



Я.Д. ХОРКАВЦІВ, Н.А. КІТ

Інститут екології Карпат НАН України
вул. Стефаніка, 11, м. Львів, 76000, Україна
morphogenesis@mail.lviv.ua

ПРО СТІЙКІСТЬ ПРОРОСТАННЯ СПОР І РЕГЕНЕРАЦІЇ ЛИСТКІВ МОХІВ ДО СПОЛУК РТУТІ ТА СІРКИ

Ключові слова: спори, регенерація, метилювання, адаптація, епігенетична регуляція

Вступ

Мохи є найпершими поселенцями на суші та невід'ємними компонентами екосистем. За період свого існування мохоподібні еволюціонували в різних кліматичних умовах завдяки поширенню як мейоспорами й асексуальними пропалагулами, так і високої регенеративної здатності. Вважають, що банк спор важливий на ініціальній стадії поширення мохів — як спосіб успішного закріплення на нових, часто порушених територіях (During, 2001; Glime, 2006). Окрім того, спори — засіб для рознесення мохів на дальші від батьківських рослин відстані, а вегетативне розмноження дає змогу успішно закріпитися і збільшити площу заселення (Freu, Kürschner, 2010).

Обов'язковими передумовами проростання спор та регенерації є вода і світло, а також — рН середовища, фітогормони, іони кальцію (Herben et al., 1991; Wiklund, Rydin, 2004; Proctor, 2008; Pundiak, 2009; Awasthi et al., 2010). Достатня кількість ендогенних полісахаридів сприяє розбуханню спор, а їх проростання та ріст протонеми залежать від функціонального стану ДНК ядер. Адаптація до умов існування здійснюється з участю фізіологічних, біохімічних, молекулярних механізмів у межах одного генотипу. Однак у фенотипі ніколи не проявляються всі можливості генотипу одночасно. Екстре-

мальні чинники можуть ініціювати реалізацію прихованих потенцій, які не виявляються за нормальних умов унаслідок селекції індукованих впливом стресора епігенотипів. Епігенетична адаптація простежується у реакціях-відповідях рослин на впливи різних стресів, наприклад, важких металів, засолення, зниження температури, посухи (Kingham et al., 1998; Chinnusamy, Zhu, 2009). Нам ще невідома роль епігенетичної адаптації у природних умовах, оскільки досліджувати проростання спор чи регенерацію безпосередньо у природі важко. Проте в експерименті можна змоделювати певні екологічні умови (наприклад, температуру, вологість, фотоперіод, склад середовища) й у такий спосіб передбачити можливості проростання спор у нових локалітетах (Хоркавців, Ріпецький, 2011). Тому метою нашої роботи було порівняти життєздатність спор і регенерантів різних видів мохів під дією ртуті та сірки, проаналізувати роль метилювання ДНК у проростанні спор і з'ясувати, чи є епігенетичні зміни фактором, що впливає на виживання мохів у стресових природних умовах.

Матеріали та методика дослідження

Ми використали 5 видів листяних мохів: *Funaria hygrometrica* (Hedw.), *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb., *Tortula modica* R.H. Zander (*Pottia intermedia* (Turner) Fűrnr.) і *Physcomitrella patens* (Hedw.) B.S.G. У стерильних умовах висівали

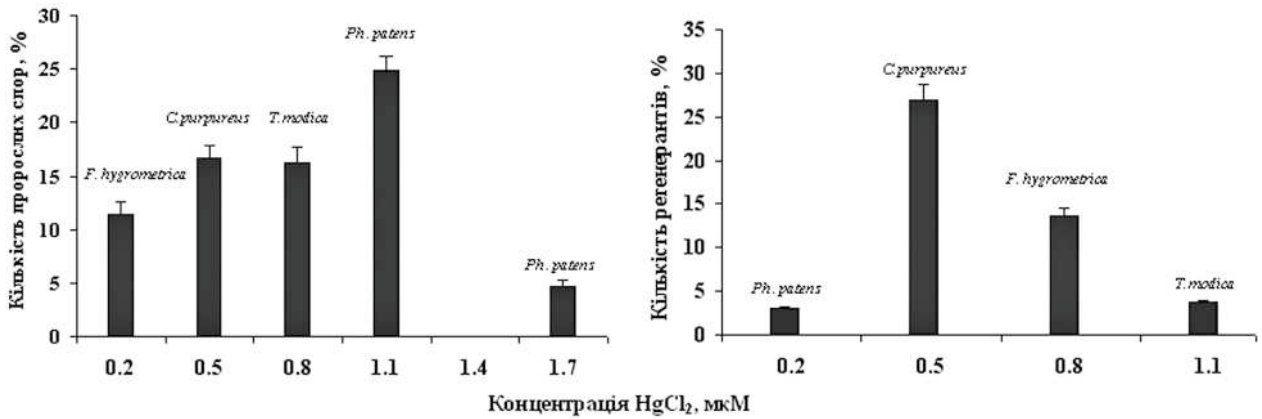


Рис. 1. Вплив HgCl₂ на виживання спор і мікрорегенерантів листків мохів
Fig. 1. The influence of HgCl₂ on the spore survival and microregenerants of the moss leaves

