

О.І.ПУНДЯК

Інститут екології Карпат НАН України
79026, Львів, вул. Козельницька, 4

**ВПЛИВ ГРАВІСТИМУЛУ НА ОБМІН КАЛЬЦІЮ В
АПІКАЛЬНИХ КЛІТИНАХ ПРОТОНЕМИ МОХУ *CERATODON
PURPUREUS* (HEDW.) BRID.**

ключові слова: гравістимуляція, протонема, кальцій
key words: gravistimuli, protonemata, calcium

O.I.PUNDIAK

**THE INFLUENCE OF GRAVISTIMULI ON THE CALCIUM EXCHANGE
IN APICAL CELLS OF MOSS PROTONEMATA *CERATODON
PURPUREUS* (HEDW.) BRID.**

Institute of ecology of the Carpathians
4 Kozelnyska St., 79026 L'viv, Ukraine

It has been showed that the apexes of the dark protonemata of the moss *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., which had met face to face interacted one with another keeping the same growth rate and direction. Blocator of calcium channels verapamil and also gravistimuli inhibited the formation of these couples of the apexes.

Згідно з принципом Полларда, вплив гравітації проявляється на тілах, діаметр яких більший за 1 мкм [6]. Седиментації менших за розміром тіл перешкоджає молекулярне зчеплення. Гравісенсорною системою мохів є амілопласти — від округлих до еліпсоїдних, діаметром 2-6 мкм, які, переважно, зосереджені в субапикальній зоні апікальної клітини. Відомо, що під час гравістимуляції відбувається седиментація амілопластів на нижню стінку клітини, що скорельовано з поступовим негативним гравітропним згином [7; 8]. Гравітропізм у мохів виявляється вже на ювенільній стадії розвитку й здійснюється апікальними клітинами протонемати, яка може розвинути як зі спори, так і в процесі регенерації пізніших стадій розвитку моху — каулонемати та гаметофора. Росте протонема апексом, проявляючи верхівковий ріст. Відстань між зоною амілопластів та апексом становить декілька мікрометрів. Таку відстань повинен подолати гравістимул для того, щоби напрямок росту протонемати змінився. Для того, щоби гравітропна інформація не розсіялася в процесі росту, повинні існувати певні молекулярні системи, які відповідають за перенос гравістимулу. Детальний механізм такого переносу на

сьогодні невідомий, проте з'ясовано, що в ньому активну участь беруть ферменти обміну кальцію.

Особливістю протонеми є те, що на світлі вона росте по субстрату й не реагує ні на світло, ні на гравітацію, хоча обидва фактори орієнтовані перпендикулярно до площини росту. Лише в темряві апікальні клітини піднімаються над субстратом, виявляючи негативний гравітропізм. Вважають, що такий ріст є адаптивною реакцією [3; 4; 5], яка забезпечує найкоротший шлях до світла. Використана нами протонема *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., як й інших гравітропних видів, у темряві росте гравінегативно. Попередньо ми показали, що лінійна швидкість росту верхівки протонеми з наближенням її орієнтації до вертикального положення, зростає [2]. Це свідчить про те, що гравістимул інтенсивніше передається від органел-рецепторів гравітації до плазматичної мембрани апексу, що росте, за умов орієнтації верхівок, ближчих до вертикалі. З другого боку, саме в горизонтальному положенні цей сигнал мав би бути найсильнішим, бо в цьому положенні найвиразніше спостерігається асиметрія цитозолу, спричинена седиментацією амілопластів. Розшифрування молекулярних механізмів передачі гравісигналу, на нашу думку, повинно пролити світло на проблему екоформотворчої поляризації рослинних клітин.

Ми виявили, що протонема моху *C. purpureus*, яка росте в темряві, здатна утворювати певну кількість пар столонів, які ростуть вертикально, тісно дотикаючись один до одного з однаковою швидкістю, так, що їхні апекси знаходяться поряд (Рис. 1). Тут ми маємо справу з цікавою та рідкісною зворотною формою переходу багатоклітинної організації моху з одновимірної нитчастої у трьохвимірну шпагатоподібну. Цей перехід відбувається без вираженої диференціації клітин. За нашими міркуваннями, така форма є пристосуванням до збіднення субстрату вологою та певними поживними речовинами, бо площа поверхні контакту з субстратом зменшується, порівняно з загальним об'ємом організму. Інгібітор кальцієвих каналів — верапаміл блокує утворення таких пар. Отже, кальцієві канали задіяні у формуванні пар столонів. Як відомо, кальцієві канали є також однією з ланок передавання гравістимулу в рослинах [1]. Ступінь впливу гравістимулу на здатність столонів формувати пари є відносним мірилом сили конкурентного впливу гравістимулу на обмін кальцію в апікальній клітині моху. Метою цієї роботи було дослідити вплив гравістимулу на згадану верхівкову взаємодію столонів протонеми моху *C. purpureus*.

