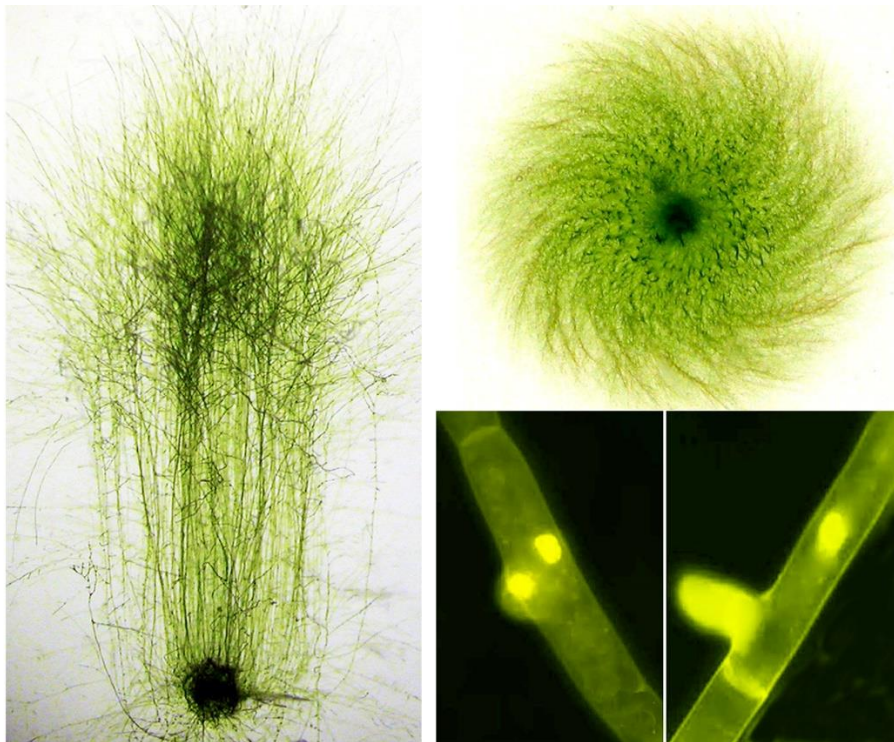


Національна академія наук України

Інститут екології Карпат

**Гравічутливість
і гравітропні реакції мохів
в онтогенезі**



Львів – 2024

УДК [58.031.582.32: 581.1:581.4: 581.5]

Лобачевська О.В., Кияк Н.Я., Хоркавців Я.Д., Кіт Н.А. Гравічутливість мохів: значення гравітаційної сили в онтогенезі / За ред. к.б.н. Я.Д. Хоркавців. – Львів, 2024. – 235 с.

Сила тяжіння є стабільним еволюційним фактором, що контролює життя на Землі протягом останніх 3,5 мільярда років, тоді як залежно від сезонних і добових циклів постійно змінюється індукція магнітного поля, температура середовища та інтенсивність світла. Усі форми життя завжди зазнають дії геофізичного фактора, тому майже всі організми розвинули сенсори і реагують на дію односпрямованої сили гравітаційного пришвидшення 1g. У монографії підсумовуємо відомі результати досліджень гравіперцепції і механізми відповідей рослин, узагальнюємо нові експериментальні дані про роль гравітації в житті мохів, взаємодію світла і гравітації та модуляцію граві- / фототропізму, спірального росту, гравізалежної компетенції апікальних клітин протонеми до закладання бруньок. Обговорюємо результати космічних і модельних експериментів, розглядаємо формування гравіморфозів як адаптивну ознаку мохів у природних умовах, концентруємо увагу на захисних антиоксидантних реакціях за умови гравітаційного стресу і УФ опромінення. Наголошуємо, що індуковані унаслідок епігенетичної експресії генів біохімічні та морфологічні фенотипні зміни мохів можуть успадковуватися, впливати на стійкість і пристосування до екстремальних факторів та забезпечити надійність їх виживання. Експериментальні дослідження виконані при сталій величині 1 g на Землі і в умовах мікрогравітації на космічному кораблі "Columbia" відображають основні напрямки космічної біології і значення гравічутливості для адаптації мохів у мінливому середовищі Землі, їх пластичності і життєвої стратегії.

Для спеціалістів бріологів, ботаніків і фізіологів, дослідників у галузі клітинної біології і екології, аспірантів та студентів природничих спеціальностей.

Lobachevska O., Kyiak N., Khorkavtsiv Ya., Kit N. Gravisensitivity of mosses: the importance of gravitational force in ontogenesis. Ed. PhD. Ya.D. Khorkavtsiv – Lviv, 2024. – 235 pp.

Gravity is a stable evolutionary factor that has controlled life on Earth for the past 3.5 billion years, while the magnetic field induction, ambient temperature, and light intensity are constantly changing depending on seasonal and daily cycles. All life forms are always exposed to the geophysical factor, so almost all organisms have developed sensors and respond in some way to the unidirectional gravitational force 1g. In the monograph, we summarize the known results of graviperception studies and mechanisms of plant responses and generalize new experimental data on the role of gravity in the life of mosses, the interaction of light and gravity and the modulation of gravi- / phototropism, spiral growth, gravity-dependent competence of apical protonema cells to buds formation. We also discuss the results of space and model experiments, consider the formation of gravimorphoses as an adaptive feature of mosses in natural conditions, focus on protective antioxidant reactions under gravitational stress and UV irradiation, and emphasize that biochemical and morphological phenotypic changes, induced as a result of epigenetic gene expression, have influence on the resistance, adaptation to extreme factors as well as adaptive capacity of plants, ensuring the reliability of their survival. The presented results reflect the main directions of research in space biology and the ability of plants to adapt to the changing environment of the Earth, as the basis of their evolution, plasticity and life strategy.

For specialists in bryology, botanists and physiologists, researchers in the field of cell biology and ecology, graduate students and students of natural sciences.

Рецензенти: **Мищенко Л.Т.**, доктор біологічних наук, професор, провідний науковий співробітник кафедри вірусології ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Тараса Шевченка, науковий керівник проекту НФДУ № 2023.03/0244 за конкурсом «Передова наука в Україні»

Шевченко Г.В., в.о.завідувача відділу клітинної біології та анатомії Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник

Рекомендовано до друку вченою радою Інституту екології Карпат НАН України.

Монографія містить результати досліджень з Цільової комплексної програми Національної академії наук України з наукових космічних досліджень на 2018-2022рр. № держреєстрації 0120U101575; 0121U109629; 0122U002190; 0119U101200; 0118U000663

© Лобачевська О.В., Кияк Н.Я., Хоркавців Я.Д., Кіт Н.А. 2024

© Інститут екології Карпат НАН України, 2024

ISBN 978-617-14-0343-7

ЗМІСТ

ВСТУП	5
1.1. Сучасні тенденції космічної біології в Україні	6
1.2. Роль гравічутливості та гравіморфозів в онтогенезі бріофітів	7
2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	19
3. ПРОТОНЕМА ЯК МОДЕЛЬНИЙ ОБ'ЄКТ ДОСЛІДЖЕННЯ ГРАВІТРОПІЗМУ	19
3.1. Аналіз гравічутливості та відбір нових видів мохів для експериментальних досліджень гравітаційної біології	19
3.2. Реакція клітин протонеми на гравітацію	24
3.2.1. Ефект гравітаційного поля на орієнтацію проростків спор мохів	25
3.2.2. Гравітропізм проростків <i>Funaria hygrometrica</i> залежно від кута вектора гравітації	25
3.2.3. Розвиток і гравічутливість протонеми <i>Tortula caucasica</i> , порівняльний аналіз зонального розподілу амілопластів в апікальних клітинах мохів	31
4. ВПЛИВ ГРАВІТАЦІЙНОЇ СИЛИ НА ДИФЕРЕНЦІАЦІЮ Й ПРОСТОРОВУ ОРІЄНТАЦІЮ СПОРОФІТУ	39
5. ПРОГРАМА ДОСЛІДЖЕНЬ МОХІВ У КОСМОСІ, РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТІВ	42
6. ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОДІЇ ФОТО- / ГРАВІТРОПІЗМУ РОСЛИН	44
6.1. Аналіз впливу червоного і синього світла на гравітропізм проростків спор <i>Ceratodon purpureus</i> і <i>Funaria hygrometrica</i>	45

	Дія червоного світла різної інтенсивності та спрямованості на галуження протонеми <i>Ceratodon purpureus</i> і <i>Tortula caucasica</i>	46
6.2.		
6.3.	Вплив світла на гравітропізм протонеми <i>Pohlia nutans</i> і <i>Ceratodon purpureus</i>	48
6.4.	Реверсія гравітропізму під впливом світла	55
7.	ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ГРАВІЗАЛЕЖНОГО РОСТУ ПРОТОНЕМИ	57
7.1.	Участь Ca^{2+} у гравітропізмі протонеми; активність, динаміка та розподіл іонів	57
7.2.	Активність Ca^{2+} -АТФази у клітинах протонеми мохів <i>Pohlia nutans</i> , <i>Ceratodon purpureus</i> , <i>Ptychostomum imbricatum</i>	60
7.2.1.	Вплив блокаторів мембранного транспорту, потенціал-залежних Ca^{2+} -каналів і Ca^{2+} -АТФази на гравітропізм протонеми	63
7.3.	Гормональна регуляція гравітропізму протонеми мохів	68
8.	ГРАВІМОРФОГЕНЕЗ ГАМЕТОФІТУ МОХІВ	75
8.1.	Галуження клітин протонеми <i>Ceratodon purpureus</i> в умовах зміненої гравітації	75
8.2.	Гравізалежний ріст, диференціація клітин протонеми і морфологічна форма дернин різних видів мохів	85
8.3.	Морфогенетичний ефект гравітації та формування бруньок гаметофорів з апікальних клітин протонеми	93
8.3.1.	Аналіз гравізалежного морфогенезу цитотипів <i>Tortula caucasica</i> . Вплив фітогормонів і світла на формування бруньок	95
8.3.2.	Модифікація репродуктивного розвитку мохів залежно від мікрокліматичних умов	98

	і гравітації	
	Гравічутливість різно диференційованих	
8.3.3.	клітин протонеми <i>Weissia controversa</i> Hedw. та її значення в онтогенезі	104
	Морфофункціональні стрес–реакції	
8.3.4.	гаметофіту <i>Weissia controversa</i> і <i>Ceratodon purpureus</i>	106
9.	АКТИВНІСТЬ ПРО-/ АНТИОКСИДАНТНИХ РЕАКЦІЙ МОХІВ В УМОВАХ ЗМІНЕНОЇ ГРАВІТАЦІЇ	111
9.1.	Порівняльний аналіз морфо–фізіологічних реакцій і пероксидного окиснення ліпідів гаметофіту <i>Pohlia nutans</i>	111
9.2.	Захисні реакції-відповіді <i>Bryum argenteum</i> на стадії протонеми й формування гаметангіїв	116
9.3.	Особливості пігментної системи та інтенсивність фотосинтезу фертильних рослин гаметофіту <i>Bryum argenteum</i>	119
9.4.	Адаптивні властивості мохів, зумовлені УФ опроміненням і гравітацією	123
9.4.1.	Аналіз стійкості мохів до дії УФ променів	123
9.4.2.	Ефект УФ освітлення на гравічутливість і морфологічну мінливість <i>Ptychostomum imbricatum</i>	127
9.4.3.	Антиоксидантна активність і аналіз фотопротекторних властивостей фенольних сполук <i>Ptychostomum imbricatum</i> з Антарктики і Львівської області	131
9.4.4.	Порівняльні дослідження активності пероксидази і вмісту компонентів клітинної стінки <i>Ptychostomum imbricatum</i> залежно від зміненої сили тяжіння і місцевиростань	137
10.	МІНЛИВІСТЬ ГРАВІРЕАКЦІЙ МОХІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ВМІСТУ ОРТОФОСФАТІВ	141

	Розвиток протонеми мохів <i>Ceratodon purpureus</i> і	
10.1.	<i>Physcomitrium patens</i> залежно від вмісту фосфору. Локалізація фосфору в клітинах протонеми	141
	Аналіз галуження протонемної дернинки;	
10.2.	величина і мінливість гравізалежних кутів латеральних галузок	144
	Активність фосфатази в клітинах протонеми	
10.3.	<i>Ceratodon purpureus</i> і <i>Physcomitrium patens</i> залежно від вмісту ортофосфатів (Pi), впливу фітогормонів гравітації	146
11.	ВПЛИВ МЕТИЛЮВАННЯ ДНК НА ГРАВІЧУТЛИВІСТЬ МОХІВ	150
11.1.	Ростова реакція <i>Physcomitrium patens</i> залежно від впливу 5-азацитидину на стадії гравіперцепції	150
11.2.	Активність пероксидази клітинної стінки за умови деметилюванням ДНК 5-азацитидином	154
11.3.	Вплив 5-азацитидину на ініціацію галуження і величину гравітропного кута галузок	157
	ПІДСУМКИ	161
	ЗАКЛЮЧЕННЯ	182
	SUMMARY	185
	ЛІТЕРАТУРА	190

ВСТУП

Наземні організми, гриби, мохи, папороті та квіткові рослини, використовують векторну силу тяжіння Землі для оптимізації свого положення в навколишньому середовищі (Blancaflor, Masson, 2003). Пагони фотосинтезуючих організмів направлені вгору, що сприяє фотосинтезу (негативний гравітропізм), листки і листкові пластинки орієнтуються під косим кутом, захищаючи листкові пластинки від прямих перпендикулярних сонячних променів (Franklin, Whitlam, 2005; Mano et al., 2006). Коріння або ризоїди зазвичай спрямовані вниз (позитивний гравітропізм) або під кутом до вектора сили тяжіння, що допомагає рослинам закріпитися у субстраті (Knight, Cove, 1991; Aloni et al., 2006). Незважаючи на те, що гриби не є фотосинтезуючими організмами, гравітропна орієнтація сприяє їх росту над поверхнею ґрунту і поширенню спор. Ростові рухи рослин є результатом взаємодії світла і гравітації. Гравітропізм вищих рослин зумовлений відчуттям тиску статоліту у клітинах колумели кореневого чохла під дією сили тяжіння. Статолітами можуть бути важкі органічні або неорганічні частинки, такі як амілопласт або органели, що містять кристали барію (Sack, 1991, 1997; Braun, 2002). Структура і функції статолітів, що сприймають гравітацію, генетично детерміновані. При відсутності гравітації на борту Space Shuttle Challenger корінці *Arabidopsis thaliana* росли у напрямі, заданому під час розвитку насінини. Це підтверджує явище «автоморфозу», передбаченого ще В. Пфєффером (Pfeffer, 1897), і властивого клітинам і органам (Volkman et al., 1986). Крім того, вся цитоплазма клітини може чинити тиск на дистальну цитоплазматичну мембранну систему. В окремих випадках механочутливі іонні канали ідентифікують як гравісенсори (Braun et al., 2018). Ймовірно, всі організми розвинули здатність відчувати напрямок вектора сили тяжіння Землі і реагувати на нього, очевидно, за винятком дуже малих бактерій і вірусів, які зазнають броунівського руху. Можливо, що молекулярні механізми гравіперцепції розвивалися повторно й у кілька етапів (Häder, 2018). Вплив гравітації для росту і орієнтації рослин як над, так і під землею, ускладнює виявлення механізмів сигналіngu, які еволюціонували у гравітаційному полі. Регуляція сигнальної системи недостатньо вивчена, але передбачає контроль полярно локалізованих ауксинів, білків транспортерів, білків PIN, процесів фосфорилування (Bengtsson-Palme et al., 2018; Gadala et al., 2018). Нові перспективи і надію на ґрунтовні дослідження молекулярних, клітинних та фізіологічних механізмів гравівідчуття й орієнтації рослин надають експерименти в умовах мікрогравітації, на космічних шаттлах («човнах»), супутниках і космічних станціях та завдяки технічним пристроям на Землі.

1.1. СУЧАСНІ ТЕНДЕНЦІЇ КОСМІЧНОЇ БІОЛОГІЇ В УКРАЇНІ

У різні роки пріоритетним напрямом досліджень космічної біології була біологія розвитку та ріст рослин в умовах мікро- та зміненої гравітації. Від 1988 р. розпочалася робота з підготовки біологічних експериментів на борту українського орбітального модуля, розробленого НАНУ, і Україна стала одним з центрів проведення комплексних досліджень біології клітини в умовах мікрогравітації, ініціатором вивчення гравічутливості, метаболічної активності, фізіології, біохімії і морфології індивідуального розвитку на організмовому, клітинному і молекулярному рівнях. Тоді вперше керівник української програми розвитку космічної біології Державного космічного агентства України член-кореспондент НАНУ, професор, Є.Л. Кордюм, видатна вчена і надзвичайно багатогранна науковиця, запропонувала долучити мохоподібні в комплексну систему експериментальних досліджень впливу гравітації. Відтоді, в експерименті «Протонема», згодом у спільному українсько-американському експерименті на борту шаттла «Колумбія» і донедавна у Цільовій комплексній програмі Національної академії наук України з наукових космічних досліджень мохи були зручним модельним об'єктом космічних і наземних досліджень ролі гравітаційної сили на різних стадіях онтогенезу і формування гравізалежних адаптивних властивостей рослин у стресових екологічних умовах.

У зв'язку з завершенням експериментальних робіт у Цільовій комплексній програмі доцільно зробити огляд результатів та оцінити їх внесок у розвиток сучасних напрямів космічної біології: гравітаційної біології і біології рослин. Наука про життя в космосі набула нового значення у зв'язку з планами світової спільноти щодо колонізації Місяця та Марса, вони є пріоритетними в космічних програмах НАСА (NASA) США, Національних космічних агентств Німеччини (DLR), Італії (ASI), Японії (JAXA), космічних агентств Канади (CSA) і Франції (CNES). Успішний розвиток космічної біології в Україні завжди був і, сподіваємося, буде посильною лептою для підтримки іміджу України як космічної держави (Kordyum, Hasenstein, 2021; Кордюм, 2023).

В силу об'єктивних причин активність досліджень в галузі космічної біології в Україні сповільнилася, проте дослідження, які проводяться сьогодні, враховують світові пріоритети та досягнення українських науковців, визнані науковою громадськістю та достатньо забезпечені науково-технічним потенціалом. Бріофіти залишаються об'єктом вивчення ролі гравітації у житті рослин (на прикладі тропізмів), у клітинній біології, дослідженнях росту та розвитку рослин в умовах мікрогравітації. Певний внесок у напрям «Репродуктивна та еволюційна біологія» зроблено дослідженнями ролі гравітації у вегетативному розмноженні мохів та формуванні спор – органів безстатевого розмноження, залежно від стресових кліматичних умов (Lobachevska et. al., 2018). Це має значення для досліджень розвитку генеративних

органів рослин у космічних умовах. Визначення механізмів впливу зміненої гравітації, УФ випромінювання та факторів космічного простору на репродуктивні функції, важливі для забезпечення існування життя, завдяки збереженню генетичного різноманіття та надійного насінневого фонду, в цілому як на планеті Земля, так і для планування тривалих експериментів у космосі (Кордюм, 2016).

1.2. РОЛЬ ГРАВІЧУТЛИВОСТІ І ГРАВИМОРФОЗІВ В ОНТОГЕНЕЗІ БРІОФІТІВ

Сила тяжіння є постійним фактором природного середовища, поляризаційну дію якого рослини використовують для корекції свого положення і формування габітусу. В еволюційній системі зародження життя на Землі мохоподібні є однією з найдавніших груп наземних рослин, а сила тяжіння ключовий екологічний фактор їх розвитку – від проростання спор і гравітропізму проростків, до розвитку гаметофітної дернини і орієнтації спорофіту (рис. 1). Система галуження гаметофітної дернини мохів, формування спорофіту та форма ніжки коробочки спорогонів перебувають під комплексним контролем світла і гравітації та взаємодії фото- і гравітропізму (Лобачевська та ін., 2015; Хоркавців та ін., 2015).

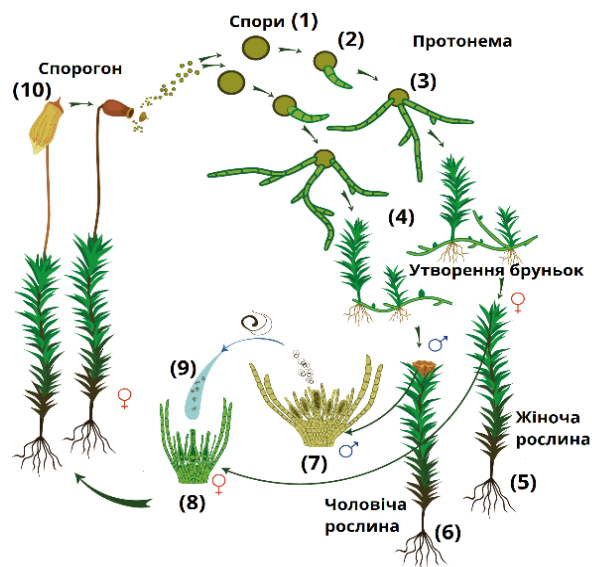


Рис. 1. Життєвий цикл мохів з чергуванням нестатевого і статевого поколінь: 1-2 спори; 3 – нитчаста протонема; 4 – бруньки гаметофорів; 5-6 – фертильні рослини: жіноча (5) і чоловіча (6); 7-8 – гаметангії: чоловічі (7) і жіночі (8); 9 – злиття гамет; 10 – гаметофори із спорогонами.

Нестатеве розмноження відбувається за допомогою спор (1). Із пророслої спори утворюється одностатевий розгалужений протонема (2, 3). На ній утворюються бруньки (4), з яких виростають фертильні і стерильні рослини моху.

Статеве розмноження мохів відбувається внаслідок злиття гамет. На жіночих пагонах (5) утворюються гаметангії (перихетії) з архегоніями (8), на чоловічих (6) – розвиваються гаметангії (перигонії) з антеридіями (7). Після запліднення яйцеклітини архегонія (8) сперматозоїдом з антеридія (9) утворюється зигота, з якої розвивається спорофіт – спорогон з коробочкою, покритою ковпачком (10). У коробочці внаслідок мейозу спорогенної тканини утворюються **безстатеві спори (1)**.

Унікальна властивість мохів у тому, що вони сприймають і реагують на стимул гравітації однією апікальною клітиною. Локальне обмеження сигнального шляху від подразнення до ростової реакції в єдиній клітині, що ділиться, є перевагою, порівняно з *Arabidopsis thaliana*, що здавна є модельним об'єктом досліджень гравічутливості. Мохи є одними з найперших організмів у дослідженнях гравічутливості (Kordyum et al., 1983; 1984; Sack, Leopold, 1985; Недуха, 1986; Jenkins et al., 1986; Sytnik et al., 1989; Sack, 1991; Walker, Sack, 1991; Knight, Cove, 1991; Демків и др., 1997; Chaban et al., 1998; Demkiv et al., 1998; 1999; Ripetskyj et al., 1999; Sytnik et al., 1999). Гаплоїдний гаметофіт мохів і одноклітинна ювенільна протонемна стадія розвитку надалі залишаються адекватною моделлю для вивчення гравімофозів, їх адаптивного значення і молекулярних механізмів гравіреакцій, експериментів на Землі і в умовах космічного польоту. На сьогодні розширилися межі наукового співтовариства, що вибирають мохи для досліджень молекулярної і клітинної біології розвитку (Goffinet, Buck, Shaw, 2009), ростових реакцій на дію гравітації, полярності клітин (Demkiv et al., 2003; Kern et al., 2005; Cove, Quatrano, 2006; Kordyum, 2014; Lobachevska et al., 2022; Демків та ін., 2009; Хоркавців та ін., 2015; Кияк та ін., 2016; Хоркавців та ін., 2023; Кордюм, 2023). В експериментах використовують розповсюджені і добре вивчені види мохів: спочатку *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. і *Funaria hygrometrica* Hedw., а згодом *Physcomitrium patens* (Hedw.) Mitt., *Tortula caucasica* Lindb., *Barbula unguiculata* Hedw., *Bryum argenteum* Hedw., *Ptychostomum imbricatum* (Müll. Hal.) Holyoak & N. Pedersen, *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb., *Polytrichastrum alpinum* (Hedw.) G.L. Sm., *Weissia controversa* Hedw. Тривають поглиблені дослідження гравічутливості та гравітропізмів на різних стадіях онтогенезу мохів, різноманітні прояви гравіморфозів залежно від їх життєвої стратегії та екологічних умов, особливості гравізалежного репродуктивного розвитку та природи фізіологічних адаптивних реакцій захисту від УФ опромінення і гравітаційного стресу.

2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктами досліджень були брієві мохи (Bryophyta). В експериментах використовували види: *Barbula unguiculata* Hedw., *Brachythecium salebrosum* (Hoffm. ex, F. Weber & D. Mohr) Schimp., *Bryum argenteum* Hedw., *Calcidicranella varia* (Hedw.) Bonfim Santos, Fedorov & Jan Kučera, *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., *Dicranella cerviculata* (Hedw.) Schimp., *D. heteromalla* (Hedw.) Schimp., *Didymodon rigidulus* Hedw., *Fissidens bryoides* (Hedw.), *Funaria hygrometrica* Hedw., *Grimmia anomala* Hampe ex Schimp., *Leptobryum pyriforme* (Hedw.) Wilson, *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb., *Physcomitrium patens* (Hedw.) Mitt., *Pohlia elongata* (Hedw.), *Polytrichastrum alpinum* (Hedw.) G.L.Sm., *Ptychostomum imbricatulum* (Müll. Hal.) Holyoak & N. Pedersen, *P. pseudotriquetrum* (Hedw.) R. Spence & H.R. Ramsay ex & N. Pedersen., *Tortula caucasica* Broth., *T. truncata* (Hedw.) Mitt., *Weissia controversa* Hedw.

Методи досліджень гравітаційної біології. Експериментальні можливості гравітаційної біології обмежені допуском до високовартісних космічних польотів і орбітальних платформ, що спонукало до удосконалення технічних засобів, які дають можливість досягти умов мікрогравітації. Для вивчення впливу гравітації на живі системи на землі використовують пристрої, так звані мікрогравітаційні симулятори – центрифуги для підвищення рівня гравітації та кліностати для модифікації впливу сили тяжіння на біологічні об'єкти. Обертання біологічних зразків по горизонталі або в дво- чи тривимірному режимі використовується для рандомізації ефекту гравітації з метою уникнути її впливу на сенсорні механізми та ростові реакції. На Землі застосовують складні центрифуги для визначення порогових значень гравічутливості живих систем – від клітин до цілісного організму, для досліджень молекулярних та клітинних механізмів відчуття і відповіді в умовах гіпергравітації ($> 1 g$), або в Космосі, де можна збільшувати рівні гравітаційної сили від $0 g$ до $1 g$ і вище, та навпаки.

Для відтворення умов мікрогравітації ми використовували кліностатування (рис. 1, А). Вісь обертання горизонтального кліностату встановлюється під кутом 90^0 до вертикалі, у зв'язку з чим вектор сили тяжіння під час обертання діє поперечно до головної осі рослини паралельно до землі. Пристрій обертається за допомогою синхронного електродвигуна з частотою 2 об/хв, а відцентрова сила не перевищує $10^{-5}g$ і є нижчою від порога чутливості. Така ж величина сили мікрогравітації у космічному польоті на навколосемній орбіті (Demkiv et al., 1999). Залежно від мети дослідження культури рослини на кліностаті від 1 до 20 діб.

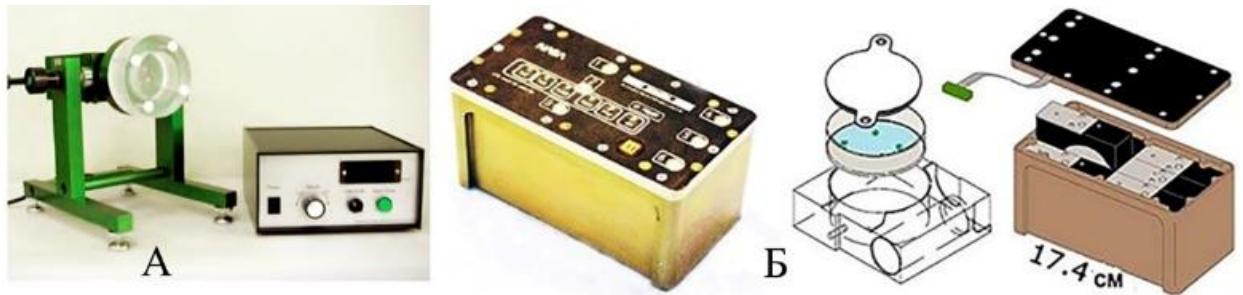


Рис. 2. А – осьовий 2D кліностат з блоком керування для горизонтального обертання рослинних об'єктів на твердому середовищі у чашках Петрі. Технічні характеристики: швидкість обертання 0-20 об/хв: крок 0,5 об/хв. Кут осі обертання: від 0° (паралельно до Землі) і до 90° (перпендикулярно до Землі). Напрямок обертання за або проти годинникової стрілки. Максимальний діаметр контейнера для зразків: 10 см. Максимальна вага зразків: 500 г. Безперервне обертання запобігає осіданню клітинних органел, що відтворює функціональну симуляцію середовища мікрогравітації.

Б – непрозорі контейнери BRIC для вирощування рослин у темряві з унікальною системою освітлення кожної окремої чашки Петрі. У бічну стінку BRIC вмонтовані світлові діоди (LEDs), які випромінюють червоне світло (660 нм, $1 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^2 \cdot \text{сек}^{-1}$). Таке джерело бічного світла створює різкий градієнт освітленості з віддаленням від нього. У контейнері поміщається 6 чашок Петрі діаметром 60 мм.

В експериментальних дослідженнях використовували стерильно чисту лабораторну культуру, яку отримували із спор або регенерацією листків і гаметофорів мохів. Коробочки стерилізували 0,1% розчином сулеми 1 хв., промивали декілька разів стерильною водою і висипали спори у бюксик з 1-2 мл дистильованої води. Суспензію спор струшували, щоби отримати рівномірну масу спор, і висівали у чашки Петрі на поживне середовище, краї чашок обгортали парафільмом.

Рослини вирощували у горизонтально розміщених чашках Петрі на 0,75 % агаризованому середовищі Кнопа II з мікроелементами (Демків, Сьтнік, 1985; Ворр, 1983) у фітотроні: фотоперіод – 16 год, освітлення – $40 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^2 \cdot \text{сек}^{-1}$, температура – 20–22° С, вологість 85–90 %. Семиденну протонему знімали препарувальною голкою з агару і у вигляді клубка переносили у нові чашки на свіже середовище, в яке додавали 0,2% глюкозу. Інколи клубки протонемі клали на целофанову плівку, покриту зверху тонким шаром 0,75% агарози. Це зручно, коли треба перенести протонему з одного середовища на інше, не порушуючи її нативної просторової структури.

Чашки поміщали у темряву або чорні пакети і ставили вертикально. Через 5–7 днів утворювався пучок негативно гравітропних паралельних столонів, що росли вгору. Для гравістимуляції вертикально орієнтовані чашки повертали в тангентальному напрямку по колу на 90° (рис.3). Гравітропна протонема була дослідним матеріалом для експериментів.

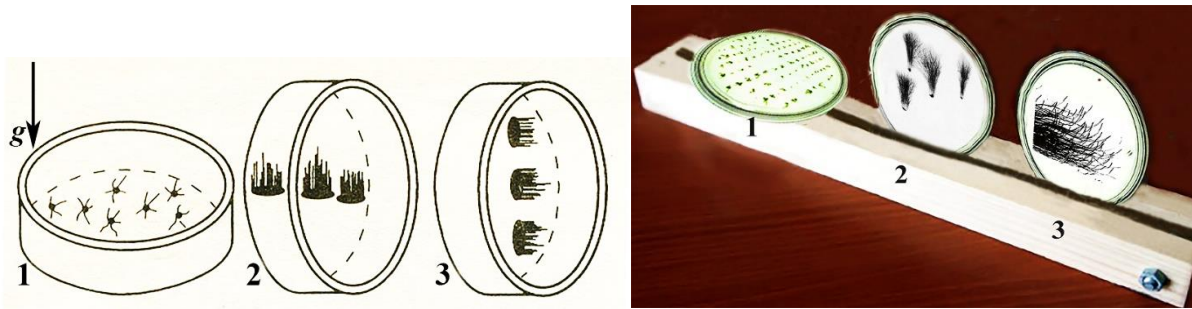


Рис. 3. Схема (засіб) зміни положення чашок Петрі з культурами відносно горизонтальної поверхні і вектора гравітації: 1 – протонему вирощували у горизонтально розміщених чашках; 2 – чашки ставили у вертикальне положення для отримання гравітропної протонемі; 3 – для гравістимуляції чашки з гравітропною протонемою повертали на 90° по колу.

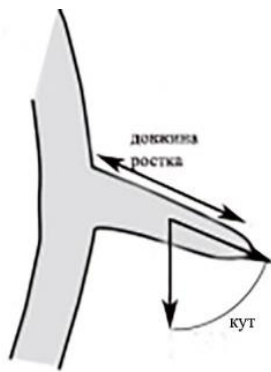


Рис. 4. Схема вимірювання кутів проростків спор

Для аналізу полярності проростків, спори висівали стерильно у чашки Петрі на бакто-агар, приготовлений на поживному середовищі Кнопа II з 0,2 % глюкозою. Чашки встановлювали під різними кутами до горизонталі – від 90° до 0° , вирощували протонему у темряві при температурі $20\text{--}22^\circ\text{C}$ і відносній вологості 85–90 %. Через добу спори проростали і утворювався перший росток. Ще через добу появлявся другий росток.

Кут між віссю в площині чашки та напрямком росту першого і другого ростків вимірювали транспортом, вмонтованим у мікроскоп „Jeneval”, в зеленому світлі.

Дослідження проводили у кількох варіантах:

1) при постійному положенні чашки під 90° , 45° , 10° та 0° до горизонталі протягом усього експерименту; 2) спори проростали на кліностаці у темряві; 3) спори проростали у чашках Петрі, які стояли вертикально у темряві одну добу, а тоді чашки повернули на 90° .

Для аналізу пластид спори з ростками фарбували безпосередньо у чашках Петрі 0,2% розчином йоду у 2,0% водному розчині йодистого калію I_2KI (Jensen, 1962). Розподіл і кількість зафарбованих пластид аналізували на мікроскопі “Jeneval”.

Для аналізу гравізалезного морфогенезу спорофіту, зібрані у природі види з молодими спорогонами без видимих ознак коробочки, у лабораторії розділяли на дві дослідні і контрольну частину. У контролі дернини росли у нормальному положенні, верхівкою вверх. Одну частину дослідних дернин моху перевертали на 180° , верхівкою спорогону донизу, іншу витримували на горизонтальному кліностаці до повного формування коробочок. Спостерігали

за утворенням і гравітропізмом коробочки, вимірювали кути згину ніжки спорогону. Вміст та розподіл амілопластів визначали у різних зонах спорофіту після фарбування розчином I₂KI (Walker, Sack, 1990). Для аналізу впливу гормонів на гравітропізм спорогонів дослідні зразки оприскували тричі на тиждень 1 мкмоль/л розчином гіберелової кислоти (ГК). Досліди проводили у 5-кратній повторності, аналізуючи не менше 25% спорогонів у кожному з них.

Морфометричне визначення довжини столонів протонеми, латеральних гілок і дернин виконували на моторизованому мікроскопі Axio Imager M1 (Carl Zeiss) з використанням програмного забезпечення Carl Zeiss AxioVision 4.6 та UTHSCSA Image Tool 3.0, стереобінокулярі Stemi 2000-C (Carl Zeiss) з фотонасадкою та цифровою камерою "Nikon" і мікроскопі МБС-1.

У дослідженнях взаємодії світла і гравітації: застосування монохроматичного світла різної інтенсивності. Монохроматичне світло одержували від двох джерел світла: ртутної лампи СВД-120А і 100 Вт лампи розжарення. Зі світлового потоку ртутної лампи за допомогою світлофільтрів - ФС-1, СС-5, СЗС-8 отримували, відповідно, освітлення $\lambda = 405$ нм, 450 нм і 490 нм. Світло $\lambda = 660$ нм виділяли із світлового потоку лампи розжарення за допомогою інтерференційного світлофільтра з відповідною довжиною хвилі у максимумі пропускання. Використовували також червоне освітлення у BRIC-камері, із світловими діодами, що випромінювали червоне світло $\lambda = 660$ нм (рис. 1, Б). Далеко червоне світло $\lambda = 700$ нм отримували через систему світлофільтрів КС-19+СЗС-14. Інтенсивність освітлення регулювали нейтральними світлофільтрами НС та віддаллю між лампами і культурою. Інтенсивність світла вимірювали спектро радіометром Li-Cor Li-1800 (USA).

Джерелом УФ освітлення була ртутно-кварцева лампа надвисокого тиску СВД-120А, з її світлового потоку вирізали лінії близькі до $\lambda = 360$ нм за допомогою світлофільтру УФС-3. Інтенсивність освітлення вирівнювали до 6 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹, а нейтрального світла – до 15,0 мкмоль·м⁻²·с⁻¹.

Для визначення впливу фітохромної системи на інтенсивність гравітропізму почергово протонему освітлювали 1 год УФ світлом і 5 хв далеко червоним світлом (д.ч.с), $\lambda = 730$ нм: 1 год УФ + 5 хв д.ч.с. + 1 год УФ + 5 хв д.ч.с. + ...; загальна тривалість освітлення УФ 4 год.

В усіх дослідах чашки з культурами знаходилися у чорних пакетах або у твердих чорних коробках, а зверху через отвір протягом 4 год протонему освітлювали червоним або синім світлом інтенсивністю 11 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹. Тоді отвір закривали, повертали коробки на 90° у горизонтальне положення, щоби активувати гравітропізм і ріст столону доверху. Для визначення післядії світла на гравічутливість вимірювали кути і довжину згину та вираховували швидкість росту як частку від ділення довжини протонеми після згину на час, за який він утворився.

Для визначення фототропізму чашки з вертикально орієнтованою (гравітропною) протонею насвічували 6 год боковим червоним або синім світлом різної інтенсивності: від 0,25 до 30 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹. Відразу після освітлення вимірювали кут згину і аналізували особливості фототропної реакції: підраховували кількість стелонів, які росли до світла, від світла, або не виявляли жодної реакції і продовжували рости у тому ж напрямку, що й до освітлення.

Для аналізу взаємодії світла протонею почергово 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 або синім світлом.

Визначали кути латеральних галузок протонею залежно від векторної дії гравітації у двох варіантах досліду. У першому чашки встановлювали відносно горизонтальної поверхні під кутами від 0° до 90° і освітлювали протягом 3 год червоним світлом інтенсивністю 0,2 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹. Низька інтенсивність світла була потрібна для ініціації галузок у темряві. Після цього частину чашок із протонею переносили в темряву на кліностант, а решту клали горизонтальну поверхню, сила тяжіння 1 g. Через 18 год вимірювали величину кута нахилу латеральних галузок відносно головного стелона. В іншому варіанті чашки з протонею виставляли так, щоби вектори світла та гравітації були паралельні або перпендикулярні. Умови досліду й аналіз кутів були ті ж, що у попередньому варіанті. Не використовували лише кліностант.

В експерименті з фітогормонами застосували 1,0 мкМ ауксину і 10 мкМ N-1-нафтилфталомової кислоти (НФК). Гравітропну протонею протягом 7 діб вирощували на середовищі з 1,0 мкМ ІОК, а в чашки з протонею додавали 1 мл 10 мкМ розчину НФК і залишали рослини в темряві на 8 год. Після цього чашки виставляли на біле світло низької інтенсивності (100 лк) і через 24 год аналізували галуження протонею та вимірювали кут нахилу галузок.

Для аналізу впливу інгібіторів ауксинового транспорту використа фітогормони

Скорочена назва реактивів:

ІОК – індолілоцтова кислота

1-НОК – 1-нафтилоцтова кислота

НФК – N-1нафтилфталомова кислота

ПХІМК – ρ-хлорфеноксизомаєляна кислота

2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксидоцтова кислота

ТЙБК – 2,3,5 – трийодбензойна кислота

Розчини фітогормонів готували перед самим експериментом. Усі реактиви – ІОК, 1-НОК, НФК, 2,4-Д, ТІБК і ПХІМК розчиняли у етанолі і робили 1мМ концентрацію на дистильованій воді для усіх фітогормонів. З таких розчинів отримували робочі концентрації реактивів в межах 0,1 – 100 мкМ. В експериментах використовували 6-денну гравітропну протонему. Чашки відкривали у стерильних умовах на зеленому світлі і наносили фітогормони зверху на дернинки. Інкубація з фітогормонами тривала 30 хв. Тоді протонему промивали дистильованою водою, повертали чашки на 90° для ініціації гравітропізму і витримували у такому положенні 6 год. Протонему фіксували 1% розчином формальдегіду, 40 хв при кімнатній температурі; аналізували швидкість росту, галуження і кути згинів апікальних клітин.

Для виявлення мембрано-зв'язаного Ca^{2+} використали флуоресцентний барвник хлоротетрациклін (ХТЦ; Sigma, USA) (Хоркавців та ін., 2002). 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. Інтенсивність флуоресценції вимірювали, використовуючи світлофільтр $\lambda = 541\text{нм}$. Вміст кальцію визначали 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+} -АТФазної активності використали модифікований метод з фосфатами азотолів (Burstone, 1962; Jensen, 1962; Белявская, 2008). Протонему фіксували 4%-ним розчином параформальдегіду у 0,1 М трис-малеатному буфері рН 7,2 протягом 40 хв при кімнатній температурі. Препарати промивали протягом 1,5 год цим же буфером і переносили у профільтровану інкубаційну суміш такого складу: 2 мМ АТФ (Sigma, USA), 2 мМ CaCl_2 , 0,4 мМ AS-TR (Sigma, USA), 0,4 мМ RR (Chemapol, Praha), 10% MnCl_2 , 0,1 М трис-малеатний буфер рН 7,2. Інкубували матеріал 2 год за 37°С. Після інкубації протонему відмивали у буфері протягом 60 хв і фотометрували на спектрофотометрі ($\lambda = 550\text{нм}$). Реакція виявлялася за появою чорного осаду азобарвника. Відносну інтенсивність Ca^{2+} -АТФаз вимірювали в апікальній клітині, аналогічно як мембрано-зв'язаний Ca^{2+} , та в бокових одноклітинних відгалуженнях: в апексі і біля клітинної переділки (місце відділення від материнської клітини). Контролем була інкубаційна суміш без АТФ. Для блокування роботи Ca^{2+} -помп застосовували ортованадат натрію (ванадат).

Ортованадат натрію і верапаміл використовували для дослідження впливу блокаторів кальцієвого транспорту на граві- та фототропний ріст. Готували концентровані вихідні розчини реактивів, які розводили у дистильованій воді до робочих концентрацій 0,01 - 1,0 мМ і по 0,02 мл наносили на одну дернинку протонеми. Через 6 год розчини зливали, а чашки ставили вертикально на 8 год для гравістимуляції. Для фотоактивації чашки насвічували 8 год

боковим червоним світлом інтенсивністю $11 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^2 \cdot \text{сек}^{-1}$. Міряли кути згинів та визначали приріст довжини згину апікальної клітини (від місця згину до апексу). Вимірювання проводили на мікроскопі "Jepaval,, у зеленому світлі.

Для імуофлуоресценції мікротрубочок (МТ) використали методику Д. Швухова, модифіковану для протоеми мохів (Schwuchow et al., 1990; Demkiv et al., 2003). Протонему знімали з агару і фіксували за кімнатної температури на світлі у 3,7% розчині параформальдегіду. Фіксатор готували у стабілізуючому буфері (СБ) такого складу: 50 мМ PIPES (Sigma, USA), 5 мМ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ і 5 мМ EGTA (Sigma, USA); рН буферу = 6,9. Зафіксовану протонему обережно промивали 3 рази по 10 хв у СБ. Після цього обробляли клітинну стінку сумішшю 0,5% целюлази (Sigma, USA) і 0,5% пектинази (Sigma, USA), 0,4 М манітолу (Sigma, USA) і 10% тритону х-100 у СБ. Витримували протонему у розчині 3-5 хв, слідкуючи за початком звільнення із клітин протопластів. Як тільки починала тріскати клітинна стінка і з'являлися протопласти, дію ферментів припиняли. Протонему промивали 3 рази по 10 хв у СБ і залишали у розчині 1% тритону і 5% DMSO (Sigma, USA) у СБ на 6-10 год. Знову промивали протонему 3 рази по 10 хв у СБ і переносили матеріал у перші антитіла, кон'юговані до тубуліну (Sigma, Т-5168, USA). Витримували протонему у розчині антитіл 45 хв - 1 год при кімнатній температурі і відмивали 3 рази по 10 хв у фосфатному буфері. Склад фосфатного буферу (ФБ) був наступний: 0,14 М NaCl, 2,7 мМ KCl, 6,5 мМ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1,5 мМ KH_2PO_4 , 3,0 мМ NaN_3 (рН буферу -7,3). Тоді на 45 хв - 1,5 год переносили протонему у другі антитіла, кон'юговані до FITC (Sigma, F-5262, USA), і промивали у ФБ 30 хв. Препарати заключали у гліцерин, розведений у співвідношенні 1:1 у ФБ рН 8,0. Через 24 год препарати аналізували на мікроскопі „AXIO Image M1” і фотографували з використанням камери AxioCam HRm.

Для візуалізації актинових мікрофіламентів використовували фалотоксин – фалоїдин (високотоксичний алкалоїд гриба *Amanita phalloides*), мічений FITC (флуоресцинізотіоціанатом; Sigma, P-5282; USA), та використали методики А.Адамса, Е. Бленкефла, К. Гесінстіна (Adams, 1991; Blancaflor, Hasenstein, 1997). Всі процедури підготовки матеріалу до фарбування були ті ж, що й для МТ. Протонему впродовж 3 год фарбували розчином FITC-фалоїдину, який розводили фосфатним буфером (1:40), відмивали 3 рази по 15 хв буферним розчином і монтували препарати у фосфат-буфері, рН 8,5. Через 24 год аналізували люмінесценцію актинових філаментів, орієнтацію і впорядкування в клітині аналогічно, як мікротрубочок.

Ядра маркували флуоресцентним барвником 4',6-діамідино-2-феніліндол (DAPI; Chazotte, 2011) і визначали місцезнаходження ядер у клітинах та латеральних гілках

протонемного столону. Препарати переглядали у мікроскопі „AXIO Image M1” і фотографували.

Репродуктивний розвиток проаналізували у двох зразках *Ptychostomum pseudotriquetrum*, які зібрали у Львівській обл. та в Антарктиці, на 20-денній гравітропній лабораторній культурі спостерігали за формуванням ризоїдних бульбочок, їх кількістю і місцем утворення. У *Leptobryum pyriforme* підраховували кількість бульбочок після гравістимуляції і кліностакування.

Вивчали статеву структуру і продуктивність лабораторної культури *Physcomitrium patens* і *Bryum argenteum*: підраховували кількість жіночих і чоловічих рослин, статевих органів (чоловічих і жіночих гаметангіїв) та спорогонів в умовах сталої дії 1g і після кліностакування.

Визначали активність алкогольдегідрогенази (АДГ) у жіночих і чоловічих рослин після гіпоксії і кліностакування, Для стимуляції умов гіпоксії чашки з культурами заливали дистильованою водою, а через добу частину рослин переносили на кліноста на 12 год, іншу частину – залишали у фітотроні. Використали стандартні методики (Porterfield et al., 2003, a), визначення робили на спектрофотометрі Analitic Jena Specord 210 Plus, $\lambda = 510$ нм.

Активність пероксидаз визначали після екстракції матеріалу в 0,1 М ацетатному буфері (рН 5,4). Гомогенат центрифугували протягом 15 хв за 5000 об/хв. Активність ферментів визначали спектрофотометрично з використанням як субстрату бензидину та гваяколу й виражали у відносних одиницях на 1 г маси сирової речовини за хвилину (Ghamsari et al., 2007; Стійкість та ..., 2022).

Активність аскорбатпероксидази оцінювали за зменшенням оптичної густини при 290 нм унаслідок окиснення аскорбату (коефіцієнт екстинції $\epsilon = 2.8 \text{ mM}\cdot\text{cm}^{-1}$) та виражали в мкМ аскорбінової кислоти на мг білка за хв (Nakano, Asada, 1981). Концентрацію білка вимірювали згідно з методикою М. Бредфорда (Bradford 1976).

Гістологічну реакцію з бензидином застосували для аналізу ізоформ пероксидази на поліакриламідному гелі з використанням дискелектрофорезу (Rothe, 1972; Хоркавців та ін., 2009). Молекулярну масу (ММ) пероксидазних форм зіставляли із стандартним маркерним зразком білків.

Для визначення вмісту пероксиду водню рослинний матеріал гомогенізували, екстрагували у 50 мМ калій фосфатному буфері (рН 7,0) та інкубували з 0,1 % $\text{Ti}(\text{SO}_4)_2$. Оптичну густину розчинів визначали на спектрофотометрі Specord 210 Plus ($\lambda = 410$ нм). Контролем був розчин 3 мл буферу і 1 мл дистильованої води. Вміст пероксиду водню перераховували за калібрувальною кривою і виражали у мкмоль/г маси сухої речовини (Gechev, Hille, 2005).

