

УДК 582.32:54.06

О.В. Лобачевська, І.В. Мельник, У.А. Оксенюк

ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМВПЛИВУ ХІМІЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ НА РІСТ ТА РОЗВИТОК МОХУ *FUNARIA HYGROMETRICA* HEDW.

*Лобачевская О.В., Мельник И.В., Оксенюк У.А. Особенности взаимодействия химических элементов на рост и развитие мха *Funaria hygrometrica* Hedw. // Науч. зап. Гос. природоведч. музея. – Львов, 2009. – Вып. 25. – С. – 131-136.*

Представлены результаты исследования влияния кальция, селена, свинца и кадмия на рост и развитие мха *Funaria hygrometrica*. Установлено, что протонема на агаризированной среде с $\text{Ca}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$ и $\text{Ca}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$ была длиннее и содержала больше клеток, чем обработанная только Pb^{2+} или Cd^{2+} . Сделан вывод о том, что наличие кальция частично нейтрализует токсическое воздействие тяжелых металлов на клетки протонемы. Показано, что незначительные концентрации селена противодействуют токсичности тяжелых металлов.

*Lobachevska O.V., Melnyk I.V., Oksenjuk U.A. Peculiarities interaction of chemical elements on growth and development of moss *Funaria hygrometrica* Hedw. // Proc. of the State Nat. Hist. Museum. – Lviv, 2009. – 25. – P. – 131-136.*

Results of researches on influence of calcium, selenium, lead and cadmium on growth and development of *F. hygrometrica* protonemata are presented. It has been determined that protonemata on the agar medium with $\text{Ca}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$ and $\text{Ca}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$ were longer and contained more cells than that treated with Pb^{2+} or Cd^{2+} only. The presence of calcium partially neutralized toxic effect of heavy metals in protonemata cells are concluded. It has been shown that selenium counteracted the toxicity of heavy metals on growth and development of *F. hygrometrica* in trace amounts.

Індустріалізація й розвиток нових галузей промисловості призводять до зміни екологічних умов, загрозливого підвищення концентрації важких металів у природному середовищі та їх нагромадження у ґрунті, воді, рослинах. Встановлено [2, 14], що токсичний вплив важких металів може посилювати регенерацію та вегетативне розмноження, а також пригнічувати темп клітинних поділів, швидкість росту, диференціацію, розвиток та репродуктивне розмноження рослин. Зменшення швидкості росту і розвитку, порушення важливих фізіологічних процесів, поряд з хлорозом і некрозом, вважають найтиповішими проявами токсичної дії важких металів [1, 14] для рослин, зокрема мохів.

Збалансованість хімічного складу – основна умова нормального росту та розвитку рослин. Поглинання хімічних елементів мохами залежить від рН, складу й концентрації іонів у живильному середовищі й освітленості, а також від видових особливостей [4, 14]. Співвідношення елементів мінерального живлення (макроелементів та мікроелементів, у тому числі іонів важких металів) впливає на поглинання, розподіл та їх участь в метаболізмі клітин моху. Взаємодія хімічних елементів може бути антагоністичною, синергічною або адитивною, а її незбалансованість – причиною хімічних стресів у рослин. Основним елементом-антагоністом мікроелементів вважають кальцій, серед мікроелементів – селен. Якщо кальцій є універсальним сигнальним іоном, що модифікує метаболічні процеси клітин внаслідок зміни активності кальцій-зв'язуючих білків або впливу на інші молекулярні мішені [4-6], наявність селену в рослинах [3, 10, 12] є лише непрямим

доказом поглинання елемента із середовища і здатності нагромаджувати його, як й інші важкі метали. Деякі автори [11, 15] вважають селен антиоксидантом і важливим фактором у фотосинтезі рослин. Незважаючи на це, участь кальцію та селену у функціонуванні рослин та їх адаптації до важких металів залишається нез'ясованою.

Метою нашої роботи було дослідження особливостей взаємовпливу кальцію, селену та важких металів на ріст і розвиток моху *Funaria hygrometrica* Hedw.

Матеріал і методика досліджень

Об'єктом дослідження служив широко розповсюджений мох *Funaria hygrometrica* Hedw.

