. Блокленда (Blokland et al., 2005). ДНК–азу I (Sigma) розводили до робочої 0,1 U концентрації трис буфером (50 мМ TRIS–HCl, рН 8,0, 0,3 М сахароза, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1,5 мМ NaCl, 5 мМ меркаптоетанол). Для припинення реакції протонему обробляли 50 мМ розчином ЕГТА+ЕДТА рН 8,0 протягом 20 хв. Контролем була протонема, яку витримували у буфері без ДНК–ази I. Препарати монтували у фосфатному буфері на предметні скла і вимірювали інтенсивність люмінесценції ДНК·АО на мікроскопі ЛЮМАМ.

Для оцінки вмісту ядерної ДНК застосували методику флуоресцентного фарбування барвником DAPI (4',6-діамідино-2-феніліндол) (Chazotte, 2011). Інтенсивність флуоресценції ДНК вимірювали у клітинах листків на моторизованому флуоресцентному мікроскопі Axio Imager M1 (Carl Zeiss).

**Активність хлорофілази** визначали за методом Т. Требіша (Trebish et al., 1993). Для цього свіжозібраний рослинний матеріал гомогенізували у 40 % ацетоні. Проби інкубували за кімнатної температури у темряві протягом 1 год. Дію фермента припиняли підвищенням концентрації

ацетону до 80 %. Оптичну густину екстрактів вимірювали на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжини хвиль 663 нм і 645 нм. Активність хлорофілази оцінювали за кількістю розкладеного хлорофілу в дослідній пробі і виражали у відсотках до загального вмісту хлорофілів у контрольній пробі.

**Визначення активності супероксиддисмутази.** Для визначення активності СОД рослинний матеріал екстрагували протягом 30 хв у 0,15 М фосфатному буфері (рН 7,8). Супернатант, отриманий після центрифугування (10 хв, 5000 г), додавали до інкубаційного середовища, що містило 0,33 мМ ЕДТА, 0,4 мМ нітросиній тетразолій, 0,01 мМ феназинметасульфат та 0,8 мМ НАДФН. Оптичну густину розчину вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 540 нм. Активність СОД виражали в умовних одиницях на мг білка за хв (Чевари и др., 1991).

Для визначення термостабільності СОД гаметофори мохів витримували упродовж 24 годин за температури +42°C. Термостабільність СОД розраховували як відношення значення залишкової активності ферменту після прогрівання зразків у термостаті до її значення за кімнатної температури ( $t = +20^{\circ}\text{C}$ ).

**Визначення активності глутатіонпероксидази.** Для визначення активності фермента наважку рослинного матеріалу гомогенізували в ступці в 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,5) у співвідношенні 1:1, екстрагували протягом 30 хв за температури +5°C, центрифугували 30 хв за 4000 об/хв. Надосадову рідину використовували як ферментний препарат. Для визначення активності фермента 0,1 мл ферментного препарату змішували з 4,8 мМ розчином відновленого глутатіону в 0,1М трис-НСІ буфері (рН 8,5), з 6 мМ ЕДТА та 12 мМ азиду натрію. Через 5 хв додавали 14 мМ tВНР (гідропероксид третинного бутилу) та інкубували 30 хв за температури +30°C. Реакцію зупиняли додаванням холодної 20% трихлороцтової кислоти (ТХО). Осаджені білки видаляли центрифугуванням за 1500 об/хв протягом 15 хв. Надосадову рідину змішували з 0,1 М трис-НСІ (рН 8,5) і додавали реактив Елмана. Проби фотометрували за довжини хвилі 412 нм. Питому активність фермента виражали в мкМ НАДФН на 1 г білка за 1 хв (Моин, 1986).

**Визначення активності пероксидази.** Наважку рослинного матеріалу гомогенізували в 0,1 М ацетатному буфері (рН 5,4) у співвідношенні 1:1, екстрагували протягом 30 хв при кімнатній температурі та центрифугували 15 хв, 4000 об/хв. Супернатант використовували як ферментний препарат. Для визначення активності пероксидази 2 мл ферментного препарату змішували з 0,5% розчином бензидину та 0,1 М ацетатним буфером (рН 5,4). Якісну реакцію розпочинали внесенням 3% розчину пероксиду водню. Через 5 хв проби фотометрували за довжини хвилі 412 нм. Активність фермента визначали

у відносних одиницях на 1 г сухої речовини (Методи... ,1987).

**Визначення активності каталази.** Активність каталази визначали після екстракції у 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,8). Екстракт центрифугували протягом 15 хв за 5000 г. Активність фермента визначали у надосадовій рідині спектрофотометрично на основі реакції з 4 % розчином молібдату амонію. Активність фермента виражали в мкМ  $\text{H}_2\text{O}_2$  на мг білка за хв (Королюк и соавт., 1986).

**Визначення термостабільності пероксидази та СОД.** Для аналізу гаметофори мохів витримували упродовж 2 годин за температури  $+42^\circ$  у термостаті. Термостабільність розраховували як відношення значення залишкової активності ферменту після прогрівання зразків у термостаті до її значення за кімнатної температури ( $t = +20^\circ\text{C}$ ).

**Генерацію супероксиданіон-радикала визначали** за відновленням нітросинього тетразолію. Для перевірки специфічності генерації супероксиданіон-радикала в спеціальних дослідах в проби додавали СОД (50 од./мл). СОД інгібувала генерацію супероксиданіон-радикала не менш, ніж на 90% (Колупаєв, Обозний, 2013). Оптичну густину інкубаційного розчину визначали на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжини хвилі 530 нм.

**Визначення кількості дієнових та трієнових кон'югатів і дієнкетонів.** Наважку рослинного матеріалу гомогенізували у 0,1 М калій-фосфатному буфері (рН 7,0), додавали суміш гептан-ізопропанол (1:1) та екстрагували протягом 20 хв. Вміст дієнових кон'югатів та дієнкетонів визначали спектрофотометрично у гептановому шарі за довжини хвилі 233 нм та 278 нм відповідно за методикою Л.Н.Курганової (Курганова и др., 1997). Трієнові кон'югати визначали спектрофотометрично у гептановому шарі за довжини хвилі 275 нм.

**Визначення активності аскорбатпероксидази.** Наважку рослинного матеріалу (200 мг) гомогенізували в 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,6) (співвідношення 1:2), з додаванням 0,1 г полівінілпіролідону, екстрагували протягом 30 хв за температури  $+5^\circ\text{C}$  та центрифугували протягом 10 хв (12000 об/хв.,  $+4^\circ\text{C}$ ). Супернатант використовували як ферментний препарат. Реакційна суміш для визначення активності аскорбатпероксидази містила: 0,1 мл 0,1 мМ розчину ЕДТА, 0,1 мл 0,25 мМ розчину аскорбінової кислоти, 2,25 мл 0,1 М фосфатного буфера з рН 7,6, 0,6 мл супернатанту та 0,1 мл 0,5 мМ розчину пероксиду водню. У холосту пробу замість супернатанту додавали 0,6 мл дистильованої води. Визначення оптичної густини розчинів розпочинали відразу після внесення  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Активність аскорбатпероксидази визначали за зменшенням оптичної густини протягом 1 хв в результаті окиснення аскорбату на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжини хвилі 290 нм (Nakano, Asada, 1981). Активність ферменту виражали в мкМ аскорбінової

кислоти/мг білка/хв (коефіцієнт екстинкції аскорбату 2,8 ммоль/см).

**Визначення активності глутатіонредуктази.** Наважку рослинного матеріалу (100–200 мг) розтирали у 0,05 мМ калій-фосфатному буфері (рН 7,0), (співвідношення 1:2). Екстракт центрифугували протягом 20 хв (5000 об/хв, +4°C). Реакційна суміш для визначення активності глутатіонредуктази (ГР) містила: супернатант, 0,2 М К-фосфатний буфер (рН 7,5) з 1 мМ ЕДТА, 3 мМ реактив Елмана (5,5'-дитіобіс-(2-нітробензойної кислоти)) та 2 мМ НАДФН. Реакцію ініціювали додаванням 5 мМ відновленого глутатіону. Проби фотометрували на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжини хвилі 412 нм протягом 4 хв з періодичністю 30 сек. Активність ферменту виражали в мкМ НАДФН<sub>2</sub> на 1 г білка за 1 хв (Smith et al., 1988).

**Активність поліфенолоксидази** визначали спектрофотометрично за методикою О.М. Бояркіна (Войцехівська та ін., 2010).

**Визначення вмісту компонентів аскорбатного циклу.** У свіжозібраному рослинному матеріалі визначали вміст аскорбінової (АК), дегідроаскорбінової (ДАК) та дикетогулонової кислот (ДКГК) за методом Г.М. Чупахіної (Чупахіна, 2000). Метод ґрунтується на взаємодії 2,4-динітрофенілгідразину з ДАК та ДКГК з утворенням у середовищі з сірчаною кислотою відповідних озазонів, які дають червоне забарвлення. Наважку рослинного матеріалу розтирали в 5 % метафосфорній кислоті (1:10). Вміст АК, ДАК, ДКГК розраховували за різницею поглинання при 520 нм на спектрофотометрі Specord 210 Plus та виражали у мкг/г сухої речовини.

**Визначення вмісту відновленого та окисленого глутатіону.** Для визначення вмісту відновленого глутатіону рослинний матеріал гомогенізували в 5% трихлороцтовій кислоті та центрифугували протягом 15 хв за 4000 g. Реакційна суміш містила ферментний препарат, 15 мМ ЕДТА, 0,02 % білок ячного альбуміну, 0,3 мМ 5,5-дитіобіс (2-нітробензойну) кислоту, 50 мМ імідазол та 0,48 од. глутатіонредуктази. Реакцію ініціювали додаванням 0,9 мМ НАДФН<sub>2</sub>. Для визначення вмісту окисленого глутатіону рослинний екстракт відновлювали 2 М 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 (Jenne, Natrios, 19990). Проби фотометрували за довжини хвилі 412 нм протягом 4 хв. Вміст відновленого та окисленого глутатіону виражали в мкМ НАДФН<sub>2</sub> на 1 г сухої речовини.

**Визначення загального вмісту розчинних SH-груп з використанням реактиву Елмана.** Наважку рослинного матеріалу (100–200 мг) розтирали з 0,1 М трис-НСl буфером рН 7,8 (співвідношення 1:2), який містив 0,3 М ЕДТА та 1 мМ MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (Riener et al., 2002).

Гомогенат центрифугували протягом 20 хв (15000 об/хв, +4°C). Надосадову рідину використовували для визначення загального вмісту розчинних сульфгідрильних груп. Реакційна суміш містила 0,3 мл супернатанту, 0,3 мл 10 % розчину білка яєчного альбуміну та 0,2 мл 50 мкМ розчину реактиву Елмана (5,5-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти). Контрольна проба замість реактиву Елмана містила 0,2 мл 0,1 М трис-НСІ буферу, рН 7,5. Пробірки інкубували 1 год на водяній бані за температури +37°C. Оптичну густину проб вимірювали на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжини хвилі 412 нм. Кількість SH-груп вираховували за калібрувальною кривою, побудованою за відновленням глутатіоном і виражали у мкмоль/мг білка (Riener et al., 2002).

**Концентрацію білка** визначали за методом Бредфорда (Bredford, 1976). Наважку рослинного матеріалу гомогенізували в 50 мМ Tris-НСІ буфері (рН 8,0) (співвідношення 1:2), до якого додавали 5 мМ Na<sub>2</sub>ЕДТА, 100 мМ NaCl, 10 мМ β-меркаптоетанол і 2,5% полівінілпіролідон та центрифугували протягом 15 хв при (13 000 g, +4°C). Надосадову рідину використовували для аналізу. Вимірювання проводили на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжини хвилі 595 нм. Вміст білка виражали у мг/г маси сухої речовини.

**Визначення загальної антиоксидантної активності низькомолекулярних антиоксидантів.** Загальну антиоксидантну активність низькомолекулярних антиоксидантів оцінювали у реакції рослинного екстракту з розчином радикала – 1,1-дифеніл-2-пікридилгідразилом (ДФПГ) за методом В. Бранд-Вільямса (Brand-Williams et al., 1995). Для цього до 2,8 мл 60 мМ розчину ДФПГ у метанолі додавали 0,2 мл спиртового екстракту із рослинного матеріалу. Зменшення оптичної густини розчину фіксували упродовж 15 хв на спектрофотометрі Specord 210 Plus (λ=517 нм). Як позитивний контроль використовували водний розчин аскорбінової кислоти (1 мг/мл). Готували розведення вихідного розчину аскорбату: 0,025 мг/мл, 0,050 мг/мл, 0,100 мг/мл, 0,200 мг/мл, 0,400 мг/мл, 0,600 мг/мл, 0,800 мг/мл, 1,000 мг/мл. Загальну антиоксидантну активність виражали у відсотках. На основі розрахованих відсотків інгібування було побудовано графік залежності величин інгібування забарвлення DPPH від об'єму екстракту. За графіком встановлювали об'єм екстракту, котрий спричиняв 50 % інгібування забарвлення вільного радикалу (EC<sub>50</sub>).

**Визначення загального вмісту фенольних сполук (ФС)** у гаметофіті мохів проводили з використанням реактиву Фоліна-Деніса (Anahita et al., 2015). Наважку рослинного матеріалу (100–200 мг) гомогенізували з 0,5 мл етилового спирту та 2,5 мл дистильованої води та центрифугували при 5000 об/хв протягом 15 хв. Відбирали 2 мл супернатанту і додавали 0,2 мл реактиву Фоліна-Деніса. Через 3 хв



вносили 1 мл насиченого розчину натрію карбонату і доводили дистильованою водою до об'єму 5 мл. Через 60 хв за допомогою спектрофотометра Specord 210 Plus визначали оптичну густину екстракту при довжині хвилі 765 нм. Загальний вміст фенольних сполук обчислювали за калібрувальною кривою, побудованою за хлорогеновою кислотою ("Sigma", США) та виражали в мг/г маси сухої речовини.

**Визначення вмісту флавоноїдів у рослинному матеріалі.** Для визначення флавоноїдів 50 мг подрібненого рослинного матеріалу екстрагували з додаванням 2 мл метанолу протягом 24 годин. Гомогенат центрифугували при 5000 об/хв протягом 10 хв. Відбирали 1 мл супернатанту, додавали 0,5 мл 2 % розчину  $AlCl_3$ , 0,5 мл 1М натрію оцтовокислого та 0,5 мл дистильованої води. Суміш витримували 10 хв за кімнатної температури та аналізували спектрофотометрично на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжини хвилі 425 нм. Вміст флавоноїдів визначали за калібрувальною кривою, побудованою за кверцетином та виражали в мг/г маси сухої речовини.

Спектри поглинання комплексів флавоноїдів з хлоридом алюмінію оцінювали на спектрофотометрі Specord 210 Plus в діапазоні 400-700 нм з кроком 0,1 нм та порівнювали із спектрами поглинання стандартних розчинів флавоноїдів (Peřkal, Puzzynska, 2014).

**Визначення вмісту малонового діальдегіду.** Для визначення вмісту малонового діальдегіду (МДА) рослинний матеріал гомогенізували у 20 % розчині трихлороцтової кислоти та інкубували з 0,5 % розчином тіобарбітурової кислоти на киплячій водяній бані протягом 30 хв. У супернатанті, отриманому після центрифугування, спектрофотометрично визначали вміст МДА за довжини хвилі 532 нм і виражали в нМ на 1 г сухої речовини (Мусяенко и соавт., 2001).

**Визначення вмісту карбонільних груп білків.** Метод базується на взаємодії карбонільних груп (КГ) білків з 2,4-динітрофенілгідразином (Лушак та ін., 2004). Наважку рослинного матеріалу (100–200 мг) гомогенізували в 50 мМ калій-фосфатному буфері (рН 7,0) у співвідношенні 1:2. Отриманий після центрифугування (10 хв, 5000 об/хв, +4°C) осад розчиняли в 1 мл 10 мМ розчину 2,4-динітрофенілгідразину в 2 М HCl, та інкубували протягом 1 год при кімнатній температурі. Суміш центрифугували в попередньому режимі, а отриманий осад тричі промивали в 1 мл суміші етанолу та етилацетату (1:1) і центрифугували. Промитий осад розчиняли в 3 мл 6 М гуанідингідрохлориду. Нерозчинений матеріал відділяли центрифугуванням у попередньому режимі. У супернатантах спектрофотометрично визначали вміст КГ білків на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжини хвилі 370 нм, використовуючи коефіцієнт молярного поглинання 22000 моль/см.

**Визначення вмісту пероксиду водню.** Для визначення вмісту

пероксиду водню рослинний матеріал гомогенізували та екстрагували у 50 мМ фосфатному буфері рН 7,0. Гомогенат центрифугували протягом 15 хв за 13 000 g та +5°C. Вміст пероксиду визначали калориметрично (Di Torri et al., 1999). Для визначення пероксиду до 1 мл супернатанту додавали 3 мл 0,1%  $Ti(SO_4)_2$ . Інтенсивність забарвлення визначали за довжини хвилі 410 нм. Калібрувальну криву будували за  $H_2O_2$ . Вміст пероксиду водню розраховували у мг на 1 г сухої речовини.

**Виявлення вуглеводнів нафти у рослинному матеріалі.** Для виявлення вуглеводнів нафти ефективним є метод, що базується на властивості нафтових вуглеводнів люмінесцювати в органічних розчинниках (хлороформі та гексані) (Білецький, 2007). Виявлення нафти у пагонах та листках моху здійснювали з використанням 1 мМ розчину гексану. Рослинний матеріал вносили у розчин гексану та витримували протягом 15 хв за кімнатної температури. Найбільш яскрава люмінесценція в короткохвильовій області спектра (переважно блакитного кольору) характерна для легких вуглеводнів нафти, тоді як із збільшенням кількості важких фракцій нафти (смола, асфальтени) яскравість люмінесценції знижується і колір змінюється від жовтого-зеленого до жовто-коричневого або коричневого (Мала гірнича енциклопедія, 2007). Препарати аналізували та фотографували із застосуванням флуоресцентного моторизованого мікроскопа Ахіо Imager M1.

**Атомно-адсорбційний аналіз.** Для визначення валового вмісту макро- та мікроелементів субстрат відбирали у трьох місцях в межах пробної ділянки, змішували і формували середню пробу. Потім проби спалювали у фарфорових тиглях у муфельній печі за температури 400-450°C протягом 4-6 годин до отримання однорідного кольору золи. Після цього золу обробляли сумішшю  $HCl$  та  $HNO_3$  у співвідношенні 3:1. Вміст хімічних елементів у мохових дернинах також аналізували у середній пробі. Повітряно-сухий рослинний матеріал спалювали у муфельній печі за температури 450°C. Отриману золу після зважування розчиняли розведеною  $HNO_3$ . Вміст елементів визначали атомно-абсорбційним методом на спектрофотометрі С115М1 (Україна, „Селмі”) у пропан-бутановому полум'ї з використанням дейтерієвого коректора неселективної абсорбції (Методические ..., 1981).

Відносна похибка при визначенні вмісту макро- та мікроелементів за умов  $P \leq 0,95$  не перевищувала 7 %.

Для оцінки валового вмісту макро- та мікроелементів середні проби рослинного матеріалу і субстрату озолювали за температури 450° С протягом 2 год. Отриману золу перетирали і наважку 30 мг випалювали з каналу вугільного електроду у дузі змінного струму. Реєстрацію спектрів здійснювали на фотопластинці у спектрографах СТЕ-1 і ИСП-28. Вміст

елементів визначали атомно-емісійним спектральним методом на мікроденситометрі MD-100 (Зырин и др., 1971; Химический анализ горных пород..., 1974).

**Визначення вмісту органічного Карбону в субстраті.** Для аналізу вмісту органічного Карбону відбирали зразки субстрату під моховим покривом та аналізували верхній шар субстрату, товщиною 2-3 см (Трофимец, Ипатов, 1990). Контролем були проби оголеного субстрату (без рослинного покриву). Субстрат відбирали у трьох місцях в межах пробної ділянки, змішували і формували середню пробу. Визначення вмісту органічного Карбону в субстраті здійснювали за методом І. В. Тюріна у модифікації Б. А. Нікітіна (Минеев, 1989), що базується на окисненні органічної речовини хромовою сумішшю у сильноокислому середовищі. Оптичну густину розчинів вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 590 нм та виражали у відсотках.

**Визначення вмісту азоту, фосфору, калію, натрію та кальцію у субстраті та рослинному матеріалі.** Зразки рослинного матеріалу спалювали у муфельній печі за температури 450 С упродовж 1,5–2 годин, а в техноземі вміст елементів визначали у повітряно-сухих пробах. Отриману золу рослин та проби техноземів після зважування розчиняли у 12 % HCl, потім фільтрували під вакуумом через скляні фільтри Шота. Вміст загального азоту у субстраті визначали за методом К'ельдаля (Агрохимические ..., 1975), фосфору – фотоколориметрично за інтенсивністю забарвлення фосфорно-молібденової сині (Чернавина и др., 1978), калію, натрію та кальцію – на полум'яному фотометрі “ПФМ-БП-ЗОМЗ” (Петербургский, 1968).

Отримані дані опрацьовували методами статистичного аналізу (Лакин, 1990, Зайцев, 1990).

## **РОЗДІЛ 2.**

# **ФОТОСИНТЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ ДОМІНАНТНИХ ТА СУБДОМІНАНТНИХ ВИДІВ МОХІВ В УМОВАХ ТЕХНОГЕННОГО СЕРЕДОВИЩА**

### **2.1. ПЛАСТИЧНІСТЬ ПІГМЕНТІВ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ МОХІВ НА ПОРОДНОМУ ВІДВАЛІ ВИДОБУТКУ СІРКИ**

Порівняння результатів щодо кількісних та якісних змін пігментів пластид та інтенсивності процесу асиміляції вуглекислоти в рослинах у природних умовах за складного поєднання основних екологічних факторів середовища дає уявлення про пластичність чи консервативність обмінних процесів, виявляє ступінь пристосованості окремих видів до умов існування. Функціонування фотосинтетичного апарату рослин визначає, у кінцевому результаті, продуктивність рослинного покриву у мінливих умовах природного середовища.

Фотосинтетичну активність мохів досліджували на прикладі сфагнових мохів, бріофітів лісових угруповань та боліт, тундрових екосистем, крейдяних луків Європи (Лукьянова и др., 1986; During, 1990; Longton, 1992; During, Lloret, 1996; Шмакова, 2006). Особливості функціонування системи фотосинтезу мохів на техногенно порушених територіях мало вивчена. У цьому аспекті зручним об'єктом для досліджень є девастовані території видобутку сірки, де одночасно з механічним і хімічним порушенням природних екосистем внаслідок видобування сірки відкритим способом, виносяться на поверхню і складуються у відвалах гірські породи, які значно відрізняються від початкових субстратів за своїми хімічними та фізичними властивостями (Марискевич, 2005; Дідух та ін., 2008; Козловський, 2008). Основною проблемою освоєння відвальної породи є її чужорідність для біоти та значна напруженість основних екологічних чинників (температури, вологості та інтенсивності світла). Крім того, різновікові і різнопородні схили відвалів руйнуються ерозійними процесами, ускладнюючи закріплення рослин і формування рослинного покриву. Мохоподібні одними з перших оселяються на субстратах відвалів, формуючи з часом рясні, багатовидові обростання.

Як і кожна фізіологічна функція, фотосинтез завжди має певні риси пристосування до складного комплексу екологічних факторів та умов, в яких цей процес відбувається, і від яких залежить його перебіг. Це проявляється, насамперед, в особливостях пігментного апарату, в його кількісному та якісному складі. Завдяки тонко організованій і динамічній структурі фотосинтетичного апарату, рослини ефективно утилізують енергію

сонячного світла для фотосинтезу та здатні до реалізації фотосинтетичних процесів у різноманітних екологічних умовах. Багато видів мохоподібних приурочені до відкритих, сухих оселищ. Вони можуть втрачати вологу до рівня 5–10 % від маси сухої речовини і легко відновлюватися у процесі регідратації (Proctor, 2002). Листки мохів одношарові, у них немає епідермісу, продихів, кутикула тонка або відсутня (Glime, 2007). Тобто, клітини, в яких відбувається процес фотосинтезу, не захищені від підвищеної інсоляції, зневоднення та інших негативних чинників, тому їх існування у несприятливих умовах може забезпечуватися, значною мірою, пластичністю фотосинтетичного апарату.

У найбільш сприятливий період для вегетації мохів (квітень-травень) вміст хлорофілів ( $a+b$ ) у пагонах досліджуваних видів мохів *Ptychostomum imbricartulum*, *Bryum argenteum*, *Barbula unguiculata* та *Brachytecium salebrosum* був у діапазоні 0,63–1,76 мг/г сухої маси (далі – мг/г с. м.), каротиноїдів – 0,20–1,21 мг/г с. м. Для виду *Ptychostomum imbricartulum* визначено найбільшу кількість хлорофілів (1,20–1,76 мг/г с. м.) (табл. 2.1). Можливо, це пов'язане зі специфікою його життєвої форми – короткої щільної дернини, яка добре утримує вологу (вміст води у моховій дернині у літній період на дослідних ділянках відвалу був у діапазоні 31,6–70,2 %), створюючи сприятливі умови для функціонування фотосинтетичного апарату. На відміну від пухких дернин *Bryum argenteum* і *Barbula unguiculata*, що добре провітрюються і швидше втрачають вологу, щільні дернини мохів, завдяки більшій густині пагонів та наявності ризоїдних стolonів, на відкритій місцевості з різкою зміною води і температури середовища знижують випаровування зі своєї поверхні капілярно затриманої води та нівелюють зміни водного і температурного режимів, роблять їх більш вирівняними і незалежними від мінливості мікроумов місцевиростань.

У пагонах *Bryum argenteum* також визначено досить високий сумарний вміст зелених пігментів – 0,80–1,49 мг/г с. м. Відзначено тенденцію до зменшення кількості хлорофілів у *Bryum argenteum* та *Ptychostomum imbricartulum* від основи до вершини відвалу, причому це властиве для зразків мохів як з північного, так і південного схилу. Наприклад, для рослин *Ptychostomum imbricartulum*, зібраних на вершині відвалу, встановлено зниження вмісту хлорофілів в 1,3 рази, порівняно з рослинами з основи. Для рослин *Bryum argenteum* вплив несприятливих мікрокліматичних умов на вершині відвалу був більше відчутним, оскільки спостерігалось зменшення кількості зелених пігментів майже в 1,5 рази, що могло бути зумовлене значними втратами води у моховій дернині до 8,6–17,3 % (~ в 1,4 рази, порівняно з рослинами з основи відвалу), оскільки пухкі дернини цього виду утримують вологу слабше, порівняно із щільнодернинним видом *Ptychostomum imbricartulum*. Тобто,

напруженість екологічних факторів, зокрема висока інсоляція (90–110 тис. лк) та зниження вологості субстрату до 4,2–8,5 %, що є характерним для вершини відвалу, суттєво впливали на вміст пігментів фотосинтезу.

Таблиця 2.1

**Вміст фотосинтетичних пігментів (мг/г сухої маси) у пагонах мохів на території відвалу видобутку сірки (квітень-травень) ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ).**

Місце відбору зразків мохів	хл. <i>a</i>	хл. <i>b</i>	<i>a+b</i>	каротиноїди	X/K	<i>a/b</i>
<b>Північний схил</b>						
<b><i>Ptychostomum imbricatulum</i></b>						
основа	0,98±0,08	0,52±0,05	1,50±0,09	0,46±0,03	3,2	1,9
середина	0,90±0,09	0,56±0,09	1,46±0,09	0,76±0,03*	1,9	1,6
вершина	0,68±0,08*	0,52±0,06	1,20±0,08*	0,55±0,01*	2,2	1,3
<b><i>Bryum argenteum</i></b>						
основа	0,70±0,06	0,52±0,04	1,22±0,09	0,58±0,05	2,1	1,3
середина	0,62±0,01	0,53±0,02	1,15±0,08	0,42±0,03*	2,7	1,2
вершина	0,48±0,01*	0,32±0,01*	0,80±0,02*	0,64±0,03*	1,3	1,5
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>						
основа	0,65±0,06	0,43±0,03	1,08±0,09	1,18±0,05	0,9	1,5
середина	0,59±0,02	0,40±0,01	0,99±0,03	1,12±0,03	0,9	1,5
вершина	0,39±0,01*	0,24±0,02*	0,63±0,02*	0,73±0,01*	0,8	1,6
<b><i>Brach. salebrosum</i></b>						
основа	0,54±0,06	0,60±0,07	1,14±0,13	0,24±0,03	4,7	0,9
середина	0,51±0,05	0,64±0,05	1,15±0,09	0,28±0,03	4,1	0,8
вершина	0,43±0,03*	0,50±0,01*	0,93±0,09*	0,22±0,02	4,2	0,9
<b>Південний схил</b>						
<b><i>Ptychostomum imbricatulum</i></b>						
основа	0,69±0,03	0,54±0,03	1,23±0,09	0,43±0,03	2,9	1,3
середина	1,08±0,09*	0,68±0,04*	1,76±0,07*	0,51±0,03	3,4	1,6
вершина	0,69±0,05	0,45±0,02*	1,14±0,09	0,44±0,02	2,6	1,6
<b><i>Bryum argenteum</i></b>						
основа	0,91±0,09	0,58±0,03	1,49±0,11	0,63±0,05	2,3	1,9
середина	0,78±0,05*	0,45±0,02*	1,23±0,09*	0,78±0,03*	1,6	1,8
вершина	0,61±0,03*	0,34±0,02*	0,95±0,07*	0,76±0,04*	1,3	1,8
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>						
основа	0,63±0,05	0,36±0,01	0,99±0,04	0,75±0,03	1,3	1,6
середина	0,58±0,03	0,42±0,03	1,03±0,08	0,73±0,05	1,4	1,3
вершина	0,47±0,04*	0,27±0,01*	0,74±0,03*	0,68±0,02	1,1	1,7
<b><i>Brach. salebrosum</i></b>						
основа	0,51±0,03	0,50±0,04	1,1±0,09	0,21±0,01	5,3	1,0
середина	0,46±0,05	0,48±0,03	0,94±0,12	0,24±0,03	3,9	0,9
вершина	0,32±0,02*	0,38±0,02*	0,70±0,05*	0,20±0,01	3,5	1,1

Примітка: \* — різниця між зразками одного виду порівняно до показників з основи відвалу (контроль) статистично достовірна при  $p < 0,05$ .

У пагонах *Barbula unguiculata* встановлено дещо нижчий рівень

зелених пігментів, порівняно з двома попередніми видами (0,63 – 1,08 мг/г с. м.). Цей вид частіше трапляється на відкритих ділянках із високою інтенсивністю освітлення, пухкі дернини легко втрачають вологу (до 11,2–21,3 %), що значно змінює якісний склад його пігментів, оскільки виявлено зменшення відносної частки хлорофілів і зростання вмісту каротиноїдів (0,52–1,21 мг/г с. м.).

Співвідношення кількості хлорофілів до каротиноїдів (Х/К) у пагонах *Barbula unguiculata* становило 0,8–1,4. Для рослин *Bryum argenteum* цей показник був у межах 1,3–2,7, а для зразків *Ptychostomum imbricartulum* був дещо вищим (1,9–3,8), можливо, через кращу водоутримуючу здатність рослин цього виду. У рослинах *Brachytecium salebrosum* співвідношення Х/К було найбільшим серед усіх досліджуваних видів мохів і досягало 2,9–5,3, що є характерним для рослин затінених місцевиростань.

Найменшу кількість фотосинтетичних пігментів виявлено у *Brachytecium salebrosum* (0,70 – 1,15 мг/г маси с. р. хлорофілів та 0,20 – 0,28 мг/г маси с. р. каротиноїдів). Для цього виду теж спостерігали зниження кількості пігментів на 30–45 % у зразках із вершини, порівняно з рослинами, що росли в основі відвалу. Поряд із кількісними відмінностями, у цього виду виявлені й якісні зміни у складі зелених пігментів. На території відвалу *Brachytecium salebrosum* росте в затінених місцях, тому пристосованість рослин до низької інтенсивності освітлення відбувалася унаслідок збільшення частки хлорофілу *b* в загальній сумі хлорофілів асимілюючих органів. Загалом, співвідношення хлорофілів *a/b* у пігментному комплексі видів, приурочених до відкритих місцевиростань, *Ptychostomum imbricartulum*, *Bryum argenteum* і *Barbula unguiculata* було у межах 1,3–1,9, а в пагонах *Brachytecium salebrosum* із затінених локалітетів становило 0,8–1,1, що є близьким до показників рослин тіньового типу (Лук'янова и др., 1986). Частка хлорофілу *a* в сумарній кількості зелених пігментів становила, в середньому, 58–65 % і лише у зразків *Brachytecium salebrosum* цей показник зменшувався до 50 % унаслідок підвищення кількості хлорофілу *b*. Це свідчить про широку норму реакції мохів до зміни інтенсивності світла, що дає їм можливість ефективно використовувати низькі інтенсивності освітлення. Варто також відзначити, що вміст пігментів фотосинтезу у пагонах мохів залежав від експозиції та місцезнаходження рослин на території відвалу. Більший сумарний вміст хлорофілів, переважно, встановлено у зразках із північного схилу, що зумовлено кращими умовами водозабезпечення рослин на цій ділянці відвалу.

Літературні дані свідчать, що мохоподібні часто проявляють фізіологічні ознаки фотосинтезу тіневитривалих рослин, оскільки для них характерне низьке співвідношення хлорофілів *a/b*. Для світлолюбивих

видів мохів визначено високе співвідношення хлорофілів *a/b* та низькі показники співвідношення хлорофілів/каротиноїдів, порівняно з тіневитривалими (Лобачевська, 2014; Glime, 2006). У наших дослідженнях також зафіксовано достовірне підвищення вмісту каротиноїдів у пагонах мохів *Ptychostomum imbricatum*, *Bryum argenteum* і *Barbula unguiculata* з вершини відвалу, що засвідчує їх фотопротекторну функцію – захист хлорофілу від фотоокиснення та пригнічення утворення синглетного кисню (Медведев, 2004) в умовах високої інсоляції та несприятливого температурного режиму.

Важливим процесом, який визначає життєдіяльність усіх зелених рослин, є асиміляція вуглекислоти. Відомо, що в квіткових рослин проявляється чітка сезонна динаміка з максимумом інтенсивності газообміну, який приурочений до репродуктивної фази розвитку. У добовій динаміці максимум припадає на передобідню та післяобідню пори (Зеленский, 1978). У зв'язку зі специфікою організації гаметофіту мохів (пойкілогідричність, невеликі розміри, примітивна провідна система та інші анатомо-морфологічні та фізіологічні особливості), можна припустити, що ця група рослин має інші, відмінні від квіткових рослин особливості функціонування фотосинтетичного апарату, хоча показано, що інтенсивність фотосинтезу мохів за оптимального світлового насичення та оптимального рівня CO<sub>2</sub> в середовищі практично не відрізняється від аналогічного показника асиміляції вуглекислоти судинних рослин (Лобачевська, 2014; Longton, 1992; Glime, 2007).

Результати аналізу інтенсивності фотосинтезу досліджуваних видів мохів на території відвалу №1 підтвердили залежність цього показника як від видових особливостей рослин, так і від конкретних екологічних умов (табл. 2.2). Вищу інтенсивність визначено у зразків *Ptychostomum imbricatum* та *Bryum argenteum* (3,56–3,68 мг CO<sub>2</sub>/г с. м./год), які росли в основі відвалу, де інтенсивність світла у квітні-травні була в діапазоні 45–70 тис. лк, а температура на поверхні субстрату 20,4–25,5°C. У *Barbula unguiculata* з цієї ділянки відвалу показник фотосинтетичної активності становив 3,04–3,41 мг CO<sub>2</sub>/г с. м./год і для *Brachythecium salebrosum* – 2,66 мг CO<sub>2</sub>/г с. м./год. Суттєве зменшення показників асиміляції CO<sub>2</sub> в 1,5–1,7 разів визначено у зразках мохів *Ptychostomum imbricatum*, *Bryum argenteum* і *Barbula unguiculata* з вершини відвалу, особливо південної експозиції, де інтенсивність фотосинтезу зменшувався майже удвічі. Для рослин *Brachythecium salebrosum* мінливість показників асиміляції CO<sub>2</sub> була найнижчою на усіх дослідних ділянках, очевидно, через стабільніші умови місцевиростань цього виду. Тобто, спостерігалася тенденція до зниження рівня інтенсивності фотосинтезу від основи до вершини відвалу (аналогічно, як і для вмісту фотосинтетичних пігментів). Загалом, для усіх досліджуваних видів встановлена кореляція між інтенсивністю



фотосинтезу та вмістом хлорофілів, оскільки максимальні величини асиміляції CO<sub>2</sub> визначені для видів, що мали найбільший вміст зелених пігментів – *Ptychostomum imbricatum* та *Bryum argenteum*.

Таблиця 2.2

**Інтенсивність фотосинтезу у пагонах мохів на території відвалу видобутку сірки (квітень-травень) (M±m; n=5)**

Місце відбору зразків мохів	Інтенсивність фотосинтезу, мг CO <sub>2</sub> /г сухої маси/год	
	Північний схил	Південний схил
<b><i>Ptychostomum imbricatum</i></b>		
основа	3,64±0,25	3,64±0,29
середина	2,54±0,13*	2,44±0,21*
вершина	2,06±0,09*	1,58±0,09*
<b><i>Bryum argenteum</i></b>		
основа	3,56±0,18	3,68±0,21
середина	2,56±0,12*	3,23±0,19
вершина	2,29±0,11*	2,61±0,13*
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>		
основа	3,14±0,22	3,41±0,21
середина	2,31±0,21*	2,53±0,12*
вершина	2,22±0,19*	2,32±0,22*
<b><i>Brachytecium salebrosum</i></b>		
основа	2,55±0,27	2,66±0,18
середина	2,53±0,13	1,98±0,21
вершина	2,28±0,19	2,11±0,12

Примітка: \* — різниця між зразками одного виду порівняно до показників з основи відвалу (контроль) статистично достовірна при p<0,05.

Кореляційно-регресійний аналіз зв'язку між інтенсивністю фотосинтезу та вмістом хлорофілів у пагонах досліджуваних видів мохів показав, що отримана залежність описується лінійним рівнянням і має достатньо високий коефіцієнт кореляції (0,66) (рис. 2.1).

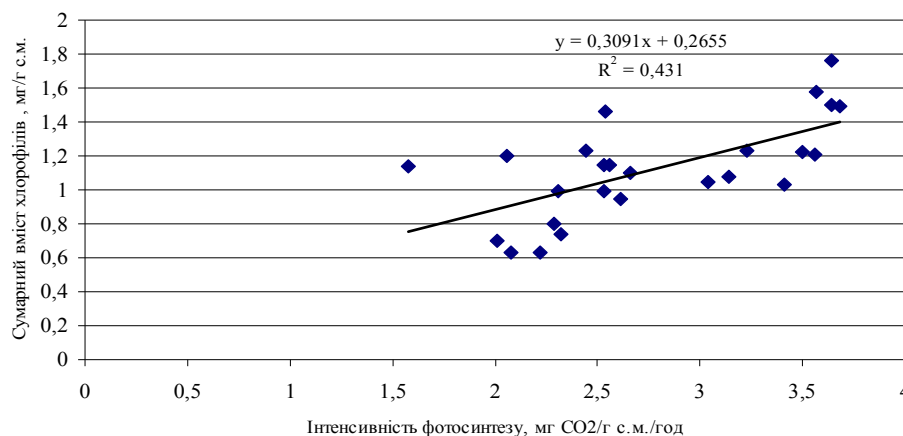


Рис. 2.1. Залежність інтенсивності фотосинтезу від вмісту хлорофілів у пагонах мохів із дослідних ділянок на території відвалу видобутку сірки.

Можливо, одним із лімітаційних факторів вуглекислотного газообміну є оводненість листків мохоподібних, оскільки встановлено зв'язок між величинами інтенсивності фотосинтезу та вмістом вологи у мохових дернинах (рис. 2.2).

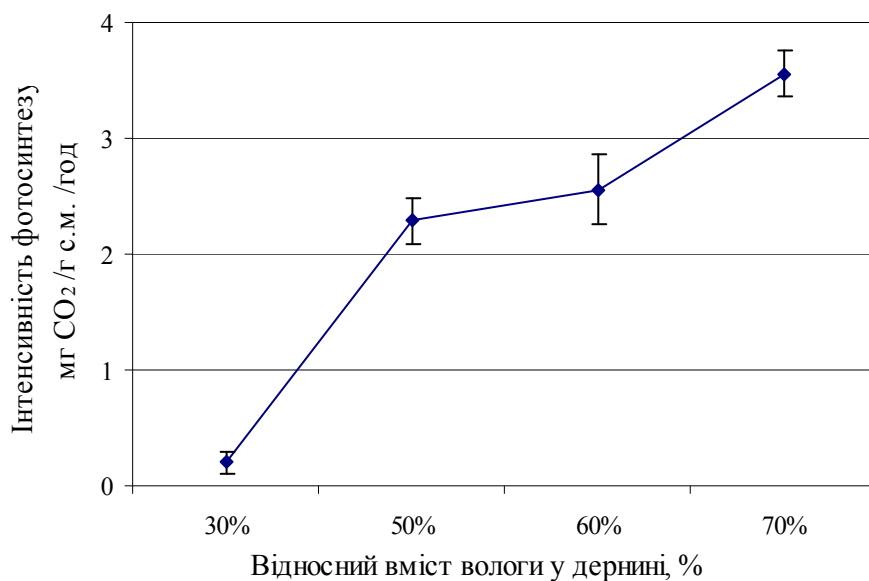


Рис. 2.2. Інтенсивність фотосинтезу у пагонах моху *Bryum argenteum* з території відвалу видобутку сірки залежно від вмісту вологи у дернинах.

Так, на прикладі моху *Bryum argenteum* встановлено, що найнижчі показники фотосинтетичної активності (2,29 мг СО<sub>2</sub>/г с. м./год) визначені у рослинних зразках із вмістом вологи 30–35 %. За нижчих значень оводненості рослин різко знижувалася інтенсивність фотосинтезу майже до нульових значень.

Дослідження з іншими видами мохів показали, що інтенсивність фотосинтезу знижується за низького вмісту води у тканинах і високої температури, а також при оберненому поєднанні факторів – за низької температури та високого вмісту вологи у дернинах моху *Hypnum diversiforme* Mitt. (Youji et al., 2004). В Антарктиці в умовах інтенсивного освітлення та низької температури, коли крапельна волога стає недоступною, у пагонах мохів визначено низьку інтенсивність асиміляції СО<sub>2</sub> і, відповідно, низьку продуктивність (Davey, Ellis-Evans, 1996). Виявлено суттєві відмінності у первинній продуктивності *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske залежно від водного режиму місцевиростань (Masaki et al., 2002). Показано чітку кореляцію між річним приростом біомаси сфагнових мохів та кількістю опадів за вегетаційний період (Грабовик, 2002).

Отже, виявлено залежність компонентного складу пігментного апарату та інтенсивності фотосинтезу різних видів мохів від мікрокліматичних умов їх місцевиростань та видових особливостей мохів.

Для мохів-поселенців *Ptychostomum imbricatum*, *Bryum argenteum* і *Barbula unguiculata*, які ростуть у контрастних умовах температури, вологості та освітлення визначено значну пластичність показників кількісного та якісного складу пігментного апарату: у сприятливих умовах в основі та на схилі відвалу відзначено збільшення вмісту хлорофілів на 20–42 %, меншу концентрацію каротиноїдів (співвідношення Х/К становило 2,3–3,8), переважання хлорофілу *a* в пігментному комплексі (співвідношення *a/v* було в діапазоні 1,2–1,9) та в 1,2–1,5 рази вищі показники інтенсивності фотосинтезу. На вершині відвалу за високої інсоляції та несприятливого водно-температурного режиму виявлено підвищення вмісту каротиноїдів (співвідношення Х/К було в межах 0,8–1,3). Для рослин *Brachythecium salebrosum* із життєвою стратегією багаторічного стаєра, які на дослідних ділянках відвалу трапляються у мікропониженнях рельєфу у затінених локалітетах із помірним освітленням та стабільнішими умовами температури та вологості відзначено меншу мінливість показників вмісту пігментів та інтенсивності фотосинтезу, переважання у пігментному апараті хлорофілу *b*, що характерне для рослин тіньового типу та у 2–4 рази менший уміст каротиноїдів, порівняно з іншими досліджуваними видами мохів (співвідношення Х/К становило 3,5–5,3).

## 2.2. СЕЗОННА ТА ДОБОВА ДИНАМІКА ВМІСТУ ПІГМЕНТІВ ТА ІНТЕНСИВНОСТІ ФОТОСИНТЕЗУ МОХІВ

Упродовж 2010–2012 рр. оцінювали сезонну динаміку вмісту пігментів фотосинтезу у дернинах мохів *Barbula unguiculata*, *Bryum argenteum*, *Ptychostomum imbricatum* та *Brachythecium salebrosum* на дослідних ділянках породного відвалу №1 видобутку сірки.

Як показали наші попередні результати (розд. 2.1), найвищі показники вмісту хлорофілів визначено у пагонах досліджуваних видів мохів у квітні-травні (табл. 2.1), що пояснюється сприятливими мікрокліматичними умовами середовища, які створювалися за середньомісячної температури повітря +14,2 – +22,9°C і поверхні субстрату +15,5 – +24,4°C, вологості субстрату 34,5–53,8 % та інтенсивності світла 70 – 80 тис. лк.

Майже удвічі нижчий вміст хлорофілів у пагонах мохів визначено у спекотні літні місяці (червень-липень), коли середньомісячна температура становила +22,6 – +23,2°C, поверхня субстрату на схилах відвалу прогрівалася до +37,5°C, на вершині – до +40,5°C, вологість субстрату в основі та на схилі відвалу була у межах 10,7–35,0 %, а на вершині – 4,5–10,6 %, інтенсивність світла підвищувалася до 100-110 тис. лк. Найсуттєвішу різницю виявлено для рослин *Barbula unguiculata*, які на території відвалу траплялися у відкритих сухих місцевиростаннях (сумарний вміст хлорофілів зменшився до 0,20–0,37 мг/г с.м.). Рослини

цього виду формують пухку дернину, яка швидко втрачає вологу, тому у спекотні літні місяці відзначено зменшення кількості зелених пігментів (табл. 2.3).

Таблиця.2.3

**Вміст фотосинтетичних пігментів (мг/г сухої маси) у пагонах мохів на дослідних ділянках відвалу видобутку сірки (червень-липень) ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Місце відбору зразків мохів	хл. <i>a</i>	хл. <i>b</i>	<i>a+b</i>	каротиноїди	X/K	<i>a/b</i>
<b>Північний схил</b>						
<b><i>Ptychostomum imbricatulum</i></b>						
основа	0,42±0,03	0,22±0,02	0,64±0,05	0,97±0,02	0,7	1,9
середина	0,26±0,02*	0,19±0,02	0,45±0,02*	0,90±0,05	0,5	1,4
вершина	0,31±0,03*	0,16±0,01*	0,47±0,02*	0,92±0,05	0,5	1,9
<b><i>Bryum argenteum</i></b>						
основа	0,30±0,03	0,22±0,01	0,52±0,03	0,62±0,02	0,9	1,4
середина	0,33±0,02	0,21±0,02	0,53±0,04	0,64±0,04	0,9	1,6
вершина	0,18±0,02*	0,11±0,01*	0,29±0,01*	0,38±0,05*	0,7	1,6
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>						
основа	0,23±0,01	0,14±0,01	0,37±0,02	0,49±0,02	0,8	1,6
середина	0,18±0,02	0,11±0,01	0,29±0,01	0,44±0,03	0,6	1,6
вершина	0,16±0,02*	0,13±0,01	0,28±0,01*	0,42±0,02	0,7	1,2
<b><i>Brach. salebrosum</i></b>						
основа	0,18±0,02	0,20±0,03	0,38±0,04	0,18±0,02	2,1	0,9
середина	0,16±0,02	0,18±0,01	0,34±0,01	0,21±0,02	1,6	0,9
вершина	0,12±0,01	0,16±0,01	0,28±0,01*	0,18±0,02	1,6	0,8
<b>Південний схил</b>						
<b><i>Ptychostomum imbricatulum</i></b>						
основа	0,24±0,01	0,19±0,02	0,43±0,03	0,85±0,05	0,5	1,3
середина	0,25±0,03	0,13±0,01	0,38±0,03	0,95±0,07	0,4	1,9
вершина	0,27±0,03	0,17±0,02	0,44±0,03	0,95±0,08	0,5	1,5
<b><i>Bryum argenteum</i></b>						
основа	0,23±0,01	0,12±0,01	0,35±0,02	0,61±0,04	0,6	1,9
середина	0,24±0,02	0,17±0,01	0,41±0,02	0,80±0,04*	0,5	1,4
вершина	0,18±0,01	0,11±0,01	0,29±0,02*	0,62±0,04	0,5	1,6
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>						
основа	0,22±0,02	0,13±0,01	0,35±0,01	0,70±0,03	0,5	1,7
середина	0,20±0,02	0,11±0,01	0,31±0,01	0,80±0,03	0,4	1,8
вершина	0,13±0,01*	0,07±0,004*	0,20±0,01*	0,48±0,03*	0,4	2,0
<b><i>Brach. salebrosum</i></b>						
основа	0,16±0,01	0,17±0,01	0,33±0,02	0,51±0,05	0,6	0,7
середина	0,14±0,02	0,15±0,03	0,29±0,02	0,48±0,06	0,6	0,9
вершина	0,13±0,01	0,15±0,01	0,28±0,02	0,69±0,06*	0,4	0,9

Примітка: \* — різниця між зразками одного виду порівняно до показників з основи відвалу (контроль) статистично достовірна при  $p < 0,05$ .

Для видів *Barbula unguiculata*, *Bryum argenteum* і *Ptychostomum*

*imbricatum* частка хлорофілу *a* в сумарній кількості хлорофілів була у межах 57,7–65,6 %. Співвідношення хлорофілів *a/b* у пігментному комплексі мохів було подібним до показників, визначених навесні та на початку осені і становило 1,3–1,9. Водночас відзначено істотне збільшення кількості каротиноїдів у пігментному комплексі мохів. Наприклад, у пагонах *Ptychostomum imbricatum*, *Bryum argenteum* і *Barbula unguiculata* їх вміст в 1,5–2,0 рази перевищував загальний вміст хлорофілів (особливо на дослідних ділянках південної експозиції), і, відповідно співвідношення X/K зменшилося до 0,4–0,8, що засвідчує захисну роль каротиноїдів у несприятливих мікрокліматичних умовах.

Для рослин *Brachytecium salebrosum* також визначено зменшення кількості хлорофілів майже утричі, порівняно із весняним періодом та суттєве збільшення частки каротиноїдів у фотосинтетичному апараті (співвідношення X/K у пагонах моху з ділянок південної експозиції становило 0,4–0,6. У загальному пулі хлорофілів переважав хлорофіл *b*, що, очевидно, зумовлене як специфікою місцевиростань цього виду, так і більшою стійкістю хлорофілу *b*, молекули якого є більше гідратованими, оскільки мають міцніші зв'язки з водою (Glime, 2006), що є певною компенсаційною реакцією пігментного апарату на стрес.

У серпні-вересні відзначено підвищення сумарного вмісту хлорофілів у пагонах мохів у 2–3 рази, порівняно з літніми місяцями (майже до показників весняного сезону), що пояснюється сприятливішими мікрокліматичними умовами місцевиростань і свідчить про швидке відновлення фотосинтетичної активності після несприятливого періоду (табл. 2.4). Хлорофіл *a* у рослинах *Ptychostomum imbricatum*, *Bryum argenteum* і *Barbula unguiculata* переважав у загальному пулі хлорофілів (становив 60–73 %). Вміст каротиноїдів у пагонах цих видів був подібним (0,45–0,65 мг/г с. м.) і за сприятливих умов співвідношення X/K було у діапазоні 1,7–2,7, а в рослинах *Bryum argenteum* і *Barbula unguiculata* з вершини відвалу зменшувалося до 1,2–1,6, що свідчило про збільшення кількості каротиноїдів у пігментному апараті за менш сприятливого температурного та водного режимів.

Для рослин *Brachytecium salebrosum* визначено менші показники загального вмісту хлорофілів (0,51–0,85 мг/г с. м.), кількість хлорофілу *a* становила 45,2–55,4 % у загальному пулі зелених пігментів, вміст каротиноїдів у пагонах цього виду був у 2–3 рази меншим, порівняно з іншими досліджуваними видами і, відповідно, визначено досить високе співвідношення X/K (2,4–3,4).

У другій половині жовтня та в листопаді, коли середньомісячна температура була в діапазоні +4,2 – +11,5°C, вологість субстрату була у межах 33,2–49,5 %, інтенсивність світла 55-68 тис. лк., виявлено

зменшення вмісту хлорофілів в 1,8–2,3 рази, співвідношення  $a/b$  зменшувалося до 0,9 – 1,6 унаслідок зростання частки хлорофілу  $b$ , що, очевидно, забезпечувало можливість рослинам використовувати світло низьких інтенсивностей для фотосинтезу (табл. 2.5).

Таблиця 2.4

**Вміст фотосинтетичних пігментів (мг/г сухої маси) у пагонах мохів на території відвалу №1 (серпень-вересень) ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Місце відбору зразків мохів	хл. $a$	хл. $b$	$a+b$	каротиноїди	X/K	$a/b$
<b>Північний схил</b>						
<b><i>Ptychostomum imbricatulum</i></b>						
плато відвалу	0,87±0,04	0,43±0,03	1,30±0,08	0,55±0,04	2,4	2,0
середина	0,96±0,08*	0,52±0,04*	1,31±0,08	0,48±0,09	2,7	1,8
вершина	0,69±0,06*	0,43±0,03	1,12±0,09	0,42±0,03	2,7	1,6
<b><i>Bryum argenteum</i></b>						
основа	1,07±0,11	0,67±0,37	1,74±0,09	0,65±0,08	2,6	1,6
схил	0,72±0,04	0,41±0,02	1,13±0,009*	0,68±0,13	1,66	1,8
вершина	0,65±0,05*	0,32±0,02*	0,97±0,08*	0,80±0,04*	1,22	2,0
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>						
основа	0,44±0,04	0,30±0,02	0,74±0,04	0,45±0,03	1,6	1,5
середина	0,48±0,03	0,26±0,02	0,74±0,06	0,45±0,04	1,7	1,8
вершина	0,36±0,03*	0,20±0,02	0,56±0,05*	0,41±0,05	1,4	1,8
<b><i>Brach. salebrosum</i></b>						
основа	0,34±0,04	0,31±0,04	0,65±0,06	0,19±0,02	3,4	1,3
середина	0,31±0,03	0,29±0,02	0,60±0,05	0,21±0,01	2,9	1,0
вершина	0,32±0,03	0,26±0,02	0,58±0,05	0,23±0,01	2,5	1,2
<b>Південний схил</b>						
<b><i>Ptychostomum imbricatulum</i></b>						
основа	0,68±0,04	0,36±0,02	1,04±0,08	0,41±0,02	2,5	1,9
середина	0,63±0,04	0,39±0,02	0,92±0,07	0,36±0,02	2,6	1,6
вершина	0,52±0,02*	0,28±0,01*	0,80±0,05*	0,38±0,01	2,1	1,8
<b><i>Bryum argenteum</i></b>						
основа	0,59±0,05	0,28±0,03	0,87±0,06	0,45±0,03	1,9	2,1
середина	0,63±0,06	0,43±0,03*	1,06±0,09*	0,51±0,08	2,1	1,5
вершина	0,43±0,03*	0,24±0,01	0,67±0,05*	0,43±0,04	1,6	1,7
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>						
основа	0,42±0,03	0,20±0,02	0,62±0,06	0,45±0,02	1,4	2,1
середина	0,38±0,04	0,21±0,02	0,59±0,06	0,41±0,04	1,4	1,8
вершина	0,36±0,04	0,19±0,02	0,55±0,04	0,35±0,02*	1,6	1,9
<b><i>Brach. salebrosum</i></b>						
основа	0,40±0,03	0,45±0,04	0,85±0,06	0,25±0,02	3,4	1,0
середина	0,36±0,04	0,44±0,05	0,80±0,09	0,34±0,04	2,4	0,8
вершина	0,28±0,02*	0,23±0,01*	0,51±0,04*	0,21±0,02	2,4	1,2

Примітка: \* — різниця між зразками одного виду порівняно до показників з основи відвалу (контроль) статистично достовірна при  $p < 0,05$ .

У кінці вегетаційного сезону у досліджуваних видів відбувалося

значне зменшення кількості каротиноїдів (у 2-3 рази).

Таблиця 2.5

**Вміст фотосинтетичних пігментів (мг/г сухої маси) у пагонах мохів на території відвалу №1 (жовтень-листопад) (M±m; n=5)**

Місце відбору зразків мохів	хл. <i>a</i>	хл. <i>b</i>	<i>a+b</i>	каротиноїди	X/K	<i>a/b</i>
<b>Північний схил</b>						
<b><i>Ptychostomum imbricatum</i></b>						
основа	0,41±0,03	0,34±0,02	0,75±0,05	0,25±0,01	3,0	1,2
середина	0,28±0,02*	0,20±0,02*	0,48±0,05*	0,20±0,02	2,4	1,4
вершина	0,26±0,03*	0,18±0,02*	0,44±0,05*	0,21±0,01	2,1	1,5
<b><i>Bryum argenteum</i></b>						
основа	0,34±0,02	0,25±0,01	0,50±0,02	0,33±0,01	1,5	1,3
середина	0,22±0,01*	0,16±0,01*	0,38±0,02*	0,18±0,01*	2,1	1,4
вершина	0,22±0,01*	0,15±0,01*	0,37±0,02*	0,15±0,01*	2,5	1,5
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>						
основа	0,28±0,01	0,19±0,02	0,47±0,03	0,28±0,02	1,7	1,5
середина	0,28±0,01	0,19±0,01	0,47±0,03	0,18±0,02	2,6	1,5
вершина	0,20±0,01	0,16±0,01*	0,36±0,02*	0,24±0,01	1,5	1,3
<b><i>Brach. salebrosum</i></b>						
основа	0,23±0,02	0,27±0,02	0,50±0,06	0,21±0,02	2,4	0,9
середина	0,20±0,02	0,22±0,02	0,42±0,03	0,19±0,02	2,2	0,9
вершина	0,13±0,01*	0,11±0,01*	0,24±0,02*	0,11±0,01*	2,0	1,2
<b>Південний схил</b>						
<b><i>Ptychostomum imbricatum</i></b>						
основа	0,28±0,03	0,17±0,02	0,45±0,04	0,18±0,01	2,5	1,6
середина	0,25±0,03	0,17±0,02	0,42±0,04	0,15±0,02	2,8	1,5
вершина	0,22±0,02*	0,15±0,02	0,37±0,04*	0,14±0,01	2,6	1,5
<b><i>Bryum argenteum</i></b>						
основа	0,28±0,02	0,18±0,02	0,46±0,03	0,22±0,01	2,1	1,6
середина	0,28±0,02	0,20±0,01	0,48±0,04	0,24±0,03	2,0	1,4
вершина	0,21±0,01*	0,16±0,02	0,37±0,03*	0,26±0,02	1,4	1,3
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>						
основа	0,24±0,02	0,22±0,01	0,46±0,04	0,24±0,02	1,9	1,1
середина	0,24±0,02	0,18±0,02	0,42±0,03	0,22±0,02	1,9	1,3
вершина	0,19±0,01	0,13±0,01*	0,32±0,02*	0,22±0,02	1,5	1,5
<b><i>Brach. salebrosum</i></b>						
основа	0,25±0,03	0,18±0,02	0,43±0,03	0,13±0,01	3,3	1,4
середина	0,24±0,03	0,22±0,03	0,46±0,05	0,17±0,02	2,7	1,1
вершина	0,22±0,02	0,17±0,01	0,39±0,04	0,11±0,01	3,5	1,3

Примітка: \* — різниця між зразками одного виду порівняно до показників з основи відвалу (контроль) статистично достовірна при  $p < 0,05$ .

Дослідження сезонної та добової динаміки інтенсивності фотосинтезу дає можливість виявити еколого-фізіологічні особливості, ступінь адаптації та стійкості фотосинтетичного апарату мохів до зміни

мікрокліматичних умов. Оскільки інтенсивність фотосинтезу залежить від температурного та водного режиму, інтенсивності світла, тому максимум фотосинтетичної активності визначено у квітні-травні та у другій половині серпня й у вересні (табл. 2.2, 2.7). Вищі показники асиміляції CO<sub>2</sub> визначено для рослин *Ptychostomum imbricatum* і *Bryum argenteum* (3,23 – 3,68 мг CO<sub>2</sub>/ г с.м./год.) в основі відвалу північної експозиції. На дослідних ділянках південної експозиції визначено зменшення інтенсивності фотосинтезу в 1,2–1,3 рази. Також відзначено зниження фотосинтетичної активності в 1,2–1,4 рази в усіх видів мохів на вершині відвалу, порівняно з показниками інтенсивності фотосинтезу у мохів з основи відвалу. Найнижчі величини асиміляції CO<sub>2</sub> (0,80 – 1,46 мг CO<sub>2</sub>/г маси с.р./год) припадають на сухі літні місяці (табл. 2.6).

Таблиця 2.6

**Інтенсивність фотосинтезу мохів на дослідних ділянках відвалу видобутку сірки (червень-липень) (M±m; n=5)**

Місце відбору зразків мохів	Інтенсивність фотосинтезу, мг CO <sub>2</sub> / г с. м./год	
	Північний схил	Південний схил
<b><i>Ptychostomum imbricatum</i></b>		
основа	1,46±0,11	1,42±0,09
середина	1,16±0,08*	0,94±0,08*
вершина	1,16±0,09*	0,90±0,07*
<b><i>Bryum argenteum</i></b>		
основа	1,32±0,08	1,08±0,01
середина	1,24±0,08	0,91±0,01
вершина	1,18±0,01*	1,05±0,01
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>		
основа	1,14±0,01	0,81±0,06
середина	0,89±0,06*	0,70±0,03*
вершина	0,80±0,05*	0,69±0,03*
<b><i>Brachytecium salebrosum</i></b>		
основа	0,88±0,09	1,16±0,09
середина	0,85±0,07	0,79±0,08*
вершина	0,77±0,08	0,80±0,08*

Примітка: \* — різниця між зразками одного виду порівняно до показників з основи відвалу (контроль) статистично достовірна при p<0,05.

Несприятливий температурний та водний режим відкритих місцевиростань на території відвалу та високий рівень інсоляції спричиняли втрату вологи моховими дернинами, що суттєво впливало на функціонування фотосинтетичного апарату. Кореляційно-регресійний аналіз залежності інтенсивності фотосинтезу від відносного вмісту вологи у мохових дернинах показав позитивну кореляцію між цими показниками (r=0,61) (рис. 2.3).



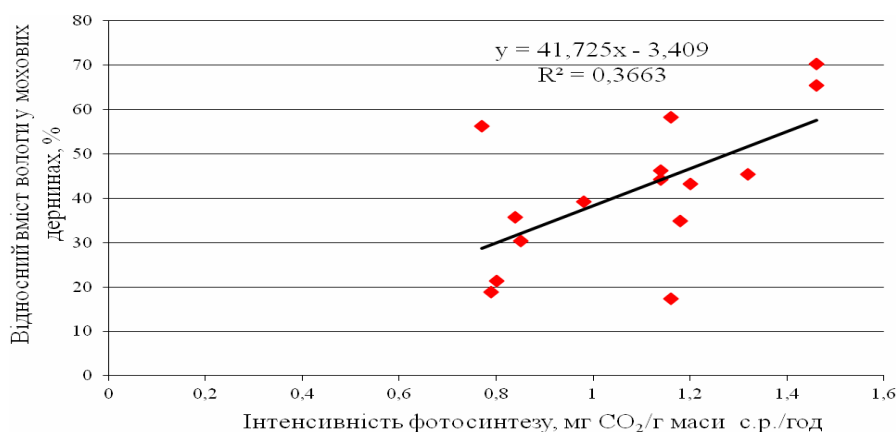


Рис. 2.3. Залежність інтенсивності фотосинтезу мохів на дослідних ділянках відвалу видобутку сірки від відносного вмісту вологи мохових дернин

Кінець серпня та вересень 2010-2012 рр. характеризувалися більш сприятливими мікрокліматичними умовами (середньомісячні температури повітря +14,2 – +22,9°C і поверхні субстрату +15,5 – +24,4°C, вологість субстрату 34,5–53,8 % та інтенсивність світла 70 – 80 тис. лк), тому зафіксовано суттєве підвищення інтенсивності фотосинтетичних процесів у мохів майже до рівня показників весняного періоду (табл. 2.7).

Таблиця 2.7

**Інтенсивність фотосинтезу мохів на дослідних ділянках відвалу видобутку сірки (серпень-вересень) ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Місце відбору зразків мохів	Інтенсивність фотосинтезу, мг CO <sub>2</sub> /г с. м./год	
	Північний схил	Південний схил
<b><i>Ptychostomum imbricatum</i></b>		
основа	3,44±0,23	2,93±0,18
середина	2,85±0,148	2,25±0,21*
вершина	2,66±0,12*	1,85±0,12*
<b><i>Bryum argenteum</i></b>		
основа	3,57±0,03	2,18±0,12
середина	2,56±0,01*	1,80±0,11
вершина	2,15±0,02*	2,19±0,09
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>		
основа	2,81±0,02	2,32±0,22
середина	2,28±0,11*	2,17±0,18
вершина	2,23±0,12*	1,93±0,12*
<b><i>Brachytecium salebrosum</i></b>		
основа	2,28±0,25	2,18±0,22
середина	2,36±0,11	1,86±0,21
вершина	2,16±0,12	1,51±0,09*

Примітка: \* — різниця між зразками одного виду порівняно до показників з основи відвалу (контроль) статистично достовірна при  $p < 0,05$ .

Наприкінці вегетаційного сезону (кінець жовтня-листопад) зниження температури повітря до +4,2 – +11,5°C призвело до сповільнення інтенсивності асиміляції CO<sub>2</sub> у 2–3 рази в усіх досліджуваних видів мохів (табл. 2.8).

Таблиця 2.8

**Інтенсивність фотосинтезу мохів на дослідних ділянках відвалу видобутку сірки (жовтень-листопад) (M±m; n=5)**

Місце відбору зразків мохів	Інтенсивність фотосинтезу, мг CO <sub>2</sub> / г с. м./год	
	Північний схил	Південний схил
<b><i>Ptychostomum imbricatum</i></b>		
основа	1,28±0,06	1,15±0,09
середина	1,26±0,09	0,75±0,04*
вершина	1,11±0,09*	0,68±0,02*
<b><i>Bryum argenteum</i></b>		
основа	1,18±0,06	0,97±0,08
середина	0,80±0,04	0,88±0,05
вершина	0,77±0,06*	0,55±0,06*
<b><i>Barbula unguiculata</i></b>		
основа	0,86±0,07	0,68±0,06
середина	0,67±0,05*	0,59±0,04
вершина	0,79±0,07	0,72±0,05
<b><i>Brachytecium salebrosum</i></b>		
основа	0,78±0,09	0,75±0,05
середина	0,72±0,05	0,72±0,08
вершина	0,63±0,04*	0,50±0,02*

Примітка: \* — різниця між зразками одного виду порівняно до показників з основи відвалу (контроль) статистично достовірна при p<0,05.

Температурний режим має важливе значення для фотосинтетичних процесів, особливо для відкритих місцевиростань на території відвалу, де трапляються досліджувані види мохів. Для *Bryum argenteum*, дернини якого приурочені до сухих відкритих локалітетів на території відвалу, побудовано криву залежності інтенсивності фотосинтезу від температури на поверхні субстрату і найвищі показники фотосинтетичної інтенсивності зафіксовано у діапазоні температур від 15°C до 25°C (рис. 2.4).

*Bryum argenteum*, так само, як і *Ptychostomum imbricatum* і *Barbula unguiculata* – це ксеромезофітні види мохів, приурочені до відкритих сухих місцевиростань, тому, очевидно, оптимум їх фотосинтетичної активності знаходиться у зоні вищих температур. В інших дослідженнях показано, що для лісового виду *Sanionia uncinata* оптимальним для фотосинтезу є діапазон температур 5–15°C (Nokatsubo, 2003). Водночас, цей вид моху, що домінує в рослинних угрупованнях на Шпіцбергені,

активно фотосинтезує в широкому спектрі температур (7–23°C), досягаючи при цьому високого рівня продуктивності 17–30 г сухої маси/м<sup>2</sup> (Masaki et al., 2002). В умовах Карелії показано, що оптимальною для фотосинтезу видів роду *Sphagnum* є температура у межах 10–20°C (Tenhunen et al., 2002).

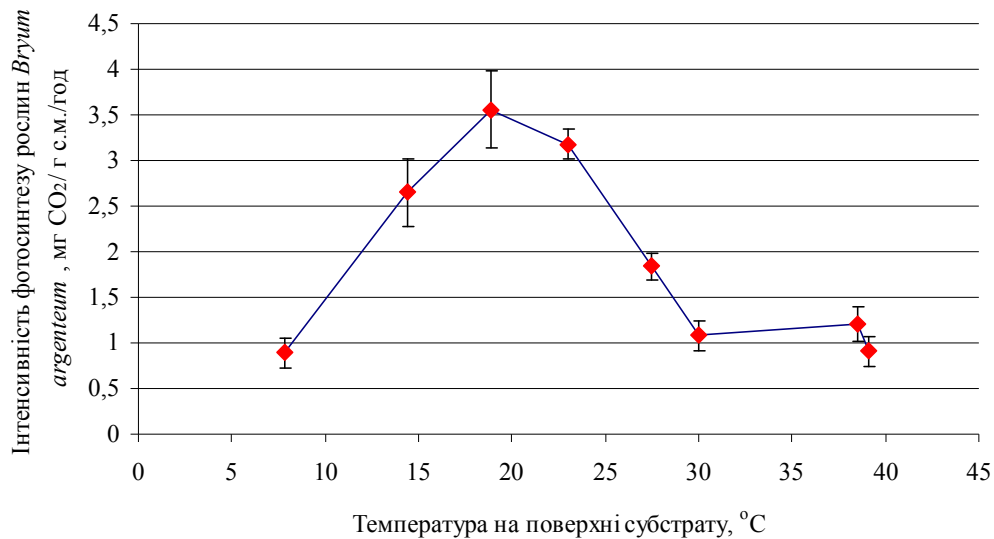


Рис. 2.4. Вплив температури на поверхні субстрату на інтенсивність фотосинтезу у пагонах моху *Bryum argenteum* ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ).

Також різні види сфагнових мохів відрізнялися за фотосинтетичними реакціями: менше теплолюбний вид *Sphagnum balticum* має найвищу інтенсивність фотосинтезу навесні, а більше теплолюбний вид *S. magellanicum* – у літні місяці (Drozdov et al., 2008). Для лісових видів мохів Кольського півострова *Polytrichum commune* Hedw., *P. piliferum* Hedw., *Polytrichastrum alpinum* (Hedw.) G.L.S., *Dicranum majus* Sm., *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske, *Hylocomium splendens*, *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. зона оптимальних температур для фотосинтезу становить 10–24°C, для літофільного ксеромезофіту *Racomitrium macrocarpon* (Hedw.) Loeske – 12–18°C (Шпак, 2008). Тобто, при визначенні оптимуму фотосинтетичних процесів важливе значення мають видові особливості мохів.

Добові коливання інтенсивності фотосинтезу є чітким відображенням зміни умов освітлення, температури та вологості місцевиростань, тому було проаналізовано добову динаміку інтенсивності фотосинтезу у квітні-травні у мохів *Barbula unguiculata* та *Ptychostomum imbricatum*, що росли на плато відвалу і виявлено, що вона має вигляд двовершинної кривої та подібна в обидвох видів мохів (рис. 2.5). Максимум фотосинтезу (3,04–3,67 мг CO<sub>2</sub>/г с.м./год) припадає на ранкові години (8-10 год), що є характерним для пойкилогідрічних видів мохів,

для яких лімітуючим чинником фотосинтетичних процесів є вологість. У цей проміжок часу інтенсивність світла була 65–70 тис лк, температура на поверхні субстрату – +18,0– +19,5°C, вміст води у щільних дернинах *Ptychostomum imbricatum* становив 64,5±7,2 %, у пухких дернинах *Barbula unguiculata* – 58,2±6,9 %.

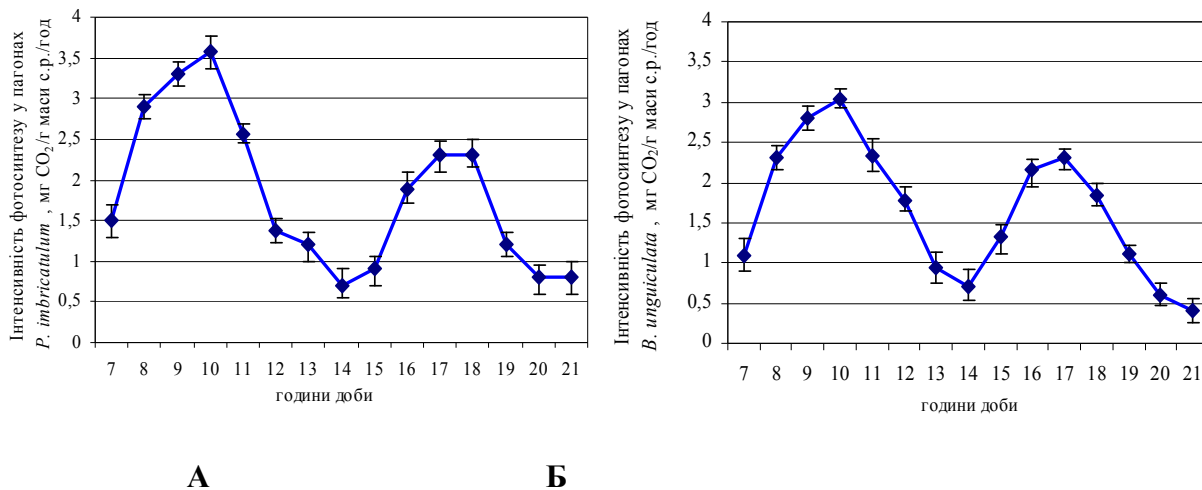


Рис. 2.5. Добова динаміка інтенсивності фотосинтезу у пагонах мохів *Ptychostomum imbricatum* (А) та *Barbula unguiculata* з дослідної ділянки на плато відвалу видобутку сірки (Б).

Мохоподібні, які ростуть на сухих відкритих ділянках, для ранкового фотосинтезу використовують росу, кількість якої є достатньою, щоби забезпечити досить високий рівень цього процесу. В обідню пору (12-14 год) в умовах максимальної інсоляції 85–90 тис лк, температури +25,5– +27,0°C та зниження вмісту води у пагонах *Ptychostomum imbricatum* та *Barbula unguiculata* на 14 % та 22 %, відповідно, виявлено зниження інтенсивності фотосинтезу в 4,0–4,5 разів унаслідок порушення водного й температурного режиму мохових дернин. Другий пік активності фотосинтезу (2,3–2,8 мг CO<sub>2</sub>/ г с.м./год) визначено в післяобідню пору (16–17 год) за зниження рівня інсоляції до 55–65 % та температури субстрату +20,7– +21,5 °C. Поступове зниження активності фотосинтезу в обох видів відбувалося після 18 год через зменшення рівня освітлення.

Отже, на основі результатів аналізу кількісного та якісного складу пігментів пластид у пагонах мохів відвалу №1 встановлено, що бріофіти відзначаються значною пластичністю компонентів фотосинтетичного апарату. Вміст пігментів залежав від видових особливостей мохів та умов місцевиростання. Насамперед, важливе значення має життєва форма виду, оскільки більші показники вмісту фотосинтетичних пігментів встановлені для видів, що формують низьку щільну або пухку дернину (*Ptychostomum imbricatum*, *B. argenteum*). Види з такою життєвою формою характеризуються вищою толерантністю до несприятливих екологічних

умов на схилах відвалу. Для усіх досліджуваних видів мохів встановлено зниження кількості пігментів фотосинтезу у напрямку від основи до вершини відвалу. Очевидно, висока інсоляція та нестабільний режим зволоження на вершині відвалу були основними причинами змін у фотосинтетичному апараті мохів.

Встановлено кореляцію між інтенсивністю фотосинтезу та вмістом хлорофілів у листках мохів, оскільки максимальні величини асиміляції  $\text{CO}_2$  визначені для видів, що мали найбільший вміст зелених пігментів – *Ptychostomum imbricatum* та *Bryum argenteum*. Добовий перебіг процесу фотосинтезу у мохів на території відвалу видобутку сірки мав вигляд двовершинної кривої. Максимум фотосинтезу припадав на ранкові години (8-10 год) та післяобідню пору (16-17 год). Аналіз сезонної динаміки фотосинтезу мохів продемонстрував пристосованість фотосинтетичного апарату мохів до контрастних кліматичних умов на території відвалу та здатність відновлювати інтенсивність фотосинтезу після несприятливих періодів. Такі особливості їх фотосинтетичної активності значно підвищують первинну продуктивність тих рослинних угруповань, де мохи є піонерами заростання.

### 2.3. РОЛЬ БРІОФІТІВ У ПРОДУКТИВНОСТІ РОСЛИННОГО ПОКРИВУ НА ВІДВАЛІ ВИДОБУТКУ СІРКИ

Основою продукційного процесу рослин є перетворення енергії й утворення органічних речовин у процесі фотосинтезу. У зв'язку з тим, було оцінено внесок бріофітів у первинну продуктивність рослинного покриву на території відвалу видобутку сірки. Як показник продуктивності використали хлорофільний індекс (ХІ), що слугує універсальним параметром для порівняння рослинних компонентів різної морфології та систематичного положення. Для його визначення було використано величини вмісту хлорофілів  $a$  і  $b$  і дані по фітомасі усіх компонентів угруповання. Хлорофільний індекс мохового покриву на плато відвалу був найбільшим –  $0,563 \text{ г/м}^2$ . Тут у моховому угрупованні домінував *Ptychostomum imbricatum*, частка якого становила 52 % від усієї фітомаси. Проективне покриття мохів на досліджуваній ділянці сягало майже 100 %. Видовий склад представлений 3 видами листкостеблових мохів (*Ptychostomum imbricatum*, *B. argenteum*, *Barbula unguiculata*). Наземна фітомаса сформована асимілюючими органами і становила  $\sim 492,5 \text{ г/м}^2$  (табл. 2.9). Найбільша фітомаса і величина ХІ визначена у щільнодернинного виду *Bryum caespiticium* завдяки більшій кількості особин на одиницю площі і відповідно більшій площі асиміляційної поверхні. Для видів із життєвою формою пухкої дернини *Bryum argenteum* та *Barbula unguiculata* величина ХІ була меншою.

На північному схилі відвалу, де найбільше проективне покриття було у *Barbula unguiculata* XI становив 0,368 г/м<sup>2</sup>. Досить високі показники сумарного вмісту хлорофілів та фітомаси визначені й для дернин *Brachythecium glareosum* з життєвою формою пухкого плетива, однак проективне покриття цього виду на відвалі є незначним, що вплинуло і на величину його XI. На вершині відвалу, де в мохових угрупованнях переважали дернини *Bryum argenteum*, а проективне покриття мохів було найнижчим через несприятливі умови, XI був меншим – 0,170 г/м<sup>2</sup>, тобто його величина суттєво залежала від видових особливостей мохів та умов місцевиростань.

Таблиця 2.9

**Хлорофільний індекс мохового покриву на дослідних ділянках відвалу видобутку сірки**

Вид моху	Вміст хлорофілів (a+b), мг/г маси с. р.	К-сть наземної фітомаси, г/м <sup>2</sup>	Хлорофільний індекс, г/м <sup>2</sup>
<b>Плато</b>			
<i>Ptychostomum imbricatum</i>	1,231±0,092	253,8±21,1	0,368±0,021
<i>Bryum argenteum</i>	1,053±0,097	56,3±3,1	0,059±0,003
<i>Barbula unguiculata</i>	0,743±0,056	182,5±16,4	0,136±0,009
<b>Всього</b>		<b>492,5</b>	<b>0,563±0,005</b>
<b>Північний схил</b>			
<i>Barbula unguiculata</i>	0,892±0,082	205,8±16,4	0,184±0,009
<i>Ptychostomum imbricatum</i>	1,082±0,085	88,4±5,1	0,096±0,009
<i>Bryum argenteum</i>	0,755±0,091	27,2±3,1	0,021±0,003
<i>Brachythecium glareosum</i>	0,821±0,054	82,4±1,6	0,067±0,002
<b>Всього</b>		<b>353,8</b>	<b>0,368±0,018</b>
<b>Вершина відвалу</b>			
<i>Bryum argenteum</i>	0,731±0,055	86,1±3,1	0,063±0,003
<i>Ptychostomum imbricatum</i>	0,842±0,001	56,3±21,1	0,048±0,004
<i>Bryum pseudotriquetrum</i>	0,793±0,042	23,1±1,1	0,018±0,003
<i>Barbula unguiculata</i>	0,740±0,048	55,3±2,5	0,041±0,009
<b>Всього</b>		<b>220,8</b>	<b>0,170±0,015</b>

Порівнюючи величини XI, визначені для бріофітів із різних рослинних угруповань (Воронин и др., 1997; Шпак, 2007), варто відзначити, що найвищий хлорофільний індекс властивий для мохів лісових угруповань. Наприклад, для *Dicranum majus* XI становив 1,83 г/м<sup>2</sup>, *Polytrichum commune* – 0,536 г/м<sup>2</sup>, *P. piliferum* – 0,463 г/м<sup>2</sup>, *Pleurozium schreberi* – 0,673 г/м<sup>2</sup> (Шмакова, Кудрявцева, 2002). Варто відзначити, що величина хлорофільного індексу мохового покриву на плато відвалу була цілком співставною з величинами XI, визначеними для рослинних угруповань із домінуванням судинних рослин (наприклад, для

чагарниково-мохових угруповань XI становив  $0,5 - 0,6 \text{ г/м}^2$ ) (Шмакова, Кудрявцева, 2002).

Отримані результати свідчать, що хлорофільний індекс може бути важливим критерієм для оцінки ролі бріофітів у продукційному процесі рослинного покриву на посттехногенних територіях.

#### **2.4. ОСОБЛИВОСТІ ПІГМЕНТНОЇ СИСТЕМИ *BRYUM ARGENTEUM* В УМОВАХ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ**

Фітотоксичність ґрунтів, забруднених нафтою, має як пряму, так і опосередковану дію. Рослинний організм зазнає безпосереднього впливу нафти внаслідок проникнення її компонентів у клітини (Терек, 2018). Крім того, нафтове забруднення суттєво впливає на умови едафотопу: змінюється окисно-відновна рівновага ґрунту, погіршується його водний режим та газообмін (Киреева и др., 2007). Окрім органічних компонентів, до складу нафти входять важкі метали, які є додатковим чинником негативного впливу на життєздатність рослин (Карпин, 2010).

Фотосинтетичний апарат рослин є чутливим до дії нафтового забруднення. У літературі описано зниження вмісту хлорофілів, появу хлорозів та некрозів на листових пластинках, зниження інтенсивності фотосинтезу, активацію синтезу антоціанів у квіткових рослин (Kusk, 2002; Джура, 2007; Лапина, 2007; Карпин та ін., 2009; Карпин, 2010). У рослинних угрупованнях на території Бориславського нафтового родовища важливе місце займають бріофіти. Безпосередньо на платформах, забруднених нафтою, та на ділянках біля нафтових свердловин, де відбуваються часті розливи нафти, серед мохоподібних найчастіше трапляються дернини моху *Bryum argenteum*, які було використано у дослідженнях. Контролем були рослини бріума, відібрані з фонові території (околиця м. Борислав).

Проаналізовано вміст пігментів фотосинтезу у зразках *Bryum argenteum*, відібраних з нафтозабрудненої та фонові території. Встановлено, що нафтове забруднення призводило до зниження вмісту хлорофілу *a* у пагонах моху в 1,3 рази, порівняно з рослинами з околиці м. Борислав (табл. 2.10). За вмістом хлорофілу *b* зразки суттєво не відрізнялися, можливо через те, що хлорофіл *b* менше руйнується завдяки вищій гідратованості та міцнішим зв'язкам у хлорофіл-білкових комплексах хлоропластів, що є проявом адаптивної реакції фотосинтетичного апарату мохів до несприятливих умов природного середовища (Glime, 2006). Окрім того, спостерігали достовірне зниження кількості хлорофілу *a* за дії нафти.

**Вміст пігментів у пагонах моху *Bryum argenteum* з нафтозабрудненої та фонової територій ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Місце збору зразків	Вміст пігментів, мг/г сухої маси				
	хл. <i>a</i>	хл. <i>b</i>	хл. <i>a</i> / хл. <i>b</i>	каротиноїди	антоціани
Фонова територія (околиця м. Борислав)	1,23±0,03	0,55±0,06	2,2	0,18±0,02	2,36±0,03
м. Борислав, платформа нафтової свердловини	0,92±0,02*	0,58±0,03	1,6	0,27±0,02*	3,65±0,05*

*Примітка:* \* – різниця між зразками з нафтозабрудненої та фонової територій статистично достовірною при  $P < 0.05$ .

Співвідношення хлорофілів *a/b* в пігментному комплексі бріума досить низьке: у рослин *B. argenteum* із фонової території цей показник становив 2,2, тоді як у рослин, зібраних на платформі нафтової свердловини, знижувався до 1,6. Відомо, що за дії стресових факторів (нафтового забруднення, температурного стресу, атмосферного забруднення повітря в промислових районах) співвідношення хлорофілів може істотно зменшуватися (Джура, 2007; Приступа, 2009; Станецька та ін., 2011).

Нафтове забруднення індукувало збільшення вмісту каротиноїдів у пагонах бріума майже в 1,5 рази, порівняно з рослинами контролю (табл. 2.10). Підвищення кількості каротиноїдів може бути пов'язане з антиоксидантними властивостями цих пігментів, оскільки вони у хлоропластах виконують функцію інгібіторів синглетного кисню та супероксидного аніон-радикала (Foyer, Harbinson, 1999). Можна припустити, що в хлоропластах моху *B. argenteum* нафтове забруднення індукувало підвищення кількості активних форм кисню, що й стало причиною зростання вмісту каротиноїдів.

Вміст антоціанів, які виконують захисну й антиоксидантну функції у рослинних клітинах також може бути ефективним показником фізіологічного стану рослин у стресових умовах. З літератури відомо, що біосинтез антоціанів є неспецифічною реакцією рослин у відповідь на забруднення навколишнього природного середовища різноманітними полутантами, у тому числі і нафтопродуктами (Масленников, Бородей, 2001; Лапина, 2007). У наших досліджах також виявлено суттєве збільшення вмісту цих пігментів у рослинах з м. Борислава, порівняно з контролем (табл. 2.10).

Отже, на основі аналізу вмісту пігментів у пагонах моху *B. argenteum*, який росте в умовах нафтового забруднення, можна зробити висновок, що стійкість рослин значною мірою залежить від стану їх пігментної системи. Рослини з нафтозабрудненої території



характеризувалися підвищеним умістом каротиноїдів та антоціанів, що може свідчити про підвищену стійкість дернин *B. argenteum*, яка сформувалася в умовах постійного впливу стресового чинника.

## 2.5. СЕЗОННІ ЗМІНИ У ПІГМЕНТНОМУ КОМПЛЕКСІ *CAMPYLOPUS INTROFLEXUS* НА ВЕРШИНІ ВІДВАЛУ ШАХТИ “НАДІЯ”

Стан навколишнього середовища у Сокальському районі на Львівщині є досить критичним, що спричинено техногенним впливом вуглевидобувної, вуглезбагачувальної та хімічної галузей промисловості. Велика частина земель району зайнята відходами вуглевидобутку, які сконцентровані у териконах. Такі відвали займають площу 265,9 га землі, в яких на сьогодні закладено 42,1 млн м<sup>3</sup> породної маси і щорічно її кількість збільшується приблизно на 1,9-2,3 млн. т (Башуцька, 2006, Баранов, Книш, 2007, Баранов, 2008). Основною проблемою самозаселення рослинами відвалів вугільних шахт є чужорідність і здебільшого висока токсичність породи. Окрім того, схили відвалів руйнуються водною та вітровою ерозією, ускладнюючи закріплення рослин і формування рослинного покриву. Мохоподібні – важливі компоненти рослинного покриву антропогенно змінених територій, оскільки представлені піонерними видами, що їх заселяють (Ringen). До таких видів мохоподібних і належить *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid., який уперше для території України було виявлено на вершині відвалу шахти “Надія” Червоноградського гірничопромислового району (ЧГПР) Львівської області (Лобачевська, Соханьчак, 2010). Цей адвентивний вид моху, що походить із Південної півкулі, надає перевагу кислим ґрунтам і швидко розростається, формуючи потужні щільні дернини (Razgulyaeva et al., 2001, Hasse, 2007). За короткий період *C. introflexus* значно збільшив проективне покриття на породному відвалі, окрім того, вид сприяє нагромадженню органічного Карбону і формуванню гумусового шару субстрату (Соханьчак, Лобачевська, 2012). Дослідження особливостей пристосування бріофітів до мікрокліматичних і едафічних умов девастрованих територій та їх ролі у продукуванні органічної речовини є актуальними не лише для з’ясування природи адаптогенезу рослин в умовах техногенно зміненого середовища, а й для визначення чутливих тест-показників і тест-об’єктів для фітомоніторингу стану довкілля.

Вміст і співвідношення фотосинтетичних пігментів та динаміка їх зміни протягом року є одними із основних показників фізіологічного стану, продукційного процесу й формування пристосувань рослин до несприятливих умов техногенного середовища. Абіогенні фактори, такі як

дефіцит вологи, інтенсивність освітлення, температура, склад ґрунту (засоленість, концентрація токсичних сполук, зокрема важких металів) впливають на вміст хлорофілів і каротиноїдів (Ясар и др., 2008, Баранов та ін., 2011). Однак за наявності важких металів (кадмію, міді, нікелю, кобальту, цинку) кількість хлорофілу  $a$  та  $b$  зменшується (Zengin, 2006, Zengin, Kirbag, 2007, Drażkiewicz, Baszyński, 2010). В умовах постійної зміни вологості та температури техногенних субстратів істотно змінюється водний баланс у рослинних клітинах, що також спричиняє зниження вмісту хлорофілів (Кушниренко, 1978).

Одним із показників фотохімічної активності хлоропластів є реакція Хілла. Це комплекс початкових стадій фотосинтезу, в яких мобілізовані з води електрони направляються на відновлення введених у реакційну суміш акцепторів електронів (Мусієнко та ін., 2001). Реакція Хілла є проявом впливу різноманітних чинників на процеси фотосинтезу (Гетко, 1989), тому її часто використовують як показник загального стану фотосинтетичного апарату рослин, який є найчутливішою до впливу зовнішніх чинників системою організму рослин. Його нормальне функціонування є запорукою життя рослини, колообігу речовин в екосистемі та її існування загалом (Полевой, 1989). В останні роки значну увагу приділяють дослідженням впливу окремих чинників (температури, засолення, вмісту важких металів та ін.) на стан пігментної системи рослин, але недостатньо даних щодо впливу на рослинний організм комплексу чинників, які створюють техногенні відслонення.

На дослідних ділянках вершини відвалу встановлено, що вміст хлорофілів ( $a+b$ ) у пагонах *C. introflexus* змінювався у діапазоні 427,80 – 724,80 мкг/г маси с. р., каротиноїдів – 123,53 – 208,30 мг/г маси сухої речовини, тоді як співвідношення хлорофілів  $a/b$  було досить низьким (рис. 2.6). Такий вміст зелених пігментів та їхнє співвідношення у пагонах моху, очевидно, є адаптивною ознакою, оскільки в умовах інтенсивного освітлення для створення маси органічної речовини достатньо невеликої кількості хлорофілів. Інша причина, можливо, пов'язана із мікрокліматичними умовами та фізико-хімічними характеристиками субстрату під дернинами моху (рН, вмісту важких металів) (Соханьчак, Лобачевська, 2012). Відмінності щодо вмісту каротиноїдів у пагонах *C. introflexus* на різних ділянках вершини відвалу (рис. 2.6) свідчать про важливу роль каротиноїдів у захисті молекул хлорофілу від фотоокиснення та пошкодження вільними радикалами (Бриттон, 1986). Співвідношення суми хлорофілів до каротиноїдів на східній ділянці є найвищим серед усіх досліджуваних локалітетів (табл. 2.11), що характерно для рослин, які ростуть у затінених місцях, адже ця ділянка характеризується меншою освітленістю, пов'язаною із заростаннями

*Robinia pseudoacacia* L. і *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth та наявністю із південного боку валуна із запеченої породи моноліту – клінкерсу.

На основі аналізу результатів визначено, що протягом року відбуваються значні зміни у пігментному комплексі моху *C. introflexus* (рис. 2.6). Формування фонду зелених пігментів здійснювалося завдяки хлорофілу *a*, який переважав вміст хлорофілу *b* у 1,53 – 1,92 рази. Вміст хлорофілу *a* змінювався в межах від 301,82 до 929,03 мкг/г маси с. р., а хлорофілу *b* – 131,78 – 602,57 мкг/г маси с. р. Навесні (у квітні-травні), коли інтенсивно росли і розвивалися пагони *C. introflexus*, вміст зелених пігментів збільшувався, особливо вміст хлорофілу *a*. Істотне збільшення вмісту жовтих пігментів – каротиноїдів відзначено навесні та восени, коли інсоляція була значно більшою під пологом дерев, ніж у літній період (рис. 2.6, табл. 2.11).

Таблиця 2.11

Сезонні зміни показників співвідношення хлорофілів *a/b* та суми хлорофілів до каротиноїдів у пігментному комплексі пагонів *Campylopus introflexus*

Місяці	Північна ділянка		Північно-західна ділянка		Східна ділянка	
	Співвідношення пігментів					
	<i>a/b</i>	хл/карот	<i>a/b</i>	хл/карот	<i>a/b</i>	хл/карот
Квітень	2,70	2,62	3,69	3,61	3,19	2,70
Травень	2,01	3,16	2,03	3,08	1,96	3,15
Липень	1,78	3,46	1,92	3,48	1,81	3,62
Серпень	1,97	3,28	1,79	3,09	1,67	3,77
Жовтень	2,01	3,47	1,95	3,40	2,09	3,83
Листопад	1,93	3,39	1,66	3,54	1,54	4,20

У спекотний період липня встановлено істотне зменшення як загального вмісту, так і співвідношення хлорофілів *a/b*, що, мабуть, було спричинене деструкцією хлорофілу *a* й активацією синтезу хлорофілу *b*, який забезпечував вищу стабільність пігмент-білкових комплексів тилакоїдів (Бриттон, 1986). Деякі вчені вважають, що збільшення вмісту хлорофілу *b*, та, відповідно, зниження співвідношення хлорофілів *a/b*, як і співвідношення суми хлорофілів щодо каротиноїдів, є ознакою стійкості виду (Eggink et al., 2001, Eckhardt et al., 2004). Протягом серпня і жовтня на всіх дослідних ділянках спостерігали значне збільшення вмісту пластидних пігментів, лише на північно-західній і північній ділянках у листопаді їх вміст зменшувався, що, можливо, пов'язано із недостатньою вологістю та зниженням температури. Збільшення вмісту та співвідношення пігментів в осінній період, можливо, було проявом

компенсаційних механізмів, спрямованих на відтворення фотосинтетичної функції після літнього сповільнення та нейтралізації впливу негативних чинників.