спори і ставили на регенерацію листки з верхньої частини гаметофорів у шестисантиметрові чашки Петрі на Кноп-агар, додаючи 0,2–1,7 мкМ HgCl₂ і 25–100 мМ NaHSO₃. В кожену чашку висівали спори з одного спорогону і ставили на регенерацію по 50–70 листків площею ~ 0,05 мм². Культури вирощували у люмінестаті в контрольованих умовах: освітлення — 2500–3000 лк, температура — 20–22 °С, вологість — 85 %, фотоперіод — 16 год. Проростання спор та регенерацію листків аналізували протягом двох тижнів під бінокулярним мікроскопом МБС-1, починали спостереження через день після закладання досліду. Природні зразки відбирали з невеликих, часто ізольованих дернин, що певною мірою, є запорукою зниження інтерклональної мінливості та генетичної однорідності матеріалу. Окрім того, використовували лабораторні клони *T. modica* і *Ph. patens*.

Ядра спор фарбували через два дні після посіву *F. hygrometrica*, *C. purpureus*, *T. modica* та через три дні — *Ph. patens* і *P. nutans* за методикою флуорохромування акридиновим оранжевим (АО) Р. Рігlera (Зеленин, 1967). Визначали розміри спор і ядер та

робили люмінесцентні фотографії на мікроскопі «Axio Imager. M 1», Zeiss.

Для аналізу впливу 5-азацитину гаметофори клону *T. modica* занурювали у водний розчин 200 мМ інгібітора на дві доби за 20 °С. У стерильних умовах листки багаторазово відмивали, ставили на регенерацію і культивували у люмінестаті. Через 5–10 днів відсаджували листки, що прогенерували (наприклад, із 100 таких було 24) у нові чашки Петрі. Протягом місяця спостерігали за розвитком дернини: час появи бруньок, висота гаметофорів, розмір і щільність дернини (як похідні від кількості гаметофорів). Фенотипні спостереження виконували на мікроскопі МБС-1, а морфометричні вимірювання — на мікроскопі Axio Imager M1 «Karl Zeiss».

Досліди повторювали 2–3 рази, отримані результати опрацьовували статистично (Лакин, 1990).

Результати дослідження та їх обговорення

Окрім *Ph. patens*, інші види мохів ростуть на техногенних територіях після сірчаного видобутку, тому ми досліджували вплив бісульфіту натрію на проростання спор і регенерацію листків. Однак з огляду на попередні роботи з HgCl₂, як експериментально перевіреним стресовим чинником (Ріпечкий та ін., 2008; Хоркавців та ін., 2009), вважали за доцільне порівняти життєздатність спор і регенерантів листків на дозованих концентраціях ртуті та сірки.

У табл. 1 наведені розміри спор мохів за зниженням їхньої чутливості до ртуті. Для чотирьох видів встановлено пряму кореляцію між величиною спор та стійкістю до HgCl₂. Спори *F. hygrometrica* і *C. purpureus* менші і чутливіші до ртуті, ніж більші спори *Ph. patens* і *T. modica* (рис. 1).

Таблиця 1. Величина спор проаналізованих видів мохів

Вид	Розміри спор, мкм
<i>Ceratodon purpureus</i>	13,3 ± 0,6–16,1 ± 0,3
<i>Funaria hygrometrica</i>	15,9 ± 0,4–19,2 ± 0,7
<i>Pohlia nutans</i>	19,7 ± 0,4–22,8 ± 0,5
<i>Tortula modica</i>	34,4 ± 0,6–38,6 ± 0,6
<i>Physcomitrella patens</i>	29,8 ± 0,7–33,1 ± 0,7

З рис. 1 видно, що найчутливішою є *F. hygrometrica*: її спори на вищих концентраціях, аніж 0,2 мкМ HgCl_2 , не проростали. Проте стійкою виявилася регенерація листків, порогова доза для яких — 0,8 мкМ HgCl_2 . Цілком по-іншому реагувала на ртутний стрес *Ph. patens*: для виду характерна найвища стійкість спор, 5 % яких вижили на високій (1,7 мкМ) концентрації ртуті, і найчутливіші регенеранти, що росли лише на 0,2 мкМ HgCl_2 . Загалом спори досліджених видів чутливіші, ніж регенеранти, тільки для спор і листків *S. purpureus* порогова доза була спільною — 0,5 мкМ HgCl_2 . Можливо, вища чутливість спор зумовлена тим, що вони одноклітинні, тоді як листкова пластинка і жилка листка, яким властива висока активність регенерації, багатоклітинні. Однак наразі питання про особливості різної стійкості регенераційних процесів і проростання спор у мохів залишається відкритим.

