

УДК 581.17+581.84

О. Я. Хоркавців, О. Т. Демків, Я. Д. Хоркавців

Інститут екології Карпат НАН України, Львів

Участь кальцію у гравітропізмі протонеми моху *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb.

Надійшла до редакції 16.05.01

Протонемі мохів властивий верхівковий тип росту, який відбувається за рахунок видовження і поділів апікальної клітини. На світлі протонема росте плагіотропно, формуючи радіально симетричні дернинки, а у темряві утворює пучок паралельних, негативно гравітропних стolonів. Цитохімічні дослідження свідчать, що апекс верхівкових клітин є локальним місцем входу іонів кальцію, і звідси формується його апікально-базальний градієнт. У апексі підтримується висока концентрація Ca^{2+} , яка збільшується з перших годин гравістимуляції. Цитохімічна активність Ca^{2+} -АТФази була найнижчою у верхівці апікальної клітини, а найвищою — у базальному кінці, на межі між апікальною і субапікальною клітинами. Розподіл цитохімічної реакції Ca^{2+} -АТФази істотно не відрізнявся в умовах кліностагування у порівнянні з гравістимульованою протонемою. Отже, можна вважати, що в апікальній клітині функціонує полярний (базипетальний) транспорт Ca^{2+} , енергетично забезпечений Ca^{2+} -АТФазою. Верапаміл і ортованадат натрію пригнічували гравітропізм і порушували зональний розподіл пластид, що підтверджує участь кальцію у гравітропізмі.

Згідно із сучасними уявленнями універсальним регулятором внутрішньоклітинних процесів є кальцій, який виконує функції «вторинного месенджера» у поляризації і у просторовій організації росту. Протягом останніх десяти років доведена участь кальцію у реалізації гравітропізму [10]. Апікально-базальний градієнт іонів Ca^{2+} є основою біоелектричної полярності клітин з верхівковим ростом [3, 13, 21]. Допускають також, що мембрано-зв'язаний Ca^{2+} може регулювати ріст клітин розтяганням і разом з вільним кальцієм бути посередником у передачі сигналу у статоцитах [24]. Сучасні технології дозволяють спряжено поєднати дослідження вільного і мембрано-зв'язаного кальцію, оскільки малоімовірним є те, що обидва види кальцію діють незалежно.

Переконливою моделлю градієнтного переміщення Ca^{2+} є гравітропна реакція. Вже через 10 хв після гравістимуляції колеоптилів кукурудзи спостерігали латеральний потік Ca^{2+} , і лише через 60 хв вдалося виявити латеральний перерозподіл ауксину [10]. Блокування роботи Ca^{2+} -каналів і Ca^{2+} -АТФаз інгібує полярний потік іонів Ca^{2+} і гравітропний ріст. Локальне підвищення концентрації цитозольного кальцію за рахунок вільного

притоку із зовнішнього середовища, як правило, є сигналом, який запускає активне його видалення з клітини. Це досягається складною взаємодією регуляторних систем Ca^{2+} , включаючи роботу Ca^{2+} -АТФазних pomp [8]. Тому для гравітропізму важливий не тільки певний рівень Ca^{2+} , але й процес його активного полярного транспорту.

Для дослідження вмісту і трансмембранного перенесення Ca^{2+} використовують різні методи, серед яких і Ca^{2+} -зв'язуючі люмінесцентні індикатори [1]. Цитохімічне визначення АТФаз дозволяє виявити їх локалізацію і оцінити рівень внутрішньоклітинної активності Ca^{2+} -АТФаз.

Ми ставили за мету дослідити розподіл Ca^{2+} і Ca^{2+} -АТФази в апікальних клітинах протонеми *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. під час граві- та фототропізму і кліностагування.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

У роботі використали протонему моху *P. nutans*, яку вирощували стерильно зі спор у люмінестаті з 16 год фотоперіодом, у чашках Петрі, що знаходилися у горизонтальному положенні. Гравітропну

протонему одержували через 5—7 днів після того, як чашки з 5-денною протонею зі світла перенесли у темряву і гравістимулювали, ставлячи їх під кутом 90° [6]. Іншу групу чашок, у яких протонема росла 5 днів на світлі, обгортали чорним папером і поміщали на горизонтальний кліноSTAT так, щоб напрям росту протонемі був перпендикулярний до осі обертання кліноSTATу. На кліноSTATі протонема росла ще 5—7 днів, так само як під час гравістимуляції. КліноSTAT обертався за допомогою синхронного електродвигуна з частотою 2 об/хв протягом 5—7 діб. Відцентрова сила, яка при цьому виникала, не перевищувала $10^{-5}g$, тобто була нижчою від порога чутливості. Вважається, що така величина близька до мікрогравітації в космічному польоті на навколосемній орбіті [9].