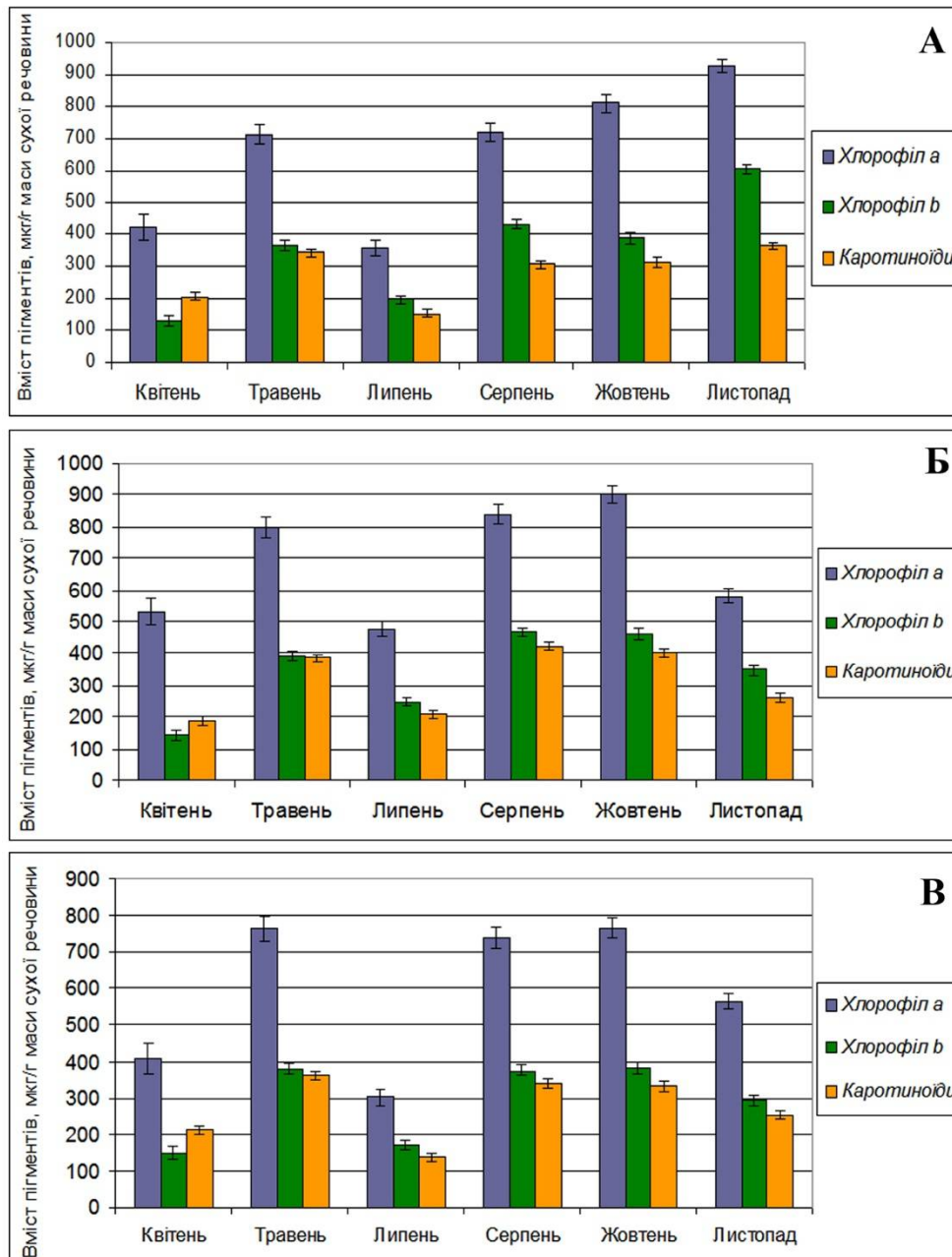


Рис. 2.6. Сезонна динаміка вмісту пігментів фотосинтезу (мкг/г маси сухої речовини) у пагонах *Campylopus introflexus* із різних ділянок вершини відвалу шахти “Надія”. А – східна, Б – північно-західна, В – північна ділянки.

Ще одним важливим показником первинних фотохімічних стадій фотосинтезу, які слугують джерелом енергії для темного відновлення CO<sub>2</sub>, є фотохімічна активність хлорофілу ізольованих хлоропластів (реакція Хілла). Результати аналізу сезонних змін свідчать (рис. 2.7), що фотохімічна активність хлорофілу у хлоропластах *C. introflexus* протягом

весняних місяців зростала у всіх локалітетах: північному – від 15,15 до 30,09 мкМ•год/мг хлорофілу, північно-західному – 26,31 – 34,54 мкМ•год/мг хлорофілу, і східному – 29,73 – 42,84 мкМ•год/мг хлорофілу. Протягом травня-липня цей показник був найбільшим і становив 34,54 – 42,84 мкМ•год/мг хлорофілу. Проте, упродовж осінніх місяців фотохімічна активність хлорофілу різко знижувалася, а відтак і сповільнювалися первинні процеси фотосинтезу (у листопаді показник фотохімічної активності хлорофілу знижувався до 5,99 – 8,54 мкМ•год/мг хлорофілу), що, можливо, пов'язано із зростанням частки хлорофілу *b* та зниженням температури й інтенсивності освітлення.

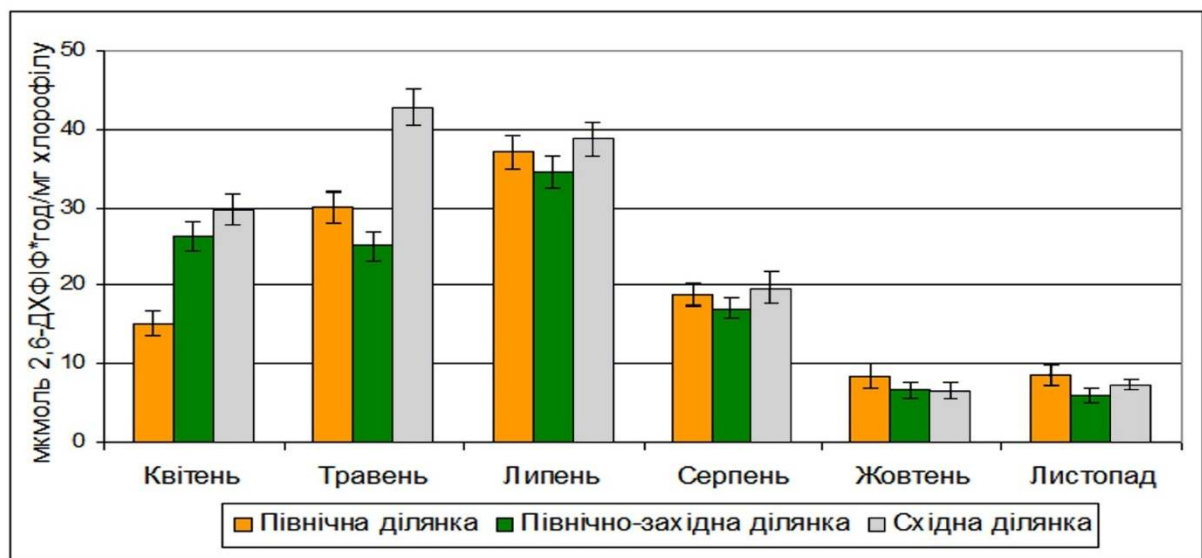


Рис. 2.7. Фотохімічна активність хлорофілу ізольованих хлоропластів моху *Campylopus introflexus* із різних дослідних ділянок на вершині шахтного відвалу.

Отже, зменшення співвідношення хлорофілів *a/b* та збільшення суми хлорофілів щодо каротиноїдів, пригнічення фотохімічної активності хлорофілу ізольованих хлоропластів відіграють важливу роль у захисті фотосинтетичної системи моху від руйнування за дії високої інсоляції та нестабільного гідротермічного режиму субстрату на вершині відвалу. Проте, як свідчать отримані результати, забезпечення оптимальною кількістю вологи підвищувало толерантність *C. introflexus* до несприятливих умов шахтних відвалів, а саме на східній ділянці вершини відвалу у світлолюбного моху в умовах низького освітлення відзначено стабільно високий вміст хлорофілів щодо каротиноїдів як прояв компенсаційного механізму, що призводить до збереження здатності нейтралізувати негативний вплив на фотосинтетичну активність.

Встановлено, що за умов росту *C. introflexus* на різних експозиціях вершини відвалу шахти “Надія” збільшувалась міцність зв’язку хлорофіл-

білкових комплексів (ХБК) у літні місяці (76-87 %), порівняно із зразками, відібраними на фонових територіях (53-54 %). Очевидно, це зумовлено високим адаптивним потенціалом цього виду до впливу техногенних чинників відвалу, адже мікрокліматичні умови на відвалі у літні місяці є несприятливими для життєдіяльності рослин (температура повітря – 28-33°C, відносна вологість повітря – 25-40 %, інтенсивність освітлення – 80-100 тис. лк протягом більшої частини світлового дня). У весняно-осінні місяці міцність ХБК у гаметофіті *C. introflexus*, зібраного із різних локалітетів на вершині відвалу та з фонових територій перебувала на одному рівні і становила 72-95 %. Дослідження змін стану ХБК у гаметофіті моху також показали, що зв'язок хлорофілу *b* з мембранами тилакоїдів є чутливішим до впливу чинників техногенного середовища (у 1,1-2,6 разів), порівняно із хлорофілом *a*. Отже, зміна міцності ХБК у хлоропластах *C. introflexus* значно більше залежить від мікрокліматичних умов територій, ніж від едафічних характеристик субстратів, на яких вони ростуть.

Спектральний аналіз максимумів поглинання пігментів фотосинтезу в гаметофіті моху *C. introflexus* протягом року не показав значних зсувів піків поглинання зелених пігментів (зсуви у межах 0,1-0,4 нм); максимумами поглинання спостерігали у зонах 432, 619 та 664 нм, що відповідає типовим значенням для хлорофілів та деяких каротиноїдів. Це свідчить про стійкість конформації біомолекул пігментів і їх мікрооточення та пігментної системи загалом до впливу умов середовища.

## **2.6. АДАПТИВНІ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ ТА ІНТЕНСИВНІСТЬ ФОТОСИНТЕЗУ МОХІВ В УМОВАХ ЗАСОЛЕННЯ**

Вивчення механізмів впливу засолення на фотосинтез є одним із актуальних питань еколого-фізіологічних досліджень, оскільки стійкість автотрофного організму, перш за все, пов'язана зі здатністю зберігати систему фотосинтезу в активному функціональному стані. У літературі є мало інформації щодо впливу засолення на фотосинтетичні процеси у бріофітів (Bates et al., 2009; Glime, 2007), хоча представники цієї групи рослин досить часто є піонерами заростання на засолених субстратах (Ніколайчук та ін., 2008; Garbary et al., 2008; Sabovljević, Sabovljević, 2007).

У зв'язку з тим, досліджували вплив засолення на стан фотосинтетичного апарату та інтенсивність фотосинтезу у мохів *Barbula unguiculata*, *Didymodon rigidulus* і *Brachythecium campestre* із території хвостосховища Стебницького гірничо-хімічного підприємства (ГХП)

«Полімінерал», де бріофіти є важливими компонентами первинних рослинних угруповань на субстратах із високим ступенем засолення.

Рослини *Barbula unguiculata* та *Didymodon rigidulus* росли серед галофітів та солестійких видів судинних рослин, а рослини *Brachythecium campestre* відбирали на околиці хвостосховища серед різнотрав'я. Як контроль у дослідженнях використовували зразки мохів, що росли за межами хвостосховища, в околиці м. Стебник.

Первинною ланкою у процесі фотосинтезу є кількісний та якісний склад пігментного апарату, який визначає інтенсивність фотосинтезу і може бути діагностичною ознакою солестійкості рослин (Alvarez, Sanchez-Blanco, 2014). Аналіз кількісного складу пігментів показав, що сумарний уміст хлорофілів у пагонах мохів *Didymodon rigidulus* і *Barbula unguiculata*, що росли в умовах сильного засолення, був досить подібним і становив 1,08–1,28 мг/г маси сухої речовини. Водночас зафіксовано високі показники вмісту каротиноїдів. Співвідношення кількості хлорофілів до каротиноїдів (Хл/К) в рослинах цих видів становило 0,9, що є свідченням адаптації пігментного апарату рослин до стресових умов. У рослинах *Brachythecium campestre* сумарний уміст хлорофілів, так само, як і каротиноїдів був меншим, що вказувало на меншу пристосованість пігментного апарату до сольового стресу (табл. 2.12).

Таблиця 2.12

**Вплив засолення на вміст пігментів у пагонах мохів із території хвостосховища Стебницького ГХП «Полімінерал» та околиці м. Стебник, мг/г маси сухої речовини (M±m; n=5)**

Місце відбору зразків мохів	хл. a	хл. b	a+b	каротиноїди	Хл/К	a/b
<b>хвостосховище Стебницького ГХП «Полімінерал»</b>						
<i>Didymodon rigidulus</i>	0,49±0,05*	0,60±0,03*	1,09	1,21±0,08*	0,9	0,8
<i>Barbula unguiculata</i>	0,55±0,04*	0,73±0,04*	1,28	1,35±0,09*	0,9	0,8
<i>Brachythecium campestre</i>	0,42±0,05*	0,46±0,03*	0,88	0,54±0,04*	1,6	0,9
<b>околиця м. Стебник (фонова територія)</b>						
<i>Didymodon rigidulus</i>	0,74±0,04	0,52±0,05	1,26	0,68±0,03	1,9	1,4
<i>Barbula unguiculata</i>	0,86±0,07	0,58±0,02	1,44	0,76±0,03	1,9	1,5
<i>Brachythecium campestre</i>	0,58±0,04	0,60±0,02	1,18	0,43±0,02	2,7	1,0

*Примітка:* \* – різниця між зразками одного виду порівняно до показників з фонові території (контроль) статистично достовірна при P<0,05.

Дослідження компонентного складу зелених пігментів показали, що вміст хлорофілу a у пагонах *Didymodon rigidulus* і *Barbula unguiculata* зазнавав суттєвішого деструкційного впливу сольового стресу, оскільки його частка в сумарному пулі хлорофілів становила 45–48 %, у той час, як у рослинах з фонові території ~ 58–59 %. Загалом відзначено зменшення сумарного вмісту хлорофілів, в середньому, в 1,2 рази. Рослини суттєво

відрізнялися за вмістом каротиноїдів, оскільки сольовий стрес призводив до збільшення концентрації жовтих пігментів в 1,5–1,9 разів порівняно з рослинами фонові території, і, відповідно, значно змінювалося співвідношення Хл/К, що свідчить про захисну роль каротиноїдів у пігментному апараті мохів в умовах засолення.

Тобто, отримані результати показують, що у мохів вразливішою до сольового стресу була фотосистема I, де у складі антенних комплексів переважає хлорофіл *a*, у той час як у світлозбиральних комплексах фотосистеми II значну частку становить хлорофіл *b* (Caffarri et al., 2014). Інші дослідження свідчать, що у випадку хлоридного засолення пригнічується активність обох фотосистем (Luo et al., 2017).

Водночас, у рослинах *Didymodon rigidulus* і *Barbula unguiculata* з території хвостосховища збільшувалася кількість хлорофілу *b*, що було певною компенсаторною реакцією пігментного апарату на стрес. Більшу стабільність вмісту хлорофілу *b* можна також пояснити і функціонуванням регуляторних механізмів, які впливають на міцність зв'язку пігментів у хлорофіл-білкових комплексах тилакоїдних мембран в умовах стресу. У досліджуваних видів співвідношення слабкозв'язаних і міцнозв'язаних форм хлорофілів відрізнялося (рис. 2.8).

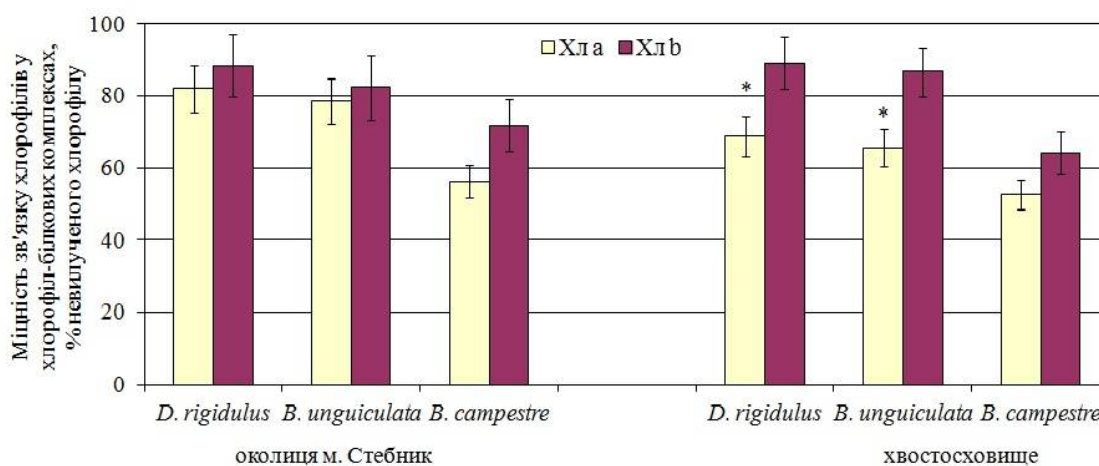


Рис. 2.8. Міцність зв'язку хлорофілів у хлорофіл-білкових комплексах хлоропластів у пагонах мохів *Barbula unguiculata*, *Didymodon rigidulus* і *Brachythecium campestre* з околиці м. Стебник і території хвостосховища Стебницького ГХП “Полімінерал” ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Примітка: \* – різниця між зразками одного виду порівняно до показників з фонові території (контроль) статистично достовірна при  $P < 0,05$ .

За впливу сольового стресу вищі показники міцності зв'язку в хлорофіл-білкових комплексах (ХБК) зафіксовані для хлорофілу *b* у рослинах *Barbula unguiculata* і *Didymodon rigidulus*. Водночас, міцність



зв'язку хлорофілу *a* у рослин цих видів була меншою (65,6–68,9 %), що підтверджує більшу чутливість хлорофілу *a*, і, як наслідок, зменшення його вмісту у пігментному апараті мохів в умовах засолення. У рослинах *Didymodon rigidulus* і *Barbula unguiculata* з фонові території також визначено високі показники міцності зв'язку хлорофілів *a* і *b* із ліпопротеїдними компонентами мембран (78,5–88,4 %). У пагонах *Brachythecium campestre* як з фонові території, так і з дослідної ділянки хвостосховища зафіксовано нижчі величини міцності зв'язку у ХБК, що пояснює більшу чутливість системи фотосинтезу рослин цього виду до засолення. Експериментально було проаналізовано, які зміни відбуваються з хлоропластами апікальних клітин протонеми *Barbula unguiculata* в умовах сольового стресу (табл. 2.13; рис. 2.9).

Таблиця 2.13.

**Вплив NaCl у концентрації 0,1 М та 0,2 М на кількість та розміри хлоропластів в апікальних клітинах протонеми *Barbula unguiculata* (M±m; n=5)**

Варіанти дослідів	Кількість хлоропластів, шт.	Довжина хлоропластів, мкм
Контроль (сер-ще Кноп)	36,1±1,3	8,2±0,1
0,1 М NaCl	27,8±1,8*	5,2±0,1*
0,2 М NaCl	21,2±1,2*	4,8±0,2*

Примітка: \* – різниця порівняно до контролю статистично достовірна при  $P < 0,05$ .

На поживному середовищі Кнопа у контролі хлоропласти мали видовжену, овальну форму і були компактно розміщені у клітинах. За впливу NaCl у концентраціях 0,1–0,2 М зменшувалися розміри органел, вони набували округлої форми, що є свідченням збільшення вмісту води у хлоропластах.

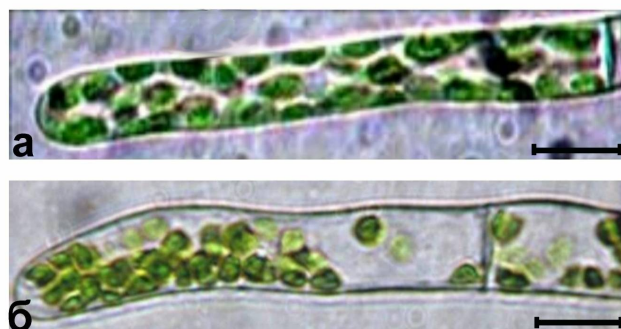


Рис. 2.9. Хлоропласти в апікальних клітинах протонеми моху *Barbula unguiculata*: а – на середовищі Кноп-II (контроль); б – на середовищі з 0,1 М NaCl. Штрих = 20 мкм.

Така властивість хлоропластів має важливе значення в регуляції водоутримуючої здатності листків в умовах сольового стресу. У період посилення осмотичного стресу хлоропласти втрачають воду повільніше і тому можуть бути додатковим резервуаром води. Це є однією з причин, чому в умовах водного дефіциту процес фотосинтезу знижується повільно, а за незначного дефіциту вологи навіть зростає (Sade et al., 2018). У протонемі *Barbula unguiculata* в умовах сольового стресу спостерігали зменшення кількості хлоропластів, приблизно, на 25 % та нерівномірний їх розподіл у клітинах, що свідчить про дезорганізацію фотосинтетичного апарату і порушення внутрішньоклітинної цілісності. Інші дослідники також вказують на структурні зміни цих органел в умовах засолення – руйнування тилакоїдної системи, ущільнення строми, вакуолізацію пластид і деградацію хлоропластів (Ashraf, Harris, 2004; Parida, Das, 2005). Зменшення розмірів і числа хлоропластів у клітинах при засоленні, порушення їх внутрішньої організації негативно позначається на біосинтезі і накопиченні пігментів.

Варто звернути увагу й на зміни у розвитку протонемі моху в умовах сольового стресу. Суттєво інгібувався ріст протонемі, клітини були, переважно, плазмолізовані (рис. 2.10, а, б). Також виявлено вкорочення та потовщення клітин протонемі, а за впливу 0,2 % NaCl утворювалися аномальні, сферичної форми клітини, бруньки гаметофорів не формувалися (рис. 2.10, в).

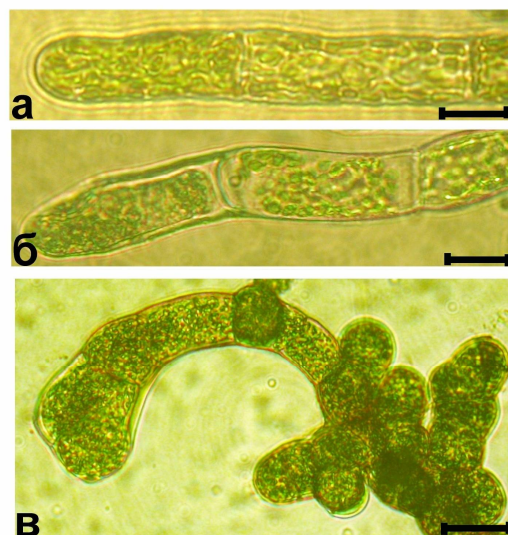


Рис. 2.10. Протонема моху *Barbula unguiculata*: а – на середовищі Кноп-ІІ (контроль); б – на середовищі з 0,1 М NaCl; в – на середовищі з 0,2 М NaCl. Штрих = 20 мкм.

Отримані результати свідчать, що засолення негативно впливає на ріст та розвиток мохів. Вплив сольового стресу на пігментний апарат мохів проявлявся у зміні компонентного складу пігментів і залежав від

рівня чутливості видів рослин. У солетолерантних видів *Barbula unguiculata* і *Didymodon rigidulus*, що росли в умовах сильного засолення, зафіксовано підвищення вмісту каротиноїдів, хлорофілу *b* (що є компенсаторною реакцією на пригнічення синтезу хлорофілу *a*), а також збільшення міцності зв'язку хлорофілів у ХБК мембран тилакоїдів.

Відомо, що у пігмент-білкових комплексах хлоропластів бріофітів молекули хлорофілу асоційовані з унікальними білками, які відомі як ЛНСР-протеїни (light-harvesting chlorophyll proteins). Порівнюючи склад пігмент-білкових комплексів бріофітів з аналогічними асоціаціями у ряски малої (*Lemna minor* L.) та огірка (*Cucumis sativus* L.), було встановлено, що в хлоропластах мохів *Ceratodon purpureus* і *Marchantia polymorpha* більший відсоток хлорофілу асоційований у пігмент-білкових комплексах, порівняно з судинними рослинами, що свідчить про специфічність хлорофіл-білкових комплексів хлоропластів бріофітів та забезпечує захист фотосинтетичних пігментів у стресових умовах. Можливо, це є однією з причин підвищеної стійкості фотосинтетичного апарату бріофітів до осмотичного стресу, висихання та понижених температур, порівняно з пластидами трахеофітів (Tuba, 1985). Генетичні дослідження також підтверджують наявність унікальних протеїнів, асоційованих із молекулами хлорофілу у мохоподібних. Наприклад, у геномі *Marchantia polymorpha* виявлено ген *frx C*, який кодує Fe-протеїн бактеріального типу, що входить до антенного комплексу фотосистеми II у клітинах моху та відсутній у хлоропластах тютюну (Fujita et al., 1989).

Як показали наші дослідження, в умовах сольового стресу змінюється пігментний апарат бріофітів, насамперед, вразливим є хлорофіл *a*. Можна припустити, що зміни у складі пігментів фотосинтезу можуть відбуватися унаслідок їх деструкції. У такому випадку важливе значення може мати модуляція активності ферменту хлорофілази, що каталізує реакцію гідролізу хлорофілу. У досліджуваних мохів сольовий стрес індукував підвищення хлорофілазної активності, порівняно з рослинами з фонової території (рис. 2.11). Наприклад, у пагонах *Barbula unguiculata* із сильнозасоленої ділянки хвостосховища, активність хлорофілази підвищувалася в 1,2 рази. Дещо нижчі показники ферментативної активності визначено для рослин *Didymodon rigidulus* в умовах засолення, а для *Brachythecium campestre* зафіксовано підвищення хлорофілазної активності в 1,4 рази, що на фоні значного зменшення вмісту хлорофілів в умовах засолення також є підтвердженням активації гідролітичної активності цього ферменту.

Отже, можна припустити, що в умовах засолення імовірність пошкодження фотосинтетичного апарату зростає внаслідок утворення вільних молекул хлорофілу, що потенційно небезпечно для клітин через їх здатність генерувати активні форми кисню (Duarte et al., 2013). Захист від

цих негативних процесів потребує швидкого знешкодження слабозв'язаних молекул хлорофілу, внаслідок чого й підвищується гідролітична активність хлорофілази.

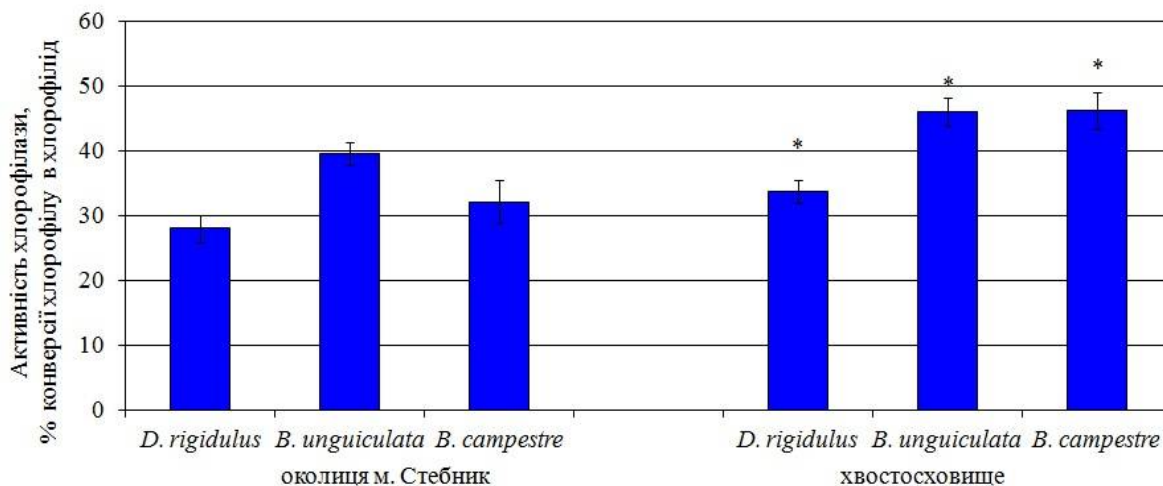


Рис. 2.11. Вплив засолення на активність хлорофілази у пагонах мохів *Barbula unguiculata*, *Didymodon rigidulus* і *Brachythecium campestre* з околиці м. Стебник і території хвостосховища Стебницького ГХП “Полімінерал” ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ).

Примітка: \* – різниця між зразками одного виду з фонової території та території хвостосховища статистично достовірна при  $P < 0,05$ .

Засолення, впливаючи на окремі реакції фотосинтезу, змінює інтенсивність фотосинтетичних процесів, що є основою продуктивності рослин. Визначено зниження інтенсивності асиміляції  $CO_2$  у рослинах з території хвостосховища. Наприклад, у пагонах *Barbula unguiculata* та *Didymodon rigidulus* зафіксовано в 1,2–1,4 рази нижчу інтенсивність фотосинтезу, у рослинах *Brachythecium campestre* активність фотосинтетичних процесів пригнічувалася суттєвіше – в 1,8 разів, порівняно з рослинами з фонової території (рис. 2.12). Очевидно, рослини *Didymodon rigidulus* і *Barbula unguiculata* були стійкішими до сольового стресу, оскільки в умовах засолення величини їх фотосинтетичної інтенсивності були на 33 % і 25 % вищі, порівняно із показниками для *Brachythecium campestre*, незважаючи на значно вищий рівень засолення субстрату у локалітетах цих видів, що може свідчити про формування ефективних механізмів захисту від сольового стресу упродовж тривалого періоду росту на території хвостосховища.

Відомо, що фотосинтетична активність рослин в умовах засолення може зменшуватися унаслідок порушення фотосинтетичного електронного ланцюга і / або гальмування ферментів циклу Кальвіна, насамперед, рибулозобіфосфаткарбоксілази, фосфоенолпіруват-

карбоксілази, рибулозо-5-фосфаткінази, гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогенази або фруктозо-1,6-бісфосфатази (Alvarez, Sanchez-Blanco, 2014).

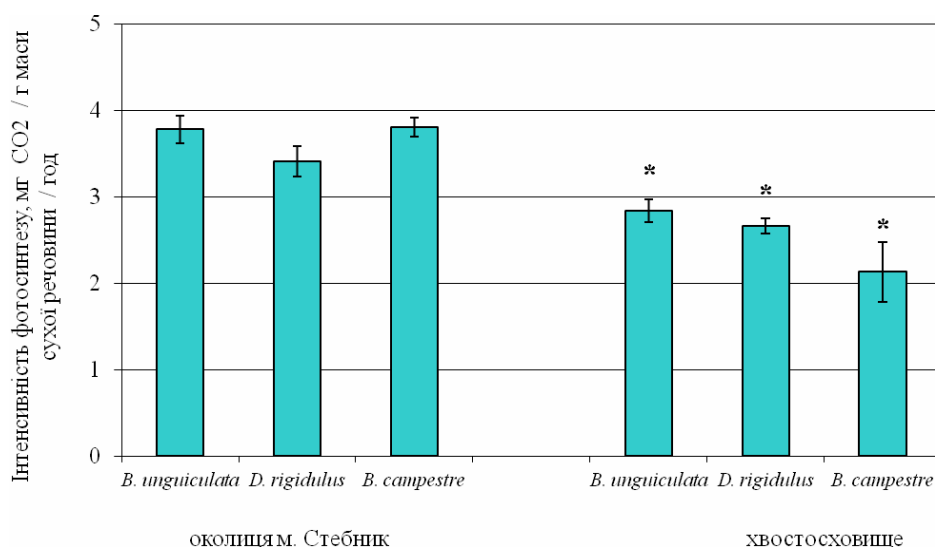


Рис. 2.12. Вплив засолення на інтенсивність фотосинтезу у пагонах мохів *Barbula unguiculata*, *Didymodon rigidulus* і *Brachythecium campestre* з околиці м. Стебник і території хвостосховища Стебницького ГХП “Полімінерал” ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ).

Примітка: \* – різниця між зразками одного виду порівняно до показників з фонові території (контроль) статистично достовірна при  $P < 0,05$ .

Таким чином, у досліджуваних мохів, що тривалий час росли на засолених субстратах хвостосховища, виявлено кількісні та якісні зміни хлоропластів (розміщення хлоропластів у клітинах, зменшення їх кількості та розмірів, округла форма), зміни компонентного складу пігментів та ступеня їх агрегації у хлорофіл-білкових комплексах тилакоїдних мембран, підвищення хлорофілазної активності та неоднакову інтенсивність асиміляції  $CO_2$ . Отримані результати свідчать, що рослинам *Barbula unguiculata* та *Didymodon rigidulus* властиві у 2,2–2,5 разів вищі показники вмісту каротиноїдів, міцніші зв’язки хлорофілу *b* у хлорофіл-білкових комплексах (86,8–89,2% невилученого хлорофілу), що забезпечило на 25–33% вищу інтенсивність фотосинтезу, порівняно з рослинами *Brachythecium campestre*.

## РОЗДІЛ 3.

### МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ АДАПТИВНІ ПРИСТОСУВАННЯ МОХІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ВОДНОГО РЕЖИМУ НА ТЕХНОГЕННО ЗМІНЕНИХ ТЕРИТОРІЯХ

#### 3.1. СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ОРГАНІЗАЦІЯ МОХОВИХ ДЕРНИН НА ТЕРИТОРІЇ ЧЕРВОНОГРАДСЬКОГО ГІРНИЧОПРОМИСЛОВОГО РАЙОНУ

Мохоподібні як важливий компонент рослинного покриву відіграють значну роль у нагромадженні органічної речовини, зміні енергетичного балансу та біологічного колообігу мінеральних елементів в екосистемах. Мохи підтримують водний і температурний режим ґрунту, заселяючи та закріплюючи насамперед техногенні субстрати на початкових стадіях первинної сукцесії. Здатність до зберігання вологи є найбільш критичним фактором функціонування екосистем. Мохоподібні можуть покращувати поглинання та утримання води і у такий спосіб регулювати доступність води для коренів судинних рослин (Савич-Любицкая, Смирнова, 1970; Trachtenberg, Zamski, 1979).

Залежно від структури життєвої форми мохоподібні поглинають до 1400 % їх маси сухої речовини (Elumeeva et al., 2011). На відміну від судинних рослин, вони отримують вологу завдяки поглинанню атмосферної води (роса, туман або опади) і конденсованої водяної пари із землі через клітинну поверхню або ззовні унаслідок транспортування з вологих до сухих зон рослин по капілярних каналах (Oliver et al., 2005; Elumeeva et al., 2011). Мохоподібні можуть забезпечувати збереження до 5 мм атмосферних опадів у лісових екосистемах, при цьому епігейні види проявляють більшу (2–5 мм) здатність утримувати вологу, ніж епіфітні (0,8–1,3 мм) (Proctor, 2009).

На відвалах вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району (ЧГПР) поширення видів родин Polytrichaceae (*Polytrichum piliferum* Hedw., *P. juniperinum* Hedw.) і Leucobryaceae (*Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid.) значною мірою пов'язане з рекультиваційними заходами – засипання шахтних порід піщаними ґрунтами. Автохтонний вид *Polytrichum piliferum* є прямим конкурентом адвентивного виду моху *Campylopus introflexus*, їхні екологічні ніші дуже подібні, але не тотожні (Glime, 2007). *Polytrichum piliferum* поширюється підземними ризоїдами і тому має переваги на рухомих субстратах (пісковиках, кам'янистих розсипах), тоді як *Campylopus introflexus* розмножується переважно наземними виводковими пропагулами здебільшого на осілих, збагачених органікою пісках,

використовуючи ресурси нового середовища, недоступні для аборигенних видів, проявляє підвищену конкурентну спроможність, істотно впливає на розвиток рослинних угруповань та гомеостаз екосистеми. Для запобігання зростаючій деградації рослинного покриву і зменшенню біологічного різноманіття важливо досліджувати амплітуду пристосувань адвентивного моху до чинників природного середовища та його екологічну пластичність.

На сьогодні окремі фізіологічні й екологічні аспекти адаптивної стратегії мохоподібних в стресових умовах (нестача вологи, висока інтенсивність освітлення, забруднення) лише починають досліджувати (Proctor, 2000; Sadasivam, Manickam, 2007; Michel et al., 2012). На відміну від судинних рослин, водний режим яких фізіологічно контролюється завдяки відкриттю та закриттю продихів, втрата води у більшості мохоподібних визначається розмірами і структурними властивостями окремих пагонів та мохових дернин. Показники водного обміну (водопоглинання, швидкість випаровування та толерантність до висихання) істотно відрізняються серед видів мохоподібних (During, 1992; Elumeeva et al., 2011) та бріоугруповань (Mägdefrau, 1982; Richards, 1984). Тому важливо виявити особливості водного обміну та метаболічної активності піонерних видів бріофітів із різною життєвою формою: *Campylopus introflexus* (низька щільна дернина), *Polytrichum piliferum* (низька пухка дернина) і *P. juniperinum* (висока пухка дернина).

У ектогідричного моху *Campylopus introflexus*, для якого характерна лише зовнішня провідність води, у вертикальних пагонах розрізняли ортотропну зелену (асиміляційну із зеленими листками поточного і попереднього років) і ортотропну бурю (нижню з бурими листками і ризоїдною повстю) частини (рис. 3.1).

Встановлено, що залежно від рівня вологості локалітетів змінювалася густина пагонів у дернині мохів, проте співвідношення між масами зеленої та бурої частин пагонів істотно не відрізнялося (табл. 3.1).

На терасі відвалу шахти “Візейська” (вологість мохових дернин 3,6 %) бурею частина пагонів становила 57,6% від сухої маси пагонів, тоді як на виступі вершини відвалу шахти “Надія” (вологість дернин 15,2%) – 58,5%. Проте зелена і бурею частини пагонів *Campylopus introflexus* з досліджуваних локалітетів характеризувалися різною поглинальною та водоутримувальною здатністю (табл. 3.2).

За нестачі води (тераса відвалу шахти “Візейська”) зелена частина пагонів моху поглинала більшу кількість води (187 %), порівняно з бурою (149,8 %), тоді як у вологих умовах на вершині відвалу шахти “Надія” дещо вища поглинальна здатність була характерна для бурої частини пагонів (158,8 %), ніж для зеленої (154 %). Встановлено, що бурею частина

пагонів з ризоїдною повстю втрачала воду набагато повільніше, ніж асиміляційна незалежно від водного режиму локалітету моху (табл. 3.2).

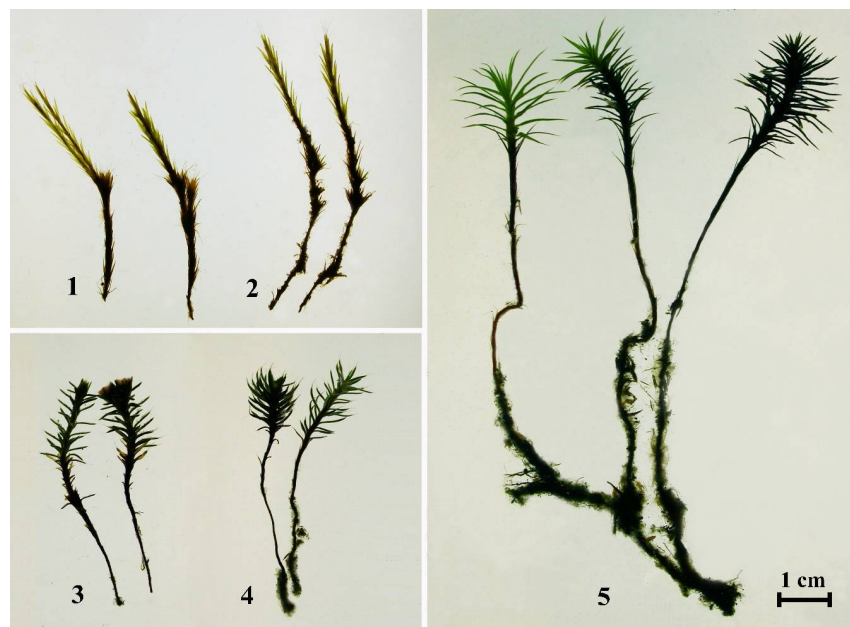


Рис. 3.1. Рослини мохів з досліджуваних локалітетів: *Campylopus introflexus* – (1) з тераси відвалу шахти “Візейська” та (2) вершини відвалу шахти “Надія”; *Polytrichum piliferum* – (3) з тераси відвалу ЦЗФ і (4) вершини відвалу шахти “Надія”; *Polytrichum juniperinum* – (5) з вершини відвалу шахти “Надія”.

Таблиця 3.1

### Морфометричні показники мохів на девастрованих територіях шахтних відвалів Червоноградського гірничопромислового району

Локалітет	Довжина частин пагонів, см				Біомаса пагона, мг				Біомаса дернини, мг/см <sup>2</sup>	Густина дернини, паг./см <sup>2</sup>
	зелена	бура	ризомна	загальна	зелена	бура	ризомна	загальна		
<b><i>Campylopus introflexus</i> (Hedw.) Brid.</b>										
1.	1,32 ± 0,08	2,10 ± 0,13	–	3,37 ± 0,07	5,81 ± 0,15	7,92 ± 0,07	–	13,7 ± 0,09	46,0 ± 2,1	55,5 ± 7,1
2.	1,65 ± 0,07	3,25 ± 0,75	–	5,09 ± 0,22	10,47 ± 0,19	14,78 ± 0,05	–	25,2 ± 1,00	103,0 ± 5,3	40,7 ± 3,5
<b><i>Polytrichum piliferum</i> Hedw.</b>										
3.	0,85 ± 0,07	1,76 ± 0,13	–	2,37 ± 0,09	5,24 ± 0,12	1,51 ± 0,09	–	6,75 ± 0,06	19,1 ± 0,7	14,5 ± 2,7
4.	0,70 ± 0,03	2,15 ± 0,08	–	2,78 ± 0,07	5,52 ± 0,20	1,92 ± 0,07	–	7,44 ± 0,04	22,5 ± 3,3	20,3 ± 3,9
<b><i>Polytrichum juniperinum</i> Hedw.</b>										
5.	1,14 ± 0,13	6,45 ± 0,28	4,05 ± 0,35	7,08 ± 0,23	5,11 ± 0,18	2,81 ± 0,50	2,35 ± 0,47	10,27 ± 0,09	134,0 ± 7,2	16,7 ± 3,0



Очевидно, така морфологічна організація низьких щільних дернин ектогідричного моху *Campylopus introflexus* забезпечує ефективне поглинання і утримання вологи всією поверхнею густооблистных пагонів та її зовнішню провідність.

Пагони у невисоких дернинах *Polytrichum piliferum* росли вертикально, їхня зелена асиміляційна частина (2/3 сухої маси пагонів) з віком втрачала листки й утворювала буру ортотропну частину, в основі з ріденькою ризоїдною повстю (рис. 3.1: 3,4). У високих пагонах *P. juniperinum*, окрім асиміляційної та бурої ортотропних частин, розрізняли підземні неасиміляційні ризоми, які утворювалися, коли нижня бура частина пагону росла плагіотропно у моховій підстилці (рис. 3.1: 5). Плагіотропні ризомні столони галузилися і формували нові ортотропні рослини моху.

Таблиця 3.2

**Водоутримувальна здатність мохів з різних локалітетів породних відвалів Червоноградського гірничопромислового району за динамікою втрати води під час експозиції зразків на повітрі (M±m; n=5)**

Локалітет	Час-тина пагонів	Початкова маса сухих пагонів, г	Маса пагонів після 2 год. у H <sub>2</sub> O, мг	Маса пагонів (мг) через				Абсолютно суха маса пагонів, г	Відносний вміст вологи, %
				Віддача води (%)					
				30 хв.	1 год.	2 год.	3 год.		
<b><i>Campylopus introflexus</i></b>									
1	Зелена	0,764 ± 0,034	1,429 ± 0,063	0,810 ± 0,035	0,790 ± 0,025	0,781 ± 0,019	0,778 ± 0,019	1,768 ± 0,013	3,6 ± 0,2
	Бура	1,068 ± 0,027	1,600 ± 0,045	1,235 ± 0,042	1,013 ± 0,021	0,998 ± 0,013	0,994 ± 0,011		
2	Зелена	1,052 ± 0,030	1,623 ± 0,050	1,213 ± 0,061	0,927 ± 0,048	0,898 ± 0,024	0,890 ± 0,021	2,205 ± 0,019	15,2 ± 0,2
	Бура	1,488 ± 0,025	2,363 ± 0,032	1,805 ± 0,047	1,463 ± 0,031	1,928 ± 0,015	1,398 ± 0,012		
<b><i>Polytrichum piliferum</i></b>									
3	Зелена	0,522 ± 0,043	0,693 ± 0,042	0,647 ± 0,023	0,582 ± 0,037	0,529 ± 0,023	0,525 ± 0,033	0,633 ± 0,020	3,0 ± 0,1
	Бура	0,130 ± 0,025	0,279 ± 0,019	0,230 ± 0,015	0,151 ± 0,019	0,137 ± 0,016	0,132 ± 0,017		
4	Зелена	0,505 ± 0,061	0,625 ± 0,021	0,606 ± 0,030	0,573 ± 0,043	0,526 ± 0,020	0,473 ± 0,037	0,652 ± 0,011	7,2 ± 0,2
	Бура	0,193 ± 0,032	0,259 ± 0,020	0,224 ± 0,013	0,205 ± 0,032	0,200 ± 0,012	0,192 ± 0,010		
<b><i>Polytrichum juniperinum</i></b>									
5	Зелена	0,277 ± 0,030	0,347 ± 0,036	0,316 ± 0,037	0,310 ± 0,030	0,290 ± 0,017	0,275 ± 0,021	0,462 ± 0,024	7,6 ± 0,3
	Бура	0,220 ± 0,021	0,243 ± 0,018	0,223 ± 0,010	0,208 ± 0,017	0,206 ± 0,015	0,207 ± 0,010		

Відомо, що у центральному пучку пагонів ендогідричних мохів *Polytrichum piliferum* і *Polytrichum juniperinum* наявна система трахеїдоподібних провідних клітин (гідроїдів) та ситоподібних трубок (лептоїдів), по яких переміщуються вода й цукри відповідно (Elumeeva et al., 2011). Показано, що, крім внутрішнього транспортування води, ці види мохів реалізують і ектогідричну провідність, рухаючи воду ззовні вздовж стебел (Van Toogen et al., 1990). Так, встановлено, що дернини *Polytrichum commune* Hedw. можуть бути ектогідричними у локалітетах з помірним зволоженням, але переважно є ендогідричними в умовах сухого повітря, що посилює інтенсивність транспіраційного потоку (Elumeeva et al., 2011).

На відміну від дернин *Campylopus introflexus*, у яких співвідношення між асиміляційною та бурою частинами пагонів за довжиною і масою сухої речовини майже однакові, у *Polytrichum piliferum* зелена частина становить 20–30% від довжини пагонів та 74,0–77,6% від їх загальної маси сухої речовини (табл. 3.2). У посушливих умовах тераси ЦЗФ (3% вологості рослин) у *P. piliferum* встановлено вищу поглинальну здатність пагонів, особливо її бурій частини завдяки численній ризоїдній повсті, проте асиміляційна частина істотно довше утримувала вологу. Зелена і бура частини пагонів моху з вогкішого локалітету внаслідок регідратації збільшували масу на 24% та 34% відповідно. Бура частина втрачала поглинуту воду майже повністю протягом години від початку дегідратації, тоді як зелена частина утримувала до 57% поглинутої вологи (табл. 3.2). Вищу ефективність використання води встановлено у *Polytrichum juniperinum* унаслідок більшої здатності до апікального поглинання (25%) та утримання води на поверхні листків асиміляційної частини пагонів, яка потім рухається по центральному пучку бурій ортотропної частини пагонів униз.

Вважають, що серед мохів листки *P. juniperinum* найбільше подібні за структурно-функціональною організацією до листків судинних рослин (Belnap, 2006). Листки моху диференційовані на піхвову основу та листкову пластинку, вкриту епідермальним восковим шаром на абаксіальному боці та поздовжніми, вертикальними асиміляційними пластинки на адаксіальному. У плагіотропній частині визначено найнижчий (до 5) відсоток поглинутої води, оскільки на ризомах *P. juniperinum* виявлено водовідштовхувальну поверхню (Van Toogen et al., 1990). Це свідчить, що ризоїди, як і бура необлиствена частина стебла, у політрихових відіграють неістотну роль у поглинанні вологи, а в основному запобігають втраті ендогідричної води, тобто проявляють лише капілярну функцію – утримання зовнішньої води між ризоїдами пагонів окремих рослин моху.

На основі результатів аналізу вмісту розчинних і загальних вуглеводів та крохмалю визначено функціональні відмінності між

асиміляційними ортотропними і бурими плагіотропними частинами пагонів мохів залежно від температурного і водного режимів їхніх локалітетів (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Розподіл карбогідратів у пагонах *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid., *Polytrichum piliferum* Hedw. та *Polytrichum juniperinum* Hedw. з різних локалітетів на техногенно змінених територіях Червоноградського гірничопромислового району ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Локалітет	Частина пагонів	Загальні вуглеводи, мг/ г маси сух.р.	Розчинні вуглеводи, мг/г маси сух.р.	Крохмаль, мг/г маси сух.р.
<b>Квітень</b>				
1	зелена	52,1 ± 0,2	18,4 ± 0,1	1,12 ± 0,01
	бура	49,3 ± 0,3	17,8 ± 0,2	1,06 ± 0,02
2	зелена	51,5 ± 0,2	19,3 ± 0,2	0,76 ± 0,01
	бура	51,7 ± 0,4	21,4 ± 0,2	0,75 ± 0,02
3	зелена	56,0 ± 0,3	22,8 ± 0,2	1,11 ± 0,01
	бура	46,8 ± 0,2	21,3 ± 0,2	1,58 ± 0,01
4	зелена	52,9 ± 0,4	22,7 ± 0,1	1,79 ± 0,01
	бура	34,0 ± 0,3	22,2 ± 0,2	1,41 ± 0,01
5	зелена	53,1 ± 0,3	24,9 ± 0,1	0,85 ± 0,01
	бура	53,0 ± 0,4	21,3 ± 0,3	0,98 ± 0,01
	ризоми	63,3 ± 0,4	20,6 ± 0,3	0,85 ± 0,02
<b>Листопад</b>				
1	зелена	55,2 ± 0,3	17,2 ± 0,1	0,95 ± 0,01
	бура	48,7 ± 0,4	16,7 ± 0,2	1,03 ± 0,01
2	зелена	56,0 ± 0,3	17,5 ± 0,2	0,77 ± 0,01
	бура	45,1 ± 0,3	18,9 ± 0,2	0,79 ± 0,01
3	зелена	52,1 ± 0,3	19,7 ± 0,2	1,21 ± 0,01
	бура	38,1 ± 0,3	26,2 ± 0,3	1,34 ± 0,02
4	зелена	52,1 ± 0,4	23,8 ± 0,2	1,19 ± 0,01
	бура	30,5 ± 0,3	25,3 ± 0,3	1,32 ± 0,02
5	зелена	62,2 ± 0,4	22,8 ± 0,2	0,84 ± 0,01
	бура	61,0 ± 0,5	21,6 ± 0,3	0,93 ± 0,01
	ризоми	53,8 ± 0,5	16,8 ± 0,3	1,09 ± 0,02

Для більшості варіантів досліду відзначено дещо більше нагромадження загальних вуглеводів у асиміляційній частині пагонів, особливо у *Campylopus introflexus* і *Polytrichum piliferum* в посушливих умовах локалітетів. Найбільше карбогідратів виявлено у *Polytrichum juniperinum*: навесні максимальні показники загальних вуглеводів визначено у ризомах, а восени – в апікальній частині пагонів моху.

В умовах нестачі вологи навесні і восени у *Campylopus introflexus* більше розчинних цукрів утворювалося в асиміляційній частині пагонів, у вологих умовах дещо переважали – у бурій частині. У *Polytrichum piliferum* таку ж тенденцію відзначали лише навесні, тоді як восени більшу

кількість розчинних цукрів визначали у бурій частині його пагонів незалежно від водного режиму локалітетів. Для *Polytrichum juniperinum* виявлено апікально-базальний градієнт нагромадження розчинних цукрів: навесні і восени максимальні кількості встановлено в асиміляційній частині пагонів, дещо менше – в бурій ортотропній частині пагонів і найменше – плагіотропних ризомах.

Нагромадження розчинних цукрів в асиміляційній частині пагонів мохів зумовлена їх високою метаболічною й транспортною активністю, що впливає на ріст та розвиток рослин, окрім того, це – осмотично активні сполуки, які відіграють важливу роль у забезпеченні структурної та функціональної стабільності клітин в умовах водного дефіциту. Для *Polytrichum commune* і *Polytrichum alpinum* Hedw. встановлено, що фотоасимілянти з надземної частини рослин транспортуються до підземних плагіотропних ризом, де вони, здебільшого, перетворюються у крохмаль (Shaw et al., 2011). На початку вегетаційного періоду (квітень) у досліджених локалітетах не виявлено залежності розподілу вмісту крохмалю від частин пагонів мохів, тоді як восени (листопад) його вміст переважав в усіх варіантах досліду в бурій частині (табл. 3.3). Очевидно, низька функціональна активність плагіотропної гетеротрофної частини пагонів зумовлена їх роллю у збереженні поживних речовин, що сприяє вегетативному розмноженню, особливо в умовах дефіциту вологи. Навесні у підземних ризомах визначено найбільший вміст загальних вуглеводів (63,3 мг/г маси сух.р.), а восени – найбільше крохмалю (1,1 мг/г маси сух.р.).

Встановлено, що апікально-базальний градієнт асиміляції карбогідратів у пагонах низьких щільних дернин ектогідричного моху *Campylopus introflexus*, забезпечуючи стійкість до нестачі води, сприяє високим темпам росту й утворенню верхівкових виводкових органів, тоді як у пухких дернинах ендогідричних мохів роду *Polytrichum* Hedw. вища ефективність збереження поживних речовин і води та здатність до вегетативного розмноження проявляється у бурій плагіотропній частині пагонів.

### **3.2. ВОДНИЙ РЕЖИМ МОХІВ ІЗ РІЗНОЮ ЧУТЛИВІСТЮ ДО ДЕФІЦИТУ ВОЛОГИ НА ТЕРИТОРІЇ ВІДВАЛУ ВИДОБУТКУ СІРКИ**

Водний режим має важливе значення для рослин, їх пристосованості до умов існування, оскільки впливає на ріст, метаболічну активність, інтенсивність процесів газообміну. Бріофіти, на відміну від судинних рослин, не мають ефективною системи регуляції водного режиму, гідратура їх клітин повністю залежить від зовнішніх умов. Ці рослини пристосовані

до значних втрат вологи та висихання і здатні до швидкої регідратації, що є свідченням високої толерантності до тривалих періодів водного стресу.

У зв'язку з цим, метою роботи було оцінити фізіологічні показники водного режиму мохів, які мають різну чутливість до дефіциту вологи — *Bryum argenteum*, *Brachythecium salebrosum* і *Amblystegium serpens*, зібраних на території відвалу № 1 Язівського сірчаного родовища, підпорядкованого Новояворівському державному гірничо-хімічному підприємству (ДГХП) „Сірка”, де мохоподібні одними з перших оселилися і сформували з часом рясні, багатовидові обростання. Для відвалів сірчаного видобутку характерні контрасні кліматичні умови (нестабільний водний та температурний режим, висока інсоляція), тому важливе значення має вивчення механізмів адаптації піонерних видів рослин до мінливих екологічних факторів, які дають їм можливість колонізувати техногенно порушені території.

Досліджено показники водного потенціалу у клітинах листка мохів *Bryum argenteum*, *Brachythecium salebrosum* та *Amblystegium serpens*, яким властива різна толерантність до водного дефіциту. Рослини *Brachythecium salebrosum* й *Amblystegium serpens* (мезофіти) ростуть у мікропониженнях рельєфу, у вологих та затінених ділянках, тому менше залежні від водного дефіциту. Дернини *Bryum argenteum* (ксеромезофіт) трапляються на відкритих місцях, де отримують надлишок світлової енергії.

У весняні місяці у місцевиростаннях бріума зафіксований найсприятливіший гідротермічний режим (температура на поверхні субстрату становила  $+14,2 - +21,5^{\circ}\text{C}$ , інтенсивність світла 70 – 80 тис. лк, а вологість субстрату 46,2 – 58,4 %). Натомість у літній період амплітуда мінливості середніх температур на поверхні субстрату була у діапазоні  $20,4 - 31,5^{\circ}\text{C}$ , а на вершині відвалу підвищувалася до  $+40,5^{\circ}\text{C}$ , інтенсивність світла — 100–110 тис. лк, а вологість субстрату зменшувалася до 3,7 – 14,2 %.

Внутрішньоклітинний водний потенціал є показником пристосованості до екологічних умов середовища, оскільки з ним пов'язані усі основні життєві процеси рослини – дихання, фотосинтез, клітинний метаболізм та ін. Якщо більшість судинних рослин адаптувалися до посушливих умов шляхом формування спеціалізованих структур та внутрішньоклітинних механізмів і здатні утримувати водний потенціал у клітинах у певних межах, то мохи можуть втрачати воду до рівня 5-10 % від маси сухої речовини, водний потенціал у клітинах може досягати  $-100$  МПа, і, водночас, ці рослини здатні легко відновлюватися у процесі регідратації (Oliver et al., 2005; Proctor et al., 2007). Без сумніву, що такі особливості водного режиму мохів можуть забезпечуватися фізіологічними механізмами і, насамперед, комплексом осмопротекторів різної природи, які регулюють водний потенціал у клітинах.

Встановлено, що в досліджуваних видів мохів внутрішньоклітинний водний потенціал відрізнявся упродовж вегетаційного сезону. У літні місяці водний потенціал у клітинах листків *Bryum argenteum* становив –  $3,7 \pm 0,4$  МПа, що характерно для ксеромезофітних видів мохів (Glime, 2007), що сприяло утриманню вологи рослинами (рис. 3.2).

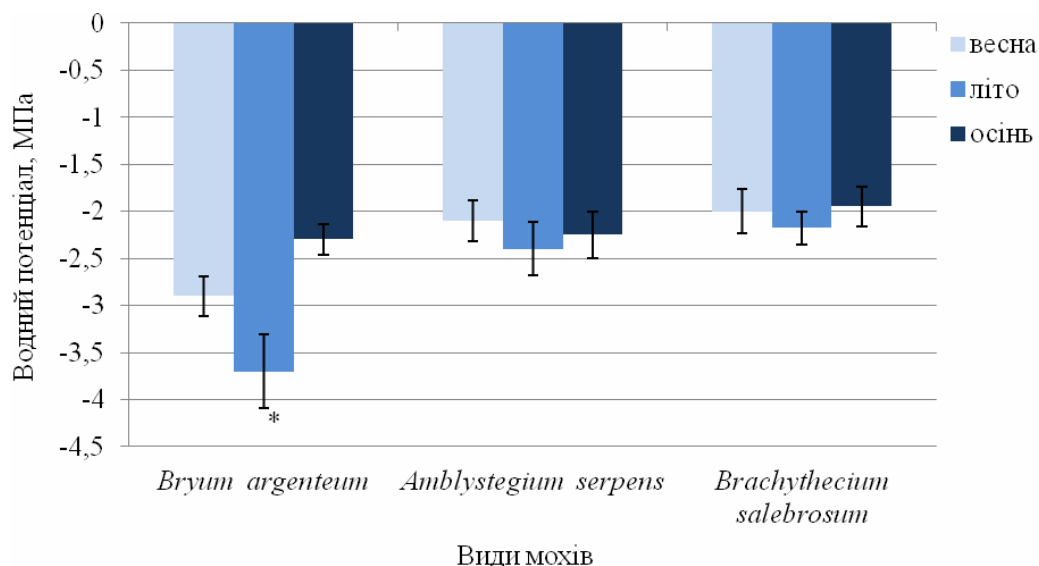


Рис. 3.2. Водний потенціал у клітинах мохів *Bryum argenteum*, *Brachythecium salebrosum* і *Amblystegium serpens* протягом вегетаційного сезону на території відвалу видобутку сірки ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

Примітка: \* – різниця між зразками одного виду статистично достовірна порівняно до показників у весняний період (контроль) при  $p < 0,05$ .

Натомість, у клітинах листків *Brachythecium salebrosum* й *Amblystegium serpens* навіть у спекотний літній період водний потенціал не перевищував  $-2,4 \pm 0,3$  МПа. У весняно-осінній період за сприятливішого гідротермічного режиму внутрішньоклітинний водний потенціал у листках *Bryum argenteum* частково підвищувався до  $-2,4$  -  $-2,8$  МПа. У клітинах мохів *Brachythecium salebrosum* та *Amblystegium serpens* суттєвих сезонних змін водного потенціалу не виявлено, очевидно, через приуроченість рослин цих видів до мезофітних місцевиростань із досить вирівняними екологічними умовами.

Тобто, для рослин *Bryum argenteum*, що росли в умовах дефіциту вологи відзначено в 1,5 рази нижчий водний потенціал, що підвищує водопоглинальну та водоутримуючу здатність моху, порівняно з рослинами *Brachythecium salebrosum* та *Amblystegium serpens* із місцевиростань із сприятливішим водним режимом. Отримані результати свідчать, що водний потенціал може бути індикатором водного режиму мохів із різною толерантністю до дефіциту вологи.

У мохоподібних рух води переважно починається не із субстрату, а з верхівок листків і пагонів після дощу, туману або роси, тому важливо

оцінити осмотичний тиск у різних ділянках листової пластинки мохів. У листках *Bryum argenteum* виявлено градієнтний розподіл осмотичного тиску у листках (рис. 3.2).

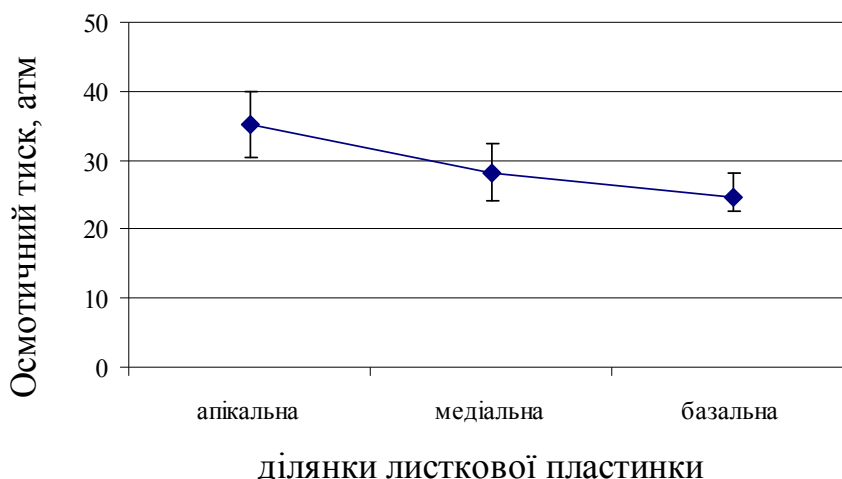


Рис. 3.3. Осмотичний тиск в клітинах апікальної, медіальної та базальної частин листової пластинки моху *Bryum argenteum* з вершини відвалу видобутку сірки ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ).

У молодих листках *Bryum argenteum* вищі величини тиску (31,2–36,3 атм) визначено у клітинах апікальної частини листка, крайовій зоні та ділянці центральної жилки, нижчий осмотичний тиск зафіксований у клітинах базальної частини та середини листка (рис. 3.3). Очевидно, осмотичний градієнт посилює поглинальну здатність листків, що має важливе значення за умов недостатнього водозабезпечення.

Збільшення концентрації розчинних вуглеводів, що супроводжується підвищенням осмотичного потенціалу клітини, є одним із найважливіших механізмів адаптації бріофітів до водного дефіциту (Glime, 2007; Zivkovic et al., 2005; Wu et al., 2012). Проаналізовано вміст розчинних вуглеводів у пагонах мохів, відібраних із дослідних ділянок із найбільш контрастними мікрокліматичними умовами (основа та вершина відвалу) протягом вегетаційного сезону. Варто відзначити суттєву різницю між рівнем нагромадження цукрів у пагонах *Bryum argenteum* і рослинах *Brachythecium salebrosum* й *Amblystegium serpens*. У рослинах *Amblystegium serpens* визначено найменшу концентрацію цукрів у весняно-осінній період (62,6 – 73,4 мкг/г с.м.) та незначне їх збільшення в 1,5 рази у літні місяці (рис. 3.4). Їх вміст суттєво не залежав від місцевиростання рослин на відвалі. У пагонах *Brachythecium salebrosum* визначено в 1,2–1,7 разів вищий вміст цукрів у весняно-осінній період, порівняно з рослинами *Amblystegium serpens* та достовірне збільшення їх кількості ~ в 1,8 разів у літні місяці (146,7–169,8 мкг/г маси с.р.).

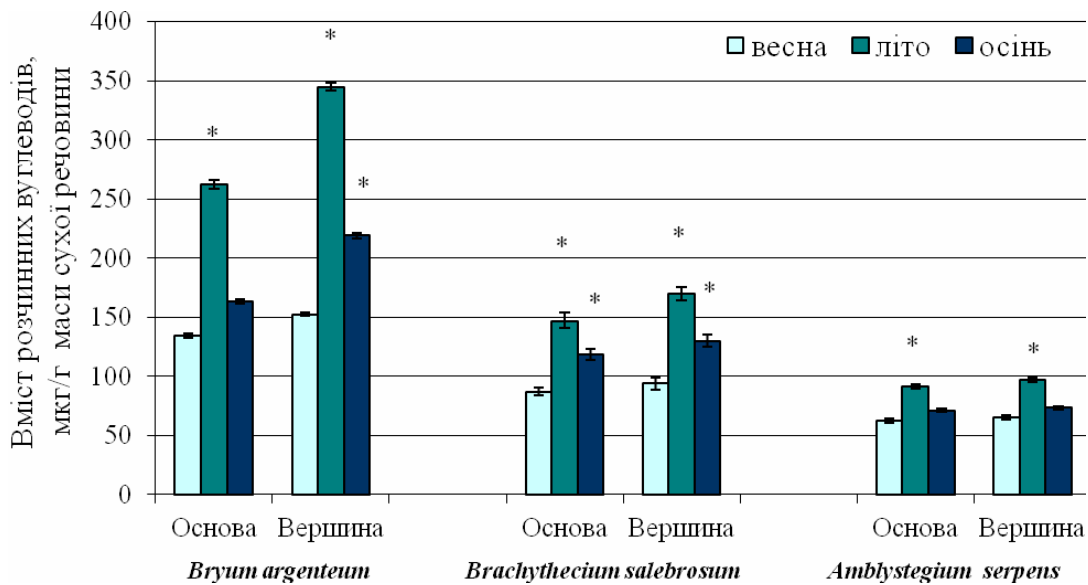


Рис. 3.4. Вміст розчинних вуглеводів у пагонах *Bryum argenteum*, *Brachythecium salebrosum* й *Amblystegium serpens* з основи та вершини відвалу видобутку сірки протягом вегетаційного сезону ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ).

Примітка: \* — різниця між зразками одного виду в межах дослідної ділянки статистично достовірна порівняно до показників у весняний період (контроль) при  $p < 0,05$ .

У пагонах *Bryum argenteum* зафіксовано значно більше накопичення розчинних вуглеводів: їх уміст у весняні місяці становив 134,2–152,3 мг/г маси с.р., а в червні-липні підвищувався майже удвічі. Також відзначено залежність умісту цих осмопротекторів у рослинах *Bryum argenteum* від умов місцевиростань на відвалі, оскільки вищі концентрації вуглеводів були визначені у рослинах із вершини відвалу, де були несприятливіші умови водозабезпечення, інсоляції та температурного режиму.

В осінній період вміст цукрів також був вищим в 1,4–1,5 разів у пагонах бріума з обидвох дослідних ділянок, порівняно з весняними показниками, що, очевидно, пов'язане з протекторною функцією розчинних вуглеводів за впливу низьких температур. Така ж тенденція була виявлена і для рослин *Brachythecium salebrosum*. Із літературних джерел також відомо про зміну вуглеводного обміну у мохів у бік нагромадження цукрів. Зокрема, у *Syntrichia caninervis* Mitt. та *Plagiomnium acutum* (Lindb.) T.J. Кор. виявлено значне збільшення загального вмісту розчинних вуглеводів у відповідь на дефіцит вологи (Li et al., 2009; Wu et al., 2012).

На підставі отриманих результатів можна підсумувати, що бріофіти з різною чутливістю до водного дефіциту мають однакову спрямованість вуглеводного метаболізму, однак рослинам *Bryum argenteum* властива більша пластичність вмісту цукрів протягом вегетаційного сезону та у



2,5–3,0 рази вищі концентрації цукрів, порівняно з *Brachythecium salebrosum* й *Amblystegium serpens*, що сприяє швидкій адаптації до мінливих умов існування.

Особлива роль у протекторно-адаптивних механізмах рослин належить нітрогеновмісним сполукам, насамперед, пулу вільних амінокислот. Важливість цих осмопротекторів зумовлена поліфункціональністю дії, оскільки вони забезпечують регуляцію осмотичного тиску, детоксикацію вільних радикалів, стабілізацію енергетичного метаболізму (Ashraf, Foolad, 2008; Kovács et al., 2012; Rai, 2002).

Проаналізовано сумарний вміст вільних амінокислот у пагонах досліджуваних видів. За сприятливого гідротермічного режиму у весняний та осінній періоди їх концентрація була подібною в усіх рослин: у *Bryum argenteum* становила 0,76–0,83 мкмоль/г с. м., у мохів *Brachythecium salebrosum* й *Amblystegium serpens* – 0,62–0,68 мкмоль/г с. м. (рис. 3.5).

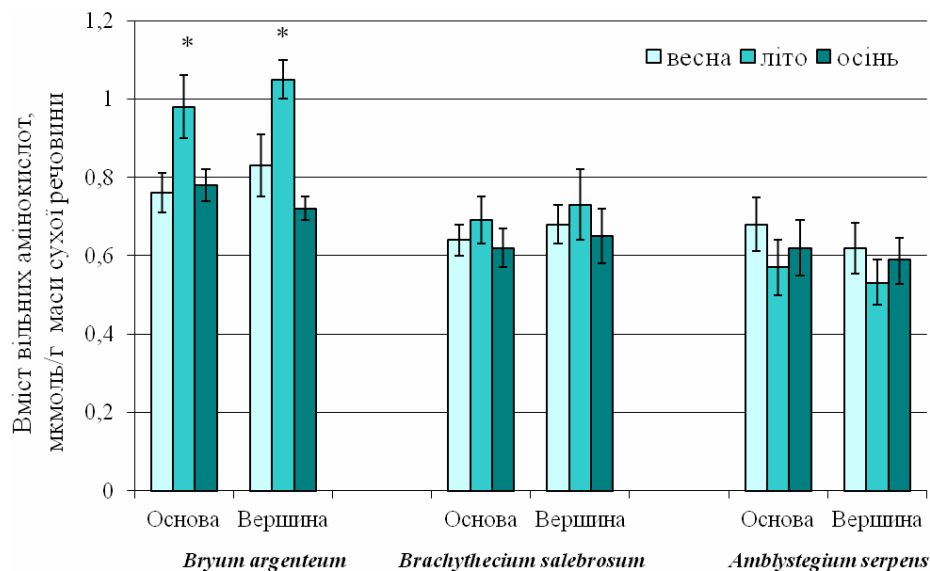


Рис. 3.5. Вміст вільних амінокислот у пагонах *Bryum argenteum*, *Brachythecium salebrosum* й *Amblystegium serpens* з основи та вершини відвалу видобутку сірки протягом вегетаційного сезону ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ).

Примітка: \* — різниця між зразками одного виду в межах дослідної ділянки статистично достовірна порівняно до показників у весняний період (контроль) при  $p < 0,05$ .

У літні місяці інтенсивність і спрямованість метаболізму нітрогеновмісних сполук у досліджуваних видів відрізнялися, оскільки у пагонах *Brachythecium salebrosum* їх концентрація достовірно не змінювалася, у зразках *Amblystegium serpens* зафіксовано зменшення

кількості вільних амінокислот в 1,2 рази, що, очевидно, могло бути зумовлене пригніченням метаболізму нітрогеновмісних сполук за несприятливих мікрокліматичних умов у чутливого до водного дефіциту виду моху, а в рослинах *Bryum argenteum* відзначено збільшення їх вмісту ~ в 1,3 рази. Імовірно, це могло бути зумовлене як нагромадженням цих сполук шляхом синтезу, так і протеазною активністю в умовах осмотичного стресу. Літературні дані свідчать, що помірний вплив несприятливого фактора спричинює збільшення вмісту вільних амінокислот переважно шляхом синтезу, проте висока напруженість стресового чинника може призвести до активації протеаз (Колесниченко, Войников, 2003). Окрім того, за умов сильних стресів у клітинах можуть з'являтися денатуровані макромолекули, які розщеплюються протеазами значно легше, ніж непошкоджені молекули білка (Fargoq et al., 2009). Такі зміни метаболізму нітрогеновмісних сполук, які призводять до нагромадження вільних амінокислот і певної стабілізації внутрішньоклітинного середовища, виявлені у рослинах за дії різноманітних стресових чинників, що свідчить про неспецифічність цієї захисної реакції (Кобилецька, 2012; Huang, Jander, 2017). Однак, у клітинах мохів із вищою толерантністю до дефіциту вологи загальна кількість амінокислот є істотно більшою (Liu et al., 2016; 2018; Wang, 2008).

Частка «стресової» амінокислоти проліну у сумарній кількості вільних амінокислот також змінювалася упродовж вегетаційного сезону та залежала від видових особливостей мохів (Рис.3.6). У *Brachythecium salebrosum* її вміст був досить стабільним: у весняно-осінній період зафіксовано 0,23 – 0,28 мкмоль/г маси с.р. проліну та збільшення концентрації в 1,4 рази у літні місяці. У пагонах *Amblystegium serpens* визначено подібні показники як у зразках з основи, так і з вершини відвалу без істотних відмінностей у літні місяці, що може свідчити як про стабільніші мікрокліматичні умови, так і про те, що пролін не задіяний у захисних реакціях у рослинах цього виду. У пагонах *Bryum argenteum* відзначено в 1,4–2,0 рази більший вміст проліну протягом усього періоду вегетації, порівняно з рослинами *Brachythecium salebrosum* й *Amblystegium serpens* і підвищення концентрації в 1,6 разів у літні місяці, порівняно з показниками у весняний період. Істотне нагромадження проліну також було виявлено у пагонах толерантних до висушування мохів *Plagiomnium acutum* та *Syntrichia caninervis* (Li et al., 2009; Wu et al., 2012), у рослинах *Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp., *Pleurozium schreberi* (Willd. ex Brid.) Mitt. та *Rhytidiadelphus squarrosus* (Hedw.) Warnst. за впливу високих температур, осмотичного стресу та важких металів (Lobachevska, 2008). Тобто, нагромадження вільного проліну має переважно неспецифічний характер і є складовою загальних клітинних захисних

СИСТЕМ.

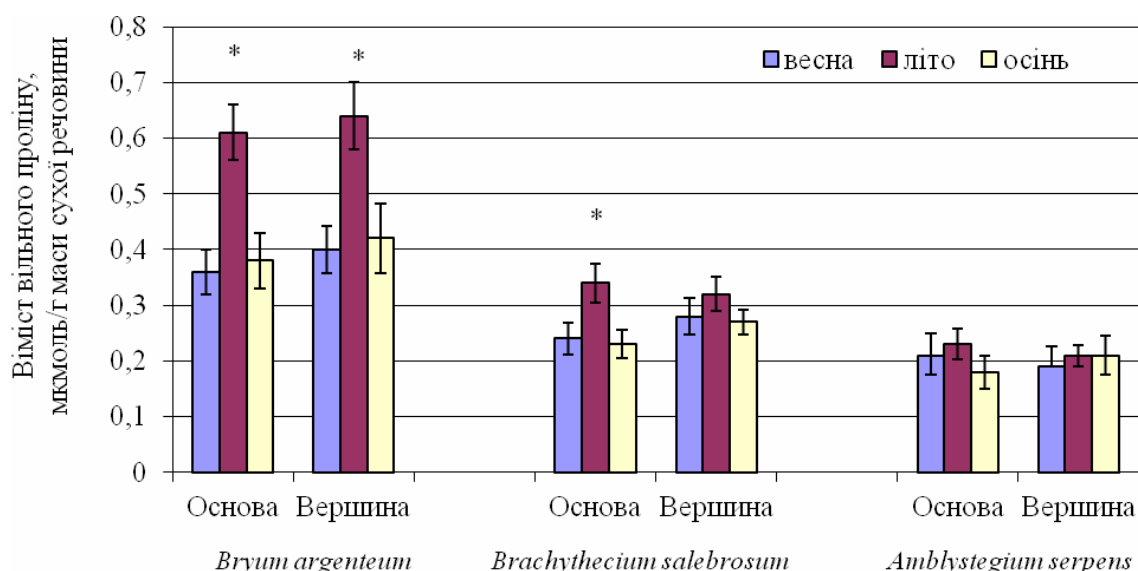


Рис. 3.6. Вміст вільного проліну у пагонах мохів *Bryum argenteum*, *Brachythecium salebrosum* й *Amblystegium serpens* з основи та вершини відвалу видобутку сірки протягом вегетаційного сезону ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ).

Примітка: \* — різниця між зразками одного виду в межах дослідної ділянки статистично достовірна порівняно до показників у весняний період (контроль) при  $p < 0,05$ .

Посилення синтезу проліну у пагонах мохів за стресових умов можна пояснити поліфункціональною дією, яка виявляється не лише в осморегуляторній та протекторній, а також і в антиоксидантній та енергетичній функціях, які забезпечують підтримку клітинного гомеостазу та його перехід у новий адаптивний стан (Ashraf, Foolad, 2008; Колупаєв, 2001; Лобачевська, 2008; Кобилецька, 2012; Kavi Kishor et al., 2005).

У наших дослідженнях істотніше збільшення вмісту проліну визначено у рослинах толерантного до дефіциту вологи виду *Bryum argenteum* у несприятливих мікрокліматичних умовах. У рослинах із нижчим рівнем толерантності (*Brachythecium salebrosum* та *Amblystegium serpens*) простежувалося незначне підвищення вмісту амінокислоти або ж відсутність достовірної різниці між зразками. Отримані результати можуть свідчити, що у несприятливих мікрокліматичних умовах рівень акумуляції проліну у клітинах може суттєво змінюватися залежно від виду мохів та його адаптивної здатності, а також залежно від напруженості стресового чинника.

Таким чином, однією з адаптивних реакцій мохів у несприятливих умовах є збільшення загальної кількості амінокислот, що забезпечує осмотичну складову адаптації. Окрім того, виявлено тенденцію

збільшення вмісту «стресової» амінокислоти – проліну, що характеризує неспецифічну реакцію клітинного метаболізму у відповідь на стрес.

Аналіз вмісту цукрів, вільних амінокислот та проліну показав, що відмінності у толерантності до дефіциту вологи досліджуваних видів мохів проявилися у фізіологічних реакціях рослин на зміну мікрокліматичних умов. Рослини стійкого до водного дефіциту виду *Bryum argenteum* на території відвалу видобутку сірки приурочені до відкритих сухих місцевиростань, схильні до висихання та швидкого відновлення життєздатності у період регідратації, тому їм властива більша пластичність компонентів осморегуляторної системи протягом вегетаційного сезону. Тобто, рослинам, які пристосовуються до гетерогенних умов середовища, властива вища пластичність морфо-фізіологічних ознак. У рослинах *Amblystegium serpens* та *Brachythecium salebrosum* виявлено нижчу мінливість фізіологічних ознак упродовж вегетаційного сезону, що зумовлено сприятливішими умовами їх місцевиростань. Така реакція організму, очевидно, є проявом стратегії економії ресурсів рослин, оскільки суттєво зменшуються енергетичні витрати, спрямовані на підтримання пластичності метаболічних процесів.

Таким чином, незважаючи на неспецифічність проаналізованих захисних реакції мохів до водного стресу, виявлено відмінності у здатності нагромаджувати осмотично активні речовини у *Bryum argenteum*, *Brachythecium salebrosum* й *Amblystegium serpens* що може свідчити про генетично детерміновану норму реакції у бріофітів із різною чутливістю до дефіциту вологи.

### **3.3. ФІЗІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ВОДНОГО РЕЖИМУ *BRYUM ARGENTEUM* НА НАФТОЗАБРУДНЕНІЙ ТЕРИТОРІЇ**

Мохоподібні є пойкилогідричними рослинами, у яких відсутня коренева система, провідні елементи та інші анатомічні пристосування для поглинання води чи регуляції водного режиму. Незважаючи на те, що мохи поглинають вологу усією поверхнею тіла і їх життєдіяльність насамперед залежить від атмосферної води – дощу, туману, роси, водяної пари атмосфери, вони також зазнають впливу нафтового забруднення. На дернинах моху *Bryum argenteum*, які ростуть на платформі нафтових свердловин, можна помітити маслянистий наліт, що утруднює поглинання вологи і опосередковано створює умови водного дефіциту. Окрім того, наші дослідження показали, що компоненти нафти проникають у клітини моху.

Було досліджено специфіку локалізації вуглеводнів нафти у пагонах моху, використовуючи властивість вуглеводнів

люмінесціювати у деяких органічних розчинниках (наприклад, хлороформі чи гексані). Відомо, що найбільш яскрава люмінесценція в короткохвильовій області спектра (переважно блакитного кольору) характерна для легких вуглеводнів нафти, тоді як із збільшенням кількості важких фракцій нафти (смола, асфальтени) яскравість люмінесценції знижується і колір змінюється від жовтого-зеленого до жовто-коричневого або коричневого (Білецький, 2007). У наших дослідах досить чітку якісну реакцію ми отримали, застосовуючи 1 мМ розчин гексану (рис. 3.7).

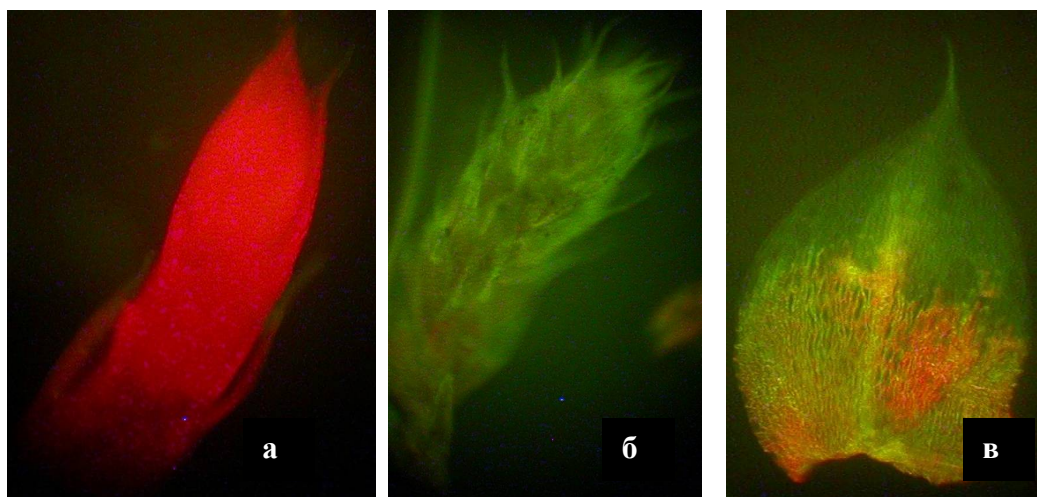


Рис. 3.7. Люмінесценція вуглеводнів нафти у пагонах і листках *V. argenteum* в 1мМ розчині гексану: а – рослини із фонові території (околиця м. Борислав); б – в – рослини з нафтозабрудненої території у м. Борислав.

У верхівках пагонів зразка з фонові території виявлено інтенсивну люмінесценцію хлорофілу, тоді як у рослинах з нафтозабрудненої території спостерігали жовто-зелену люмінесценцію, характерну для суміші легких та важких вуглеводнів нафти, яка повністю блокувала люмінесценцію хлорофілу. На листовій пластинці свічення сполук нафти більше виражене в базальній частині, де знаходяться хлорофіл-вмісні клітини та в області центральної жилки. Таким чином, ці результати засвідчують, що нафтові вуглеводні проникають у клітини моху.

Компоненти нафти суттєво пригнічують поглинання вологи пагонами моху. Для підтвердження цього, експериментально визначили поглинальну здатність рослин *V. argenteum* з різних місцевиростань і виявили, що кількість вологи, поглинутої пагонами моху з м. Борислав (після 2 год їх занурення у воду), була майже на 40 % меншою, ніж у рослин з фонові території (рис. 3.8), що свідчило про значне блокування надходження вологи в умовах нафтового забруднення.

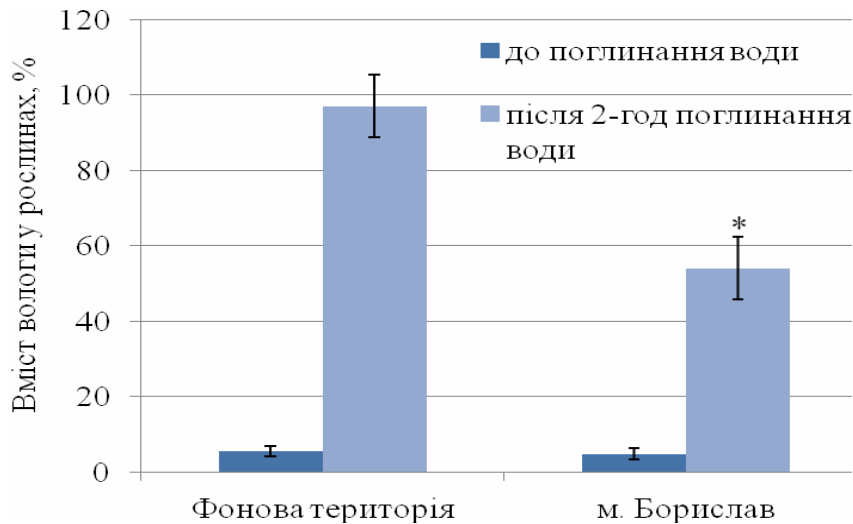


Рис. 3.8. Водопоглинальна здатність моху *Bryum argenteum* з фонові території (околиця м. Борислав) і нафтозабрудненої території (м. Борислав).

Примітка: \* – різниця між зразками з нафтозабрудненої та фонові території статистично достовірна при  $P < 0.05$ .

Можна припустити, що тривале існування мохів в умовах нафтового забруднення могло призвести до формування певних адаптивних реакцій як до нафтового стресу, так і до дефіциту вологи. У зв'язку з тим, ми оцінили стійкість моху *B. argenteum* до водного дефіциту. Оскільки параметри водного режиму, зокрема осморегуляційні процеси мають вирішальне значення для рослин в умовах дефіциту вологи, ми проаналізували зміну водного потенціалу в клітинах листків моху із різних місцевиростань. Встановлено, що рослини *B. argenteum* з м. Борислав реагують на нафтове забруднення зниженням водного потенціалу (табл. 3.4), що забезпечує надходження води у клітини рослин в умовах нафтового стресу.

Зниження водного та осмотичного потенціалів за дії нафтового забруднення виявлено й у *Carex hirta* L. Та *Faba bona* Medic. (Коровецька, 2010). Також відомо, що у бріофітів водний потенціал коливається у межах від  $-1,0$  до  $-3,5$  МПа (Proctor, 2009), що пов'язано з умовами їх існування, оскільки багато видів мохоподібних ростуть на відкритих сухих місцевиростаннях, можуть витримувати тривалі періоди посухи, а також переносити зневоднення до повітряно-сухого стану.

Толерантність до водного дефіциту вимагає такої структурної організації клітин, яка здатна витримати значну втрату вологи без розривів мембран та легко відновлюватися в умовах зволоження. Відомо, що в умовах дефіциту вологи у бріофітів захисні функції виконують цукри (насамперед, сахароза) та антиоксидантні системи, які зводять до

мінімуму негативні наслідки зневоднення (Proctor, 2001). Також показано, що в умовах температурного й осмотичного шоку, які ініціюють зниження водного потенціалу клітин, у мохів підвищується вміст проліну (Лобачевська, 2008).

Таблиця 3.4

**Фізіологічні показники водного режиму рослин *V. argenteum* із фонові території (околиця м. Борислав) і нафтозабрудненої території у м. Борислав ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Місце збору рослин <i>V. argenteum</i>	Водний потенціал, МПа	Вміст розчинних вуглеводів, мкг/г с.м.	Вміст вільного проліну, мкмоль/г с.м.
Фонова територія (околиця м. Борислав)	$-1,60 \pm 0,03$	$234,2 \pm 24,4$	$0,78 \pm 0,04$
м. Борислав, платформа свердловини	$-1,98 \pm 0,08^*$	$353,6 \pm 41,2^*$	$1,91 \pm 0,02^*$

*Примітка:* \* – різниця між зразками з нафтозабрудненої та фонові території статистично достовірна при  $P < 0.05$ .

Оскільки зниження водного потенціалу у клітинах відбувається унаслідок нагромадження осмотично активних речовин, тому було проаналізовано вміст розчинних вуглеводів та вільного проліну у пагонах *V. argenteum*. Результати наших досліджень засвідчують, що у рослин, зібраних на платформі нафтової свердловини, кількість цукрів у пагонах майже в 1,5 рази була більшою, порівняно з рослинами з фонові території, що свідчить про важливу роль цих осмопротекторів у клітинах мохів за дії нафтового забруднення (табл. 3.4). Відомо, що розчинні цукри зв'язуються водневими зв'язками з макромолекулами у клітинах мохів, тим самим стабілізуючи їх структуру в стресових умовах (Hoekstra et al., 2001). Для багатьох видів мохів встановлено, що нагромадження цукрів у клітинах чітко корелює зі стійкістю до дефіциту вологи (Phillips et al., 2002; Walters et al., 2002). Наприклад, у гаметофіті стійкого до висушування виду моху *Tortula ruralis* вміст сахарози становив майже 10 % від загальної сухої маси і ця кількість не змінювалася ні в процесі висушування рослини, ні під час зволоження (Bewley, 1979).

Ми виявили суттєве зростання вмісту вільного проліну (майже у 2,5 рази) у зразках *V. argenteum*, зібраних на платформі нафтової свердловини, порівняно з рослинами з околиці м. Борислав (табл. 3.4). Аналогічні результати отримані у дослідях з рослинами *Faba bona* за умов нафтозабрудненого ґрунту (Korovetska et al., 2009). Відомо, що окрім прямого стабілізуючого впливу на макромолекули в умовах дефіциту

вологи, пролін може здійснювати також опосередкований захисний ефект, проявляючи антиоксидантні властивості (Долгова, Самойлова, 2009). Тому значне підвищення вмісту проліну у зразках *B. argenteum* з нафтозабрудненої території може бути пов'язане як з водним дефіцитом, так і наростанням окиснювального стресу, який індукується у рослинах в умовах нафтового забруднення (Джура, 2007; Карпин та ін., 2009).

### **3.4. МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ АДАПТИВНІ РЕАКЦІЇ *BRYUM ARGENTEUM* ТА *BRACHYTHECIUM SALEBROSUM* НА ТЕРИТОРІЯХ ВИДОБУТКУ СІРКИ ЗА НЕСТАЧІ ВОЛОГИ**

Одним з шляхів вивчення стратегії виживання рослин в несприятливих умовах є вивчення морфологічних реакцій на стрес. Мохоподібні завдяки особливостям їхньої морфологічної будови здатні пристосовуватися до несприятливих умов зовнішнього середовища з характерними лише для них життєвими формами. Мохи завдяки унікальній фізіології і морфології виробили ефективну систему регуляції вмісту води: пристосування до можливих втрат вологи (загини і скручування листків), здатність до швидкої регідратації. Водний режим мохів тісно зв'язаний з їх розмірами і життєвою формою (Proctor, 1982).

У зв'язку з цим проведено дослідження впливу водного дефіциту на формування дернин і активність ферментів антиоксидантного захисту двох видів мохів з різними життєвими формами – *Bryum argenteum* (дернина) та *Brachythecium salebrosum* (плетиво) на техногенно порушених субстратах Язівського сірчаного родовища.

*Bryum argenteum* за життєвою стратегією поселенець, що легко пристосовується до існування в умовах недостатнього зволоження та живлення. Мох заселяє різноманітні субстрати, у тому числі й антропогенного походження, які мало придатні для життя інших рослин. На території відвалу сірчаного видобутку *Bryum argenteum* трапляється на відкритих сухих ділянках, схильний до висихання та швидкого відновлення життєдіяльності у період регідратації. *Brachythecium salebrosum* – життєва стратегія багаторічний стаер – конкурентний, який поширений на ділянках із відносно стабільним зволоженням та помірним освітленням.

Збереження вологи у моховому покриві залежить від кількості води в капілярах між пагонами у дернині, яка характеризується певною структурою та щільністю. Для мохів *Bryum argenteum* і *Brachythecium salebrosum* встановлено збільшення кількості пагонів на одиницю площі на вершині, порівняно з основою (табл. 3.5).



**Залежність морфометричних параметрів мохів *Bryum argenteum* і *Brachythecium salebrosum* від умов місцевиростань (вершина та основа північної експозиції) на території відвалу видобутку сірки**

Місце-виростання	Висота пагонів, см	Розміри листків, мм		Розміри клітин листка, мкм		Густота пагонів, паг/см <sup>2</sup>
		Довжина	Ширина	Довжина	Ширина	
<b><i>Bryum argenteum</i></b>						
Вершина	0,65±0,06*	0,64±0,05**	0,38±0,04	46,7±4,2	11,8±1,2*	79,6±7,3**
Основа	0,84±0,07	0,78±0,06	0,55±0,04	59,3±5,6	15,2±1,6*	51,2±6,1**
<b><i>Brachythecium salebrosum</i></b>						
Вершина	1,82±0,17*	1,73±0,18**	0,83±0,07	62,5±6,5	8,2±0,9*	48,6±4,1**
Основа	2,36±0,19	2,08±0,21**	0,83±0,07	74,2±7,8	9,4±1,0*	35,5±3,2**

*Примітка.* \* – статистично достовірна різниця між зразками при  $P < 0.05$ ; \*\* – статистично достовірна різниця між зразками при  $P < 0.01$ .

*Bryum argenteum* на вершині південного схилу в умовах дефіциту вологи утворював дернини з великою густотою пагонів (79,6±7,3 пагонів/см<sup>2</sup>), порівняно з основою (53,2±6,1 пагонів/см<sup>2</sup>). Для *Brachythecium salebrosum* густота пагонів була менше мінливою (на вершині становила 48,6±4,1 пагонів/см<sup>2</sup>, а в основі – 35,5±3,2 пагонів/см<sup>2</sup>). Мінливість показника густоти дернин у *Bryum argenteum* свідчить про значні екологічні можливості цього виду в освоєнні різних за рівнем зволоження місцевиростань.

На вершині відвалу в обох досліджуваних видів відмічено суттєве сповільнення росту пагонів. Встановлено зменшення довжини пагонів *Bryum argenteum* на вершині відвалу, порівняно з основою, з 0,84±0,07 см до 0,65±0,06 см, а *Brachythecium salebrosum* – з 2,36±0,19 см до 1,82±0,17 см, що спричинено несприятливими мікрокліматичними умовами на вершині відвалу. В обох видів мохів в умовах водного дефіциту зменшувалися розміри листкової пластинки: для *Bryum argenteum* довжина і ширина листкової пластинки на вершині південного схилу становила 0,64±0,05 мм і 0,38±0,04 мм, а в основі – 0,78±0,06 мм і 0,55±0,04 мм відповідно.

Для *Brachythecium salebrosum* розміри листкової пластинки на вершині південного схилу відвалу були меншими в 1,2 рази, порівняно з основою. Змінювалися і розміри клітин листка: довжина і ширина клітин листкової пластинки для *Bryum argenteum* на вершині південного схилу

становила  $46,7 \pm 4,2$  мкм та  $11,8 \pm 1,2$  мкм, відповідно, порівняно з основою ( $59,3 \pm 5,6$  мкм та  $15,2 \pm 1,6$  мкм). Для *Brachythecium salebrosum* ці відмінності були менше вираженими, очевидно, через сприятливіші умови локалітетів рослин цього виду. Для *Brachythecium salebrosum* довжина і ширина клітин листкової пластинки становили:  $62,5 \pm 6,5$  мкм і  $8,2 \pm 0,9$  мкм на вершині південного схилу і  $74,2 \pm 7,8$  мкм і  $9,4 \pm 1,0$  мкм – в основі (табл. 3.5).

На основі отриманих результатів можна зробити висновок, що в несприятливих мікрокліматичних умовах на вершині відвалу видобутку сірки дернини *Bryum argenteum* та *Brachythecium salebrosum* формували щільніші дернини, що зменшувало випаровування вологи в умовах водного дефіциту. Із літературних джерел відомо (Гончарова, 2005), що стійкість та стабільне функціонування дернин сфагнових мохів визначається густотою та довжиною пагонів та розмірами листків.

Таким чином, за несприятливого водного і температурного режимів дернини мохів *Bryum argenteum* та *Brachythecium salebrosum* набували ознак ксероморфності (зменшення висоти пагонів, розмірів листкової пластинки й клітин листка та збільшення щільності дернин), що є проявом адаптації мохів до дефіциту вологи.

Процес адаптації рослин до стресових умов існування включає, крім морфологічних змін, активну участь компонентів ферментативної системи захисту, які відіграють важливу роль у захисних реакціях рослин. Важлива роль в адаптивних реакціях рослин належить пероксидазі, супероксиддисмутазі (СОД) та каталазі, які є складовими антиоксидантної системи (АОС), активність якої визначає рівень стійкості рослин до несприятливих факторів зовнішнього середовища (Turetsky, 2003; Jiroutova, Kovalikova, Toman et al., 2021).

Одним із центральних ферментів у дослідженні механізмів адаптації є пероксидаза, яка належить до надзвичайно лабільних і поліфункціональних “стресових” ферментів антиоксидантного захисту. Цей фермент здатний знешкоджувати токсичні перекисні сполуки, які утворюються в клітині під впливом несприятливих умов (Scandalios, 2005).

Установлено залежність активності пероксидази *Bryum argenteum* і *Brachythecium salebrosum* із різних місцевиростань північної експозиції відвалу видобутку сірки від вологості, інтенсивності освітлення та температури. Особливо вирізняється активність пероксидази досліджуваних видів мохів у літній період за високої температури  $35,0$ – $37,5^\circ\text{C}$  та інтенсивності освітлення 110 тис. лк на північній вершині відвалу, порівняно з основою.

Влітку для *Bryum argenteum* на північній вершині відвалу в умовах дефіциту вологи активність пероксидази становила  $18,8 \pm 1,9$  відн. од./г с.

