

**Фізіологія рослин**

УДК 581.44;581.34;54.06

**ОСОБЛИВОСТІ ПОГЛИНАННЯ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ МОХОМ  
*PLAGIOMNIUM UNDULATUM* (HEDW.) Т.КОР. ТА ЙОГО РЕАКЦІЯ НА ЇХ  
ТОКСИЧНУ ДІЮ****С. Маєвська, О. Кардаш, Л. Демків, О. Лобачевська***Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Стефаніка, 11, 79000 Львів, Україна*

Важкі метали за темпами їх надходження у біосферу та рівнем токсичності (порівняно з іншими інгредієнтами промислових викидів) становлять найбільшу загрозу для середовища [10]. Вміст їх у ґрунті та повітрі на територіях з розвинутою промисловістю й автотранспортом може на декілька порядків перевищувати фонові концентрації у природі. Мохи, незважаючи на порівняно невелику масу, можуть суттєво впливати на рівні забруднення довкілля. Вони здатні акумулювати важкі метали у підвищених концентраціях і таким чином зменшувати їхню концентрацію у біосфері.

Реакції мохів на атмосферне забруднення різні. Вивчаючи вплив іонівважких металів на ріст і розвиток мохів, ми виявили, що часто у відповідь на токсичну дію одні процеси у них посилюються (регенерація, вегетативне розмноження), а інші послаблюються (температура клітинних поділів, швидкість росту, диференціація, розвиток та репродуктивне розмноження) [11, 12]. Зменшення швидкості росту і розвитку, порушення важливих фізіологічних процесів, поряд з хлорозом і некрозом, вважають найтипівішими проявами токсичної дії важких металів [2], які у кожного виду рослини, зокрема й у мохів, залежать від видових особливостей. За літературними даними, коефіцієнт біологічного поглинання (КБП) важких металів змінюється залежно від виду рослини і для кожного з них є сталим [1, 5]. Усе це свідчить про те, що потрібні детальні дослідження особливостей нагромадження іонів важких металів. Вивчення проникнень адсорбованих іонів важких металів у клітини, органи, їхнього перерозподілу між органами та клітинами стало можливим з використанням нового гістохімічного методу фарбування металів розчином дифенілтіокарбазону [13]. Чутливість методу достатня, щоб виявити найменші відхилення від природного рівня, враховуючи здатність рослин концентрувати іони кадмію і свинцю. Вивчення видової специфіки нагромадження катіонів важких металів, поряд із пошуком перспективних фізіолого-біохімічних параметрів для фітоіндикації забрудненого середовища, є важливим для розробки нових методів пасивного й активного моніторингу.

Ми працювали з поширеним у затінених місцях видом моху *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) T. Kop., зібраним на околицях м. Львова (с. Грибовичі). Вид дводомний і плодоносить зрідка, розповсюджується за допомогою вегетативного поновлення та підвищеної регенераційної здатності всіх органів гаметофіту. Особливістю регенерації ізольованих органів виду є прискорений розвиток регенерантів листостеблових пагонів [7]. Свіжозібраний матеріал моху розділяли на органи, ретельно промивали у водопровідній воді та стерилізували 5% розчином перекису водню (1-2 хв), а потім повторно промивали у стерильній дистильованій воді (5 хв). Ізольовані органи (листки і стебла) переносили на стерильний фільтрувальний папір, змочений розчином Кноп II, у стерильні чашки Петрі (90 мм) для індукції регенерації. Отримані регенеранти без явних слідів забруднення стерильно переносили на агаризоване середовище. Рослини вирощували у контрольованих умовах освітлення ( $2,0 \pm 0,2$  тис. лк) і при температурі 20-22°C і 16-годинному світловому дні. Кадмій і свинець у концентрації 0,01- 10,0 мкмоль/л вносили у поживне середовище у вигляді хлориду кадмію  $CdCl_2$  і нітрату свинцю  $Pb(NO_3)_2$ . Досліди проводили п'ять разів по 10-20 регенерантів у кожній чашці. Важкі метали визначали атомно-адсорбційним методом на СФ "С-115 М1" у пропан-бутановому полум'ї та з використанням електротермічного атомізатора "Графіт-2", а їх проникнення - за допомогою нового гістохімічного методу [13]. Одержані результати опрацьовували статистично.