Для визначення мембрано-зв'язаного Ca^{2+} застосовували флуоресцентний барвник хлоротетрациклін (ХТЦ). У 0.5 мМ водний розчин ХТЦ на 20 хв переносили протонемні дернинки, відмивали їх тричі по 5 хв водою та аналізували на цитофлуориметрі ЛЮМАМ-РЗ. Вміст кальцію оцінювали за інтенсивністю його флуоресценції в апікальній клітині на різній відстані від апекса: у верхівці, в апікальній частині клітини перед ядром, після ядра і в основі.

Для визначення Ca^{2+} -АТФази використали модифікований метод з фосфатами азотолів [1, 2, 7]. Протонему фіксували 4 %-м розчином параформальдегіду на 0.1 М трис-малеатному буфері рН 7.2 протягом 40 хв при кімнатній температурі. Препарати промивали протягом 1.5 год цим же буфером, а тоді переносили у профільтовану інкубаційну суміш такого складу: 2 мМ АТФ, 2 мМ $CaCl_2$, 0.4 мМ фосфату нафтолу AS-TR, 0.4 мМ тривкого синього RR, 10 % $MnCl_2$, 0.1 М трис-малеатного буферу рН 7.2. Інкубували матеріал 2 год при $37^\circ C$. Після інкубації протонему відмивали у бу-

фері протягом 60 хв і реєстрували спектри поглинання Ca^{2+} -АТФази на спектрофотометрі ($\lambda = 550$ нм) відразу, або на наступний день. Вимірювання робили в апікальній клітині, аналогічно як для Ca^{2+} , і в бокових одноклітинних відгалуженнях у двох місцях: в апексі і біля клітинної перетинки (місце відділення від материнської клітини). Контролем була інкубаційна суміш без АТФ. Для блокування роботи Ca^{2+} -помп застосовували ортованадат натрію (ванадат).

Ванадат і верапаміл використовували для дослідження впливу блокторів кальцієвого транспорту під час граві- та фототропної реакції. Готували концентровані розчини реактивів, які розводили у дистильованій воді до робочих концентрацій 0.01—1.0 мМ, і по 0.02 мл наносили на одну дернинку гравітропної протонемі. Через 6 год розчини зливали, а чашки ставили вертикально на 8 год для гравістимуляції. Для фотоактивації протонему освітлювали 8 год червоним світлом інтенсивністю $11 \text{ мкм} \cdot \text{моль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, яке подавали збоку. Міряли кути загинів та визначали приріст довжини апікальної клітини від того місця, де вона зігнулася, і до апексу. Вимірювання робили на мікроскопі МБИ-6 у зеленому світлі.

Всі досліди повторювали тричі, а у кожному варіанті аналізували не менше ніж 50 клітин. Дані опрацьовували статистично.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Протонема *P. nutans* є зручною модельною системою для досліджень гравітропного росту. Протонема, як і інші організми з верхівковим ростом, росте за рахунок видовження і поділів апікальної клітини. На світлі протонема утворює радіально симетричні дернинки, а у темряві орієнтується пара-