м., а в основі лише  $12,9 \pm 1,2$  відн. од./г с. м., тобто була майже в 1,61 разів вищою. Для *Brachythecium salebrosum* цей показник влітку на північній вершині становив  $14,6 \pm 1,3$  відн. од./г с. м., а восени –  $10,9 \pm 0,9$  відн. од./г с. м., тобто переважав у 1,34 рази (рис. 3.9).

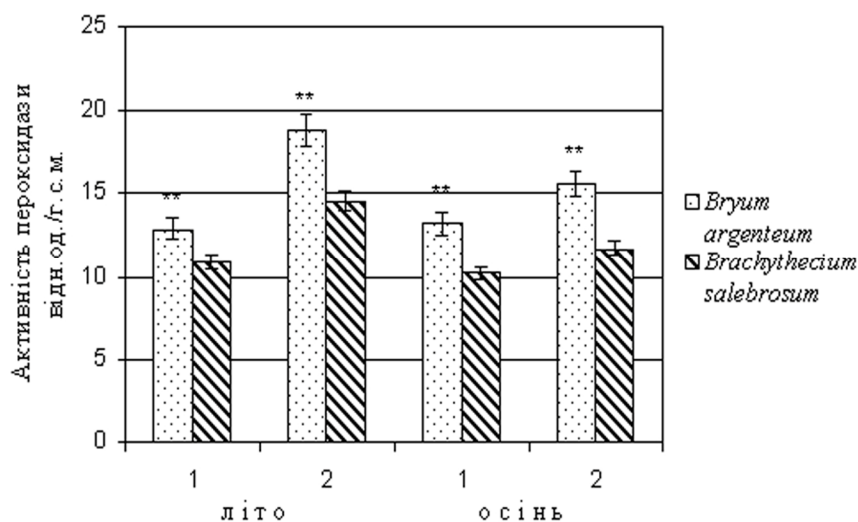


Рис. 3.9. Активність пероксидази (відн. од./г сухої маси) в пагонах мохів *Bryum argenteum* і *Brachythecium salebrosum* із різних трансект північної експозиції відвалу видобутку сірки: 1 – основа, 2 – вершина ( $M \pm m$ ;  $n = 4$ ).

Примітка. \*\* – статистично достовірна різниця між зразками при  $P < 0.01$ .

Підвищення активності пероксидази в пагонах досліджуваних мохів можна розглядати як адаптивну реакцію, що дозволяє рослинам влітку витримувати дію стресових чинників зовнішнього середовища, зокрема, дефіциту вологи, високої інсоляції та гіпертермії. Виявлені особливості активації пероксидази мохів за дії несприятливих мікрокліматичних умов свідчать про різні рівні антиоксидантного захисту та здатність рослинних організмів ефективно знешкоджувати АФК.

Таким чином, встановлено, що активність пероксидази залежить від видових особливостей досліджуваних мохів, зокрема життєвої форми. Так, у *Bryum argenteum* (щільна дернина), показники активності пероксидази за дії екстремальних факторів були значно вищими, ніж у *Brachythecium salebrosum* (плетиво). Восени, коли температурний та інсоляційний рівні знижувалися, активність пероксидази мохів з усіх місцевиростань зменшувалася, хоча найвищі значення активності ферменту у зразках з вершини відвалу зберігалися.

СОД є ключовим ферментом, задіяним в процесі детоксикації АФК, що каталізує перетворення супероксиду на пероксид водню і молекулярний кисень. СОД розглядається не лише як антиоксидантний фермент, а й як компонент сигнальних систем. Сигнали, що формуються

за участю АФК, призводять до посилення експресії генів й активації стрес-протекторних систем. Є літературні дані (Карпец и др., 2016; Demidchik, 2014; Kimura et al, 2014) щодо функцій СОД не лише в антиоксидантному захисті клітин, а й у трансдукції сигналу дії високих температур в геном шляхом перетворення супероксиданіон-радикала на сигнальну молекулу  $H_2O_2$ . СОД є внутрішньоклітинним ферментом, який бере участь у реакціях дисмутації супероксидного аніон радикала (Зинь, 2012; Колупаєв, Обозний, 2013; Khan, Khan, 2017; Khan et al, 2017). Сигналінг з участю АФК необхідний для подальшого формування адаптивних реакцій, які зумовлюють підвищення теплостійкості рослин (Колупаєв, Обозний, 2012; Cavalcanti et al., 2004; Zhang et al, 2017; Khorobrykh, 2019).

Проаналізовано активність СОД у пагонах досліджуваних видів мохів з різних місцевиростань відвалу № 1 видобутку сірки у літній та осінній періоди. З'ясовано, що активність СОД мохів істотно залежить від вологості, інтенсивності освітлення та температури. Особливо вирізняється активність СОД у літній період за високої температури та інтенсивності освітлення. Активність СОД може змінюватись по-різному, залежно від тривалості й інтенсивності дії стресового чинника та стійкості рослинного організму, а також від стадії розвитку тощо (Бараненко, 2006).

Встановлено залежність активності СОД від ступеня зволоження дернин мохів. Так, улітку за умов недостатнього зволоження дернин (вологість дернин *Bryum argenteum* становила 16%, а *Brachythecium salebrosum* – 29%) активність СОД була найвищою на північній вершині та становила для *Bryum argenteum*  $9,6 \pm 0,8$  відн. од./хв мг/білка, а для *Brachythecium salebrosum* –  $6,4 \pm 0,5$  відн. од./хв мг/білка (рис. 3.10).

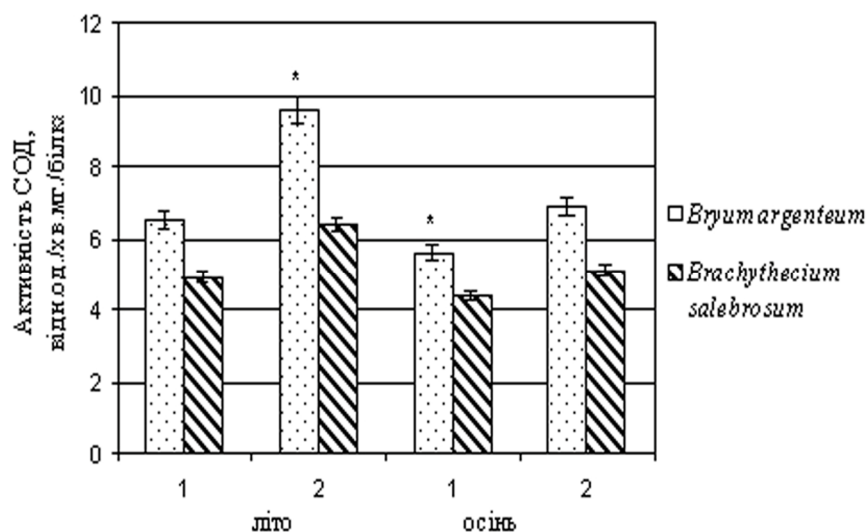


Рис. 3.10. Активність СОД (відн. од./хв.мг.білка) в пагонах мохів *Bryum argenteum* і *Brachythecium salebrosum* із різних трансект північної

експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: 1 – основа та 2 – вершина ( $M \pm m$ ;  $n = 4$ )

Примітка.\* – статистично достовірна різниця між зразками при  $P < 0.05$ .

Восени за низьких температур вологість дернин мохів була вищою та для *Bryum argenteum* становила  $34,4 \pm 3,9\%$ , а *Brachythecium salebrosum* –  $38 \pm 4,1\%$ , що супроводжувалось зменшенням активності фермента. Так, зокрема, активність СОД для *Bryum argenteum* знижувалась в 1,48 разів, а для *Brachythecium salebrosum* – в 1,30 рази. Зростання активності фермента відзначено в умовах водного дефіциту, сольовому й тепловому стресах (Ісаєнков, 2012; Jiroutova et al. 2021).

Каталаза – один із найактивніших ензимів антиоксидантної системи, що забезпечує розщеплення пероксиду водню, який утворюється в пероксисомах під час фотодихання. Специфікою каталази є її локалізація в пероксисомах і участь в процесах катаболізму, які активуються в процесі деструкції клітини. Захисна роль каталази добре відома за надмірного освітлення і водного дефіциту. Цей фермент бере участь у підтриманні окисно-відновного балансу в клітинах за дії окисного стресу та сприяє адаптації організму до стрес-факторів (Leung, 2018; Wang et al., 2019). У літній період за несприятливих мікрокліматичних умов відзначено найвищі показники активності каталази: для *Bryum argenteum* –  $14,4 \pm 1,3$  мкМ  $H_2O_2$ /мг білка хв, а для *Brachythecium salebrosum* –  $8,5 \pm 0,7$  мкМ  $H_2O_2$ /мг білка хв. Восени у *Bryum argenteum* каталазна активність знижувалась в 1,46 рази, а у *Brachythecium salebrosum* в 1,31 рази (рис. 3.11).

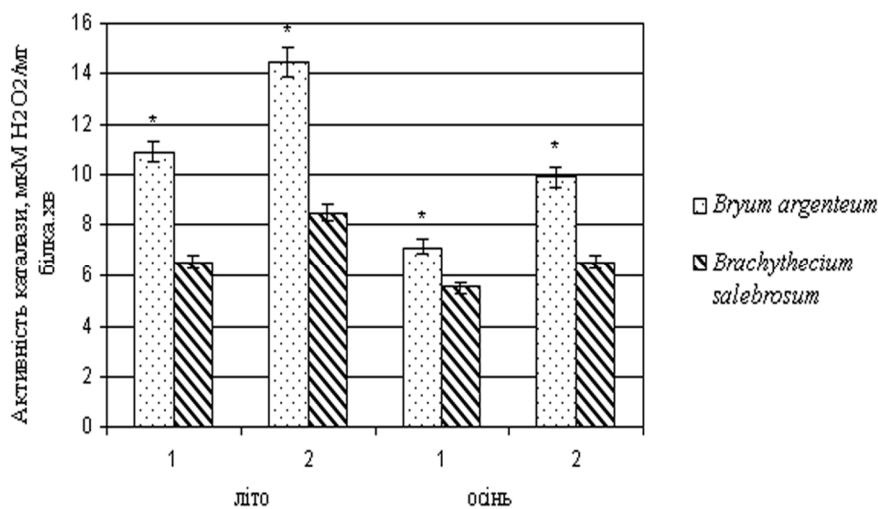


Рис. 3.11. Активність каталази (мкМ  $H_2O_2$ /мг білка хв) в пагонах мохів *Bryum argenteum* і *Brachythecium salebrosum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: 1 – основа та 2 – вершина ( $M \pm m$ ;  $n = 4$ )

Примітка.\* – статистично достовірна різниця між зразками при  $P < 0.05$ .

Ці результати узгоджуються з даними багатьох дослідників, у працях яких вказується, що активність антиоксидантних ферментів, у тому числі каталази, збільшується за дії стресорів: посухи, гербіцидів, температури, засолення тощо (Буздуга та ін., 2020; Buzduga et al., 2018; Tyagi et al., 2020; Zulfiqar, Ashraf, 2021). Таким чином, показано, що морфологічна структура дернин мохів *Bryum argenteum* і *Brachythecium salebrosum* на посттехногенних територіях видобутку сірки залежить від мікрокліматичних умов місцевиростання та форми росту виду.

Установлено залежність активності антиоксидантних ферментів досліджуваних мохів від інтенсивності освітлення, температури та вологості на трансектах відвалу № 1. У літний період за екстремальних умов відзначено найвищі показники активності пероксидази, СОД та каталази. Показано, що активність ензимів залежить від видових особливостей мохів. Отримані результати свідчать про те, що екстремальні умови антропогенно трансформованого середовища сприяють розвиткові форм з найвищими адаптаційними можливостями.

### **3.5. ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ДЕФІЦИТУ ВОЛОГИ ВЕГЕТАТИВНИХ ТА ГЕНЕРАТИВНИХ КЛОНІВ МОХІВ ІЗ ФОНОВИХ І ПОРУШЕНИХ ТЕРИТОРІЙ**

Мохоподібні утворюють нові рослини трьома способами: проростанням спор, виводкових тілець і регенерацією частин батьківських рослин. Експериментально досліджено толерантність до дефіциту вологи вегетативних і генеративних клонів мохів з різними життєвими стратегіями: *Bryum argenteum* і *Funaria hygrometrica* із фонових і антропогенно трансформованих територій до дефіциту вологи.

Результати аналізу впливу водного дефіциту на проростання спор мохів, регенераційну здатність виводкових бруньок *B. argenteum* та фрагментів пагонів *F. hygrometrica*, зібраних із різних місцевиростань на девастованих територіях видобутку вугілля, у м. Львові та його околицях, засвідчили, що з підвищенням концентрації ПЕГ у середовищі пригнічувалась регенераційна здатність мохів, знижувався відсоток проростання спор, сповільнювалася диференціація протонемі і швидкість розвитку гаметофорів, зменшувалася величина клітин, кількість і розміри листків. Очевидно, у клітинах мохів під впливом підвищених концентрацій ПЕГ відбувалися значні зміни водного балансу, що призвело до появи ознак ксероморфності. Змінювалася також форма дернини, оскільки бруньки гаметофорів закладалися на протонемі рідко.

Так, за вмісту 1–3 % ПЕГ у середовищах відзначено високий рівень проростання спор і виводкових бруньок у *B. argenteum* з усіх

досліджуваних місцевиростань, тоді як під впливом 4 % ПЕГ кількість пророслих спор моху зі Львова знижувалася в 2,1 рази, виводкових бруньок – у 1,4 рази, а з техногенно порушених місцевиростань – у 1,7 і 1,2 рази відповідно, порівняно з контролем (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Регенеративна здатність спор і виводкових бруньок *Bryum argenteum* з різних місцевиростань залежно від концентрації ПЕГ у середовищі**

Концентрація ПЕГ у середовищі, %	Зразки моху з м. Львова		Зразки моху з відвалу шахти “Надія” ЧГПР	
	Кількість пророслих спор, %	К-сть виводкових бруньок, що прорегенерували, %	Кількість пророслих спор, %	К-сть виводкових бруньок, що прорегенерували, %
0 (Контроль)	95,7 ± 1,2	95,0 ± 0,4	90,6 ± 1,9	92,0 ± 1,1
1% ПЕГ	93,4 ± 0,2	95,1 ± 1,1	84,4 ± 1,9	89,5 ± 2,1
2% ПЕГ	87,8 ± 2,1	90,3 ± 1,8	80,9 ± 2,2	81,3 ± 1,6
3% ПЕГ	80,0 ± 2,0	86,1 ± 1,6	72,6 ± 1,1	79,6 ± 0,4
4% ПЕГ	45,7 ± 0,1	67,9 ± 3,1	53,39 ± 1,1	76,7 ± 0,2
5% ПЕГ	20,1 ± 0,1	25,1 ± 0,10	30,3 ± 1,7	33,1 ± 0,2

Концентрація 5 % ПЕГ у поживному середовищі виявилася сублетальною для моху, кількість пророслих спор і виводкових бруньок у моху зі Львова знижувалася до 20–25 %, а з території видобутку вугілля – 30–33 %. Окрім того, вирощування регенерантів *B. argenteum* з території Червоноградського гірничопромислового району (ЧГПР) на нижчих концентраціях ПЕГ (1–2 %) підвищувало їх стійкість до наступного впливу вищих концентрацій ПЕГ (3–4 %) з подальшим розвитком протонемі, формуванням бруньок та пагонів.

Установлено, що спори *F. hygrometrica* в умовах водного дефіциту проростали й розвивалися із запізненням та морфологічними змінами клітин та протонемної дернини. Так, нижчі концентрації ПЕГ (1–2 %) незначно впливали на проростання спор і регенерацію фрагментів пагонів моху з фонових та антропогенно трансформованих територій (табл. 3.7). Толерантність гаметофорів моху *F. hygrometrica*, яким у природі не властиві виводкові органи, за умов помірного водного дефіциту реалізувалася завдяки щільному закладанню бруньок гаметофорів на протонемі. Під впливом вищих концентрацій ПЕГ (4 %) проростання спор моху знижувалося до 20–30 %. При цьому апікальні клітини були часто плазмолізовані, гаметофори утворювалися із запізненням і були дрібні, зона росту в апексі переважно відмирала. Діаметр дернин був у 2,3 рази менший, ніж у контролі. Зі зростанням водного дефіциту спостерігалася

зниження регенераційної здатності фрагментів пагонів *F. hygrometrica*. Найтоксичнішою виявилася концентрація ПЕГ 5 %, яка спричиняла загибель регенерантів на стадії протонемі. Пересаджування регенерантів моху із середовищ з нижчим вмістом ПЕГ на середовища з вищими концентраціями не сприяло підвищенню стійкості моху в умовах водного стресу.

Таблиця 3.7

**Регенеративна здатність спор і листків *Funaria hygrometrica* з різних місцезростань залежно від концентрації ПЕГ у середовищі**

Концентрація ПЕГ у середовищі, %	Зразки моху з м. Львова		Зразки моху з відвалу шахти "Надія" ЧГПР	
	Кількість пророслих спор, %	К-сть листків, що прорегенерували, %	Кількість пророслих спор, %	К-сть листків, що прорегенерували, %
0 (Контроль)	97,7 ± 1,1	87,4 ± 1,2	95,6 ± 2,4	80,0 ± 1,4
1% ПЕГ	91,6 ± 1,2	80,3 ± 2,2	91,7 ± 1,1	71,5 ± 2,1
2% ПЕГ	61,2 ± 2,4	69,7 ± 1,1	60,7 ± 1,2	55,7 ± 1,1
3% ПЕГ	40,7 ± 1,4	22,6 ± 1,3	47,7 ± 1,1	13,5 ± 1,3
4% ПЕГ	20,2 ± 2,2	9,1 ± 1,2	25,2 ± 0,7	6,4 ± 1,1
5% ПЕГ	10,3 ± 1,1	4,3 ± 1,1	11,3 ± 2,1	0

Толерантність *B. argenteum* до дії водного дефіциту була вищою, ніж *F. hygrometrica*, що, очевидно, зумовлено їх різними життєвими стратегіями. Так, *F. hygrometrica* належить до життєвої стратегії видів-біженців, які швидко заселяють субстрат розсіяними дернинами, живуть недовго і продукують багато спор у перший рік, тоді як *B. argenteum* – поселенець, який заселяє техногенні субстрати суцільною протонемою, займає місцевиростання надовго (Daring, 1992). *F. hygrometrica*, яка росте переважно у вологих і затінених місцевиростаннях, є чутливішою до зневоднення, тоді як *B. argenteum* – мох відкритих сухих оселищ, який здатний виживати і відновлюватися після тривалого пересихання. Мохи-поселенці завдяки успішному вегетативному розмноженню з коротким циклом розвитку краще адаптуються в умовах водного дефіциту на посттехногенних територіях, а мохи-біженці унаслідок високої репродуктивної здатності, успішно відтворюються за допомогою стійких спор в умовах помірного водного дефіциту.

Отже, толерантність вегетативних і генеративних клонів мохів *B. argenteum* і *F. hygrometrica* до дефіциту вологи залежить від віку рослин, концентрації ПЕГ та тривалості його дії, а також життєвої стратегії виду та його місцевиростання на фонових і антропогенно трансформованих територіях.

Досліджували толерантність до водного дефіциту вегетативних і генеративних клонів *Bryum argenteum* та *Barbula unguiculata*, зібраних на



відвалі № 1 Язівського сірчаного родовища. *B. argenteum* і *B. unguiculata* заселяють різноманітні субстрати антропогенного походження. Обидва види є піонерами заростання техногенних субстратів девастованих територій, *B. unguiculata* має низьку конкурентну здатність (Рабик та ін, 2010).

Встановлено, що залежно від експозиції і положення на відвалі навіть на низьких (1 і 2 %) концентраціях ПЕГ дернини вегетативних клонів *B. argenteum* відрізнялися за розмірами та кількістю пагонів. Вегетативні клони *B. argenteum* з вершини південного схилу відвалу з екстремальними умовами для росту рослин, були стійкішими до водного дефіциту, ніж з вологіших місцевиростань північного схилу. Так, діаметр дернин *B. argenteum*, отриманих регенерацією виводкових бруньок з вершини південного схилу відвалу, був більшим на середовищі з 2 % ПЕГ у 1,5 разів, порівняно з дернинами з північного схилу, і становив  $2,5 \pm 0,2$  мм. Характерно, що дернини *B. argenteum* на усіх досліджуваних концентраціях ПЕГ вже на 2-3 день утворювали гаметофори, причому з сухіших місцевиростань південного схилу їх кількість була більшою на середовищі з 2 % ПЕГ в 1,6 разів і становила  $12,2 \pm 1,13$  пагонів на дернину. Дернини з м. Львова були чутливішими до дефіциту вологи і їх діаметр на середовищі з ПЕГ був меншим в 1,3 рази, а кількість гаметофорів на дернику в 1,5 разів меншою, ніж дернин з відвалу (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

**Регенеративна здатність виводкових бруньок *B. argenteum* з різних місцевиростань на середовищі з ПЕГ**

Місце-виростання	Діаметр дернин (мм)		Кількість гаметофорів на дернину	
	контроль	2% ПЕГ	контроль	2% ПЕГ
Півд. схил відвалу	$3,2 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,2$	$8,9 \pm 0,9$	$12,2 \pm 1,2$
Півн. схил відвалу	$2,9 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,2$	$5,6 \pm 0,7$	$7,6 \pm 0,7$
Львів	$2,2 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,6$	$3,9 \pm 0,4$

Вегетативні клони *B. unguiculata* з різних місцевиростань на відвалі і з м. Львова проявляли різну чутливість до водного дефіциту. Рослини з відвалу характеризувались вищою швидкістю росту регенерантів і утворювали більше гаметофорів на середовищі з ПЕГ, ніж зразки зі Львова. Найстійкішими були дернини з вершини південного схилу відвалу, які на середовищі з 2 % ПЕГ мали найбільший діаметр ( $5,63 \pm 0,51$  мм) і найбільшу кількість гаметофорів на дернину ( $15,5 \pm 1,3$ ), порівняно із

зразками з вологіших місцевиростань північного схилу (діаметр дернини  $4,46 \pm 0,42$  мм, кількість гаметофорів  $11,9 \pm 1,8$ ) (табл. 3.9)

Таблиця 3.9

**Регенеративна здатність листків *B. unguiculata* з різних місцевиростань на середовищі з ПЕГ**

Місце-виростання	Діаметр дернин (мм)		Кількість гаметофорів на дернину	
	контроль	2% ПЕГ	контроль	2% ПЕГ
Півд. схил відвалу	$7,8 \pm 0,8$	$5,6 \pm 0,2$	$12,1 \pm 1,1$	$15,5 \pm 1,6$
Півн. схил відвалу	$6,1 \pm 0,7$	$4,5 \pm 0,2$	$8,8 \pm 0,9$	$11,9 \pm 1,2$
Львів	$4,4 \pm 0,5$	$3,9 \pm 0,1$	$6,2 \pm 0,7$	$7,7 \pm 0,8$

Генеративні клони, отримані зі спор *B. argenteum*, були чутливішими до водного дефіциту, ніж вегетативні. Навіть на низьких концентраціях ПЕГ ріст і розвиток протонеми сповільнювався. Спори *B. argenteum* на середовищі з ПЕГ проростали пізніше (на 5-7 день), ніж регенерували виводкові бруньки, і спорові дернини були чутливішими до нестачі вологи, ніж регенеративні. Тоді як на середовищі з 1 % ПЕГ проросли 87 % спор, то на середовищі з 4 % ПЕГ проростання спор зменшувалось до 47 %. Так, діаметр дернин *B. argenteum* на середовищі з 1 % ПЕГ був у 2 рази меншим, порівняно з контролем, а на середовищі з 4 % ПЕГ ріст дернин гальмувався, діаметр був у 3,4 рази меншим, порівняно з контролем (табл. 3.10). Протонемні клітини дернин на середовищі з ПЕГ були вкорочені і з потовщеними стінками.

Таблиця 3.10

**Вплив ПЕГ на проростання спор *B. argenteum* з різних місцевиростань відвалу видобутку сірки**

Місце-виростання	Кількість пророслих спор, %			Діаметр дернин (мкм)		
	контроль	1% ПЕГ	4% ПЕГ	контроль	1% ПЕГ	4% ПЕГ
Півд. схил відвалу	$87,2 \pm 6,2$	$78,7 \pm 5,6$	$47,3 \pm 6,2$	$275,3 \pm 26,9$	$152,6 \pm 13,1$	$89,4 \pm 7,6$
Півн. схил відвалу	$86,3 \pm 5,6$	$73,7 \pm 5,1$	$46,6 \pm 3,7$	$263,4 \pm 22,4$	$143,4 \pm 12,3$	$83,6 \pm 6,9$
Львів	$95,6 \pm 7,4$	$90,5 \pm 7,2$	$39,2 \pm 3,9$	$255,7 \pm 21,6$	$114,5 \pm 12,1$	$74,8 \pm 5,8$

Генеративні клони, отримані зі спор *B. unguiculata* з різних місцевиростань відвалу видобутку сірки та м. Львова, були чутливіші до водного дефіциту, ніж вегетативні. На контрольному середовищі Кнопа і на середовищі з додаванням 1 % ПЕГ виявлено 70–90% проростання спор, однак ріст і розвиток протонеми навіть на низькій концентрації ПЕГ сповільнювався. На середовищі з різними концентраціями ПЕГ спори *B. unguiculata* проростали пізніше (на 4–6-й день), ніж регенерували листочки, і спорові дернини були чутливіші до нестачі вологи, ніж вегетативні. В той час як на середовищі з 1 % ПЕГ проросли 75 % спор *B. unguiculata* з південного схилу відвалу видобутку сірки, то на середовищі з 3 % ПЕГ проростання спор зменшилось до 42 %. Так, діаметр дернин *B. unguiculata* на середовищі з 1 % ПЕГ був в 1,4 рази меншим, в порівнянні з контролем, а на середовищі з 3 % ПЕГ ріст дернин сповільнювався, діаметр був в 2,8 рази меншим, в порівнянні з контролем (табл. 3.11). Протонемні дернини на середовищі з ПЕГ розвивались повільніше і утворювали гаметофори пізніше, ніж в контролі.

Таблиця 3.11

**Проростання спор *B. unguiculata* з різних місцевиростань на середовищі з ПЕГ**

Місце-виростання	Кількість пророслих спор, %			Діаметр дернин (мкм)		
	Контроль	1% ПЕГ	3% ПЕГ	Контроль	1% ПЕГ	3% ПЕГ
Півд. схил відвалу	82,2±8,8	75,7±8,8	42,3±5,4	369,3±38,8	261,6±28,3	128,4±13,7
Півн. схил відвалу	79,8±7,6	71,7±7,6	39,6±4,1	335,4±37,7	215,4±22,6	112,6±11,6
Львів	89,6±9,7	85,5±9,2	31,2±3,8	315,7±34,5	195,5±21,6	95,8±9,7

На основі отриманих результатів можна стверджувати, що вегетативні клони мохів *B. argenteum* і *B. unguiculata* є толерантнішими до водного дефіциту, ніж генеративні, і їх висока регенеративна здатність сприяє пришвидшеному розмноженню виду і заселенню субстратів техногенно порушених територій.

Про важливу роль вегетативного розмноження у життєвій стратегії виду та адаптації бріофітів до екстремальних і нестійких умов середовища вже згадувалось раніше (Лобачевська, 2012г; Лобачевська, Рабик, 2013). Завдяки вегетативному розмноженню, яке має порівняно з статевим скорочений, цикл розвитку, мохи краще адаптуються на девастованих територіях сірчаного родовища.

Таким чином, вегетативне розмноження є важливим для мохів, так як сприяє їх швидшому розповсюдженню на посттехногенних територіях сірчаного родовища, де в стресових умовах, зокрема нестачі вологи

відсутність розмноження спорами може компенсуватися утворенням спеціалізованих виводкових органів.

### **3.6. ОСОБЛИВОСТІ НАКОПИЧЕННЯ БІОГЕННИХ І ТОКСИЧНИХ ХІМІЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ ТА МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ПРИСТОСУВАННЯ МОХІВ ДО ЗМІН ІНТЕНСИВНОСТІ ОСВІТЛЕННЯ, ВОЛОГОСТІ І PH ТЕХНОГЕННОГО СУБСТРАТУ ВІДВАЛУ ФОСФОГІПСУ НОВОРОЗДІЛЬСЬКОГО ДГХП «СІРКА»**

Відновлення девастрованих територій, які утворилися внаслідок діяльності гірничодобувних підприємств, є важливою екологічною проблемою. Заселення породних субстратів мікроорганізмами та піонерною рослинністю сприяє формуванню молодих техногенних ґрунтів (Дідух та ін., 2008). Закономірно, що оптимізація відновних процесів у девастрованих ландшафтах можлива лише за умови детального дослідження впливу екологічних факторів на особливості формування рослинного покриву. Мохоподібні здатні заселяти найрізноманітніші субстрати, в тому числі й техногенні, які не придатні для інших вищих рослин, і тому вони є одними з піонерів заростання девастрованих територій. Відмерлі залишки бріофітів збагачують субстрат, що слугує важливою ланкою первинного ґрунтоформувального процесу, та створюють сприятливі мікрокліматичні умови для експансії судинних рослин (O'Neel, 2000; Batalov, Shavryna, 2004; Ringen, 2006). У зв'язку з необхідністю відновлення значних площ девастрованих земель актуальними є дослідження особливостей розвитку природних бріофітних сукцесій як прояву адаптогенезу до умов техногенно трансформованого середовища.

Проведені нами спостереження на території Роздільського ДГХП «Сірка» засвідчили, що на ділянках відкритого фосфогіпсу практично відсутня рослинність. Основною проблемою заселення техногенних субстратів є їхня токсичність для біоти. Зокрема для фосфогіпсів характерна підвищена кислотність субстрату і висока концентрація хімічних елементів, що істотно лімітує швидкість природного відновлення техногенних субстратів (Гусев, 2005, Яхненко та ін., 2015). У відвалі фосфогіпсу (рис. 3.12), який займає площу близько 17 га, висотою до 20 м у 1970-1990 рр. було накопичено 3,5 млн. т. фосфогіпсу дигідрату – побічного продукту виробництва екстракційної фосфорної кислоти, що вироблялась дигідратним методом з апатитів Кольського півострова.

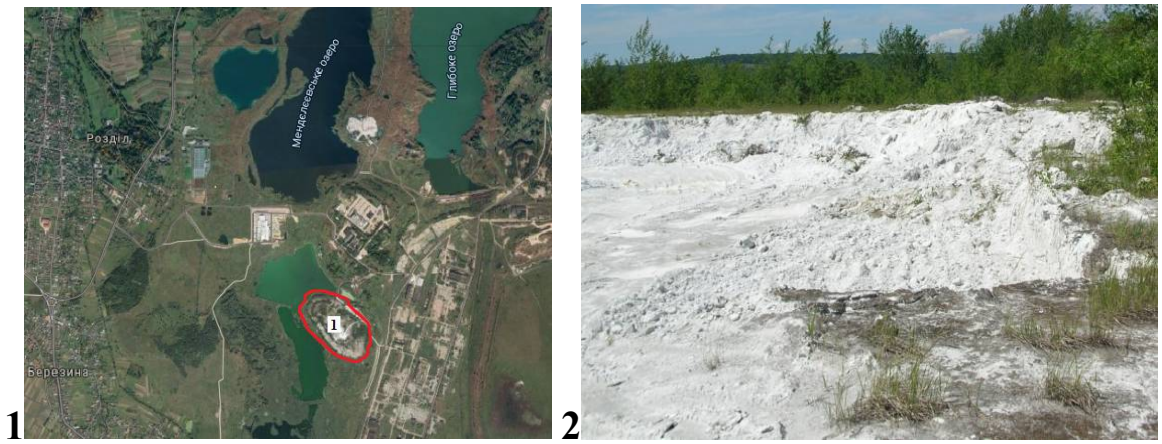


Рис. 3.12. Відвал фосфогіпсу: 1 – розміщення на території Новороздільського ДГХП «Сірка»; 2 – вершина відвалу

Відхід – біло-сірий дрібнокристалічний порошок, за хімічним складом – сульфат кальцію з домішками фосфату, оксиду кремнію, сполук фтору та ін., що містить значну кількість води. При складуванні відвалу його поверхня була присипана розкривними породами для запобігання потрапляння токсичних сполук на прилеглі території. Однак, на сьогодні спостерігається значна кількість ділянок зі зруйнованим покривним шаром ґрунту унаслідок природної ерозії або у результаті відвантаження фосфогіпсів для використання як вторинної сировини.

У результаті природних ґрунотвірних і сукцесійних процесів на поверхні насипів формується потужний шар мохового покриву. Тоді як на схилах відвалів фосфогіпсу засипаних суглинковим субстратом, спостерігається мозаїчність рослинного покриву – від поодиноких особин до заростання однієї третини проективного покриття площі ділянок. Поступово відмираючи, піонерні види бріофітів створюють субстрат для заселення інших мохів та судинних рослин. На рекультивованих терасах і схилах відвалу відбувається інтенсивніше, порівняно з ділянками відкритого фосфогіпсу, заселення субстрату світлолюбними, у першу чергу рудеральними, рослинами. Домінантними видами серед бріофітів за проективним покриттям та частотою трапляння є *Ptychostomum imbricatum* і *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. За життєвою стратегією ці мохи належать до видів-поселенців (During, 1976) з широкою екологічною амплітудою до різноманітних кліматичних і едафічних умов, заселяють субстрати, які іноді зовсім непридатні для життя інших рослин (Рабик та ін., 2008, Мамчур, Савицька, 2006).

Проаналізовано рівень накопичення токсичних речовин у мохах і їх морфо-фізіологічні пристосування залежно від змін інтенсивності освітлення, вологості та рН техногенного субстрату відвалу фосфогіпсу Роздільського ДГХП «Сірка». На підставі результатів мас-спектрометричного аналізу, який проводили в Інституті фізіології рослин і

генетики НАН України, визначено вміст хімічних елементів (Be, B, Na, Mg, Al, P, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Ag, Cd, Cs, Ba, La і лантаноїдів, Tl, Pb) у мохах *P. imbricatulum* і *C. purpureus* і субстраті відвалу фосфогіпсу.

Встановлено високий вміст хімічних елементів у субстраті і дернинах мохів на відвалах фосфогіпсу. Більшість досліджуваних елементів нагромаджувалися рослинами мохів, зокрема *P. imbricatulum*, у субстраті під моховими дернинами їх вміст був переважно нижчим (крім Ca, Cd під дернинами *C. purpureus* і Mg, Ca, Mn, Fe під дернинами *P. imbricatulum*).

Для визначення ступеня сполученості накопичення важких металів у мохах та субстраті були розраховані відповідні коефіцієнти кореляції. За даними кореляційного аналізу негативні величини коефіцієнтів кореляції виявлено для *C. purpureus*: Al ( $r = -0,63$ ), Cs ( $r = -0,53$ ), Rb ( $r = -0,49$ ); для *P. imbricatulum*: B ( $r = -0,49$ ), Ag ( $r = -0,01$ ). В свою чергу, найбільш позитивні кореляційні зв'язки встановлено для *C. purpureus*: La і лантаноїдів ( $r = +0,95$ - $+0,99$ ), Mg ( $r = +0,96$ ), P ( $r = +0,89$ ), Ca ( $r = +0,97$ ), Mn ( $r = +0,91$ ), Fe ( $r = +0,87$ ), As ( $r = +0,95$ ), Se ( $r = +0,99$ ), Pb ( $r = +0,76$ ), Cd ( $r = +0,66$ ); для *P. imbricatulum*: P ( $r = +0,98$ ), Ca ( $r = +0,91$ ), Fe ( $r = +0,88$ ), Co ( $r = +0,85$ ), Cu ( $r = +0,78$ ), Se ( $r = +0,85$ ), As ( $r = +0,99$ ), La і лантаноїдів ( $r = +0,95$ - $+0,99$ ), Cd ( $r = +0,68$ ).

Слід зазначити, що міграція хімічних елементів є однією з основних проблем експлуатації відвалів фосфогіпсу, що зумовлено його підвищеною кислотністю. Заслуговує на увагу той факт, що у місцях з високим вмістом забруднення токсичними металами, спостерігався і високий вміст біогенних елементів B, Na, Mg, P, K, Ca. Зокрема, у наших дослідках простежувалася залежність між вмістом кальцію, кадмію і свинцю в *C. purpureus* і *P. imbricatulum*. Так, вміст Ca, Cd і Pb у субстраті під дернинами *C. purpureus* становив 43748, 3,48 і 5,36 мг/кг, тоді як у дернинах *C. purpureus* – 22506, 1,81 і 31,41 мг/кг (значення цих елементів у субстраті і мохах на фонівій території: субстрат – 1076, 1,5 і 14,38 мг/кг, мох – 6223, 0,71 і 12,25 мг/кг). Відповідно вміст Ca, Cd і Pb у субстраті під мохом *P. imbricatulum* становив 37475, 1,19 і 8,19 мг/кг, тоді як у дернинах моху ці показники були 23323, 1,89 і 12,23 мг/кг. У контролі вміст Ca, Cd і Pb становив: субстрат – 1304, 1,15 і 9,77 мг/кг, мох – 3604, 0,71 і 12,25 мг/кг відповідно. Подібну тенденцію було зафіксовано у *C. purpureus* на шахтних відвалах (Лобачевська та ін., 2012). Імовірно, що за підвищеної кількості біогенних елементів, особливо кальцію, мохоподібні здатні виживати за низьких значень рН субстрату і вмісту у ньому токсичних речовин.

Відмінності у накопиченні біогенних та токсичних хімічних елементів у дернинах мохів і субстраті під ними очевидно пов'язані з

мікрокліматичними умовами місцевиростань. Так, встановлено залежність рівня накопичення важких металів у мохах від рівня вологості дернин і ступеня їх розкладу. Так частка відмерлої речовини мохових дернин обох видів, була більшою, ніж частка живої речовини. Середнє співвідношення між фотосинтезуючою (зеленою) та відмерлою (бурою) частинами у дернинах мохів *P. imbricatulum* і *C. purpureus* становило 1:2,5 і 1:2,9 відповідно (рис. 3.13).

Найвищий ступінь розкладу дернин було виявлено у зразках мохів, які росли на ділянках відкритого фосфогіпсу в підніжжі відвалу (вологість 27,39 %, інтенсивність освітлення 80,5 тис. лк, температура субстрату +12<sup>0</sup>С, рН 4,67). У рослин з дослідних ділянок вершини відвалу фосфогіпсу (вологість 15,93 %, інтенсивність освітлення 90,5 тис. лк, температура субстрату +14<sup>0</sup>С, рН 5,87) вміст відмерлої частини дернин був найнижчим. У верхніх шарах мохових дернин середнє значення рН становило 6,56, тоді як у прошарку відмерлої речовини під дернинами – рН 6,70. Отже, мохи *P. imbricatulum* і *C. purpureus* сприяють зменшенню кислотності субстрату на території відвалу фосфогіпсу внаслідок інтенсивного розкладу відмерлих частин їх дернин, окрім того волога разом із асимілятами мохів проникає у глибші шари субстрату, збільшуючи його рН.

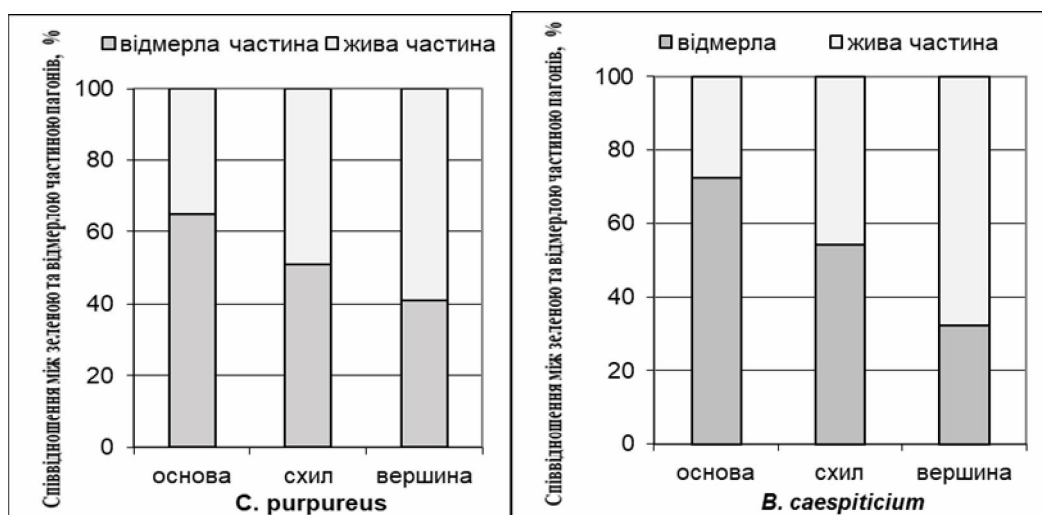


Рис. 3.13. Співвідношення між живою (зеленою) та відмерлою (бурою) частиною пагонів мохів залежно від місцевиростання на схилі відвалу фосфогіпсу Новороздільського ДГХП “Сірка”

Відомо, що несприятливі умови техногенно зміненого середовища зумовлюють морфо-фізіологічні зміни у рослин. Так, у рослин обох видів мохів на території відвалу фосфогіпсу встановлено зменшення висоти пагонів і довжини листків у 1,20 і 1,30 рази, порівняно з рослинами із фонової території (табл. 3.12).

**Морфометричні параметри мохів *Ptychostomum imbricatum* і *Ceratodon purpureus* залежно від місцевиростання на схилі відвалу фосфогіпсу**

Місцевиростання	Висота пагонів, см	Розміри листків, мм		Д/Ш
		Довжина (Д)	Ширина (Ш)	
<b><i>Ptychostomum imbricatum</i></b>				
Вершина	0,89±0,02	1,49±0,17	0,88±0,02	1,69
Схил	1,02±0,04	1,63±0,12	0,80±0,05	2,04
Основа	1,43±0,01	1,90±0,20	0,76±0,04	2,50
<b><i>Ceratodon purpureus</i></b>				
Вершина	0,66±0,01	0,71±0,01	0,29±0,02	2,44
Схил	0,75±0,02	1,01±0,02	0,41±0,02	2,46
Основа	0,97±0,01	1,13±0,02	0,39±0,01	2,89

Пігментна система рослин є чутливою до змін мікрокліматичних умов техногенних субстратів та вмісту у них токсичних речовин, а кількісні й якісні зміни пігментів вважають інформативними біоіндикаційними показниками рівня забруднення територій (Бессонова, 1999). Установлено, що у рослин *C. purpureus* і *P. imbricatum* із фонових територій показники співвідношення  $\text{хл а/хл в}$  становили 2,12 і 1,97, тоді як у рослин з відвалу фосфогіпсу вони знижувалися до 1,43 і 1,59 відповідно. Вміст каротиноїдів у пагонах мохів зростав майже в 1,12 і 1,20 рази, порівняно з контролем.

Проаналізовано інтенсивність фотосинтезу *C. purpureus* і *P. imbricatum* залежно від рівня оводненості їх дернин на території відвалу фосфогіпсу Новороздільського ДГХП “Сірка”. Визначено, що у *C. purpureus* середнє значення інтенсивності фотосинтезу становило  $2,47 \pm 0,4 \text{ мг} \cdot \text{CO}_2/\text{г маси с.р./год}$ , тоді як у *P. imbricatum* –  $3,12 \pm 0,2 \text{ мг} \text{ CO}_2/\text{г маси с.р./год}$ , що було у 1,3 і 1,5 рази нижчими, ніж у рослин із фонові території. Встановлено діапазон мінливості показників асиміляції вуглекислого газу досліджуваних мохів – 1,74-3,56  $\text{мг} \cdot \text{CO}_2/\text{г маси с.р. /год}$ , що, очевидно, зумовлено мікрокліматичними та едафічними умовами техногенних субстратів (табл. 3.13).

Для мохів як пойкилогідрічних рослин лімітаційним чинником фотосинтетичних процесів є вологість. Так, інтенсивність фотосинтезу мохів на зволоженіших ділянках субстрату (вологість 29 %, інтенсивність освітлення 70 тис. лк, температура субстрату +27°C) була вищою, порівняно зі зразками сухих відкритих ділянок (вологість 15,8 %, інтенсивність освітлення 90 тис. лк, температура субстрату +29°C).



Оводненість пагонів *C. purpureus* і *P. imbricatulum* мохів на вологіших ділянках становила 41,2 % та 47,3 %, тоді як на сухіших – 24,12 та 36,01 % відповідно. Ймовірно, вища інтенсивність освітлення призводила до порушення водного й температурного режиму рослин, а відтак і до зниження їхньої фотосинтетичної активності. Встановлено пряму залежність інтенсивності фотосинтезу мохів на території відвалу фосфогіпсу від рівня оводненості їх дернин.

Таблиця 3.13

**Вміст фотосинтетичних пігментів (мг/г маси сухої речовини) та інтенсивність фотосинтезу (мг CO<sub>2</sub>/г маси с.р. /год) у пагонах мохів *Ptychostomum imbricatulum* і *Ceratodon purpureus* залежно від місцевиростання на схилі відвалу фосфогіпсу**

Місцевиростання	Хлорофіл <i>a</i>	Хлорофіл <i>b</i>	Хл. <i>a+b</i>	Каротиноїди	Інтенсивність фотосинтезу
<b><i>Ptychostomum imbricatulum</i></b>					
Вершина	0,66±0,03	0,50±0,01	1,16±0,04	0,36±0,03	2,29±0,11
Схил	0,89±0,04	0,57±0,02	1,46±0,06	0,45±0,01	3,56±0,18
Основа	0,96±0,02	0,64±0,02	1,60±0,04	0,47±0,03	3,50±0,14
<b><i>Ceratodon purpureus</i></b>					
Вершина	0,59±0,02	0,40±0,01	0,99±0,03	0,29 ± 0,02	2,08±0,01
Схил	0,67±0,02	0,49±0,02	1,16±0,04	0,33 ± 0,01	2,69±0,10
Основа	1,02±0,01	0,59±0,02	1,61±0,03	0,43 ± 0,03	3,07±0,07

Отже, мінливість морфо-фізіологічних показників: структури і вологості дернин мохів, вмісту фотосинтетичних пігментів та інтенсивності фотосинтезу зумовлена змінами мікрокліматичних умов техногенних субстратів відвалу фосфогіпсу та впливом токсичних речовин.

## РОЗДІЛ 4. АКТИВНІСТЬ КОМПОНЕНТІВ ПРООКСИДАНТНО- АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ МОХІВ В УМОВАХ СТРЕСУ

### 4.1. ПЛАСТИЧНІСТЬ КОМПОНЕНТІВ ГЛУТАТІОНО- АСКОРБАТНОГО ЦИКЛУ В СТРЕСОВИХ УМОВАХ

Одним із найважливіших наслідків будь-якого стресового впливу на організм є генерація активних форм кисню (АФК), які спричинюють суттєві пошкодження у клітинах (зниження вмісту пігментів, інгібування роботи фотосистем, денатурація білків унаслідок окислення їх SH-груп, ліпопероксидація та нагромадження вільних жирних кислот у мембранах) (McKersie, 1991; Apel, Hirt, 2004). Глутатіоно-аскорбатний цикл є основним механізмом усунення надлишку пероксиду водню у клітинах. Зважаючи на важливість низькомолекулярних антиоксидантів, багато сучасних робіт спрямовані на дослідження вмісту аскорбату та глутатіону як біомаркерів фізіологічного стану рослин у стресових умовах (Колупаєв, Ястреб, 2015; Маменко та ін., 2018; Labudda et al., 2014; Pacciola, Tomassi, 2004; Pandey et al., 2015).

Аналізували сезонні зміни вмісту компонентів глутатіоно-аскорбатного циклу у пагонах мохів *Bryum argenteum* та *P. imbricatum* залежно від мікрокліматичних умов на території відвалу видобутку сірки. Рослини *B. argenteum* на території відвалу приурочені до відкритих місцевиростань з інтенсивною інсоляцією та несприятливим водним і температурним режимами, а рослини *P. imbricatum* – до затінених локалітетів в угрупованнях *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth.

У клітинах рослин присутні усі три компоненти аскорбатної системи – аскорбінова кислота (АК), дегідроаскорбінова кислота (ДАК) та дикетогулонова кислота (ДКГК). За фізіологічних умов рівновага між ними зміщена в бік АК (Духовский, 2003). Внутрішньоклітинний пул аскорбату може зменшуватися внаслідок його окиснення до дегідроаскорбінової кислоти, яка відновлюється дегідроаскорбатредуктазою до аскорбінової кислоти або піддається незворотній гідролітичній дециклізації з утворенням 2,3-дикетогулонової кислоти (Чупахина, 1997). Досліджували вміст компонентів аскорбатної системи у пагонах мохів залежно від інтенсивності світла і температури на території відвалу видобутку сірки та виявили чітку сезонну динаміку їх розподілу. У досліджуваних видів максимальну кількість АК визначено у весняний та осінній періоди, що, ймовірно, пояснюється сприятливими гідротермічними умовами середовища, які створювалися за середньомісячної температури повітря  $+14,2 - +17,9^{\circ}\text{C}$  і поверхні

субстрату +13,5 – +22,4<sup>0</sup>С та інтенсивності світла 70 – 80 тис. лк. Для *Bryum argenteum* вміст АК був подібним як у весняний період, так і в осінні місяці і становив 388,8 – 493,2 мкг/ г маси с. р. Для *P. imbricatum* визначено в 1,4–1,5 разів нижчі показники вмісту АК, що, очевидно, зумовлене видовими особливостями мохів та зафіксовано вищу концентрацію аскорбату у весняний період і зменшення його кількості в 1,5–2,5 рази восени. Вміст ДАК та ДКГК був досить низьким в обидвох видів (111,7 – 228,1 мкг/ г маси с. р. та 89,2 – 133,6 мкг/ г маси с. р. відповідно) (табл. 4.1, рис. 4.1).

Таблиця 4.1

**Вміст аскорбінової та дегідроаскорбінової кислот у пагонах мохів *Bryum argenteum* і *Ptychostomum imbricatum* з основи та вершини відвалу видобутку сірки протягом вегетаційного сезону ), мкг/г сухої маси  $M \pm m$ ;  $n=5$**

Місце збору зразків мохів	квітень-травень			липень-серпень			вересень-жовтень		
	АК	ДАК	АК/ДАК	АК	ДАК	АК/ДАК	АК	ДАК	АК/ДАК
<b><i>Bryum argenteum</i></b>									
Вершина	472,9±25,6	135,5±10,7	3,5	324,2±22,1 <sup>a</sup>	233,3±7,9 <sup>a</sup>	1,4	388,8±28,4	228,1±18,2 <sup>a</sup>	1,7
Основа	493,2±21,3	127,8±9,6	3,9	329,8±24,3 <sup>a</sup>	198,6±8,6 <sup>a</sup>	1,7	399,3±30,7 <sup>a</sup>	134,4±8,8	3,0
<b><i>Ptychostomum imbricatum</i></b>									
Вершина	316,8±22,1 <sup>b</sup>	102,8±9,7	3,1	111,7±9,6 <sup>a,b</sup>	189,2±13,5 <sup>a</sup>	0,6	181,3±13,6 <sup>a,b</sup>	113,9±9,7 <sup>b</sup>	1,6
Основа	348,9±31,6 <sup>b</sup>	117,8±10,6	2,9	142,7±13,2 <sup>a,b</sup>	207,8±8,7 <sup>a</sup>	0,7	140,2±12,6 <sup>a,b</sup>	141,3±11,8	1,0

*Примітка:* <sup>a</sup> — різниця між зразками одного виду в межах дослідної ділянки статистично достовірна порівняно до показників у квітні-травні (контроль) при  $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> – різниця між зразками *Bryum argenteum* і *Ptychostomum imbricatum* статистично достовірна при  $p < 0,05$ .

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 за високої напруженості кліматичних факторів, коли середньомісячна температура становила +22,6 – +23,2<sup>0</sup>С, поверхня субстрату на схилах відвалу прогрівалася до +37,5<sup>0</sup>С, на вершині – до +40,5<sup>0</sup>С, а інтенсивність світла підвищувалася до 100-110 тис. лк, зафіксовано зміни у співвідношенні компонентів аскорбатного циклу. Спостерігали зменшення вмісту АК в обох видів: у пагонах *Bryum argenteum* відзначено в 1,4–1,5 разів меншу кількість аскорбату, а в

рослинах *P. imbricatulum* – у 2,5–3,0 рази меншу концентрацію, порівняно з показниками за квітень-травень. Натомість, відзначено збільшення кількості ДАК в 1,5 – 1,8 разів, що свідчило про посилення окиснювальних процесів у клітинах мохів. У таких умовах істотно збільшувалася концентрація 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 визначено у пагонах моху *B. argenteum* на вершині відвалу, де найменше сприятливі умови для росту рослин (Рис. 4.1). У зразках моху *P. imbricatulum* з вершини відвалу концентрація ДКГК також достовірно збільшувалася у літній період, однак, порівняно з рослинами *B. argenteum*, була в 1,5 рази меншою.

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. Чітко це проявлялося у зразках *Bryum argenteum* щодо вмісту дегідроаскорбінової кислоти: її вміст у літні та осінні місяці був в 1,2–1,7 разів вищим у рослинах з вершини відвалу, порівняно з основою.

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 у клітинах та, 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 (Smifnoff, 2000). Тому підвищення величини АК/ДАК за рахунок зменшення вмісту ДАК супроводжувалося посиленням дихання і росту рослинних клітин. У наших дослідженнях значення величини АК/ДАК були зафіксовані у пагонах *Bryum argenteum* на вершині відвалу у серпні (1,4) та у зразках *Ptychostomum imbricatulum* з вершини та основи відвалу (0,6–0,7) також у літні місяці, що було свідченням того, що рослини перебували у стані пригнічення процесів життєдіяльності.

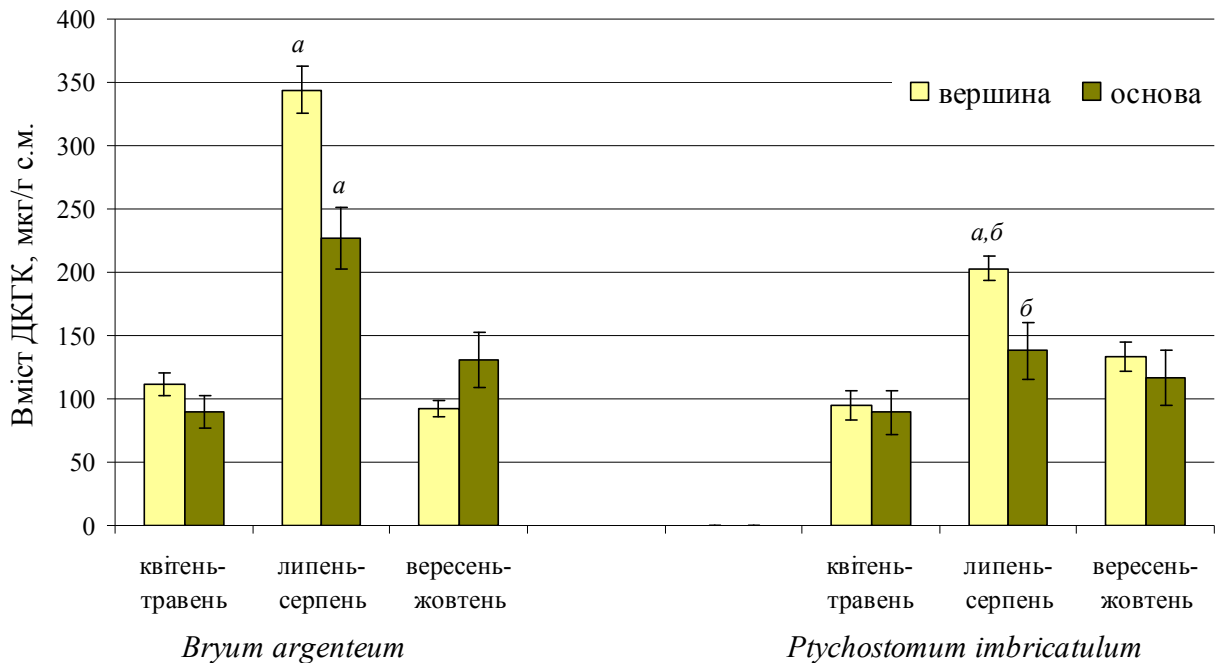


Рис. 4.1. Сезонні зміни вмісту дикетоглуконової кислоти у пагонах мохів *Bryum argenteum* і *Ptychostomum imbricatum* з основи та вершини відвалу видобутку сірки протягом вегетаційного сезону ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ), мкг/г сухої маси.

Примітка: <sup>a</sup> — різниця між зразками одного виду в межах дослідної ділянки статистично достовірна порівняно до показників у квітні-травні (контроль) при  $p < 0,05$ ; <sup>б</sup> — різниця між зразками *Bryum argenteum* і *Ptychostomum imbricatum* статистично достовірна при  $p < 0,05$ .

Таким чином, визначено пластичність вмісту аскорбату, що стабілізує прооксидантно-антиоксидантну рівновагу в клітинах мохів у мінливих умовах навколишнього середовища. Співвідношення компонентів аскорбатного циклу може бути біомаркером фізіологічного стану рослинного організму в стресових умовах.

Функціонування систем аскорбату та глутатіону взаємозв'язані, оскільки глутатіон бере участь у відновленні дегідроаскорбінової кислоти. Також експериментально доведено, що стійкість мохів до водного дефіциту чітко корелює із високим вмістом глутатіону у клітинах мохів, а зміни у його концентрації можуть впливати на регуляцію генів, пов'язаних із стрес-толерантністю бріофітів (Rouhier et al., 2008).

Досліджували вміст відновленого (G-SH) та окисненого (GSSG) глутатіону у пагонах *Bryum argenteum* і *P. imbricatum* залежно від мікрокліматичних умов на території відвалу видобутку сірки. Виявлено зміни у їх співвідношенні протягом вегетаційного сезону. У весняні місяці за сприятливого температурного та водного режимів відзначено максимум вмісту G-SH для обох видів (443,2 – 661,1 мкмоль НАДФН<sub>2</sub>/ г с.м.) та найнижчий вміст його окисненої форми (99,5 – 121,2 мкмоль НАДФН<sub>2</sub>/ г

с.м.). Кількість відновленого глутатіону у пагонах *B. argenteum* була в 1,2–1,5 разів вищою, порівняно з *P. imbricatum*, що зумовлене як видовими особливостями мохів, так і умовами їх місцевиростань. У літній період в обидвох видів зафіксовано зменшення вмісту G-SH в 1,8–2,0 рази, як у рослин із вершини, так і з основи відвалу (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

**Вміст відновленого (GSH) та окисненого (GSSG) глутатіону у пагонах мохів *Bryum argenteum* і *Ptychostomum imbricatum* з основи та вершини відвалу видобутку сірки протягом вегетаційного сезону, мкмоль НАДФН<sub>2</sub>/г сухої маси (M±m; n=5)**

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
<i>Bryum argenteum</i>						
Вершина	$\frac{516,5 \pm 28,3}{99,5 \pm 9,2}$	5,2	$\frac{266,7 \pm 14,5^a}{141,2 \pm 12,8^a}$	1,9	$\frac{376,4 \pm 12,6^a}{135,2 \pm 14,5}$	2,8
Основа	$\frac{661,1 \pm 58,5}{101,2 \pm 8,9}$	6,5	$\frac{296,9 \pm 25,1^a}{221,1 \pm 20,1^a}$	1,3	$\frac{371,5 \pm 14,2^a}{144,1 \pm 13,8^a}$	2,6
<i>Ptychostomum imbricatum</i>						
Вершина	$\frac{453,7 \pm 41,4}{108,3 \pm 9,1}$	4,2	$\frac{210,0 \pm 19,4^a}{154,2 \pm 14,3^a}$	1,4	$\frac{223,0 \pm 9,4^{a,b}}{71,0 \pm 5,8^{a,b}}$	3,1
Основа	$\frac{443,2 \pm 39,8^b}{121,2 \pm 9,8}$	3,7	$\frac{283,6 \pm 24,8^a}{148,4 \pm 12,7^b}$	1,9	$\frac{318,7 \pm 26,1^a}{112,5 \pm 12,1}$	2,8

Примітка: <sup>a</sup> — різниця між зразками одного виду в межах дослідної ділянки статистично достовірна порівняно до показників у квітні-травні (контроль) при  $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> — різниця між зразками *Bryum argenteum* і *Ptychostomum imbricatum* статистично достовірна при  $p < 0,05$ .

Зменшення пулу відновленого глутатіону свідчило про його використання для інгібування вільнорадикальних реакцій, спричинених несприятливими мікрокліматичними умовами, чи в процесах ресинтезу аскорбінової кислоти. За таких умов у клітинах мохів відзначено збільшення вмісту окисненого глутатіону. Для рослин *B. argenteum* визначено майже у 2,2 рази вищу концентрацію GSSG на вершині відвалу та в 1,4 рази вищий вміст у зразках з основи, порівняно з показниками за весняний період. Для рослин *P. imbricatum* відмінності щодо вмісту окисненого глутатіону з дослідних ділянок були меншими: зафіксовано підвищення його вмісту у зразках з вершини в 1,4 рази, а в зразках з основи – в 1,2 рази, порівняно з показниками за квітень-травень.

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 негативно впливати на інтенсивність синтезу білків у клітинах мохів (Dhindsa, 1997). Наші дослідження також показали взаємозв'язок між збільшенням вмісту окисненого глутатіону та зниженням сумарного вмісту білків у пагонах *B. argenteum* і *P. imbricatum* на 31–37 % у літній період, особливо на вершині відвалу, що може бути реакцією клітин мохів в умовах їх дегідратації (рис. 4.2).

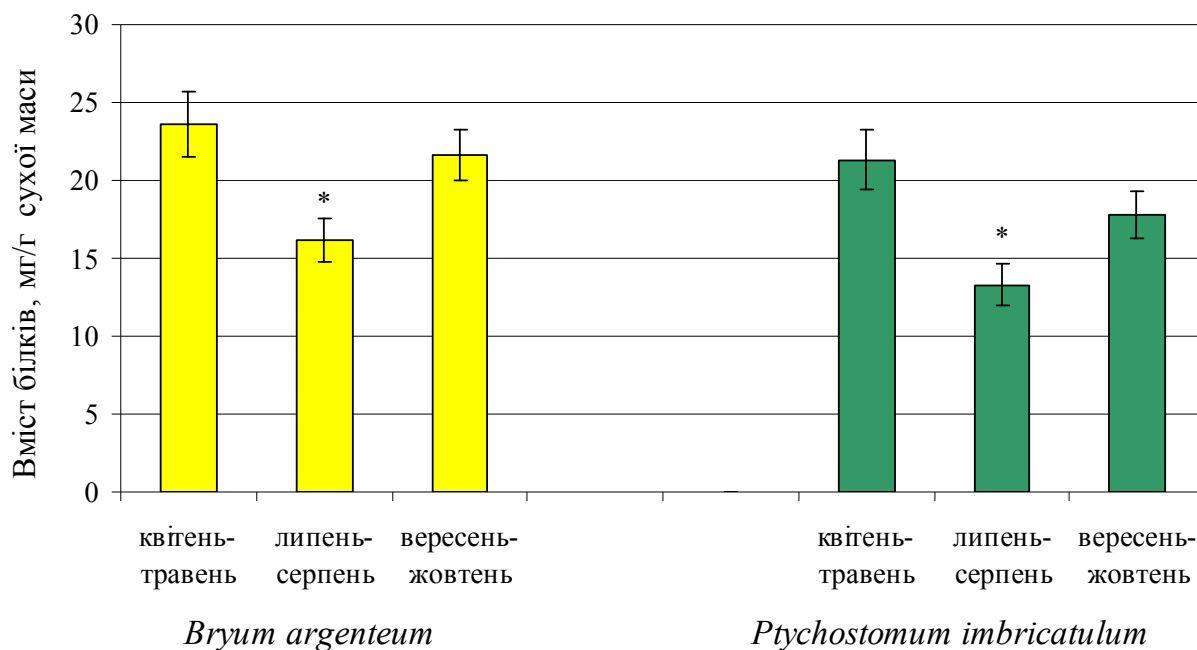


Рис. 4.2. Вміст білків у пагонах *Bryum argenteum* та *Ptychostomum imbricatum* з вершини відвалу видобутку сірки протягом вегетаційного сезону ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ).

*Примітка:* \* – різниця між зразками одного виду порівняно до показників у квітні-травні (контроль) статистично достовірна при  $p < 0,05$ .

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 антиоксиданту глутатіону у клітинах. Отримані результати показали залежність вмісту компонентів систем аскорбату та глутатіону від видових особливостей рослин. У пагонах *Bryum argenteum* визначено в 1,4–2,5 разів більший вміст АК упродовж вегетаційного періоду, порівняно з *P. imbricatum*. Про вищий антиоксидантний потенціал *B. argenteum* свідчив й у 2–3 рази інтенсивніший синтез АК у літній період, за акумуляції в клітинах значних концентрацій її дегідроформ. Вміст G-SH також залежав від видових особливостей мохів, оскільки рослини *B. argenteum* відзначалися більшим умістом

відновленого глутатіону протягом усього вегетаційного періоду. Результати досліджень узгоджуються з роботами, в яких аналізують адаптацію цих видів з точки зору їх екологічних та морфологічних особливостей. Обидва досліджені види мохів за життєвою стратегією належать до видів-поселенців (During, 1979), однак, приурочені до різних місцевиростань із досить відмінними мікрокліматичними умовами. Рослини *Bryum argenteum* ростуть у сухих відкритих місцях на території відвалу, де зазнають впливу підвищеної температури, нестачі вологи та надлишку світлової енергії. Виживання 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 багатьма морфо-анатомічними пристосуваннями гаметофіту до дефіциту вологи: сережкоподібні стебла з черепичасто налеглими дрібними листками, які мають гіалінові верхівки, що забезпечує захист від висушування та 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 (Glime, 2007). *Bryum 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 CO<sub>2</sub> та поглинанню вологи. Високий вміст низькомолекулярних антиоксидантів у пагонах цього виду також свідчить про адаптацію до екстремальних умов існування. Інший вид – *Ptychostomum imbricatum* росте у вологіших, затінених місцевиростаннях на території відвалу видобутку сірки, утворює низьку щільну дернину, що забезпечує максимальну продуктивність моху за мінімальних втрат вологи. Рослини цього виду менше залежні від водного дефіциту і навіть у посушливі літні місяці відносний вміст вологи у пагонах *Ptychostomum imbricatum* не знижувався менше, ніж до 35–38 %, у той час як у *Bryum argenteum* – до 12–14 %. Очевидно, з цим пов'язаний і дещо нижчий вміст аскорбату та глутатіону у рослинах цього виду, порівняно з *Bryum argenteum*.

Отже, аналіз вмісту низькомолекулярних антиоксидантів у рослинах *Bryum argenteum* і *P. imbricatum* свідчить, що адаптація мохів до несприятливих умов пов'язана з високим рівнем аскорбату та глутатіону у клітинах. Це підтверджує той факт, що для бріофітів властивий високий антиоксидантний потенціал, який значною мірою зумовлений низькомолекулярними антиоксидантами (Dey, Nath, 2012). Дослідження сезонних змін вмісту аскорбату, глутатіону та їх метаболітів вказує на значну пластичність та узгодженість роботи низькомолекулярних компонентів антиоксидантного захисту, що забезпечує адаптацію рослин



до широкого діапазону інтенсивності світла та нестабільного гідротермічного режиму й сприяє нормалізації метаболічних процесів у клітинах за сприятливих мікрокліматичних умов. Співвідношення відновлених та окиснених форм аскорбату та глутатіону у клітинах мохів є важливим показником окисно-відновного статусу та біомаркером їх фізіологічного стану в стресових умовах.

#### **4.2. ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА *BRYUM ARGENTEUM* В УМОВАХ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ**

Оскільки нафтові вуглеводні та продукти їх метаболізму можуть спричиняти пошкодження біомолекул й ініціювати стресові реакції у рослинному організмі (Степаньян, Воскобойников, 2006; Коровецька, 2010), було проаналізовано показники окиснювального стресу, який індукується в умовах нафтового забруднення. У *Bryum argenteum* досліджували вміст малонового диальдегіду (МДА), що є показником перекисного окислення ліпідів мембран, та карбонільних груп (КГ) білків, які характеризують рівень окисної модифікації білків. Досить детально вивченою модифікацією білкових молекул за дії АФК є утворення додаткових карбонільних груп унаслідок розривів пептидних зв'язків у бічних ланцюгах амінокислот (Луццак та ін., 2004).

Установлено, що у зразках моху, які росли на платформах нафтових свердловин, вміст МДА і КГ білків був майже в 1,5 разів вищим, порівняно з рослинами з фонові території (табл. 4.3), тобто нафтове забруднення індукувало окиснювальний стрес у клітинах мохів.

В умовах лабораторного експерименту після 14-добового вирощування рослин *B. argenteum*, взятих із обидвох досліджуваних місцевиростань, на піщаному субстраті без нафти (контроль) виявлено, що вміст МДА та КГ білків у пагонах рослин з фонові території не відрізнявся від показників, визначених у свіжозібраному рослинному матеріалі з природних умов (табл. 4.3, 4.4).

Таблиця 4.3

#### **Вміст малонового диальдегіду та карбонільних груп білків у зразках *B. argenteum* з нафтозабрудненої та фонові територій (M±m; n=5)**

Показники окиснювального стресу	Фонова територія (околиця м. Борислав)	Нафтозабруднена територія у м. Борислав
Вміст МДА, нмоль/ г с.м.	22,7±1,9	31,4±2,52*
міст КГ білків, нмоль/мг білка	0,11±0,01	0,15±0,01*

Примітка: \* – різниця між зразками з фонові та нафтозабрудненої території статистично достовірні при  $P < 0.05$

Водночас, спостерігали достовірне зменшення кількості МДА та КГ білків у пагонах рослин з нафтозабрудненої ділянки, які вирощували в умовах піщаної культури без нафти, порівняно з природними зразками, що свідчило про зменшення стресового навантаження на рослини і стабілізацію про/антиоксидантної рівноваги у клітинах.

Таблиця 4.4

**Вміст малонового діальдегіду та карбонільних груп білків у пагонах *Bryum argenteum* в умовах експерименту за впливу 2,5 % нафти ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Показники окиснювального стресу	Зразки <i>B. argenteum</i> з фонові території (околиця м. Борислав)		Зразки <i>B. argenteum</i> із нафтозабрудненої ділянки у м. Борислав	
	контроль (пісок без нафти)	пісок + 2,5 % нафта	контроль (пісок без нафти)	пісок + 2,5 % нафта
Вміст МДА, нмоль/г с.м.	20,6±2,81	38,9±2,7*	24,2±3,1	33,3±3,1*
Вміст КГ білків, нмоль/мг білка	0,12±0,02	0,27±0,02*	0,13±0,02	0,17±0,01*

Примітка: \* – різниця порівняно з контролем статистично достовірні при  $P < 0.05$ .

За вирощування рослин на піску з 2,5 % нафтою виявлено суттєві відмінності щодо вмісту МДА та КГ білків: у рослинах з нафтозабрудненої території їх кількість суттєво не змінилася, порівняно з природними зразками, а в пагонах моху з фонові території майже у 2 рази збільшилася кількість і МДА, і КГ білків, порівняно з природними зразками. Крім того, доцільно відзначити, що нафта у концентрації 2,5 % спричинила вищий вміст продуктів окисної модифікації білків і ліпідів у рослинах з фонові території. Отримані результати свідчать, що в рослинах *B. argenteum*, які тривалий час росли в умовах нафтового забруднення середовища, антиоксидантна захисна система є ефективнішою, і, відповідно, розвиток вільнорадикальних процесів у клітинах істотноше пригнічувався в умовах експерименту.

У несприятливих умовах у бріофітів важливими компонентами неспецифічних клітинних захисних систем є низькомолекулярні антиоксиданти (аскорбат, глутатіон,  $\alpha$ -токоферол, фенольні сполуки). Відомо, що вони відіграють значну роль за впливу різноманітних

абіотичних стресорів (Seel et al., 1992; Кияк, 2007; Panda, 2007), тому доцільно було проаналізувати антиоксидантну активність (АА) рослинних екстрактів на основі методу із радикалом 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилом (DPPH) (Brand-Williams et al., 1995). Порівнювали ефективні концентрації екстрактів ( $EK_{50}$ ), котрі спричиняли 50 % інгібування радикалу (рис. 4.3). Чим нижчий показник  $EK_{50}$ , тим вища антиоксидантна активність рослин. Як позитивний контроль використовували аскорбінову кислоту ( $EK_{50}$  аскорбінової кислоти становила 0,06 мг/мл).

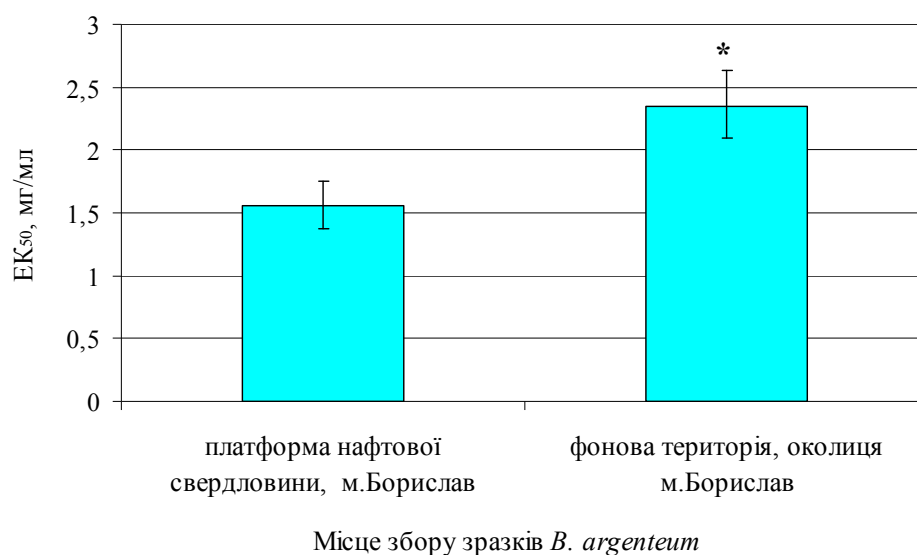


Рис. 4.3. Антиоксидантна активність у пагонах *B. argenteum* з фонові території (околиця м. Борислав) та нафтозабрудненої території у м. Борислав.

*Примітка:* \* – різниця між зразками з нафтозабрудненої та фонові території статистично достовірна при  $P < 0.05$ .

У пагонах рослин *B. argenteum* з фонові території  $EK_{50}$  становила 2,35 мг/мл, тоді як у пагонах рослин, зібраних на платформі нафтової свердловини у м. Борислав, визначено  $EK_{50}$  на рівні 1,56 мг/мл, що свідчило про підвищення антиоксидантної активності рослин, котрі росли в умовах нафтового забруднення, в 1,5 рази, порівняно з рослинами з фонові території.

З літератури також відомо, що бріофіти володіють значним антиоксидантним потенціалом, який зумовлений як низькомолекулярними антиоксидантами (флавоноїдами, фенольними сполуками, аскорбатом, глутатіоном), які у високих концентраціях містяться в їх клітинах, так і активністю ферментних систем (Dey, Nath, 2012), що є важливою адаптивною реакцією мохів до існування в несприятливих умовах середовища.

Для докладнішого обґрунтування відмінності між досліджуваними зразками *B. argenteum* щодо їх антиоксидантної активності, було досліджено вміст фенольних сполук (ФС). Відомо, що феноли протидіють окиснювальному стресу, оскільки здатні функціонувати як скавенджери вільних радикалів і активних форм кисню, їх антиоксидантні властивості реалізуються через наявність гідроксильної групи, яка приєднана до ароматичного кільця та містить рухливий атом гідрогену (Michalak, 2006). Індукція синтезу ФС спостерігається у відповідь на вплив різноманітних стресових чинників: важких металів, водного дефіциту, УФ-опромінення та високої інсоляції (Helena, Calvalho, 2008). У наших дослідках у пагонах *B. argenteum* з обидвох місцевиростань зафіксовано неоднакові показники вмісту ФС: у зразках, зібраних на платформі нафтової свердловини визначено в 1,4 рази вищий уміст фенолів, порівняно з рослинами з фонової території (табл. 4.5).

Доведено, що серед фенольних сполук важливими антиоксидантами є флавоноїди. Вплив різноманітних стресових чинників (важкі метали, УФ радіація, водний дефіцит) активують синтез фенілаланіну та індують швидке і скоординоване зростання активності ферментів фенілпропаноїдного шляху біосинтезу, що сприяє підвищенню концентрації флавоноїдів у клітинах (Hollozy, 2002). Рослини з нафтозабрудненої ділянки характеризувалися майже на 36 % більшим вмістом флавоноїдів, порівняно з рослинами з фонової території, тому можна вважати, що флавоноїди захищають клітинні структури від руйнування в умовах нафтового забруднення середовища.

Флавоноїди представляють велику групу поліфенольних сполук, які відрізняються за будовою та фізико-хімічними властивостями. Сюди належать флавоноли (кверцетин, рутин, морін, кемпферол), флаволи (лютеолін, апігенін), флаванони (гесперетін), флаваноли (катехін, епікатехін) та антоціани. Для того, щоби встановити, які флавоноїди задіяні у захисті клітин *B. argenteum* в умовах нафтового забруднення, було проаналізовано спектри поглинання екстрактів флавоноїдів у розчині хлориду алюмінію.

Таблиця 4.5

**Вміст сполук фенольної природи у пагонах *B. argenteum* з фонової та нафтозабрудненої територій у м. Борислав, мг/г с. м. ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Місце збору зразків <i>B. argenteum</i>	Вміст фенольних сполук	Вміст флавоноїдів
Фонова територія (околиця м. Борислав)	11,23±0,46	2,16±0,35
Платформа нафтової свердловини (м. Борислав)	15,61±0,68	3,41±0,44

Виявлено максимуми поглинання в області спектра 420–440 нм, 470 нм та 2 піки – у довгохвильовій області (620 і 670 нм). Потрібно врахувати, що взаємодія екстракту флавоноїдів з хлоридом алюмінію призводить до батохромного зміщення максимумів поглинання вихідних реагентів на 66–67 нм (Pekal, Puzynska, 2014). Тому перший максимум спектру поглинання, очевидно, відповідає флавонолам рутину та кверцетину, оскільки їх піки поглинання знаходяться в ділянці спектра 356 нм та 370 нм, відповідно, а їх комплексів з  $AlCl_3$  – 422 нм та 437 нм (Рис. 4.4). Показано, що ці флавоноли є найбільш ефективними відновниками супероксидного радикала серед флавоноїдів (Jovanovic et al., 1994). Другий максимум поглинання може відповідати флавону лютеоліну, для якого характерні піки за 405–420 нм (Denni, Mammen 2012), а з урахуванням зміщення комплексу з хлоридом алюмінію – 470 нм.

Піки у довгохвильовій області спектра можуть відповідати антоціанам. Їх антиоксидантні властивості зумовлені високою донорною активністю і здатністю стабілізувати й делокалізувати неспарений електрон, що припиняє ланцюгові вільнорадикальні реакції (Ahmad et al., 2010; Neill et al., 2002). У наших досліджах також відзначено збільшення концентрації антоціанів у пагонах *B. argenteum*, що росли в умовах нафтового забруднення, в 1,5 разів, порівняно з рослинами з фонові території. Тобто, вища антиоксидантна активність рослин *B. argenteum* із нафтозабрудненої території може бути зумовлена підвищеними концентраціями сполук фенольної природи.

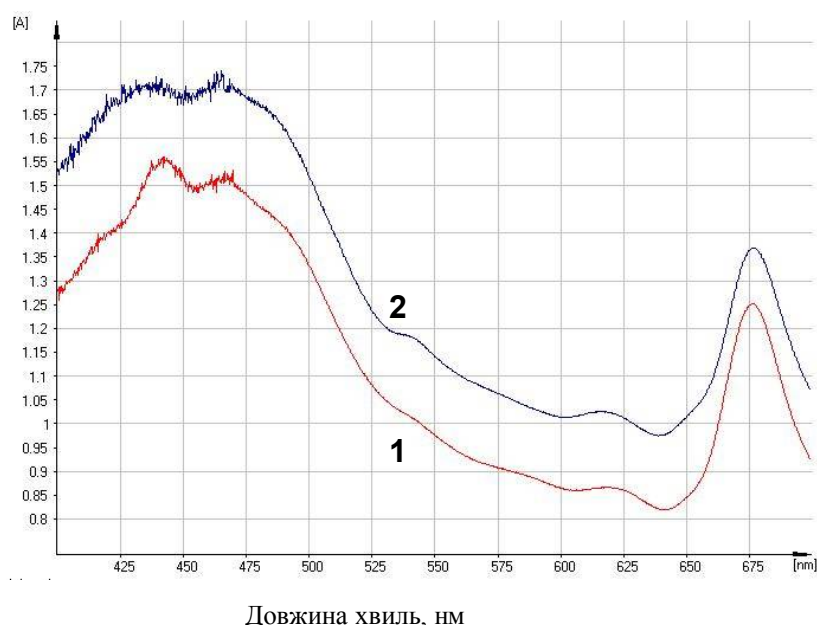


Рис. 4.4. Спектри поглинання комплексів флавоноїдів з хлоридом алюмінію з екстрактів рослин *B. argenteum* з фонові (околиця м. Борислав) (1) та нафтозабрудненої (2) територій.

Відомо, що важливим показником стану антиоксидантного клітинного захисту можуть бути і сульфгідрильні групи, оскільки тіоловмісні сполуки відіграють значну роль в антиоксидантних процесах, знешкодженні активних форм кисню та вільнорадикальних продуктів ПОЛ, підтриманні внутрішньоклітинного редокс-статусу, тобто, є невід'ємною частиною антиоксидантної системи рослинних клітин (Bansal, Bilaspuri, 2008; Сандецька та ін., 2012). Тому було досліджено загальний вміст SH-груп у пагонах *B. argenteum* залежно від нафтового забруднення. На підставі отриманих результатів встановлено відмінності між зразками: в умовах нафтового забруднення вміст SH-груп у пагонах моху був удвічі більшим, порівняно з рослинами із фонові території (рис. 4.5).

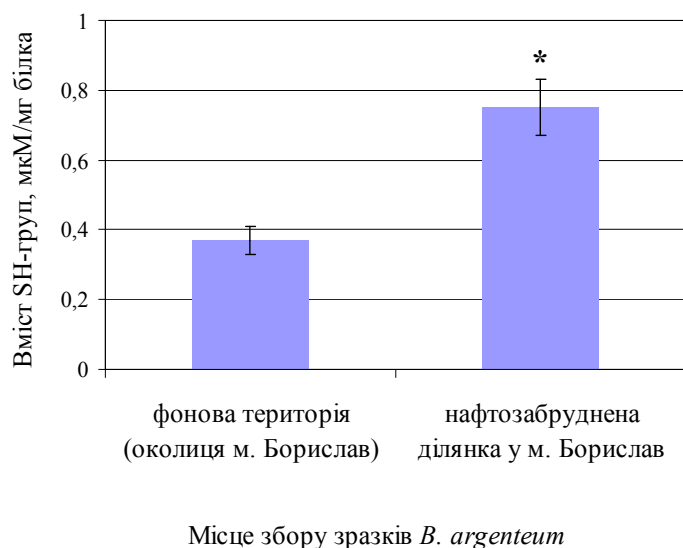


Рис. 4.5. Вміст SH-груп у пагонах *Bryum argenteum* із фонові (околиця м. Борислав) і нафтозабрудненої (м. Борислав) територій.

Варто відзначити, що до тіоловмісних сполук належать низькомолекулярні компоненти клітинного захисту, які захищають макромолекули білків цитозолу від ушкоджувального впливу ендогенних кисневих радикалів. Більша частина пулу сульфгідрильних груп клітини знаходиться у структурі глутатіону, який є основним водорозчинним антиоксидантом у процесах фотосинтезу, реагує прямо або опосередковано з активними формами кисню та запобігає руйнуванню клітинних структур (Bansal, Bilaspuri, 2008).

Тому збільшення вмісту SH-груп у пагонах *B. argenteum* в умовах нафтового забруднення свідчить про участь SH-вмісних сполук у захисних реакціях моху в умовах стресу. Очевидно, антиоксидантний захист клітин мохів є одним із ключових механізмів, які забезпечують виживання цих рослин у несприятливих умовах середовища.

Таким чином, виявлено суттєві відмінності у реакціях рослин *B. argenteum*, зібраних на території м. Борислава, порівняно з рослинами контролю: у стійких до нафтового забруднення рослин відзначено посилення ксероморфних ознак; у пігментному комплексі виявлено підвищений вміст каротиноїдів та антоціанів, що виконують захисні функції у клітині; показано зростання активності компонентів антиоксидантної системи та збільшення кількості низькомолекулярних осмотично активних сполук. Також показано, що захист від вільнорадикальних пошкоджень, індукованих нафтовим забрудненням, забезпечується значним умістом у клітинах мохів SH-вмісних сполук, що є важливою адаптивною реакцією бріофітів на дію нафтопродуктів. Про існування певного адаптивного потенціалу свідчать і наші експерименти з вирощуванням регенерантів *B. argenteum* в умовах водного дефіциту.

Таким чином, на підставі результатів досліджень можна вважати, що тривале існування рослин *B. argenteum* в умовах нафтового забруднення призвело до формування механізмів стійкості моху до дії стресового фактора, в основі яких є неспецифічні захисні реакції, які забезпечують адаптацію рослинного організму до мінливих умов існування.

#### **4.3. МІНЛИВІСТЬ СПЕКТРІВ КИСЛИХ РОЗЧИННИХ БІЛКІВ І ТЕРМОСТАБІЛЬНІСТЬ ПЕРОКСИДАЗИ ТА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ МОХІВ В ЕКСТРЕМАЛЬНИХ УМОВАХ ВІДВАЛУ ВИДОБУТКУ СІРКИ**

Дія різних абіотичних факторів, таких як, посуха, засоленість, температурний стрес (особливо у літні місяці), підвищена інсоляція, сильні вітри, можуть призвести до активації захисних і пристосувальних реакцій рослин. Адаптація рослин контролюється складною молекулярно-генетичною системою, яка індукує певний стрес-реагуючий механізм, що забезпечує підтримання гомеостазу рослинного організму та захищає від руйнування молекулярної і структурної організації клітин (Пятыгин, 2008). Основні адаптивні зміни у рослин відбуваються на морфологічному та, в першу чергу, на біохімічному рівнях (Beck, Lüttge, 1990). Стійкість рослин до абіотичних стресорів пов'язана з експресією генів, які беруть участь в сигнальних або регуляторних системах, в запуску синтезу стресових білків та метаболітів (Rampitsch, Srinivasan, 2006; Юрина, Одинцова, 2007).

Температура є одним із найважливіших факторів середовища, що контролює онтогенез рослинних організмів. Основна увага акцентується на вивченні біохімічних і молекулярно-генетичних аспектів стійкості рослин до стресових температур (Vij, Tyagi, 2007; Wahid, Close, 2007). В ході адаптації рослин до високих температур підвищується

термостабільність клітин, що значною мірою пов'язано зі зміною термостабільності білків та ферментів. Є припущення про участь індукованого білкового синтезу у формуванні терморезистентності (Karpets, Kolupaev, 2008).

Актуальними нині є дослідження стійкості рослин до несприятливих температур, яка є результатом фізіолого-біохімічних перетворень. У стійкості рослин до дії стрес-факторів значну роль відіграють неспецифічні захисні системи, зокрема антиоксидантна система. Антиоксидантний комплекс, із ферментних і низькомолекулярних антиоксидантів належить до стрес-протекторних систем, задіяних у формуванні стійкості рослин, у тому числі й до гіпертермії (Helena, Carvalho, 2008; Fan et al., 2009; Колупаєв, Карпец, 2010; Обозный и др., 2012).

Одними із центральних ферментів у дослідженні механізмів адаптації є ізоформи пероксидаз, які є надзвичайно лабільними і поліфункціональними „стресовими” ензимами. Установлено залежність активності пероксидази *Barbula unguiculata* та *Ptychostomum imbricatulum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил та вершина) від інтенсивності освітлення та температури на трансектах відвалу № 1. Особливо вирізняється активність пероксидази обох домінантних видів мохів у літній період за високої температури 35,0–37,5 °С та інтенсивності освітлення 110 тис. лк на північній вершині та північному схилі відвалу, порівняно з основою. Так, активність пероксидази у *B. unguiculata* була найвищою у зразків з північної вершини відвалу та становила  $23,8 \pm 0,3$  (відн. од./г с. м.), тобто приблизно в 1,2 рази вищою, ніж в основі відвалу ( $20,0 \pm 0,4$  відн. од./г с. м.) (рис. 4.6).

Показники активності пероксидази у *P. imbricatulum* були також найвищими на північній експозиції (вершина та схил) відвалу та становила  $20,9 \pm 0,2$  та  $24,7 \pm 0,2$  (відн. од./г с. м.) відповідно, тобто в 1,2–1,4 рази вищими, ніж в основі відвалу (рис. 4.7). Восени, коли температурний ( $t = +14^\circ\text{C}$ ) та інсоляційний ( $\approx 80$  тис. лк) рівні знижувалися, активність пероксидази обох видів з усіх місцевиростань дещо зменшувалася, хоча найвищі значення активності ферменту на вершині відвалу зберігалися.

Встановлено підвищення активності та термостабільності пероксидази за дії гіпертермії у *B. unguiculata* та *P. imbricatulum*. Так, активність пероксидази у зразках *B. unguiculata* з усіх трансект зростала в 1,5–1,7 рази (рис. 4.6), а у *P. imbricatulum* приблизно в 1,8 рази (рис. 4.7).



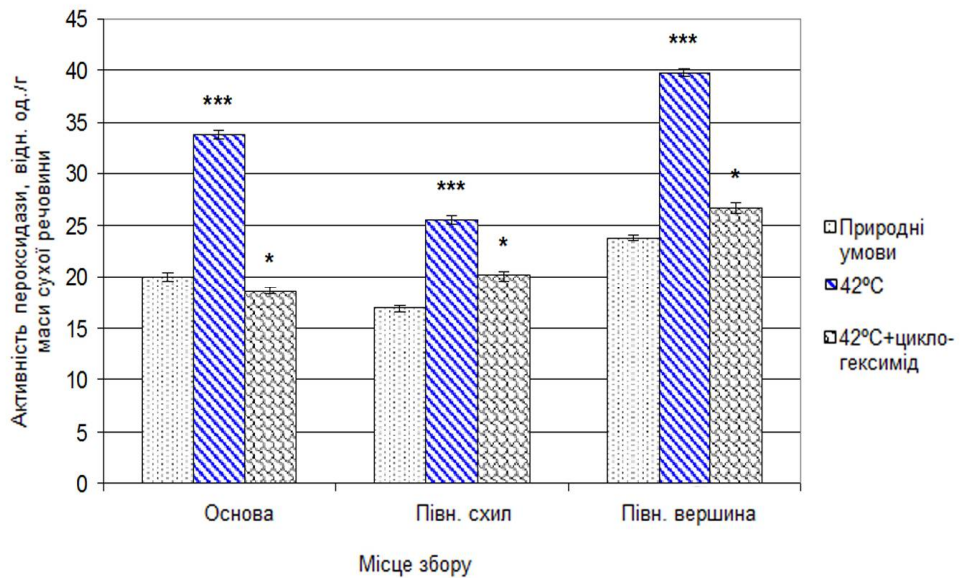


Рис. 4.6. Активність пероксидази (відн. од./г сухої маси) в пагонах моху *B. unguiculata* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил та вершина) ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

Примітка: \* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,05$ ; \*\*\* – при  $P < 0,001$ .

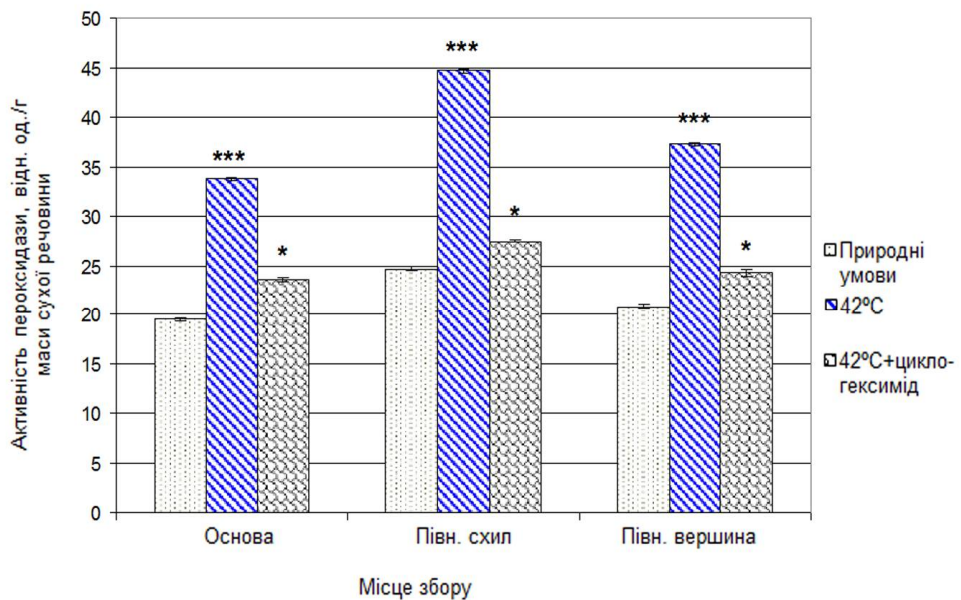


Рис. 4.7. Активність пероксидази (відн. од./г сухої маси) в пагонах моху *Bryum caespiticium* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил та вершина) ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

Примітка: \* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,05$ ; \*\*\* – при  $P < 0,001$ .

Найбільша активність пероксидази за 2-годинної дії температури 42°C спостерігалась у зразках *B. unguiculata* з північної вершини відвалу ( $39,8 \pm 0,2$  відн. од./г сирої маси). Натомість у *P. imbricatulum* за температурного стресу найвищими були показники активності пероксидази у зразках з північного схилу та північної вершини:  $44,7 \pm 0,2$  та  $37,3 \pm 0,2$  відн. од./г сухої маси.

Відомо, що під час адаптації рослин до гіпертермії змінюється не лише активність, а й кінетичні характеристики багатьох ферментів, у тому числі пероксидази (Александров, 1985; Лютова, Каменцева, 2001; Обозный и др., 2010). Виявлено відмінності термостабільності пероксидази мохів *B. unguiculata* та *P. imbricatulum* із дослідних трансект відвалу під впливом гіпертермії. Найбільшою була термостабільність пероксидази за дії гіпертермії у зразках *B. unguiculata* з вершини ( $0,67 \pm 0,04$  відн. од.) та основи відвалу ( $0,69 \pm 0,05$  відн. од.) (рис. 4.8), а у *P. imbricatulum* зі схилу ( $0,81 \pm 0,05$  відн. од.) та вершини відвалу ( $0,78 \pm 0,03$  відн. од.), де відзначено найвищу напруженість екологічних факторів (рис. 4.9).

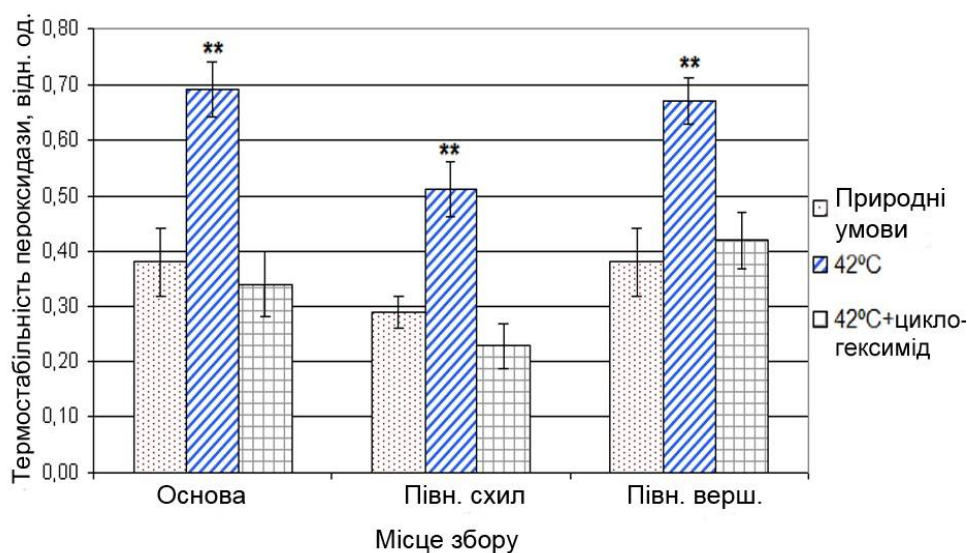


Рис. 4.8. Термостабільність пероксидази (відн. од.) *Barbula unguiculata* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сирки (основа, схил та вершина) ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

Примітка: \*\* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,01$ .

Збільшення активності пероксидази, як і підвищення її термостабільності, спричинені 2-годинною дією температури +42 °C, усувалися попередньою обробкою інгібітором біосинтезу білка циклогексамідом (ЦГ). Очевидно, підвищення термостабільності

пероксидази пов'язане з посиленням синтезу її термостабільніших молекулярних форм, яке нівелювалось ЦГ. Такі результати можуть свідчити про участь білоксинтезуючої системи у підвищенні термостабільності, зумовленої гіпертермією.