У роботі використовували молоду протонему, отриману зі спор. Протонему вирощували стерильно на агаризованому середовищі Кноп П з мікроелементами [13]. Динаміку проростання спор і швидкість росту протонемі досліджували в стерильних умовах: визначали відсоток пророслих спор і величину приросту довжини протонемі протягом перших двох тижнів її розвитку.

Важкі метали застосовували у вигляді солей CdCl_2 і $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Робочі концентрації Cd^{2+} (0,06 мкМ) та Pb^{2+} (400 мкМ) отримували в результаті розведення вихідної концентрації розчином Кноп П. У дослідях використовували середовища з 0,01-100,0 мкМ концентраціями селену у вигляді водного розчину селеніту натрію Na_2SeO_3 та 0,1-100,0 мкМ розчинів CaCl_2 .

Морфометричні аналізи гаметофорів проводили на матеріалі, отриманому в умовах лабораторної культури. Вимірювали приріст гаметофорів, довжину і ширину листків, їх кількість.

Концентрацію хлорофілу в листках визначали за інтенсивністю червоної люмінесценції хлоропластів на цитофлуориметрі ЛЮАМ-РЗ (Росія). Виміри спектру люмінесценції хлорофілу проводили за $\lambda = 660$ нм.

Усі досліді проводили не менше 3-5 раз, отримані дані опрацьовували методами статистичного аналізу [9].

Результати досліджень

У результаті вирощування культури моху *F. hygrometrica* встановлено, що токсичний вплив іонів важких металів пригнічував не тільки проростання спор моху, а й їх розвиток. Під впливом 0,06 мкМ розчину іонів кадмію знижувався відсоток проростання спор (до 75 %) і швидкість росту протонемі, порівняно з контролем. Оскільки довжина клітин протонемі змінювалася неістотно, сповільнення швидкості росту стolonів спричинювалося переважно зниженням темпу клітинних поділів. Під впливом іонів кадмію встановлено видовження клітин, особливо ризоїдальних, без збільшення їх кількості. Аналогічні прояви токсичності спостерігали за дії свинцю. Під впливом 400 мкМ розчину свинцю проростання спор гальмувалося більше, ніж на 2 доби, порівняно з дослідями з кадмієм та контролем (середовище без іонів важких металів).

Під впливом кадмію і свинцю сповільнювалася диференціація утворених протонемних ниток на ризоїди і хлоронему, а потім і на каулонему. Якщо в контролі диференціація починалася вже на 2 добу після проростання спор, то під впливом іонів кадмію вона пригнічувалася і починалася лише на 4 день. Виявлено цікаву

особливість розвитку протонеми: під впливом іонів кадмію у 86% хлоронемних дернин на 5-6 день до 70% апікальних клітин витоншувалися у ризоїдальні. У дослідах зі свинцем диференціація порушувалася у більшості спор, ріст пророслих спор припинявся і лише з поодиноких пророслих спор на 6-7 день утворювались хлоронема і ризоїди.

Можливо, слабший, порівняно зі свинцем, вплив кадмію на розвиток мохової дернини зумовлений наявністю активно функціонуючої системи його інактивації [8], що забезпечувала повільне проникнення металу в клітини, і як результат – меншу токсичність.

Установлено, що й іони кальцію в широких межах концентрацій (0,1-100 мкМ) виявилися важливим медіатором в реалізації стресової реакції, що підвищував стійкість клітин протонеми *F. hygrometrica* до впливу важких металів. У випадку додавання кальцію до середовища зі свинцем (рисунок) відзначено зміну характеру видовження та поділу апікальних клітин. Показано, що за сумісної дії оптимальної концентрації (20 мкМ) іонів кальцію та кадмію посилюється розвиток хлоронеми внаслідок видовження клітин та збільшення їх кількості. Наявність у середовищі кальцію разом з іонами важких металів призводила до пришвидшення росту протонеми, не лише внаслідок видовження клітин, а й у результаті збільшення їх кількості (в 1,4-1,5 рази), тобто частоти поділів апікальних клітин. Токсичний вплив важких металів нейтралізувався насамперед в апексі клітини, яка є центром ростової активності та локальним місцем входу іонів Ca^{2+} . Крім того, відзначено зменшення кількості клітин з деформаціями типовими для токсичності свинцю, зокрема з роздутими апексами та потовщеними клітинними стінками.

