



УДК 582.32:54.06

МЕХАНІЗМИ ПРИСТОСУВАННЯ МОХУ *BRYUM ARGENTEUM* HEDW. ДО НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ

Н. Я. Кияк¹, Л. В. Буньо²

¹ Інститут екології Карпат НАН України, вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна
e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua

² Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

Здійснено комплексний аналіз морфофізіологічних адаптивних реакцій моху *Bryum argenteum*, що росте в умовах нафтового забруднення. Показано, що стійкість рослин залежить від стану пігментної системи. Виявлено збільшення вмісту каротиноїдів і антоціанів у пагонах *B. argenteum* під впливом нафти. Проаналізовано механізми фізіологічної адаптації рослин *B. argenteum* до водного дефіциту, що індукується в умовах нафтового забруднення. Експериментально показано високу регенераційну здатність виводкових бруньок *B. argenteum* в умовах дефіциту вологи. Виявлено зниження водного потенціалу та підвищення вмісту осмопротекторів (цукрів і проліну) у клітинах рослин *B. argenteum*, які росли на нафтозабрудненій території. Встановлено збільшення загальної антиоксидантної активності низькомолекулярних антиоксидантів у рослин *B. argenteum*. Обговорюється роль механізмів неспецифічної фізіологічної адаптації у формуванні стійкості моху *B. argenteum* до дії стресового фактора.

Ключові слова: нафтове забруднення, пігменти, водний потенціал, розчинні цукри, пролін, антиоксидантна активність, регенеративна здатність виводкових бруньок, *Bryum argenteum*.

ВСТУП

Бориславське нафтове родовище (БНР) – один із найстаріших нафтопромислових центрів світу. Його розробка протягом останніх двохсот років спричинила інтенсивне забруднення довкілля й виснаження природних ресурсів [3; 14], що позначилося на усіх екологічних системах і їх складових – атмосферному повітрі, ґрунтах, водних ресурсах, тваринному та рослинному світі [27].

Фітотоксичність ґрунтів, забруднених нафтою, має як пряму, так і опосередковану дію. Рослинний організм зазнає безпосереднього впливу нафти внаслідок проникнення її компонентів через кореневу систему або продири листків і включення їх у метаболізм. Крім того, нафтове забруднення суттєво впливає на умови едафотопу: змінюється окисно-відновна рівновага ґрунту, порушується його водний режим і газообмін [11]. Окрім органічних компонентів, до складу нафти входять важкі метали, які є додатковим чинником негативного впливу на життєдіяльність рослин [10].

У результаті моніторингу рослинних угруповань на нафтозабруднених територіях, а також лабораторно-польових досліджень визначено стійкі види вищих рослин, які виробили певний адаптивний потенціал до впливу нафтопродуктів [28]. Серед піонерних видів первинних рослинних угруповань на території Бориславського нафтового родовища важливе місце займають бріофіти. Безпосередньо на платформах діючих свердловин, де періодично відбуваються аварійні розливи нафти, найчастіше трапляється мох *Bryum argenteum* Hedw.

Вид *B. argenteum* – космополіт, що росте у надзвичайно контрастних кліматичних умовах – від Арктики й Антарктиди до пустель Гобі та Кара-Куми, екваторіальних районів Африки і Центральної Америки. За життєвою стратегією – це поселенець [35], що заселяє різноманітні субстрати, у тому числі й антропогенного походження, які іноді зовсім непридатні для життя інших рослин (гірські породи, піски, промислові відвали). Рослини цього виду є піонерами заростання техногенних субстратів девастованих територій, де можуть існувати досить тривалий час і, поступово відмираючи, готувати субстрат для заселення інших мохів та судинних рослин [2; 13; 24].

Вивчення передумов високої толерантності виду до несприятливих умов і механізмів, які забезпечують пристосування мохів до росту на забруднених нафтою ґрунтах є важливими для розуміння природи стійкості бріофітів. Тому метою роботи було дослідити морфологічні реакції моху *Bryum argenteum* Hedw., що сприяють стійкості виду в умовах нафтового забруднення.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктом дослідження був розповсюджений вид моху *Bryum argenteum* Hedw., зразки якого збирали на цементних платформах діючих нафтових свердловин м. Борислава. Контролем були рослини *B. argenteum*, які росли на незабрудненій нафтопродуктами території (м. Львів, Стрийський парк). Для досліджень використовували свіжозібраний рослинний матеріал. Аналізували морфометричні показники *B. argenteum*: довжину гаметофорів вимірювали на мікроскопі МБС-1, розміри листків, клітин листків і діаметр спор вимірювали на моторизованому мікроскопі „Axio Imager M1” [6].