Методика досліджень

Спори моху *C. purpureus* висівали стерильно в 4 см чашки Петрі на 0,75%-й бакто-агар, приготований на поживному середовищі Кноп-ІІ з мікроелементами. Культури вирощували в контрольованих умовах: на білому світлі з 16-годинним фотоперіодом, температурою 20-22°C, освітленістю 25-30 мкмоль м⁻² сек⁻¹ і відносною вологістю 85-90 %.

Через 21 добу каулоному перенесли на агаризоване середовище Кнопа з 0,2%-ою глюкозою. В останнє середовище вносили верапаміл, доводячи його концентрацію до 10⁻⁵М. Чашки Пері з таким середовищем повертали на 90° вертикально й ставили в темне місце на 6 діб.

Після цього підраховували кількість спарених верхівок. Для цього під мікроскопом знаходили столони, апекси яких є взаємозміщені не більше, як на 1 мкм. Підраховували кількість таких пар апексів, ураховуючи довжину, на якій столони росли спареними.

Потім мохи піддавали дії гравістимулу, повернувши їх у темряві на 90° у вертикальній площині, порівняно з попереднім положенням. Наступного дня підраховували кількість спарених столонів.

Результати досліджень та їх обговорення

На 3 добу після посіву спори *C. purpureus* проростали аналогічно *Funaria hygrometrica* (Hedw.) і на 7-10 добу утворилася розгалужена протонемна дернинка, яка наростала за рахунок поділів апікальних клітин і галуження інтеркалярних. На 21 добу розвинулася каулонемна дернинка з бруньками гаметофорів. Після перенесення каулонами в темряву, гравітропна реакція в столонах *C. purpureus* розвивалася неоднаково: частина столонів деякий час продовжувала рости в різні боки по поверхні субстрату й не реагувала на гравітацію. Ми досліджували тільки гравітропні столони. У нормальному середовищі без верапамілу через 6 діб гравістимуляції апекси столонів утворювали пари з частотою 11 пар на 460 столонів (див. фото 1). З них 4 пари утворені столонами на довжині більше, як 4 перших клітин; 4 пари утворені на довжині 1-2 перших клітин протонемі; 5 пар утворено тільки самими апексами, які щойно “зустрілися”. У середовищі з верапамілом не було помічено формування жодної пари. Те саме спостерігали вже на другий день після гравістимуляції моху в обидвох типах середовищ. Згідно з моделлю повністю незалежного росту кожного столона, кількість спарених верхівок на довжині перших 4-х клітин повинна бути істотно меншою від кількості спарених верхівок на довжині 2-х перших клітин (тобто в стільки разів, у скільки разів менша кількість спарених верхівок на довжині 2-х перших клітин від

Різні типи взаємодій верхівок столонів, залежно від довжини такої взаємодії у гравітропної протонеми моху *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid.

Середовище та умови	К-сть столонів, довжина взаємодії яких більша за 4 перші клітини	К-сть столонів, з довжиною взаємодії – 1-2 перших клітини	К-сть столонів, довжина взаємодії яких менше однієї клітини	Кількість досліджених столонів
контрольне середовище	4	4	5	460
середовище В	0	0	0	450
гравістимуляція	0	0	0	910
різні варіанти	4	460	0	460
теоретичних	0	4	460	460
розрахунків	0	0	5	460

На агаризованому середовищі Кноп-II з 0,2%-ною глюкозою в контролі апекси столонів взаємнозміщені не більше, як на 1 мкм. У дослідне середовище В вносили верапаміл у концентрації 10^{-5} М. Те ж саме підраховували в сумі для обидвох середовищ після гравістимуляції (поворот чашки Петрі на 90^0 у вертикальній площині) протягом однієї доби. У таблиці представлені також дані теоретичних розрахунків кількостей пар столонів за умови повністю незалежного росту окремих столонів на контрольному середовищі.