Для визначення вмісту ортофосфатів (Pi) і активності фосфатаз клубки протонеми, або окремі пагони культивували у чашках Петрі на середовищі Кнопа з 0,2 % глюкозою і різним вмістом фосфору – без ортофосфату, і 50 та 500 мкМ Pi. Різний вміст Pi отримували, змінюючи у середовищі концентрацію однозаміщеної солі калію KH_2PO_4 . Використовували 25 мкМ концентрацію для визначення впливу гравітації і 50 мкМ концентрацію – ефективну для росту і гравізалезного кута латеральних галузок. До середовища Кнопа з 50 мкМ Pi додавали 1,0 мкМ розчин ауксину і окремо 1,0 мкМ розчин зеатину. Для експерименту відбирали 12-денну негативно гравітропну протонему. Контролем була протонема, що росла на середовищі Кнопа з фітогормонами і 1 мМ ортофосфатом. Аналізували вплив фітогормонів і гравістимуляції на активність фосфатази і Ca^{2+} -АТФази.

Активність кислої фосфатази визначали в протонемі спектрофотометрично, $\lambda = 660$ нм, використовуючи як субстрат для фосфатаз гліцерофосфат натрію і виражали у мкМ $\rho\text{NP}/1$ г сухої речовини (Turner et al., 2001, 2003).

Ca^{2+} -АТФазну активність визначали за методом (Lichtman et al., 1981) залежно від тривалості гравістимуляції протонемі (30 хв, 2 год, 12 год, 24 год). Контролем була негравістимульована протонема, що росла у темряві. Наважку рослинного матеріалу (100–200 мг) гомогенізували у 0,025 М трис-ацетатному буфері (рН 6,5), (співвідношення 1:2). Інкубаційне середовище для визначення ферментативної активності містило: 110 мМ KCl, 40 мМ Tris/HCl (рН 7,0), 20 мМ NaCl, 5 мМ MgCl_2 , 100 мкМ ЕДТА і 125 мкМ CaCl_2 . Реакцію ініціювали додаванням 5 мМ розчину АТФ та проводили за 38° С протягом 30 хв. У кінці додавали 10 % трихлороцтову кислоту, осад відділяли центрифугуванням (20 хв, 5000 г). В супернатанті визначали неорганічний фосфор (Pi) за методом О. Лоурі та Д. Лопеза (Lowry, Lopez, 1946; Pearse, 1962). Оптичну густину розчину вимірювали на спектрофотометрі „Specord 210 Plus”, $\lambda = 660$ нм. Концентрацію неорганічного фосфору вираховували за калібрувальною кривою, яку побудували за KH_2PO_4 і виражали у мг/кг маси сухої речовини. Активність АТФази виражали в мкМ Pi/год/мг білка.

Для оцінки системи прооксидантно-антиоксидантних реакцій в умовах зміненої гравітації (гравітаційного стресу) визначали пероксидне окиснення ліпідів, яке оцінювали за дієновими кон'югатами (ДК) і малоновим диальдегідом (МДА), активність каталази і пероксидаз, загальну антиоксидантну активність, вміст розчинних фенолів і флавоноїдів, антоціанів і каротиноїдів (Мусієнко та ін., 2001). Використали також стандартні і модифіковані методики, детально описані у монографії (Лобачевська та ін., 2022).

Для аналізу впливу епігенетичних змін (рівень метилювання ДНК) на відчуття, збереження і реалізацію гравісигналу визначили гравічутливість протонеми *Polytrichastum alpinum* з Антарктики та галуження *Physcomitrium patens* (Hedw.) Mitt. із Львівської обл. після

впливу інгібітора метилювання ДНК 5-азацитидину. Стерильну лабораторну культуру отримали зі спор або регенерацією листків гаметофорів. Гравістимуляцію і кліностакування мохів протонеми провели аналогічно, як описано у попередніх методиках і статтях (Лобачевська та ін., 2015; Хоркавців та ін., 2009). В екстрактах 1,0...1,5 місячних гаметофорів *P. patens* спектрофотометрично визначили активність пероксидази і аналізували ізоформи фермента після впливу 5-азацитидину. Гістологічну реакцію з бензидином застосовували для аналізу ізоформ пероксидази на поліакриламідному гелі з використанням диск-електрофорезу (Passard, Cosio, 2005; Хоркавців та ін., 2009). Молекулярну масу (ММ) пероксидазних форм *P. patens* співставляли із стандартним маркерним зразком білків.

Для з'ясування феномену клітинної пам'яті про збереження гравістимулу ініціювали зміни у метилюванні за участю 5-азацитидину (Malik et al., 2012). Визначили температурні умови ($t = +2...4^{\circ}\text{C}$), що блокували ріст протонеми, але не впливали на сприйняття стимулу.

В одному варіанті досліду протонему, що росла у горизонтально розміщених чашках, перед гравістимуляцією (на стадії перцепції) обробляли 50 мкМ розчином 5-азацитидину за температури $+2...4^{\circ}\text{C}$ у холодильній камері протягом 5 год, в іншому варіанті – після гравістимуляції (на стадії трансдукції гравісигналу). Протонему у чашках 5 разів промивали дистильованою водою, переносили в умови $+20-22^{\circ}\text{C}$ і виставляли вертикально для гравістимуляції, або використовували кліностаг. Впродовж експерименту чашки з протонемою знаходилися у темряві.

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.

У контролі аналіз проводили згідно з протоколом досліду, не використовуючи 5-азацитидин. У кожному варіанті проаналізували по 200 гравітропних стolonів протонеми, які вибирали стохастично із 12 окремих дернин, що росли у різних чашках. Досліди повторювали двічі.

В усіх проведених дослідженнях досліди повторювали тричі, для морфометричних вимірювань у кожному варіанті експерименту аналізували не менше 25 – 200 зразків протонемних стolonів, гаметофорів, дернинок. Отримані результати опрацьовані статистично за допомогою дисперсійного аналізу ANOVA, пакетів прикладних програм Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond, Washington, USA) з вирахуванням статичних критеріїв варіації і рівнів статистичної значущості $p < 0,01$ згідно з коефіцієнтом Стьюдента (Деркач, 1963; Данілов, 2019; Основи Королюк, 2021).

3. ПРОТОНЕМА ЯК МОДЕЛЬНИЙ ОБ'ЄКТ ДОСЛІДЖЕННЯ ГРАВІТРОПІЗМУ

3.1. АНАЛІЗ ГРАВІЧУТЛИВОСТІ ТА ВІДБІР НОВИХ ВИДІВ МОХІВ ДЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ГРАВІТАЦІЙНОЇ БІОЛОГІЇ

Уперше ростові реакції на вплив гравітації виявили у гравітропних органах (пагонах і коренях) квіткових рослин (Knight, 1806), пізніше було встановлено, що не тільки вищі рослини, а й водорості реагують на дію гравітації (Pfeffer, 1897; Bünning, Mohr, 1955; Pilet, 1971; Edelmann et al., 2002). З часом кількість об'єктів розширилася завдяки визначенню чутливості до гравітації мохів (Demkiv et al., 1997; Демків и др., 1997; Chaban et al., 1998). Характерна особливість протонеми, коли сприйняття і реакція на гравістимул відбуваються в одній апікальній клітині, сприяла широкому впровадженню її у дослідженнях гравітропізму, де найчастіше використовували *Ceratodon purpureus*, згодом *Funaria hygrometrica*, *Tortula caucasica*, *Pohlia nutans* (Chaban et al., 1998; Cove et al., 1978; Хоркавців, Демків, 1999; Пундяк та ін., 2002). В експериментальних дослідженнях впливу гравітації застосовували обмежену кількість видів мохів, оскільки не всі види мохів реагують на гравітаційний стимул.

Важливо було встановити нові види, придатні для вивчення гравічутливості на різних стадіях онтогенезу. Для 48 досі не проаналізованих видів листкостеблових мохів (36 верхоплідних видів і 12 бокоплідних) отримували стерильну культуру протонеми зі спор. Із досліджених мохів виявили гравічутливі верхоплідні види: *Bryum argenteum*, *Ptychostomum imbricatum* (Müll. Hal.) Holyoak & N. Pedersen (*B. caespiticium*), *Ptychostomum intermedium* (Brid.) J.R. Spence (*B. intermedium*), *Leptobryum pyriforme* (Hedw.) Wilson, *Dicranella heteromalla* (Hedw.) Schimp., *Calcidicranella varia* (Hedw.) Bonfim Santos, Fedorov & Jan Kučera (*D. varia*), *Tortula truncata* (Hedw.) Mitt. Оцінювали гравічутливість видів за такими параметрами як кількість гравітропних стolonів у протонемній дернині, кут гравітропного згину стolonів, швидкість гравітропної реакції та порівнювали їх із такими ж показниками гравічутливого виду *Ceratodon purpureus*, як контролю.

Для 8 нових гравічутливих видів дослідили кореляцію між кількістю, розподілом амілопластів та гравітропним ростом апікальних клітин (табл. 1). Амілопласти в апікальній клітині мали різні розміри та форму: від округлих і овальних до веретеноподібних, від великих (2,5-3,0 мкм) до дрібних (0,3-0,5 мкм). Пластиди по-різному розміщувалися у клітинах: окремо один від одного, або щільно, утворюючи кластерні скупчення. Великі округлі амілопласти найчастіше перерозподілялися під час гравістимуляції і переважно були зосереджені в зоні седиментації, а дрібні, круглі та веретеноподібні майже не змінювали свого положення і не осідали. У більшості досліджених видів верхівка апікальної клітини була вільною від пластид. Установлено, що у *Ceratodon purpureus* (Sack, 1991) у цій зоні знаходяться тільця Гольджі, які

постачають екзоцитозні везикули для росту клітинної стінки в апексі верхівкової клітини. У *Dicranella cerviculata*, *Leptobryum pyriforme*, *Ptychostomum intermedium* у зоні верхівки апікальної клітини, де не спостерігали седиментації, часто знаходили один великий, рідше два амілопласти, аналогічно як у *C. purpureus* (Schwuchow et al., 2002; Лобачевська, 2006). Гравітропна протонема *Dicranella cerviculata* найчастіше (до 50 %) мала верхівковий амілопласт в апікальній клітині хлоронеми і каулонеми, тоді як в інших мохів таких амілопластів не знаходили. Наявність верхівкових амілопластів не впливала на ступінь гравічутливості клітин і седиментацію пластид. В апікальних клітинах виявлено зони пластид, які не седиментували під час гравістимуляції і знаходилися базальніше від місць седиментації амілопластів. У *C. purpureus* і *Physcomitrium pyriforme* вони розташовані перед зоною седиментації (Schwuchow et al., 2002). У всіх гравістимульованих видів спостерігали бічну седиментацію амілопластів до нижньої стінки вздовж апікальної клітини (осьова седиментація). У мохів із вищою гравічутливістю виділялася зона седиментації великих, круглих пластид. Серед досліджених видів седиментація амілопластів найкраще виражена у *Dicranella cerviculata*, *Leptobryum pyriforme*, *Bryum argenteum*. У видів *Calcidicranella varia*, *D. heteromalla*, *Ptychostomum intermedium* седиментація пластид мала вигляд вузької полоски цитозолу вздовж верхньої клітинної стінки або скупчення седиментуючих пластид у ділянці перед ядром. В апікальних клітинах вертикальної гравітропної протонеми амілопласти седиментували уздовж осі клітини у напрямі до ядра, і в жодному випадку не спостерігали осідання пластид донизу. Підрахунок амілопластів в апікальних клітинах показав, що їх кількість істотно не відрізнялася між видами і не залежала від ступеня гравічутливості мохів (табл. 1). Проведені дослідження підтверджують думку, що кількість амілопластів не визначає гравічутливість видів. Результати гравітропної реакції і кутів гравітропного згину апікальних клітин протонеми після 18–20 год стимуляції наведені у табл. 1. На підставі отриманих результатів можна стверджувати, що гравічутливість мохів корелює із збільшенням довжини зони седиментації амілопластів і зменшенням величини співвідношення довжини клітини до довжини зони з амілопластами (D/d) (табл. 1).

Спори більшості досліджуваних мохів не проростали у темряві. У *Pohlia elongata* Hedw., *Brachythecium salebrosum* (Hoffm. ex, F. Weber & D. Mohr) Schimp., *Didymodon rigidulus* Hedw., *Fissidens bryoides* Hedw. спори проростали лише на 5-7 день, проростки росли повільно і неполярно, тобто незалежно від дії гравістимулу. Переважно первинні ростки цих видів швидко припиняли ріст і поступово відмирали. У видів *Dicranella cerviculata*, *Leptobryum pyriforme*, *Ptychostomum imbricatum* і *B. argenteum* під час проростання спор перший росток і ті ростки, що утворилися пізніше, росли негативно гравітропно. Для видів *Dicranella heteromalla* і *Calcidicranella varia*. *varia* характерна висока дисперсія кутів згину як негативно,

так і позитивно гравітропних первинних ростків. У кожній спорі перед проростанням було 5–8 амілохлоропластів (табл. 2). Під час формування ростків, завдяки поділу пластид, загальна кількість амілохлоропластів у спорі збільшувалася. Згодом вони переміщалися у первинний ризоїд і хлоронему. Дані гравічутливості та параметри росту протонеми наведені у табл. 1.

Показники гравічутливості апікальних клітин мохів через 18–20 год після гравістимуляції

Назва виду	Кут гравітропного згину	Швидкість росту, мкм/год	Довжина клітини (D), мкм	Довжина зони седиментації амілопластів (d), мкм	К-сть амілопластів, штук	D/d
<i>Ceratodon purpureus</i>	85,5±6,5	30,0±2,4	189,6±10,8	113,2±8,0	32,3±1,5	1,67
<i>Dicranella cerviculata</i>	66,8±3,2	25,1±1,2	185,2±12,0	80,0±4,1	27,5±4,0	2,31
<i>Leptobryum pyriforme</i>	65,9±1,8	24,2±1,0	211,2±14,9	88,5±4,3	26,0±4,5	2,38
<i>Tortula truncata</i>	65,6±2,9	20,0±0,9	198,0±9,6	94,0±8,0	27,1±3,2	2,10
<i>Bryum argenteum</i>	41,1±5,3	10,7±0,3	129,2±4,7	54,9±4,3	24,3±1,1	2,35
<i>Ptychostomum imbricatulum</i>	37,2±1,7	18,0±1,1	130,0±24,1	54,0±3,2	25,1±1,3	2,41
<i>Ptychostomum intermedium</i>	33,3±3,4	17,3±1,4	110,7±6,0	44,8±16,0	25,8±1,8	2,47
<i>Calcidicranella varia</i>	36,7±1,6	15,2±1,4	101,5±2,0	36,4±2,0	23,5±1,5	2,79
<i>Dicranella heteromalla</i>	36,2±1,7	23,3±1,8	167,3±5,7	39,2±17,5	24,0±1,4	4,20

Розподіл амілохлоропластів у проростаючих спорах гравічутливих мохів

Назва виду	Кількість амілохлоропластів, шт:		
	у спорі перед проростанням	у пророслій спорі з двома ростками	у первинних ростках
<i>Bryum argenteum</i>	4,1 ± 0,3	5,2 ± 0,3	5,7 ± 0,4
<i>Ptychostomum imbricatum</i>	4,6 ± 0,3	5,9 ± 0,2	6,3 ± 0,4
<i>Leptobryum pyriforme</i>	6,0 ± 0,3	8,7 ± 0,2	9,7 ± 0,4
<i>Dicranella cerviculata</i>	8,5 ± 0,3	10,0 ± 0,3	13,3 ± 0,5
<i>D. heteromalla</i>	5,6 ± 0,4	6,7 ± 0,4	7,2 ± 0,2
<i>Calcidicranella varia</i>	4,9 ± 0,3	5,5 ± 0,4	6,7 ± 0,4
<i>Tortula truncata</i>	8,2 ± 0,4	9,9 ± 0,5	12,1 ± 0,5
<i>Ceratodon purpureus</i>	7,5 ± 0,4	10,1 ± 0,4	11,6 ± 0,5

Види між собою і від *Ceratodon purpureus*, як модельного об'єкту досліджень гравічутливості, відрізняються за кількістю та швидкістю утворення гравітропних ростків і за величиною гравітропних кутів (табл. 1). Гравічутливість проаналізованих видів змінювалася залежно від стадій розвитку гаметофіту. Листкостеблові пагони виявилися менше гравічутливими ($32,3 \pm 1,3^\circ$), ніж протонема. Гравічутливість протонеми, що утворилася у темряві з пагонів, на відміну від протонеми зі спор, знижувалася у *Bryum argenteum* ($39,2 \pm 4,1^\circ$) й *Calcidicranella varia* ($24,9 \pm 1,8^\circ$). Тоді як у *Ptychostomum imbricatum* ($59,9 \pm 1,5^\circ$) і *Pottia truncata* ($70,6 \pm 2,1^\circ$) гравічутливішими виявилися столони протонеми з пагонів. У *P. imbricatum* утворювалася велика кількість гравітропних столонів уздовж пагона ($33,8 \pm 3,7$ шт.), а в інших видів регенеративна протонема утворювалася полярно – лише на верхівці і в основі стебла, але не більше 10 столонів на 1 пагін. У лабораторній культурі *Dicranella cerviculata* і *D. heteromalla* гаметофорів утворювалося мало, вони повільно розвивалися, тому визначити їх гравічутливість нам не вдалося. Гравічутливість протонеми з пагонів *P. imbricatum* збільшувалася з підвищенням швидкості їх росту ($25,5$ мкм/год), порівняно зі столонами з протонеми ($18,0$ мкм/год). У *Tortula truncata* швидкість росту гравітропних столонів збільшувалася від $20,0$ мкм/год для протонеми зі спор до $22,3$ мкм/год для регенеративної протонеми з пагонів, тоді як швидкість росту протонеми пагонів *Dicranella varia* знижувалася майже вдвічі – від $14,1$ мкм/год до $7,8$ мкм/год відповідно. На основі

порівняльного аналізу росту гравітропних стolonів встановлено, що підвищення гравічутливості протонеми з пагонів корелює з підвищенням швидкості росту стolonів.

Отже, на основі аналізу гравічутливості різних видів мохів, виявлено 8 нових чутливих до гравітації видів, які можуть бути об'єктами досліджень гравітаційної біології. Це *Bryum argenteum*, *Ptychostomum imbricatum*, *P. intermedium*, *Leptobryum pyriforme*, *Dicranella cerviculata*, *D. heteromalla*, *Calcidicranella varia*, *Tortula truncata*. Визначено, що гравічутливість видів змінюється залежно від стадій розвитку протонеми, а швидкість утворення гравітропіного згину прямо корелює із довжиною зони седиментації амілохлоропластів та їх розмірами. Для гравічутливих апікальних клітин протонеми кількість, розміри і розміщення пластид в клітині змінюються залежно від хлоронемного чи каулонемного типу стolonів, залежить від тривалості дії гравістимулу, їм властива висока мінливість на різних стадіях онтогенезу.

3.2. РЕАКЦІЇ КЛІТИН ПРОТОНЕМИ НА ГРАВІТАЦІЮ

Рослини сприймають найменші 5–10° відхилення від вектора сили тяжіння і швидко за 1-2 хв реагують гравітропним згином (Merkys, Laurinavicius, 1990). Індукцію поляризації найзручніше досліджувати на поодиноких клітинах, які початково аполярні, наприклад зиготи водоростей *Fucus* і *Pelvetia* (Bentrup, 1984; Cove, Quatrano, 2006), пилоквих зернах (Hepler et al., 1970), спорах мохів (Демків, Сытник, 1985). Негативний гравітропізм протонеми мохів вважають адаптивною функцією виду, яка сприяє найшвидшому виходу його ростучих апікальних клітин на світло (Chaban et al., 1998; Chaban et al., 1999; Demkiv et al., 1999). Серед мохів одним з найчутливіших до гравітації на стадії протонеми є вид *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. Загальноприйнято, що гравісенсорною системою протонеми мохів є амілопласти – від округлих до еліпсоїдних, діаметром 2-3 мкм, які переважно зосереджені в субапікальній зоні апікальної клітини (Sack, 1993). Під час гравістимуляції амілопласти седиментують на нижню стінку клітини, що корелює з поступовим негативно гравітропним згином (Walker, Sack, 1990; Young, Sack, 1992; Пундяк та ін., 2002). Особливістю протонеми є те, що на світлі вона росте по субстрату і не реагує ні на світло, ані на гравітацію, хоча обидва фактори орієнтовані однаково перпендикулярно до площини росту. Лише в темряві апікальні клітини піднімаються над агаром, виявляючи негативний гравітропізм. Понижена чутливість протонеми до дії гравітації властива розповсюдженому світлолюбному виду *Funaria hygrometrica* Hedw., що робить проблематичним проростання спор в екстремальних умовах частково або повного затінення. В літературі немає даних про гравітропізм проростків спор, хоча вони містять крохмаль і можуть полярно проростати у поляризованому білому світлі, а

також під впливом латерального освітлення і електричного поля (Демкив, Сьтник, 1985; Cove et al., 2006).

3.2.1. ЕФЕКТ ГРАВІТАЦІЙНОГО ПОЛЯ НА ОРІЄНТАЦІЮ ПРОРОСТКІВ СПОР МОХІВ

Одноклітинні спори, так само як окремі органи і цілі рослини, реагують на дію гравітаційної сили. Проростання спор листяних мохів індукується ендогенно, однак полярна вісь проростків контролюється екзогенно – світлом і гравітацією (Sytnik et al., 1989; Пундяк та ін., 2002). Вплив гравітації на поляризацію проростків для різних видів, наприклад, *Pohlia nutans*, *Ceratodon purpureus*, *Funaria hygrometrica* неоднаковий (табл. 3).

Таблиця 3

Орієнтація проростків спор мохів під впливом гравітації

Назва виду	Проаналізовано столонів	Напрямок росту проростків	
		Негативно гравітропно, %	Позитивно гравітропно, %
<i>Funaria hygrometrica</i>	200	95,0 ± 0,7	5,0 ± 0,1
<i>Pohlia nutans</i>	175	70,0 ± 1,0	30,0 ± 2,2
<i>Ceratodon purpureus</i>	145	47,3 ± 2,1	53,8 ± 1,9

На стадії проростання спор гравічутливість проростків *Funaria hygrometrica* була найвищою, 95 % з них проросли негативно гравітропно. Високочутливою була і *P. nutans* – 70 % спор росли гравітропно і лише 50 % спор *C. purpureus* прореагували на дію гравістимулу. Таким чином, проростання спор різних видів – це специфічна ростова реакція з великим діапазоном мінливості гравітропізму проростків.

3.2.2. ГРАВІТРОПІЗМ ПРОРОСТКІВ *FUNARIA HYGROMETRICA* ЗАЛЕЖНО ВІД КУТА ВЕКТОРА ГРАВІТАЦІЇ

Орієнтацію проростків спор *Funaria hygrometrica* під впливом гравітації аналізували залежно від положення чашок Петрі з культурами відносно горизонтальної поверхні. За таких умов величина гравітаційної сили, яка індукує полярність проростків, відрізнялася. Чашки виставляли під кутами до горизонталі від 90° до 0°, а через добу спори проростали й у темряві утворювався перший росток, а ще через добу – другий.

У контролі в горизонтально розміщених чашках спори в темряві проростали із різною швидкістю і в різних напрямках, тобто часово й просторово гетерогенно. Як правило, спочатку

закладався ризоїдний росток, а згодом хлоронемний, часто під різними кутами один проти одного, але переважно під кутом 180° .

Якщо перед проростанням спор чашки ставили на ребро під різним кутом до поверхні, перший ризоїдний росток орієнтувався, як правило, донизу позитивно гравітропно, під кутом $167,5 \pm 3,7^\circ$ до вертикалі із середньою дисперсією кутів $\sigma = 34,3^\circ$. Наступний хлоронемний росток орієнтувався переважно негативно гравітропно під кутом $354,1 \pm 1,7^\circ$ із середньою дисперсією кутів $\sigma = 18,1^\circ$ (рис. 1, 3 а).

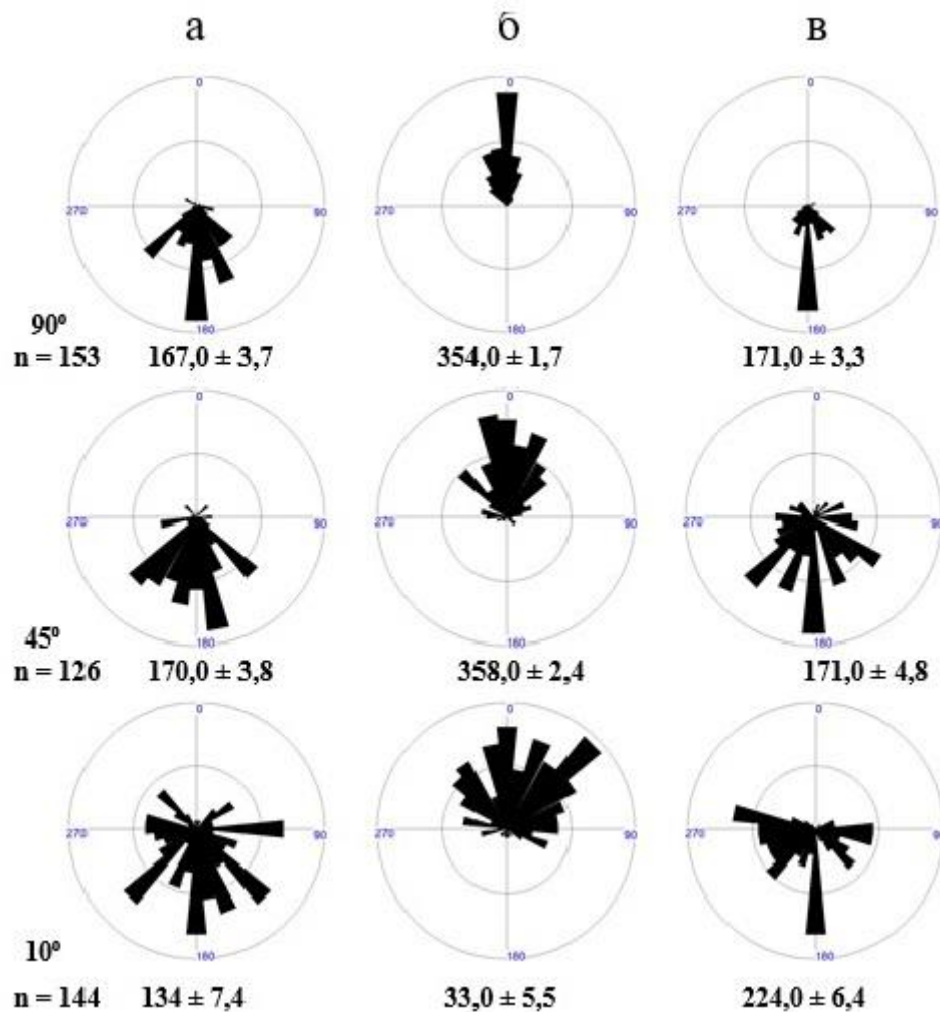


Рис. 5. Гістограма кутів початкових напрямків росту першого (а) і другого (б) проростків спор *Funaria hygrometrica* та кутів між ними (в) в чашках Петрі, розміщених під різними кутами до горизонталі (зверху донизу – 90° , 45° , 10°). Величина n – об'єм вибірки

В умовах, коли чашки Петрі нахилили під кутом 45° до горизонталі, напрям росту проростків істотно не змінювався: кут становив $170,0 \pm 3,6^\circ$ для першого ростка і $358,3 \pm 2,4^\circ$ для другого ростка (рис. 5). У всіх випадках збільшилася дисперсія кутів, особливо між обома ростками.

Коли спори проростали у нахилених чашках під кутом 10° до горизонталі, перші проростки, переважно, орієнтувалися по поверхні агару донизу під кутом $134,0 \pm 7,4^\circ$, а більшість других хлоронемних ростків – вверх під кутом $331,0 \pm 5,5^\circ$. Різко збільшувалася варіабельність кутів між проростками, середній кут між якими становив $224,0 \pm 6,4^\circ$ (рис. 1, 3 в). Мінімальне значення середнього кута між обома ростками спори було у горизонтально розміщених чашках або після кліностагування.

Якщо після висіву спор на другу добу чашку повертали вертикально на 90° , у такому положенні другий хлоронемний росток виростав догори під кутом $20,0 \pm 3,8^\circ$ відносно нової вертикалі та під кутом $70,0 \pm 4,2^\circ$ ($\sigma = 35,6^\circ$) до першого ризоїдного ростка (рис. 2; рис. 3, в). Після того, як чашки зі спорами повернули на 360° , другий росток закладався паралельно до першого (рис. 3, г).

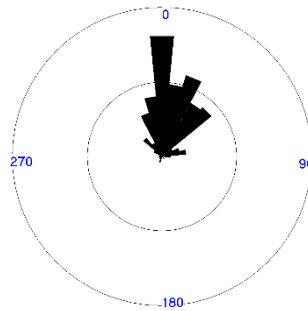


Рис. 6. Гістограма напрямку росту другого хлоронемного проростка *F. hygrometrica*, коли після утворення першого ризоїда чашку зі спорами повернули на 90° у вертикальній площині.

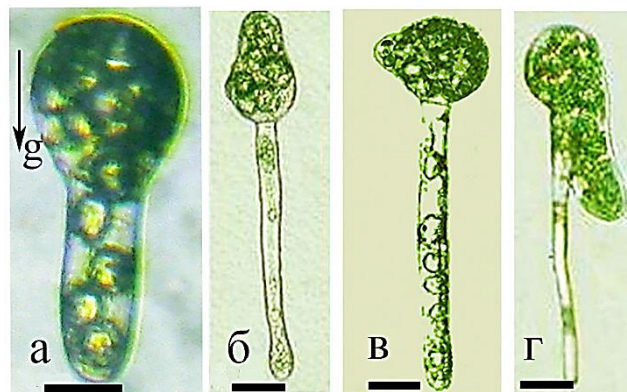


Рис. 7. Пророслі спори *Funaria hygrometrica*: а) спора із першим негативно гравітропним проростком; б) спора з двома проростками – ризоїдним, негативно гравітропним і хлоронемним, позитивно гравітропним, що орієнтовані під кутом 180° один відносно одного; в, г) зміна положення чашок на 90° і 360° індукувала нову вісь росту другого хлоронемного ростка. Штрих = 100 мкм.

Можна допустити, що після утворення ризоїда, частина спори залишалася неполярною, однак набувала здатності до полярного проростання під впливом гравітації. Гравітаційний стимул призвів до зміни полярності цитоплазми і утворення нового ростового центру і орієнтації проростка відповідно до вектора гравітації. Отож, гравітація як потужний поляризуючий фактор корегує ендогенну програму розвитку, впливаючи на ініціацію нових локальних зон росту і диференціацію ризоїдальних і хлоронемних клітин.

Вплив гравітації на поляризацію спор *F. hygrometrica* зменшувався, якщо після посіву чашки поміщали на кліноостат на 24 год, а потім ставили вертикально для гравістимуляції. В обидвох варіантах досліду чашки із спорами знаходилися у темряві. Ризоїдний проросток орієнтувався переважно негативно гравітропно, а ріст хлоронемного ростка через низьку гравічутливість не був вертикальний (табл. 4). Крім того, менший розкид кутів росту хлоронемних ростків ($\sigma = 18,1^\circ$), порівняно із ризоїдними ($\sigma = 34,3^\circ$), в усіх варіантах експерименту свідчить про нижчу гравічутливість ризоїдів, ніж хлоронеми (рис. 1). На такій стадії диференціації проростків головна функція хлоронеми – найшвидше вибратися на поверхню ґрунту, і це сприяло б закладанню бруньок, розвитку гаметофорів і дернини моху. Ми дотримуємося такого обґрунтування вищої гравічутливості хлоронеми.

Таблиця 4

Вплив гравітаційного поля на проростання спор *Funaria hygrometrica*

Умови проведення досліду, положення чашок відносно вектора гравітації	Полярність проростання:	
	ризоїдних ростків, %	хлоронемних ростків, %
Контроль, гравістимуляція	94,6 ± 1,9	99,0 ± 1,0
Кліноостат → гравістимуляція	71,2 ± 1,8*	30,5 ± 2,5*

Примітка: * – позначено величини, що достовірно відрізнялися від контролю, $p \leq 0,05$

У набубнявілих спорах *Funaria hygrometrica* перед їх проростанням добре проглядалися зафарбовані І₂КІ великі кулясті амілопласти (рис. 3, а). У вертикальному положенні чашок Петрі перед проростання спор, і коли перший росток тільки сформувався, можна було виявляти седиментацію амілопластів (рис. 3, а, в). Розподіл пластид у спорах і ростках представлений в табл. 5.

Таблиця 5

Розподіл амілопластів у спорах і ростках *Funaria hygrometrica*

Стадії проростання	Кількість амілопластів, шт	
	у спорі	у ростках
Непророслі спори	6,6 ± 0,2	—
Спори з одним ростком	7,2 ± 0,3	3,1 ± 0,2
Спори з двома ростками	8,2 ± 0,2	9,4 ± 0,9

Візуально осідання пластид найкраще визначали, коли чашки Петрі з висіяними спорами розміщували під кутом 90° до горизонталі. У горизонтальному положенні, як і при кліноштатуванні, асиметрія пластид мінімальна і напрямок осідання – випадковий. Під час формування ростків загальна кількість амілопластів збільшувалася (табл. 5). Асиметрію розподілу амілопластів у спорах представлено у табл. 6 і 7.

Таблиця 6

Седиментація амілопластів у непророслих спорах *Funaria hygrometrica*

через 20 год після висіву

Кут нахилу чашок відносно горизонтальної площини, град	Частка спор із різною седиментацією амілопластів, %	
	седиментація (+)	седиментація відсутня (-)
90	55,0 ± 5,0	45,0 ± 5,0
10	38,0 ± 4,9	62,0 ± 4,9
0	26,0 ± 4,4	74,0 ± 4,4

Таблиця 7

Асиметричний розподіл амілопластів у спорах *Funaria hygrometrica*

на другу добу після проростання

Кут нахилу чашок відносно горизонталі, град	К-сть амілопластів, що перемістилися вздовж осі росту першого ростка, %	К-сть амілопластів, що розташовані перпендикулярно до осі першого ростка, %	Асиметрія відсутня, %
90	57,0 ± 5,0	33,0 ± 5,0	10,0 ± 3,0
10	33,0 ± 5,0	47,0 ± 5,0	20,0 ± 4,0
0	33,0 ± 4,7	42,0 ± 5,0	25,0 ± 4,3

Отже, полярність спор *F. hygrometrica* залежить від просторового розміщення амілопластів. Результати досліджень седиментації пластид спор *Funaria hygrometrica* підтверджують функцію амілопластів як статолітів індукції гравічутливості мохів (Moog, Evans, 1986). Здатність спор реагувати на вектор гравітації впливає на розвиток латеральних галузок і варіабельність закладання та вісь росту ростків. Тому в темряві залежно від орієнтації чашок Петрі щодо вектора гравітації можливі якісно відмінні варіанти розподілу кутів між проростками:

- 1) якщо орієнтація чашок Петрі вертикальна відносно горизонтальної площини, середній кут між ростками становив 180° ;
- 2) якщо чашки повернули на 90° у вертикальній площині через добу після висіву, або розмістили горизонтально, чи на кліноостаті, кут між ростками становив 90° ; якщо змінили положення чашок на 360° , другий росток утворювався поряд з першим і вісь його росту змінювалася на 360° .

Вважають, що амілопласти можуть бути не лише пасивною масою статоцитів (Kordyum, Guikema, 2001), а виконують складнішу роль: контактуючи з клітинним ядром можуть передавати гравітропний сигнал, що діє як поляризуючий фактор (Kordyum, 2014). Під час проростання спор *F. hygrometrica* ядро знаходиться посередині клітини між амілопластами, де висока питома маса пластид може спрямовувати до нього функціональну і просторову інформацію.

Ще Дж. Дженкіс із співавторами (Jenkins et al, 1986) встановили, що протонема *F. hygrometrica* набуває чутливості до гравітації лише після диференціації каулонами. Однак, на стадії проростання спори *F. hygrometrica* реагують на гравістимул і поляризуюча дія гравітації детермінує просторову орієнтацію спочатку ризоїдного, а пізніше хлоронемного ростків (Пундяк та ін., 2002). Взаємно перпендикулярна орієнтація ростків після повороту чашки на 90° у вертикальній площині, або закладання другого ростка поряд з першим після переорієнтації чашки на 360° свідчить, що вісь росту можна змінити відповідно до вектора гравітації. Отже, взаємодія гравітаційного фактора з ендогенними процесами сприяє активації нових зон росту і контролює просторову вісь росту проростків. Отримані результати свідчать, що гравітація це потужний фактор поляризації клітин, детермінації осей росту і орієнтації проростків.

Як і в гравічутливих клітинах інших груп рослин (Merkys, Laurinavicius, 1990), гравісенсорною системою протонемі мохів є амілопласти. Під впливом гравітації амілопласти седиментують, що призводить до анізотропії клітини, яка визначає вісь поляризації. Набубнявілі спори *F. hygrometrica* містять великі 8–10 мкм амілопласти, які майже повністю

заповнюють спору. В умовах векторної гравітаційної сили амілопласти осідають на нижній бік спори, а верхня частина залишається без амілопластів. Пластиди седиментують не в усіх готових до проростання спорах, проте перший проросток утворюється на боці з максимальним вмістом амілопластів.

В ініціації хлоронемного ростка бере участь той самий механізм седиментації амілопластів, що й в ризоїдних клітинах. Седиментацією пластид, проте, важко пояснити диференціацію хлоронемних і ризоїдних ростків, зокрема, їх протилежно направлений ріст. Результати досліджень свідчать, що напрям росту корелює із компетенцією клітин реагувати на зміни, зумовлені дією гравістимулу, адекватно до програми формотворчих процесів. Седиментація амілопластів задіяна на проміжних ланках і функціонує як тригерний механізм реалізації такої програми. Очевидно, що нездатність першого проростка спор *F. hygrometrica* впливати на просторову орієнтацію наступного, зумовлена нечутливістю ризоїдів фунарії вологомірної, як і інших досліджених видів, до гравітації (Chaban et al., 1998).

3.2.3. РОЗВИТОК І ГРАВИЧУТЛИВІСТЬ ПРОТОНЕМИ *TORTULA CAUCASICA*, ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ЗОНАЛЬНОГО РОЗПОДІЛУ АМІЛОПЛАСТІВ В АПКАЛЬНІЙ КЛІТИНІ МОХІВ

У літературі є ранні описи і короткі повідомлення про гравічутливість протонеми мохів (Nemes, 1900; Bischoff, 1912; Czapek, 1898; Pringsheim, 1936) та гравітропізм трьох видів мохів – *Ceratodon purpureus*, *Physcomitrium patens*, *Funaria hygrometrica* (Hartmann, 1984; 1986 а; Демкив и др., 1997).

Спори моху *Tortula caucasica* проростають на світлі, формуючи столони хлоронемного і каулонемного типу. Клітини хлоронеми *T. caucasica* заповнені кулястими хлоропластами і відділені одна від одної прямими поперечними перетинками. Каулонемні клітини з косими клітинними перетинками, сферичними і видовженими амілопластами та значною кількістю вакуолей. Хлоронема зі спор є первинною протонемою, що на світлі росте плагіотропно по поверхні субстрату, галузиться, а у темряві проявляє негативний гравітропізм.

Диференціація каулонеми *T. caucasica* відбувається із хлоронеми, унаслідок утворення клітин з косими поперечними перетинками. Через 6-8 днів після посіву спор на протонемі формуються бруньки гаметофорів виключно на каулонемі, неподалік від спори, і з них розвиваються листкостеблові пагони (Goode et al., 1994). У видів *Funaria hygrometrica* і *Physcomitrium patens* (Ворр, 1965) гаметофори формуються пізніше на 8–9 клітині від спори з бокових галузок каулонеми, коли величина дернинки досягає критичної маси (Ворр, 1965; Jenkins et al. 1986; Cove et al., 1997).

Каулонемні stolони у темряві орієнтуються негативно гравітропно. Гаметофори добре регенерують і утворюють слабо розгалужену вторинну каулонему, що росте негативно гравітропно (рис. 8, а, б). Ізольовані листки гаметофорів теж регенерують, утворюючи гравічутливу вторинну протонему (рис. 4, в, г).

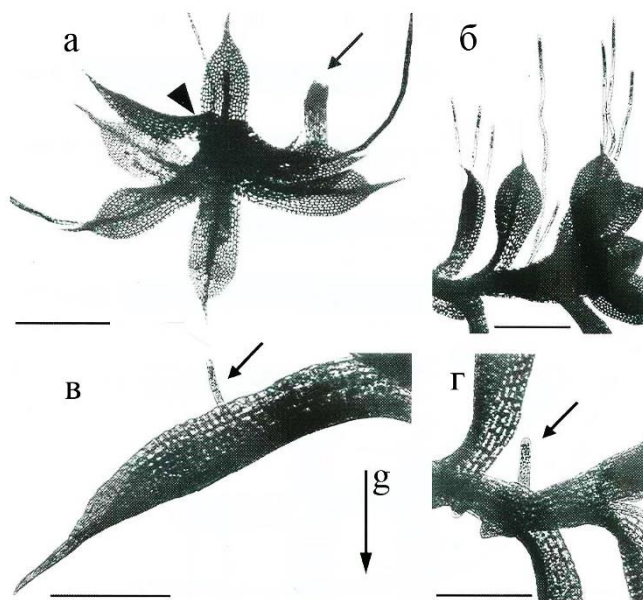


Рис. 8. а, б) – регенерують молоді гаметофори *Tortula caucasica*. Вторинна регенеративна каулонема утворилася із клітин стебла і листків гаметофорів та росте негативно гравітропно у темряві (а, б, в, г). Штрих: а = 500 мкм, б, в, г = 250 мкм.

Якщо чашки з каулонемою повернути на 90° , за 1–1,5 год починається викривлення, і через 6 год утворюється чіткий згин (рис. 9). Вертикально вверх каулонемні stolони переорієнтовуються через 1 добу, частіше через 2 доби або й пізніше, а швидкість росту у темряві становить 28 мкм/год.

Апікальні клітини вторинної каулонемі мають характерне розміщення пластид, в умовах 1 g виділяють 4 зони. Зона I – займає апікальну частину клітини і заповнена поодинокими пластидами, її довжина 20–30 мкм. Субапікальна зона II, або зона седиментації пластид, локалізована у субапікальній частині клітини, має великі сферичні амілопласти, що осідають горизонтально до нижньої клітинної стінки. Зона III локалізована між зоною II і ядром, містить численні значно менші амілопласти, ніж у зоні II. Зона IV – базальна, розміщена між ядром і клітинною стінкою і містить велику вакуоль. Пластиди у IV зоні веретеноподібні і менші, ніж в інших зонах, не седиментують. Зональність пластид досить динамічна, оскільки пластиди мігрують з однієї зони до іншої, що встановлено відеоспостереженням. Часова оцінка осідання амілопластів для клітин у горизонтальному і вертикальному положенні наведена на рис. 10.

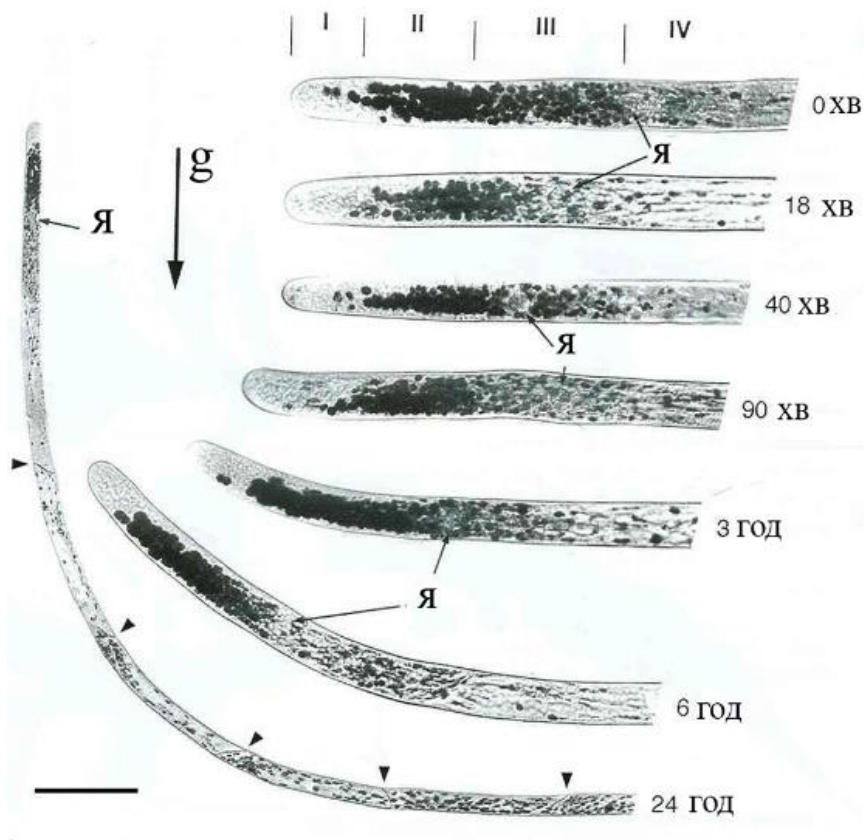


Рис. 9. Каулонема *Tortula caucasica*: апікальні клітини і негативно гравітропний столон. Протонему повернули на 90° і витримали у такому положенні 0 хв, 18 хв, 40 хв, 90 хв, 3 год, 6 год і 24 год. Зональні зони амілопластів визначено відразу після переорієнтації протонемми, 0 хв. Седиментація пластид розпочиналася через 18 хв і тривала впродовж гравістимуляції. Поділ апікальних клітин і утворення косих перетинок (позначено стрілкою на рис. 5) відбувався через 6 і 24 год після зміни положення чашок з протонемою. Амілопласти фарбували I_2KI .

Апікальні клітини вторинної каулонемми мають характерне розміщення пластид, в умовах 1 g виділяють 4 зони. Зона I – займає апікальну частину клітини і заповнена поодинокими пластидами, її довжина 20–30 мкм. Субапікальна зона II, або зона седиментації пластид, локалізована у субапікальній частині клітини, має великі сферичні амілопласти, що осідають горизонтально до нижньої клітинної стінки. Зона III локалізована між зоною II і ядром, містить численні значно менші амілопласти, ніж у зоні II. Зона IV – базальна, розміщена між ядром і клітинною стінкою і містить велику вакуоль. Пластиди у IV зоні веретеноподібні і менші, ніж в інших зонах, не седиментують. Зональність пластид досить динамічна, оскільки пластиди мігрують з однієї зони до іншої, що встановлено відеоспостереженням. Часова оцінка осідання амілопластів для клітин у горизонтальному і вертикальному положенні наведена на рис. 10.

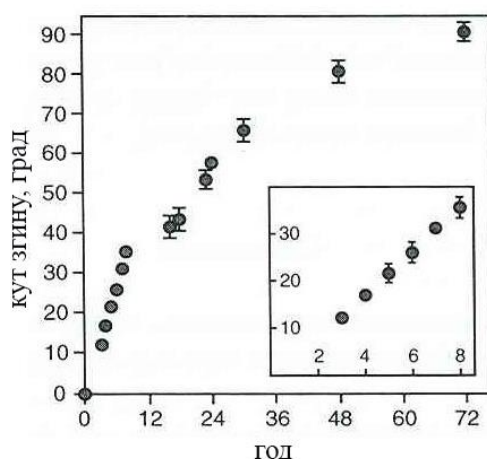


Рис. 10. Кінетика гравітропізму каулоними *Tortula caucasica* після переорієнтації чашок з протонемою на 90^0 у вертикальній площині. У перші 8 год утворення гравізігину має лінійну залежність.

Якщо протонему повернути на 90^0 , через 10-15 хв в апікальних клітинах у зоні II відбувалася седиментація амілопластів. Через 40 хв седиментація розпочиналася у III зоні, а через 90 хв утворювався вертикально орієнтований гравітропний згин. Під час седиментації амілопласти не опускалися на нижню плазматичну мембрану, а були відділені від неї тонкою смужкою цитоплазми, що зазвичай знаходиться під пластидами. Наявність ширшої, вільної від пластид цитоплазми у верхній частині клітини, порівняно з нижньою частиною у зоні II і III, свідчить про седиментацію амілопластів. У горизонтальному і вертикальному положенні каулоними у зоні II і III амілопласти розміщуються вздовж апікальної клітини. Клітини вертикальних стolonів (рис. 11; 0 хв) мають більше амілопластів біля ядра, а інвертовані (перевернуті донизу) – в апікальній частині клітини у II зоні (рис. 11, 0 хв, порівняно з 60 хв).

Седиментацію амілопластів клітин, перевернутих на 180^0 , визначали через 60 хв., хоча пластиди повністю не осідали ні в апексі, ні у верхній частині клітини. В інвертованій протонемі амілопласти седиментували із III зони у II зону, так само, як відбувалася седиментація пластид до основи у зоні II. Отже, амілопласти седиментують вздовж клітин, одночасно відбувається перерозподіл пластид між зонами II і III.

