

МОХИ ЯК ІНДИКАТОРИ АНТРОПОГЕННО ПОРУШЕНИХ ЛІСОВИХ ТЕРИТОРІЙ

MOSS AS INDICATORS OF ANTHROPOGENICALLY DISTURBED FOREST AREAS

Оксана Баїк (Oksana Baik), кандидат медичних наук, старший науковий співробітник, ВПНЗ «Львівський медичний університет», Інститут екології Карпат НАН України, Львів, Україна

Abstract. On the basis of the conducted research, it was established that under the influence of stress factors, such as hydrothermal regime and high light intensity, the synthesis of low-molecular antioxidants (soluble phenols, flavonoids, carotenoids, and anthocyanins) increases, which contributes to the stress resistance of moss plants. The research results indicate that the most significant increase in the content of low molecular weight metabolites in the dominant species of forest mosses occurred under the conditions of the highest level of disturbance of the forest ecosystem (clearing area), high temperatures, light intensity and low humidity. In addition, it was found that the increase in the content of low-molecular antioxidants correlates with the level of anthropogenic load on forest ecosystems. Therefore, the high content of soluble phenols, flavonoids, carotenoids and anthocyanins can serve as an indicator of anthropogenically disturbed forest areas.

Keywords: mosses, soluble phenols, flavonoids, carotenoids, anthocyanins.

Вступ. У рослин адаптація забезпечується численними фізіолого-біохімічними механізмами. Однією з особливостей формування стійкості рослин до абіотичних факторів є здатність до синтезу вторинних метаболітів, до яких належать каротиноїди, антоціани, флавоноїди та фенольні сполуки. Вони беруть участь в різних фізіологічних процесах: в регуляції фотосинтезу та дихання, захисних реакціях за дії стресових чинників. Недостатньо досліджено питання щодо захисної ролі низькомолекулярних антиоксидантів у розвитку стрес-толерантності до дії аномально високих температур та інсоляції, зокрема у мохів. Тому метою досліджень було вивчення змін кількісного вмісту фенольних сполук, антоціанового та каротиноїдного пігментного комплексу у домінантних видів лісових мохів на територіях, що різняться за рівнем антропогенного навантаження.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження вмісту низькомолекулярних метаболітів домінантних видів лісових мохів (*Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv., *Polytrichum formosum* Hedw., *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid.) (рис. 1, А–С) проводили на територіях Українського Розточчя (зона повного заповідання, зона стаціонарної рекреації та зона вирубки), що відрізнялися за гідротермічним режимом та рівнем освітлення.



Рис. 1. Види мохів, використані для досліджень: А – *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beav., В – *Polytrichum formosum* Hedw., С – *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid.

Визначення загального вмісту фенольних сполук (ФС) у гаметофіті мохів проводили з використанням реактиву Фоліна-Деніса [2]. За допомогою спектрофотометра Specord 210 Plus визначали оптичну густину екстракту при довжині хвилі 765 нм. Загальний вміст фенольних сполук обчислювали за калібрувальною кривою, побудованою за хлорогеновою кислотою (“Sigma”, США) та виражали в мг/г маси сухої речовини.

Спектри поглинання комплексів флавоноїдів з хлоридом алюмінію оцінювали на спектрофотометрі Specord 210 Plus в діапазоні 400-700 нм з кроком 0,1 нм та порівнювали із спектрами поглинання стандартних розчинів флавоноїдів [10]. Оптичну густину екстракту аналізували спектрофотометрично за довжини хвилі 425 нм. Вміст флавоноїдів визначали за калібрувальною кривою, побудованою за кверцетином та виражали в мг/г маси сухої речовини.

Вміст каротиноїдів визначали в 96% розчині етилового спирту на спектрофотометрі Specord 210 Plus і розраховували за формулами Хольма-Ветштейна. Вміст антоціанів визначали за М.Н. Голубчиковим [1]. Оптичну густину екстракту вимірювали за довжини хвилі 539 нм. Вміст антоціанів виражали в мг/г маси сухої речовини.

Проведені дослідження є фрагментом науково-дослідних робіт ТЗОВ «Львівський медичний інститут» за темою «Удосконалення системи обігу ліків під час фармакотерапії на засадах доказової і судової фармації, організації, технології, біофармації та фармацевтичного права» (номер державної реєстрації 0120U105348, термін виконання 2021-2026).

