

О.Я.ХОРКАВЦІВ

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

РЕВЕРСІЯ ГРАВІТРОПНОЇ РЕАКЦІЇ ПРОТОНЕМИ *POHLIA NUTANS* (HEDW.) LINDB. ПІД ВПЛИВОМ СВІТЛА

ключові слова: гравітація, світло, протонема, фото- і гравітропізм
key words: gravitation, light, protonemata, photo- and gravitropism

O.YA. KHORKAVTSIV

LIGHT-INDUCED REVERSION OF GRAVITROPIC RESPONSE IN PROTONEMATA OF THE MOSS *POHLIA NUTANS* (HEDW.) LINDB.

Institute of Ecology of the Carpathians, N.A.S. of Ukraine
4 Kozel'nytska St., L'viv 79026, Ukraine

In darkness, protonemal filaments of *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. grow negatively gravitropically (upwards). A red light treatment has an inhibitory effect on the gravitropic response, an effect being mediated by phytochrome. In this study the effect of blue light on gravitropism was analysed. Blue light given together with a gravitropic stimulus reversed the gravitropism, changing it from negative to positive (filaments grow downward). Light also affects chlorophyll content and the size of plastids, potential statoliths for gravitropism. Blue light induced an increase in plastid size and chlorophyll content in the apical cells of the moss *Pohlia*. Red light also induced a similar change of plastids. It seems as though light-induced alterations of gravitropism are not simply mediated by alterations in plastid properties, and that red light and blue light evoke fundamentally different responses.

Рослини виробили високочутливі механізми реакції на різні впливи природного середовища. Гравітація забезпечує майже постійний стимул, який є джерелом просторової інформації і важливим сигналом для орієнтації. Проте, система гравітропізму не функціонує незалежно від інших сенсорних систем рослин. Критично важливим фактором є світло, енергія якого забезпечує виживання рослини. Кількість, якість і напрям світла сприймаються декількома різними фотосенсорними системами, що спільно регулюють майже всі стадії розвитку, підтримуючи фотосинтетичну активність [6]. Світло потрібне також для модуляції гравітропізму коренів і стебел, впливаючи через фітохром-фотосенсорну систему на стадії трансдукції сигналу [8]. Кінцева форма рослини також залежить від взаємовпливу світла й гравітації на ендогенні програми розвитку.

Протонема мохів давно використовується як модельна система для досліджень фото- й гравітропізму. У філаментах протонемі сприйняття фото- й гравітропних стимулів і їх реалізація відбуваються в одній верхівковій клітині й тому контроль за напрямком росту можна здійснювати на клітинному рівні.

Метою цього дослідження було проаналізувати дію синього та червоного світла на гравітропізм протонемі моху *Pohlia nutans*.

Методика досліджень

Культури *Pohlia nutans*, *Ceratodon purpureus* і *Funaria hygrometrica* отримували зі спор, які в стерильних умовах висівали в чашки Петрі на агаризоване середовище Кнопа з мікроелементами [1], і вирощували в люмінестаті, де підтримується 16-годинний фотоперіод, температура 20-22⁰С і освітлення 2,0-2,5 тис.лк. Гравітропну протонему отримували аналогічно, як і в інших експериментах [2; 4]. На агар клали целофанову плівку, а на плівку переносили по 4-5 клубків протонемі, які зверху заливали тонким шаром (1 мм) 1,2% агарози. Чашки залишали у вертикальному положенні в темряві протягом 5-7 днів. Для дослідження впливу світла на фото- й гравітропний ріст вертикально орієнтовані чашки наświetлювали протягом 24 год. синім світлом, направляючи світло в різних напрямках (Рис. 2). Синє світло $\lambda = 405$ нм отримували від ртутної лампи СВД-120А за допомогою світлофільтра ФС-1. Зі світлового потоку 100 Вт лампи розжарення за допомогою інтерференційного світлофільтра вирізали лінію з довжиною хвилі $\lambda = 660$ нм. Інтенсивність освітлення вирівнювали до 5 мкмоль м⁻²сек⁻¹. Для аналізу фото- й гравітропної реакції вимірювали кути між напрямком росту до й після освітлення. Результати опрацьовували статистично й візуалізували на кільцевій діаграмі. Довжина заштрихованої смужки відповідає кількості згинів. Внутрішнє кільце прийнято за 0%, зовнішнє — за 50%. На гістограмі схематично зображено початкову орієнтацію росту стolonів і напрям росту після реорієнтації чашок і 24 год освітлення.