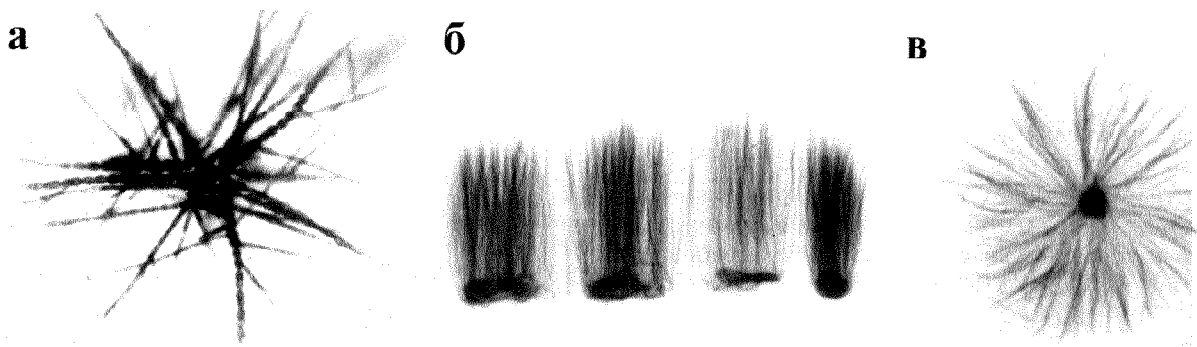


Рис. 1. Загальний вигляд дернинок протонемі *Pohlia nutans*, які виростили у різних умовах: а — 5-денна протонема, яка росла на світлі, зб.: 16 \times ; б — гравітропна 10-денна протонема з темряви, зб.: 10 \times ; в — 10-денна протонема, яка утворилася у темряві на кліноSTATі, зб.: 10 \times

лельно до вектора гравітації і має вигляд густого пучка вертикальних столонів. На кліностації і на світлі форма дернинок подібна, з тою різницею, що у темряві протонема не галузиться (рис. 1). Темрява є необхідною умовою для виявлення гравітропізму протонеми мохів.

Іншим важливим посередником для гравітропного росту є кальцій і його транспорт у клітині. Під час гравістимуляції як стебел, так і коренів було показано, що для забезпечення полярного росту має значення не так рівень кальцію, як процес його активного полярного переміщення у клітині [10]. Верхівкові клітини нитчастих систем, наприклад протонема мохів, пилкові трубки *Lilium*, кореневі волоски *Zea*, звичайно виявляють апікально-базальний градієнт мембрано-зв'язаного кальцію [5, 17].

Апікальні клітини гравітропної протонеми *P. nutans* мали найвищу флуоресценцію мембрано-зв'язаного кальцію в апексі, на досить високому рівні флуоресценція кальцію зберігалася в апікальній частині клітини і різко знижувалася до основи (рис. 2, 3). Апекс клітин є центром ростової активності і локальним місцем входу іонів Ca^{2+} , звідки і формується його апікально-базальний гра-

дієнт [3]. Через це тут постійно підтримується висока концентрація Ca^{2+} . Ми не знайшли, однак, значних відмінностей у характері розподілу мембрано-зв'язаного Ca^{2+} у гравітропній протонемі і у протонемі, яка формувалася в умовах кліностакування (рис. 2, а, б).

Зберігався той же апікально-базальний градієнт Ca^{2+} : високий рівень флуоресценції у ростучій верхівці клітини і низький в основі. Тобто, градієнтний розподіл Ca^{2+} підтримується за різних умов вирощування протонеми. Незважаючи на те що наші результати одержані для мембрано-зв'язаного Ca^{2+} , показано, що цитозольний Ca^{2+} у клітинах з апікальним типом росту також розподіляється нерівномірно, з максимумом у верхівці клітини [13]. І це, очевидно, є основною особливістю апікального росту. Якщо порушити градієнтний розподіл Ca^{2+} у апікальних клітинах протонеми червоним світлом [6], то клітини стають нечутливими до сприйняття гравістимулу.

Ріст апікальних клітин протонеми обмежений лише верхівкою, і згин формується внаслідок зміщення ростового центра [4]. Наочним прикладом такого зміщення є індуковане червоним світлом випинання бокової стінки перпендикулярно до росту головного столону [6], якому передують локальне переміщення Ca^{2+} . З цієї зони найвищого вмісту Ca^{2+} починає формуватися нова полярність і новий напрям росту. Якщо застосувати кальцієві блокатори (хлорпромазин, ВАРТА), то ріст припиняється [11, 19].