Низькі концентрації хлористого кадмію (0,01-0,1 мкмоль/л) стимулювали регенераційну здатність ізольованих гаметофітів. Підвищення концентрації у 10-100 разів поступово знижувало активність регенерації ізольованих гаметофітів. Тільки дуже високі концентрації хлористого кадмію (10,0 мкмоль/л) виявилися летальними для ізольованих гаметофітів.

На відміну від гаметофітів, на ізольовані листки моху хлористий кадмій не виявляв стимулюючого впливу. Навіть дуже низькі його концентрації (0,01 мкмоль/л) значно знижували їхню регенераційну здатність. Вищі концентрації хлористого кадмію (0,1-10 мкмоль/л) не тільки погіршували регенерацію, а й спричинювали посилене відмирання листків.

Для листків, як і для ізольованих регенерантів стебла, хлористий кадмій у концентрації 10,0 мкмоль/л повністю гальмував регенерацію та зумовлював некроз клітин і швидке відмирання листків. Наприклад, для *P. undulatum* летальні концентрації виявилися на два порядки вищими, ніж для протонеми *Funaria hygrometrica* Hedw. та інших чутливих до забруднення мохів [6], хоча вони близькі до летальних концентрацій, встановлених для вищих рослин [9]. Отже, *P. undulatum* виявився значно толерантнішим, ніж *F. hygrometrica*.

Одержані результати можуть свідчити про те, що, незважаючи на високу токсичність іонів кадмію, у низьких концентраціях (0,01-0,1 мкмоль/л) він може бути необхідним для нормального розвитку рослин.

Для мохів "концентраційне вікно" кадмію виявилось досить широким - у два порядки.

Отже, досліджено, що іони кадмію відповідно до збільшення концентрації хлористого кадмію у субстраті сповільнюють темпи регенерації як ізольованих гаметофітів, так і ізольованих листків, що є результатом погіршення загальних

фізіологічних та біохімічних функцій рослинного організму під впливом високих концентрацій солі металу, яке відображається на зміні форм клітин, зменшенні їхньої довжини, збільшенні діаметра і в результаті - на загальному морфологічному вигляді рослини та її органів зокрема.

Для оцінки такої характеристики ми вимірювали розміри (довжину і ширину) листової пластинки. Аналогічно, як і для регенерації, за низьких концентрацій хлористого кадмію (0,01-0,1 мкмоль/л) спостерігалось збільшення розмірів листової пластинки. Наявність високих концентрацій солей металу (10,0-100,0 мкмоль/л) відображалось на зменшенні довжини і ширини листка (рис. 1).

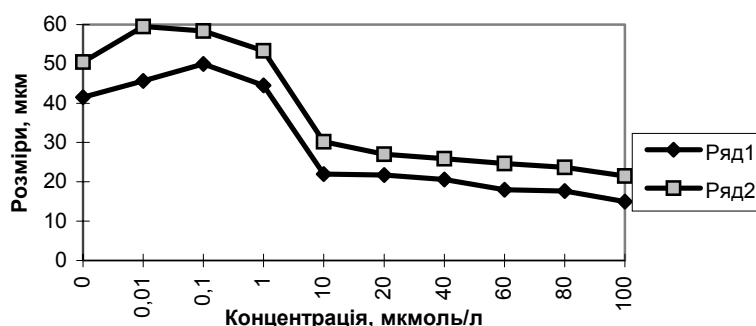


Рис.1. Вплив кадмію на розміри листової пластинки *Plagiomnium undulatum*:

1 - довжина; 2 - ширина.

Стан навколишнього середовища можна контролювати як безпосередньо за нагромадженням рослинами інгредієнтів промислових викидів, так і за фізіолого-біохімічними показниками. Одним з найзручніших показників у методичному плані є зміна інтенсивності люмінесценції хлорофілу. Виявилось, що пігментна система багатьох рослин чутлива до повітряних полутантів [3], і тому вміст хлорофілу можна використовувати для біоіндикації забруднення довкілля як окремими токсикантами, так і їхніми комплексами [4].

З огляду на це, ми досліджували зміну інтенсивності люмінесценції хлорофілу в листках *P. undulatum* в аспекті використання цього показника для підтвердження даних про те, що іони кадмію сповільнюють загальний фотосинтез і фотосинтетичну фіксацію CO<sub>2</sub> [8].