Для оцінки стійкості моху до водного дефіциту досліджували регенераційну здатність виводкових бруньок *B. argenteum* на агаризованому поживному середовищі Кноп-II з вмістом поліетиленгліколю (ПЕГ) у концентрації 1–3%. Стерильні культури вирощували у люмінестаті в контрольованих умовах освітлення (2500–3000 лк), температури (20–22°C) та вологості (85–90%). Діаметр дернинок моху аналізували на 15-й день росту, а кількість пагонів у дернині – на 30-й день [6].

Вміст вологи у мохових дернинах визначали ваговим методом і обчислювали у відсотках від ваги абсолютно сухої речовини [20]. Для оцінки поглинальної здатності моху *B. argenteum* використовували рослини, висушені до повітряно-сухого стану (вміст вологи 5,2–5,4%). Наважку рослинного матеріалу занурювали у воду на 2 год, потім зважували й оцінювали відсоток поглинутої вологи.

Водний потенціал клітин мохів визначали рефрактометричним методом, використовуючи розчини сахарози у концентрації 0,1–1,0 М [5].

Вміст хлорофілів *a*, *b* та каротиноїдів визначали у 80%-ному ацетоні за методом Арнона [31]. Оптичну густину екстрактів вимірювали на спектрофотометрі Spereord 210 Plus при різних довжинах хвиль: 663 нм (для хлорофілу *a*), 645 нм (для хлорофілу *b*) та 470 нм (для каротиноїдів). Вміст пігментів фотосинтезу виважали в мг/г маси сирої речовини.

Вміст антоціанів визначали за М.Н. Голубчиковим [4]. Наважку рослинного матеріалу гомогенізували у 10 мл 1%-ного 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 сирової речовини.

Вміст вільного проліну оцінювали за допомогою кислого нінгідринного реактиву [32]. Екстракцію проліну проводили, розтираючи рослинний матеріал у 3%-ному розчині сульфосаліцилової кислоти. До 1 мл фільтрату додавали 1 мл оцтової кислоти та 1 мл нінгідринного реактиву. Проби інкубували протягом 1 год на киплячій водяній бані, після охолодження додавали 2 мл толуолу. Оптичну густину проб вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 520 нм.

Для визначення вмісту розчинних цукрів використали метод У. Дюбойса [22]. 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%-ний розчин фенолу та концентровану сірчану кислоту. Оптичну густину розчину вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 490 нм. Вміст цукрів виражали в мкмоль/г маси сирової речовини.

Загальну антиоксидантну активність низькомолекулярних антиоксидантів оцінювали у реакції рослинного екстракту з розчином радикала – 1,1-дифеніл-2-пікридилгідразилом (ДФПГ) за методом В. Бранд-Вільямса [33]. 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 ($\lambda = 517$ нм). Загальну антиоксидантну активність виражали у відсотках.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

В екологічних дослідженнях щораз частіше індикаторами стану навколишнього середовища стають структурні морфоанатомічні елементи рослин, оскільки відомо, що в екстремальних умовах морфологічна мінливість рослин може зростати, або ж, навпаки, зменшуватися. Тому такі елементарні кількісні характеристики як ширина і довжина листової пластинки та клітин листка мохів мають важливе індикаційне значення. У зразках *B. argenteum* було оцінено рівень внутрішньовидової мінливості та показано вплив різних місцезростань на морфометричні показники моху. Так, у рослин, які росли в умовах нафтового забруднення, спостерігали суттєве зменшення площі асиміляційної поверхні: висоти пагонів, розмірів листових пластинок і параметрів клітин листків (табл. 1).

Фотосинтетичний апарат рослин є чутливим до дії нафтового забруднення. У літературі описано зниження вмісту хлорофілів, появу хлорозів і некрозів на листових пластинках, зниження інтенсивності фотосинтезу, активацію синтезу антоціанів у квіткових рослин [8–10; 16; 21; 41].

Ми проаналізували вміст пігментів фотосинтезу у зразках *B. argenteum*, відібраних із природних умов різних місцезростань. Встановлено, що нафтове забруднення призводило до зниження вмісту хлорофілу *a* у пагонах моху в 1,3 разу, порівняно з рослинами львівського зразка (табл. 2).

За вмістом хлорофілу *b* зразки суттєво не відрізнялися, можливо, через те, що хлорофіл *b* менше руйнується завдяки вищій гідратованості й міцнішим зв'язкам із водою, що є проявом адаптивної реакції фотосинтетичного апарату до несприятливих умов природного середовища [1]. Окрім того, спостерігали зниження спів-

відношення $xl\ a / xl\ b$ за дії нафти. Взагалі, співвідношення хлорофілів a/b в пігментному комплексі мохоподібних досить низьке (1,98–2,69), що є близьким для показників рослин тіньового типу [37]. У рослин *B. argenteum* з м. Львова цей показник становив 2,2, тоді як у рослин з м. Борислава знижувався до 1,9. Відомо, що за дії стресових факторів (нафтового забруднення, температурного стресу, атмосферного забруднення повітря у промислових районах) співвідношення хлорофілів може істотно зменшуватися [8; 23; 25].