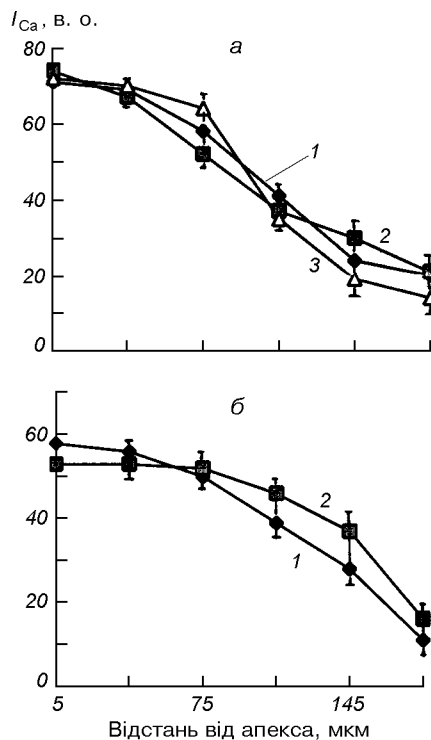


Рис. 2. Інтенсивність флуоресценції кальцію у апікальній клітині протонеми *Pohlia nutans*: а — через різний час після гравістимуляції (1—0 год, 2—0.5 год, 3—1 год); б — гравітропна протонема (1) і після 14 днів кліностакування (2)

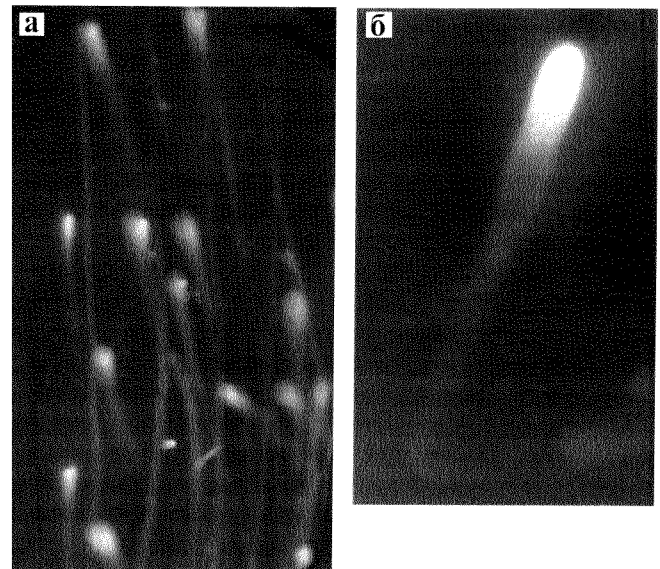


Рис. 3. Флуоресценція Ca^{2+} в апікальних клітинах протонеми *Pohlia nutans*: а — зб.: 100×; б — зб.: 300×



Рис. 4. Цитохімічна активність Ca^{2+} -АТФази у клітинах протонеми *Pohlia nutans*. Зб.: 200×

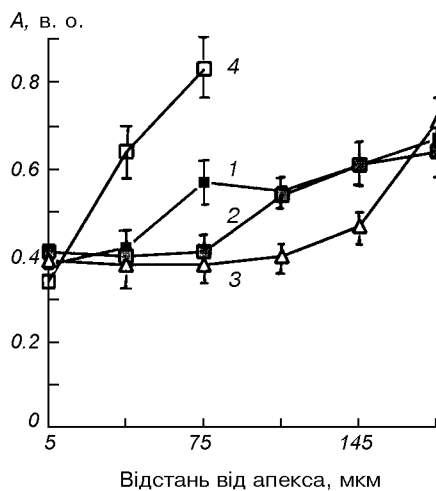


Рис. 5. Розподіл цитохімічної активності Ca^{2+} -АТФази (відн. од.) в апікальних клітинах протонеми і в ростку *Pohlia nutans*, довжина апікальної клітини 200 мкм, довжина ростка 40—60 мкм: 1 — гравітропна протонема; 2 — 2 год гравістимуляції; 3 — 14 днів кліноостатування; 4 — новоутворений росток

За допомогою вібруючих мікроелектродів В. Сінклер і Д. Тревавас [24] визначили кальцій вздовж гравізігну та поперек купола пилкових трубок і знайшли, що з обох боків купола вміст кальцію різний. Ріст пилкової трубки здійснювався у тому місці купола, який характеризувався вищим вмістом Ca^{2+} . Співвідношення між двома боками купола продовжувало зростати протягом всього періоду переорієнтації, доки перевагу не одержав новий напрям росту. Тільки тоді відновилася вихідна норма Ca^{2+} .

