

**СЕЗОННІ ЗМІНИ У ПІГМЕНТНОМУ КОМПЛЕКСІ МОХУ
CAMPYLOPUS INTROFLEXUS (HEDW.) BRID. НА ВЕРШИНІ
ВІДВАЛУ ШАХТИ “НАДІЯ”**

Р. Соханьчак, О. Лобачевська, С. Бешлей

*Інститут екології Карпат НАН України
вул. Стефаника, 11, Львів 79005, Україна
e-mail: stentor62@gmail.com, morphogenesis@mail.lviv.ua*

Проаналізовано особливості функціонування пігментної системи моху *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. залежно від умов місцезростань на вершині відвалу шахти “Надія” Червоноградського гірничопромислового району Львівської області. Встановлено сезонну динаміку вмісту пластидних пігментів і фотохімічної активності ізольованих хлоропластів моху під впливом несприятливих чинників техногенного середовища. Відзначено, що зменшення співвідношення хлорофілів *a/b*, збільшення вмісту хлорофілів щодо каротиноїдів в умовах пригнічення фотохімічної активності хлорофілу відіграють важливу роль у захисті фотосинтетичної системи *C. introflexus*.

Ключові слова: пластидні пігменти, фотохімічна активність хлорофілу, породи ні відвали вугільних шахт, мох *Campylopus introflexus*.

Стан навколишнього середовища у Сокальському районі на Львівщині є досить критичним, що спричинено техногенним впливом вуглевидобувної, вуглезнагачувальної 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 закладовано 42,1 млн м³ породної маси і щорічно її кількість збільшується приблизно на 1,9–2,3 млн т [2, 3, 5]. 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 [24]. 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 [13]. Цей адвентивний вид моху, що походить із Південної півкулі, надає перевагу кислим ґрунтам і швидко розростається, формуючи потужні щільні дернини [22, 23]. За короткий період *C. introflexus* значно збільшив проективне покриття на породному відвалі, окрім того, вид сприяє нагромадженню органічного вуглецю і формуванню гумусового шару субстрату [15]. Дослідження особливостей пристосування бріофітів до мікрокліматичних і едафічних умов девастрованих територій та їхньої 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. Абіоген-

ні фактори, такі як дефіцит вологи, інтенсивність освітлення, температура, склад ґрунту (засоленість, концентрація токсичних сполук, зокрема важких металів) впливають на вміст хлорофілів і каротиноїдів [4, 18]. Однак за наявності важких металів (кадмію, міді, нікелю, кобальту, цинку) кількість хлорофілу *a* та *b* зменшується [19, 25, 26]. В умовах постійної зміни вологості й температури техногенних субстратів істотно змінюється водний баланс у рослинних клітинах, що також спричиняє зниження вмісту хлорофілів [11].

Одним із показників фотохімічної активності хлоропластів є реакція Хілла. Це комплекс початкових стадій фотосинтезу, в яких мобілізовані з води електрони спрямовуються на відновлення введених у реакційну суміш акцепторів електронів [14]. Реакція Хілла є проявом впливу різноманітних чинників на процеси фотосинтезу [9], тому її часто використовують як показник загального стану фотосинтетичного апарату рослин.

Метою роботи було дослідити сезонні зміни вмісту пігментів фотосинтезу та фотохімічної активності хлоропластів моху *C. introflexus* залежно від умов породних відвалів вугільних шахт.

Матеріали та методи

Сезонні зміни функціонування пігментної системи *C. introflexus* досліджували в різних мікрокліматичних умовах вершини відвалу шахти “Надія” Червоноградського гірничопромислового району Львівської області. Кількісний вміст хлорофілів й каротиноїдів у гаметофіті моху визначали за методом Арнона [14]. Для цього наважку моху гомогенізували у 80% розчині ацетону. Отриманий екстракт центрифугували, супернатант зливали у мірні пробірки об’ємом 10 мл, доводили до мітки ацетоном. Визначали оптичну густину на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжин хвиль 665 нм (для хлорофілу *a*), 649 нм (для хлорофілу *b*) та 440 нм (для каротиноїдів). Вміст пігментів виражали у мкг/г маси сухої речовини.

Фотохімічну активність хлорофілу ізольованих хлоропластів визначали за реакцією хлорофілу із 2,6-дихлорфеноліндофенолом (2,6-ДХФІФ) [8]. Наважку рослинного матеріалу гомогенізували в 2 мл 0,1 М трис-НСІ буферу, який містив 0,4 М сахарозу та 0,01 М MgCl₂, 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 і витримували 5 хв 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 й на світлі, визначали інтенсивність реакції Хілла. Фотохімічну активність хлорофілу виражали у мікромолях 2,6-ДХФІФ, відновленого за годину одним міліграмом хлорофілу. Для оцінки сезонної динаміки зміни вмісту пігментів фотосинтезу та фотохімічної активності хлоропластів проби рослинного матеріалу і субстрату відбирали протягом квітня-листопада 2012 року.