Результати досліджень та їх обговорення. Активні форми кисню (АФК), особливо синглетний кисень, що утворюються в хлоропластах в умовах стресу, можуть окиснювати каротиноїди, призводячи до різноманітних окиснених продуктів, включаючи альдегіди, кетони, ендопероксида та лактони. Деякі з цих похідних каротиноїдів, є біологічно активними та можуть індукувати зміни в експресії генів, що призводить до стресостійкості [4, 7, 9]. Каротиноїди є компонентами пігментного комплексу та низькомолекулярними антиоксидантами терпеноїдної природи. Метаболіти пластидних каротиноїдів можуть впливати на експресію ядерних генів, що вказує на функцію каротиноїдів, як індикаторів стресу у рослин. Каротиноїди відіграють важливу роль у механізмах захисту фотосинтетичного апарату від різноманітних шкідливих факторів зовнішнього середовища. Вони поглинають АФК, що утворюються під час фотоокиснювального стресу і пом'якшують вплив екстремальних температур [12].

Порівняльний аналіз досліджуваних мохів, які ростуть на різних за ступенем порушення лісової екосистеми та водним балансом локалітетах показав, суттєві відмінності вмісту каротиноїдів залежно від життєвої форми та місцевиростання. Особливо відрізняється вміст каротиноїдів у ектогідричних мохів з різними життєвими формами, які є чутливішими до дії абіотичних факторів. Так, вміст каротиноїдів у *A. undulatum* з життєвою формою – висока пухка дернинка із території вирубки становив $0,49 \pm 0,03$ мг/г маси сухої речовини, що у 1,4 рази був вищим, ніж у зразках із зони повного заповідання. У *S. purpureus* з життєвою формою – низька щільна дернинка, вміст каротиноїдів у зразках з різних місцевиростань істотно відрізнявся: із зони повного заповідання – $0,47 \pm 0,05$ мг/г маси сухої речовини, із зони стаціонарної рекреації

– $0,59 \pm 0,03$ мг/г маси сухої речовини, із території вирубки – $0,72 \pm 0,04$ мг/г маси сухої речовини. Найменшу залежність вмісту каротиноїдів приблизно у 1,2 рази від дії цих абіотичних чинників зафіксовано у ендогідричного моху *P. formosum* на території вирубки (рис. 2). Таким чином, враховуючи антиоксидантні властивості каротиноїдів можна припустити їхню участь у формуванні адаптації до екстремальних чинників довкілля.

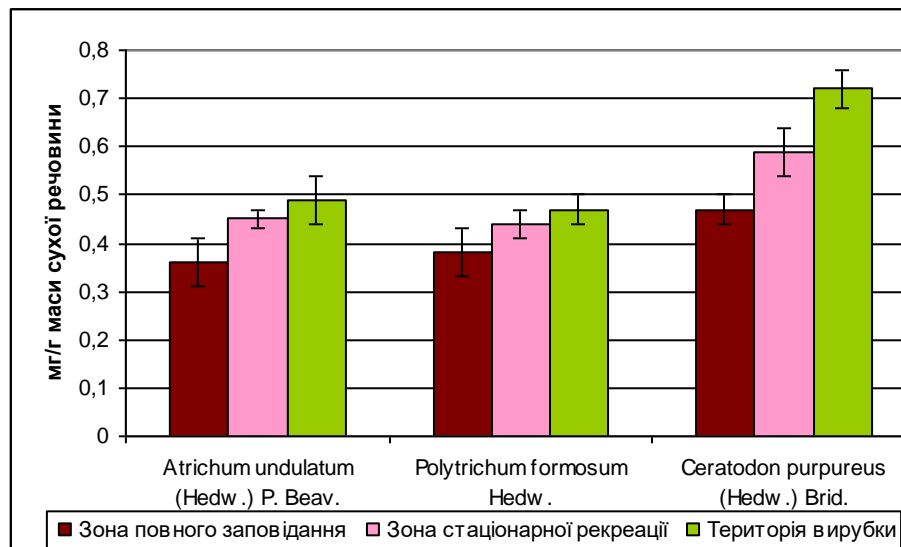


Рис. 2. Вміст каротиноїдів (мг/г маси сухої речовини) у пагонах домінантних видів лісових мохів на територіях Українського Розточчя.