Не маючи таких можливостей, ми, проте, цитохімічно змогли показати локальну активацію Ca^{2+} -АТФази, і зокрема базипетальне зростання цитохімічної активності ферменту. Проведений цитохімічний аналіз локалізації Ca^{2+} -АТФази виявив певну закономірність у розподілі продукту реакції. Найбільша кількість зв'язаного барвника, яка відображає активність Ca^{2+} -АТФази, була у зоні пере-

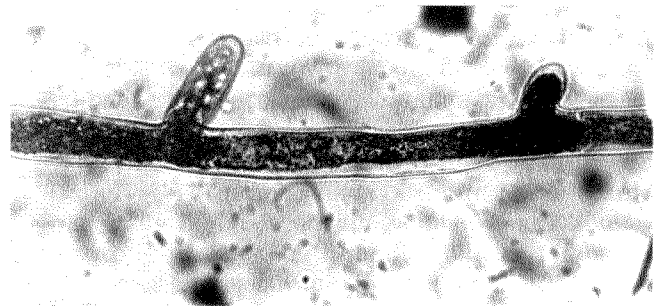


Рис. 6. Локалізація Ca^{2+} -АТФазної активності у місцях закладання бокових ростків на протонемі *Pohlia nutans*. Зб.: 300×

тинки між апікальною і субапікальною клітинами (рис. 4). Скупчення продукту реакції у вигляді чорних цяточок спостерігалось також у навколядерній ділянці апікальної клітини і в зоні локалізації пластид (амілохлоропластів), причому інтенсивніше фарбувалася цитоплазма клітини нижче від ядра. Це дозволило припустити, що в апікальній клітині функціонує активний базипетальний транспорт Ca^{2+} з участю Ca^{2+} -АТФази.

Характер реакції Ca^{2+} -АТФази в гравістимульованій протонемі і після кліноостатування порівняно з гравітропною (контрольною) протонемою суттєво не відрізнявся (рис. 5). Низька відносна активність Ca^{2+} -АТФази була в апікальній частині верхівки. Після гравістимуляції, як і після кліноостатування, різниця у Ca^{2+} -АТФазній активності між апексом і базальною частиною клітини збільшувалась. Отже, кальцієві потоки за цих умов не припиняються і забезпечують градієнтний розподіл катіона по всьому столону. Однак, незважаючи на участь Ca^{2+} в реалізації гравітропного стимулу, латеральний перерозподіл Ca^{2+} в клітинах протонеми виявити не вдалося.

Градієнт Ca^{2+} -АТФази встановлювався не лише у довгих апікальних клітинах, але й у коротких клітинах нових відгалужень (рис. 5). Бокові відгалуження, які тільки що відділилися від материнської клітини, мали значно інтенсивнішу

Ca²⁺-АТФазну реакцію біля клітинної перетинки, ніж у апексі (рис. 6). Це означає, що направлений потік кальцію відбувається постійно, незалежно від довжини клітини, чи органу. Тобто кальцій не лише тригер, а більше — постійний регулятор функціональної активності клітини. Видалення Ca²⁺ з клітини і робота Ca²⁺-транспортних систем відіграють основну роль у регуляції метаболізму клітин. Системи транспорту кальцію через плазматичну мембрану пов'язані із затратами енергії. Для дослідження АТФ-залежного транспорту використовують блокатори кальцієвих каналів і мембранозв'язаних Ca²⁺-АТФаз. Ми застосували верапаміл, блокатор потенціал-залежних Ca²⁺-каналів і ванадат, інгібітор мембранозв'язаних Ca²⁺-АТФаз і проаналізували їхню дію на граві- і фототропізм (табл. 1).

Вплив інгібіторів на гравітропну реакцію залежав від концентрації розчину, який наносили на протонемні дернинки. Верапаміл у концентрації 0.01–0.1 мМ знижував величину кута згину, а ванадат таку дію викликав, коли його концентрація була значно вищою — 0.1–0.5 мМ. Вищі, ніж для гравітропізму, потрібні були концентрації блокаторів, щоб загальмувати фототропізм. Проте, як і при гравітропізмі, верапаміл виявляв сильнішу дію, ніж ванадат. Тільки 0.5–1.0 мМ концентрації ванадату істотно знижували фототропну реакцію. Однак активність Ca²⁺-АТФазної реакції більше залежала

від ванадату і знижувалася у два рази у порівнянні з контролем (табл. 2). Як під час граві-, так і фототропізму високі концентрації обох сполук пригнічували ріст та руйнували градієнтний характер активності Ca²⁺-АТФази.