Раніше встановлено, що в умовах мікрогравітації протягом 7–14 днів зональність пластид в клітинах *Ceratodon purpureus* зберігалася, про що свідчить група пластид у верхівці, також у зонах II і III (Kern et al., 2001; 2005) (рис. 11, 12). Місця осідання і форма скупчень (кластери) пластид у вертикальних (А) і перевернутих (Д) клітинах змінювалися (рис. 8). Скупчення пластид утворилися в апікальних клітинах біля вільної від пластид зони в умовах мікрогравітації (Б, В), а також після кліностакування на Землі (Г).

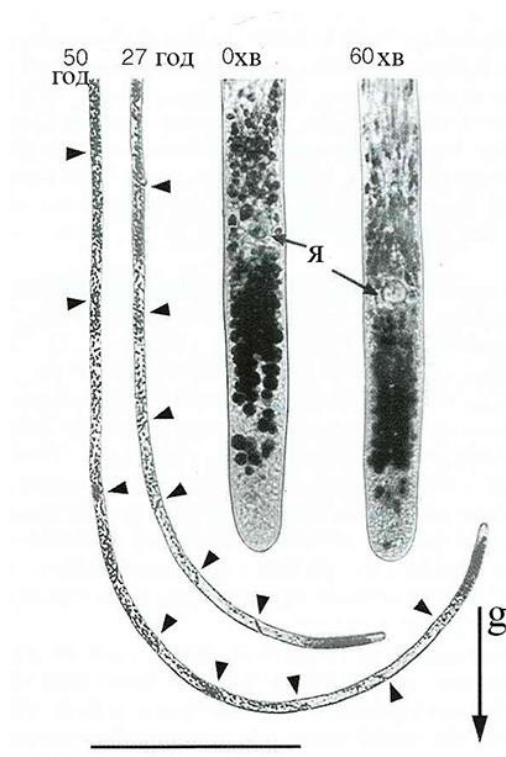


Рис. 11. Гравітропізм протонем *Tortula caucasica* і седиментація амілопластів в апікальних клітинах каулонемних стolonів. Протонему перевернули на 180° і спостерігали за нею 0 хв, 60 хв (штрих = 100 мкм), 27 год і 50 год (штрих = 50 мм). Амілопласти фарбували I_2KI . Косі поперечні клітинні стінки показано стрілкою; я – ядро в апікальній клітині. Седиментація пластид у перевернутих клітинах відбувалася вниз у напрямку апексу. Проаналізовано 20-30 клітин. Штрих = 0,5 мм.

У *Pohlia nutans* за наявності чи відсутності пластид з високим вмістом крохмалю в апікальних клітинах виділені 4 зони амілопластів (рис. 13). Кожна зона містить різну кількість пластид, які мають подібну форму і розміри, і лише у четвертій зоні їх форма змінюється на веретеноподібну. Пластиди динамічні, швидко переміщуються під впливом гравістимуляції і світла. Інтенсивне осідання амілопластів відбувалося у третій зоні, де їх найбільше, що дає можливість припустити, що маса і седиментація пластид функціонально пов'язані з гравістимулом. В окремих стolонах довжина кожної зони і кількість у ній амілопластів змінювалися в широких межах, тобто це непостійні величини і виділити чіткі зони амілопластів у *P. nutans* вдавалося не завжди. В окремих стolонах довжина кожної зони і кількість у ній амілопластів змінювалися в широких межах, тобто це непостійні величини і виділити чіткі зони амілопластів у *P. nutans* вдавалося не завжди.

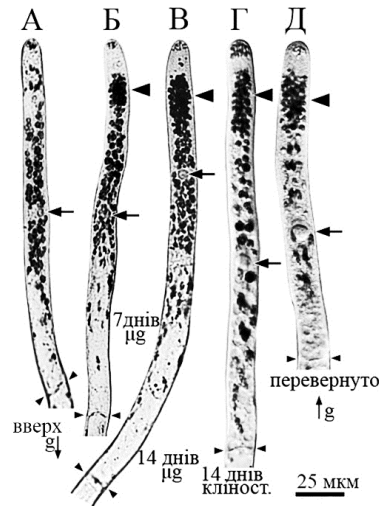


Рис. 12. Розподіл пластид в апікальних клітинах каулонемі *Ceratodon purpureus* залежно від впливу гравітаційного поля: А – стаціонарні умови 1 g; Б, В – 7–14 днів у космічному експерименті (NASA Shuttle missions, STS-87 і 107); Г – на кліностагі; Д – на Землі у перевернутому на 180° відносно горизонтальної поверхні положенні. Великими стрілками позначені ядра; малі стрілки (під А і Д) вказують на вектор сили тяжіння; великі наконечники стрілок показують скупчення пластид, парні малі наконечники стрілок вказують на розташування базальної косої клітинної перетинки. Штрих = 25 мкм. Рисунок наведено з люб'язного дозволу В. Керна (Kern et al., 2005).

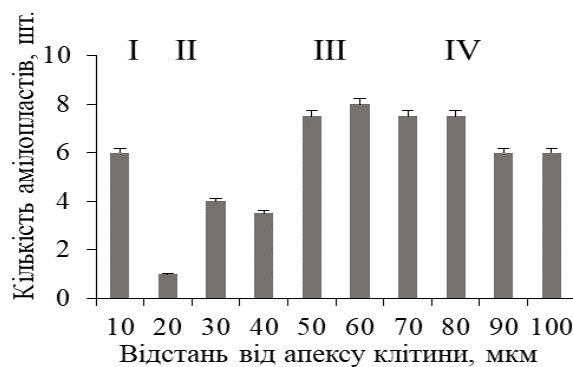


Рис. 13. Розподіл амілопластів у верхній частині апікальної клітини *Pohlia nutans*. Зони розподілу пластид позначено як I – IV.

Таким чином дослідження гравітропізму протонемі *Tortula caucasica* дало можливість визначити гравітропні реакції нового виду, як це попередньо зроблено для інших гравічутливих мохів (Демків и др., 1997; Лобачевська, 2006; Sack, 1991; Chaban et al., 1998; Kern et al., 2001). Етапи морфологічної диференціації клітин і розвитку протонемі *T. caucasica*

відрізняються від інших видів мохів, на відміну від гравітропізму (Ворр, 1965, а, б; Кноор, 1984; Kit, Ripetskyj, 1991).

Особливістю багатьох видів мохів є висока регенераційна здатність і утворення протонеми, включаючи вторинну каулонему, що надалі розвивається аналогічно як протонема із спор (Bischoff, 1912; Allsopp, Mitra, 1958; Лазаренко, 1959; Giles, Soutar, 1971; Goode et al., 1994). Первинна каулонема різних мохів росте гравітропно, починаючи з проростання спор, вторинна каулонема часто утворюється внаслідок регенерації вегетативних пропагул і протонемних дернин (Hartmann, 1984, Jenkins et al., 1986, Walker, Sack, 1990, Schwuchow et al., 1995). Наші дані є першим описом гравітропізму протонеми на стадії вторинної каулонемі, яка сформувалася унаслідок диференціації хлоронеми або регенерації пагонів і листків.

Швидкість гравітропного росту каулонемі *Tortula caucasica* нижча, ніж каулонемі *Ceratodon purpureus*, однак вища, ніж *Physcomitrella patens* і *Funaria hygrometrica* (Jenkins et al., 1986; Kern, Sack, 1990; Schwuchow et al., 1995). Спільною реакцією проаналізованих видів мохів на гравістимуляцію є седиментація амілопластів у субапикальній зоні. Седиментація пластид різних видів досить варіабельна (Schwuchow et al., 1995), що визначено за наявністю вільної від пластид ділянки цитоплазми в апікальному домені верхівкової клітини.

Амілопласти седиментують не тільки, коли протонема знаходиться у горизонтальному положенні, але коли її перевернути на 180° апексом донизу. Те, що амілопласти не падають до основи зони седиментації свідчить, що додаткові фактори обмежують седиментацію і підтримують зональність пластид. Подібний комплекс седиментації пластид описано для *Ceratodon purpureus* і встановлено, що мікротрубочки запобігають осіданню амілопластів вздовж клітин (Schwuchow, Sack, 1993, 1994). Це лімітує переміщення пластид вздовж апікальних клітин протонеми і різко контрастує із седиментацією амілопластів вищих рослин, а також у спорофіті мохів, коли усі амілопласти опускаються в клітинах статоцитів у ніжці спорогону (Petschow, 1933, Sack, 1991).

Таким чином, всі чотири гравічутливі види мохів – *Funaria hygrometrica*, *Ceratodon purpureus*, *Tortula caucasica*, *Pohlia nutans* мають спеціалізовані зони седиментації. *C. purpureus* відрізняється від інших видів групою пластид в апікальній частині, що не седиментують, окрім того, такі параметри як ступінь осідання і кількість амілопластів відрізняються між видами і є високо мінливими. Проте, седиментація відбувається приблизно в одній і тій же субапикальній частині клітини, а у *Funaria hygrometrica* і *Physcomitrium patens* однаково осідають пластиди вздовж апікальної клітини (Schwuchow et al., 1995). Найімовірніше, швидкість гравітропного росту в усіх проаналізованих видів мохів не корелює з розмірами і кількістю пластид в зоні седиментації. Для усіх видів характерно, що

амілопласти седиментують після того, як розпочався гравітропний згин (Walker, Sack, 1990; Schwuchow et al, 1995). Така консервативна зона седиментації корелює із спеціалізацією до гравічутливості саме тієї частини апікальної клітини. Висновок підтверджено експериментально, коли після базипетального центрифугування протонеми *C. purpureus*, відновлення гравітропізму корелювало із міграцією амілопластів назад і седиментацією у цій зоні (Walker, Sack, 1991). Це узгоджується з високою кількістю доведених кореляційним аналізом результатів, що підтверджують взаємозв'язок тиску маси амілопластів з гравічутливістю рослин (Sack, 1997).

4. ВПЛИВ ГРАВІТАЦІЙНОЇ СИЛИ НА ДИФЕРЕНЦІАЦІЮ Й ПРОСТОРОВУ ОРІЄНТАЦІЮ СПОРОФІТУ

Проаналізовано вплив гравітації на просторову орієнтацію та морфогенез спорогонів мохів. Дослідження проводили з видами *Funaria hygrometrica*, *Bryum argenteum*, *B. capillare* та *Pohlia nutans*, що відрізняються гравізалежною просторовою орієнтацією ніжки спорогону і формою коробочки. Визначено, що спорогони формуються як біполярна структура з апікальним і базальним центрами росту, напрям якого змінюється відповідно до вектора гравітації. На початку спорофітогенезу важко визначити гравізалежність росту. Унаслідок активності базального ростового центру спорогон вrostав у тканини гаметофіту, а апікальна верхівка спорогону поступово росла вгору, тобто її ріст був негативно гравітропним. Активація апікального ростового центру співпадала з припиненням активності базального росту і переорієнтацією позитивної гравітропної реакції на негативну (Лобачевська, 2006).

У багатьох видів коробочки відхилялися від вертикального росту, а у деяких ставали звисаючими і кут згину досягав 185° . У видів родів *Bryum* Hedw. і *Pohlia* Hedw. та багатьох інших ці зміни відбувалися унаслідок згину ніжки спорогону (Бачурина, Медьничук, 1989). У *Funaria hygrometrica* до згину причетна не лише ніжка спорогону, а й сама коробочка, яка у процесі формування стає асиметрично-дорзовентральною.

На зафарбованих J_2KJ молодих спорогонах амілопласти переважно нагромаджувалися у клітинах стопи і верхній апікальній ростовій зоні. Амілопласти по довжині спорогону розміщувалися зонами, а максимальне їх нагромадження і перерозподіл статочитів відбувалися у клітинах шийки коробочки перед формуванням коробочки. Надалі у цій зоні ніжка спорогону згиналася і форма коробочки з прямостоячої перетворювалася на нахилену (рис. 14). На цій стадії найбільша кількість амілопластів засереджена на опуклій стороні ніжки спорогону, де більша швидкість росту порівняно з ввігнутою, і завдяки кривизні згину орієнтація коробочки змінюється з вертикальної на горизонтальну звисаючу. У зоні гравітропного згину спорогону визначено найвищу активність ІОК і оксидазно-пероксидазної системи ІОК, що свідчить про участь ферментів у рості клітинної стінки ніжки спорогону і під час формування згину (Sack, 1991; Braun et al., 2018; Glime, 2017; Lobachevska et al Lobachevska et al., 2022).

Ми не виявили відмінностей у кількості чи величині амілопластів у клітинах ніжки спорогону. Однак асиметричне розміщення спорового мішка в коробочці *F. hygrometrica* та її дорзовентральність можуть свідчити, що формування коробочки, її просторова орієнтація детермінуються на ранніх етапах розвитку спорофіту. В інших видів така асиметрія не спостерігалася. Функціональний зв'язок морфогенезу з переорієнтацією гравітропізму дає

можливість припустити, що згин ніжки спорогону здійснюється у компетентних клітинах статоцитів. У процесі згину відбувався перерозподіл амілопластів і їх редукція.



Рис. 14. Поступовий гравітропний згин спорогона *Bryum argenteum*; стрілками позначені місця нагромадження крохмалю у шийці коробочки. Штрих = 200 мкм.

В лабораторних умовах спорогони розвивалися нормально. Унаслідок згину ніжки ріст спорогону відхилявся від вертикального, негативно гравітропного, і поступово ставав позитивно гравітропним, а просторова орієнтація коробочки змінювалася від горизонтально нахиленої у *Rosulabryum capillare* (Hedw.) J.R. Spence, *Funaria hygrometrica*, до пониклої в *Pohlia nutans*, або повислої у *Bryum argenteum*. Сформовані видоспецифічні коробочки не відрізнялися від зібраних у природі. В умовах, коли дернинки перевернули на 180° верхівкою спорогону вниз, вони завершували свій розвиток, але утворювалися прямовисні симетричні коробочки.

Горизонтальне кліноостатування культур по-різному впливало на просторову орієнтацію й форму коробочки. У *Funaria hygrometrica* і *Pohlia nutans* утворилися майже прямі коробочки без видимого згину ніжки спорогону. У *Bryum argenteum* утворювалися симетричні, видовжено-циліндричні коробочки, а також викривлені, кулясті, тоді як у природі форма коробочки була правильна, з короткою здutoю шийкою. Просторова орієнтація коробочок *R. capillare* змінювалася менше. Найбільше змінених форм коробочок було у *Funaria hygrometrica*. Кліноостатування знижувало не лише реорієнтацію ніжки спорогону, а й інгібувало диференціацію тканин коробочки, що робило неможливим повний розвиток спорогону. Зовні спорогони виглядали як зрілі, але з недиференційованою спорогенною тканиною або стерильними спорами.

Визначено, що під час росту та розвитку спорофіту збільшується кількість статоцитів і відбувається їх перерозподіл у ніжці спорогону. Згин ніжки часоно і локально збігається з нагромадженням максимальної кількості амілопластів у сенсорній зоні на межі переходу

ніжки в коробочку. Результати досліджень свідчать, що просторова реорієнтація верхівки спорофіту з негативно гравітропного на позитивний тісно пов'язана з ростом і формуванням коробочки та перерозподілом амілопластів у клітинах сенсорної зони спорофіту.

Отже, гравітаційне поле впливає на формування видоспецифічних коробочок мохів. Проявляється це по-різному: в одних видів гравітація діє на просторову орієнтацію коробочки, в інших і на її форму. Рецепторами гравістимулу є амілопласти, які формуються вже на ранніх стадіях розвитку спорофіту. Можлива співучасть фітогормонів у гравіморфогенезі спорофіту. Вперше показано, що активація апікального ростового центру спорофіту відбулася унаслідок поступової редукції базального росту, що зумовило просторову гравізалежну переорієнтацію росту з позитивного на негативний гравітропізм. Характерні морфологічні, фізіологічні і репродуктивні властивості мохоподібних є пристосуванням, що дає їм змогу поселятися і виживати у різних умовах. Впливаючи на просторову орієнтацію (рис. 15) та морфогенез спорофіту гравітація розширює амплітуду ростових реакцій і адаптацію мохів.



Rosulabryum capillare
(Hedw.) J.R.Spence



Bryum argenteum Hedw.



Tortula subulata Hedw.

Рис. 15. Гравітропізм спорогонів листяних мохів у природних умовах: позитивний у *Rosulabryum capillare* і *Bryum argenteum*; спорогони *Tortula subulate* не реагують на гравітацію і ростуть фототропно вверх. Фотографії взято з монографії J.M. Glime, 2017 (Bryophyte ecology. Chapter 5-9. Ecophysiology of development: Sporophyte, pp. 2-48). Фото зроблено Michael Lüth і David T.Holyoak.

Окрім того, що морфологічна форма коробочки є таксономічною видоспецифічною ознакою, схилена коробочка у природних умовах має чітку адаптивну функцію. Із нахилених коробочок спори висіваються поблизу батьківських дернин, тому види мохів-піонерів, поселяючись на порушених субстратах, завдяки локальному швидкому закріпленню дернин надалі інтенсивніше розростаються на більших територіях (Лобачевська та ін., 2022). Переважно це мезофіти, приурочені до зволжених місць і сприятливих для проростання спор. Отже, впливаючи на розвиток мохів від проростання спор до формування спорофіту гравітація інтегрується у багатоетапний процес локального поширення і заселення нових місць, що може мати значення для морфологічної еволюції фенотипу і прикладної екології бріофітів (Hurtado et al., 2022).

5. ПРОГРАМА ДОСЛІДЖЕНЬ МОХІВ У КОСМОСІ, РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТІВ

Наука про життя в космосі набула нового значення у зв'язку з планами світової спільноти щодо освоєння Місяця та Марса, житлових поселень та роботи персоналу станцій. Відкритий космос, як добре відомо, є токсичним для всього живого, тому космонавти живуть і працюють у штучному середовищі, створення та підтримка якого забезпечується фізико-хімічними системами (Кордюм, Чепмен, 2007; Кордюм, 2023). Вищі рослини як джерела кисню, їстівної маси та оновленої води є ключовими компонентами таких систем. Фундаментальні дослідження механізмів адаптації живих систем до умов космічного польоту, зокрема тривалої дії мікрогравітації, є теоретичною основою біомедичного забезпечення космонавтів, надійності тривалих польотів у далекому космосі.

Важливим напрямком програми космічної біології NASA є біологія рослин: ріст та фізіологія, репродуктивна та еволюційна біологія, вплив космічного польоту на процеси розвитку. Залежно від завдань космічної біології принципове значення завжди має об'єкт дослідження. Для експериментів з рослинами часто використовують *Arabidopsis thaliana* L. Heynh., *Triticum aestivum* L., *Brassica rapa* L., *Pisum sativum* L., *Lepidium sativum* L., *Phaseolus vulgaris* L. До комплексних досліджень гравічутливості долучають також культури класу найпростіших джгутикових, водоростей і мохів.

Переваги мохів як зручної експериментальної моделі дають можливість працювати з великими вибірками клітин гаметофіту, зокрема у дослідженнях граві- і фототропізму, коли перцепція і трансдукція стимулу відбувається в одній апікальній клітині протонеми. Було запропоновано два види мохів – *Ceratodon purpureus* і *Tortula caucasica*. *C. purpureus* використовують у дослідженнях механізмів гравітропізму, *T. caucasica* переважно для вивчення морфогенезу і чергування поколінь як зміну гаметофітної та спорофітної стадій онтогенезу (Рипецкий, 1985). Обидва експерименти доволі прості, проте інформативні.

Згідно з протоколом експерименту були заплановані різні варіанти вирощування протонеми на червоному світлі (ЧС) і у темряві (рис. 16). Завданням експерименту було визначити: чи в умовах мікрогравітації фототропізм і гравітропізм взаємодіють за низької інтенсивності світла, як відбувається осідання амілопластів, формування тропізмів та диференціація протонеми.

1														
2														
3														
4														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

Тривалість експерименту, доби

Рис. 16. Програма експерименту на космічному кораблі „Columbia”: 1) контроль, днів темряви + фіксація; 2) 7 днів ЧС + фіксація; 3) 7 днів ЧС + 7 днів темряви + фіксація; 4) 7 днів темряви + 2 дні ЧС + фіксація.

Встановлено, що в умовах мікрогравітації диференціація клітин хлоронемі у каулонемі відбувалася без змін як звичайно на Землі. Високі інтенсивності $1,5 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ червоного світла пригнічували гравітропізм і навіть на інтенсивності $\geq 140 \text{ нмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ переважав фототропізм. В умовах сталої величини 1 g на Землі гравітропізм проявлявся, якщо інтенсивність освітлення була нижча, ніж $140 \text{ нмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, в межах $17\text{-}70 \text{ нмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. На таких інтенсивностях фототропізм на Землі був нечіткий, але виразний в умовах реальної мікрогравітації. Частота негативно фототропних стелонів змінювалася залежно від інтенсивності і тривалості освітлення та положення апікальної клітини під час освітлення. Отже, взаємодія між гравітропізмом і фототропізмом, як і конкуренція між тропізмами залежить від інтенсивності освітлення і гравітаційної сили, що спільно впливають на прояви гравітропізму і фототропізму та полярність росту (Демків и др., 1997; Kern, Sack, 1999; Kordyum, Guikema, 2001; Kern et al., 2005; Кордюм, Чепмен, 2007; Хоркавців та ін., 2015).

Слід зауважити, що орієнтація росту апікальних клітин і осідання пластид у мікрогравітаційному просторі відрізнялися від наземного контролю. Слід допустити, що гравітація на Землі компенсує скриті внутрішні механічні сили, які діють на амілопласти. Щодо просторової організації росту протонемі, очевидно, ріст зумовлений біоелектричною детермінацією полярності, організацією елементів цитоскелету та мікрофібрил целюлози, на які впливає земне тяжіння. Важливі також дані про розміщення та щільність везикул Гольджі під час зміни форми росту. Дослідження у космосі наводять й на думку про структурні зміни пластид та взаємодію між пластидами та ядром, що корелює з тропізмом протонемі.

6. ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОДІЇ ФОТО-/ ГРАВІТРОПІЗМУ РОСЛИН

Світло потужний фактор життєдіяльності рослин, фотосинтезу, фізіологічних процесів, росту і розвитку. Векторна дія світла важлива для фототропізму, фотоморфогенезу, індукції диференціації спор та зигот.

Гравітація має явно виражену поляризуючу дію і сталу величину, що у будь-якій конкретній точці простору практично не змінюється впродовж усього розвитку рослинного організму. Відповідно, рослини розвинули ростові рухи, зокрема фото- і гравітропізм та механізми для їх функціонування, які дають можливість створювати нові осі росту та коректувати своє положення у просторі, використовувати поживні речовини і уникати дії несприятливих факторів. Рослини коригують свій ріст відносно світла та гравітації завдяки фото-, граві- і автотропізму, а результатом взаємодії світла і гравітації є зовнішній вигляд рослин, що передусім визначається типом галуження головних і бокових гілок, які закладаються під певним кутом, що залежить від поляризуючої дії гравітації.

Протонема мохів є об'єктом дослідження тропізмів завдяки унікальному поєднанню перцепції стимулів і ростової активності в межах однієї апікальної клітини. На білому світлі протонема росте плагіотропно по поверхні субстрату, за наявності градієнта світла – позитивно фототропно, у темряві реагує на гравітацію і росте негативно гравітропно. Такі форми росту, залежні від світла і гравітації, стали об'єктом вивчення взаємовпливу факторів на просторову орієнтацію протонеми.

Більшість фотоморфологічних ефектів рослин опосередковані активністю червоного і синього світла та їх рецепторами – фітохромом і криптохромом. В звичайних світлових умовах рослини одночасно перебувають під дією декількох зовнішніх поляризуючих факторів. Виникає питання як відбувається взаємодія між ними під час росту і розвитку рослин. Проведено чимало порівняльних досліджень впливу світла і гравітації на процеси росту і тропізми органів рослин (Демків и др., 1997; Kelly, Leopold, 1992; Digby, Firn, 1995; Hangarter, 1997; Lin, Sauter, 2018; Sato et al., 2015; Manzano et al., 2020, 2021, 2022; Roychoudhry et al., 2022). Розміщення листків трав'янистих рослин визначається гравітаційним полем Землі. Тому морфологічно верхня сторона листка повернена до вершини рослини і до світла, відповідно й до вектора сили тяжіння. Якщо перевернути рослину вершиною вниз, а стебло не може вигнутися вверх, тоді листки повертаються на 180° і знову розміщуються відповідно до дії земного тяжіння (Sinnott, 2015). Встановлено, що напрям росту протонеми мохів контролюється щонайменше трьома стимулами, відповідальними за фото-, граві- та автотропізм, а взаємодія граві- та фотостимулів залежить від інтенсивності і спектру світла, зокрема синього і червоного (Демків и др., 1997; Demkiv et al., 1998; Хоркавців, Демків, 1999).

Для фотоморфогенезу мохів функціонально активнішим є червоне світло, на відмінну від квіткових рослин, у яких стимуляція фототропізму відбувається в синій області спектра 400 – 470 нм і на низьких інтенсивностях освітлення (Демків, Сьтнік, 1985; Leopold, 1964; Mohr, Schopfer, 1992).

6.1. АНАЛІЗ ВПЛИВУ ЧЕРВОНОГО І СИНЬОГО СВІТЛА НА ГРАВІТРОПІЗМ ПРОРОСТКІВ СПОР *CERATODON PURPUREUS* І *FUNARIA HYGROMETRICA*

Візуальним результатом взаємодії світла і гравітації є орієнтація тропізмів. Досліджуючи проростання спор *Funaria hygrometrica* і *Ceratodon purpureus* на червоному і синьому світлі встановлено різний ефект світла на гравічутливість проростків, унаслідок неоднакової поглинальної здатності каротиноїдів клітинами *C. purpureus* і фітохрому клітинами *F. hygrometrica* (Пундяк та ін., 2002). Поляризоване біле світло знижувало гравічутливість і орієнтацію проростків спор, що підтверджує гальмуючу дію освітлення на гравітропні реакції.

Таблиця 8

Вплив післядії світла на гравізалежну поляризацію хлоронемних проростків спор *Ceratodon purpureus* і *Funaria hygrometrica*

Умови освітлення, 11 мкмоль·м ⁻² ·сек ⁻¹	Полярна орієнтація проростків відносно вектора гравітації, %	
	<i>Ceratodon purpureus</i>	<i>Funaria hygrometrica</i>
0 (темрява)	75,2 ± 3,8	99,0 ± 1,0
Синє світло	65,0 ± 4,6	52,5 ± 2,3*
0 (темрява)	78,8 ± 5,7*	99,0 ± 1,0
Червоне світло	53,0 ± 6,7*	61,8 ± 3,8*

Примітка:* – позначено величини, що достовірно відрізняються від контролю, $p \leq 0,05$

Як червоне, так і синє світло достовірно зменшувало вплив гравітації на поляризацію спор *F. hygrometrica* (табл. 8). Ріст проростків спор *C. purpureus* відносно вектора гравітації змінювався під впливом синього світла і був рандомічний на червоному світлі. Можна припустити, що для гравізалежного проростання спор *F. hygrometrica* домінуюче значення має фітохромна система, яка поглинає червоне і синє світло (Демків и др., 1997). У гравізалежному проростанні спор *C. purpureus* активними є каротиноїди, що поглинають червоне і не поглинають синє світло (Демків, Сьтнік, 1985).

6.2. ДІЯ ЧЕРВОНОГО СВІТЛА РІЗНОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ ТА СПРЯМОВАНOSTІ НА ГАЛУЖЕННЯ ПРОТОНЕМИ *CERATODON PURPUREUS* І *TORTULA CAUCASICA*

Для визначення взаємодії між світлом і гравітацією у досліджах використали різну інтенсивність червоного світла і направленість бокового освітлення (Демків та ін., 1999; Kern, Sack, 1999; Ripetskyj et al., 1999). На низькій інтенсивності – від 0,2 до 1,0 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹ варіабельність фото- і гравітропізму була висока, але статистично переважав гравітропний ріст. Інтенсивності освітлення вищі від 0,2 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹ інгібували вплив гравітації на фототропізм. На високих інтенсивностях однонаправленого червоного світла (15 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹) протонема *Ceratodon purpureus* росте фототропно без будь-якого прояву гравітропізму. Гравітація знижує поріг чутливості фототропізму, що визначено в експериментах на космічному кораблі „Columbia” (Demkiv et al., 1999; Kern, Sack, 1999; Kern et al., 2005).

Афототропний (нефоточутливий) мутант *C. purpureus* реагував на дію гравітації на червоному світлі, але втрачав гравічутливість, якщо фітохромну функцію мутанта відновили екзогенним білівірдином (Lamparter et al., 1997; 1998). Це підтверджує наявність від’ємної кореляції між граві- і фототропізмом. За результатами порівняльних досліджень впливу червоного і синього світла на гравітропізм встановлено, що червоне світло інгібувало гравітропний ріст більше, ніж синє. 4-год експозиція протонеми *Ceratodon purpureus* на червоному світлі затримувала гравіреакцію, порівняно з темрявою, на 24 год., а на синьому – на 12 год. (Хоркавців, Демків, 1999; 2009). Післядія червоного світла також була тривалішою від синього, а гравітропізм відновлювався швидше після освітлення синім світлом.

Результати аналізу взаємовпливу світла і гравітації свідчать про залежність розвитку протонеми *Tortula caucasica* від інтенсивності освітлення і положення рослин відносно вектора гравітації. Під час освітлення гравістимульованої протонеми, орієнтованої як вертикально, так і горизонтально однонаправленим червоним світлом інтенсивністю 3 мкмоль·м⁻²·с⁻¹, галушення та закладання бруньок гаметофорів відбувалося на освітленій стороні, фототропно до джерела світла.

Інші результати отримали після освітлення інтенсивністю 2 мкмоль·м⁻²·с⁻¹. На освітленій стороні вертикально орієнтованої протонеми 96,9 ± 2,2 % бічних галузок і бруньок гаметофорів росли фототропно. Якщо гравістимульовану протонему освітлювали знизу, третина (31,9 ± 5,5 %) відгалужень та бруньок гаметофорів росли негативно фототропно, що зумовлено впливом гравітації (рис. 17).

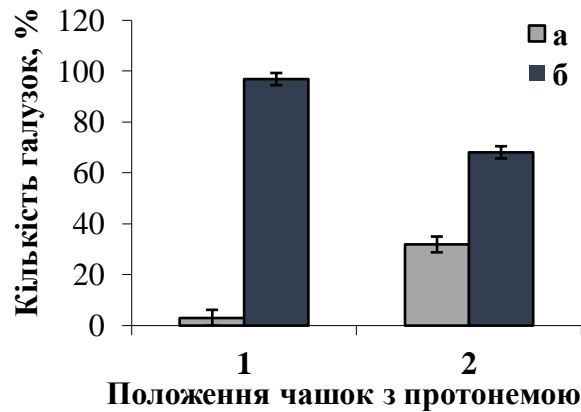


Рис. 17. Вплив червоного світла на галушення гравістимульованої протонеми *Tortula caucasica* залежно від орієнтації чашок з рослинами відносно напрямку освітлення і вектора гравітації; інтенсивність освітлення $2 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$: 1 – вертикально орієнтована протонема, освітлена збоку; 2 – горизонтально орієнтована протонема, освітлена знизу; а – кількість фототропно негативних бокових відгалужень протонеми на затіненому боці протонеми; б – кількість фототропно позитивних галузок на освітленому боці протонеми.

У випадку бокового освітлення вертикально зорієнтованої протонеми червоним світлом інтенсивністю $1 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, третина бокових відгалужень утворювалася на затіненому боці стolonів протонеми і росла негативно фототропно. Характерно, що при освітленні знизу горизонтально орієнтованої протонеми, порівняно з освітленням вертикально орієнтованої протонеми збоку, більше ніж у два рази збільшувалася кількість відгалужень – $76,9 \pm 3,4 \%$ проти $31,7 \pm 3,9 \%$ (рис. 18).

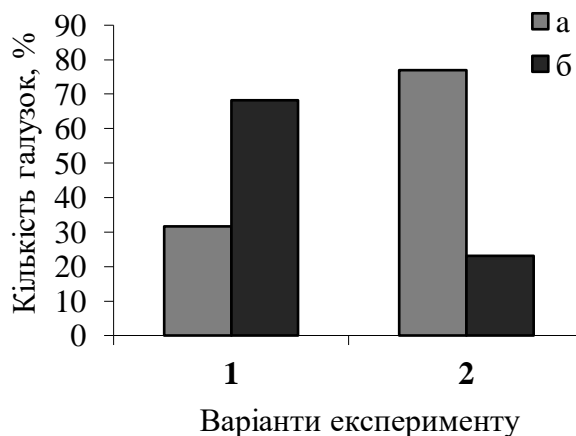


Рис. 18. Вплив гравітації та червоного світла інтенсивністю $1 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ на галушення протонеми *Tortula caucasica*. 1 – вертикально орієнтована протонема, освітлення збоку; 2 – горизонтально орієнтована протонема, освітлення знизу; а – кількість фототропно негативних бокових відгалужень протонеми на затіненому боці протонеми; б – кількість позитивно фототропних галузок на освітленому боці протонеми.

Результати свідчать про стимулюючий ефект взаємодії гравітації і низьких інтенсивностей червоного світла. Негативно фототропно росте протонема *Ceratodon purpureus* на червоному світлі низької інтенсивності (Kern, Sack, 1999), а також під час регенерації ізольованих протопластів *Physcomitrium patens* (Cove, Knight, 1987).

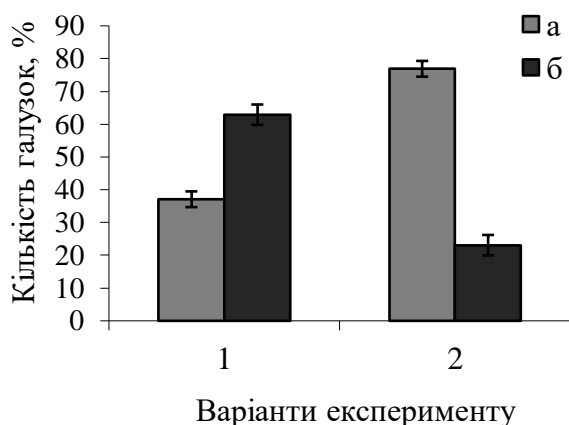


Рис. 19. Вплив червоного світла, інтенсивність $1 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, на ріст горизонтально розміщеної гравістимульованої протонемі *Tortula caucasica* залежно від напрямку освітлення. 1 – освітлення зверху, 2 – освітлення знизу; а – кількість бокових відгалужень та бруньок гаметофорів на затіненому боці протонемі; б – на освітленому боці протонемі.

Освітлення горизонтально орієнтованої протонемі червоним світлом низької інтенсивності знизу стимулює галушення на верхньому (гравінегативному) боці стolonів більше, ніж освітлення зверху, $76,9 \pm 3,4 \%$ проти $62,9 \pm 3,1 \%$ відповідно (рис. 19). Реакцію можна пояснити зміною градієнтну освітлення, зниження котрого посилює гравітаційну дію.

6.3. ВПЛИВ СВІТЛА НА ГРАВІТРОПІЗМ ПРОТОНЕМИ *POHLIA NUTANS* І *CERATODON PURPUREUS*

Гравістимульована протонема *P. nutans* швидко реагує (через 15–20 хв) на бокове червоне світло, а максимальний фототропний згин під кутом $\sim 80^\circ$ утворювався через 8 год. Реакція на синє світло повільніша, ніж на червоне світло, і кут згину не перевищував 12° . Далеке червоне світло також індукувало фотореакцію *Pohlia nutans*, слабшу, ніж червоне світло, кут не перевищував $\sim 51^\circ$ (рис. 20). Те, що протонема *P. nutans* на синьому світлі росте і галузиться, проте швидкість фототропної реакції низька, означає, що синє світло поглинається не лише фітохромною системою, де невеликий пік у синьому спектрі. В реакції на синє світло задіяні дві фотосистеми, причому обидві реверсійно взаємодіють між собою.

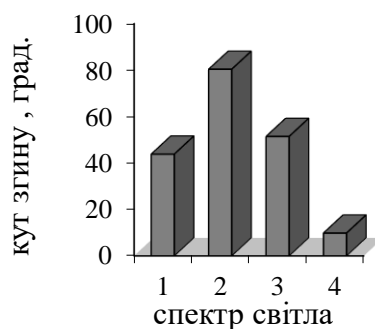


Рис. 20. Вплив світла різного спектрального складу на величину фототропного згину апікальних клітин *Pohlia nutans*: 1 – біле світло, 2 – червоне, 3 – далеко червоне, 4 – синє.

Можливо, що втрата чутливості до синього світла корелює з впорядкуванням фоторецепторів фітохрому, яке різне в апексі ростової зони і вздовж плазмалеми по периферії клітинної стінки (Хоркавців, Демків, 2003). Столони *P. nutans* на червоному і синьому світлі росли позитивно і негативно фототропно, а значення кутів згину позитивного і негативного фототропізму *P. nutans* і *C. purpureus* майже не відрізнялися і були найвищими на червоному світлі (табл. 9).

Таблиця 9

Вплив світла на фототропізм *Pohlia nutans* і *Ceratodon purpureus*: інтенсивність білого світла $40 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$, червоного і синього $11 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$, тривалість освітлення 6 год

Світло	фототропізм ф, град		
	<i>P. nutans</i>	<i>C. purpureus</i>	
	позитивний	позитивний	негативний
Біле	$30,3 \pm 4,0$	$32,0 \pm 1,8$	0
Червоне	$46,6 \pm 2$	$50,1 \pm 4,2$	$53,7 \pm 4,9$
Синє	$21,1 \pm 1$	$20,6 \pm 1,9$	$21,3 \pm 1,7$

Протонема *C. purpureus* неоднозначно реагувала на дію світла і на низьких інтенсивностях столони рослин до джерела світла, а на високих – від нього (рис. 16). Форма фототропного згину була різною: на червоному світлі згин був різкий, на синьому – утворювався повільніше і плавно. Підвищення інтенсивності освітлення до $25 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ стимулювало утворення фотозгину майже під прямим кутом на бокове червоне світло і під кутом $70\text{--}80^\circ$ – на синє (Демків и др., 1997; Демків та ін., 1999). Новою реакцією на червоне світло було переміщення ростової зони верхівкової клітини з апекса на бокову стінку протонеми, це явище відоме як росткування.

Кут згину клітин протонеми *C. purpureus* на інтенсивностях 0,25 – 0,5 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹ синього світла був малий, з підвищенням інтенсивності світла від 1,0 – 1,5 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹ спостерігали стимуляцію негативного фототропізму (рис. 21, табл. 9).

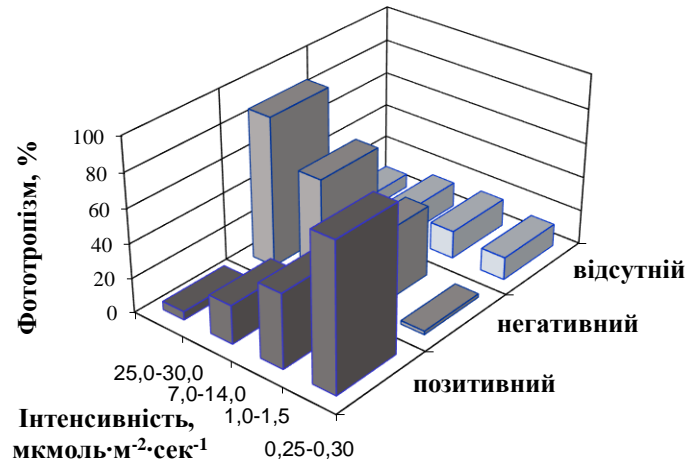


Рис. 21. Вплив різних інтенсивностей синього світла на фототропізм апікальних клітин протонеми *Ceratodon purpureus*.

Для визначення ефективності дії світла і гравітації досліджували вплив почергового освітлення гравістимульованої протонеми *P. nutans* і *C. purpureus* синім і червоним світлом. У досліді, коли рослини росли по 2 год на червоному світлі, тоді на синьому і знову на червоному або початково було синє, потім червоне і знову синє, чергування не вплинуло на напрям фототропізму. Однак, загальна реакція була сильнішою, ніж при 6 год освітленні лише синім світлом і слабшою, ніж за 6 год червоного світла (рис. 22, а). Ще в іншому варіанті, коли послідовність освітлення змінювали не через 2 год, а через 10 хв протягом 6 год, червоне→синє світло діяло ефективніше, ніж за послідовності синє→червоне (рис. 22, б). Світло гальмувало гравітропізм протонеми: якщо чашки з протонемою *P. nutans* переносили зі світла у темряву, реакція на гравістимул відбувалася із запізненням. Повільніше реагувала протонема після освітлення червоним світлом, ніж синім, а через 48 год гравітропний ріст відновлювався повністю (рис. 23). І навіть короткочасне (4 год) освітлення затримувало відновлення гравітропного росту. Для відновлення негативного гравітропізму протонеми після 4 год освітлення червоним світлом, потрібно було вдвічі більше часу, ніж після синього (рис. 23, табл. 10).

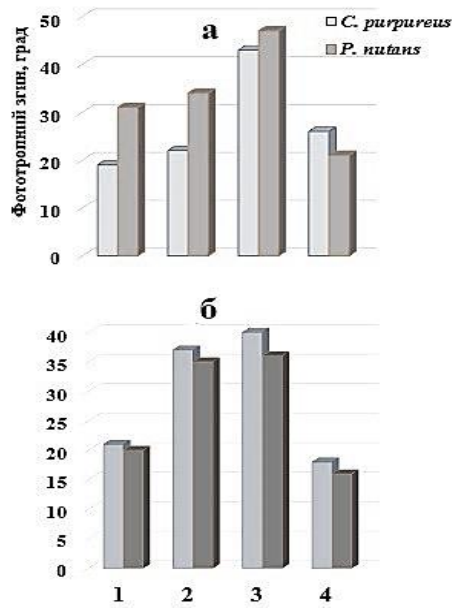


Рис. 22. Почерговий вплив синього і червоного світла на величину фототропного згину апікальних клітин протонеми *C. purpureus* і *P. nutans*. **1** – синє + червоне, **2** – червоне + синє, **3** – червоне, **4** – синє. Чергування світла: **а** – через 2 год; **б** – через 10 хв. Інтенсивність світла $11 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$, тривалість освітлення 6 год.

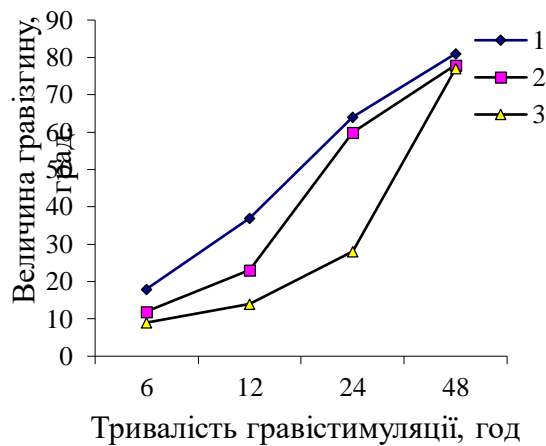


Рис. 23. Відновлення гравітропізму протонеми *Pohlia nutans* через 4 год після освітлення: **1** – контроль, 4-годинна темрява; **2** – синє світло; **3** – червоне світло. Інтенсивність освітлення $11 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$

Час реалізації гравістимулу прямо корелював зі швидкістю седиментації амілопластів в апікальних клітинах протонеми мохів (Young, Sack, 1992; Kern et al., 2005; Демків та ін., 2009). Відомо, що седиментація амілопластів залежить від багатьох чинників, зумовлених станом цитоплазми, особливо „щільністю амілопластів”, яку оцінюють за кількістю пластид, розміром та вмістом крохмальних зерен (Pilet, Saugy, 1987; Konings, 1995; Nakamura et al., 2019).

Таблиця 10

Відновлення гравітропного росту протонеми *Pohlia nutans* після 4 год освітлення; інтенсивність білого світла $40 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$, червоного і синього $11 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ ($t_{0,95} = 2,0$)

Умови освітлення	Тривалість гравістимуляції, год	Кут згину, град	$t_{\text{експ}}^*$	Швидкість росту, мкм/год
Контроль (темрява)	6	$15,8 \pm 1,1$	–	$13,8 \pm 0,9$
	24	$63,8 \pm 2,7$	–	$17,7 \pm 0,9$
	48	$79,7 \pm 3,1$	–	$21,4 \pm 1,1$
Червоне світло	6	$10,6 \pm 1,1$	3,3	$11,7 \pm 0,8$
	24	$16,8 \pm 1,2$	14,6	$16,6 \pm 1,3$
	48	$60,7 \pm 1,3$	5,2	$19,4 \pm 2,0$
Синє світло	6	$14,6 \pm 0,9$	0,8	$13,0 \pm 0,8$
	24	$63,0 \pm 2,4$	0,2	$16,4 \pm 1,4$
	48	$67,7 \pm 2,0$	3,1	$21,8 \pm 2,1$

Дослідження кількості та розподілу амілопластів було першою спробою оцінити тимчасову втрату гравічутливості під дією світла. На червоному і синьому світлі зменшувалася кількість зафарбованих I_2KI пластид, втрачалася їхня зональність, зменшувалася або була відсутня вільна від амілопластів зона у верхівці апікальної клітини і пластиди рівномірно розподілялися по всій довжині клітини. Під дією світла в клітинах загальна кількість пластид збільшувалася, але кількість амілопластів, які фарбувалися I_2KI знижувалася (табл. 11). Значніші зміни були на червоному світлі, ніж на синьому ($t_{\text{експ}} = 4,6$ для червоного світла і $t_{\text{експ}} = 1,5$ для синього). Пластиди були дрібніші ($1,5 \times 1,5 \text{ мкм}$), тоді як у темряві вони були значно більшими ($3,5 \times 3,0 \text{ мкм}$), збільшувалася їх кількість, значно інтенсивнішою ставала люмінесценція хлорофілу. Після освітлення відбувався процес трансформації амілопластів до функціонально активних хлоропластів. У темряві нагромадження крохмалю і відновлення асиметричного розподілу пластид клітини протонеми *Pohlia nutans* після дії червоного світла значно сповільнювалося, порівняно з синім. Вплив на пластиди синього світла такої ж інтенсивності був менший і через дві доби кількість амілопластів в апікальних клітинах не відрізнялася від кількості, що була до насвітлення ($t_{\text{експ}} = 0,1$; табл. 11).

Таблиця 11

Вплив 4-год насвітлення протонеми *Pohlia nutans* на загальну кількість пластид і амілопластів в апікальній клітині; інтенсивність білого світла $40 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$, червоного і синього $11 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$; ($t_{0,95} = 2,0$)

Варіанти дослідів	Кількість пластид /клітину, шт	Кількість амілопластів у гравістимульованій протонемі/клітину, шт.		
		0 год після насвітлення	24 год після насвітлення	48 год після насвітлення
Контроль (темрява)	$42,1 \pm 2,3$	$40,1 \pm 2,1$	$40,7 \pm 2,4$	$41,0 \pm 1,7$
Червоне світло	$60,0 \pm 3,1$ $t_{\text{експ}} = 4,6$	$25,2 \pm 1,5$ $t_{\text{експ}} = 5,7$	$18,6 \pm 1,5$ $t_{\text{експ}} = 7,8$	$34,2 \pm 3,0$ $t_{\text{експ}} = 2,0$
Синє світло	$47,0 \pm 2,3$ $t_{\text{експ}} = 1,5$	$29,2 \pm 1,6$ $t_{\text{експ}} = 4,1$	$31,3 \pm 1,6$ $t_{\text{експ}} = 3,3$	$40,5 \pm 4,1$ $t_{\text{експ}} = 0,1$

Швидкість росту протонеми у темряві після дії червоного світла зменшувалася, тоді як синє світло стимулювало ріст. Швидкість росту поступово збільшувалася і за 8–10 год не відрізнялася від контролю та досягала $19,4 \text{ мкм/год}$ (Хоркавців, Демків, 1999). Існує явна синхронність між відновленням росту і градієнтом Ca^{2+} , ріст міг повернутися до норми за умови виникнення градієнтного розподілу Ca^{2+} (Демків, Сьтнік, 1985). Відновлення росту протонеми *P. nutans*, однак, не збігалось з відновленням гравітропізму. Очевидно, це зумовлено тим, що ріст корелює з градієнтним розподілом кальцію, а гравітропізм – з структурною будовою і функціональною активністю амілопластів, які зазнали більших змін на червоному світлі, ніж на синьому. Червоне світло призвело до утворення дрібних пластид з низьким вмістом крохмалю. Навіть у базальній частині апікальної клітини, де пластиди у темряві довгі веретеноподібні ($4,0 \times 2,5 \text{ мкм}$), вони ставали круглими і дрібними ($1,5 \times 1,5 \text{ мкм}$). Зміна основного сенсорного апарату, очевидно, є причиною блокування червоним світлом гравінегативного росту. Подібного впливу на градієнтний розподіл Ca^{2+} і властивості пластид, що могло послабити вплив кальцію на гравіреакцію, не спостерігали після дії синього світла

Тропічна реакція обидвох видів на дію червоного і синього світла відрізнялася типом згину: на червоному кут гострий і час появи менший, ніж на синьому світлі. На червоному світлі утворювалося вип'ячення апікальної клітини і формувався росток, чого не було на синьому світлі (Демків, Сьтнік та др., 1985; Демків та ін., 1998; Хоркавців, Демків, 1999). На тривалі освітлення різними інтенсивностями червоного і синього світла протонема *Pohlia*

nutans реагувала позитивно фототропно. Апікальні клітини *Ceratodon purpureus* лише на низьких інтенсивностях росли позитивно фототропно, а на високих утворювалися негативно фототропні згини незалежно від довжини хвилі. Абсорбуючий світло рецептор діє постійно, і якщо рецептором є фітохром, то його продуктом можуть бути метаболіти, що утворилися внаслідок фітохром-регульованого білкового фосфорилування чи протеїн-кіназної активності або інших реакцій фітохрому (Hartmann, Weber, 1988). Це нові ідеї для дослідження фітохром-залежного перетворення сигналу. Низькі інтенсивності синього світла зумовлюють позитивну реакцію, очевидно, також унаслідок активації фітохромної пігментної системи. На високих інтенсивностях характер дії світла (червоного і синього) змінюється через низку причин. Високі інтенсивності можуть інактивувати пігменти або подіяти якимось іншим чином, але як і на низьких інтенсивностях світла можуть діяти через реверсійну систему червоного – далеко червоного світла. Проте у цьому випадку різко збільшується вплив синього світла, очевидно, за участю інших рецепторів, наприклад флавіно-протеїдного комплексу або фікобілінів, спрямовуючи реакцію «слабкого» світла – позитивний фототропізм, на реакцію «сильного» світла – негативний фототропізм (Leopold, 1964; Libbert, 1974; Sinnott, 2015).