Стосовно чутливості до сірки проаналізували три види мохів. Спори *T. modica* і *P. nutans*, більші і стійкіші, ніж у *S. purpureus*, виживали на 100,0 мкМ концентрації бісульфіту натрію, спори *S. purpureus* — на 75,0 мкМ. Два види *S. purpureus* і *T. modica* на середовищі з сіркою виявили однакову реакцію: стійкішими були мікрорегенеранти і чутливішими — спори. На відміну від них, листки *P. nutans* не прорегенерували на 75,0 мкМ NaHSO_3 , а 12 % спор проросли на концентрації 100,0 мкМ бісульфіту натрію (рис. 2).

Отже, чіткої закономірності щодо вразливості спор і регенеративних процесів до забруднення сіркою не встановлено, за таких умов в одних видів переважає розмноження спорами, а в інших — регенерація. Порівняльний аналіз свідчить, що спори *S. purpureus* і *P. nutans*, котрі росли й утворили спорогони на техногенному субстраті, значно стійкіші, ніж із локалітетів без домішок сірки. Тобто «пам'ять» про вплив попередніх умов і преадаптація до них збереглися в першому-другому поколіннях. Як довго — невідомо, але рослини *T. modica* мали більші листки і вищі гаметофори, вищу активність СОД і пероксидази — як післядію на вплив HgCl_2 , принаймні у перших (2–3-х) вегетативних поколіннях (Хоркавців, 2011). Такі набуті морфологічні відмінності надалі можуть сприяти конкурентній спроможності моху.

На підставі особливостей проростання спор і регенерації листків ми дійшли висновку, що в різних екологічних умовах ефективним для заселення може стати перевага одного типу розмноження над

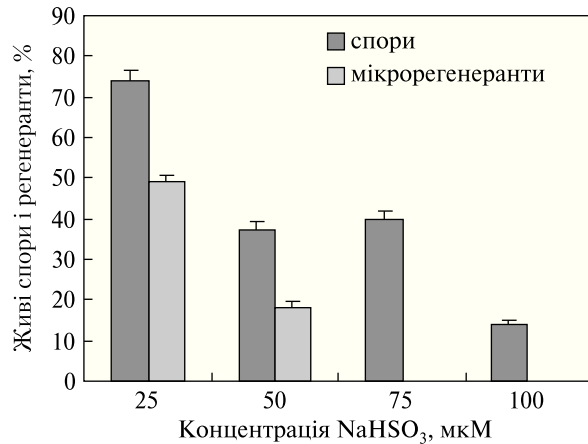


Рис. 2. Проростання спор і регенерація листків *Pohlia nutans* залежно від концентрації бісульфіту натрію в середовищі

Fig. 2. Spore germination and regeneration of *Pohlia nutans* leaves depending on the concentration of sulphur bisulphite in the medium

іншим. Висока продуктивність спор і здатність до регенерації *F. hygrometrica*, часто в екстремальних умовах, є пристосуванням у стратегії видів—біженців вторинних сукцесій. Найвища стійкість великих спор *Ph. patens* — це перевага під час збереження банку спор в очікуванні сприятливіших для проростання умов, а висока регенераційна активність і великі спори *T. modica* додають шансів закріпитися на території поблизу батьківської форми.

S. purpureus — поширений космополітний вид із стратегією справжнього колоніста. Мабуть, це є наслідком поєднання в нього досить високої стійкості спор і регенераційних процесів, що підвищує варіабельність поновлення в екстремальних умовах. Тому в загальній моделі поширення видів слід зважати на різноманітність способів їхнього розмноження. Варто відзначити, що жоден із використаних у дослідженні видів не має спеціалізованих пропагул, однак їх може замінити висока регенераційна здатність. Значний відсоток живих спор і регенеративів (від 5 % до 24 %, залежно від дози стресора; рис. 1) підтверджує можливість епігенетичної адаптації — як одного з механізмів виживання рослин у природних умовах (Хоркавців та ін., 2009). Яким би широким не був діапазон випадкової інтраклональної мінливості, практично неможливо уявити, що він міг забезпечити такий високий рівень виживання. Отже, в умовах дистресу вирішальне значення для виживання спорової чи регенеративної протонеми могла мати епігенетична адаптація.