Визначення польової вологості й температури верхнього шару субстрату (0–2 см), а також інтенсивності освітлення здійснювали за методикою С. Аринушкіної [1]. Отримані дані опрацьовували методами статистичного аналізу [10, 12].

Результати і їхнє обговорення

Життєдіяльність рослин на будь-якому субстраті насамперед залежить від водноповітряного і температурного режиму середовища, оскільки лише певний рівень вологозабезпечення сприяє їхньому росту і розвитку [16, 17]. Високий ступінь гравійних части-

нок (3–1 мм) у субстратах відвалів вугільних шахт ЧГПР погіршує їх водний режим [6], а переважання порід чорного кольору спричиняє поглинання великої кількості сонячної радіації та збільшення температури субстрату. Нагрівання поверхні відвалів (до 60–65°C) є небезпечним для рослин унаслідок швидкого висушування поверхневих шарів породи, особливо у липні – найспекотнішому місяці з мінімальною часткою опадів [5]. Усі ці фактори й особливості рельєфу шахтних відвалів, аномального для прилеглих ландшафтів, створюють локальний мікроклімат, який негативно впливає на функціональну організацію рослин, насамперед на фотосинтетичну систему. Тому важливо було оцінити мікрокліматичні умови у липні на вершині породного відвалу в локалітетах *C. introflexus*.

Таблиця 1

Показники польової вологості й температури субстрату під дернинами моху *Campylopus introflexus*, а також інтенсивності освітлення на вершині відвалу шахти “Надія” (липень 2012 р.), n=10

Локалітети моху (ділянки)	Освітлення, тис. лк	Польова вологість, %		Температура, °C	
		Субстрат без рослинності	Під моховим покривом	Субстрат без рослинності	Під моховим покривом
Північна	80,0–90,0	3,6–5,8	3,3–18,9	28,8–33,4	28,1–36,7
Північно-західна	85,0–100,0	1,1–4,1	8,4–18,8	29,3–36,8	27,8–37,5
Східна	35,0–55,0	5,4–7,8	14,7–25,4	26,6–32,5	25,5–36,3

Примітка. У таблиці наведено діапазон мінливості кожного з показників.

Установлено, що вміст води на вершині відвалу у досліджуваних локалітетах істотно відрізнявся (табл. 1). На дослідних ділянках температура під дернинами моху в липні змінювалася від 25,5 до 37,5°C. На східній ділянці відвалу зафіксовано найбільшу польову вологість субстрату, її максимальне значення становило 25,4% зі середнім показником 19,32±0,85%, а також мінімальну інтенсивність освітлення. Відповідно, мінімальну польову вологість під дернинами моху та більшу інтенсивність освітлення встановлено на північній ділянці вершини відвалу. Однак, незважаючи на значні відмінності мікрокліматичних умов у досліджуваних локалітетах, під дернинами моху відзначено сприятливіший водно-температурний режим, порівняно з оголеним субстратом (табл. 1). Підвищена температура і вологість підстилки забезпечували кращий розвиток мохових дернинок *C. introflexus* [15].

На дослідних ділянках вершини відвалу встановлено, що вміст хлорофілів (*a+b*) у пагонах *C. introflexus* змінювався в діапазоні 427,80–724,80 мкг/г маси сухої речовини, каротиноїдів – 123,53–208,30 мг/г маси сухої речовини, тоді як співвідношення хлорофілів *a/b* було досить низьким (рис. 1). Такий вміст зелених пігментів і 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 з мікрокліматичними умовами та фізико-хімічними характеристиками субстрату під дернинками моху (рН, вмісту важких металів) [15]. Відмінності щодо вмісту каротиноїдів у пагонах *C. introflexus* на різних ділянках вершини відвалу (рис. 1) свідчать про важливу роль каротиноїдів у захисті молекул хлорофілу від фотоокиснення та пошкодження вільними радикалами [7]. Співвідношення суми хлорофілів до каротиноїдів на східній ділянці є найвищим серед усіх досліджуваних локалітетів (табл. 2), 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 з південного боку валуна із запеченої породи моноліту – клінкеру.