Кальцій є вторинним посередником в індукції гравітропізму. У роботі [23] висловлено припущення про те, що посередником між гравітропним стимулом і статоцитами є іони Ca²⁺, оскільки вони відіграють ключову роль у встановленні клітинної поляризації. Проте, якщо в коренях чи стеблах така поляризація створюється за рахунок міжклітинних переміщень іонів Ca²⁺, то для клітин з верхівковим ростом внутрішньоклітинний транспорт кальцію від апекса до базальної частини забезпечує полярильність в межах однієї клітини, яка сприймає гравістимул і відповідає на нього. Дослідження гравічутливості органів з верхівковим ростом, в яких ланцюг подій не ускладнений мембранним транспортом сигналу, і які витримують широкий діапазон експериментальних маніпуляцій, дозволило зробити ряд конкретних узагальнень про перетворення гравісигналу у фізіологічну і морфологічну реакцію [6, 12, 14, 18, 20, 23]. Звичайно, хід процесу відрізняється у різних системах, тому й обговорюються найкраще досліджені об'єкти, найчастіше протонема і корені. Спільною думкою дослідників є те, що кальцієвий сигнал це перша, але короткотривала реакція клітини на гравізбудження. Кальцієвий сигнал міг сформуватися як відповідь на напруження на мембрані типу механічної енергії від цитоскелету, або внаслідок відкриття Ca²⁺-каналів, тобто входу іонів Ca²⁺ і підвищення його концентрації в цитозолі [22, 23]. Це негайно активує регуляторні системи Ca²⁺-помп і транспортерів, робота котрих направлена на видалення надлишкового кальцію. Підтвердженням цьому є активація Ca²⁺-АТФаз в базальній частині апікальної клітини і примордіях. Отже, у ростучій апікальній клітині постійно функціонує апікально-базальний потік Ca²⁺. Чітко виражена біполярна система Ca²⁺-каналів—Ca²⁺-АТФаз зберігається в клітинах гравістимульованих стелонів. Те, що верапаміл і ортованадат натрію пригнічували гравітропну реакцію, впливали на локалізацію пластид є підтвердженням участі Ca²⁺ у гравітропізмі. Так само незначне підвищення Ca²⁺ під час гравістимуляції ще до видимого морфологічного ефекту свідчить про участь кальцію у гравітропізмі. За нормального росту протонеми під час кліностакування ми, проте, не виявили істотних відмінностей у розподілі ні кальцію, ні Ca²⁺-АТФази. Отже, кліностакування не було тією стресовою ситуацією, яка порушила кальцієвий градієнт. В

Таблиця 1. Вплив інгібіторів мембранного транспорту Ca²⁺ на граві- і фототропізм та ріст апікальних клітин протонеми *Rohlia putans*; тривалість експозиції у розчинах блокаторів 6 год, час граві- та фотостимуляції 8 год

Концентрація блокаторів, мМ	Гравітропний згин, град/год	Швидкість росту, мкм/год	Фототропний згин, град/год	Швидкість росту, мкм/год
0	2.9±0.3	22.5±0.3	7.4±0.4	30.1±0.3
		Верапаміл:		
0.01	2.1±0.3	20.4±0.2	7.0±0.3	30.2±0.3
0.1	1.0±0.2	15.1±0.2	5.9±0.4	20.4±0.3
		Ванадат:		
0.1	2.4±0.2	22.7±0.3	7.1±0.1	30.6±0.3
0.5	1.7±0.2	22.4±0.2	6.3±0.1	24.5±0.3
1.0	0.6±0.01	16.4±0.1	6.0±0.1	21.4±0.3

Таблиця 2. Вплив 0.1 мМ ванадату і верапамілу на гравітропний згин і відносну активність Ca²⁺-АТФази, тривалість гравістимуляції 8 год

Варіанти досліджу	Гравітропний згин, град/год	Активність Ca ²⁺ -АТФази, відн. од.
Контроль (0)	3.3±0.2	0.57±0.4
Ванадат	2.2±0.2	0.27±0.3
Верапаміл	1.1±0.1	—

іншому випадку це неминуче вплинуло б на ріст.