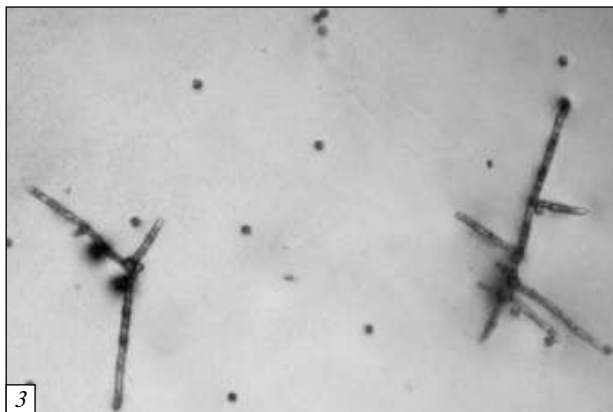
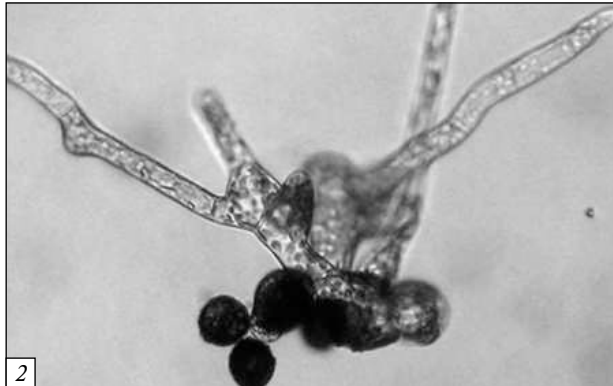
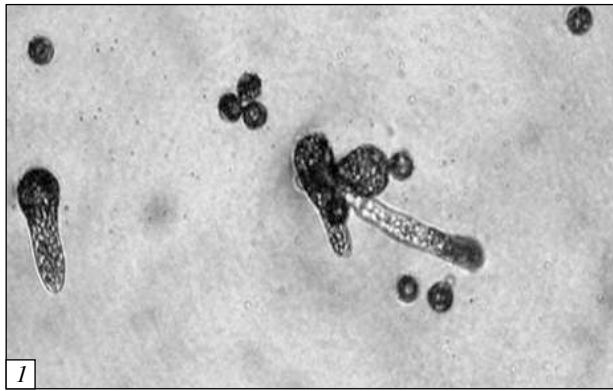


Рис. 3. Спори мохів із проростками і непророслі спори на середовищі з 75,0 мкМ бісульфіту сірки. Відсоток пророслих спор: 1 — *Pohlia nutans*, 28,5%; 2 — *Tortula modica*, 20%; 3 — *Ceratodon purpureus*, 27 %

Fig. 3. Moss spores with sporelings and unspouted spores on the medium with 75,0 μM bisulphate. The percentage of spouted spores: 1 — *Pohlia nutans*, 28,5 %; 2 — *Tortula modica*, 20 %; 3 — *Ceratodon purpureus*, 27 %

На рис. 3 показано спори на середовищі з сіркою, близько третина з них проросли. Тобто як і в разі стресорного впливу ртуті на розвиток мікрорегенерантів *T. modica* (Ріпецький та ін., 2008), життєвість спор могли обумовити не лише фізіологічні процеси.

Контроль за проростанням спор і розвитком гаметофіту за екстремальних умов насамперед залежить від функціонального стану ДНК. Через дві доби після висіву спори набубнявіли, а на 3—4-й день проростали. Цитофлуориметрично в готових до проростання спорах, а також у проростках зафарбували ядра (індикатор — акридиновий оранжевий), у яких бачимо яскраве зелене свічення комплексу ДНК · АО (рис. 4).

Коли проаналізували співвідношення розмірів спор і ядер, то у більших спорах ядра також були більшими, за винятком *T. modica* (табл. 2). Між розмірами спор і люмінесценцією ДНК·АО ядер виявлено кореляцію для двох видів — *F. hygrometrica* і *Ph. patens*. Проте не встановлено залежності для *P. nutans* і *C. purpureus*, наприклад, у *P. nutans* інтенсивна люмінесценція ДНК·АО та малі розміри спор і ядер, хоча люмінесценція ядер перед проростанням спор була яскравішою в усіх видів мохів (рис. 4). Різна люмінесценція ДНК·АО ядер на ранніх стадіях розвитку спор є специфічною ознакою виду. Очевидно, метаболічна активність цитоплазми і готовність до морфологічної диференціації та росту проростків відрізнялися lag-періодом, тобто тривалістю проростання спор.