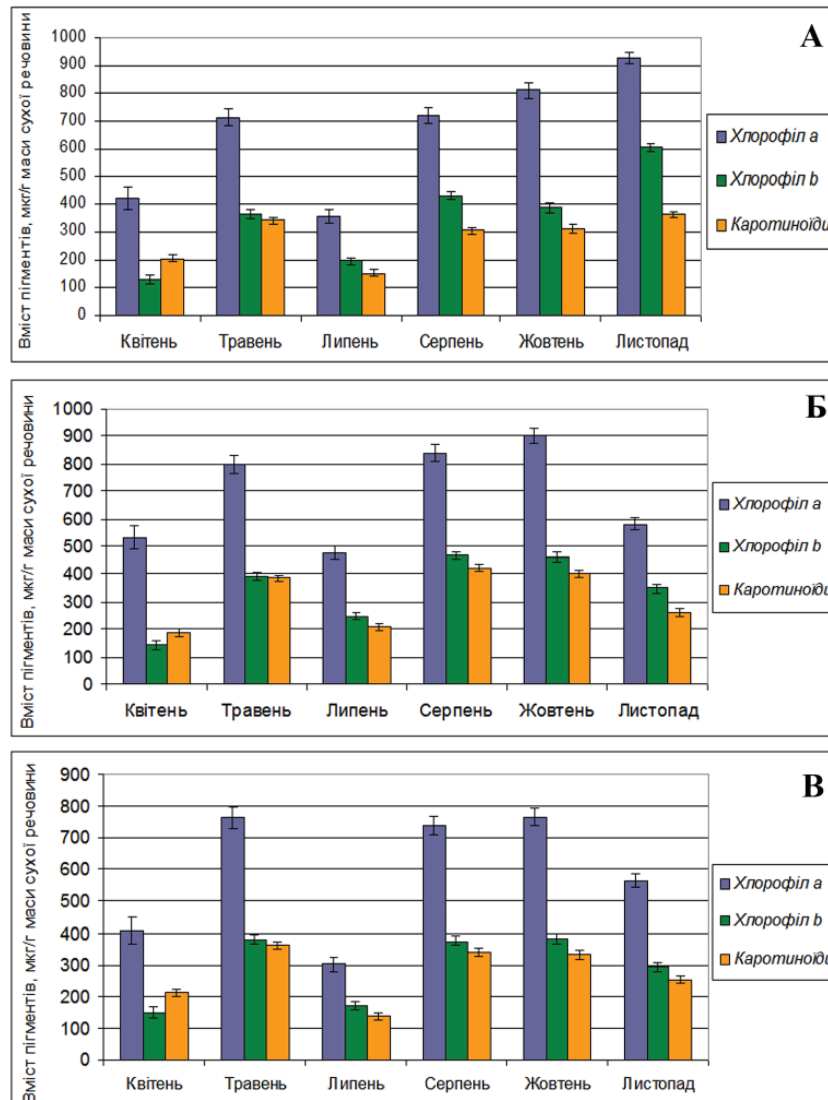


Рис. 1. Сезонна динаміка вмісту пігментів фотосинтезу (мкг/г маси сухої речовини) у пагонах *Campylopus introflexus* із різних ділянок вершини відвалу шахти “Надія”: А – східна, Б – північно-західна, В – північна ділянки.

На основі аналізу результатів визначено, що протягом року відбуваються значні зміни у пігментному комплексі моху *C. introflexus* (рис. 1). 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 301,82–929,03 мкг/г маси сухої речовини, а хлорофілу *b* – 131,78–602,57 мкг/г маси сухої речовини. Навесні (у квітні-травні), коли інтенсивно росли й 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. 1, табл. 2). 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 [7]. Деякі вчені вважають, що зростання вмісту хлорофілу b та, відповідно, зниження співвідношення хлорофілів a/b , як і співвідношення суми хлорофілів щодо каротиноїдів, є ознакою стійкості виду [20, 21]. Протягом серпня і жовтня на всіх дослідних ділянках спостерігали значне збільшення вмісту пластидних пігментів, лише на північно-західній і північній ділянках у листопаді їхній вміст зменшувався, що, можливо, пов'язано з недостатньою вологістю та зниженням температури. Збільшення вмісту і співвідношення пігментів в осінній період (табл. 2), можливо, було проявом компенсаторних механізмів, спрямованих на відтворення фотосинтетичної функції після літнього сповільнення та нейтралізації впливу негативних чинників.