Таблиця 1. Морфологічні показники моху *B. argenteum* із різних місцезростань (проаналізовано 500 гаметофорів)

Table 1. Morphological characteristic of the moss *B. argenteum* from different localities (were 500 gametophores analysed)

| Параметри рослин | Місце збору зразків моху | |
|----------------------------|---------------------------|---------------------------------------------|
| | м. Львів, парк (контроль) | м. Борислав, платформа нафтової свердловини |
| Висота пагонів, мм | 7,75±0,72 | 5,73±0,46 |
| Довжина листків, мм | 0,99±0,09 | 0,84±0,06 |
| Ширина листків, мм | 0,51±0,05 | 0,42±0,05 |
| Довжина клітин листка, мкм | 58,51±3,62 | 47,49±3,55 |
| Ширина клітин листка, мкм | 15,80±0,91 | 10,61±0,95 |
| Діаметр спор, мкм | 12,79±0,55 | 12,49±0,62 |

Таблиця 2. Вміст пігментів у пагонах моху *B. argenteum*

Table 2. Content of pigments in shoots of the moss *B. argenteum*

| Місце збору зразків | Вміст пігментів, мг/г маси сирої речовини | | | | |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------|---------------|-------------|-----------|
| | хл. a | хл. b | хл. a / хл. b | каротиноїди | антоціани |
| м. Львів, парк (контроль) | 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 |

Нафтове забруднення індукувало зростання вмісту каротиноїдів у пагонах мохів майже в 1,5 разу, порівняно з рослинами контролю (табл. 2). Відомо, що у складі фотосистем каротиноїди не лише виконують роль додаткових світлозбиральних пігментів, а й приймають на себе енергію від збуджених молекул хлорофілу, захищаючи їх від фотоокиснення. Крім того, підвищення кількості каротиноїдів може бути пов'язане з антиоксидантними властивостями цих пігментів, оскільки вони у хлоропластах виконують функцію інгібіторів синглетного кисню та вільних радикалів [36]. Можна припустити, що у 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 полютантами, у тому числі й нафтопродуктами [16; 19]. У наших дослідах також виявлено суттєве збільшення вмісту антоціанів у рослин з м. Борислава, порівняно з контролем (табл. 2).

Отже, на основі аналізу вмісту пігментів у пагонах моху *B. argenteum*, який росте в умовах токсичного впливу нафти, можна зробити висновок, що стійкість рослин значною мірою залежить від стану їх пігментної системи. Крім того, ці показники мають важливе інформативне значення для оперативної біоіндикації забруднення.

На сьогодні встановлено, що нафтове забруднення інгібує ростові процеси вищих судинних рослин (*Carex hirta*, *Carex acuta*, *Alisma plantago*), індукує вкорочення стебла, зменшення його радіального росту і площі листків [8; 18]. Значно змінюються й анатомічні особливості рослин: збільшується товщина листової пластинки, зменшуються розміри клітин, кількість хлоропластів. Тобто у стійких до нафтового забруднення рослин відбувається посилення ксероморфних ознак, що забезпечує їм захист від токсичного впливу нафти. Ознаки ксероморфності насамперед пов'язані з дефіцитом вологи, що виникає в умовах нафтового забруднення ґрунту. Відомо, що важкі фракції нафти (смоли, асфальтени) утворюють на поверхні ґрунту чи на поверхні рослин плівку, яка обмежує доступ повітря та води і тим самим утруднює надходження вологи до рослин [15; 26]. Необхідно врахувати також, що мохоподібні є пойкилогідричними рослинами, у яких відсутня коренева система, провідні елементи й інші анатомічні пристосування для поглинання води чи регуляції водного режиму. Мохи поглинають вологу всією поверхнею тіла, і їх життєдіяльність суттєво залежить від води, що випадає безпосередньо з атмосфери – дощу, туману, роси, водяної пари атмосфери. Рослини *B. argenteum*, які ми використали у своїх дослідженнях, ростуть біля нафтових свердловин і зазнають постійного токсичного впливу нафти. Крім того, на дернинах моху також можна помітити маслянистий наліт, який утруднює поглинання вологи і опосередковано створює умови дефіциту вологи. Для підтвердження цього експериментально визначили поглинальну здатність рослин *B. argenteum* із різних місцезростань і виявили, що кількість вологи, поглинутої дернинами моху з м. Борислава (після 2 год їх занурення у воду), була майже на 40% меншою, ніж у рослин контролю (рис. 1), що свідчить про значне блокування надходження вологи крізь листову поверхню в умовах нафтового забруднення. 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 цим ми оцінили стійкість моху *B. argenteum* до водного дефіциту.