У техногенних умовах розмноження мохів зазнає впливу полютантів, причому існує прямий зв'язок між металостресом і змінами у повторах ДНК (Bassi, 1999; 2006). Встановлено, що дія металу у *F. hygrometrica* супроводжується селективною ампліфікацією деяких нуклеотидних повторів ДНК, збагачених ГЦ основами. У *T. modica* спостерігали тенденцію до посилення люмінесценції комплексу ДНК · АО в ядрах протонеми, що росла на середовищі зі ртуттю, можливо, внаслідок ампліфікації окремих сайтів ДНК (Ріпецький та ін., 2008). Зміни можуть бути тимчасовими, оскільки ампліфікована ДНК поступово елімінується з клітин, інколи ж повтори можуть включатися у певні сайти хромосом і надалі реплікуватися в геномі (Chinnusamy, Zhu, 2009). У такий спосіб, мабуть, зберігається «пам'ять» рослин про вплив металостресу і, отже, преадаптація до стрес-фактора. Очевидно, що люмінесценція ДНК · АО ядер спор може бути результатом кількісних чи якісних змін нуклеотидної послідовності.

У мохів будь-яка клітина гаметофіту і спорофіту може утворити регенеративну протонему, тому завжди існує можливість отримати клони для досліджень на генетично максимально однорідному ма-

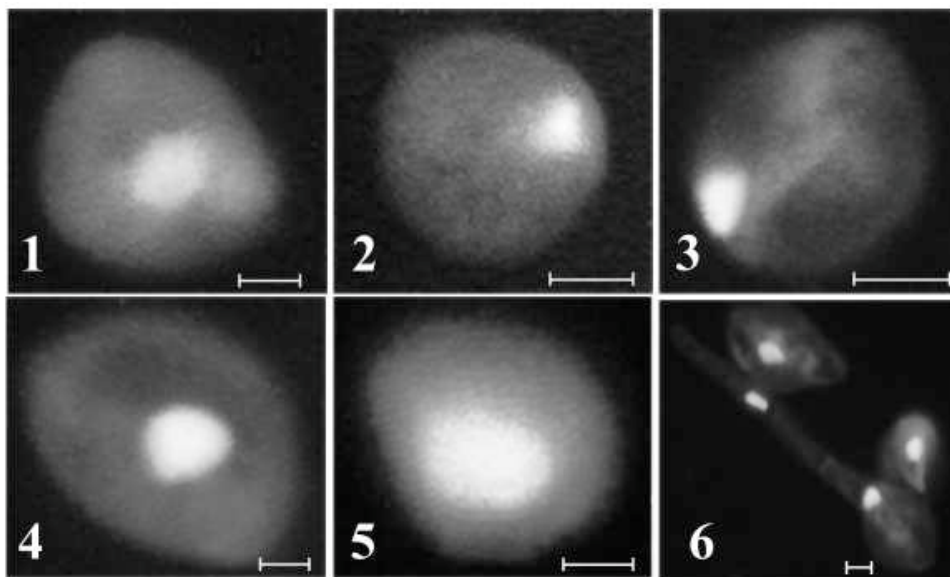


Рис. 4. Люмінесценція комплексу ДНК · АО в ядрах спор мохів: 1 — *Pohlia nutans*; 2 — *Ceratodon purpureus*; 3 — *Funaria hygrometrica*; 4 — *Tortula modica*; 5 — *Physcomitrella patens*; 6 — проростки і спори *F. hygrometrica*; штрих — 2,5 мкм

Fig. 4. Luminescence of DNA·AO complex of the nuclei in moss spores: 1 — *Pohlia nutans*; 2 — *Ceratodon purpureus*; 3 — *Funaria hygrometrica*; 4 — *Tortula modica*; 5 — *Physcomitrella patens*; 6 — sporelings and spores *F. hygrometrica*; bar — 2,5 μm

теріалі. Для вивчення впливу метилювання ДНК, як чинника епігенетичного контролю процесів розвитку, проаналізували стійкість спор і регенерантів клону з однієї клітини гаметофіту *T. modica* до 5-азацитину. Дія інгібітора метилювання ДНК для багатьох спор *T. modica* була летальною. На середовищі з 200 мМ 5-азацитину із 500 спор вижили 80—100, із них сформувалися звичайні гаметофори й дернини, які фенотипно не відрізнялися від необроблених рослин контролю. Загалом гаметофори після обробки 5-азацитином були нижчими, а бруньки закладалися на день—два швидше і до певного часу їх було більше, ніж у контролі (рисунки 4, 5). Площа дернин була меншою (0,099 мм²), аніж у контролі (0,124 мм²), а гаметофорів у дернинці більше: 43 — після дії 5-азацитину, 31 — у контролі. Але серед рослин, що вижили під впливом 5-азацитину, знайшли 5 більших гаметофорів (висота — 8,0 мм, контроль — 4,5 мм). Їх пересадили, вегетативно розмножили регенерацією листків й отримали нові покоління рослин, стійкіших до ртуті (неопубл. дані).