Таблиця 2

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					
	a/b	хл/карот	a/b	хл/карот	a/b	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

Ще одним важливим показником первинних фотохімічних стадій фотосинтезу, які слугують джерелом енергії для темного відновлення CO_2 , є фотохімічна активність хлорофілу ізольованих хлоропластів (реакція Хілла). Результати аналізу сезонних змін свідчать (рис. 2), що фотохімічна активність хлорофілу в хлоропластах *C. introflexus* протягом весняних місяців зростала у всіх локалітетах: північному (від 15,15 до 30,09 $\mu\text{M}\cdot\text{год}/\text{мг}$ хлорофілу), північно-західному (26,31–34,54 $\mu\text{M}\cdot\text{год}/\text{мг}$ хлорофілу) і східному (29,73–42,84 $\mu\text{M}\cdot\text{год}/\text{мг}$ хлорофілу). Протягом травня-липня цей показник був найбільшим і становив 34,54–42,84 $\mu\text{M}\cdot\text{год}/\text{мг}$ 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 $\mu\text{M}\cdot\text{год}/\text{мг}$ хлорофілу), що, можливо, пов'язано зі зростанням частки хлорофілу b та зниженням температури й інтенсивності освітлення.

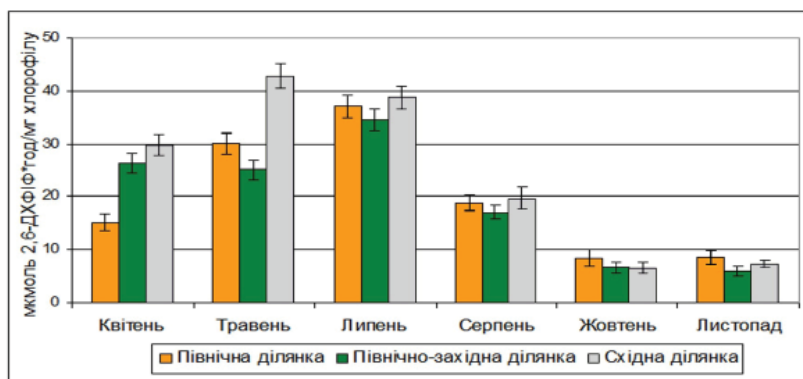


Рис. 2. Фотохімічна активність хлорофілу ізольованих хлоропластів моху *Campylopus introflexus* із різних дослідних ділянок на вершині шахтного відвалу.

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.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ариунушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ, 1961. 491 с.
2. Баранов В. І., Книш І. Б. Хіміко-мінералогічний склад порід відвалу вугільних шахт ЦЗФ «Львівсистеменерго» та їх вплив на проростання насіння // Промислова ботаника: стан та перспективи розвитку: матеріали V Міжнар. наук. конф. Донецьк, 2007. С. 36–37.
3. Баранов В. І. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ «Львівсистеменерго» як об'єкта для озеленення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 172–178.
4. Баранов В. І., Бешлей С. В., Соханьчак Р. Р., Козловський М. П. Вміст пігментів і структура хлоропластів куничника наземного (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) за умов росту на відвалах породи вугільних шахт // Біологічні студії / *Studia Biologica*. 2011. Т. 5. № 3. С. 97–102.
5. Башуцька У. Б. Сукцесії рослинності породних відвалів шахт Червоноградського гірничопромислового району. Львів: РВВ НЛТУ України, 2006. 178 с.
6. Бешлей С. В., Баранов В. І., Микієвич І. М. Зміна субстратів відвалів породи Червоноградського гірничопромислового району при заростанні куничником наземним (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) // Біологічні студії / *Studia Biologica*. 2010. Т. 4. № 2. С. 75–82.
7. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов / пер. с англ. М.: Мир, 1986. 422 с., ил.
8. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание: уч. пособие. М.: Высшая школа, 1975. 392 с.
9. Гетко Н. В. Растения в техногенной среде. Минск: Наука и техника, 1989. 208 с.
10. Зайцев Г. Н. Математика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1990. 296 с.
11. Кушниренко М. Д. Реакция хлоропластов растений различной устойчивости к засухе на водный стресс // Проблемы засухоустойчивости растений. М.: Наука, 1978. С. 72–81.
12. Лакин Г. Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов, 4-е изд. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
13. Лобачевська О. В., Соханьчак Р. Р. *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. – новий адвентивний вид моху для флори України // Укр. ботан. журнал. 2010. Т. 67. № 3. С. 432–437.
14. Мусієнко М. М., Паршикова Т. В., Славний П. С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. С. 49–50.
15. Соханьчак Р. Р., Лобачевська О. В. Особливості впливу моху *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. на відновлення техногенних субстратів шахтних відвалів // Біологічні студії / *Studia Biologica*, 2012. Т. 6. № 1. С. 101–108.