Контролем були чашки з гравітропною протонемою, які обертали на кліностаті та освітлювали синім світлом аналогічно, як у дослідному варіанті.

Результати досліджень

Фототропізм протонемі на бокове освітлення відбувається шляхом поступового згину. Синє світло індукує значно повільнішу гравітропну реакцію, ніж червоне. На низьких інтенсивностях синього світла

столони *Ceratodon purpureus*, на відміну від *Pohlia nutans*, виявляють негативну фототропну реакцію [3]. І червоне світло, і синє істотно пригнічують гравітропізм протонеми, однак післядія червоного світла є значно тривалішою, ніж синього [5]. Досліджуючи гравітропний ріст після різних варіантів освітлення синім світлом, виявили, що крім величини кута гравітропного згину може змінюватися й напрям гравітропізму — з негативного на позитивний (Рис. 1).

Для аналізу дії синього світла на гравітропізм, чашки з протонемою освітлювали після реорієнтації їх на 90^0 , оскільки горизонтальне положення стимулює сильну гравітропну реакцію стolonів. Ми застосували декілька різних варіантів освітлення, але найефективнішою дія світла була тоді, коли протонему світили через кришку чашки (рис. 2). Цей спосіб освітлення дозволив нам виявити позитивну гравітропну реакцію протонеми. В усіх інших варіантах досліду позитивний гравітропний ріст був дуже незначний. У повній темряві столони росли негативно гравітропно й кут згину за 24 год. становив $80-83^0$.

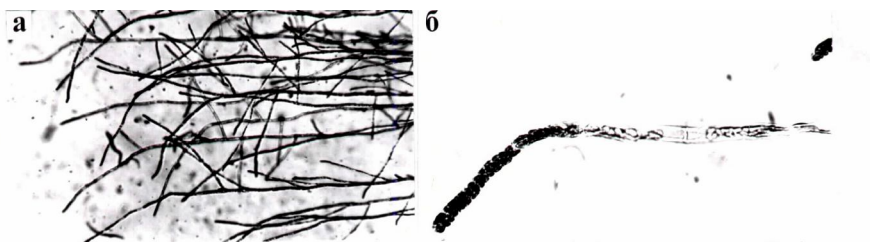
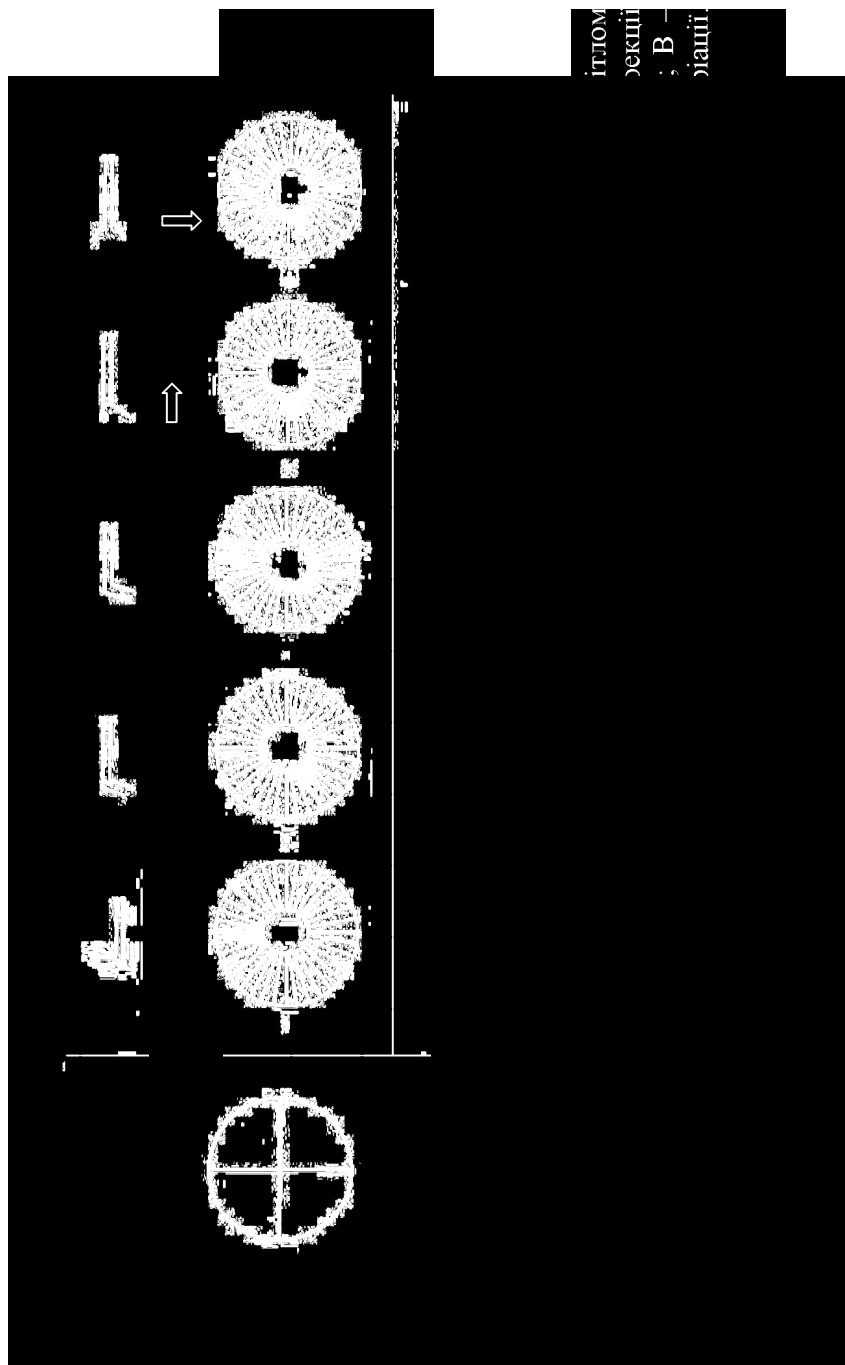