Відомо про незначну (1,2 раза) стимулювальну дію 5-азацитину на проростання спор *F. hygrometrica* у темряві (Хоркавців и др., 2008). Описано також вплив метилюваної ДНК на морфогенез,

структуру ядра та цитоплазматичну організацію про-тонеми *F. hygrometrica* (Kingham et al., 1998). Для *Nicotiana tabacum* встановлено, що під дією антибіотики успадковуються гіпометилювані ділянки ДНК (Koukalova et al., 1994). 5-азацитин стимулював гіпометилювання ДНК рису. Це спричинювало повне деметилювання промоторної ділянки гена резистентності до патогена й вищу стійкість рослин до збудника інфекції *Xanthomonas oryzae* (Akimoto et al., 2007).

Вивчаючи проростання спор та регенерацію листків під впливом ртуті та сірки, ми виходили з того, що стресорна дія дозозалежна, а дистрес настає, коли концентрація речовин вища від певного порогу, за межами якого цей негативний чинник уже не може компенсуватися рослиною (Кордюм и др.,

Таблиця 2. Розміри спор і ядер різних видів мохів

Вид	Розміри спор, мкм ³	Розміри ядер, мкм ³
<i>Ceratodon purpureus</i>	2175,8 ± 1,2	23,2 ± 1,2
<i>Funaria hygrometrica</i>	4709,1 ± 1,2	38,8 ± 0,8
<i>Pohlia nutans</i>	3001,5 ± 6,2	38,8 ± 1,2
<i>Physcomitrella patens</i>	15290,8 ± 3,6	74,4 ± 4,8
<i>Tortula modica</i>	19881,2 ± 6,2	36,8 ± 0,8

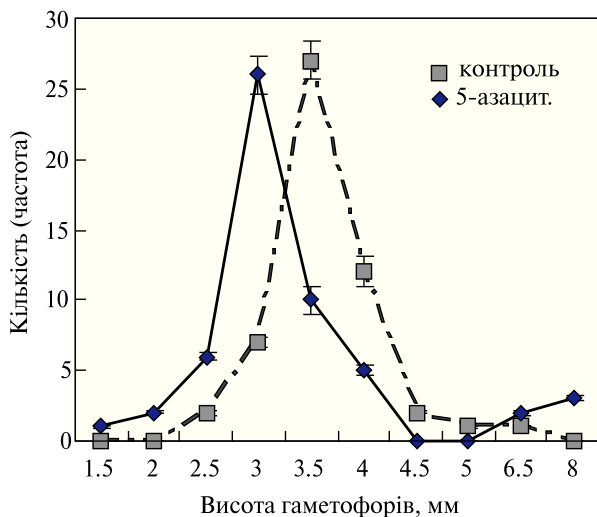


Рис. 5. Післядія 5-азацицитидину на розподіл гаметофорів *Tortula modica* за висотою

Fig. 5. Aftereffect of 5-azacytidine on height distribution of gametophores of *Tortula modica* by height

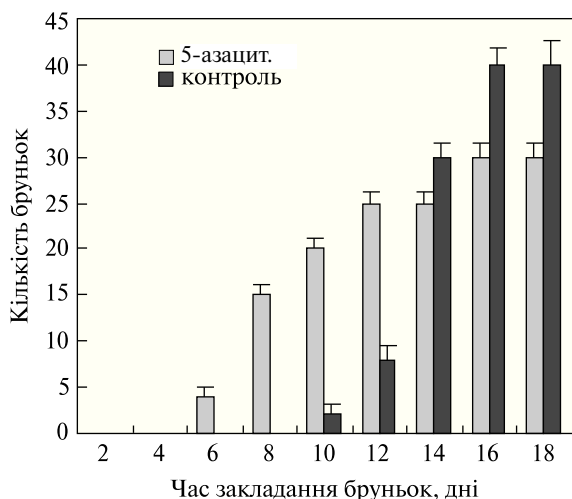


Рис. 6. Стимулювальний ефект 5-азацицитидину на закладання бруньок гаметофорів *Tortula modica*

Fig. 6. Stimulation of bud gametophores of *Tortula modica* formation with 5-azacytidine

2003). Важливо, що використання різних концентрацій стресора дає можливість розмежувати фізіологічну й епігенетичну адаптації, перша з яких відбувається без селекції, а друга зумовлена добром резистентних епігенотипів.

Як свідчать наші дослідження, різниця між фізіологічною й епігенетичною адаптаціями, власне, умовна. На високих концентраціях ртуті та сірки виживали приблизно 20–30 % спор: із підвищенням

вмісту HgCl_2 і NaHSO_3 у субстраті кількість пророслих спор різко знижувалася. На низьких концентраціях солей селективна дія візуально ще не проявлялася, тобто відсоток проростання спор і регенерації листків був, як у контролі. Але вже за таких умов у стійких до ртуті рослин *T. modica* дещо зростає активність пероксидази, а спектр ферменту був ширшим, аніж у нестійких, та зберігався у вегетативних нащадків (Ріпецький та ін., 2008). Після дії азацицитидину активність пероксидази нагадувала спектр ферменту стійких до ртуті епігенотипів *T. modica* (Хоркавців, 2011).