Антоціани є антиоксидантами, що знешкоджують АФК, які утворюються в стресових умовах. Вміст антоціанів є домінуючим компонентом фенольного комплексу. Вважають, що антоціани беруть участь у захисті мембран тилакоїдів в умовах стресу [8]. Антоціани – це рослинні пігменти флавоноїдного підкласу фенілпропаноїдів. Вони індукуються в рослинах у відповідь на абіотичні стреси, де часто корелюють з підвищеною стресостійкістю, включаючи функції поглиначів АФК, фотопротекторів і передачі сигналів стресу. Антоціани, вважаються запобіжниками окисного пошкодження, викликаного теплом, шляхом посилення їх накопичення [6]. За вмістом антоціанів є суттєві відмінності у *A. undulatum* та *C. purpureus* із різних локалітетів, що відрізняються за інтенсивністю освітлення та гідротермічним режимом. Найвищим був вміст

антоціанів у зразках цих видів мохів із території вирубки – $3,98 \pm 0,44$ мг/г маси сухої речовини та $3,87 \pm 0,34$ мг/г маси сухої речовини відповідно, що у 1,2-1,4 рази переважає їх вміст із зони стаціонарної рекреації та зони повного заповідання. Найбільш константними були показники вмісту антоціанів у ендогідричного моху *P. formosum*: зона повного заповідання – $3,51 \pm 0,30$ мг/г маси сухої речовини; зона стаціонарної рекреації – $3,66 \pm 0,35$ мг/г маси сухої речовини; територія вирубки – $3,79 \pm 0,26$ мг/г маси сухої речовини (рис. 3).

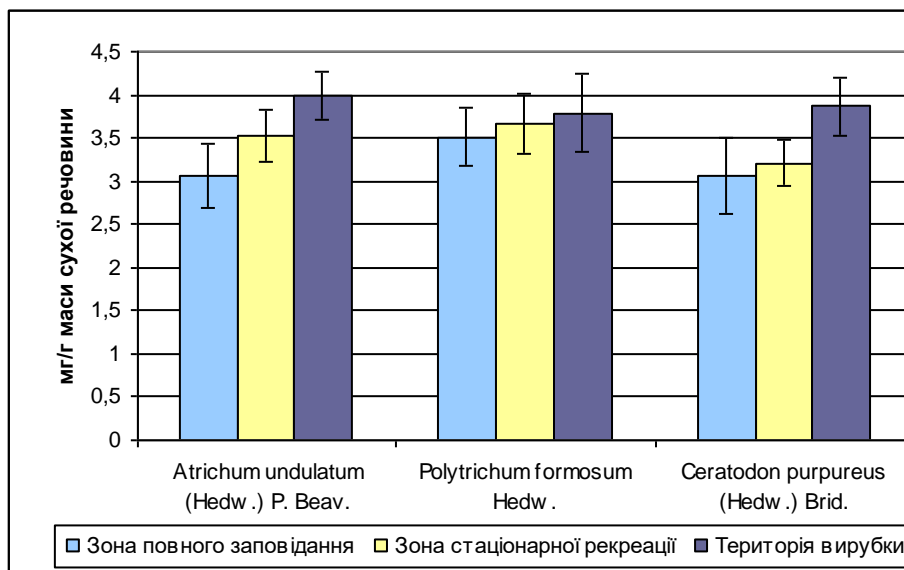


Рис. 3. Вміст антоціанів (мг/г маси сухої речовини) у пагонах домінантних видів лісових мохів на територіях Українського Розточчя.

Очевидно, реакцією досліджуваних мохів на несприятливі фактори довкілля є підвищення рівня антоціанів, яке спрямоване на знешкодження окисних пошкоджень, викликаних дією стрес-факторів. Оскільки відомо, що існує тісний взаємозв'язок між нагромадженням, якісними та кількісними характеристиками антоціанів в рослинах і факторами природного середовища,

Для рослин властиві біосинтетичні механізми для підтримки внутрішнього гомеостазу. Флавоноїди у рослин є вторинними метаболітами і біостимуляторами, вони відіграють важливу роль як антиоксиданти шляхом детоксикації та видалення АФК, що утворюються як побічні продукти окисного метаболізму під час абіотичних стресів. Важливою є функція флавоноїдів як

регуляторів розвитку та як сигнальних сполук [3, 11]. Встановлено зростання вмісту флавоноїдів залежно від рівня порушення лісових екосистем, гідротермічного режиму та інтенсивності освітлення. Так, у *A. undulatum* зафіксовано найвищий вміст флавоноїдів на території вирубки – $23,69 \pm 0,32$ мг/г маси сухої речовини, що у 1,4 рази перевищує їх вміст у зразках із зони повного заповідання ($16,92 \pm 0,12$ мг/г маси сухої речовини). У *C. purpureus* також найвищий вміст флавоноїдів встановлено на території вирубки – $22,49 \pm 0,13$ мг/г маси сухої речовини, що у 2,4 рази є більшим за їх вміст у зразках із зони повного заповідання ($9,25 \pm 0,26$ мг/г маси сухої речовини). У *P. formosum* вміст флавоноїдів на території вирубки перевищував їх вміст у моху із зони повного заповідання лише в 1,4 рази, що очевидно пов'язано з особливостями анатомічної структури цього виду моху (рис. 4).