Як видно з отриманих результатів, при концентрації хлористого кадмію 0,01 мкмоль/л інтенсивність люмінесценції хлорофілу була навіть дещо вищою, ніж у контролі, що підтвердило думку про стимулювальний вплив катіонів металу в дуже низьких концентраціях. Вищі ж концентрації хлористого кадмію значно знижували інтенсивність люмінесценції хлорофілу (рис. 2).



Рис. 2. Вплив хлористого кадмію на інтенсивність люмінесценції хлорофілу в листках *Plagiomnium undulatum*.

На наступному етапі досліджень ми вивчали проникнення адсорбованих іонів важких металів у клітини, тканини й органи. Об'єктом дослідження були листки моху *P. undulatum* (рис. 3).

Рис. 3. Загальний вигляд верхівки листка *Plagiomnium undulatum* (контроль).

Як було з'ясовано, вже після 5 хв інкубації виявляли окремі зафарбовані локуси крайової зони листків, а через 30 хв простежували яскраво зафарбовані

клітини крайової зони і верхівки жилки, і навіть деякі клітини всередині листкової пластинки (рис. 4).

Рис. 4. Листок моху *Plagiomnium undulatum* після 30 хв інкубації в розчині свинцю.

Із збільшенням часу інкубації до 1 год простежували загальне забарвлення листкової пластинки, а крайова зона ставала розмитою (рис. 5). Найрельєфніше диференціація забарвлення виражалась в листках основи гаметофору. Збільшуючи час інкубації до 3 год, ми виявили, що крайова зона зафарбовується швидше ніж за 1 год. Ближчі до верхівки листки фарбувалися однорідно по всій поверхні у рожевий колір.

Значимо, що інтенсивніше (яскравіше) зафарбовувалися комплекси свинцю з дитізоном (вони були яскраво-червоного кольору), комплекси з кадмієм мали менш яскраве - буре забарвлення.

Крім того, вивчали проникнення іонів важких металів у рослини і за різних умов концентрації солей металу. Для цього гаметофори *P. undulatum* занурювали на однаковий час (24 год) у розчин з різними концентраціями солей свинцю.

При концентрації 0,01 мкмоль/л нітрату свинцю не простежували зафарбовування зон у листках. Лише при концентраціях 0,1 і 1,0 мкмоль/л окремі листки мали забарвлені крайові зони, верхівки жилок та прилеглі до цієї зони

клітини. Добре зафарбувалися клітини крайової зони, жилка листка, а також окремі ділянки по всій поверхні листової пластинки при концентрації солі металу 10,0 мкмоль/л. При концентрації 100,0 мкмоль/л нітрату свинцю вже за короткий час інкубації (до 5 хв) листові пластинки були забарвлені повністю.

Рис. 5. Листок моху *Plagiomnium undulatum* після 1 год інкубації в розчині свинцю.

Особливістю мохів є їхня здатність накопичувати іони важких металів у підвищених концентраціях. Наприклад, якщо уміст нітрату свинцю у субстраті в концентраціях, які незначно перевищують природний фон і становить 5-10 мкмоль/л, вміст іонів свинцю у клітинах гаметофіту мохів *F. hygrometrica*, *P. undulatum*, *Sphagnum sp.* він збільшується до 1-6 ммоль/л, тобто в 100-1000 разів. Здатність видів накопичувати іони важких металів є видовою ознакою. Зокрема, найбільше і найшвидше накопичують свинець і кадмій листочки гаметофітів *P. undulatum*, а найповільніше - *F. hygrometrica*.

Наявність свинцю у листочках *P. undulatum* можна виявити вже через 5 хв після їх занурення у розчин з важкими металами. Аналогічні зміни у листках *F. hygrometrica* можна виявити лише через 24 год. Сфагни, незважаючи на те, що вони, як звичайно, гігрозомезофіти, поглинають важкі метали з розчинів повільніше, ніж *P. undulatum*, однак набагато швидше, ніж *F. hygrometrica*, хоча в кінцевому результаті вміст іонів металів у клітинах усіх видів вирівнюється.

Здатність мохів накопичувати катіони важких металів у підвищених концентраціях стала причиною аналізу здатності мохів очищати забруднену воду.

Виявилося, що мохи у співвідношенні 1:100 вже за 1 год очищали до спектрально-чистого стану воду, яка містила нітрат свинцю у межах гранично допустимих концентрацій для харчових продуктів і зменшували у шість разів уміст іонів свинцю у розчинах, які перевищували гранично допустимі концентрації.

Мохи також ефективно можуть очищувати воду від кадмію, нагромаджуючи його у клітинах органів гаметофіту.