16. Терехова Э. Б., Ланина Р. И. Микроклимат отвалов Соколовско-Сарбайского горно-обогатительного комбината // Растения и пром. среда. Свердловск, 1978. С. 84–92.
17. Трохова О. Н. К вопросу фитотоксичности породы промышленных отвалов Донбасса // Промышленная ботаника: сборник науч. трудов. Вып. 7. Донецк, 2007. С. 80–84.
18. Ясар Ф., Эльальтиглу С., Ильдис К. Действие засоления на антиокислительные защитные системы, перекисное окисление липидов и содержание хлорофилла в листьях фасоли // Физиология растений. 2008. Т. 55. № 6. С. 869–873.
19. Drązkiewicz M., Baszyński T. Interference of nickel with the photosynthetic apparatus of *Zea mays* L. // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2010. Vol. 73. N 5. P. 982–986.
20. Eckhardt U., Grimm B., Hörtensteiner S. Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants // Plant Mol. Biol. 2004. Vol. 56. P. 1–14.
21. Eggink L. L., Park H., Hooper Y. K. The role of chlorophyll *b* in photosynthesis: hypothesis // BMC Plant Biol. 2001. Vol. 1. P. 11–17.
22. Hasse T. *Campylopus introflexus* invasion in a dune grassland: Succession, disturbance and relevance of existing plant invader concepts // Herzogia. 2007. Vol. 20. P. 305–315.
23. Razgulyaeva L. V., Napreenko M. G., Wolfram Ch., Ignatov M. S. *Campylopus introflexus* (Dicranaceae, Musci) – an addition to the Moss Flora of Russia // Arctoa. 2001. Vol. 10. P. 185–189.
24. Ringen D. The role of moss in facilitating natural revegetation of metal-contaminating sites during primary succession [Електронний ресурс]. Режим доступу до журналу: www.bioed.org/ibscore/
25. Zengin F. K. The effects of Co^{2+} and Zn^{2+} on the contents of protein, abscisic acid, proline and chlorophyll in bean (*Phaseolus vulgaris* cv. Strike) seedlings // J. Environ. Biol. 2006. Vol. 27. N 2. P. 441–448.
26. Zengin F., Kirbag S. Effects of copper on chlorophyll, proline, protein and abscisic acid level of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings // J. Environ. Biol. 2007. Vol. 28. N 3. P. 561–566.

Стаття: надійшла до редакції 26.02.13

доопрацьована 13.05.13

прийнята до друку 17.05.13

**SEASONAL CHANGES IN PIGMENT COMPLEX OF MOSS
CAMPYLOPUS INTROFLEXUS (HEDW.) BRID DEPENDING ON THE
MINE “NADIIA” DUMP TOP**

R. Sokhanchak, O. Lobachevska, S. Beshley

*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine,
11, Stefanyk St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: stentor62@gmail.com, morphogenesis@mail.lviv.ua*

Peculiarities of the pigment system functioning of moss *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. depending on habitat conditions of the mine “Nadiia” dump top in Chervonograd industrial coal mining region of Lviv region were analyzed. Also seasonal dynamics of plastid pigments and photochemical activity of isolated chloroplasts of the moss in adverse conditions of technogenic environment were established. It was noted that the decrease in

the ratio of *a/b* chlorophylls and the increase of chlorophylls to carotenoids in conditions of the suppression of the chlorophyll photochemical activity play an important role in protection of the photosynthetic system of *C. introflexus*.

Keywords: plastid pigments, photochemical activity of chlorophyll, rock dumps of coal mines, moss *Campylopus introflexus*.

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПИГМЕНТНОМ КОМПЛЕКСЕ МХА *CAMPYLOPUS INTROFLEXUS* (HEDW.) BRID. НА ВЕРШИНЕ ОТВАЛА ШАХТЫ “НАДИЯ”

Р. Соханьчак, О. Лобачевская, С. Бешлей

*Институт экологии Карпат НАН Украины,
ул. Стефаныка, 11, Львов 79005, Украина
e-mail: stentor62@gmail.com, morphogenesis@mail.lviv.ua*

Проанализированы особенности функционирования пигментной системы мха *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. в зависимости от условий местообитания на вершине отвала шахты “Надия” Червоноградского горнопромышленного района Львовской области. Установлена сезонная динамика содержания пластидных пигментов и фотохимической активности изолированных хлоропластов мха под влиянием неблагоприятных факторов техногенной среды. Отмечено, что уменьшение соотношения хлорофиллов *a/b*, увеличение содержания хлорофиллов относительно каротиноидов в условиях подавления фотохимической активности хлорофилла играют важную роль в защите фотосинтетической системы *C. introflexus*.

Ключевые слова: пластидные пигменты, фотохимическая активность хлорофилла, породные отвалы угольных шахт, мох *Campylopus introflexus*.