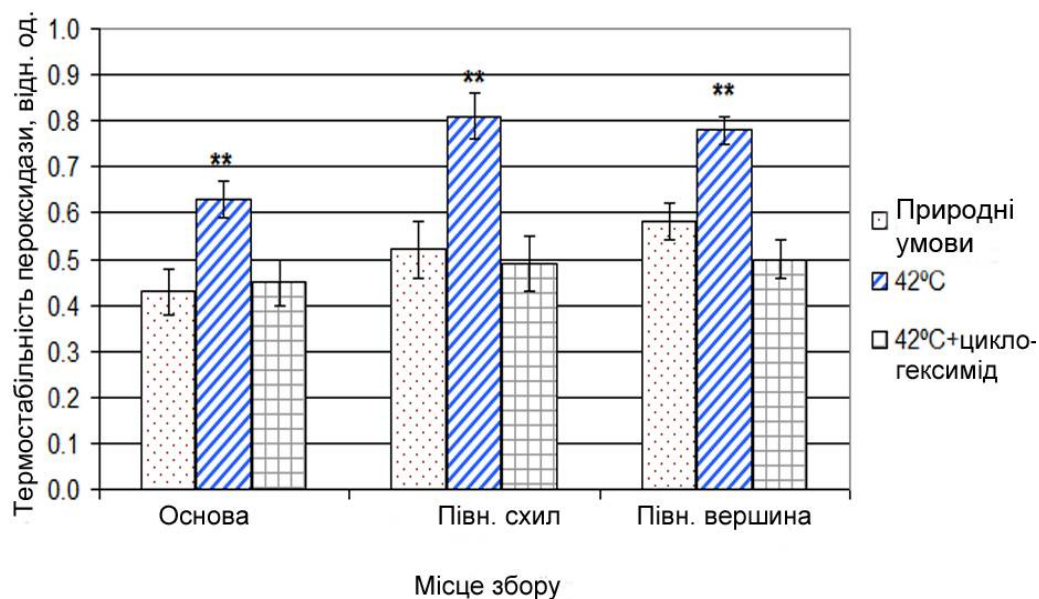


Рис. 4.9. Термостабільність пероксидази (відн. од.) *Ptychostomum imbricatulum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил та вершина) ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

Примітка: \*\* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,01$ .

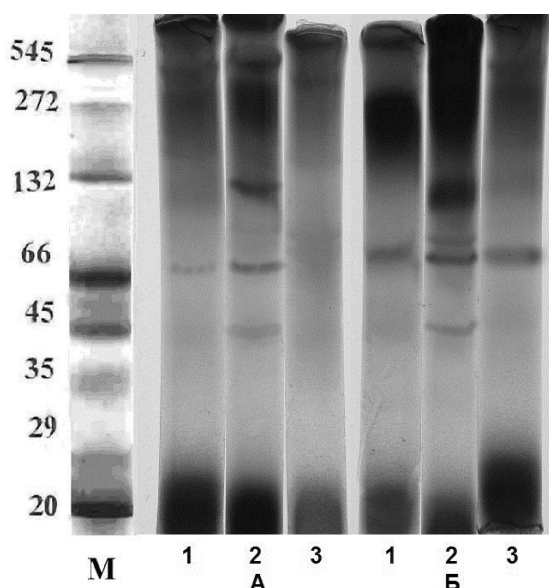


Рис. 4.10. Електрофоретичний спектр пероксидази *Barbula unguiculata* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: М – маркер; А – схил, Б – вершина; 1 – контроль, 2 –  $t = 42^\circ\text{C}$  (2 год), 3 –  $t = 42^\circ\text{C} + \text{ЦГ}$  (20  $\mu\text{M}$ ) (2 год).

Підвищення активності та термостабільності пероксидази дослідних зразків мохів *B. unguiculata* та *P. imbricatulum* після дії температури супроводжувалось змінами електрофоретичних спектрів множинних молекулярних форм пероксидази та кислих розчинних білків. Отримані результати свідчать, що зростання термостабільності пероксидази мохів пов'язане зі змінами ізоферментного складу. Найістотніші зміни спектру множинних молекулярних форм пероксидази відзначали у мохів з північної вершини та північного схилу відвалу: зростала інтенсивність низькомолекулярних фракцій ферменту з молекулярною масою (ММ) 45 та 66 кД. Окрім того, у *B. unguiculata* з північної вершини та північного схилу посилилася інтенсивність електрофоретичної смуги ферменту з ММ 66 кД та з'явилася фракція з ММ 132 кД (рис. 4.10).

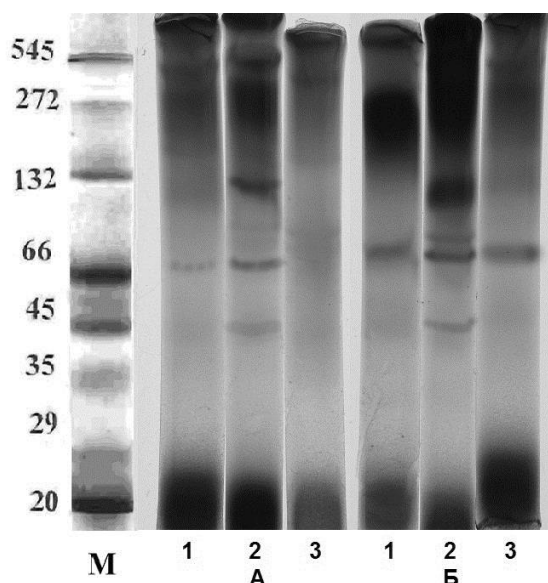


Рис. 4.10. Електрофоретичний спектр пероксидази *Barbula unguiculata* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: М – маркер; А – схил, Б – вершина; 1 – контроль, 2 –  $t = 42^{\circ}\text{C}$  (2 год), 3 –  $t = 42^{\circ}\text{C} + \text{ЦГ}$  (20 мкМ) (2 год).

Під впливом гіпертермії у зразках *P. imbricatulum* з північного схилу відвалу з'явилися низькомолекулярні фракції з ММ 45 та 66 кД, а у зразках з північної вершини активізувалася фракція з ММ 45 кД (рис. 4.11).

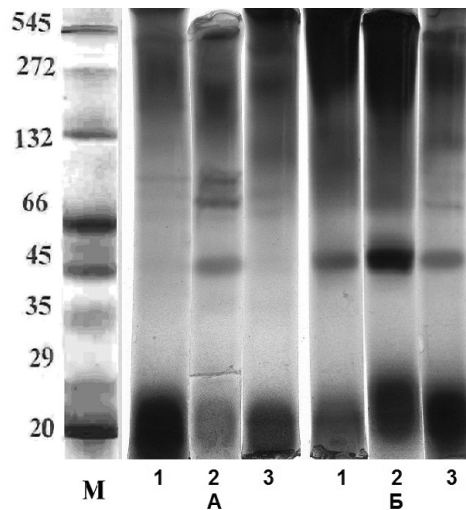


Рис. 4.11. Електрофоретичний спектр пероксидази *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: М – маркер; А – схил, Б – вершина; 1 – контроль, 2 –  $t = 42^{\circ}\text{C}$  (2 год), 3 –  $t = 42^{\circ}\text{C} + \text{ЦГ}$  (20 мкМ) (2 год).

Істотних змін за дії гіпертермії зазнавав електрофоретичний спектр кислих розчинних білків. Так, у *B. unguiculata* з північної вершини відзначено посилення в електрофоретичному спектрі кислих розчинних білків активності смуг з ММ 20 та 66 кД та появу низькомолекулярних фракцій з ММ 29 та 45 кД (рис. 4.12).

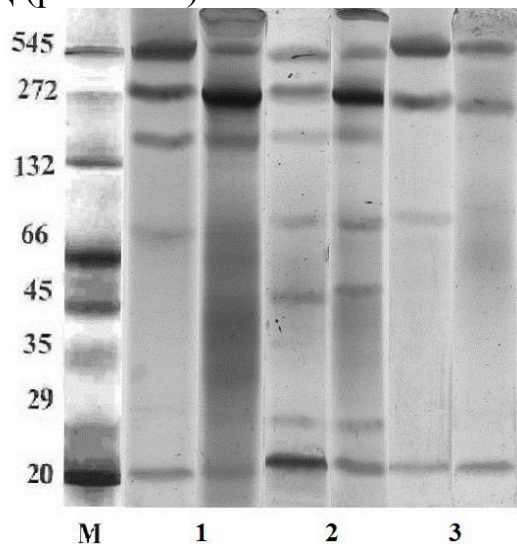


Рис. 4.12. Електрофоретичний спектр множинних молекулярних форм білків *Barbula unguiculata* з північної вершини породного відвалу № 1: М – маркер; 1 – контроль, 2 –  $t = 42^{\circ}\text{C}$  (2 год), 3 –  $t = 42^{\circ}\text{C} + \text{ЦГ}$  (20 мкМ) (2 год).

У *P. imbricatum* з північної вершини за дії гіпертермії з'явилися смуги з 29, 75 та 245 кД та активувалася смуга з 272 кД (рис. 4.13). Характерно, що ефекти появи та посилення активності окремих ізоформ

пероксидази та кислих розчинних білків під впливом гіпертермії нівелювалися інгібітором білкового синтезу ЦГ.

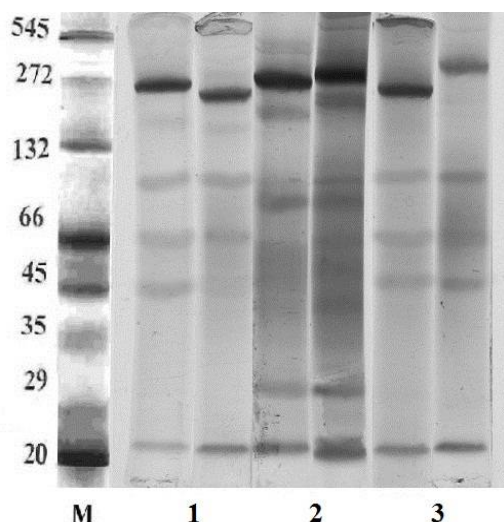


Рис. 4.13. Електрофоретичний спектр множинних молекулярних форм білків *Ptychostomum imbricatum* з північної вершини породного відвалу № 1: М – маркер; 1 – контроль, 2 –  $t = 42^{\circ}\text{C}$  (2 год), 3 –  $t = 42^{\circ}\text{C} + \text{ЦГ}$  (20 мкМ) (2 год).

Супероксиддисмутаза (СОД) розглядається не лише як антиоксидантний фермент, а й як компонент сигнальних систем (Колупаєв, Обозний, 2013). Сигнали, що формуються за участю активних форм кисню (АФК), призводять до посилення експресії генів й активації стрес-протекторних систем. Літературні дані свідчать, що у формуванні термостабільності рослин можлива участь індукованого білкового синтезу. Вважається, що гіпертермія спричиняє посилення синтезу більш термостабільних форм ферменту. Показано, що ефект зростання активності та підвищення термостабільності СОД проростків пшениці нівелювався обробкою інгібітором біосинтезу білка ЦГ (Карпець та ін., 2008). Питання щодо впливу високих температур на активність та термостабільність СОД мохів залишається досі не дослідженим.

Проаналізовано активність, термостабільність та електрофоретичний спектр СОД у пагонах *V. unguiculata* та *P. imbricatum* із різних трансект відвалу № 1 видобутку сірки (плато, північний схил та північна вершина) у літньо-осінній період. З'ясовано, що активність СОД досліджуваних мохів залежить від інтенсивності освітлення та температури на трансектах відвалу № 1. Особливо вирізняється активність СОД у літній період за високої температури  $32\text{--}34^{\circ}\text{C}$  та інтенсивності освітлення 100–110 тис. лк. Так, активність СОД у цей період на північному схилі та плато відвалу у *V. unguiculata* становила  $9,4 \pm 0,3$  та  $9,7 \pm 0,2$  (відн. од./хв мг/білка)

відповідно та була приблизно в 1,2 рази вищою, ніж на північній вершині відвалу (контроль) (рис. 4.14).

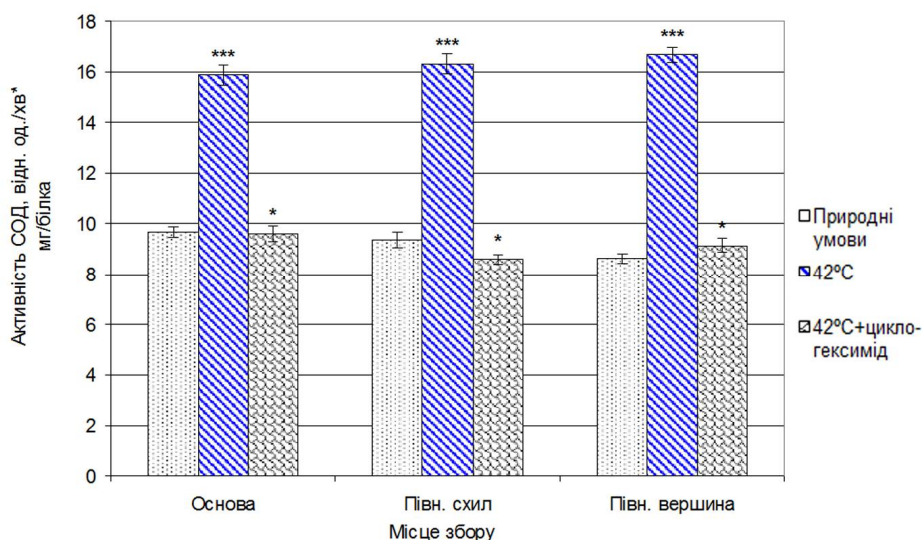


Рис. 4.14. Активність СОД (відн. од./хв мг/білка) *Barbula unguiculata* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: (плато, схил та вершина) ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

*Примітка:* \* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,05$ ; \*\*\* – при  $P < 0,001$ .

Натомість у *B. caespiticium* вищі показники активності СОД відзначено на північній вершині та плато відвалу:  $9,1 \pm 0,3$  та  $9,8 \pm 0,3$  (відн. од./хв мг/білка) відповідно (контроль) (рис. 4.15). Восени, коли температурний ( $t = +14^\circ\text{C}$ ) та інсоляційний (80 тис. лк) рівні знижувалися, активність СОД обох видів з усіх місцевиростань дещо зменшувалась.

В умовах експерименту встановлено підвищення активності СОД у *B. unguiculata* та *B. caespiticium* в 1,6–1,9 рази під впливом 24-годинної дії температури  $42^\circ\text{C}$ . Найістотніше зростання активності СОД виявлено у мохів з північної вершини відвалу:  $16,7 \pm 0,3$  та  $17,1 \pm 0,5$  (відн. од./хв мг/білка) відповідно (рис. 4.14; 4.15).

Термостабільність СОД була найвищою у зразках мохів з північного схилу та північної вершини відвалу за високих показників температурного та інсоляційного режимів, особливо у літній період. Так, термостабільність за дії гіпертермії у *B. unguiculata* з цих трансект становила  $0,74 \pm 0,03$  відн. од. та  $0,93 \pm 0,05$  відн. од. та у *B. caespiticium*  $0,76 \pm 0,05$  відн. од. та  $0,88 \pm 0,04$  відн. од. відповідно (рис. 4.16; 4.17).

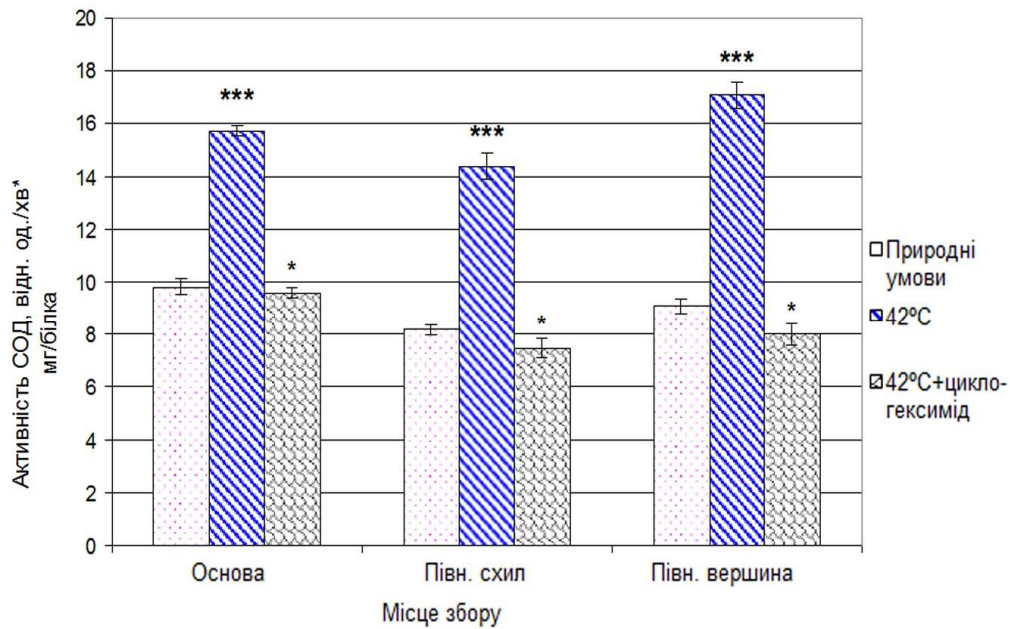


Рис. 4.15. Активність СОД (відн. од./хв мг/білка) *Bryum caespiticium* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: (основа, схил та вершина) ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

Примітка: \* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,05$ ; \*\*\* – при  $P < 0,001$ .

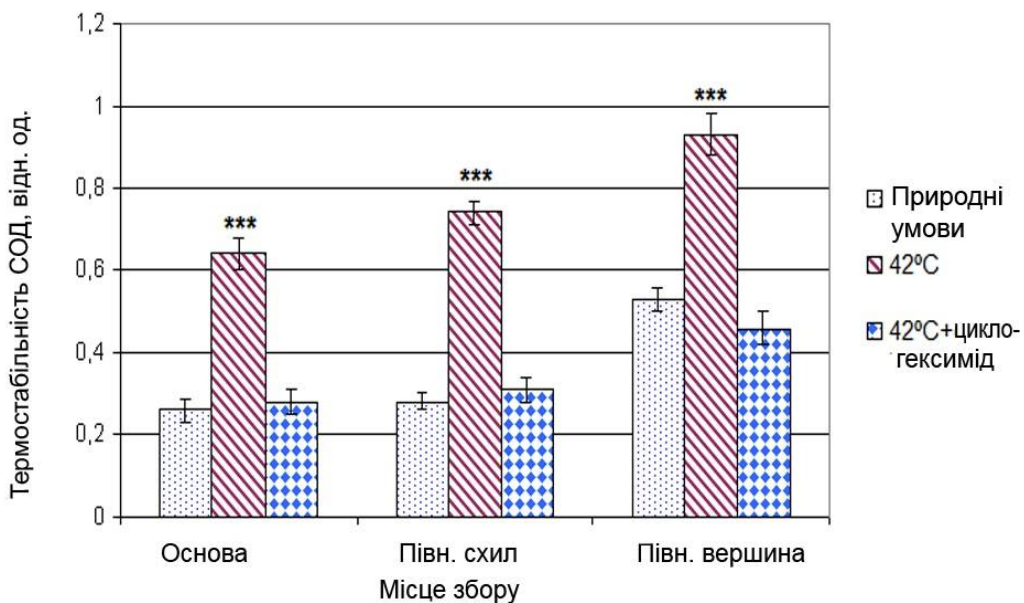


Рис. 4.16. Термостабільність СОД (відн. од.) *Barbula unguiculata* із різних трансект відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил та вершина). ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

Примітка: \*\*\* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,001$ .



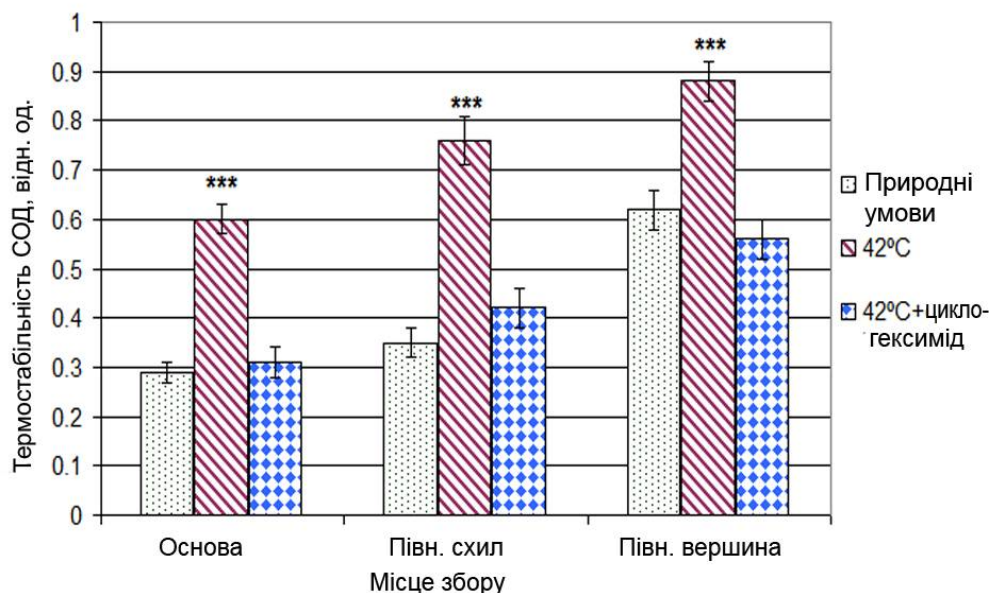


Рис. 4.17. Термостабільність СОД (відн. од.) *Ptychostomum imbricatulum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: (основа, схил та вершина) ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

Примітка: \*\*\* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,001$ .

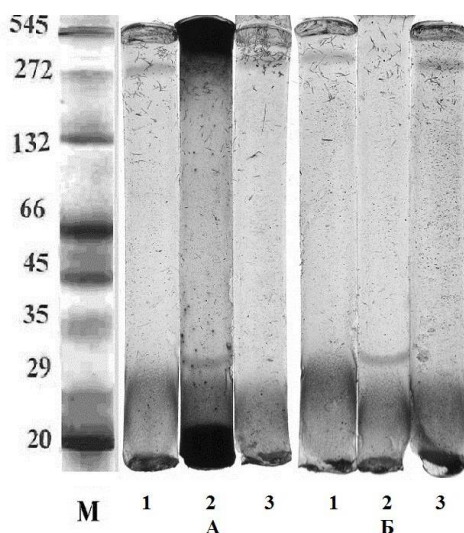


Рис. 4.18. Електрофоретичний спектр СОД *Barbula unguiculata* з територій відвалу № 1 видобутку сірки: М – маркер; А – плато, Б – північна вершина; 1 – контроль, 2 –  $t = 42^\circ\text{C}$  (2 год), 3 –  $t = 42^\circ\text{C} + \text{ЦГ}$  (20  $\mu\text{M}$ ) (2 год).

Найістотніші зміни електрофоретичного спектру СОД відзначалися у мохів з північної вершини відвалу. Зокрема, у *B. unguiculata* під впливом 2-годинної дії температури  $42^\circ\text{C}$  з'явилася низькомолекулярна фракція СОД з ММ 29 кД у зразках з плато та північної вершини (рис. 4.18), а у *P.*

*imbricatulum* – окрім того, зникла високомолекулярна фракція з ММ 272 кД У *P. imbricatulum* з північної вершини відвалу з'явилася ще ізоформа СОД з ММ 35 кД (рис. 4.19).

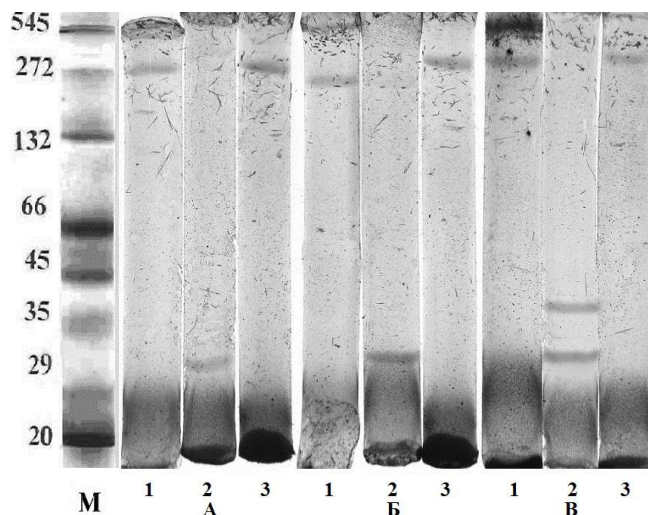


Рис. 4.19. Електрофоретичний спектр СОД *Ptychostomum imbricatulum* з територій відвалу № 1 видобутку сірки: М – маркер; А – плато, Б – північний схил, В – північна вершина; 1 – контроль, 2 –  $t = 42^{\circ}\text{C}$  (2 год), 3 –  $t = 42^{\circ}\text{C} + \text{ЦГ}$  (20 мкМ) (2 год).

Показано, що ефекти появи низькомолекулярних фракцій та зникнення високомолекулярних фракцій СОД нівелювалися обробкою гаметофорів мохів ЦГ. На підставі проведених досліджень можна стверджувати, що антиоксидантні ферменти, зокрема пероксидаза та СОД, зумовлюють формування терморезистентності мохів на посттехногенних територіях видобутку сірки.

Такі ефекти, очевидно, пов'язані з посиленням синтезу термостабільніших форм ферментів (Баїк, Кіт, 2022). В активації їх синтезу, ймовірно, беруть участь АФК, генерація яких тимчасово посилюється внаслідок дії високої температури (Карпець та ін., 2008; Карпець, Колупаєв, 2009; Колупаєв, Обозний, 2013). Ефект зростання активності та термостабільності СОД, спричинений впливом гіпертермії, нівелювався обробкою гаметофорів досліджуваних зразків мохів інгібітором біосинтезу білка циклогексимідом. Отримані результати свідчать про можливість індукованого гіпертермією біосинтезу термостабільних форм СОД.

Відомо, що вплив високих температур може супроводжуватися зміною термостабільності білків, що, очевидно, має значення для їх функціонування в умовах стресу, за яких можливе неспецифічне порушення клітинного гомеостазу. На підставі проведених досліджень можна припустити, що вплив високої температури супроводжувався появою термостабільніших молекулярних форм пероксидази та білків.

Ефект підвищення термостабільності ферменту можна розглядати як механізм адаптації білоксинтезуючої системи до дії високих температур. Підвищення активності й термостабільності ферментів-антиоксидантів та мінливість низькомолекулярних фракцій кислих розчинних білків та ферментів, зумовлена насамперед зміною експресії генів стресових білків, що контролюють синтез специфічних адаптогенів і протекторів, свідчать про те, що екстремальні умови антропогенно трансформованого середовища сприяють розвиткові форм організмів з найвищими адаптивними можливостями.

#### **4.4. ПОКАЗНИКИ ОКСИДНОГО СТРЕСУ У *PTYCHOSTOMUM IMBRICATULUM* ПІД ВПЛИВОМ ВИСОКОЇ ТЕМПЕРАТУРИ Й ІНТЕНСИВНОСТІ ОСВІТЛЕННЯ**

Температурний режим є одним із визначальних чинників довкілля, який впливає на життєдіяльність рослин. Гіпертермія дестабілізує метаболічні процеси. Вважають, що реакції на стресові впливи забезпечують короткочасний захист рослин, а в подальшому сприяють формуванню механізмів спеціалізованої адаптації (Косаківська та ін., 2014). Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) має важливе значення для оновлення біологічних мембран, ротації їх білкового й ліпідного компонентів, регуляції фізико-хімічних властивостей мембран і субклітинних структур (Лушак та ін., 2004). Посилення процесів ПОЛ є універсальним механізмом, за допомогою якого контролюються найважливіші гомеостатичні фізико-хімічні параметри клітини, які відіграють істотну роль у виживанні організмів за впливу екстремальних факторів різного походження, зокрема гіпертермії. Механізм дії високих температур пов'язаний із розвитком оксидативного стресу, який проявляється у інтенсифікації ПОЛ та генерації супероксидного аніон-радикала.

Визначальним етапом утворення АФК є генерація супероксиданіону, який є початковим компонентом всіх ланцюгових реакцій окисного каскаду (Павловская, Гринблат, 2010; Miller et al., 2008; Mittler et al., 2011; Schmitt et al., 2014). Супероксид за допомогою супероксиддисмутази (СОД) перетворюється на пероксид водню ( $H_2O_2$ ), що є компонентом сигнальної трансдукції та запускає перекисне окиснення біополімерів, окиснює суфгідрильні групи ферментів, здійснює дволанцюгові розриви ДНК (Uchida et al., 2002; Smirnoff, 2005). Температурний стрес, як інші абіотичні фактори, призводить до збільшення в клітинах рівня АФК, таких як супероксиданіон,  $H_2O_2$  і гідроксильний радикал (Karpets et al., 2015b; Ren et al., 2021; Wani et al., 2021). Провідну роль серед АФК відіграє супероксиданіон-радикал, оскільки реакція систем його утворення на

вплив екстремальних факторів дуже важлива для адаптивних процесів у рослинах (Колупаєв, 2016; Thakur & Kapila, 2017; Smirnoff & Arnaud, 2019).

Попередніми дослідженнями встановлено, що прогрів зразків моху призводив до підвищення активності ферментів, які генерують супероксиданіон, зокрема пероксидази з подальшим перетворенням його на  $H_2O_2$  внаслідок збільшення активності СОД. Є літературні дані (Колупаєв, Обозный, 2012) щодо функцій СОД не лише в антиоксидантному захисті клітин, а й у трансдукції сигналу дії високих температур в геном шляхом перетворення супероксиданіон-радикала на сигнальну молекулу  $H_2O_2$ . Сигналінг з участю АФК необхідний для подальшого формування адаптивних реакцій, які зумовлюють підвищення теплостійкості рослин.

Показано, що найвищий показник генерації супероксиданіон-радикала у зразках *P. imbricatum*, зібраних влітку з північної вершини відвалу, становить 38,2%, із плато – 25,1%, 15,3% з північного схилу та найнижчий в основі відвалу – 10,2% (рис. 4.20, а).

Восени показники генерації супероксиданіон-радикала знижувались. Так, у рослин з північної вершини відвалу вони становили до 20,3%, а з основи до 5,1%, що, очевидно, пов'язано з оптимальними температурними умовами та зниженням інтенсивності освітлення в цей сезон (рис. 4.20, б). Вплив короткотривалого температурного стресу в експерименті призводив до незначного зростання генерації супероксиданіон-радикала у зразках, зібраних влітку – на 5.1–10.2% та її посилення у зразках *P. imbricatum*, зібраних восени – на 10.2–20.3% (в основі та північному схилі ~ 10,2 %, на плато і північній вершині ~ 20,3%) (рис. 4.20).

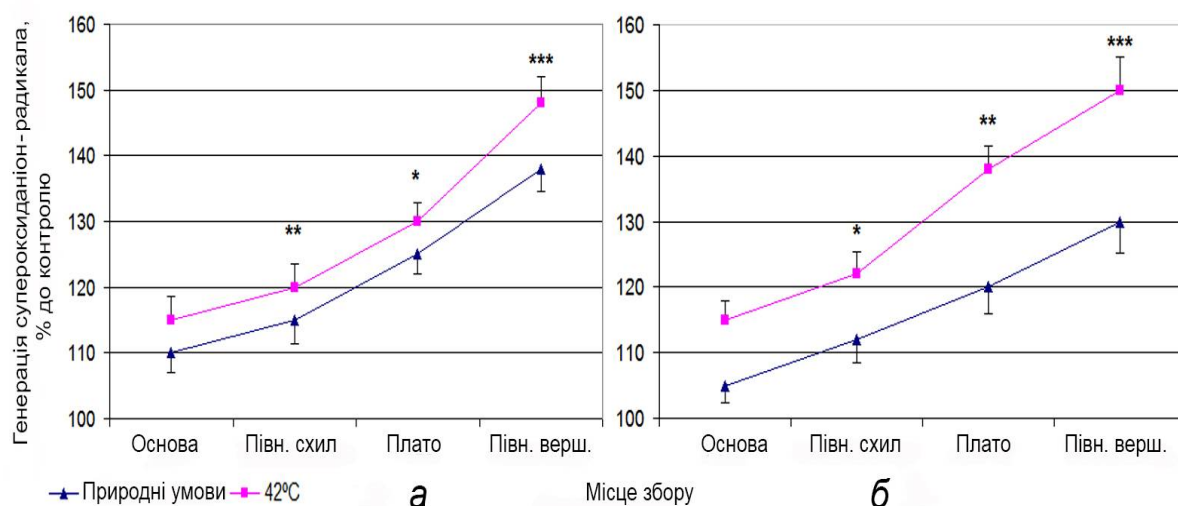


Рис. 4.20. Генерація супероксид-аніон радикала (% до контролю) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної

експозиції відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил та вершина), *a* – влітку та *b* – восени ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

*Примітка:* \* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$ .

Отже, встановлено, що гіпертермія спричинювала підвищену генерацію супероксиданіон-радикала у зразках *P. imbricatulum* із дослідних трансект відвалу видобутку сірки. Найвищі показники прооксидантної ланки (кількість супероксиданіон-радикала) виявлені у зразках з північної вершини відвалу за найвищих температур та інсоляції. Як показали результати досліджень, за впливу гіпертермії та високої інтенсивності освітлення активуються окисно-відновні процеси. При цьому нагромадження прооксидантних компонентів мало сигнальне адаптивне значення при перебудові метаболізму моху до змін умов існування.

Пероксид водню відіграє центральну роль в реакції рослин на біотичні та абіотичні стреси. Встановлено, що найвищий вміст пероксиду водню влітку був у зразках *P. imbricatulum* з північної вершини ( $1,29 \pm 0,09$  мкМ/маси с.р.), дещо нижчий у зразках з плато ( $1,19 \pm 0,05$  мкМ/г маси с.р.). Найнижчий вміст цього метаболіту був у зразках з основи відвалу ( $0,74 \pm 0,05$  мкМ/г маси с.р.), за оптимальної температури. В умовах експерименту спостерігалось підвищення вмісту  $H_2O_2$  у всіх дослідних зразках. Показано, що високі температури ініціюють генерацію пероксиду водню. Гіпертермія в експерименті спричиняла підвищення вмісту  $H_2O_2$  в усіх дослідних зразках в 1,21–1,52 разів (рис. 4.21). Посилене утворення АФК, у тому числі  $H_2O_2$ , за дії екстремальних температур, може бути причиною активації сигнальних систем, що призводить до адаптивних змін експресії генів. Отже, підвищення вмісту  $H_2O_2$  як сигнального медіатора, є складовою системи антиоксидантного захисту.

Відомо, що у рослин в умовах стресу відбувається підвищення вмісту пероксиду водню (Kasperska, 2004; Alvarez & Sanchez-Blanco, 2014; Легостаєва, Воляник, 2017). Утворення АФК, зокрема  $H_2O_2$ , під впливом абіотичного стресу ініціює у рослин каскад реакцій, що допомагає їм уникати стресових навантажень (Колупаєв, 2016; Neill et al., 2002a; Neill et al., 2002b; Karpets et al., 2016). Перекис водню є одним з АФК і будучи найстабільнішим з них, він відіграє велику роль як сигнальна молекула в клітинному метаболізмі (Колупаєв, Карпец 2009; Sung et al., 2003; Wani et al., 2021). В умовах стресу концентрація  $H_2O_2$  в рослинах різко зростає, активуючи захисні системи (Prasad et al., 1994; Dat et al., 2000; Jiang & Zhang, 2002), він бере участь в міжклітинній сигнальній опосередкованій системі набутої стійкості. Синтез  $H_2O_2$  відбувається за умов стресу і є

сигналом для запуску ряду молекулярних, біохімічних і фізіологічних процесів клітин, у тому числі й адаптації рослин до екстремальних температур (Proctor et al., 2007; Siddiqui et al., 2011; Demidchik, 2015; Karpets et al., 2015a). АОС є основним механізмом усунення токсичних пероксидів. Показано, що  $H_2O_2$  може викликати експресію генів, потенційно задіяних не лише в його деградації, але й в його генерації (Guan & Scandalios, 2000; Neill et al., 2002a; Karpets, 2019; Li et al., 2020).

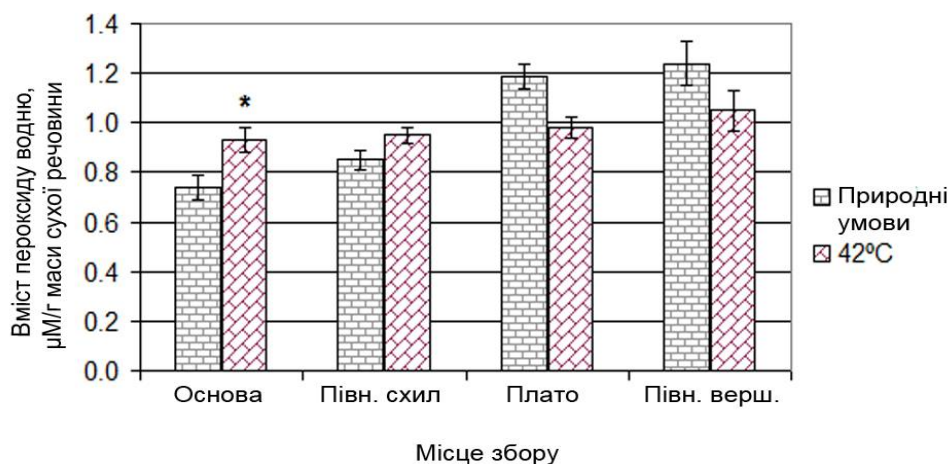


Рис. 4.21. Вміст пероксиду водню (мкМ/г маси сухої речовини) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил та вершина) ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

Примітка: \* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,05$ .

Літературні дані свідчать, що продукти ПОЛ беруть участь у передачі сигналів від первинних месенджерів, спрямованих на запуск каскаду реакцій, необхідних для пристосування і виживання організмів в екстремальних умовах (Дубинина, 2001; Apel & Hirt, 2004; Gupta & Igamberdiev, 2015; Hasanuzzaman et al., 2020). Як відомо, у біологічних мембранах окиснення зазнають, головню, поліненасичені жирні кислоти, тому виявлення дієнових і трієнових кон'югатів та дієнкетонів може слугувати чутливим тестом процесу їх окиснення (Durand et al., 2019). Делокалізація подвійних зв'язків ДК робить їх термодинамічно стійкішими.

За стресових умов активація окисно-відновних процесів супроводжувалась накопиченням прооксидантних компонентів (дієнових кон'югатів – ДК, дієнкетонів), що мало сигнальне й адаптивне значення при перебудові метаболізму рослин до несприятливих факторів середовища. Досліджено вплив високих температур та інтенсивності

освітлення на вміст ДК і дієнкетонів у зразках моху *Ptychostomum imbricatum* з території відвалу видобутку сірки. За результатами наших досліджень, ці показники істотно залежали від екологічних умов як місцевиростання рослин, так і сезону збору матеріалу. Показано, що найвищі показники вмісту ДК і дієнкетонів у зразках із північної вершини відвалу влітку становили відповідно  $23,3 \pm 0,2$  та  $19,1 \pm 0,2$  одиниць абс./мг с. м., а найнижчі – в основі відвалу, де температура (до  $+25^\circ\text{C}$ ) й інтенсивність освітлення (до 90 тис. лк) порівняно менші –  $9,2 \pm 0,6$  та  $8,8 \pm 0,2$  одиниць абс./мг с.м. (рис. 4.22, а; 4.23, а).

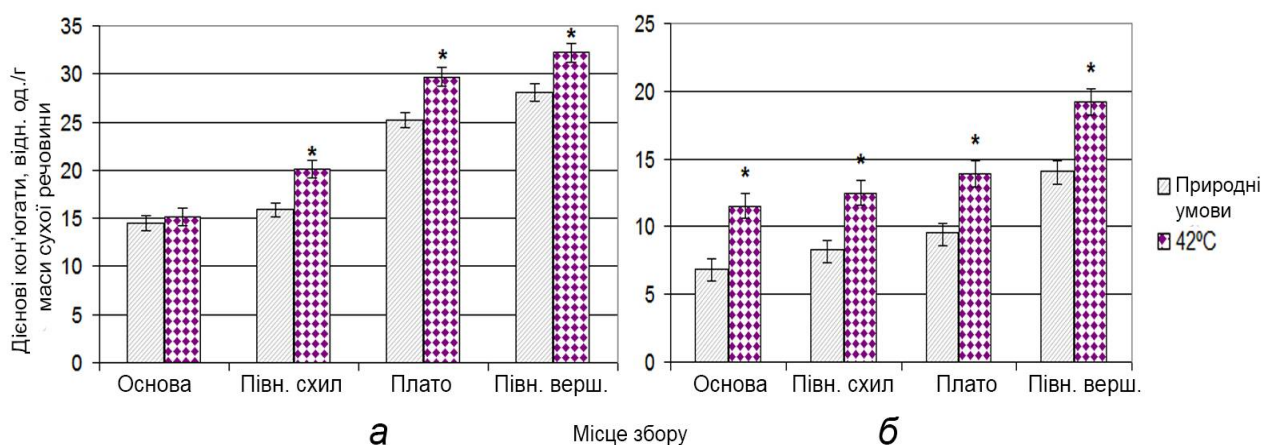


Рис. 4.22. Вміст дієнових кон'югатів (ДК) (відн. одиниць абс./ г маси сухої речовини) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил та вершина), а – влітку та б – восени ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

Примітка: \* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,05$ .

Восени, коли температурний та інсоляційний режими знижувались, вміст ДК і дієнкетонів зменшувався приблизно у 1,21–1,42 рази (рис. 4.22, 4.23, б). Так, вміст ДК і дієнкетонів у зразках *P. imbricatum* з вершини відвалу становив відповідно  $18,3 \pm 0,8$  та  $16,5 \pm 0,4$  одиниць абс./мг с.м., а з основи –  $7,4 \pm 0,3$  та  $6,1 \pm 0,2$  одиниць абс./мг с.м. В умовах експерименту короткотривалий температурний стрес призводив до незначного в 1,23 рази зростання вмісту ДК і дієнкетонів у зразках, зібраних влітку та більш істотного восени в 1,22–1,51 рази. Так, за дії гіпертермії в експерименті вміст ДК у зразках моху, зібраних влітку з північної вершини, зростав до  $25,4 \pm 0,6$  одиниць абс./мг с.м., в основі до  $11,2 \pm 0,3$  одиниць абс./мг с.м., а вміст дієнкетонів до  $26,3 \pm 0,5$  одиниць абс./мг с.м. та  $10,1 \pm 0,5$  одиниць абс./мг с.м., відповідно (рис. 4.22, а; 4.23, а).

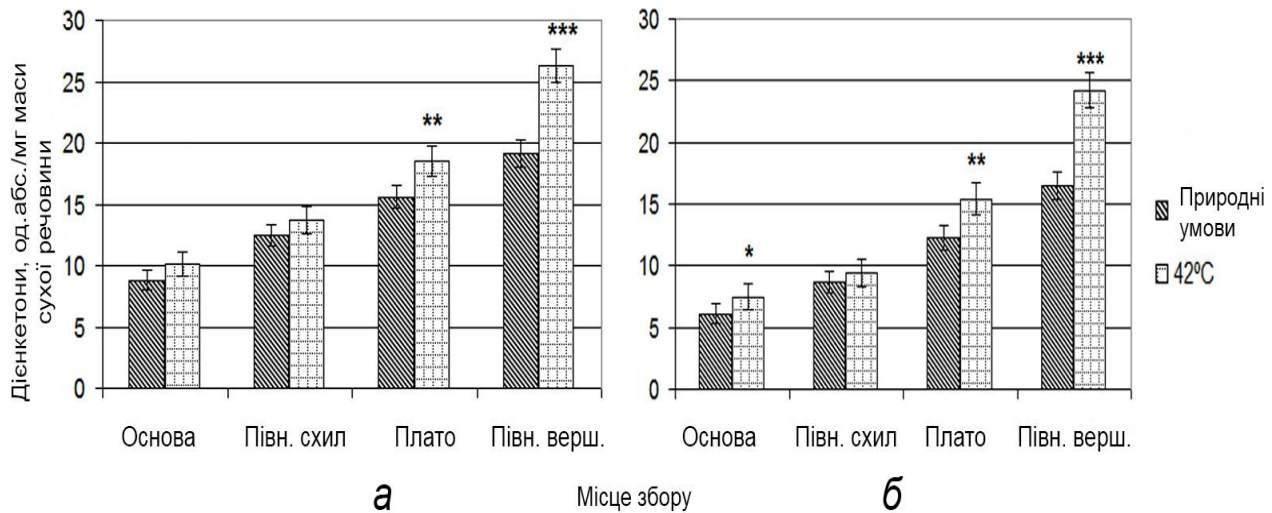


Рис. 4.23. Вміст дієнкетонів (одиниць абс./ мг маси сухої речовини) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил та вершина), *a* – влітку та *б* – восени ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

Примітка: \* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$ .

Показники вмісту ДК в експерименті у зразках моху, зібраних восени, зростали до  $21,5 \pm 0,6$  одиниць абс./мл (північна вершина) і до  $8,9 \pm 0,2$  одиниць абс./мг с.м. (основа), а дієнкетонів – до  $24,2 \pm 0,4$  (північна вершина) і до  $7,5 \pm 0,3$  одиниць абс./мг с.м. (основа) (рис. 4.22, *b*; 4.23, *b*). Отже, виявлене нами збільшення первинних продуктів ліпопероксидації ДК і дієнкетонів за дії гіпертермії може вказувати на інтенсифікацію вільнорадикального окиснення за несприятливих кліматичних умов на території відвалу видобутку сірки, що призводить до посилення процесів ПОЛ.

Збільшення вмісту ДК і дієнкетонів в умовах гіпертермії та високої інтенсивності освітлення супроводжувалось нагромадженням трієнових кон'югатів (ТК). Встановлено найвищі показники ТК у *P. imbricatum* влітку на вершині відвалу та на плато –  $28,1 \pm 0,3$  та  $25,2 \pm 0,2$  одиниць абс./мг с.м., відповідно, найменші в основі –  $14,5 \pm 0,3$  одиниць абс./мг с.м.. (рис. 4.24). В умовах експерименту за дії короткотривалої гіпертермії в літній період вміст ТК зростав приблизно в 1,23 рази в усіх зразках з дослідних трансект відвалу (рис. 4.24, *a*). Восени у всіх зразках *P. imbricatum* вміст ТК зменшувався приблизно в 2,0 рази (рис. 4.24, *b*).



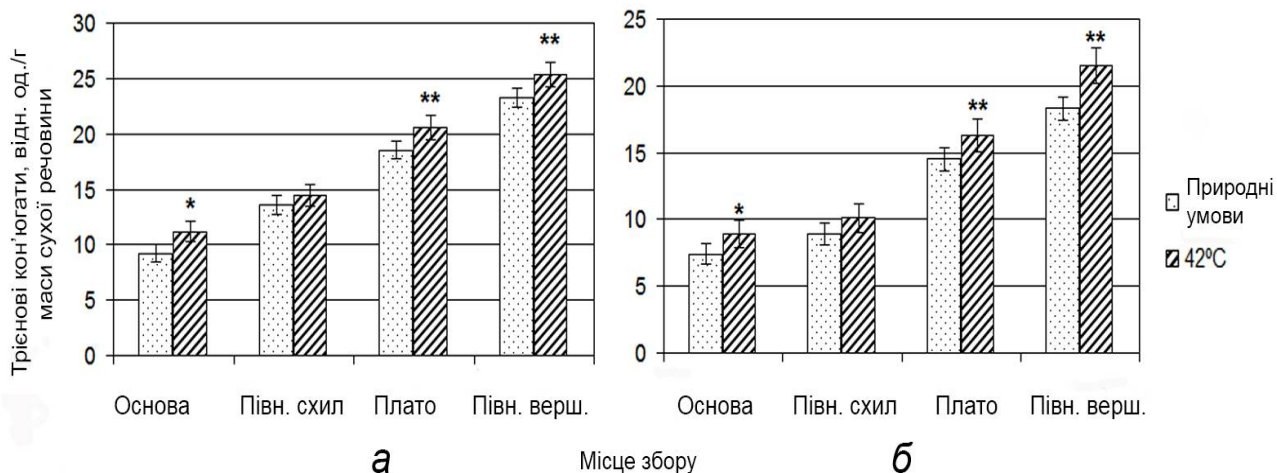


Рис. 4.24. Вміст трієнових кон'югатів (ТК) (відн. одиниць абс./мл) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил та вершина), а – літку та б – восени ( $M \pm m$ ;  $n=4$ ).

Примітка: \* – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем при  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ .

Так, вміст ТК у зразках моху з вершини знижувався до  $14,1 \pm 0,2$  одиниць абс./мг с.м., а з основи – до  $6,9 \pm 0,3$  одиниць абс./мг с.м.. В умовах експериментальної гіпертермії вміст ТК зростав в 1,42–1,71 рази у всіх зразках *B. caespiticium*. Так, найвищий вміст ТК був у зразках з північної вершини  $19,2 \pm 0,2$  одиниць абс./мг с. м., а найнижчий – у зразках з основи  $11,5 \pm 0,2$  одиниць абс./мг с.м.

Отже, гіпертермія та інсоляція спричинюють збільшення вмісту первинних продуктів ліпопероксидації. Розвиток оксидного стресу проявляється в інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Нагромадження радикальних і молекулярних продуктів ПОЛ може бути сигналом для активації захисних систем, посилення експресії генів і процесів, що призводять до підвищення стійкості рослин.

#### 4.5. СТРЕС-ІНДУКОВАНІ ЗМІНИ ЗАГАЛЬНОЇ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ У *PTYCHOSTOMUM IMBRICATULUM* ЗАЛЕЖНО ВІД ІНТЕНСИВНОСТІ ОСВІТЛЕННЯ ТА ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМУ НА ВІДВАЛАХ ВИДОБУТКУ СІРКИ

Гіпертермія призводить до значних змін в метаболізмі клітин, що супроводжується збільшенням утворення в них активних форм кисню (АФК) і, як наслідок, пошкодженням клітинних структур. Відомо, що стресові фактори, у тому числі й висока температура, індують

антиоксидантну систему (АОС) (Обозный и др., 2012). Важливу роль у захисті рослин від окиснювального стресу відіграє АОС, що включає як високомолекулярні, так і низькомолекулярні антиоксиданти. Вважається, що низькомолекулярні антиоксиданти, від яких залежить ЗАА, є одним з механізмів конститутивної стійкості рослин до гіпертермії (Обозный и др., 2013). Низькомолекулярні антиоксиданти різні за структурою і хімічними властивостями сполуки, що здатні взаємодіяти з кисневими і органічними радикалами, інгібувати протікання вільнорадикальних процесів в клітинах. Хоча неферментативні низькомолекулярні антиоксиданти є менш ефективною АОС, порівняно з ферментативною (Zhang, Kirkham, 1994; Zhang et. al., 2017), однак також забезпечують стійкість рослин до стресових впливів.

Досліджували загальну антиоксидантну активність (ЗАА) *Ptychostomum imbricatum* з дослідних трансект відвалу № 1 видобутку сірки залежно від температурного режиму. ЗАА низькомолекулярних антиоксидантів проявляється у реакції рослинного екстракту з розчином радикала – 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразилу (DPPH). При взаємодії розчину радикала зі сполукою, що є донором електронів, відбувається відновлення молекули DPPH, яке супроводжується зміною забарвлення вихідного розчину із фіолетового на блідо-жовте (Molyneux, 2004; Okawa et al., 2001). Показано, що найвища ЗАА була у зразків моху з північної вершини ( $80,6 \pm 4,5$  %) та плато ( $71,6 \pm 4,1$  %) відвалу, де температура у літні місяці становила  $38-41^{\circ}\text{C}$ . У зразків *P. imbricatum* з північного схилу та основи відвалу, де температура досягала  $30^{\circ}\text{C}$  ЗАА була дещо нижчою –  $62,2 \pm 2,1$  % та  $43,1 \pm 2,5$  % відповідно. В умовах експерименту, коли зразки піддавались впливу температури  $42^{\circ}\text{C}$  впродовж 2 год ЗАА зростала в усіх випадках, однак у зразків з вершини відвалу це збільшення не було таким значним, лише в 1,1 раз. Так, ЗАА у рослин після прогріву з плато становила  $81,3 \pm 3,2$  %, з північного схилу  $75,9 \pm 3,1$  %, а з основи  $50,2 \pm 2,5$ . Таким чином, найбільше зростання ЗАА після прогріву було у зразках *P. imbricatum* з основи відвалу. Можна припустити, що зростання ЗАА відіграє важливу роль від окиснювального пошкодження в умовах температурного стресу (рис. 4.25).

Основою адаптації до несприятливих умов довкілля є ефективне функціонування антиоксидантної захисної системи. В публікаціях показано участь в адаптивних реакціях рослин до екстремальних абіотичних чинників як високомолекулярних, так і низькомолекулярних метаболітів, зокрема, речовин фенольної природи (розчинних фенолів, антоціанів, флавоноїдів), а також речовин терпеноїдної природи – каротиноїдів. Речовини фенольної природи вважаються найважливішими ендогенними низькомолекулярними органічними антиоксидантами, які є активними метаболітами клітинного обміну. Протекторний ефект

рослинних фенолів у судинних рослин доведено у випадках дії екстремально високих та низьких температур, високої інсоляції, засолення та ін. (Ахмадиева и др., 1993; Rivero et al., 2001; Edreva et al., 2008).

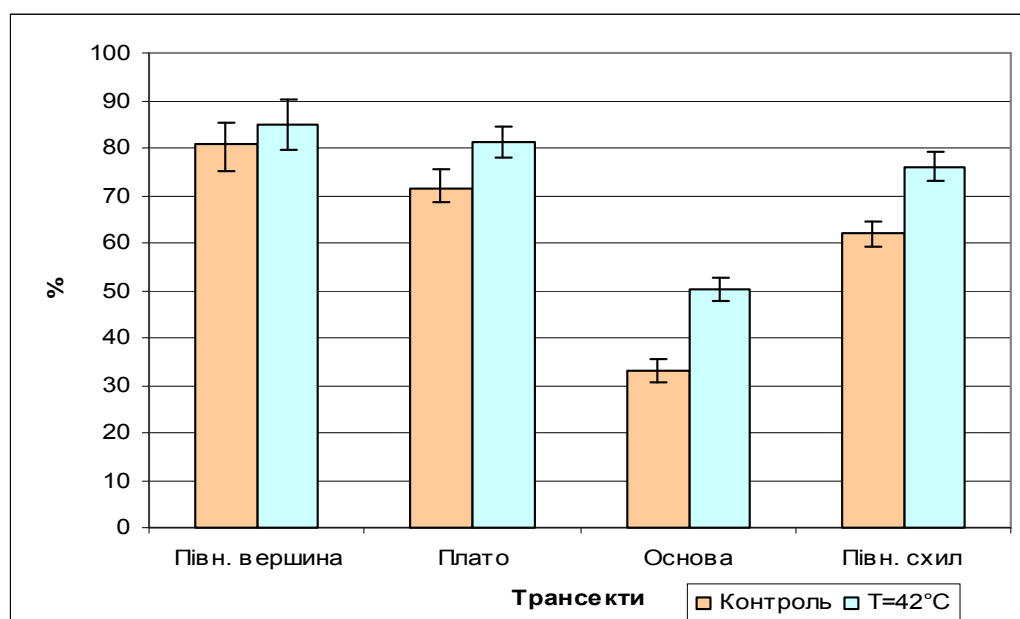


Рис. 4.25. Загальна антиоксидантна активність (%) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки в природних умовах (контроль) та за дії гіпертермії в експерименті

Недостатньо досліджено питання щодо захисної ролі низькомолекулярних антиоксидантів у розвитку стрес-толерантності до дії аномально високих температур та інсоляції, зокрема у мохів. Тому метою досліджень було вивчення змін кількісного вмісту фенольних сполук, антоціанового та каротиноїдного пігментного комплексу у моху *Ptychostomum imbricatum* з дослідних трансект відвалу №1 Державного гірничо-хімічного підприємства „Сірка” за дії гіпертермії та високої інтенсивності освітлення.

У рослин адаптація забезпечується численними фізіолого-біохімічними механізмами. Однією з особливостей формування стійкості рослин до абіотичних факторів є здатність до синтезу вторинних метаболітів, до яких належать фенольні сполуки. Вони беруть участь в різних фізіологічних процесах: в регуляції фотосинтезу та 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. Антиоксидантні властивості фенолів зумовлені їх високими донорними властивостями та здатністю їх

радикалів стабілізувати і делокалізувати неспарений електрон, що зупиняє ланцюгові реакції.

Встановлено, що в літній період найвищий вміст фенольних сполук був у зразках *P. imbricatulum* з північної вершини –  $0,89 \pm 0,04$  мг/г маси с.р., де  $t^0$  становила  $35\text{--}38^{\circ}\text{C}$ , а інтенсивність освітлення –  $100\text{--}110$  тис. лк; дещо нижчий показник у зразках з плато –  $0,65 \pm 0,03$  мг/г маси с.р. Значно нижчими були показники вмісту фенольних сполук у зразках моху з північного схилу та основи за значно нижчих температур та інтенсивності освітлення  $6\text{--}7$  тис. лк –  $0,59 \pm 0,05$  та  $0,52 \pm 0,03$  мг/г маси с.р. відповідно. Під впливом гіпертермії в умовах експерименту ( $42^{\circ}\text{C}$  впродовж 2 год) спостерігалось підвищення вмісту фенольних сполук в усіх дослідних зразках. Однак найістотніше цей показник зростав у зразках *P. imbricatulum* з основи відвалу ( $0,78 \pm 0,04$  мг/г маси с.р.), що майже в 1,5 рази перевищував вміст фенольних сполук у природних умовах (рис. 4.26).

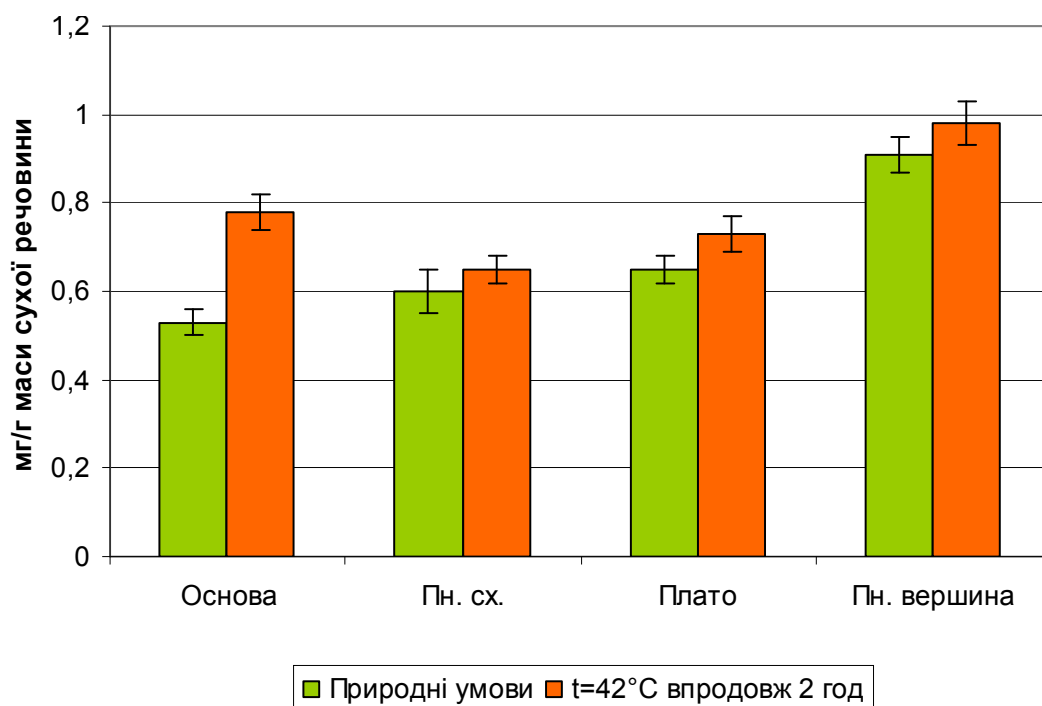


Рис. 4.26. Вміст фенолів (мг/г маси сухої речовини) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatulum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки

Виявлене збільшення вмісту фенольних сполук свідчить, що за дії екстремальних факторів середовища, очевидно, розвивається оксидативний стрес, за якого активуються фізіологічні та біохімічні системи адаптації метаболізму моху, спрямовані на відновлення гомеостазу. У відповідь на температурний стрес активуються неспецифічні адаптивні механізми у клітинах рослин. Можливо, що саме з індукцією цих механізмів пов'язане збільшення синтезу фенольних

сполук, які відіграють роль компонентів антиоксидантної системи рослин. Є літературні дані (Меньшикова и др., 1993; Меньшикова и др., 2006) про зміни вмісту окремих класів фенольних сполук, а також адаптивної ролі антоціанів за дії екстремальних абіотичних чинників. Підставою для такого припущення є сильні антиоксидантні властивості антоціанів та здатність контролювати рівень пероксиду водню, що підвищується. Антоціани є антиоксидантами, що знешкоджують активні форми кисню, які утворюються в стресових умовах. Вміст антоціанів є домінуючим компонентом фенольного комплексу. Вважають, що антоціани беруть участь у захисті мембран тилакоїдів в умовах стресу (Neill et al., 2002).

Нами виявлено тенденцію нагромадження антоціанів за умов високих температур та інтенсивності освітлення в літній період, особливо, на вершині відвалу ( $8,83 \pm 0,44$  мг/г с.м) та північному 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 дещо зменшувався в 1,2–1,3 рази на усіх дослідних трансектах, хоча тенденція зростання їх вмісту від основи до вершини зберігалась (рис. 4.27).

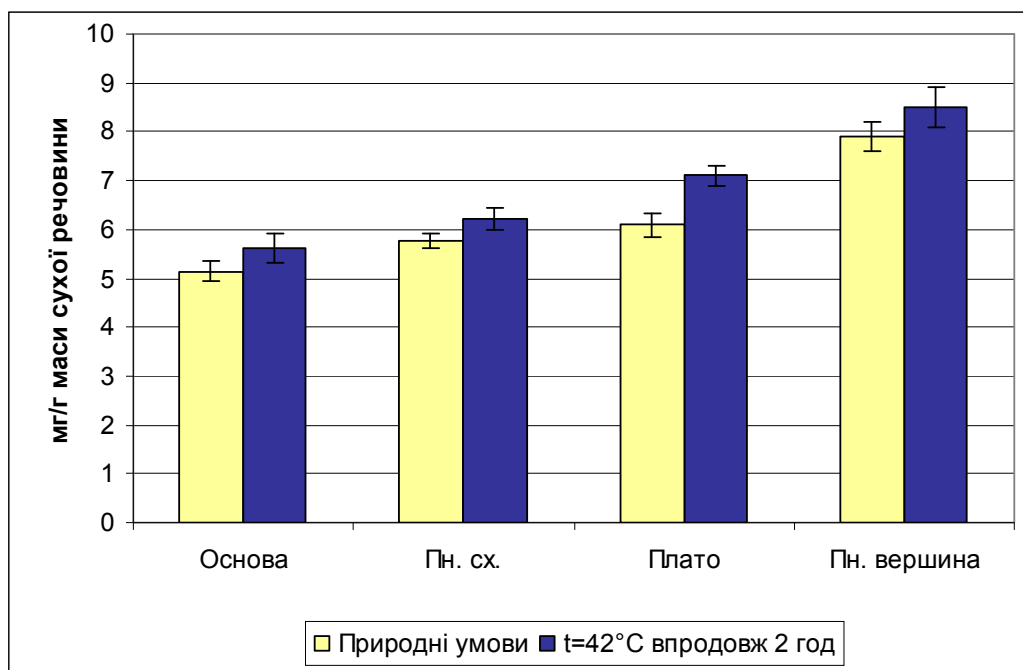


Рис. 4.27. Вміст антоціанів (мг/г маси сухої речовини) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки

Під впливом гіпертермії в умовах експерименту ( $42^{\circ}\text{C}$  впродовж 2 год) встановлено незначне (в 1,2 рази) підвищення вмісту антоціанів в усіх дослідних зразках *P. imbricatum* (табл. 4.6).

**Вміст антоціанів (мг/г сухої маси) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* з різних місцевиростань відвалу видобутку сірки**

№ п/п	Трансекти	Вміст антоціанів (мг/г сухої маси)	
		Природні умови	t 42 <sup>0</sup> C
1.	Основа	5,14±0,21	5,61±0,30
2.	Північний схил	5,78±0,15	6,22±0,22
3.	Плато	6,11±0,25	7,11±0,21
4.	Північна вершина	7,92±0,30	8,51±0,41

Високий вміст антоціанів у відповідь на температурний стрес та інсоляцію свідчить про їх важливу роль у подоланні оксидативного стресу і адаптацію моху. Очевидно, реакцією рослин моху на несприятливі фактори довкілля є підвищення рівня антоціанів, яке спрямоване на знешкодження окисних пошкоджень, викликаних дією стрес-факторів. Оскільки відомо, що існує тісний взаємозв'язок між нагромадженням, якісними та кількісними характеристиками антоціанів в рослинах і факторами природного середовища, зокрема, температурою та інтенсивністю освітлення.

Каротиноїди є компонентами пігментного комплексу та низькомолекулярними антиоксидантами терпеноїдної природи. Дослідження показали сезонну мінливість вмісту каротиноїдів у моху *P. imbricatum* із дослідних трансект. Встановлено зростання вмісту каротиноїдів на трансектах високою інтенсивністю освітлення та температурою (північна вершина та плато відвалу) влітку та восени. Так, вміст каротиноїдів на вершині відвалу влітку був найвищим і становив 0,73±0,02 мг/г с.м., на плато – 0,55±0,03 мг/г с.м. Найнижчий показник вмісту каротиноїдів був у моху з основи відвалу – 0,41 ±0,05 мг/г с.м. Таке підвищення вмісту каротиноїдів свідчить про розвиток захисних реакцій, що сприяють розсіюванню надлишкової світлової енергії та знешкоджують АФК.

Восени ця тенденція зменшення вмісту каротиноїдів у зразках від вершини до основи відвалу зберігалась. За оптимальних кліматичних умов восени вміст каротиноїдів на вершині відвалу становив 0,61±0,02 мг/г с.м., а в основі зменшувався до 0,38±0,05 мг/г с.м. (рис. 4.28).

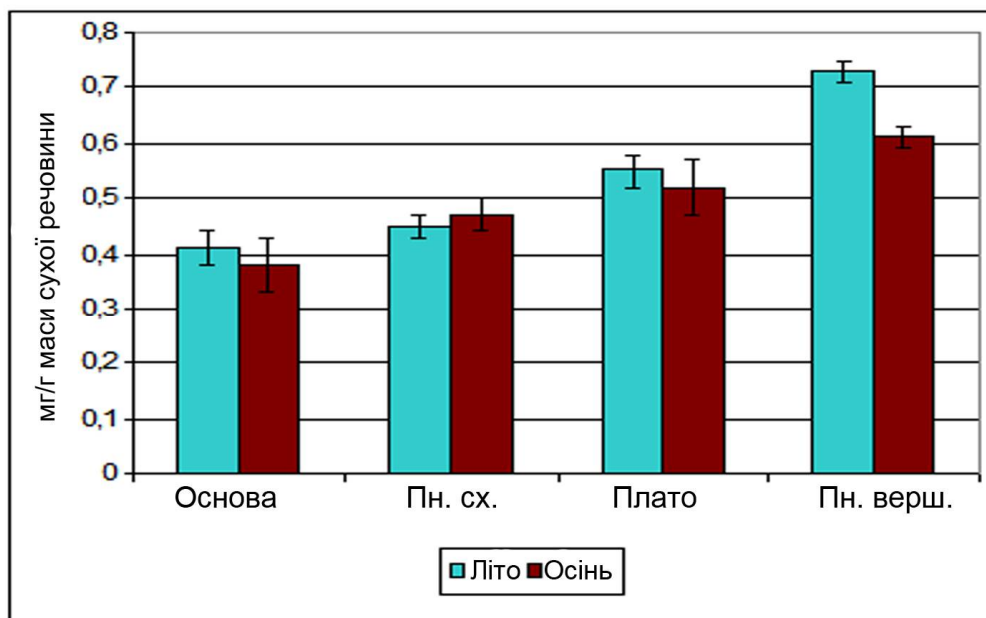


Рис. 4.28. Вміст каротиноїдів (мг/г маси сухої речовини) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки

Враховуючи антиоксидантні властивості каротиноїдів можна припустити їхню участь у формуванні адаптації до екстремальних чинників довкілля на посттехногенних територіях. Очевидно, посилений синтез каротиноїдів у моху *P. imbricatum* є генетично обумовленим і необхідною умовою виживання в умовах абіотичного стресу.

Таким чином, встановлено, що висока інтенсивність освітлення та екстремальні температури у літній період, особливо на вершині породного відвалу, спричинюють збільшення пулу розчинних фенольних сполук, антоціанів та каротиноїдів, що сприяє адаптації моху *P. imbricatum* до несприятливих абіотичних чинників і може слугувати індикатором фізіологічного та біохімічного стану рослинного організму.

Відомо, що флавоноїди накопичуються під час стресу, підвищуючи стійкість рослин. Захисна роль флавоноїдів проявляється у активації їхнього біосинтезу як відповідь на дію стресових факторів. Встановлено, що влітку за високих температур, інтенсивності освітлення та різко вираженого дефіциту вологи вміст флавоноїдів зростає від основи до вершини відвалу. Так, на вершині відвалу вміст флавоноїдів становив  $19,56 \pm 0,21$  мг/г с.м., на північному схилі –  $17,61 \pm 0,21$  мг/г с.м., на плато –  $18,21 \pm 0,30$  мг/г с.м., а в основі –  $14,51 \pm 0,21$  мг/г с.м. В осінній період у відповідь на зниження температур також відбувався інтенсивний біосинтез флавоноїдів, зокрема, на вершині та плато –  $17,09 \pm 0,11$  мг/г с.м. та  $17,19 \pm 0,20$  мг/г с.м. відповідно, на північному схилі та в основі відвалу –  $14,23 \pm 0,23$  мг/г с.м.  $12,30 \pm 0,18$  мг/г с.м. відповідно (рис. 4.29).

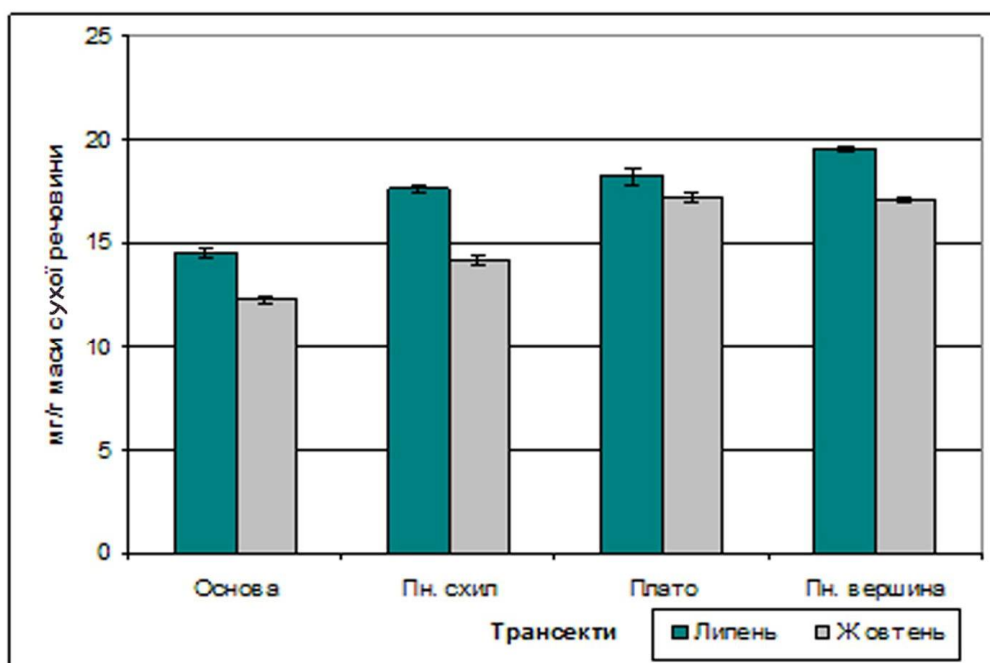


Рис. 4.29. Вміст флавоноїдів (мг/г маси сухої речовини) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки

Очевидно, зростання вмісту флавоноїдів восени супроводжувалося 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. Окрім того, при адаптаційних процесах рослин до стресових факторів відбувається посилена експресія генів, відповідальних за синтез ферментів флавонового метаболізму (Winkel-Shirley, 2001). На основі отриманих даних встановлено сезонну динаміку накопичення флавоноїдів та взаємозв'язок між вмістом флавоноїдів та негативним впливом екстремальних стресових чинників у моху *P. imbricatum*. Отже, у відповідь на високу інсоляцію влітку та зниження температур в осінній період спостерігаються зміна вмісту флавоноїдів, спрямоване на адаптацію рослин.

У відповідь на дію стрес-факторів зростає активність антиоксидантних систем захисту: ферментативних і неферментативних, серед яких значну роль відіграє аскорбінова кислота. Ензиматична антиоксидантна система не забезпечує 100% захисту клітин рослин під час стресу. Під впливом стресорів на рослини спостерігається швидка інактивація конститутивного пулу антиоксидантних ферментів. Тому низькомолекулярні антиоксиданти в багатьох випадках здатні більш ефективно здійснювати захист метаболізму від активних форм кисню (АФК) (Blokhina et al., 2003). Антиоксидантні метаболіти відіграють



важливу роль в адаптації рослин до гіпертермії (Попов и др., 2010) та інших факторів, що призводять до генерації надлишкової кількості АФК. Аскорбат є потужним антиоксидантом, регулятором окисно-відновних процесів та задіяний в клітинній сигналізації (Foyer, Noctor, 2011). Аскорбінова кислота – це унікальна поліфункціональна сполука, що має здатність зворотно окиснюватись і відновлюватись, завдяки чому вона бере участь у найважливіших процесах клітини, є антиоксидантом і активним антидотом вільнорадикальних механізмів (Варданян и др., 2015), які посилюються під час стресу. Участь аскорбату в антиоксидантному захисті, головним чином, зводиться до його ролі в циклі Фойер–Холлівела–Асади, відомого як аскорбат-глутатіоновий цикл, під час якого проходить детоксикація  $H_2O_2$  у всіх компартментах клітин. Крім цього, аскорбінова кислота безпосередньо реагує із супероксидними аніон–радикалами, молекулярним синглетним киснем і гідроксильними радикалами. Функціонування аскорбінової кислоти в рослинних клітинах пов'язане з глутатіоном, основна функція якого підтримання пулу відновленої форми аскорбату. Обидва ці низькомолекулярні антиоксиданти реагують на порушення гомеостазу шляхом зміни їх накопичення. У зв'язку з цим метою роботи було оцінити роль аскорбінової кислоти в адаптації моху *Ptychostomum imbricatum* до гіпертермії та інсоляції й встановити особливості виходу рослин з окиснювального стресу.

Досліджено вплив високих температур та інтенсивності освітлення на вміст аскорбінової кислоти у зразках моху *P. imbricatum* Hedw. Встановлено, що в літній період за температури 30–38°C та освітлення 110 тис. лк вміст аскорбінової кислоти зменшувався від основи до вершини. Отже, вміст аскорбату визначався не лише впливом гіпертермії та інсоляції, а й умовами виростання моху. Так, вміст аскорбінової кислоти у зразках моху з основи відвалу влітку становив  $0,41 \pm 0,02$  мг/г с.м., а з вершини –  $0,28 \pm 0,02$  мг/г с.м., тобто в 1,5 рази менше. Таке зниження вмісту аскорбінової кислоти за екстремальних умов, ймовірно, можна пояснити тим, що її резерв використовується на запобігання деструктивним процесам в клітинах моху (рис. 4.30). Восени за оптимальних для моху умов ( $t = + 14-18^\circ C$ , інтенсивність освітлення  $\sim 80$  тис. лк) вміст аскорбінової кислоти зростав від основи до вершини, порівняно з літнім періодом, у 1,8–3,1 рази. Так, в основі відвалу він становив  $0,75 \pm 0,02$  мг/г с.м., а на вершині –  $0,88 \pm 0,03$  мг/г с.м. (рис. 4.30, 4.31).

В умовах експерименту короткочасний температурний стрес (2 год,  $+42^\circ C$ ) призводив до незначного зменшення вмісту аскорбінової кислоти в 1,1–1,3 рази у зразках, зібраних влітку та восени як з основи, так і вершини відвалу. Під дією гіпертермії в експерименті у зразках моху,

зібраних влітку з основи відвалу вміст аскорбату зменшувався від  $0,41 \pm 0,02$  мг/г с.м до  $0,36 \pm 0,01$  мг/г с.м, тобто лише в 1,1 рази, а з північної вершини від  $0,28 \pm 0,0$  мг/г с.м до  $0,21 \pm 0,02$  мг/г с.м, тобто у 1,3 рази.

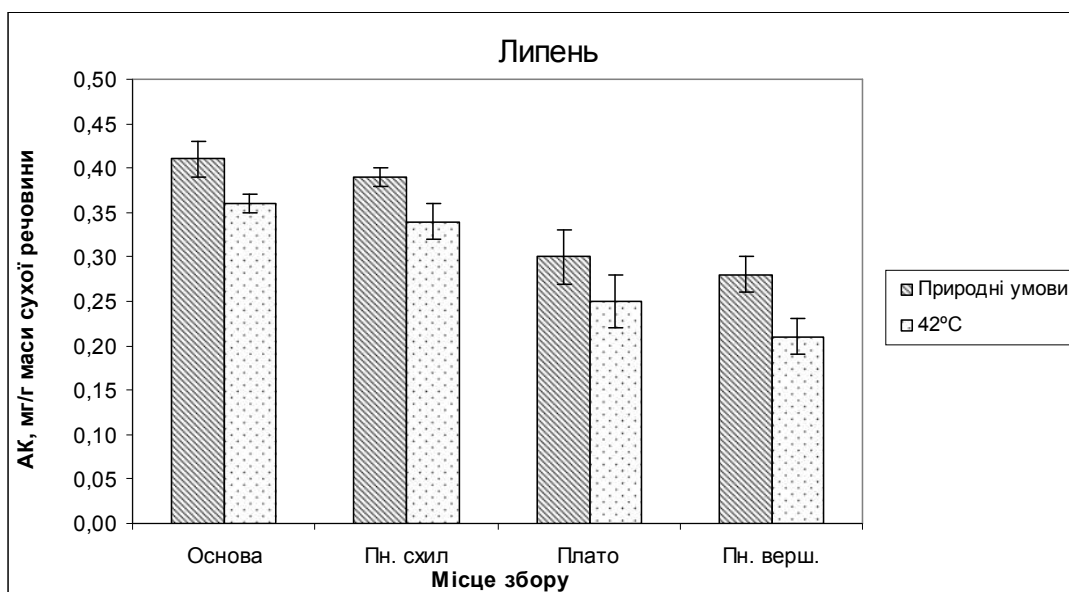


Рис. 4.30. Вміст аскорбінової кислоти (мг/г маси сухої речовини) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки влітку

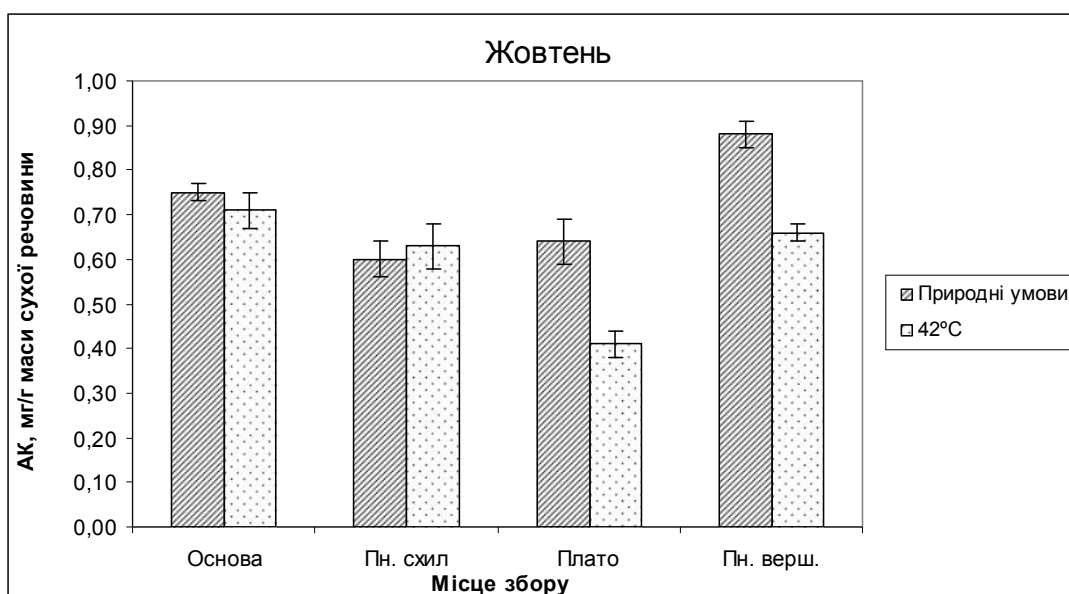


Рис. 4.31. Вміст аскорбінової кислоти (мг/г маси сухої речовини) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки восени

Показники вмісту аскорбату в експерименті за дії гіпертермії у зразках моху, зібраних восени з основи відвалу знижувалися від  $0,75 \pm 0,02$

мг/г с.м до  $0,71 \pm 0,04$  мг/г с.м та вершини від  $0,88 \pm 0,03$  мг/г с.м до  $0,66 \pm 0,02$  мг/г с.м. (рис.4.30, 4.31). Зниження вмісту аскорбінової кислоти після термічної обробки може бути пов'язане з активним використанням аскорбату як субстрату в реакції, що каталізується аскорбатпероксидазою. Отже, аскорбатзалежна складова антиоксидантної системи задіяна в адаптивних реакціях на гіпертермію.

Підвищення вмісту аскорбінової кислоти у *P. imbricatum* Hedw. в осінній період, порівняно з літнім, є свідченням того, що відбувається реакція рослинного організму на дію несприятливих факторів середовища. Аскорбінова кислота у значній кількості міститься в клітинах, зокрема, це головний метаболіт у хлоропластах, здатний до елімінації АФК та регенерації  $\lambda$ -токоферолу. У хлоропластах відбувається генерація пулу аскорбату за участю аскорбатпероксидази. Високий вміст низькомолекулярних антиоксидантів свідчить про необхідність захисту фотосинтетичного апарату від деструктивної дії активного кисню. Таким чином, зміна вмісту аскорбінової кислоти під час абіотичного стресу є ефективною системою захисту рослин, яка попереджає окисну деструкцію й забезпечує структурну та функціональну стабільність мембран.

#### **4.6. ВМІСТ ФЕНОЛІВ І АКТИВНІСТЬ ПОЛІФЕНОЛОКСИДАЗИ В ГАМЕТОФІТІ *CERATODON PURPUREUS*, *CAMPYLOPUS INTROFLEXUS* ТА *BRYUM ARGENTEUM* У РІЗНИХ УМОВАХ МІСЦЕВИРОСТАНЬ**

Територія Сокальського району Львівської області зазнала значного техногенного впливу внаслідок функціонування вугільної промисловості. У її межах сконцентрований Червоноградський гірничопромисловий район (ЧГПР). На сьогодні на його території функціонує 11 вугільних шахт, загальна площа териконів становить 265,9 га, в яких зберігається понад 48,0 млн. м<sup>3</sup> породної маси. Щорічний об'єм видаленої шахтами породи змінюється від 1,5 до 2,5 млн т. За мінералогічним складом у породі відвалу міститься: аргіліту – 97 %, алевроліту 17–28%, пісковіку – 2–20%, вугілля – 1–17% (Баранов, 2008). Для субстратів відвалу характерними є підвищена температура та низька вологість, значна токсичність унаслідок підвищеного вмісту в аргілітах Li, V, B, P, Zn, Pb, Bi, Co. У ЧГПР з 1 м<sup>3</sup> терикону, що горить, протягом доби виділяється: 10 кг оксиду карбону, 6,3 кг сірчаного ангідриду, 0,6 кг сірководню й оксидів нітрогену (Книш, Харкевич, 2003). Рельєф відвалів є також аномальним щодо прилеглих територій, вирізняється висотою понад 60 м над рівнем місцевості, крутизна схилів може становити понад 45°, що значно змінює вітровий режим. З часом формуються такі елементи мезорельєфу як підніжжя, тераси, схили, вершина зі специфічними мікрокліматичними

умовами. Отже, всі згадані чинники техногенного середовища негативно впливають не лише на природне заростання відвалів, а й на функціонування екосистеми загалом, тому актуальним є вивчення стійкості піонерних видів рослин та їх механізмів адаптації до комплексу екстремальних факторів на порушених територіях.

Серед піонерних видів рослин на відвалах ЧГПР важливе місце займають бріофіти, які завдяки своїй широкій екологічній амплітуді до екстремальних умов антропогенно трансформованого середовища одними з перших оселяються на техногенних відслоненнях. Відомо, що навіть незначна їхня біомаса істотно впливає на формування техносубстратів (Соханьчак, Лобачевська, 2012). На девастованих територіях видобутку вугілля доміантним видом бріофітів є *Ceratodon purpureus*, *Bryum argenteum* – субдомінант. *Campylopus introflexus* – адвентивний вид, який вперше для території України виявлено на шахтних відвалах Червоноградського гірничопромислового району (Лобачевська, Соханьчак, 2010). Всі види – космополіти, за життєвою стратегією – поселенці (During, 1976), з широкою екологічною амплітудою до різноманітних кліматичних і едафічних умов, толерантні до висушування, заселяють субстрати, які іноді зовсім непридатні для життя інших рослин (гірські породи, піски, промислові відвали) (Мамчур, Савицька, 2006; Кияк, Баїк, 2011). Вивчення передумов високої толерантності мохів до несприятливих умов і механізмів, які забезпечують їх пристосування до росту на субстратах породних відвалів є важливими для з'ясування природи стійкості бріофітів.

Однією з особливостей формування стійкості рослин є висока активність ферментів антиоксидантної системи та здатність до синтезу вторинних метаболітів, зокрема фенольних сполук (Запрометов, 1993а; Запрометов, 1993б; Dimitrios, 2006). Феноли беруть участь у різних фізіологічних процесах: регуляції процесів фотосинтезу та дихання (Вольнец, Прохорок, 1983; Чечуй, 2011), захисних реакціях на вплив низьких та високих температур (Rivero et al, 2003; Олениченко, Загоскіна, 2005) та інших стресових чинників (засолення, важкі метали) (Mehr et al., 2012). Продукти окиснення і полімеризації фенолів відіграють значну роль у захисних реакціях рослин на вплив антропогенних чинників. Тому визначення їх вмісту може слугувати одним із показників стійкості рослин до несприятливих факторів довкілля. Активність поліфенолоксидази (ПФО), поряд з іншими окисно-відновними ферментами дихання, відіграє важливу роль у процесах фітоімунітету на дію абіотичних і біотичних чинників, що має важливе значення під час заселення рослинами нових, зокрема порушених територій (Rastorfer, 1970; Lavid et al., 2001; Dimitrios, 2006; Мартинова, Лихолат, 2011). ПФО каталізує реакції окиснення фенолів різної будови молекулярним киснем до хінонів та бере участь у

низці фізіологічних і біохімічних процесів (Vaughn et al., 1988). Вплив умов техногенного середовища на активність ПФО та вміст фенолів у мохоподібних вивчено недостатньо. Досліджено зміни активності ПФО та вмісту фенолів у гаметофіті *B. argenteum*, *C. purpureus* та *C. introflexus* як прояв адаптаційно-захисних реакцій організму, що сприяють стійкості видів в умовах техногенних екотопів відвалів вугільних шахт. Установлено, що гідротермічний режим під дернинами моху значно відрізнявся на різних субстратах, ділянках мезорельєфу та фітоценозах відвалу шахти «Надія» залежно від пори року (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

**Мікрокліматичні умови та едафічні властивості субстратів під дернинами *Ceratodon purpureus*, *Bryum argenteum* та *Campylopus introflexus* (n=10)\***

Характеристики Місце відбору проб	Мікрокліматичні умови			Едафічні властивості субстрату		
	Температура повітря, °С	Відносна вологість повітря, %	Діапазон мінливості освітлення, тис. лк	Температура, °С	Вологість, %	pH(H <sub>2</sub> O)
<i>Ceratodon purpureus</i>						
Контроль	25/29/15	59/53/70	50-90/65-90/ 8-12	20/27/10	6,5/4,3/12,8	5,8/5,9/5,7
Підніжжя	25/28/13	65/45/65	60-85/70-90/ 6-12	17/26/9	5,7/3,7/10,3	5,4/5,6/5,5
Тераса	26/30/12	50/46/68	60-100/ 85-100/34-42	24/28/14	1,3/0,7/2,9	5,7/5,5/5,8
Вершина	22/29/12	64/41/70	25-30/40-50/ 8-12	15/25/7	3,9/2,6/5,4	5,5/5,3/5,5
<i>Bryum argenteum</i>						
Контроль	25/25/13	60/47/70	50-100/ 55-100/15-18	17/24/9	6,8/5,0/13,3	5,3/5,4/5,6
Підніжжя	25/30/12	65/65/72	25-60/50-65/4-8	12/25/7	3,7/2,2/8,4	5,6/5,8/5,6
Тераса	26/30/12	50/42/63	80-100/ 85-100/30-44	22/26/14	0,4/0,1/2,3	6,3/6,1/6,2
Вершина	24/29/12	64/41/70	25-30/40-50/ 8-12	15/25/7	3,2/2,0/4,9	5,3/5,4/5,4
<i>Campylopus introflexus</i>						
Надія східна (відвал)	22/27/13	60/47/70	50-60/ 85-100/15-20	17/29/12	5,8/3,0/8,3	5,2/5,4/5,5
Надія північно- західна (відвал)	22/28/13	65/45/65	60-75/70-90/ 10-20	17/26/9	5,7/3,7/7,3	5,3/5,5/5,5
Надія північна (відвал)	22/30/12	50/46/68	60-70/70-90/ 30-45	18/27/11	1,3/0,7/2,9	5,4/5,5/5,7
ЦЗФ (відвал)	23/32/13	55/35/60	65-80/ 85-100/35-45	18/33/12	1,1/0,6/1,9	4,4/4,5/4,7
Візейська (відвал)	22/31/12	55/45/65	60-75/80-95/ 30-40	19/30/13	3,4/1,2/4,8	3,7/3,8/3,8
Олесько (торфокар'єр)	24/30/12	65/55/72	50-65/70-85/ 10-25	20/29/9	7,7/2,2/8,4	6,4/6,3/6,6
Лопатин (торфокар'єр)	25/30/12	50/42/63	40-70/65-80/ 15-25	22/28/14	7,9/2,6/7,4	6,5/6,5/7,2

\* Примітка. У таблиці подано середні значення показників у квітні/липні/жовтні.

У підніжжі та на вершині відвалу формуються рослинні угруповання із домінуванням деревних порід – *Populus tremula* L. – +, *Betula pendula* Roth. – +, *Salix caprea* L. – +, *Robinia pseudoacacia* L. – +, *Quercus robur* L. – +, які створюють затінення і забезпечують низьку інсоляцію, яка у свою чергу впливає на температурний і водний режими субстратів протягом року. Низьку вологість і високу температуру субстрату відзначено на терасі західної експозиції під дернинами *B. argenteum* і *S. purpureus* протягом сезону, порівняно з іншими елементами техногенного мезорельєфу. У літні місяці встановлено збільшення температури (на 4–10 °С) та зменшення вологості субстрату (на 0,36–2,21 %) під дернинами мохів на різних ділянках техногенного мезорельєфу, порівняно із весняними. Восени під дернинами бріофітів визначено зниження температури (на 14–18 °С) та збільшення вологості (на 2,2–8,5 %), порівняно із літом.

Актуальна кислотність субстрату під моховими дернинами протягом сезону була у межах 5,3–6,3, що є оптимальним для росту і розвитку цих видів мохів і функціонування їх ферментних систем. Найбільше значення рН зафіксовано на терасі відвалу під мохом *B. argenteum*, де він формує густі дернини з потужною зеленою фотосинтезуючою верхівкою та значним підстилаючим шаром з відмерлих частин пагонів, що істотно впливає на первинні ґрунтоутворювальні процеси, зокрема сприяє підлужненню техногенного субстрату.

Оскільки мохи є пойкилогідричними організмами, їхнє водозабезпечення за відсутності коренів та провідної системи істотно залежить від водного режиму мікросередовища. Тому важливими показниками для життєдіяльності бріофітів є не лише едафічні характеристики, а й мікрокліматичні умови місцевиростання. Відносна вологість повітря на поверхні дернин бріофітів на різних ділянках мезорельєфу протягом сезону змінювалася від 41% до 70%. Показано, що найнесприятливіші мікрокліматичні умови на поверхні дернин *B. argenteum* і *S. purpureus* протягом сезону відзначено на терасі відвалу, кращими вони були у фітоценозах із домінуванням деревних рослин (у підніжжі та на вершині відвалу). Найнесприятливішим місяцем року для життєдіяльності бріофітів в умовах техногенних екотопів виявився липень із екстремальними мікрокліматичними й едафічними умовами.

Зміни гідротермічного режиму субстратів відвалів, їх едафічних властивостей протягом сезону чинять значний вплив на ріст і розвиток рослин. У таких екстремальних умовах існування рослинний організм активує захисні системи, щоб протистояти і пристосуватися до значних змін навколишнього середовища. З літератури відомо (Запрометов, 1993б), що у стресових умовах рослини нагромаджують велику кількість сполук вторинного метаболізму зокрема фенолів, які інгібують ростові

процеси і сприяють підвищенню їхньої стійкості до несприятливих умов унаслідок збільшення активності ферментів антиоксидантного захисту та знешкодження активних форм кисню у клітинах.

На рис. 4.32, 4.33 наведено результати зміни загального вмісту фенольних сполук та активності поліфенолоксидази в гаметофіті *B. argenteum* і *C. purpureus* на різних ділянках мезорельєфу відвалу протягом сезону. Установлено, що протягом сезону у *B. argenteum* на різних ділянках мезорельєфу відвалу діапазон мінливості показників (ФС – від 0,12 до 1,99 мг/г м. с. р-ни, ПФО – від 109,76 до 316,48 відн. од./г м. с. р-ни • с) був значно ширшим за вмістом ФС і вужчим за активністю ПФО, ніж у *C. purpureus* (ФС – від 0,37 до 1,25 мг/г м. с. р-ни, ПФО – від 39,84 до 177,66 відн. од./г м. с. р-ни • с).

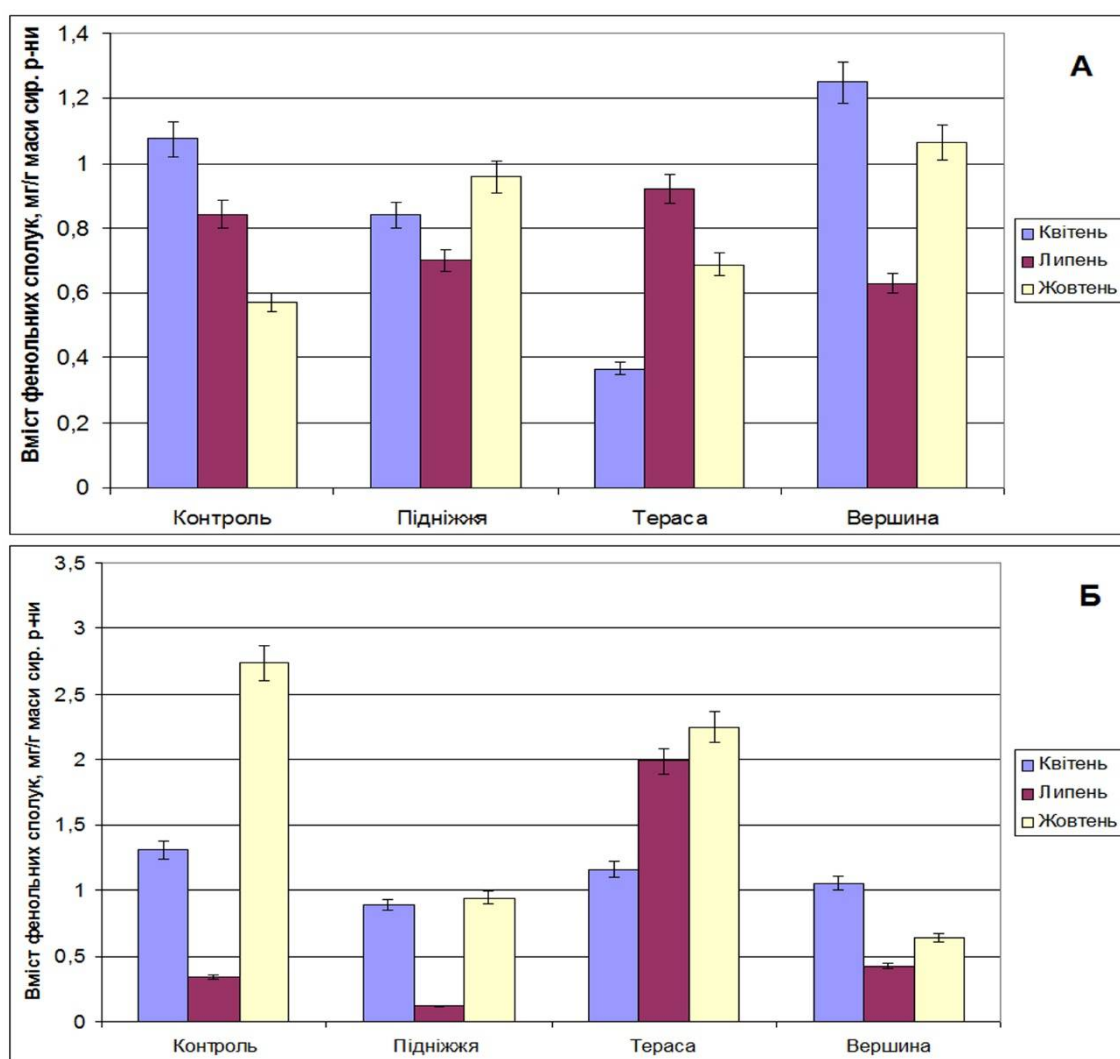


Рис. 4.32. Сезонні зміни загального вмісту фенолів (мг/г маси с. р.) у гаметофіті *Ceratodon purpureus* (А) та *Bryum argenteum* (Б).