Ca^{2+} -блокатори пригнічували також фототропний ріст, однак для цього потрібні були їх вищі концентрації. Очевидно, світло активувало багато інших систем регуляції Ca^{2+} -статкування в цитозолі, які, мабуть, під час росту у темряві залишалися незадіяними, і у цьому випадку селективна дія інгібіторів могла бути ефективнішою. Для обох тропізмів більший інгібуєчий вплив виявляв верапаміл, ніж ванадат. Відмінності у дії обох блокаторів свідчать насамперед про роботу різних транспортерів Ca^{2+} і тонку зміну в їхній регуляції залежно від стану клітини. Д. Еванс зі співробітниками [16] на мікросомальних препаратах колеоптилів кукурудзи показали, що кальмодулін по-різному впливає на кальцієвий транспорт культур з темряви і зі світла, і на світлі можуть функціонувати інші, не кальмодулін-залежні кальцієві помпи. Очевидно, що поляризований транспорт Ca^{2+} спряжено підтримують потенціал-залежні канали і Ca^{2+} -АТФазні помпи, однак, очевидно, доля перших вища, через що інгібуєчий вплив верапамілу сильніший. Проте висока Ca^{2+} -АТФазна активність дає нам підстави вважати, що активний транспорт Ca^{2+} у наших дослідженнях був зумовлений саме роботою Ca^{2+} -АТФазних pomp плазмалеми внаслідок асиметричного розподілу їх у апікально-базальному напрямку клітини. Високу інтенсивність цитохімічної Ca^{2+} -АТФазної реакції, очевидно, можна пояснити також великою кількістю Ca^{2+} -каналів на плазмалемі [10]. А те, що низькі концентрації блокаторів Ca^{2+} -каналів інгібували гравітропну реакцію, підтверджує значення двох систем у регуляції входу і виходу кальцію. Не є несподіваною підвищена активність Ca^{2+} -АТФаз у зоні ядра, яке функціонує з великими енергетичними витратами. А підвищена активність Ca^{2+} -АТФазної активності в зоні зосередження амілохлоропластів в апікальній частині клітини, очевидно, свідчить лише про структурну, а не функціональну роль Ca^{2+} на мембранах пластид.

Таким чином, дослідження різних нитчастих систем (протонема, ризоїди *Chara*, пилкові трубки) підтверджують пріоритет Ca^{2+} в індукції гравітропізму. Важливо те, що ми знаємо, як формується градієнт Ca^{2+} . І хоч механізм передачі інформації у вигляді внутрішньоклітинних хвиль ще не зовсім зрозумілий [10, 15], розподіл мембрано-зв'язаного Ca^{2+} міг би відображати характер сигналізації всередині клітин.

1. Белявская Н. А. Роль ионов кальция в механизме гравиреперцепции у растений и в эффектах микрогравитации на клеточном уровне: Дис. ... докт. биол. наук. — Киев, 1998.—367 с.—Машинопись.