Спектри дії позитивного і негативного фототропізму ідентичні, тому фоторецептори повинні бути одні і ті ж. І пігменти, котрі абсорбують синє світло, і фітохромна реверсійна система червоного↔далеко червоного світла (660–730 нм) опосередковано відповідальні за фототропні реакції протонеми мохів. Що стосується значення негативного фототропізму, то це може бути захисна функція або адаптація, яка регулює поглинання світла й оптимізує ріст залежно від умов освітлення (Hartmann, Weber, 1990). Той факт, що для фототропізму мохів ефективно червоне і синє світло, може свідчити про взаємодію фоторецепторів. На таку думку наводять експерименти, в яких чергували червоне і синє світло (рис. 22). 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, а потім синє, то це майже вдвічі посилює фототропну реакцію, порівняно з чергуванням синє→червоне світло. Отже, послідовність червоне→синє світло для протонеми є ефективнішою, ніж синє→червоне світло. Підсилення фототропної реакції синього світла в етіюльованих квіткових рослинах також відбувалося після попередньої експозиції їх на червоному світлі (Leopold, 1964). Так, для *Cassia fasciculata* показано, що фітохром є посередником складання листків за участю Ca^{2+} -залежного процесу; рецептор синього світла контролює розгортання листків, яке порушується модуляторами Ca^{2+} -каналів. Реакція здійснюється за наявності Ca^{2+} , який може мобілізуватися із внутрішніх

запасів (Roblin et al., 1989). Вважають, що під час рухів листків *C. fasciculata* фітохром регулює вихід Ca^{2+} з апопласту, а синє світло індукує потік Ca^{2+} з вакуолі і ендоплазматичного ретикулуму.

Різна фототропна реакція протонеми у досліді з чергуванням червоного і синього світла могла відбутися унаслідок того, що червоне світло активує інтенсивність екзоцитозу кальцію, тоді як синє світло впливає на внутрішні потоки і розподіл Ca^{2+} (Hartmann, 1984; Hock, 1995; Nick, Furuya, 1996; Nick, Schäfer, 1994). Освітлення спочатку червоним світлом, а потім синім посилює підвищення концентрації цитозольного Ca^{2+} як однієї з найшвидших реакцій на дію світла (Хоркавців, Демків, 1993; Naußer et al., 1984; Erpel, 1990), а швидке нагромадження Ca^{2+} активує ферментативні системи та метаболічні процеси. Одночасно з цим включаються енергетично залежні клітинні помпи, що викачують кальцій з цитозолу, однак синє світло, подане через 10 хв після червоного індукує вихід Ca^{2+} з вакуолі і ендоплазматичного ретикулуму, підтримуючи високий вміст Ca^{2+} у цитозолі. Якщо початково подати синє світло, у клітинах в основному відбувається вихід Ca^{2+} з внутрішніх депо, а вслід за ним червоне світло активує як екзоцитоз Ca^{2+} , так і вихід його з клітин (Hock, 1995; Nick, Furuya, 1996). 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, призводить до змін, які переходять у коливальний процес (Хоркавців, Демків, 1993), і мабуть тоді виникають осциляції вмісту Ca^{2+} , а послідовності червоне→синє, синє→червоне по-різному модифікують амплітуду такого осциляційного процесу.

6.4. РЕВЕРСІЯ ГРАВІТРОПІЗМУ ПІД ВПЛИВОМ СВІТЛА

Синє освітлення, крім того, що інгібувало гравітропізм, якісно змінювало напрям росту *Ceratodon purpureus* (рис. 24). Якщо орієнтували синє світло інтенсивністю $6 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ перпендикулярно до площини росту, протонема росла позитивно гравітропно донизу як, наприклад ризоїди *Chara*. Очевидно тому, що був заблокований фототропізм або долучився інший механізм гравіконтролю. Клітини протонеми зберігали гравічутливість, але змінювалася орієнтація росту. Ріст стolonів не був чітко лінійний і дещо розбалансований, через що форма дернина відрізнялася від дернин з типовим гравінегативним ростом (рис. 24). Відомо, що низькі інтенсивності світла порушували регенерацію протопластів *C. purpureus* і клітини втрачали здатність до полярного утворення позитивно чи негативно фототропних ростків (Wagner, Sack, 1998). Отже, система гравічутливості апікальних клітин протонеми стабільно включає гравіперцепцію сигналу і трансдукцію стимулу в гравітропізм, орієнтація якого може бути перемінною.



Рис. 24. Негативно (а) і позитивно (б) гравітропний фенотип протонемної дернинки *Ceratodon purpureus*.

Порівнюючи реакцію протонемі на червоне і синє світло, припускаємо, що модуляція гравітропізму здійснюється, принаймні, через дві фоторецепторні системи. Червоне світло через фітохромну систему інгібує гравітропізм, а синє, діючи через криптохром або інший рецептор синього світла, не тільки послаблює гравітропізм, а й змінює його напрям. Нестійку зміну гравітропізму *C. purpureus* встановили під час поділу клітин (Cove et al., 2006). Подібний ефект відомий також для стolonів *Physcomitrium patens* (Cove, Quatrano, 2006), які після кліноостатування змінили гравітропну реакцію. Для обох видів використали мутантні лінії і показали, що гравітропізм – генетично закріплена форма росту. Синє світло змінювало напрям росту лише дикої форми *C. purpureus* і не впливало на мутантну. Можливо, що генний продукт відповідальний за гравітропізм дикої форми, є світлозалежним білковим репресор. На підставі генетичного аналізу групи мутантів *C. purpureus* з різною орієнтацією до вектора гравітації зроблено висновок, що контроль гравіфенотипів здійснює один ген, продукт активності якого відповідальний за упорядкування і орієнтацію росту (Lamparter et al., 1997; 1998; Cove et al., 2006).

7. ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ГРАВІЗАЛЕЖНОГО РОСТУ ПРОТОНЕМИ

7.1. УЧАСТЬ Ca^{2+} У ГРАВІТРОПІЗМІ ПРОТОНЕМИ: АКТИВНІСТЬ, ДИНАМІКА ТА РОЗПОДІЛ ІОНІВ

Встановлена залежність розвитку гаметофіту мохів від спектрального складу світла і полярного перерозподілу іонів Ca^{2+} (Sytник et al., 1989; Demkiv et al., 1998; Демків та ін., 2006; Хоркавців та ін., 2015) були передумовою для детального аналізу участі кальцію, як універсального регулятора морфогенезу і „вторинного месенжера”, у процесах гравічутливості і гравітропізмі. Апікально–базальний градієнт іонів Ca^{2+} є основою біоелектричної полярності клітин з верхівковим типом росту (Chatterjee et al., 2000; Cove et al., 2006; Chebli, Geitmann, 2011; Lobachevska et al., 2022). Допускають, що мембрано–зв’язаний Ca^{2+} регулює ріст клітин розтяганням і спільно з вільним кальцієм є посередником у передачі сигналу в статоцитах (Демків, Сьтник, 1985; Kordyum, Guikema, 2001; Kordyum, 2003, 2014; Pouliquen et al., 2017). Сучасні технології дають можливість поєднати дослідження вільного і мембрано-зв’язаного кальцію, оскільки малоімовірно, що обидва системні комплекси діють незалежно.

Переконливою моделлю градієнтного переміщення Ca^{2+} є гравітропна реакція. Через 10 хв після гравістимуляції колеоптилів кукурудзи відбувався латеральний потік Ca^{2+} і лише через 60 хв вдалося виявити латеральний перерозподіл ауксину (Cove et al., 2006; Nick, 2011; Monshausen et al., 2011; Kordyum, 2014). Зміни у розподілі комплексу кальцію з хлоротетрацикліном (Ca^{2+} ·ХТЦ) виявилися через 4 год після освітлення протонеми мохів, причому більшим був вплив червоного світла, ніж синього у *Pohlia nutans* і менший у *Ceratodon purpureus* (рис. 25).

Дія червоного світла призводила до збільшення рівня Ca^{2+} і втрати апікально-базального градієнта. Синє світло теж підвищувало вміст кальцію, однак менше послаблювало градієнтний розподіл іонів. Для усіх варіантів помилка середнього значення не перевищувала 7 – 10 %. Градієнт Ca^{2+} після перенесення освітленої протонеми у темряву відновлювався через 4 – 6 год, швидкість росту протонемив усіх варіантах була приблизно однаковою.

Загальне хелатування іонів кальцію з використанням ЕГТА знижувало вміст Ca^{2+} в протонемі і пригнічувало гравітропну реакцію протонеми (табл. 12). З підвищенням концентрації ЕГТА більша кількість іонів Ca^{2+} зв’язувалася з хелатором, тим істотнішим був вплив на гравітропізм і довжину згину, що підтверджує участь кальцію у гравітропній реакції рослин.

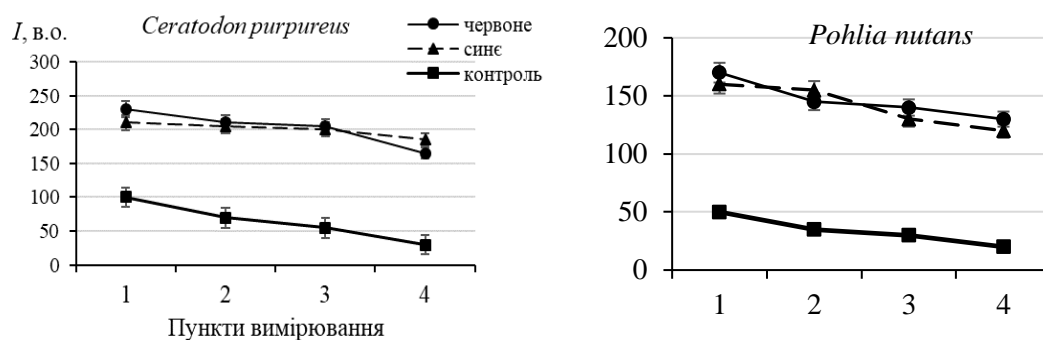


Рис. 25. Інтенсивність флуоресценції комплексу Ca^{2+} -ХТЦ в апікальних клітинах протонемі *Ceratodon purpureus* і *Pohlia nutans* після 4 год освітлення червоним і синім світлом. Вимірювали флуоресценцію в 4 місцях апікальної клітини: 1 – в апексі, 2 – перед ядром, 3 – за ядром, 4 – перед клітинною перетинкою; довжина апікальної клітини – 100 мкм.

Таблиця 12

Вплив ЕГТА на величину гравітропного згину протонемі *Pohlia nutans*,
6 год гравістимуляції ($t_{0,95} = 2,0$)

Концентрація ЕГТА, мкмоль/л	Гравітропний згин, град	$t_{\text{експ.}}$	Приріст столонів, мкм	Кількість проаналізованих столонів
0 (контроль)	$17,4 \pm 0,4$	-	$128,8 \pm 9,2$	100
50	$16,6 \pm 0,8$	0,9	$131,4 \pm 5,8$	100
100	$10,0 \pm 0,6$	10,3	$111,8 \pm 4,2$	80
500	$7,5 \pm 0,5$	15,5	$74,8 \pm 4,4$	80

Важливою умовою для гравітропного росту є транспорт кальцію. Для забезпечення полярного росту як стебел, так і коренів під час гравістимуляції має значення не так рівень кальцію, як його активне полярне переміщення у клітині (Lee et al., 1983; Хоркавців та ін., 2002; Toyota, Gilroy, 2013; Singh et al., 2016; Su et al., 2020). У верхівкових клітинах нитчастих систем, наприклад, у протонемі мохів, пилкових трубках *Lilium*, корневих волосках *Zea* домінує апікально–базальний градієнт мембрано–зв’язаного кальцію (Демкив и др., 1997; Hartmann, Weber, 1988; Morita, 2010; Salmi et al., 2011; Geitmann, 2007).

Апікальні клітини гравітропної протонемі *P. nutans* мали найвищу флуоресценцію мембрано–зв’язаного кальцію в апексі, на досить високому рівні флуоресценція Ca^{2+} зберігалася в апікальній частині клітини і різко знижувалася до основи (рис. 26, 27). ХТЦ-реакція відображає вміст кальцію клітинних мембран, тому візуальний градієнт Ca^{2+} -ХТЦ

зумовлений кальцієм мембран органел (Heslop–Harrison et. al., 1985; Pinillos, Cuevas, 2008; Braun, Richter, 1999; Kanchiswamy et al., 2014), зокрема ендоплазматичного ретикулюма, везикул Гольджі і мітохондрій, що концентруються в зонах росту.

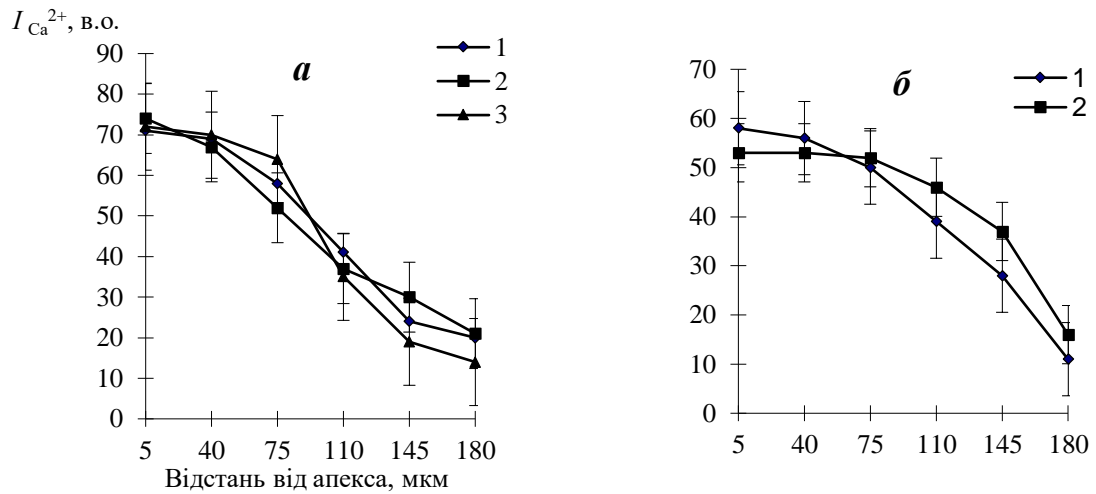


Рис. 26. Інтенсивність флуоресценції кальцію в апікальній клітині протонемі *Pohlia nutans*: **а**) тривалість гравістимуляції (1 – 0 год, 2 – 0,5 год, 3 – 1 год); **б**) 1 – гравітропна протонема, 2 – після 14 днів кліностакування.

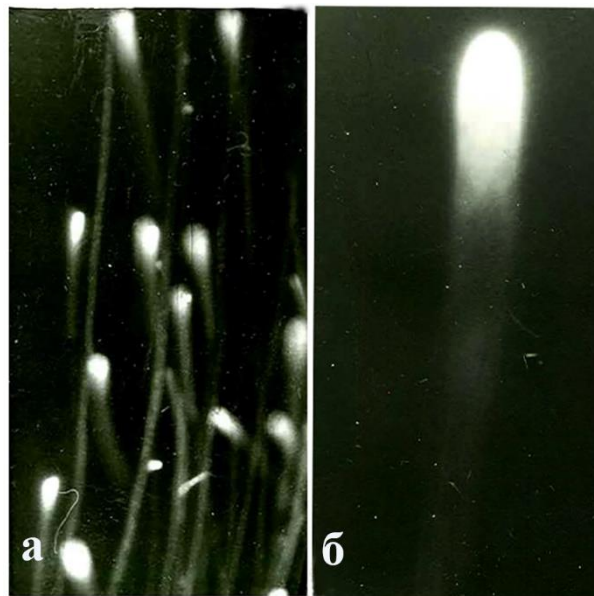


Рис. 27. Флуоресценція Ca^{2+} в апікальних клітинах протонемі *Pohlia nutans*: **а** – зб.: 100×; **б** – зб.: 300×

Апекс клітин є центром ростової активності і локальним місцем входу іонів Ca^{2+} , звідки формується апікально-базальний градієнт та підтримується висока концентрація кальцію (Heslop–Harrison et. al., 1985; Pinillos, Cuevas, 2008; Braun, Richter, 1999; Kanchiswamy et al.,

2014). Не знайдено значних відмінностей в розподілі Ca^{2+} між гравітропною протонемою і після кліностагування (рис. 26 а, б). Зберігався той же апікально–базальний градієнт Ca^{2+} : висока інтенсивність флуоресценції в ростучій верхівці клітини і низька в основі. Градієнтний розподіл мембрано-зв'язаного кальцію підтримується за різних умов і є основою полярності та направленої росту в сторону вищої концентрації катіона. Показано, що цитозольний Ca^{2+} у клітинах з апікальним типом росту також розподіляється нерівномірно, з максимумом у верхівці клітини (Шевченко, 2012; Hasenstein, 2009). У цьому полягає особливість апікального росту протонемі. Якщо червоним світлом порушили градієнтний розподіл Ca^{2+} , клітини втрачали здатність до перцепції гравістимулу (Демків и др., 1997; Хоркавців та ін., 2002).

Ріст апікальних клітин протонемі обмежений верхівкою і згин формується внаслідок зміщення ростового центра. Наочним прикладом такого зміщення є індуковане червоним світлом вип'ячення бокової стінки перпендикулярно до росту головного столону, якому передує локальне переміщення Ca^{2+} (Демків и др., 1997). З цієї зони найвищого вмісту Ca^{2+} починає формуватися нова полярність і новий напрям росту. Якщо застосувати кальцієві блокатори (хлорпромазин, ВАРТА), то ріст припиняється (Хоркавців, Демків, 1993; Pierson et al., 1994; Хоркавців та ін., 2015). Блокатори Ca^{2+} -каналів, інгібітори кальмодуліну та/або Ca^{2+} /кальмодулінзалежних протеїнкіназ (наприклад, KN-93), також стимулювали зміни в гравітропізмі (Sinclair, Trewavas, 1997; Lu, Feldman, 1997; Baldwin et al., 2013). Експериментально визначена роль Ca^{2+} у модуляції позаклітинного рН вздовж гравістимульованих кінчиків коренів *Arabidopsis*, як відповідь на дію ауксину (Monshausen et al., 2011). Нещодавно для вимірювання цитозольного кальцію в статоцитах коренів *Brassica napus* в умовах мікрогравітації використали новий чутливий метод преципітації піроантимонату. Визначено, що зміни у нагромадженні Ca^{2+} відбуваються на початку і по завершенні гравістимуляції навіть при незначному зміщенні пластид (Bizet et al., 2018).

7.2. АКТИВНІСТЬ Ca^{2+} -АТФАЗИ У КЛІТИНАХ ПРОТОНЕМИ МОХІВ *POHLLIA NUTANS*, *CERATODON PURPUREUS*, *PTYCHOSTOMUM IMBRICATULUM*

Функціональним показником змін у транспорті кальцію є активність Ca^{2+} -АТФази (Yadav, 2012; Brini et al., 2013; Park, Shin, 2022). В ростучих метаболічно активних клітинах протонемі підвищується функція Ca^{2+} -АТФази і відбувається локальне базипетальне підвищення активності ферменту (Хоркавців та ін., 2002). Аналіз локалізації Ca^{2+} -АТФаз з використанням фосфат азотолів (Pearse, 1960; Burstone, 1962; Jensen, 1962) свідчить про певну закономірність у розподілі продукту реакції. Найбільша кількість зв'язаного барвника була у зоні перетинки між апікальною і субапікальною клітинами, у навколядерній ділянці апікальної клітини і в зоні локалізації пластид, причому інтенсивніше фарбувалася цитоплазма

клітини нижче від ядра (рис. 28). Тому активний базипетальний транспорт Ca^{2+} в апікальній клітині протонеми відбувається за участю Ca^{2+} -АТФази.

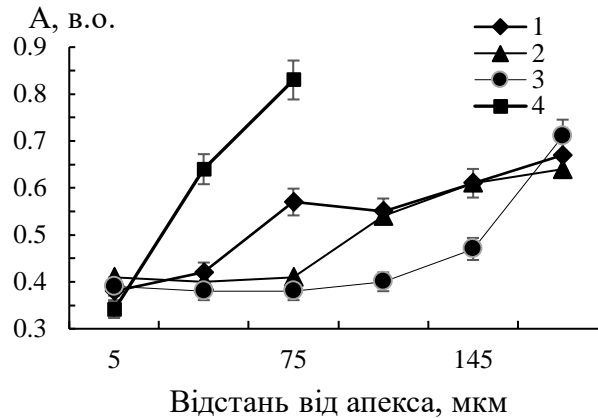


Рис. 28. Розподіл цитохімічної активності Ca^{2+} -АТФази (відн. од.) в апікальних клітинах протонеми і в ростку *Pohlia nutans*, довжина апікальної клітини 200 мкм, довжина ростка 40 – 60 мкм: 1 – гравітропна протонема (контроль), 2 – 2 год гравістимуляції, 3 – 14 днів кліностакування, 4 – росток.

Характер реакції Ca^{2+} -АТФази в гравістимульованій протонемі і після кліностакування порівняно з контролем істотно не відрізнявся (рис. 20). Низька активність ферменту була в апікальному домені верхівки клітини. Після гравістимуляції, як і після кліностакування, різниця активності Ca^{2+} -АТФази між апексом і базальною частиною клітини збільшувалася. Отже, кальцієві потоки за цих умов не припинялися, завдяки чому зберігся градієнтний розподіл катіона по усій довжині столону. Незважаючи на участь Ca^{2+} в реалізації гравітропного стимулу, латеральний перерозподіл Ca^{2+} в клітинах протонеми виявити не вдалося.

Градiєнт Ca^{2+} -АТФази властивий не лише для довгих апікальних клітин, але й коротких одноклітинних бокових відгалуженнях (рис. 20, 21, а, б). Бокові галузки, що відділилися від материнської клітини, в основі мали інтенсивнішу Ca^{2+} -АТФазну реакцію, а у коротших ростках, що не утворили клітинної перетинки, підвищена активність ферменту була як в апексі, так і в основі (рис. 29, б). Це означає, що функціонує активний базипетальний транспорт Ca^{2+} за участю Ca^{2+} -АТФаз, і направлений потік кальцію відбувається незалежно від довжини клітини. Тобто, кальцій не лише індуктор, а більше є постійним регулятором функціональної активності клітин.

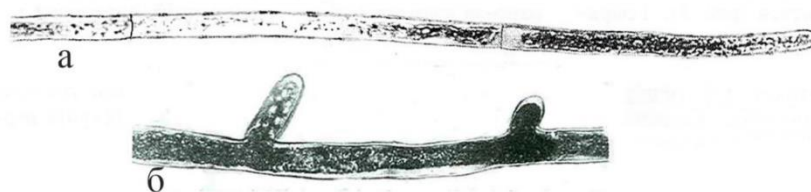


Рис. 29. Ca^{2+} -АТФазна реакція з використанням фосфатів азотолів у клітинах протонемі *Pohlia nutans*: а) столон протонемі з підвищеною АТФазною активністю в апікальній клітині; б) фрагмент протонемного столону з боковими ростками, в яких висока активність Ca^{2+} -АТФази. Зб.: 300×

Під час гравістимуляції виникає градієнт АТФ-азної активності між верхньою і нижньою клітинною стінкою, що супроводжується підвищенням рН цитозолу з 6,99 до 7,25. Активність Ca^{2+} -АТФаза зростала з часом і була вища на нижній стороні апікальної клітини через 20–30 хв після гравістимуляції, в момент осідання пластид і локального скупчення їх у місці седиметації (рис. 30). Седиментація амілопластів активувала роботу Ca^{2+} -помп і вихід Ca^{2+} , що спричинило перерозподіл іонів та зміну осі полярності і напрямку росту клітини, ініціюючи гравітропний згин.

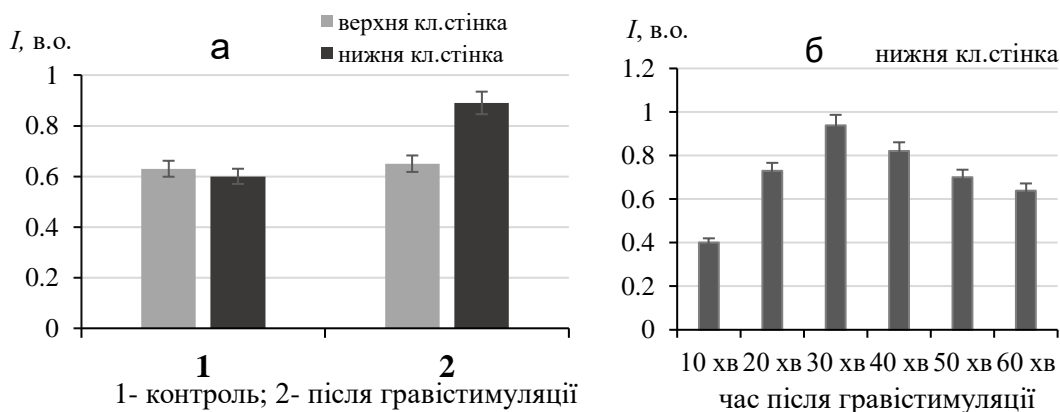


Рис. 30. Активність Ca^{2+} -АТФази у клітинних стінках апікальних клітин *Pohlia nutans* після гравістимуляції протонемі: а – верхня і нижня клітинні стінки; б – нижня клітинна стінка

Ca^{2+} впливає на перетворення ауксинового сигналу і зміну внутрішньоклітинного рН (Monshausen et al., 2011; Baldwin et al., 2013). Експериментально визначена роль Ca^{2+} у модуляції позаклітинного рН вздовж гравістимульованих кінчиків коренів *Arabidopsis*, як відповідь на дію ауксину (Monshausen et al., 2011). Аналіз рН коренів *Arabidopsis* свідчить, що цитозольний Ca^{2+} бере участь у передачі гравісигналу під час асиметричного базипетального транспорту ауксину. Передача сигналу ґрунтується на зміні рівня цитозольного Ca^{2+} в епідермісі верхньої або нижньої сторони гравістимульованих коренів (Monshausen et al., 2011).

Для саджанців арабідопсису відпрацьовано метод швидкого часового терміну (до секунди) визначення сигналів Ca^{2+} залежно від змін інтенсивності гравісигналу. Концентрації Ca^{2+} аналізували у Космосі при 0,5, 1,5 або 2 g, поєднуючи швидке переключення гіпергравітації, за допомогою центрифугування, та мікрогравітацію (Toyota et al., 2013).

Поляризація спор папороті *Ceratopteris thalictoides* (L.) Brong представляє іншу систему потоків Ca^{2+} , як реакцію на силу тяжіння. Для поляризації розвитку спор залежно від впливу гравітації важливим є базально- апікальний градієнт Ca^{2+} в клітині (Monshausen et al., 2011). Фармакологічні аналізи підтверджують, що Ca^{2+} -АТФази ендомембран і позаклітинні нуклеотиди можуть відігравати регуляторну роль у реакції спор папороті на вплив гравітації (Baldwin et al., 2013). Електрофізіологічний аналіз переносників Ca^{2+} у спорах свідчить, що і гіпергравітація, і мікрогравітація змінюють міжклітинні потоки Ca^{2+} (Salmi et al., 2011; Toyota et al., 2013; Cannon et al., 2015). Таким чином, спори папороті і мохів можуть мати подібні з квітковими рослинами механізми сприйняття сили тяжіння.

7.2.1. ВПЛИВ БЛОКАТОРІВ МЕБРАННОГО ТРАНСПОРТУ, ПОТЕНЦІАЛ-ЗАЛЕЖНИХ Ca^{2+} -КАНАЛІВ І Ca^{2+} -АТФАЗИ НА ГРАВІТРОПІЗМ ПРОТОНЕМИ

Встановлено, що активність Ca^{2+} -АТФази, як реакція на дію гравітації, залежить від тривалості гравістимуляції і ростової відповіді на гравістимул. У гравітропній протонемі, що була контролем і протягом 6 діб росла у темряві, активність ферменту у *Ceratodon purpureus* і *Ptychostomum imbricatum* майже не відрізнялася і становила 0,314–0,346 мкМ Р/год/мг білка. Мохи відрізнялися динамікою АТФази, яка залежала від тривалості гравістимуляції. Активність ферменту підвищувалася в 1,6–1,8 раза через 30 хв, поступово збільшувалася протягом 2 год гравістимуляції, проте у *P. imbricatum* була нижчою, ніж у *C. purpureus*. Надалі активність Ca^{2+} -АТФази різко знижувалася у *C. purpureus* і майже без змін залишалася у *P. imbricatum*, однак і через 24 год гравістимуляції була вищою, ніж у контролі (рис. 31). Найбільш ймовірно, перцепція гравістимулу і швидкість гравітропізму є причиною відмінної ферментативної активності між видами мохів. Одночасно це свідчить про участь Ca^{2+} -транспортних систем у гравітропному рості. Очевидно, ферментативна активність корелює із седиментацією амілопластів, з активацією транспорту Ca^{2+} і перерозподілом іонів кальцію у цитозолі, що вирішально для корекції осі росту апікальної клітини та ініціації гравітропного згину.

Переміщення Ca^{2+} і робота Ca^{2+} -транспортних систем, що пов'язані із затратами енергії, відіграють важливу роль в регуляції метаболізму клітин. Для дослідження АТФ-залежного транспорту використали блокатори кальцієвих каналів і мембрано-зв'язаної Ca^{2+} -АТФази.

Проаналізовано вплив верапамілу, блокатора потенціал-залежних Ca^{2+} -каналів і ванадату, інгібітора мембрано-зв'язаних Ca^{2+} -АТФаз на граві- і фототропний ріст.

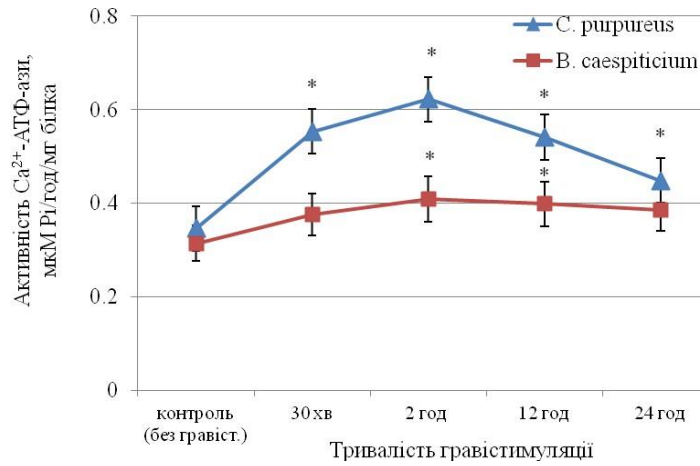


Рис. 31. Динаміка активності Ca^{2+} -АТФази у гравістимульованій протонемі мохів *Ceratodon purpureus* і *Ptychostomum imbricatum*

Таблиця 13

Вплив інгібіторів Ca^{2+} -АТФаз на граві- і фототропізм та ріст апікальних клітин протонемі *Pohlia nutans*; тривалість експозиції у розчинах блокаторів 6 год, час граві- і фотостимуляції 6 год

Концентрація блокаторів, мМ	Гравітропний згин, град/год	Швидкість росту, мкм/год	Фототропний згин, град/год	Швидкість росту, мкм/год
0	$2,9 \pm 0,3$	$22,5 \pm 0,3$	$7,4 \pm 0,4$	$30,1 \pm 0,3$
Верапаміл				
0,01	$2,1 \pm 0,3$	$20,4 \pm 0,2$	$7,0 \pm 0,3$	$30,2 \pm 0,3$
0,1	$1,0 \pm 0^*$	$15,1 \pm 0,2$	$5,9 \pm 0,4$	$20,4 \pm 0,3$
Ванадат				
0,1	$2,4 \pm 0,2$	$22,7 \pm 0,3$	$7,1 \pm 0,1$	$30,6 \pm 0,3$
0,5	$1,7 \pm 0,2$	$22,4 \pm 0,2$	$6,3 \pm 0,1$	$24,5 \pm 0$
1,0	$0,6 \pm 0,01$	$16,4 \pm 0,1$	$6,0 \pm 0,1$	$21,4 \pm 0$

Вплив інгібіторів на гравітропну реакцію залежав від їх концентрації в розчині, у якому інкубували протонемні дернинки. Вищі, ніж для гравітропізму, потрібні були концентрації блокаторів, щоби загальмувати фототропізм. Проте, як і для гравітропізму, верапаміл виявляв сильнішу дію, ніж ванадат. Тільки 0,5–1,0 мМ концентрації ванадату істотно гальмували

фототропну реакцію. Активність Ca^{2+} -АТФазної реакції більше залежала від ванадату і зменшувалася у два рази, порівняно з контролем (табл. 14).

Таблиця 14

Вплив 0,1 мМ ванадату і верапамілу на гравітропний згин і відносну активність Ca^{2+} -АТФаз, тривалість гравістимуляції 6 год

Варіанти досліду	Гравітропний згин, град/год	Активність Ca^{2+} -АТФази, відн. од.
Контроль (0)	$3,3 \pm 0,2$	$0,57 \pm 0,4$
Ванадат	$2,2 \pm 0,2$	$0,27 \pm 0,3$
Верапаміл	$1,1 \pm 0,1$	–

Як під час граві-, так і фототропізму високі концентрації інгібіторів пригнічували ріст і руйнували градієнт концентрації Ca^{2+} -АТФаз, впливали на форму пластид та їх розміщення в клітині. У гравістимульованих столонах повністю порушувалася зональність пластид, зменшувалася кількість великих амілопластів і утворювалося багато дрібних пластид.

На гравітропізм впливають також блокатори механочутливих каналів, інгібітори кальмодулін-залежної Ca^{2+} -АТФази. Під впливом солей – Gd^{3+} і La^{3+} , що блокують роботу Ca^{2+} -каналів, зменшувався кут гравітропного згину, сповільнювався ріст протонеми і порушувалася зональний розподіл амілопластів. На високих 100 мкМ концентрації Gd^{3+} пластиди переміщалися до апікального і базального кінців клітини і, таким чином, втрачалася зона седиментації амілопластів (Хоркавців та ін., 2002). У такий спосіб розривався сигнальний ланцюг активного полярного транспорту Ca^{2+} , що спричиняло сповільнення гравітропізму (Хоркавців та ін., 2015; Braun et al., 2018).

Характер флуоресценції мембрано-зв'язаного Ca^{2+} в апікальних клітинах протонеми підтверджує, що після обробки протонеми Gd^{3+} і внесення у середовище CaCl_2 , градієнтний розподіл іонів кальцію порушувалася (рис. 32). Якщо до середовища додали кальцій, інтенсивність флуоресценції мембрано-зв'язаного Ca^{2+} збільшилася в 1,8 раза у верхівці і в 7,6 раза в основі клітини, порівняно з контролем, відповідно втрачався градієнт Ca^{2+} у клітині. Під впливом Gd^{3+} флуоресценція Ca^{2+} знижувалася в апексі і зростала в основі, але градієнт зберігся, тоді як кліностатування руйнувало його повністю. Отже, механочутливі канали є частиною транспортної системи Ca^{2+} у гравітропізмі протонеми.

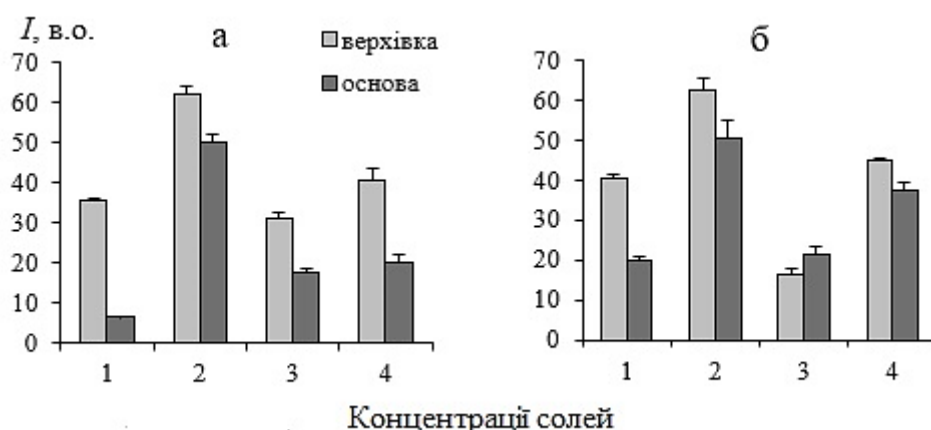


Рис. 32. Інтенсивність флуоресценції мембрано-зв'язаного кальцію в апікальних клітинах протонеми *Pohlia nutans*: а – гравітропна протонема; б – після кліностакування; по осі абсцис – концентрація солей: 1 – 0; 2 – 10 мМ CaCl₂; 3 – 10 мкМ Gd³⁺; 4 – 10 мМ CaCl₂ + 10 мкМ Gd³⁺.

Кальцій є вторинним посередником в індукції гравітропізму. У багатьох дослідженнях (Sinclair, Trewavas, 1997; Sanders et al., 1999; Pinillos, Cuevas, 2008) висловлено припущення, що посередником між гравітропним стимулом і статоцитами є іони Ca²⁺, оскільки вони відіграють ключову роль в індукції первинної клітинної поляризації. Проте, якщо в коренях чи стеблах така поляризація створюється унаслідок міжклітинних переміщень іонів Ca²⁺, то для клітин з верхівковим ростом внутрішньоклітинний транспорт кальцію від апекса до базальної частини забезпечує полярність в межах однієї клітини, яка сприймає гравістимул і реагує на нього. Дослідження гравічутливості органів з верхівковим ростом, в яких ланцюг подій не ускладнений мембранним транспортом сигналу, і які витримують широкий діапазон експериментальних маніпуляцій, дало можливість зробити ряд конкретних узагальнень про перетворення гравісигналу у фізіологічну і морфологічну відповіді (Sack, 1991; Sievers et al., 1996; Braun, 1997; Демків и др., 1997; Чабан, 1998; Demkiv et al., 1999; Kern, Sack, 1999; Cove et al., 2006; Демків та ін., 2006; Хоркавців та ін., 2015; Lobachevska et al., 2022). Звичайно, процеси гравічутливості відрізняються у різних системах, тому й обговорюються найкраще досліджені об'єкти, найчастіше протонема мохів, ризоїди водоростей, корені *Arabidopsis*. Спільним для усіх є твердження, 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 (Sievers et al., 1996; Monshausen et al., 2011; Salmi et al., 2011; Braun et al., 2018). Це негайно активувало 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 (ініціалах бокових галузок). Тому маємо підстави стверджувати, що, у ростучій апікальній клітині постійно функціонує апікально-базальний потік кальцію. Чітко виражена біполярна система Ca^{2+} -каналів – Ca^{2+} -АТФаз зберігається в клітинах гравістимульованих стolonів. Те, що верапаміл і ортованадат натрію пригнічували гравітропну реакцію, впливали на локалізацію пластид підтверджує участь Ca^{2+} у гравітропізмі. Так само незначне підвищення Ca^{2+} під час гравістимуляції ще до видимого морфологічного ефекту свідчить про його істотне значення для тропізму. За умови росту протонеми під час кліностагування не виявлено істотних відмінностей у розподілі ні кальцію, ні Ca^{2+} -АТФаз. Отже, кліностагування не було тією стресовою передумовою, яка порушує кальцієвий градієнт, в іншому випадку це неминуче вплинуло б на ріст.

Ca^{2+} -блокатори пригнічували також фототропний ріст, однак для цього потрібні вищі їх концентрації, ніж для гравітропізму. Очевидно, світло активувало багато інших систем регуляції Ca^{2+} -статування в цитозолі, які, мабуть, під час росту в темряві залишалися незадіяними, і у цьому випадку селективна дія інгібіторів могла бути ефективнішою. Для обох тропізмів більший інгібуючий вплив виявляв верапаміл, ніж ванадат. Відмінності у дії обох блокаторів свідчать насамперед про роботу різних транспортерів Ca^{2+} і зміну в їхній регуляції залежно від стану клітини. Очевидно, що поляризований транспорт Ca^{2+} підтримують потенціал-залежні канали і Ca^{2+} -АТФазні помпи, однак, очевидно, тому, що частка перших вища, інгібуючий вплив верапамілу сильніший. Проте висока Ca^{2+} -АТФазна активність дає нам підстави вважати, що активний транспорт Ca^{2+} зумовлений саме роботою Ca^{2+} -АТФазних pomp плазмалеми унаслідок асиметричного апікально-базального розподілу їх у клітині. Високу інтенсивність цитохімічної Ca^{2+} -АТФазної реакції, очевидно, можна пояснити також великою кількістю Ca^{2+} -каналів на плазмалемі (Chatterjee et al., 2000; Bushart et al., 2013; Toyota et al., 2013; Nakano et al., 2021; Xu et al., 2022). Те, що низькі концентрації блокаторів Ca^{2+} -каналів інгібували гравітропну реакцію, підтверджує значення двох систем у регуляції входу і виходу кальцію. Не є несподіваною висока 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, більше свідчить про структурну, а не функціональну роль Ca^{2+} у мембранах пластид.

Отож, результати досліджень різних нитчастих систем: протонема, ризоїди *Chara*, кореневі волоски, пилкові трубки, підтверджують пріоритет Ca^{2+} в індукції гравітропізму. Важливо те, що вже на стадії перцепції формується градієнт Ca^{2+} , який відображає специфіку сигналізації всередині клітин, від чого залежить трансдукція сигналу у гравітропний ріст.

7.3. ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ ГРАВІТРОПІЗМУ ПРОТОНЕМИ МОХІВ

Ростові рухи багатоклітинних рослин – фото- і гравітропізм, тісно корелюють з латеральним переміщенням ІОК (Merkys, Laurinavicius, 1990; Демків та ін., 2006; Vanneste, Friml, 2009; Roychoudhry et al., 2013; Хоркавців та ін., 2015; Braun et al., 2018). Для нитчастих структур з апікальним ростом участь ІОК у ростових рухах не є настільки очевидною, як для квіткових рослин. Протонема мохів синтезує ІОК та в її столонах функціонує транспортна система ауксину і їх участь давно визначена у диференціації гаметофіту (Лазаренко, Демків, 1968; Ворр, 1990). ІОК регулює швидкість росту апікальних клітин, диференціацію каулонеми, корелятивне гальмування галуження, закладання бруньок гаметофорів (Johri, Desai, 1973; Lehnert, Vorr, 1983; Johri, 2020). З використанням міченої ІОК підтверджено базипетальний транспорт гормону в каулонемі й ризоїдах *Funaria hygrometrica*, гаметофіті *Plagiomnium undulatum* (Rose, Vorr, 1983; Rose, et al., 1983). Вміст ендогенної ІОК визначено у протонемі *F. hygrometrica*, *Physcomitrium patens*, *Polytrichum formosum* і встановлено, що він нижчий, ніж у квіткових рослинах (Vorr, 1980; Ashton et al., 1985; Jayaswal, Johri, 1985).

На гравічутливість і гравітропний ріст протонемі впливають фітотропіни, які специфічно інгібують полярний транспорт ауксинів. Для вивчення питання про участь ауксинів у гравітропізмі ми проаналізували дію різних ростових речовин, зокрема блокаторів транспорту ІОК та синтетичних аналогів ауксину:

ІОК – індолілоцтову кислоту

1-НОК – 1-нафтилоцтову кислоту

НФК – N-1-нафтилфталамову кислоту

ПХІМК – ρ -хлорфеноксиізомасляну кислоту

2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксиоцтову кислоту

ТЙБК – 2,3,5-трийодбензойну кислоту

Фітотропін НФК у межах концентрацій 0,1–3,0 мкМ не змінював форми верхівки апікальної клітини, не порушував зонального розподілу амілопластів та істотно не зменшував частку згинів і значення кута гравітропного згину. На 10 мкМ концентрації НФК змінювався розподіл пластид і був заблокований гравітропний ріст. Результати аналізу впливу різних концентрацій НФК на гравітропний згин наведені на рис. 33.

Починаючи з 0,5 мкМ НФК різко зменшувався кут гравітропного згину, одночасно зменшувалась частка гравічутливих клітин аж до повної втрати гравічутливості на високих концентраціях. Частково дію НФК знімав аналог ауксину 1-НОК. Якщо у середовище вносили суміш обох фітогормонів, то інгібіторний вплив НФК зменшувався, а гравітропний ріст з часом відновлювався (рис. 34). У суміші фітогормонів явний ростовий ефект отримали, коли

концентрація НФК була 10 мкМ, а 1-НОК – 20 мкМ. Гравічутливість відновлювали майже 80% клітин і кут згину збільшувався до 16°, порівняно з 5° на середовищі з НФК.

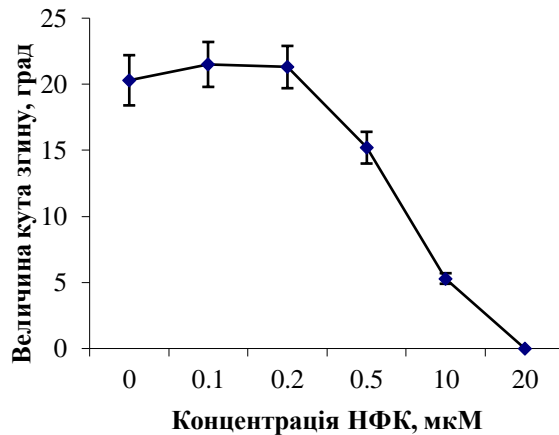


Рис. 33. Вплив різних концентрацій фітотропіну НФК на гравітропний згин апікальних клітин протонеми *Pohlia nutans*

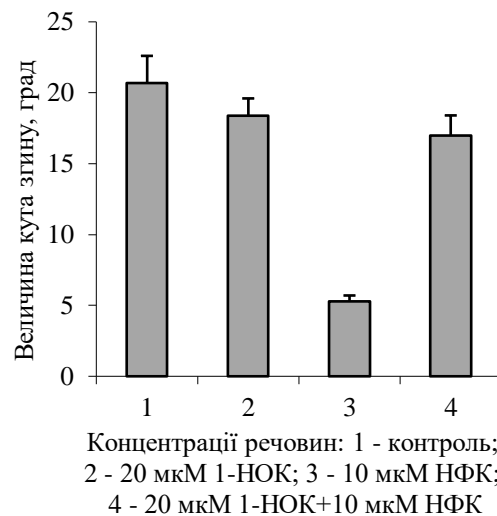


Рис. 34. Дія фітогормону 1-НОК, фітотропіну НФК та їх сумішей на гравітропізм протонеми *Pohlia nutans*

НФК гальмувала також ріст протонеми. Як показано на рис. 35, збільшення концентрації фітогормону від 0,5 до 1,0 мкМ сповільнювало швидкість росту: при 1 мкМ НФК – приблизно на 26 %, а 10 мкМ – на 69 %. Слабшу інгібіторну дію, порівняно з НФК, виявляла 20 мкМ НОК, зменшуючи швидкість росту лише на 10%, порівняно з контролем.

Інші фітотропіни також інгібували гравітропізм (табл. 15). На концентрації 10 мкМ ТЙБК знижувалася гравітропна реакція 60 % апікальних клітин, а 2,4-Д інгібувала гравітропізм на значно вищій 40 мкМ концентрації у 65 % клітин.