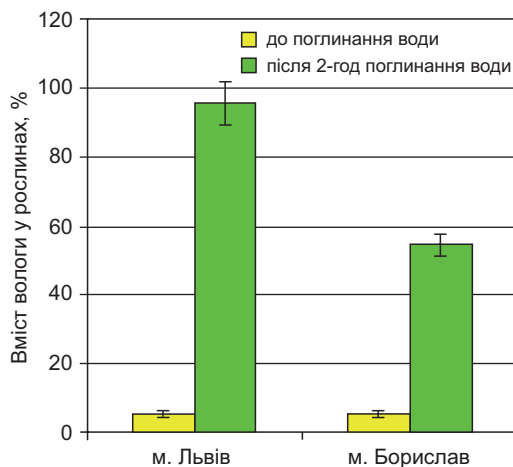


Рис. 1. Водопоглинальна здатність моху *B. argenteum*

Fig. 1. Water-absorbing ability of the moss *B. argenteum*

Підтвердженням адаптивного потенціалу у *B. argenteum* стали дослідження регенераційної здатності виводкових бруньок *B. argenteum* в умовах водного дефіциту, спричиненого дією ПЕГ у концентраціях 1–3% (табл. 3, рис. 2). Виявлено, що рослини, зібрані на території Бориславського нафтового родовища, мали значно вищу швидкість росту регенерантів і формували у 2–2,5 рази більше гаметофорів у дернинах на середовищах із підвищеними концентраціями ПЕГ, порівняно зі зразками, зібраними у м. Львові, що може свідчити про існування певної селективності щодо дії водного дефіциту і вищу стійкість рослин *B. argenteum* з м. Борислава.

Таблиця 3. Регенеративна здатність виводкових бруньок *B. argenteum* із різних місцевостей, вирощених на середовищах із ПЕГ

Table 3. Regenerative ability of *B. argenteum* bulbils from different localities which grew on the medium with polyethylene glycol

| Середовище росту рослин | Зразки моху з м. Львова | | Зразки моху з м. Борислава | |
|----------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|
| | Діаметр дернин, мм | К-сть пагонів у дернині | Діаметр дернин, мм | К-сть пагонів у дернині |
| Контроль (Кноп з мікроел.) | 15,2±0,6 | 28,3±0,6 | 17,9±1,4 | 31,2±1,5 |
| 1% ПЕГ | 4,3±0,3 | 15,7±0,2 | 9,3±0,6 | 35,8±1,2 |
| 2% ПЕГ | 2,8±0,1 | 15,2±0,3 | 8,8±0,4 | 32,5±1,1 |
| 3% ПЕГ | 2,6±0,1 | 12,8±0,3 | 8,5±0,4 | 28,5±1,8 |

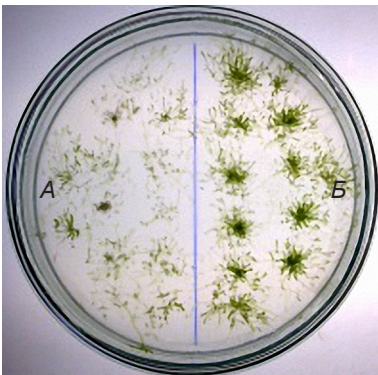


Рис. 2. Регенеративна здатність виводкових бруньок *B. argenteum* на агаризованому середовищі з 3% ПЕГ: А – зразки моху з м. Львова (контроль); Б – зразки моху з м. Борислава

Fig. 2. Regenerative ability of *B. argenteum* bulbils on the agar medium with 3% polyethylene glycol: A – moss samples from Lviv (control); B – moss samples from Boryslav

Отримані результати дають змогу зробити висновок про те, що нафтове забруднення середовища стимулює захисні механізми *B. argenteum*, а це дає можливість виду виживати в несприятливих умовах завдяки вегетативному розмноженню.

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 місцевостей. Встановлено, що рослини *B. argenteum* з м. Борислава реагують на нафтове забруднення зниженням водного потенціалу (табл. 4), що забезпечує надходження води у клітини рослин в умовах нафтового стресу. Зниження водного й осмотичного потенціалів за дії нафтового забруднення виявлено і у *Carex hirta* L. та *Faba bona* Medic. [15]. Встановлено, що у бріофітів водний потенціал коливається у межах від $-1,0$ до $-2,0$ МПа [44], що пов'язано з умовами їх існування, оскільки багато видів мохоподібних ростуть на відкритих сухих місцевостях, можуть витримувати тривалі періоди посухи, а також переносити зневоднення до повітряно-сухого стану.

Таблиця 4. Фізіологічні показники водного режиму рослин *B. argenteum* із різних місцевостейTable 4. Physiological characteristics of water regime of *B. argenteum* plants from different localities

| Місце збору рослин <i>B. argenteum</i> | Водний потенціал, МПа | Вміст розчинних цукрів, мкмоль/ г маси с. р. | Вміст вільного проліну, мкмоль/г маси с. р. |
|-------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| м. Львів, парк (контроль) | -1,60±0,03 | 52,0±2,4 | 0,78±0,04 |
| м. Борислав, платформа свердловини | -1,98±0,08 | 78,5±1,5 | 1,91±0,02 |

Толерантність до водного дефіциту потребує такої структурної організації клітин, яка здатна витримати значну втрату вологи без розривів мембран і легко відновлюватися в умовах зволоження. 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 [45]. Встановлено, що в екстремальних умовах температурного й осмотичного шоку, які ініціюють зниження водного потенціалу клітин, у мохів підвищується вміст проліну [17].