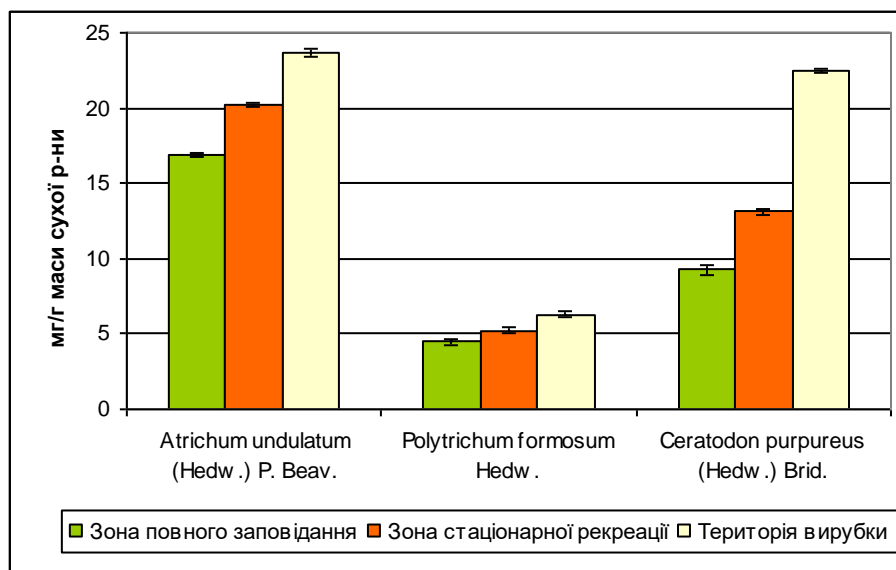


Рис. 4. Вміст флавоноїдів (мг/г маси сухої речовини) у пагонах домінантних видів лісових мохів на територіях Українського Розточчя.

Отже, поліфенольна структура та різноманітна хімічна природа флавоноїдів зумовлюють антиоксидантний захист рослин в умовах абіотичного стресу за високої інтенсивності освітлення (110 лк) та температури (30-32⁰С) і низької вологості (~ 20%), сприяючи виживанню рослин.

Відомо, що фенольні сполуки протидіють оксидативному стресу: знешкоджують АФК, підтримують внутрішнє середовище клітин у відновленому стані та позитивно впливають на активність антиоксидантних ферментів. Антиоксидантні властивості фенолів зумовлені їх високими донорними властивостями та здатністю їх радикалів стабілізувати і делокалізувати неспарений електрон, що зупиняє ланцюгові реакції. Фенольні сполуки є важливим класом вторинних метаболітів рослин, які відіграють вирішальну фізіологічну роль протягом життєвого циклу рослин. У рослинах накопичення фенолу зазвичай є постійною ознакою рослин у стані стресу, що представляє собою захисний механізм для боротьби з абіотичними стресами. Розчинні фенольні сполуки відіграють важливу роль у фізіологічних процесах для посилення толерантності та адаптивності рослин в умовах абіотичних стресів. Показано зростання вмісту розчинних фенольних сполук у досліджуваних видів мохів із зростанням рівня антропогенного навантаження. Так, у *A. undulatum* вміст розчинних фенолів на території вирубки був найвищим і становив $0,87 \pm 0,06$ мг/г маси сухої речовини; у *C. purpureus* – $0,75 \pm 0,04$ мг/г маси сухої речовини. мг/г маси сухої речовини (рис. 5).