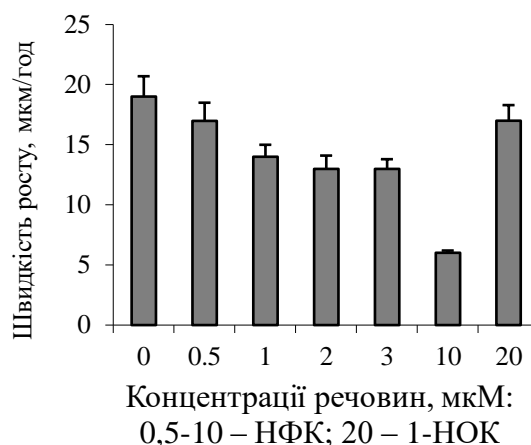


Рис. 35. Вплив НФК і 1-НОК на швидкість росту протонеми *Pohlia nutans*

Таблиця 15

Вплив фізіологічно активних фітотропінів на гравітропний ріст протонеми *Pohlia nutans*

Фітотропіни	Концентрація, мкМ	Частка апікальних клітин зі згинами, %	Кут згину, град
Контроль	0	93,7 ± 4,1	18,6 ± 1,4
ІОК	20	95,0 ± 9,2	19,7 ± 1,9
	40	42,7 ± 4,8	7,5 ± 1,1
НФК	3	61,2 ± 6,3	14,4 ± 1,4
	10	40,1 ± 4,8	5,3 ± 1,0
1-НОК	20	88,5 ± 8,3	18,7 ± 1,8
	40	30,2 ± 2,2	12,1 ± 1,2
ТЙБК	3	79,3 ± 7,2	18,0 ± 2,0
	10	39,8 ± 3,0	8,5 ± 0,9
2,4-Д	20	74,2 ± 7,1	15,8 ± 1,9
	40	34,5 ± 3,1	8,5 ± 0,9
ПХІМК	10	61,3 ± 5,9	11,3 ± 1,2

Антагоніст ауксину ПХІМК, так само як і ТЙБК, проявляв слабшу інгібуючу дію на гравісгин верхівок апікальних клітин. На основі результатів попередніх досліджень про вплив анти-ауксину на ріст протонеми мохів, а також участь полярного транспорту ауксинів в апікальному домінуванні (Демків та ін., 1999), проаналізовано дію ростових речовин (ІОК, НФК, ПХІМК) на галуження клітин протонеми (табл. 16).

Вплив фізіологічно-активних речовин на галушення інтеркалярних клітин протонеми *Pohlia nutans*

Концентрація	Швидкість росту, мкм·год ⁻¹	Клітина, що погалузилася*	Коефіцієнт галушення**
Контроль	13,1 ± 1,2	4,2 ± 0,1	38,7 ± 4,2
ІОК, 1 мкМ	16,0 ± 1,5	5,8 ± 0,1	10,8 ± 2,8
НФК, 5мкМ	10,0 ± 1,2	2,8 ± 0,1	51,4 ± 3,1
ПХІМК, 5мкМ	9,8 ± 1,0	3,3 ± 0,1	45,3 ± 3,0

Примітки: * – номер клітини, рахуючи від апікальної;

** – відношення кількості клітин, що погалузилися, до загальної кількості клітин у столонах

На відміну від анти-ауксину і фітотропіну, ІОК гальмувала галушення інтеркалярних клітин. Дію НФК і ПХІМК можна виділити як специфічну для галушення. Якщо в нормі галузилася четверта клітина, то під впливом фітотропіну і анти-ауксину галушення переміщалося до верхівки столону і погалузилася апікальна та субапікальна клітини (рис. 36 б). Швидкість росту протонеми на підібраних нами концентраціях НФК і ПХІМК істотно не знижувалася, за винятком ІОК, яка трохи активувала видовження клітин. Вищі ж концентрації НФК і ПХІМК гальмували ріст апікальних клітин. Отже, можна допустити, що під впливом НФК і ПХІМК зменшився вміст ендogenousного ауксину у другій (субапікальній) клітині, що зняло інгібіторний вплив ІОК на галушення інтеркалярних клітин.

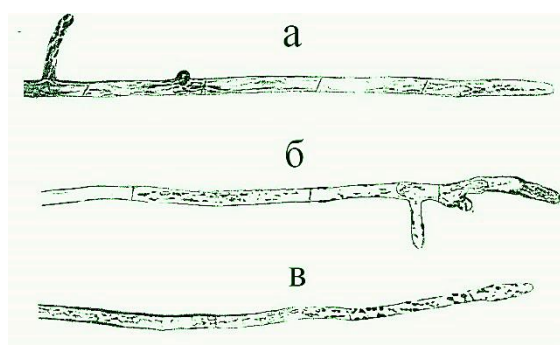


Рис. 36. Вплив фітотропіну НФК і ауксину ІОК (індолілоцтова кислота) на галушення клітин протонеми *Pohlia nutans* (Hedw.): а – контроль, погалузилася четверта інтеркалярна клітина; б – під впливом НФК погалузилися апікальна і субапікальна клітини; в – ІОК загальмувала галушення інтеркалярних клітин. Зб. 300×

Якщо порівняти дію ІОК і аналога ауксину 1-НОК на гравітропний ріст, то тільки високі концентрації фітогормонів послаблювали гравітропну реакцію. Концентрація 40 мкМ ІОК

інгібувала як кількість згинів, так і величину кута. 1-НОК істотно знижувала лише відсоток згинів і менше впливала на кут (табл. 15). Показано (Schwuchow et al., 2001), що 1-НОК не впливала на напрям росту позитивно гравітропного мутанта *C. purpureus*, на відміну від дикої форми. Не зменшувалася також кількість клітин, які росли гравітропно. Тоді як НФК стимулювала дезорієнтацію гравітропного росту столонів дикої форми, в результаті чого напрям росту міг змінитися аж на 180°.

Мохи синтезують ауксин, починаючи з ювенільної протонемної стадії, і ендогенні фітогормони беруть участь безпосередньо у регуляцію росту і розвитку гаметофіту (Ворр, 1953; Kofler, 1957; Демків, та ін., 1999). Експериментально показано, що ІОК гаметофіту мохів має широкий спектр дії: стимулює ріст апікальних клітин, контролює галуження інтеркалярних клітин (Лазаренко, Демків, 1968), активує диференціацію каулонем, утворення ризоїдів (Johri, Desai, 1973) та закладання бруньок (Ворр, 1953, 1974; Chopra, Vashistha, 1990).

Базипетальний транспорт ІОК відбувається у низці поодиноких клітин хлоронеми й каулонем (Rose, Ворр, 1983; Rose, et al., 1983) та у листкостеблових пагонах мохів (Schwuchow, et al., 2001). Аналіз базипетального транспорту ІОК в клітинах каулонем та ризоїдів *F. hygrometrica* і *Plagiomnium undulatum* свідчить про наявність у клітинах специфічних переносників входу і виходу ауксину. Як функціонує транспортна система переносників встановлено для протопластів протонем *F. hygrometrica* (Ворр, Geier, 1988; Geier et al., 1990; Braun et al., 2018) на прикладі виведення ІОК з клітини: фітотропіни НФК і ТЙБК інгібували вихід ІОК, відповідно вміст ІОК у протопластах збільшувався.

Дослідження гормонального впливу на гравітропізм протонем *Pohlia nutans* свідчить про значення базипетального транспорту ІОК у трансдукції гравістимулу в одній верхівковій клітині. Високі концентрації екзогенної ІОК істотно гальмували галуження інтеркалярних клітин та інгібували кут гравітропного згину. Синтетична 1-НОК не лише знижувала частку негативно гравітропних столонів та кут згину, а й порушувала орієнтацію росту, стимулюючи позитивно гравітропний згин. Мабуть що високі концентрації як ІОК, так і 1-НОК призводять до надлишку фітогормонів у клітинах, а ймовірніше те, що їхній негативний вплив зумовлений деструкцією апікально-базального градієнту ІОК. Такий висновок можна зробити, аналізуючи реакцію клітин на дію фітотропінів НФК і ТЙБК які, як відомо, зв'язуються зі специфічними переносниками ІОК і блокують її вихід з клітин, впливаючи на градієнт ауксину в рецепторних клітинах і орієнтацію росту. Подібні результати про вплив фітотропінів на гравітропізм одержано для протонем *Ceratodon purpureus* (Schwuchow et al., 2001). Тому, правомірним є заключення, що полярна транспортна система фітогормонів за участю

специфічних переносників і ендогенний градієнт ауксину забезпечує апікальне домінування і гравітропний згин структур з верхівковим типом росту.

Привертають увагу молекулярні механізми міжклітинного транспорту і зв'язку ауксину з рецептором та диференційної передачі сигналу, а також дискусії навколо цих процесів (Roychoudhry et al., 2013; 2017; 2022; Wang, et al., 2015; Pernisova et al., 2016; Yoshihara, Spalding, 2017; Waidmann et al., 2019; 2020). Результати досліджень специфіки взаємодії субстрат/ліганд, свідчать, що у транспортній системі ауксину сайти входу і дії ауксину дуже подібні. Відповідно, зроблено висновок про ідентичність або дуже близьку гомологію білків-переносників і білків-транспортерів ауксину (Hertel, 1983; Sack, 1997). На противагу цьому, специфічність переносників входу і виходу ІОК відрізняється. Наприклад, відомо, що 1-НОК активніше стимулює транспорт ауксину і має дуже низьку спорідненість до переносників входу ауксину (Delbarre et al., 1996). Тобто, природа селективної транспортної системи ауксину неоднакова, хоча є спільні рецептори–медіатори дії ауксину. Так само функціонує транспортна система ауксинів у мохів (Rose, Vopp, 1983; Nymann, Cutter, 2011; Glime, 2017; Braun et al., 2018). Загалом транспорт ауксину є необхідним елементом встановлення і підтримання полярності клітин. Порушення у транспорті ауксину ведуть до редукції апікального домінування та інших ауксин-залежних фенотипних змін. НФК, як екзогенна ПХІМК, чи 1-НОК, стимулювала підвищення ауксину в апікальній клітині до субоптимальної концентрації. Це інгібувало апікальне домінування і активувало галуження клітин, у тому числі верхівкових. НФК блокувала вплив 1-НОК. Природа конкурентної взаємодії між НФК і 1-НОК невідома, але, очевидно, 1-НОК могла стимулювати дію транспортерів виходу ІОК з клітини. Згідно з результатами досліджень (Roux et al., 2001), екзогенна АТФ, яка порушує нормальний градієнт АТФ на плазматичній мембрані, пригнічує витік ауксину і гравітропізм. Вважають також, що експортером ауксину можуть бути АТФ-залежні помпи.

Отримані результати свідчать, що фітотропін НФК інгібує гравітропний згин більше, ніж ріст протонеми. Якщо 3 мкМ НФК інгібувала згин майже 40% клітин, то ріст клітин сповільнювався на 32%, (табл. 15 і 16). Тобто, НФК діяла специфічніше на гравізгин, ніж на ріст. Але, оскільки НФК інгібувала швидкість росту протонеми і швидкість гравітропного згину, розділяти ці два ефекти не цілком правомірно.

Низькі концентрації фітотропіну НФК, на відміну від 1-НОК, можуть навіть стимулювати гравітропізм, але стимулююча дія фітотропіну знаходиться у вузькому інтервалі концентрацій. Тоді як концентрації більші від 0,5 мкМ блокують гравітропізм. 1-НОК, завдяки спорідненості до рецепторів, які переносять ауксин із клітини, знімала інгібіторний вплив НФК на міжклітинний транспорт ауксинів, унаслідок чого зберігався апікально–базальний

градієнт потоку фітогормонів, а гравітропний ріст відновлювався. Перетворення механічної енергії у гравітропний згин пояснюють статолітною концепцією осідання пластид, яка підтверджена у багатьох роботах (Barlow 1995; Демків та ін., 1997; Sack, 1997). Основним механізмом залишається рух і/або тиск амілопластів у гравітаційному полі, який передається на елементи цитоскелету, котрі пересилають сигнал на переносники виходу ауксину сусідніх мембран (Goodbolé et al., 2000).

Особливістю протонеми мохів є градієнт ендогенної ІОК і Ca^{2+} , що має в апікальних клітинах однакову апікально-базальну направленість. Якщо враховувати специфіку згину апікальних клітин, у яких зміна орієнтації росту відбувається внаслідок переміщення ростової зони в куполі апікальної клітини, а не диференційного росту, то особливості гравітропізму багатоклітинних органів квіткових рослин (Hertel, 1983) не можна поширювати на протонему мохів. Базипетальний транспорт ІОК в апікальній клітині поляризує її функціонально і є чутливим сенсором до ендогенних змін та седиментації амілопластів (Merkys, Laurinavicius 1990). Седиментація амілопластів спричинює локальне підвищення Ca^{2+} -АТФаз у зоні осідання пластид і місцях контакту з ендомембранами (Демків и др., 1997). Тому можна допустити, що активація Ca^{2+} -АТФаз буде індукувати латеральну вісь транспорту Ca^{2+} і відповідне переміщення Ca^{2+} -каналів на плазматичній мембрані клітини. Рівнодійна сила напрямів базипетального і латерального потоків Ca^{2+} буде зміщуватися від центра на бокову ділянку апекса верхівкової клітини, ініціюючи новий потік іонів кальцію. Від зміни полярного транспорту Ca^{2+} залежить напрям потоку ІОК і корекція та зміщення ростової зони. Якщо порушити транспорт ауксину фітотропінами, то це заблокує ріст і сприйняття гравістимулу (Хоркавців, Демків, 2003; Демків та ін., 2006). Отже, у гравітропізмі апікальної клітини протонеми домінує поляризуюча, а не ростова функція ІОК.

8. ГРАВИМОРФОГЕНЕЗ ГАМЕТОФІТУ МОХІВ

8.1. ГАЛУЖЕННЯ КЛІТИН ПРОТОНЕМИ *CERATODON PURPUREUS* В УМОВАХ ЗМІНЕНОЇ ГРАВІТАЦІЇ

Рослини корегують свій ріст відносно світла та гравітації завдяки фото- та гравітропізму, що є визначальним для детермінації габітусу. Форма рослини залежить передусім від способу галуження і кута нахилу бічних гілок, який перебуває під впливом поляризуючої дії гравітації. Це – загальнобіологічне явище та приклад самоорганізації розвитку, що контролює структурну специфіку кута нахилу гілок впродовж онтогенезу рослин. Його реалізація вимагає строгої координації росту та проліферації клітин, що залежать від розподілу ауксину і дози гравітаційної сили (Herranz, Medina, 2014; Kordyum, 2014). Поділ клітин, галуження й ріст латеральних гілок досліджували як гравізалежні процеси розвитку, що контролюються фітогормонами, положенням ядра в клітині та локальною активацією елементів цитоскелета (Хоркавців, Демків, 2003; Демків та ін., 2009; Kordyum et al., 2009; Хоркавців та ін., 2014, 2015; Lobachevska et al., 2022).

Експериментально визначено, що просторова орієнтація бокових гілок залежить від гравітаційного вектора. Розкладаючи чашки з протонемою під різними кутами до горизонтальної поверхні, ми методично змінювали величину сили тиску земного тяжіння на рослини (табл. 17). Кут латеральних гілок відносно головної осі росту пропорційно збільшувався із зменшенням кута нахилу чашок і унаслідок збільшення величини гравітаційної сили, тоді як кліностакування зменшувало дію сили гравітації в усіх варіантах дослідження. Відповідно до кута латеральних гілок, ріст гілок змінювався з граві- на плагіотропний.

Таблиця 17

Величина кутів латеральних гілок протонемою *Ceratodon purpureus* залежно від величини сили гравітації

Кут нахилу чашок відносно горизонталі, град	Кути латеральних гілок, град	
	контроль, 1g	після кліностакування
0	82 ± 3.1	87 ± 5.6
30	68 ± 3.4	79 ± 3.8
60	45 ± 3.2	61 ± 5.2
90	18 ± 0.8	43 ± 2.5

Встановлено, що закладання гілок можна контролювати, змінюючи положення чашок з протонемою відносно вектора гравітаційної сили. Активували утворення гілок світловими

діодами, що випромінювали червоне світло низької $0,2 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ інтенсивності у спеціальних камерах BRIC протягом 3 год, не стимулюючи фототропізм. Чашки з гравітропною протонею виставляли таким чином, щоби вектори світла і гравітації були зорієнтовані паралельно або перпендикулярно один до одного: гілочки закладалися залежно від напрямку дії обидвох чинників (рис. 37).

Однонаправлена дія ініціювала галузження з двох боків столону (рис. 37, а). Коли вектори світла і гравітації ($1 g$) зорієнтували перпендикулярно, а сила гравітації становила $1 g$, гілочки домінували з одного боку – у напрямі дії гравітації (рис. 37, б). У контрольному варіанті (рис. 28 в), коли протонема виросла на білому світлі, а у камері BRIC вектори світла і гравітації були спрямовані паралельно, (як на рис. 37, а), гілочки закладалися з обох боків і кут нахилу під впливом гравітації змінювався у процесі їх росту.

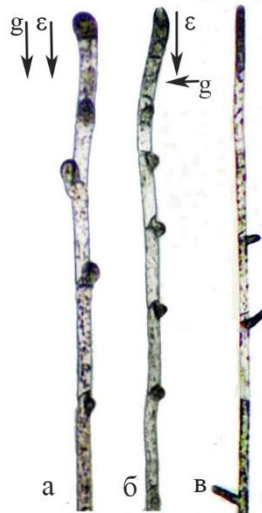


Рис. 37. Напрямок росту латеральних гілочок протонеми *Ceratodon purpureus* залежно від орієнтації векторів світла (ϵ) та гравітації (g): а – паралельно, б – перпендикулярно, в – контроль: протонема росла на світлі; вектори світла та гравітації паралельні

Надалі ріст гілочок відбувався двоетапно: активація світлом стимулювала ріст клітинної стінки під прямим кутом до поздовжньої осі столону незалежно від вектора гравітації. Відомо, що під час мітозу припиняється або ж настає короткотривала реверсія гравітропного росту унаслідок реорганізації МТ цитоскелету, що порушує механізми перцепції гравістимулу (Cove et al., 2006). Очевидно, це може бути однією з причин, чому ріст гілочки до завершення першого поділу відбувався перпендикулярно до материнської клітини. На наступному етапі після поділу і відділення дочірньої клітини кут нахилу зменшувався з 90° до 50° і напрям росту гілочки набував фіксованої гравізалежної орієнтації (рис. 37, в). Таким чином, лише після мітозу клітина ставала чутливою до гравітації.

Апікальна клітина протонеми – автономна система синтезу ауксину, який разом з іншими метаболітами інгібіторної дії транспортується в інтеркалярні клітини, створює там гальмівне поле, унаслідок чого галуження розпочинається в 3–4 клітині столону (Демків, Сытник, 1985). Експериментально доведено, що метаболічний стан і, як наслідок корелятивне гальмування галуження, контролюється взаємодією цитокініну з ауксинами (Ворр, 1974; Демків, 1977; Демків, Федьк, 1977; Ворр, 1983; Хоркавців, Демків, 2003;).

На світлі кут згину галузок протонеми *C. purpureus* змінювався вздовж головного столону від 30–40° до 60–80° і в основі ставав плагіотропний (рис. 38). Такий спосіб галуження зумовлений поступовим зниженням протидії силі тяжіння, що, у свою чергу, регулюється гормонально внаслідок послаблення апікального домінування.

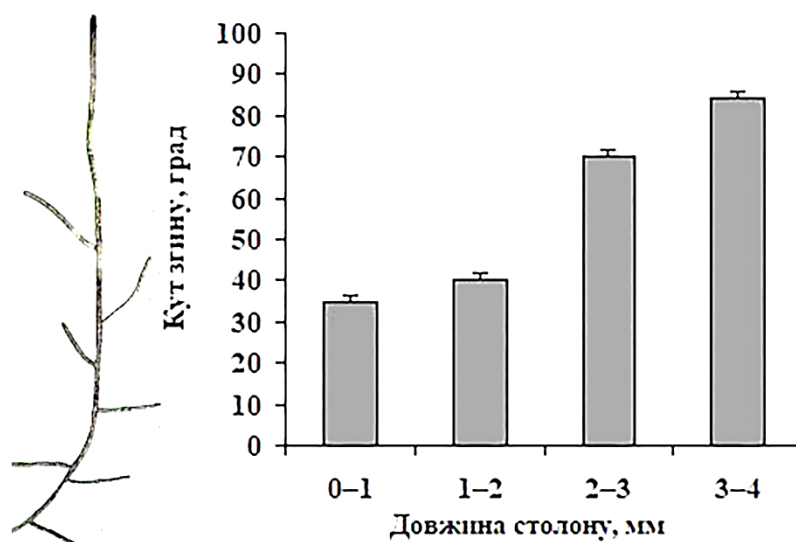


Рис. 38. Зміна кута нахилу бокових галузок *Ceratodon purpureus* (Brid.) Hedw. в апікально-базальному напрямі вздовж гравітропного столона

Проаналізувано вплив ауксину та інгібітора ауксинового транспорту N–1-нафтил-фталомової кислоти (НФК) на величину гравізалезного кута латеральних галузок протонеми *C. purpureus*. Під дією 1,0 мкМ ІОК кут згину відносно вектора гравітації збільшувався на 20°, а 10 мкМ НФК загальмовувала антигравітропну реакцію гілок. Ефективність впливу фітотропіну на величину кута була вищою у базальному напрямі, кут зменшувався на 15 – 20° (рис. 33). Проведені дослідження свідчать, що орієнтація бокових гілок залежить від вмісту фітогормонів. Причиною нижчої гравічутливості і різної орієнтації відгалужень є інгібуючий вплив ауксину, синтез якого збільшувався у материнській клітині, що галузилася, й у морфозах на апікальних клітинах, які утворювалися під впливом червоного світла (Ворр, 1983, Хоркавців Демків, 2003).

Кліностатування стимулювало збільшення кута згину, а втрата поляризуючої дії гравітації мала навіть більший інгібуючий вплив, ніж вплив ауксину (рис. 39). Отже, редукція полярного транспорту ІОК, її вмісту чи зміна векторної дії гравітації призводили до зменшення протидії силі земного тяжіння, і як наслідок – плагіотропного росту латеральних гілок протонеми.

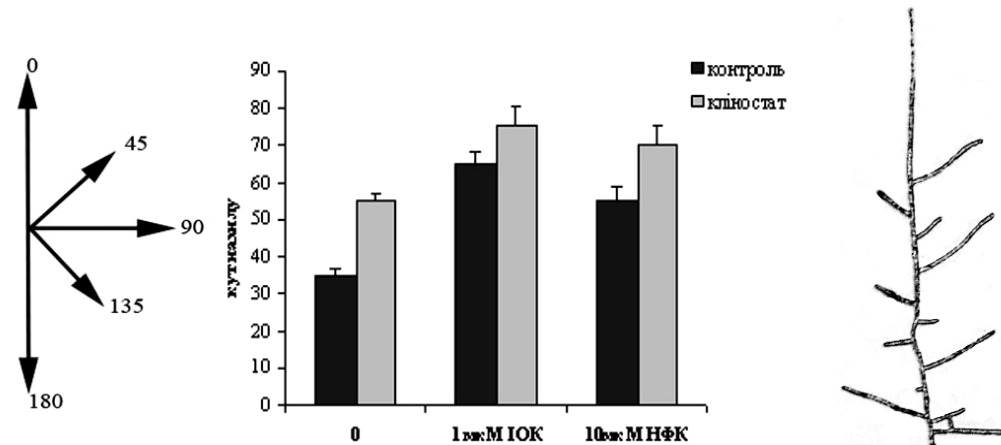


Рис. 39. Величина кута латеральних гілок *Ceratodon purpureus* (Brid.) Hedw. в умовах сталої і зміненої гравітації під впливом фітогормонів.

Отже, модуляція сигнальної системи ІОК за участю інгібітора транспорту ауксину ефективно впливає на величину гравізалезного кута згину латеральних гілок, який визначається ендогенною протидією автотропного і гравітропного росту (Демків и др., 1997). Мабуть, протидію тропізмів і кут згину забезпечує перерозподіл ауксину. Кут згину органу у певних екологічних умовах набуває особливого значення, бо дає змогу дістатися до джерел живлення – поживних речовин та води у ґрунті чи світла на поверхні субстрату. Можливість розділити гравітропну і антигравітропну реакції та визначити роль ауксин-сигнальної системи є вагомою експериментальною базою для досліджень анізотропного росту латеральних пагонів рослин.

У дослідях з *Ceratodon purpureus* і *Physcomitrium patens* з'ясовано особливості гравіреакцій, що пов'язані з транспортом гормонів та активністю Ca^{2+} (Хоркавців, Демків, 2003; Cove, Quatrano, 2006). Визначено, що витоку іонів ІОК передують перерозподіл Ca^{2+} -каналів і швидший вхід Ca^{2+} у клітину. Система корегує потік ІОК і апікальне домінування, що було порушене дією екзогенної ІОК. Тому в гравітропізмі протонеми мохів сигнальну систему ауксину з іонами Ca^{2+} розглядають як поляризуючий фактор (Cove et al., 2006; Демків та ін., 2006; Хоркавців та ін., 2015). Під час латерального галуження ауксин є індуктором росту пагона та здійснює контроль за гравізалезним кутом згину і автотропізмом (Hangarter, 1997; Khorkavtsiv, Kit, 2013; Roychoudhry et al., 2013). У різних екологічних умовах кут згину органу

має важливе значення, бо дає змогу дістатися до джерел живлення – поживних речовин та води у ґрунті чи світла на поверхні субстрату.

Генератором галуження протонеми є ядро і підвищена функціональна активність клітин, в яких здійснюється диференційний ріст. Найбільш ймовірно, що місце закладання ростка – процес стохастичний, а програма галуження клітин не має чіткої часової залежності. Однак експериментально можна ініціювати передумови для галуження та змінити локалізацію ростків залежно від орієнтації векторів світла і гравітації. Під впливом світла та за участю гравітації у певній ділянці клітини відбувається структурна і функціональна поляризація, а множинна взаємодія клітинних компонентів призводить до локального росту клітинної стінки. Одним з таких компонентів у ланці сприйняття і трансдукції сигналу є ядро, яке чітко мігрує до місця галуження.

Якщо нахиляли чашки зі спорами мохів *C. purpures*, *P. patens* або водоростей *Onoclea* чи *Fucus* відносно горизонтальної поверхні, ядро рухалося до місця локалізації ризоїда. Напрямок росту проростків в таких умовах змінювався залежно від положення рослин щодо вектора гравітації (Пундяк та ін., 2002; Nick, 2013).

Встановлено, що саме гравітація впливає на направленість руху ядра *Ceratopteris richardii*, а відеоспостереження в експерименті на Shuttle свідчать про випадкове переміщення ядра замість поляризованого руху до основи клітини (Roux et al., 2003; Chebli, Geitmann, 2011). Отже, рух ядра перебуває під дією гравітаційної сили, яка енергетично мобілізує транспортні системи, що використовуються для його переміщення (Cove et al., 2006; Herranz, Medina, 2014).

Показано, що ядро не є статолітом, як амілопласти, тому що не мігрує до основи апікальної клітини, якщо змінити положення протонеми щодо вектора гравітації на 180° (Schwuchow et al., 2002). Однак чітко стверджувати, що ядро в інтеркалярних клітинах не задіяне у реакції на гравістимул не можна. Так, ядро у субапікальній клітині *C. purpures* знаходиться ближче до верхньої перетинки, аніж у центрі (рис. 40). Можливо тому, що ядро є чутливою клітинною органелою як до слабких сигналів, так і швидкої зміни сигналу (Manzano et al., 2016; Medina et al., 2021,b). Крім того, механічні стимули долучаються до систем контролю за положенням ядра і формуванням фрагмопласту та клітинної перетинки, які змінюються в умовах мікрогравітації, можливо унаслідок впливу на рівні регуляції стадій клітинного циклу (Matia et al., 2010; Herranz, Medina, 2014; Лобачевська та ін., 2015).

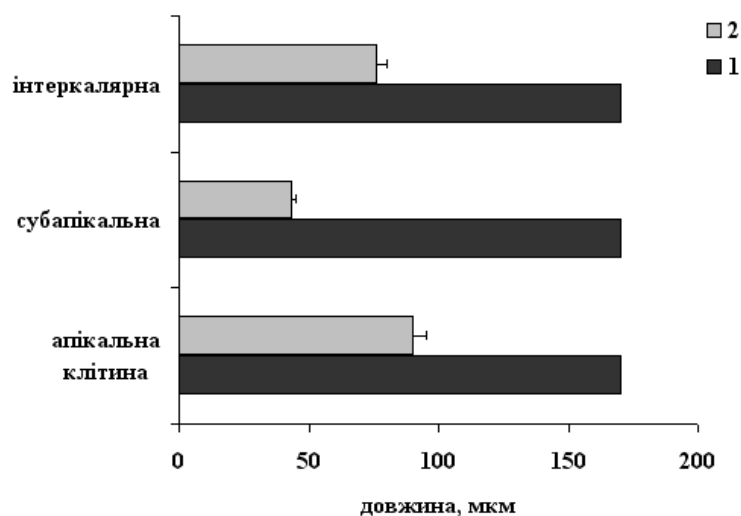


Рис. 40. Розміщення ядер у клітинах протонемі *Ceratodon purpureus* (Brid.) Hedw. після гравістимуляції: 1 – довжина клітин 170 мкм; 2 – відстань ядра до клітинної перетинки, мкм.

У клітинах, що росуть, і під час галуження протонемі ядро постійно перебуває у динамічному русі, мігруючи до місця стимуляції росту (рис. 41). Ядро часто знаходилося біля місця закладання ростка ще перед його утворенням, випереджаючи ріст клітинної стінки (рис. 41, 2), ділилося (рис. 41, 3,4) і поверталось назад в центр клітини (41, 5).

Після кліностагування протонемі рух ядра відрізнявся від протонемі, що росла на світлі: інколи ядро продовжувало рухатися, а апекс галузки вже був чітко сформований (рис. 41, 1,6). Механізми руху ядра і морфологічного ефекту визначені недостатньо чітко. Можливо, змінювався контроль ядра за повним клітинним циклом – ростом і мітозом клітини, між якими існує кореляція, однак не настільки міцна, щоби не залежати від гравітації, як одного із статичних екологічних факторів (Cove et al., 2006; Medina, Herranz, 2010). Частіше, аніж на протонемі, що росла на світлі, росток утворювався у верхній частині клітини гравітропної протонемі, майже під поперечною перетинкою (рис. 35, 2). Тобто, як низка інших процесів, які ми обговорюємо, місце закладання латеральних галузок, як недетермінована зона росту, модифікується за участю гравітаційної сили. Регуляторні функції ядра також можуть залежати від впливу зовнішніх факторів як на гормональне співвідношення, так і на генну експресію (Matia et al, 2010; Manzano et al., 2016).

У літературі чимало відмінних пояснень координації росту і проліферації під впливом мікрогравітації (наприклад, клітинного циклу, розвитку клітинної стінки, видовження клітин).

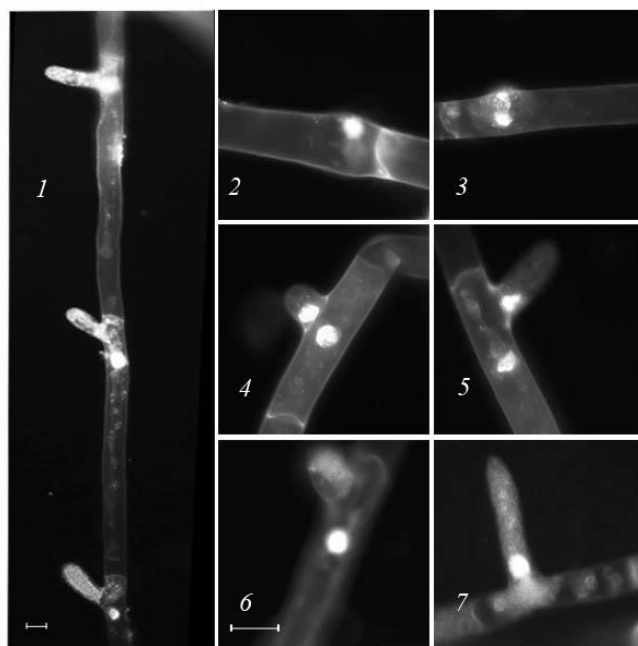


Рис. 41. Положення ядер у клітинах протонеми *Ceratodon purpureus* під час їх галуження: а – протонема зі світла; 2-5 – гравітропна протонема; 6-7 – протонема після кліностагування; штрих – 20 мкм.

В умовах мікрогравітації мітотичний цикл скорочується унаслідок змін тривалості періодів стадії G_1 і G_2 (Medina, Herranz, 2010). Зокрема, у Космосі проліферація може підвищуватися, а тривалість видовження клітин зменшуватися (Matia et al., 2010; Kordyum, 2014; Manzano et al., 2016). Вважають, що ріст і поділ „роз’єднані”, унаслідок скорочення G_2 фази, що призводить до акселерації клітинної поділу і формування чисельних, коротких клітин. У іншому експерименті з *Arabidopsis thaliana* у космосі епідермальних клітин було менше, ніж у контролі на Землі, унаслідок видовження клітин (Paul et al., 2012; Medina, et al., 2021,a,b). Гравітропний ріст під час мітозу припиняється або ж настає короткотривала реверсія унаслідок реорганізації МТ цитоскелету, що порушує механізми перцепції гравістимулу (Cove et al., 2006; Matia et al., 2010). Очевидно, це може бути однією з причин, чому клітинна стінка до завершення першого поділу росте перпендикулярно до материнської клітини і лише після цього росток стає чутливим до гравітації та відновлює гравізалежну вісь росту.

Під впливом гравітації у темряві ріст гравітропної протонеми *C. purpureus* пришвидшувався і розміри клітин були більші, але їх кількість значно меншою, ніж у контролі і після кліноротації (рис. 42). Чисельність клітин могла зменшуватися унаслідок розтягання, яке випереджало мітоз, хоча тривалість проліферативного циклу могла й не змінюватися. Можливо, що за цей період підвищувалася активність ядерця і біогенез рибосом, оскільки встановлено, що умови зміненої гравітації призводять до порушень нуклеолярної активності

(Matia et al., 2010; Kordyum, 2014; Micco et al., 2014). Таким чином, дослідження з *C. purpureus* підтверджують поляризуючу дію гравітації, що підсилює участь ядра у фізіологічних і морфогенетичних процесах клітин. Проте рух ядра не лише відповідь на зовнішні фактори середовища, а й мікроумови клітини і чітка міграція ядра є передумовою підтримання просторової орієнтації поділів і типової форми клітин (Cove et al., 2006; Qu, Sun, 2008).

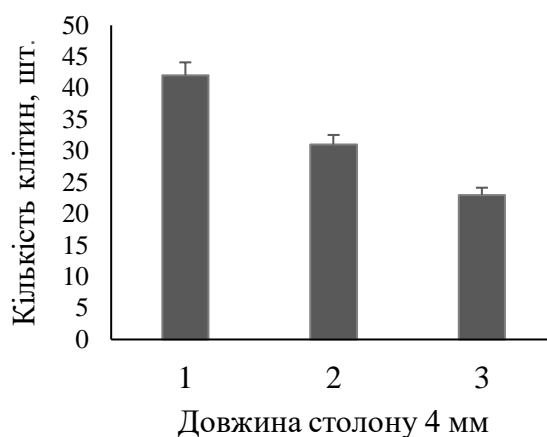


Рис. 42. Кількість клітин у протонемних столонах *Ceratodon purpureus*, довжина столону 4 мм: 1 – контроль, протонема із світла; 2 – протонема після кліностакування; 3 – протонема після гравістимуляції.

По-іншому або й навпаки, відбувався процес поділу → росту під час ініціації галузження, коли поділ ядра інколи завершувався ще до візуального росту галузки (рис. 41, 2,3). Отже, клітинний цикл слід розглядати як сукупність ймовірних і детермінованих процесів, які контролюють часову упорядкованість циклу і відрізняються у морфогенезі різних органів (Goodwin, 1976). Варто уваги й те, що затримка клітин *Physcomitrium patens* на стадії G_2 клітинного циклу, які містять 2 C набір ДНК, розглядається як важлива стратегія виживання гаплоїдного організму (Cuming, 2009).

Взаємозв'язки між ДНК, РНК і синтезом білка складні й ідентифікувати фізіологічні сигнали, які регулюють переходи одного процесу в інший або синтез важко (Baluška et al., 2009; Baluška, Volkman, 2011; Kordyum, 2014; Su et al., 2017; Kordyum, Hasenstein, 2021). Узагальнені дані про вплив гравітації на систему поділ – ріст клітин свідчать, що такі основні клітинні функції не мають прямого відношення до гравіперцепції, але модифікуються зміною рівня гравітаційної сили (Kordyum, 2014). Можна вважати, що мікрогравітація і зміна величини 1 g є стресовими екологічними факторами, що впливають на механізми росту і клітинного циклу.

До зони ініціації ростка ядро завжди мігрує в оточенні білків цитоскелету (рис. 43, 1,4). Локальне скупчення МТ цитоскелету знайдено у місці поділу клітини ще перед візуальним

ростом клітинної стінки (рис. 43, 2). Пучки МТ з'являлися між ядром і місцем майбутнього поділу, істотно потовщувалися і були коротші під час руху ядра (рис. 37, 3).

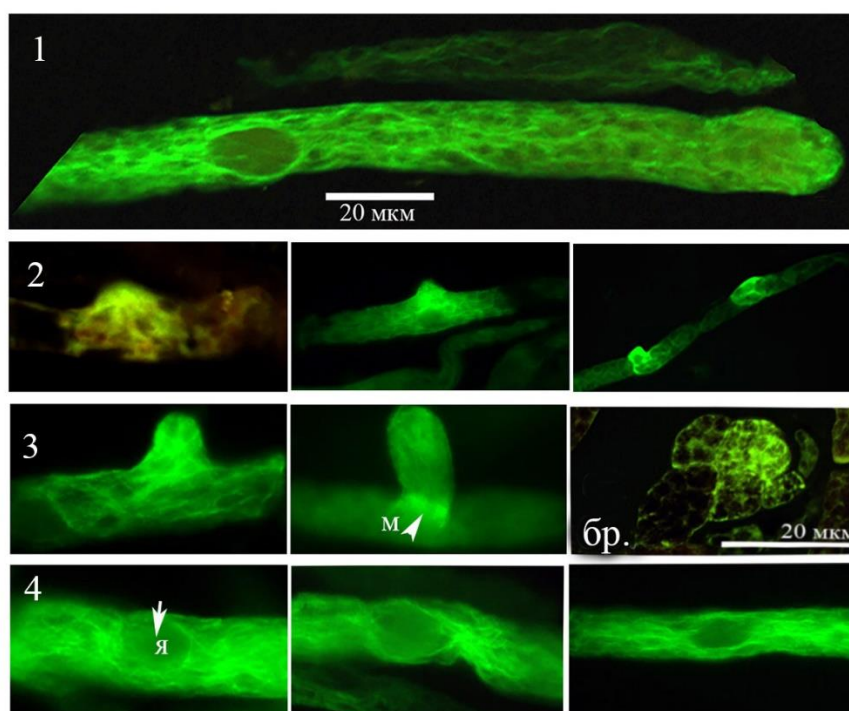


Рис. 43. Імунофлуоресценція МТ в клітинах *Ceratodon purpureus* (Brid.) Hedw.: 1 – в апікальній клітині тубулінові мікротрубочки у вигляді поздовжніх тяжів утворюють сітку цитоскелету по усій довжині клітини; 2, 3, 4 – вища інтенсивність флуоресценції МТ клітин, що погалузилися, у верхівці бруньки і біля ядра; бр. – брунька; м – мітоз в клітині ростка, унаслідок якого утворюється перетинка, що відділяє росток від материнської клітини; я – ядро.

Білки цитоскелету функціонально активніші під час цитокінезу. Відомо, що полімеризація тубуліну таксоллом інгібувала рух ядра та порушувала орієнтацію клітинної перетинки (Demkiv et al., 2003). Імунофлуоресценція тубуліну підвищувалася під впливом низьких інтенсивностей червоного світла, тому слід вважати, що світло контролює локалізацію активного тубуліну (Kordyum et al., 2009). Ймовірно, значення білків цитоскелету полягає насамперед у їх сигнальній і структурній функціях – вони включаються у гравіреакцію під час орієнтації мітотичного веретена та формування клітинної перетинки і організації мікрофібрил целюлози. Їх динамічна структурна реорганізація, як структурного скелету клітин, є обов'язковою на різних стадіях росту (рис. 43, 3; 44). Тубулінові мікротрубочки цитоскелету також є ланкою транспортної системи ядра. Надалі система МТ долучалася до регуляції росту клітинної стінки, транспорту ауксинів (Nick, 2013), латерального росту пагона та розвитку бруньки.

Актинові мікрофіламенти (МФ) утворювали сітку у вигляді товстіших чи тонших тяжів вздовж клітинних стінок або поздовжних і поперечних дуг, локальних скупчень в апексі верхівкової клітини протонеми *Chara* (рис. 44) і на різних стадіях розвитку бруньок (Demkiv et al., 2003; Хоркавців та ін., 2015). Очевидно сітка МФ функціонує як структурний каркас клітини під час швидкого росту і високих темпів поділів клітин протонеми чи бруньок, оберігаючи апікальний ростовий центр від пошкоджень. Залишаються питання про метаболічні шляхи впливу гравітації на динаміку та перебудову елементів цитоскелету під час руху ядра і галуження клітин протонеми.

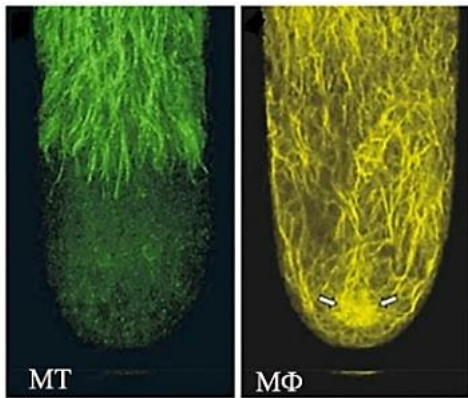


Рис. 44. Верхівка апікальних клітин протонеми *Chara*: імунофлуоресценція мікротрубочок (МТ) і мікрофіламентів

Дослідження впливу інгібіторів тубулінового і актинового цитоскелету на фото- і гравітропізм, підтвердило участь МТ і МФ у верхівковому рості. Однак залежність гравітропізму від організації МФ виявилася істотною, ніж від МТ, що свідчить лише про різну роль елементів цитоскелету у трансдукції фото- і гравісигналу (Demkiv et al., 2003; Kordyum et al., 2009; Шевченко, Кордюм, 2012).

Отже, залежно від векторної спрямованості сили тяжіння та градієнтного розподілу ауксину змінюється гравічутливість протонеми і орієнтація росту латеральних галузок, що розширює фенотипну пластичність мохів і пристосування до умов середовища. Напрямок росту галузок протонеми *Ceratodon purpureus* визначається кутом їх згину відносно вектора земного тяжіння та сигнальною системою ІОК. Інгибування полярного транспорту ауксину за участю нафтил-фталамової кислоти (НФК) призводило до зменшення протидії гравітації та стимулювало плагіотропний ріст латеральних галузок. Встановлено, що під впливом гравітації порушувалася координація росту та поділ клітин, хоча тривалість мітотичного циклу не змінювалася. Ініціація галуження і ріст клітинної стінки протонеми випереджали переміщення ядра до нової зони росту, де закладався ріст. Рух ядра корелював з формуванням нової зони росту та активністю тубулінового цитоскелету. Галуженню передувала локальна активація мікротрубочок цитоскелету, які оточували ядро під час його переміщення, забезпечуючи сигнальну та транспортну функції клітини.

8.2. ГРАВИЗАЛЕЖНИЙ РІСТ, ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ КЛІТИН ПРОТОНЕМИ І МОРФОЛОГІЧНА ФОРМА ДЕРНИН РІЗНИХ ВИДІВ МОХІВ

У 1996 р. в експерименті "Протонема" на борту біосупутника Біон-11 вперше виявили спіральний ріст протонема *Ceratodon purpureus* (Демків та ін., 1998). На відміну від чітко вираженого негативного гравітропізму протонема у контролі на Землі, в умовах мікрогравітації столони закручувалися і дернина набувала форму спіралі або ж столони у вигляді „лопатеї турбіни” розбігалися у різні сторони. Пізніше такі морфологічні форми дернин одержали в експериментах на борту космічних кораблів США у 87-й та 107-й місях (Kern, Sack, 1999; Demkiv et al., 2003; Kern et al., 2005). На нашу думку, важливо проаналізувати особливості переходу лінійного росту у спіральний, визначити вплив гравітації (реальної та симульованої кліностакуванням), умов освітлення та складу поживного середовища на гравіморфогенез протонемної дернини.

На Землі в умовах сталої дії гравітації протонема *C. purpureus*, *Physcomitrium patens* і *Barbula unguiculata* росте у темряві ввєрх, утворюючи пасмо негативного гравітропічних столонів (рис. 45, а). Натомість, на світлі столони ростуть у різні боки і розвивається дернина радіально симетричної форми. Протонема *P. patens* і *B. unguiculata* на світлі, як і *C. purpureus*, також може утворювати спіральні столони (рис. 45, 46, 47).

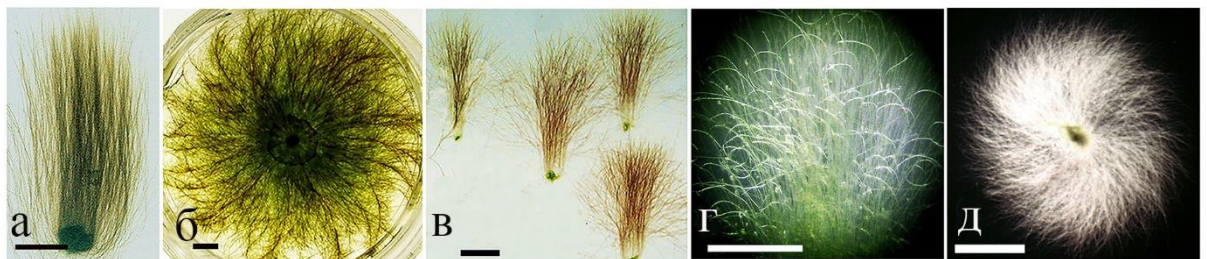


Рис. 45. Морфологічна форма дернинок *Ceratodon purpureus* у темряві (а,в,г,д) і на світлі (б); гравітропна протонема (а); спіральна форма (б); дернина в'ялоподібної форми після кліностакування і мікрогравітації (в, г); спіральна форма дернин в умовах мікрогравітації (д). Рис. 45, д представлено з дозволу В. Керна (Kern et al., 2005). Штрих = 200 мкм.

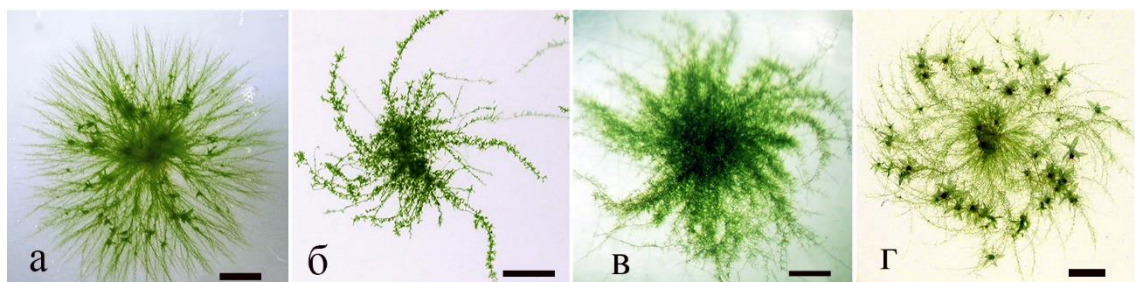


Рис. 46. Морфологічна форма дернинок *Physcomitrium patens* на світлі: а – радіальна форма; б, в – спіральні столони ; г – спіральна дернина із гаметофорами; штрих =200 мкм.

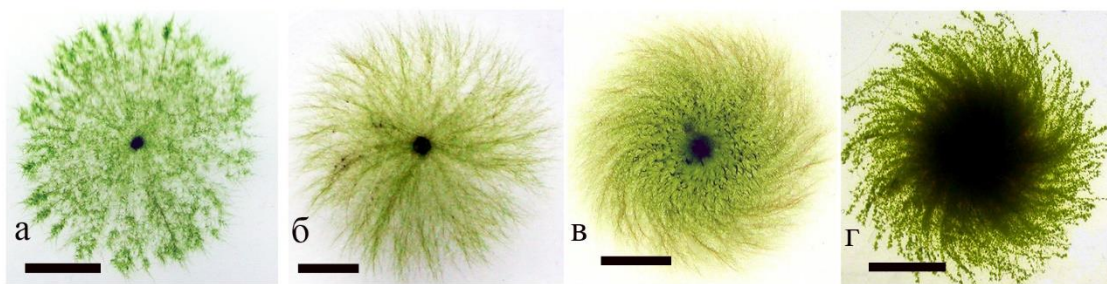


Рис. 47. Форми дернинок *Barbula unguiculata*, що утворилися на світлі: а – 14-денна дернина радіальної форми; б – 7-денна дернина на початковій стадії скручування столонів; в, г – 12 і 21-денні дернинки спіральної форми; штрих = 300 мкм для а, б, в.