Оскільки зниження водного потенціалу клітин відбувається унаслідок нагромадження осмотично активних речовин, то було проаналізовано вміст розчинних цукрів і вільного проліну у пагонах *B. argenteum*. Результати наших досліджень засвідчують, що у рослин з м. Борислава кількість розчинних цукрів у пагонах є майже в 1,5 разу більшою, порівняно з рослинами контролю, що свідчить про важливу роль цих осмопротекторів у клітинах мохів за дії нафтового забруднення (табл. 4). Відомо, що розчинні цукри зв'язуються водневими зв'язками з макромолекулами клітин мохів, тим самим стабілізуючи їх структуру в стресових умовах [38]. Для багатьох видів мохів встановлено, що нагромадження цукрів у клітинах чітко корелює зі стійкістю до дефіциту вологи [43; 48]. Наприклад, у гаметофіті стійкого до висушування виду моху *Tortula ruralis* вміст сахарози становив майже 10% від загальної сухої ваги, і ця кількість не змінювалася ні у процесі висушування рослини, ні під час зволоження [34].

Ми виявили суттєве зростання вмісту вільного проліну (майже у 2,5 разу) у зразках *B. argenteum*, зібраних на платформі нафтової свердловини, порівняно з рослинами контролю (табл. 4). Аналогічні результати отримані у досліді з рослинами *Carex hirta* L. за умов нафтозабрудненого ґрунту [40]. Відомо, що окрім прямого стабілізуючого впливу на макромолекули в умовах дефіциту вологи, пролін може здійснювати також опосередкований захисний ефект, проявляючи антиоксидантні властивості [7]. Тому значне зростання вмісту проліну в дослідних зразках *B. argenteum* може бути пов'язане як зі зниженням водного потенціалу, так і з наростанням окиснювального стресу, який індукується у рослинах в умовах нафтового забруднення [8; 9].

Необхідно відзначити, що в несприятливих умовах у бріофітів, окрім проліну, важливими компонентами неспецифічних клітинних захисних систем є й інші низькомолекулярні антиоксиданти. Відомо, що вони відіграють значну роль в умовах температурного й осмотичного стресів, за дії важких металів [12; 42; 46], тому

доцільно було проаналізувати загальну антиоксидантну активність низькомолекулярних антиоксидантів, яка визначається антирадикальною активністю аскорбінової кислоти, глутатіону, α -токоферолу, флавоноїдів та інших низькомолекулярних сполук у пагонах *B. argenteum* в умовах нафтового забруднення [30]. У пагонах рослин контролю загальна антиоксидантна активність становила $59,2 \pm 2,5\%$, тоді як у пагонах рослин, зібраних на території м. Борислава, цей показник підвищувався до $80,1 \pm 3,6\%$ (рис. 3). Якщо порівняти показники антиоксидантної активності рослин *B. argenteum* і *Carex hirta* в умовах нафтового забруднення (22–44%) [9], то можна відзначити майже удвічі більшу активність у рослин моху, порівняно з осокою. Відомо, що бріофіти мають набагато вищий антиоксидантний потенціал, порівняно зі судинними рослинами, який зумовлений як низькомолекулярними антиоксидантами (флавоноїдами, фенольними сполуками, аскорбатом), які у високих концентраціях містяться у їх клітинах, так і активністю ферментних систем [29], що є важливою адаптивною реакцією мохів до існування в несприятливих умовах середовища.

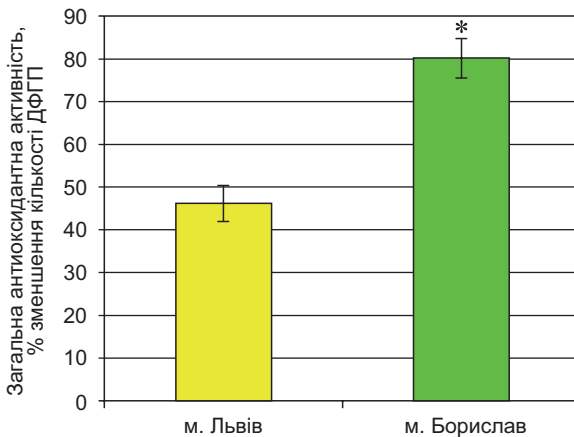


Рис. 3. Загальна антиоксидантна активність у пагонах *B. argenteum*.

* $p < 0,05$

Fig. 3. General antioxidative activity in *B. argenteum* shoots.