Отже, зміни внутрішньоклітинної концентрації кальцію виявлялися в найрізноманітніших реакціях протонеми мохів: в регуляції росту, поділу та диференціації клітин, а також індукції адаптації до стресової дії важких металів.

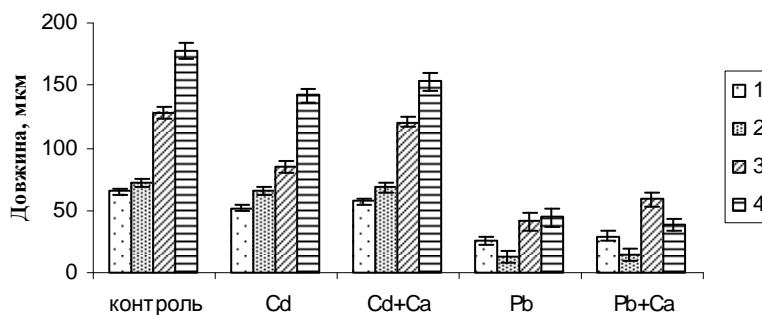


Рис. Вплив кальцію та важких металів на ріст протонеми *F. hygrometrica*:

1, 2 – довжина хлоронемної та ризоїдної клітин, 3, 4 – довжина хлоронемних і ризоїдних ниток.

На підставі аналізу культури моху *F. hygrometrica* на середовищах з різними концентраціями селену (0,01-100 мкМ) встановлено, що лише високі його

концентрації (50-100 мкМ) пригнічували розвиток мохової дернини: гальмували проростання спор, ріст і диференціацію протонеми моху. Мохові дернинки формувалися витягнутими протонемними столонами, які слабо галузилися і зрідка утворювали бруньки гаметофорів. Нижчі концентрації селену (0,1-50,0 мкМ) не впливали на швидкість росту протонеми моху, але сповільнювали диференціацію клітин. Лише найнижча концентрація 0,01 мкМ селену, порівняно з контролем, стимулювала ріст, галуження хлоронемних ниток і пришвидшувала утворення каулономи та брунькоутворення.

На підставі проведених досліджень сумісної дії кадмію і свинцю на ріст протонеми *F. hygrometrica* встановлено, що між іонами цих важких металів існує антагонізм. Отримані результати свідчать, що унаслідок взаємодії Cd^{2+} і Pb^{2+} знижується токсичний вплив обох металів на розвиток мохів. На середовищі з обома металами (0,06 мкМ Cd^{2+} і 400 мкМ Pb^{2+}) спори *F. hygrometrica*, як і в контролі, проростали вже на 2 добу після посіву та швидше утворювали протонемні дернини з гаметофорами. Отже, суміш обох металів взаємовпливає як на ріст клітин, так і на диференціацію протонеми моху.

Результати дослідження взаємовпливу іонів важких металів свідчать, що селен посилював токсичність як кадмію, так і свинцю, тобто виявляв синергічну дію з кожним металом зокрема. Як свідчать отримані дані, синергізм у сумісній дії свинцю і селену виявлявся сильніше, ніж кадмію і селену. За сумісної дії селену і свинцю знижувався відсоток проростання спор (до 30-40%), сповільнювався ріст протонеми внаслідок плазмолізу апікальних клітин та відмирання більшості утворених ниток. З літературних джерел відомо [12, 15], що природні селенові токсикози посилюються під впливом деяких інших хімічних елементів супутніх селену: ванадієм, молібденом, хромом, нікелем, цинком і кобальтом.

У результаті додавання різних концентрацій селену до суміші обох важких металів було виявлено, що антагонізм взаємодії кадмію і свинцю найвищий за низьких концентрацій селену.

Аналогічно виявлявся взаємовплив хімічних елементів на ріст та розвиток гаметофорів *F. hygrometrica* (таблиця). Вплив іонів свинцю був токсичнішим на розвиток гаметофорів: утворювалися значно дрібніші листки на вкорочених пагонах, ніж за дії іонів кадмію. Виявлено, що під впливом як свинцю, так і кадмію, майже вдвічі зменшувалася ширина листкових пластинок у нетипових, переважно без жилки, листків. За сумісної дії іонів важких металів та (0,01 мкМ) селену відзначено зростання ширини листової пластинки, довжини гаметофорів та кількості листків на них (див. таблицю).

