

<https://doi.org/10.15407/knit2023.04.106>

УДК 580.7:581.44 (477)

Я. Д. ХОРКАВЦІВ¹, старш. наук. співроб., канд. біол. наук

ORSID 0000-0002-9971-6863

E-mail: ecomorphogenesis@gmail.com

О. В. ЛОБАЧЕВСЬКА¹, зав. відділу екоморфогенезу рослин, старш. наук. співроб., канд. біол. наук

ORSID 0000-0001-7141-4153

E-mail: ecobryologia@gmail.com

Н. Я. КИЯК¹, старш. наук. співроб., канд. біол. наук

ORSID 0000-0001-8965-9060

E-mail: kyyak_n@i.ua

Є. Л. КОРДЮМ², зав. відділу клітинної біології та анатомії, д-р біол. наук, проф.

ORSID 0000-0002-4634-9617

E-mail: cellbiol@ukr.net

¹Інститут екології Карпат Національної академії наук України

вул. Козельницька 4, Львів, Україна, 79026

²Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України

вул. Терещенківська 2, Київ, Україна, 01601

ВПЛИВ МЕТИЛЮВАННЯ ДНК НА ГРАВІЧУТЛИВІСТЬ МОХІВ

Сила тяжіння є важливим фактором росту та розвитку рослин у природному середовищі. Вплив реальної або імітованої мікрогравітації індукує стресову реакцію рослин, яка відбувається унаслідок диференціації клітин та зміни експресії генів при метилуванні ДНК.

*Досліджено вплив інгібітора метилування ДНК 5-азацитидину (5-аза) на стадії перцепції та трансдукції гравісигналу у гравітропізм, модифікацію ізоферментних спектрів пероксидази протонемі *Physcomitrium patens* (Hedw.) Mitt. в умовах зміненої гравітації, фенотип галузження й варіабельність гравітропічних кутів латеральних галузок *Polytrichum arcticum* Sw. ex Brid.*

Встановлено зв'язок між метилуванням і гравііндукцією та визначено вплив метилування на стадії сприйняття і реалізації гравісигналу. Деметилування, зумовлене дією 5-аза, знижує гравічутливість столонів — менше на стадії перцепції і більше під час трансдукції гравісигналу. Аналіз розвитку гравітропізму після застосування інгібітора метилування свідчить про збереження клітинної пам'яті про сигнал незалежно від стадії гравістимуляції. Однак тривалість пам'яті коротша на стадії перцепції і довша на стадії трансдукції, що впливає на швидкість відновлення гравітропічного росту. Диференційна дія метилування на гравііндукцію досліджується як епігенетично регульований процес, що модифікує морфологічні відмінності тропізму в умовах мікрогравітації і зміненої сили тяжіння на Землі.

*Резистентність до впливу гравітації залежить від метаболічних процесів у середовищі клітинної стінки. У біогенезі та механічній стійкості стінки важливу роль відіграє активність пероксидази. Показано, що експресія пероксидази та зміна ізоферментних спектрів ферменту у протонемі *P. patens* відбулися унаслідок деметилування ДНК. Епігенетичний поліморфізм пероксидази зв. умовах зміненої гравітації розглядається як вірогідний чинник індивідуальної стійкості рослинного організму.*

Цитування: Хоркавців Я. Д., Лобачевська О. В., Кияк Н. Я., Кордюм Є. Л. Вплив метилування ДНК на гравічутливість мохів. *Космічна наука і технологія*. 2023. **29**, № 4 (143). С. 106—118. <https://doi.org/10.15407/knit2023.04.106>

© Видавець ВД «Академперіодика» НАН України, 2023. Стаття опублікована за умовами відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC-ND license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Локальне місце галузження протонеми і просторова орієнтація бокових галузок *P. arcticum* залежать від гравітаційного вектора, є передумовою фенотипної мінливості та регулюються епігенетично, метилюванням/деметилюванням ДНК.

Ключові слова: метилювання ДНК, 5-азацитидин, адаптація, протонема, гравітропізм, галузження.

ВСТУП

Сила тяжіння є постійним фактором природного середовища, поляризаційну дію якого рослини використовують для корекції свого положення і формування габітусу. Система галузження і морфологічна форма гаметофіту мохів, закладання спорофіту і форма коробочки спорогонів перебувають під комплексним контролем світла і гравітації та взаємодії фото- і гравітропізму [6, 10].

Одним з регуляторних механізмів пластичності розвитку мохів у природному середовищі та їхньої первинної адаптації до екстремальних умов є епігенетичні зміни стану метилювання ДНК [8]. Метилювання ДНК — динамічний процес і стабільна епігенетична ознака, що відіграє важливу роль у передачі зовнішнього сигналу і зміні генної експресії та зберігається як стійка пам'ять у клітинних поділах [9, 27, 31, 32].

Досліджуючи вплив гравітації на розвиток бріофітів, у їхньому онтогенезі виявили фенотипні зміни і гравіморфози, що сформувалися у стресових умовах середовища завдяки епігенетичній регуляції гормональної активності [2, 6, 11, 36]. На основі аналізу гравітропізму протонеми залежно від метилювання ДНК було визначено, що реорієнтація гравітропного росту (після гравістимуляції) відбувається за участю клітинної пам'яті — феномену, який є частиною епігенетичної системи регуляції, зокрема посттрансляційних змін ДНК. Епігенетична пам'ять, як природний механізм, розширює варіації фенотипних ознак у відповідь на постійні флуктуації природного середовища, якого рослини не можуть уникнути через прикріпленій спосіб життя [8, 9, 32, 37]. Ряд досліджень підтверджують зміни рівня та структури метилювання ДНК залежно від біотичного та різних типів абіотичного стресу — посушливість, засолення, радіаційне опромінення різної потужності і тривалості [22, 33, 34]. Молекулярні компоненти, що контролюють посттранскрипційні зміни регуляції геному, визначено для різних груп організмів, менше для рослин, переважно

на прикладі *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. [32], а даних про участь гравітації як поляризаційного екологічного фактора в епігенетичній регуляції розвитку немає взагалі.

Експерименти в Космосі стали засобом для вивчення впливу гравітації на модифікацію клітинної стінки рослин як органу протидії гравітаційній силі на Землі [15, 16, 28]. Визначено, що метаболізм клітинних стінок є гравітаційно-чутливим процесом, а в умовах космічного польоту, коли зменшується жорсткість стінки, активність пероксидази змінюється під час синтезу лігніну коренів, наприклад у проростків *Arabidopsis thaliana*, *Pisum sativum* [7, 17, 24]. Відомо, що підвищення загальної пероксидазної активності сприяє розм'якшенню клітинної стінки і зменшує її жорсткість в ділянці гравітропного згину, де стінка повинна бути гнучкою [18, 19, 26].

Зміну механічної пружності та розм'якшення клітинної стінки під час орбітального польоту розглядають як адаптивну функцію через невикористання механічних властивостей стінки у мікрогравітації. Реакцією, що віддзеркалює біогенез клітинної стінки, є активність ферментів модифікаторів стінки, зокрема і пероксидаз, поліфункціонального фермента, задіяного у механічній стійкості клітинних стінок рослин [3, 7, 42].

У зв'язку з участю метилювання в диференціації та розвитку рослин, яке впливає на залежні від функцій геному процеси без змін у послідовності ДНК, було проаналізовано гравічутливість гаметофіту мохів та активність пероксидази залежно від дії 5-азацитидину — інгібітора стану метилювання.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктом досліджень були види мохів *Physcomitrium patens* (Hedw.) Mitt. із Львівської обл. і *Polytarichum arcticum* Sw. ex Brid. з Антарктики.

В експериментальних дослідженнях використали стерильну лабораторну культуру, яку отримали зі спор або регенерацією листків гаметофітів. Культури вирощували стерильно в чашках

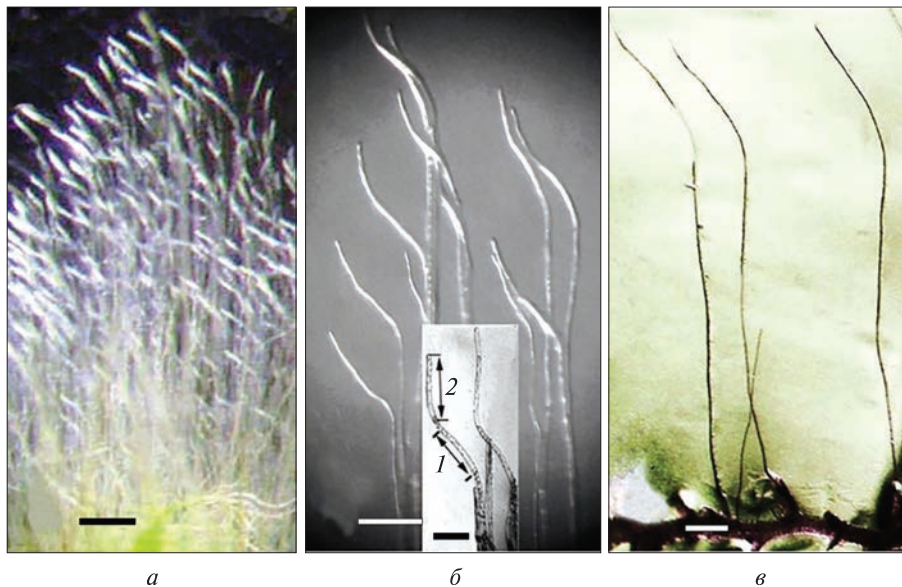


Рис. 1. Фрагмент протонемної дернини *Physcomitrium patens*: *a* — stolони у дернині по-різному реагують на гравітимуляцію: відновили першопочатковий напрям гравітропізму, не відновили, не прореагували на стимуляцію; *б* — зразки stolонів, що відновили гравітропізм, стрілка 1 на вставці — ріст після гравістимуляції при температурі +2 °С (клітини пам'ятали про гравісигнал, і протонема росла відповідно до вектора гравітації); 2 — ріст в умовах культивування +20 °С (stolони відновили початковий напрям гравітропізму). Довжина рістка 1 є одним з параметрів визначення тривалості збереження клітинної пам'яті про векторну дію гравітації. Фрагмент *в* — зразки stolонів, що не відновили гравітропізм; довжина штриха на вставці — 30 мкм

Петрі на 0.75 % агаризованому середовищі Кюпа II у фітотроні: фотоперіод — 16 год, освітлення — 40 мкмоль м⁻²с⁻¹, температура — 20 °С, вологість — 90 %. Визначили гравічутливість протонеми *P. arcticum* з Антарктики та галуження *P. patens* після дії 5-азацитину. Гравістимуляцію і клиностакування протонеми провели аналогічно, як описано у попередніх роботах [6, 12].

В екстрактах 1.0...1.5 місячних гаметофорів *P. patens* визначали активність пероксидази і аналізували спектрофотометричний спектр ізоформ фермента після впливу 5-азацитину на гравістимульовану протонему та після клиностакування [8].

Гістологічну реакцію з бензидином застосовували для аналізу ізоформ пероксидази на поліакриламідному гелі з використанням диск-електрофорезу [42]. Молекулярну масу (ММ) пероксидазних форм *P. patens* зіставляли із стандартним маркерним зразком білків.

Для з'ясування феномену клітинної пам'яті про збереження гравістимулу використали ін-

гібітор метилювання ДНК 5-азацитин [39]. Визначили температурні умови ($t = +2...4$ °С), що блокували ріст протонеми, але не впливали на сприйняття стимулу. Протонему в горизонтально розміщених чашках на холоді обробляли 5-азацитином перед гравістимуляцією (на стадії перцепції сигналу) і після гравістимуляції (на стадії трансдукції гравісигналу). Після того переносили чашки з протонемою в умови 20...22 °С і змінювали положення чашок на вертикальне (для гравістимуляції) або використовували клиностакування.

В одному варіанті досліду у стерильні чашки Петрі з 8-денною гравітропною протонемою *P. patens* заливали 50-мкМ розчин 5-азацитину. Чашки у темних пакетах клали горизонтально у холодильну камеру при +2 °С на 5 год для гравііндукції. Зливши розчин, чашки з протонемою промивали 3...5 разів дистильованою водою і ставили вертикально при кімнатній температурі 22 °С на 5 год для активації гравітропізму. Через 5 год аналізували гравітропний ріст апікальних

клітин протонеми: довжину ростка, що утворився після гравістимуляції на холоді і величину гравітропного кута. Визначивши довжину ростка і знаючи швидкість росту протонеми, оцінили тривалість збереження клітинної пам'яті про гравістимул.

В іншому варіанті розчин 5-азацитидину додавали у чашки з протонемою через 5 год після її гравістимуляції на холоді. Решту процедур виконували так само, як у попередньому варіанті, змінюючи положення чашок відносно горизонтальної площини і вектора гравітації. У контролі протонему не обробляли інгібітором метилювання, аналіз проводили згідно з протоколом досліджу.

У кожному варіанті проаналізували по 200 гравітропних столонів протонеми, які вибирали стохастично із 12 окремих дернин, що росли у трьох чашках. Досліди повторювали двічі, а отримані результати опрацьовували статистично, використовуючи програми Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond, Washington, USA).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Сила тяжіння є вирішальним екологічним фактором для росту вищих рослин, зокрема гравітропізм модулює орієнтацію росту відповідно до вектора сили тяжіння, унаслідок чого розвивається позитивний гравітропізм коренів і негативний — пагонів. В умовах мікрогравітації тропізму не виявлено, тим не менше рослини адаптуються до зміни гравітаційної сили і успішно завершують повний життєвий цикл на космічних орбітальних станціях [28—30, 40].

Гравітропну відповідь розділяють на три етапи: сприйняття сигналу, трансдукцію і ростову реакцію, хоча деякі дослідники виділяють ще інші етапи у перцепції гравісигналу [4, 46, 47, 50]. Проаналізовано утворення гравітропного згину протонеми *Physcomitrium patens* залежно від впливу інгібітора метилювання 5-азацитидину на стадії сприйняття і трансдукції гравістимулу.

Встановлено, що унаслідок перцепції гравісигналу на холоді деякий час частина столонів росла завдяки збереженню пам'яті про вектор стимулу (рис. 1, а, б, 1, в). В умовах 20 °С утворився новий згин, і гравітропізм ростків відно-

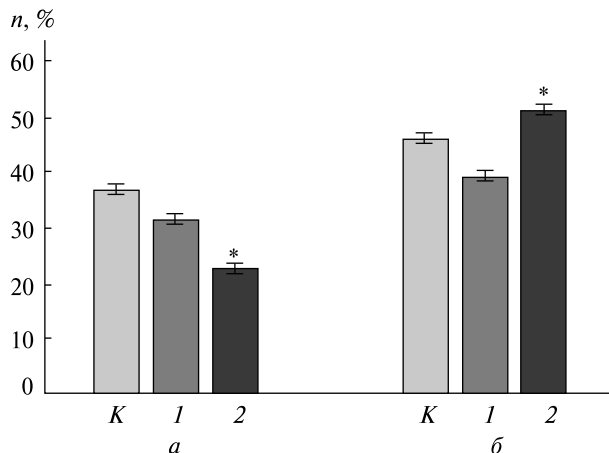


Рис. 2. Характер гравітропного росту апікальних клітин протонеми *Physcomitrium patens* після впливу 5-азацитидину; гравістимуляцію провели на холоді, $t = 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (n — частка гравітропних столонів): а — гравітропізм протонеми після деметилювання відновився; б — не відновився (К — контроль, I — 5-аза + гравістимуляція, 2 — гравістимуляція + 5-аза). Проаналізовано по 200 столонів у варіантах а і б. Зірочкою позначено статистично достовірну різницю між експериментальними зразками при $p < 0.001$

вився (рис. 1, б, 2), або напрямок росту не змінився (рис. 1, в). Відмінності у рості були показником реакції протонеми на гравістимуляцію на холоді.

У першому варіанті, коли 5-азацитидин застосували перед гравістимуляцією, на стадії перцепції, порівняно з контролем зменшився відсоток клітин, що відновили і не відновили гравітропний ріст (рис. 2). Якщо звернути увагу на столони, що відновили гравітропізм (рис. 2, а), їхня довжина згину була більшою (рис. 3, а), ніж у контролі, тобто клітини довше пам'ятали про вектор гравістимулу. На стадії перцепції таких столонів була третина — 31.3 %.

Якщо інгібітором метилювання обробили протонему після гравістимуляції, на стадії індукції ростової реакції, кількість столонів, що відновили гравітропізм, також істотно зменшилася — їх було 22 % (рис. 2, а), менше ніж на стадії перцепції. Зате збільшився відсоток апікальних клітин, що не відновили гравітропний згин. Таких столонів було 51.1 % порівняно з 39.4 % на стадії перцепції і 45.9 % у контролі (рис. 2, б), тобто

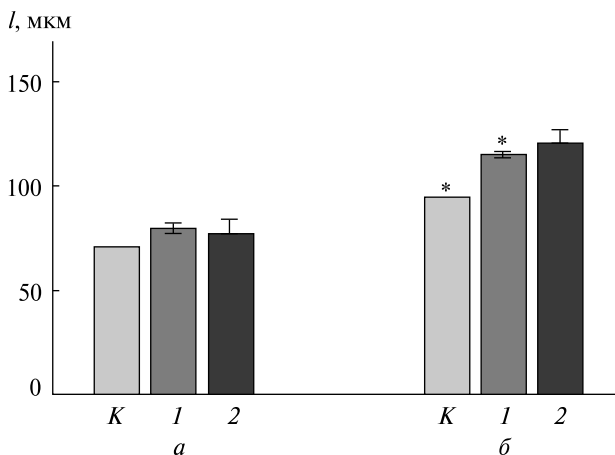


Рис. 3. Довжина згину і гравітропна реакція стolonів *Physcomitrium patens*, залежно від впливу 5-азацитидину на метилювання основ ДНК на стадії перцепції і трансдукції гравісигналу (K — контроль, 1 — 5-аза + гравістимуляція, 2 — гравістимуляція + 5-аза); $n = 200$ у варіанті а і б. Примітка: * — статистично достовірна різниця між контролем і експериментальним зразком при $p < 0.05$

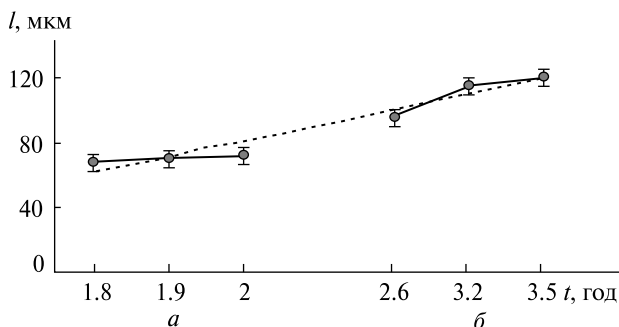


Рис. 4. Тривалість збереження клітинної пам'яті про дію гравістимулу під впливом 5-азацитидину, як похідна довжини гравітропних ростків *Physcomitrium patens* та швидкості їхнього росту; швидкість росту 3.6 мкм/год, $n = 200$

їхня клітинна пам'ять про дію гравітації на холоді також була тривалішою. Отже, незалежно від стадії гравііндукції ростова реакція-відповідь клітин протонеми на деметилювання подібна, а відновлення гравітропізму сповільнене (рис. 2, а).

Відповідно до показників довжини гравітропного згину (рис. 1, а, 1; б) і швидкості росту протонеми розраховано час збереження клітинної

пам'яті про гравістимул (рис. 4). Після зміни стану метилювання на стадії перцепції клітинна пам'ять була коротшою, ніж на стадії трансдукції. Але на стадії трансдукції, зокрема для стolonів, що не відновили гравітропізм, зв'язок між клітинною пам'яттю і деметилюванням проявлявся чіткіше — пам'ять про дію гравістимулу і тривалість росту були значно довшими. Однак за умови коротшої клітинної пам'яті гравітропізм поновлювався швидше, тоді як наслідком довшої пам'яті стало повільне відновлення гравітропного росту. Не виключено, що такі реакції-відповіді на дію метилювання у природному середовищі у різний час і у різних місцях можуть виявитися найбільш пристосованими до специфічних умов.

Після клиностакування гравітропний згин апікальних клітин виражений слабо, ріст стolonів переважно спрямований відповідно до напрямку відцентрової сили. Таким чином, втрата поляризаційної дії гравітації під час клиностакування, що безпосередньо пов'язано з полярним транспортом фігормонів [23], істотно вплинула на епігенетично зумовлену тривалість пам'яті про орієнтацію росту протонеми і є ще одним підтвердженням значимості гравітації у гетерогенному природному середовищі.

Отже, метилювання сприяло збереженню пам'яті про гравістимул на обох етапах — і гравіперцепції, і трансдукції, що підсилить властиву для мохів природну мінливість гравічутливості. Зміни метилювання ДНК можуть вплинути на різні параметри гравізалежного росту рослин та ініціювати морфологічну мінливість кутів латеральних галузок, від чого залежить ріст і просторова орієнтація органів, наприклад в умовах водного чи температурного стресу, або вітрових буревіїв. У стресових умовах це додаткова можливість рослин відновити автотропний ріст, як дію на абіотичні чинники [13, 44, 49]. Стадії гравіреакцій виявилися під контролем епігенетичних механізмів, що сприяло фенотипній пластичності гравітропізму. Зважаючи на те, що загальне метилювання ДНК є потенційним біомаркером розвитку [32, 46], епігенетичні системи контролюють варіабельність морфогенезу в екстремальних умовах природного середовища,

і у мінливих природних умовах є важливим елементом адаптивної стратегії рослин.

Для різновікових дернин 7- і 21-денної протонеми *Physcomitrium patens* після дії інгібітора метилювання ДНК істотної різниці у гравітропізмі не виявили, однак сигнал про гравііндукцію у молодшій протонемі зберігався довше, ніж у 21-денній. Можливо, зміни у метилюванні ДНК зумовлені старінням клітин і сповільненням метаболізму [11, 31, 39]. За даними досліджень активності ядерної ДНК не виявлено різниці між контролем і деметилюваними зразками. Так, для ртуть-резистентних клонів моху *Tortula caucasica* Broth. визначення вмісту ДНК з поєднанням ДНКаз 1 свідчить про незначне збільшення некодувальної ДНК [12]. Отже, якщо зміну положення рослини відносно вектора гравітації розглядати як абіотичний стрес, пам'ять про його дію реалізується епігенетично. Однак, незважаючи на виключну роль метилювання ДНК хроматину для розвитку рослин, клітина сама може регулювати активність епігенетичної системи.

Особливою реакцією рослин на гравітацію, яку можна поставити в один ряд з гравітропізмом, є механічна стійкість до сили тяжіння. Завдяки збільшенню жорсткості клітинної стінки та модифікації анізотропії росту рослини можуть протистояти силі гравітації. Це зіграло роль в еволюції наземних рослин, сприяло формуванню адаптивних реакцій на механічні навантаження, зокрема різних форм росту, насамперед — вертикального [18, 19, 26].

Модифікація метаболізму компонентів клітинної стінки залежить від експресії пероксидаз, що впливає на фенотип верхівкових клітин з апікальним ростом [26, 28, 35]. Визначено селективну експресію генів пероксидази проростків *Arabidopsis thaliana* і утворення коротших кореневих волосків в умовах мікрогравітації, які ефективніше поглинають поживні речовини. Це важливо для адаптації до умов невагомості [20, 48].

Відмінності в активації пероксидази гравістимульованої протонеми *Physcomitrium patens*, порівняно з контролем і рослинами після клиностакування, могли бути наслідком змін у метилюванні ДНК за участю 5-азацитину. Аналіз результатів, наведених у табл. 1, свідчить, що ак-

тивність пероксидази після впливу 5-азацитину збільшувалася і через 5 год після гравістимуляції була більшою, ніж після клиностакування. Можемо допустити, що вплив інгібітора на метилювані сайти ДНК призвів до активації генів пероксидази і синтезу ферменту. 5-азацидин подіє як захисний чинник у стресовій ситуації та індуктор пероксидази, функціональні особливості якої можуть бути використані у структурній перебудові клітинних стінок під час гравістимуляції і гравітропізму. Короткочасне клиностакування не призвело до підвищення активності ферменту, навпаки, зменшився вплив 5-азацитину на експресію пероксидази. Можливо, це відбулося тому, що прямолінійний напрям росту і, очевидно, метаболізм компонентів клітинної стінки за цей час не змінилися. Окрім того, між різними функціями пероксидази та факторами, що можуть на них впливати, є баланс, і притому чимало з них є невизначеними, або й антагоністичними реакціями [25, 35, 42]. Так, активність аскорбат-пероксидази істотно підвищувалася у *Pohlia nutans* після клиностакування протонеми, як реакція на стрес, на відміну від інших пероксидаз, активність яких змінювалася незначно [30].

Для порівняння змін активності пероксидази проаналізували електрофоретичний спектр ферменту *P. patens* у різних умовах впливу 5-азацитину (рис. 5). Електрофореграми відрізнялися активністю ізоформ після гравістимуляції протоне-

Таблиця 1. Активність пероксидази гравітропної протонеми *Physcomitrium patens* після впливу 50 мкМ 5-азацитину

Варіанти досліду	Активність пероксидази, відн.од./1г сирової маси/хв
Гравістимульована протонема, необроблена 5-аза; тривалість гравістимуляції 5 год	1.21 ± 1.1
Гравістимульована протонема після дії 5-аза; тривалість впливу інгібітора 5 год	2.50 ± 2.2*
Клиностакування + 5-азацидин; тривалість клиностакування 24 год	2.17 ± 1.9*

Примітка: * — статистично достовірна різниця між експериментальними зразками при $p < 0.05$

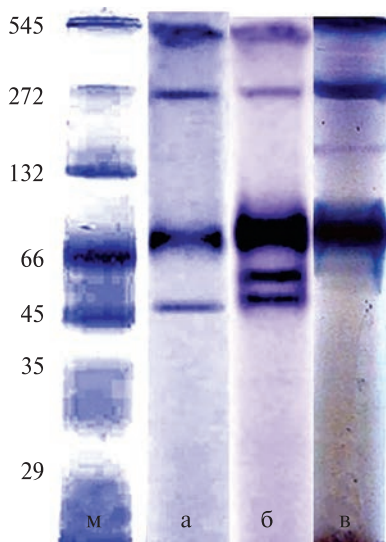


Рис. 5. Електрофореграма ізоформ пероксидази гравітропної протонеми *Physcomitrium patens*: м — маркер, а — контроль, б — після впливу 50 мкМ 5-азацитидину, в — через 24 год після клиноротації

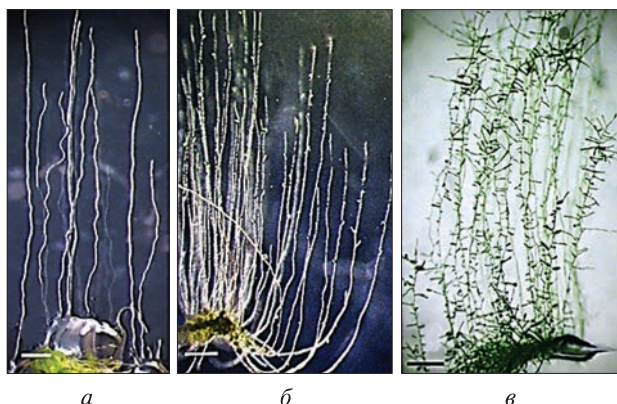


Рис. 6. Гравітропні столони дернини *Polytrichum arcticum*: у темряві: а — столони не галузилися; на світлі: б — клітини протонеми погалузилися, в — після дії 5-азацитидину значно збільшилася кількість галузок та мінливість кутів згину; довжина штриха 200 мкм

ми і клиностатування (рис. 5, а, б); пероксидазна активність після 5-азацитидину підвищувалася. Як свідчать результати аналізу спектрів ізоформ пероксидази гравістимульованої протонеми *P. patens*, активність пероксидази представлена принаймні двома катіонними та двома-трьома аніонними ізоформами (рис. 5). Відмінності між спектрами ізоформ чітко виражені після дії 5-аза-

цитидину: кількісно і якісно змінилася зона активності пероксидази з ММ у межах 45...66 кД, де спостерігали підвищення активності ферменту і зміну кількості ізоформ (рис. 5, б).

Після клиностатування (рис. 5, в) активність ізоформ 272 і 66 кД була вищою, ніж у контролі (рис. 5, а), і появилася одна вузька смуга дифузної катіонної фракції з ММ у межах 132 кД. Спільною для клиностатування і 5-азацитидину була інтенсифікація ізоформи пероксидази з 66 ММ кД (рис. 5, б, в). Не виключено, що зміна метилювання ДНК впливає на мінливість спектру та активність ізоформ під час порушення статичної векторної направленості гравітації. Доречно буде допустити, що модифікація ізоформ й підвищена активність ензиму унаслідок епігенетичних змін метилювання, найперше має відношення до розм'якшення стінки клітин протонеми і утворення згину як типової ростової відповіді на дію гравітаційної сили.

Протонема мохів реагує на силу тяжіння у темряві і росте пучком напрямлених вгору проти вектора гравітації столонів, що є показником їхньої гравічутливості та негативного гравітропного росту (рис. 6). Під впливом гравітації латеральні гілки закладаються на протонеми і ростуть під кутом до головного столону, утворюючи гравізалезний кут нахилу (GSP, gravitropic set point angle) [41, 45]. Експериментальні дослідження росту протонеми у змінених умовах гравітації і освітлення є підставою стверджувати, що величина гравітропного кута згину й напрям росту перебувають під комплексним контролем цих чинників як результат взаємодії фото- і гравітропізму [6, 10].

Використали інгібітор метилювання ДНК 5-азацитидин для дослідження взаємодії фото- і гравітропізму й проаналізували характер галуження клітин гравітропної протонеми *Polytrichum arcticum* Sw. ex Brid. Результатом післядії 5-азацитидину було інтенсивне галуження клітин на світлі, зміна кута галузок і напрямку їхнього росту відносно материнської клітини, порівняно з рослинами контролю (рис. 5).

Якщо галуження 10-денної гравітропної протонеми *P. arcticum* у контролі розпочиналося на віддалі 100...120 мкм від апікальної клітини на 3-5-й інтеркалярній клітині, то у досліді з 5-аза-

цитидином галузки утворювалися на кожній клітині столону, починаючи з апікальної (рис. 6, в). У контролі на протонемному столоні завдовжки 5...8 мм було 5...10 галузок, у досліді — понад 30...50 галузок, які відзначалися високою варіабельністю кутів згину галузок — від 20 до 90° (рис. 7).

Такий широкий діапазон значень кутів означає поступове зниження компетенції до сприйняття гравістимулу аж до втрати гравітропізму. У контролі латеральні галузки *P. arcticum* росли під гострим кутом до головного столону, і максимальна величина кута досягала 30...50°, після обробки 5-азацитидином кут збільшувався до 75...90° по усій довжині столону. Отже, гравічутливість, яка є частиною генетичного контролю гравітропізму, зменшилася унаслідок модифікації метилювання, що складно виявити у природних умовах середовища, без експерименту. Слід зазначити, що агравітропно під кутом 90° до поздовжньої осі столону росли 70 % галузок, а через 16...24 год їхній ріст змінився на гравітропний, і кут поступово досягав значень 40...50°. Морфологічні зміни були зворотними, на відміну від мутацій, тобто зумовленими епімутаціями, які відбулися унаслідок метилювання ДНК і зміни експресії генів, що зберегло пам'ять клітин про стрес. Навіть враховуючи їхню тимчасову роль, епімутації сприяють модифікації на первинному етапі адаптації [14, 29]. Те, що частина галузок зберегла майже 90° агравітропний кут нахилу і горизонтальний напрям росту, змінило життєву форму протонемної дернини.

Раніше повідомляли, що латеральні гілки протонемі *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. закладалися перпендикулярно до батьківської клітини (агравітропно), але поступово переорієнтовувалися відповідно до векторної дії гравітації, і кут гравітропного згину зменшувався [10]. У апікальній частині столону у 3...5-й клітині величина кута була невисокою — 30...40°, в наступних 6...10-й інтеркалярних клітинах кут збільшувався до 60...80°. В основі столону унаслідок протидії гравітаційній силі кут латеральних галузок досягав 90°, і ріст був плагіотропний [10].

Ситуативно, у певних умовах середовища горизонтальний плагіотропний ріст може бути ви-

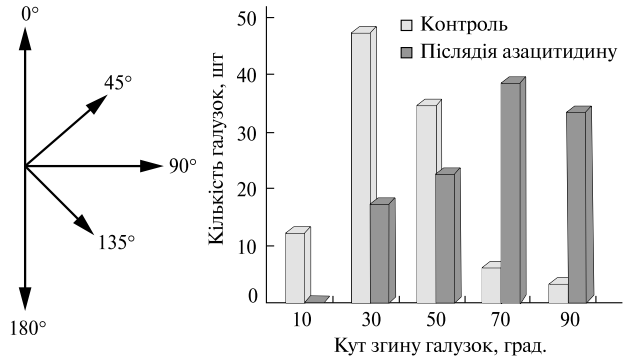


Рис. 7. Величина кута галузок гравітропних столонів *Polytrichum arcticum* у контролі та після впливу 50 мкМ 5-азацитидину

гідним фенотипом, зважаючи, зокрема, на те, що така форма росту поширена серед мохів. У *A. thaliana* неvertикальна орієнтація росту є типовою ростовою формою для кореневої системи рослин. Бокові корені на ранніх етапах розвитку ростуть майже горизонтально, однак це критично для ефективного живлення, надалі латеральні корені повільно викривляються, доки зрештою не досягнуть вертикальної орієнтації [21, 45].

В аридних кліматичних умовах спеціалізованою реакцією гаметофіту мохів є плагіотропний ріст підземної каулономи, часто поєднаний з негативним гравітропізмом головного столону і бокових хлоронемних галузок. Такі морфологічні особливості є адекватним пристосуванням до середовища в умовах дефіциту води і можливістю утворити надземну асиміляційну дернину [5, 38].

ВИСНОВКИ

Зв'язок між метилюванням основ ДНК і стадіями гравііндукції клітин протонемі *Physcomitrium patens* розглядається як частина сигнальної ланки, що відповідає за модифікацію гравітропного росту. Зменшення кількості метильованих основ ДНК під впливом 5-азацитидину призводило до зниження гравічутливості на стадії перцепції і трансдукції, проте ініціювало різну тривалість збереження клітинної пам'яті про гравістимул — довшу на стадії трансдукції сигналу.

Експресія пероксидази і перебудова ізoferментних спектрів сприяє модифікації компонентів клітинної стінки протонемі *Physcomitrium*

patens, свідчить про епігенетичний поліморфізм ферменту та є фактором стійкості стінки в умовах зміненої гравітації.

Конформаційні зміни ДНК, зумовлені епігенетичною модифікацією метилювання, впливають на варіабельність галузження і величину гравітропного кута латеральних галузок протонеми

Polytrichum arcticum. Морфологічні зміни галузок зберігаються у клітинних поділах, а у нестійких, стресових природних умовах підвищують адаптивний потенціал та поліморфізм мохів.

Робота виконана за підтримки Цільової комплексної програми НАН України з наукових космічних досліджень на 2018—2022 рр.

ЛІТЕРАТУРА

1. Войцехівська О. В., Капустян А. В., Косик О. І. та ін. *Фізіологія рослин: практикум*. Ред. Т. В. Паршикова. Луцьк: Терен, 2010. 420 с.
2. Кияк Н. Я., Лобачевська О. В., Хоркавців Я. Д. Морфофізіологічні реакції гравічутливості та адаптації до УФ-опромінення моху *Bryum caespitosum* Hedw. з Антарктики. *Космічна наука і технологія*. 2021. **27**, № 5. С. 47—59. <https://doi.org/10.15407/knit2021.05.047>
3. Кияк Н. Я., Хоркавців Я. Д. Оцінка окиснювального стресу моху *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. залежно від впливу гравітації. *Космічна наука і технологія*. 2016. **22**, № 4. С. 58—66. doi: <https://doi.org/10.15407/knit2016.04.058>
4. Кордюм Є. Л., Дубина Д. В. Роль епігенетичної регуляції в адаптивній пластичності рослин. *Укр. ботан. журн*. 2021. **78**, № 5. С. 347—359. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj78.05.347>
5. Лазаренко А. С. *Структура виду і механізми видоутворення мохів*. Вибрані праці. Львів: Ліга-Прес, 2001. 231 с.
6. Лобачевська О. В., Хоркавців Я. Д., Кияк Н. Я. та ін. Гравіморфогенез гаметофіту мохів. *Космічна наука і технологія*. 2015. **21**, № 4. С. 94—102.
7. Недуха О. М. *Клітинна оболонка рослин і фактори середовища*. Київ: Альтепрес, 2015. 8 с.
8. Ріпецький Р. Т., Хоркавців Я. Д. Епігенетична адаптація мохів і феномен клітинної пам'яті. *Укр. ботан. журн*. 2012. **69**, № 2. С. 302—314. <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/176981>
9. Тищенко О. М., Михальська О. М., Моргун Б. В. Генетична інженерія та клітинна селекція для підвищення осмотолерантності культурних рослин. *Фізіологія рослин і генетика*. 2016. **48**, № 3. С. 257—266.
10. Хоркавців Я. Д., Кордюм Є. Л., Лобачевська О. В. та ін. Галузження протонеми *Ceratodon purpureus* в умовах зміненої сили тяжіння. *Укр. ботан. журн*. 2015. **72**, № 6. С. 588—595. http://nbuv.gov.ua/UJRN/UBJ_2015_72_6_10.
11. Хоркавців Я. Д., Лобачевська О. В., Кияк Н. Я. *Участь метилювання ДНК у гравіморфогенезі мохів Polytrichum arcticum і Physcomitrella patens*. Актуальні проблеми фізіології рослин і генетики: матер. Міжнарод. наук. конф., присвяченої 75-річчю інституту фізіології рослин і генетики НАН України (17 червня 2021 р., Київ): тези. Київ, 2021. С. 203—205.
12. Хоркавців Я. Д., Ріпецький Р. Т., Баїк О. Л. Фенотипічна та епігенетична адаптація клону моху до ртуті. *Цитологія і генетика*. 2009. № 5. С. 22—27.
13. Ashapkin V. V., Kutueva L. I., Vanyushin B. F. Epigenetic variability in plants: heritability, evolutionary significance. *Russian J. Plant Physiol*. 2016. **63**, № 2. P. 181—192 [in English].
14. Cannon A. E., Salmi M. L., Clark G. B., et al. New insights in plant biology gained from research in space. *Gravitational and Space Res*. 2015. **3**, № 2. P. 3—10. doi: 10.2478/gsr-2015-0007
15. Correll M. J., Pyle, T. P., Millar, K. D. L., et al. Transcriptome analyses of *Arabidopsis thaliana* seedlings grown in space: implications for gravity-responsive genes. *Planta*. 2013. **238**. P. 519—533. doi: 10.1007/s00425-013-1909-x.
16. Cowles J. R., LeMay, R., Jahns G. Seedling growth and development on space shuttle. *Adv Space Res*. 1994. **14**, № 11. P. 312. [https://doi.org/10.1016/0273-1177\(94\)90273-9](https://doi.org/10.1016/0273-1177(94)90273-9)
17. de Micco V., De Pascale S., Paradiso R., et al. Microgravity effects on different stages of higher plant life cycle and completion of the seed-to-seed cycle. *Plant Biol*. 2014. **16**, № 1. P. 31—38. doi: 10.1111/plb.12098. Epub 2013 Sep 9.
18. Francoz E., Ranocha P., Nguyen-Kim H., et al. Roles of cell wall peroxidases in plant development. *Phytochem*. 2014. **112**. P. 15—21. doi: 10.1016/j.phytochem. PMID: 25109234
19. Gechev T. S., Hille J. Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *J. Cell Biol*. 2005. **168**, № 1. P. 17—20. doi: 10.1083/jcb.200409170. PMID: 15631987
20. Guyomarc'h S., Lérans S., Auzon-Cape M., et al. Early development and gravitropic response of lateral roots in *Arabidopsis thaliana*. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 2012. **367**. P. 1509—1516. doi:10.1098/rstb.2011.0231
21. Hangarter R. P. Gravity, light and plant form. *Plant Cell and Environment*. 1997. **20**. P. 796—800. doi: 10.1046/j.1365-3040.1997.d01-124.x.

22. Hauser F., Waadt R., Schroeder J. I. Evolution of abscisic acid synthesis and signaling mechanisms. *Curr Biol.* 2011. **21**, № 9. P. 346—355. doi: 10.1016/j.cub.2011.03.015
23. Herranz R., Medina F. J. Cell proliferation and plant development under novel altered gravity environments. *Plant Biol. (Stuttg.)*. 2014. 1. P. 23—30. doi: 10.1111/plb.12103 PMID: 24112664
24. Hoson T. Plant growth and morphogenesis under different gravity conditions: relevance to plant life in space. *Life*. 2014. **4**. P. 205—216. doi:10.3390/life4020205 [PubMed]
25. Hoson T., Soga K., Mori R., Saiki M., Nakamura Y., Wakabayashi K., Kamisaka S. Stimulation of elongation growth and cell wall loosening in rice coleoptiles under microgravity conditions in space. *Plant Cell Physiol.* 2002. **43**. P. 1067—1071. doi:10.1093/pcp/pcf126
26. Hoson T., Wakabayashi K. Role of the plant cell wall in gravity resistance. *Phytochemistry*. 2015. **112**. P. 84—90. doi: 10.1016/j.phytochem.2014.08.022.
27. Jablonka E., Lamb M. J. *Evolution in Four Dimensions: Genetic, Epigenetic, Behavioral, and Symbolic Variation in the History of Life. A Bradford Book.* The MITT Pres. Series. Sterelny K., Wilson R. A. (eds.). Cambridge, Massachusetts; London, England. 2014. 563 p. doi:10.1186/1475-925X-4-68
28. Jin J., Chen H., Cai W. Transcriptomic Analysis Reveals the Effects of Microgravity on Rice alli on Board the Chinese Spaceship Shenzhou 8. *Microgravity Sci. and Technol.* 2018. P. 1—10. Springer Science+Business Media B.V., part of Springer Nature 2018. <https://doi.org/10.1007/s12217-018-9633-6>
29. Karahara I., Suto T., Yamaguchi T., et al. Vegetative and Reproductive Growth of Arabidopsis Under Microgravity Conditions in Space. *J. Plant Res.* 2020. **133**. P. 571—585. doi:10.1007/s10265-020-01200-4
30. Khodadad C. L. M., Hummerick M. E., Spencer L. E., et al. Microbiological and Nutritional Analysis of Lettuce Crops Grown on the International Space Station. *Front. Plant Sci.* 2020. **11**. P. 1—15. doi:10.3389/fpls.2020.00199
31. Kim M., Costello J. DNA methylation: an epigenetic mark of cellular memory. *Exp. & Molecular Med.* 2017. **49**. P. 1—8. doi:10.1038/emm.2017.10
32. Kordyum E. L. Plant cell gravisensitivity and adaptation to microgravity. *Plant Biol.* 2014. **16**. P. 79—90. <https://doi.org/10.1111/plb.12047>
33. Kovalchuk I., Abramov V., Pogribny I., et al. Molecular Aspects of Plant Adaptation to Life in the Chernobyl Zone. *Plant Physiol.* 2004. **135**, № 1. P. 357—363. <https://www.jstor.org/stable/41754>
34. Kravets A. P., Sokolova D. A., Vengzhen G. S., et al. Corn plant DNA methylation pattern changes at UV- C irradiation fractionating. *Cytology and Genetics*. 2013. **47**. P. 29—33. doi:10.3103/S0095452713010052
35. Kwon T., Sparks J. A., Nakashima J., et al. Transcriptional response of Arabidopsis seedlings during spaceflight reveals peroxidase and cell wall remodeling genes associated with root hair development. *Amer. J. Bot.* 2015. **102**, № 1. P. 21—35. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400458>
36. Kyyak N. Y. Metabolism of carbohydrates and activity of the antioxidant system in mosses on a post-technogenic salinized territory. *Regulatory Mech. Biosyst.* 2022. **13**, № 2. P. 189—196. <https://doi.org/10.15421/022224>
37. Lebedeva M. A., Tvorogova V. E., Tikhodeyev O. N. Epigenetic mechanisms and their role in plant development. *Genetica*. 2017. **53**, № 10. P. 1115—1131. doi: 10.7868/S0016675817090089
38. Lobachevska O. V., Kyyak N. Y., Khorkavtsiy Y. D., et al. Gravi-sensitivity of mosses and their gravity-dependent ontogenetic adaptations. *Life*. 2022. **12**, № 1782. P. 2—14. <https://doi.org/10.3390/life12111782>
39. Malik G., Dangwal M., Kapoor S., et al. Role of DNA methylation in growth and differentiation in *Physcomitrella patens* and characterization of cytosine DNA methyltransferases. *FEBS J.* 2012. **279**. P. 4081—4094. doi:10.1111/febs.12002
40. Medina F. J., Villacampa A., Ciska M., et al. Understanding Reduced Gravity Effects on Early Plant Development Before Attempting Life-Support Farming in the Moon and Mars. *Front. Astron. Space Sci.* 2021. **8**. P. 1—8. <https://doi.org/10.3389/fspas.2021.729154>
41. Mullen J. L., Hangarter R. P. Genetic analysis of the gravitropic set-point angle in lateral roots of Arabidopsis. *Adv Space Res.* 2003. **31**, № 10. P. 249—257. doi: 10.1016/s0273-1177(03)00249-7. PMID: 14686437
42. Passardi F., Cosio C. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Repts.* 2005. **24**, № 5. P. 255—265. doi:10.1007/s00299-005-0972-6
43. Rothe G. Unterschiede im Enzymmuster von Prototnemata, Moospflänzchen, Sporogon und Kallus der Laubmooskreuzung *Funaria hygrometrica* x *Physcomitrella piriforme*. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*. 1972. **48**. P. 433—444.
44. Roychoudhry S., Bianco M. D., Kieffer M., et al. Auxin controls gravitropic setpoint angle in higher plant lateral branches. *Curr Biol.* 2013. **23**, № 15. P. 1497—504 doi: 10.1016/j.cub.2013.06.034; PMID: 23891109
45. Roychoudhry S., Kieffer M., De Bianco M., et al. The developmental and environmental regulation of gravitropic setpoint angle in Arabidopsis and bean. *Sci. repts.* 2017. **3**. P. 1—12. doi: 10.1016/s0273-1177(03)00249-7 PMID: 14686437
46. Sato E. M., Hijazi H., Bennett M. J., et al. New insights into root gravitropic signalling. *J. Exp. Bot.* 2015. **66**. P. 2155—2165. doi: 10.1093/jxb/eru515 PMC4986716

47. Swarup R., Bennett M. J. Root gravitropism. *Annu. Plant. Rev. Online*. 2018. P. 157—174. doi:10.1002/9781119312994.apr0401
48. Valério L., De Meyer M., Penel C., et al. Expression analysis of the *Arabidopsis* peroxidase multigenic family. *Phytochem*. 2004. **65**. P. 1331—1342. doi: 10.1016/j.phytochem.2004.04.017.
49. Vandenbrink J. P., Kiss J. Z., Herranz R., et al. Light and gravity signals synergize in modulating plant development. *Frontier in Plant Sci*. 2014. **563**. P. 1—18. doi:10.3389/fpls.2014.00563
50. Villacampa A., Sora L., Herranz R., Medina F. J., et al. Analysis of graviresponse and biological effects of vertical and horizontal clinorotation in *Arabidopsis thaliana* root tip. *Plants*. 2021. **10**, № 4. P. 1—20. doi:10.3390/plants10040734

REFERENCES

1. Voitsekhivska O. V., Kapustian A. V., Kosyk O. I., et al. *Physiology of Plants: manual*. Ed. Parshykova T. V. Lutsk, Teren, 2010, 420 p. [in Ukrainian].
2. Kyyak N., Lobachevska O., Khorkavtsiv Y. (2021). Morpho-physiological reactions of gravisensitivity and adaptation to UV irradiation of the moss *Bryum caespitium* Hedw. from Antarctica. *Space Sci. and Technology*, **27**, № 5, 47—59. <https://doi.org/10.15407/knit2021.05.047> [in Ukrainian].
3. Kyyak N., Lobachevska O., Khorkavtsiv Y. (2016). Estimation of the oxidative stress in moss *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. depending on the influence of gravity. *Space Science and Technol.*, **22**, № 4, 58—66. <https://doi.org/10.15407/knit2016.04.058>.
4. Kordyum E. L., Dubyna D. V. (2021). The role of epigenetic regulation in adaptive phenotypic plasticity of plants. *Ukr. Bot. J.*, **78**, № 5, 347—359. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj78.05.347> [In Ukrainian].
5. Lazarenko A. S. *Species structure and mechanisms of species formation of mosses*. Eds. M. A. Holubets, I. C. Danulkev. Proc. works “Liha-press”. Lviv, 2001. 231 p. [in Ukrainian].
6. Lobachevska O., Khorkavtsiv Ya., Kyyak N., et al. (2015). Gravimorphogenesis gametophytes of mosses. *Space Sci. and Technol.*, **21**, № 4, 94—102 [in Ukrainian].
7. Nedycha O. M. (2015). *Plant cell wall and environment*. Kyiv: Altepess [in Ukraine].
8. Ripetskyj R. T., Khorkavtsiv Ya. D. (2012). Epigenetic adaptation in mosses and the phenomenon of cell memory. *Ukr. Botan. J.*, **69**, № 2, 302—314 [In Ukrainian].
9. Tishchenko O. M., Mykhalska S. I., Morgun B. V. (2016). Genetic engineering and cell selection for enhancing of crops osmotolerance. *Fiziol. rast. genet.*, **48**, № 3, 257—266. doi: <https://doi.org/10.15407/frg2016.03.257> [In Ukrainian].
10. Khorkavtsiv Y. D., Kordyum E. L., Lobachevska O. V., et al. (2015). Branching of *Ceratodon purpureus* protonemata effected under altered gravity conditions. *Ukr. Bot. J.*, **72**, № 6, 588—595. http://nbuv.gov.ua/UJRN/UBJ_2015_72_6_10 [in Ukrainian].
11. Khorkavtsiv Y., Lobachevska O., Kyyak N. (2021). Involvement of DNA methylation in gravimorphogenesis of mosses *Polytrichum arcticum* and *Physcomitrella patens*. Conference dedicated to the 75th anniversary of the Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv, June 17), 203—205 [in Ukrainian].
12. Khorkavtsiv Ya. D., Rypetskyj R. T., Baik O. L. (2009). Phenotypic and epigenetic adaptation of the moss clone to mercury. *Cytology and Genetic*, № 5, 22—27 [in Ukrainian].
13. Ashapkin V. V., Kutueva L. I., Vanyushin B. F. (2016). Epigenetic variability in plants: heritability, evolutionary significance. *Russian J. Plant Physiology*, **63**, № 2, 181—192 [in English].
14. Cannon A. E., Salmi M. L., Clark G. B., et al. (2015). New insights in plant biology gained from research in space. *Gravitational and Space Res.*, **3**, № 2, 3—10. doi: 10.2478/gsr-2015-0007.
15. Correll M. J., Pyle T. P., Millar K. D. L., et al. (2013). Transcriptome analyses of *Arabidopsis thaliana* seedlings grown in space: implications for gravity-responsive genes. *Planta*, **238**, 519—533. doi: 10.1007/s00425-013-1909-x.
16. Cowles J. R., LeMay, R., Jahns G. (1994). Seedling growth and development on space shuttle. *Adv in Space Res.*, **14**, № 11, 312. [https://doi.org/10.1016/0273-1177\(94\)90273-9](https://doi.org/10.1016/0273-1177(94)90273-9)
17. De Micco V., De Pascale S., Paradiso R., et al. (2014). Microgravity effects on different stages of higher plant life cycle and completion of the seed-to-seed cycle. *Plant Biology*, **16**, № 1, 31—38. 10.1111/plb.12098. Epub 2013 Sep 9.
18. Francoz E., Ranocha P., Nguyen-Kim H., et al. (2014). Roles of cell wall peroxidases in plant development. *Phytochem.*, **112**, 15—21. doi: 10.1016/j.phytochem. PMID: 25109234.
19. Gechev T. S., Hille J. (2005). Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *J. Cell Biol.*, **168**, № 1, 17—20. doi: 10.1083/jcb.200409170. PMID: 15631987.
20. Guyomarc’h S., Léran S., Auzon-Cape M., et al. (2012). Early development and gravitropic response of lateral roots in *Arabidopsis thaliana*. *Phil. Trans. R. Soc. B*, **367**, 1509—1516. doi:10.1098/rstb.2011.0231.
21. Hangarter R. P. (1997). Gravity, light and plant form. *Plant Cell and Environment*, **20**, 796—800.

22. Hauser F., Waadt R., Schroeder J. I. (2011). Evolution of abscisic acid synthesis and signaling mechanisms. *Curr Biol.*, **21**, № 9, 346—355. doi: 10.1016/j.cub.2011.03.015.
23. Herranz R., Medina F. J. (2014). Cell proliferation and plant development under novel altered gravity environments. *Plant Biol. (Stuttg)*, **1**, 23—30. doi: 10.1111/plb.12103 PMID: 24112664.
24. Hoson T. (2014). Plant growth and morphogenesis under different gravity conditions: relevance to plant life in space. *Life*, **4**, 205—216. doi:10.3390/life4020205 [PubMed]
25. Hoson T., Soga K., Mori R., Saiki M., Nakamura Y., Wakabayashi K., Kamisaka S. (2002). Stimulation of elongation growth and cell wall loosening in rice coleoptiles under microgravity conditions in space. *Plant Cell Physiol.*, **43**, 1067—1071.
26. Hoson T., Wakabayashi K. (2015). Role of the plant cell wall in gravity resistance. *Phytochem.*, **112**, 84—90. doi: 10.1016/j.phytochem.2014.08.022.
27. Jablonka E., Lamb M. J. *Evolution in Four Dimensions: Genetic, Epigenetic, Behavioral, and Symbolic Variation in the History of Life. A Bradford Book.* The MITT Pres. Series. Sterelny K., Wilson R. A. Eds. Cambridge, Massachusetts; London, England. 2014, 563 p. doi:10.1186/1475-925X-4-68
28. Jin J., Chen H., Cai W. (2018). Transcriptomic Analysis Reveals the Effects of Microgravity on Rice alli on Board the Chinese Spaceship Shenzhou 8. *Microgravity Sci. and Technol.*, 1—10. Springer Science+Business Media B. V., part of Springer Nature 2018. <https://doi.org/10.1007/s12217-018-9633-6>.
29. Karahara I., Suto T., Yamaguchi T., et al. (2020). Vegetative and Reproductive Growth of Arabidopsis Under Microgravity Conditions in Space. *J. Plant Res.*, **133**, 571—585. doi:10.1007/s10265-020-01200-4.
30. Khodadad C. L. M., Hummerick M. E., Spencer L. E., et al. (2020). Microbiological and Nutritional Analysis of Lettuce Crops Grown on the International Space Station. *Front. Plant Sci.*, **11**, 199. doi:10.3389/fpls.2020.00199.
31. Kim M., Costello J. (2017). DNA methylation: an epigenetic mark of cellular memory. *Exp. & Molecular Med.*, **49**, 1—8. doi:10.1038/emm.2017.10.
32. Kordyum E. L. (2014). Plant cell gravisensitivity and adaptation to microgravity. *Plant Biol.*, **16**, 79—90. <https://doi.org/10.1111/plb.12047>.
33. Kovalchuk I., Abramov V., Pogribny I., et al. (2004). Molecular Aspects of Plant Adaptation to Life in the Chernobyl Zone. *Plant Physiol.*, **135**, № 1, 357—363. <https://www.jstor.org/stable/41754>
34. Kravets A. P., Sokolova D. A., Vengzhen G. S., Grodzinsky D. M. (2013). Corn plant DNA methylation pattern changes at UV-C irradiation fractionating. *Cytology and Genetics*, **47**, 29—33. doi:10.3103/S0095452713010052.
35. Kwon T., Sparks J. A., Nakashima J., et al. (2015). Transcriptional response of Arabidopsis seedlings during spaceflight reveals peroxidase and cell wall remodeling genes associated with root hair development. *Amer. J. Bot.*, **102**, № 1, 21—35 <https://doi.org/10.3732/ajb.1400458>.
36. Kyyak N. Y. (2022). Metabolism of carbohydrates and activity of the antioxidant system in mosses on a post-technogenic salinized territory. *Regulatory Mech. Biosyst.*, **13**, № 2, 189—196. <https://doi.org/10.15421/022224>.
37. Lebedeva M. A., Tvorogova V. E., Tikhodeyev O. N. (2017). Epigenetic mechanisms and their role in plant development. *Genetica*, **53**, № 10, 1115—1131. doi: 10.7868/S0016675817090089.
38. Lobachevska O. V., Kyyak N. Y., Khorkavtsiv Y. D., et al. (2022). Gravi-sensitivity of mosses and their gravity-dependent ontogenetic adaptations. *Life*, **12**, № 1782, 2—14. <https://doi.org/10.3390/life12111782>.
39. Malik G., Dangwal M., Kapoor S., et al. (2012). Role of DNA methylation in growth and differentiation in *Physcomitrella patens* and characterization of cytosine DNA methyltransferases. *FEBS J.*, **279**, 4081—4094. doi:10.1111/febs.12002.
40. Medina F. J., Villacampa A., Ciska M., et al. (2021). Understanding Reduced Gravity Effects on Early Plant Development Before Attempting Life-Support Farming in the Moon and Mars. *Front. Astron. Space Sci.*, **8**, 1—8. <https://doi.org/10.3389/fspas.2021.729154>.
41. Mullen J. L., Hangarter R. P. (2003). Genetic analysis of the gravitropic set-point angle in lateral roots of Arabidopsis. *Adv Space Res.*, **31**, № 10, 249—257. doi: 10.1016/s0273-1177(03)00249-7. PMID: 14686437.
42. Passardi F., Cosio C. (2005). Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Repts*, **24**, № 5, 255—265. doi:10.1007/s00299-005-0972-6.
43. Rothe G. (1972). Unterschiede im Enzymmuster von Protonemata, Moospflänzchen, Sporogon und Kallus der Laubmooskreuzung *Funaria hygrometrica* x *Physcomitrella piriforme*. *Beitrage zur Biologie der Pflanzen*, **48**, 433—444.
44. Roychoudhry S., Bianco M. D., Kieffer M., et al. (2013). Auxin controls gravitropic setpoint angle in higher plant lateral branches. *Curr Biol.*, **23**, № 15, 1497—504. doi:10.1016/j.cub.2013.06.034. PMID: 23891109.
45. Roychoudhry S., Kieffer M., De Bianco M., et al. (2017). The developmental and environmental regulation of gravitropic setpoint angle in Arabidopsis and bean. *Sci. repts*, **3**, 1—12. doi: 10.1016/s0273-1177(03)00249-7 PMID: 14686437.
46. Sato E. M., Hijazi H., Bennett M. J., et al. (2015). New insights into root gravitropic signalling. *J. Exp. Bot.*, **66**, 2155—2165. doi: 10.1093/jxb/eru515 PMC4986716.
47. Swarup R., Bennett M. J. (2018). Root gravitropism. *Annu. Plant. Rev. Online*, 157—174. doi:10.1002/9781119312994.apr0401.

48. Valério L., De Meyer M., Penel C., et al. (2004). Expression analysis of the *Arabidopsis* peroxidase multigenic family. *Phytochem.*, **65**, 1331–1342. doi: 10.5897/AJB10.2291.
49. Vandenbrink J. P.; Kiss J. Z.; Herranz R., et al. (2014). Light and gravity signals synergize in modulating plant development. *Frontier in Plant Sci.*, **5**, 1–18. doi:10.3389/fpls.2014.00563.
50. Villacampa A., Sora L., Herranz R., Medina F. J., et al. (2021). Analysis of graviresponse and biological effects of vertical and horizontal clinorotation in *Arabidopsis thaliana* root tip. *Plants*, **10**, № 4, 1–20. doi:10.3390/plants10040734.

Стаття надійшла до редакції 08.05.2023

Received 08.05.2023

Після доопрацювання 24.05.2023

Revised 24.05.2023

Прийнято до друку 25.05.2023

Accepted 25.05.2023

Ya. D. Khorkavtsiv¹, Senior Researcher, Ph. D. in Biol.

E-mail: ecomorphogenesis@gmail.com

O. V. Lobachevska¹, Senior Researcher, Head of Department, Ph. D. in Biol.

E-mail: ecobryologia@gmail.com

N. Ya. Kyyak¹, Senior Researcher, Deputy Director for scientific work, Ph. D. in Biol.

E-mail: kyyak_n@i.ua

E. L. Kordyum², Head of Department, Dr. Sci. in Biol., Prof.

E-mail: cellbiol@ukr.net

¹ Institute of Ecology of the Carpathians, National Academy of Sciences of Ukraine

4, Kozelnytska Str., Lviv, 79026 Ukraine

² M. G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine

2 Tereshchenkivska Str., Kyiv, 01601 Ukraine

EFFECT OF DNA METHYLATION ON GRAVISENSITIVITY OF MOSSES

Gravity is a constant environmental factor in plant growth and development. Real or simulated microgravity causes stress responses in plants, in which DNA methylation is involved. We investigated the effect of the DNA methylation inhibitor 5-azacytidine (5-aza) on the perception and transduction of the gravity signal into gravitropism and on the peroxidase isoenzyme spectra in *Physcomitrium patens* (Hedw.) Mitt. protonemata under conditions of altered gravity, as well as on *Polytrichum arcticum* Sw. ex. Brid. phenotype branching and variability of gravitropic angles of lateral branches. The influence of DNA methylation on the perception and realization of the gravity signal was determined. DNA demethylation in the 5-aza presence decreased the gravisensitivity of stolons — less at the stage of perception and more during gravity signal transduction. An analysis of gravitropism under the inhibition of DNA methylation showed the signal preservation in cell memory regardless of the stage of gravistimulation. However, cell memory about a signal was shorter at the perception stage and longer at the transduction stage, that affects a rate of the gravitropic growth recovery. The different effect of DNA methylation on gravi-induction is considered as an epigenetically regulated process that modifies morphological differences in mosses' tropism under real microgravity in space flight and simulated microgravity on earth. Resistance to microgravity depends on intensity of cell wall metabolism. Peroxidase activity plays an important role in the biogenesis and mechanical stability of the cell wall. It was shown that the changes in the expression of peroxidase genes and enzyme isoforms in the *P. patens* protonemata may be a result of DNA demethylation. Epigenetic polymorphism of peroxidase under microgravity is regarded as a probable factor of individual resistance of plant organisms.

Keywords: DNA methylation, 5-azacytidine (5-aza), gravitropism, adaptation, protonemata, stolon, lateral branch.