* $p < 0,05$

Оцінюючи стратегію адаптації бріофітів до різноманітних стресових факторів, потрібно враховувати їх біологічні особливості. Домінуючий у життєвому циклі мохоподібних гаметофіт із гаплоїдним набором хромосом не може конкурувати зі судинними рослинами, які мають більшу конкурентоспроможність. У зв'язку зі специфікою організації гаметофіту мохів (невеликі розміри, слабкий розвиток ризосфери, примітивна провідна система) можна припустити, що ця група рослин має відмінні від інших вищих рослин особливості адаптації до умов середовища їх існування. Адаптивний потенціал мохоподібних формувалася, в основному, на основі їх фенотипної мінливості. Він є надзвичайно широким до дії будь-якого екологічного фактора – вологості, температури, освітлення тощо. Фенотипний прояв змін охоплює широке коло екологічно важливих ознак – фізіолого-біохімічних, анатомічних і морфологічних, систему розмноження, хоча встановлено, що залежно від екологічних умов середовища мохоподібні змінюються не стільки морфологічно, скільки фізіологічно [39; 47].

У нашій роботі ми намагалися проаналізувати особливості пристосування моху *Bryum argenteum* Hedw. до нафтового забруднення, в основі яких є механізми неспецифічної фізіологічної адаптації. Слід відзначити, що основна стратегія пристосування і комплекс неспецифічних захисних реакцій єдині для усіх рослинних

організмів, незалежно від ступеня їх стійкості. Однак стійкі рослини мають значно більшу швидкість і амплітуду фізіологічних перебудов у відповідь на вплив стресового фактора, які забезпечують тривале підтримання гомеостазу організму в несприятливих умовах навколишнього середовища.

ВИСНОВКИ

Аналізуючи отримані результати, ми встановили 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 і антоціанів, що виконують захисні функції у клітині; показано зростання активності компонентів антиоксидантної системи та збільшення кількості низькомолекулярних осмотично активних сполук. Про існування певного адаптивного потенціалу свідчать і наші експерименти з вирощуванням регенерантів *B. argenteum* в умовах водного дефіциту.

Отже, 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 – найбільш „економний” і універсальний засіб для збереження рівноваги між рослиною та зовнішнім середовищем, який забезпечує надійність рослинного організму в мінливих умовах існування.

1. Бессонова В.П. Вплив важких металів на пігментну систему листка. **Укр. ботан. журнал**, 1992; 49(2): 63–66.
2. Бойко М.Ф. **Мохообразные в ценозах степной зоны Европы**: монографія. Херсон: Айлант, 1999: 160 с.
3. Голубець М. А., Козак І. І. Основні риси антропогенної дегресії біогеоценотичного покриву в Карпатському регіоні. В кн.: **Антропогенні зміни біогеоценотичного покриву в Карпатському регіоні**. За ред. М.А. Голубця. Київ: Наук. думка, 1994: 17–22.
4. Голубчиков М.Н. **Выделение фенольных соединений из растительных материалов**. М.: Наука, 1971. 107 с.
5. Григорюк І.А., Ткачев В.І., Савинский С.В., Мусиенко Н.Н. **Современные методы исследований и оценки засухо- и жароустойчивости растений**. Київ: Наук. світ, 2003. 139 с.
6. Демків О. Т., Сытник К. М. **Морфогенез архегониат**. Киев: Наук. думка, 1985. 204 с.
7. Долгова Л. Г., Самойлова М. В. Вміст проліну як показник стійкості рослин-інтродуцентів роду *Amelancheir* Medic. **Актуальні питання біології, екології та хімії**. Електронне наукове видання. Запорізький національний університет. 2009; 1(3): 29–34.
8. Джура Н. **Фізіологічні аспекти адаптації рослин *Carex hirta* L. до нафтового забруднення**: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.12. Київ, 2007. 16 с.
9. Карпин О., Цвілинюк О., Терек О. та ін. Антиоксидантна активність і вміст поліфенолів у рослинах *Carex hirta* L. та *Faba bona* Medic. (*Vicia faba* L.) за дії нафтового забруднення. **Біологічні студії / Studia Biologica**, 2009; 3(2): 109–115.
10. Карпин О. Л. **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, 2010. 20 с.
11. Киреева Н.А., Кабиров Т.Р., Дубовик И.Е. Комплексное биотестирование нефтезагрязненных почв. **Теоретическая и прикладная экология**, 2007; 1: 65–69.
12. Кияк Н.Я. Особливості накопичення іонів свинцю та їх вплив на стан прооксидантно-антиоксидантної системи у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica* Hedw. **Чорноморський ботан. журнал**, 2007; 3(1): 56–64.