Нитчаста протонема мохів формується з двох типів столонів – хлоронеми і каулонеми. Клітини хлоронеми фотосинтетично активні завдяки численным хлоропластам, тоді як радіальний і спіральний ріст та асиміляційна діяльність каулонемних столонів сприяють розростанню дернин різної форми. Відомо, що баланс між хлоронемою і каулонемою залежить від інтенсивності освітлення та співвідношення фітогормонів. Утворення каулонеми стимулюють високі інтенсивності освітлення, глюкоза й ауксин, але інгібують цитокініни (Демків та ін., 2006; Хоркавців та ін., 2015; Ворр, 1983; Reski, 1998). Світло і глюкоза можуть мати спільний механізм дії, оскільки вуглеводи є головним продуктом фотосинтезу і енергетичним чинником диференціації протонеми (Структура виду..., 2001; Glime, 2017).

Досліджувані види мохів по різному реагують на дію гравітації. Найчутливішою є хлоронема *C. purpureus*, її столони через 6 год після гравітимуляції утворювали 40° згин. Ріст *B. unguiculata* відбувався повільніше і за той самий час кут згину хлоронемних і каулонемних столонів дорівнював 30° . У *P. patens* гравічутливими переважно є ризоїди і каулонемні столони, а не хлоронема, кут згину як і в *B. unguiculata* – 30° .

На світлі протонема *C. purpureus* росте плагіотропно, дернинка має симетрично круглу форму, радіальні столони не згинаються і після диференціації каулонеми напрям росту протонеми і форма дернинки загалом не змінюється. Інтеркалярні клітини протонеми галузилися і новоутворені бокові столони, як і каулонемні росли радіально. Проте, час від часу, на світлі головні і бокові столони можуть симетрично загинатися і тоді форма дернинки виглядає спіральною (рис. 45, б)

Дернинка *P. patens* на світлі також радіальної форми (рис. 46, а), однак кінці головних столонів можуть згинатися вправо або вліво (рис. 46, б, в). Бокові галузки спочатку росли прямолінійно, лише згодом, як і головні столони, загиналися в один бік і дернинка набирала спірального вигляду. На дугоподібних головних столонах розвивалися листостеблові гаметофори (рис. 46, г).

На світлі, головні столони *B. unguiculata* відразу відхиляються дуговидно, унаслідок чого утворюються синхронні спіральні згини направлені проти годинникової стрілки. Дернинка має чітко виражену спіральну форму (рис. 47, в, г). Спіральність столонів, наймовірніше видоспецифічний тип росту, що залежить насамперед від диференціації клітин каулонемі з косими клітинними перетинками як передумови спіральності дернин. Каулонемна стадія властива для всіх проаналізованих видів, але початок диференціації клітин часово відрізняється, що є основною причиною різної спіралізації і форми дернин. Значною мірою зміна орієнтації може визначатися умовами середовища, транспортом фітогормонів та іншими чинниками. Наприклад, якщо у середовище додавали глюкозу, столони *S. purpureus* росли за стрілкою годинника, без глюкози у протилежному напрямі. Азотнокислий амоній істотно не впливав на характер згинів, але пришвидшував процес спіралізації дернинки, очевидно, стимулюючи диференціацію каулонемі, але при цьому не відзначали активації галузнення (Лесняк, Демків, 2005; Демків та ін., 2006).

У морфологічній будові дернинок проаналізованих видів, що росли на світлі, виділяють центральну і латеральну частини столонів. Центральна частина дернинки сформована з столонів хлоронемного типу, які щільно прилягають один до одного, а поза її межі вибігають окремі каулонемні столони, що утворюють латеральну зону. У *P. patens* і *B. unguiculata* якраз ці столони ростуть дугоподібно. Протонема латеральної частини дернинки галузиться, новоутворені бокові столони змінюють напрям росту на круговий і дернинка набуває спіральної форми (рис. 46, 47). Чи така властивість закономірна чи виникає унаслідок зовнішніх факторів, наприклад умов середовища чи поверхневих фізичних сил, є цікавою морфогенетичною проблемою.

У темряві у гравітаційному полі протонема росла паралельно до вектора гравітації негативно гравітропно (рис. 45, а). Після перенесення гравітропної протонемі в умови мікрогравітації або на кліноостат напрям росту столонів змінювався. На кліноостаті у темряві дернинки *S. purpureus* росли спіральні і столони загиналися в один бік – за годинниковою стрілкою. Дернинка *S. purpureus* виглядала як „спіральна туманність”, завдяки тому, що згиналися всі столони – головні і бокові (Kofler, 1959; Лазаренко та ін., 1961). Частина столонів, зокрема крайніх, відхилялася від вертикальної осі росту. Після диференціації каулонемі з обох сторін від пасма утворювалися гвинтоподібні спіралі (рис. 45, в, г), які закручувалися у різні боки, так що дернинка мала віялоподібний вигляд. Спіральні дернинки утворювалися незалежно від напрямку ротації кліноостату (за чи проти годинникової стрілки) та положення чашок (вертикально чи горизонтально). Подібні спіральні дернинки *S. purpureus* утворювалися в умовах мікрогравітації (Демків та ін., 1998; Kern, Sack, 1999, Kern et al., 2005;

Lobachevska et al., 2022). Столони, які росли ближче до центра гравітропного пасма, також розходилися в обидва боки, однак росли дуже щільно, унаслідок взаємного контактного впливу, тому що і загини були плавні, дугоподібні.

Спіральна форма дернинки *P. patens* під час кліноостатування формувалася завдяки згинам лише головних столонів. Бокові столони моху росли повільно, тому головні отримували перевагу – швидше росли, скоріше відбувалася диференціація каулонемі і розпочинався дугоподібний ріст. Протонема *Barbula unguiculata* на кліноостаті в темряві не утворювала спіральних згинів, а росла радіально. Лише на світлі столони згиналися дуговидно, і морфологічно дернинка *B. unguiculata*, яка сформувалася на світлі, і дернинка *S. purpureus*, що виросла у темряві або в умовах мікрогравітації, виглядали однаково. Отже, у випадку з *B. unguiculata* гравітація (у темряві) діяла як обмежуючий фактор і гальмувала спіральний тип росту, але не впливала на утворення спіральних структур у дернинках *S. purpureus* (рис. 39, д). Це чітко продемонстровано у спільному українсько-американському експерименті на борту космічного корабля Колумбія (Kern, Sack, 1999; Кордюм, Чепмен, 2007).

З диференціації каулонемі розпочинається переорієнтація прямолінійного росту столонів протонемі на дугоподібний спіральний. Дослідження диференціації протонемі різних видів мохів свідчать, що для конверсії хлоронемі у каулонему необхідні певні умови. Каулонема не утворюється на низьких інтенсивностях освітлення (не менше 500 лк), низькій температурі (5° або менше), у рідкому середовищі і т.д. (Лазаренко та ін., 1961; Kofler, 1959). Для нормальної диференціації у темряві використовують енергетично збагачене 0,15 М глюкозою середовище Кнопа (Демкив и др., 1977; Kern, Sack, 1999). Відомо також, що низькі концентрації ауксину впливають на розвиток каулонемі (Ворр, 1983). З поміж зазначених факторів важливими для диференціації протонемі є кількість клітин у протонемній нитці і погалужень столонів, тобто густина дернини, її загальний обсяг. Очевидно, що клітини продукують виділення в субстрат речовин, можливо гормонів, цукрів чи ферментів, які стимулюють диференціацію каулонемі.

З таких міркувань планували дослідження впливу світла, глюкози і ауксину на диференціацію каулонемі та галуження клітин головних столонів. В експерименті використали *B. unguiculata*, тому що серед досліджуваних видів протонема цього виду найкраще утворює спіральні структури на світлі. Як і слід було сподіватися, низькі інтенсивності освітлення (6 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹) стимулювали утворення хлоронемі та затримували диференціацію каулонемі. Однак на субстраті з 0,15 М глюкозою утворювалися каулонемні столони і їх кількість збільшувалася на низьких і на високих інтенсивностях

освітлення (рис. 48). На середовищі з 1,0 мкМ 1-НОК (1-нафтилоцтова кислота) кількість каулонемних стolonів у дернинці теж підвищувалася (35 %, порівняно з 20 % у контролі), але стимулююча дія глюкози була значно вищою, ніж 1-НОК. Вплив ауксину на утворення каулонемних стolonів був істотніший на високих інтенсивностях освітлення, тоді як дія глюкози нівелювала залежність диференціації клітин каулонемі від інтенсивності освітлення.

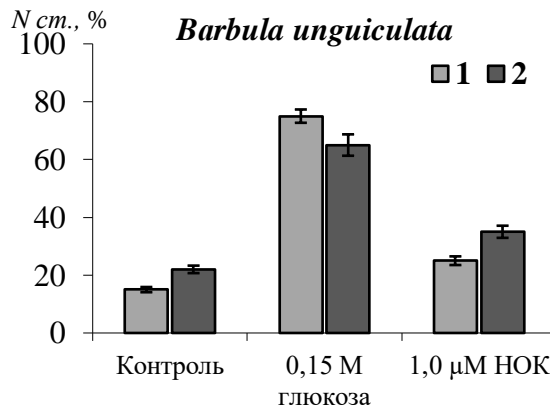


Рис. 48. Кількість N_{cm} каулонемних стolonів *Barbula unguiculata*, що утворилися на різних інтенсивностях освітлення: 1 – 6 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹, 2 – 30 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹

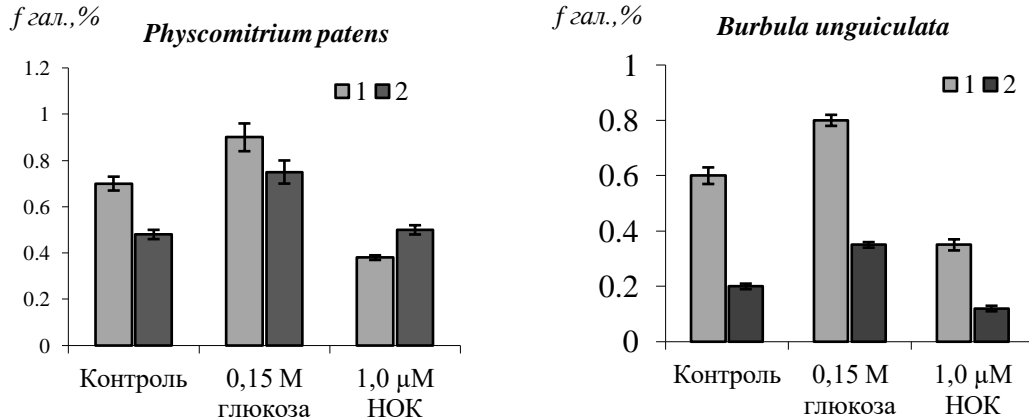


Рис. 49. Частота $f_{гал}$ галуження каулонемних клітин протонеми *Physcomitrium patens* і *Barbula unguiculata*: 1 – головних стolonів, 2 – бокових стolonів

Дернина мохів наростає унаслідок приросту головних стolonів у довжину, а її розміри збільшуються завдяки галуженню інтеркалярних клітин протонеми. Частота галуження і довжина бокових стolonів змінюється залежно від умов вирощування. Результати досліджень з 0,15 М глюкозою та 1,0 мкМ НОК і активність галуження головних каулонемних стolonів і бокових хлоронемних відгалужень наведено на рис. 49. Як свідчать результати (рис. 49), головні стolonі *B. unguiculata* і *P. patens* у контролі галузилися дуже інтенсивно, глюкоза ще

більше посилювала галуження, а ауксин, навпаки, знижував темп галуження. Глюкоза і ауксин стимулювали також галуження бокових стolonів, інтенсивніше у *P. patens*, ніж *B. unguiculata*.

Крім частого галуження головних стolonів *B. unguiculata* та *P. patens* галузки закладалися і на довгих зігнутих стolонах (100–120 клітин) переважно на зовнішній (периферичній) поверхні стolону, тоді як на прямих стolонах, котрі росли радіально, галузки формувалися почергово з обох боків. Але у *P. patens* частіше спіральні витки утворювали довгі, а у *B. unguiculata* короткі стolони (10–15 клітин), яких значно більше, ніж довгих. 90 % бокових хлоронемних галузок *B. unguiculata* і *P. patens* росли поволі, їх довжина сягала $50 \pm 0,4$ мкм і лише 10 % стolonів мали довжину $170 \pm 9,2$ мкм. Очевидно тому, що коротких спіральних стolonів у *B. unguiculata* більше, – дернинка густіша, спіралізація чіткіша, ніж у *P. patens*, і тому морфологічна форма дернинок різна.

Чутливість апікальних клітин до гравітації виникає на різних стадіях диференціації протонеми і є видозалежною. У *Ceratodon purpureus* гравічутливою є хлоронема, у *Funaria hygrometrica* і *B. unguiculata* – каулонема, у *P. patens* гравітропно ростуть ризоїди і каулонема. Отже, каулонемна стадія, як обов'язкова умова спірального росту і гравічутливості, спільна для одних видів мохів, але виконує різні функції у морфогенезі. Тому, досліджуючи гравічутливість різних видів, слід враховувати особливості їх диференціації та розвитку в онтогенезі.

У гравітаційному полі в умовах освітлення стolони стеляться по поверхні субстрату, радіально формуючи симетричні дернинки, а після диференціації каулонеми і формування бруньок гаметофорів синхронно закручуються у вигляді спіралей. Не виключено, що саме паралельна направленість факторів зумовлює незалежний як від світла, так і від гравітації прямолінійний радіальний напрям росту. У темряві саме через відсутність світла ріст відбувається строго в одному напрямі – негативно гравітропно. В умовах кліностатування і мікрогравітації виявляється певна автономність росту стolonів від гравітації та світла і різні види мохів ростуть неоднаково – прямолінійно або спіралью згідно з програмою розвитку.

Спіральні протонемні дернини спочатку виявили у культурі мохів і вперше їх описали для *Funaria hygrometrica*, *Fissidens bryoides* (Hedw.), *Barbula unguiculata*, *Tortula truncata* (Hedw.) Mitt., *Mnium spinosum*, *Dicranum scoparium* (Hedw.), *Polytrichum* sp. (Kofler, 1957, 1959; 1965; Ворп, 1959; Лазаренко та ін., 1961). Протонема одних видів мохів, наприклад *Physcomitrium patens*, загинається за годинниковою стрілкою, а *B. unguiculata* – проти стрілки годинника, але за різних умов напрям росту міг змінитися. Л. Кофлер вважала, що причиною спіралізації протонеми є гравітація, і ніякі ендогенні фактори не беруть участі у цьому явищі. (Kofler, 1959). Проте було встановлено, що гравітація відіграє важливу роль у спіралізації, але

спільно зі світлом. М. Бопп звертав увагу на те, що орієнтація спіралі залежить від напрямку та інтенсивності освітлення (Bopp, 1963). Але зміна орієнтації спіралі під впливом низьких концентрацій глюкози означає, що напрям визначається екзогенно за участю гексокінази (Kofler, 1959, 1963). Е. Синнот допускав, що спіральність ініціюється нахилом клітинної перетинки (Sinnott, 2015). Однак, обов'язковим для спірального росту є диференціація клітин каулонемі з косими міжклітинними перетинками. Косі перетинки механічно впливають на переміщення ростової зони в апексі верхівкової клітини, що може залежати від положення веретена під час мітозу, і детермінувати орієнтацію росту.

Розміщення елементів цитоскелету впливає на апекс верхівкової клітини, а організація тубулінових елементів цитоскелету мікротрубочок (МТ) може змінюватися під впливом гравітації і фітогормонів (Nick, Furuya, 1996; Demkiv et al., 2003; Cove et al., 2006; Blancaflor, 2013; He et al., 2020). Клітини спіральних стolonів каулонемі після кліноостатування мали довгі товсті тяжі МТ, які розміщені паралельно до клітинної стінки (Khorkavtsiv, Kardash, 2001; Demkiv et al, 2003). Тобто, спіральна форма клітин каулонемі супроводжується такою ж орієнтацією філаментів МТ. Чи існує кореляція між ростом клітинної стінки і організацією цитоскелету не з'ясовано, оскільки трапляються клітини, де МТ орієнтовані по-іншому. С. Тітамеді зі співавторами (Thitamadee et al., 2002) припускають, що МТ якимсь чином беруть участь у спіральному рості і можуть бути частиною механізму контролю за формою росту коренів *Arabidopsis*. Якщо прийняти гіпотезу про взаємодію апікальних клітин, які щільно прилягають одна до одної, то дифузиею сполук, що інгібують ріст сусідніх клітин або культур (Bopp, 1959), можна пояснити ініціацію радіального, але не спірального росту. Спіральна форма росту, крім екзогенних факторів, обумовлена ендегенно – зміною стадій диференціації, а індукція нахилу елементів цитоскелету може бути передумовою косоного закладання поперечних перетинок. Та жодна зміна не є правилом, бо напрям спірального росту як поодиноких стolonів, так і цілої дернини може бути як за годинниковою стрілкою, так і проти.

Якщо протонему, що росла у темряві, перенести в умови мікрогравітації або на кліноостат, то столони сформованого негативно гравітропного пасма „розбігалися” у різні сторони (Демків та ін., 1998; Kern et al., 1999). Звичайно, між окремими столонами протонемі існують взаємовпливи, які на фоні поляризуючої дії гравітації морфологічно не проявляються. Крім взаємодії, відомої як „груповий ефект”, це може бути електрична поляризація клітин (Демків, Федьк, 1977). Поверхня інтеркалярних клітин протонемі заряджена позитивно і розходження стolonів може зумовити відштовхування однойменних зарядів. Немає чіткого роз'яснення, як формуються загини у вигляді спіралей. Встановлено, що завдяки нахилу перетинок апекс верхівкової клітини протонемі мохів поступово зміщується, мовби гвинтоподібно

вкручується у середовище, утворюючи згини, витки, спіралі . А.С. Лазаренко із співавторами (Лазаренко та ін., 1961) описали різного роду згини протонеми, які можна пояснити внутрішньою організацією клітин. Виразність скручування клітин залежить від асиметричності клітин протонеми, які на поперечному перерізі мають не круглі, а еліптичні обриси, як наприклад каулонемні клітини. Нахил скручування залежить також від в'язкості і підсихання субстрату.

Гравітація відіграє важливу роль у спіралізації, однак лише у тому випадку, коли світло і гравітація однонаправлені, утворюються спіралі. Водночас генетичні фактори, екзогенні умови, взаємодія столонів протонеми, освітлення впливають на інтенсивність і напрям спіралізації протонеми. Чи радіальний і спіральний ріст можна пояснити автономними програмами апікальних клітин або протонеми взагалі? Наприклад, спіральний ріст можна пов'язати з нутаціями, які знайдено у *Physcomitrium patens* і *Ceratodon purpureus*. Формування спіральних структур у *Barbula unguiculata* на світлі в умовах 1g, а у *C. purpureus* у темряві в умовах мікрогравітації, чи кліноостатування свідчить саме про спадковість такого морфогенезу. Підтверджують автономність спірального росту унікальні космічні експерименти, коли спіральні структури формувалися при відсутності світла і гравітації. В умовах реальної мікрогравітації в космічному польоті і у дослідях на Землі виявлено спіральний ріст протонеми у декількох видів мохів.

Крім того, протонема одних видів – *P. patens* загинається за годинниковою стрілкою, а *B. unguiculata* – проти стрілки годинника, а за різних умов нахил спіралі може змінитися на протилежний. Зміна орієнтації спіралі під впливом низьких концентрацій глюкози означає, що напрям визначається екзогенно шляхом морфогенетичної дії гексокінази. У цьому випадку гексокіназа не включається у вуглеводневий метаболізм, а генерує сигнал, який є тригером для гексоз і активує диференціацію (Moore et al., 2003).

Спіральний ріст протонеми є доволі розповсюдженою формою росту і контролюється ендо– та екзогенними факторами, серед яких є і такі специфічні чинники як гравітація або електрична поляризація клітин. Безперечно, важливим індуктором спіралізації є стадія протонеми, бо лише ростова зона апікальних клітин каулонемі, на відміну від хлоронемі, може загинатися навколо поздовжньої осі клітини. Зрештою, поворот апікальних клітин сприяє утворенню спіралей і спіральної форми дернини, а напрям згину в той чи інший бік визначається нахилом веретена під час клітинного поділу. Отже, можемо стверджувати про спадкові властивості спіральної форми дернин мохів та участь ендогенних регуляторів в морфогенезі, прояв якого маскується в земних умовах і світлом, і гравітацією. На підставі досліджень росту протонеми *C. purpureus*, *B. unguiculata* і *P. patens* в умовах 1g,

мікрогравітації та кліностатування при різних умовах освітлення та складі поживного середовища встановлено, що морфогенез протонеми регулюється екзо-та ендogenous чинниками, дія яких на Землі маскується гравітацією або світлом.

8.3. МОРФОГЕНЕТИЧНИЙ ЕФЕКТ ГРАВІТАЦІЇ ТА ФОРМУВАННЯ БРУНЬОК З АПІКАЛЬНИХ КЛІТИН ПРОТОНЕМИ

Важливим етапом розвитку протонеми мохів є утворення бруньок гаметофорів. Процес морфогенезу бруньок розпочинається з утворення коротких 2-клітинних бокових відгалужень протонеми і асиметричних поділів трьохсідної верхівкової клітини (Ворр, 1983; Структура виду ..., 2001). Галуження та брунькоутворення світлозалежний процес, для яких достатньо навіть дуже низьких інтенсивностей освітлення – $0,037 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ сек}^{-1}$. Встановлено, що така інтенсивність ініціює галуження та закладання бруньок, але не стимулює фототропізм і не пригнічує гравітропізм. Досліджуючи взаємодію фото- і гравітропізму з використанням червоного світла низьких інтенсивностей $0,03 - 1,5 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ сек}^{-1}$) було встановлено, що горизонтально орієнтована гравітропна протонема, незалежно від напрямку освітлення, росла негативно по відношенню до вектора гравітації, ініціюючи ріст примордіїв та бруньок. Таким чином, ріст вверх майже виключно визначався гравітацією.

Морфогенетично активне червоне світло $0,037 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ індукувало галуження протонеми *Tortula caucasica* та утворення бруньок, причому ефект світла залежав від напрямку його дії. Світло спрямоване проти вектора гравітації ініціювало утворення значно більшої кількості бруньок, ніж якщо вектори світла і гравітації співпадали. Насвітлення горизонтально орієнтованої протонеми знизу, порівняно з насвітленням вертикально розміщеної протонеми збоку, стимулювало галуження та закладання бруньок на затіненій стороні ниток з $31,9 \pm 5,5 \%$ до $76,9 \pm 2,4 \%$. Це переконливо свідчить про адитивну дію гравітації та світла низької інтенсивності.

Негативний фототропізм під впливом червоного світла низької інтенсивності визначено для протонеми *Ceratodon purpureus* (Kern, Sack, 1999). У *Physcomitrium patens* частина ізольованих протопластів клітин протонеми у спрямованому світлі регенерувала на затіненій стороні (Cove, Knight, 1987). Що стосується негативного гравіморфізму клітин протонеми *Tortula caucasica*, він виявлений нами вперше.

Утворення бруньок на коротких 2-3-клітинних бокових відгалуженнях протонеми пов'язане з інтенсивністю росту апікальних клітин. Для диференціації бруньок необхідне сповільнення росту клітин: довжина апікальної клітини не повинна перевищувати 80 мкм, в іншому випадку продовжується нитчастий ріст. Можна думати, що відсутність бруньок на протонемі *T. caucasica* в умовах мікрогравітації під час опромінення червоним світлом

інтенсивністю $1 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ є наслідком фототропного росту, що інгібував морфогенетичну дію світла. Однак, важливою умовою морфогенезу залишається необхідність векторної дії гравітації.

Після гравістимуляції, коли отримали гравітропну протонему і виставили її на світло, масово утворювалися бруньки на усіх столонах і на один-два дні раніше, аніж на постійному білому світлі (рис. 50).

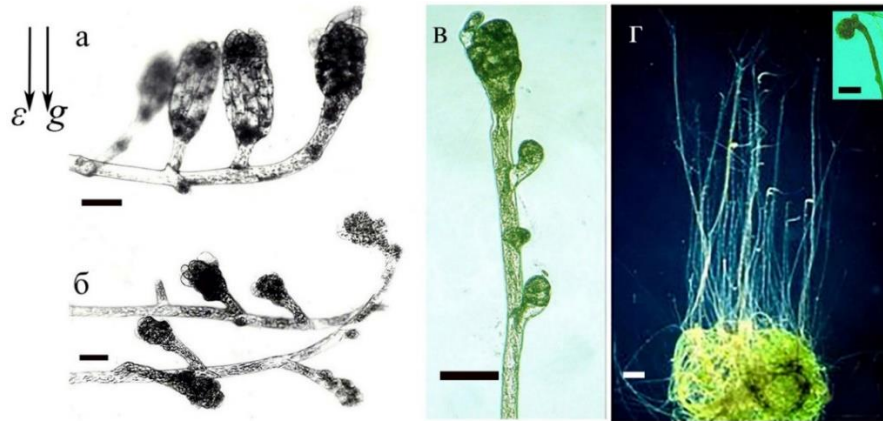


Рис. 50. Бруньки на 7-денних гравітропних столонах *Tortula caucasica* (а, в, г) і *Pohlia nutans* (б) утворилися після перенесення протонемі з темряви на світло: а, б, в – початкові стадії закладання бруньок на апікальній та інтеркалярних клітинах на білому світлі; г – утворення поодиноких бруньок у мікрогравітації після освітлення червоним світлом (660 нм, $1 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$); вектори світла і гравітації співпадають. Тривалість освітлення 4 год, штрих = 100 мкм.

Вперше встановлено, що на гравітропній протонемі бруньки розвивалися з апікальних клітин головних столонів, а не на бокових гілках, як звичайно (рис. 44). Якщо гравітропну протонему насвітлювали червоним світлом, фотоефект посилювався і бруньок утворювалося більше. Такої дії не виявлено для синього світла, зате вдалою була комбінація червоного та синього світла, що значно стимулювало закладання бруньок (табл.18).

Таблиця 18

Утворення бруньок гаметофорів на 7-денній гравітропній протонемі *Pohlia nutans*: тривалість освітлення 4 год, інтенсивність білого світла $40 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, червоного і синього – $6 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. В усіх варіантах проаналізовано по 25 столонів

Умови освітлення	Кількість бруньок, шт.
Біле світло	250 ± 2
Червоне	316 ± 3
Синє	122 ± 1
Червоне (4 год) + синє (2 год)	367 ± 3

Маловідомо про гравітацію, як поляризуючий фактор брунькотворення, оскільки у космосі утворювалися лише поодинокі бруньки (рис. 50, г). Після кліноостатування протонеми розвиток бруньок затримувався на один-два тижні.

8.3.1 АНАЛІЗ ГРАВИЗАЛЕЖНОГО МОРФОГЕНЕЗУ ЦИТОТИПІВ *TORTULA CAUCASICA*. ВПЛИВ ФІТОГОРМОНІВ І СВІТЛА НА ФОРМУВАННЯ БРУНЬОК

Тривале вирощування протонеми мохів у темряві сприяє швидшому закладанню бруньок гаметофорів на світлі. Експериментальні дослідження розвитку гаплоїдної і диплоїдної протонеми *T. caucasica* свідчать про те, що обидва цитотипи реагують на дію гравітації пришвидшеним формуванням на світлі бруньок в апікальній частині стolonів. Встановлена відмінність у послідовності розвитку бруньок залежно від цитотипу та фітогормонів.

На гаплоїдній протонемі спочатку утворюються бруньки, а потім пучки ризоїдів, на диплоїдній, навпаки, спочатку клітини протонеми (ризоїдних стolonів) рясно галузяться, а вже тоді закладаються бруньки гаметофорів (рис. 51). Пришвидшений розвиток гравітропної протонеми і диференціація бруньок зумовлені посиленням атрагуючої здатності апікальної клітини під впливом поляризуючої дії гравітації, що робить її компетентною до брунькоутворення. У стаціонарних умовах 1г бруньки закладалися на апікальних клітинах і верхівці протонеми, після кліноостатування – по всій довжині стolonу. В обидвох варіантах на гаплоїдній протонемі бруньок було більше, ніж на диплоїдній, окрім того, цитотипи відрізнялися морфологічно способом галуження.

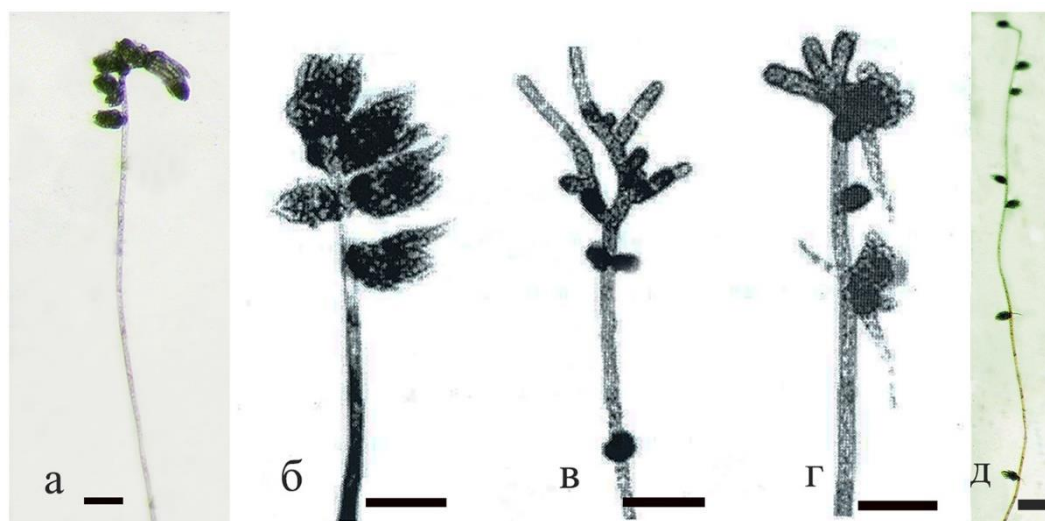


Рис. 51. Бруньки гаметофорів двох цитотипів *Tortula caucasica* утворилися в апікальній частині стolonу: гаплоїд (а, б, д), диплоїд (в, г), після кліноостатування (д); штрих: а, д = 500 мкм; б, в, г = 200 мкм.

Досліджуючи диференціацію протонеми цитотипів *T. caucasica* за участю фітогормонів, враховували відомий факт, що цитокініни вибірково активують ініціацію бруньок (Ворр, 1983;

Хоркавців, Демків, 2003; Glime, 2017). Порівняно з контролем, 0,1 мкМ 6-ВАР (6-бензиламілопурин) стимулював утворення апікальних бруньок на диплоїдній протонемі більше, ніж на гаплоїдній (табл. 19). Висока 10 мкМ концентрація цитокініну була ефективною лише для диплоїда і пригнічувала брунькоутворення гаплоїда ($t_{\text{експ}} = 3,02$). Можна допустити, що вміст ендогенних цитокінінів у гаплоїдній протонемі вищий, аніж у диплоїдній, тому додаткове внесення 6-ВАР у середовище спричиняє його надпороговий рівень і гальмує розвиток бруньок.

Таблиця 19

Формування бруньок з апікальних клітин гравітропних столонів протонемі *Tortula caucasica* залежно від цитокініну

6-ВАР, мкМ	Проаналізовано столонів, шт.	Загальна кількість бруньок, шт.	Кількість бруньок на апікальних клітинах, шт.
0 – гаплоїд диплоїд	577	312	54,1 ± 2,1
	117	31	26,5 ± 4,1
0,1 – гаплоїд диплоїд	212	119	56,1 ± 3,4
	119	48	40,3 ± 4,5
10,0 – гаплоїд диплоїд	157	64	40,8 ± 3,9
	139	58	41,7 ± 4,2

До важливих фітогормонів, що контролюють ріст і розвиток, належать ауксини. Формування бруньок гаметофорів у мохів не відбувається без участі ІОК (Johri, Desai, 1973; Lehner, Vorr, 1983; Bhatla, Vorr, 1985; Vorr, 1990; Демків та ін., 2001; Numan, Cutter, 2011; Glime, 2017; Thelander et al., 2018; Johri, 2020). Рівень клітинного ауксину та його розподіл важливі для диференціації клітин, їх поділу, галуження, ініціації та росту ризоїдів (Viaene et al., 2014). Під час розвитку гаметофіту *Physcomitrium patens* знижувалася активність білків-переносників ауксину PIN, що стимулювало підвищення вмісту ауксину в клітинах і передчасної диференціації. Експресія переносників зменшувала рівень клітинного ауксину і затримувала стадії розвитку. Зміни активності PIN також ускладнюють поділ клітин, коли потрібний точний баланс між мітозом і диференціацією процесів, що регулюються ауксином (Thelander et al., 2018). Складно визначити, чи ауксин разом із цитокініном необхідний для диференціації бруньок, чи окремо ауксин стимулює диференціацію каулонемі, забезпечуючи у такий спосіб синтез цитокініну і індукцію бруньок. Найбільш ймовірно, ауксин необхідний для диференціації каулонемі, що робить клітини компетентними до морфогенезу (Johri, Desai, 1973; Lehner, Vorr, 1983; Демків та ін., 2001; Демків та ін., 2005). Однак, деякі дані вказують на те, що ауксин впливає на регуляцію обидвох процесів (Pernisova et al., 2016; Su et al., 2017;

Thelander et al., 2018; Waidmann et al., 2019).

Для визначення участі ауксину в ініціації бруньок використали фітотропіни N-1-нафтилфталамову кислоту (НФК), що інгібує полярний транспорт ІОК, і аналог ауксину 1-нафтилоцтову кислоту (1-НОК). (рис. 52).

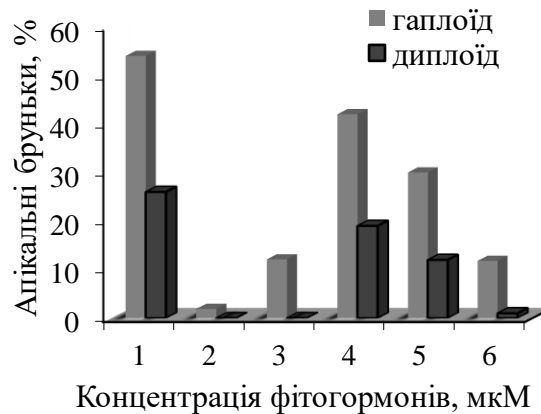


Рис. 52. Вплив НФК і 1-НОК на формування бруньок з апікальних клітин гаплоїдної і диплоїдної протонеми *Tortula caucasica*: 1 – контроль; 2 – НФК 30 мкМ; 3 – НФК 3 мкМ; 4 – 1-НОК 1,0 мкМ; 5 – НФК 3 мкМ ± 1-НОК 1,0 мкМ; 6 – кліноостатування.

Фітотропін НФК повністю блокував утворення бруньок на диплоїдній протонемі, істотно зменшувалася їх кількість і у гаплоїда (рис. 52, 2, 3). Аналог ауксину 1-НОК послаблював інгібуючу дію НФК в обидвох цитотипах *Tortula caucasica*, а кліноостатування впливало подібно до НФК і кількість апікальних бруньок зменшувалася (рис. 46, 5, 6). Беззаперечно, цитокініни та ІОК контролюють процес утворення бруньок з апікальних клітин. Особливе значення має апікально-базальний градієнт ІОК, що детермінує активність верхівкового росту апікальних клітин. Очевидно, направлена дія сили тяжіння посилила акропетальний транспорт у гравітропній протонемі, що стало передумовою фізіологічних градієнтів і компетенції апікальних клітин до формування бруньок гаметофорів. Досліди з кліноостатуванням дали змогу зняти векторну дію гравітації, що призвело до втрати гравітропного росту і бруньок у верхівці столону. На кліноостатованій протонемі бруньки закладалися на інтеркалярних клітинах і зрідка по всій довжині столонів, що зумовлено послабленням полярного транспорту фітогормонів, порівняно з гравітропною протонемою (Демків та ін., 1999; Ripetskyj et al., 1999). Як під час векторної дії гравітації, так і у змінених умовах сили тяжіння гаплоїдний гаметофіт розвивався краще, ніж диплоїдний, тому бруньок в диплоїда була менше.

Таким чином, розвиток гаплоїдної і диплоїдної протонеми *T. caucasica* свідчить про різний гормональний стан цитотипів. Для формування бруньок гаметофорів необхідна співучасть ІОК і цитокініну: ІОК активує диференціацію протонеми на хлоронему і

каулонему, індукує утворення ризоїдів, унаслідок чого клітина набуває компетенції до морфогенетичної дії цитокінінів. Тому рясне розгалуження гравітропної протонеми диплоїда перед утворенням бруньок може бути показником вищого ендогенного вмісту ІОК, порівняно з гаплоїдом. Це було аргументом для висновку про те, що ендогенний вміст ІОК вищий у диплоїда і нижчий у гаплоїда.

Світло різних ділянок спектра істотно впливало на гравіморфогенез обидвох цитотипів протонеми завдяки гормональній стимуляції фоторегуляторних процесів. Ефект різного спектрального складу світла на формування бруньок відрізнявся: червоне – активувало апікальне брунькоутворення, синє – пришвидшувало закладання бруньок переважно на інтеркалярних клітинах, зелене, малоактивне для розвитку рослин, інгібувало їх утворення взагалі (Ripetskyj et al., 1999; Лобачевська та ін., 2015).

8.3.2. МОДИФІКАЦІЯ РЕПРОДУКТИВНОГО РОЗВИТКУ МОХІВ ЗАЛЕЖНО ВІД МІКРОКЛІМАТИЧНИХ УМОВ І ГРАВІТАЦІЇ

Різносторонні дослідження гравічутливості мохів дають можливість передбачити певні гравіреакції в онтогенезі, знайти способи їх аналізу, включно з диференціацією одноклітинних спор і репродуктивним розмноженням. Тривають експерименти довготривалого вирощування рослин у Космосі з метою успішної реалізації послідовних генерацій та отримання дозрілого насіння, що обмежено умовами літальних апаратних засобів і мікрогравітації. Дослідження в умовах зміненої гравітації є віхою космічної біології, мета якої створити екосистему, придатну для життєдіяльності людей під час пілотованих польотів (Кордюм, 2016; 2023; Kordyum, 2014; Prasad et al., 2020, a, b; Kordyum, Hasenstein, 2021; Paul et al., 2022; Lobachevska et al., 2022). Тому важливо встановити вразливі до стресу стадії репродуктивного розвитку рослин та визначити потенційно стійкі цикли генеративної системи до умов мікрогравітації. Загалом, ми підтвердили роль мохів як експериментальної моделі у дослідженнях гравіморфогенезу та участь сили тяжіння в життєвій стратегії бріофітів (Demkiv et al., 1999, 2003; Хоркавців та ін., 2015; Лобачевська та ін., 2017; Кияк та ін., 2021; Lobachevska et al., 2021, a, b; 2022; Хоркавців та ін., 2023). Проаналізовано вплив гравітаційної сили на формування органів вегетативного й генеративного розмноження, гравічутливість жіночих і чоловічих особин, стійкість різностатевих рослин до умов зміненої гравітації (Демків та ін., 2009; Лобачевська, Хоркавців 2014; Хоркавців та ін., 2016; Лобачевська та ін., 2017).

Як правило, більшість мохів розмножується і вегетативно, і генеративно. Однак, статеве розмноження та розсівання спор часто обмежене кліматичними умовами, і тоді безстатєва репродукція стає визначальною стадією життєвої стратегії та ефективним механізмом швидкого локального заселення й закріплення моху на певній території (Freu, Kürschner, 2011;

Glime, 2017). Установлено, що гравічутливість органів гаметофіту двох зразків *Ptychostomum pseudotriquetrum* із кліматично відмінних природних локалітетів (Антарктики і Львівської обл.) відрізняється. Зазвичай для багатьох видів мохів гравічутливою є ювенільна стадія – протонема, тоді як пагони можуть і не проявляти гравітропізму. Проте, у *P. pseudotriquetrum* з Антарктики гравічутливими були пагони (рис. 53, а), а з околиць Львова гравічутливішою була протонема, аніж пагони (рис. 47, б). Після гравістимуляції в пазухах листків пагонів антарктичної екоморфи утворювалися численні виводкові бульбочки (рис. 47, а), а у львівського зразка моху бульбочки формувалися на видовжених столонах, що ростуть по поверхні дернини або ґрунту (рис. 47, б).

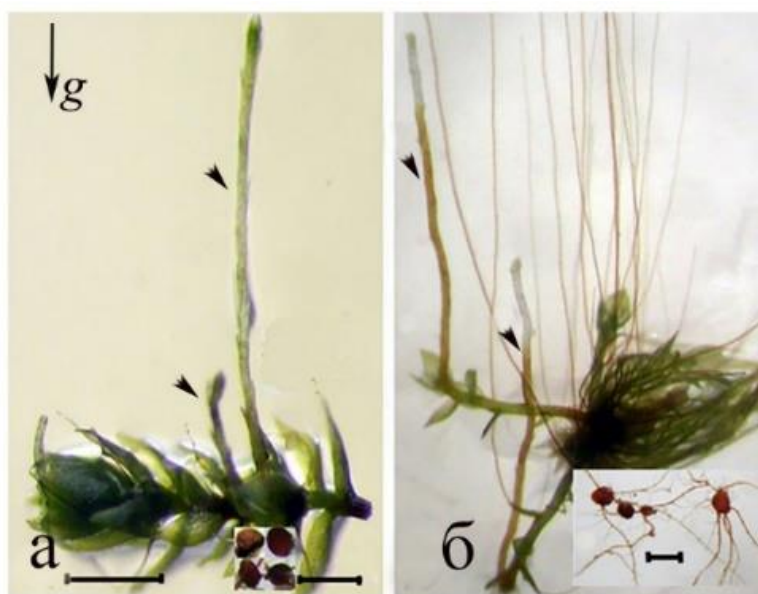


Рис. 53. Дві екоморфи *Ptychostomum pseudotriquetrum* з різною гравічутливістю органів гаметофіту: а – антарктична: гравічутливі пагони, в їх основі утворилися ризоїдні бульбочки; б – львівська: гравічутлива протонема й менш чутливі пагони; ризоїдні бульбочки утворилися на протонемних столонах; стрілками вказано на пагони, що прореагували на гравітацію. Штрих: а, б – 1,5 см, на візках а, б – 400 мкм

У відповідь на зміну положення лабораторної культури *P. pseudotriquetrum* з вертикального на горизонтальне верхівка протонемі або пагона поступово, внаслідок зміщення ростової зони згиналася гравітропно. Величина кута згину апікальних клітин протонемі і верхівок пагонів була показником чутливості рослин до гравітації (табл. 20).

Встановлено, що протонема і пагони двох зразків *P. pseudotriquetrum* неоднаково реагували на дію гравітації. Негативний гравітропізм властивий пагонам антарктичної та протонемі львівської екоморфи, тоді як протонема й пагони зразків, відповідно з Антарктики і околиць Львова, не проявляли чіткого тропізму. Отже, гравічутливість протонемі й

гаметофорів *P. pseudotriquetrum* сформувалася залежно від природних екологічних умов. Мабуть, адаптація до умов короткого вегетаційного періоду Антарктики сприяла підвищенню гравічутливості гаметофорів моху, на яких закладалися органи вегетативного розмноження. Різні морфологічні реакції на дію гравітації набули переваги у життєвій стратегії *P. pseudotriquetrum* в умовах Антарктики, наприклад під час потепління або затоплення. Можна припустити, що лише негативно гравітропні гаметофори, що підіймалися над субстратом змогли енергетично забезпечити утворення ризоїдних бульбочок і швидке вегетативне розмноження під час короткотривалого весняного періоду Антарктики. Отже, залежно від кліматичних умов сформувалися різні спеціалізовані гравіреакції, що було вирішальним для виживання, утворення мохового покриву й поширення *P. pseudotriquetrum*. У трав'яних рослин, наприклад у *Deschampsia antarctica* Desv., в умовах Антарктики сформувалася специфічна атипова структура мезофілу з численними везикулами, що екранують УФ-радіацію і є захисною реакцією від опромінення (Taran et al., 2009). Через те, що протягом вегетаційного періоду рослини в Антарктиці зазнають тривалого впливу низьких температур, надмірного УФ-опромінення, затоплення (Ozheredova et al., 2015), розвинулися комплексні механізми стійкості, які забезпечили їхнє виживання в екстремальних умовах.

Таблиця 20

Вплив гравітації на величину кута згину верхівки протонеми та пагонів культури *Ptychostomum pseudotriquetrum* з різних кліматичних зон

Стадії розвитку <i>P. pseudotriquetrum</i>	Кут гравітропного згину, град.	
	Антарктика	Околиці Львова
Протонема	0	84,7 ± 2,1
Пагони	79,3 ± 4	2,8 ± 0,2

Для іншого гравічутливого виду *Leptobryum pyriforme* уперше експериментально встановлено, що розвиток виводкових тілець – органів вегетативного розмноження і запасання поживних речовин, явище гравізалежне. Після гравістимуляції виводкові тільця *L. pyriforme* утворювалися швидше, їх удвічі було більше, ніж, якщо протонему не піддавали векторній дії гравітації (рис. 54). Після кліноостатування виводкові тільця *L. pyriforme* закладалися із запізненням і в меншій кількості, порівняно з гравістимульованою дерниною. Отже, унаслідок різної гравічутливості стадій онтогенезу *P. pseudotriquetrum*, акселерації вегетативного розмноження за участю гравітації в *L. pyriforme* відбулася модифікація репродуктивної стратегії, що дало змогу мохам вижити в несприятливих екологічних умовах.

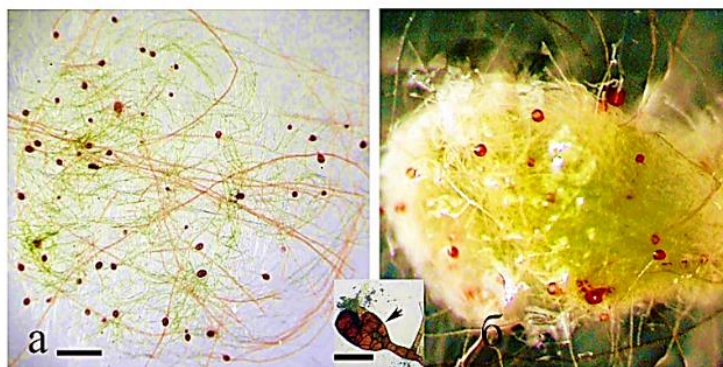


Рис. 54. Виводкові тільця на протонемі *Leptobryum pyriforme*: а) більше виводкових тілець утворилося після гравістимуляції, ніж у контролі (б), де їх було менше; на врізці стрілкою вказано виводкове тільце. Штрих: а, б – 500 мкм, на врізці б – 100 мкм

В екстремальних умовах водного дефіциту вегетативне розмноження спеціалізованими підземними виводковими органами забезпечує не лише локальне поширення моху, полегшуючи поглинання й утримання води з ґрунту, а й підтримку популяції завдяки тривалому збереженню банку життєздатних діаспор (Лобачевська, Рабик, 2012). За стресових умов посухи осмотично активний пролін сприяє підвищенню водного потенціалу клітин рослин, зменшуючи рівень їхнього пошкодження (Kordyum, 2003; Кордюм и др., 2003; Vaupen et al., 2014). Визначено взаємовплив проліну та ПЕГ-6000 на гравізалежне утворення виводкових тілець моху *L. pyriforme*, що здебільшого трапляється на зволоженому ґрунті (табл. 21). Після гравістимуляції виводкових тілець утворювалося більше в усіх варіантах досліду. На гравітропній протонемі їх формування стимулював 3%-ний ПЕГ, порівняно з протонемою у контролі і після кліностагування. Незначна втрата води в субстраті стимулювала утворення спеціалізованих органів вегетативного розмноження, проте вплив 5 % ПЕГу був значно токсичніший. Інгібуюча дія ПЕГ зменшувалася завдяки проліну та гравітації (табл. 21). Раніше для *B. argenteum* було встановлено, що ПЕГ, АБК та сахароза ініціювали утворення гем на повітряній розгалуженій хлоронемі на світлі (Лобачевська, Рабик, 2012). Отже, під час водного дефіциту поляризуюча дія гравітації може виконувати осморегуляторну функцію, що відновлює та підсилює вегетативне розмноження. У такий спосіб завдяки більшій всмоктувальній силі багаточисельних апікальних клітин гравітропної протонемі підтримується водний баланс, який підвищує осмотичний тиск клітин та оптимізує умови для розвитку спеціалізованих виводкових органів.

Вплив осмотично активних речовин на гравізалежне формування виводкових тілець на 20-денній протонемі *Leptobryum pyriforme*

Умови досліджу	Кількість виводкових тілець / 1 дернину, шт.		
	Після гравістимуляції	Після кліноостатування	На світлі
Контроль, протонема із світла	–	–	30,4 ± 2,0
Пролін, 1 мМ	70,3 ± 1,3	61,6 ± 3,3	65,4 ± 2,1
ПЕГ, 3 %	84,1 ± 2,7	56,4 ± 3,1	40,2 ± 2,5
ПЕГ, 5%	18,2 ± 0,9	9,0 ± 0,7	4,6 ± 0,2
Пролін+5%-й ПЕГ	50,3 ± 3,1	32,4 ± 1,2	30,7 ± 2,8
Гравітропна протонема	60,8 ± 2,4	37,3 ± 2,9	–

Модельним зразком для дослідження генеративного розмноження в умовах зміненої гравітації був однодомний вид *P. patens*, його онтогенетичний цикл у лабораторній культурі тривав два місяці. Зважаючи, що репродуктивна стадія *P. patens* чутлива до кліматичних змін, були підібрані оптимальні умови культивування низькі температури (-1,...+5° С) і висока вологість (-0,5,... -1,0 МПа). Гравічутливість аналізували в стаціонарних умовах 1 g та після кліноостатування. В обидвох варіантах на пагонах дернини переважали чоловічі статеві органи (табл. 22), хоча їхнє утворення затримувалося на 9–10 днів.