Це пов'язано із метаболічними змінами в гаметофіті унаслідок впливу техногенних чинників і видовими особливостями мохів. Протягом квітня в період оптимальної забезпеченості вологою та сприятливої

температури субстратів загальний вміст фенолів у *B. argenteum* і *C. purpureus* в умовах техногенних екотопів був меншим, ніж у рослинах із фонові території. Лише у *C. purpureus* на вершині відвалу вміст фенолів підвищувався, очевидно, внаслідок сповільнення росту і метаболізму в умовах низьких температурних показників як повітря, так і субстрату, а також недостатньої інтенсивності освітлення.

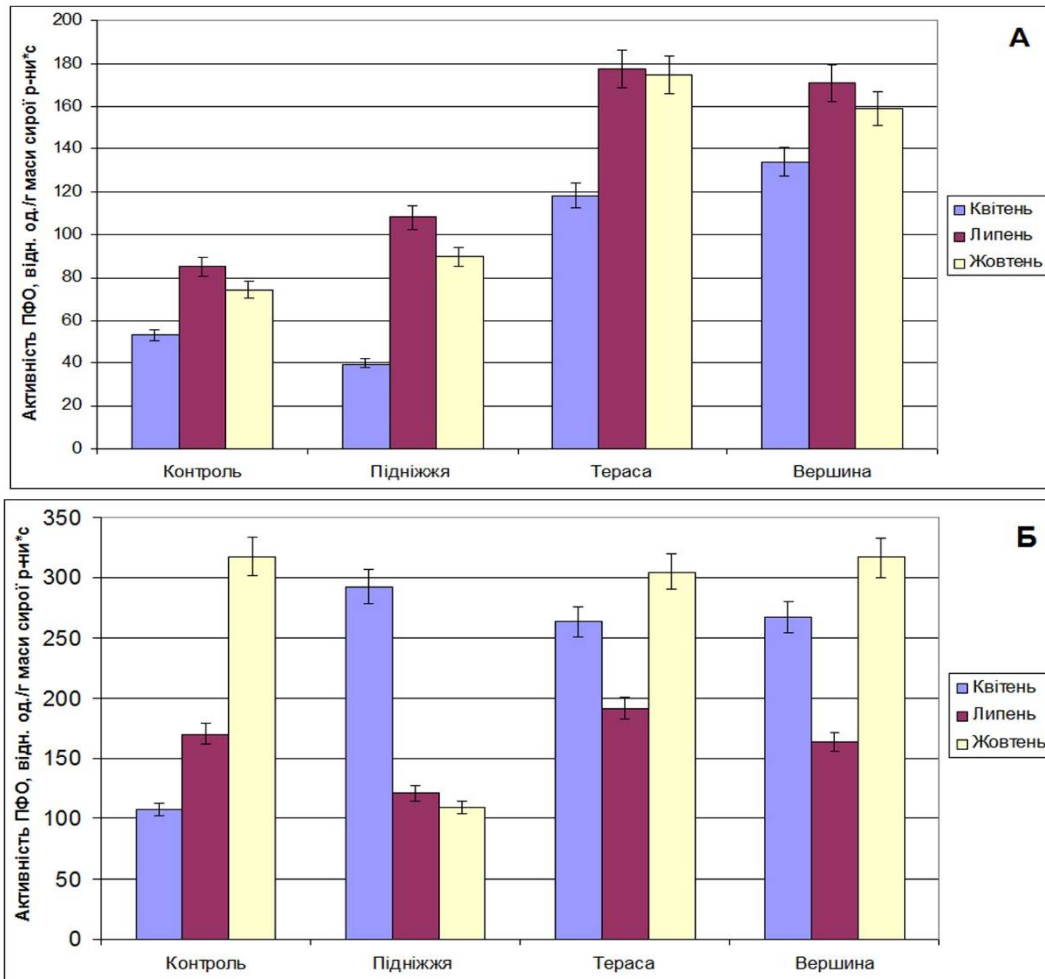


Рис. 4.33. Сезонна динаміка активності поліфенолоксидази (відн. од./г маси с. р. · с.) у гаметофіті *Ceratodon purpureus* (А) та *Bryum argenteum* (Б).

У липні на підніжжі та вершині відвалу, де деревні рослини створюють затінення, що впливає на рівень інсоляції (40-65 тис. лк), температурний (+25–+26°C) та водний (2,2–3,7%) режими субстратів, вміст фенолів у досліджуваних мохів знижувався, порівняно з контролем. Лише на терасі відвалу шахти “Надія” (в умовах домінування мохового покриву) внаслідок підвищення температури (до +30°C) і зменшення вологості субстрату (до 0,7%) за значної інсоляції (85-100 тис. лк) відзначено збільшення загального вмісту фенолів у гаметофіті *B. argenteum* (у 5,9 рази) і *C. purpureus* (у 1,1 рази), порівняно із контролем, що свідчить про активування захисних механізмів за дії



несприятливих чинників довкілля та гальмування росту. У жовтні внаслідок зниження температури (+10°C), освітлення (4–44 тис. лк) та збільшення вологості субстратів (13,3%) відзначено протилежну тенденцію до нагромадження фенольних сполук у гаметофіті *B. argenteum* та *C. purpureus*. Це, можливо, пов'язано із тим, що за відношенням до вологи *B. argenteum* та *C. purpureus* належать до однієї екологічної групи – ксеромезофітів, однак за типом життєвої форми вони відрізняються і тому по-різному реагують на водний дефіцит. *C. purpureus* утворює щільні низькі дернини, що дає можливість виживати у досить контрастних кліматичних умовах шахтних відвалів. Пухкі низькі дернини *B. argenteum* швидше втрачають вологу, тому мають вищу продуктивність лише у вологіших локалітетах.

Восени у пагонах *C. purpureus* утворювалася більша кількість фенолів, порівняно з контролем, оскільки краща забезпеченість вологою рослин за нижчих температурних показників створювала сприятливіший гідротермічний режим, унаслідок чого посилювався ріст мохових дернин, обмін речовин і метаболізм фенольних сполук. В осінні місяці для *B. argenteum* відзначено зменшення вмісту фенольних сполук, мабуть, унаслідок дефіциту вологи в субстраті на відкритих місцевиростаннях моху.

Протягом весняно-літніх місяців у гаметофіті досліджуваних мохів за умов росту на різних ділянках техногенного мезорельєфу (окрім рослин із підніжжя відвалу, де відзначено зменшення активності ПФО для *C. purpureus* протягом квітня та *B. argenteum* у липні, жовтні) встановлено збільшення активності поліфенолоксидази, порівняно з контролем (рис. 4.33). Можливо, це пов'язано із розвитком окислювального стресу (активізація дихання та процесів окиснення фенолів), який, на думку деяких авторів (Mehr et al., 2012), завдяки про- і антиоксидантним функціям ПФО реалізується на ранніх стадіях стресової відповіді та вказує на формування пристосувань рослинами до негативних чинників техногенного середовища. Установлено взаємозв'язок ( $r=0,46$ ) між активністю поліфенолоксидази та вмістом фенолів у клітинах гаметофіту мохів, які росли на антропогенно порушених територіях. Незначна позитивна кореляція між досліджуваними параметрами, очевидно, пов'язана із тим, що на досліджувані об'єкти в польових умовах впливає не один, а багато природних чинників, під дією яких може активуватися як синтез фенолів, так і стимулюватися активність поліфенолоксидази.

Окремо розглянемо нагромадження фенольних сполук і активність поліфенолоксидази у адвентивного моху *C. introflexus*, який вперше потрапив на територію України із Західної Європи та пристосувався до стресових умов екотопів техногенно порушених ландшафтів. Протягом сезону найбільший вміст ФС у рослинах *C. introflexus* із вершини відвалу

шахти “Надія” відзначено у липні, серпні та листопаді (табл. 4.8, 4.9), що, вочевидь, пов’язано із нагромадженням цих сполук у стресових умовах (збільшення температури влітку та її зниження в осінні місяці). Найбільшу активність ПФО у гаметофіті моху відзначено влітку на північній ділянці вершини відвалу шахти “Надія” ( $139,40 \pm 3,87 - 169,76 \pm 8,35$  відн. од./г с. м.:с). Встановлено, що на північній і північно-західній ділянках вміст фенолів та активність поліфенолоксидази у гаметофіті *C. introflexus* були більшими протягом року, порівняно із рослинами на східній ділянці, яка характеризувалася кращим гідротермічним режимом субстратів. У листопаді в гаметофіті *C. introflexus*, зібраного на шахтному відвалі, спостерігали збільшення вмісту ФС та зменшення активності ПФО, що, можливо, зумовлено зменшенням температури як повітря (до  $14^{\circ}\text{C}$ ), так і субстрату (до  $15^{\circ}\text{C}$ ).

У рослинах *C. introflexus* з колишніх торфокар’єрів смт. Лопатин та Олесько активність поліфенолоксидази була у 1,1-9,3 разу більшою, ніж у рослинах з різних експозицій вершини відвалу шахти “Надія”, що пов’язано із більшим рН субстратів торфокар’єрів (6,0–6,2), порівняно із субстратами відвалів (5,2–5,5), адже з літератури відомо, що активність ПФО залежить від кислотності середовища (Tahvanainen, Naraguchi, 2013).

Показано, що протягом літа, коли діапазон температури повітря становив  $30-36^{\circ}\text{C}$ , активність ПФО у гаметофіті *C. introflexus* із усіх досліджуваних територій була вищою, порівняно із весняно-осінніми місяцями (діапазон температур становив  $15-24^{\circ}\text{C}$ ). У більшості відібраних зразків простежувалась обернена залежність між загальним вмістом ФС та активністю ПФО, що, вочевидь, зумовлено окисненням фенолів, у тому числі і внаслідок функціонування фенолоксидаз.

Отже, отримані результати свідчать, що зміни вмісту фенольних сполук та активності поліфенолоксидази у гаметофіті мохів значною мірою залежать від мікрокліматичних умов середовища існування і є проявом захисних реакцій бріофітів на вплив несприятливих чинників техногенно порушеного середовища. Установлено, що значне нагромадження фенольних сполук у гаметофіті досліджуваних мохів на антропогенно трансформованих територіях відбувалося переважно в екстремальних умовах внаслідок збільшення інтенсивності освітлення і температури середовища та зниження вологості субстрату; активність поліфенолоксидази істотно зростала в стресових умовах несприятливого гідротермічного режиму місцевиростань мохів. Максимальна активність ПФО в досліджуваних видів мохів проявлялася в найекстремальніших умовах липня на відвалі і пов’язана з формуванням адаптаційних реакцій, оскільки фермент бере участь у регуляції метаболізму і відіграє важливу роль у швидкому пристосуванні рослин до мінливих умов середовища.

Таблиця 4.8

**Вміст фенольних сполук у гаметофіті моху *C. introflexus*, мг/г маси сирої речовини**

Місяць Ділянка	Квітень	Травень	Липень	Серпень	Жовтень	Листопад
Східна (відвал)	0,48±0,03	0,59±0,02	0,04±0,01	0,78±0,02	0,33±0,04	0,84±0,04
Північно-західна (відвал)	0,33±0,07	0,23±0,02	0,38±0,02	0,97±0,03	0,52±0,03	1,31±0,05
Північна (відвал)	1,27±0,05	0,35±0,02	0,72±0,03	0,85±0,02	1,09±0,03	1,04±0,01
сmt. Олесько (торфокар'єр)	2,80±0,07	1,16±0,02	1,28±0,02	1,49±0,01	0,70±0,09	0,88±0,06
сmt. Лопатин (торфокар'єр)	1,10±0,05	0,72±0,01	0,70±0,03	1,20±0,02	0,76±0,03	0,81±0,01

Таблиця 4.9

**Активність поліфенолоксидази у гаметофіті моху *C. introflexus*, відн. од./г маси сирої речовини с**

Місяць Ділянка	Квітень	Травень	Липень	Серпень	Жовтень	Листопад
Східна (відвал)	100,44±5,65	68,82±2,24	56,52±7,16	41,20±2,12	95,16±4,07	63,80±7,03
Північно-західна (відвал)	67,47±3,42	19,58±0,37	97,36±4,29	144,94±7,21	53,92±3,46	41,28±5,12
Північна (відвал)	60,02±3,27	67,42±1,12	139,40±3,87	169,76±8,35	125,36±5,02	50,40±4,37
сmt. Олесько (торфокар'єр)	362,32±8,84	85,28±1,62	137,08±4,94	75,56±2,84	334,38±8,14	169,48±5,27
сmt. Лопатин (торфокар'єр)	75,89±1,31	182,27±0,09	143,18±9,68	148,47±3,23	152,02±4,86	96,08±4,12

У *B. argenteum* відзначено значно вищі показники вмісту фенолів та активності ПФО, порівняно з контролем, протягом найоптимальніших умов весняного сезону в усіх місцевиростаннях незалежно від положення на відвалі. Активність ПФО у *C. purpureus* підвищувалася залежно від мікрокліматичних та едафічних умов місцевиростань у напрямку від підніжжя до вершини, проте найістотніше у літні місяці. У рослинах *C. introflexus* активність поліфенолоксидази перебувала у прямій залежності від показника актуальної кислотності техногенного едафотопу.

#### **4.7. ФОРМУВАННЯ АДАПТИВНИХ РЕАКЦІЙ *CERATODON PURPUREUS* ЗА УЧАСТІ ХЛОРОФІЛАЗИ ТА МЕТАБОЛІТІВ ОКСИДУ АЗОТУ**

Відвали вугільних шахт є аномальними утвореннями рельєфу, для яких у літні місяці характерні несприятливі мікрокліматичні умови для життєдіяльності не лише судинних рослин, а й бріофітів (Башуцька, 2006). Новоутворені елементи мезорельєфу (основи, тераси, вершини) відвалів істотно відрізняються за різними показниками водно-температурного режиму (Бешлей, Соханьчак, Баранов, 2014). Заселення, життєдіяльність та адаптація мохів до таких аномальних умов місцевості відбуваються завдяки функціонуванню сигнальних систем та внутрішньоклітинних механізмів захисту від впливу стресових чинників довкілля (Кияк, Хоркавців, 2015, Кияк та ін., 2017). Найчутливішою системою рослин на зміни температури, вологи й освітлення є апарат фотосинтезу (Мокроносів, Гавриленко, Жигалова, 2006). Хоча вже детально досліджено більшість процесів фотосинтезу, проте вивчення кількісних і якісних змін пігментної системи та участі ферментів у рослинах, які ростуть на техногенно порушених територіях, залишаються актуальними і натеper. Зокрема, малодослідженими такі аспекти є для мохоподібних. Окрім цього, недостатньо вивчена роль сигнальних систем у адаптації бріофітів до несприятливих умов довкілля. Відомі дослідження таких сигнальних молекул як пероксид водню, іони кальцію, супероксид-аніон, фітогормони (Кияк, 2010; Лобачевська, Мельник, 2010; Бойко, Лобачевська, 2016, Guschina et al., 2002). Проте досі не встановлена участь сигнальної молекули оксиду азоту у гаметофіті мохів в умовах стресу. З'ясовано, що оксид азоту (NO) – це сигнальна, біологічно активна, без заряду, дифузійна молекула, яка задіяна у багатьох фізіологічних процесах рослин, зокрема і в адаптивних реакціях організму на дію стресових чинників (Neill, Desikan, Clarke et al., 2002). Проаналізовано участь NO в процесах росту рослин, у їх реакціях на посуху, засолення, зміни (підвищення, зниження) температур, ультрафіолетове випромінювання, дію важких металів, механічне пошкодження; формування стійкості до

шкідників та хвороб (Колупаєв, Карпец, 2009; Василик, 2015; Василик, Мосійчук, 2015; Siddiqui, et. al, 2011; Bajguz, 2014). Відомо, що основним ферментом, за допомогою якого у мохів утворюється оксид азоту, є нітратредуктаза, що важливо для теорії еволюції сигнальних систем в адаптації рослинних організмів (Medina-Andres et al., 2015).

На основі отриманих результатів вмісту пігментів фотосинтезу в *C. purpureus* встановлено, що влітку в умовах значного водного дефіциту (50-58%) та високої інтенсивності світла (55–100 тис. лк.) на відвалах вугільних шахт у хлоропластах містилося менше пігментів фотосинтезу – сума хлорофілів становила 294–413 мкг/г маси сухої речовини (рис. 4.34), та, відповідно, і світлозбиральних комплексів, що узгоджується з літературними даними для мохів (Соханьчак, Лобачевська, Бешлей, 2013; Лобачевська, Бойко, Карпінець, 2014). Такі зміни зумовлені деградацією фотосинтетичного апарату моху в умовах впливу водного, температурного та інших стресових чинників на техногенних відслоненнях.

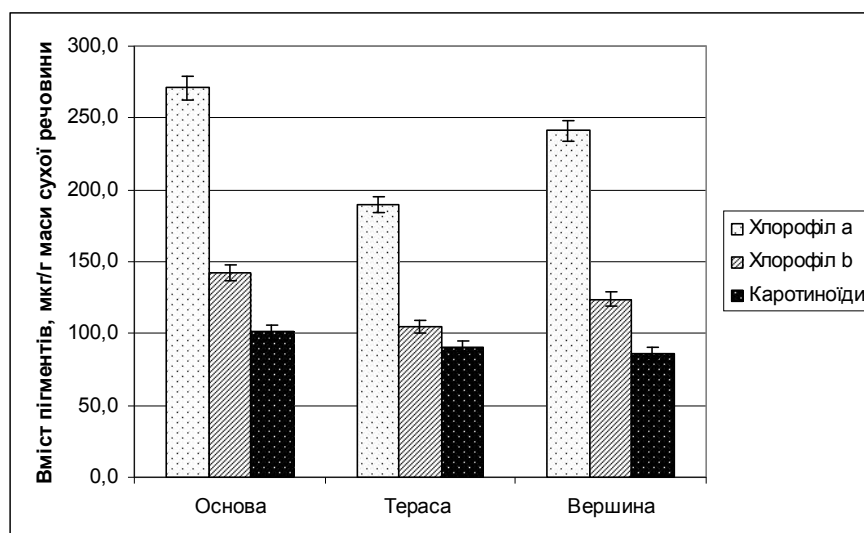


Рис. 4.34. Вміст пігментів фотосинтезу у гаметофіті *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. з різних елементів мезорельєфу відвалу шахти "Надія" (липень 2019 р.)

Унаслідок процесів розпаду хлорофілу у хлоропластах активуються гідролітичні ферменти (Войтович, 2009), підтвердженням цього є результати аналізу активності хлорофілази, яка каталізує гідроліз ефірного зв'язку між фітолом і С-173 групою пропіонової кислоти хлорофілів *a* і *b* з утворенням відповідних хлорофілідів та фітону (Войцехівська, Капустян, Косик та ін., 2010). На основі низки вітчизняних досліджень встановлено збільшення активності хлорофілази в умовах абіотичних стресів: теплового шоку, водного дефіциту, засолення та інтенсивної інсоляції (Фомішина та ін., 2009; Кобилецьката ін., 2012). Нами визначено значно

більшу активність хлорофілази в гаметофіті *C. purpureus* у локалітетах з інтенсивним освітленням (рис. 4.35).

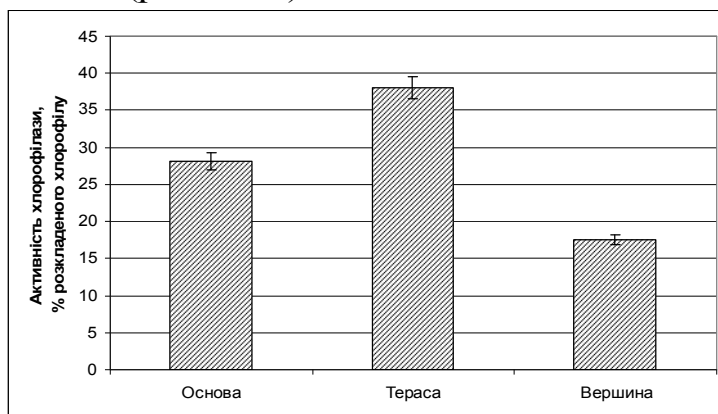


Рис. 4.35. Активність хлорофілази у гаметофіті *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. з різних елементів мезорельєфу відвалу шахти “Надія” (липень 2019 р.).

Ймовірно, що в умовах світлового насичення в хлоропластах істотно пришвидшуються процеси обміну хлорофільного пулу, внаслідок чого підвищується гідролітична активність хлорофілази. Так, на терасі за інтенсивності освітлення 100 тис. лк. активність хлорофілази становила 38%, тоді як в основі та на вершині відвалу за інтенсивності освітлення 55–70 тис. лк була меншою в 1,3 та 2,2 рази відповідно.

Одним з основних лімітаційних чинників заселення та життєдіяльності рослин на відвалах є недостатня вологість, яка у літні місяці в 0–15 см шарі субстрату становила 1–5% (Бешлей, Соханьчак, Баранов, 2014). На основі результатів лабораторних експериментів з вивчення впливу дефіциту вологи на стан фотосинтетичної системи моху встановлено, що в умовах осмотичного шоку, який ініціювали 5% та 10% розчином поліетиленгліколю (ПЕГ–6000), вміст пігментів фотосинтезу зменшувався, що уповільнювало фотосинтетичні процеси у гаметофіті моху (рис. 4.36). За концентрації 5% ПЕГ у розчині на фоні зменшення вмісту хлорофілу *a* відзначено істотне збільшення хлорофілу *b*, що може бути проявом захисту фотосинтетичного апарату за дії водного стресу. Відомо, що молекули хлорофілу *b* є більш гідратованими та мають міцніші зв’язки з водою, а також кращу міцність зв’язку з білково-ліпоїдним комплексом мембран хлоропластів, порівняно із хлорофілом *a* (Станецька, Коваль, Джуренко та ін., 2011; Кияк, 2018).

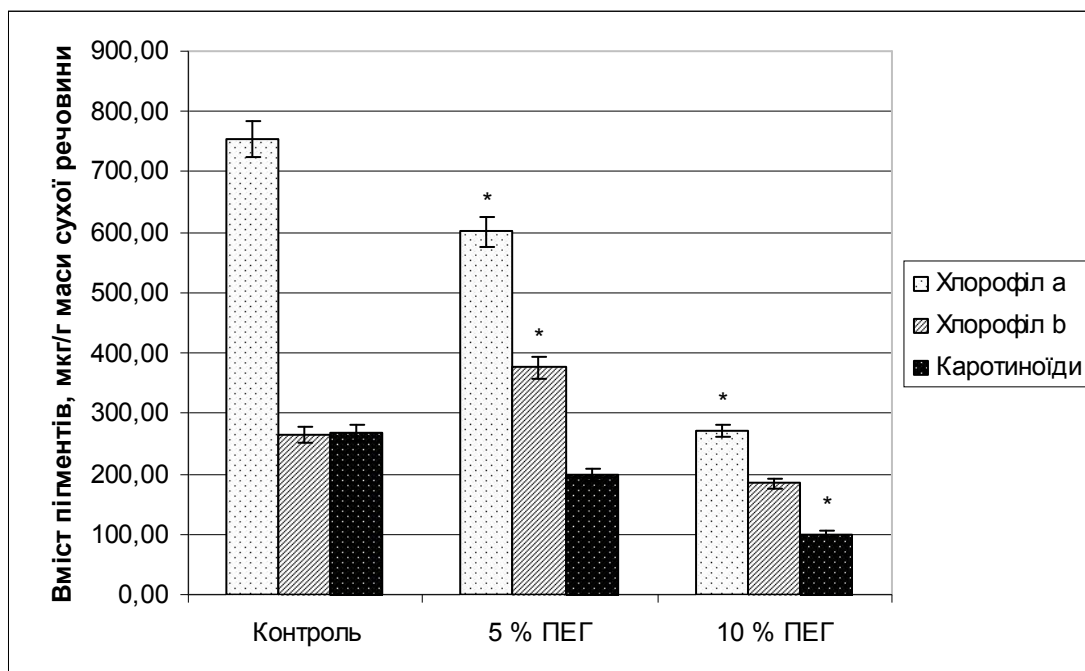


Рис. 4.36. Мінливість вмісту пігментів фотосинтезу у гаметофіті *Ceratodon purpureus*, відібраного з тераси, під впливом різних концентрацій поліетиленгліколю у середовищі.

Примітка. \* – різниця щодо контролю статистично достовірна при  $p \leq 0,05$ .

В умовах осмотичного шоку, ініційованого 5% розчином ПЕГ, активність хлорофілази в гаметофіті *C. purpureus* збільшувалася на 17%, порівняно з контролем (рис. 4.37). Таке підвищення активності ферменту у гаметофіті моху може свідчити про захист фотосинтетичного апарату внаслідок гідролізу вивільнених молекул пігменту, які могли бути задіяні в генеруванні потенційно небезпечних для рослин активних форм кисню (АФК). За осмотичного потенціалу 2,0 МПа (10% ПЕГ) розчину середовища вирощування моху в 2 рази зменшувався вміст пігментів фотосинтезу та на 6–26% активність хлорофілази, порівняно з контролем. Це вказує на істотне пригнічення фотосинтезу, що призводить до уповільнення росту і переходу моху до стану спокою.

Багатьма вітчизняними та іноземними дослідниками визначена участь сигнальної системи оксиду азоту у функціонуванні фотосинтетичного апарату, зокрема встановлено збільшення вмісту хлорофілів у рослинах, оброблених донором оксиду азоту – нітропрусидом натрію (Василик, Мосійчук, 2015; Suyun et. al., 2005, Siddiqui, Al-Whaibi, Basalah, 2011). За дії стресових абіотичних і біотичних чинників з'ясовано зв'язок між вмістом оксиду азоту, інтенсивністю освітлення та шляхом проведення сигналів за умов стресу (Suyun, 2005). Процес фотосинтезу є одним з основних джерел утворення АФК в

клітинах рослин унаслідок функціонування фотосистеми I через електронтранспортний ланцюг хлоропластів.

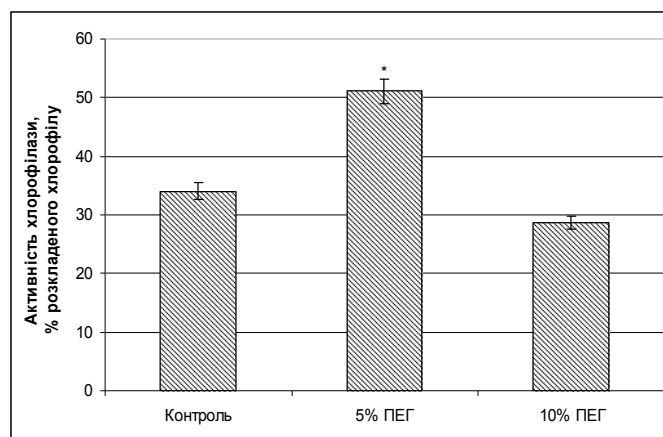


Рис. 4.37. Активність хлорофілази у гаметофіті *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. відібраного з тераси на середовищах з різною концентрацією поліетиленгліколю.

Примітка. \* – різниця щодо контролю статистично достовірна при  $p \leq 0,05$ .

Молекула оксиду азоту у рослинних клітинах діє короткочасно (1–5 с.) і після передачі сигналу за участю кисню та води перетворюється на нітрати чи нітрити (Войтович, 2009). У наших експериментах усі форми азоту конверсували у нітритну, тому за допомогою реактиву Грісса визначали вміст нітрит аніону  $\text{NO}_2^-$ . У зразках *C. purpureus* з різних елементів мезорельєфу відвалу шахти “Надія” найбільший вміст  $\text{NO}_2^-$  зафіксовано на терасі, який був на 50% більшим, ніж на вершині та в основі відвалу (табл. 4.10). Можливо, активація системи генерації NO спричинена впливом значної інсоляції та температури, показники яких були у 1,5–2 рази більшими, ніж на інших ділянках відвалу.

Таблиця 4.10

**Мінливість вмісту нітритів у гаметофіті *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. залежно від мікрокліматичних умов місцевиростань моху на відвалі шахти “Надія”**

Місце відбору рослин моху	Вміст нітритів, мкг $\text{NO}_2^-$ / 100 г маси сухої речовини	Мікрокліматичні умови на поверхні мохової дернини		
		Температура, °C	Відносна вологість повітря, %	Діапазон мінливості інтенсивності освітлення, тис. лк
Основа	118,3±2,4	30±1	51±3	35-45
Тераса	161,0±3,2	35±2	40±2	>100
Вершина	96,4±2,1	33±1	43±2	45-60



Результати лабораторних досліджень впливу гіпер-, гіпотермічного та водного стресів свідчать про зміну вмісту нітритів у гаметофіті моху протягом п'яти пост-стресових годин за всіх умов досліджу, порівняно з контролем (табл. 4.11), що підтверджує участь сигнальної молекули оксиду азоту NO в адаптаційних реакціях рослин на вплив абіотичних стресорів (Войтович, 2009; Василик, 2015; Колупаєв, 2016). Достовірної різниці між вмістом метаболітів оксиду азоту у гаметофіті моху за дії абіотичних стресорів не виявлено. Проте, за осмотичного стресу, індукованого 10% ПЕГ, і гіпотермічного стресу (+3°C) різниця між початковими та кінцевими значеннями (протягом п'яти пост-стресових годин) вмісту NO<sub>2</sub><sup>-</sup> становила 90 та 94 мкг NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/ 100г маси сухої речовини, що у 2 рази більше, ніж у контролі.

Таблиця 4.11

**Вміст нітритів в процесі пост-стресової реакції гаметофіту *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. під впливом різних абіотичних чинників (мкг NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/ г маси сухої речовини)**

Години постстресової реакції	Контроль	Гіпотермічний стрес	Гіпертермічний стрес	Водний стрес
0	135,63±1,67	187,36±1,67	109,23±2,28	131,03±3,16
2,5	153,08±4,94	199,37±6,30	167,32±6,30	171,92±6,32
5	182,57±6,7	281,76±2,85	158,54±2,19	221,98±2,24

Таким чином встановлено, що у результаті дії проаналізованих абіотичних чинників активувалася NO-опосередкована сигнальна система, при тому поступово збільшувався вміст NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, який максимально зростав між другою та п'ятою годинами експерименту. Протилежну тенденцію відзначено за дії гіпертермічного стресу (+42°C), при якому до другої години після впливу стресового чинника на 50% збільшувався вміст нітритів у гаметофіті моху із подальшим поступовим зниженням до п'ятої години. Відомо, що ефект загартування рослин до гіпертермії короткочасною дією високих температур реалізується за участю оксиду азоту (Колупаєв, Карпец, 2009). Ймовірно, участь NO-сигнальної системи у відповідь на вплив високої температури починається відразу із запуском нітратредуктазно-залежного синтезу оксиду азоту. Подальше зниження вмісту нітритів в *C. purpureus*, можливо, пов'язано із залученням інших систем захисту, каскад яких був запущений за безумовної участі NO. Вважають, що підвищення вмісту NO під впливом гіпертермії є універсальною стрес-протекторною складовою адаптивних процесів в організмах різного рівня організації. Важливо зауважити, що оксид азоту

разом з іншими компонентами стрес-реакцій піддаються різноманітним перетворенням через свою високу реакційну здатність.

Отже, висока активність хлорофілази у світлолюбного моху *C. purpureus*, зокрема в умовах значного водного дефіциту, температурного шоку, інсоляції, свідчить про активну участь ферменту в метаболізмі хлорофілу та захисті фотосинтетичного апарату від впливу несприятливих чинників техногенного довкілля. Встановлено, що в стресових умовах на відвалах видобутку вугілля у гаметофіті моху *C. purpureus* активується NO-опосередкована сигнальна система. На субклітинному рівні NO вивільняється різними органелами, насамперед хлоропластами, що залежить від рівня нітриту в клітинах і його взаємодії з іншими метаболітами. Збільшення вмісту метаболітів оксиду азоту у період пост-стресової реакції вказує на те, що це сигнальна молекула з широким спектром регуляторних функцій, яка бере участь у передачі сигналу захисними механізмами гаметофіту моху на дію абіотичних (гіпер- та гіпотермічного, водного) стресів.

## **РОЗДІЛ 5.**

### **ФЕНОТИПНА ПЛАСТИЧНІСТЬ *CERATODON PURPUREUS* В УМОВАХ ВІДВАЛУ ШАХТИ “НАДІЯ” ТА ЦЕМЕНТНОГО ЗАБРУДНЕННЯ ПАТ “МИКОЛАЇВЦЕМЕНТ”**

Розвиток в економіці України впродовж тривалого періоду переважно сировинно-видобувних галузей промисловості та енергоємних технологій призвів до значного навантаження на довкілля та його деградації: надмірного забруднення поверхневих і підземних вод, атмосферного повітря та земель, нагромадження у великих кількостях шкідливих відходів виробництва. На Львівщині до основних забруднювачів належать підприємства видобутку сірки, вугілля та виробництва цементу, які зумовили втрату біотичного та ландшафтного різноманіття, порушення едафічних та мікрокліматичних умов формування рослинного покриву на девастованих територіях.

Мохоподібні, завдяки своїй високій толерантності до дії екстремальних абіотичних чинників техногенно трансформованого середовища, швидко утворюють піонерні заростання, а з часом – рясні багатовидові угруповання, що істотно впливає на подальше формування рослинного покриву та його структуру (Рагуліна та ін., 2009; Рабик та ін., 2010; Кияк, Баїк, 2011; Соханьчак, Лобачевська, 2012). Найчутливішими процесами до впливу стресових умов є функціонування фотосинтетичного комплексу рослин, кількісні й якісні зміни пігментів, які пов’язані з анатомо-морфологічними видозмінами листків та пригніченням репродуктивної здатності рослин (Shaw et al., 1991; Lovelock, Robinson, 2002; Баранов та ін., 2011; Соханьчак та ін., 2013). Їх вважають маркерами зміни генетичного статусу популяцій – інформативними біоіндикаційними показниками рівня екогенетичної напруженості територій, які зазнають хронічного техногенного впливу різної природи, тривалості й інтенсивності.

Дослідження сезонних змін вмісту пігментів фотосинтезу та фотохімічної активності хлоропластів листків *Ceratodon purpureus*, а також визначення особливостей морфологічної і статевої структури мохових дернин та їх репродуктивної здатності як прояву адаптогенезу здійснювали залежно від умов техногенно порушених територій.

#### **5.1. АКУМУЛЯТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ РОСЛИН МОХУ В РІЗНИХ УМОВАХ ТЕХНОГЕННО ТРАНСФОРМОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА**

На підставі результатів атомно-емісійного спектрального аналізу, який проводили в лабораторії проблем геоecології Інституту геології і

геохімії горючих копалин НАН України, визначено вміст основних макро- і мікроелементів та їх розподіл у субстраті й рослинах *C. purpureus* (табл. 5.1, 5.2). Установлено, що валовий вміст токсичного елементу кадмію перевищував гранично допустимі концентрації в ґрунті (ГДК) у всіх проаналізованих пробах унаслідок високої мобільності та доступності для рослин: максимальне зростання у 6,3–9,3 рази визначено у субстраті під мохом та дещо нижче у мохових дернинах (3,7–7,3 рази). У рослинах моху перевищення ГДК відзначено для п्लумбуму в 1,7 разу на терасі відвалу, нікелю – 2,6 рази в основі відвалу, мангану – 1,5 і 5,1 разів в основі й на терасі відвалу відповідно (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

**Вміст макро- та мікроелементів у субстраті та рослинах *Ceratodon purpureus* з відвалу шахти “Надія” ( $M \pm m$ ;  $n=3$ )**

Досліджувані зразки	Вміст валових форм досліджуваних елементів, мг/кг маси сухої речовини									
	Pb	Cd	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cr
<b>Вершина відвалу</b>										
Рослини моху	15,0 ± 1,0	<b>22,0</b> ± <b>1,0</b>	4800,0 ± 310,0	800,0 ± 50,0	1020,0 ± 58,0	47,1 ± 3,0	271,0 ± 15,0	28,0 ± 2,0	35,0 ± 2,0	45,9 ± 2,2
Субстрат під мохом	7,0 ± 0,5	<b>28,0</b> ± <b>1,0</b>	5675,0 ± 400,0	630,0 ± 44,0	1281,0 ± 62,0	48,0 ± 3,0	52,0 ± 3,0	17,0 ± 1,0	21,0 ± 1,0	17,0 ± 0,2
Оголений субстрат	6,0 ± 0,4	<b>24,0</b> ± <b>2,0</b>	1010,0 ± 71,0	460,0 ± 31,0	2050,0 ± 107,0	40,1 ± 2,0	38,1 ± 2,0	11,0 ± 0,1	18,0 ± 1,0	13,0 ± 0,1
<b>Тераса відвалу</b>										
Рослини моху	<b>51,0</b> ± <b>3,0</b>	<b>11,0</b> ± <b>1,0</b>	6342,0 ± 453,0	1100,0 ± 62,0	1207,0 ± 84,0	33,7 ± 2,1	<b>7600,0</b> ± <b>510,7</b>	86,3 ± 5,2	31,3 ± 2,0	27,0 ± 1,1
Субстрат під мохом	5,0 ± 0,3	<b>19,0</b> ± <b>2,0</b>	7860,0 ± 504,0	920,0 ± 57,0	2350,0 ± 104,0	32,0 ± 2,1	41,0 ± 2,9	3,0 ± 0,1	5,7 ± 1,0	14,0 ± 0,2
Оголений субстрат	5,0 ± 0,2	<b>18,0</b> ± <b>2,0</b>	1205,0 ± 78,0	600,0 ± 33,0	3000,2 ± 210,0	31,0 ± 2,0	218,0 ± 15,0	7,0 ± 0,1	10,0 ± 1,0	15,0 ± 0,2
<b>Основа відвалу</b>										
Рослини моху	26,0 ± 1,0	<b>17,0</b> ± <b>1,0</b>	7550,0 ± 511,0	1235,0 ± 70,0	1389,1 ± 67,3	39,3 ± 3,0	<b>2262,0</b> ± <b>12,5</b>	44,0 ± 0,2	<b>93,6</b> ± <b>6,5</b>	35,5 ± 2,0
Субстрат під мохом	7,0 ± 0,2	<b>28,0</b> ± <b>1,0</b>	8017,0 ± 600,0	1049,0 ± 65,0	2543,0 ± 132,3	<b>67,5</b> ± 4,1	126,1 ± 8,0	86,0 ± 5,0	<b>97,4</b> ± <b>5,0</b>	65,0 ± 4,3
Оголений субстрат	7,0 ± 0,2	<b>26,0</b> ± <b>1,0</b>	1260,0 ± 69,0	840,0 ± 46,0	3075,5 ± 160,9	45,0 ± 2,0	64,2 ± 4,1	14,0 ± 0,1	13,0 ± 0,3	20,5 ± 1,1

Показники, що перевищують ГДК, відзначено жирним шрифтом.

Отримані результати свідчать, що на шахтних відвалах більшість досліджуваних макро- та мікроелементів нагромаджувалися переважно рослинами *C. purpureus* та у субстраті під моховими дернинами, очевидно,

внаслідок руху води, який у бріофітів відбувається із поверхні дернин, верхівок пагонів і листків після дощу, туману чи роси та верхнього шару субстрату.

На території Львівщини, крім вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району, потужним джерелом атмосферного забруднення є ПАТ “Миколаївцемент”. Подрібнення, перемелювання й обпалювання сировинної суміші для виробництва цементу зумовлює надходження в атмосферу пилу, який містить різні найдрібніші тверді частинки. Особливістю цементного пилу є те, що він може бути нетоксичним, але адсорбуючи на своїй поверхні газоподібні й рідкі сполуки набуває зовсім інших властивостей і таким чином збільшує небезпеку для біоти (Челноков, Плышевский, 2000; Пузенко, 2005). Так, дрібні частинки пилу, осідаючи на листках, перехоплюють, відбивають та розсіюють фізіологічно активну сонячну енергію, через те знижують світлопоглинання і, відповідно, пригнічують фотосинтез, водночас унаслідок зростання надходження теплової енергії спричиняють перегрів листя, опіки та отруєння (Ворон та ін., 2011) і/або завдають механічних пошкоджень гострими краями твердих поллютантів (Пасика, 2004; Пузенко, 2005; Ворон та ін., 2011).

Таблиця 5.2

**Вміст макро- та мікроелементів у субстраті та рослинах  
*Ceratodon purpureus* в умовах цементного забруднення ПАТ  
“Миколаївцемент”**

Досліджувані зразки	Вміст валовий форм досліджуваних елементів, мг/кг маси сухої речовини									
	Pb	Cd	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Ni	Cr
10 м від цементного заводу										
Рослини моху	0,022	0,004	53600	1100	3,4	0,04	0,20	0,03	0,04	0,33
Субстрат під мохом	0,035	0,010	52000	1100	8,0	0,12	0,40	0,05	0,08	0,60
Оголений субстрат	0,040	0,006	16600	600	9,0	0,08	0,45	0,09	0,01	0,96
100 м від цементного заводу										
Рослини моху	0,020	0,003	43400	1200	5,7	0,12	0,28	0,05	0,06	0,60
Субстрат під мохом	0,028	0,009	18100	500	6,3	0,07	0,40	0,03	0,04	3,30
Оголений субстрат	0,015	0,006	11700	600	7,0	0,07	0,40	0,05	0,04	0,95

Літературні дані щодо фітотоксичності цементного пилу є фрагментарними і часто мають суперечливий характер. Результати

проведених нами досліджень свідчать, що на територіях прилеглих до підприємства цементного виробництва домінуючими є кальцієвмісні викиди (табл. 5.2), що призводить до підлужнювання ґрунту та зміни рухомості біогенних елементів. Акумуляція в рослинах надмірної кількості кальцію і магнію з цементного пилу спричиняє зміну біологічної активності, інтенсивності та спрямованості метаболізму (Пузенко, 2005).

## 5.2. МОРФОЛОГІЧНА СТРУКТУРА ДЕРНИН ТА АДАПТИВНІ МОРФОЛОГІЧНІ МОДИФІКАЦІЇ ПАГОНІВ МОХУ

На підставі результатів досліджень морфологічної структури дернин *C. purpureus* (табл. 5.3) встановлено, що у місцевиростаннях моху з вищою інтенсивністю освітлення: перша тераса шахтного відвалу (90,0–100,0 тис. лк;  $t_{\text{суб.}}$  29–32°C; рН 5,65–5,75), і 10 м від цементного заводу (40–55 тис. лк;  $t_{\text{суб.}}$  27,5–29,0° С; рН 7,0–7,15) густина мохових дернин зростала до 110,5 та 178,3 пагонів/см<sup>2</sup>, порівняно з 76,1 паг./см<sup>2</sup> на вершині (63,2–85,3 тис. лк;  $t_{\text{суб.}}$  29,0–29,5°C; рН 5,10–5,25) та 90,1 паг./см<sup>2</sup> у підніжжі відвалу (64,0–80,0 тис. лк;  $t_{\text{суб.}}$  28,7–31,0°C; рН 5,3–5,5) і 100 м від цементного заводу (30,0–40,0 тис. лк;  $t_{\text{суб.}}$  24,5–27,0°C; рН 7,35–7,40) – 77,1 паг./см<sup>2</sup>. Окрім того, збільшувалися показники облиственості пагонів та індексу листової поверхні (ІЛП), які майже в 1,5–4,5 рази більші, порівняно з іншими місцевиростаннями (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

**Морфологічна структура дернин *Ceratodon purpureus* у різних умовах місцевиростань відвалу шахти “Надія” та ПАТ “Миколаївцемент”**

Місце-виростання	Кількість		ІЛП (площа листків/ площа ґрунту)
	пагонів/см <sup>2</sup> мохової дернини	листіків/ стебло	
Вершина	76,1 ± 3,6	80,3 ± 8,4	0,09
Тераса	110,5 ± 10,1	150,3 ± 8,9	0,39
Основа	90,1 ± 8,4	97,1 ± 7,2	0,20
10 м	178,3 ± 15,6	154,8 ± 6,7	0,49
100 м	77,1 ± 8,0	67,7 ± 2,9	0,20

Відзначено, що на терасі відвалу за найбільшої інтенсивності освітлення листки моху були найширшими, тоді як з місцевиростань м.

Миколаєва – найдовшими (табл. 5.4). Для *C. purpureus* з тераси відвалу визначено найменшу кількість клітин на одиницю листкової поверхні ( $5050,50 \pm 40,51$  клітин/мм<sup>2</sup>) за найбільшої площі листків і клітин. У місцевиростаннях, віддалених на 100 м від цементного заводу, на стеблах моху виявлено дещо менші за площею листки, але з найменшою кількістю клітин на одиницю листкової поверхні ( $3300,30 \pm 78,05$  клітин/мм<sup>2</sup>), оскільки їхня площа була найбільшою.

Таблиця 5.4

**Морфометричні показники листків *Ceratodon purpureus* з досліджуваних місцевиростань відвалу шахти “Надія” та ПАТ “Миколаївцемент”**

Місце-виростання	Розміри листків, мм		Д/Ш	Площа	
	Довжина (Д)	Ширина (Ш)		Листкової поверхні, мм <sup>2</sup>	клітин листків, мкм <sup>2</sup>
Вершина	0,63 ± 0,06	0,27 ± 0,02	2,35	0,11 ± 0,02	114,32 ± 10,50
Тераса	1,13 ± 0,06	0,49 ± 0,01	2,31	0,35 ± 0,02	186,92 ± 20,46
Основа	1,02 ± 0,06	0,34 ± 0,02	2,98	0,22 ± 0,02	139,86 ± 12,58
10 м	1,41 ± 0,11	0,38 ± 0,04	3,74	0,28 ± 0,01	118,53 ± 10,67
100 м	1,38 ± 0,18	0,38 ± 0,05	3,61	0,27 ± 0,06	303,16 ± 27,30

Отримані результати свідчать, що збільшення облиственості пагонів та ЛП є одним із механізмів фотозахисту *C. purpureus*, який, спричиняючи самозатінення листків, сприяє їх захисту від сонячної радіації, зокрема ультрафіолетового випромінювання, водночас сприяє підтримці вологості всередині дернин моху та поглинанню CO<sub>2</sub>. В умовах цементного забруднення, коли більшість обмінних сайтів клітинних стінок заблоковані іонами Кальцію та Магнію, що ускладнює надходження життєво важливих поживних катіонів, зокрема K<sup>+</sup>, видовження листків, насамперед жилки, та їхніх клітин, мабуть, призводило до поліпшення поглинання та транспорту речовин у рослинах моху.

**5.3. СТАТЕВА СТРУКТУРА МОХОВИХ ДЕРНИН ТА ЇХ РЕПРОДУКТИВНА ЗДАТНІСТЬ ЯК ПРОЯВ АДАПТОГЕНЕЗУ ДО УМОВ ПОРУШЕНИХ ТЕРИТОРІЙ**

За впливу багатofакторного стресу на техногенних територіях та значної мінливості мікрокліматичних й едафічних умов місцевиростань (інтенсивності освітлення, температури, рН субстрату, техногенного забруднення) створюються відмінні умови для росту, формування

гаметангіїв та розвитку спорофіту мохів, що призводить до розмаїття їх репродуктивних циклів (Лобачевська, 2012г).

На вершині відвалу вугільної шахти “Надія” в умовах високого зволоження субстрату (20–23%) та інтенсивності освітлення на породі, що горіла з виділенням токсичних кислих водних випарів, *S. purpureus* утворював дернини з найменшою щільністю пагонів, проте з численними спорогонами (15,4%) і найбільшою кількістю чоловічих рослин (39,6%). У найпосушливіших місцевиростаннях (вміст вологи у субстраті 12,0–13,4%) з високою інтенсивністю освітлення першої тераси відвалу кількість фертильних рослин у найгустіших дернинах моху була найвищою (70,7%), проте кількість жіночих рослин переважала, чоловічих рослин було 30,0%. Дернини моху у затіненіших місцевиростаннях підніжжя за вологості субстрату (15,8%) і меншої густоти дернин утворювали найменшу кількість фертильних рослин: 27,7% жіночих і 12,9% чоловічих.

В умовах цементного забруднення м. Миколаєва як у дуже щільних мохових дернинах на віддалі 10 м від заводу (зволоження субстрату 3–7%), так і у значно пухкіших дернинах на віддалі 100 м (зволоження субстрату 8–11%), чоловічих рослин і спорогонів з коробочками у *S. purpureus* не було виявлено. З віддаленням від джерела забруднення кількість жіночих рослин у дернинах моху становила 19,2% і 29,1% відповідно, тобто зростала у 1,5 рази, а кількість архегоніїв у гінецеях збільшувалася в 1,2 рази.

Установлено, що залежно від екологічних умов антропогенно трансформованого середовища, мохоподібні не лише формують різну морфологічну і статеву структуру мохових дернин, а й під впливом токсичних інгредієнтів забруднення змінюються фізіологічно (Jules, Shaw, 1994; Tobias, Niinemets, 2010; Кияк, Баїк, 2011; Соханьчак, Лобачевська, 2012; Соханьчак та ін., 2013).

#### **5.4. СЕЗОННА ДИНАМІКА ФОТОХІМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ХЛОРОПЛАСТІВ ТА КІЛЬКІСНОГО Й ЯКІСНОГО СКЛАДУ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ**

Виявлено, що вміст хлорофілів ( $a+b$ ) та їхнє співвідношення у пагонах *S. purpureus* збільшувалися з підвищенням інтенсивності освітленості (від 30,0 до 100,0 тис. лк). Найбільший вміст хлорофілів встановлено у зразках моху з тераси та значно віддалених від цементного заводу (рис. 5.1).

Частка хлорофілу  $a$  в сумарній кількості зелених пігментів становила в середньому 60–65 %. Відомо, що хлорофіл  $a$  не лише поглинає світлову енергію, а й приймає її від інших фотосинтетичних пігментів



світлозбиральних комплексів фотосистем. Вміст хлорофілів (0,31–1,80 мкг/г маси с. р.) та каротиноїдів (0,03–0,40 мкг/г маси сухої речовини) зростає із квітня до листопада.

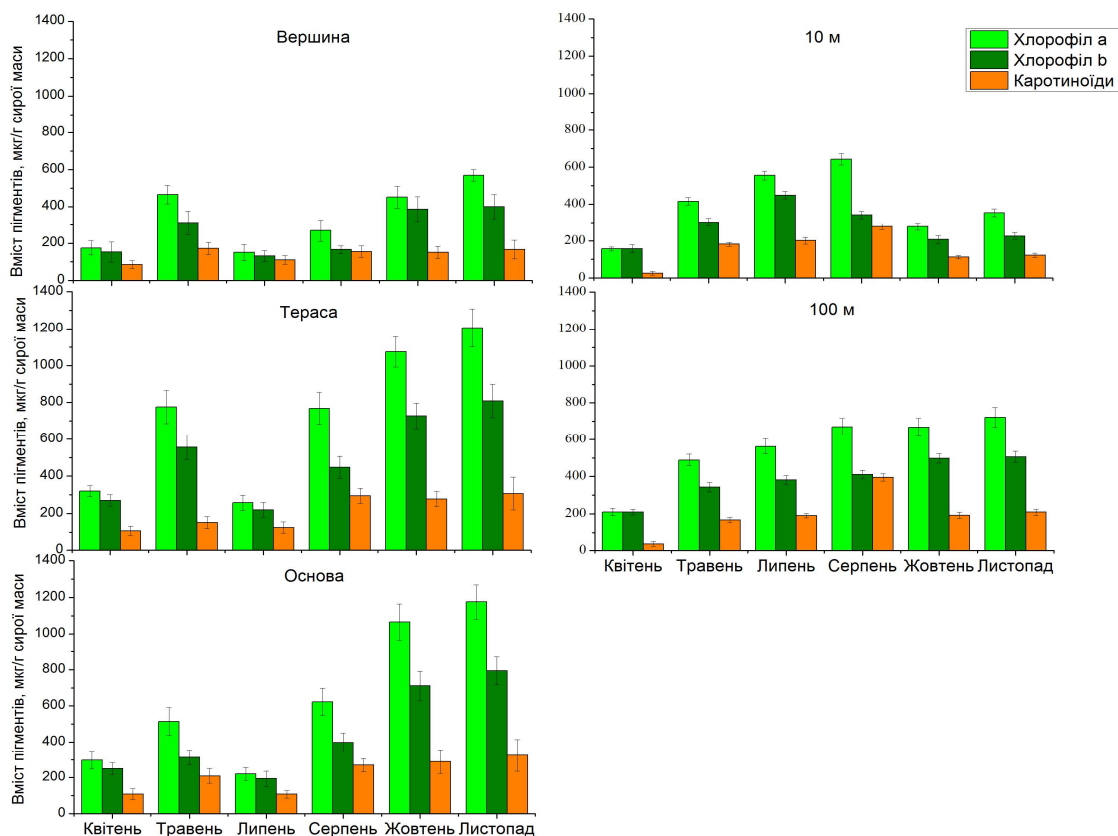


Рис. 5.1. Сезонна динаміка вмісту пігментів фотосинтезу у пагонах *Ceratodon purpureus* із досліджуваних місцевиростань відвалу шахти “Надія” та ПАТ “Миколаївцемент”

Установлено, що співвідношення хлорофілів/каротиноїдів було нижчим у вологіших місцевиростаннях (вершина і підніжжя відвалу та 100 м від цементного заводу). Влітку, коли дернини моху пересихали в місцевиростаннях з високою інтенсивністю світла, концентрація хлорофілу *a* і співвідношення *a/b* знижувалися, а каротиноїдів зростала (табл. 5.5). Підвищення вмісту каротиноїдів свідчить про розвиток захисних реакцій, що сприяють розсіюванню надлишкової світлової енергії збудженого хлорофілу та перешкоджають утворенню вільних радикалів. В осінній період співвідношення *a/b* зростало внаслідок зменшення вмісту хлорофілу *a*, що вказує на пристосованість пігментного апарату мохів до широкої амплітуди зміни освітленості та можливість ефективного використання світла малих інтенсивностей. Так, установлено, що кількісний склад фотосинтетичних пігментів мохів на території відвалу № 1 Язівського сірчаного родовища залежали від конкретних мікрокліматичних умов на схилах відвалу (Кияк, Баїк, 2011).

Окрім хлорофілів, значною частиною пігментного фонду мохів є феофітин *a* і феофітин *b*. У *C. purpureus* найменший вміст феофітинів визначено весною (0,02–0,88 мкг/г маси сухої речовини).

Таблиця 5.5

**Сезонні зміни показників співвідношення хлорофілів (*a/b*) та суми хлорофілів до каротиноїдів (*X/K*) у пагонах *Ceratodon purpureus* з відвалу шахти “Надія” та ПАТ “Миколаївцемент”**

Місяці збору зразків мохів	Місцевиростання моху									
	Вершина відвалу		Тераса		Основа відвалу		10 м від цементного заводу		100 м від цементного заводу	
	<i>a/b</i>	<i>X/K</i>	<i>a/b</i>	<i>X/K</i>	<i>a/b</i>	<i>X/K</i>	<i>a/b</i>	<i>X/K</i>	<i>a/b</i>	<i>X/K</i>
Квітень	1,14	3,86	1,18	5,51	1,19	5,07	0,99	12,52	1,00	12,00
Травень	1,49	4,52	1,40	8,75	1,64	3,95	1,37	3,96	1,42	4,98
Липень	1,14	2,55	1,17	3,82	1,13	3,87	1,24	5,01	1,47	4,96
Серпень	1,61	2,80	1,72	4,12	1,57	3,79	1,88	3,56	1,63	2,73
Жовтень	1,16	5,54	1,48	6,50	1,50	6,12	1,34	4,30	1,38	6,17
Листопад	1,42	5,80	1,49	6,56	1,48	6,06	1,57	4,77	1,43	5,87

Протягом літніх місяців і початку осені їх вміст зростав, водночас між вмістом хлорофілів і феофітинів проявлявся статистично достовірний зв'язок, насамперед для хлорофілу *a*. В умовах значного цементного забруднення у жовтні–листопаді вміст феофіментів істотно знижувався (рис. 5.2). На підставі результатів дослідження компонентного складу зелених пігментів *C. purpureus* відзначено найбільший вміст феофітинів, зокрема феофітину *a* в умовах цементного забруднення, за помітного зменшення показника співвідношення хлорофілів *a/b*. Відомо, що в пластидах феофіменти утворюються під час темнових реакцій фотосинтезу та деградації хлорофілів, а саме втрати  $Mg^{2+}$  чи фітолу внаслідок підвищення концентрації поза- та внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$  (Kaur et al., 2010; Tobias, Niinemets, 2010). Отже, збільшення вмісту феофітину *a*, який легко деградує, але скоріше відновлюється, ніж хлорофіл *b*, компенсувало зниження рівня хлорофілу *a*.

На підставі аналізу мінливості вмісту антоціанів показано, що *C. purpureus* здатний адаптуватися до сезонних змін мікроумов не лише завдяки фотосинтезуючим пігментам пластид, а й пігментам вакуоль. Це призводить до сезонних змін забарвлення дернин моху від світло- до темно-зеленого або бурого. Ранньою весною у *C. purpureus* утворення антоціанів (3,9–5,2 мкг/кг маси с. р.) відзначено на шахтних відвалах, у літні місяці – лише на терасі за найвищої інтенсивності освітлення та майже у 13 разів більше в умовах цементного забруднення (табл. 5.6).

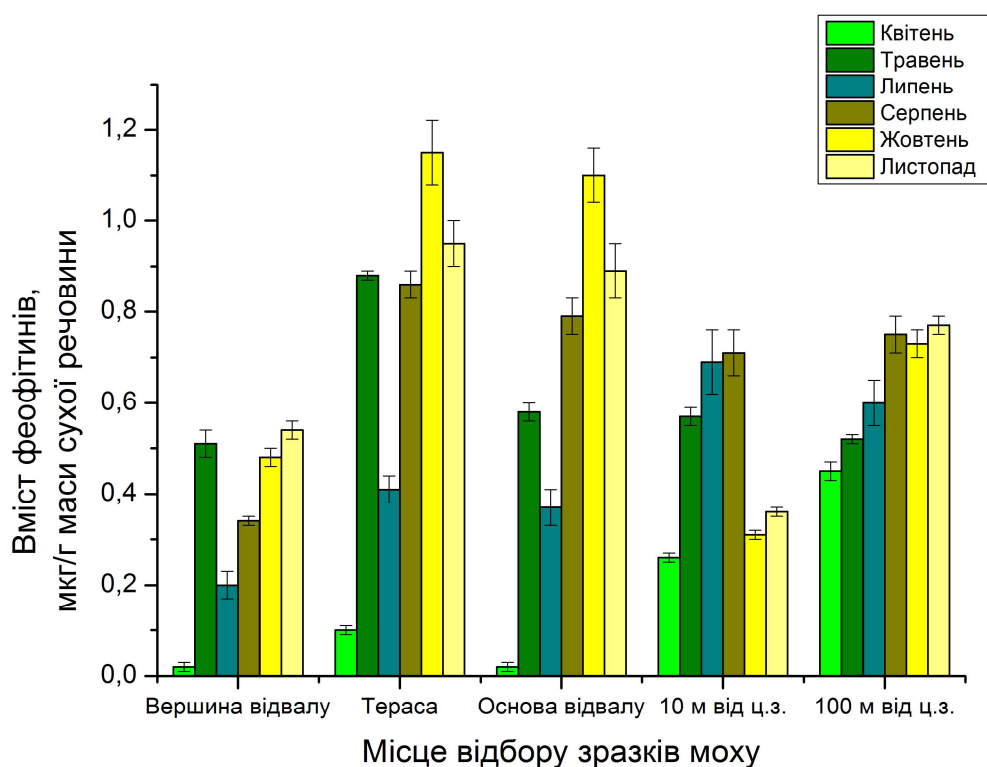


Рис. 5.2. Сезонні зміни вмісту феофітинів у пагонах *Ceratodon purpureus* у різних умовах місцевиростань відвалу шахти “Надія” та ПАТ “Миколаївцемент”

Восени антоціани визначали у рослинах моху в значно сухіших умовах тераса і підніжжя відвалу та в набагато більших кількостях поблизу цементного заводу.

Таблиця 5.6

**Загальний вміст антоціанів (мкг/г маси с. р.) у пагонах *Ceratodon purpureus* залежно від екологічних умов досліджуваних місцевиростань відвалу шахти “Надія” та ПАТ “Миколаївцемент”**

Місяці	Місце збору зразків моху				
	Вершина відвалу	Тераса	Основа відвалу	10 м від цементного заводу	100 м від цементного заводу
	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>A</i>
Квітень	2,0 ± 0,1	5,2 ± 0,2	3,9 ± 0,1	–	–
Травень	–	–	–	–	–
Липень	–	–	–	25,7 ± 0,9	13,5 ± 1,3
Серпень	–	3,7 ± 0,1	–	46,5 ± 0,8	48,7 ± 5,1
Жовтень	–	25,6 ± 0,5	6,2 ± 0,2	171,7 ± 10,9	125,9 ± 7,7
Листопад	3,0 ± 0,1	30,1 ± 0,3	7,5 ± 0,2	189,0 ± 13,1	129,7 ± 8,0

Антоціани, поглинаючи надлишкові кванти світла, знижують частоту фотоінгібування та пришвидшують відновлення фотосинтетичного апарату. В *C. purpureus* за високої інтенсивності

освітлення та цементного забруднення забарвлення листків ще на початку літа ставало рудим. Такий колір, мабуть, був зумовлений підвищенням вмісту феофітинів та антоціанів, які виконують антиоксидантні функції в клітинах, пов'язані з нефотохімічними захисними механізмами рослин.

Результати аналізу сезонних змін фотохімічної активності ізольованих хлоропластів *C. purpureus* свідчать, що протягом весни її показники були найвищими, проте майже вдвічі знижувалися наприкінці літа і восени були найнижчими (табл. 5.7).

Таблиця 5.7

**Фотохімічна активність (мкМ 2,6-ДХФІФ/год/мг хлорофілу) ізольованих хлоропластів *Ceratodon purpureus* із різних дослідних ділянок відвалу шахти “Надія” та ПАТ “Миколаївцемент”**

Місце збору зразків моху	Місяці					
	Квітень	Травень	Липень	Серпень	Жовтень	Листопад
Вершина відвалу	46,7 ± 6,6	35,2 ± 3,0	34,1 ± 4,2	36,7 ± 4,7	5,3 ± 0,9	6,2 ± 0,7
Тераса	44,8 ± 2,6	39,5 ± 2,3	30,5 ± 4,0	21,2 ± 3,2	10,7 ± 1,0	11,4 ± 0,8
Основа відвалу	52,8 ± 3,0	73,6 ± 5,8	43,8 ± 3,3	29,7 ± 3,6	4,8 ± 0,5	6,0 ± 0,4
10 м від цементного заводу	39,7 ± 5,5	30,1 ± 4,1	27,3 ± 3,8	23,6 ± 3,4	8,8 ± 0,9	4,1 ± 0,8
100 м від цементного заводу	43,5 ± 4,8	36,4 ± 3,9	31,9 ± 2,9	25,2 ± 3,0	6,2 ± 0,7	5,3 ± 0,6

Висока інсоляція та зниження вологості субстрату істотно впливали на вміст фотосинтетичних пігментів та активність ізольованих хлоропластів *C. purpureus*. Як свідчать літературні дані (Marschall, Proctor, 2004; Соханьчак та ін., 2013) збільшення вмісту пігментів та їх співвідношення в осінній період є проявом компенсаційних механізмів, які сприяють підвищенню потенціалу фотосинтезу мохів за низької швидкості перенесення електронів у тилакоїдних мембранах хлоропластів.

Отже, сезонні зміни пігментної системи не лише визначають фотосинтетичну активність мохів у різних умовах місцевиростання, а й слугують маркерами скринінгу їх стійкості. Як свідчать отримані результати дослідження кількісних та якісних змін пігментного комплексу *C. purpureus* – високий вміст хлорофілів щодо каротиноїдів, підвищення вмісту каротиноїдів за умов зменшення співвідношення хлорофілів *a/b*, збільшення загального вмісту антоціанів та феофітину *a* є проявами адаптивного потенціалу моху, що відіграє важливу роль у захисті його фотосинтетичної системи за дії техногенних чинників, високої інсоляції та нестабільного гідротермічного режиму середовища. Вивчення адаптаційних можливостей рослин за дії екстремальних екологічних чинників в умовах зростання антропогенного навантаження на екосистеми на підставі дослідження особливостей варіабельності морфологічної

структури та фізіолого-біохімічних реакцій мохів дає можливість розкрити багаторівневі аспекти стрес-адаптивної стратегії мохоподібних та є науковим підґрунтям для біомоніторингу і наукової концепції збереження біорізноманіття.

Таким чином, проаналізовано особливості змін морфологічної й статевої структури дернин, сезонної динаміки вмісту пігментів фотосинтезу та фотохімічної активності ізольованих хлоропластів моху *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. в умовах техногенного середовища: рекультивованого терикону шахти “Надія” (м. Соснівка) Червоноградського гірничопромислового району та ПАТ “Миколаївцемент” (Львівська обл.). На підставі результатів атомно-емісійного спектрального аналізу встановлено, що на відвалі шахти “Надія” більшість досліджуваних макро- та мікроелементів нагромаджувалися здебільшого рослинами *C. purpureus* та у субстраті під моховими дернинами. В окремих пробах валовий вміст Кадмію, Плюмбуму, Нікелю та Мангану перевищував гранично допустимі концентрації. На територіях прилеглих до підприємства з виробництва цементу переважно кальцієвмісні викиди призводили до підлужнювання ґрунту та акумуляції в рослинах надмірної кількості Кальцію і Мангану. Встановлено, що збільшення облиственості пагонів та індексу листової поверхні сприяє водозбереженню у дернинах і є одним із механізмів фотозахисту пігментної системи моху. Дослідження особливостей сезонної варіабельності фотохімічної активності хлоропластів та кількісного й якісного складу фотосинтетичних пігментів (хлорофілів, каротиноїдів, феофітинів) і загального вмісту антоціанів дало можливість з’ясувати багаторівневі аспекти адаптивної стратегії *C. purpureus* у несприятливих мікрокліматичних та едафічних умовах техногенного середовища.

Отже, у несприятливих умовах техногенного середовища *C. purpureus* проявляв різну ступінь пристосованості та фенотипної пластичності: морфологічна структура та репродуктивна здатність моху змінювалася залежно від екотопних умов конкретної порушеної території і фітотоксичності основних забруднювачів.

Сезонна динаміка фотохімічної активності ізольованих хлоропластів та дисбаланс співвідношення фотосинтетичних пігментів у листках мохів, як адаптивна реакція на стрес, відобразили рівень пошкодження пігментного апарату рослин в умовах техногенного забруднення, високої інсоляції та нестабільного гідротермічного режиму субстрату. В умовах цементного забруднення комплекс екологічних факторів призводив до суттєвіших змін як вегетативної, так і репродуктивної сфери рослин *C. purpureus*, порівняно з екстремальними умовами на відвалі шахти “Надія”.

## **5.5. СЕЗОННА ДИНАМІКА ВМІСТУ ВІЛЬНОГО ПРОЛІНУ У ПАГОНАХ *CERATODON PURPUREUS* ЗАЛЕЖНО ВІД УМОВ МІСЦЕВИРОСТАННЯ НА ВІДВАЛАХ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ ЧЕРВОНОГРАДСЬКОГО ГІРНИЧОПРОМИСЛОВОГО КОМПЛЕКСУ**

На породних відвалах вугільних шахт, утворених унаслідок винесеної на поверхню літосфери материнської породи, сформувались нетипові для даного району специфічні мікрокліматичні умови, зокрема високий температурний режим як повітря, так і субстрату, дефіцит вологи в техноземі, значна сонячна радіація, що є одними із лімітуючих факторів для заселення та нормального онтогенезу рослин. Екологічно пластичні мохоподібні як піонерні види здатні не лише поселятись у таких екстремальних умовах, але й розмножуватись та формувати стійкі угруповання, які відрізняються між собою як за видовим складом бріофлори, так і за структурно-функціональною організацією.

Здатність бріофітів виживати в умовах дії негативних чинників трансформованого середовища реалізується завдяки пристосувальним механізмам рослинного організму, які проявляються, зокрема, на рівні його анатомо-морфологічної структури чи активації/інактивації фізіолого-біохімічних процесів.

В умовах осмотичного стресу рослини здатні продукувати осмотично активні речовини, зокрема низькомолекулярну нітрогенвмісну сполуку – вільний пролін. Цю імінокислоту відносять до стресових метаболітів рослинних організмів та поліфункціональних протекторів. Досліджено, що накопичення у рослинах проліну сприяє вирівнюванню осмотичного балансу клітини. Активація його біосинтезу знижує водний потенціал клітини, перешкоджаючи її інтенсивній дегідратації. Пролін розглядають як молекулярний шаперон, який здатний захищати структурну будову молекул білків, зокрема попереджувати їх денатурацію, запобігати інактивації ферментів тощо. Імінокислота ініціює роботу захисної антиоксидантної системи. Її вважають одним із можливих скавенжерів радикальних форм кисню. Сполука може утворювати стійкий радикал, який сприяє “гасінню” або перериванню низки вільнорадикальних ланцюгів реакцій (Rajendrakumar et al., 1994; Sánchez F.J. et al., 1998; Szabados, Savoure, 2009; Колупаєв, Карпец, 2010).

Дослідження проводили на відвалах вугільних шахт, які відрізнялися між собою як за віком, так і ступенем рекультивациі, а саме: рекультивованому відвалі діючої шахти “Надія”, незарослому і частково рекультивованому Центральній збагачувальній фабриці (ЦЗФ) “Червоноградська” та природно зарослому недіючій шахти “Візейська”. Вміст

вільного проліну у пагонах *Ceratodon purpureus* визначали за Л. Бейтсом (Bates, 1973) на вершинах, терасах та у підніжжях породних відвалів.

Залежно від положення на шахтних відвалах, для яких характерні гетерогенні екологічні умови місцезростань рослин, визначено особливості сезонних змін вмісту вільного проліну у гаметофіті моху *Ceratodon purpureus*.

Результати досліджень свідчать, що навесні на вершині відвалу шахти “Надія” вміст проліну у пагонах моху становив 0,022 мг/г м.с.р., у липні був більшим у 5,7 рази, а у жовтні – лише в 1,3 рази (рис. 5.3). На терасі відвалу шахти визначено найбільшу кількість осмопротектора: у квітні в умовах підвищеної температури субстрату (30 °С) внаслідок горіння породи, вміст проліну становив 0,136 мг/г м.с.р., а влітку – підвищувався до 0,244 мг/г м.с.р., що, очевидно, є проявом адаптивної реакції моху до впливу стресових гідротермічних умов ( $t$  субстрату – 42°С, вміст вологи – 0,4%) та екстремальної інсоляції (95-100 тис. лк). У жовтні кількість метаболіту у клітинах моху з тераси була нижчою, ніж в інші місяці.

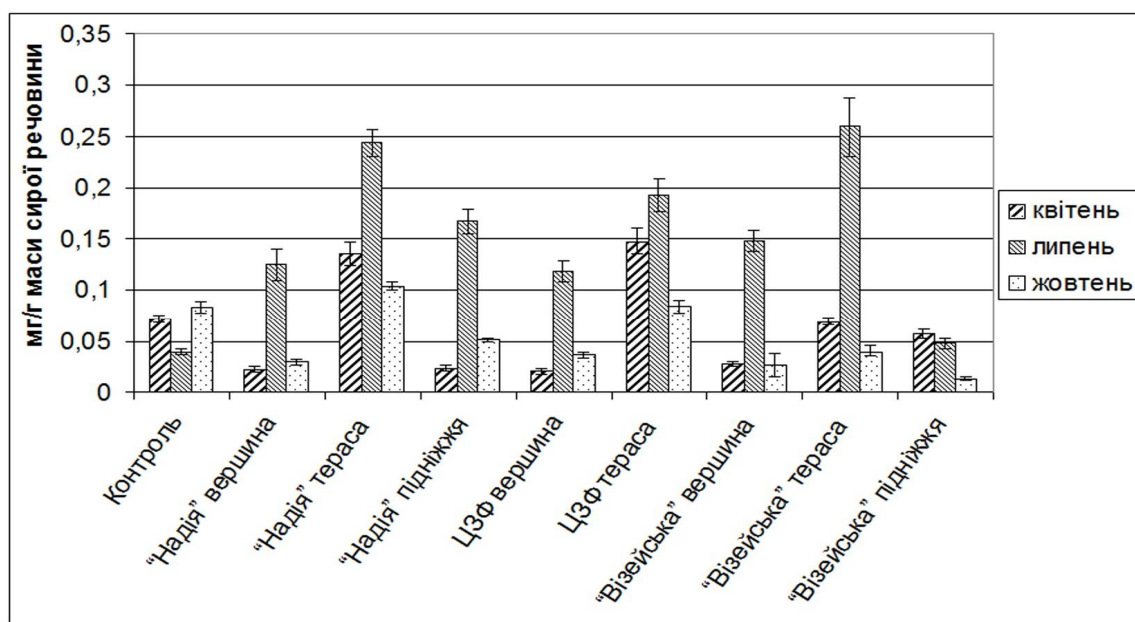


Рис. 5.3. Сезонна динаміка вмісту вільного проліну у пагонах *Ceratodon purpureus* у стресових умовах породних відвалів

Навесні у підніжжі відвалу вміст проліну у пагонах *C. purpureus* становив 0,023 мг/г м.с.р., тоді як у липні за інтенсивності освітлення – 74-80 тис. лк та вологості субстрату (5,9 %) підвищувався до 0,167 мг/г м.с.р. У жовтні кількість осмопротектора збільшувалась у 2,2 рази, порівняно з весняними показниками, та знижувалась у 3,3 рази, порівняно з літніми. На вершині відвалу ЦЗФ у гаметофіті *C. purpureus* вміст метаболіту проліну у квітні був невеликим – 0,021 мг/г м.с.р., у липні зростав у 5,6 рази, а в жовтні лише у 1,7 рази (0,036 мг/г м.с.р.), порівняно з весняними

показниками. Навесні на освітленій ділянці тераси ЦЗФ вміст імінокислоти у пагонах моху становив 0,148 мг/г м.с.р., влітку за інтенсивності освітлення – 95-100 тис. лк та незначного зволоження субстрату (0,6%), кількість вільного проліну в пагонах моху підвищувався до 0,192 мг/г м.с.р. та зменшувався до 0,084 мг/г м.с.р. восени.

Виявлено, що у квітні на вершині відвалу шахти “Візейська” вміст проліну у клітинах моху становив 0,027 мг/г м.с.р., у липні за впливу сонячної радіації (89-96 тис. лк) і температури (29,1°C) та вологості субстрату – 1,9% – його вміст підвищувався до 0,149 мг/г м.с.р. На терасі в більш сприятливих мікроумовах місцезростання моху (температура та вологість субстрату – 22,1°C та 11,2% відповідно) за інтенсивності освітлення 72,0-84,0 тис. лк, вміст імінокислоти підвищувався до 0,259 мг/г м.с.р. і був найбільшим, порівняно із зразками моху з інших положень на відвалі. Ймовірно, в цьому випадку активація синтезу метаболіту індукована факторами, не пов’язаними з осмотичними ефектами. У квітні в підніжжі відвалу вміст проліну в клітинах моху становив 0,057 мг/г м.с.р., влітку знижувався 1,1 рази, восени – у 4,4 рази, порівняно з весняними показниками. У жовтні встановлена тенденція до зниження вмісту вільного проліну у пагонах моху на усіх положеннях відвалу.

Отже, одним із механізмів захисту для збереження функціональної здатності бріофітів в умовах дії екстремальних абіотичних чинників є активація біосинтезу вільного проліну. Установлено залежність вмісту метаболіту у пагонах мохів від мікрокліматичних умов на відвалах, а в окремих випадках на синтез вільного проліну у клітинах, імовірно, впливали стресори іншої природи. Окрім того, присутність іонів  $Ca^{2+}$  у субстраті (Карпинець та ін., 2014) могла індукувати або накопичення імінокислоти у пагонах мохів, або ж запускати інші компенсаційні механізми стійкості (синтез антиоксидантних ферментів, підвищення термостабільності білків і білково-ліпідних комплексів та ін.), в результаті чого синтез імінокислоти не активувався. Зниження кількості вільного проліну в клітинах мохів в холодний період року може бути також і результатом деструктивних процесів, що супроводжують стрес, зокрема, бути джерелом енергії за дії негативних чинників техногенного середовища.



## РОЗДІЛ 6. БРЮФІТИ ЯК МОДЕЛЬ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕПІГЕНЕТИЧНОЇ ПРИРОДИ ПРИСТОСУВАНЬ РОСЛИН В УМОВАХ СТРЕСУ

Однією з властивостей живого є здатність пристосовуватися до умов існування. Виживання в екстремальних умовах відбувається завдяки фенотипній фізіологічній адаптації або ж унаслідок добору окремих генотипів, резистентних до дії стресора (генотипна адаптація). Фенотипна пластичність – це властивість генотипу змінювати експресію у відповідь на різноманітні зовнішні впливи. По своїй природі вона епігенетична, оскільки рослини з одним і тим самим генотипом у різних умовах можуть мати різні фенотипи. Епігенетичні зміни мають пристосувальний характер і виникають значно частіше, ніж мутації та з більшою або меншою стійкістю зберігаються в клітинних поділах (Jablonka, Lamb, 1998). Не викликає сумніву, що реалізація генетичної програми, імперативом якої є збереження виду та розмноження, перебуває під генетичним контролем. Проте виживання рослин у гетерогенному природному середовищі обумовлене певною мобільністю їх організації та спрямоване проти порушень в онтогенезі – генетичних чи обумовлених зовнішніми факторами. У фенотипі можливості генотипу не виявляються відразу. Однак в екстремальних умовах можуть реалізуватися потенції, неактивні у звичних умовах. Фенотипна пластичність відома для багатьох таксонів рослин, бактерій, молюсків. На популяційному рівні такі поняття як фізіологічна адаптація, норма реакції, пластичність і оптимальна пристосованість фенотипу розглядаються як залежні від добре інтегрованого генного комплексу, генофонду популяції (Maug, 1992). Генетична адаптація на фоні мінливості онтогенезу рослин гарантує стабільність нормального формотворення. У популяціях організмів генетична адаптація відбувається у процесі добору рідкісних випадкових генотипів, генетичних рекомбінантів або мутацій, резистентних до дії того чи іншого стресора.

Епігеном вищих рослин значно пластичніший, ніж геном, а частота точкових епімутацій в сотні разів перевищує частоту мутацій (Jablonka, Lamb, 2014; Pikaard, Scheid, 2014; Ванюшин, 2004). Всі основні механізми епігенетичної регуляції еукаріот використовуються рослинами. Найстабільнішою епігенетичною модифікацією з добре вивченим механізмом підтримання не лише на клітинному рівні, а у поколінні рослин, є метилювання ДНК. Вивчення взаємодії між метилюванням ДНК, модифікацією гістонів і некодуючими РНК, як багаторівневою епігенетичною схемою активації геному, є оригінальним внеском у розвиток епігенетики (Akimoto et al., 2007; Alinsug et al., 2009).

Зацікавленість проблемою епігенетики рослин сприяла залученню нових об'єктів і, зокрема, мохів. Бріофіти є групою рослин з широкою амплітудою фенотипної пластичності та складним геномом, який функціонально можна порівняти з квітковими рослинами (Shaw, Renzaglia, 2004; Malik et al., 2012), а короткотривалий онтогенез мохів зручний для експериментальних досліджень клітинних клонів. *Physcomitrella patens* у багатьох роботах є об'єктом досліджень епігенетичного контролю генної експресії процесів росту, розвитку, диференціації (Cove, 2005; Hiss et al., 2014; Yaari et al., 2015).

Об'єктом дослідження механізмів адаптації мохів є: епігенетичний контроль в умовах дозування стресового чинника та відбір стійких мікрорегенерантів; збереження пам'яті про дію стимулу і адаптивні відповіді, що успадковуються поколіннями клітин.

### **6.1. ЗАХИСНІ РЕАКЦІЇ КЛОНУ *TORTULA CAUCASICA* BROTH. (*TORTULA MODICA* ZANDER) ДО ДІЇ РТУТІ**

Щоб з'ясувати як клон моху із однієї клітини адаптується до дії іонів ртуті, експлантати клону, максимально вирівняні морфологічно та фізіологічно, вирощували на поживному агаризованому середовищі з чимраз більшими концентраціями  $Hg^{2+}$ . Моделюючи ситуацію дистресу (Кордюм, Сытник, 2003), коли доза стресового фактора сягає порогу, поза яким рослина не може вже компенсувати його дію, ми намагалися розрізнити фенотипну, фізіологічну адаптацію (Shaw, 1990) від генотипної, що неминуче повинна би супроводжуватися відмиранням частини експлантатів. Епігенетичний характер змін старалися оцінити, враховуючи частоту виживання експлантатів на середовищі з ртуттю та аналізуючи ріст дернин після реклонування рослин, що вижили на ртуті, на середовище з металом і без металу.

Стабільність змін активності генів в умовах стресу пов'язують із змінами в кількості та якості повторів нуклеотидів некодуєчої ДНК (Bassi, 1999; Imhoft, Bonaldi, 2006). Остання зосереджена переважно в більш компактному хроматині і функціонує як медіатор між стрес-фактором і експресією гену. Оскільки активні гени звичайно чутливіші до дії нуклеази, ніж неактивні (Blokland et al., 1997), проаналізовано вплив ртуті на функціональний стан ядерної ДНК залежно від стійкості до ДНКаз.

Толерантність експлантатів *Tortula caucasica* до ртуті в наших дослідах зростала зі збільшенням їх розміру. Так, невеликі ізольовані листки *T. caucasica* площею  $0,05 \pm 0,001$  мм<sup>2</sup>, регенерували 1–3 протонемними столонами й давали початок дернінам, кількість яких

зменшувалась з  $97,7 \pm 0,3\%$  у контролі до  $38,5 \pm 1,5\%$  вже за наявності  $0,5$  мкМ концентрації ртуті у середовищі. На вищих  $1,0$  і  $1,7$  мкМ концентраціях відсоток живих листків різко знижувався (табл. 6.1; рис. 6.1). Проте стебла гаметофорів з листками чи без листків та їх гомогенати регенерували і на значно вищих концентраціях –  $2$ – $2,5$  мкМ  $\text{HgCl}_2$ , але всі ізольовані листки в таких умовах гинули. Вищу регенераційну здатність мала й протонема. Відсоток протонемних стolonів, що вижили на найвищих концентраціях, був значно більший порівняно з листками ( $20\%$  проти  $3\%$ ). Очевидно, це зумовлено тим, що клітини фрагментів протонемі під час регенерації швидко відновлюють ріст і поділи, тоді як регенерація стебел чи листків протонемою є результатом доволі тривалого процесу клітинної дедиференціації. Проте в усіх дослідах встановлена зворотна кореляція між регенераційною здатністю і концентрацією  $\text{HgCl}_2$  у середовищі.

Таблиця 6.1

### Регенерація листків *Tortula caucasica* на середовищі з $\text{HgCl}_2$

$\text{HgCl}_2$ , мкМ	Кількість листків, взятих для регенерації	Кількість листків, що прорегенерували, %
0	1183	$97,7 \pm 0,4$
0,5	1091	$38,5 \pm 1,5$
1,0	234	$5,1 \pm 1,4$
1,7	279	$1,1 \pm 0,6$

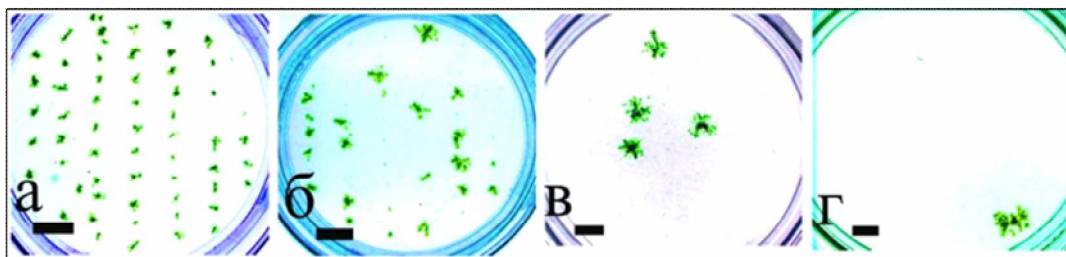


Рис. 6.1. Вживання експлантів *Tortula caucasica* на різних концентраціях  $\text{HgCl}_2$ : (а) без ртуті; (б)  $0,5$  мкМ  $\text{HgCl}_2$ ; (в)  $1,0$  мкМ  $\text{HgCl}_2$ ; (г)  $1,7$  мкМ  $\text{HgCl}_2$ ; штрих =  $500$  мкм

Останнім часом зазнає серйозного критичного перегляду класична концепція генетичної однорідності клонів. Із вдосконаленням методів оцінки рівень інтраклональної мінливості часто виявляється значно вищим, ніж вважалося раніше (Lushai, Loxdale, 2002). Про її високий показник свідчать спостереження за односпоровими дернинами мохів (Лазаренко, 1963) та дернинами, отриманими внаслідок регенерації окремих гаметофорів моху. Під час вирощування регенерантів

гаметофорів *Funaria hygrometrica* інтраклональна мінливість дернин підвищувалася на середовищі з міддю (Shaw, 1990). Показано, що в корінцях проростків цибулі під впливом важких металів помітно зростала частота хромосомних аберацій (Довгалюк, 2004).

Яким би, однак, широким не був діапазон випадкової інтраклональної мінливості регенерантів *T. caucasica*, практично неможливо уявити, як це могло забезпечити такий високий рівень виживання, що спостерігався на середовищі з ртуттю (рис. 6.1, б). Залишається припустити, що толерантність до ртуті зумовлена індукцією пристосувальних епігенетичних змін. Наші спостереження не дають підстав стверджувати, що епігенетичні зміни мали характер епімутацій, проте свідчать про значну стійкість та клітинне успадковування індукованих змін. Дернини *T. caucasica* якимось чином запам'ятали на клітинному рівні реакції, які дали можливість їм вижити на середовищі з ртуттю, і виявилися толерантнішими до металу, ніж у контролі. Так, попереднє вирощування рослин на середовищі з 0,5 мкМ HgCl<sub>2</sub> посилювало стійкість наступного регенеративного покоління до 1,0 мкМ і навіть 1,7 мкМ HgCl<sub>2</sub> (рис. 6.2).

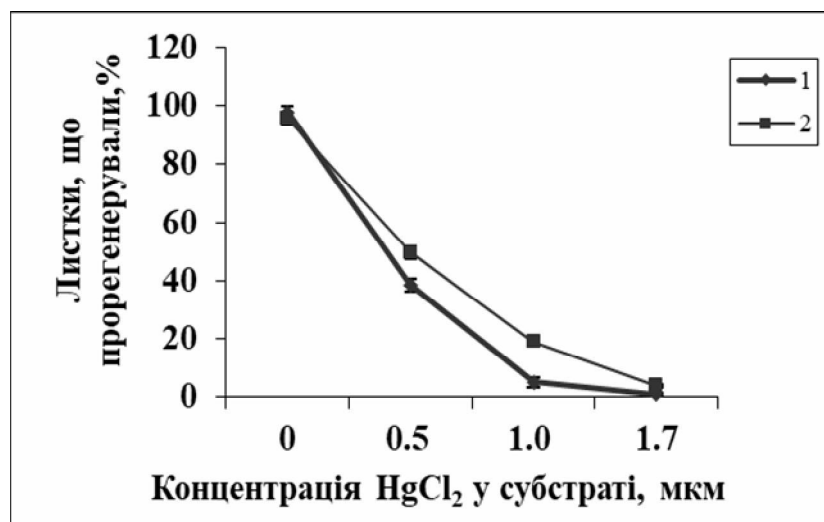


Рис. 6.2. Регенераційна здатність листків гаметофорів *Tortula caucasica*, що вирости на субстраті без ртуті (1) і за наявності у середовищі 0,5 мкМ HgCl<sub>2</sub> (2)

Слід відзначити, що пригнічення росту протонеми на субстраті з ртуттю спостерігалось лише на початкових етапах регенерації, а надалі ріст дернин був такий же, як на середовищі без металу або навіть інтенсивніший (рис. 6.1). Характерно, що гаметофори дернин, які вижили на середовищі з ртуттю, під час клонування на середовище без металу, формували дернини з гаметофорами, які росли значно швидше, ніж ті, що утворилися і весь час росли на середовищі контролю. Так, післядія 1,0 та

1,7 мкМ HgCl<sub>2</sub> проявилася у збільшенні довжини гаметофорів у 1,5 рази і чітко позначилася на розмірах листків, довжина і ширина яких зростала у 1,4 і 2,3 рази відповідно (табл. 6.2).

Середня площа листків, що приблизно дорівнює добутку довжини листка на ширину, у рослин, які клонували із середовища з 1,0 і 1,7 мкМ HgCl<sub>2</sub> на середовище без металу, була, відповідно, у 2,3 та 3,5 рази більшою, ніж у контролі. Тоді як середня площа клітин листків в обох випадках істотно не відрізнялася від контролю. Це вказує на те, що пришвидшення росту під впливом ртуті пов'язане зі зростанням темпів клітинних поділів. Слід думати, що стійкі епігенетичні зміни, індуковані ртуттю, стосувалися генів, які контролюють ріст, передусім інтенсивність клітинних поділів. У зв'язку із сказаним, варто згадати, що в природі моху *Pottia lanceolata* виявлено хромосомні раси (Рипецкий и др., 1983), а у печіночника *Conocephalum conicum* популяції (Szweykowski, 1984), що відрізнялися між собою лише інтенсивністю росту.

Таблиця 6.2

**Післядія (ПД) HgCl<sub>2</sub> на розміри гаметофорів, листків і клітин листків лабораторного клону *Tortula caucasica***

Варіант дослідження, ПД HgCl <sub>2</sub>	Довжина гаметофорів, мкм	Листки		Клітини	
		Довжина, мкм	Ширина, мкм	Довжина, мкм	Ширина, мкм
Контроль	957,5 ± 132,5	464,5 ± 11,5	72,6 ± 5,4	29,7 ± 1,5	14,6 ± 0,6
0,5 мкМ	1065,0 ± 97,7	507,5 ± 28,7	157,4 ± 5,5	24,5 ± 1,4	14,6 ± 0,3
1,0 мкМ	1502,5 ± 102,1	507,5 ± 34,3	154,2 ± 8,5	26,7 ± 1,5	15,8 ± 0,3
1,7 мкМ	1517,0 ± 91,3	648,3 ± 15,6	166,8 ± 6,0	27,7 ± 0,7	13,9 ± 0,2

Деякі зовнішні фактори, нетипові для середовища виростання рослин, іноді спричиняють поліплоїдизацію геному. Відомо, однак, що під впливом різноманітних стресорів, в тому числі важких металів, унаслідок ампліфікації та транспозицій часто істотно змінюються кількість та якість нуклеотидних повторів некодуєчої ДНК. Остання зосереджується переважно в компактнішому хроматині і функціонує як медіатор між стрес-фактором і експресією генів. У досліджах з *F. hygrometrica*, застосувавши АТ- та GC-специфічні флуорохроми, встановили, що свинець стимулює значне збільшення кількості та розмірів нуклеотидних повторів ДНК, збагачених GC-основами. Такі ділянки утворювали чітко виражені конгломерати в тій частині хромосом, що прилягала до ядра (Bassi et al., 2006).

В експериментальних апоспоричних поліплоїдів мохів відповідно до підвищення рівня плоїдності збільшується розмір клітин листків. Розміри клітин листків гаметофорів *Tortula caucasica*, що росли на середовищі з ртуттю та без неї, істотно не відрізнялися (табл. 6.1). Таким чином,

можливість поліплоїдизації під впливом іонів  $\text{Hg}^{2+}$  слід відкинути. Тоді явно виражена тенденція до посилення інтенсивності люмінесценції ДНК-АО в ядрах протонеми *Tortula caucasica*, що росла на середовищі з металом (рис. 6.3), може свідчити на користь ампліфікації окремих сайтів ДНК.

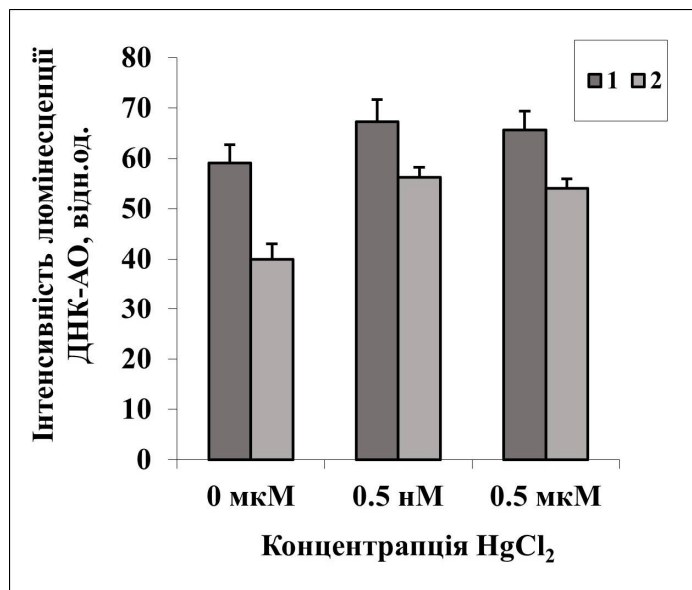


Рис. 6.3. Вміст ДНК (відн. од.) у клітинах протонеми *Tortula caucasica* залежно від наявності у середовищі  $\text{HgCl}_2$ : 1 – протонема не оброблена ДНК-азою I; 2 – після дії ДНК-ази I

Як показано на рис. 6.3, послаблення інтенсивності зеленого свічення ДНК-АО після дії ДНК-ази 1 у ядрах клітин, що зазнали впливу ртуті, виражене менше, ніж у контролі. Отже, активних, чутливіших до дії нуклеази, генів у контролі було порівняно більше, ніж у варіанті з металом. Цілком ймовірно, що це зумовлено згаданою вище металозалежною інтенсифікацією клітинних поділів. Є дані про те, що зв'язок між селективною ампліфікацією в умовах стресу й мітотичною активністю дійсно існує (Imhoft, Bonaldi, 2005). Зміни кількості повторів нуклеотидів ДНК в умовах стресу мають звичайно тимчасовий характер, оскільки ампліфікована під впливом стресора екстрахромосомна ДНК поступово елімінується з клітин. Іноді, однак, ампліфіковані нуклеотидні послідовності можуть вставлятися в певні сайти хромосом і надалі реплікуватися в геномі. В такому випадку ефект стрес-фактора може бути довготривалим (Bassi, 2006; Imhoft, Bonaldi, 2005). Ймовірно, що саме таким чином зберігався вплив ртуті під час клонування *Tortula caucasica*.

## 6.2. УЧАСТЬ ПЕРОКСИДАЗИ В ЕПІГЕНЕТИЧНІЙ АДАПТАЦІЇ *TORTULA CAUCASICA*

В адаптації рослин, у тому числі мохів, до різноманітних стресорів, вирішальну роль відіграє антиоксидантна система (АОС) ферментів (Кордюм, Сытник, 2003; Кияк, 2007). Однак, в численних дослідженнях АОС не знаходимо робіт, в яких би порівнювали роль ферментів у фенотипній та генотипній адаптації. У зв'язку з цим важливо було визначити активність пероксидази і електрофоретичний спектр, одного з основних ферментів АОС, у регенерантів клону гаметофіту *Tortula caucasica*, що масово адаптувалися до ртуті (фенотипна адаптація), і регенерантів, що частково вижили на вищих концентраціях  $\text{HgCl}_2$  (епігенетична адаптація).