2. Берстон М. Гистохимия ферментов. — М.: Мир, 1965.—464 с.
3. Демкив О. Т., Сытник К. М. Морфогенез архегоният. — Киев: Наук. думка, 1985.—204 с.
4. Демкив О. Т., Кардаш А. Д., Хоркавців Я. Д. Полярность растительных клеток, ее становление и переориентация // Рост и устойчивость растений. — Новосибирск: Наука, 1988.—С. 29—45.
5. Демкив О. Т., Хоркавців Я. Д., Кардаш А. Р. Полярность и клеточная дифференцировка в процессе развития архегонияльных растений // Аналитические аспекты дифференцировки. — М.: Наука, 1991.—С. 121—132.
6. Демкив О. Т., Хоркавців Я. Д., Кардаш А. Р. и др. Взаимодействие света и гравитации в ростовых движениях мхов // Физиол. раст.—1997.—44, № 2.—С. 205—211.
7. Дженсен У. Ботаническая гистохимия. — М.: Мир, 1965.—374 с.
8. Каримова Ф. Г., Тарчевская О. И. Регуляция концентрации Ca^{2+} в цитозоле растительных клеток // Физиол. и биохим. культ. раст.—1990.—22, № 2.—С. 107—118.
9. Машинский А. Л., Митичкин О. В., Гречко Г. М. К вопросу об оценке весомости при проведении биологических исследований // Организмы и сила тяжести. — Вильнюс, 1976.—С. 228—237.
10. Медведев С. С. Физиологические основы полярности растений. — С.-П.: Кольна, 1996.—159 с.
11. Хоркавців Я. Д., Демкив О. Т. Регуляция ростовых процессов в изолированных клеточных системах мхов // Физиол. и биохим. культ. раст.—1993.—25, № 3.—С. 284—295.
12. Чабан Х. І. Сучасні уявлення про гравітропічну реакцію рослин // Укр. ботан. журн.—1998.—55, № 4.—С. 369—376.
13. Шевченко Г. В. Вплив зміненої сили тяжіння на цитоскелет рослинних клітин з верхівковим ростом: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — К., 2000.—142 с.
14. Braun M. Gravitropism in tip-growing cells // Planta.—1997.—203.—P. 11—19.
15. Bush D. S. Regulation of cytosolic calcium in plants // Plant Physiol.—1993.—103, N 3.—P. 170—173.
16. Evans D. E., Briars S.-A., Williams L. E. Active calcium transport by plant cell membranes // J. Experimental Botany.—1991.—42, N 236.—P. 285—303.
17. Hartmann E., Weber M. Storaie of the phytochrome-mediated phototropic stimulus of moss protonemal tip cell // Planta.—1988.—175, N 1.—P. 39—49.
18. Kern V. D., Sack F. D. Irradiance-dependent regulation of gravitropism by red light in protonemata of the moss *Ceratodon purpureus* // Planta.—1999.—209.—P. 299—307.
19. Pierson E. S., Millet D. D., Callahan D. A., et al. Pollen tube growth is coupled to the extracellular calcium ion flux and the intracellular calcium gradient: Effect of BAPTA-type buffers and hypertonic media // Plant Cell.—1994.—6, N 12.—P. 1815—1828.
20. Sack F. D. Plant gravity sensing // Int. Rev. Cytol.—1991.—127.—P. 193—252.
21. Saunders M. J. Calcium and plant hormone action // Hormone perception and signal transduction in animals and plants: Proc. of Symposia of the Society for Experimental Biology. / Eds J. Roberts, C. Kirk, M. Venis. — The Company of Biol. Limited. Univ. of Combridge.—1990.—N 44.—P. 217—283.
22. Sievers A., Behrens H. M., Buckhout T. J., et al. Can a Ca^{2+} pump in the endoplasmic reticulum of the *Lepidium* root be the trigger for rapid changes in membrane potential after gravistimulation? // Z. Pflanzenphysion. A.—1984.—114, N 3.—P. 195—200.
23. Sievers A., Buchen B., Hodick D. Gravity sensing in tip-growing cells // Plant Cell.—1996.—1, N 8.—P. 273—279.

24. Sinclair W., Trewavas J. A. Calcium in gravitropism. A re-examination // *Planta*.—1997.—203.—P. 85—90.

CALCIUM IN GRAVITROPISM OF THE MOSS *POHLIA NUTANS* (HEDW.) LINDB. PROTONEMATA

O. Ya. Khorkavtsiv, O. T. Demkiv, Ya. D. Khorkavtsiv

Protonemata of mosses both of *Pohlia nutans* grow by extension and division of single apical cells which are negatively gravitropic in

darkness. The fluorescence of Ca^{2+} increased in the tip of apical cells from the first hours of gravitropism stimulation. Cytochemical investigations confirmed the existence of a well pronounced tip-to-base Ca^{2+} -gradient, its formation being favoured by localization of calcium influx in the tip of the apical cell. Measurement of the cytochemical reaction intensity showed that the level of Ca^{2+} -ATFase activity is low in apex and increases towards the base of the apical cell. The gravitropic protonemata and filaments which grew on the clinostat showed similar distributions of the Ca^{2+} and Ca^{2+} -ATFase activity along the apical cell axis. Thus, these data demonstrate that growing apical cells of gravitropic protonemata have a high tip-to-base Ca^{2+} gradient, the Ca^{2+} transport being afforded by Ca^{2+} -ATFase.