Таблиця 22

Оцінка статевої продуктивності *Physcomitrium patens*, n =25

Умови досліджу	Кількість статевих органів, шт.		Кількість, %	
	архегонії	антеридії	фертильні пагони	спорогони
Контроль	85 ± 2,4	230 ± 3,5	67,8 ± 1,7	88,6 ± 0,9
Кліноостатування	79 ± 1,8	158 ± 2,7	62,7 ± 1,7	79,9 ± 0,9

Таблиця 23

Статева структура та продуктивність дводомного виду моху *Bryum argenteum*

Умови досліджу	Кількість фертильних рослин,шт.		Кількість гаметангіїв / 1 пагін, шт.	
	♀	♂	♀	♂
Контроль	95,6 ± 3,2	110	7,2 ± 0,1	11,0 ± 0,2
Кліноостатування	79,4 ± 2,7	125	7,0 ± 0,5	12,4 ± 0,4

Як свідчать наведені у табл. 23 результати аналізу розвитку генеративних органів та

статевої структури дводомного виду *B. argenteum*, після кліноостатування кількість чоловічих рослин із гаметангіями збільшилася, а жіночих зменшилася, хоча кількість фертильних рослин не змінилася. Крім того, антеридії закладалися швидше, порівняно з контролем та жіночими рослинами з архегоніями. На відміну від *P. patens*, елімінація векторної дії гравітації виявилася навіть ефективною для продуктивності чоловічих рослин *B. argenteum* – після кліноостатування архегоніїв у мохових дернинах утворилося менше, а антеридіїв більше. Відомо, що як для однодомних, так і дводомних бріюфітів характерною є протандрія – антеридіїв закладається більше і дозрівають вони раніше, ніж архегонії, саме в такий спосіб гарантується більша ймовірність запліднення.

Гравічутливою є регенеративна протонема і спорофіт *B. argenteum* (Лобачевська, 2006), хоча зазвичай гравічутливими є первинна протонема зі спор і гаметофори. Швидкість росту й гравітропізм протонеми, отриманої регенерацією жіночих гаметофорів, більші, ніж чоловічих. Слід зазначити, що вторинна протонема швидше дедиференціює у хлоронему й каулонему, значно толерантніша до висушування та затримує більше вологи, що сприяє галуженню й утворенню бруньок у несприятливих природних умовах. Окрім того, гравітація індукує морфогенетичні процеси, стимулюючи гравіморфози бруньок на апікальних клітинах вторинної гравітропної протонеми мохів (Ripetskyj et al., 1999). Отже, гравіреакції видоспецифічні, а гравічутливість вторинної регенеративної протонеми *B. argenteum* і *P. patens* може мати адаптивне значення для репродукції і виживання мохів.

У багатьох видів мохів статеве розмноження можливе лише за наявності водної плівки, тому висока вологість середовища є об'єктивною необхідністю їхньої життєдіяльності (Glime, 2017). Раніше встановлено, що гравітація може мінімізувати негативний вплив дефіциту води і бути важливим фактором для вегетативного розмноження та поширення рослин (Лобачевська та ін., 2015). Часто рослини моху знаходяться під водою і відчують нестачу кисню. Гіпоксія, як стресовий чинник, до певної міри нівелюється активністю дегідрогеназ пентозного циклу, зокрема, алкогольдегідрогеназою (АДГ).

У зразках *B. argenteum*, які були затоплені, визначено вищу активність АДГ, порівняно з рослинами, що росли у звичних умовах зволоження. Ми проаналізували ефект гравітації на АДГ-активність чоловічих і жіночих рослин *B. argenteum* після гіпоксії (рис. 55).

Встановлено, що активність АДГ фертильних рослин відрізняється – вища ферментативна активність чоловічих, ніж жіночих рослин, очевидно зумовлена більшими енергетичними витратами на формування антеридіїв, яких утворюється значно більше, ніж архегоніїв.

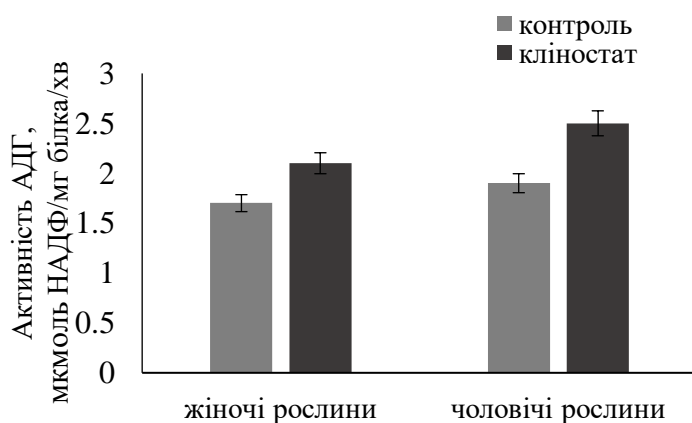


Рис. 55. Активність алкогольдегідрогенази (АДГ) різностатевих рослин *Bryum argenteum* залежно від зміни вектора гравітаційної сили

Після кліноостатування активність ферменту обидвох статей підвищувалася приблизно в 1,4 рази. Відомо (Taylor et al., 2007), що статевий диморфізм мохів, зумовлений різною швидкістю росту, метаболізмом, біомасою і тривалістю дозрівання гаметангіїв, унаслідок фотосинтезу та дихання, а більша кількість чоловічих рослин у дернині залежить якраз від інтенсивності енергетичних процесів. Очевидно, завдяки активності АДГ після гіпоксії і у стресових умовах гравітаційного сили (після кліноостатування) відбулися зміни фізіологічних реакцій, які енергетично забезпечили швидше утворення чоловічих рослин з антеридіями.

8.3.3. ГРАВИЧУТЛИВІСТЬ РІЗНО ДИФЕРЕНЦІЙОВАНИХ КЛІТИН ПРОТОНЕМИ *WEISSIA CONTROVERSA* ТА ЇЇ ЗНАЧЕННЯ В ОНТОГЕНЕЗИ

Аналіз морфологічних властивостей гравічутливих видів мохів свідчить, що умови зміненої гравітації і втрата векторної дії сили тяжіння впливають на ростові реакції залежно від стадій онтогенезу. Наземна і підземна ростова форма *W. controversa* сформувалися у різних умовах середовища, унаслідок чого гравітропізм розвинувся як екологічно залежна форма росту. Проаналізовано морфологічні властивості диференційно різних клітин протонеми аридного виду *Weissia* та особливості їх гравітропізму в онтогенезі. Встановлено, що довгі каулонемні столони ростуть плагіотропно на незначній глибині і реагують на векторну дію гравітації, тоді як напрям росту дендроїдної наземної протонеми не залежить від сили тяжіння. Завдяки галуженню клітин і негативному гравітропному росту каулонемі, на поверхню ґрунту підіймаються хлоронемні столони, які утворюють щільний покрив з ортотропних дендритів, що мають вигляд густих зелених асиміляційних куртин (рис. 56). Таке пристосування каулонемі до підземного росту А. С. Лазаренко оцінив як адаптацію до аридного клімату, що забезпечує виживання під час висихання наземних органів моху (Структура виду..., 2001).

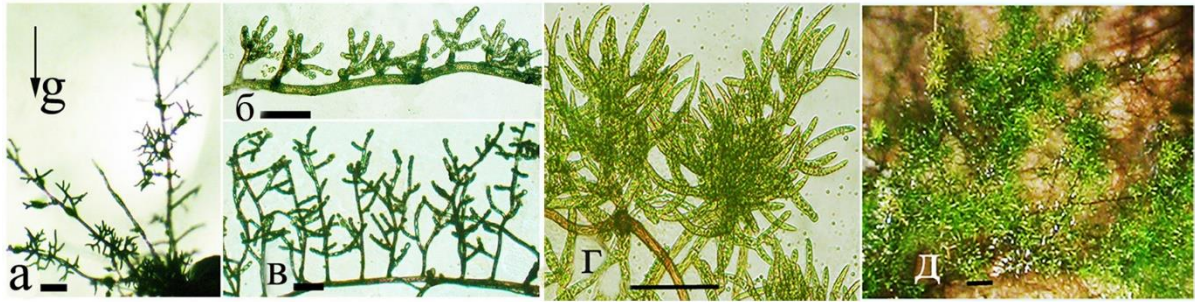


Рис. 56. Протонема *Weissia controversa*: (а – в) – гравічутливі каулонемні столони з короткими хлоронемними дендритами; г – фрагмент з розгалуженими дендритами; д – дернинка з дендритів. Штрих = 120 мкм.

Особливістю мохів є висока здатність до регенерації та дедиференціації, унаслідок чого з поодиноких тотипотентних клітин відновлюється нова рослина. Подібну аналогію можна представити у *W. controversa* с, коли унаслідок галузження клітин каулонемного столону, що росте у субстраті, на світло підіймаються гравічутлива 2–3-клітинна хлоронема, яка розростається у фотосинтетичну дендритну дернину. Спеціалізованою реакцією гаметофіту *W. controversa* с на аридні умови місцевиростань є плагіотропний ріст підземної каулонеми, який часто поєднаний з негативним гравітропізмом головного столону і бокових хлоронемних галузок. Галузка росте вертикально вгору завдяки реакції клітин на поляризуючу дію гравітації під час перших 2–3 поділів, що значно скорочує шлях виходу протонеми з-під ґрунту до світла. На відміну від видів з гравічутливою хлоронемою, гравітропний згин *W. controversa* с відбувається в апікальних клітинах і субапікальних клітинах каулонеми. Аналогічно, як і під час гравітропного росту коренів чи протонеми мохів, амілопласти седиментують на нижню клітинну стінку, ініціюючи гравітропний згин (рис. 57).

Дефіцит води, імітований 1..5 % розчинами ПЕГу, стимулював появу столонів *W. controversa*, що росли позитивно гравітропно (Лобачевська та ін., 2017). У дернинці моху із природного середовища також знаходили позитивно гравітропні каулонемні столони. Очевидно, мінливість гравізалежного росту протонеми *W. controversa* с є адаптивною ознакою, що розвинулася залежно від кліматичних умов. Позитивний гравітропізм доповнює різномайття форм росту протонеми і може бути важливим чинником в умовах водного дефіциту.



Рис. 57. Апікальні клітини і каулонемні столони *Weissia controversa*: (а) – амілопластів більше в апексі; (б) – амілопласти зосереджені в базальній зоні; (в) – негативний гравітропний згин апікальної клітини і седиментація амілопластів; (г) – гравітропна реакція каулонемного столону, клітини якого часто галузяться.

Раніше встановлено, що гравітація може мінімізувати негативний вплив нестачі води і бути важливим фактором для вегетативного розмноження і поширення рослин (Лобачевська та ін., 2015). Так, завдяки гравічутливості протонеми *L. pyriforme* в умовах водного стресу відбувся швидший ріст і розвиток гаметофіту з утворенням більшої кількості спеціалізованих виводкових органів, що сприяло вегетативному розмноженню та розселенню моху. Адаптація до екстремальних умов антарктичної форми *P. pseudotriquetrum* теж зумовлена підвищеною гравічутливістю гаметофорів і утворенням виводкових бульбочок на пагонах, що є надійним способом розмноження в умовах короткого вегетаційного періоду Антарктики (Lobachevska et al., 2021, a). Лише негативний гравітропний ріст гаметофорів і вегетативне розмноження виводковими бульбочками могли забезпечити виживання мохів в Антарктиці.

8.3.4. МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ СТРЕС-РЕАКЦІЇ ГАМЕТОФІТУ *WEISSIA CONTROVERSA* І *CERATODON PURPUREUS*

Вуглеводи виконують сигнальну функцію у стресових умовах і під час мікрогравітації (Rolland, Sheen, 2005), а змінена сила тяжіння порушує про/антиоксидантний рівень метаболізму клітин (Кияк, Хоркавців, 2016). Цукри перехоплюють активні форми кисню (АФК) і гальмують процеси вільнорадикального окиснення (Карпец, Колупаев, 2009).

Полісахариди нагромаджуються у пластидах гравічутливих апікальних, часто й субапікальних клітин, ініціюючи гравісенсорні процеси. В апікальній і субапікальній клітинах каулонемних столонів *W. controversa* є значно більше амілопластів і нижча α -амілазна

активність, ніж у хлоронемі (табл. 24). Висока активність ферменту у клітинах каулонемі забезпечує біосинтез вуглеводів та ріст і галуження клітин столонів. Фотосинтез надземної дендроїдної дернини також є джерелом продуктів сонячної енергії для розвитку підземної каулонемі та бруньок гаметофорів.

Таблиця 24

Гравізалежна функціональна активність різно диференційованих клітин протонемі *Weissia controversa*

Тип протонемної дернини	Кількість амілопластів в апікальній клітині, шт.	Вміст крохмалю, мкг/г сухої маси	Активність α -амілази, мкг крохмалю/хв/мг білка	Інтенсивність фотосинтезу, мг CO ₂ /г сухої маси/год
Хлоронема	7 ± 3	29,7 ± 1,6	6,4 ± 0,02	5,48 ± 0,03
Каулонема	28 ± 2	48,7 ± 1,8	2,1 ± 0,07	1,13 ± 0,09

Проведено порівняльні дослідження метаболізму вуглеводів залежно від умов гравістимуляції двох різних за чутливістю до гравітації і з різних кліматичних умов поширення видів мохів – *S. purpureus* і *W. controversa*. Апікальні клітини 7-денної хлоронемі *S. purpureus* вже через 0,5 год після гравістимуляції виявляли чітку гравітропну реакцію, а хлоронемні столони *W. controversa* не реагували на дію гравітації і гравічутливими були лише клітини каулонемі. Для обидвох видів визначено різний вміст загальних вуглеводів (табл. 25).

Вміст карбогідратів у протонемі аридного виду *W. controversa* був удвічі більшим, ніж у *S. purpureus*, мабуть, через приуроченість до різко відмінних місцевиростань. Висока концентрація вуглеводів у протонемі *W. controversa*, як осмопротекторів, є показником адаптації до дефіциту вологи. Їхнє нагромадження забезпечує внутрішню регуляцію водного потенціалу та сприяє активному утримуванню води, що важливо в умовах високих температур та дефіциту водопостачання у посушливих місцях (Кияк, Хоркавців, 2016, а; Кияк, 2017, а,б; Greenwood, Stark., 2014; Greenwood, et al., 2017). Найбільший вміст вуглеводів у *S. purpureus* і *W. controversa*, визначено на денному освітленні. Після кліноостатування концентрація карбогідратів зменшилася на 15,1 % у *S. purpureus*, що зумовлено невеликим сповільненням фотосинтетичних процесів, і на 20 % підвищилася у *W. controversa*. Кліноостатування не вплинуло на синтез вуглеводів *W. controversa*, гаметофіт котрої не гравічутливий, за винятком каулонемної стадії, а більше ініціювало біохімічні захисні реакції клітин від нагромадження вільних радикалів (Ajay, Bhalla, 2007; Singh et al., 2014; Su et al., 2020).

Таблиця 25

Вміст вуглеводів у дернинках мохів *Ceratodon purpureus* і *Weissia controversa* в умовах зміненої гравітації (мг/г сухої маси)

Варіант дослідю	Загальний вміст вуглеводів, мг/г	Крохмаль, мг/г	Водорозчинні вуглеводи, мг/г	Моноцукри, мг/г
<i>Ceratodon purpureus</i>				
Контроль	2,27 ± 0,15	0,11 ± 0,008	0,48 ± 0,03	0,11 ± 0,01
Гравістимуляція	2,21 ± 0,15	0,14 ± 0,01	0,28 ± 0,03	0,07 ± 0,007
Кліноостат	1,93 ± 0,16	0,11 ± 0,01	0,72 ± 0,05*	0,14 ± 0,01
<i>Weissia controversa</i>				
Контроль	4,52 ± 0,27	0,25 ± 0,02	1,77 ± 0,1	0,18 ± 0,01
Гравістимуляція	4,34 ± 0,27	0,28 ± 0,02	0,82 ± 0,09*	0,11 ± 0,01
Кліноостат	5,47 ± 0,33	0,15 ± 0,01*	1,39 ± 0,16*	0,27 ± 0,01*

*Примітка** – різниця статистично достовірна порівняно до контролю при $p \leq 0,05$.

Показано, що під час мікрогравітації посилювався гідроліз полімерних форм вуглеводів, передусім крохмалю (Musgrave, et al., 2000). Для *C. purpureus* і *W. controversa* теж встановлено певні особливості вуглеводного обміну, що залежать від гравітації (табл. 25). У протонемі гравічутливого *C. purpureus* вміст крохмалю становив 4,5...6,4 % від загальних вуглеводів, а після гравістимуляції концентрація полісахариду підвищувалася на 40 %, завдяки збільшенню кількості амілопластів у апікальних клітинах. Після кліноостатування кількість крохмалю зберігалася на рівні контролю. У протонемі *W. controversa* вміст крохмалю становив 3,1...5,4 % від загального пулу карбогідратів, тобто не відрізнявся істотно від *C. purpureus*. У гравістимульованій протонемі *W. controversa* вміст крохмалю підвищувався на 11,3 %, а після кліноостатування знижувався на 7,8 % (табл. 25). Очевидно, кліноостатування для *W. controversa* було більшим стресовим фактором, ніж для *C. purpureus*, що зумовило зміну прооксидантно-антиоксидантного статусу клітин і, як наслідок – посилення гідролізу полісахариду та збільшення вмісту розчинних вуглеводів, які виконують поліфункціональну захисну роль у стресових умовах.

Оскільки кінцевими продуктами гідролізу крохмалю є низькомолекулярні вуглеводи, досліджено вплив гравітації на вміст цукрів і, зокрема, моноцукрів. В умовах кліноостатування зафіксовано збільшення вмісту розчинних вуглеводів в 1,3...1,5 разів у протонемі обидвох видів. Такі реакції мохів на порушення векторної направленості сили тяжіння подібні до впливу інших абіотичних чинників, коли у стресових умовах вуглеводний обмін змінювався в

бік накопичення цукрів, задіяних у реакціях нейтралізації вільних радикалів (Rolland, Sheen, 2005; Карпец, Колупаєв, 2009; Кияк, Хоркавців, 2016, а, б). Під час гравістимуляції протонеми *C. purpureus* істотно зменшувався пул водорозчинних вуглеводів, що корелювало із нагромадженням крохмалю. Зменшення вмісту цукрів визначено також для *W. controversa*. Вміст моноцукрів у дернинці збільшувався під впливом зміненої сили тяжіння, а їхня частка від загального вмісту розчинних вуглеводів для *C. purpureus* становила 20,1...24,1 %, а *W. controversa* – 13,5...19,2 % (табл. 25). Отже, підвищений вміст моноцукрів після кліноостатування властивий для обох видів, а їхнє нагромадження, очевидно, корелює зі стійкістю рослин до стресу (Phillips et al., 2002; Glime, 2017).

Проаналізовано активність амілаз *C. purpureus* і *W. controversa*, які гідролізують крохмаль (рис. 58). α -амілазна активність у 3...5 разів перевищувала активність β -амілази, що підтверджує ключову роль ферменту у гідролізі крохмалю. У гравістимульованій протонемі активність α - і β -амілази була найнижчою, і крохмаль нагромаджувався в амілопластах. Після кліноостатування, а також на світлі активність α -амілаз була високою, що свідчило про посилення гідролізу крохмалю та корелювало з вмістом розчинних карбогідратів у проаналізованих видів мохів.

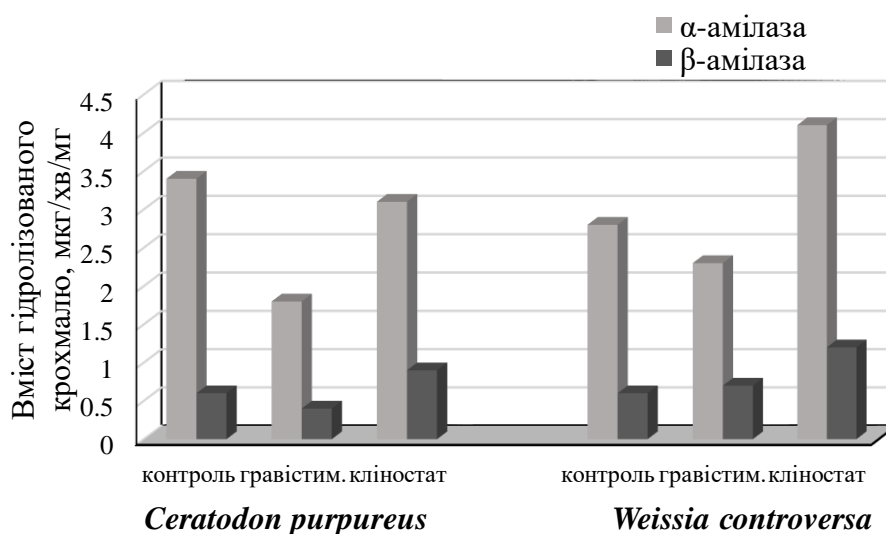


Рис. 58. Активність α - і β -амілази у пагонах мохів *Ceratodon purpureus* і *Weissia controversa* в умовах зміненої векторної дії гравітації

Визначено, що активність α -амілази рослин *W. controversa*, що росли на світлі (контроль), була нижчою, ніж *C. purpureus*. Активність ферменту між видами мохів відрізнялася та істотно збільшувалася після кліноостатування: у *C. purpureus* в 1,8 раза, а у *W. controversa* в 1,6 раза, порівняно з гравістимульованою протонемою. Найімовірніше, кліноостатування опосередковано вплинуло на високу активність α -амілази і гідроліз

полісахаридів як захисну реакцію, окрім того – і на підтримання осморегуляції у дернині *W. controversa* у стресових умовах. Отже, від метаболізму вуглеводів залежить і гравічутливість, і стійкість мохів до стресових чинників.

Загалом, можна підсумувати, що спрямованість метаболізму вуглеводів у протонемі мохів тісно пов'язана із гравічутливістю та проявом тропічних реакцій мохів. У гравічутливого виду *C. purpureus* крохмаль нагромаджувався під час гравістимуляції і розпадався на світлі та після кліноостатування, що прямо корелювало із зниженням рівня α -амілазної активності. Водночас вплив гравістимуляції на амілазну активність та вміст крохмалю у дернині *W. controversa*, де домінує негравічутлива дендроїдна хлоронема, виражений менше. Для обох досліджених видів встановлено також залежність метаболізму вуглеводів від кліноостатування. За впливу симульованої мікрогравітації у протонемі мохів посилювався гідроліз крохмалю та накопичувалися розчинні вуглеводи, які можуть бути задіяні у нейтралізації вільних радикалів. Це свідчить, що реакції мохів на порушення векторної направленості сили тяжіння подібні до дії на рослинні організми інших стресових чинників.

9. АКТИВНІСТЬ ПРО-/ АНТИОКСИДАНТНИХ РЕАКЦІЙ МОХІВ В УМОВАХ ЗМІНЕНОЇ ГРАВІТАЦІЇ

9.1. ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ МОРФО–ФІЗІОЛОГІЧНИХ РЕАКЦІЙ І ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ГАМЕТОФІТУ *POHLLIA NUTANS*

Метаболізм рослин на Землі знаходиться під впливом поляризуючої дії гравітації, що коректує градієнти і транспортні клітинні потоки, впливає на системи сприйняття і передачі гравісигналу та індукує фізіологічні процеси росту і морфогенезу рослин (Кордюм, 2009; Braun et al., 2018).

Використовуючи експериментальні підходи і сучасні технології можна змінити дію гравітаційної сили та ініціювати гравітаційний стрес і проаналізувати вплив зміненої гравітації на цитофізіологічні процеси рослин (Sack, 1997; Baluška, Mancuso, 2009; Paul et al., 2014; Prasad et al., 2020; Pourhabibian et al., 2021; Lobachevska et al., 2022; Kordyum, Hasenstein, 2023). Як і морфологічна диференціація мохів, важливі дослідження клітинного метаболізму та захисні реакції гаметофіту на стресову дію зміненої гравітації. Нові інформативні результати про біологічні процеси і клітинні механізми рослин в умовах сталої і зміненої величини 1 g мають вагоме значення, зокрема, і для космічної біології.

Як свідчать результати досліджень, мікрогравітація і змінені умови векторної дії гравітації на Землі, діють як стресовий чинник на активність компонентів антиоксидантної системи (Porterfield et al., 2003 a, b; Chebli, Geitmann, 2011; Kordyum, 2014; Недуха, 2015; Кияк, Хоркавців, 2016, а, б; Herrans et al., 2019; Manzano et al., 2022). Одним із загальних модуляторів метаболізму в умовах стресу є активація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) як першої ланки реакцій, що ініціюють системи захисту клітин та організму (Кордюм и др., 2003). Ендогенним чинником внутрішньоклітинного метаболізму є рН цитозолу. Відомо, що зміна рН середовища на 1 од. призводить до зміни інтрацелюлярного рН_i на 0,1 од. (Felle, 1988), що має значення на ранніх стадіях гравістимуляції (Fasano et al., 2001). Зниження рН_i від 5,5 до 4,5 протягом перших 2 хв гравістимуляції у клітинах кореневого чохлака *Arabidopsis thaliana* впливало на гравііндуковану систему, пов'язану з Ca²⁺-залежною регуляцією, цитоскелетом, ендоплазматичним ретикулумом, активністю ферментів. Підвищення кислотності середовища до 5,5 у статоцитах чохлака *Zea mays* гальмувало осідання амілопластів та знижувало гравічутливість коренів (Johannes, Smilde, 2009). Для гравітропізму протонеми *Pohlia nutans* оптимальним було рН 7, інші ж значення рН_i гальмували ріст і гравітропний гин (табл. 26).

Вплив рН середовища на гравічутливість протонемі *Pohlia nutans*

Величина рН	Довжина протонемних фрагментів, мкм	Кут згину протонемі, град
рН 4,5	289,1 ± 1,7	27,1 ± 0,1
рН 7,0	735,2 ± 5,4	67,3 ± 0,5
рН 9,0	611,8 ± 4,8	41,2 ± 0,3

У трансдукції захисних реакцій особливу роль відіграють активні форми кисню (Neill et al., 2002). Як один із індукторів стрес-реакції пероксид водню долучається до функціональних реакцій рослин на зміну сили тяжіння. В умовах симульованої гіпергравітації у культурі клітин *Arabidopsis thaliana* істотно збільшувався вміст H_2O_2 , якому передувало накопичення цитозольного Ca^{2+} та активація Ca^{2+} -залежної НАДФН-оксидази (Hausmann et al., 2014).

Аналіз вмісту пероксиду водню в пагонах *P. nutans* після кліноостатування чітко свідчить про залежність утворення пероксиду від сили тяжіння: через 2 год після кліноостатування визначено високий вміст H_2O_2 , що майже в 1,5 рази перевищував рівень у контролі – рослин, що росли на світлі в умовах сталої векторної дії гравітації (табл. 27, контроль). Через 24 і 48 год концентрація пероксиду зменшувалася до 0,59 – 0,61 мг/г с.м., а на сьому добу експерименту знову різко збільшувався вміст АФК до 0,94 мг/г с.м. Це означає, що вміст H_2O_2 у клітинах пагонів *P. nutans* змінюється циклічно на початку реакції, підвищувалася кількість пероксиду, надалі його кількість дещо зменшувалася і знову підвищувалася в кінці реакції. Через 24 год після кліноостатування концентрація пероксиду у гаметофіті знижувалася до рівня контролю, тобто відбувалася поступова стабілізація та зменшувалася напруженість окиснювальних процесів, індукованих гравітаційним стресом унаслідок кліноостатування.

Для встановлення зв'язку між вмістом H_2O_2 та про-антиоксидантними реакціями в умовах модельованої мікрогравітації, було проаналізовано ліпопероксидацію пагонів *P. nutans*. У звичних умовах в рослин постійно присутній певний рівень окиснення ліпідів (ПОЛ), індукований активними формами кисню. Зміщення рівня є першою ланкою розвитку стрес-реакції. Рівень ПОЛ у пагонах *P. nutans* тестували за вмістом первинних та кінцевих продуктів ліпопероксидації – дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду. Підвищення рівня ДК є чутливим тестом на появу гідроперекисів у клітинах, а малоновий діальдегід – маркером розвитку деструктивних процесів у ліпідній компоненті мембран (Miller et al., 2008). Виявлено, що в умовах зміненої гравітації вміст дієнових кон'югатів підвищувався відразу з

перших годин досліду і був на 30 – 50 % вищий, ніж у контролі упродовж усього періоду кліноостатування, а концентрація МДА збільшувалася лише на сьому добу досліду (табл. 27). Змінена сила тяжіння індукувала у пагонах *P. nutans* суттєве збільшення вмісту початкових продуктів ПОЛ, тоді як вміст кінцевих метаболітів ліпопероксидації упродовж двох діб кліноостатування зберігався на рівні контролю. Очевидно, така тривалість гравітаційного стресу знаходилася в межах толерантності клітин *P. nutans*. Вірогідне збільшення кількості МДА зафіксували лише на сьому добу кліноостатування, що могло бути зумовлене частковим виснаженням ресурсів антиоксидантної системи. Після гравітаційного стресу, зумовленого кліноостатуванням, активність прооксидантної системи знизилася майже до рівня контролю, що свідчить про зворотність дестабілізаційних процесів.

Таблиця 27

Вплив кліноостатування на вміст пероксиду водню, дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду в пагонах моху *P. nutans*

Тривалість кліноостатування, год	Вміст пероксиду водню, мкг/г сирової маси	Вміст дієнових кон'югатів, од. абсорбції	Вміст малонового диальдегіду, нмоль/г сирової маси
Контроль	0,58 ± 0,02	10,5 ± 0,8	124,6 ± 3,5
2	0,81 ± 0,05*	15,8 ± 0,7*	115,2 ± 2,2*
24	0,59 ± 0,02	14,6 ± 0,8*	119,3 ± 3,2
48	0,61 ± 0,02	15,2 ± 0,4*	129,5 ± 5,1
7 діб	0,94 ± 0,07*	16,7 ± 0,4*	143,2 ± 5,6*
24 год після кліноостатування	0,57 ± 0,04	13,1 ± 0,2	126,2 ± 4,7

Примітка: * – різниця порівняно з контролем статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

Підвищення рівня ДК є чутливим тестом на появу гідроперекисів у клітинах, а малоновий диальдегід – маркером розвитку деструктивних процесів у ліпідній компоненті мембран із різною специфічністю до субстратів, які стимулюють іони Ca^{2+} , Cu^{2+} та деякі амінокислоти (Barkasdjieva et al., 2009). Субстратом для каталази є пероксид водню і завдяки активності ферменту в умовах біогенного та абіогенного стресів його надлишок зменшується. Мікрогравітація суттєво вплинула на модифікацію каталазної активності: на початку кліноостатування (2 год) активність була на рівні контролю, через 24 та 48 год підвищувалася в 1,4–1,8 разів і знижувалася на сьому добу (табл. 28). Отже, аналізуючи динаміку вмісту пероксиду водню і каталазну активність, встановлено зв'язок між концентрацією пероксиду в клітинах та активністю каталази. Пероксидази – багатофункціональні ферменти, що беруть участь у захисті організму від окиснювального стресу, контролюють ріст рослин, їхню

диференціацію та розвиток упродовж різних стадій онтогенезу (Ghamsari et al., 2007). Специфічність пероксидаз визначається спорідненістю до субстрату і пов'язана зі зміною заряду, конфігурацією фермента і каталітичними властивостями субстрату за різних значень рН. Використовували три типи субстрату: бензидин, до якого вищу специфічність мають аніонні пероксидази; гваякол, щоби визначити катіонні пероксидази та аскорбат з метою оцінити активність аскорбатпероксидази. На початкових стадіях росту рослин *Pohlia nutans* в умовах зміненої векторної дії гравітації (2 год) реакція гваяколпероксидази та бензидинпероксидази була подібною, проте дещо зменшувалася, порівняно з контролем (Кияк та ін., 2021). Через 24 та 48 год після кліноостатування активність ферменту поступово підвищувалася, причому істотніше гваяколпероксидази (табл. 28). Відмінності пероксидазної активності були і на сьому добу: знижувалася активність бензидин-залежної пероксидази і залишалася високою активність гваяколпероксидази. Відомо, що гваяколпероксидаза локалізується у цитозолі, вакуолях, клітинній стінці, задіяна у процесах росту й розвитку рослини, відіграє ключову роль у поляризації клітин як відповідь на гравістимул, впливаючи на реорганізацію мікрофібрил целюлози клітинної. Значне підвищення активності гваяколпероксидази в умовах зміненої гравітації свідчить про значення пероксидаз для формування стійкості до гравітаційного стресу. Це може бути зумовлене наростанням процесів вільнорадикального окиснення, а також особливостями реакцій організму на положення відносно вектора гравітації (Бараненко, 2003; Martzivanou et al., 2006).

Таблиця 28

Вплив кліноостатування на активність ферментів антиоксидантного захисту в пагонах моху *Pohlia nutans*

Тривалість кліноостатування	Активність каталази, мкМ Н ₂ О ₂ /мг білка/хв	Активність гваякол-пероксидази, відн. од./1 г сирової маси/хв	Активність бензидин-пероксидази, відн. од./1 г сирової маси/хв	Активність аскорбат-пероксидази, (мкМ аскорб. к-ти/мг білка/хв
Контроль (без кліноостату)	0,198±0,022	32,5±2,7	16,8±1,8	0,198±0,012
2 год	0,182±0,019	30,1±3,3	13,9±1,2*	0,269±0,021*
24 год	0,362±0,041*	39,6±3,7	18,2±1,5	0,285±0,019
48 год	0,273±0,017*	48,9±2,8	17,6±1,8	0,237±0,023*
7 діб	0,169±0,018*	51,6±2,9*	11,7±0,9*	0,189±0,016*
24 год після кліноостатування	0,185±0,011	44,2±3,6*	12,4±1,1*	0,191±0,002*

Примітка: * – різниця порівняно з контролем статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

У групі пероксидаз важливу роль у мінімізації окисного пошкодження за дії стресорів різної природи відіграє фермент аскорбатглутатіонового циклу – аскорбатпероксидаза, що каталізує відновлення пероксиду водню до води за участю аскорбінової кислоти як специфічного донора протонів. Вона є одним із основних ферментів, що утилізує пероксид водню в рослинах (Рао, 2006). Реакція аскорбатпероксидази пагонів *P. nutans* на вплив зміненої сили тяжіння відрізнялася від активності решти пероксидаз напочатку кліноостатування. Активність ферменту збільшувалася відразу з перших год і була максимальною на 24 год кліноостатування. Надалі відбувався поступовий спад активності і на сьому добу активність знижувалася до рівня контролю.

Зіставивши динаміку активності антиоксидантних ферментів із вмістом пероксиду водню та інтенсивністю ліпопероксидації, що визначено в умовах впливу зміненої сили тяжіння на рослини *P. nutans*, зроблено висновок про стресову природу кліноостатування та захисну роль ферментативної системи в адаптації до гравітаційного стресу. Індуктором активації антиоксидантної системи є пероксид водню, оскільки чітко простежувалося істотне збільшення вмісту H_2O_2 на початку кліноостатування. Впродовж досліджу за період дії зміненої гравітації зміна про-антиоксидантних реакцій, як відповідь рослин на фактор стресу, мала фазовий характер (Кияк та ін., 2016, б).

Для першої фази – 2 год кліноостатування, характерне збільшення вмісту пероксиду та низька активність ферментів-антиоксидантів. У другій фазі стресової реакції, після 24 – 48 год кліноостатування рівновага між накопиченням АФК та функціонуванням антиоксидантної системи стабілізувалася унаслідок підвищення каталазної та пероксидазної активності. Цей період можна розглядати як стан підвищеної резистентності рослин до стресу. Під час третьої фази, на сьому добу після кліноостатування включалася вторинна індукція ПОЛ, яка проявилася як у повторному збільшенні вмісту пероксиду водню, так і у накопиченні малонового діальдегіду, що зумовлено виснаженням резервного пулу антиоксидантів. Хоча на цій стадії зафіксовано підвищену активність гваяколпероксидази, рівень прооксидантної активності виявився досить високим. На початкових етапах кліноостатування (2–24 год) основну роль у ліквідації пероксиду водню відіграє аскорбатпероксидаза і каталаза, а зниження активності ферментів компенсувалося іншими реакціями, насамперед активацією гваяколпероксидази (табл. 28).

Відповідно до концепції стресу зміни (про-) антиоксидантної рівноваги судинних рослин в умовах мікрогравітації мають фазову залежність (Кордюм и др., 2003). Гравітаційний стрес порівнювали із фазами загального адаптаційного синдрому Г. Сельє і дійшли до висновку, що медіатором запуску такої стресової реакції є продукти переокислення ліпідів. Подібні

результати отримані для формування стану теплостійкості під час короткочасного впливу гіпертермії на рослини (Карпец, Колупаєв, 2009). Тому вважається, що ранні реакції мохів на порушення векторної направленості сили тяжіння подібні до впливу на рослинні організми інших абіотичних чинників. Неспецифічність реакцій зумовлена активацією сигнальних систем, які, очевидно, функціонують за єдиним принципом та індукують відповідь рослин на стресори різної природи. Тому особливості захисних реакцій мохів мають значення для екофізіологічних досліджень в умовах стресу, включно із зміненою величиною сили тяжіння і впливом на гравічутливість та гравітропізм.

Варто уваги й те, що після кліноостатування відтворювався стабільний стан (про/антиоксидантної системи та функціональна активність ключових ферментів антиоксидантного захисту, тобто відновлювалася репарація фізіологічних і метаболічних процесів і підвищилася індивідуальна стійкість до зміни векторної дії гравітації.

9.2. ЗАХИСНІ РЕАКЦІЇ-ВІДПОВІДІ *BRYUM ARGENTEUM* НА СТАДІЇ ПРОТОНЕМИ Й ФОРМУВАННЯ ГАМЕТАНГІЇВ

Проаналізовано вміст пероксиду водню у гаметофорах *B. argenteum* перед формуванням статевих органів і на етапі утворення гаметангіїв залежно від стадій онтогенезу і тривалості кліноостатування. Результати аналізу свідчать, що вміст пероксиду змінювався впродовж онтогенезу і залежав від тривалості кліноостатування. Чутливіші до змінених умов гравітації були пагони на стадії формування статевих органів (рис. 59).

У контролі вміст H_2O_2 у гаметофорах з гаметангіями не відрізнявся від рослин, які не утворили статевих органів. Однак, вже 48-год кліноостатування виявилось стресом, особливо для рослин з гаметангіями, унаслідок чого різко підвищився вміст пероксиду. Про активацію процесів ліпопероксидації свідчить істотне збільшення вмісту первинних продуктів – дієнових кон'югатів і незначне підвищення МДА після 96 год кліноостатування (рис. 59).

Встановлено, що упродовж кліноостатування вміст дієнових кон'югатів на стадії формування статевих органів на 40 – 50 % був вищим, ніж у рослинах без гаметангіїв, а збільшення концентрації МДА розпочалося на 4 добу в обидвох варіантах досліду (рис. 59). Під впливом зміненої сили тяжіння збільшився вміст початкових продуктів ПОЛ, а кількість кінцевих метаболітів ліпопероксидації упродовж 2 діб кліноостатування зберігалася на рівні контролю. Вірогідне збільшення кількості МДА було зафіксовано лише на 4 добу кліноостатування, що, очевидно, могло бути зумовлене частковим виснаженням ресурсів антиоксидантної системи унаслідок утворення нових радикалів. Значно чутливіші до гравітаційного стресу були пагони на пізнішій стадії розвитку – з гаметангіями, відповідно, була вищою інтенсивність оксидантних реакцій.

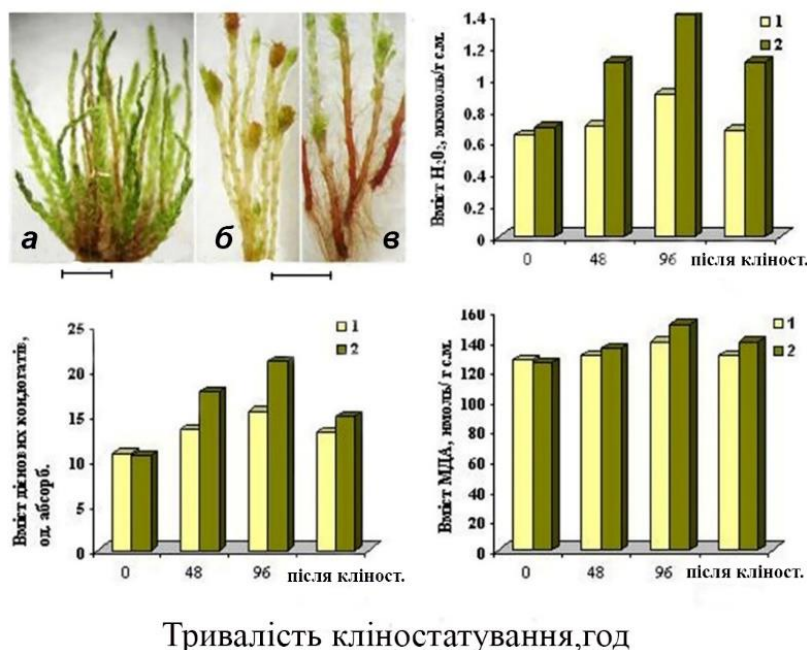


Рис. 59. Вміст пероксиду водню, дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в пагонах *Bryum argenteum* залежно від тривалості кліностакування: (1) – перед формуванням статевих органів, (2) – на стадії дозрівання гаметангіїв; дернина без гаметангіїв (а), з антеридіями (б) та архегоніями (в). Штрих = 2,5 мм

Отже, залежно від стадії розвитку рослин і впливу гравітації на диференціацію гаметангіїв реакційність системи окиснення *B. argenteum* змінювалася. Після дистресу активність прооксидантного пулу зменшувалася, що є показником зворотності деструктивних процесів, які виникли у зв'язку із зміною векторної дії гравітації та розвитком адаптивної пластичності до підвищення окиснювального стресу.

Із комплексу неспецифічних реакцій рослин на дію стресорів важливе значення має активація молекулярного кисню та розвиток окиснювального стресу в клітинах. Ступінь розвитку стресу значною мірою визначається силою і тривалістю дії фактора, чутливістю рослин і стадією їх розвитку.

Досліджено вплив теплового стресу (+42°С, тривалість 2 год) на гравітропізм моху *Bryum argenteum* на стадії розвитку протонеми із спор і гаметофорів. У *B. argenteum* регенеративна (вторинна) протонема, отримана регенерацією клітин гаметофорів, порівняно з гравічутливою протоневою зі спор проявляла значно чіткішу гравітропну реакцію (табл. 29). Через 24 год після гравістимуляції кут згину апікальних клітин протонеми зі спор становив $40,3 \pm 1,5^\circ$, а через 2 доби – $52,1 \pm 0,7^\circ$. Кут гравітропного згину протонеми з гаметофорів через 24 год гравістимуляції був більший – $69,9 \pm 1,8^\circ$, а через 48 год – $86,2 \pm 0,9^\circ$. З нижчою гравічутливістю спорової протонеми корелювала низька стійкість до високої температури,

порівняно з регенеративною протоневою, яка виявилася стійкішою і до температурного впливу. Гравічутливість повністю відновлювалася через 48 год після гравістимуляції.

Таблиця 29

Величина гравітропних згинів протонеми із спор і гаметофорів *B. argenteum* після гравістимуляції; кут згину, град.

Умови дослідю	Контроль, час після гравістимуляції		Післядія теплового стресу (+42°C, 2 год)	
	через 24 год	через 48 год	через 24 год після гравістимуляції	через 48 год після гравістимуляції
Протонема зі спор	40,3 ± 1,5	72,1 ± 0,7	32,2 ± 0,6	52,1 ± 1,2
Гаметофори	69,9 ± 1,8	86,2 ± 0,9	63,5 ± 1,1	82,4 ± 0,9

Зміну розвитку гравітропного згину могли зумовити процеси ПОЛ, унаслідок накопичення ТБК-активних продуктів, що критично для функціонування клітин та цілісності клітинних компартментів. Проаналізували вміст малонового діальдегіду і карбонільних груп білків як показників реакцій окиснення і оксидативного стресу.

На протонемній стадії розвитку і у гаметофорах *B. argenteum* вміст МДА збільшувався відразу після впливу високої температури, а вищий показник ліпопероксидації визначено для клітин протонеми. Через 1 добу після стресу окиснювальні процеси у протонемі продовжували наростати, тоді як у пагонах *B. argenteum* показники ліпопероксидації знизилися майже до рівня контролю (рис. 60).

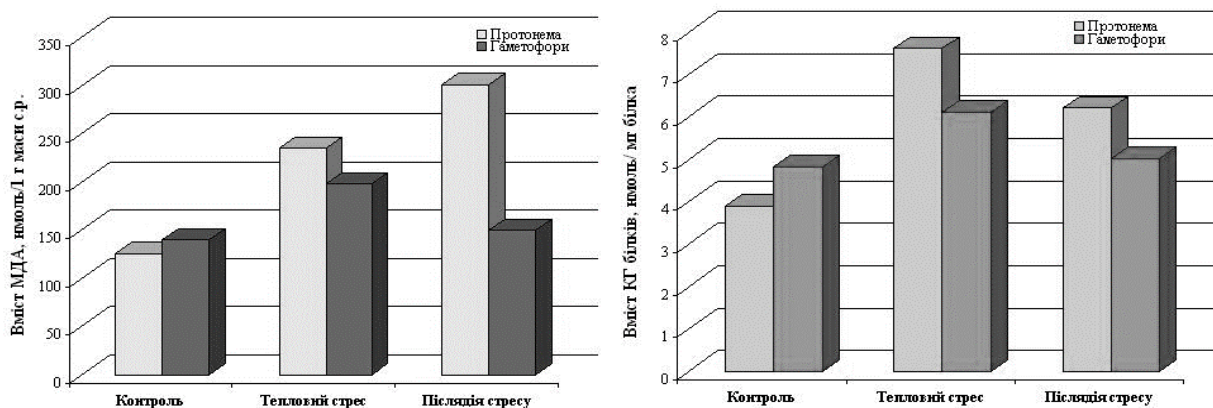


Рис. 60. Вплив теплового стресу на вміст малонового діальдегіду та карбонільних груп білків у протонемі і гаметофорах *Bryum argenteum*.

Вміст МДА використовують як показник реакції окиснення і оксидативного стресу, а визначення степеня окисленості білків – карбонільних груп білків для оцінки рівня оксидного стресу застосовують нечасто. Під час окисної модифікації білків змінюється їх гідрофобність, ізоелектрична точка, термостабільність, втрачається ферментативна активність. Детально вивчена модифікація білкових молекул в умовах дії активних форм кисню, результатом якої є утворення додаткових карбонільних груп в бічних ланцюгах амінокислот (Stadtman, Berlett, 1999).

Тепловий стрес індукував підвищення вмісту КГ білків на обидвох стадіях (протонемі і гаметофорах) розвитку гаметофіту *B. argenteum*. У цьому випадку також знайдено чітку залежність окисної модифікації білків від стадії онтогенезу моху. Більшу кількість КГ білків визначено у протонемі як відразу під впливом високої температури, так і в період післядії стресу, що пояснюється наростанням деструктивних змін у клітинах протонемі. Відомо, що ліпіди мембран досить ефективно захищають ліпопероксидази та низькомолекулярні антиоксиданти, внаслідок чого пероксиди ліпідів швидко метаболізуються, а відновлення окиснених білків практично не відбувається, оскільки вони стають мішенню для дії специфічних протеаз (Лушак та ін., 2004). Тому процеси пероксидації *B. argenteum* взаємопов'язані і пропорційно змінюються із тривалістю та інтенсивністю стресу, від чого суттєво залежить гравічутливість на різних стадіях розвитку рослин моху.

Показано, що стійкість гравітропної реакції до стресу *B. argenteum* підвищується від стадії протонемі до стадії гаметофорів. В умовах підвищених температур гравічутливість моху залежала від активації компонентів антиоксидантного захисту, які ефективніше інгібували ліпопероксидацію та окисну модифікацію білків гаметофорів, порівняно з протонемою із спор, тому відновлення гравітропізму регенеративної протонемі (унаслідок регенерації клітин листків і пагонів гаметофорів) після стресу відбувалося швидше. Таким чином, перебіг процесів окиснювального стресу в несприятливих умовах неоднозначний і у кожному конкретному випадку необхідно враховувати рівень стресу і стадію диференціації рослин.