Встановлено, що адаптація рослин *T. caucasica* до ртуті супроводжувалася підвищенням пероксидазної активності, яка зберігалася в рослинах і на середовищі без металу (варіант „післядія”) (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

### Пероксидазна активність гаметофіту *Tortula caucasica* на середовищі з різним вмістом $\text{HgCl}_2$

Варіанти досліду	Активність пероксидази, відн.од. $\cdot\text{г}^{-1}$ сирої речовини $\cdot\text{хв}^{-1}$
Контроль	$0,996 \pm 1,1$
0,2 мкМ $\text{HgCl}_2$ ,	$1,33 \pm 1,1$
0,5 мкМ $\text{HgCl}_2$ ,	$2,50 \pm 2,2$
післядія $\text{HgCl}_2$	$2,40 \pm 2,2$

На відміну від дослідів із *T. subulata*, в яких тривале обприскування гаметофорів 0,01–1,0 мМ розчином  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  призводило до зменшення кількості зон активності пероксидази на електрофореграмах (Баїк та ін., 1994), ріст дернин *T. caucasica* на середовищі з 0,5 мкМ  $\text{HgCl}_2$  активував інтенсифікацію зони активності молекулярної форми пероксидази з масою у межах 66 кД та появу двох нових зон активності ферменту, як доповнення до трьох зон у контролі та у варіанті з 0,2 мкМ  $\text{HgCl}_2$  (рис. 6.4). Однією з характерних ознак епігенетичних змін є різний рівень їх стабільності – від відсутності до епімутацій (Shaw, 1990). Про стабільні епігенетичні зміни, тобто ті, що проявлялися у клону *T. caucasica* адаптованого до 0,5 мкМ  $\text{HgCl}_2$  на середовищі без металу, можна говорити лише стосовно молекулярної форми пероксидази з масою у межах 66 кД, яка і на середовищі без ртуті виражена значно інтенсивніше, ніж у контролі (рис. 6.4).

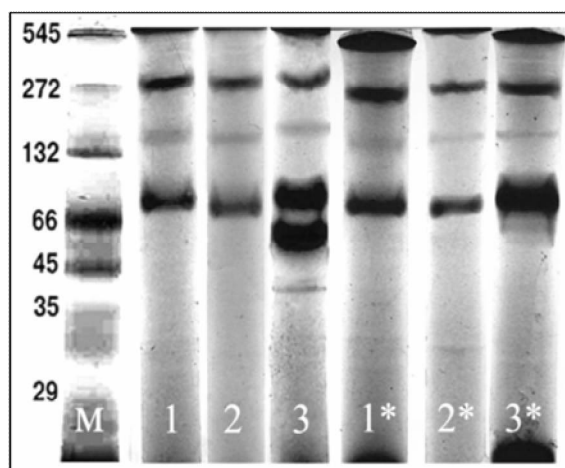


Рис. 6.4. Електрофореграма пероксидази гаметофіту моху *Tortula caucasica*: М – маркер; 1 – контроль; 2 – 0,2 мкМ HgCl<sub>2</sub>; 3 – 0,5 мкМ HgCl<sub>2</sub>; післядія ртуті на електрофоретичний розподіл ізоформ пероксидази: 1\* – контроль; 2\* – 0,2 мкМ HgCl<sub>2</sub>; 3\* – 0,5 мкМ HgCl<sub>2</sub>

У гаметофорах моху *T. caucasica* (Баїк та ін., 1994) та у 3-денних проростках кукурудзи (Baguslavskaja et al., 2007) встановлені зміни у спектрі множинних молекулярних форм пероксидази, зумовлені тривалою дією 0,001 – 1,0 мМ нітрату свинцю. Не з'ясовано, однак, чи під час дії металу відбувався ріст рослин. Тому для спостереження за ростом мікрорегенерантів клону *T. caucasica* досліди проведено із значно нижчими концентраціями HgCl<sub>2</sub>, ніж ті, що використовували у попередніх роботах.

Ртуть є одним із розповсюджених у природі поллютантів, зокрема, на теренах, де зосереджені сталеварні заводи, металургійні комбінати, електростанції та керамічні заводи (Richardston, 1981). Ртуть також є у складі деяких поширених пестицидів (Загрязнение воздуха, 1988). У місцях, що безпосередньо не прилягають до джерел забруднення, поширені види мохів, вміст ртуті в яких змінюється залежно від кліматичних умов, насамперед температури і рН ґрунту, в межах 0,04–12,7 мкг·г<sup>-1</sup> сирої ваги, тоді як у субстраті вміст ртуті становить 40–200 нг·г<sup>-1</sup> ґрунту (Davis et al., 2007). Наведені дані свідчать про інтенсивне нагромадження мохами іонів ртуті. Слід думати, що у природних умовах високий рівень акумуляції властивий мохам епігенетично адаптованим до ртуті. Як бачимо із результатів табл. 6.1, адаптація регенерантів до ртуті наступала вже за наявності 0,5 мкМ HgCl<sub>2</sub>, тобто 135 нг·мл<sup>-1</sup> ртуті у середовищі. Щодо районів, які безпосередньо прилягають до джерел забруднення, то тут вміст ртуті у рослинах мохів набагато вищий, однак частота трапляння їх у цих місцях дуже низька (Fernandez et al., 2000) і,



очевидно, види представлені формами, що адаптувалися до ртуті у процесі добору рідкісних резистентних генних мутацій.

Епігенетичні зміни, індуковані ртуттю, стосуються, очевидно, насамперед генів, які контролюють інтенсивність клітинних поділів. Відомо (Bassi, 1999; Imholt, Bonaldi, 2005), що під впливом різних стресорів, у тому числі важких металів, часто унаслідок ампліфікації, змінюється кількість повторів у ДНК, передусім збагачених парами ГЦ основ. Результати цитофлуориметрії ДНК–АО поєднані з дією ДНК–ази 1 (Ріпецький та ін., 2008) дають підстави пов'язати епігенетичну адаптацію клону моху *P. intermedia* з ампліфікацією сайтів ДНК, що регулюють мітотичну активність. Оскільки пероксидаза разом з поліфенолоксидазою каталізує окиснення фенолів у хінони та відновлених НАДН<sub>2</sub> і НАДФН<sub>2</sub>, вона відіграє важливу роль у клітинному диханні (Кретович, 1980). Таким чином, підвищена активність ферменту у рослинах адаптованих до дії ртуті може свідчити про посилення клітинного дихання, необхідного для енергетичного забезпечення мітотичної активності, яка зростала під впливом металу.

Генетичного аналізу ізоформ пероксидази не проводили, однак, враховуючи літературні дані, а також те, що проаналізовані рослини знаходилися у гаплофазі, доречно висловити деякі міркування щодо молекулярних механізмів появи ізоформ у *T. caucasica*. Найбільш ймовірно, що у нашому випадку це дволокусний контроль тетрамерного ферменту. При цьому кожний із неалельних генів контролює синтез відповідної субодиниці ферменту, забезпечуючи формування п'яти молекулярних форм: двох гомо- і трьох гетеротетрамерів (Scandalios, 1979). Щодо різної кількості зон активності у контролі і досліді (рис. 6.4), слід мати на увазі, що відсутність певної зони в електрофоретичному спектрі могла бути результатом надто низької кількості синтезованого ферменту, а кількість множинних молекулярних форм – різною активністю генів та впливом екзо- й ендогенних факторів на формування тетрамерів ферменту (Малецкий, Полякова, 1977).

Активність пероксидази підвищувалася вже за наявності 0,2 мкМ HgCl<sub>2</sub> у середовищі (табл. 6.4), коли виживали практично всі мікрорегенеранти *T. caucasica* (табл. 6.1), а на середовищі без ртуті епігенетично адаптовані до металу регенеранти відрізнялися від фізіологічно адаптованих лише інтенсифікацією зони активності ізоформи пероксидази з ММ в межах 66 кД (рис. 6.4). Отже підвищену активність пероксидази регенерантів, що адаптувалися до 0,5 мкМ HgCl<sub>2</sub> можна розглядати як інтенсифіковану епігенокопію модифікації. В цілому, результати дослідів дають підстави стверджувати, що активність пероксидази під час адаптації клону до ртуті може змінюватися як модифікаційно в межах властивої для виду норми реакції, так

епігенетично й генетично. Характер адаптації визначається, очевидно, рівнем стабільності молекулярних змін у регуляторних ділянках одного й того ж структурного гену.

### 6.3. ЕПІГЕНЕТИЧНА АДАПТАЦІЯ *TORTULA CAUCASICA*

З'ясування механізмів фізіологічної адаптації вимагає проведення досліджень на генетично максимально однорідному матеріалі. З огляду на це, листкостеблові мохи – зручна модель експериментального дослідження епігеномного успадкування, у яких можна легко отримати клони з окремих клітин. Із мейоспор мохів (Лазаренко, 1963), а також із окремих клітин під час регенерації гаметофіту та спорофіту (Shaw, 1990; Ріпецький та ін. 2008) можна дістати генетично максимально однорідні клони.

Клоном слід вважати дернину моху, що утворилася з однієї гаплоїдної мейоспори, а здатність окремих клітин гаметофіту і спорофіту регенерувати протоневою дає можливість отримувати клони із різно диференційованих клітин. Оскільки листкостеблові пагони (гаметофори) мохів утворюються із бокового відгалуження однієї клітини каулонами, клоном слід вважати (Ріпецький та ін., 2008) і регенерант окремого гаметофору. В односпоровій культурі однодомного виду всі спори будь-якої коробочки дають генетично ідентичні клони. Генетично дуже близькі, або навіть ідентичні дернини, можна отримати також із спор окремих коробочок із природи, якщо коробочки брати із невеликих ізольованих дернин. У зв'язку із незначними віддалями, на які поширюються антерозоїди по водній плівці на дернинах, перехресне запліднення в них мало ймовірно.

У досліджах А.С. Лазаренка та Є.М. Лесняк (1972), які сміло можна назвати класичними, односпорова культура моху вперше була застосована у біологічному експерименті. Унаслідок цього двом видам мохів *Desmatodon cernuus* (n=26) і *D. ucrainicus* (n=52) надано статус видів-двійників, які габітуально подібні, але добре розрізняються за кількісними ознаками і біологічними особливостями. Для *D. ucrainicus* як у природному середовищі, так і в культурі характерні більші розміри клітин листкової пластинки, більша величина ядер клітин листка і нижчий осмотичний тиск клітин. В односпорових дернинах на безперервному світловому дні за умов незмінної температури цей вид самофертильний. *D. cernuus* в односпоровій культурі самостерильний і для нормального спороношення вимагає фотоперіоду та зниження нічних температур.

У мохів практично будь-яка клітина як гаметофіту, так і спорофіту може утворювати регенеративну протоневою, що далі розвивається аналогічно, як протонема із спор. Завдяки цьому у експериментатора

завжди існує можливість мати у своєму розпорядженні клони із різно диференційованих клітин як в гапло-, так і диплофазі. У дослідах з *Tortula caucasica* у диплофазі якого яскраво проявляється апогамія, клони із окремих клітин гаметофіту та спорофіту виявилися перспективними для експериментального дослідження стабільності клітинної детермінації апогамії, успадкування на клітинному рівні, готовності до специфічних форм диференціації (Ріпецький 1983, 1985; Lobachevska et al., 2005).

Спостерігаючи за ростом мікрорегенерантів гаметофіту *Tortula caucasica* на середовищі із щораз вищими концентраціями ртуті, вдалося розмежувати фенотипну та генотипну адаптацію. Результати досліджень свідчать, що генотипна адаптація здійснювалася не селекцією рідкісних випадкових резистентних мутацій, а відбором направлених змін геному, що виникають набагато частіше, ніж генні мутації і тому її можна назвати епігенетичною. У *T. caucasica* така адаптація супроводжувалася зростанням кількості клітин у гаметофіті, що свідчить про зв'язок індукованих ртуттю епігенетичних змін з мітотичною активністю (Ріпецький та ін., 2008).

Епігенетичні зміни зумовлені передусім метилюванням цитозинових основ ДНК та ацетилюванням гістонів і можуть з більшою чи меншою стійкістю зберігатися у клітинних поділах (Turner, 1998; Jablonka, Lamb, 1998; Bird, 2002; Alinsug, 2009). Ряд фактів свідчить про важливе значення метилювання ДНК у регуляції генної активності; встановлено, що ДНК-метилтрансфераза підтримування діє лише на геміметилювану ДНК, забезпечуючи збереження метильованого стану цитозину під час реплікації (Holliday, 2002).

Із удосконаленням методів оцінки рівень інтраклональної мінливості часто виявляється значно вищим, ніж вважали раніше, і класична концепція генетичної однорідності клонів зазнає серйозного критичного перегляду (Lushai, Loxdale, 2002). Яким би, однак, широким не був діапазон випадкової інтраклональної мінливості, практично неможливо уявити, як він міг забезпечити у *T. caucasica* такий високий рівень виживання (до 38,5%). Отже, приблизно третина мікрорегенерантів якимсь чином запам'ятали індуктивну дію стресора. Немає сумніву, що в умовах дистресу, виживання дернин на ртуті забезпечила не селекція рідкісних, випадкових резистентних генотипів (генетична адаптація), а добір спрямовано індукованих дією стресора епігенотипів, тобто мала місце епігенетична адаптація. Остання стосується не лише металостресу, а й впливу інших абіотичних чинників на проростання спор. Важливо, що дозування стресора дає можливість розмежувати фізіологічну й епігенетичну адаптації. Перша відбувається без селекції мікрорегенерантів клону, друга – зумовлена добором резистентних

епігенотипів. У різних видів мохів розмежування двох типів адаптації до ртуті проходить на різних концентраціях стресора.

Сам факт добору резистентних до ртуті мікрорегенерантів вказує на стійкість індукованих модифікацій. З'ясувалося, що вони пов'язані із зростанням темпів клітинних поділів у листках гаметофорів, а також з підвищенням активності пероксидази у регенерантів, що вижили на середовищі із ртуттю. Характерно, що збільшення проліферативної активності, як і активності однієї з молекулярних електрофоретичних форм пероксидази, зберігалось у рослинах другої репродукції на середовищі без ртуті, отже модифікаційні зміни підтримувалися у клітинних поділах (Хоркавців та ін., 2009).

Отже, оскільки третина мікрорегенерантів клону гаметофіту *Tortula caucasica* вижили й утворили протонемні дернини на Кноп-агарі з 0,5 мкМ HgCl<sub>2</sub>, це свідчить про участь епігенетичної системи у фенотипній пластичності рослин. Епігенетична адаптація регенерантів супроводжувалася збільшенням кількості клітин в листках, підвищенням активності пероксидази та появою двох ізоформ ферменту.

Зростання пероксидазної активності, хоч і значно слабше виражене, зберігалось у регенерантів клону *Tortula caucasica*, які масово адаптувалися до 0,2 мкМ HgCl<sub>2</sub>, на середовищі без металу. Епігенетично адаптовані регенеранти відрізнялися від фізіологічно адаптованих лише інтенсифікацією активності однієї ізоформи. Це дає підставу розглядати епігенетичну адаптацію до підвищених концентрацій ртуті як інтенсифіковану епігенокопію модифікації і вказує на спільність механізмів обох типів адаптацій.

Індуковані ртуттю стійкі епігенетичні зміни відбулися в генах, які контролюють ріст, передусім інтенсивність клітинних поділів, що зумовило пришвидшення росту *Tortula caucasica*.

Після дії ДНК-ази I активних, чутливіших до дії нуклеази генів у контролі було більше, ніж у ядрах клітин, що зазнали впливу ртуті. Цілком імовірно, що це зумовлено металозалежною інтенсифікацією клітинних поділів, що підтверджено даними про зв'язок між селективною ампліфікацією в умовах стресу й мітотичною активністю.

Від стану метилювання ДНК залежить розвиток мохів та збереження пам'яті про дію стимулу. Епігенетичні зміни у функціонуванні генів включаються в реалізацію адаптивної відповіді на стресові зміни екологічних чинників. Клітинна пам'ять є частиною епігенетичної регуляторної системи посттрансляційних змін ДНК, котрі стійко зберігаються у клітинних поділах, а завдяки значному вегетативному розмноженню мохів можуть забезпечувати стійкість популяції та виду у природному середовищі.

#### 6.4. РЕАКЦІЙНІ СИСТЕМИ КЛІТИННОЇ ПАМ'ЯТІ РОСЛИН ТА ОСНОВНІ МЕХАНІЗМИ ЕПІГЕНЕТИЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ АКТИВНОСТІ ГЕНІВ

Передача нащадкам соматичних клітин з ідентичним генотипом будь-яких змінених ознак фенотипу, причому й тоді, коли стимули, що ініціювали даний фенотип, у подальшому відсутні, має назву клітинної пам'яті (Alberts et al., 1994). Сьогодні дослідження природи цього явища є одним із основних завдань молекулярної біології клітин. Відповідальними за клітинну пам'ять вважають три типи реакційних систем (Jablonka, Lamb, 1998). Перша об'єднує системи стійкого стану (steady-state systems), що забезпечують збереження змін в експресії відповідних генів унаслідок існування саморегулятивних циклів генної активності. Наприклад, відбувається активація гену А, а продукт цього гену блокує роботу гену Б, що виробляє репресор гену А. В результаті цього ген А, що почав працювати, постійно залишається в активному стані (Гершензон, 1983). До другої належать системи структурного успадкування (structural inheritance systems). У цьому типі клітинного успадкування структури-попередники, що існують у клітинах, стають матрицями для утворення нових структур. Наприклад, у війчастих найпростіших, таких як тетрагімени та парамеції, специфічний ряд структур на поверхні клітин, які пов'язані з роботою війок, служать матрицями для побудови таких же структур у дочірних клітинах (Grime, Aufderheide, 1991).

Протонема мохів росте внаслідок поділів верхівкової апікальної клітини. Галуження протонеми розпочинається, як правило, на певній віддалі від апікальної клітини. У *Funaria hygrometrica*, наприклад, галузиться 3-я інтеркалярна клітина й надалі галуження відбувається ритмічно (Демків, Улична, 1972). Уперше встановлено явище ортотропізму протонеми (Лазаренко, Демків, 1968): вибіркоче руйнування апікальної клітини ініціює галуження її прямого нащадка – субапікальної клітини, причому верхівкова клітина бокового відгалуження різко загинається і продовжує рости у напрямі, властивому зруйнованій апікальній клітині. Характерно, що бокове відгалуження інтеркалярної клітини, як інтактної, так і декапітованої протонеми, росте під гострим кутом до материнського столону. Негативно гравітропна протонема моху *T. caucasica* (Кит, Рипецкий, 2007), яку орієнтували під прямим кутом до вектора гравітації, за 8 год такої гравістимуляції згиналася ввєрх під кутом 45° до початкового напрямку росту. В умовах кліностаування такий кут й надалі зберігався під час росту протонемних столонів. В обох наведених прикладах направлений ріст протонеми, зумовлений, очевидно, збереженням у поділах апікальної клітини, або її

дочірної субапикальної клітини, відповідної просторової організації мікрофібрил клітинної стінки, чи мікротрубочок цитоскелету.

Третій тип реакційних систем об'єднує системи з маркування хроматину (chromatin-marking systems). Вони є основою епігенетичного успадкування – збереження у клітинних поділах, мітозах, а іноді й у мейозі, змін, які настають в експресії генів унаслідок стійкої модифікації гістонів та ДНК хроматину без змін у первинній послідовності нуклеотидів ДНК. Звідси й походження назви “епігенетичне” від грецького слова “епі” – над (Jablonka, Lamb, 1998; Imhof, Bonaldi, 2005; Holliday, 2006; Alinsug, 2009).

У наших дослідах відбувався добір резистентних до ртуті епігенотипів *T. caucasica*, що надалі зберігалися в клітинних поділах. Клітинна пам'ять, таким чином, тут тісно пов'язана з добром. Тому вищезгадані механізми стійкого стану та структурного успадкування фактично не надаються до пояснення причин клітинної пам'яті в умовах ртуть-дистресу. Натомість цілковито адекватною є тут система модуляції хроматину внаслідок посттрансляційної модифікації гістонів і ДНК без змін у первинній послідовності її нуклеотидів. Регуляція генної активності на цій основі (епігенетична регуляція) розповсюджена у рослин як в онтогенезі (Chinnusamy et al., 2008), так і у відповідях на стрес (Chinnusamy, Zhu, 2009; Ahmad et al., 2010), причому такі модифікаційні зміни можуть мати незворотний характер, зберігаючись у клітинних поділах (епігенетичне успадкування).

Модифікація хроматину здійснюється двома основними способами – ацетилюванням гістонів та метилюванням ДНК, однак конкретний механізм епігенетичного успадкування запрограмований лише у випадку метилювання ДНК. Характерно, що саме на підставі останніх досягнень у дослідженні метилювання ДНК передбачається пріоритетна роль епігенетики (Holliday, 2002; Vanyushin, 2005; Jablonka, Lamb, 2014; Barozai, Aziz, 2018). Основним ферментом, що відповідає за метилювання ДНК, є ДНК–метилтрансфераза. Вона здійснює передачу метильної групи 5–аденозинметіоніну в молекулу цитозину замість *H* у положенні *C*<sup>5</sup>. Така модифікація основи відбувається, звичайно, перед клітинним поділом, невдовзі після реплікації ДНК. Субстратом метилювання є цитозин в комплементарних дуплетах ЦГ–ГЦ. Під час реплікації повністю метильованої ДНК утворюються дві напівметилювані молекули. Тільки у такому положенні в процес включається фермент метилаза підтримування, що спричиняє утворення двох повністю метильованих молекул ДНК. Таким чином, в клітинних поділах може зберігатися розподіл метильованих і неметильованих основ ДНК. На сьогодні це поки що одинокий механізм, що пояснює клітинне успадкування стійких змін в експресії генів. Щоразу більше

даних вказує на те, що метилювання регуляторних ділянок генів пов'язане з їх інактивацією, а деметилювання – з активацією. Очевидно, 5–метилцитозин блокує приєднання до ДНК активаторів транскрипції або ж сприяє включенню репресорів транскрипції ДНК (Holliday 2002, 2006; Wada, 2005).

Зв'язок між метилюванням генів та їх експресією підтверджений експериментально (Bird, 2007; Akimoto et al., 2007). Методами генної інженерії отримано метильовані і неметильовані варіанти деяких генів. У культурі тканин зафіксовано активність лише неметильованих генів, причому характерне метилювання зберігалось в численних клітинних поділах. Коли метильований ген потрапляв у клітину, де за норми відбувається його експресія, спостерігалися деметилювання й активація введеного гену. Навпаки, метильовані гени, введені до неспеціалізованих клітин, так і залишалися метильованими й неактивними. Встановлено, що аналог 5–цитозину – 5–азацитидин – діє як інгібітор метилювання ДНК. Інгібуючи метилазу підтримування, 5–азацитидин включається в ДНК замість 5–цитозину, але не метилюється. У результаті численні, у нормі метильовані сайти ДНК, після декількох клітинних циклів деметилюються. Характерно, що в неактивній X–хромосомі деяких ссавців метильовані регуляторні ділянки практично всіх генів, які називають генами внутрішнього використання, оскільки вони діють в усіх клітинах незалежно від рівня диференціації. Такі гени X–хромосом, як виявилось, можна активувати азацитидином. Цікаво, що тривалість життя людських клітин у культурі залежить не від хронологічного часу, а від запрограмованої кількості клітинних поділів. Так, із зростанням кількості клітинних поділів зменшується кількість метильованих сайтів ДНК, внаслідок чого клітини втрачають здатність до розмноження. Одноразова обробка молодих клітин у культурі 5–азацитидином значно знижувала загальний рівень метилювання ДНК. Спочатку обробка 5–азацитидином не впливала на функціонування клітин і швидкість їх розмноження. Проте, клітини певним чином запам'ятовували вплив азацитидину й відмирили значно швидше, ніж у контролі. Виявилось, що важливу роль у метилюванні ДНК відіграють короткі, довжиною 20–24 нуклеотидів, нематричні мікро–РНК (Steimer et al., 2004; Handerson, Jacobsen, 2007).

Зміни в експресії генів, що іноді успадковуються на клітинному рівні, відбуваються не лише в результаті метилювання ДНК хроматину, а й посттрансляційної модифікації гістонів. Структурною одиницею хроматину є нуклеосома. Це октамер із 8 молекул гістонів, по 2 молекули H2A, H2B, H3 та H4. Кожен такий тетрамер в хромосомі огортає ділянку двоспіральної ДНК довжиною 147 нуклеотидних пар. ДНК зв'язує сусідні нуклеосоми в ланцюг, що тягнеться вздовж всієї хромосоми,

причому окремі нуклеосоми з'єднуються ще й за допомогою гістону H1, утворюючи більш або менш щільні нуклеосомні комплекси. Оскільки гістонові білки заряджені позитивно, вони мають здатність зв'язуватися з негативно зарядженою ДНК. Такий процес призводить до ущільнення хроматину і, відповідно, до інактивації генної експресії. Унаслідок приєднання до гістонів ацетильних груп (процес ацетилювання) гістони змінюють позитивний заряд на негативний. Унаслідок цього ДНК і гістони утворюють менш компактні конфігурації, які сприяють генній експресії. Приєднання та вилучення ацетильних груп здійснюється специфічними ферментами – гістон-ацетилтрансферазами і гістон-деацетилазами, відповідно. Встановлено, що метилювання ДНК і модифікація гістонів – тісно пов'язані процеси. Так, зміни у метилюванні промоторів відповідних генів можуть ініціювати синтез гістону-деацетилаз. У свою чергу, деацетиляція гістонів активує їх взаємодію з негативно зарядженою ДНК і в результаті зумовлює інактивацію генів (Luger et al., 1997; Urnov, Wolffe, 2001; Imhof, 2006; Barozai, Aziz, 2018). Специфічний інгібітор деацетилаз – тріхостатин А зазвичай сприяє активації експресії певних генів (Tóth et al., 2004).

Основні епігенетичні механізми підпорядковуються загальним закономірностям, які, однак, проявляються специфічно залежно від природи організму, його морфо-функціональної організації. У вищих рослин метилювання ДНК та ацетилювання гістонів, що виявляються найновішими молекулярними методами, причетні до АБК-залежної генетичної регуляції росту і розвитку, зокрема, стану спокою насіння і його проростання, закладки бокових коренів, росту проростків, переходу вегетативного розвитку до репродуктивного (Chinnusamy et al., 2008). У всіх згаданих процесах епігенетичні зміни в експресії генів, як правило, зворотні, успадкування таких змін на клітинному рівні доведено на сьогодні в онтогенезі лише у випадку успадкування детермінації, тобто збереження в клітинних поділах готовності до певних форм диференціації.

Для озимих форм деяких одно- і дворічних рослин відоме явище яровизації – пришвидшення розвитку під впливом попередньої дії протягом певного періоду низьких позитивних температур. Так, наприклад, озима пшениця, зернівки якої піддали яровизації, може заколоситися того ж року, без перезимівлі рослин. З'ясувалося, що яровизація спричиняє в конусі наростання ініціацію зачатків квіток, причому готовність до цвітіння (детермінований стан) стійко зберігається в клітинних поділах аж до формування квіток. У арабідопсиса низька температура під час яровизації насіння індукує епігенетичний механізм, що загальмовує в локусі цвітіння відповідний ген (flowering locus C, FLC), а заблокований стан гену супроводжується



зміною в структурі хроматину. FLC хроматин зберігається в клітинних поділах аж до цвітіння (Dennis, Peacock, 2007).

У мохів протонема утворюється не лише під час проростання спор, а й у процесі регенерації різних тканин гаметофіту і спорофіту. На апоспоричному, отриманому регенерацією спорофіту, гаметофіті деяких мохів спорофітні структури утворюються апогамно, оминаючи процес запліднення. У *T. caucasica*, наприклад, апогамні структури і коробочки рясно утворюються на верхівках листків. Однак, структури не з'являються, у *k*-поліплоїдів *T. caucasica* та соматичних гібридів гаплоїдних клітин її протонеми. Здатність до апогамії (детермінований стан) стійко зберігається у апоспоричних диплоїдів під час вегетативного розмноження в різних, зокрема екстремальних, умовах вирощування, і в клонів, отриманих із окремих ізольованих клітин та протопластів. Це дає підстави розглядати апогамію в диплофазі мохів як результат збереження у клітинних поділах стійких морфо–функціональних змін, пов'язаних із детермінацією спорофітного розвитку, що наступає до утворення зиготи, наймовірніше в оогенезі (Рипецкий, 1985). Л. Бауер (Bauer, 1959) та А.С. Лазаренко (Лазаренко, 1965) вперше запропонували гіпотезу, згідно з якою здатність до апогамії зумовлена наявністю в клітинах специфічного авторепродуктивного фактора апогамії, що в клітинах, які діляться, може розподілятися нерівномірно. Наші спостереження вказують на епісомну природу гіпотетичного фактора апогамії, який, очевидно, може включатися в хромосому, або існувати автономно, а також елімінуватися з клітин, коли поділи відбуваються швидше, ніж реплікація їх епісомного фактора в цитоплазмі. Відзначимо, що у бактерій справді вдається звільнити клітини від плазмідного фактора, інгібуючи його автономну реплікацію акридиновими барвниками (Гершензон, 1983). Характерно, що різні тканини спорофіту дають початок як апогамним, так і неапогамним клонам. Останні у *T. caucasica* найчастіше регенерують із тканин стінки спорового мішка коробочки (Ріпецький, 1980; Ripetsky, Kit, 1998). З мікрорегенерантів апогамного клону зрідка утворюються неапогамні клони (Lobachevska et al., 2005). Їх кількість зростає до 10 % у разі отримання дернин моху із окремих ізольованих протопластів апоспоричної протонеми (Лобачевская и др., 2008). За хронічного стресу, під час вирощування апоспоричних мікрорегенерантів *T. caucasica* на органічному середовищі з кінетином та АБК, майже 30% мікрорегенерантів втрачали здатність до апогамії. Характерно, що в цих умовах вирощування зростала кількість клітинних поділів протонеми.

Епігенетичний контроль експресії генів, завдяки метилюванню ДНК та ацетилюванню–деацетилюванню гістонів, діє не лише в індивідуальному розвитку рослин, а й в їхніх реакціях–відповідях на різні абіотичні та біотичні стреси, такі як нестача води, засолення, УФ-

опромінення, вплив знижених або підвищених температур, важких металів, ураження збудниками хвороб та ін. (Chinnusamy, Zhu, 2009). У листках тютюну, наприклад, внаслідок дії метало-, сольового і температурного стресів, виявлено деметилювання гену гліцерофосфатдиестерази і подальше зростання її активності (Choi, Sano, 2007). Стрес, зумовлений водним дефіцитом, індукував гіперметилювання специфічних ГЦ-сайтів у геномі гороху (Labra et al., 2002). У проростків рису під час занурення у воду встановлено модифікацію гістону H-3, що корелювало з активацією експресії генів алкоголь-дегідрогенази та піруват-декарбоксилази (Tsuji et al., 2006). У наведених й численних інших випадках індуковані стресом модифікації генів після припинення дії стресора поверталися до базового рівня, тобто були швидкоплинними, зворотними. В окремих випадках, однак, констатовано успадкування змін в експресії генів на клітинному рівні. Такі випадки в літературі іноді об'єднують терміном запам'ятовування стресу (stress memory; Chinnusamy, Zhu, 2009). Слід мати на увазі: короткочасне запам'ятовування стресу може бути результатом індукції в клітинах певних протеїнів, РНК або метаболітів, що не супроводжується стійкими структурно-функціональними змінами в геномі. В цьому разі тривалість збереження пам'яті про стрес залежатиме від часу піврозпаду таких сполук і буде більшою, якщо метаболічні зміни вже встигли спричинити у рослинах відповідні фенологічні або морфологічні реакції. Проте відомі також випадки тривалого запам'ятовування стресів у результаті епігенетичного успадкування на клітинному рівні модифікацій генів, ініційованих метилюванням-деметилюванням ДНК. Висновок про запам'ятовування стресу тут, як і про успадкування клітинної детермінації в онтогенезі, може бути зроблений лише на основі дослідження нащадків клітин або особин. В арабідопсиса, наприклад, УФ-опромінення стимулювало підвищення частоти гомологічної соматичної рекомбінації і цей стан передавався нащадкам опромінених рослин як домінантна ознака (Molinier et al., 2006). У тютюну такий же ефект спричиняло зараження вірусом тютюнової мозаїки (ВТМ). Характерно, що в нащадків інфікованих рослин визначено гіпометилювання окремих локусів геному, зокрема гену резистентності до ВТМ (Boyko et al., 2007). На особливу увагу заслуговують дослідження, які розкривають механізми запам'ятовування стресу у рису (Akimoto et al., 2007). Якщо у наших дослідах з мікрорегенерантами клону *T. caucasica* в умовах дистресу виявлена селективна дія ртуті, то в дослідах з рисом селективний вплив знайдено для інгібітора метилювання ДНК 5-азадеоксицитидину. Із 1000 зернівок, одноразово оброблених інгібітором, вижили і започаткували нові лінії лише 35. У геномі всіх ліній стійко зберігався стан гіпометилювання окремих сайтів.

Однак фенотипно такі рослини нічим не відрізнялися від контролю. Лише в однієї з ліній на підставі молекулярного аналізу виявлено повне деметилювання промоторної ділянки гену резистентності до *Xanthomonas oryzae*, що зумовлювало стійкість рослин до збудника. У рослинах контролю, які не піддавали дії 5-азадеоксицитидину, регуляторна ділянка такого гену під час клітинних поділів залишалася цілковито метильованою, зумовлюючи, мовчазність гену, повне блокування резистентності і, відповідно, чутливість до ураження. На відміну від наведених вище випадків, у клону *T. caucasica* дозування стресора уможливило розмежування фізіологічної та епігенетичної адаптації. Про участь метилювання ДНК у цьому процесі сьогодні можемо лише здогадуватися. Висока частота епігенетичної адаптації, найімовірніше, зумовлена збагаченням ДНК організмів, зокрема регуляторних ділянок генів, субстратом метилювання – цитозином. За останніми даними, майже 40% регуляторних ділянок різних генів збагачені ЦГ-ГЦ нуклеотидами, тоді як у геномі організмів метильовані 70–80% комплементарних дуплетів ЦГ-ГЦ (Bird, 2002, 2007; Pikaard, Sheid, 2014).

Цитофотометрія ядерної ДНК поєднана із використанням ДНК-ази I виявила у ртуть-резистентних епігенотипів *T. caucasica* певне збільшення некодуючої ДНК (Ріпецький та ін., 2008). Відомо, що під впливом різноманітних стресів унаслідок ампліфікацій та транспозицій часто істотно змінюється кількість й якість нуклеотидних повторів некодуючої ДНК. Про участь метилювання ДНК в епігенетичній адаптації свідчать наші дані, за якими зміни в електрофоретичному спектрі пероксидази рослин моху під впливом 5-азацитидину нагадують зміни у спектрі ферменту епігенотипів, стійких до ртуті (Хоркавців, 2021).

Хоча молекулярні механізми запам'ятовування стресу ще далекі від повного розуміння, саме виявлення цього явища може вказувати на його важливість. Наочним прикладом сказаного можуть бути дослідження впливу біотичного стресу у тлі (Shaposhnikov, 1966). На атиповому господарі окремі особини тлі переходили до партеногенетичного розмноження, започатковуючи лінії особин, які втрачали здатність схрещуватися з особинами вихідної популяції. Відомо, що репродуктивна ізоляція є одним із основних факторів видоутворення, і важливість результатів не викликає сумніву, хоча надалі дослідження слід доповнювати молекулярним аналізом метилювання ДНК. Успіх наукового пізнання, врешті-решт зумовлюється постійною взаємодією теорії й експерименту, формулюванням і перевіркою гіпотез (Holliday, 2006). Як свідчать наші дослідження (Хоркавців та ін., 2009), різниця між фізіологічною та епігенетичною адаптацією у клону *T. modica*, власне,

умовна. Так, уже на низьких концентраціях ртуті, де ще не проявлялася селективна дія (фізіологічна адаптація), констатовано певне підвищення активності пероксидази. У стійких до ртуті епігенотипів різниця в активності ферменту значно зростала, розширювався його електрофоретичний спектр, а одна з молекулярних форм була інтенсивніше вираженою у вегетативних нащадків резистентного епігенотипу на середовищі без ртуті (Хоркавців та ін., 2009). Епігенетичну адаптацію моху до стресу можна розглядати, очевидно, як епігенокопію модифікації. Різниця між фізіологічною та епігенетичною адаптацією зумовлена, ймовірно, лише ступенем метильованості та стійкістю метильованого стану в регуляторній ділянці відповідних генів. Оскільки у різних видів мохів два типи адаптацій розмежовуються на різних концентраціях стресора, можна стверджувати, що його дозування під час порівняльного мікроклонального аналізу дернин моху, які виникли в стресових умовах, і дернин із сусідніх фонових локалітетів, дасть змогу не лише виявити епігенетичну адаптацію у природі, а й, до певної міри, передбачити видовий склад мохів під час заселення девастованих територій.

## **РОЗДІЛ 7.**

### **ОЦІНКА ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКІВ КОНСТИТУТИВНОЇ СТІЙКОСТІ ТА ІНДУКОВАНИХ ЗМІН МОХІВ З РІЗНОЮ ЖИТТЄВОЮ СТРАТЕГІЄЮ У СТРЕСОВИХ УМОВАХ ТЕХНОГЕННОГО СЕРЕДОВИЩА**

#### **7.1. МІНЛИВІСТЬ ВМІСТУ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ ТА ВУГЛЕВОДІВ В УМОВАХ ДЕГІДРАТАЦІЇ ТА РЕГІДРАТАЦІЇ У МОХІВ ІЗ РІЗНОЮ СТІЙКІСТЮ ДО ВИСУШУВАННЯ**

Відомо, що бріофіти є представниками альтернативної стратегії адаптації до нестачі води на суші, яка полягає в тому, що вони здійснюють ростову та фотосинтетичну активність, коли вода є доступною, а у випадку її відсутності сповільнюють метаболізм (Лобачевська, 2014; Proctor, 2000; Proctor et al., 2007). Така стратегія «уникнення посухи» є подібною до толерантності до висушування насінин озимих однорічників та пустельних ефемерів (Proctor, 2000).

Розрізняють дві стратегії стійкості до висушування: конститутивна, коли захисні механізми активні під час нормального росту та метаболізму, та індукована, що полягає в активації протекторних механізмів унаслідок стресу. Особливості стійкості до висушування конкретного виду бріофітів залежать від інтенсивності, тривалості висушування та загартованості рослин до дефіциту вологи. Вважають, що стійкі бріофіти поєднують конститутивний клітинний захист із регідраційно-індукованими відновлювальними процесами (Stark et al., 2013).

Основними проявами стійкості до висушування є здатність до захисту клітинної цілісності та відновлення гомеостазу внаслідок пошкодження під час дегідратації/регідратації. Стійкість реалізується завдяки обмеженню пошкоджень, підтримці фізіологічної стабільності у висушеному стані та мобілізації захисних механізмів під час регідратації (Oliver et al., 2000; Tuba et al., 2011).

Унаслідок висушування та регідратації у мохів пошкоджуються клітинні структури, порушується цілісність мембран, насамперед під час регідратації, посилюється генерація активних форм кисню, окиснення сульфгідрильних груп білків та їх денатурація, зростає ліпоксигеназна активність, зменшується вміст пігментів й інтенсивність фотосинтезу, що знижує здатність протистояти оксидативному стресу (Proctor et al., 2007). Відновлення гомеостазу після висушування поєднує процеси відновлення води в макромолекулах, реконструкції мембранної цілісності, нагромадження осмотично-активних вуглеводів та синтезу характерних білків (дегідрини, LEA-протеїни) відразу після регідратації.

Бріофіти є одними з нащадків перших наземних рослин, тому є зручною моделлю для з'ясування стійкості до висушування вегетативних органів рослин та вивчення стрес-індукованих клітинних процесів (Oliver et al., 2000; Pressel, Duckett, 2010). Вивчення екологічних стратегій стійкості бріофітів до висушування є важливим, тому що насамперед це дає можливість встановити механізми запобігання посухостійкості та генетичного конструювання стійких до висушування культурних рослин (Stark et al., 2013).

З огляду на це, важливо встановити адаптивні реакції в умовах дегідратації та регідратації різних за стійкістю до висушування видів мохів, а саме генерації активних форм кисню (АФК), зокрема пероксиду водню, та нагромадження вуглеводів.

*Bryum argenteum* є космополітним посухостійким видом мохів, для якого характерні ознаки толерантності до висушування (Li et al., 2014). *Funaria hygrometrica* – вологолюбний мох, який, на відміну від *B. argenteum*, проявляє значно нижчу стійкість до дегідратації (Werner et al., 1991).

Установлено, що пагони *F. hygrometrica* втрачали до 50% маси після висушування незалежно від його тривалості, тоді як *B. argenteum* – 6,6% маси внаслідок 3–годинного висушування та 7,7% після 18–годинного (табл. 7.1).

Таблиця 7.1

**Відносна оводненість пагонів мохів після дегідратації та регідратації**

Дегідратація	<i>Funaria hygrometrica</i>		<i>Bryum argenteum</i>	
	3 год	18 год	3 год	18 год
	- 51 % *	- 49 % *	- 6,6 % *	- 7,7 % *
15-хв регідратація	24 %	31 %	261 %	305 %
30-хв регідратація	52 %	20 %	215 %	321 %
45-хв регідратація	39 %	42 %	226 %	323 %

Примітка: \* - значення характеризують зменшення оводненості тканин щодо контролю.

Окрім того, поглинання вологи під час регідратації відрізнялося у досліджуваних мохів залежно від тривалості висушування. Зокрема, у гаметофорах *F. hygrometrica* після дегідратації не встановлено відновлення рівня оводненості до початкового, а максимально до 50%. Взаємозв'язку між відновленням оводненості та тривалістю дегідратації і регідратації не визначено. Виявлено, що гаметофори *B. argenteum* здатні поглинати велику кількість вологи під час регідратації, зокрема після 3–годинного висушування оводненість пагонів моху була у 2,1–2,6 рази вищою, ніж до висушування, а після 18–годинного у 3,0–3,2 рази (табл.

7.1). Отже, стійкіший до висушування *B. argenteum* здатен до значного водозбереження та інтенсивного відновлення вологоємності тканин унаслідок регідратації.

У досліджуваних мохів внаслідок дегідратації зростає вміст пероксиду водню та нагромаджувалися розчинні і нерозчинні вуглеводи (рис. 7.1, 7.2). В тканинах гаметофорів *F. hygrometrica* вміст вуглеводів та пероксиду водню були вищими після 3–годинної дегідратації, ніж після 18–годинної. У *B. argenteum* ця тенденція зберігалася, окрім зростання вмісту розчинних вуглеводів після 18–годинного висушування. Також, у *F. hygrometrica* інтенсивніше зростає вміст пероксиду водню, ніж вуглеводів, а у *B. argenteum* – навпаки. Таким чином, у чутливішої до висушування *F. hygrometrica* під час дегідратації значно зростає вміст пероксиду водню як сигнальної сполуки в захисних реакціях рослин, а у *B. argenteum* підвищувався вміст вуглеводів, яким властиві осмопротекторні властивості.

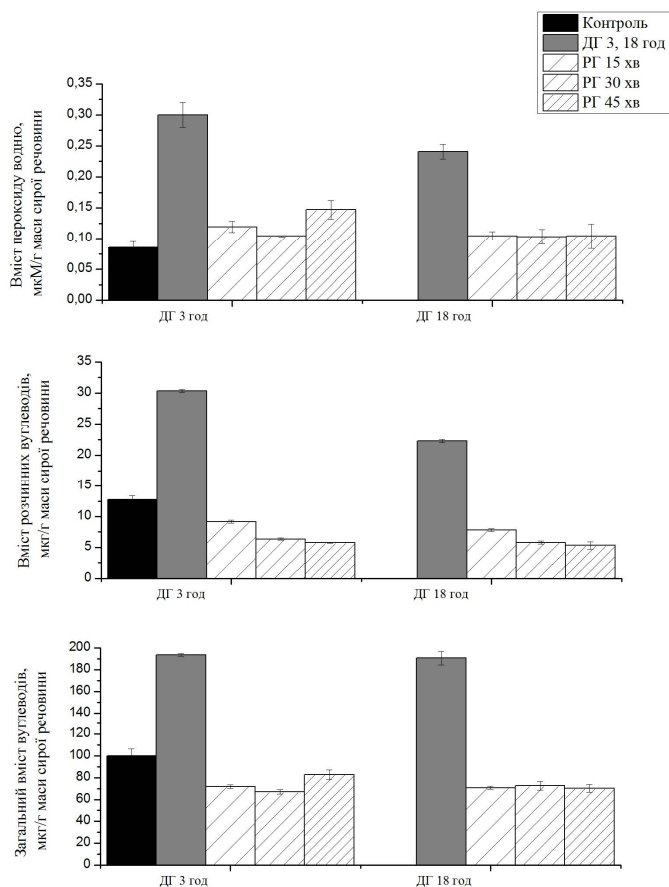


Рис. 7.1. Вміст пероксиду водню та вуглеводів у гаметофорах моху *Funaria hygrometrica* після дегідратації та регідратації. ДГ – дегідратація (3; 18 год); РГ – регідратація (15; 30; 45 хв).

Варто зазначити, що рівень пероксиду водню у гаметофорах *F. hygrometrica* після регідратації залишався досить високим, тоді як у *B.*

*argenteum* він значно знижувався – в 4 рази, порівняно з контролем. Вміст вуглеводів після регідратації знижувався у обох видів мохів та все ж був вищим у *F. hygrometrica*, ніж у *B. argenteum* (рис. 7.1, 7.2).

Відомо, що розвиток стресових реакцій у клітинах рослин супроводжується нагромадженням АФК, які у кінцевому результаті перетворюються у відносно стабільний пероксид водню. Молекули пероксиду водню є високореактивними та мають широкий спектр функцій у клітині – від токсичної дії до сигнальної. Зокрема, пероксид водню має здатність запускати ряд каскадних механізмів, спрямованих на розвиток захисних реакцій.

У бріофітів під час висушування встановлена посилена генерація АФК, як пряма, так і опосередкована внаслідок інгібування фотосинтезу (Колупаєв, 2010; Hung et al., 2005). Механізми толерантності стійких до дефіциту вологи рослин насамперед забезпечуються вуглеводами та білками, які беруть участь в захисті цілісності клітини під час висушування (Koster et al., 2010).

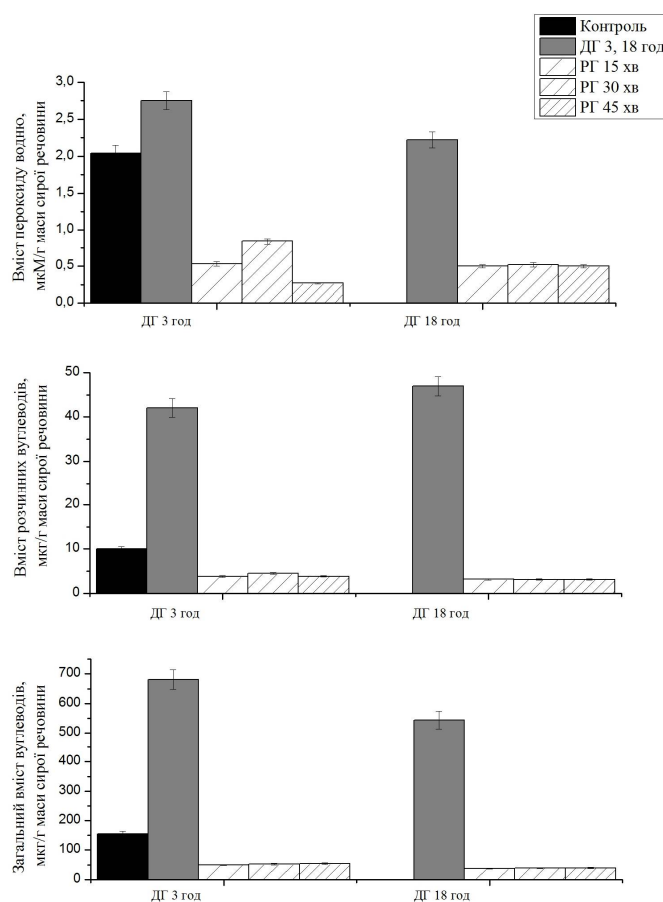


Рис. 7.2. Вміст пероксиду водню та вуглеводів у гаметофорах моху *Bryum argenteum* після дегідратації та регідратації. ДГ – дегідратація (3; 18 год); РГ – регідратація (15; 30; 45 хв).



У стійких видів бріофітів не виявлено високого вмісту проліну та інших осмопротекторних метаболітів, які є типовими для посухостійких рослин. Установлено, що для мохів характерними є високі концентрації сахарози, низький вміст редуруючих цукрів та відсутність крохмалю, аналогічно до ембріонів насінин, які дозрівають (Smirnoff, 1992). Зокрема, у стійкого моху *Syntrichia ruralis* вміст сахарози як важливого компоненту біологічного «скла», яке формується під час висушування внаслідок вітрифікації, може сягати 10% від сухої маси рослин (Hatanaka, Sugawara, 2010; Proctor et al., 2007). Відомо, що дисахариди здатні стабілізувати фосфоліпідні бішари завдяки гідрогеновим зв'язкам до полярних груп. Таким чином підтримується відстань між фосфоліпідними бішарами мембран та запобігається пошкодження фазових переходів (Proctor, Tuba, 2002).

На основі отриманих результатів можна стверджувати, що висушування та, можливо, початкові стадії регідратації пов'язані зі значними змінами метаболізму рослин. Зокрема, у *F. hygrometrica* виявлено значне нагромадження пероксиду водню, який завдяки сигнальній активності здатен запускати каскад протекторних механізмів, тоді як у *B. argenteum* відзначено підвищену синтетичну активність, зокрема структурних та розчинних вуглеводів з осмопротекторною активністю. Вважається, що обидва процеси є різними ланками одного механізму стійкості – підвищення вмісту сигнальних сполук стимулює нагромадження сполук вуглеводневої природи.

Отже, бріофіти з різними екологічними стратегіями проявляють подібні механізми толерантності до висушування, зокрема у *B. argenteum* стійкість реалізується завдяки вищій активності адаптивних реакцій, насамперед конститутивного клітинного захисту.

## **7.2. МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ПРИСТОСУВАННЯ МОХІВ ЯК ПРОЯВИ КОНСТИТУТИВНИХ І СТРЕС-ІНДУКОВАНИХ ЗМІН ДО ПЕРІОДИЧНОГО ВИСУШУВАННЯ**

Мохоподібні демонструють альтернативну стратегію адаптації до наземного життя, розвитку і фотосинтетичної активності в умовах вільного доступу води та здатності припиняти метаболізм за її відсутності завдяки активації протекторних механізмів. Бріофіти можуть знижувати інтенсивність метаболізму до критичного рівня без втрати життєздатності під час дегідратації і швидко відновлювати процеси обміну після регідратації. Зокрема, рівень фотосинтезу відновлюється до показників, які передували гідратації через 48 год, а позитивний баланс карбону — за 1 год (Tuba et al., 1996; Proctor, Pence, 2002; Proctor et al., 2007). На рівень толерантності мохів впливають: інтенсивність висушування, його

тривалість, активність відновлення життєздатності після фази загартування/втрати загартування під час дегідратації/регідратації (Stark et al., 2013). У стійких видів мохів конститутивний захист на стадії висушування, який забезпечується механізмами захисту та стабілізації клітинної цілісності протягом періоду оптимального росту та метаболізму, поєднаний із репараційними механізмами, індукованими регідратацією. Окрім конститутивної стійкості неспеціалізованих клітин за будь-якої швидкості висушування, розрізняють екологічну, або індуковану толерантність, що має важливе значення для виживання та життєздатності рослин тільки в умовах повільного висушування.

На сьогодні окремі фізіологічні й екологічні аспекти адаптивної стратегії мохоподібних лише починають досліджувати, зокрема, виживання в стресових умовах нестачі вологи. Специфічні пристосування у бріофітів насамперед спрямовані на забезпечення потенційно проблемних потреб для фотосинтезу: транспортування води, її збереження та вільного обміну CO<sub>2</sub> (Oliver et al., 2000; Proctor, 2009; Shaw et al., 2011). У польових умовах неможливо стандартизувати умови висушування, оскільки хаотично чергується висушування та регідратація мохових дернин залежно від їхніх розміру, структури та локальних атмосферних умов. У зв'язку з цим особливої уваги заслуговують дослідження морфофізіологічних особливостей пристосувань до періодичного висушування в контрольованих умовах мохів із різною життєвою стратегією.

Результати вивчення впливу періодичного висушування на приріст біомаси мохів свідчать, що для обох видів мохів характерний період втрати стійкості до висушування. На першій стадії (1–6 тижнів) мохи проявляли найменшу здатність до відновлення після впливу короткочасного та тривалого висушування (гальмування росту гаметофорів, хлороз листків). Істотне зміцнення культури мохів, особливо в досліді з тривалим висушуванням, спостерігали на другій стадії (6–9 тижнів), а саме відновлення росту пагонів, їхньої щільності. Очевидно, внаслідок адаптації до висушування на третій стадії (після 10 тижнів) поява нової протонеми та підвищення регенераційної здатності пагонів свідчили про наближення стану культури моху до контролю.

На початкових стадіях втрати стійкості найменший приріст біомаси пагонів зафіксовано під впливом тривалого висушування для *F. hygrometrica* (у межах 0,16–0,40 мг), порівняно з дією короткочасного висушування (0,24–0,52 мг) і контролем (0,22–0,28 мг). Після стадії загартовування (відновлення) приріст біомаси пагонів під впливом короткочасного висушування був меншим (0,14–0,37 мг), ніж за тривалого висушування (0,15–0,56 мг) та в контролі (0,59–0,85 мг). У варіантах *B. glareosum* істотної різниці біомаси пагонів не виявлено.

На підставі аналізу морфометричних параметрів *F. hygrometrica* встановлено достовірне зменшення під впливом тривалого та короткочасного висушування показників довжини пагонів у 1,7 і 2,1 раза та кількості листків на пагоні в 1,6 та 1,9 раза (порівняно з контролем). Найменше співвідношення довжини до ширини листків і їхніх клітин було в рослин моху під впливом короткочасного висушування, причому достовірну різницю для розмірів листків визначено як щодо контролю, так і між дослідями з різним періодом висушування (табл. 7.2). У випадку висушування зафіксовано зменшення розмірів листків і їхньої кількості на пагонах *B. glareosum*. Відзначено збільшення розмірів клітин листкової пластинки, порівняно з контролем, особливо довжини клітин, у 1,2 і 1,4 раза в умовах тривалого та короткочасного висушування відповідно. Це свідчить про посилення транспортування та збереження води завдяки зменшенню транспірації у бокоплідних пагонах, які утворюють пухке плетиво. Короткотривале висушування не лише спричиняло значне збільшення розмірів клітин листків, а й активувало видовження пагонів, тоді як тривале висушування — істотно гальмувало їхній ріст (табл. 7.2).

Таблиця 7.2

**Вплив тривалого (ТВ) і короткочасного висушування (КВ) на розміри пагонів, листків і їхніх клітин у *Funaria hygrometrica* і *Brachythecium glareosum***

Висушування	Довжина пагона, мм	Кількість листків на пагоні, шт.	Довжина листка, мм	Ширина листка, мм	Довжина/ширина листка	Довжина клітини, мкм	Ширина клітини, мкм	Довжина/ширина клітини
<b><i>Funaria hygrometrica</i></b>								
К	6,28 ± 0,40	23 ± 1	1,42 ± 0,06	0,47 ± 0,01	3,02	55,77 ± 3,88	23,58 ± 1,57	2,37
ТВ	3,58 ± 0,18 <sup>a</sup>	12 ± 1 <sup>a</sup>	1,55 ± 0,02	0,55 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,82	22,17 ± 1,14	52,61 ± 2,91	2,37
КВ	3,02 ± 0,07 <sup>a</sup>	14 ± 1 <sup>a</sup>	0,92 ± 0,05 <sup>a,b</sup>	0,35 ± 0,02 <sup>a,b</sup>	2,67	48,94 ± 2,37	21,58 ± 1,01	2,27
<b><i>Brachythecium glareosum</i></b>								
К	24 ± 3	51 ± 4	1,19 ± 0,07	0,54 ± 0,03	2,2	57,37 ± 2,87	8,73 ± 0,47	6,6
ТВ	10 ± 2 <sup>a</sup>	45 ± 5	1,00 ± 0,06	0,42 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,4	70,08 ± 4,20	10,15 ± 0,56	6,9

Примітка: \*(тут і далі)<sup>a</sup> – достовірна різниця щодо контролю (К),<sup>b</sup> – достовірна різниця між варіантами ТВ і КВ при  $p \geq 0,95$

Відомо, що апекс пагона мохів стійкіший до висушування, ніж його нижні листки (Proctor, Pence, 2002). У *B. glareosum* верхівки пагонів залишалися не пошкодженими навіть після тривалого висушування та регенерували. Високий рівень толерантності до висушування апексу пагонів пов'язують з ефектом «губки», який сприяє гальмуванню втрати води (Тао, Zhang, 2012). Бокоплідним мохам набагато легше отримувати вологу та розподіляти її між клітинами, оскільки вони ростуть горизонтально.

Як свідчать результати дослідження кількісних та якісних змін пігментної системи, рослини *F. hygrometrica* пристосовувалися до короткочасного висушування завдяки збільшенню вмісту хлорофілу *b*, порівняно з контролем, та відповідного зменшення співвідношення хлорофілів *a/b*, що відіграє важливу роль у захисті фотосинтетичної системи в умовах нестабільного гідротермічного режиму середовища (табл. 7.3). Відомо, що хлорофіл *b* здатний забезпечувати стабільність пігмент-білкових комплексів (ПБК) завдяки своїй специфічній просторовій організації (Hooper et al., 2007). У рослин *F. hygrometrica* в умовах тривалої нестачі вологи виявлено збільшення вмісту каротиноїдів і зменшення співвідношення хлорофіли/каротиноїди в 1,2 раза, а також відзначено підвищення вмісту феофітинів — показник конверсії хлорофілу у феофітин був більшим у 1,4 раза, порівняно з короткочасним висушуванням (рис. 7.3).



Рис. 7.3. Вміст феофітинів і показник конверсії хлорофілу у феофітин у пагонах *Funaria hygrometrica* і *Brachythecium glareosum* після періодичного тривалого (ТВ) і короткочасного висушування (КВ). 1 – контроль; 2 – ТВ; 3 – КВ.

Таблиця 7.3

**Вміст фотосинтетичних пігментів у пагонах *Funaria hygrometrica* і *Brachythecium glareosum* в умовах тривалого (ТВ) і короткочасного (КВ) висушування**

Висушування	Хлорофіл <i>a</i> , мг/г	Хлорофіл <i>b</i> , мг/г	Хлорофіли <i>a+b</i> , мг/г	Хлорофіл <i>a/b</i>	Каротиноїди, мг/г	Хлорофіли/каротиноїди
<b><i>Funaria hygrometrica</i></b>						
Контроль	0,421 ± 0,029	0,125 ± 0,014	0,543 ± 0,037	3,37	0,166 ± 0,006	3,27
ТВ	0,416 ± 0,018	0,135 ± 0,009	0,540 ± 0,031	3,08	0,185 ± 0,008	2,92
КВ	0,400 ± 0,022	0,208 ± 0,011 <sup>a</sup>	0,609 ± 0,017	1,92	0,168 ± 0,006	3,63
<b><i>Brachythecium glareosum</i></b>						
Контроль	0,449 ± 0,022	0,239 ± 0,013	0,688 ± 0,036	1,88	0,144 ± 0,007	4,78
ТВ	0,430 ± 0,019	0,246 ± 0,014	0,676 ± 0,034	1,75	0,149 ± 0,008	4,54
КВ	0,271 ± 0,014 <sup>a,b</sup>	0,145 ± 0,007 <sup>a,b</sup>	0,416 ± 0,022 <sup>a,b</sup>	1,87	0,094 ± 0,005 <sup>a,b</sup>	4,43

Збільшення вмісту каротиноїдів і зростання міцності їхнього зв'язку в ПБК свідчать не лише про підвищення толерантності пігментного комплексу до стресових умов, а й про активацію антиоксидантної системи захисту моху. Окрім того, відзначено зміцнення зв'язку хлорофілів *a* і *b* та каротиноїдів із ліпопротеїдними компонентами мембран за короткочасного стресу, які забезпечують пігментам необхідне взаєморозташування та відповідну конформацію на мембранах тилакоїдів (рис. 7.4).

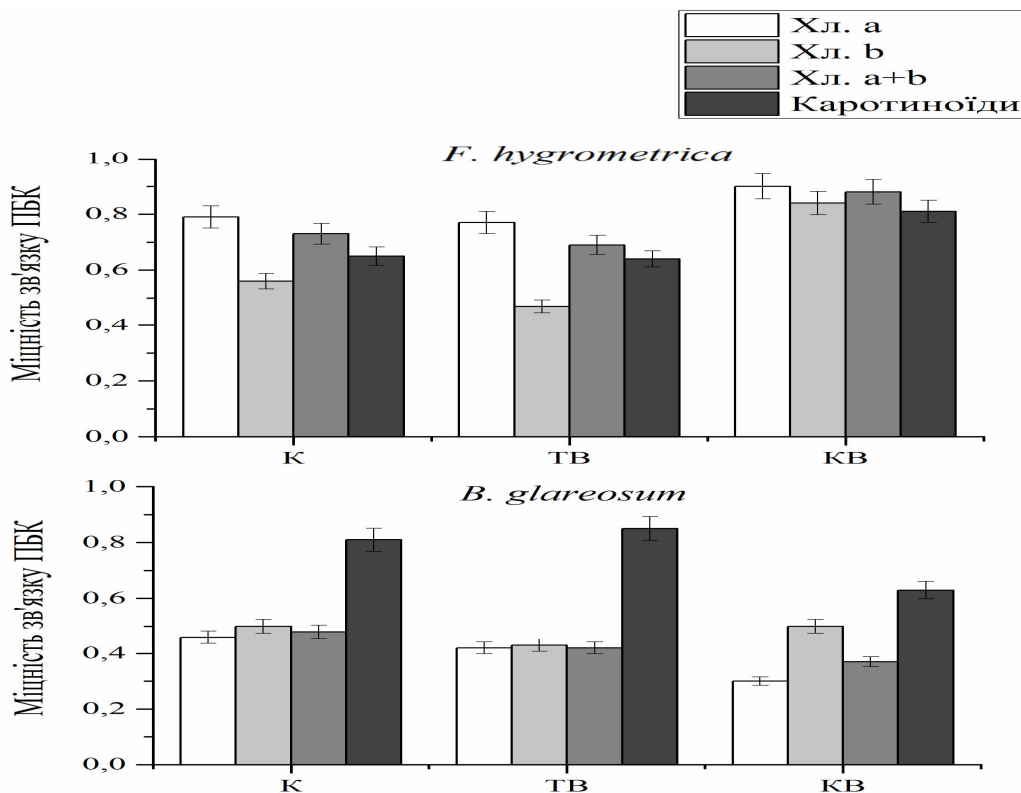


Рис. 7.4. Міцність зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК) у пагонах *Funaria hygrometrica* і *Brachythecium glareosum* в умовах тривалого (ТВ) і короткочасного висушування (КВ). 1 – контроль; 2 – ТВ; 3 – КВ.

Відомо, що ПБК можуть бути мішенями дії стресорів на рослинний організм, зокрема, виявлено їхню дестабілізацію за дефіциту вологи (Athar, Ashraf, 2005). Вплив висушування на стан пігментної системи пагонів *B. glareosum* був істотнішим, порівняно з *F. hygrometrica*.

Зі збільшенням тривалості висушування кількість пігментів і міцність їхнього зв'язку з ПБК зменшувалися, лише під впливом тривалого висушування відзначено незначне підвищення вмісту хлорофілу *b* і каротиноїдів і зростання міцності зв'язку ПБК. Це свідчить про посилення їхньої ролі в антиоксидантному захисті молекул хлорофілу від фотоокиснення та пошкодження вільними радикалами (табл. 7.3; рис. 7.4).

Результати аналізу вказують на те, що індукція толерантності вегетативних органів *F. hygrometrica* до тривалого висушування пов'язана з активуванням білкового синтезу: в гаметофорах вміст білка зростає у 2,1 і 2,4 рази, порівняно з умовами короткочасного висушування та контролем (рис. 7.5).

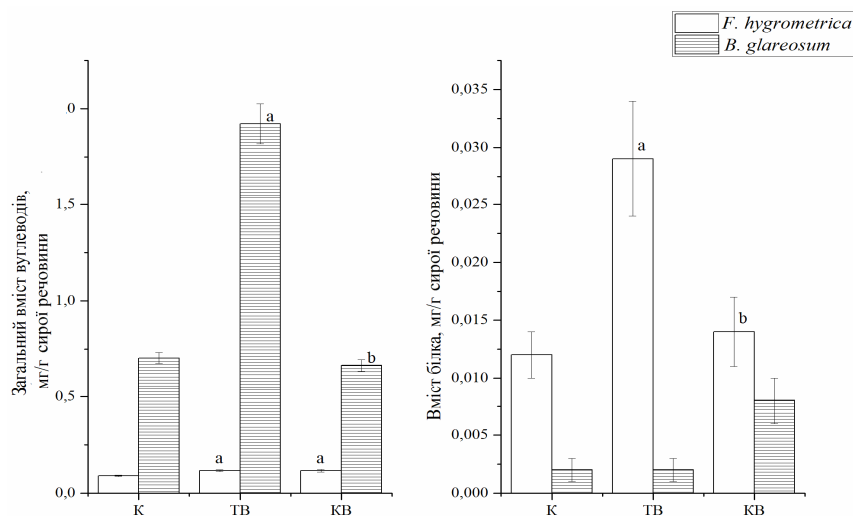


Рис. 7.5. Вплив тривалого (ТВ) і короткочасного висушування (КВ) на вміст білків і вуглеводів у пагонах мохів *Funaria hygrometrica* та *Brachythecium glareosum*. 1 – контроль; 2 – ТВ; 3 – КВ.

Проте загальний вміст вуглеводів у пагонах зростає як в умовах короткочасної, так і тривалої нестачі вологи в середньому в 1,3 рази, порівняно з контролем, що свідчить про нагромадження сполук з осмопротектерними властивостями як прояву захисних механізмів мохів до висушування. У *B. glareosum* вміст білка у пагонах збільшувався вчетверо лише під впливом короткочасного висушування, коли посилювалося видовження пагонів. Тривале ж висушування моху активувало нагромадження вуглеводів: їхня загальна концентрація зростала в 2,7 рази, порівняно з контролем. Очевидно, в умовах нестачі вологи пригнічувався фотосинтез і зменшувався вміст крохмалю в пластидах листків унаслідок перетворення на цукри, переважно на сахарозу і трегалозу. Завдяки вітрифікації — взаємодії цукрів з іншими молекулами, зокрема білками, забезпечувалася підтримка тургору в клітинах й обмежувалося утворення вільних радикалів, що перешкоджало денатурації білків і злиттю клітинних мембран у стресових умовах. З'ясовано, що апікальна меристема здебільшого використовує механізми конститутивної стійкості до висушування, тоді як сам пагін може реалізувати індуквану толерантність (Stark et al., 2013).

Отже, толерантність до висушування у мохів може підвищуватися як під впливом тривалого, так і короткочасного висушування завдяки підвищенню стійкості пігментного комплексу, активації антиоксидантного захисту та вмісту осмопротекторів. Короткочасне висушування у *B. glareosum* індукує посилення транспортування води та сповільнення транспірації внаслідок видовження пагонів, збільшення розмірів клітин листків, але зменшення їхніх кількості та розмірів. Тривале висушування істотно пришвидшує стадію відновлення життєздатності мохів після нестачі вологи. Очевидно, екологічна стратегія толерантності до висушування є значно поширенішою, ніж вважалося раніше, і під впливом стресу індукується не лише в аридних видів мохів (Stark et al., 2013; Greenwood, Stark, 2014), а й у вологолюбних, наприклад у *F. hygrometrica*.

### **7.3. СТРЕС-ІНДУКОВАНІ РЕАКЦІЇ МОХІВ НА ПЕРІОДИЧНЕ КОРОТКОЧАСНЕ ТА ТРИВАЛЕ ВИСУШУВАННЯ ЗАЛЕЖНО ВІД ВОДНОГО РЕЖИМУ ЇХ МІСЦЕВИРОСТАНЬ**

Мохоподібні є представниками пойкилогідричної стратегії адаптації до нестачі води на суші (Stark, 2017; Glime, 2019; Coe et al., 2021). Як одні з нащадків перших наземних рослин, вони є зручною моделлю для з'ясування механізмів стійкості до висушування вегетативних органів та вивчення стрес-індукованих клітинних процесів (Oliver et al., 2005; Pressel, Duckett, 2010; Stark et al., 2017). Толерантність до десикації, швидше за все, виникла як важливе і необхідне пристосування рослин під час переходу з води на сушу. І все-таки, мохоподібні залишаються майже унікальними у своїй стійкості до висушування у вегетативному стані, яку зберегли унаслідок зниження рівня загального метаболізму та здатності його припинити за відсутності води. Їх здатність відновлюватися після зневоднення зазвичай залежить від водного режиму середовища існування. Зокрема водні види бріофітів можуть витримувати незначну втрату води, уникаючи пошкодження, та швидко відновлювати фотосинтез, тоді як мохоподібні з посушливих місцевиростань зберігають життєдіяльність після тривалих періодів висушування (De Carvalho et al., 2011; Stark et al., 2013; Stark, Brinda, 2015). У ксерофітних видів мохів, як правило, короткий життєвий цикл, їх життєва стратегія адаптована до нетривалого періоду опадів. Іноді нічна роса для них – єдине джерело води. За швидкої втрати вологи протягом дня проявляються механізми конститутивної стійкості до висушування, але принаймні деяким мохоподібним також властива індукційна толерантність до десикації. Встановлено, що висушування і регідратація мохів значно збільшують потоки поживних речовин та

впливають на перетворення і зберігання карбону та нітрогену в екосистемах (Slate et al., 2019).

Установлено, що швидкість і тривалість висушування є важливими умовами для успішного відновлення після втрати води (Greenwood, Stark, 2014; Brinda et al., 2016; Stark, 2017; Greenwood et al., 2019). Толерантність мохоподібних до конститутивної десикації забезпечує відновлення після повільного висихання і здатність використовувати індукційну систему захисту проти ефектів швидкого висушування. Так, мох *Syntrichia ruralis* з місцевиростань з високою інтенсивністю світла має більшу толерантність до висушування, ніж рослини, вирощені в тіні, зі значно тривалішими періодами метаболічної активності (Stark et al., 2016; Stark, 2017; Glime, 2019). Вивчення екологічної стратегії стійкості бріофітів до висушування є важливим, тому що дає можливість з'ясувати механізми посухостійкості та генетичного конструювання толерантних до висушування культурних рослин (Stark et al., 2013). Пігментна система мохів надзвичайно чутлива до зміни екологічних умов середовища, насамперед вологості (Proctor, 2000; Hanson, Rice, 2014). Дослідження кількісних та якісних змін пігментів пластид, метаболізму хлорофілу, міцності ПБК та забезпечення стабільності клітинних мембран мохів в умовах втрати води дає уявлення про пластичність їх обмінних процесів, виявляє ступінь пристосованості окремих видів до мінливих умов існування (Tao, Zhang, 2012; Glime, 2019). З огляду на це, метою дослідження було встановити адаптивні стрес-реакції мохів в умовах короткочасного і тривалого висушування залежно від водного режиму їх місцевиростань.

Для визначення особливостей конститутивних та індукованих морфо-фізіологічних пристосувань досліджено види мохів, які відрізнялися за життєвою стратегією, життєвою формою та відношенням до водного режиму їх місцевиростань, до впливу короткочасного і тривалого висушування. Гігромезофітний мох *P. patens* за життєвою стратегією однорічний човник та ксеромезофіт *B. unguiculata* з стратегією поселенець у природних умовах утворюють низьку пухку дернину. Ксерофіт *W. longifolia* є представником мохів зі стратегією багаторічних човників та життєвою формою щільна низька дернина.

На підставі аналізу морфометричних параметрів *B. unguiculata* і *P. patens* встановлено достовірне зменшення показників розмірів пагонів і листків та збільшення щільності мохових дернин під впливом короткочасного й тривалого висушування (рис. 7,6; 7.7). У *P. patens* довжина пагонів ( $1,7 \pm 0,1$  см у контролі) зменшувалася на 18% за короткочасного висушування та на 35% унаслідок тривалої втрати вологи. Розміри листків зазнавали незначних змін під впливом короткого періоду висушування, а під впливом тривалого – розміри ( $2,0 \pm 0,1$  мм) та їхня кількість ( $30,5 \pm 3,5$  шт.) зменшувалися, порівняно з контролем в 1,3 і 1,5



рази, відповідно. Істотно змінився характер галушення верхівки пагонів: у контролі утворювалося 3–4 бічні гілки до 1,0–1,2 см завдовжки, у варіантах досліду з короткочасним висушуванням зафіксовано переважно по 3 коротших бічних гілки (до 0,6 см). У випадку тривалого висушування на верхівках пагонів виявлено поряд з дрібними гілками (0,2–0,5 см) численну кількість відмерлих бруньок, що свідчить про наявність адаптивних змін в апексі пагонів, де найбільш активно відбувається “загартовування” до тривалої втрати вологи і відбір, очевидно, найстійкіших їх зачатків.

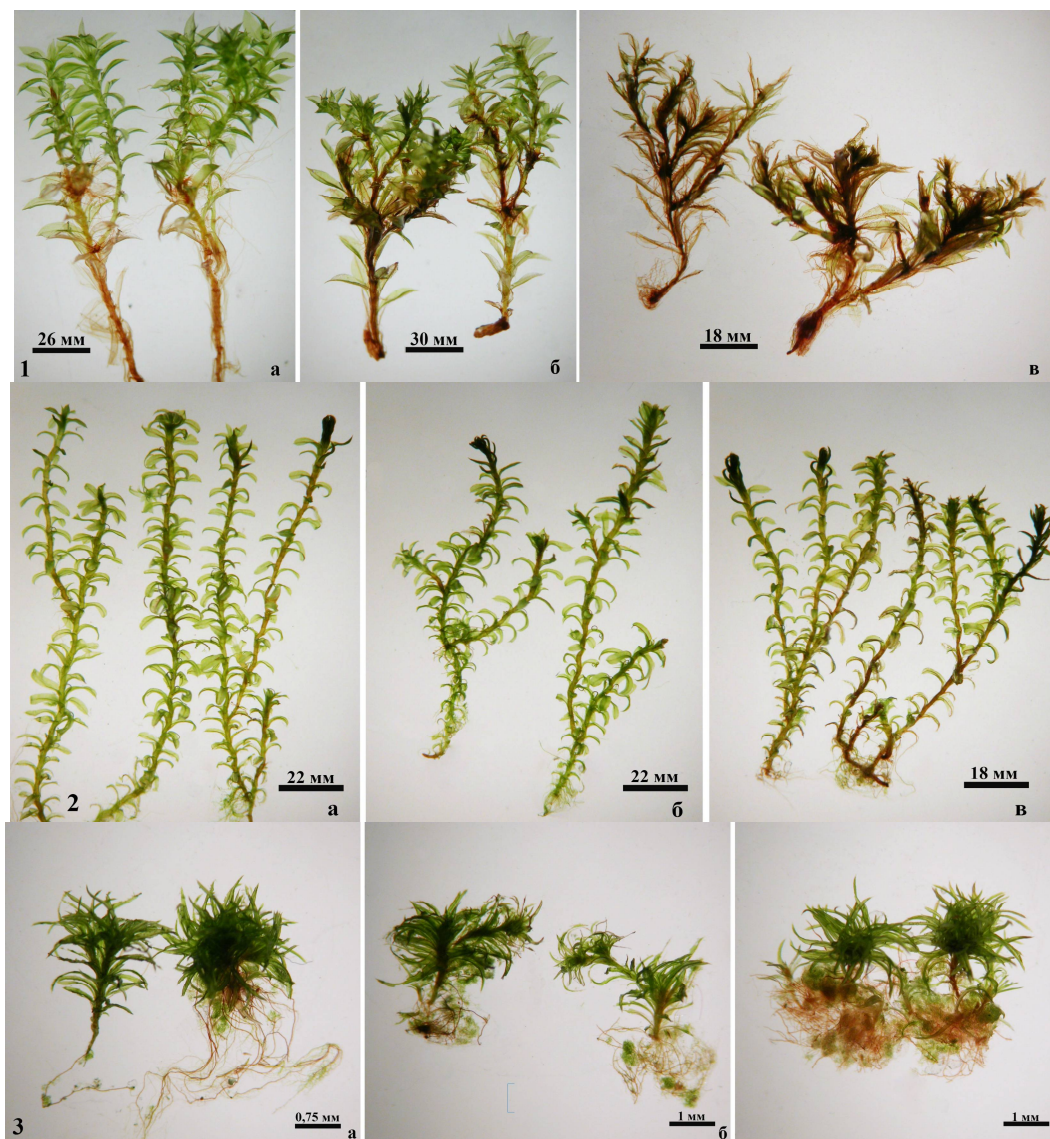


Рис. 7.6. Пагони *P. patens* (1), *B. unguiculata* (2) та *W. longifolia* (3) після періодичного впливу короткочасного (КВ) і тривалого висушування (ТВ): а – контроль; б – КВ (24 год); в – ТВ (96 год). Культуру всіх видів мохів вирощували в люмінеστάті, в контрольованих умовах: фотоперіоду – 16 год, освітлення –  $70 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ , температури –  $20\text{--}22^\circ \text{C}$ , вологості – 90–95 %. Тривалість експерименту 12 тижнів.

Відомо, що апекс пагона мохів стійкіший до висушування, ніж його нижні листки (Proctor, Pence, 2002). Раніше нами встановлено, що у бокоспорогонного моху *Brachythecium glareosum* верхівки пагонів залишалися непошкодженими навіть після тривалого висушування та регенерували (Лобачевська, Бойко, 2015). Високий рівень толерантності до висушування апексу пагонів моху пов'язували з ефектом «губки», який сприяв зменшенню втрати води (Tao, Zhang, 2012).

Довжина пагонів і розміри листків *B. unguiculata* неістотно зменшувалися під впливом різної тривалості висушування, порівняно з контролем (довжина пагонів  $2,0 \pm 0,2$  см, розміри листків  $2,5 \times 0,1$  мм). За короткого висушування розміри пагонів і листків були меншими в 1,2 рази та за тривалого – 1,3 і 1,4 рази відповідно (рис. 7.6). На відміну від гігомезофітного моху *P. patens* у ксеромезофіта *B. unguiculata* тривале висушування посилювало галуження верхівок пагонів, очевидно, для збільшення біомаси пагонів та водоутримуючої здатності щільніших дернин (рис. 7.7; табл. 7.4).

Таблиця 7.4

**Вплив короткочасного 24 год (КВ) і тривалого 96 год (ТВ) висушування на розміри пагонів і листків у *P. patens*, *B. unguiculata* та *W. longifolia*.** Культуру мохів вирощували в люмінестаті, в контрольованих умовах: фотоперіоду – 16 год, освітлення –  $70 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ , температури –  $20\text{--}22^\circ\text{C}$ , вологості – 90–95 %. Тривалість експерименту 12 тижнів.

Тривалість висушування	Довжина пагона, см	Кількість листків на пагоні, шт.	Довжина листка, мм	Ширина листка, мм
<b><i>P. patens</i></b>				
Контроль	$1,70 \pm 0,10$	$30,5 \pm 3,5$	$2,0 \pm 0,1$	$0,45 \pm 0,01$
КВ (24 год)	$1,39 \pm 0,18$	$28,7 \pm 2,9$	$1,8 \pm 0,4$	$0,37 \pm 0,01^*$
ТВ (96 год)	$1,10 \pm 0,07^{**}$	$20,8 \pm 3,2^*$	$1,5 \pm 0,2^*$	$0,30 \pm 0,02^{**}$
<b><i>B. unguiculata</i></b>				
Контроль	$2,03 \pm 0,20$	$74,4 \pm 6,0$	$2,5 \pm 0,1$	$0,50 \pm 0,01$
КВ (24 год)	$1,69 \pm 0,19$	$62,3 \pm 4,5$	$2,1 \pm 0,3$	$0,47 \pm 0,01^*$
ТВ (96 год)	$1,53 \pm 0,11^*$	$54,6 \pm 5,8^*$	$1,8 \pm 0,2^{**}$	$0,45 \pm 0,02^*$
<b><i>W. longifolia</i></b>				
Контроль	$0,38 \pm 0,02$	$32,5 \pm 2,6$	$2,0 \pm 0,1$	$0,02 \pm 0,001$
КВ (24 год)	$0,30 \pm 0,03^*$	$24,4 \pm 3,0^*$	$1,5 \pm 0,2^*$	$0,02 \pm 0,001$
ТВ (96 год)	$0,37 \pm 0,01$	$29,0 \pm 3,5$	$1,7 \pm 0,3$	$0,01 \pm 0,001$

*Примітка:* \* – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю статистично достовірна при  $p < 0,05$ ; \*\* – при  $p < 0,01$ .

У ксерофітного моху *W. longifolia* під впливом короткочасного висушування визначено достовірне зменшення морфометричних показників пагонів та довжини листків. Навпаки, тривале висушування спричиняло незначне збільшення розмірів листків і видовження пагонів,

порівняно з короткочасним висушуванням, притому значно активувало утворення хлоронемних дендроїдів (табл. 7.4; рис. 7.6). Розвиток ортотропних ниток зеленої розгалуженої хлоронемі на червоно-коричневих столонах каулонемі, що росте плагіотропно, А.С. Лазаренко оцінив як адаптацію протонемі моху до аридного клімату (Лобачевська та ін., 2019). Так, у контролі довжина пагонів була  $0,38\pm 0,02$  см, за короткого висушування –  $0,30\pm 0,03$  см та тривалого –  $0,37\pm 0,01$  см. Тенденція мінливості розміру листків залежно від тривалості висушування зберігалася: контроль –  $2,0\text{--}2,1 \times 0,02\text{--}0,021$  мм, коротке висушування –  $1,5\text{--}1,7 \times 0,02\text{--}0,021$  мм та тривале –  $1,7\text{--}2,0 \times 0,01\text{--}0,011$  мм (табл. 7.4). Очевидно, дослід з тривалим періодом висушування культури максимально відповідає природним умовам місцевиростань посухостійкого моху *W. longifolia* та свідчить про його найбільшу пристосованість і здатність до адаптації до таких змін. Після періодичного тривалого висушування пагони моху були яскраво-зеленого кольору та утворювали щільний моховий покрив на горшечку, тоді як в пухких дернинах *P. patens* і *B. unguiculata* пагони мали хлорозні й некротичні пошкодження (рис. 7.7).

Вміст пігментів та їх співвідношення є ознаками потенційної стійкості рослин до стресу, важливими показниками для визначення механізмів їх адаптації до умов місцевиростань та з'ясування еволюційних шляхів становлення фотосинтетичної системи (Hanson, Rice, 2014; Glime, 2019; Liang et al., 2021).

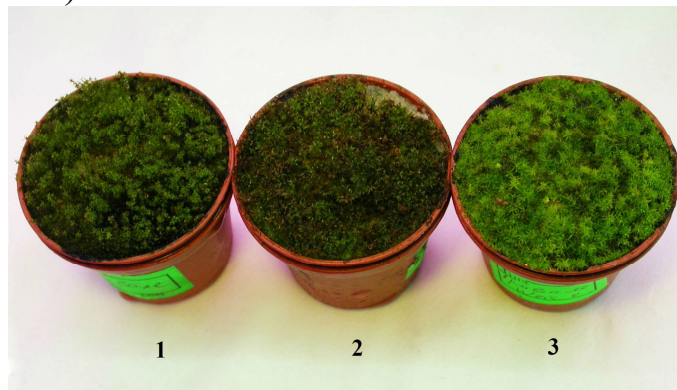


Рис. 7.7. Культура мохів після періодичного тривалого (96 год) висушування: 1 – *B. unguiculata*; 2 – *P. patens*; 3 – *W. longifolia*. Мохи вирощували в люмінестаті, в контрольованих умовах: фотоперіоду – 16 год, освітлення –  $70 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ , температури –  $20\text{--}22^\circ \text{C}$ , вологості –  $90\text{--}95\%$ . Тривалість експерименту 12 тижнів.

Установлено, що під впливом висушування у *P. patens* зменшувався вміст хлорофілу *a* (хл *a*) та збільшувався вміст хлорофілу *b* (хл *b*). Співвідношення хл *a/b* (1,3) у *B. unguiculata* зменшувалося майже в 1,85 рази під впливом як короткочасного, так і тривалого висушування, для *P.*

*patens* (хл  $a/b = 2,1$ ) істотне зменшення (у 1,9 рази) відзначено лише під впливом тривалого висушування. У дернинах *W. longifolia* вміст хл  $a$  та  $b$  неістотно зменшувався під впливом короткочасного висушування, а в умовах тривалої нестачі вологи виявлено незначне підвищення вмісту хл  $b$  до 1,02 мг/г маси с.р., порівняно з контролем (табл. 7.5).

Зменшення співвідношення хл  $a/b$  є проявом адаптації та захисту функціонування фотосинтетичної системи в умовах нестабільного гідротермічного режиму середовища. На відміну від хл  $a$ , який забезпечує фотосинтетичну активність й сприяє синтезу більшої кількості органічної речовини, хл  $b$  є значно стійкішим до несприятливих умов та завдяки своїй специфічній просторовій організації стабілізує пігментну систему, зміцнюючи хлорофіл-білкові комплекси (ХБК) (Proctor, 2000; Hanson, Rice, 2014; Glime, 2019).

Отже, в умовах лабораторної культури досліджувані види мохів здебільшого проявляли фізіологічні ознаки фотосинтезу тіневитривалих рослин, оскільки для них визначено низькі співвідношення хлорофілів  $a/b$  та високі показники співвідношення хлорофілів/каротиноїдів (Glime, 2019). До вищої інтенсивності дефіциту вологи рослини *P. patens* і *B. unguiculata* пристосовувалися переважно за рахунок стабільного антиоксидантного захисту каротиноїдів та підвищення вмісту хл  $b$  – світлозбирального пігменту антенних комплексів, що компенсувало зниження вмісту хл  $a$  і забезпечувало підвищення ефективності поглинання світла (Hanson, Rice, 2014). Мабуть, конститутивна толерантність ксерофітного моху *W. longifolia* проявлялася, насамперед, у стійкості синтезу його хлорофілів (табл. 7.5; рис. 7.6).

Таблиця 7.5

**Мінливість показників вмісту фотосинтетичних пігментів та їх співвідношення у пагонах *P. patens*, *B. unguiculata* і *W. longifolia* в умовах короткочасного (КВ) і тривалого (ТВ) висушування ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ )**

Висушування	Хлорофіл $a$ , мг/г с. м.	Хлорофіл $b$ , мг/г с. м.	Хлорофіли $a+b$ , мг/г с. м.	Хлорофіл $a/b$	Каротиноїди, мг/г с. м.	Хлорофіли/Каротиноїди
<b><i>P. patens</i></b>						
Контроль	1,92 ± 0,09	0,92 ± 0,05	2,83 ± 0,04	2,09	0,55 ± 0,09	5,14
КВ	1,75 ± 0,07	0,94 ± 0,09	2,68 ± 0,05*	1,86	0,53 ± 0,07	5,06
ТВ	1,38 ± 0,08**	1,24 ± 0,09**	2,62 ± 0,03**	1,11	0,54 ± 0,09	4,85
<b><i>B. unguiculata</i></b>						
Контроль	1,96 ± 0,04	1,51 ± 0,05	3,47 ± 0,03	1,30	0,44 ± 0,05	7,89
КВ	0,64 ± 0,03**	0,91 ± 0,09**	1,55 ± 0,03**	0,70	0,44 ± 0,08	3,52
ТВ	0,78 ± 0,07**	1,16 ± 0,07**	1,94 ± 0,05**	0,67	0,41 ± 0,09	4,73
<b><i>W. longifolia</i></b>						
Контроль	2,00 ± 0,05	0,91 ± 0,04	2,92 ± 0,04	2,19	0,53 ± 0,03	5,51
КВ	1,98 ± 0,06	0,78 ± 0,05	2,76 ± 0,07	2,56	0,46 ± 0,05	6,00
ТВ	1,93 ± 0,08	1,02 ± 0,09	2,95 ± 0,07	1,89	0,31 ± 0,08**	7,97

Примітка: \* – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю статистично достовірна при  $p < 0,05$ ; \*\* – при  $p < 0,01$ .

Значну частину пігментного фонду мохів становлять феофітини – це хлорофіли без  $Mg^{2+}$ , що утворюються внаслідок деградації хлорофілів та є першими акцепторами електронів у фотосистемі II (Бойко та ін., 2012; Кавулич та ін., 2016). Максимальні показники конверсії хлорофілів (до 166,67 %) у феофітини встановлені для *B. unguiculata*, особливо хл *a*, які збільшувалися з тривалістю висушування. Значно більші показники конверсії хл *b* у феофітин *b*, порівняно з хл *a*, виявлено для пагонів *P. patens*, у яких вміст феофітинів *b* збільшувався під впливом тривалого висушування, зокрема від 0,60 мг/г маси с.р. у контролі до 0,78 мг/г маси с.р. Аналогічні зміни виявлено і для *W. longifolia*, під впливом тривалого висушування встановлено достовірне збільшення вмісту феофітину *b* та показників його конверсії (табл. 7.6).

Таблиця 7.6

**Вплив короткочасного (КВ) і тривалого (ТВ) висушування на деструкцію хлорофілів та міцність зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК) у пагонах *P. patens*, *B. unguiculata* і *W. longifolia* ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ )**

Ви-су-шу-ван-ня	Вміст, мг/г с. м.		Показник конверсії, %		Міцність зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК), %		
	феофітин <i>a</i>	феофітин <i>b</i>	хлорофілу <i>a</i> у феофітин	хлорофілу <i>b</i> у феофітин	хлорофілу <i>a</i>	хлорофілу <i>b</i>	Каротиноїдів
<b><i>P. patens</i></b>							
К	0,49 ± 0,05	0,60 ± 0,04	25,52 ± 1,71	57,39 ± 5,17	69,34 ± 5,13	71,14 ± 3,32	48,66 ± 4,14
КВ	0,37 ± 0,07	0,64 ± 0,04	21,14 ± 1,90	68,08 ± 6,03	54,61 ± 3,32*	74,21 ± 5,11	52,84 ± 4,89
ТВ	0,24 ± 0,07*	0,78 ± 0,04*	24,64 ± 1,99	74,84 ± 4,03*	51,23 ± 4,10*	87,59 ± 3,22*	55,73 ± 5,03
<b><i>B. unguiculata</i></b>							
К	1,07 ± 0,03	0,79 ± 0,04	54,59 ± 3,21	52,32 ± 3,61	82,32 ± 4,86	62,21 ± 4,32	92,53 ± 5,67
КВ	0,65 ± 0,09**	0,52 ± 0,05**	101,56 ± 5,67**	57,14 ± 4,02	79,37 ± 6,90	45,90 ± 3,87*	47,17 ± 3,42**
ТВ	1,30 ± 0,07*	0,82 ± 0,07	166,67 ± 9,52**	70,69 ± 6,98*	73,75 ± 4,75	47,27 ± 3,65*	32,53 ± 3,11**
<b><i>W. longifolia</i></b>							
К	0,25 ± 0,03	0,40 ± 0,03	12,50 ± 1,53	43,95 ± 3,99	43,97 ± 3,12	37,37 ± 2,82	91,10 ± 5,85
КВ	0,22 ± 0,08	0,35 ± 0,02	11,12 ± 0,96	44,87 ± 4,12	41,53 ± 2,87	36,63 ± 3,03	79,19 ± 4,07
ТВ	0,20 ± 0,03	0,55 ± 0,04*	10,36 ± 0,82	53,92 ± 3,50**	42,69 ± 2,12	38,91 ± 3,41	87,28 ± 4,05

Примітка: \* – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю (К) статистично достовірна при  $p < 0,05$ ; \*\* – при  $p < 0,01$ .

Отримані нами результати вказують на те, що висушування спричиняло зміни у вмісті феофітинів у мохів залежно від вмісту хлорофілів та їх співвідношення. Стрес у пагонах, індукований втратою вологи, призводив до зменшення вмісту одного з хлорофілів та протилежну зміну у вмісті феофітинів. Дослідження І.В. Бойко зі співавторами (Бойко та ін., 2012) показали підвищення вмісту феофітинів щодо контролю в листках пшениці й кукурудзи за дії іонів кадмію. Залежність між вмістом хлорофілів і феофітинів, насамперед для хлорофілу *a*, встановлена і у рослинах гречки *Fagopyrum esculentum* Moench. під впливом кадмію хлориду (Кавулич та ін., 2016). Отже, вміст

феофітинів може бути важливою індикаційною ознакою рослинного організму на дію стресора, зокрема висушування.

Результати визначення міцності зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК) у пагонах мохів свідчать про дестабілізацію конформації пігментів на мембранах тилакоїдів досліджуваних мохів, оскільки їх функціональна активність залежить від міцності гідрофобної взаємодії з білковоліпідним комплексом мембран (табл. 7.6). Показники міцності зв'язку хл *a* і *b* та каротиноїдів із ліпопротеїдними компонентами мембран *B. unguiculata* істотно зменшувалися зі збільшенням нестачі вологи, зокрема хл *b* від 62,21% у контролі до 47,27% під впливом тривалого висушування. У *P. patens* показники були менше варіабельними, ніж у *B. unguiculata*, крім того, встановлено незначне зміцнення комплексів хл *b* за тривалого стресу. Стабільність показників стійкості ПБК відзначено для *W. longifolia*, насамперед міцності зв'язку каротиноїдів (від 91,10% до 87,28%), що забезпечувало блокування вільних радикалів та захист молекул хлорофілу від фотоокиснення.

Отримані результати вказують на вищу чутливість пігментної системи *B. unguiculata* та *P. patens* до висушування, порівняно з *W. longifolia*. Для *B. unguiculata* встановлено достовірне зменшення міцності ПБК для хл *b*, що може свідчити про більшу вразливість світлозбиральних комплексів фотосистеми II, тоді як виявлене для *P. patens* істотне послаблення міцності ПБК для хл *a* може бути проявом більшої чутливості антенних комплексів фотосистеми I. Для *W. longifolia* встановлена стійкість як до короткочасного висушування, так і здатність до адаптації до тривалої нестачі вологи за всіма досліджуваними морфофізіологічними показниками.

Унаслідок висушування ймовірність пошкодження фотосинтетичного апарату підвищується, збільшується утворення вільних молекул хлорофілу, що може спричиняти генерації активних форм кисню (Hanson, Rice, 2014; De Carvalho et al., 2017; Glime, 2019). Метаболізм хлорофілу у клітинах: вміст, синтез і деградація хлорофіл-вмісних комплексів контролюється активністю хлорофілази (хлорофіл-хлорофілід-гідролази 3.1.1.14).

Визначено, що під впливом короткочасного висушування у *P. patens* (27,5 % розкладеного хл *a*/ мг хл *a* + *b*) та *B. unguiculata* (28,9% розкладеного хл *a*/ мг хл *a* + *b*) активність ферменту зменшувалася щодо контролю на 14% і 21% відповідно, тоді як унаслідок тривалого – на 31,3% і 27,5% відповідно (рис. 7.8). Зниження гідролітичної активності хлорофілази вказує на уповільнення швидкості процесів перетворення зелених пігментів та її переважно мембранозв'язаний стан. Для *W. longifolia* встановлено найбільші показники активності хлорофілази (рис. 7.8), що може свідчити про активну участь її в метаболізмі та оновленні

фонду фотосинтетичних пігментів, оскільки вища метаболізація більшого пулу пігментів потребує вищої активності ферменту (Фомішина та ін., 2009). Окрім того, визначено значне підвищення активності ферменту до 53% мг розкладеного хл *a* / мг хл *a* + *b* за короткочасної втрати вологи, порівняно з контролем (31% розкладеного хл *a* / мг хл *a* + *b*), очевидно, унаслідок посилення деградації пігментних комплексів хлорофілазна активність посилюється за рахунок легкокорозчинних форм, оскільки її зв'язок з мембранами послаблюється (Фомішина та ін., 2009). Тривала втрата вологи спричиняла пригнічення активності ферменту лише на 6% щодо контролю, що свідчить про переважання його мембранозв'язаної фракції і пригнічення обміну хлорофільного пулу.

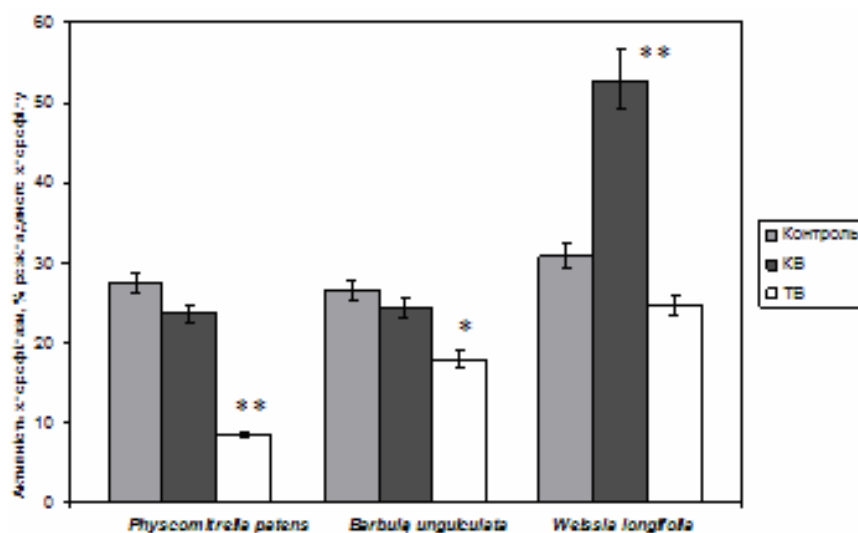


Рис. 7.8. Активність хлорофілази пагонів *P. patens*, *B. unguiculata* та *W. longifolia* в умовах короткочасного 24 год (KB) і тривалого 96 год (TB) висушування.