Отже, подібний вплив ртуті і 5-азацицитидину наводить на думку, що адаптація до HgCl_2 зумовлена метилюванням та стійкістю метилюваного стану в регуляторній ділянці повторів ДНК. Селекція стійкіших форм гаметофіту могла відбуватися внаслідок епігенетичного контролю генетичної системи клітин. Окрім того, знаючи порогові концентрації стресора для спор та регенерантів і застосувавши мікроклональний аналіз природних дернин мохів, можна діагностувати видовий склад та заселення мохів із сусідніх ділянок, які межують із техногенно порушеною територією.

Висновки

Проростання спор і регенерація листків гаметофіту мохів обмежені різною стійкістю до солей ртуті та сірки, що сприяє вибору способу розмноження та посилює конкурентну спроможність рослин у стресових умовах.

Заселення мохів на техногенних субстратах, забруднених, зокрема, сіркою або ртуттю, в результаті генеративного (спорами) чи вегетативного (регенерацією) розмноження, визначається комплексом морфо-функціональних змін, які у природних умовах можуть реалізуватися з участю епігенетичних систем.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Зеленин А.В. Люминесцентная цитохимия нуклеиновых кислот. — М.: Наука, 1967. — 135 с.
2. Кордюм Е.Л., Сытник К.М. Концепция стресса / Клеточные механизмы адаптации растений. — Киев: Наук. думка, 2003. — С. 11–20.
3. Лакін Г.Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
4. Леопольд А. Рост и развитие растений. — М.: Мир, 1968. — 494 с.
5. Ріпецький Р.Т., Хоркавців Я.Д., Лобачевська О.В., Кім Н.А. Адаптація клону моху *Pottia intermedia* до ртуті // ДАН України. — 2008. — № 2. — С. 165–166.

6. Хоркавице Я.Д., Рупецкий П.Т., Кум Н.А. Стабильность клеточной дифференцировки проростков мха *Funaria hygrometrica* Hedw. / IX междунар. конф. «Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология». (Тезисы) — (г. Звенигород, 8—12 сентября 2008 г.). — М., 2008. — С. 432.
7. Хоркавице Я.Д., Рупецкий П.Т., Байк О.Л. Фенотипічна та епігенетична адаптація клону моху до ртуті // Цитологія і генетика. — 2009. — № 5. — С. 22—27.
8. Хоркавице Я.Д., Рупецкий П.Т. Про природу стійкості спор мохів до стресових впливів / Мат-ли XII з'їзду Укр. ботан. т-ва (м. Львів, 19—23 вересня 2011 р.). — Львів, 2011. — С. 335.
9. Хоркавице Я.Д. Особливості стійкості мохів до ртуті / Відновлення порушених природних екосистем / Мат-ли IV міжнар. наук. конф. (м. Донецьк, 18—21 жовтня 2011 р.). — Донецьк, 2011. — С. 383—385.
10. Akimoto K., Katakami H., Kim H.-J., et al. Epigenetic inheritance in rise plants // Ann. of Bot. — 2007. — **100**. — P. 205—217.
11. Awasthi V., Nath V., Asthana A.K. Effect of some physical factors on reproductive behaviour of selected bryophytes // Intern. J. Plant Reproduct. Biol. — 2010. — **2** (2). — P. 141—145.
12. Bassi P. The effect of environmental stress on repetitive DNA behavior in plants // Plant Response to Environmental Stresses / Ed. H.R. Lerner. — New York: Marcel Dekker, 1999. — P. 161—170.
13. Bassi P. Plasticity of repetitive DNA in response to metal stress in Bryophytes // Plant Biosystems. — 2006. — **140** (1). — P. 80—86.
14. Chinnusamy V., Zhu J.-K. Epigenetic regulation of stress responses in plants // Plant Biology. — 2009. — **12**. — P. 1—7.
15. During H.J. Diaspore banks // The Bryologist. — 2001. — **104**(1). — P. 92—97.
16. Frey W., Kürschner H. Asexual reproduction, habitat colonization and habitat maintenance in bryophytes // Flora. — 2010. — **4** (20). — P. 1—12.
17. Glime G.M. Ecophysiology of development: spore germination / Bryophyte Ecology // 2006 <http://www.bryocool.mtu.edu>
18. Herben T., Rydin H., Söderström L. Spore establishment probability and the persistence of the fugitive invading moss, *Orthodontium lineare*: a spatial simulation model // Oikos. — 1991. — **60**. — P. 215—221.
19. Kingham Keith I., Duckett J. G., Gazdova B. The role of DNA methylation on nuclear and cell differentiation in the filamentous caulonema of the moss *Funaria hygrometrica* // New Phytol. — 1998. — **138**. — P. 567—577.
20. Koukalova B., Kuhrova V., Vyskot B. Maintenance of the induced hypomethylated state of tobacco nuclear repetitive DNA sequences in the course of protoplast and plant regeneration // Planta. — 1994. — **194**. — P. 306—310.
21. Proctor M.C.F. Physiological ecology // Bryophyte Biology / Ed. B. Goffinet, A.J. Shaw. — Cambridge University Press, 2008. — P. 237—268.
22. Pundiak O.I. Polarization of germinating spores of mosses *Ceratodon purpureus* and *Funaria hygrometrica* Hedw. // Мат-ли V всеукр. наук.-тех. конф. «Актуальні питання теор. і прикл. біофіз., фізики і хімії» (м. Севастополь, квітень 2009). — Севастополь. — С. 146—147.
23. Wiklund K., Rydin H. Ecophysiological constraints on spore establishment in bryophytes // Functional Ecology. — 2004. — **18**. — P. 907—913.