Встановлено, що важкі метали, спричинюючи деградацію хлорофілу (див. таблицю), індукували хлороз листків і пришвидшували побуріння клітин листків і стебел. Як відомо, високі концентрації свинцю зумовлюють хлороз в рослинах здебільшого у результаті взаємодії із залізом у клітинах листків [1, 2]. Показано, що за сумісної дії Cd^{2+} і Pb^{2+} найбільше знижувалася люмінесценція хлорофілу в листках, що, очевидно, зумовлено значною інактивцією ферментів синтезу хлорофілу [8]. Встановлене раніше [7] зниження активності карбоангідрази в листках мохів *F. hygrometrica* і *Tortula muralis* Hedw. може свідчити, що важкі метали впливають не лише на вміст хлорофілу, а й на активність фотосинтезу. Зменшення кількості хлорофілу внаслідок нагромадження іонів важких металів у клітинах

листіків може бути спричинене підвищенням вільнорадикального окислення ліпідів мембран хлоропластів. Токсична дія важких металів виявляється також у порушенні міцності зв'язку хлорофілу з мембранами пластид [1].

Таблиця

Вплив поліютантів на розвиток гаметофорів моху *F. hygrometrica*

Концентрація поліютанта, мкМ	Розміри листків, мм		Довжина гаметофорів, мм	Інтенсивність люмінесценції хлорофілу, умов. од.
	Довжина	Ширина		
0 (контроль)	1.10 ± 0.01	0.40 ± 0.01	12.0 ± 0.1	344.7 ± 16.1
Cd ²⁺ (0.06)	1.35 ± 0.02*	0.20 ± 0.01*	13.6 ± 0.2*	302.7 ± 10.8
Cd ²⁺ + 0.01 Se ³⁺	1.20 ± 0.01*	0.37 ± 0.01*	13.6 ± 0.1*	338.8 ± 12.3
Cd ²⁺ + 0.1 Se ³⁺	1.50 ± 0.01*	0.41 ± 0.01	13.5 ± 0.2*	293.1 ± 13.6
Pb ²⁺ (400)	0.78 ± 0.02*	0.20 ± 0.01*	9.8 ± 0.1*	226.2 ± 9.6*
Pb ²⁺ + 0.01 Se ³⁺	0.87 ± 0.01*	0.33 ± 0.01*	10.0 ± 0.1*	233.7 ± 8.7*
Pb ²⁺ + 0.1 Se ³⁺	0.80 ± 0.01*	0.30 ± 0.01*	8.8 ± 0.1*	242.4 ± 10.5*
Cd ²⁺ + Pb ²⁺	0.77 ± 0.03*	0.26 ± 0.01*	22.0 ± 0.2*	204.5 ± 7.0*
Cd ²⁺ + Pb ²⁺ + 0.01 Se ²⁺	1.10 ± 0.03	0.37 ± 0.02	23.4 ± 0.1*	268.6 ± 12.6*
Cd ²⁺ + Pb ²⁺ + 0.1 Se ²⁺	0.80 ± 0.01*	0.28 ± 0.01*	23.5 ± 0.1*	221.5 ± 10.3*
0.01 Se ²⁺	0.92 ± 0.01*	0.31 ± 0.01*	20.6 ± 0.2*	394.6 ± 10.0
0.1 Se ²⁺	0.94 ± 0.02*	0.36 ± 0.01*	20.2 ± 0.1*	395.0 ± 10.4

Примітка: * – різниця порівняно до контролю статистично достовірна за $p < 0,05$.

Виявлено, що під впливом селену зростала люмінесценція хлорофілу в листках (див. таблицю) та знижувався хлороз листків, що, можливо, пов'язане з активацією ферментативних систем і збільшенням кількості АТФ, необхідної для акцептора CO₂ [2, 4]. Можна припустити, що селен бере участь у процесах фотосинтезу, підтвердженням цього може бути той факт, що виділені селенофередоксини з хлоропластів петрушки і шпинату містили замість сірки селен [12].