Примітка: \* – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю статистично достовірна при  $p < 0,05$ ; \*\* – при  $p < 0,01$ .

Стійкість рослин – це генетична здатність організму завдяки відповідним фізіологічним і морфологічним механізмам витримувати стресові умови середовища, яка може бути конститутивною властивістю або ж формуватися унаслідок адаптаційних перебудов, індукованих стресовими чинниками. Конститутивні системи захисту постійно перебувають у функціонально активному стані, а індуковані – виявляються лише у відповідь на дію стресового чинника (Колупаєв, Карпец, 2010; Proctor, 2000; Stark, Blinda, 2016).

На основі отриманих нами результатів встановлено, що досліджені види мохів відрізнялися за загальним вмістом вуглеводів, які відіграють важливу роль у запобіганні дезінтеграції клітинних мембран, забезпеченні структурної та функціональної стабільності клітин в умовах висушування

(Лобачевська, Бойко, 2015; Proctor, 2000; Wu et al., 2012). У пустельного моху *Syntrichia caninervis* Mitt. виявлено, що стабілізації його мембран у висушеному стані під час десикації та регідратації сприяє істотне збільшення загального вмісту розчинних вуглеводів – основних “конститутивних” захисних речовин (Лобачевська, Бойко, 2015; Proctor, 2000; Wu et al., 2012; Liang et al., 2021).

У контролі найвищий рівень вуглеводів (11 мкг/г маси с.р.) визначено у ксеромезофіта *B. unguiculata* (рис. 7.9). Під впливом короткочасного висушування вміст вуглеводів майже не змінювався, тоді як тривале висушування спричиняло майже 40 % збільшення їх вмісту.

Для *W. longifolia* встановлено, що загальний пул вуглеводів зростає залежно від тривалості висушування, очевидно, завдяки участі як конститутивних, так і стрес-індукованих механізмів захисту: від 5,1 мкг/г маси с.р. (контроль) до 7,2 мкг/г маси с.р. (короткочасне висушування) та 9,5 мкг/г маси с.р. (тривале). У гігромезофітного моху *P. patens*, який характеризується найнижчою посухостійкістю серед досліджених видів, вміст загальних вуглеводів збільшувався в 1,8 рази від 5,7 мкг/г маси с.р. у контролі до 10,5 мкг/г маси с.р. під впливом короткочасного висушування і зберігався майже на цьому рівні після тривалої втрати вологи, що є проявом, мабуть, лише конститутивних захисних систем (рис. 7.9).

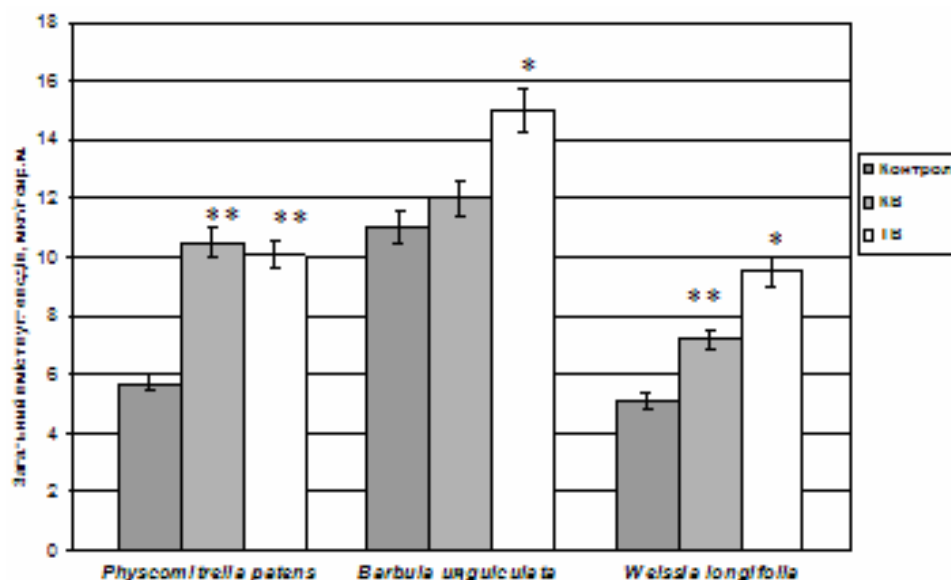


Рис. 7.9. Вплив короткочасного 24 год (КВ) і тривалого 96 год (ТВ) висушування на загальний вміст вуглеводів у пагонах *P. patens*, *B. unguiculata* та *W. longifolia*.

Примітка: \* – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю статистично достовірна при  $p < 0,05$ ; \*\* – при  $p < 0,01$ .

Таким чином, порівняльне вивчення стрес-індукованих реакцій мохів залежно від водного режиму їх місцевиростань засвідчило



функціонування різних захисних систем в адаптаційних процесах на вплив періодичного короткочасного та тривалого висушування.

На підставі аналізу морфометричних параметрів *B. unguiculata* і *P. patens* встановлено значне зменшення показників розмірів пагонів, листків та збільшення щільності мохових дернин як прояву механізму зниження втрати вологи поверхнею мохової дернини за впливу тривалого та короткочасного висушування. У *W. longifolia* тривале висушування спричиняло незначне збільшення розмірів листків і видовження пагонів та активувало утворення хлоронемних дендроїдів, порівняно з контролем та короткочасним висушуванням, що засвідчило його найбільшу пристосованість і адаптаційну здатність до періодичних змін вологості.

Визначено залежність компонентного складу пігментного апарату досліджуваних мохів від тривалості висушування та їх видових особливостей. Отримані результати вказують на те, що висушування спричиняло зміни у вмісті феофітинів у мохів залежно від вмісту хлорофілів та їх співвідношення. З'ясовано, що в пігментній системі гігромезофітного моху *P. patens* визначальна роль належить хл *b* та феофітину *b*, тоді як оптимальне функціонування асиміляційного комплексу ксеромезофітного моху *B. unguiculata* залежить від хлорофілу *a* та феофітину *a*, у ксерофіту *W. longifolia* – завдяки стійкості хл *a* та міцності зв'язку каротиноїдів з білковими комплексами пігментної системи. Встановлено вищу чутливість пігментної системи *B. unguiculata* та *P. patens* до висушування, порівняно з *W. longifolia*. Висушування спричиняло у *B. unguiculata* достовірне зменшення міцності ПБК для хл *b* та істотне послаблення міцності ПБК для хл *a* у *P. patens*. Стабільність показників стійкості ПБК відзначено для ксерофітного моху *W. longifolia*, насамперед міцності зв'язку каротиноїдів із ліпопротеїдними компонентами мембран.

Під впливом висушування виявлено значне зниження гідролітичної активності хлорофілази у *B. unguiculata* і *P. patens*, що свідчить про уповільнення швидкості процесів перетворення зелених пігментів та її переважно мембранозв'язаний стан. Найбільші показники активності хлорофілази встановлено у *W. longifolia*, що може вказувати на активну участь її в метаболізмі та оновленні фонду фотосинтетичних пігментів.

Під впливом висушування загальний вміст вуглеводів у мохів здебільшого збільшувався, що було проявом пристосування конститутивної стійкості, як у *P. patens*, до тривалої втрати вологи *B. unguiculata* і *W. longifolia* адаптувалися передусім завдяки стрес-індукованим адаптивним реакціям або ж взаємодії обох (конститутивних та індукованих) механізмів захисту.

#### 7.4. ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ КОНСТИТУТИВНИХ ТА ІНДУКОВАНИХ АДАПТИВНИХ МЕХАНІЗМІВ У СТІЙКОСТІ БРІОФІТІВ ДО ЗАСОЛЕННЯ НА ТЕРИТОРІЇ ХВОСТОСХОВИЩА СТЕБНИЦЬКОГО ГХП “ПОЛІМІНЕРАЛ”

Головним стресовим чинником, що гальмує процеси формування рослинного покриву на хвостосховищі Стебницького гірничо-хімічного підприємства “Полімінерал” (Львівська обл.) є засолення субстрату, що зумовлене накопиченням відходів флотаційного збагачення калійних та магнієвих руд. Мохи є піонерами заростання засолених субстратів хвостосховища. Сьогодні є мало інформації як щодо впливу сольового стресу на бріофіти, так і щодо механізмів, які забезпечують їхнє виживання в умовах засолення (Garbary et al., 2008; Pouliot, Rochefort, 2012; Sabovljević, 2007; Wang et al., 2008). У бріофітів не виявлено спеціалізованих механізмів солестійкості, як у судинних рослин, тому важливим є пізнання особливостей їхньої адаптації в умовах засолення.

У впливі засолення на рослинний організм можна виділити 2 компоненти: осмотичний, що пов’язаний зі зниженням водного потенціалу ґрунтового розчину і зменшенням доступності води для рослин, та токсичний компонент, зумовлений проникненням солей  $\text{Na}^+$  у цитоплазму клітин. Тобто, фізіологічна дія сольового стресу пов’язана зі зневодненням, оскільки високі концентрації іонів солей призводять до гіперосмотичного шоку та іонного дисбалансу (Ісаєнков, 2012; Колупаєв, 2010).

Стійкість рослин до стресора визначається функціонуванням конститутивних й індукованих захисних систем. Їх принципова відмінність полягає у тому, що конститутивні системи постійно перебувають у функціонально активному стані, а індуковані – в нормі відсутні і виявляються лише у відповідь на дію пошкоджуючого чинника (Колупаєв, 2010).

У зв’язку з тим, метою роботи було експериментальне дослідження адаптивних фізіолого-біохімічних реакцій мохів з території хвостосховища Стебницького ГХП “Полімінерал” до сольового стресу: вмісту осмопротекторів – розчинних вуглеводів і проліну, антиоксидантної активності рослин, вмісту аскорбату й відновленого глутатіону та активності ферментів їх метаболізму – аскорбатпероксидази та глутатіонредуктази на початкових етапах стрес-реакції (сольовий шок) та за тривалішого стресового впливу (сольовий стрес).

Пошкоджуючий вплив натрій хлориду оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів і виявили, що показник ліпопероксидації у пагонах *Didymodon rigidulus* і *Barbula unguiculata* збільшувався, в середньому, на 20–25% через 24 год після початку обприскування рослин 100 мМ

розчином NaCl, порівняно з початком експерименту, а на 7 добу сольового стресу загальний вміст ТБК-активних продуктів наближався до вихідних значень (рис. 7.10).

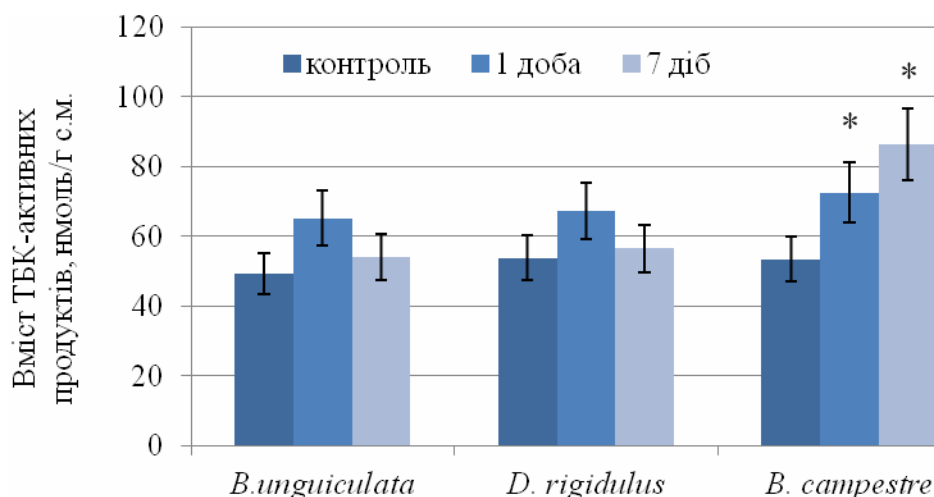


Рис. 7.10. Вміст ТБК-активних продуктів у пагонах мохів за обприскування рослин 100 мМ розчином NaCl. Умовні позначення: контроль – початок експерименту, без обприскування розчином NaCl; 1 доба та 7 доба – тривалість обприскування рослин 100 мМ розчином NaCl ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Примітка: \* – результати достовірні порівняно з контролем за  $P < 0,05$ .

У рослинах *Brachythecium campestre* із нижчим рівнем толерантності до засолення вміст ТБК-активних продуктів поступово підвищувався упродовж експерименту і максимального значення досягав на 7 добу впливу NaCl, порівняно з контролем.

Здатність накопичувати осмотично активні речовини значною мірою визначає стійкість мохів до стресів, причому, найстійкішими вважають ті з них, які одночасно нагромаджують сполуки різних типів – розчинні вуглеводи, органічні кислоти й амінокислоти (Glime, 2007). Серед біохімічних показників солестійкості важливе значення мають осмоліти, насамперед цукри та пролін (Ісаєнков, 2012; Колупаєв, 2010). Акумуляція розчинних вуглеводів забезпечує внутрішню регуляцію водного потенціалу та сприяє активному поглинанню води рослинним організмом, що є важливим в умовах засолення (Ісаєнков, 2012; Munns, Tester, 2008; Li et al., 2009; Wu et al., 2012). Також цукри чинять антиденатураційний вплив на білково-ліпідний комплекс мембран, перехоплюють активні форми кисню і гальмують процеси вільнорадикального окислення біологічних молекул у процесі розвитку окиснювального стресу (Карпец, Колупаєв, 2009). Виявлено, що солетолерантним мохам властивий високий конститутивний рівень розчинних карбогідратів. Наприклад, у пагонах *Didymodon rigidulus* їх кількість була стабільно високою як на

початку експерименту, так і за тривалішого впливу сольового стресу (табл. 7.7). У пагонах *Barbula unguiculata* також зафіксовано високу концентрацію розчинних вуглеводів упродовж впливу сольового стресу (1,38–1,61 мкг/ г с.м.). Для *Brachythecium campestre* виявлено стрес-індукований характер акумуляції цукрів, оскільки на 1 добу впливу сольового шоку їх концентрація у клітинах моху знижувалася майже удвічі, порівняно з початком експерименту, що свідчило про використання пулу розчинних карбогідратів в умовах сольового шоку, а суттєве їх збільшення майже удвічі зафіксовано на 7 добу експерименту, що, очевидно, було зумовлене індукованою перебудовою метаболізму вуглеводів у напрямку посилення гідролізу полісахаридів (табл. 7.7).

Амінокислота пролін є поліфункціональною сполукою. Окрім осмолітичної, пролін виконує й інші взаємозв'язані функції: мембранопротекторну, шаперонну, антиоксидантну (Радюкіна и др., 2008; Mishra, Dubey, 2006; Krishnan et al., 2008; Okuma et al., 2004). Щодо участі проліну у стресових реакціях мохів є небагато досліджень. Наприклад, у печіночника *Marchantia polymorpha* виявлено значне підвищення вмісту проліну в умовах осмотичного стресу. Водночас, у видів *Hylocomium splendens*, *Pleurozium schreberi* та *Rhytidiadelphus squarrosus* під впливом важких металів рівень акумуляції проліну істотно відрізнявся залежно від виду мохів та його адаптивної спроможності (Лобачевська, 2008). Також показано збільшення вмісту проліну у клітинах моху *Ceratodon purpureus* залежно від мікрокліматичних умов на відвалах вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району (Карпінець, 2017). Виявлено посилення синтезу проліну за впливу висушування у мохів *Hypnum plumaeforme* та *Pogonatum cirratum*, а також його участь у крос-адаптації до низьких температур (Liu et al., 2019). Загалом, аналіз сучасних літературних джерел свідчить, що існують значні відмінності у здатності нагромаджувати пролін у різних видів мохів у випадку одного й того стресового навантаження і в одного виду за неоднакових типів стресу, що потребує подальших досліджень.

Нагромадження проліну у пагонах досліджуваних видів мохів в умовах сольового стресу відбувалося по-різному (табл. 7.7). Наприклад, у зразках *Didymodon rigidulus* зафіксовано збільшення вмісту цього осмопротектора в 1,6 рази вже через 24 год після початку експерименту, порівняно з контролем, а максимальну концентрацію амінокислоти у рослинах (утричі більшу, порівняно з контролем) визначено на 7 добу впливу сольового стресу, що може свідчити про стрес-індукований характер акумуляції проліну у пагонах *Didymodon rigidulus*. У рослинах *Barbula unguiculata* та *Brachythecium campestre* не зафіксовано підвищення концентрації проліну за впливу NaCl, а навпаки, виявлено поступове зменшення вмісту цього осмопротектора вже від 1 доби експерименту.

Мінімальну, майже у 2,5 рази меншу концентрацію проліну визначено на 7 добу впливу сольового стресу як для *Barbula unguiculata*, так і для *Brachythecium campestre* (табл. 7.7).

Таблиця 7.7.

**Вміст осмотично активних речовин та антиоксидантна активність у пагонах мохів за обприскування рослин 100 мМ розчином NaCl (M±m; n=5)**

Види мохів	Тривалість експерименту, доби	Вміст розчинних вуглеводів, мкг/г с.м.	Вміст проліну, мкмоль/г с.м.	Антиоксидантна активність, ЕК <sub>50</sub> , мг/мл
<i>Didymodon rigidulus</i>	Контроль	315,2±36,4	0,58±0,07	1,94±0,21
	1	303,3±31,5	0,94±0,09	1,36±0,09*
	7	348,3±35,2	1,87±0,21*	1,42±0,11
<i>Barbula unguiculata</i>	Контроль	223,9±24,6	0,63±0,06	1,64±0,21
	1	268,3±31,2	0,53±0,06	1,23±0,17
	7	277,2±29,6	0,26±0,03*	1,45±0,20
<i>Brachythecium campestre</i>	Контроль	148,2±98,6	0,53±0,25	3,06±0,17
	1	89,5±9,2*	0,42±0,05	3,67±0,15*
	7	185,2±25,1*	0,21±0,02*	2,45±0,09*

Примітка: \* – результати достовірні порівняно з контролем (початок експерименту, без обприскування розчином NaCl) за  $P < 0,05$ . Умовні позначення, як на рис. 7.10.

Отже, наші дослідження засвідчують, що стрес-індуковану акумуляцію проліну в умовах засолення можна розглядати як частину захисної системи бріофітів, однак, очевидно, цей осмоліт не відіграє ключової ролі у формуванні стійкості мохів до різноманітних осмотичних стресів. Нагромадження проліну в умовах стресу є більш характерним для судинних рослин, а для мохів основним осмолітом у клітинах є цукри, оскільки із літературних джерел також відомо про зміну вуглеводного обміну у мохів у бік нагромадження цукрів. Наприклад, у *Syntrichia caninervis* Mitt. та *Plagiomnium acutum* (Lindb.) T.J. Кор. виявлено значне збільшення загального вмісту розчинних вуглеводів у відповідь на дефіцит вологи (Li et al., 2009; Wu et al., 2012). У пагонах толерантного до висушування моху *Polytrichum formosum* Hedw. на початкових етапах стрес-реакції зафіксовано істотне зменшення концентрації крохмалю та збільшення вмісту цукрів, що є важливим пристосуванням до мінливого гідротермічного режиму (Pressel et al., 2006). У клітинах стійкого до висушування моху *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F.Weber & D.Mohr вміст сахарози під час висушування може становити до 10 % від сухої маси рослин (Hatanaka, Sugawara, 2010; Nagao et al., 2005; Proctor et al., 2007). Тобто, ці результати також свідчать про конститутивний характер

нагромадження розчинних вуглеводів в організмі стійких до водного дефіциту видів мохів.

Розвиток окиснювального стресу за впливу засолення пов'язаний з генерацією активних форм кисню у клітинах рослин (, тому було досліджено антиоксидантну активність (АА) зразків мохів на основі порівняння ефективних концентрацій їх екстрактів (ЕК<sub>50</sub>), котрі спричиняли 50 % інгібування радикалу 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу. Чим нижчий показник ЕК<sub>50</sub>, тим вища антиоксидантна активність рослин. Виявлено, що рослини *Didymodon rigidulus* і *Barbula unguiculata* на початку експерименту характеризувалися досить високим показником АА. В умовах експозиції з NaCl упродовж 7 діб антиоксидантна активність зберігалася на високому рівні, тобто солетолерантним видам мохів властивий значний конститутивний антиоксидантний статус (Табл. 7.4.1). У рослинах *Brachythecium campestre* на початку експерименту визначено в 1,6–1,8 разів нижчий рівень АА, порівняно з іншими видами, який дещо зменшився за впливу короточасного сольового шоку (24 год), а за тривалішого сольового стресу (7 діб) підвищувався в 1,2 рази, що, очевидно, може свідчити про індукований характер антиоксидантної активності у рослин *Brachythecium campestre*.

У знешкодженні АФК та підтриманні високої антиоксидантної активності у клітинах мохів в умовах стресу важливу роль відіграють компоненти аскорбат-глутатіонового циклу, що є основним механізмом усунення надлишку пероксиду водню у клітинах. Аскорбінова кислота та глутатіон безпосередньо взаємодіють з активними формами кисню, а також беруть участь у відновленні інших низькомолекулярних антиоксидантів шляхом неферментативних і ферментативних реакцій (Paciolla, Tomassi, 2003/2004). Зважаючи на важливість цих антиоксидантів, багато сучасних досліджень спрямовані на визначення аскорбату та глутатіону як біомаркерів фізіологічного стану рослин у стресових умовах (Smirnoff, 2005).

Було досліджено вміст аскорбату й відновленого глутатіону та ферментів їх метаболізму – аскорбатпероксидази та глутатіонредуктази. В усіх досліджуваних видів мохів зафіксовано збільшення кількості глутатіону упродовж впливу сольового стресу (табл. 7.8). Для *Didymodon rigidulus* і *Barbula unguiculata* визначено вищі концентрації цього антиоксиданту, порівняно з рослинами *Brachythecium campestre* як у рослин контролю, так і за впливу NaCl. На 7 добу впливу сольового стресу вміст глутатіону у цих рослин підвищувався в 1,8–2,4 рази, що свідчить як про значний конститутивний пул відновленого глутатіону у клітинах солетолерантних видів мохів, так і про його ефективний синтез під впливом тривалішого впливу сольового стресу. Збільшення вмісту низькомолекулярного антиоксиданту могло бути зумовлене його участю у

підтриманні сульфгідрильних груп білків у функціональному стані та для детоксикації АФК.

Таблиця 7.8

**Вміст компонентів глутатіоно-аскорбатного циклу у пагонах мохів за обприскування рослин 100 мМ розчином NaCl ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Види мохів	Тривалість експерименту, доби	Вміст відновленого глутатіону, мкМ НАДФН <sub>2</sub> /г с.м.	Активність глутатіонредуктази, мкМ НАДФН/г білка/хв	Вміст аскорбату, мг/г с.м.	Активність аскорбатпероксидази, мкМ/хв/г с.м.
<i>Didymodon rigidulus</i>	Контроль	48,3±5,1	0,41±0,05	0,67±0,08	0,32±0,04
	1	78,4±8,9	0,89±0,12*	1,55±0,18*	0,45±0,06
	7	121,4±11,2**	1,26±0,14*	0,78±0,09	0,28±0,04
<i>Barbula unguiculata</i>	Контроль	64,7±8,1	0,63±0,07	0,91±0,11	0,29±0,05
	1	92,2±8,5	1,20±0,14*	1,92±0,23*	0,40±0,06
	7	119,6±9,5**	1,53±0,19*	1,06±0,12	0,31±0,04
<i>Brachythecium campestre</i>	Контроль	28,4±2,3	0,13±0,02	0,65±0,08	0,22±0,03
	1	26,5±2,8	0,22±0,03	0,39±0,05	0,16±0,02
	7	52,7±6,5*	0,67±0,09*	0,42±0,05	0,17±0,03

Примітка: \* – результати достовірні порівняно з контролем за  $P < 0,05$ , \*\* – за  $P < 0,01$ . Умовні позначення як на рис. 7.10.

Ці результати узгоджуються з показниками активності глутатіонредуктази (ГР), що каталізує реакцію відновлення окисненого глутатіону, утвореного унаслідок регенерації окисненої форми аскорбату. У *Didymodon rigidulus* і *Barbula unguiculata* сольовий стрес індукував збільшення активності фермента у 2-3 рази. Для *Brachythecium campestre* зафіксовано нижчі показники вмісту глутатіону у клітинах на початку експерименту, порівняно з іншими видами та поступове зростання його кількості майже удвічі на 7 добу експерименту. Активність ГР наростала пропорційно до підвищення вмісту глутатіону, однак за показниками була меншою, ніж у рослинах *Didymodon rigidulus* і *Barbula unguiculata*.

Результати аналізу вмісту аскорбату свідчать, що для більш толерантних видів мохів властивий вищий уміст на початку досліду, а короткочасний сольовий шок призводив до збільшення його концентрації у 2,0–2,5 разів, що вказувало на високий конститутивний пул аскорбату у досліджуваних видів мохів. За тривалішого сольового стресу його кількість частково зменшувалася (табл. 7.8). На фоні збільшення вмісту аскорбату 24-год сольовий шок призводив до активації у клітинах *Barbula unguiculata* і *Didymodon rigidulus* аскорбатпероксидази (АПО) в 1,3–1,4 рази, порівняно з початком експерименту, що очевидно, пов'язано з мобілізацією наявного у клітинах запасу ферменту. Наступне зниження активності АПО було чітко пов'язане зі зменшенням кількості аскорбату, який активно використовується у реакціях відновлення  $H_2O_2$  за участю

АПО або безпосередньо взаємодіє з АФК. Кореляційний аналіз щодо взаємозв'язку між вмістом аскорбату та активністю аскорбатпероксидази у пагонах мохів в умовах сольового стресу показав високий коефіцієнт кореляції (0,88) між показниками (рис. 7.11).

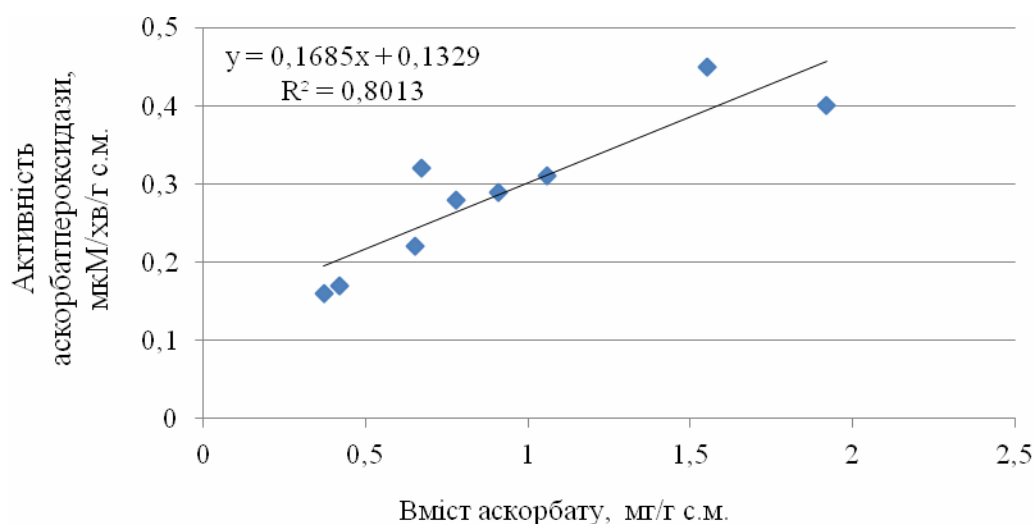


Рис. 7.11. Залежність між вмістом аскорбату та активністю аскорбатпероксидази у пагонах мохів *Barbula unguiculata*, *Didymodon rigidulus* і *Brachythecium campestre* за впливу NaCl у концентрації 100 мМ.

Менше толерантні до засолення рослини *Brachythecium campestre* реагували на сольовий стрес зменшенням концентрації АК майже на 50 % вже з першої доби експерименту, яка зберігалася на такому рівні упродовж впливу сольового стресу. Активність АПО залежала від концентрації субстрату у клітинах, тому також зафіксовано поступове зменшення її активності в умовах стресу. Загалом, в усіх досліджуваних видів мохів виявлено поступове зменшення концентрації аскорбату у клітинах в умовах сольового стресу. Оскільки це відбувалося на фоні збільшення вмісту глутатіону та високої активності глутатіонредуктази, то можна вважати, що зниження кількості АК не пов'язане з недостатньою активністю системи регенерації окисленого аскорбату і не може бути показником низького антиоксидантного статусу клітин мохів, а, навпаки, зумовлене активним використанням АК в антиоксидантних реакціях. Подібні результати отримані у дослідгах із толерантним до водного дефіциту видом *Tortula ruraliformis* (Besch.) Ingham. У рослинах цього виду висушування спричиняло зменшення пулу аскорбату, тоді як концентрація загального глутатіону в клітинах моху залишалася незмінною. Водночас, поєднаний вплив високого рівня інсоляції та водного дефіциту призводив до значного зменшення вмісту обидвох антиоксидантів, що свідчило про ефективне їх використання в умовах окиснювального стресу (Seel et al., 1992). Загалом, наші дослідження свідчать, що солетолерантним видам мохів властиві значно вищі



показники вмісту неензиматичних компонентів глутатіоно-аскорбатного циклу та активності ферментів їх метаболізму, що забезпечило суттєве зниження рівня окиснювальних процесів та швидку стабілізацію процесів ліпопероксидації, порівняно із рослинами менше толерантного виду *Brachythecium campestre*, підтвердженням чого є результати аналізу вмісту ТБК-активних продуктів.

Таким чином, в умовах засолення у солетолерантних видів бріофітів більше виражені конститутивні механізми солестійкості (значний конститутивний пул розчинних карбогідратів і неензиматичних компонентів глутатіоно-аскорбатного циклу, високий антиоксидантний статус), а рослини із нижчим рівнем толерантності адаптувалися до стресора переважно за рахунок індукованих захисних реакцій.

## **8. ПІДСУМКИ**

### **8.1. МОХОПОДІБНІ ЯК МОДЕЛЬ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКОФІЗІОЛОГІЧНОЇ АДАПТАЦІЇ ДО УМОВ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА**

Мохоподібні як винятково чутливий компонент фізико-хімічних умов довкілля широко використовуються для індикації стану природного середовища та контролю його забруднення. Роль бріофітів у формуванні рослинного покриву часто недооцінюється, а дослідження специфіки бріокомпонента на девастрованих територіях як прояву адаптогенезу до умов техногенно трансформованого середовища, попри їх очевидну перспективність, лише розпочинаються. Мохоподібні домінують у піонерних угрупованнях на початкових стадіях формування рослинності та є невід'ємним компонентом рослинного покриву техногенно змінених територій. Вони є важливими у покращенні водно-температурного режиму, рН ґрунтового розчину, акумуляції та збереженні поживних речовин едафотопу таких територій, незважаючи на їх невелику, порівняно з судинними рослинами, біомасу.

Підсумковий аналіз досліджень, проведених вітчизняними та закордонними бріологами (Proctor, 2000a,b; Shaw, Renzaglia, 2004; Oliver et al., 2005; Söderström, Daring, 2005; Glime, 2006; Рабик та ін., 2010; Лобачевська, 2011; Кияк, Баїк, 2011; Michel et al., 2012) дав можливість визначити 11 найхарактерніших ознак адаптаційної стратегії мохоподібних.

**1. Домінування в онтогенезі гаплоїдного покоління.** У життєвому циклі мохоподібних, на відміну від нижчих безсудинних рослин, регулярно відбувається як зміна двох ядерних фаз, так і чергування двох поколінь – статевого і нестатевого. Статеве покоління змінюється на нестатеве під час статевого процесу й утворення зиготи, коли гаплоїдна ядерна фаза переходить у диплоїдну. Зміна нестатевого покоління на статеве здійснюється на стадії утворення спор унаслідок мейозу. Порівняно з іншими вищими рослинами, у циклі розвитку мохоподібних домінує статеве покоління – гаплоїдний гаметофіт або гапlobіонт, нестатеве покоління – диплоїдний спорофіт (дипlobіонт) не є самостійним, виростає на гаметофіті з зиготи і виконує функцію утворення та розсіювання спор.

**2. Пойкілогідричність і толерантність до висушування.** Еволюція толерантності до висушування стала важливим і необхідним пристосуванням рослин під час переходу з води на сушу. Вважається (Oliver et al., 2000a), що толерантність до висушування вегетативних органів спочатку була властива усім наземним рослинам, але в ході еволюції втрачена судинними рослинами. Перехід з води на сушу

фактично проходив у двох напрямках. Стійкість до висушування мохоподібні зберегли унаслідок зниження рівня загального метаболізму, а високоорганізовані судинні рослини, які не розвивали пристосувань до підвищення толерантності, сформували складні механізми водного обміну, почали синтезувати лігнін, воскову водонепроникливу кутикулу та утворили провідну систему, корені і продиhi.

Мохоподібні представляють альтернативну стратегію адаптації до наземного життя, розвитку і фотосинтетичної активності в умовах вільного доступу води та здатності припинити метаболізм за її відсутності. Їм властиві два способи руху води, часто в одній і тій ж рослині: внутрішній (ендогідричний) рух по центральному пучку стебла і зовнішній (ектогідричний) – вздовж поверхні листків. У зв'язку з тим насамперед важливо зауважити, що рух води переважно починається не із субстрату, а з поверхні слані, верхівок пагонів і листків після дощу, туману або роси. Установлено, що зовнішньо вода рухається швидше, ніж внутрішньо, унаслідок меншого тертя, однак незважаючи на те, що ендогенна вода може підніматися вище по внутрішніх капілярах, у деяких видів мохів з віком починає переважати зовнішня провідність. Внутрішня провідність становить 1/3 всієї провідності рослин і переважає лише за вологості не менше 90 % (Glime, 2006; Proctor, 2009).

Для ектогідричних бріофітів, а це майже всі мохи, характерна зовнішня провідність води. Вони можуть поглинати вологу всією поверхнею, оскільки зазвичай не мають водовідштовхуючих оболонок, а якщо і трапляються, то лише в таких клітинах, які легко змочуються, наприклад, на верхівках папіл листової пластинки. Коли мох зволожується, змінюється його капілярність, що пов'язано з численними листками на пагоні, парафіліями та повстю в основі стебла і ризоїдах (Proctor, 1984). За відсутності водовідштовхувальних поверхонь клітини пагонів досягають повної гідратації протягом декількох хвилин.

Ендогідричні мохи, як правило, мають поверхні з водонепроникними клітинними оболонками, які зменшують поглинання води. Оболонки клітин деяких видів мохів містять не лігнін, як у судинних рослин, а воскоподібні поліфенольні компоненти. Таке покриття забезпечує лише низький опір дифузії води, подібно як у мезофілі судинних рослин, що може бути значно важливішим для відштовхування води і підвищення дифузії CO<sub>2</sub> у листках.

У центральному пучку стебла мохів роду *Polytrichum* Hedw. і *Dawsonia* R.Br., а також у багатьох видів печіночників порядку *Marchantiales* знаходиться система трахеїдоподібних провідних клітин (гідроїдів) і ситоподібних трубок (лептоїдів), які проводять воду і цукри відповідно (Ligrone et al., 2000). Але й ці ендогідричні бріофіти в основному реалізують ектогідричну провідність завдяки апікальному

поглинанию вільної води, оскільки нижні, зрілі листки мають водовідштовхувальну поверхню. Вода з поверхні листків мохів рухається по центральному пучку вниз, а не вгору, як у судинних рослинах. Окрім того, виявлено водовідштовхувальну поверхню на ризоїдах *Polytrichum juniperinum* Hedw. (Trachtenberg, Zamski, 1979), що істотно контрастує з функцією коренів і кореневих волосків у судинних рослин, які є органами поглинання і не мають кутикули. Це свідчить, що ризоїди у бріофітів відіграють неістотну роль в поглинанні води, а запобігають її втраті, тобто проявляють капілярну функцію.

У судинних рослинах посуха майже завжди спричиняє висихання, у бріофітів не завжди. Толерантні до висушування бріофіти, як правило, є ектогідричними рослинами, які транспортують зовнішню капілярну воду, кількість якої може змінюватися значною мірою і при тому не впливати на вміст води в клітинах. Зовнішня вода є важливою для водного обміну мохоподібних, завдяки чому клітини листків майже постійно функціонують у стані тургора, а водний стрес – це відносно короткий період перед повним висиханням (Proctor, 2009). У більшості мохів і листкостеблових печіночників, зазвичай високотолерантних до висушування, протягом тривалого періоду вміст симпластної води більший, порівняно зі зовнішньою капілярною водою, кількісно значно варіабельнішою.

Присутність значної кількості зовнішньої капілярної води у мохоподібних, клітини яких насичуються швидко і легко, за винятком видів з водовідштовхувальною поверхнею листків (представників Polytrichaceae, Mniaceae), є фундаментальною фізіологічною відмінністю від судинних рослин, у яких найчастіше виникає проблема насичення листків вологою. Періодичне використання води є нормою у життєдіяльності багатьох мохоподібних, тому їх толерантність до висушування може бути скоріше пов'язана з уникненням висушування, ніж з формою посухостійкості.

На підставі проведених досліджень встановлено, що в умовах дефіциту вологи у бріофітів захисні функції виконують цукри (насамперед, сахароза), антиоксидантні системи, які зводять до мінімуму негативні наслідки зневоднення, та протеїни – гомологи LEA-білків (late embryogenesis abundant proteins) судинних рослин, які синтезуються у відповідь на втрату вологи рослинним організмом унаслідок дії водного, осмотичного і низькотемпературного стресів. В екстремальних умовах температурного й осмотичного шоку, які ініціюють зниження водного потенціалу клітин, у мохів підвищується вміст проліну.

**3. Пойкілогідричний пагін як фотосинтезуючий орган.** Усі мохоподібні є рослинами з  $C_3$  фотосинтезом, їх клітини по суті є мезофітними у важливих фізіологічних реакціях. У бріофітів

найактивніше фотосинтез відбувається у молодих верхівках пагонів з високим вмістом вологи, яка завдяки зовнішнього руху води може підвищуватися від 500 до 1000 %, порівняно з сухою масою. Відмінна риса бріофітів, що у них немає ніяких пристосувань для внутрішнього зберігання CO<sub>2</sub>, тоді як у судинних рослинах фотосинтез відбувається в мезофільних тканинах листка. Лише представники Marchantiidae мають мезофілоподібні пристосування: багатошарову слань з асиміляційною тканиною, у якій клітини розташовані як у губчастому мезофілі з численними повітряними камерами і порами, оточеними ярусами клітин із зірчасто потовщеними радіальними стінками. На відміну від інших відділів мохоподібних, піреноїди антоцеротофітів вирізняються здатністю до біохімічної концентрації CO<sub>2</sub> (Hanson et al., 2002). Специфічні морфологічні пристосування у бріофітів насамперед спрямовані на забезпечення потенційно проблемних потреб для фотосинтезу: провідності води, її збереження та вільного обміну CO<sub>2</sub>.

На підставі проведених досліджень встановлено, що продуктивність мохоподібних, як правило, є низькою, але фотосинтетичний потенціал або хлорофільний індекс (темпи фотосинтезу на одиницю біомаси), який визначається на основі концентрації хлорофілу, майже як і в квіткових рослинах.

Хлоропласти мохоподібних є типовими, але їх хлорофілові білки і жирні кислоти забезпечують хлорофілу специфічний захист (Ago, 1982). Хлоропласти здебільшого містять, а саме у *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. і *Marchantia polymorpha* Hedw., більше хлорофілу пов'язаного з світлозбиральним хлорофіл-білковим комплексом і менше з комплексами реакційного центру (Лобачевська, 2010; Кияк, Баїк, 2011). У сухому стані мохоподібні зазнають незначного пошкоджувального впливу, ніж у зволоженому. Обезводнення для них – це особлива здатність перерозподіляти енергію, що забезпечує захист хлорофілу. Встановлено, що 8 європейських видів бріофітів у сухому стані зберігали життєздатність за 85–110 °C, а у вологому – лише за 42–51 °C (Glime, 2006). Початкове відновлення після нетривалих періодів висихання відбувається дуже швидко, важливі репараційні процеси зазвичай залежать від синтезу білків і вмісту розчинних цукрів. У альпійських видів у посушливих умовах і за високої інтенсивності УФ випромінення мохи мають низьку флюоресценцію хлорофілу, яка після регідратації збільшується, тоді як висока флюоресценція хлорофілу судинних рослин, навпаки, знижується (Heber et al., 2000).

У молодих верхівках *Polytrichum formosum* (Hedw.) G.L. Sm. висушування спричиняє швидкий розпад крохмальних зерен у пластидах меристематичних клітин без дезорганізації тилакоїдів, тоді як у печіночників відбувається швидка деградація ліноленової кислоти. У

старших листках *P. formosum* крохмальні зерна зберігаються без пошкоджень. Після регідратації ультраструктура пластид верхівки пагона моху повністю відновлюється менше, ніж за 4 год.

Окрім того, хлорофіли тривалий час можуть зберігати нативність у темряві. Мохоподібні, які були під снігом протягом декількох місяців, як правило, готові розпочати фотосинтез відразу після отримання достатньої кількості світла. Деякі з них реагують на шкідливий вплив високої інтенсивності світла і низьких температур індукцією пігментів гасіння флуоресценції хлорофілу, зокрема сфагнорубіну. За високих температур роль шунта у захисті хлорофілу від перезбудження відіграє і фотодихання.

Результати проведених досліджень свідчать, що мохоподібні часто проявляють фізіологічні ознаки фотосинтезу тіневитривалих рослин, для них типовим є низьке співвідношення хлорофілів *a/b*. Однак для світлолюбних видів мохів характерні: низьке співвідношення хлорофіл/суха маса, високі – хлорофілів *a/b* та каротиноїдів/хлорофілів, порівняно з тіневитривалими (Лобачевська, 2010, 2012д, 2014; Кияк, Баїк, 2011, 2013). Більшість мохоподібних в сухих сонячних місцевиростаннях проявляють лише помірно високий рівень світлового насичення, але дуже високий рівень нефотохімічного гасіння люмінесценції і фотозахисту (Glime, 2006).

**4. Потреба вільної води для статевого розмноження.** Незалежно від оселища, всі мохоподібні потребують води для статевого розмноження, а саме пересування сперми і подальшого запліднення. На відміну від стійкого до висушування пилку, чоловічі гамети мохоподібних вважають, як правило, неефективними і непристосованими до наземних умов через їх залежність не лише від суцільної водяної плівки, а й її потужності. Перенесення сперми з антеридіїв відбувається через 4-10 хв після попадання води на андроцей (Glime, 2006). Маса гамет розповсюджується у водно-повітряній суміші як розлив нафти, що пов'язано з наявністю в спермі жирів. Окрім того, сперма може також переноситися дрібними тваринами (мухами, цикадками, кліщами, павуками) (Cronberg et al., 2006). У деяких видів сфагнів можливі випадки мультибатьківства: визначено спорофіт, який розвинувся із зиготи, заплідненої 15 чоловічими гаметами (Shaw et al., 2011). Оскільки плаваючі сперматозоїди можуть поширюватися на незначну віддасть (від 8 см до 230 см) лише за наявності краплинної вологи і під хемотаксичною дією цукрів, це призводить до частого інбридинга в однодомних видів і відсутності спорофіту у дводомних. Проте на підставі результатів дослідження мультилокусних генотипів за допомогою поліморфних мікрмаркерів (Van der Velde et al., 2001a,b) визначено, що 98 % спорогонів *Polytrichum formosum* утворилися завдяки розбрикувальним чашоподібним антеридіям чоловічого клону, розташованого на віддалі 5 м

від жіночого. Результати проведених досліджень свідчать, що успішність запліднення залежить від величини дернин з чоловічими рослинами на 29%, а віддалі поширення гамет – на 60%.

На техногенних територіях встановлено, що диморфізм статей, різна швидкість їх дозрівання, продуктивність та здатність до розмноження – основні чинники, що зумовлюють відхилення у співвідношенні статей і сприяють перехресному заплідненню у домінуючих видів, таким чином і підтримують високий рівень генетичної мінливості мохів-поселенців девастованих територій. Завдяки перехресному заплідненню у гаплоїдних як дводомних, так і одностомних видів бріофітів відносно швидко нагромаджуються корисні пристосування та очищується генофонд від шкідливих мутацій, що надає популяціям можливість адаптуватися до мінливих умов антропогенно трансформованого середовища.

**5. Значна залежність від безстатевого розмноження.** У зв'язку зі складністю проходження запліднення, більшість мохоподібних у ході еволюції втратили функціональну сексуальність. 60%, переважно дводомних багаторічних видів, мохоподібних дуже рідко, а то й взагалі не утворюють спорогонів, а розмножуються вегетативно (Shaw, 2000).

У мохоподібних вегетативне розмноження відіграє важливу роль у життєвій стратегії виду та адаптації до екстремальних й нестійких умов природного середовища (Longton, 2006; Pohjamo et al., 2006; Rowntree et al., 2007; Лобачевська, 2004; 2011; Хоркавців, Лобачевська, 2011; Лобачевська, Рабик, 2012). Вважається (Awasthi et al., 2010), що висока регенераційна здатність, яка була втрачена складніше організованими вищими наземними рослинами як примітивна адаптивна ознака, у мохоподібних, навпаки, еволюціонувала. З розвитком різних пристосувань гаметофіту спеціалізовані типи безстатевих пропагул за структурно-функціональною організацією стали істотно складнішими, способи і місця їх генезису – значно різноманітнішими, надзвичайно поширеними та важливішими для відтворення у несприятливих кліматичних умовах (During, 2001; Cleavitt, 2002; Chen et al., 2008).

У бріофітів безстатеве розмноження трапляється у різноманітних формах, які розділяють на такі основні типи: вегетативні органи, фрагментація, інновації та спеціалізовані безстатеві репродуктивні органи.

Серед спеціалізованих репродуктивних органів розрізняють виводкові пропагули (ламкі стебла, гілки, флагели, виводкові бруньки та ризоїдні бульбочки), які мають апікальну клітину і тому можуть проростати в пагін без утворення протонеми, та геми (опадаючі редуковані виводкові листки *Aulacomnium* Schwaegr., хлоронемні у *Schistostega pennata* (Hedw.) F.Weber & D.Mohr й ендегенні геми з ініціальних клітин печіночників), які через відсутність апікальної клітини завжди починають ріст з утворення протонеми (Duckett, Ligrone, 1992).

Формування спеціалізованих репродуктивних органів, таких як виводкові бруньки, ризоїдні бульбочки, потребує набагато менших енергетичних затрат (Bisang, Ehrlén, 2002), ніж утворення спор, висівання яких у мохів переважно обмежене в часі, зокрема у видів *Bryum Hedw.* лише кількома тижнями, тоді як утворення та розповсюдження виводкових пропагул триває набагато довше, майже цілий рік.

Розсіювання на далекі відстані переважно відбувається спорами, тоді як безстатеві пропагули є важливими для локального поширення і підтримки популяції, зокрема за відсутності статевого розмноження. У репродуктивній стратегії мохів виводкові бруньки, ризоїдні бульбочки і геми відіграють різну роль: ризоїдні бульбочки містять більше запасних речовин, ніж одноклітинні спори, є стійкішими до зміни температур і вологи, поширюються на далекі віддалі переважно водою. Із виводкових бруньок швидше, ніж на столонах зі спор, формуються гаметофори, що скорочує тривалість індивідуального розвитку і є ефективним способом розмноження, зокрема видів-поселенців, що сприяє активнішому заселенню порушених субстратів. Геми – це нитчасті відгалуження протонеми, з чітко диференційованим механізмом відокремлення, які в природних умовах менше живучі й толерантніші, ніж виводкові пропагули, однак підвищують потенціал виду на початку його виживання і локального поширення (Лобачевська, 2011, 2012г; Хоркавців, Лобачевська, 2011; Лобачевська, Рабик, 2012).

У мохоподібних, у яких дводомність вважається первинною, потік генів забезпечується нестатевими спорами, чоловічими гаметами і безстатевими виводковими пропагулами. Чоловічі рослини дводомних видів мохів здебільшого проявляють стратегію “еволюційних розвідників”: підвищену здатність до клонального росту, розсіювання пропагул і захоплення нових територій, тому часто формують одностатеві дернини, які можуть існувати тривалий час. Відповідно, однодомним (факультативно самофертильним) видам властиві нижчі рівні генетичної мінливості, ніж дводомним (облігатно аутбридінговим), оскільки високий рівень самофертильності однодомних видів генетично є еквівалентним нестатевому розмноженню (Wyatt et al., 1989; Cronberg, 1997).

На підставі результатів досліджень встановлено, що у дводомних видів мохів вегетативне розмноження не лише компенсує обмежену здатність до статевого розмноження в умовах часово-просторового розмежування статей, а й, окрім поновлення фрагментами гаметофіту, може бути джерелом значної генетичної мінливості.

**6. Відносно повільні темпи еволюції морфологічних ознак.** Уперше скам'янілості мохоподібних були знайдені у відкладах девонського періоду. Найбільше викопних бріофітів виявлено з пермського періоду палеозою, і особливо, кайнозойської ери (Bardunov,



1984). Аналіз знайдених решток свідчить, що різноманітність видового складу мохоподібних формувалася впродовж цих геологічних ер, після чого їх еволюція дещо сповільнилася, оскільки більшість викопних мохів фенотипно є дуже подібними на сучасні.

Фактично, починаючи з пермського періоду, видоутворення у мохів, мабуть, відбувалося набагато повільніше, ніж у судинних рослин (Ennos, 1990). Однак, повільні темпи еволюції у мохів не є результатом низького рівня генетичної мінливості (Van der Velde et al., 2001 a,b). Проведені генетичні дослідження, результати алозимного аналізу та геномної ДНК свідчать про високий рівень генетичної внутрішньо- та міжпопуляційної мінливості, такий як і в популяціях судинних рослин, і те, що генетичні дистанції між близькими видами мохів є більшими, ніж у судинних рослин (Лобачевська, Демків, 1990; Баїк, 2013).

Установлено, що ні домінування гаплофази, ні здатність до клонального розмноження не знижують рівень генетичної мінливості мохоподібних. Біогеографічно бріофіти демонструють ті ж історичні моделі диз'юнкції, що і судинні рослини, але на нижчому таксономічному рівні: масштаб ареалу виду мохоподібних відповідає ареалу роду або родині квіткових рослин. Мохоподібні характеризуються надзвичайно широкими видовими ареалами як неперервними, так і диз'юнктивними. На відміну від квіткових рослин, флора яких представлена на усіх континентах різними, але близькими видами, бріофлору репрезентують переважно одні і ті ж види (Bardunov, 1984). Можливо, що причина такого одноманіття зумовлена гаплоїдним станом гаметофіту – основної фази розвитку мохоподібних, домінування якої сповільнило їх еволюцію через відсутність гетерозигот, оскільки активність генів і будь-які мутації піддавалися безпосередньо природному добору й відразу елімінувалися слабше адаптовані до конкретних умов середовища форми (Longton, 1976; Ennos, 1990).

Серед важливих факторів, які впливають на швидкість еволюції мохоподібних, відзначають:

- багато особливостей, пов'язаних з репродуктивною системою, таких як вегетативне розмноження (Mishler, 1988; During, 1990);
- високий рівень самофертильності однодомних видів (During, 1990; Ennos, 1990);
- рідкість статевого розмноження в багатьох дводомних видів, зумовлена просторовим розподілом статей (Longton, Schuster, 1983; Mishler, 1988; Longton, 1997),
- низька ймовірність проростання у природних умовах спор (Miles, Longton, 1990);

- вагомий вплив на адаптивний потенціал мохів, окрім гаплоїдності гаметофіту, має тривалість розвитку спорофіту, наявність прихованих генних мутацій та інших геномних змін в диплофазі (Söderström, During, 2005).

Як свідчать отримані результати дослідження фенотипної пластичності мохоподібних на техногенних територіях, що бріофіти не є “незмінними сфінксами минулого” (Crum, 1972), а можна стверджувати, що залежно від екологічних умов середовища вони змінюються не стільки морфологічно, як фізіологічно та генетично. Встановлено відмінності в активності ферментативної системи антиоксидантного захисту, геномної ДНК та встановлено екотипну диференціацію деяких видів мохів до впливу важких металів.

Показано, що морфологічні ж зміни переважно пов’язані з пластичністю морфологічної структури мохових дернин, а саме збільшенням облиственості пагонів та ЛПП, що є одним із механізмів фотозахисту, який спричиняючи самозатінення листків, сприяє їх захисту від сонячної радіації та утримуванню вологи та поглинанню CO<sub>2</sub>.

**7. Значна фенотипна пластичність.** Адаптивний потенціал мохоподібних формувався на основі їхньої фенотипної мінливості і є надзвичайно високим для будь-якого екологічного фактора – вологості, температури, освітлення чи інших, аж до їх екстремальної напруженості. Тому у ході тривалої адаптації мохоподібні заселили всі можливі для життя рослин екотопи. Результати експериментальних досліджень свідчать, що бріофітам властива, як правило, фізіологічна і біохімічна мінливість та низький ступінь екотипної диференціації (Shaw, 2000).

Оскільки ріст і диференціація гаметофіту бріофітів відбувається лише з однієї верхівкової апікальної клітини, завдяки соматичним мутаціям реалізується генетична мінливість навіть серед клонів. Так, гаметофіт і спорофіт, чоловічі і жіночі рослини різних видів мохів відрізняються за толерантністю до висушування. Відомо, що водний баланс є одним з важливих параметрів бріофітів. Стійкість до водного стресу, зокрема активність регідратації залежить від температури, тривалості та інтенсивності висушування. Загалом, відновлення дихання, синтезу білків і фотосинтезу у бріофітів настає після кількох хвилин і до 1–2 год, відновлення клітинного циклу, транспорту поживних речовин і цитоскелету протягом 24 год. (Oliver et al., 2000b; Proctor, 2009).

Установлено, що мохи значно відрізняються за ступенем впливу екологічних чинників на їх морфологію. Космополітний мох *Bryum argenteum* демонструє дуже подібний рівень толерантності і в тропіках, і в Антарктиці. Однак у деяких видів встановлено істотні молекулярні відмінності між географічно віддаленими популяціями у мохів, порівняно з судинними рослинами. Бріологи здебільшого залишаються на

консервативних позиціях щодо визначення нових видів, за відсутності явних морфологічних відмінностей. Однак, особливу увагу потрібно приділяти внутрішньовидовим фізіологічним відмінностям і біохімічним особливостям, оскільки біологія розвитку мохоподібних, зокрема в умовах екологічного пресингу, значно відрізняється від трахеофітів, тому вони потребують незалежної концепції виду (Shaw, 2000).

Результати дослідження морфо-фізіологічних адаптивних реакцій мохів в умовах антропогенно трансформованих екоотопів свідчать про те, що толерантність бріофітів до висушування – це результат поєднання конститутивного захисту від водного стресу та індукованих регідратацією відновлювальних процесів. Механізми толерантності мохоподібних пов'язані з внутрішньоклітинним нагромадженням надзвичайно гідрофільних “пізніх ембріогенезних протеїнів”, цукрів і/або білків, які захищають макромолекули за відсутності води. Окрім того, антиоксиданти і фотопротектори мінімізують утворення активних форм кисню та здійснюють їх детоксикацію в умовах підвищених температур, високої інсоляції та дефіциту вологи. Оскільки клітини мохів не є імунізовані до стресу, це робить їх унікальними модельними об'єктами для дослідження стрес-індукованих процесів.

**8. Слабший вплив біотичних компонентів на добір бріофітів, аніж абіотичних.** Еволюція мохоподібних відбувалася в напрямку розширення їх екологічної сфери внаслідок реалізації провідної життєвої стратегії – уникнення конкуренції, пристосування до епіфітного та епілітного способу життя, поширення на піонерних місцевиростаннях та підвищення рівня толерантності до несприятливих чинників природного середовища: перегріву субстрату, нестачі та надлишку вологи, дефіциту мінеральних речовин.

Показано, що на девастованих територіях стратегії бріофітів залежать від реакції видів на зміну абіотичних факторів, що проявляється в тривалості існування гаметофіту, розмірі спор та ступені репродуктивного зусилля. Міжвидова конкуренція здебільшого проявляється на ювенільній стадії гаметофіту і позитивно впливає на структурування бріофітних угруповань (Бабик та ін., 2010).

**9. Малі розміри і заселення мікрооселищ.** Малі розміри мохоподібних, відсутність коренів і пойкилогідричність передбачає безпосередній контакт з мікросередовищем.

Бріофіти займають різні екологічні ніші залежно від водного режиму їх життєвих форм та фізіологічної толерантності до гідрологічних екстремальних чинників: висушування, затоплення, замерзання. Адитивна і неадитивна взаємодія сусідніх видів в угрупованнях може впливати на їхню здатність заселяти мікрооселища, непридатні для інших рослин (Michel et al., 2012). У бріофітних угрупованнях співіснують різні види,

які можуть займати одну нішу, якщо вони подібні за своїми характеристиками: швидкістю росту і заселення ділянок, що звільнилися, тобто завдяки своїй подібності, а не відмінностям.

Мохоподібні є піонерами заростання субстратів техногенного походження, які майже непридатні для заселення судинними рослинами. Заростання шахтних териконів, за нашими спостереженнями, відбувається як первинна сукцесія з послідовними стадіями розвитку бріофітних угруповань, які відрізняються як за видовим складом, так і за структурно-функціональною організацією толерантних видів. Роль мохоподібних на техноземах полягає у тому, що вони змінюють мікрокліматичні умови місцевиростань (кислотність і вологість ґрунту), затримують пил та дрібнозем, накопичують атмосферну вологу та біогенні елементи у нерозкладених мертвих тканинах та є важливою ланкою первинного ґрунтоутворювального процесу.

**10. Організація “соціальний організм”.** Більшість мохів і деякі печіночники по суті є соціальними організмами (Mishler, 2001; Glime, 2006). Завдяки безпосередньому контакту кожної вегетативної клітини з природним середовищем проявляється міжрослинний хімічний і фітогормональний зв'язок.

Екологічні процеси в змішаних видових комплексах бріофітів не завжди проявляють адитивну функцію їх монокультур. Так, на територіях зі значним моховим покривом, які вирізняються підвищеною здатністю утримувати воду, неадитивна взаємодія у дернинах змішаних видів бріофітів, може відігравати ключову роль в економії води в екосистемі. У бріофітів економія води фундаментально відрізняється від судинних рослин, які сформували механізми регуляції поглинання, транспортування і внутрішнього утримання води і тому, як правило, конкурують за воду, а не розподіляють її, щоб забезпечити високий водний баланс в угрупованні. За проективного покриття 25–50% і утворенні 485 кг/га біомаси мохоподібні абсорбують у 8–14 разів більше води, порівняно зі сухою масою, тобто додатково утримують до 0,60 мм води (Michel et al., 2012). Зміни в бріофітних комплексах можуть впливати на екогідрологічні процеси в різних екосистемах, які не можна передбачити на основі економії водних запасів окремими компонентами, певними видами мохів. Щоб змінити площу поверхні теплообміну і знизити втрати води, бріофітні угруповання ставали подібними за розмірами і структурою, таким чином покращували контроль за властивостями поверхневого шару і випаровування.

На підставі результатів дослідження бріофітного покриття на девастованих територіях видобутку сірки, вугілля та нафти встановлено, що визначальна специфіка фенотипної пластичності різних видів бріофітів зводиться до стратегії спільного збереження водних запасів. Результати

дослідження толерантності до висушування різноманітних бріофітних угруповань свідчать про переваги життєвих форм з щільною структурою невисоких пагонів (Рабик та ін., 2010; Кияк, Баїк, 2011; Лобачевська, 2012а,б).

На оголеному субстраті шахтних відвалів, як і відвалів видобутку сірки переважно в сухих, відкритих місцевиростаннях, коли рослини моху отримують надлишок світлової енергії, домінують низькі пухкі дернини та пухкі плетива, зокрема на шахтних породах становлять 57,9 % від усіх представлених життєвих форм (Рабик, 2010; Лобачевська, 2011). Очевидно, в таких місцевиростаннях виживання моху залежить від механізмів, що забезпечують розсіювання поглинутого світла, а поглинання CO<sub>2</sub> стає лімітаційною стадією швидкості фотосинтезу. Пухке розташування низьких стебел сприяє кращому провітрюванню, доступу CO<sub>2</sub> та поглинанню вологи, однак більше схильне до висихання та фотоінгібування, тому домінантні мохи-піонери мають значно коротший період активного фотосинтезу, але високі темпи розвитку в період зволоження. У вогкіших місцевиростаннях мохи утворюють щільні дернини чи плетива, що забезпечує максимальну продуктивність моху за мінімальних втрат вологи в умовах інтенсивного освітлення. Така життєва форма росту ефективніша у затінених місцевиростаннях, адже у відкритих місцях зволожені рослини моху набагато більше пошкоджуються інтенсивним освітленням, ніж підсохлі (Лобачевська, 2012б,в).

**11. Висока частота гомологічної рекомбінації.** Мохи – єдині відомі рослини з високою частотою гомологічної рекомбінації і стійкою інтеграцією трансформованих у геном генів. Завдяки значно ширшим можливостям експресії геному, порівняно з нижчими рослинами, й унікальному механізму активації транскрипційних процесів бріофіти є ідеальною моделлю для клітинної біології, молекулярно-генетичних досліджень і створення ефективних систем для вивчення функцій генів, зокрема відповідальних за толерантність до висушування, та з'ясування стратегій еволюції посухостійкості наземних рослин (Reski, 2003). Останнім часом мохи, зокрема *Syntrichia ruralis*, стали об'єктом дослідження толерантності до висушування та спроби трансформації його генів у геном сільськогосподарських рослин (Oliver et al., 2000).

Затримка клітин мохів, а саме *Physcomitrella patens* на стадії G<sub>2</sub> клітинного циклу, які містять 2 С набір ДНК (Cuming, 2009) розглядається як важлива стратегія виживання клітин гаплоїдного організму, оскільки дві копії геному забезпечують шаблон для кожної з них під час репарації геному після генотоксичного, мутаційного стресу рослин.

На підставі порівняльної оцінки електрофоретичних спектрів кислих розчинних білків і множинних молекулярних форм ферментів залежно від мікрокліматичних умов місцевиростань мохів на посттехногенних і

фонових територіях встановлено, що активність генів та рівень їх генетичної мінливості є значно вищим, ніж передбачали на підставі уявлень про низький еволюційний потенціал бріофітів, і в цілому виявився таким самим, як і в інших вищих рослин. Підвищення активності й термостабільності ферментів-антиоксидантів та мінливість низькомолекулярних фракцій кислих розчинних білків, зумовлена насамперед зміною експресії генів стресових білків, що контролюють синтез специфічних адаптогенів і протекторів, свідчать про те, що екстремальні умови антропогенно трансформованого середовища сприяють розвиткові форм з найвищими адаптивними можливостями.

Результати проведених нами досліджень способів та ефективності генетичної трансформації *Ceratodon purpureus* за допомогою полікатіонних носіїв дає можливість стверджувати, що цей вид моху є зручним модельним об'єктом для генної інженерії – доставки плазмідної ДНК. Уперше продемонстровано можливість використання такого методу генетичної трансформації для рослин, що дає можливість отримати більше транз'єнтних і стабільних трансформантів моху, порівняно з використанням поліетиленгліколю, окрім того, краще оцінити перспективи подальшого вдосконалення структури і функціональних показників нових полімерних носіїв.

Мохоподібні – це самостійна гаметофітна лінія розвитку вищих рослин, представники якої в ході еволюції зберегли толерантність до висушування не лише нестатевих спор, а й вегетативних органів. Специфіка організації гаплоїдного гаметофіту та пойкилогідричність бріофітів визначають відмінні від судинних рослин біологічні, морфологічні, фізіологічні та генетичні особливості мохоподібних. Під впливом абіотичних чинників природного середовища мохоподібні змінюються не стільки морфологічно, як фізіологічно та біохімічно. Фундаментальною екофізіологічною відмінністю бріофітів є присутність значної кількості зовнішньої капілярної води та конститутивного захисту від висушування, завдяки чому клітини швидко змінюють водний баланс, фотосинтетичний потенціал та здатність до розмноження.

Мохоподібні є ідеальною моделлю для дослідження екофізіологічних і генетичних проявів фенотипної пластичності, механізмів толерантності до висушування вегетативних органів до впливу екстремальних факторів в умовах природного та антропогенно трансформованого середовища, а також їх значення в еволюції стійкості до посухи наземних рослин.

## **8.2. МЕХАНІЗМИ СТІЙКОСТІ МОХІВ ДО СТРЕСУ ТА ЇХ АДАПТИВНЕ ЗНАЧЕННЯ В МІНЛИВИХ УМОВАХ АНТРОПОГЕННО ТРАНСФОРМОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА**

З'ясування механізмів стійкості рослин до несприятливих умов техногенно зміненого середовища в останні десятиліття увійшло до числа найбільш актуальних проблем загальної біології, фізіології та екології рослин. Це зумовлено зростанням антропогенного навантаження на довкілля та кліматичними змінами.

Стійкість рослин до стресорів забезпечується передусім особливостями метаболізму як сукупністю процесів обміну речовин. Функції метаболізму полягають не лише у забезпеченні біосистеми пластичними речовинами та енергією, а й у сприйнятті, збереженні, переробці і використанні інформації. У процесі еволюції у клітинах з'явилися епігенетичні пристосування, що дають можливість сприймати, перетворювати та посилювати зовнішні сигнали хімічної і фізичної природи і за допомогою генетичного апарату реагувати на них. Безпосередньо внаслідок перепрограмування геному відбуваються метаболічні (біохімічні) зміни, які, в свою чергу, призводять до фізіологічної і морфологічної адаптації.

Рівень стійкості рослинного організму не є сталим. В онтогенезі стійкість може підвищуватися при закладанні вегетативних органів і знижуватися при формуванні генеративних, а також збільшуватися під впливом індукції адаптивних стрес-реакцій та загартування до дії стресорового чинника. Тому рослини з вираженою конститутивною стійкістю пошкоджуються за вищої інтенсивності дії стресора, порівняно з нестійкими рослинами, які адаптуються переважно завдяки індукованим механізмам стійкості.

Стійкість рослин до несприятливих чинників забезпечується комплексом неспецифічних і специфічних адаптивних реакцій. Ступінь прояву неспецифічних і специфічних реакцій насамперед залежить від сили та тривалості стресу, а також від індивідуальних особливостей рослинного організму. Наприклад, порівняно короткочасний, але сильний стрес більшою мірою зумовлює прояв неспецифічних реакцій, а на тлі тривалого помірною стресу яскравіше розвиваються специфічні реакції. Загальні неспецифічні реакції, які виникають у відповідь на вплив найрізноманітніших факторів, спостерігаються насамперед на клітинному та субклітинному рівнях.

Фізіологічна адаптація організму до конкретних умов середовища здійснюється за участю різноманітних фізіолого-біохімічних і молекулярних механізмів в межах цього генотипу, причому останній визначає норму реакції – специфічний спосіб реакції на зміну умов

природного середовища. На популяційному рівні фізіологічна адаптація, норма реакції, пластичність і пристосованість фенотипу розглядаються як залежні від інтегрального генофонду популяції (Maug, 2014). У фенотипі, однак, ніколи не проявляються всі можливості генотипу. Пластичність фенотипу і його оптимальна пристосованість залежить від широти норми реакції на зміну умов середовища і від генетичного потенціалу генотипу.

Завдяки удосконаленню методів оцінки рівень інтраклональної мінливості часто виявляється значно вищим, ніж вважалося раніше, і класична концепція генетичної однорідності клонів зазнає критичного перегляду (Lushai, Lozdale, 2002). Клітинна пам'ять (Alberts et al., 1994) як передача будь-яких змінених ознак фенотипу нащадкам соматичних клітин з ідентичним генотипом, причому й тоді, коли стимули, що ініціювали даний фенотип, у подальшому відсутні, реалізується завдяки механізмам стійкого стану, структурного успадкування та маркування хроматину, зокрема епігенетичного успадкування стійких модифікаційних змін в експресії генів унаслідок ацетилювання гістонів та метилювання ДНК (Jablonka, Lamb, 1998; Bird, 2007).

Модифікація хроматину здійснюється двома основними способами – ацетилюванням гістонів та метилюванням ДНК, однак конкретний механізм епігенетичного успадкування запрограмований лише у разі метилювання ДНК (Holliday, 2002, 2006; Ванюшин, 2004; Vanyushin, 2005). Основним ферментом, що відповідає за метилювання ДНК, є ДНК-метилтрансфераза, яка здійснює передачу метильної групи 5-аденозилметіоніну в молекулу цитозину замість *H* у положенні *C*<sup>5</sup>. Така модифікація основи відбувається, звичайно, перед клітинним поділом, невдовзі після реплікації ДНК. Субстратом метилювання є цитозин у комплементарних дуплетах ЦГ-ГЦ. На сьогодні це поки що єдиний механізм, що пояснює клітинне успадкування стійких змін в експресії генів. Щоразу більше даних вказує на те, що метилювання регуляторних ділянок генів пов'язане з їх інактивацією, а деметилювання – з активацією. Очевидно, 5-метилцитозин блокує приєднання до ДНК активаторів транскрипції або ж сприяє включенню репресорів транскрипції ДНК (Holliday, 2002, 2006; Wada, 2005).

Останнім часом зв'язок між метилюванням генів та їхньою експресією підтверджений експериментально (Холлидей, 1989; Bird, 2002, 2007; Akimoto et al., 2007). Методами генної інженерії отримано метильовані та неметильовані варіанти деяких генів. У культурі тканин зафіксовано активність лише неметильованих генів, причому характерне метилювання зберігалось в численних клітинних поділах.

Зміни в експресії генів, що іноді успадковуються на клітинному рівні, відбуваються не лише в результаті метилювання ДНК хроматину, а й посттрансляційної модифікації гістонів. Установлено, що метилювання



ДНК і модифікація гістонів – тісно пов’язані процеси. Так, зміни у метилюванні промоторів відповідних генів можуть ініціювати синтез гістоно-деацетилаз. У свою чергу, деацетиляція гістонів активує їхню взаємодію з негативно зарядженою ДНК і таким чином зумовлює інактивацію генів (Urnov, Wolffe, 2001; Imhof, 2006). Недавно знайдено специфічний інгібітор деацетилаз – тріхостатин А. Застосування його у досліджах зазвичай сприяє активації експресії певних генів (Tóth et al., 2004). У вищих рослин метилювання ДНК та ацетилювання гістонів проявляються специфічно залежно від природи організму, його морфо-функціональної організації у причетних до АБК-залежної генетичної регуляції процесах росту і розвитку, зокрема, стану спокою насіння, його проростання, росту проростків, закладки бокових коренів, переходу вегетативного розвитку до репродуктивного (Chinnusamy et al., 2008). У всіх згаданих процесах епігенетичні зміни в експресії генів зазвичай зворотні, їх успадкування на клітинному рівні доведене на сьогодні в онтогенезі лише в разі успадкування детермінації, тобто збереження в клітинних поділах готовності до певних форм диференціювання. Аналіз росту ідентичних мікрорегенерантів одного клону моху *P. intermedia* на середовищах з високими концентраціями ртуті (Ріпецький та ін., 2008; Хоркавців та ін., 2009) показав, що адаптація до металу відбувається унаслідок направлених епігенетичних змін, що виникають значно частіше, ніж генні мутації. Виявлено, що добір резистентних до ртуті мікрорегенерантів пов’язаний зі зростанням темпів клітинних поділів у листках гаметофорів та підвищенням активності пероксидази. Характерно, що підвищення проліферативної активності, як і активності однієї з молекулярних електрофоретичних форм пероксидази, зберігалось у рослин другої репродукції на середовищі без ртуті, отже модифікаційні зміни підтримувалися у клітинних поділах.

З’ясування механізмів фізіологічної адаптації та пластичності рослин вимагає проведення досліджень на максимально генетично однорідному матеріалі. Мох є чи не ідеальною моделлю: велику кількість ідентичних клонів отримували не лише зі спор, а й у результаті регенерації будь-якої соматичної клітини в гапло- та диплофазі. У мохів практично будь-яка клітина як гаметофіту, так і спорофіту утворювала регенеративну протонему, яка далі розвивається аналогічно до протонемі зі спор. Завдяки цьому експериментатор завжди мав у своєму розпорядженні клони з різнодиференційованих клітин як у гапло-, так і диплофазі.

Рослини завдяки фенотипній пластичності зберігають життєві функції в мінливих умовах природного середовища, реалізують латентні реакції організму в умовах стресу, формують адаптивні взаємозв’язки, що забезпечує максимальне пристосування до існуючих умов і можливість

адаптуватися до умов антропогенно трансформованого середовища. Висока концентрація промислового виробництва та посилення антропогенного навантаження призвели до утворення техногенних ландшафтів або їх модифікацій. Рослинний покрив на антропогенно трансформованій території зазнає впливу внаслідок дії постійних або разових викидів підприємств, а ступінь порушення природних ландшафтів залежить від типу забруднювальних речовин, їх токсичності та тривалості впливу. При тому велике значення мають відстань до джерел емісії, характер рельєфу місцевості та напрямок повітряних мас. Дослідження морфологічних та метаболічних змін, які відбуваються під час онтогенезу рослин унаслідок пристосування до екологічних стресів, набувають особливої актуальності для розробки наукової концепції адаптивної стратегії толерантних видів, зокрема мохів, які першими заселяють девастровані території та беруть активну участь у ренатуралізації антропогенно трансформованого середовища.

Зміна інтенсивності дії факторів середовища чи тривалості їх впливу призводить до змін багатьох життєво важливих процесів у рослинах. Завдяки безперервним пристосувальним реакціям на різноманітні зовнішні впливи живий організм зазнає певних морфологічних та фізіолого-біохімічних змін, деякі з них успадковуються, тобто еволюційно трансформуються. Так, адаптивні фенотипні модифікації вегетативних органів рослин є виключно важливим фактором у ході еволюції, оскільки забезпечують виникнення нових екотипів виду, сприяють освоєнню організмами нових територій.

Вивчення формування комплексу фенотипних адаптивних реакцій у рослин набуває актуальності у зв'язку з глобальним потеплінням, зменшенням кількості опадів, вологості ґрунту, аридизацією клімату, розширенням площ посушливих регіонів, підвищенням у повітрі концентрації токсичних газів та важких металів. Так, рослини в умовах водного стресу здатні виживати завдяки різноманітним адаптаційним механізмам, що забезпечують максимальне надходження води, її збереження і краще використання, а також захист клітин і тканин від пошкоджень. У будь-якому живому організмі відбувається безперервний ланцюг адаптаційних змін, спрямованих на збереження та відновлення динамічної сталості внутрішнього середовища, або гомеостазу. Гомеостаз – це ключовий принцип адаптації, відповідно до якого здійснюються процеси стабілізації і оптимізації всіх функцій живих систем в умовах стресу. Стрес, або загальний адаптаційний синдром – це необхідна ланка неспецифічної реакції організму, стадія адаптації до умов життя, компонент життєдіяльності, фактор збереження гомеостазу.

Фенотипну пластичність рослин багато дослідників пов'язують з особливостями складу та метаболізму ліпід-пігментних компонентів

фотосинтетичних мембран (Косаківська, 2003). Дані, наведені в літературі з цього питання, дуже суперечливі і стосуються здебільшого дії низькотемпературного стресу. В останні десятиліття досить активно досліджують роль АФК у стійкості рослин до дії стрес-факторів (Колупаєв, 2008). Проте досі не з'ясованим залишається фізіологічне значення порушення балансу антиоксидантів та прооксидантів (окиснювальний стрес) за дії абіотичних стресорів. Так, одні автори розглядають зв'язок між накопиченням АФК, продуктами ПОЛ та ступенем пошкодження тканин рослин під впливом екстремальних факторів. Інші дослідники висловлюють припущення про роль АФК і продуктів ПОЛ як медіаторів, необхідних для запуску захисних реакцій рослинного організму, хоча дотепер практично відсутні прямі докази участі АФК в індукванні стійкості рослин до абіотичних стресорів. Мало відомо про те, які саме захисні реакції, корисні для розвитку стійкості до несприятливих абіотичних чинників, індукуються за зміни окиснювально-відновного балансу.

Важливе значення для аналізу взаємодії рослин з умовами середовища, а також для дослідження їх адаптації до техногенних чинників, зокрема посухи, має вивчення фізіологічних функцій – фотосинтезу, дихання, синтезу асимілятів тощо. Зрозуміло, що досліджені функції дають надзвичайно цінну інформацію про механізми реалізації адаптивного потенціалу піонерних видів мохів у конкретних умовах існування антропогенно трансформованого середовища.

Через високу лабільність фізіологічні процеси важко інтерпретувати за умов багатофакторного впливу складників ґрунтово-кліматичної системи на рослину, тому для з'ясування принципів організації біотичних систем необхідно застосовувати порівняльний підхід до проблеми фенотипної пластичності, адже специфічність пристосувальних процесів не є абсолютна і будь-який вплив несприятливих умов докільля спричиняє комплекс відповідних захисних реакцій, частина яких має загальний характер, а частина – специфічний. Так, незначні за ступенем прояву повторювані стреси сприяють загартуванню організму, причому в багатьох випадках доведено, що загартування одним стресовим фактором підвищує стійкість організму і до деяких інших стресорів. Установлено, що на різних рівнях організації пристосування рослин до екстремальних умов здійснюється неоднаково. Чим вищий рівень біологічної організації (клітина, організм, популяція), тим більша кількість механізмів одночасно бере участь в адаптації рослин до стресових впливів. Мохи реалізують адаптивні стратегії завдяки фізіологічній пластичності у ході індивідуального розвитку, в життєвих формах, а також у низці поколінь статевого чи вегетативного поновлення.

На основі отриманих результатів можна стверджувати, що основними механізмами стійкості мохів є неспецифічні реакції, характер яких не залежить від природи діючого стресора. Функціонування загальних механізмів стійкості допомагає рослині уникнути значних енергетичних витрат, пов'язаних із необхідністю формування спеціалізованих механізмів адаптації. Вважають, що більшість неспецифічних змін є проявом або наслідком активації стресорами відносно невеликої кількості неспецифічних сигнальних систем (Тарчевский, 2002). Завдяки синергізму клітини реагують на зміну зовнішніх умов невеликою кількістю типів і механізмів реакцій-відповідей, що створює сприятливі умови для їх швидкої активації та координованої взаємодії. Для розвитку адекватної фізіологічної відповіді клітина як система модифікує функціональну активність кожної з усіх своїх структурних і функціональних елементів. Так, замість нагромадження однієї захисної речовини у порівняно високих концентраціях мохи можуть накопичувати широкий спектр поліфункціональних низькомолекулярних сполук з більшою ефективністю за значно нижчих концентрацій, що може змінювати інтенсивність певних фізіологічних процесів.

Активація сигнальних систем АФК забезпечує виживання клітини до моменту включення довготривалих адаптивних механізмів, пов'язаних з перепрограмуванням геному. АФК здатні ініціювати пошкодження клітин і метаболічний дисбаланс унаслідок ПОЛ – вільнорадикального окиснення ненасичених жирних кислот мембран і взаємодії з білковими молекулами мембран. Установлено, що в стресових умовах активація окисно-відновних процесів супроводжувалась накопиченням прооксидантних компонентів (дієнових і трієнових кон'югатів), що мало сигнальне й адаптивне значення при перебудові метаболізму та забезпеченні стійкості рослин до несприятливих факторів середовища.

Посилення деградації біополімерів призводить до нагромадження низькомолекулярних сполук (вільних амінокислот, поліамінів, розчинних вуглеводів), які за стресових умов виконують не лише звичні функції компонентів пластичного та енергетичного обміну, беруть участь у підтриманні осмотичного потенціалу клітини, а й є поліфункціональними протекторними і навіть регуляторними речовинами. Цукри, що нагромаджуються за стресових умов, передусім сахароза, фруктоза, захищають білки від денатурації і підтримують цілісність мембранних структур. Показано, зокрема, що сахароза може замінювати воду в структурі фосфоліпідів за дії на рослини стресорів, що спричиняють зневоднення клітин. Встановлена можливість утворення водневих зв'язків між кисневими атомами фосфатів у складі фосфоліпідів і атомами водню гідроксилів цукрів. Цукри здатні зв'язувати вільні радикали, а, отже,

можуть проявляти антиоксидантні властивості та виконувати мембранопротекторні функції. Останніми роками з'явилися відомості про сигнальні функції розчинних вуглеводів.

Модуляція іонної сили розчинів, що відбувається під час осмотичного та сольового стресів, може здійснюватися унаслідок значного збільшення вмісту окремих амінокислот, насамперед, проліну, що пов'язують з його осмопротекторною дією й антиоксидантними властивостями. Так, дослідження особливостей метаболізму вуглеводів і катіонообмінної здатності клітинних стінок мохів *Barbula unguiculata*, *Funaria hygrometrica*, *Didymodon tophaceus*, *Ptychostomum imbricatum* і *Brachythecium campestre* залежно від рівня засолення субстрату на території хвостосховища відходів видобутку калійних солей Стебницького гірничо-хімічного підприємства "Полімінерал" дали можливість встановити, що пристосування бріофітів до засолення субстрату забезпечується зміною спрямованості метаболічних процесів, яка проявляється у збільшенні загального вмісту вуглеводів і перерозподілі вуглеводного обміну в напрямі гідролізу полісахаридів та накопичення розчинних вуглеводів. Підвищення амілазної активності призводить до збільшення пулу розчинних вуглеводів і посилення резистентності бріофітів до сольового стресу. Солетолерантним рослинам *Barbula unguiculata* і *Didymodon rigidulus* властивий високий конститутивний пул розчинних карбогідратів і неензиматичних компонентів глутатіоно-аскорбатного циклу, а також значний антиоксидантний статус, що є ключовими особливостями їх адаптації до критичних умов виживання.

Толерантність до висушування, здатність втратити практично всю вільну внутрішньоклітинну воду, а потім відновити нормальну функцію після регідратації є однією з найзнаменніших особливостей мохоподібних. На відміну від судинних рослин, листяні пагони мохоподібних швидко врівноважуються з водним потенціалом у їх оточенні і можуть бути або повністю гідратованими, або висушеними і метаболічно неактивними. Час, необхідний для відновлення після висушування, збільшується, а ступінь відновлення зменшується при тривалому висушуванні, що також залежить від температури та інтенсивності втрати води.

Визначено, що чоловічі та жіночі гаметофіти мохів можуть відрізнятися толерантністю до висушування. Толерантність до висушування має важливе значення для репродуктивної стратегії бріофітів: утворення статевих органів розсіювання спор та поширення вегетативних пропагул.

До механізмів толерантності до висушування в мохоподібних належать експресія білків LEA, високий вміст редуруючих цукрів, ефективний антиоксидантний потенціал та фотозахист. У стійких видів

бріофітів не виявлено високого вмісту проліну та інших осмопротекторних метаболітів, які є типовими для посухостійких рослин.

Досліджено адаптивні реакції різних за стійкістю до водного дефіциту видів мохів *Funaria hygrometrica* Hedw. та *Bryum argenteum* Hedw. в умовах висушування та регідратації. Встановлено, що вологолюбний мох *F. hygrometrica* швидко втрачає значну кількість вологи під час дегідратації, порівняно з толерантним до висушування *B. argenteum*, який здатен не лише до утримування води, а й інтенсивного відновлення вологоємності тканин внаслідок регідратації. Виявлено зміни адаптивних реакцій залежно від тривалості дегідратації/регідратації у мохів із різною стійкістю до висушування. У *F. hygrometrica* відзначено значне підвищення вмісту пероксиду водню внаслідок дегідратації, тоді як у *B. argenteum* зафіксовано зростання активності синтезу осмопротекторів вуглеводної природи. Внаслідок регідратації концентрація вуглеводів та пероксиду водню у гаметофорах мохів знижувалася. Встановлено, що бріофіти з різними екологічними стратегіями проявляють подібні механізми толерантності до висушування, зокрема у *B. argenteum* стійкість реалізується завдяки вищій активності адаптивних реакцій, насамперед конститутивного клітинного захисту.

Мохоподібні – пойкилохлорофільні рослини, які підтримують цілісність хлорофілів та фотосистем, уникаючи неферментативної дегградації внаслідок фотоокиснювального пошкодження. Хлорофіл *b*, каротиноїди та ксантофіли, які наявні в реакційних центрах фотосистем мохів, захищають їх від надлишку енергії за допомогою подвійних кон'югованих зв'язків, захоплюючи надлишок енергії та розсіюють її унаслідок процесу відомого як нефотохімічне гасіння.

Встановлено, що збільшення вмісту хлорофілу *b*, каротиноїдів і підвищення міцності пігмент-білкових комплексів свідчить про їхню важливу роль у захисті фотосинтетичної системи в умовах висушування. Толерантність до висушування може ініціюватися як тривалим, так і короткочасним висушуванням, на що вказує підвищення синтезу метаболічно активних речовин. З'ясовано, що періодичне тривале висушування значно пришвидшує стадію відновлення життєздатності мохових дернин, мабуть, унаслідок поступового загартування рослин.

Стійкість – це генетична здатність організму завдяки відповідним біохімічним, фізіологічним і морфологічним механізмам витримувати стресові умови середовища, яка може бути конститутивною властивістю або ж формуватися унаслідок адаптаційних неконститутивних перебудов, індукованих стресовими чинниками, внаслідок чого рослини набувають підвищену резистентність до певних абіотичних і біотичних факторів. Формування адаптивного потенціалу мохоподібних має багаторівневий характер і відбувається під впливом екзогенних стресорів різної природи

та детермінується ендogenousними генетичними факторами. Зміна умов середовища визначає нову стратегію життєдіяльності і для її реалізації відбувається перебудова функціонування клітин, транспорту речовин і метаболізму. Вживання рослин в екстремальних умовах забезпечують системи надійності: всі форми репарацій субклітинних структур і макромолекул, різні механізми адаптації і здатність мохів своєчасно переходити в стан анабіозу. Конститутивна толерантність, зокрема до висушування, окремих видів мохів пов'язана із наявністю захисних механізмів (акумуляцією невідновлювальних цукрів, осмопротекторів, поліфенолів) у поєднанні з активною клітинною репарацією, нормальним ростом та обміном у мінливих умовах природного середовища, що забезпечує їхнє виживання навіть під час швидкого висушування. Індукована толерантність до стресу (синтез стресових білків, антиоксидантів, сигнальних молекул) виникає переважно під час повільної втрати вологи унаслідок стимулювання механізмів захисту від спричинених дефіцитом води пошкоджень і/або сприяння швидкому відновленню під час подальшої регідратації.

Отже, рівень стійкості й реагування на стрес визначається біологічними особливостями видів мохів та їхнім генотипом. Мохи, які відрізняються за стійкістю до впливу стресових факторів реагують однотипно, що є проявом стратегії економії пластичних та енергетичних ресурсів рослин, але істотно відрізняються за швидкістю фізіологічних і структурних перебудов.

## ЛІТЕРАТУРА

- Александров В.Я. (1985). Реактивность клеток и белки. Л.: Наука. – 318 с.
- Аринушкина Е.В. (1970). Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ. 488 с.
- Ахмадиева А.Х., Заичкина С. И., Рузиева Р. Х. (1993). Исследование защитного действия препарата антоциана (пеларгонидин-3,5-диглюкозид). *Радиобиология*, **33**:433–435.
- Баїк О.Л. (2004). Внутрішньовидова структура мохів. *Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол.*, **36**: 122–131.
- Баїк О.Л., Данилків І.С., Ріпецький Р.Т. (1994). Вплив свинцю на кислородозчинні білки, естеразу і пероксидазу хромосомних рас *Tortula subulata* Hedw. *Укр. ботан. журн.*, **51**(1): 61–65.
- Баїк О.Л., Кіт Н.А. (2022). Морфофізіологічні реакції мохів на дію абіотичних чинників на посттехногенних територіях видобутку сірки. *Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол.*, **87**: С. 76–89.
- Бараненко В.В. (2006). Супероксиддисмутаза в клетках растений. *Цитология*, **48**(6): 465-474.
- Баранов В.І. (2008). Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ “Львівсистеменерго” як об’єкта для озеленення. *Вісн. Львів. ун-ту, сер. біол.* **46**: 172-178.
- Баранов В.І. (2010). Зміни вмісту сірки, вільних амінокислот і білка в рослинах ріпаку, підживлених капсульованими добривами на субстратах породного відвалу вугільних шахт. *Біологічні студії / Studia Biologica*, **4**(1): 53-62.
- Баранов В.І., Бешлей С.В., Соханьчак Р.Р., Козловський М.П. (2011). Вміст пігментів і структура хлоропластів кунічника наземного (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) за умов росту на відвалах породи вугільних шахт. *Біологічні студії (Studia Biologica)*, **5**(3): 97–102.
- Баранов В.І., Книш І.Б. (2007). Хіміко-мінералогічний склад порід відвалу вугільних шахт ЦЗФ “Львівсистеменерго” та їх вплив на проростання насіння. *Промислова ботаніка: стан та перспективи розвитку / Матеріали V міжнар. наук. конф.* Донецьк. С. 36.
- Бардунов Л.В. (1984). Древнейшие на суше. Новосибирск: Наука, 158 с.
- Бачурина Г.Ф., Мельничук В.М. (1987-1989). Флора мохів Української РСР– К.: Наук. думка. 1987 – Вип. I. 180 с.; 1988 – Вип. II. 179 с.; 1989 – Вип. III. 176 с.
- Башуцька У.Б. (2006). Сукцесії рослинності породних відвалів шахт Червоноградського гірничопромислового району: Монографія. Львів: РВВ НЛТУ України. 180 с.
- Башуцька У.Б. (2009). Мікрокліматичні умови породних відвалів шахт Червоноградського гірничопромислового району. *Міжвідомчий*



науково-технічний збірник “Лісове господарство, лісова, паперова деревообробна промисловість”, **32**: 48–51

Бешлей С.В., Баранов В.І., Козловський В.І., Козловський М.П. (2011). Уміст важких металів у куничнику наземному (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) за умов росту на субстратах породних відвалів вугільних шахт. *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. Біол.*, **57**: 145–150.

Бешлей С.В., Баранов В.І., Микієвич І.М. (2010). Зміна субстратів відвалів породи Червоноградського гірничопромислового району при заростанні куничником наземним (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth). *Біологічні студії (Studia Biologica)*, **4**(2): 75-82.

Бешлей С.В., Соханьчак Р.Р., Баранов В.І. (2014). Зміни гідротермічного режиму субстратів у заростях куничника наземного (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) на відвалах вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району. *Наукові записки ДПМ*, **30**: 137–142.

Бойко І., Кобилецька М., Терек О. (2012). Деградація хлорофілу в листках рослин за дії йонів кадмію та саліцилової кислоти. *Фізіологія та біохімія культ. рослин.ю* **44**(5): 108 с.

Бойко І., Лобачевська О. (2016). Мінливість вмісту водню пероксиду та вуглеводів у мохів із різною стійкістю до висушування в умовах дегідратації та регідратації. *Вісн. Львів. ун-ту, сер. біол.* **71**: 238–244.

Бойко М.Ф. (1999). Аналіз бриофлори степної зони Європи. Київ: Фитосоціоцентр. 180 с.

Бриттон Г. (1986). Біохімія природних пігментів: Пер. с англ. М.: Мир. 422 с., ил.

Буздуга І.М., Волков Р.А., Панчук І.І. (2020). Втрата активності каталази 2 впливає на обмін аскорбату в арабідопсису за дії важких металів. *Фізіологія рослин і генетика*, **52**(4): 306–319. doi: <https://doi.org/10.15407/frg2020.04.306>

Бучацька Г.М. (2002). Геохімічні і гідрогеохімічні особливості Червоноградського гірничопромислового району. *Вісн. Львів ун-ту. Сер. геол.*, **16**: 193–154.

Ванюшин Б.Ф. (2004). Матеріалізація епігенетики, или небольшие изменения в ДНК с большими последствиями. *Хімія и жизнь*, **2**: 32–37.

Варданян Р. Л., Варданян Л. Р., Айрапетян С. А., Арутюнян Л. Р., Арутюнян Р. С. (2015). Антиоксидантное и прооксидантное действие аскорбиновой кислоты. *Хімія раст. сырья*, **1**: 112–119.

Василик Ю., Мосійчук Н. (2015). Вплив нітропрусиду натрію у системі *in vitro* на пігментний склад, концентрацію карбонільних груп білків і антиоксидантний потенціал у листках проростків кукурудзи. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, **69**: 65–73.

Василик Ю.В. (2015). Утворення оксиду азоту у рослин та його роль за дії стресових факторів. *Біологічні системи*, 7(1): 1–15.

Войтович О.М. (2009). Стрес-індуковані зміни активності NO опосередкованої сигнальної системи в проростках *Pisum sativum* L. *Вісник Запорізького національного університету*, 2: 5–8.

Войцехівська О.В., Капустян А.В., Косик О.І. та ін. (2010). Фізіологія рослин: практикум. Луцьк: Терен. – 420 с.

Вольнец А.П., Прохорок Р.А. (1983). Ароматические окиссоединения – продукты и регуляторы фотосинтеза. М.: Наука и техника. 157 с.

Ворон В.П., Романенко О.І., Мельник Є.Є., Бологов О.Ю. (2011). Зміни соснових лісів в умовах забруднення атмосфери викидами Балаклійського ВАТ “Балцем”. *Лісовий журн.*, 2: 7–12.

Воронин П.Ю., Макеев А.В., Гукасян И.А. (1997). Хлорофильный индекс и ежегодный фотосинтетический сток углерода в сфагновые ассоциации. *Физиология растений*, 44(1):31–38.

Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. (1975). Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание.: Учебное пособие. М: Высшая школа. 392 с.

Гершензон С.М. (1983). Основы современной генетики. Київ: Наук. думка, 558 с.

Гетко Н.В. (1989). Растения в техногенной среде. Минск: Наука и техника. 208 с.

Гончарова И.А. (2005). К вопросу о структуре дерновины и продуктивности сфагновых мхов на олиготрофных болотах. *Сибирский экологический журнал*, 1: 131-134.

Грабовик С.И. (2002). Динамика годичного прироста у некоторых видов в различных комплексах болот южной Карелии. *Растительные ресурсы*, 38(4): 62–68.

Григорюк И.А., Ткачев В.И., Савинский С.В., Мусиенко Н.Н. (2003). Современные методы исследования и оценки засухо- и жароустойчивости растений. Київ: Науковий світ. 139 с.

Демків О.Т., Улична К.О. (1972). Спроба математичного аналізу росту молоді протонеми фунарії вологомірної (*Funaria hygrometrica* Hedw.). Шляхи експериментального дослідження морфогенезу вищих рослин. Київ: Наук. думка, 116–123.

Джура Н. (2007). Фізіологічні аспекти адаптації рослин *Carex hirta* L. до нафтового забруднення: *автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.12*. Київ. 16 с.

Дідух О.І., Мальований М.С., Шпаківська І.М. (2008). Фізичні властивості ґрунтів у межах посттехногенного ландшафту Яворівського

ДГХП “Сірка”. *Вісник Національного університету “Львівська політехніка”*, **609**: 225–233.

Довгалюк А.І. (2004). Порівняння цитогенетичної та антимікротрубочкової активності фітотоксичних металів: *автореф. дис. ... канд. біол. наук: спец. 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія*. Київ: 24 с.

Долгова Л.Г., Самойлова М.В. (2009). Вміст проліну як показник стійкості рослин-інтродуцентів роду *Amelanchier* Medic. *Актуальні питання біології, екології та хімії. Електронне наукове видання. Запорізький національний університет*, **1(3)**: 29–34.

Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. (1991). *Справочник биохимика*, М.: Мир, 554 с.

Дубинина Е. Е. (2001). Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса. *Вопросы медицинской химии*, **47** (6): 561-581.

Духовский П., Юкнис Р., Бразайтите А., Жукаускайте И. (2003). Реакция растений на комплексное воздействие природных и антропогенных стрессоров. *Физиология растений*, **50(2)**: С. 165–173.

Ермаков А. И, Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. (1987). *Методы биохимического исследования растений*. Под ред. А. И. Ермакова. Л.: Агропромиздат: 430 с.

Загрязнение воздуха и жизнь растений. (1988). Под ред. М. Трешоу. Ленинград: Гидрометеиздат, 534 с.

Зайцев Г.Н. (1990). *Математика в экспериментальной ботанике*. М.: Наука. 296 с.

Заленский О.В. (1978). Фотосинтез растений в естественных условиях. *Вопросы ботаники*, **1**: 59–87.

Запрометов М.Н. (1971). *Биохимические методы в физиологии растений*. М.: Наука. С.191.

Запрометов М.Н. (1993). Специализированные функции фенольных соединений в растениях. *Физиол. растений*, **40(6)**: 921-931.

Запрометов М.Н. (1993). Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука. 272 с.

Зинь А. (2012). Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз і мембранний транспорт у живих організмах. *Вісн. Львів. ун-ту, сер. біол.*, **60**: 21–39.

Игнатов М.С., Игнатова Е.А. (2003). *Флора средней части европейской России. Том 1: Sphagnaceae – Hedwigiaceae*. М.: КМК. 608 с.

Ипатов В.С., Тархова Т.Н. (1982). Микроклимат моховых и лишайниковых синузий в сосняке зеленомошно-лишайниковом. *Экология*. **4**: 27.