13. Кияк Н. Я., Баїк О. Л. Роль бріофітного покриву у ренатуралізації техногенних субстратів на території видобутку сірки. **Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол.**, 2012; 59: 114–121.
14. Колпач І.В. **Екологічні проблеми на Бориславському нафтовому родовищі**: тези доп. міжнар. наук.-техн. наради (Київ, 1998). Київ. 1998: 9.
15. Коровецька Г.В. **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, 2010. 20 с.
16. Лапина Г.П., Чернавская Н.М., Литвиновский М.Е., Сазанова С.В. Влияние нефти на пигментный состав сосны обыкновенной – *Pinus sylvestris*. **Электронный научный журнал „Исследовано в России”**, 2007; 53: 28–36.
17. Лобачевська О.В. Вміст вільного проліну та активність антиоксидантного захисту за стресових умов. **Чорноморський ботан. журнал**, 2008; 4(2): 230–236.
18. Мазунина Л.Е. Особенности анатомии и морфологии растений в условиях нефтяного загрязнения. **Материалы докладов XV Международ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых „Ломоносов”**. М.: Изд-во МГУ, 2008: 86–88.
19. Масленников П.В., Бородей А.В. Антоцианины как тест на нефтяное загрязнение. В кн.: **Современные проблемы биоиндикации и биомониторинга**. 11 Междунар. симпозиум по биоиндикаторам (Сыктывкар, декабрь 2001 г.). Сыктывкар, 2001: 124–125.
20. Минеев В.Г. **Практикум по агрохимии**. Москва: Изд-во МГУ, 1989. 304 с.
21. Немерс Д.А. **Методы биомониторинга**. Москва: Высшая школа, 1991. 276 с.
22. Плешков Б.П. **Практикум по биохимии растений**. Москва: Колос, 1976. 129 с.
23. Пристула І. В., Шалімов І. В., Романчук Т. В. Динаміка вмісту фотосинтезуючих пігментів як фітоіндикаційний показник у представників р. *Jupiperus*, що зростають в умовах промислового міста південного сходу України. В кн.: **Питання біоіндикації та екології**. Запоріжжя: ЗНУ. 2009; 1: 23–30.
24. Рабик І.В., Данилків І.С., Щербаченко О.І. Структура і динаміка бріофітних угруповань на девастованих землях Львівщини (на прикладі відвалу гірничо-хімічного підприємства «Сірка»). **Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол.**, 2010; 53: 58–66.
25. Станецька Д.М., Коваль І.В., Джуренко Н.І. та ін. Вплив високотемпературного стресу на пігментний комплекс видів роду *Solidago L.* в репродуктивний період. **Вісник Ужгород. ун-ту. Сер. Біол.**, 2011; 30: 192–196.
26. Степаньян О.В., Воскобойников Г.М. Влияние нефти и нефтепродуктов на морфофункциональные особенности морских макроводорослей. **Биология моря**, 2006; 32 (4): 241–248.
27. Цайтлер М.Й. Заростання ділянок, забруднених нафтопродуктами (на прикладі Бориславського нафтового родовища). В кн.: **Дослідження, охорона та збагачення біорозмаїття**. Львів: УкрДПТУ, 1999: 151–154.
28. Цайтлер М.Й. Видовий склад угруповань, що формуються як результат заростання території, забруднених нафтопродуктами. В кн.: **Наукові основи збереження біотичної різноманітності**. Матеріали першої наук. конф. молодих учених м. Львова (м. Львів, лютий, 1998 р.). Львів, 2000: 101–105.
29. Abhijit Dey A., Nath De J. Antioxidative Potential of Bryophytes: Stress Tolerance and Commercial Perspectives: A Review. **Pharmacologia**, 2012; 3(6): 1246–1258.
30. Adedapo A., Jimoh F., Afolayan A., Masika P. Antioxidant activities and phenolic contents of the methanol extracts of the stems of *Acokanthera oppositifolia* and *Adenia gummifera*. **Complementary and Alternative Medicine**, 2008; 8(54): 246–254.
31. Arnon D. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiol.**, 1949; 24: 1–15.
32. Bates L., Waldren R., Teare I. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, 1973; 39: 205–207.
33. Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. Technol.**, 1995; 28: 25–30.
34. Bewley J.D. Physiological aspects of desiccation tolerance. **Annual of Review Plant Physiology**, 1979; 30: 195–238.