кількості всіх столонів). Те саме можна сказати про відношення кількості спарених верхівок на довжині 2-х перших клітин до кількості столонів, які щойно зустрілися верхівками. Отже, наші теоретичні розрахунки співвідношення кількості пар столонів, утворених на різних довжинах у випадку повністю незалежного росту окремих столонів не збігаються з експериментально одержаними даними. Звідси мусимо дійти висновку, що ріст спарених верхівок не є випадковим, а отже, існують певні молекулярні системи, що корегують напрям росту таких верхівок, залишаючи їх спареними надалі.

Наші досліди з верапамілом вказують на те, що кальцієві канали беруть активну участь у корекції напрямку та швидкості росту спарених столонів, забезпечуючи їх ріст один біля одного. Проте гравістимуляція спричинює настільки сильний і тривалий перерозподіл активностей Ca^{2+} -каналів, що вони не можуть бути задіяні у формуванні спарених верхівок.

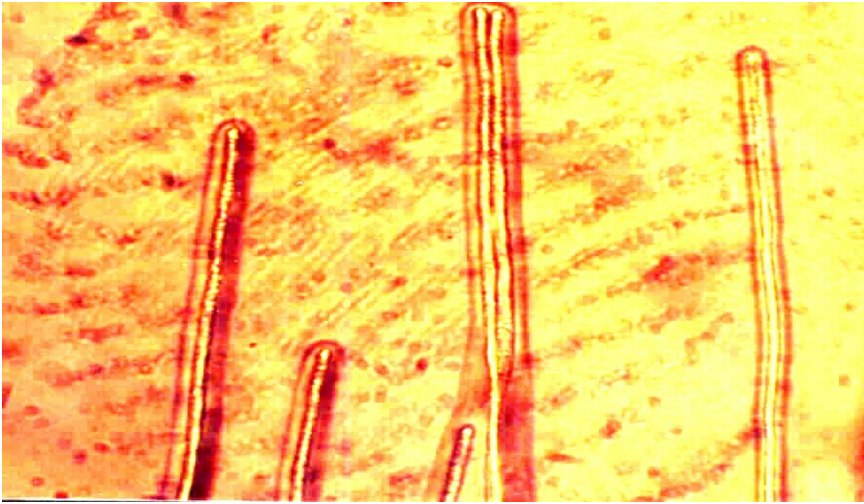


Рис. 1. Спарені та поодинокі столони протонеми моху *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid.

Висновки

1. Столони протонеми моху *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. у темряві під дією гравітації ростуть, орієнтуючись вертикально вгору, в основному, поодинокі, зрідка утворюючи між собою пари тісно контактуючих верхівок.

2. У процесі корекції напрямку росту спарених верхівок активну роль відіграють кальцієві канали.

3. Виявлено важливу участь гравістимулу в активації мембранних каналів, а отже й вплив на обмін кальцієм в апікальних клітинах протонеми моху *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., що здатні утворювати пари.

ЛІТЕРАТУРА

1. Медведєв С.С. Физиологические основы полярности растений. – Санкт-Петербург, 1996. – 160 с.
2. Хоркавців О.Я., Пундяк О.І. Вплив світла та тривалої темряви на стан пластид гравітропної протонеми *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. // Укр. ботан. журн. – 2000. – 57, № 12. – С.37-41.
3. Chaban С.І., Kordyum E.L., Demkiv O.T., et al. The gravireaction of *Ceratodon* protonemata treated with gibberellic acid // Adv. Space Res. – 1999. – 24, № 6. – P. 717-721.
4. Demkiv O.T., Kordyum E.L., Khorkavtsiv Ya.D., et al. Behavior of amyloplasts in photo- and gravitropism of the moss protonema // J. of Gravitational Physiology. – 1997. – 4, № 2. – P. 75-76.

5. Demkiv, O. T., Kordyum E. L., Kardash O. R., Khorikavtsiv O. Ya. Gravitropism and phototropism in protonemata of the moss *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. // Adv. Space Res. – 1999. – 22, №12. – P. 1999-2004.
6. Pollard E.C. Theoretical studies of living systems in the absence of mechanical stress // J. Theor. Biol. – 1965. – 1. – P. 113-123.
7. Walker, L.M., Sack F.D. Amyloplasts as possible statoliths in gravitropic protonemata of the moss *Ceratodon purpureus* // Planta. – 1990. – 181. – P. 71-77.
8. Young J.C., Sack F.D. Time-lapse analysis of gravitropism in *Ceratodon* protonemata // Amer. J. Bot. – 1992. – 79. – P.1348-1358.