Ісаєнков С.В. (2012). Фізіологічні та молекулярні аспекти сольового стресу рослин. *Цитология и генетика*, **46**(5): 50–71.

Кавулич Я., Кобилецька М., Терек О. (2016). Вплив саліцилової кислоти на пігментну систему рослин гречки за токсичного впливу кадмію хлориду. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, **72**: 210–217.

Карпець Ю.В. (2016). Влияние донора NO на содержание пигментов в листьях, рост и продуктивность яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія*, **3**(39): 48–56.

Карпець Ю.В., Колупаєв Ю.Е. (2009). Ответ растения на гипертермию: молекулярно-клеточные процессы. *Вісник Харківського національного аграрного ун-ту. Серія Біологія*, **1**: 19–39.

Карпець Ю. В., Колупаєв Ю. Е., Григоренко Д. О. и Фирсова К. М. (2016). Реакция растений ячменя различных генотипов на почвенную засуху и действие донора оксида азота. *Вісн. Харк. нац. аграрн. ун-ту, сер. біол.*, **2**(38): 94–105.

Карпець Ю.В., Обозний О.І., Вайнер А.О., Коц Г.П. (2008). Підвищення термостабільності супероксиддисмутази в коренях пшениці після короткочасного теплового загартування: значення біосинтезу білка і активних форм кисню. *Вісн. Харк. нац. аграрн. ун-ту. Сер: Біологія*, **3**(15): 41–45.

Карпин О., Цвілинюк О., Терек О. (2009). Антиоксидантна активність і вміст поліфенолів у рослинах *Carex hirta* L. та *Faba bona Medic. (Vicia faba* L.) за дії нафтового забруднення. *Біологічні студії*, **3**(2): 109–115.

Карпин О.Л. (2010). Реакція антиоксидантної системи рослин *Carex hirta* та *Faba bona Medic. (Vicia faba* L.) в умовах нафтового забруднення: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.12. Київ. 20 с.

Карпінець Л., Лобачевська О., Баранов В. (2014). Вплив бріофітів на вміст макроелементів та органічного вуглецю у технозомах відвалів Червоноградського гірничопромислового комплексу. *Вісник Харків. ун-ту. Серія біол.*, **3**: 52–58.

Карпінець Л., Лобачевська О., Баранов В. (2016). Вплив мохів на мікрокліматичні умови едафотопів породних відвалів і їхні адаптаційні реакції. *Біологічні Студії / Studia Biologica*, **10** (3–4): 119–128.

Карпінець Л.І. (2017). Бріофітні угруповання та їх ренатуралізаційна роль на породних відвалах вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16. Львів. 18 с.

Кит Н.А. Рипецкий Р.Т. (2007). Направленный рост протонемы в условиях клиностатирования. Материалы межд. конф. “Современная физиология растений – от молекул до экосистем”, Сыктывкар, Республика Коми, Россия, 18–24 июня 2007 г. **2**: 185–187.

Кияк Н. (2018). Фотосинтетична активність бріофітів в умовах засолення на території хвостосховища Стебницького ГХП “Полімінерал”. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, **79**: 184–194.

Кияк Н.Я. (2007). Вплив свинцю на показники оксидного стресу та активність супероксиддисмутази на різних стадіях розвитку гаметофіту моху *Funaria hygrometrica* Hedw. *Наукові записки Пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Серія біол.*, **2**: 109–115.

Кияк Н.Я. (2013). Особливості адаптації моху *Bryum argenteum* Hedw. до нафтового забруднення. *Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна*, **63**: 285–294.

Кияк Н.Я. (2013). Фотосинтетична активність мохів на девастованих територіях видобутку сірки. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, **62**: 170–179.

Кияк Н.Я. (2014). Сезонні зміни вмісту компонентів глутатіоно-аскорбатного циклу у мохах на території відвалу видобутку сірки. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, **68**: 309–320.

Кияк Н.Я. (2015). Особливості фізіологічних показників водного режиму у бріофітів із різною толерантністю до дефіциту вологи. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, **70**: 245–255.

Кияк Н.Я., Баїк О.Л. (2011). Участь бріофітів у відновленні девастованих територій сірчаного видобутку. *Біологічні Студії / Studia Biologica*, **5**(2): 131–140.

Кияк Н.Я., Баїк О.Л., Кіт Н.А. (2017). Морфо-фізіологічна адаптація бріофітів до екологічних факторів на девастованих територіях видобутку сірки. *ScienceRise: Biological Science*, **5**(8): 33–38.

Кияк Н.Я., Буньо Л.В. (2012). Механізми пристосування моху *Bryum argenteum* Hedw. до нафтового забруднення. *Біологічні Студії*, **6**(3): 165–176.

Кияк Н.Я., Хоркавців Я.Д. (2015). Адаптація бріофітів до водного дефіциту на території відвалу в місцях видобутку сірки. *Український ботанічний журнал*, **72**(6): 566–573.

Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействием экологических факторов в естественных условиях. (2003). *Концепция стресса*. Под ред, Е.Л. Кордюм. К.: Наук. думка: 11–20.

Книш І.Б., Харкевич В.В. (2003). Розподіл вмісту хімічних елементів у породах териконів Червоноградського гірничо-промислового району. *Вісн. Львів. ун-ту, сер. геол.*, **17**: 148-158.

Кобилецька М.С., Корчинська О.С., Маленька У.С. (2012). Активність хлорофілази у рослин кукурудзи за дії кадмій хлориду та саліцилової кислоти. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького*, **14**, 2(52),2: 45–48.

Козловський В. (2008). Важкі метали в ґрунтах техногенних ландшафтів родовищ самородної сірки Передкарпаття (Україна).

*Грунтознавство*, **9**(3): 101–107.

Колупаєв Ю.Є. (2008). Фізіолого-біохімічні механізми формування адаптивних реакцій рослин: роль активних форм кисню та іонів кальцію. К.: ІФРГ, 320 с.

Колупаєв Ю.Є. (2010). Основи фізіології стійкості рослин: Курс лекцій. Харків, 121 с.

Колупаєв Ю.Э. (2016). Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости растений. *Успехи современной биологии*, **136**(2): 181–198.

Колупаєв Ю.Е., Карпец В.Е. (2009). Участие оксида азота (NO) в трансдукции сигналов абиотических стрессоров у растений. *Вестник Харьковского нац. аграрного ун-та. Серия Биология*, **3**(18): 6–19.

Колупаєв Ю. Е., Карпец Ю. В. (2010) Участие растворимых углеродов и низкомолекулярных соединений азота в адаптивных реакциях растений. *Вісник Харківського університету. Серія: Біологія*, **2**(20): 36–53.

Колупаєв Ю. Е., Обозний А. И. (2012). Участие активных форм кислорода в индуцировании аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы при тепловом закаливании проростков пшеницы. *Укр. біохім. журн.*, **84**(6): 131–138. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/BioChem\\_2012\\_84\\_6\\_17](http://nbuv.gov.ua/UJRN/BioChem_2012_84_6_17)

Колупаєв, Ю. Е., Обозний А. І. (2013). Активні форми кисню і антиоксидантна система при перехресній адаптації рослин до дії абиотичних стресорів. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія*, **3**(30), 18–31. <https://repo.btu.kharkov.ua//handle/123456789/9796>

Колупаєв Ю.Е., Ястреб Т.О. (2015). Физиологические функции неэнзиматических антиоксидантов растений. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія*, **2**: 6–25.

Колупаєв Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. (2014). Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія*, **2**: 6–22. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vkhnau\\_biol\\_2014\\_2\\_3](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vkhnau_biol_2014_2_3)

Коровецька Г.В. (2010). Адаптація рослин *Faba bona* Medic. (*Vicia faba* L.) та *Carex hirta* L. до дефіциту вологи в умовах нафтового забруднення ґрунту: *Автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.12*. Київ. 20 с.

Косаківська І. В., Бабенко Л. М., Скатерна Т. Л., Устінова А. Ю. (2014). Вплив гіпо- і гіпертермії на активність ліпоксигенази, вміст пігментів і розчинних білків у проростках пшениці сорту Ятрань 60. *Фізіологія рослин і генетика*, **46** (3): 212–220.

Косаківська І.В. (2003). Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів. К.: Сталь, 191 с.

Кретович В.Л. (1980). Биохимия растений. М.: Высшая школа:445 с.

Курганова Л.Н., Веселов А.П., Гончарова Т.А. (1997). Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система защиты в хлоропластах гороха при тепловом шоке. Физиология растений. **44(5):725–730.**

Кушниренко М.Д. (1978). Реакция хлоропластов растений различной устойчивости к засухе на водный стресс. *Проблемы засухоустойчивости растений*, М.: Наука. 72-81.

Лазаренко А.С. (1963). Динамика количественной изменчивости спорофита *Desmatodon randii* (Kenn.) Lazar. в естественной популяции и в односпоровых культурах. *Бюл. Моск. о-ва испыт. Природы. Отд. Биол.*, **68(6): 133–148.**

Лазаренко А.С. (1965). Явление амфоморфизма у мхов. *Докл. АН СССР*, **4: 962–964.**

Лазаренко А.С., Демків О.Т. (1968). Корелятивне гальмування росту протонеми *Funaria hygrometrica* Hedw. *ДАН України. Серія біол.*, **8: 763–765.**

Лазаренко А.С., Лесняк Е.Н. (1972). Сравнительное исследование видов-двойников мхов – *Desmatodon cernuus-D. ukrainicus* (К проблеме инфраструктуры вида у мхов). *Журн. общ. биол.*, **33(6): 657–667.**

Лакин Г.Ф. (1990). Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд. М.: Высш. шк. 352 с.

Лапина Г.П., Чернавская Н.М., Литвиновский М.Е., Сазанова С.В. (2007). Влияние нефти на пигментный состав сосны обыкновенной – *Pinus sylvestris*. *Электронный научный журнал “Исследовано в России”*, **53: 28–36.**

Легостаева Т. В., Воляник К. О. (2017). Динаміка активності пероксидази у листках *Ailanthus altissima* за аеротехногенного забруднення. *Питання степового лісівництва та лісової меліорації*, **46: 81–86.**

Лобачевська О. (2004). Репродуктивна фенологія моху *Orthotrichum obtusifolium* Brid. *Вісник Львів. Ун-ту. Серія біологічна*, **36: 215–219.**

Лобачевська О.В. (2008). Вміст вільного проліну та активність антиоксидантного захисту за стресових умов. *Чорноморський ботанічний журнал*, **4(2): 230–236.**

Лобачевская О.В. (2010). Адаптивные реакции мхов в условиях техногенного загрязнения. Бриология: традиции и современность. *Сборник статей по материалам междунар. бриологической конференции, посвященной 110-летию со дня рождения З.Н. Смироновой и К.И. Ладыженской*. Санкт-Петербург, 96–100.

Лобачевська О.В. (2011). Екологічні особливості та репродуктивна стратегія мохоподібних на антропогенно трансформованих територіях. *Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*, **2(47): 109–113.**

Лобачевська О.В. (2012а). Вплив мохоподібних на кислотність та вміст вологи у верхньому шарі техногенного ґрунту. *Міжнар. наук.-практ. конф. Дніпропетровськ*, 235–237.

Лобачевська О.В. (2012б). Вплив мохоподібних на кислотність та вміст вологи у верхньому шарі техногенного ґрунту. *Рекультивація складних техноекосистем у новому тисячолітті: ноосферний аспект. Міжнар. наук.-практ. конф.* Дніпропетровськ, 235–237.

Лобачевська О.В. (2012в). Мохоподібні породних відвалів Червоноградського гірничопромислового району. *Чорноморськ. бот. ж.*, **8(1)**: 67 – 77.

Лобачевська О.В. (2012г). Репродуктивна стратегія мохоподібних на девастрованих територіях видобутку сірки (Львівська область). *Укр. ботан. журн.*, **69(5)**: 406–416.

Лобачевська О.В. (2012д). Сезонні зміни пігментного комплексу *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. в умовах техногенно трансформованих територій. *IV відкритий з'їзд фітобіологів Причорномор'я, присвячений ювілею професора Михайла Федосійовича Бойка. Зб. тез доп.* Херсон: Айлант, 16 с.

Лобачевська О.В. (2014). Мохоподібні як модель дослідження екофізіологічної адаптації до умов природного середовища. *Чорноморський ботанічний журнал*, **10(1)**: 48–61.

Лобачевська О., Бойко І., Карпинець Л. (2014). Фенотипна пластичність моху *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. в умовах техногенно трансформованого середовища. *Біологічні студії*, **8(3–4)**: 137 – 148. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bist\\_2014\\_8\\_3-4\\_15](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bist_2014_8_3-4_15).

Лобачевська О.В., Бойко І.В. (2015). Морфофізіологічні пристосування мохів *Funaria hygrometrica* і *Brachythecium glareosum* (Bryophyta) до періодичного висушування. *Укр. ботан. журн.*, **72(6)**: 559–565.

Лобачевська О.В., Демків О.Т. (1990). Мінливість вмісту ДНК в ядрах листяних мохів. *Укр. ботан. журн.* **47(2)**: 17–24.

Лобачевська О.В., Кияк Н.Я., Хоркавців Я.Д. (2019). Морфофункціональні особливості клітин протонемі *Weissia tortilis* Spreng. з різною чутливістю до гравітації. *Космічна наука і технологія*, **25(2)**: 60–70.

Лобачевська О.В., Рабик І.В. (2012). Особливості вегетативного розмноження мохоподібних на відвалах сірчаного видобутку. *Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол.* **60**: 145–155.

Лобачевська О.В., Рабик І.В., Кияк Н.Я., Данилків І.С., Карпинець Л.І., Соханьчак Р.Р., Бешлей С.В., Щербаченко О.І., Баїк О.Л., Кіт Н.А., Хоркавців Я.Д., Хомин І.Г. (2022). Роль бріофітного покриття в ревіталізації антропогенно трансформованих територій / За ред. к.б.н. О.В. Лобачевської. Львів: Левада, 262 с.

Лобачевская О.В., Рипецкий Р.Т., Кит Н.А. (2008). Изоляция протопластов клеток апоспорической протонемы *Pottia intermedia* (Turn.)



Fürnr. *Материалы межд. конф. “Биология клеток растений in vitro и биотехнология”*, Звенигород, Москва 8–12 сентября 2008 г: 432–433.

Лобачевська О.В., Соханьчак Р.Р. (2010). *Samylopus introflexus* (Hedw.) Brid. – новий адвентивний вид моху для флори України. *Укр. ботан. журн.*, **67**(3): 432 – 437.

Лукьянова Л.М., Локтева Т.Н., Булычева Т.М., Кудрявцева О.В. (1986). Газообмен и пигментная система Кольской Субарктики. *Апатиты*, 127 с.

Луцак В.І., Багнюкова Т.В., Луцак О.В. (2004). Показники окислювального стресу. 1. Тіобарбітуратактивні продукти і карбонільні групи білків. *Український біохімічний журнал*, **71**(5): 112–117.

Лютова М.И., Каменцева И.Е. (2001). Термоиндуцированное повышение устойчивости нитратредуктазы из листьев пшеницы к инактивирующим воздействиям. *Физиология растений*, **48**(1): 100–105.

Майр Е. (1974). Популяция, виды, эволюция. М.: Мир, 460 с.

Мала гірнича енциклопедія: у 3 томах. (2007). За ред. В. С. Білецького. Донецьк: Донбас, 2007. **2**. 670 с.

Малецкий С.И., Полякова Е.В. (1977). Генетика изоферментов растений. М.: Наука: 250–273.

Маменко Т. П., Хоменко Ю.О., Коць С.Я. (2018). Активність супероксиддасмутази та ензимів аскорбат-глутатіонового циклу у симбіотичних системах *Glycine max-Bradyrhizobium japonicum* за дії посухи. *Мікробіологічний журнал*, **80**(3): 77–89.

Мамчур З., Савицька А. (2006). Екологічна характеристика листяних мохів Шацького національного природного парку. *Вісник Львів. ун-ту, сер. біол.*, **42**: 38-47.

Марискевич О.Г., Шпаківська І.М., Дідух О.І. (2005). Формування ґрунтів у межах техногенного ландшафту Яворівського ДГХП “Сірка”. *Науковий вісник Чернівецького ун-ту. Серія біологічна*, **251**: 175–185.

Мартінова Н.В., Лихолат Ю.В., Опанасенко В.Ф. (2011). Збагачення флористичного складу техногенних територій за рахунок введення в культуру ґрунтопокривних рослин. *Бюл. Никитск. ботан. сада*, **100**: 61-64.

Масленников П.В., Бородей А.В. (2001). Антоцианины как тест на нефтяное загрязнение. Современные проблемы биоиндикации и биомониторинга. *11 Международный симпозиум по биоиндикаторам (Сыктывкар, 16-19 декабря 2001)*. Сыктывкар. 124–125.

Меньшикова Е. Б., Зенков Н. К. (1993). Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов. *Успехи соврем. биологии*. **113**(4): 442–455.

Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. (2006). Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М. 256 с.

Мокронос А.Т., Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. (2006). Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. М., Издательский центр “Академия”. – 448 с.

Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. (2001). Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр. – 153 с.

Нестерова Н.Г., Григорюк І.П. (2013). Особливості водного режиму деревних видів рослин в екологічних умовах м. Київ. *Збалансоване природокористування*, **2-3**: 89–95.

Ніколайчук В.І., Белчгазі В.Й., Білик П.П. (2000). Спецпрактикум з фізіології і біохімії рослин. Ужгород. 210 с.

Обозный А. И., Колупаев Ю. Е., Ястреб Т. О. (2013). Активность супероксиддисмутазы и содержание низкомолекулярных протекторных соединений при формировании перекрестной устойчивости проростков пшеницы к тепловому и осмотическому стрессам. *Агрехимия*, **8**: 70–78.

Обозный А.И. Ястреб Т.О., Колупаев Ю.Е., Попов В.Н., Криворучко Р.В. (2010). Влияние кратковременного нагрева на активность и термостабильность растворимой пероксидазы корней пшеницы разных экотипов. *Вісн. Харк. нац. аграрн. ун-ту. Сер: Біологія*, **2(20)**: 61–68.

Обозный А.И., Колупаев Ю.Е., Швиденко Н.В., Вайнер А.А. (2012). Динамика активности антиоксидантных ферментов при кросс-адаптации проростков пшеницы к гипертермии и осмотическому шоку. *Вісн. Харк. нац. аграрн. ун-ту. Сер: Біологія*, **2(26)**: 71–84.

Оксенюк У.А., Лобачевська О.В. (2009). Цитохімічний аналіз вмісту нікелю в клітинах гаметофіту моху *Funaria hygrometrica* Hedw. *Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол.*, **50**: 26–34.

Олениченко Н.А., Загоскина Н.В. (2005). Ответная реакция озимой пшеницы на действие низких температур: образование фенольных соединений и активность L-фенилаланинаммиаклиазы. *Прикладная биохимия и микробиология*, **41(6)**: 681-685.

Павловская Н.Е., Гринблат А.И. (2010). Активные формы кислорода и апоптоз у пшеницы и гороха. *Сельскохозяйственная биология*, **1**: 51–55.

Пасика К.А. (2004). Исследование влияния выбросов цементной пыли на рост и развитие растений. *Успехи соврем. естествознания*, **11**: 45.

Плешков Б.П. (1976). Практикум по биохимии растений. М.: Колос. 129 с.

Плохинский Н.А. (1970). Биометрия. М.: Изд-во МГУ. 367 с.

Попов В.Н., Антипина О.В., Трунова Т.И. (2010). Перекисное окисление липидов при низкотемпературной адаптации листьев и корней теплолюбивых растений табака. *Физиология растений*, **57**: 153-157.

Потёмкин А.Д. (2007). Marchantiophyta, Bryophyta, Anthocerotophyta – особые пути гаметофитного направления эволюции высших растений. *Ботан. журн.* **92(11)**: 1625–1651.

Починок Х.Н. (1976). Методы биохимического анализа растений. К.: Наук. думка. – 231с.

Приступа І.В., Шалімов І.В., Романчук Т.В. (2009). Динамика вмісту фотосинтезуючих пігментів як фітоіндикаційний показник у представників роду *Juniperus*, що зростають в умовах промислового міста південного сходу України. *Питання біоіндикації та екології*, **1**: 23–30.

Пузенко Д.М. (2005). Вплив викидів цементного виробництва на стан агроєкосистем Передкарпаття: автореф. дис. ... канд. сільськогосп. наук, спец. 03.00.16 – “Екологія”. Дніпропетровський державний аграрний університет: 29 с.

Пятыгин С.С. (2008). Стресс у растений: физиологический подход. *Журн. общей биологии*. **69** (4): 294–298.

Рабик І.В., Данилків І.С., Щербаченко О.І. (2010). Структура і динаміка бріофітних угруповань на девастованих землях Львівщини (на прикладі відвалу гірничо-хімічного підприємства «Сірка»). *Вісник Львівського університету. Серія біол.*, **53**: 58–66.

Рабик І.В., Лобачевська О.В., Щербаченко О.І., Данилків І.С. (2017). Мохоподібні як індикатори відновлення посттехногенних ландшафтів видобутку сірки. *Чорноморськ. бот. ж.*, **13**(4): 468–480. doi: 10.14255/2308-9628/17.134/5

Рагуліна М.Є., Вовк О.Б., Орлов О.Л. (2009). Функціональна роль бріофітів у ренатуралізації техногенно змінених екосистем Волино–Поділля. *Наук. зап. держав. природознавчого музею*, **25**: 117–124.

Речевська Н.Я. (2001). Адаптація мохів до токсичної дії важких металів. *Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть*. Київ, **1**: 94–98.

Рипецкий Р.Т. (1985). Экспериментальный апомиксис у мхов и проблема устойчивости детерминированного состояния. *Онтогенез*, **16**(3): 229–241.

Рипецкий Р.Т., Данилків І.С., Лесняк Е.Н. (1983). О генетической дивергенции морфологически неразличимых цитотипов мха *Pottia lanceolata*. *Цитология и генетика*, **6**: 49–55.

Ріпецький Р.Т. (1980). Онтогенетична різноякісність апоспоричного гаметофіту листяних мохів. *Укр. ботан. журн.*, **37**(3): 30–32.

Ріпецький Р.Т. (1983). Експериментальний апоміксис у мохів. *Укр. ботан. журн.*, **39**(6): 43–50.

Ріпецький Р.Т., Хоркавців Я.Д., Лобачевська О.В., Кіт Н.А. (2008). Адаптація клону моху *Pottia intermedia* (Turn.) Fürnr. до ртуті. *ДАН України*, **2**: 165–166.

Романюк Н., Цвілинюк О., Микієвич І., Терек О. (2003). Фізіологія рослин. Методичні вказівки до лабораторних робіт з малого практикуму для студентів біологічного факультету. Львів: Вид-во Львів. нац. ун-ту ім. Івана Франка: 84 с.

Рыковский Г.Ф., Масловский О.М. (2004). Флора Беларуси. Мохообразные. В 2 т. Т. 1. под. ред. В.И. Парфенова. Мн.: Тэхналогія. 437 с.

Савич-Любицкая Л.И., Смирнова З.Н. (1970). Определитель листостебельных мхов СССР. Верхоплодные мхи. Л.: Наука, Ленингр. отд. 826 с.

Сандецька Н.В., Каменчук О.П., Ситар О.В. (2012). Вплив умов мінерального живлення на зміни антиоксидантного статусу рослин озимої пшениці. *Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия "Биология, химия"*, **25**(64): 179–186.

Сетт І.В. (2002). До вивчення агрохімічних властивостей едафотопу та щільності популяцій рослин на териконниках Донбасу. *Промышленная ботаника*, **2**: 218–221.

Сетт І.В. (2004). Изучение структуры популяций растений на отвалах угольных шахт Донбасса. *Промышленная ботаника. Сборник научных трудов*. Донецк: Донецкий ботанический сад НАН Украины. **4**: 221–227.

Соханьчак Р.Р., Лобачевська О.В. (2012). Вплив моху *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. на відновлення техногенних субстратів шахтних відвалів. *Біологічні студії (Studia Biologica)*, **6**(1): 101–108.

Соханьчак Р.Р., Лобачевська О.В., Бешлей С.В. (2013). Сезонні зміни у пігментному комплексі моху *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. на вершині відвалу шахти „Надія”. *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.*, **62**: 180–187.

Станецька Д.М., Коваль І.В., Джуренко Н.І. (2011). Вплив високотемпературного стресу на пігментний комплекс видів роду *Solidago* L. в репродуктивний період. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія*, **30**: 192–196.

Терек О.І. (2018). Механізми адаптації рослин до нафтового забруднення. *Біологічні Студії / Studia Biologica*, **12**(3): 141–164. doi: <https://doi.org/10.30970/sbi.1203.579>

Терехова Э.Б., Ланина Р.И. (1978). Микроклимат отвалов Соколовско-Сарбайского горно-обогатительного комбината. *Растения и пром. среда*. Свердловск. 84-92.

Трофимец В.И., Ипатов В.С. (1990). Средообразующая роль лишайникового и мохового покровов в сухих сосняках. *Ботан. журн.*, **75**(8): 1102–1108.

Трохова О.Н. (2007). К вопросу фитотоксичности породы промышленных отвалов Донбасса. *Промышленная ботаника. Сборник научных трудов*. Донецк. **7**: 80-84.

Фомішина Р.М., Сиваш О.О., Захарова Т.О., Золотарьова О.К. (2009). Роль хлорофілази в адаптації рослин до умов освітлення. *Укр. ботан. журн.*, **66**(1): 94–102.

Холлидей Р. (1989). Эпигенетическая наследственность. *В мире науки*, **8**: 30–38.

Хоркавців Я. Д., Лобачевська О. В. (2011). Регуляція толерантності мохів до водного дефіциту / *Матеріали 2-ої міжнародної конференції “Регуляція росту і розвитку рослин: фізіолого-біохімічні та генетичні аспекти”* (Харків, 11–13 жовтня 2011 р.). – Харків, 2011. – С. 128–129.

Хоркавців Я.Д., Демків О.Т., Ріпецький Р.Т. (2006). Гормональна регуляція розвитку апоспоричного гаметофіта *Pottia intermedia* (Furnr.) Turp. *Укр. ботан. журн.*, **63**(1): 71–80.

Хоркавців Я.Д., Лобачевська О.В. (2011). Особливості генеративного розмноження домінантного виду *Barbula unguiculata* Hedw. на відвалах сірчаного видобутку. *Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*, **2**(47): 150–155.

Хоркавців Я.Д., Ріпецький Р.Т., Баїк О.Л. (2009). Фенотипічна та епігенетична адаптація клону моху до ртуті. *Цитология и генетика*, **5**: 22–27.

Челноков А.А., Пльшевский С.В. (2000). К вопросу об эмиссии тяжелых металлов в атмосферу при производстве цемента. *Цемент*, 45–50.

Чечуй О.Ф. (2011). Вміст фенольних сполук в насінні *Glycine max* L. при проростанні за умов оксидативного стресу, спричиненого впливом іонів кобальту та кадмію. *Наук. вісн. Ужгород. ун-ту, сер. біол.*, **30**: 197-200.

Чупахина Г.Н. (1997). Система аскорбиновой кислоты. Калининград: Изд-во Калининград. гос. ун-та, 1997. 130 с.

Шмакова Н.Ю., Кудрявцева О.В. (2002). Сравнительная оценка листового и хлорофильного индексов для определения годичной продукции органического вещества в сообществах горной тундры Хибин. *Ботанический журнал*, **87**(3): 85–97.

Шмакова Н.Ю., Лукьянова Л.М., Булычева Т.М., Кудрявцева О.В. (2006). Продукционный процесс в сообществах горной тундры Хибин. *Апатиты*, 125 с.

Шпак О. В. (2007). Характеристика оводненности листьев некоторых мхов в Хибинах (Мурманская область). *Материалы VI съезда ОФР “Современная физиология растений: от молекул до экосистем”* (Сыктывкар, 18-24 июня 2007 г.) – Сыктывкар, 2007, ч. 3.– С. 131–132.

Шпак О.В. (2007). Эколого-физиологическая характеристика мхов в Хибинах (Мурманская область). *Экологическая химия*, **16**(1), 40–45.

Юрина Н.П., Одинцова М.С. (2007). Сигнальные системы растений. Пластидные сигналы и их роль в экспрессии ядерных генов. Пластидные сигналы и их роль в экспрессии ядерных генов. *Физиология растений*, **54**(4): 485–498.

Ясар Ф., Элиальтиглу С., Ильдис К. (2008). Действие засоления на антиокислительные защитные системы, перекисное окисление липидов и

содержание хлорофилла в листьях фасоли. *Физиология растений*, **55**(6): 869-873.

Ahmad A., Zhang E., Cao X.-F. (2010). Decoding the Epigenetic Language of Plant Development. *Molecular Plant*, **3**(4): 719–728. doi: 10.1093/mp/ssq026

Ahmad P., Jaleel C. A., Salem M.A., Nabi G., Sharma S. (2010). Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology*, **30**(3): 161–175. <https://doi.org/10.3109/07388550903524243>

Akimoto K., Katakami H., Kim H.-J. et al. (2007). Epigenetic inheritance in rice plants. *Ann. of Bot.*, **100**: 205–217.

Akimoto K., Katakami H., Kim H.-J., Ogawa E., Sano C.M., Wada Y., Sano H. (2007). Epigenetic inheritance in rice plants. *Ann. of Bot.*, **100**: 205–217. doi: 10.1093/aob/mcm110.

Alberts B., Bray D., Lewis J., Raffi M., Keith R., Watson J. (1994). *Molecular biology of the cell*. Third edition. New York, London: Garland Publishing mc.: 294 p.

Alinsug M. V. (2009). Phylogenetic analysis, subcellular localization, and expression patterns of RPD3/HDA1 family histone deacetylases in plants. *BMC Plant Biology*, **9**(37): 1–15. doi:10.1186/1471-2229-9-37

Alpert P., Oliver M.J. (2002). Drying without dying. In Black M., Pritchard H.W. (eds.). *Desiccation and survival in plants*. Wallingford, Oxon: CABI Publishing, 3–43.

Alvarez S., Sánchez-Blanco M.J. (2014). Long-term effect of salinity on plant quality, water relations, photosynthetic parameters and ion distribution in *Callistemon citrinus*. *Plant Biology*, **16**: 757–764.

Anahita A. (2015). Evaluation of total phenolic content, total antioxidant activity, and antioxidant vitamin composition of pomegranate seed and juice. *International Food Research Journal*. **22** (3): 1212–1217.

Apel K., Hirt H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, **55**: 373–399.

Arnon D. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, **24**: 1–15.

Aro E.-M. (1982). A comparison of the chlorophyll-protein composition and chloroplast ultrastructure in two bryophytes and two higher plants. *Zeits. Pflanzenphysiol.*, **108**: 97–105.

Aronson J., Alexander S. (2013). Ecosystem restoration is now a global priority: time to roll up our sleeves. *Restoration Ecology*, **21**(3): 293–296.

Ashraf M., Foolad M.R. (2008). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, **59**: 206–216. doi:10.1016/j.envexpbot.2005.12.006

- Ashraf M., Harris J.C. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, **166**: 3–16.
- Athar H.R., Ashraf M. (2005). Photosynthesis under drought stress. In: *Handbook of Photosynthesis*, Boca Raton: CRC Press, 793–804.
- Awasthi V., Nath V., Asthana A.K. (2010). Effect of Some Physical Factors on Reproductive Behaviour of Selected Bryophytes. *International J. of Plant Reproductive Biology*, **2**(2): 141–145.
- Baik O.L., Kyyak N.Y., Humeniuk O.M., Humeniuk V.V. (2021). Oxidative stress in moss *Bryum caespiticium* (Bryaceae) under the influence of high temperature and light intensity in a technogenically transformed environment. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. **12** (4). 710–717. doi:10.15421/022198
- Bajguz A. (2014). Nitric Oxide: Role in Plants Under Abiotic Stress. *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment*. **2**: 137–159.
- Ball B.A., Guevara J.A. (2015). The nutrient plasticity of moss-dominated crust in the urbanized Sonoran Desert. *Plant and Soil*, **389**: 225–235. doi: 10.1007/s11104-014-2355-7.
- Bansal A.K., Bilaspuri G.S. (2008). Oxidative stress alters membrane sulfhydryl status, lipid and phospholipid contents of crossbred cattle bull spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, **104**: 398–404.
- Baran E., Warry F. (2008). *Simple data analysis for biologists*. Malaysia: World Fish Center and the Fisheries Administration.
- Barozai M.Y. K., Aziz A. N. (2018). Recent plant growth and stress management related significant advancements in epigenetics. *Annals of Agrarian Science*, **16**(4): 416-421. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2018.07.002>
- Bassi P. (1999). The effect of environmental stress on repetitive DNA behavior in plants. In: *Plant Response to Environmental Stresses*. Ed. H.R. Lerner. New York, Marcel Dekker: 161–170.
- Bassi P. (2006). Plasticity of repetitive DNA in response to metal stress in Bryophytes. *Plant Biosystems*, **140**(1): 80–86.
- Bassi P., Basile A., Stefanini A., Vosa CB, Maffei M., Giordano S., Castaldo Cobianchi R. (1995). Effects of Pb on nuclear repetitive DNA of the moss *F. hygrometrica* (Bryophyta). *Protoplasma*, **188**: 104–108.
- Bates J.W., Wibelmann M.H., Proctor M.C.F. (2009). Salinity responses of halophytic bryophytes determined by chlorophyll fluorometry. *Journal of Bryology*, **31**: 11–19. <https://doi.org/10.1179/174328208X380365>
- Bates L., Waldren R., Teare I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies *Plant and Soil*, **39**: 205–207.
- Bauer L. (1959). Auslösung apogamer Sporogonbildung am Reigrations-Protonema von Laubmoosen durch einen vom Muttersporogon abgegebenen Factor. *Naturwissenschaften*, **46**: 154–155.

- Beck E., Lüttge U. (1990). Streß bei Pflanzen Biol. *Unserer Zeit*, **20**: 237–244.
- Belnap J. (2006). The potential roles of biological soil crusts in dryland hydrology cycles. *Hydrological Processes*, **20**: 3159–3178.
- Bewley J.D. (1979). Physiological aspects of desiccation tolerance. *Annual of Review Plant Physiology*, **30**: 195–238.
- Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory (2002). *Genes and Development*, **16**: 6–21. doi: 10.1101/gad.947102.
- Bird A. (2007). Perceptions of epigenetics. *Nature*, **447**: 396–398. doi:10.1038/nature05913
- Bisang I., Ehrlén J. (2002). Reproductive effort and cost of sexual reproduction in female *Dicranum polysetum*. *Bryologist*, **105**: 384–397.
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Ann. Bot.*, **91**: 179–194.
- Blokland R. van Lohuis M., Meyer P. (1997). Condensation of chromatin in transcription regions of an inactivated plant transgene: evidence for an active role of transcription in gene silencing. *Molecular Genetics and Genomics*, **257**: 1–13. doi: 10.1007/s004380050617.
- Boguslavskaja L., Shupranova L., Vinnichenko A. (2007). Adaptive properties of maize seedling meristem roots at the action of lead ions during ontogenesis. Матеріали III міжнародної наукової конференції „Онтогенез рослин у природному та трансформованому середовищі. Фізіолого-біохімічні та екологічні аспекти”, Львів, 4–6 жовтня 2007: 188.
- Boyko A, Kathiria P, Zemp FJ, Yao Y, Pogribny I, Kovalchuk I. (2007). Transgenerational changes in the genome stability and methylation in pathogen-infected plants. *Nucleic Acids Res.*, **35**: 1714–1725.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel - Wissenschaft und Technologie*, **28**: 25–30.
- Brinda J.C., Stark L.R., Clark T.A., Greenwood J.L. (2016). Embryos of a moss can be hardened to desiccation tolerance: effects of rate of drying on the timeline of recovery and dehardening in *Aloina ambigua* (Pottiaceae). *Ann. Bot. Jan.*; **117**(1): 153–163. doi: 10.1093/aob/mcv136
- Bueno de Mesquita C.P., Knelman J.E., King A.J., Farrer E.C., Porazinska D.L., Schmidt S.K., Suding K.N. (2017). Plant colonization of moss-dominated soils in the alpine: Microbial and biogeochemical implications. *Soil Biology and Biochemistry*, **111**: 135–142. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.04.008>
- Buzduga I.M., Volkov R.A., Panchuk I.I. (2018). Metabolic compensation in *Arabidopsis thaliana* catalase-deficient mutants. *Cytol. Genet.*, **52**(1): 31–39. <https://doi.org/10.3103/S0095452718010036>
- Caffarri S., Tibiletti T., Jennings R.C., Santabarbara S. (2014). A comparison between plant photosystem I and photosystem II architecture and functioning.



*Current Protein & Peptide Science*, **15**(4): 296–331. doi:10.2174/1389203715666140327102218

Carter D.W., Arocena J.M. (2000). Soil formation under two moss species in sandy materials of central British Columbia (Canada). *Geoderma*, **98**(3–4): 157–176. doi: 10.1016/S0016–7061(00)00059–8

Cavalcanti F.R., Oliveira J.T.A., Martins-Miranda A.S. et al. (2004). Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. *New Phytologist*, **163**: 563–571. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01139x

Chazotte B. (2011). Labeling nuclear DNA using DAPI. *Cold Spring Harbor Protoc.*, **15**: 80–83. doi: 10.1101/pdb.prot.5556.

Chen Y., Guo S., Cao T. (2008). Asexual reproduction of moss and its applications. *Chinese J. Ecol.* **27**(6): 993–998.

Chinnusamy V., Gong Z., Zhu J-K. (2008). Abscisic acid-mediated epigenetic processes in plant development and stress response // *J. of Integrative Plant Biology*. **50**(10): 1187–1195. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00727.x>

Chinnusamy V., Zhu J-K. (2009). Epigenetic regulation of stress responses in plants. *Plant Biology*, **12**: 1–7. doi: 10.1016/j.pbi.2008.12.006

Choi C.S., Sano H. (2007). Abiotic-stress induces demethylation and transcriptional activation of a gene encoding a glycerophosphodiesterase-like protein in tobacco plants. *Molecular Genetics and Genomics*, **277**: 589–600.

Clayton-Greene K.A., Collins N.J., Green T.G.A., Proctor M.C.F. (1985). Surface wax, structure and function in leaves of Polytrichaceae. *J. Bryol.*, **13**: 549–562.

Cleavitt N.L. (2002). Stress tolerance of rare and common moss species in relation to their occupied environments and asexual dispersal potential. *J. Ecol.*, **90**: 785–795.

Coe K.K., Greenwood J.L., Slate M.L. et al. (2021). Strategies of desiccation tolerance vary across life phases in the moss *Syntrichia caninervis*. *American Journal of Botany*, **108**(2): 249–262.

Cortina-Segarra J., Declerck K., Kollmann J. (2016). Speed restoration of EU ecosystems. *Nature*, **535**: 231.

Cove, D., Bezanilla M., Harries Ph., Quatrano R. (2006). Mosses as model systems for the study of metabolism and development. *Annual Review of Plant Biology*, **57**: 497–520. doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105338

Cronberg N., Molau U., Sonesson M. (1997). Genetic variation in the clonal bryophyte *Hylocomium splendens* at hierarchical geographical scales in Scandinavia. *Heredity*, **78**: 293–301.

Cronberg N., Natcheva R., Hedlund K. (2006). Microarthropods mediate sperm transfer in mosses. *Science*, **313**: 1225.

Crum H.A. 1972. The geographic origins of the mosses of North America's deciduous forest. *J. Hattori Bot. Lab.*, **35**: 269–298.

Cui S., Hu J., Guo S., Wang J., Cheng Y., Dang X., Wu L., He Y. (2012). Proteome analysis of *Physcomitrella patens* exposed to progressive dehydration and rehydration. *J. Exp. Bot.*, **63**: 711–726.

Cuming A.C. (2009). Mosses as Model Organisms for Developmental, Cellular and Molecular Biology. In: Bryophyte Biology. Eds. Goffinet B., Shaw A.J., 2nd edn. Cambridge: Cambridge University Press, 199–236.

Dat J., Vandenabeele S., Vranova E., Van Montagu M., Irize D., Van Breusegem F. (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **57**: 779–795.

Davey M.C., Ellis-Evans J.C. (1996). The influence of water content on the light climate within Antarctic mosses characterized using an optical microprobe. *Journal of Bryology*, **19**(2): 235–242, doi: 10.1179/jbr.1996.19.2.235

Davis D.D., McClenahan J.R., Hutnik R.J. (2007). Use of moss *Dicranum montanum* to evaluate recent temporal trends of mercury accumulation in oak forests of Pennsylvania. *Northeastern Naturalist*, **14**(1): 27–34. doi: 10.1656/1092-6194(2007)14[27:uotmdm]2.0.co;2

De Carvalho R.C., Branquinho C., Da Silva J.M. (2011). Physiological consequences of desiccation in the aquatic bryophyte *Fontinalis antipyretica*. *Planta*, **234**(1):195–205.

De Carvalho R.C., Catalá M., Branquinho C., Marques da Silva J. et al. (2017). Dehydration rate determines the degree of membrane damage and desiccation tolerance in bryophytes. *Physiologia Plantarum*, **159**: 277–289.

Demidchik V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, **109**: 212–228. doi:10.1016/j.envexpbot.2014.06.021

Denni M., Mammen D. (2012). A critical evaluation on the reliability of two aluminum chloride chelation methods for quantification of flavonoids. *Food chemistry*, **135**: 1365–1368. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.05.109.

Dey A., Nath G. (2012). Antioxidative potential of bryophytes: stress tolerance and commercial perspectives: a review. *Pharmacologia*, **3**(6): 151–159.

Dhindsa R.S. (1997). Glutathione status and protein synthesis during drought and subsequent rehydration in *Tortula ruralis*. *Plant Physiology*, **83**: 816–819.

Dimitrios B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*. **17**: 505–512.

Drażkiewicz M., Baszyński T. (2010). Interference of nickel with the photosynthetic apparatus of *Zea mays* L. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **73**(5): 982–986.

Drozdov S.N., Kurets V.K., Talanov A. V. (1998). Some ecophysiological characteristics of a number of *Sphagnum* species. International Bryological Symposium, Petrosavodsk, 5–9 Okt. Petrosavodsk, 1998: 6–7.

Duarte B., Santos D., Marques J.C., Cazador I. (2013). Ecophysiological adaptations of two halophytes to salt stress: Photosynthesis, PS II photochemistry and anti-oxidant feedback. Implications for resilience in climate change. *Plant Physiology & Biochemistry*, **67**: 178–188.

Duckett J.G., Ligrone R. (1992). A survey of diaspore liberation mechanisms and germination patterns in mosses. *J. Bryol.*, **17**: 335–354.

Durand, E., Zhao, Y., Ruesgas-Ramón, M., Cruz Figueroa-Espinoza, M., Lamy, S., Coupland, J. N., Elias, R. J., & Villeneuve, P. (2019). Evaluation of Antioxidant Activity and Interaction with Radical Species Using the Vesicle Conjugated Autoxidizable Triene (VesiCAT) *European Journal of Lipid Science and Technology*, **121**(5): 180–199. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800419>

During H.J. (1979). Life strategies of Bryophytes: a preliminary review. *Lindbergia*, **5**: 2–18.

During H.J. (1990). Clonal growth patterns among bryophytes Eds. Van Groenendael J., De Kroon H. The Hague, Netherlands: SPB Academic Publishing, 153–176.

During H.J. (1992). Ecological classifications of bryophytes and lichens. *Bryophytes and Lichens in a Changing Environment*. Clarendon Press, Oxford. 131.

During H.J. (2001). Diaspore banks. *Bryologist*, **104**: 92–97.

During H.J., Lloret F. (1996). Permanent grid studies in bryophyte communities 1. Pattern and dynamics of individual species. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **79**: 1–41.

Eckhardt U., Grimm B., Hörtensteiner S. (2004). Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants. *Plant Mol. Biol.* **56**: 1-14.

Edreva A., Velikova V., Tsonev T., Dugnon S., Gurel A., Aktas L., Gesheva E. (2008). Stress-protective role of secondary metabolites: diversity of functions and mechanisms. *Gen. Appl. Plant Physiology. Special Issue.*, **34** (1-2): 67–78.

Edwards D., Wellman C.H., Axe L. (1998). The fossil record of early land plants and interrelationships between primitive embryophytes: too little and too late? In: *Bryology for the twenty-first century*. Eds. Bates J.W., Ashton N.W., Duckett. J.G. – Leeds, UK: Maney Publishing and British Bryological Society, 15–43.

Eggink L.L., Park H., Hooper Y.K. (2001). The role of chlorophyll b in photosynthesis: hypothesis. *BMC Plant Biol.* **1**: 11-17.

Elumeeva T.G., Soudzilovskaia N.A., During H.J., Cornelissen J.H.C. (2011). The importance of colony structure versus shoot morphology for the water balance of 22 subarctic bryophyte species. *Journal of Vegetation Science*. **22**: 152–164.

Ennos R.A. (1990). Population genetics of bryophytes. *Trends Ecol. Evol.*, **5**: 38–39.

Fan X.W., Li F.M., Song L., Xiong Y.C., An L.Z., Jia Y., Fang, X.W. (2009). Defense strategy of old and modern spring wheat varieties during soil drying. *Physiologia Plantarum*, 136: 310–323. [https://doi.org/ 10.1111/j.1399-3054.2009.01225.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01225.x)

Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., Basra S.M.A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(1): 185–212.

Fernández J.A , Aboal J.R., Carballeira A. (2000). Use of native and transplanted mosses as complementary techniques for biomonitoring mercury around an industrial facility. *Science of The Total Environment*, 256(2–3): 151–161. doi:10.1016/S0048-9697(00)00478-2

Foyer C.H., Harbinson J. (1999). 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., 305–325.

Foyer C.H., Noctor G. (2000). Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. *New Phytol.*, 146: 359–388.

Francis F.J. (1982). Analysis of anthocyanins. In: Frahm J.P. Anthocyanins as Food Colors. Ed. Markakis P. Academic Press, 181–207.

Frank W., Decker E. L., Reski R. (2005). Molecular tools to study *Physcomitrella paten*. *Plant Biol.*, 7: 220–227.

Fujita Y., Takahashi Y., Kohchi T., Ozeki H. (1989). Identification of a novel nifH-like (frxC) protein in chloroplasts of the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant Molecular Biology*, 13: 551–561.

Garbary D.J., Miller A.G., Scrosati R., Kim K., Schofield W.B. (2008). Distribution and salinity tolerance of intertidal mosses from Nova Scotia. *The Bryologist*, 111: 282–291. doi: 10.1639/0007-2745(2008)111 [282:DASTOI]2.0.CO;2

Gimingham C.H., Robertson E. T. (1950). Preliminary investigations on the structure of bryophytic communities. *Transaction of British Bryological Society*. 1: P. 330–344.

Glime J.M. (2007). Bryophyte ecology. Vol. 1. Physiological ecology. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. <http://www.bryocol.mtu.edu/> (accessed 23 September 2021).

Glime J.M. (2019). Bryophyte ecology. Vol. 1. Physiological ecology. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Website: <http://digitalcommons.mtu.edu/bryophyte-ecology1/> [accessed 7 January 2019].

Greenwood J.L., Chiquoine L., Stark L.R. (2019). Effects of rate of drying, life history phase, and ecotype on the ability of the moss *Bryum argenteum* to survive desiccation events and the influence on conservation and selection of material for restoration. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7: 388.

Greenwood J.L., Stark L.R. (2014). The rate of drying determines the extent of desiccation tolerance in *Physcomitrella patens*. *Functional Plant Biology*, **41**(5): 460–467.

Grimes G.W., Aufderheide K.J. (1991). Cellular aspects of pattern formation: the problem of assembly. *Monographs in Developmental Biology*. Karger, Basel. **22**:1–94. doi:10.2307/3226727.

Guan, L. M., & Scandalios, J. G. (2000). Hydrogen-peroxide-mediated catalase gene expression in response to wounding. *Free Radical Biology and Medicine*, **28**(8): 1182–1190. doi: 10.1016/s0891-5849(00)00212-4

Gupta K.J., Igamberdiev A.U. (2015). Compartmentalization of reactive oxygen species and nitric oxide production in plant cells: An overview. In: Gupta, K. J., Igamberdiev, A. U. (Eds.). *Reactive Oxygen and Nitrogen Species Signaling and Communication in Plants*, Signaling and Communication in Plants. Springer, Heidelberg; New York Dordrecht; London, 1–14. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-10079-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-10079-1_1)

Guschina I.A., Harwood J.L., Smith M. et. al. (2002). Abscisic acid modifies the changes in lipids brought about by water stress in the moss *Atrichum androgynum*. *New Phytologist*. **156**: 255–264.

Handerson I.K., Jacobsen S.C. (2007). Epigenetic inheritance in plants. *Nature*, **447**:418–424. doi: 10.1038/nature05917.

Hanson D., Andrews T.J., Badger M.R. (2002). Variability of the pyrenoid-based CO<sub>2</sub> concentrating mechanism in hornworts (Anthocerotophyta). *Funct. Plant Biol.*, **29**: 407–416.

Hanson D.T., Rice S.K. (2014). *Photosynthesis in Bryophytes and Early Land Plants*. E-Book Springer.

Hasanuzzaman M., Borhannuddin Bhuyan M. H. M., Zulfiqar F., Raza A., Mohsin M. S., Mahmud J. A., Fujita M. & Fotopoulos V. (2020). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. *Antioxidants*, **9**, 681. doi:10.3390/antiox9080681

Hasse T. (2007). *Campylopus introflexus* invasion in a dune grassland: Succession, disturbance and relevance of existing plant invader concepts. *Herzogia*. **20**: 305-315.

Hatanaka R., Sugawara Y. (2010). Development of desiccation tolerance and vitrification by preculture treatment in suspension-cultured cells of the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Planta*, **231**: 965–976.

Heber U., Bilger W., Bligny R., Lange O.L. (2000). Phototolerance of lichens, mosses and higher plants in an alpine environment analysis of photoreactions. *Planta*, **211**: 770–780.

Helena M., Carvalho C. (2008). Drought stress and reactive oxygen species. Production, scavenging and signaling. *Plant Signaling & Behavior*. **3**: 156–165. doi: 10.4161/psb.3.3.5536

Herben T., Wágnerová M. (2004). Effects of bryophyte removal and fertilization on established plants in a mountain grassland: Changes of a fine-scale spatial pattern. *Lindbergia*, **29**: 33–39.

Hiss M., Laule O., Meskauskiene R.M., et al. (2014). Large-scale gene expression profiling data for the model moss *Physcomitrella patens* aid understanding of developmental progression, culture and stress conditions. *The Plant Journal*, **79**: 530–539. doi: 10.1111/tpj.12572

Hodgetts N.G., Söderström L., Blockeel T.L. et al. (2020). An annotated checklist of bryophytes of Europe, Macaronesia and Cyprus. *Journal of Bryology*. V. **42**(1): 1–116. doi.org/10.1080/03736687.2019.1694329

Holliday R. (2002). Epigenetics comes of age in the twenty first century. *Journal of Genetics*, **81**(1): 1–4. doi: 10.1007/BF02715863

Holliday R. (2005). DNA Methylation and Epigenotypes. *Biochemistry (Moscow)*. Translated from *Biokhimiya*, **70**: 500–504.

Holliday R. (2006). Epigenetics: a historical overview. *Epigenetics*, **1**(2): 76–80. doi:10.4161/epi.1.2.2762 [PMID].

Hollósy F. (2002). Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micronutrients*, **33**(2): 179–197. doi: 10.1016/s0968-4328(01)00011-7

Hooper J.K., Eggink L.L., Chen M. (2007). Chlorophylls, ligands and assembly of light-harvesting complexes in chloroplasts. *Photosynthesis Research*, **94**(2): 387–400.

Huang T, Jander G. (2017). Abscisic acid-regulated protein degradation causes osmotic stress-induced accumulation of branched-chain amino acids in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, **246**(4): 737–747. doi: 10.1007/s00425-017-2727-3

Hung S.-H., Yu C.-W., Lin C.H. (2005). Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, **46**: 1–10.

Imhof A. (2006). Epigenetic regulation and histone modification. *Oxford Journ.*, **5**: 222–227.

Imhoft A., Bonaldi T. (2005) “Chromatomics” the analysis of the chromatome. *Molecular BioSystems*, **1**: 112–116.

Jablonka E., Lamb M.J. (1998). Epigenetic Inheritance and Evolution. *J. Evol. Biol.*, **11**(2): 159–183.

Jablonka E., Lamb M.J. (2014). Evolution in Four Dimensions: Genetic, Epigenetic, Behavioral, and Symbolic Variation in the History of Life. *A Bradford Book*. The MITT Pres. Series. Eds. Sterelny K., Wilson R.A. Cambridge, Massachusetts; London, England, 563 p. doi:10.1186/1475-925X-4-68

Jiang M, Zhang J. (2002). Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. *The Journal of Experimental Botany*. **53**: 2401–2410. doi:10.1093/jxb/erf090

Jiroutova P., Kovalikova Z., Toman J. et al. (2021). Complex Analysis of antioxidant Activity, Abscisic Acid Level, and Accumulation of Osmotica in

Apple and Cherry In Vitro Cultures under Osmotic Stress. *Int. J. Mol. Sci.* **22**(15): 7922–7937. doi:10.3390/ijms22157922

Jovanovic S.V. (1994). Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, **116**(11): 4846–4851. <https://doi.org/10.1021/ja00090a032>

Jules E.S., Shaw J. (1994). Adaptation to metal-contaminated soils in populations of the moss, *Ceratodon purpureus*: vegetative growth and reproductive expression. *American Journal of Botany*, **81**: 791–797.

Kacperska A. (2004). Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: Do they depend on stress intensity? *Physiologia Plantarum*, **122**(2): 159–168. doi:10.1111/j.0031-9317.2004.00388.x

Karpets Yu.V. (2019). Donors of nitric oxide and their application for increase in plants resistance to action of abiotic stressors. *The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology*, **3**(48): 28–51. <https://doi.org/10.35550/vbio2019.03.028>

Karpets Y.V., Kolupaev Y.Y. (2008). The participation of reactive oxygen species in the plants heat resistance induction at the short-term hardening by superoptimum temperatures. *Materials Int. Conf. "Bioecological problems and means of solution" (May 15-18. – 2008. Saransk. Russia)*. – Saransk, 202–203.

Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Vayner A.A. (2015). Functional interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide during formation of wheat seedling induced heat resistance. Russ. *The Journal of Plant Physiology*, **62**(1): 65–70. <https://doi.org/10.1134/S1021443714060090>

Karpets Yu.V., Kolupae Yu.E., Yastreb T.O., Oboznyi A. I. (2015b). Effects of NO-status modification, heat hardening, and hydrogen peroxide on the activity of antioxidant enzymes in wheat seedlings. Russ. *The Journal of Plant Physiology*, **62**(3): 292–298. <https://doi.org/10.1134/S1021443715030097>

Kaur S., Rao A., Kumar S.S. (2010). Study on some of the contents of some bryophytes-II. *Musci. Inter. J. Pharmac. Sciences Rev. and Res.*, **5**(3): 80–83.

Kavi Kishor P.B., Sangam S., Amrutha R.N., Sri Laxmi P., Naidu K.R., Rao K. R.S.S., Rao S., Reddy K.J., Theriappan P., Sreenivasulu N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Sciences*, **88**: 424–438.

Khan M.I.R., Khan N.A. (2017). Reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: role and regulation under abiotic stress. Singapore: Springer, 329 p. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5>

Khan T. A., Fariduddin Q. & Yusuf M. (2017). Low-temperature stress: is phytohormones application a remedy? *Environmental Science and Pollution Research.*, **(24)**27: 21574–21590. doi: 10.1007/s11356-017-9948-7

Khorobrykh A. (2019). Hydrogen Peroxide and Superoxide Anion Radical

Photoproduction in PSII Preparations at Various Modifications of the Water-Oxidizing Complex. *Plants*, **(8)9**: 329–340. <https://doi.org/10.3390/plants8090329>

Kimura M., Umemoto Y., Kawano T. (2014). Hydrogen peroxide-independent generation of superoxide by plant peroxidase: hypotheses and supportive data employing ferrous ion as a model stimulus. *Frontiers in Plant Sci.*, **5**: 285–296. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00285>

Kingham K. I., Duckett J. G., Gazdova Blanka., Kovarik Ales., Bezdek Milan., Leitch Andrew R. (1998). The role of DNA methylation on nuclear and cell differentiation in the filamentous caulonema of the moss *Funaria hygrometrica*. *New Phytologist*, **138**: 567–577.

Klinck J. (2010). Invasive Alien Species Fact Sheet – *Campylopus introflexus*. The Online Database of the North European and Baltic Network on Invasive Alien Species – NOBANIS <http://www.nobanis.org/> accessed 04.08.2017.

Koster K.L., Balsamo R.A., Espinoza C., Oliver M.J. (2010). Desiccation sensitivity and tolerance in the moss *Physomitrella patens*: Assessing limits and damage. *Plant Growth Regulation*, **62**: 293–302.

Kovács Z., Simon-Sarkadi L., Vashegyi I., Kocsy G. (2012). Different accumulation of free amino acids during short- and long-term osmotic stress in wheat. *The Scientific Word Journal*, **8(3)**: 243–258. <https://doi.org/10.1100/2012/216521>

Krishnan N., Dickman M.B., Becker D.F. (2008). Proline modulates the intracellular redox environment and protects mammalian cells against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, **44**: 671–681. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.10.054

Kusk K.O. (2002). Effects of crude oil and aromatic hydrocarbons on the photosynthesis of three species of *Acrosiphonia* grown in the laboratory. *Botanica Marina*, **23(9)**: 587–593.

Kyyak N.Y. 2022. Metabolism of carbohydrates and activity of the antioxidant system in mosses on the post-technogenic salinized territory. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, **13(2)**: 189–196. doi: <https://doi.org/10.15421/022224>

Kyyak N.Y., Baik O.L. (2016). Role of the bryophyte cover in accumulation of organic carbon and biogenic elements in technogenic substrate on the territory of sulphur deposit. *Біологічні студії / Studia Biologica*, **10(3–4)**: 71–82. <https://doi.org/10.30970/sbi.1003.495>

Kyyak N.Ya., Kyyak V.H. (2019). Mechanisms of maintenance of cytoplasmic osmotic homeostasis in bryophytes cells under salinity stress. *Біологічні Студії/Studia Biologica*, **13(2)**: 55–66.

Kyyak N.Y., Lobachevska O.V., Rabyk I. V., Kyyak V. H. (2020). Role of the bryophytes in substrate revitalization on the post-technogenic salinized territory. *Biosystem Diversity*, **28(4)**: 419–425. doi: <https://doi.org/10.15421/012054>



Labra M., Ghiana A., Atterio S. et al. (2002). Analysis of cytosine methylation pattern in response to water deficit in pea root tips. *Plant Biol. (Stuttgart)*, **4**: 694–699. <https://doi.org/10.1055/s-2002-37398>

Labudda M. (2018). Ascorbate-glutathione pathway as an important player in redox regulation in nematode-infested plants: What we have learned so far. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **103**: 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.04.007>.

Lavid N., Schwartz A., Yarden O. (2001). The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of the waterlily (Nymphaeaceae). *Planta*, **212**: 323–331

Leung D. (2018). Studies of Catalase in Plants Under Abiotic Stress. In: Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plant, 7–39. doi:10.1007/978-3-319-75088-0\_2

Li J., Li X., Chen C. (2014). Degradation and reorganization of thylakoid protein complexes of *Bryum argenteum* in response to dehydration and rehydration. *The Bryologist*, **117**(2): 110–118. doi: 10.1639/0007-2745-117.2.110

Li Z., Liang Y., Yuan Y., Wang L., Meng X., Xiong G., et al. (2019). Regulates Shoot Gravitropism and Rice Tiller Angle through Affecting LAZY1 Nuclear Localization. *Mol. Plant*, **12**: 143–1156. 10.1016/j.molp.2019.05.014

Li P., Cai Q., Wang H., Li S., Cheng J., Li H., Yu Q., Wu S. (2020). Hydrogen peroxide homeostasis provides beneficial micro-environment for SHR-mediated periclinal division in *Arabidopsis* root. *New Phytologist*, **228**(6): 1926–1938. doi:10.1111/nph.16824

Liang Y., Li X.-S., Jing Z., Lu Z. et al. (2021). Dehydration rates impact physiological, biochemical and molecular responses in desert moss *Bryum argenteum*. *Environmental and Experimental Botany*, **183**: 1043–1046. doi:10.1016/j.envexpbot.2020.104346

Ligrone R., Duckett J.G., Renzaglia K.S. (2000). Conducting tissues and phyletic relationships of bryophytes. *Philosoph. Trans. Roy. Soc. London B.*, **355**(1398): 795–813.

Liu B.-Y., Lei C.-Y., Jin J.-H., Guan Y.-Y., Li S., Zhang Y.-S., Liu W.-Q. (2016). Physiological responses of two moss species to the combined stress of water deficit and elevated N deposition (II): Carbon and nitrogen metabolism. *Ecology and Evolution*, **6**: 7596–7609. doi: 10.1002/ece3.2521

Liu W., Xu J., Fu W., Wang X., Lei C., Chen Y. (2019). Evidence of stress imprinting with population-level differences in two moss species. *Ecology and Evolution*, **9**(11): 6329–6341. doi: 10.1002/ece3.5205

Lobachevska O., Kyjak N., Khorokavtsiv O., Dovgalyuk A., Kit N., Klyuchivska O., Stoika R., Ripetsky R., Cove D. (2005). Influence of metabolic stress on the inheritance of cell determination in the moss, *Pottia intermedia*. *Cell Biol. International*, **29**: 181–186.

Lobachevska O.V., Kyyak N.Y., Rabyk I.V. (2019). Ecological and physiological peculiarities of bryophytes on the post-technogenic salinized territory. *Biosystems Diversity*, **27**(4): 342–348. doi: <https://doi.org/10.15421/011945>

Longton R.E. (1976). Reproductive biology and evolutionary potential in bryophytes. *J. Hattori Bot. Lab.*, **41**: 205–223.

Longton R.E. (1992). The role of bryophytes and lichens in terrestrial ecosystems. In: *Bryophytes and Lichens in a Changing Environment*. Eds. Bates J. W., Farmer A.M.. Clarendon Press, Oxford: 32–76.

Longton R.E. (1997). Reproductive biology and life-history strategies. *Adv. Bryol.*, **6**: 65–102.

Longton R.E. (2006). Reproductive ecology of bryophytes: what does it tell us about the significance of sexual reproduction. *Lindbergia*, **31**: 16–23.

Longton R.E., Schuster R.M (1983). Reproductive biology. *New Manual of Bryology* Ed. Schuster R.M. **1**. Hattori Botanical Laboratory: Nichinan, Japan, 386–462.

Lovelock C.E., Robinson S.A. (2002). Surface reflectance properties of Antarctic moss and their relationship to plant species, pigment composition and photosynthetic function. *Plant Cell and Environment*, **25**: 1239–1250.

Lowry O.A., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.I. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**(1): 265–275.

Luger K., Mäder A.W., Richmond R.K., Sargent D.F., Richmond T.J. (1997). Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature*, **389**: 251–260.

Luo J., Huang C., Peng F., Xue X., Wang T. (2017). Effect of salt stress on photosynthesis and related physiological characteristics of *Lycium ruthenicum* Murr. *Acta Agriculturae Scandinavica. Section B – Soil & Plant Science*, **67**(8): 680–692.

Lushai G., Loxdale H. (2002). The biological improbability of a clone. *Genet. Res.*, **79**: 1–9. doi: [10.1038/38444](https://doi.org/10.1038/38444).

Mägdefrau K. (1982). Life-forms of bryophytes. *Bryophyte ecology*. – London: New York, 45–58.

Malik G., Dangwal M., Kapoor S., Kapoor M. (2012). Role of DNA methylation in growth and differentiation in *Physcomitrella patens* and characterization of cytosine DNA methyltransferases. *FEBS Journal*, **279**: 4081–4094. doi: [10.1111/febs.12002](https://doi.org/10.1111/febs.12002)

Marschall M., Proctor M.C. (2004). Are Bryophytes Shade Plants? Photosynthetic Light Responses and Proportions of Chlorophyll a, Chlorophyll b and Total Carotenoids. *Annals of Botany*, **94**: 593–603.

Masaki U., Muraoka H., Nakatsubo T., Bekku Y., Ueno T., Kanda H., Koizumi H. (2002). Net Photosynthesis, Respiration, and Production of the Moss *Sanionia uncinata* on a Glacier Foreland in the High Arctic, Ny-Alesund, Svalbard. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, **34**: 287. doi: [10.2307/1552486](https://doi.org/10.2307/1552486)

Mayr E. (1992). A local flora and the biological species concept. *American Journal of Botany*, **79**: 222–238. doi: 10.1002/J.1537-2197.1992.TB13641.X

McKersie B.D. (1991). The role of oxygen free radicals in mediating freezing and desiccation stress in plants. Eds. Pell E., Staffen K. Current topics in plant physiology. **8**. Active oxygen and oxidative stress in plant metabolism. Rockville: *American society of plant physiologists*, 107–118.

Medina–Andres R., Solano–Peralta A., Saucedo–Vazquez J.P. et. al. (2015). The Nitric Oxide production in the moss *Physcomitrella patens* is mediated by nitrate reductase. *PLoS ONE*, **10**(3): 1–15.

Mehr Z., Khajeh H., Bahabadi S., Sabbagh S. (2012). Changes on proline, phenolic compounds and activity of antioxidant enzymes in *Anethum graveolens* L. under salt stress. *International journal of Agronomy and Plant Production*, **3**: 710–715.

Michalak A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, **15**: 523–530.

Michel P., Leel W.G., During H.J., Cornelissen J.H.C. (2012). Species traits and their non-additive interactions control the water economy of bryophyte cushions. *J. of Ecol.*, **100**(1): 222–231.

Miller G., Shulaev V., Mittler, R. (2008). Reactive oxygen signaling and abiotic stress. *Physiologia Plantarum*, **133**(3): 481–492. doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01090.x

Mishler B.D. (1988). Reproductive ecology of bryophytes. *Plant Reproductive Ecology, Patterns and Strategies*. Eds. Lovett Doust J., Lovett Doust L. Oxford Univer. Press, New York, 285–306.

Mishler B.D. (2001). Bryophytes aren't just small tracheophytes. *Am. J. Bot.*, **88**(11): 2129–2131.

Mishler B.D. (2003). The biology of bryophytes, with special reference to water. *Fremontia*, **3**(3): 34–38.

Mishra S., Dubey R.S. (2006). Inhibition of ribonuclease and protease activities in arsenic exposed rice seedlings: role of proline as enzyme protectant. *Journal of Plant Physiology*, **163**(9): 927–936. doi: 10.1016/j.jplph.2005.08.003

Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V.B., Vandepoele K., Gollery M., Shulaev V., Breusegem F.V. (2011). ROS signaling: the new wave? *Trends in Plant Science*, **16**: 300–309. doi:10.1016/j.tplants.2011.03.007

Molinier J., Ries G., Ziptel C., Hohn B. (2006). Transgeneration memory of stress in plants. *Nature*, **442**: 1046–1049. doi: 10.1038/nature05022

Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity *Songklanakar J. Sci. Technolog.*, **26** (2): 211-219.

Munns R., Tester M. (2008). Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, **59**(1): 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>

Nakano Y., Asada K. (1981). Hydrogen Peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, **22**(5): 867–880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>

Nagao M., Minami A., Arakawa K., Fujikawa S., Takezawa, D. (2005). Rapid degradation of starch in chloroplasts and concomitant accumulation of soluble sugars associated with ABA-induced freezing tolerance in the moss *Physcomitrella patens*. *Journal of Plant Physiology*, **162**(2): 169–180. doi: 10.1016/j.jplph.2004.06.012

Neill S.J., Desikan R., Clarke A., Hurst R.D., Hancock J.T. (2002). Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. *Journal of Experimental Botany*, **53**(372): 1237–1247. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11997372>

Neill S.J., Gould K.S., Kilmartin P.A. (2002). Antioxidant activities on red versus green leaves in *Elatostema rugosum*. *Plant, Cell and Environment*, **25**: 539–547. doi:10.1046/j.1365-3040.2002.00837.x

Neill S., Desikan R., Hancock J. (2002). Hydrogen peroxide signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, **5**: 388–395. doi:10.1016/S1369-5266(02)00282-0

Newton A.E., Cox C.J., Duckett J.G. et al. (2000). Evolution of the major moss lineages: phylogenetic analyses based on multiple gene sequences and morphology. *Bryologist*, **103**(2): 187–211.

Newton A.E., Mishler B.D. (1994). The evolutionary significance of asexual reproduction in mosses. *J. Hattori Bot. Lab.*, **76**: 127–145.

Nick P., Han M.-J., An G. (2009). Auxin stimulates its own transport by shaping actin filaments. *Plant Physiology*. **151**: 155–167. doi: 10.1104/pp.109.140111

Okawa M., Kinjo J., Nohara T., Ono M. (2001). DPPH ( 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medical plants. *Biol. Pharm. Bull.*, **24**(10): 1202–1205.

Okuma E., Murakami Y., Shimoishi Y., Tada M., Murata M. (2004). Effects of exogenous application of proline and betaine on the growth of tobacco cultured cells under saline conditions. *Soil Science and Plant Nutrition*, **50**(8): 1301–1305. doi: 10.1080/00380768.2004.10408608

Oliver M.J., Tuba Z., Mishler B.D. (2000). The evolution of vegetative desiccation tolerance in land Plants. *Plant Ecol.*, **151**: 85–100.

Oliver M.J., Velten J., Mishler B.D. (2005). Desiccation-tolerance in Bryophytes: A Reflection of the Primitive Strategy for Plant Survival in Dehydrating Habitats? *Interg. Comp. Biol.*, **45**: 788–799.

Oliver M.J., Velten J., Wood A.J. (2000). Bryophytes as experimental models for the study of environmental stress tolerance: *Tortula ruralis* and desiccation-tolerance in mosses. *Plant Ecol.*, **151**: 7–84.

Paciolla C., Tomassi F. (2003/2004). The ascorbate system in two bryophytes: *Brachytecium velutinum* and *Marchantia polymorpha*. *Biologia plantarum*, **47**(3): 387–393.

Panda S.K. (2000). Heavy metal phytotoxicity induces oxidative stress in moss, *Taxithelium* sp. *Current Science*, **84**: 631–663.

Pandey P., Singh J., Achary V.M.M. Reddy M.K. (2015). Redox homeostasis via gene families of ascorbate-glutathione pathway. *Frontiers in Environmental Science*, **3**(25): 65–77. doi: 10.3389/fenvs.2015.00025

Parida A.K., Das A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **60**: 324–349.

Pękal A., Pyrzyńska K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, **7**: 1776–1782. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>

Phillips J.R., Oliver M.J., Bartels D. (2002). Molecular genetics of desiccation tolerant systems In: *Desiccation and Survival in Plants: Drying Without Dying*. Eds. Black M., Pritchard H.W. Wallingford: CABI Publishing, 341 p.

Pikaard C. S., Scheid O. M. (2014). Epigenetic Regulation in Plants. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, **4**(6): 1–33. doi: 10.1101/cshperspect.a019315

Pohjamo M., Laaka-Lindberg S., Ovaskainen O. et al. (2006). Dispersal potential of spores and asexual propagules in the epixylic hepatic *Anastrophyllum hellerianum*. *Evol. Ecol.*, **20**: 415–430.

Pouliot R., Rochefort L., Graf M. (2012). Impacts of oil sands process water on fen plants: Implication for plant selection in required reclamation projects. *Environmental Pollution*, **167**: 132–137. doi: 10.1016/j.envpol.2012.03.050

Prasad T.K., Anderson M.D., Stewart C.R. (1994). Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings. *Plant Physiology*, **105**: 619–627. doi: 10.1104/pp.105.2.619

Pressel S., Duckett J.D. (2010). Cytological insights into the desiccation biology of a model system: moss protonemata. *New Phytologist*, **185**: 944–963.

Pressel S., Ligrone R., Duckett J. (2006). Effects of de- and rehydration on food-conducting cells in the moss *Polytrichum formosum*: a cytological study. *Annals of Botany*, **98**: 67–76. doi: 10.1093/aob/mcl092

Proctor M.C.F. (1984). Structure and ecological adaptation. *The Experimental Biology of Bryophytes*. Eds. Dyer A.F., Duckett, J.G. Academic Press, London, 9–37.

Proctor M.C.F. (2000). Mosses and alternative adaptation to life on land. *New Phytol.*, **148**: 1–6.

Proctor M.C.F. (2000). The bryophyte paradox: tolerance of desiccation, evasion of drought. *Plant Ecol.*, **151**: 41–49.

Proctor M.C.F. (2001). Patterns of desiccation tolerance and recovery in bryophytes. *Plant Growth Regulation*, **35**: 147–156.

Proctor M.C.F. Physiological ecology. (2009). *Bryophyte Biology*. Second Edition. Eds. Coffinet B., Shaw A.J. Cambridge: Cambridge University Press, 237–269.

Proctor M.C.F., Pence V.C. (2002). Vegetative tissues: Bryophytes, vascular 'resurrection plants' and vegetative propagules. In: *Desiccation and plant survival*. Eds Pritchard H., Black M., Wallingford, UK: CABI Publishing, 207–237.

Proctor M.C.F., Oliver M.J., Wood A.J., Alpert P., Stark L.R., Cleavitt N.L., Mishler B.D. (2007). Desiccation tolerance in Bryophytes: *A review*, *Bryologist*, **110**: 595–621.

Proctor M.C.F., Tuba Z. (2002). Poikilohidry and homoiohidry: antithesis or spectrum of possibilities. *New Phytologist*, **156**: 327–349.

Pypker T.G., Unsworth M.H., Bond B.J. (2006). The role of epiphytes in rainfall interception by forests in the Pacific Northwest. I. Laboratory measurements of water storage. *Canadian Journal of Forestry Research*, **36**: 809–818.

Rabyk I.V., Lobachevska O.V., Kyyak N.Y., Shcherbachenko O.I. (2018). Bryophytes on the devastated territories of sulphur deposits and their role in restoration of dump substrate. *Biosystems Diversity*, **26**(4): 339–353. doi:10.15421/011850

Rai V. (2002). Role of amino acids in plant responses to stresses. *Biologia Plantarum*, **45**: 481–487. <https://doi.org/10.1023/A:1022308229759>

Rajendrakumar C.S.V., Reddy B.V., Reddy A.R. (1994). Prolineprotein interactions: protection of structural and functional integrity of M4 lactate dehydrogenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **201**: 957–963.

Rampitsch C., Srinivasan M. (2006). The application of proteomics to plant biology: A review. *Can. J. Bot.* **84**(6): 883–892. doi:10.1139/b06-061

Rastorfer J.R. (1970). Effects of Light Intensity and Temperature on Photosynthesis and Respiration of Two East Antarctic Mosses, *Bryum argenteum* and *Bryum antarcticum*. *The Bryologist*, **73**(3): 544–556.

Razgulyaeva L.V., Napreenko M.G., Wolfram Ch., Ignatov M.S. (2001). *Campylopus introflexus* (Dicranaceae, Musci) – an addition to the Moss Flora of Russia. *Arctoa*, **10**: 185–189.

Reed S.C., Coe K.K., Sparks J.P., Housman D.C., Zelikova T.J., Belnap J. (2012). Changes to dryland rainfall result in rapid moss mortality and altered soil fertility. *Nature Climate Chang*, **2**: 752–755.

Ren X., Wang M., Wang Y., Huang A. (2021). Superoxide anion generation response to wound in *Arabidopsis* hypocotyl cutting. *Plant Signaling & Behavior*, **16**(2): 27–58. <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1848086>

Renzaglia K.S., Schuette S., Duff R.J. et al. (2007). Bryophyte phylogeny: Advancing the molecular and morphological frontiers. *Bryologist*, **110**(2): 179–213.

Reski R. (1998). *Physcomitrella* and *Arabidopsis* – the David and Goliath of reverse genetics. *Trends Plant Sci.*, **3**: 209–210.

Reski R. (2003). *Physcomitrella patens* as a Novel Tool for Plant Functional Genomics. In: *Plant Biotechnology 2002 and Beyond: Proceedings of the 10 th IAPTC&B Congress (June 23–28, 2002)* Ed. Vasil I.K. Orlando, Florida, Usa: Kluwer Academic Publishers, 205–208.

Richards P.W. (1984). The ecology of tropical forest bryophytes. *New Manual of Bryology. Nichinan: The Hattori Botanical Laboratory*, **2**: 1233–1270.

Richardson D.H.S. (1981). The biology of mosses. Blackwell scientific publication. Oxford; London; Edinburgh; Boston, 220 p.

Riener C.K., Kada G., Gruber H.J. (2002). Quick measurement of protein sulfhydryls with Ellman's reagent and with 4,4'-dithiopyridine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **373**(4–5): 266–276.

Rigler R. (2006). Acridine orange in nucleic acid analysis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **157**(1): 211–224. doi:10.1111/j.1749-6632.1969.tb12660.x

Ringen D. The role of moss in facilitating natural revegetation of metal-contaminating sites during primary succession [Электронный ресурс]. Режим доступа: [www.bioed.org/ibscore/](http://www.bioed.org/ibscore/)

Ripetsky R.T., Kit N.A. (1998). Stability of cell determination in moss development. *Abstract of International conference of plant ontogenesis in natural and transformed environments*, Lviv, Ukraine, July 1–4, 1998. Proceedings, 100–101.

Ripetsky R.T.; Kit N.A.; Chaban Ch.I. (1999). Influence of gravity on the photomorphism of secondary moss protonemata. *Advances in Space Research.*, **23**(12): 2005–2010. doi: 10.1016/s0273-1177(99)00350-6

Rivero R.M., Ruiz J.M., Garcia P.C. et al. (2001). Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science*, **160**(1): 315–321.

Rixen C., Mulder C.P.H. (2005). Improved water retention links high species richness with increased productivity in arctic tundra moss communities. *Oecologia*, **146**: 287–299.

Ross B.A., Webster G.R. D.H., Vitt D. (1984). The role of mosses in reclamation of brine spills in forested areas. *J. Can. Petroleum Technology*, **23**(6): 1–5.

Rothe G. (1972). Unterschiede im Enzymmuster von Prototnemata, Moospflänzchen, Sporogon und Kallus der Laubmooskreuzung *Funaria hygrometrica* x *Physcomitrella piriforme*. *Beitrage zur Biologie der Pflanzen*, **48**: 433–444.

Roux S.J., Chatterjee A., Hillier Rouhier N., Lemaire S.D., Jacquot J.P. (2008). The role of glutathione in photosynthetic organisms: emerging functions for glutaredoxins and glutathionylation. *Annual Review in Plant Biology*, **59**: 143–166.

Rowntree J.K., Duckett J.G., Mortimer C.L. et al. (2007). Formation of Specialized Propagules Resistant to Desiccation and Cryopreservation in the Threatened Moss *Ditrichum plumbicola* (Ditrichales, Bryopsida). *Annals of Botany*, **100**: 483–496.

Sabovljević M., Sabovljević A. (2007). Contribution to the coastal bryophytes of the Northern Mediterranean: Are there halophytes among bryophytes? *Phytologia Balcanica*, **13**(2): 131–135.

Sadasivam S., Manickam A. (2007). Biochemical methods. *New Age International*. 284 p.

Sade N., Umnajkitikorn K., Wilhelmi M., Wright M., Wang S., Blumwald E. (2018). Delaying chloroplast turnover increases water-deficit stress tolerance through the enhancement of nitrogen assimilation in rice. *Journal of Experimental Botany*, **69**(4): 867–878.

Sánchez F.J., Manzanares M., de Andres E.F., Tenorio J., Ayerbe L. (1998). Turgor Maintenance, Osmotic Adjustment and Soluble Sugar and Proline Accumulation in Pea Cultivars in Response to Water Stress. *Field Crop Res.*, **59**: 225–235.

Scandalios J.G. (1979). Control of gene expression and enzyme differentiation. *Physiol. Genetics*. New York; ets. Academic press: 64–105.

Scandalios J. G. (2005). Oxidative Stress: Molecular Perception and Transduction of Signals Triggering Antioxidant Gene Defenses. *Braz. J. Med. And Biol. Res.*, **38**(7): 995–1014.

Schmitt F. J., Renger G., Friedrich T., Kreslavski V. D., Zharmukhamedov S. K., Los D. A., Kuznetsov V. V., & Allakhverdiev S. I. (2014). Reactive oxygen species: re-evaluation of generation, monitoring and role in stress-signaling in phototrophic organisms. *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*, **1837**(6): 835–848. doi: 10.1016/j.bbabi.2014.02.005

Seel W.E., Hendry G.A.F., Lee J.A. (1992). Effects of desiccation on some activated oxygen processing enzymes and anti-oxidant in mosses. *Journal of Experimental Botany*, **43**: 1031–1037.

Shaposhnikov G.K. (1966). Origin and breakdown of reproductive isolation and the criterion of the species. *Entomological Rev.*, **45**: 1–18.

Shaw A.J. (1990). Intraclonal variation in morphology, growth rate, and copper tolerance in the moss, *Funaria hygrometrica*. *Society for the Study of Evolution*, **44**(2): 441–447. doi: 10.1093/aob/mcw131.

Shaw A.J. (2000). Population ecology, population genetics and microevolution. *Bryophyte Biology*. Eds. Shaw A.J., Goffinet B. Cambridge University Press, Cambridge, 369–402.

Shaw J., Jules E.S., Beer S.C. (1991). Effects of Metals on Growth, Morphology, and Reproduction of *Ceratodon purpureus*. *Bryologist*, **94**(3): 270–277.



Shaw J., Renzaglia K. (2004). Phylogeny and diversification of bryophytes. *American Journal of Botany* **91**(10): 1557–1581. doi: 10.3732/ajb.91.10.1557.

Shaw A.J., Szövényi P., Shaw B. (2011). Bryophyte diversity and evolution: windows into the early evolution of land plants. *Amer. J. Bot.*, **98**(3): 352–369.

Shinde S.M., Nurul Islam N., Ng C. K-Y. (2012). Dehydration stress-induced oscillations in *LEA* protein transcripts involves abscisic acid in the moss, *Physcomitrella patens*. *New Phytologist*, **195**(2): 321–328.

Siddiqui M.H., Al-Whaibi M.H., Basalah M.O. (2011). Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress. *Protoplasma*. **248**: 447–455.

Slate M.L., Sullivan B.W., Callaway R.M. (2019). Desiccation and rehydration of mosses greatly increases resource fluxes that alter soil carbon and nitrogen cycling. *Journal of Ecology*, **107**(4): 1767–1778. doi.org/10.1111/1365-2745.13162

Smirnoff N. (2000). Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule. *Current Opinions in Plant Biology*, **3**: 229–235.

Smirnoff N. (1992). The carbohydrates of bryophytes in relation to desiccation tolerance. *Journal of Bryology*, **17**: 185–191.

Smirnoff N. (2005). Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. Oxford, Blackwell Publishing Ltd, 53–86.

Smirnoff N., Arnaud D. (2019). Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. *New Phytologist*, **221**: 1197–1214. doi: 10.1111/nph.15488

Smith I.K., Vierheller T.L., Thorne C.A. (1988). Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid). *Analytical Biochemistry*. **175**: 408–413. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90564-7](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(88)90564-7)

Söderström L., During H.J. (2005). Bryophyte rarity viewed from the perspectives of life history strategy and metapopulation dynamics. *J. Bryol.*, **27**: 259–266.

Stark L.R. (2017). Ecology of desiccation tolerance in bryophytes: a conceptual framework and methodology. *Bryologist*, **120**: 130–165.

Stark L.R., Brinda J.C. (2015). Developing sporophytes transition from an inducible to a constitutive ecological strategy of desiccation tolerance in the moss *Aloina ambigua*: effects of desiccation on fitness. *Ann. Bot.*, **115**: 593–603.

Stark L.R., Brinda J.C., Greenwood J.L. (2016). Propagula and shoots of *Syntrichia pagorum* (Pottiaceae) exhibit different ecological strategies of desiccation tolerance. *Bryologist*, **119**: 181–192.

Stark L.R., Brinda J.C., McLetchie D.N., Oliver M.J. (2012). Extended periods of hydration do not elicit dehardening to desiccation tolerance in regeneration trials of the moss *Syntrichia caninervis*. *Inter. J. of Plant Sci.*, **173**: 333–343.

Stark L.R., Greenwood J.L., Brinda J.C., Oliver M.J. (2013). The desert moss *Pterygoneurum lamellatum* (Pottiaceae) exhibits an inducible ecological strategy of desiccation tolerance: effects of rate of drying on shoot damage and regeneration. *Amer. J. Bot.*, **100**(8): 1522–1531.

Stark L.R., Greenwood J.L., Slate M., Brinda J.C. (2017). *Syntrichia norvegica* shoots exhibit a complex inducible response to desiccation: separating the effects of rate of drying and water content. *Botany*, **95**: 481–491.

Steimer A., Schöb H., Grossniklaus U. (2004). Epigenetic control of plant development: new layers of complexity. *Current Opinion in Plant Biology*, **2**(7): 11–19. doi: 10.1016/j.pbi.2003.11.008

Sung D.-Y., Kaplan F., Lee K.-J., & Guy C. L. (2003). Acquired tolerance to temperature extremes. *Trends in Plant Science*, **8**(4): 179–187. doi: 10.1016/S1360-1385(03)00047-5

Suyun Shi, Gang Wang, Yading Wang et al. (2005). Protective effect of nitric oxide against oxidative stress under ultraviolet-B radiation. *Nitric Oxide*, **13**(1): 1–9.

Sveinbjörnsson B., Oechel W. C., Sveinbjörnsson B. (1981). Controls on CO<sub>2</sub> exchange in two *Polytrichum* moss species I. Field studies on the tundra near Barrow, Alaska. *Oikos.*, **36**: 114–128.

Szabados L., Savoure A. (2009). Proline: a multifunctional aminoacid. *Trends Plant Sci.*, **15**: 89–97.

Szweykowski J. (1984). Species problems and taxonomic methods in bryophytes. In: New Manual of Bryology. Eds. Schuster R.M. Nichinan, **2**: 1130–1171.

Tao Y., Zhang Y.M. (2012). Effects of leaf hair points of a desert moss on water retention and dew formation: Implications for desiccation tolerance. *J. Plant Research*, **125**: 351–360.

Tenhunen J.D., Lange O.L., Hahn S., Siegwolf R., Oberbauer S.F. (1992). The ecosystem role of poikilohydric tundra plants. In: Chapin F.S. et al.: Arctic ecosystems in a changing climate. San Diego Academic Press, 213–237.

Thakur S., Kapila S. (2017). Seasonal changes in antioxidant enzymes, polyphenoloxidase enzyme, flavonoids and phenolic content in three leafy liverworts. *Lindbergia*, **40**(5): 39–44. <https://doi.org/10.25227/linbg.01076>

Tobias M., Niinemets Ü. (2010). Acclimation of photosynthetic characteristics of the moss *Pleurozium schreberi* to among-habitat and within-canopy light gradients. *Plant Biol.*, **12**: 743–754.

Toldi O., Tuba Z., Scott P. (2009). Vegetative desiccation tolerance: is it a goldmine for bioengineering crops? *Plant Science*, **176**: 187–199.

Toth K.F., Knoch T.A., Wachsmuth M. et al. (2004). Trichostatin A-induced histone acetylation causes decondensation of interphase chromatin. *J. Cell Sci.*, **117**: 4277–4288.

Trachtenberg S., Zamski E. (1979). The apoplastic conduction of water in *Polytrichum juniperinum* Willd. Gametophytes. *New Phytol.*, **83**: 49–52.

Tuba Z. (1985). Photosynthetic pigment responses in *Tortula ruralis* during daily desiccation. *Abstracts of Botany*, **9**(2): 231–239.

Tuba Z., Csintalan Z., Proctor M.C.F. (1996). Photosynthetic responses of a moss, *Tortula ruralis* ssp. *ruralis*, and the lichens *Cladonia convoluta* and *C. furcata* to water deficit and short periods of desiccation, and their ecophysiological significance: a baseline study at present-day CO<sub>2</sub> concentration. *New Phytologist*, **133**: 353–361.

Tuba Z., Slack N.G., Stark L.R. (2011). *Bryophyte Ecology and Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, 506 pp.

Turetsky M.R. (2003). New Frontiers in Bryology and Lichenology. The Role of Bryophytes in Carbon and Nitrogen Cycling. *Bryologists*, **106**(3): 395–409.

Turetsky M.R., Bond-Lamberty B., Euskirchen E., Talbot J., Frothingham S., McGuire A.D., Tuittila E.S. (2012). The resilience and functional role of moss in boreal and arctic ecosystems. *New Phytol.*, **196**(1): 49–67.

Turner B.M. (1998). Histone acetylation as an epigenetic determination of long-term transcriptional competence. *Cell Mol. Life Sci.*, **54**: 21–31. doi: 10.1007/s000180050122

Tyagi S., Shumayla, Madhu, Singh K. (2020). Molecular characterization revealed the role of catalases under abiotic and arsenic stress in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. of Hazardous Materials*, **403**. doi:10.1016/j.jhazmat.2020.123585

Tóth K.F., Knoch T.A., Wachsmuth M. et al. (2004). Trichostatin A-induced histone acetylation causes decondensation of interphase chromatin. *J. Cell Sci.*, **117** (7): 4277–4288.

Uchida A., Jagendorf A. T., Hibino T., Takabe T., Takabe T. (2002). Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Sciences*, **163**: 515–523. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00159-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00159-0)

Urnov F.D., Wolffe A.P. (2001). Above and within the genome: epigenetics past and present. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **6**: 153–167.

Van der Velde M., During H.J., Van de Zande L., Bijlsma R. (2001). Genetic structure of *Polytrichum formosum* in relation to the breeding system as revealed by microsatellites. *J. Evol. Biol.*, **14** (2): 288–295.

Van der Velde M., During H.J., Van de Zande L., Bijlsma R. (2001). The reproductive biology of *Polytrichum formosum*: clonal structure and paternity revealed by microsatellites. *Mol. Ecol.*, **10**(10): 2423–2434.

Van Tooren B.F., Ode B., During H.J., Bobbink R. (1990). Regeneration of species richness in the bryophyte layer of Dutch chalk grasslands. *Lindbergia*, **16**: 153–160.

Vanyushin B.F. (2005). Enzymatic DNA methylation is an epigenetic control for genetic functions of the cell. *Biochemistry (Moscow)*, **70**(5): 488–499. doi: 10.1007/s10541-005-0143-y.

Vaughn K.C., Lax A.R., Duke S.O. (1988). Polyphenol oxidase: the chloroplast oxidase with no established function. *Physiol. Plant.*, **72**: 659–665.

Velten J., Oliver M.J. (2001). Tr288, a rehydrin with a dehydrin twist. *Plant Molecular Biology*, **45**: 713–722.

Vij S., Tyagi A.K. (2007). Emerging trends in the functional genomics of the abiotic stress response in crop plants. *Plant Biotech. J.*, **5**(3): 361–380.

Wada Y. (2005). Physiological functions of plant DNA methyltransferases. *Plant Biotechnology*, **22**(2): 71–80. doi:10.5511/PLANTBIOTECHNOLOGY.22.71

Wahid, A., Close, T. J. (2007). Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves. *Biologia Plantarum*, **51**: 104–109. doi:10.1007/s10535-007-0021-0

Walters C., Farrant J.M., Pammenter N.W., Berjak P. (2002). Desiccation stress and damage In: Desiccation and Plant Survival. Eds. Black M., Pritchard H.W. Wallingford: CABI Publishing, 291 p.

Wang W., Cheng Y., Chen D., Liu D. (2019). The Catalase Gene Family in Cotton: Genome-Wide Characterization and Bioinformatics Analysis. *Cells*, **8**(2): 86–114. doi:10.3390/cells8020086

Wang X., Liu Zh., He Y. (2008). Responses and tolerance to salt stress in bryophytes. *Plant Signaling & Behavior*, **3**(8): 516–518. doi: 10.4161/psb.3.8.6337

Wani K.I., Naeem M., Castroverde C.D.M., Kalaji H.M., Albaqami M., Aftab T. (2021). Molecular Mechanisms of Nitric Oxide (NO) Signaling and Reactive Oxygen Species (ROS) Homeostasis during Abiotic Stresses in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**(17): 56–96; <https://doi.org/10.3390/ijms22179656>

Werner O., Espin R.M.R., Bopp M. et al. (1991). Abscisic acid induced drought tolerance in *Funaria hygrometrica* Hedw. *Planta*, **186**: 99–103.

Winkel–Shirley B. (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiol.*, **126**(2): 485–93. doi: 10.1104/pp.126.2.485.

Wood A.J. (2007). The nature and distribution of vegetative desiccation-tolerance in hornworts, liverworts and mosses. *The Bryologist*, **110**(2): 163–177.

Wood A.J., Oliver M.J., Cove D.J. (2000). Bryophytes as Model Systems. *The Bryologist*, **103**(1): 128–133.

Wu N., Zhang Y.M., Downing A., Zhang J., Yang Ch. (2012). Membrane stability of the desert moss *Syntrichia caninervis* Mitt. during desiccation and rehydration. *Journal of Bryology*, **34**(1): 1–8. doi:http://dx.doi.org/10.1179/1743282011Y.0000000043

Wyatt R., Odrzykoski I.J., Stoneburner A. (1989). High levels of genetic variability in the haploid moss *Plagiomnium ciliare*. *Evolution*, **43**: 1085–1096.

Xiong Z.-T., Liu C., Geng B. (2006). Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **64**: 273–280.

Yaari R., Noy-Malka C. Wiedemann G. et al. (2015). DNA methyltransferase 1 is involved in CG and mCCG DNA methylation and is essential for sporophyte development in *Physcomitrella patens*. *Plant Molecular Biology*, **88**(4): 387–400. doi:10.1007/s11103-015-0328-8

Zengin F.K. (2006). The effects of  $\text{Co}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  on the contents of protein, abscisic acid, proline and chlorophyll in bean (*Phaseolus vulgaris* cv. *Strike*) seedlings. *J. Environ. Biol.* **27**(2): 441–448.

Zengin F., Kirbag S. (2007). Effects of copper on chlorophyll, proline, protein and abscisic acid level of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings. *J. Environ. Biol.*, **28**(3): 561–566.

Zhang J., Kirkham M.B. (1994). Drought-stress induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidase in wheat species. *Plant Cell Physiol.*, **35**: 785–791.

Zhang, X., Zhao, Y., & Wang, S. (2017). Responses of antioxidant defense system of epilithic mosses to drought stress in karst rock desertified areas. *The Acta Geochimica*, **36**(2): 205–212. doi: 10.1007/s11631-017-0140-z

Zhao D., Feng Z.C., Zhao Y.S. (2014). Effects of liquid water on coalbed methane adsorption characteristics based on the adsorption kinetic theory. *Journal of China Coal Society*, **39**(3): 518–523.

Živković T., Quartacci M.F., Stevanović B., Marinone F., Navari-Izzo F. (2005). Low-molecular weight substances in the poikilohydric plant *Ramonda serbica* during dehydration and rehydration. *Plant Sciences*, **168**: 105–111. doi:10.1016/j.plantsci.2004.07.018

Zulfiqar F., Ashraf M. (2021). Antioxidants as modulators of arsenic-induced oxidative stress tolerance in plants: An overview, *J. of Hazardous Materials*, **427**(H): 1–14. doi:10.1016/j.jhazmat.2021.127891





Наукове видання

Оксана Василівна ЛОБАЧЕВСЬКА, Наталія Ярославівна КИЯК, Оксана Львівна БАЇК,  
Ярослава Дмитрівна ХОРКАВЦІВ, Роман Романович СОХАНЬЧАК, Людмила Іванівна  
КАРПШНЕЦЬ, Ірина Василівна БОЙКО, Степан Володимирович БЕШЛЕЙ, Ірина  
Володимирівна РАБИК, Оксана Ігорівна ЩЕРБАЧЕНКО, Надія Андріївна КІТ

## **СТІЙКІСТЬ ТА АДАПТИВНІ СТРУКТУРНО–ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ МОХІВ ПІД ВПЛИВОМ АБІОТИЧНИХ СТРЕСОРІВ В УМОВАХ АНТРОПОГЕННО ТРАНСФОРМОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА**

Монографія

Загальна редакція:  
кандидат біологічних наук  
О.В. Лобачевської

Фото на обкладинці – *Ptychostomum imbricartulum* (Müll. Hal.)  
Holoymoak & N. Pedersen (клітини листка та пагін),  
дизайн – І. Рабик

Оригінал-макет виготовлено  
в Інституті екології Карпат НАН України  
79026, Львів, вул. Козельницька, 4

Підписано до друку 15.12.2022 р.  
Формат 60x84/16. Папір офсетний.  
Друк: принтер. Зам. №15/12-1.  
Ум. друк. арк. 16,28.  
Тираж 100 прим.

Видавництво “ГАЛИЧ-ПРЕС”  
Видавець ФОП Король І.В.  
м. Львів, вул. Гнатюка, 17  
Ел. пошта: lvivprint@ukr.net. Тел. 096-59-88-924  
Свідоцтво ДК №5353 від 24.05.2017 р.

Друк ФОП Король І.В.  
м. Львів, вул. Гнатюка, 17  
Ел. пошта: lvivprint@ukr.net. Тел. 096 59-88-924  
Код ДРФО 2814706601  
Витяг з реєстру платників єдиного податку  
№ 1713073400422 від 28.02.2017