Рекомендує до друку
С.Л. Кордюм

Надійшла 12.07.2012 р.

Я.Д. Хоркавице, Н.А. Кум

Институт экологии Карпат НАН Украины, г. Львов

ОБ УСТОЙЧИВОСТИ ПРОРАСТАНИЯ СПОР И РЕГЕНЕРАЦИИ ЛИСТЬЕВ МХОВ К СОЕДИНЕНИЯМ РТУТИ И СЕРЫ

Определена различная чувствительность к бисульфиту серы проростков спор и микрорегенерантов мхов *Ceratodon purpureus*, *Pohlia nutans*, *Tortula modica*, произрастающих на субстратах после добычи серы. Проанализирована резистентность мхов к $HgCl_2$ как фактору, способному инициировать эпигенетическую адаптацию на дозированных концентрациях стрессора. Споры оказались более чувствительные к $HgCl_2$ и более устойчивые к $NaHSO_3$, чем микрорегенеранты, что подтверждает различие реакций мхов на токсическое влияние элементов, а в естественных условиях является адаптивной стратегией для выбора оптимальных способов размножения. Ингибитор метилирования ДНК 5-азациитидин избирательно стимулировал прорастание спор, дифференциацию почек гаметофоров, развитие дерновинок *T. modica* и повышал стойкость мха к ртути. В итоге морфо-физиологические свойства, приобретенные после селективного действия ртути и 5-азациитидина, оказались общими и закрепились в трех вегетативных поколениях *T. modica*. Высокая выживаемость спор и регенерантов (от 5 до 30 %) в условиях дистресса $HgCl_2$ и $NaHSO_3$ свидетельствует об эпигенетической адаптации. Можно предположить, что размножение мхов в экстремальных природных условиях контролируется изменением метилированного состояния ДНК.

Ключевые слова: споры, регенерация, метилирование, эпигенетическая регуляция.

Ya.D. Khorkavitsiv, N.A. Kum

Institute of Ecology of the Carpathians,
National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv

ON RESISTANCE OF THE MOSS SPORES SPORELING AND LEAVES REGENERATION TO COMPOUNDS OF HYDRARGYRUM AND SULPHUR

Various sensitivity to sulphur bisulphate of spores sporelings and microregeranants of the mosses *Ceratodon purpureus*, *Pohlia nutans*, *Tortula modica* growing on the substrates after sulphur extraction has been determined. Resistivity of the mosses *C. purpureus*, *T. modica*, *Funaria hygrometrica*, *Physcomitrella patens* to $HgCl_2$ as a factor capable to initiate epigenetic adaptation on dosed stressor concentrations has been analysed. Spores appeared to be more sensitive to $HgCl_2$ and more resistant to $NaHSO_3$ than microregeranants, which confirms different reaction of mosses to toxic influence of the elements, but under natural conditions it represents the adaptive strategy for choosing the ways of reproduction. High ability of spores and regenerants (from 5 % to 30 %) for survival under $HgCl_2$ and $NaHSO_3$ distress demonstrates the possibility of epigenetic adaptation under natural conditions. Methylation inhibitor of DNA 5-azacytidine stimulated spores sprouting, differentiation of gametophore buds, development of short turfs of *T. modica*, and selectively enhanced moss resistivity to mercury. As a result, morpho-physiological properties acquired after selective action of mercury and 5-azacytidine appeared to be common and were inherited in three vegetative generations of *T. modica*. It confirms selection possibility of induced epigenotypes «memorizing» the stressor influence under extreme natural conditions. It may also be supposed that moss reproduction is controlled by the change of methylated DNA state.

Key words: spores, regeneration, methylation, epigenetic adaptation.