35. *During H.J.* Life strategies of bryophytes: A preliminary review. **Lindbergia**, 1976; 5: 2–18.
36. *Foyer C.H., Harbinson J.* 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., 1999: 305–325.
37. *Glime J.M.* **Bryophyte Ecology**. Volume 1. Physiological Ecology. 2007. E-book sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Accessed on March 2008 at <http://www.bryoecol.mtu.edu/>.
38. *Hoekstra F. A., Golovina E. A., Buitink J.* Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends Plant Sci**, 2001; 6: 431–438.
39. *Jules E.S., Shaw A.J.* Adaptation to metal-contaminated soils in populations of the moss, *Ceratodon purpureus*: vegetative growth and reproductive expression. **American Journ. of Botany**, 1994; 81: 791–797.
40. *Korovetska H., Tsvilynjuk O., Terek O.* Evaluation of crude oil contaminated soil on the content of proline and soluble sugars in sedge (*Carex hirta* L.) plant. **Біологічні Студії / Studia Biologica**, 2009; 3(2): 115–122.
41. *Kusk K.O.* Effects of crude oil and aromatic hydrocarbons on the photosynthesis of three species of *Acrosiphonia* grown in the laboratory. **Bot. Mar**, 2002; 23(9): 587–593.
42. *Panda S.K.* Heavy metal phytotoxicity induces oxidative stress in moss, *Taxithelium* sp. **Curr. Sci**, 2000; 84: 631–663.
43. *Phillips J.R., Oliver M.J., Bartels D.* Molecular genetics of desiccation tolerant systems. In: **Desiccation and Survival in Plants: Drying Without Dying**. Eds. Black M., Pritchard H.W. 2002. Wallingford: CABI Publishing. 341 p.
44. *Proctor M.C.F.* Water-relations parameters of some bryophytes evaluated by thermocouple psychrometry. **Journ. of Bryology**, 1999; 21: 269–277.
45. *Proctor M.C.F.* Patterns of desiccation tolerance and recovery in ryophytes. **Plant Growth Regulation**, 2001; 35: 147–156.
46. *Seel W. E., Hendry G. A. F., Lee J.A.* The combined effects of desiccation and irradiance on mosses from xeric and hydric habitats. **J. Exper. Bot**, 1992; 43: 1023–1030.
47. *Skotnicki, M.L., Mackenzie, A.M., Ninham, J.A. Selkirk P.M.* High levels of genetic variability in the moss *Ceratodon purpureus* from continental Antarctica, subantarctic Heard and Macquarie Islands and Australasia. **Polar Biology**, 2004; 27: 687–698.
48. *Walters C., Farrant J.M., Pammenter N.W. Berjak P.* Desiccation stress and damage. In: **Desiccation and Plant Survival**. Ed. Black M. and Pritchard H. W. Wallingford: CABI Publishing, 2002. 291 p.

ADAPTATION MECHANISMS TO CRUDE OIL POLLUTION IN THE MOSS *BRYUM ARGENTEUM* HEDW.

N. Ya. Kyyak¹, L. V. Bunyo²

¹ *Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine, 4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine*
e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua

² *Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine*

Complex analysis of the morphological and physiological adaptive reactions of moss *Bryum argenteum* growing under the conditions of crude oil contamination has been carried out. It has been shown that plant resistance depended on the state of pigmental system. A increase in anthocians and carotenoids content under the conditions of oil contamination has been revealed. The mechanisms of physiological adaptation of *B. argenteum* plants to water deficit induced by the crude oil contamination have been analysed. High regeneration ability of *B. argenteum* bulbils under the conditions of water deficit was experimentally shown. A decrease in water potential and increase of os-

motric protectors (sugars and proline) content in the plants cells of *B. argenteum* growing on crude oil polluted territory, have been demonstrated. An increase in general antioxidant activity of low-molecular antioxidants in the *B. argenteum* plants under the conditions of crude oil contamination has been established. The role of nonspecific physiological adaptation mechanisms in forming moss *B. argenteum* resistance to the influence of unfavorable factor is discussed.

Keywords: oil pollution, pigments, water potential, soluble sugars, proline, antioxidant activity, regenerative ability of bulbils, *Bryum argenteum*.

МЕХАНИЗМЫ ПРИСПОСОБЛЕНИЯ МХА *BRYUM ARGENTEUM* HEDW. К НЕФТЯНОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ

Н. Я. Кияк¹, Л. В. Буньо²

¹ Институт экологии Карпат НАН Украины, ул. Козельницкая, 4, Львов 79026, Украина
e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua

² Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

Осуществлен комплексный анализ морфофизиологических адаптивных реакций мха *Bryum argenteum*, произрастающего в условиях нефтяного загрязнения. Показано, что устойчивость растений зависит от состояния пигментной системы. Выявлено возрастание содержания каротиноидов и антоцианов в побегах *B. argenteum* под влиянием нефти. Проанализированы механизмы физиологической адаптации растений *B. argenteum* к водному дефициту, который индуцируется в условиях нефтяного загрязнения. Экспериментально показано высокую регенерационную способность выводковых почек *B. argenteum* в условиях дефицита влаги. Выявлено снижение водного потенциала и повышение содержания осмопротекторов (сахаров и пролина) в клетках растений *B. argenteum*, произрастающих в условиях нефтяного загрязнения. Установлено повышение общей антиоксидантной активности низкомолекулярных антиоксидантов в растениях *B. argenteum*. Обсуждается участие механизмов неспецифической физиологической адаптации в формировании устойчивости мха к влиянию стрессового фактора.

Ключевые слова: нефтяное загрязнение, пигменты, водный потенциал, растворимые сахара, пролин, антиоксидантная активность, регенерационная способность выводковых почек, *Bryum argenteum*.

Одержано: 29.10.2012