Рис. 1. Позитивна гравітропна реакція дернинки *Pohlia nutans* (а) і окремого стolonу (б) після освітлення синім світлом.
Збільшення: а – 50х, б – 150х.

В інших експериментах перевіряли ефект червоного світла на гравітропізм *Pohlia*. Щоби звести до мінімуму фототропну дію червоного світла, протонему освітлювали по 5 хв. на годину протягом 24 год. Червоне світло посилювало варіабельність кутів згину, але майже не змінювало напрям гравітропізму (Рис. 3).

Для порівняння впливу синього світла на гравітропізм видів з нижчою гравічутливістю використали *F. hygrometrica*, яка на стадії хлоронеми має слабшу гравітропну реакцію, порівняно з *Pohlia* й *Ceratodon*. У фунарії після освітлення синім світлом напрям гравітропізму також змінився на позитивний, а середній кут згину був навіть дещо вищим, ніж у *Pohlia* (Рис. 4).



ітлом
секції
; В –
біації

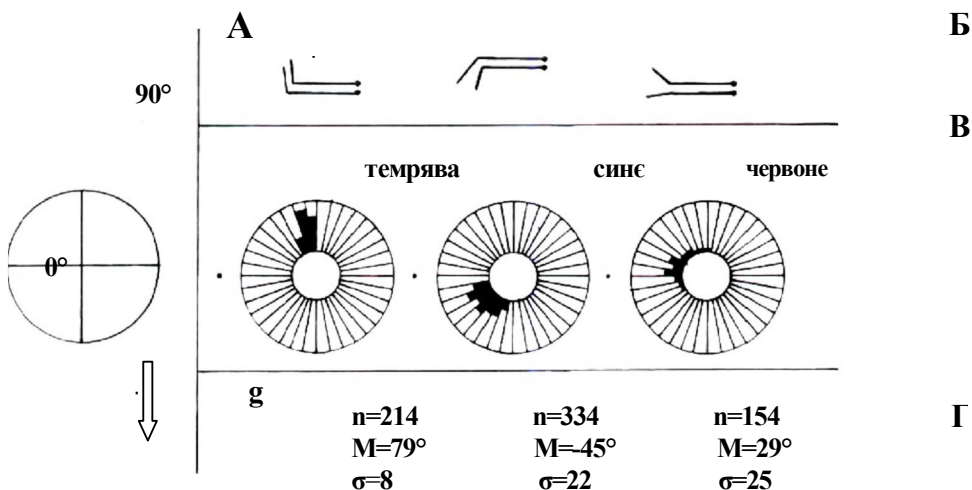


Рис. 3. Вплив синього й червоного світла на гравітропізм протонеми *Pohlia nutans*. Протонему освітлювали протягом 24 год. безперервним синім світлом і по 5 хв. на годину червоним. Світло з інтенсивністю 5 мкмоль м⁻² сек⁻¹ направляли через кришку чашки. Усі позначення як на рис. 2.

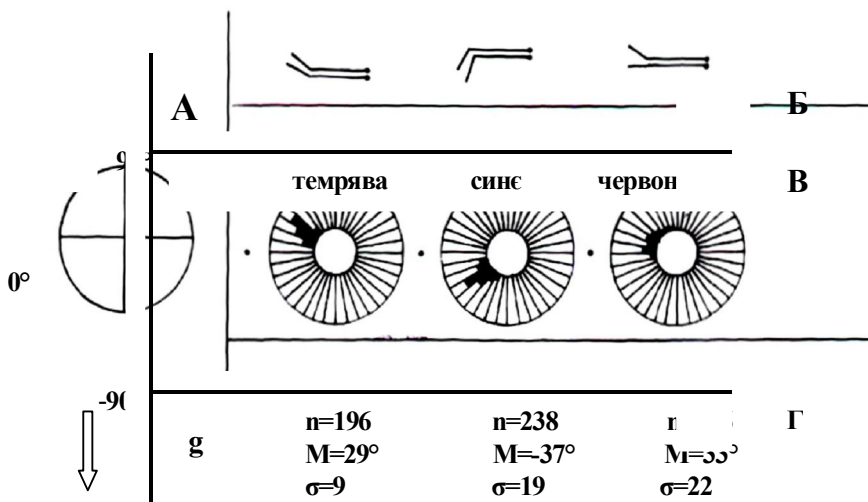


Рис. 4. Вплив синього і червоного світла на гравітропізм протонеми *Funaria hygrometrica*. Умови дослідів і всі позначення аналогічні, як на рис. 2 і 3.

Ми провели часову оцінку позитивного гравізму за 24 год для *Pohlia* і *Ceratodon* (Рис. 5). Протонема утворювала кут $10-20^{\circ}$ за 5 год. після реорієнтації її з вертикального в горизонтальне положення, а через 16-24 год. росла під кутом $70-80^{\circ}$. Кінетика згину клітин протонеми *Funaria* була подібною (дані не наведені). Загалом динаміка розвитку позитивного гравітропізму була дещо повільнішою, ніж негативного, але хід росту був однаковий: ініціація згину розпочиналася через 1-2 год. і поступово лінійно наростала.

Протонема, що росла під освітленням на кліноостаті, не утворювала згинів, і апікальні клітини росли в різні боки.

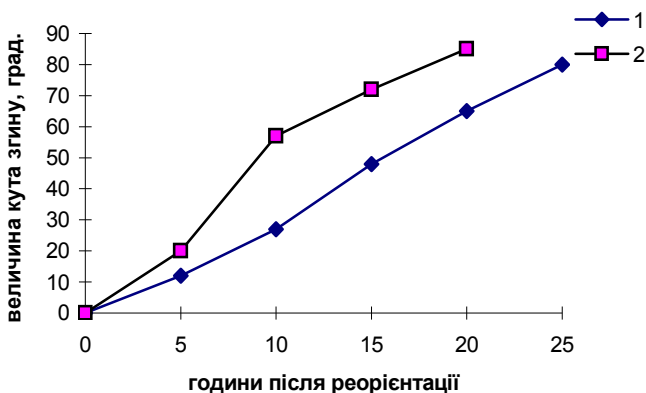


Рис. 5. Динаміка позитивного гравітропного згину протонеми після реорієнтації чашок з вертикального у горизонтальне положення і освітлення синім світлом: 1 – *Pohlia nutans*; 2 – *Ceratodon purpureus*.

Реакція протонеми мохів на синє й червоне світло є різною. Червоне світло, діючи через фітохромну систему зумовлює різкий фототропний згин, а реакція на синє світло є значно повільнішою [2]. Фототропна реакція мохів є цілком відмінною від квіткових рослин, які чутливіші до синього світла, і не виявляють фототропізму на червоному світлі. Синє світло домінує в поляротропній реакції протонеми печіночника *Sphaerocarpus* [9], тоді як для багатьох інших криптогамних видів і червоне, і синє світло ефективне рівнозначно [7]. Слаба фототропна реакція на синє світло як протонеми *Pohlia*, так і *Ceratodon* супроводжується значною рендомізацією напрямку росту, що стало

підставою для аналізу впливу світла на гравітропізм. Однак, слід пам'ятати, що однонаправлене світло зумовлює фототропну реакцію, яка маскує ефект гравітації. Тому дослід був поставлений так, що целофанова плівка, на якій росла протонема, перешкоджала столонам рости до світла. Саме освітлення чашок з протонемою через кришку дозволило роз'єднати граві- і фототропізм. Під впливом синього світла ми одержали чіткий позитивний гравітропізм. Позитивний гравітропний ріст був дещо повільніший і мінливіший, ніж негативний гравітропізм протонеми в темряві, на що вказує менша величина кута згину й вище значення сигми. Результати, отримані після освітлення у двох інших напрямках (Рис. 2), можна вважати наслідком взаємодії стимулів світла й гравітації. Кожен стимул індукує слабкий ростовий вектор: якщо вектори направлені протилежно (синє світло подавали зверху), то столони утворили незначний згин — 5^0 , а якщо були скеровані під прямим кутом (світили в апекси столонів), утворювався слабкий позитивний гравізгин — 19^0 . Ці дані свідчать про реверсію й послаблення гравітропної реакції під впливом синього світла. Фототропна реакція на синьому чи червоному світлі означає, що опір на дію гравітації послаблений і, звичайно, реверсії гравітропізму одержати не можна, хіба якщо застосувати тривале освітлення або високу інтенсивність. Порівнюючи реакцію протонеми на синє й червоне світло, можна вважати, що модуляція гравітропізму здійснюється, принаймні, через дві фоторецепторні системи, які діють різними шляхами. Червоне світло через фітохромну систему активує виключення гравітропізму, а синє, діючи через криптохром, або інший рецептор синього світла, не тільки послаблює гравітропізм, але й змінює його напрям.

Оскільки світло опосередковано впливає на нагромадження хлорофілу й модулює структуру пластид, а пластиди є статолітами гравіперцепції, то зміна гравітропізму може бути зумовлена модуляцією пластидної структури [7]. Світлова експозиція, послаблюючи гравітропізм, підвищує вміст хлорофілу, зменшує (на червоному світлі), або збільшує (на синьому світлі) розміри пластид [2; 4]. Тобто, зміна фізичних властивостей або розмірів пластид робить їх, як статоліти, неефективними. Проте, гравітропна позитивна реакція після дії синього світла подібна за своєю динамікою й ходом розвитку до негативного гравітропного росту в темряві. Тому не ясно, чи пов'язана реверсія гравітропізму з седиментацією амілопластів і зміною структури пластид. Тим більше, що малочутлива хлоронема

Funaria hygrometrica прореагувала позитивно гравітропно на дію синього світла, аналогічно, як високо гравічутливі *Pohlia nutans* і *Ceratodon purpureus*. Тому, імовірно, що регуляторні процеси, які індукувало синє світло в різних видах мохів, однакові, але шляхи реалізації гравітропізму можуть бути фундаментально відмінними.

Висновки

1. Встановлено вплив світла на просторову орієнтацію гравітропної реакції апікальних клітин протонеми мохів.
2. Синє світло індукує зміну негативного гравітропізму протонеми різних видів мохів на позитивний.
3. Реверсія гравітропізму може свідчити про співучасть різних механізмів у його реалізації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Демків О.Т., Сытник К.М. Морфогенез архегоніат. – К.: Наук. думка, 1985. – 203 с.
2. Демків О.Т., Хоркавців Я.Д., Кардаш А.Р., Чабан Х.И. Взаимодействие света и гравитации в ростовых движениях протонемы мхов // Физиология растений. – 1997. – 44, 2. – С. 205-211.
3. Хоркавців О.Я., Демків О.Т. Гравітропна реакція протонеми моху *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. // Космічна наука і технологія. – 1999. – 5, 5/6. – С.110-117.
4. Хоркавців О.Я., Пундяк О.І. Вплив світла та тривалої темряви на стан пластид гравітропної протонеми *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. // Укр. Ботан. Журн. – 2000. – 59, 6. – С. 32-36.
5. Demkiv O.T., Kordyum E.L., Kardash O.R., Khorkavtsiv O.Ya. Gravitropism and phototropism in protonemata of the moss *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. // Adv. Space Res. – 1999. – 23, 12. – P. 1999-2004.
6. Hangarter R.P. Gravity, light and plant form // Plant, Cell and Environment. – 1997. – 20. – P. 796-800.
7. Lamparter T., Hughes J., Hartmann E. Blue light and genetically-reversed gravitropic response in protonemata of the moss *Ceratodon purpureus* // Planta. – 1998. – 206. – P. 95-102.
8. Lu Y.T., Hidaka H. & Feldman L.J Characterization of a calcium/calmodulin-dependent protein kinase homolog from maize roots showing light-regulated gravitropism // Planta. – 1996. – 199. – P. 18-24.
9. Steiner A.M. Action spectrum for polarotropism of the germ tube of the liverwort *Sphaerocarpos donnellii* Aust. // Planta. – 1969. – 86. – P. 343-352.