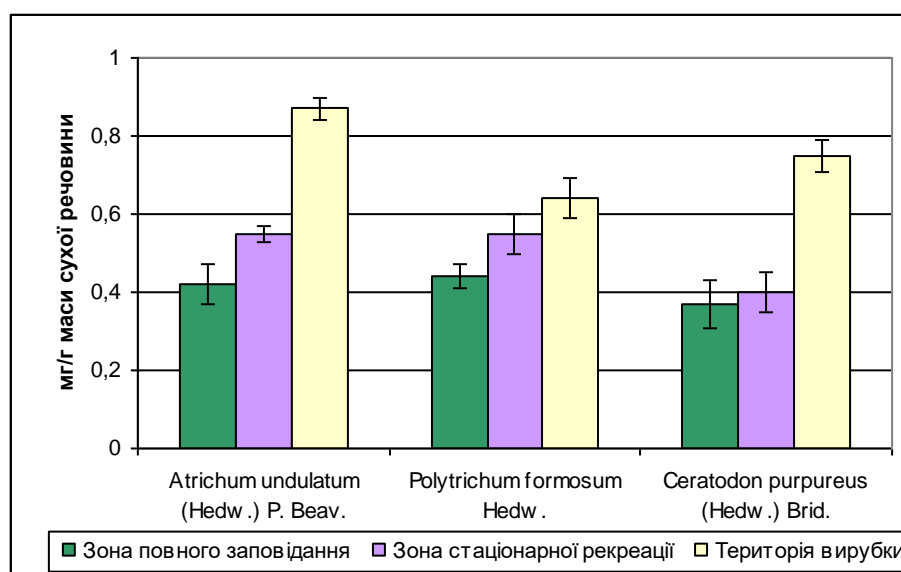


Рис. 5. Вміст фенолів (мг/г маси сухої речовини) у пагонах домінантних видів лісових мохів на територіях Українського Розточчя.

Незначне зростання вмісту фенолів за умов найвищого рівня порушення лісової екосистеми (території вирубки), високих температур та інтенсивності освітлення встановлено у *P. formosum*: $0,64 \pm 0,053$ мг/г маси сухої речовини, порівняно із зоною повного заповідання – $0,44 \pm 0,02$ мг/г маси сухої речовини.

Висновки. Отже, під впливом стресових чинників, таких як гідротермічний режим та висока інтенсивність освітлення, домінантні види лісових бріофітів синтезують більше низькомолекулярних антиоксидантів (розчинних фенолів, флавоноїдів, каротиноїдів та антоціанів), що сприяє стресостійкості мохових рослин. Крім того, встановлено, що зростання вмісту низькомолекулярних антиоксидантів корелює із рівнем антропогенного навантаження на лісові екосистеми.

Список літератури.

1. Голубчиков М.Н. Выделение фенольных соединений из растительных материалов / М.Н. Голубчиков. – М.: Наука, 1971. – 107 с.
2. Anahita A. Evaluation of total phenolic content, total antioxidant activity, and antioxidant vitamin composition of pomegranate seed and juice // International Food Research Journal. 2015. 22 (3): 1212–1217. DOI: 10.4172/2327-5146.1000164
3. Ferdinando M., Brunetti C., Fini A., Tattini M. Flavonoids as Antioxidants in Plants Under Abiotic Stresses // In book: Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability. Springer Science, Business Media, LLC. 2012: 159-179. DOI:10.1007/978-1-4614-0634-1_9.
4. Havaux M. Carotenoid oxidation products as stress signals in plants // The Plant J. 2013. 79: 597-606. DOI: 10.1111/tpj.12386.
5. Hurry V. Abiotic stress-induced anthocyanins in plants: Their role in tolerance to abiotic stresses // Physiologia Plantarum. 2021. 172 (3): 1711-1723. URL: <https://doi.org/10.1111/ppl.13373>.
6. Kovinich N., Kayanja G., Chanoca A., Otegui M.S., Grotewold E. // Plant Signal Behav. 2015. 10 (7): 501-504.

7. Kulshrestha S., Jibrán R., Klink J., Zhou Y., Brummell D., Albert N., Schwinn K., Chagne D., Landi M., Bowman J. and Davies K. Stress, senescence, and specialized metabolites in bryophytes // *Journal of Experimental Botany*. 2022. 73 (13): 4396-4411. URL: <https://doi.org/10.1093/jxb/erac085>.
8. Neill S. J., Gould K. S., & Kilmartin P. A. Antioxidant activities on red versus green leaves in *Elatostema rugosum*. // *Plant, Cell & Environment*. 2002. 25: 539–547. DOI: 10.1046/j.1365-3040.2002.00837.x
9. OingboKe, LeKang, SooKim, TianXie et al. // *Plant Science*. 2019. 281: 52-60.
10. Pękal A., Pyrzynska K. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay // *Chemistry. Food Analytical Methods*. 2014. 7(9): 1776-1782. DOI: 10.1007/s12161-014-9814-x.
11. Sharma A., Shahzad B., Rehman A., Bhardwaj R., Landi M., Zheng B. Response of Phenylpropanoid Pathway and the Role of Polyphenols in Plants under Abiotic Stress. *Molecules*. 2019. 24:24-52. DOI: 10.3390/molecules24132452.
12. Uarrota VG, Stefen DLV, Leolato LS, Gindri DM, Nerling D. Revisiting carotenoids and their role in plant stress responses: From biosynthesis to plant signaling mechanisms during stress. // In book: *Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants*. Springer, Cham. 2018: 207-232. DOI: 10.1007/978-3-319-75088-0_10.