Отже, виживання мохів в умовах токсичної дії важких металів відбувається на основі резистентної теорії адаптації, тобто активного поглинання їх клітинами, й активної детоксикації всередині клітин.

1. *Алексеев Ю.В.* Тяжелые металлы в почвах и растениях. Л., 1987.
2. *Алексеева-Попова Н.В., Игошина Т.И., Косицин А.В., Ильинская Н.Л.* Устойчивость к тяжелым металлам (Pb, Zn, Cu) отдельных видов и популяций естественных фитоценозов из района медноколчеданных рудопроявлений // Растения в экстремальных условиях минерального питания. Эколого-физиологические исследования. Л., 1983. С.22-42.
3. *Бессонова В.П.* Влияние полистимулина К на фотосинтетический аппарат растений чины душистой, выращенных при избытке в среде железа, марганца и хрома // Физиол. и биохим. культурных растений. 1991. Т. 23. № 2. С.159-164.
4. *Гуральчук Ж.З.* Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиол. и биохим. культурных растений. 1994. Т. 26. № 2. С. 107-116.
5. *Кабата-Пендиас А., Пендиас Х.* Микроэлементы в почвах и растениях. М., 1989.
6. *Коструба С.М., Лобачевська О.В.* Реакція мохів на токсичний вплив кадмію // Проблеми ботаніки та мікології на порозі третього тисячоліття// Матеріали X з'їзду Укр. ботан. т-ва, м. Полтава, 22-23 трав.1997 р. Київ; Полтава, 1997.
7. *Лобачевська О.В., Улична К.О., Демків О.Т.* Особливості відновлення і вегетативного розмноження *Plagiomnium undulatum (Hedw.) Kop. (Mniaceae, Briopsida)* // Укр. ботан. журн. 1986. Т. 43. № 3. С. 30-34.
8. *Мельничук Ю.П.* Влияние ионов кадмия на клеточное деление и рост растений. К., 1990.
9. *Феник С.И., Трофимьяк Т.Б., Блюм Я.Б.* Механизмы формирования устойчивости растений к тяжелым металлам // Успехи совр. биологии. 1995. Т. 115. № 3. С. 261-275.
10. *Burton C.W., King J.B., Morgan E.* Chlorophyll as an indicator of the upper critical tissue concentration of cadmium in plants // Water, Air and soil pollut. 1986. Vol. 27. 1-2. P. 147-151.
11. *Richardson D.H.S.* The biology of mosses. Oxford, 1981.

12. Rao D.N. Responses of bryophytes to air pollution // Bryophyte ecology. London, 1982. P. 445-471.
13. Seregin I.V., Ivanov V.B. Histochemical Investigation of Cadmium and Lead Distribution in Plants // Russian Journal of Plant Physiology. 1997. Vol.44. № 6. P. 791-796.

**PECULIARITY OF ABSORPTION ION OF HEAVY METALS BY  
*PLAGIOMNIUM UNDULATUM* (HEDW.) T.KOP. AND ITS REACTION ON  
THEIR TOXICAL ACTION**

**S.Majewska, O.Kardash, L.Demkiv, O.Lobachevska**

*Institute of Ecology of the Carpathians National Academy of Sciences,  
Stefanika St. 11, 79000 Lviv, Ukraina  
e-mail: ecoinst@instecoc.cscd.lviv.ua*

Ability of moss *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) T.Kop. to accumulate cadmium and lead in concentrations 100-1000 times higher than in the substrate was investigated. Accumulation of cadmium and lead proved to be directly dependent on their concentrations in the substrate on the age of plants and incubation time. Much higher ability to accumulate cadmium and lead is characterized by of *P. undulatum* in comparison with *Funaria hygrometrica* (Hedw.) and *Sphagnum sp.* Nevertheless, *P. undulatum* is characterized much more stable to toxical action of cadmium than *F. hygrometrica*. Low concentration of cadmium (0,01 $\mu$ M) stimulated regeneration ability of isolated gametophores *P.undulatum*, as well as luminiscent intensity of chlorofil in the isolated leaves. The direct correlation between concentration of cadmium in the substrate and inhibition of regeneration rate of isolated gametophores and leaves was stated.

*Key words:* cadmium, lead, absorption, distribution, isolated gametophores, leaves, mosses.

Стаття надійшла до редколегії 27.10.1998  
Прийнята до друку 29.12.1998