Отже, встановлено синергію селену окремо з кадмієм або свинцем та посилення антагонізму їх сумісної взаємодії на найнижчих концентраціях селену. Отримані результати дають підставу стверджувати, що селен по-різному взаємодіє з важкими металами і тому антропогенний вплив на стан довкілля внаслідок забруднення важкими металами може посилюватися внаслідок нагромадження у середовищі сполук селену. Синергічний або антагоністичний характер впливу хімічних елементів змінюються залежно від концентрації взаємодіючих елементів у середовищі. Таким чином, невинне зростання кількості і розмаїття поліютантів у довкіллі може призвести до дисбалансу взаємовпливу елементів і зміни екологічних умов.

Висновки

На підставі проведених досліджень підтверджено участь кальцію як ключового компонента, що перепрограмує метаболізм в умовах стресу та підвищує стійкість протоніями моху до впливу важких металів.

Наведені результати можуть свідчити, що біологічна потреба селену надзвичайно низька для моху *F. hygrometrica*. Установлено, що з підвищенням концентрації селену в середовищі токсичність важких металів зростала. Ефективними виявилися лише низькі концентрації селену у захисті біотичних систем моху від інтоксикації токсичними дозами важких металів.

1. Безсонова В.П. Вплив важких металів на пігментну систему листка // Укр. ботан. журн. – 1992. – 49, № 2. – С. 63-66.
2. Гуральчук Ж.З. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – 26, № 2. – С. 107-117.
3. Ермаков В.В., Ковальский В.В. Биологическое значение селена. – М.: Наука, 1974. – 298 с.
4. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях // Под ред. Е.Л. Кордюм. – К.: Наук. думка, 2003. – 277 с.
5. Колупаев Ю.Е. Стресові реакції рослин (молекулярно-клітинний рівень). – Харків: Харків. держ. аграр. ун-т, 2001. – 173 с.
6. Колупаев Ю.Е. Кальций и стрессовые реакции растений // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. – Серія біологія. – 2007. – Вип. 1(10). – С. 24-41.
7. Лобачевська О.В., Демків Л.О., Кардаш О.Р. Вплив свинцю на ріст і розвиток мохів // Укр. ботан. журн. – 1992. – 49, № 2. – С. 50-56.
8. Мельничук Ю.П. Влияние ионов кадмия на клеточное деление и рост растений. – К., 1990. – 148 с.
9. Плохинский Н.А. Биометрия. – М.: Изд-во МГУ, 1970. – 367 с.
10. Селен в биологии // Материалы третьей науч. конф. (Баку, 17-19 ноября 1977 г.). – Баку, 1981. – С. 3-183.
11. Стрельченко Є.Д., Руденко С.С., Рибіцька М.М. Цитогенетичний ефект хлориду кадмію і хлориду алюмінію та модифікуюча дія селеніту натрію у корневих меристемах *Pisum sativum* L. // Онтогенез рослин в природному та трансформованому середовищі (Львів, 1-4 липня 1998 р.): матеріали міжнар. конф. – Львів: Сполом, 1998. – С. 234-235.
12. Торшин С.П., Удельнова Т.М., Конова Н.И., Забродина И.Ю., Машкова Т.Е., Ягодин Б.А. Селен в депонирующих средах нечерноземной зоны европейской части России и агрохимический метод коррекции дефицита селена // Экология. – 1996. – № 4. – С. 253-258.
13. Kofler L. Contribution a l'étude biologique des mousses cultivées in vitro: germination des spores, croissance et développement du protonema chez *Funaria hygrometrica* // Rev. bryol. et lichénol. – 1959. – 28, № 1/2. – 202 p.
14. Shaw A.J. Population ecology, population genetics, and microevolution // Bryophyte Biology / Eds. A.J. Shaw, B. Coffinet. – Cambridge: Cambridge University Press, 2000. – P. 369-402.
15. Zeive R., Peterson P.J. Selenium content of plants: Soil and atmosphere interactions // J. Sci. Food Agric. – 1985. – 36, № 7. – P. 534-535.

Інститут екології Карпат НАН України, м. Львів
e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua