

УДК 581.17:581.84

Гравітропна реакція протонеми моху *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. та її модифікації світлом

О. Я. Хоркавців, О. Т. Демків

Інститут екології Карпат НАН України, Львів

Надійшла до редакції 25.10.99

Проведено порівняльні дослідження граві- та фототропізму протонеми двох видів мохів: *Pohlia nutans* і добре вивченого *Ceratodon purpureus*. У темряві протонема обох видів виявила негативний гравітропізм. В умовах постійного освітлення протонема росла радіально по поверхні субстрату, а бокове світло індукувало позитивний або негативний фототропізм. Характер фототропізму залежав від інтенсивності світла: низька інтенсивність стимулювала позитивний фототропізм, а висока — негативний. Встановлена різна ростова реакція протонеми обох видів на монохроматичне світло: на синьому світлі фототропний згин здійснювався плавно і поступово, а на червоному — різко. Виявлена також залежність фототропної реакції від чергування синього і червоного світла: 10 хв освітлення для послідовності червоне — синє виявилось ефективнішим, ніж для послідовності синє—червоне світло. Очевидно, що дія червоного і синього світла зумовлена змінами цитозольного Ca^{2+} як найшвидшої реакції на світло. Гравітропна реакція протонеми, що виросла на червоному світлі, проявилася слабше і пізніше, ніж протонеми із синього світла.

Протонема мохів стала зручним об'єктом для дослідження ролі гравітації у ростових і формотворчих процесах рослин [4, 15, 16, 29, 31, 32] у зв'язку з тим, що сприйняття і реалізація граві- та фотостимулів в протонемі відбувається в єдиній апікальній клітині, що дає можливість досліджувати природу взаємозв'язків світла і гравітації у різних експериментальних умовах на клітинному рівні. Гравітропізм протонеми описаний лише у чотирьох видів мохів: *Ceratodon purpureus* [18]; *Physcomitrella patens* [23]; *Funaria hygrometrica* [33] та *Pottia intermedia* [15], хоча гравітропна орієнтація гаметофіту і спорофіту властива багатьом з мохів [24].

Pohlia nutans (Hedw.) Lindb. є новим видом у дослідженні ролі гравітації у ростових і формотворчих процесах. У всіх видів мохів гравітропізм

здійснюється за участю амілопластів, седиментація яких під впливом гравітаційного поля Землі призводить до внутрішньоклітинної анізотропії і просторової переорієнтації росту [4, 31].

Плагіотропний ріст протонеми мохів (по субстрату) на світлі [13] і негативно гравітропний у темряві [18] стали підставою для досліджень взаємовпливів світла й гравітації на просторову орієнтацію росту протонеми. Виявилось, що напрям росту протонеми контролюється щонайменше трьома стимулами, відповідальними за фото-, граві- та автотропізм, а взаємодія граві- та фотостимулів залежить не тільки від інтенсивності, але й від кольору, зокрема синього і червоного [4, 16].

Мета нашої роботи — дослідити природу гравітропізму протонеми *Pohlia nutans* та особливості його модифікації світлом.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

Досліджувався гравітропізм двох видів листяних мохів: *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb і *Ceratodon purpureus* Brid. Стерильну культуру мохів одержували зі спор, висіяних на агаризоване середовище Кнопа. Рослини вирощували у люмінестаті в контрольованих умовах чергування 16 год світлового і 8 год темного періоду освітлення ($25\text{—}30\text{ мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$), температури ($20\text{—}22\text{ }^\circ\text{C}$) і вологості ($85\text{—}90\%$). Семиденну протонему знімали препарувальною голкою з агару і у вигляді клубка ниток переносили у нові чашки на свіже середовище, в яке додавали 0.2% глюкози. Чашки поміщали у чорні пакети і ставили вертикально. Через $7\text{—}8$ днів утворювалася густа дернина паралельно орієнтованих прямих столонів. Одержана протонемна дернина була піддослідним матеріалом в усіх експериментах.

Для аналізу післядії світла на гравічутливість протонеми *P. nutans* чашки з протонемою світили зверху через отвір у чорній коробочці протягом 4 год червоним або синім світлом однакової інтенсивності $11\text{ мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Після наświetлення отвір закривали, повертали коробочки на 90° , так що протонема знаходилася у горизонтальному положенні, і для відновлення негативного гравітропізму у темряві повинна була загинатися доверху.

Монохроматичне світло одержували від двох джерел світла: ртутної лампи СВД-120А з світлофільтром ФС-1 ($\lambda = 405\text{ нм}$) та лампи розжарення з інтерференційним світлофільтром ($\lambda = 660\text{ нм}$). Освітлення на рівні культур вирівнювали до $11\text{ мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ за допомогою спектрорадіометра Li-Coг Li-1800. Інтенсивність освітлення регулювали також віддалю між лампами і культурою.

Величина кута згину верхівок апікальних клітин була параметром, за допомогою якого оцінювали ефективність гравітації та світла, а також їхню взаємодію. Кути вимірювали у зеленому світлі на мікроскопі МБИ-6, за допомогою транспортира. Одночасно вимірювали довжину згину і вираховували швидкість росту як частку від ділення довжини ниток після згину на час, за який він утворився.

Для аналізу пластид протонему фарбували безпосередньо у чашках Петрі 0.2% -м розчином йоду у 2.0% -му водному розчині йодистого калію [6]. Розподіл і кількість зафарбованих і незафарбованих пластид аналізували на мікроскопі «Jenaval».

Для фарбування мембранно-зв'язаного кальцію використовували $0.5\text{ ммоль}\cdot\text{л}^{-1}$ водний розчин хлортетрацикліну (ХТЦ) [1]. Вміст Ca^{2+} визначали за інтенсивністю його флуоресценції на цитофлуориметрі ЛЮМАМ-РЗ. Люмінесценцію збуджували

синім світлом. Для цього зі світлового потоку лампи надвисокого тиску ДРШ-250 вирізали світлофільтром ФС-1 + СС-15 світло в межах $\lambda = 380\text{—}420\text{ нм}$. Інтенсивність флуоресценції вимірювали, використовуючи світлофільтр $\lambda_{\text{max}} = 541 \pm 36\text{ нм}$.

Для внесення хелатора кальцію ЕГТА у середовище готували концентрований розчин, розводили його до робочих концентрацій у теплому агаризованому середовищі, яке розливали у чашки Петрі. Із середовища Кнопа вилучали солі, що містили іони кальцію. Для запобігання порушенню орієнтації столонів протонемна дернина росла на целофановій плівці, і разом з целофаном у темряві її переносили з однієї чашки на іншу та орієнтували перпендикулярно до вектора гравітації. Через 6 год гравістимуляції вимірювали довжину згину і величину кута.

Для дослідження фототропної реакції чашки з вертикально орієнтованою протонемою світили 6 год боковим червоним і синім світлом різної інтенсивності: від 0.25 до $30\text{ мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Відразу після освітлення вимірювали кут згину і аналізували характер фототропної реакції: підраховували кількість столонів, які росли до світла, від світла, або не виявили жодної з цих реакцій і продовжували рости у тому ж напрямку, що й до освітлення.

Для аналізу взаємодії світла протонему по чергово протягом 6 год освітлювали червоним і синім світлом і вимірювали кути згину. В одному досліді фільтри змінювали через 2 год, у другому — через 10 хв. Змінювали також послідовність червоного і синього світла: дослід починався з освітлення червоним чи синім світлом.

Досліди повторювали не менше трьох разів, у кожному з яких аналізували 100 окремих ниток. Для кожного варіанту вираховували середнє арифметичне значення і стандартну помилку [10].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

У відповідь на бокове світло або переорієнтацію гравітропної протонеми з вертикального у горизонтальне положення відбувається поступовий або різкий (на червоному світлі) згин верхівкової клітини. Згин протонеми здійснюється за рахунок зміщення ростової зони. Протонемі *P. nutans*, як і деяким іншим видам мохів, властивий лише негативний гравітропізм [4]. Якщо гравістимульовану протонему полії пониклої освітити збоку, то фототропний ріст включається без затримки. Візуально реакція на бокове червоне світло проявляється швидко — через $15\text{—}20$ хв. Реакція на синє світло дещо сповільнена у зв'язку з тим, що переорієнтація

росту здійснюється поступово, а не так різко, як на червоне світло, і виявляється через 20—30 хв. Відновлення негативного гравітропного росту також відбувається поступово і тому візуально цю реакцію можна зареєструвати, як і на синьому світлі, через 20—30 хв.

У зв'язку з різною реакцією протонеми *P. nutans* на синє і червоне світло ми провели порівняльні дослідження фототропізму двох видів: *P. nutans* і *C. purpureus*.

Першими були експерименти з боковим червоним та синім світлом низьких інтенсивностей: 0.25—0.5 мкмоль·м⁻²·с⁻¹. Обидва види, *Pohlia* і *Ceratodon*, росли у напрямку до світла, тобто позитивно фототропно. Однак кут згину був малий — 10°. Для посилення фототропної реакції ми використали вищу інтенсивність, і тоді побачили, що протонема *C. purpureus* змінила напрям росту з позитивного на негативний фототропний, а протонема *P. nutans* на всіх інтенсивностях синього і червоного світла виявляла лише позитивний фото-

тропізм. Одночасно частина стонів не виявила жодної реакції (табл. 1).

З підвищенням інтенсивності світла, починаючи від 1.0—1.5 мкмоль·м⁻²·с⁻¹, серед стонів протонеми *C. purpureus* спостерігалось значне збільшення ниток з негативним фототропним згином (рис. 1). Їхня кількість прямо корелювала з інтенсивністю освітлення. Значення кутів згину позитивного і негативного фототропізму не відрізнялися і були найвищими на червоному світлі (табл. 2).

На одностороннє червоне світло протонема *P. nutans* реагувала позитивно фототропно, а кут згину був значно більший, ніж на синьому світлі. Протонема *C. purpureus* виявила неоднозначну фототропну реакцію, і на низьких інтенсивностях стонів росли до джерела світла, а на високих — від нього. Характер згину на світло був різним: на червоному світлі згин був різким, а на синьому — поступовим. Підвищення інтенсивності світла до 25 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ стимулювало утворення фотозгину майже під прямим кутом на бокове червоне світло і під кутом 70°—80° — на синє [3—5]. Крім того, ростова реакція на червоне світло має ще один морфологічний вияв: утворюється випинання за рахунок переміщення ростової зони з апексу на бокову стінку протонеми [5].

У зв'язку з ефективністю червоного і синього світла для фототропізму протонеми, ми досліджували реакцію протонеми на чергове освітлення. Провели два різних досліді з періодичним освітленням гравістимульованої протонеми *P. nutans* і *C. purpureus* синім і червоним світлом. В одному

Таблиця 1. Типи можливих реакцій (П — позитивний, Н — негативний, 0 — відсутній) фототропного згину *Pohlia nutans* і *Ceratodon purpureus* у залежності від інтенсивності світла; тривалість наświetлення 6 год

Інтенсивність світла, мкмоль·м ⁻² ·с ⁻¹	Фототропізм <i>P. nutans</i>		Фототропізм <i>C. purpureus</i>	
Червоне				
25.0—30.0	П	0	Н	0
7.0—14.0	П	0	Н	0
1.0—1.5	П	0	П	0
0.25—0.35	П	0	П	0
Синє				
25.0—30.0	П	0	Н	0
7.0—14.0	П	0	П	0
1.0—1.5	П	0	П	0
0.25—0.30	П	0	П	0

Таблиця 2. Вплив світла на величину кута φ фототропного згину *Pohlia nutans* і *Ceratodon purpureus*, інтенсивність освітлення 11 мкмоль·м⁻²·с⁻¹, тривалість 6 год

Світло	φ , град		
	<i>P. nutans</i>		<i>C. purpureus</i>
	позитивний	позитивний	негативний
Біле	30.3±4.0	32.0±1.8	0
Червоне	46.6±2.1	50.1±4.2	53.7±4.9
Синє	21.1±1.1	20.6±1.9	21.3±1.7

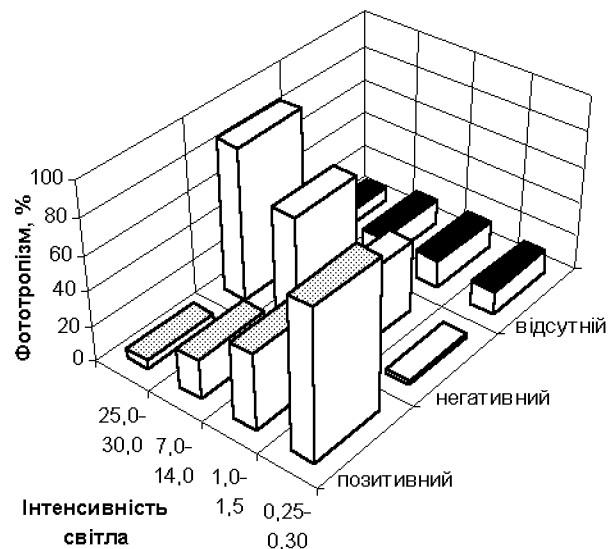


Рис. 1. Вплив різних інтенсивностей синього світла на фототропізм апікальних клітин протонеми *Ceratodon purpureus*

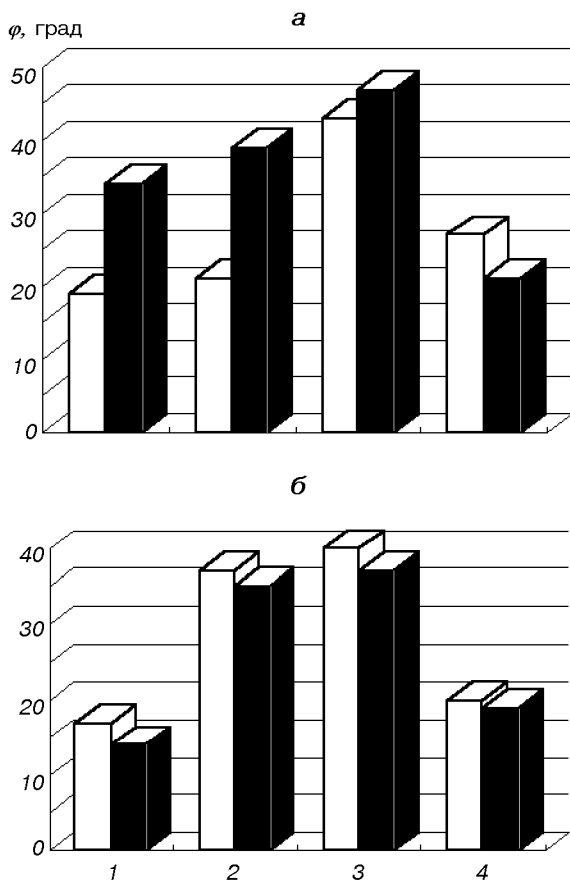


Рис. 2. Вплив чергування синього і червоного світла на величину фототропічного згину апікальних клітин протонемі *C. purpureus* (світлі стовпці) і *P. nutans* (чорні стовпці): 1 — синє + червоне, 2 — червоне + синє, 3 — червоне, 4 — синє. Чергування світла: а — через 2 год; б — через 10 хв. Загальна тривалість наświetлення 6 год

досліді рослини росли 2 год на червоному світлі, потім 2 год на синьому і знову 2 год на червоному. В іншому досліді початковим було синє, за ним червоне і знову синє. В обох випадках чергування не вплинуло на напрям згину. Однак загальна реакція була сильнішою, ніж при 6 год наświetленні синім світлом і слабшою, ніж при 6 год червоному світлі (рис. 2, а).

У третьому досліді чергування світла проводили не через 2 год, а через 10 хв протягом 6 год. У цьому випадку, якщо протонему освітлювали спочатку червоним, а потім синім світлом, то ефективність такої послідовності була вищою, ніж послідовності синє—червоне (рис. 2, б).

Вплив світла проявлявся не тільки на фото-, але й на гравітропізмі протонемі. Так, якщо перенести протонему зі світла у темряву, то реакція на гравітостимул проявлялася зі значним запізненням. Найповільніше реагувала протонема *P. nutans*, що

Таблиця 3. Вплив 4-год наświetлення протонемі *Pohlia nutans* на відновлення гравітропного росту, інтенсивність наświetлення $11 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ($t_{0.95} = 2.0$)

Умови освітлення	Тривалість гравітостимуляції, год	Кут згину, град	$t_{\text{експ}}^*$	Швидкість росту, мкм/год
Контроль (темрява)	6	15.8 ± 1.1	—	13.8 ± 0.9
	24	63.8 ± 2.7	—	17.7 ± 0.9
	48	79.7 ± 3.1	—	21.4 ± 1.1
Червоне світло	6	10.6 ± 1.1	3.3	11.7 ± 0.8
	24	16.8 ± 1.2	14.6	16.6 ± 1.3
	48	60.7 ± 1.3	5.2	19.4 ± 2.0
Синє світло	6	14.6 ± 0.9	0.8	13.0 ± 0.8
	24	63.0 ± 2.4	0.2	16.4 ± 1.4
	48	67.7 ± 2.0	3.1	21.8 ± 2.1

* $t_{0.95}$ і $t_{\text{експ}}$ — теоретичне і експериментальне значення статистики Стюдента

виросла на червоному світлі. Синє світло також затримувало гравітропну реакцію. Виявилось, що навіть короткочасне (4 год) перебування протонемі *P. nutans* на світлі здатне затримати відновлення гравітропного росту. І в цьому випадку для відновлення негативного гравітропізму протонемі *P. nutans*, що росла 4 год на червоному світлі, потрібно було вдвічі більше часу, ніж тій, що виросла на синьому світлі (табл. 3). Тобто, якщо в протонемі зі синього світла кут негативного гравітропного згину досягав $63.0 \pm 2.4^\circ$ вже за добу, як і в контролі ($63.8 \pm 2.7^\circ$), то такої ж величини згин протонемі з червоного світла утворювався тільки через дві доби. Швидкість гравітропного росту поступово збільшувалась в усіх варіантах досліді і неістотно відрізнялася від контролю.

Час реалізації гравітостимулу прямо корелював зі швидкістю седиментації амілопластів в апікальних клітинах протонемі мохів [35]. Седиментація амілопластів залежала від багатьох причин, пов'язаних зі станом цитоплазми, і особливо «густиною амілопластів», яку П. Пілет оцінює за кількістю амілопластів у клітині, їхнім розміром та вмістом в них крохмальних зерен [27, 28].

Дослідження кількості та розподілу амілопластів було першою спробою оцінити тимчасову втрату гравічутливості під дією світла. Як на червоному, так і на синьому світлі зменшувалася кількість зафарбованих ІК₂І пластид, втрачалася їхня зональність, зменшувалася або й була відсутня вільна від амілопластів зона у верхівці апікальної клітини, і пластиди рівномірно розподілялися по всій довжині клітини. Під дією світла в клітинах збільшувалась загальна кількість пластид, при тому що кількість амілопластів (пластид, які фарбувалися ІК₂І) знижувалася (табл. 4). Значно виразніше це

Таблиця 4. Вплив 4-год наświetлення протонеми *Pohlia nutans* на загальну кількість пластид і амілопластів в апікальній клітині ($t_{0.95} = 2.0$)

Варіанти досліджу	Кількість всіх пластид на клітину	Кількість амілопластів у гравістимульованій протонемі на клітину		
		0 год після наświetлення	24 год після наświetлення	48 год після наświetлення
Контроль (темрява)	42.1±2.3	40.1±2.1	40.7±2.4	41.0±1.7
Червоне світло	60.0±3.1 $t_{\text{експ}} = 4.6$	25.2±1.5 $t_{\text{експ}} = 5.7$	18.6±1.5 $t_{\text{експ}} = 7.8$	34.2±3.0 $t_{\text{експ}} = 2.0$
Синє світло	47.0±2.3 $t_{\text{експ}} = 1.5$	29.2±1.6 $t_{\text{експ}} = 4.1$	31.3±1.6 $t_{\text{експ}} = 3.3$	40.5±4.1 $t_{\text{експ}} = 0.1$

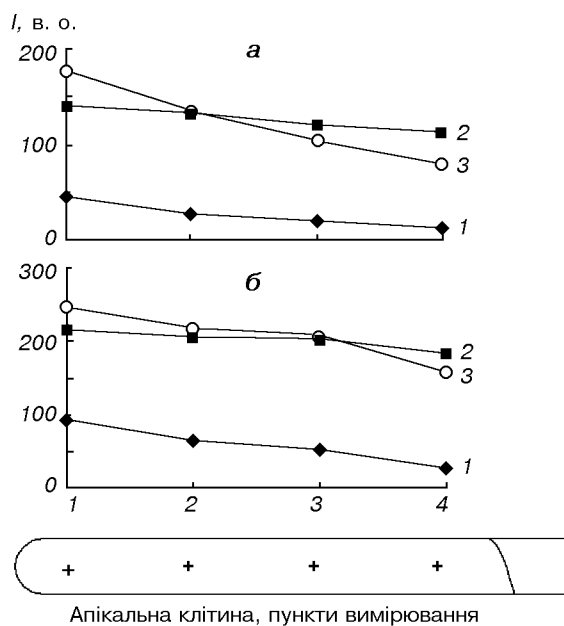


Рис. 3. Інтенсивність люмінесценції (у відносних одиницях) комплексу Ca^{2+} + ХТЦ в апікальних клітинах протонеми після 4 год дії світла: а — *Pohlia nutans*; б — *Ceratodon purpureus*. 1 — контроль, 2 — червоне світло, 3 — синє світло

виявлялося на червоному світлі, ніж на синьому ($t_{\text{експ}} = 4.6$ для червоного світла і 1.5 для синього).

Пластиди були дрібніші (1.5×1.5 мкм), тоді як у темряві вони значно більші (3.5×3.0 мкм), зростає їх кількість, значно інтенсивнішою стала люмінесценція хлорофілу. Можна думати, що після освітлення відбувався процес трансформації амілопластів до функціонально активних хлоропластів. Коли після освітлення протонему знову перенесли у темряву для гравістимуляції, то до нагромадження крохмалю та відновлення асиметричного розподілу пластид клітини поверталися після червоно-

Таблиця 5. Вплив ЕГТА на величину гравітропного згину протонеми *Pohlia nutans*, 6 год гравістимуляція ($t_{0.95} = 2.0$)

Концентрація ЕГТА, мкмоль/л	Гравітропний згин, град	$t_{\text{експ}}$	Довжина згину, мкм	Кількість проаналізованих столонів
0 (контроль)	17.4±0.4	—	128.8±9.2	100
50	16.6±0.8	0.9	131.4±5.8	100
100	10.0±0.6	10.3	111.8±4.2	80
500	7.5±0.5	15.5	74.8±4.4	80

го світла значно повільніше, ніж після синього. Вплив на пластиди синього світла такої ж інтенсивності був менший, і через дві доби кількість амілопластів в апікальних клітинах не відрізнялася від тієї кількості, що була до наświetлення ($t_{\text{експ}} = 0.1$) (табл. 4).

Крім впливу на кількість та розмір амілопластів, червоне світло, як було показано раніше [34], виявляє істотний деполаризуючий вплив. У зв'язку з цим ми проаналізували вміст та локалізацію мембранно-зв'язаного кальцію під впливом світла. Зміна розподілу комплексу Ca^{2+} + ХТЦ виявилися вже після 4 год освітлення, причому більшим був вплив червоного світла, ніж синього у *P. nutans* і меншим у *C. purpureus* (рис. 3). Дія червоного світла призводила до значного збільшення рівня Ca^{2+} і повної втрати апікально-базального градієнта. Синє світло теж підвищувало вміст кальцію, однак менше послаблювало вираженість градієнта. Для всіх варіантів помилка середнього значення не перевищувала 7—10 %. Градієнт Ca^{2+} після перенесення освітленої протонеми у темряву відновлювався через 4—6 год, і швидкість росту протонеми у всіх варіантах була приблизно однаковою.

Застосування загального хелатування іонів кальцію за допомогою ЕГТА свідчить, що хелатування знижувало вміст Ca^{2+} в протонемі і пригнічувало гравітропну реакцію (табл. 5). При цьому, чим вищою була концентрація ЕГТА, тобто чим більша кількість іонів Ca^{2+} зв'язувалася хелатором, тим значнішим був вплив на гравітропізм і довжину згину, що підтверджує причетність кальцію до гравітропної реакції рослин.

Листяний мох *Pohlia nutans* як новий експериментальний вид у дослідженнях гравітропних реакцій використаний вперше. Досить обмежена кількість видів цієї групи рослин у дослідженнях гравіта фототропізму [19], а також взаємодії світла і гравітації у тропічних рухах протонеми [5] зумовили пошуки нових видів з дещо відмінними реакціями [15]. Порівняно з таким потужним фактором як світло, сила земного тяжіння є набагато слабшим зовнішнім чинником, але у темряві зали-

шається єдиним фактором, який детермінує просторову орієнтацію росту. Напрямок і величина гравітаційного стимулу практично не змінювалися протягом всієї історії розвитку рослин. Тому рослини виробили механізми, за допомогою яких вони могли постійно коректувати положення свого тіла у просторі відносно вектора сили тяжіння.

P. nutans добре росте у темряві пучком паралельних столонів, орієнтованих вгору і реагує на гравітацію згином верхівки апікальної клітини. На світлі протонема *P. nutans*, як і інших видів мохів, росте плагіотропно по субстрату, однак за наявності градієнта освітленості виявляє орієнтований на світло фототропізм. В обох випадках векторність дії фактора визначила напрям росту, тобто два різних чинники, світло і гравітація, ініціювали однакову ростову реакцію — згин.

Вплив післядії світла на гравітропний згин *P. nutans* різний для червоного і синього світла. Очевидно, це можна пояснити внутрішньоклітинними змінами у градієнті і розподілі Ca^{2+} , перебудові амілохлоропластів, на які деструктивніше впливає червоне, ніж синє світло. Швидкість росту протонеми у темряві після дії червоного світла дещо знижувалася, тоді як синє світло навіть стимулювало ріст. Швидкість росту, проте, поступово збільшувалася в середньому за 8—10 год, як і в контролі, та досягала 19.4 мкм/год. Але ріст міг повернутися до норми за умови виникнення градієнта Ca^{2+} , оскільки існує явна синхронність між відновленням росту і появою градієнта Ca^{2+} . Відновлення росту, однак, не збігалось з відновленням гравітропізму. Така дія могла бути пов'язана з тим, що ріст корелює з наявністю градієнта кальцію, а гравітропізм — з якістю амілопластів, які зазнали більших змін на червоному світлі, ніж на синьому. Червоне світло призвело до утворення дрібних малохромальних пластид. Навіть у базальній частині апікальної клітини, де пластиди у темряві довгі веретеноподібні (4.0×2.5 мкм), вони стали круглими і дрібними (1.5×1.5 мкм). Ця зміна основного сенсорного апарату, очевидно, є причиною блокування червоним світлом гравінегативного росту. Такого впливу на Ca^{2+} і пластиди не спостерігали після дії синього світла, що й могло послабити його вплив на гравіреакцію.

Ростова реакція у обох видів на дію червоного і синього світла відрізняється типом згину: на червоне світло протонема реагує різким кутом, і час виявлення реакції менший, ніж на синє світло, згин на яке відбувається плавно і повільніше. До того ж на червоному світлі протонема утворює вип'ячення апікальної частини клітини — росток, що не спостерігається на синьому світлі [1, 2].

На тривале освітлення різними інтенсивностями червоного і синього світла *P. nutans* реагує позитивно фототропно, а *C. purpureus* лише на низьких інтенсивностях виявляє позитивний фототропізм, на високих інтенсивностях згин є негативно фототропні незалежно від довжини хвилі. Адсорбуючий світло рецептор діє постійно, що передбачає утворення продукту цієї дії і його нагромадження у часовому проміжку між сприйняттям сигналу і реакцією. Якщо рецептором є фітохром, то продуктом його дії можуть бути спеціальні метаболіти, які утворилися внаслідок фітохром-регульованого білкового фосфорилування, чи активація фітохромом протейніназної активності, або інших реакцій фітохрому [19]. Так чи інакше, це є нові шляхи для дослідження механізму фітохром-залежного перетворення сигналу. Низькі інтенсивності синього світла зумовлюють позитивну реакцію, очевидно, включаючись у активацію через фітохромну пігментну систему. На високих інтенсивностях характер дії світла (червоного і синього) змінюється з ряду причин. Високі інтенсивності можуть інактивувати пігменти, або подіяти якимось іншим чином, але можуть теж включатися, як і на низьких інтенсивностях світла, через низькоенергетичну реверсійну систему червоного — далекого червоного світла. Проте у цьому випадку різко зростає вплив синього світла, очевидно, за участю інших рецепторів, наприклад флавіно-протейдного комплексу, або фікобілінів, переключаючи реакцію «слабкого» світла — позитивний фототропізм — на реакцію «сильного» світла — негативний фототропізм [7, 8].

Спектри дії позитивного і негативного фототропізму ідентичні, тому фоторецептори повинні бути одні і ті ж. І пігменти, котрі абсорбують синє світло, і фітохром опосередковано є відповідальними за фототропні реакції протонеми мохів. Що стосується значення негативного фототропізму, то це може бути захисна функція, або адаптація, яка оптимізує ріст залежно від умов освітлення [20]. Той факт, що для фототропізму мохів ефективно червоне і синє світло, може свідчити про взаємодію цих пігментів. На таку думку наводять експерименти, в яких чергували червоне і синє світло. У досліді з періодичним почерговим 2-год освітленням червоне — синє світло або навпаки не виявлено залежності між послідовністю світла і величиною кута згину. Зате коли інтервали між світлом скоротили до 10 хв і спочатку подали червоне світло, а потім синє, то це майже вдвічі посилило фототропну реакцію, порівняно з чергуванням, коли синє світло було перед червоним. Отже, послідовність червоне — синє світло для протонеми є

ефективнішою, ніж періодичність синє — червоне світло. Підсилення фототропної реакції синього світла в етіологованих квіткових рослинах також відбувалося після попередньої експозиції їх на червоному світлі [9]. Так, для *Cassia fasciculata* показано, що фітохром є посередником складання листків, за участю Ca^{2+} -залежного процесу; рецептор синього світла контролює світло-залежне розгортання листків, яке порушується модуляторами Ca^{2+} -каналів. Реакція здійснюється за наявності Ca^{2+} , який може мобілізуватися із внутрішніх запасів [30]. Автори вважають, що в процесі цих двох типів рухів листків *C. fasciculata* іони Ca^{2+} мобілізуються з різних джерел: фітохром регулює вихід Ca^{2+} з апопласту, а синє світло індукуює потік Ca^{2+} з вакуолі і ендоплазматичного ретикулуму.

Трансдукція світлового сигналу у фототропну реакцію протонеми у досліді з чергуванням червоного і синього світла, може бути зв'язана з тим, що червоне світло активує інтенсивність потоків кальцію із зовнішнього середовища, у той час як синє світло більше регулює внутрішній розподіл Ca^{2+} [18, 22, 25, 26]. Освітлення спочатку червоним світлом, а потім синім посилює зростання концентрації цитозольного Ca^{2+} як однієї з найшвидших реакцій на дію світла [11, 17, 21]. Швидке нагромадження Ca^{2+} активує ферментативні системи та метаболічні процеси. Одночасно з цим у клітинах включаються енергетично залежні помпи викачування кальцію з цитозолу, однак синє світло, подане через 10 хв після червоного, індукуює вихід Ca^{2+} з вакуолі й ендоплазматичного ретикулуму і тим самим підтримує високий вміст Ca^{2+} у цитозолі. Під впливом початкового синього світла у клітинах в основному відбувається вихід Ca^{2+} з внутрішнього депо, а при наступному червоному світлі активується як вхід Ca^{2+} ззовні так і вихід його з клітин. Наявність двох факторів, які регулюють вміст внутрішньоклітинного Ca^{2+} , тобто активацію світлом входу Ca^{2+} у клітини і енергетично-залежний (за участю Ca^{2+} -АТФаз) вихід Ca^{2+} з клітин, обов'язково призводить до його змін, які переходять у коливний процес [11], і не виключено, що у цьому випадку виникають осциляції вмісту Ca^{2+} , а послідовності червоне — синє, синє — червоне можуть по-різному модифікувати амплітуду такого осциляційного процесу.

1. Демків О. Т., Кардаш А. Р., Хоркавців Я. Д. Полярність растительных клеток, ее становление и переориентация // Рост и устойчивость растений / Под ред. Р. К. Салеева, В. И. Кефели. — Новосибирск: Наука, 1989.—С. 29—45.
2. Демків О. Т., Сьтнік К. М. Морфогенез архегоніат. — Киев: Наук. думка, 1985.—203 с.
3. Демків О., Хоркавців Я., Кардаш О. Спільний американсь-

- ко-український експеримент SPM на космічному кораблі «Columbia» // Екологічний збірник на пошану Андрія Соколовича Лазаренка: Праці наукового товариства імені Шевченка. — 1999.—III—С. 13—18.
4. Демків О. Т., Хоркавців Я. Д., Кардаш О. Р., Чабан Х. І. Гравічутлива протонема моху — модельний об'єкт космічної біології // Космічна наука і технологія.—1997.—3, № 3-4.—С. 34—39.
 5. Демків О. Т., Хоркавців Я. Д., Кардаш А. Р., Чабан Х. І. Взаимодействие света и гравитации в ростовых движениях протонемы мхов // Физиол. раст.—1997.—44, № 2.—С. 205—211.
 6. Дженсен У. Ботаническая гистохимия. — М.: Мир, 1965.—377 с.
 7. Леопольд А. Рост и развитие растений / Под ред. И. И. Гунара. — М.: Мир, 1968.—404 с.
 8. Либберт Э. Физиология растений / Под ред. В. И. Кефели. — М.: Мир, 1976.—580 с.
 9. Медведев С. С. Физиологические основы полярности растений. — Санкт-Петербург: Изд-во Кольна, 1996.—157 с.
 10. Плохинский Н. А. Биометрия. — М.: Изд-во МГУ, 1970.—367 с.
 11. Хоркавців Я. Д., Демків О. Т. Регуляція ростових процесів в ізольованих клітинних системах мохів // Физиол. и биохим. культ. раст.—1993.—25, № 3 (144).—С. 284—289.
 12. Хоркавців Я. Д., Кардаш А. Р., Демків О. Т. Ростовые процессы и взаимовлияния клеток в изолированных клеточных системах мха *Tetraphis pellucida* Hedw. // Физиол. раст.—1989.—36, вып. 1.—С. 24—31.
 13. Bopp M. Developmental Physiology of Bryophytes // New Manual of Bryology / Ed. R. Schuster. — 1983.—Vol. 1.—P. 276—324.
 14. Bopp M., Atzorn R. Hormonal regulation of moss development // Naturwissenschaften.—1992.—79 (8).—P. 337—346.
 15. Chaban Ch.I., Volker K. D, Ripetsky R. T, et al. Gravitropism in caulonemata of the moss *Pottia intermedia* // J. of Bryology.—1998.—20.—P. 287—299.
 16. Demkiv O. T, Kordyum E. L., Khorkavtsiv Ya. D., et al. Gravitational and photostimuli in moss protonema growth movements // Adv. Space Res.—1998.—21, N 8/9.—P.1191—1195.
 17. Eppel D. The initiation of development at fertilization // Cell Differentiation and Development.—1990.—29, N 1.—P. 1—12.
 18. Hartmann E. Influence of light on phototropic bending of moss protonemata of *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. // J. Hattori Bot. Lab.—1984.—N 55.—P. 87—98.
 19. Hartmann E., Weber M. Storage of the phytochrome-mediated phototropic stimulus of moss protonemal tip cells // Planta.—1988.—175, N 1.—P. 39—49.
 20. Hartmann E., Weber M. Photomodulation of protonema development // Bryophyte development: physiology and biochemistry / Ed. R. N. Chopra, S. C. Bhatla. — 1990.—P. 33—54.
 21. HauBer I., Herth W., Reiss H.-D. Calmodulin in tip-growing plant cells, visualized by fluorescing calmodulin-binding phenothiazines // Planta.—1984.—162, N 1.—P. 33—39.
 22. Hock B. Phytochrome // Progress in Botany.—1995.—56.—P. 201—235.
 23. Jenkins G. I., Courtice R. M., Cove D. J. Gravitropic responses of wild-type and mutant strains of the moss *Physcomitrella patens* // Plant, Cell and Environ.—1986.—9.—P. 637—644.
 24. Lobachevska O. V., Demkiv O. T., Ripetskyj R. T. Influence of gravity on spatial orientation and morphogenesis of moss sporophytes // Adv. Space Res.—1998.—21, N 8/9.—P. 1141—1144.
 25. Nick P., Furuya M. Buder revisited: cell and organ polarity during phototropism // Plant, Cell and Environment.—1996.—19.—P. 1179—1187.
 26. Nick P., Schafer E. Polarity induction versus phototropism in

- maize: Auxin cannot replace blue light // *Planta*.—1994.—195.—P. 61—69.
27. Pilet P. E., Greppin H., Bonzon M. Action de l'acide gibberellique sur la densité des amyloplastes racinaires // *C. r. Acad. Sci. Paris*.—1971.—272, N 13.—P. 1760—1763.
 28. Pilet P. E., Nougarede A. Action de l'acide gibberellique sur la croissance et le géotropisme racinaire // *C. r. Acad. Sci. Paris*.—1971.—272, N 3.—P. 418—422.
 29. Ripetskyj R. T., Kit N. A., Chaban C. I. Gravity effects on the growth and development of moss secondary protonemata // *Adv. Space Res.*—1998.—21, N 8/9.—P. 1135—1139.
 30. Roblin G., Fleurat-Lessard P., Bonmort J. Effects of compounds affecting calcium channels on phytochrome- and blue pigment-mediated pulvinal movements of *Cassia fasciculata* // *Plant Physiol.*—1989.—90, N 2.—P. 697—701.
 31. Sack F. D. Plant Gravity Sensing // *Int. Rev. Cytol.*—1991.—127.—P. 193—252.
 32. Sack F. D. Plastids and gravitropic sensing // *Planta*.—1997.—203.—P. 63—68.
 33. Schwuchow J. M., Kim D., Sack F. D. Caulonemal gravitropism and amyloplast sedimentation in the moss *Funaria* // *Can. J. Bot.*—1995.—73.—P. 1029—1035.
 34. Sytnik K. M., Demkiv O. T., Kordyum E. L., et al. Calcium gradient in plant cells with polarized growth in simulated microgravity // *Adv. Space Res.*—1989.—9, N 11.—P. (11)41—(11)44.
 35. Young J. C., Sack F. D. Time lapse analysis of gravitropism in *Ceratodon* protonemata // *Amer. J. Bot.*—1992.—79.—P. 1348—1358.

GRAVITROPIC RESPONSE IN PROTONEMATA OF THE MOSS *POHLIA NUTANS* (HEDW.) LINDB. AND ITS MODULATION BY LIGHT

O. Ya. Khorkavtsiv and O. T. Demkiv

Comparative investigations of gravitropism were carried out in the protonemata of *Pohlia nutans* and well-studied moss *Ceratodon purpureus*. In darkness the protonemata of both species showed the negative gravitropism. Under uniform illumination from above they grew radially over the substrate surface, whereas unilateral illumination induced either positive or negative phototropic growth. In the *P. nutans* protonemata only positive phototropic curvature occurred, at the same time the *C. purpureus* protonemata were positively phototropic at low irradiation and negatively phototropic at high light. The protonemata of both moss species shows different growth reactions in monochromatic light. The phototropic curvatures in blue light were smoother than in red one, which induced a very sharp curvature, with a nearly 90° bending angle. It was found that the phototropic response depends on the alternation of red and blue illumination. A ten-minute illumination appeared more effective in the red-blue than in the blue-red sequence. The effect of red and blue light signals is probably caused by changes in the cytosolic Ca²⁺ concentration, as the most rapid response to the light exposure. Gravitropism in the protonemata grown by light was found depend on its quality, the gravitropic curvatures in the protonemata from the red light were weaker and they developed later than in the protonemata from the blue light.