9.3. ОСОБЛИВОСТІ ПІГМЕНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ІНТЕНСИВНІСТЬ ФОТОСИНТЕЗУ ФЕРТИЛЬНИХ РОСЛИН ГАМЕТОФІТУ *BRYUM ARGENTEUM*

У мохоподібних ініціація і дозрівання чоловічих та жіночих гаметангіїв контролюються і генетично, і фізіологічно. Жіночі рослини у період дозрівання статевих клітин мають вищу інтенсивність фотосинтезу та дихання, більший приріст біомаси та швидше регенерують, порівняно з чоловічими особинами (Hanson, Rice, 2014). Крім того, жіночі рослини стійкіші до різноманітних абіотичних стресів (Stark et al., 2010). Порівняння результатів кількісних і

якісних змін пігментів пластид та інтенсивності асиміляції вуглекислоти в рослинах загалом, а також впливу зміненої сили тяжіння на такі процеси дає можливість з'ясувати природу пластичності чи консервативності обмінних реакцій, виявляє ступінь пристосованості рослин до умов існування (Foyer, Harbinson, 1999; Kochubey et al., 2004; Колупаев, Карпец, 2010; Jagtap et al., 2011; 2024; Недуха, 2015; Jagtap et al., 2024).

Досліджували вплив зміненої гравітації на пігментний комплекс та інтенсивність фотосинтезу фертильних рослин моху *B. argenteum* (табл. 30). У контролі, коли рослини знаходяться в умовах векторної дії 1g визначено більший вміст хлорофілу *a* у чоловічих рослинах, порівняно з жіночими. За кількістю хлорофілу *b* та каротиноїдів різностатеві рослини істотно не відрізнялися. Під час кліноостатування змінювалася часова динаміка фотосинтетичної активності фертильних рослин. Насамперед, це зміни вмісту хлорофілу *a*. Його кількість знижувалася в чоловічих і жіночих рослинах через 24 год, від початку кліноостатування. Середню (96 год) тривалість кліноостатування можна розглядати як час акліматизації, оскільки визначено компенсаторне збільшення вмісту хлорофілу *a* майже в 1,6 разів у жіночих рослинах. Вміст каротиноїдів на початковій фазі кліноостатування знижувався, а надалі підвищувався – у жіночих рослинах в 1,5 рази, і 1,2 у чоловічих.

Вміст пігментів (мг/г сухої маси) у фертильних рослинах *Bryum argenteum* в умовах 1 г та кліноостатування

Хлорофіл <i>a</i>			Хлорофіл <i>b</i>			Каротиноїди		
Варіанти дослідів: контроль, кліноостатування, год								
24 год	96 год	8 діб	24 год	96 год	8 діб	24 год	96 год	8 діб
Контроль, чоловічі рослини								
0,62±0,02	0,61±0,01	0,65±0,01	0,43±0,01	0,40±0,01	0,44±0,01	0,46±0,01	0,48±0,01	0,46±0,01
Контроль, жіночі рослини								
0,54±0,01	0,57±0,01	0,60±0,01	0,41±0,01	0,39±0,01	0,42±0,01	0,44±0,01	0,42±0,01	0,42±0,01
Кліноостатування, чоловічі рослини								
0,55±0,01	0,53±0,02	0,44±0,01	0,38±0,01	0,36±0,01	0,39±0,01	0,51±0,02	0,56±0,01	0,59±0,01
Кліноостатування, жіночі рослини								
0,42±0,01	0,67±0,02	0,69±0,02	0,39±0,01	0,41±0,01	0,40±0,01	0,56±0,01	0,66±0,01	0,64±0,01

У фотосистемі каротиноїди не лише виконують роль додаткових світлозбиральних пігментів, а й знешкоджують синглетний кисень та інші вільні радикали в умовах окиснювального стресу. Невисоке збільшення вмісту каротиноїдів після кліноостатування може свідчити про деяке стресове навантаження на рослини, тоді як під впливом температури і високої інсоляції кількість пігментів в пагонах *B. argenteum* збільшувалася у 3-4 рази (Кияк, 2015). Вміст хлорофілу *b* упродовж кліноостатування суттєво не змінювався.

За інтенсивністю фотосинтезу чоловічі та жіночі рослини відрізнялися у контролі та після кліноостатування (рис. 61). Для рослин контролю визначено вищу інтенсивність фотосинтетичних процесів ($2,28 \pm 0,01$ мг CO₂/г с.м./год) для чоловічих пагонів, ніж жіночих ($1,60 \pm 0,01$ мг CO₂/г с.м./год). Така відмінність зумовлена специфікою формування та дозрівання гаметангіїв *B. argenteum* і енергетичні витрати на формування статевих органів чоловічих особин більші, що й підтверджує аналіз фотосинтетичної активності.

Зміна сили тяжіння по-різному вплинула на рослини обох статей: визначено поступове підвищення фотосинтетичної активності жіночих рослин, що корелювало зі збільшенням вмісту хлорофілу *a*. Інтенсивність фотосинтезу чоловічих рослин упродовж кліноостатування, навпаки, знизилася майже в 1,3 рази, тобто змінена гравітація є сильнішим стресовим чинником для чоловічих рослин, ніж для жіночих (рис. 61). Результати аналізу кількісного складу пігментів та інтенсивності фотосинтезу фертильних рослин *Bryum argenteum* підтверджують вищу чутливість чоловічих рослин, зокрема до стресового впливу зміни сили тяжіння.

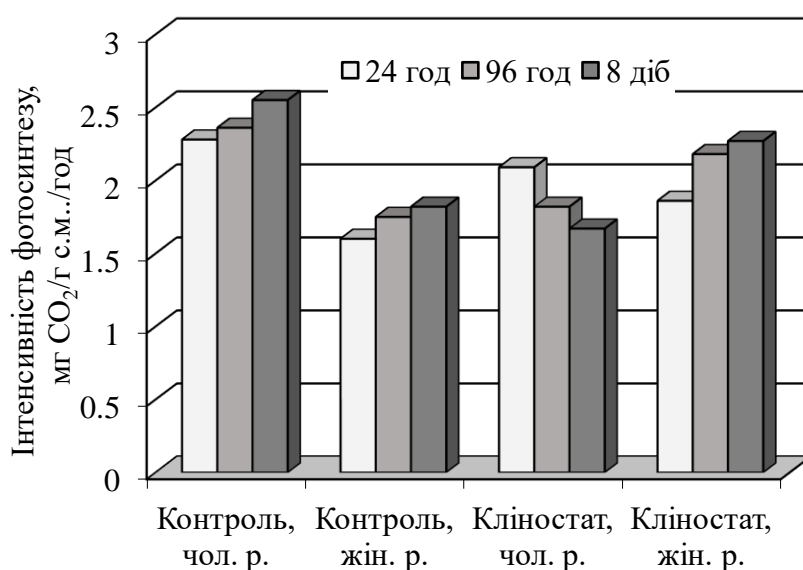


Рис. 61. Вплив кліноостатування на інтенсивність фотосинтезу фертильних рослин *Bryum argenteum* (мг CO₂ /г с. м./год)

Для багатьох дводомних видів мохів, наприклад, характерне значне зменшення чоловічих особин або їх відсутність у несприятливих природних умовах. В арктичних умовах у *Polytrichum strictum* Menzies ex Brid. та *Polytrichastrum alpinum* (Hedw.) G.L.Sm. чоловічих особин не знаходили, тоді як у субарктичній зоні вони рясно утворюються (Stark et al., 2010). У Північній Америці на тихоокеанському узбережжі чоловічі особини у видів *Chiastocaulot mayebarae* S.D.F. Patzok, M.A.M.Renner, Schäf.-Verw. & Heinrichs, *Takakia ceratophylla* (Mitt.) Grolle та *T. lepidozoides* S. Hatt. & Inoue (Glime, 2017) не утворюються. Для видів роду *Macromitrium* Brid. (Orthotrichaceae) експериментально визначено більшу чутливість чоловічих особин до температурного стресу та висушування (Une, 1985).

9.4. АДАПТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ МОХІВ, ЗУМОВЛЕНІ УФ ОПРОМІНЕННЯ І ГРАВІТАЦІЄЮ

Вивчення дії факторів мікрогравітації на розвиток рослин як окремої галузі космічної науки, не може залишити поза увагою вплив ультрафіолетового опромінення (УФ). Як показали багаторічні дослідження, мохи є цілком оправданим об'єктом для експериментального аналізу дії УФ на рослинний організм, тим паче, що ареал поширення бріофітів охоплює території з високим рівнем УФ опромінення на Півдні України (Бачуріна, Мельничук, 1988), а також у регіонах Південної Антарктики (Glime, 2017; Tuba, 2011; Robinson, Waterman, 2014; Müller et al., 2016).

Проведено дослідження взаємозалежності морфо-фізіологічних властивостей клітин протонеми аридного виду *Weissia controversa* з гравічутливістю і резистентністю до УФ-опромінення. Проаналізовано особливості вуглеводного обміну, що забезпечують розвиток адаптивних властивостей *W. controversa* і *Ceratodon purpureus* на стресорну дію екзогенних чинників.

9.4.1. АНАЛІЗ СТІЙКОСТІ МОХІВ ДО ДІЇ УФ ПРОМЕНІВ

Поширення *W. controversa* в аридних та субаридних умовах Середньої Азії та півдня України описано у праці (Бачуріна, Мельничук, 1988). На основі порівняльного аналізу *W. controversa* з південних регіонів України та Середньої Азії ми дійшли висновку, що мох високо резистентний до УФ-опромінення (Кардаш та ін., 1988).

Відомо, що великі або кумулятивно малі дози радіації руйнують біологічні системи унаслідок змін в організації ДНК, які часто призводять до мутацій або загибелі організму. Окрім того, радіаційне опромінення високої енергії використовується для генерації нових мутантів рослин (Гродзинський, 2013; Гудков, 2016). У дослідженні впливу іонізованого випромінювання на рослини важливо вивчити механізми стійкості біологічних систем. Чи є

зв'язок між морфофункціональною організацією протонеми *W. controversa* та її реакцією на гравітаційне подразнення і підвищеною стійкістю рослин моху до УФ-випромінювання? Раніше було встановлено, що УФ-мутанти *C. purpureus* реагують позитивно гравітропно, а кінетика гравітропного згину подібна до протонеми дикого типу (Хоркавців, Демків, 2009). Протонемна стадія *W. controversa* зі специфічною диференціацією клітин на каулонему і дендроїди хлоронемного типу зберігається упродовж життєвого циклу. Таке диференціювання протонеми на каулонему і хлоронему в умовах аридних місцевиростань призвело до різкої функціональної відмінності клітин та інтенсивнішого формування дендроїдів, наприклад, як у *Weissia armatum* (Thér. & Trab.) Fedosov (раніше *W. papillosissima*, Лазаренко та ін., 1961). Роль таких морфологічних ознак, пов'язаних з фізіологічними функціями і екологічними умовами середовища, полягає у забезпеченні виживання гаметофіту у стресових кліматичних умовах (Лазаренко, 1959; Кардаш та ін., 1988). Бріофіти є домінантами серед вищих рослин за поширенням у локалітетах з високим рівнем УФ-випромінювання (альпійські і полярні регіони) із специфічною стратегією захисту від його шкідливого впливу. Важливо й те, що мохи, пристосовані до місцевиростань в умовах високого випромінювання, мають більші фотосинтетичні можливості та вищі пороги чутливості до надлишку освітлення, ніж ті, що адаптувалися до низьких інтенсивностей світла (Newsham, Robinson, 2009; Robinson, Waterman, 2014; Kyuyak et al., 2021; Lobachevska et al., 2020).

У трьох видів мохів – *Funaria hygrometrica*, *Ceratodon purpureus* і *W. controversa* після опромінення УФ потужністю 3 кВт/м² вижили майже 100 % апікальних клітин *W. controversa*, 30 % – *C. purpureus* і 10 % – *F. hygrometrica*. Середнє значення доз, що спричинили загибель 90 % клітин у різних видів, істотно відрізнялося (рис. 62).

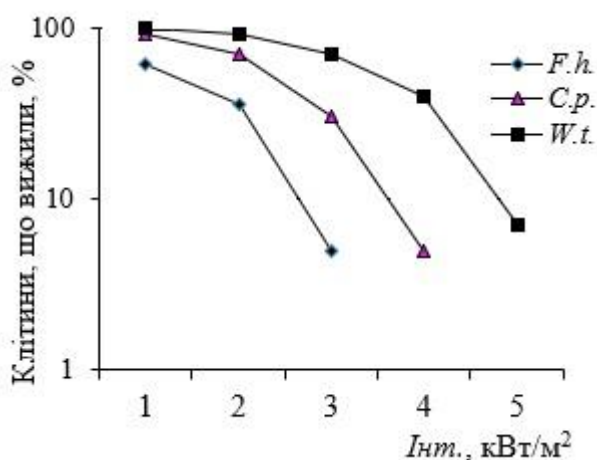


Рис. 62. Відсоток виживання клітин протонеми *Funaria hygrometrica*, *Ceratodon purpureus* і *Weissia controversa* залежно від інтенсивності УФ-опромінення.

Поріг виживання підтверджує локальну приуроченість видів мохів до місцевиростань із

високими дозами сонячної радіації і УФ-фону, серед яких *F. hygrometrica*, порівняно з двома іншими видами мохів, виявилася найменш стійкою. У природних умовах *W. controversa* утворює нещільні дернинки до 1 см заввишки, блідо-зелені, листки брунькоподібно складені з тонкостінних клітин, які надзвичайно чутливі до зміни екологічних умов місцевиростань. Завдяки своєрідній диференціації столонів, у якій короткі хлоронемні дендроїди з короткоциліндричними або діжковидними клітинами екранують каулонемні столони, протонемна дернина досить стійка до УФ випромінювання. Подібну дендроїдну форму на високих інтенсивностях освітлення ($50\text{--}70 \text{ мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$) утворює *S. purpureus* та інші представники роду Pottiaceae, проте у *F. hygrometrica* таку форму росту не виявлено. На високих ($4\text{--}5 \text{ кВт/м}^2$) дозах УФ опромінення життєздатними залишалися найбільш щільно екрановані клітини каулонемі *W. controversa* а їх регенерація значно підсилювала виживання протонемної дернини. Формування щільної дернини із коротких нерозгалужених хлоронемних столонів, як додаткова форма росту протонемі, може мати пряме відношення до екранування радіації. Не виключено, що саме така функція є результатом відмінностей між клітинами і причиною нечутливості до гравітації (Lobachevska et al., 2021, a, b). Морфологічна організація клітин хлоронемі – малі розміри, сповільнені темпи мітозів, обмежена довжина столонів і швидке завершення росту дендроїдів, порівняно з каулонемою, не сприяли гравічутливості. Параметри клітин і столонів протонемної дернини *W. controversa* наведено у табл. 31.

Таблиця 31

Морфологічні показники і люмінесценція ядер клітин протонемі *Weissia controversa*

Столони протонемі	Розміри апікальних клітин, мкм		Довжина столонів, мкм / кількість клітин	Об'єм ядер, мкм ³	Люмінесценція ДНК-ДАРІ, відн. од.
	довжина	ширина			
Хлоронемні дендроїди	$34,7 \pm 1,5$	$21,4 \pm 0,9$	$166,4 \pm 3,1$ / 4 – 5 клітин	$77,3 \pm 8,9$	$56,8 \pm 2,1$
Каулонемні	$182,3 \pm 3,4$	$20,8 \pm 1,1$	$2759,6 \pm 16,7$ / 14 – 15 клітин	$199,0 \pm 12,7$	$79,5 \pm 4,9$

Ядра клітин дендроїдів і каулонемі *W. controversa* менші, ніж чутливіших до УФ видів, наприклад об'єм ядра *Funaria hygrometrica* = $583,2 \pm 29,2 \text{ мкм}^3$, або *Ceratodon purpureus* – $233,3 \pm 13,9 \text{ мкм}^3$, чи інших видів мохів (Демкив, Сытник 1985; Braun, 2018). Чутливість до УФ опромінення корелює з розмірами ядер: клітини з великими ядрами, як відомо, радіочутливіші, ніж з малими ядрами (Гудков, 2016; Гродзинский, 2013).

Характерною особливістю мохів є високий вміст фенолів, які сприяють захисту від УФ-

опромінення у природних умовах (Zhao, Dixon, 2013; Glime, 2017). У *W. controversa* фенольні сполуки (ФС) з максимумом поглинання $\lambda = 310...410$ нм забарвлюють клітинні стінки каулонемних столонів у червоно-коричневий колір і створюють фотозахисний бар'єр. Вміст ФС у клітинах природних зразків і лабораторній культурі відрізнявся, але був більшим у каулонемних столонах, ніж у дендроїдах (табл. 32).

Таблиця 32

Вміст фенольних сполук у дендроїдах і каулонемних столонах *Weissia tortilis*

Тип диференціації столонів	Вміст фенолів, мг / 100 г сухої маси	
	Природні зразки	Лабораторна культура
Хлоронемні дендроїди	87,6 ± 0,4	62,3 ± 0,7
Каулонема	120,3 ± 1,6	78,0 ± 0,5

Окрім того, вміст фенольних сполук у *W. controversa* значно перевищував показники, отримані для інших видів мохів (Кияк, 2005) та був значно вищий у природних умовах (табл. 32). Відмінні морфологічні форми протонемної дернини *W. controversa* сформувалися насамперед залежно від високих доз сонячної радіації, а також гравічутливості апікальних клітин дендритів і підземної каулонемі, як допоміжного способу росту у стресових умовах. Спільно такі морфологічні модифікації сприяли пластичності *W. controversa* в локальних умовах, а значення фенотипних і функціональних ознак та відповіді на екологічні сигнали слід розглядати як пристосування до умов різних оселищ.

Резистентність *W. controversa* до УФ-випромінювання сформувалася як адаптивна реакція на дію високих доз сонячної радіації, при цьому рівень стійкості зумовлений як морфологічними особливостями, так й ефективністю функціонування репараційних систем в екологічних умовах місцевиростань моху.

Для вивчення природних механізмів адаптації рослин до УФ-опромінення унікальним середовищем є Антарктика. Стійкість мохоподібних до абіотичних стресових факторів можна вважати унікальною – в екстремальних кліматичних умовах Антарктики бріофіти займають 40 % флори (Lobachevska, et al., 2005; Carvalho et al., 2017; Stark, 2017; Pizarro et al., 2019). Мохи адаптувалися до широкого діапазону освітлення, ростуть як на високому рівні інсоляції (близько 100 ккал/см² на рік, майже як на екваторі), так і на дні глибоководних антарктичних озер, наприклад рослини *Plagiothecium orthocarpum* Mitt. (Robinson et al., 2000, 2003). Одним із основних стресових чинників екосистеми Антарктики є ультрафіолетове опромінення. Підвищений рівень ультрафіолетової радіації як результат виснаження стратосферного озонового шару (100...137 Дб) спричинює пошкодження рослин, хоча у багатьох антарктичних

видів унаслідок тривалої дії фактора еволюційно сформувалися механізми захисту від впливу ультрафіолету, які пом'якшують або нівелюють його ефект (Bjorn et al., 1998). У здатності мохів пристосовуватися до умов мікросередовища значна роль належить гравітації. Завдяки силі тяжіння збільшуються варіації морфогенезу і рівень фенотипної пластичності гаметофіту (Хоркавців та ін., 2015; Lobachevska et al., 2018).

Ультрафіолетове опромінення індукує у клітинах „окиснювальний стрес”, до якого чутливі, зокрема, ліпіди мембранних структур і хлорофіл у тилакоїдах хлоропластів. Запобігають цьому пошкодженню УФ-абсорбувальні сполуки фенольної природи (УФ–АС) Накопичення УФ–АС є найпоширенішою реакцією судинних рослин Антарктики на вплив ультрафіолету (Newsham, Robinson, 2009). Не завжди є пряма залежність між накопиченням УФ–АС та толерантністю до УФ-опромінення, але доведеним є той факт, що вони можуть суттєво зменшити проникнення ультрафіолету в клітину, екрануючи його промені, а також забезпечити захист від вільнорадикальних реакцій, індукованих УФ-опроміненням. Цю роль виконують флавоноїди, що функціонують як УФ-поглинальні молекули і антиоксиданти (Stoka, 2005). Основний механізм фотопротекторної функції флавоноїдів забезпечується високою поглинальною здатністю в УФ-спектрі та легкою електронною й енергетичною передачею (Dixon, Paiva, 1995). Вміст та локалізація УФ-абсорбувальних сполук фенольної природи значно менше вивчені у бріюфітів, порівняно з судинними рослинами. Відомо, що УФ–АС судинних рослин локалізовані в трихомах й епікутикулярному воску листкових пластинок, у цитозолі, хлоропластах, ядрі, вакуолях, клітинній стінці, ендоплазматичному ретикулумі (Zhao, Dixon, 2013). У клітинах мохів ці сполуки виявлені у клітинній стінці та вакуолях (Ніколайчук та ін., 2000; Zhao, Dixon, 2013).

Важливою частиною роботи було дослідження впливу УФ-опромінення на вміст розчинної (вакуолярної) та зв'язаної у клітинній стінці фракцій УФ-абсорбувальних компонентів фенольної природи, кількість флавоноїдів і спектри їхнього поглинання та концентрації світлозахисних пігментів (антоціанів і каротиноїдів) у пагонах моху *Ptychostomum imbricatulum* з Антарктики.

9.4.2. ЕФЕКТ УФ-ОПРОМІНЕННЯ НА ГРАВИЧУТЛИВІСТЬ І МОРФОЛОГІЧНУ МІНЛИВІСТЬ *PTYCHOSTOMUM IMBRICATULUM*

У кліматичних умовах Антарктики для мохів адаптивним резервом є гравітропні реакції, оскільки завдяки силі тяжіння збільшуються варіації морфогенезу і рівень фенотипної пластичності гаметофіту (Lobachevska et al., 2021, b).

Морфологічна форма мохів визначається передусім способом галуження та кутом нахилу латеральних гілок відносно вектора гравітаційної сили і утворенням бруньок


гаметофорів. Енергетичним джерелом розвитку та ініціації гравіморфогенезу є світло. Проаналізовано вплив фізіологічно активного для мохів червоного і синього світла на активність галушення та утворення бруньок на гравітропній протонемі моху *P. imbricatum* з Антарктики (табл. 33).

Таблиця 33

Кількість галузок на гравітропній протонемі *Ptychostomum imbricatum*, що росли під кутами $\theta = 90^\circ$ та $40...50^\circ$ після 4-год освітлення червоним і синім світлом. Інтенсивність освітлення: червоне, синє світло – $6 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$; біле – $15 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$.

n – кількість галузок, що утворилися на 10 гравітропних столонах.

Варіанти освітлення	Кількість галузок, n	
	Кут, $\theta = 90^\circ$	$\theta = 40...60^\circ$
Біле світло	$105,0 \pm 0,8$	$52,0 \pm 1,8$
Червоне світло, $\lambda_{\text{max}} = 660 \text{ нм}$	$151,0 \pm 2,8$	$75,0 \pm 2,1$
Синє світло, $\lambda_{\text{max}} = 551 \text{ нм}$	$94,0 \pm 2,3$	$57,0 \pm 1,9$



Встановлено, що світло впливає на кут ініціації галузок, під яким вони закладаються на головному столоні протонемі (табл. 33). Після освітлення червоним світлом протонемі *P. imbricatum* більшість галузок закладалися і продовжували тривалий час рости під кутом 90° , інші (їх було менше) росли гравітропно. Таким чином, червоне світло переважно блокувало гравіперцепцію і гравітропний ріст клітин протонемі, унаслідок чого змінилися морфологічна реакція на дію гравітації і форма галушення дернини. Відомо, що низькі інтенсивності синього і червоного освітлення модулювали гравітропний кут, величина якого є результатом взаємодії між граві- і фототропізмом (Хоркавців, Демків, 1999; 2003). Для *P. imbricatum* встановлено, що червоне світло ініціювало закладання галузок та високу активність галушення клітин гравітропної протонемі, порівняно із синім і білим освітленням та негравістимульованою протонемою у контролі (рис. 63).

Це підтверджує взаємодію світла і гравітації та її значення для морфологічної форми дернини моху. Відновлення гравітропного росту після освітлення відбувалося повільно, синє світло мало тривалішу гальмівну дію ніж червоне, проте було стимулятором закладання бруньок на гравітропній протонемі *P. imbricatum* (рис. 64, а).

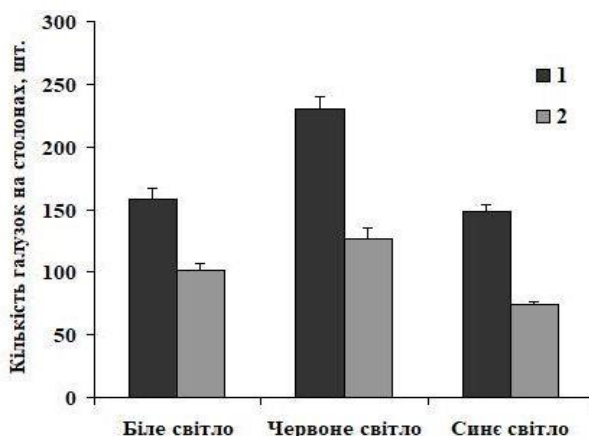


Рис. 63. Галуження клітин протонеми *Ptychostomum imbricatum*: освітлення білим, червоним світлом $\lambda_{\text{max}} = 660$ нм і синім світлом, $\lambda_{\text{max}} = 551$ нм: 1 – після гравістимуляції, 2 – контроль, гравітропна протонема.

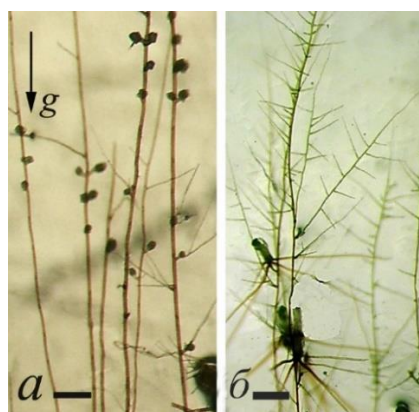


Рис. 64. Бруньки на протонемі *Ptychostomum imbricatum* та галуження клітин під впливом синього (а) і червоного (б) світла; штрих 200 мкм

Після червоного освітлення клітини інтенсивніше галузилися, а бруньок було небагато (рис. 64, б). Відомо, що послідовне освітлення червоним і синім світлом стимулює закладання бруньок, хоча чіткого роз'яснення механізму впливу гравітації немає (Демків та ін., 2005). Очевидно, що тригером галуження гравітропної протонеми і утворення на ній бруньок було світло, а гравітація діяла як синергічний фактор завдяки поляризаційному ефекту. Відзначимо, що синє світло індукувало утворення на стеблі і в основі молодих бруньок ризоїдів, що росли позитивно гравітропно (рис. 65, а).

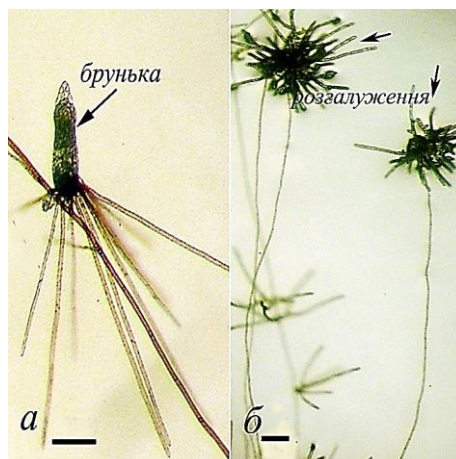


Рис. 65. *Ptychostomum imbricatulum*: а – після освітлення синім світлом ризоїди в основі бруньки росли позитивно гравітропно, б – на верхівці гравітропного столону клітини погалужилися і утворилися пучки протонеми; штрих 200 мкм.

Отже, від спільної дії світла і гравітації залежить морфологічна мінливість протонеми, що у життєвому циклі моху має винятково важливе значення. Фенотип галузнення гравітропних стolonів, просторова орієнтація підземної протонеми у природних екстремальних умовах Антарктики – це засіб доступу до світла, джерел живлення і води, взаємодії з ґрунтовою біотою. Пристосуванням до короткого вегетаційного періоду Антарктики є формування на верхівці гравітропних стolonів *P. imbricatulum* пучка коротких стolonів, які розпадалися на окремі 2–3-клітинні фрагменти і проростали (рис. 65, б). Фрагментація як одна з форм асексуального розмноження дає можливість одній рослині моху утворити генетично ідентичне потомство і швидко колонізувати більшу територію. Надалі на стolонах закладалися бруньки, з яких розвивалися гравічутливі гаметофори, що теж сприяло пластичності виду і швидшому розростанню мохової дернини *P. imbricatulum*. Лише гравітропні стolони і гаметофори, що росли над субстратом, могли енергетично забезпечити швидке вегетативне поновлення (Lobachevska et al., 2021, b). Набуття компетенції до брунькотворення на верхівці гравітропного столону (Демків та ін., 2005), а також чітко виражена гравічутливість гаметофорів мохів з Антарктики є морфогенетичним проявом гравіморфозів залежно від умов середовища. Такі гравізалежні процеси як активація галузнення та кути бокових галузок на протонемі ініціювали зміну морфологічної структури мохової дернини *P. imbricatulum*. Мінливість орієнтації росту стolonів і гравічутливість гаметофорів сприяли формуванню потужнішої дернини з підвищеною здатністю до тривалого утримування вологи та високою фотосинтетичною продуктивністю. Ефект УФ–опромінення з інтенсивністю 4 кВт/м² на гравічутливість стolonів був неоднаковий: апікальні клітини протонеми львівського зразка *P. imbricatulum* втратили чутливість до гравітації, очевидно, внаслідок незворотних

деструктивних змін, а для стolonів антарктичного зразка зафіксовано лише зменшення кута гравітропного згину до $10,3^\circ$, проте гравічутливість клітин зберігалася (табл. 34).

Таблиця 34

Вплив УФ-опромінення на кут гравітропного згину регенеративної протонеми, отриманої з листків і пагонів зразків моху *Ptychostomum imbricatum* з Антарктики і Львівської області

Варіанти досліджу	Гравітропний згин, ф
<i>Рослини з Львівської області</i>	
Контроль (без опромінення)	$22,5 \pm 2,8^\circ$
УФ-опромінення	0
<i>Рослини з Антарктики</i>	
Контроль (без опромінення)	$24,6 \pm 2,2^\circ$
УФ-опромінення	$10, 3 \pm 0,8^\circ$

9.4.3. АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ І АНАЛІЗ ФОТОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК *PTYCHOSTOMUM IMBRICATULUM* З АНТАРКТИКИ І ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Бріофітам властивий високий потенціал системи захисту від окисної деструкції завдяки системі низькомолекулярних антиоксидантів (флавоноїдів, фенольних сполук, аскорбату, глутатіону), які нагромаджуються в клітинах (Deu, De, 2012). Такі антиоксиданти мають особливе значення під час температурного та осмотичного стресів, впливу важких металів та УФ-опромінення (Дмитрієв, Поляковський, 2007; Таран та ін., 2007). Ми вважали за доцільне визначити антиоксидантну активність (АА) рослин *P. imbricatum* з екстремальних умов Антарктики та порівняти із зразками із помірних широт Львівської області. Вибрали ефективні концентрації екстрактів (EK_{50}), котрі інгібували 50 % вільних радикалів. Між показниками EK_{50} і антиоксидантної активності встановлена обернено пропорційна залежність: що нижчим був показник EK_{50} , то вищою була антиоксидантна активність рослин. Як позитивний контроль використовували аскорбінову кислоту (EK_{50} аскорбінової кислоти дорівнює 0,06 мг/мл). У рослинах *P. imbricatum* з Антарктики визначено майже у 1,5 раза нижчий рівень EK_{50} і, відповідно, вищу АА ($EK_{50} = 3,65$ мг/мл), порівняно з рослинами львівської популяції ($EK_{50} = 5,04$ мг/мл) (рис. 60). УФ-опромінення індукувало збільшення антиоксидантної активності антарктичних зразків рослин до 2,86 мг/мл і свідчить про високий антиоксидантний захист рослин з Антарктики, порівняно з рослинами із Львівської обл.

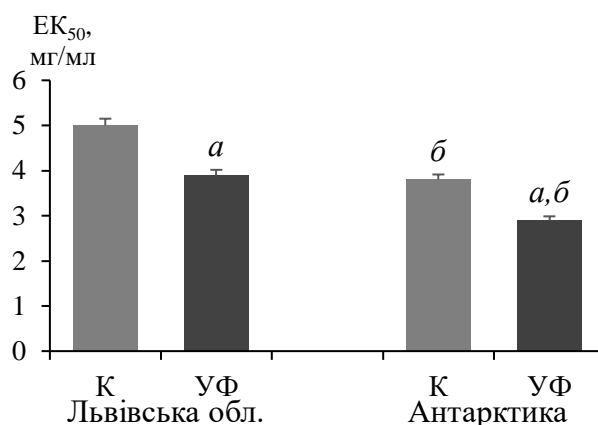


Рис. 66. Антиоксидантна активність рослин *Ptychostomum imbricatum* з Антарктики та Львівської області під впливом УФ-опромінення: *a* – різниця статистично достовірна (рівень значущості $p \leq 0.05$) опромінених рослин (УФ), порівняно з неопроміненими, контроль (К); *b* – різниця статистично достовірна ($p \leq 0,05$), порівняно з рослинами з Львівської обл.

*Примітка**: – менше значення величини є показником вищої антиоксидантної активності

Фенольні сполуки (ФС) завдяки здатності функціонувати як скавенджери вільних радикалів і активних форм кисню, підтримують відновлений стан клітин та позитивно впливають на активність антиоксидантних ферментів (Michalak, 2006). Індукція синтезу ФС відбувається як відповідь на УФ випромінювання та високі інтенсивності світла (Iqbal et al., 2019). Пагони *P. imbricatum* мали різний вміст ФС: у зразках з Антарктики визначено істотно більший вміст фенолів, після УФ-опромінення кількість фенолів підвищувалася ще на 35 %, сприяючи поглинанню шкідливих для рослин променів (табл. 35).

Таблиця 35

Вміст фенольних сполук у пагонах *Ptychostomum imbricatum* з Антарктики і Львівської області після УФ опромінення; (мг/г сухої маси)

Варіанти	Вміст розчинних УФ-АС	Вміст зв'язаних УФ-АС	Сумарний вміст УФ-АС
Рослини з Львівської області			
Контроль (без опромінення)	1,06 ± 0,18	1,48 ± 0,22	2,54 ± 0,35
Рослини після УФ опромінення	1,25 ± 0,22	2,11 ± 0,33 ^a	3,36 ± 0,42 ^a
Рослини з Антарктики			
Контроль (без опромінення)	1,52 ± 0,16	2,56 ± 0,31	4,08 ± 0,52 ^{a,б}
Рослини після УФ опромінення	1,81 ± 0,25	4,05 ± 0,43 ^{a,б}	5,86 ± 0,61 ^{a,б}

Примітка: *a* – різниця статистично достовірна, порівняно з контролем (рівень значущості $p \leq 0,05$); *b* – різниця статистично достовірна, порівняно з рослинами з Львівської області ($p \leq 0,05$)

Рослини львівського зразка в 1,6 раза мали менший вміст фенольних сполук у контролі, який незначно підвищувався після стресу. Тобто, для рослин *P. imbricatum* з Антарктики властивий більший конститутивний пул фенольних сполук, порівняно з рослинами середніх широт. За вмістом розчинної (вакуолярної) та нерозчинної (зв'язаної у клітинній стінці) фракцій фенольних сполук в обох зразках моху *P. imbricatum* визначено в 1.5...1.8 разів вищу концентрацію УФ-абсорбуючих фенольних сполук (УФ-АС), локалізованих у клітинній стінці. Після УФ опромінення їхній вміст також підвищувався дещо більше, ніж розчинних УФ-АС (табл. 35). Подібні результати отримані для інших видів мохів. У *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., *Schistidium antarctici* (Cardot) L.I. Savich & Smirnov з Антарктики вміст зв'язаних з клітинною стінкою УФ-АС був майже у дев'ять разів більшим, ніж вміст розчинних (вакуолярних) УФ-АС (Clarke, Robinson, 2008). У печіночника *Jungermannia exsertifolia* Stephani вміст нерозчинних УФ-АС майже у 2,5 раза перевищував вміст розчинних фенольних сполук (Fabon et al, 2012). Переважав вміст зв'язаних з клітинною стінкою сполук, що абсорбували УФ, у субарктичних видів *Pleurozium schreberi* (Willd. ex Brid.) Mitt. та *Polytrichum juniperinum* Hedw., *P. pseudotriquetrum* і *Fontinalis antipyretica* Hedw., у восьми видів сфагнових мохів з Норвегії (Soriano et al., 2013). Тому, як встановлено, фенольні сполуки клітинної стінки беззаперечно відіграють важливу функцію у захисті від УФ опромінення. Після УФ опромінення в обидвох зразках моху *P. imbricatum* підвищувався вміст УФ-АС, що свідчить про індукований характер адаптивної відповіді. Таку реакцію можна пояснити особливостями метаболізму фенольних сполук. Серед фенольних сполук основну роль у поглинанні УФ-променів виконують флавоноїди. Саме вони функціонують у рослинних клітинах як індукторні протектори окиснювального стресу (Дмитрієв, Поляковський, 2007). Про це свідчать значні зміни вмісту флавоноїдів в умовах підвищених рівнів озону або ультрафіолету. Відомо, що УФ опромінення активує синтез фенілаланіну та індукує швидке і скоординоване підвищення активності ферментів фенілпропаноїдного шляху біосинтезу, що сприяє утворенню „сонцезахисного щита” з флавоноїдів (Iqbal et al., 2019). Аналізуючи вміст флавоноїдів, визначено в 1,2 раза більший вміст у рослинах з Антарктики, тоді як УФ опромінення стимулювало їх синтез у рослинах з обидвох кліматичних регіонів. Однак для рослин антарктичного зразка визначено в 1,7 раза вищі концентрації флавоноїдів після УФ-опромінення, ніж для *B. caespiticium* з Львівської області (рис. 67).

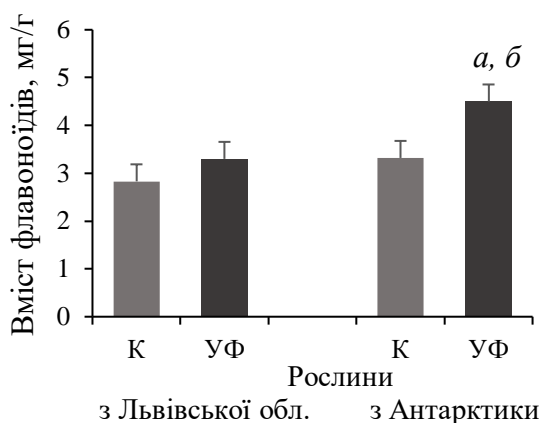


Рис. 67. Вплив УФ-опромінення на вміст флавоноїдів у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* з Львівської обл. і Антарктики.

Примітка: *a* – різниця статистично достовірна, порівняно до контролю при $p \leq 0,05$, *б* – різниця статистично достовірна, порівняно до зразків з Львівської обл. при $p \leq 0,05$.

Флавоноїди представляють велику групу поліфенольних сполук, до яких належать флавоноли (кверцетин, рутин, морін, кемпферол), флаволи (лютеолін, апігенін), флаванони (гесперетін), флаваноли (катехін, епікатехін) та антоціани. Щоби визначити, які флавоноїди беруть участь у захисті від УФ-опромінення, проаналізовано спектри поглинання екстрактів флавоноїдів у розчині хлориду алюмінію. Як видно на рис. 68, спектри поглинання обидвох зразків *P. imbricatum* подібні. Максимуми поглинання визначені для довжин $\lambda = 420\text{...}440$ нм, 470 нм та 670 нм. Слід внести пояснення, що взаємодія екстракту флавоноїдів з хлоридом алюмінію призводить до батохромного зміщення максимумів поглинання вихідних реагентів на 66...67 нм (Pękal, Ryzynska, 2014). Враховуючи це, перший максимум спектру поглинання, очевидно, відповідає флавонолам рутину та кверцетину, оскільки їхні піки поглинання знаходяться в ділянці спектру 356 нм та 370 нм відповідно, а їхніх комплексів з $AlCl_3$ – у спектрі 422 нм і 437 нм. Вважають, що серед флавоноїдів, ці флавоноли є найбільш ефективними відновниками супероксидного радикала (Jansen, Urban, 2019).

Другий максимум поглинання може відповідати флавону лютеоліну, з піками у довжині хвилі $\lambda = 405\text{...}420$ нм, а враховуючи зміщення поглинання, пік припадає на $\lambda = 470$ нм. Максимум у довгохвильовій області спектру може співпадати з антоціанами. Антоціани, які нагромаджуються у багатьох рослинах після УФ-опромінення, менше поглинають УФ у такій ділянці спектру, порівняно з флавонолами чи флавонами, хоча позитивну кореляцію між їхнім загальним вмістом і зниженням чутливості до УФ-опромінення встановлено у різних дослідженнях (Bobo-Garcha, 2015).

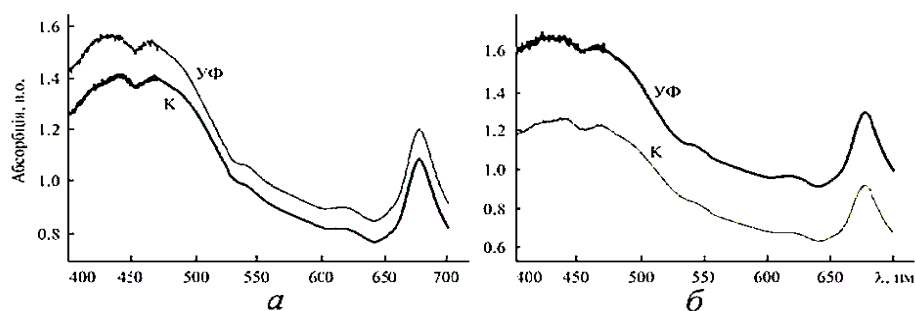


Рис. 68. Спектри поглинання флавоноїдів *Ptychostomum imbricatum*: а – зразок з Львівської обл., б – зразок з Антарктики (к– контроль, УФ – після опромінення).

Вважають, що антоціани беруть участь у захисті мембран тилакоїдів від УФ пошкодження, виконуючи функцію оптичного фільтру, захищаючи електрон-транспортний ланцюг від високоенергетичних квантів (Hollozy, 2002). Антиоксидантні властивості антоціанів зумовлені високою донорною активністю і здатністю стабілізувати та делокалізувати неспарений електрон, що блокує ланцюгові вільнорадикальні реакції (Ahmad et al., 2010).

Показано, що концентрації антоціанів під впливом ультрафіолету збільшувалися у пагонах обидвох зразків моху, однак показники у *P. imbricatum* з Антарктики були вищими як у контролі, так і після УФ-опромінення, що є свідченням кореляції стійкості, набутої у зв'язку із зміною зовнішніх факторів (табл. 36).

Таблиця 36

Вміст антоціанів та каротиноїдів у пагонах *Ptychostomum imbricatum* з Антарктики та Львівської області (мг/г сухої маси)

Варіанти досліджу	Вміст антоціанів	Вміст каротиноїдів
<i>Рослини з Львівської області</i>		
Контроль, без опромінення	2,23 ± 0,19	0,21 ± 0,02
Рослини після УФ опромінення	2,91 ± 0,22 ^а	0,27 ± 0,03
<i>Рослини з Антарктики</i>		
Контроль, без опромінення	3,87 ± 0,42	0,28 ± 0,01
Рослини після УФ опромінення	4,56 ± 0,26 ^{а, б}	0,36 ± 0,02 ^{а, б}

Примітка: а – різниця статистично достовірна, порівняно з контролем (рівень значущості $p \leq 0,05$); б – різниця статистично достовірна, порівняно із рослинами з Львівської області ($p \leq 0,05$)

Мінливість вмісту каротиноїдів у пагонах *P. imbricatulum* може бути важливим показником реакції на стрес, оскільки у складі фотосистем ці пігменти є компонентом не лише додаткової світлозбиральної системи, а захищають молекули хлорофілу від фотоокиснення під час високої інсоляції та УФ опромінення (Hollozy, 2002). Для рослин *P. imbricatulum* з Антарктики визначено вищі показники вмісту каротиноїдів, а після УФ опромінення вміст пігментів істотно збільшувався, порівняно з рослинами львівського зразка, що також підтверджує нижчу чутливість *P. imbricatulum* з Антарктики до УФ променів.

Можна допустити, що підвищені захисні функції гаметофіту моху з різних локалітетів зумовлені конститутивними механізмами захисту, однак фактори середовища Антарктики, сприяли більшій фізіологічній пластичності та резистентності *P. imbricatulum*. У локалітетах Антарктики з високим рівнем УФ опромінення бріофіти є домінантами серед вищих рослин завдяки адаптивним морфологічним процесам (Glime, 2017). Стійкість до сонячного опромінення зумовлена як морфологічною пластичністю гаметофіту мохів, так і ефективністю репараційних систем захисту від окиснювальної деструкції (Medina, 2015).

Визначено вищу антиоксидантну активність гаметофіту *P. imbricatulum* з Антарктики, ніж львівської популяції моху. Під впливом УФ-опромінення рівень реакцій істотноше підвищувався у моху з Антарктики, що пов'язано з вищим пулом антиоксидантів і ефективністю захисних механізмів. Однак експериментально показано, що для рослин *P. imbricatulum* із Львівської області також властиве збільшення антиоксидантної активності після УФ і активація захисних механізмів.

Особливістю мохів є високий вміст фенольних сполук та їх визначальне значення для формування стресостійкості рослин (Jovanovic, 1994). Забарвлення клітинних стінок каулономних стolonів та листків пагонів досліджених видів мохів у червоно-коричневий колір здебільшого зумовлене фенольними сполуками, які екранують ультраструктуру клітин від пошкоджень, мають фотозахисну дію, підвищуючи у такий спосіб стійкість рослин до ультрафіолету. Більший вміст флавоноїдів, як компонентів антиоксидантної системи мохів, у зразках *P. imbricatulum* з Антарктики, порівняно з рослинами середніх широт, підтверджує значення фенольного метаболізму у системі захисту залежно від умов середовища.

Ультрафіолетове опромінення активувало синтез УФ-абсорбувальних фенольних сполук *P. imbricatulum*. Вміст УФ-абсорбувальних сполук, зв'язаних з клітинною стінкою, був істотно більшим, ніж розчинних (вакуолярних) фенольних сполук у зразках з Антарктики і Львівської області, що вказує на їхню специфічну захисну функцію. Більша активність синтезу УФ-абсорбуючих фенольних сполук клітинної стінки, порівняно з вмістом розчинних сполук у

зразках *P. imbricatum* з Антарктики і України (львівська популяція), свідчить про їх участь в захисті клітин від УФ-опромінення незалежно від кліматичних умов.

Досліджено флавоноїди, які забезпечують стійкість клітин до УФ опромінення. Відповідно до спектрів поглинання флавоноїдів рослин *P. imbricatum* з Антарктики і Львівської області визначені флавоноли рутин та кварцетин і флавонол лютеолін, які забезпечують ефективний захист клітин від УФ пошкодження (Кууак et al., 2021). Отже, адаптація мохів до екстремального УФ опромінення, як й до багатьох інших чинників, формувалася завдяки високій антиоксидантній активності та інтенсивності обміну фенольних сполук, динаміка яких змінювалася залежно від напруження стресового фактора і стадії розвитку рослин.

9.4.4. ПОРІВНЯЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ПЕРОКСИДАЗИ І ВМІСТУ КОМПОНЕНТІВ КЛІТИННОЇ СТІНКИ *PTYCHOSTOMUM IMBRICATULUM* ЗАЛЕЖНО ВІД ЗМІНЕНОЇ СИЛИ ТЯЖІННЯ І УМОВ МІСЦЕВИРОСТАНЬ

Стабільне положення і оптимальна орієнтація клітин в гравітаційному полі визначається станом механічної напруги клітинної стінки і внутрішньоклітинних мікротрубочок і мікрофіламентів. Сигнал сили тяжіння підвищує жорсткість клітинної стінки унаслідок полімеризації полісахаридів, акумуляції лігніну, стимулює утворення поперечних зв'язків у різних умовах гравітаційного навантаження у космосі чи на Землі (Hoson et al., 2003). В усіх процесах задіяна пероксидаза клітинних стінок. Фермент має ключове значення для поляризації клітин як відповідь на гравістимул, впливаючи на реорганізацію мікрофібрил целюлози клітинної стінки (Cosio, Dunand, 2009), концентрується у місці утворення ризоїда зиготи фукуса і сприяє розриву поперечних ланцюгів полімерів клітинної стінки, що локально змінює її еластичність (Vreeland, Kwan, 1999).

Пероксид водню, локалізований у клітинній стінці, також задіяний у процесах елонгації, лігніфікації як реакцій на гравістимул. Відомо про регулюючий вплив H_2O_2 на згин кореня та ріст клітин арабідопсиса в умовах гравістимуляції (Muthert et al., 2020). Під час росту гіпокотилу проростків сої у зоні видовження підвищувалася концентрація пероксиду водню (Passardi et al., 2004). Вміст H_2O_2 збільшувався у клітинах кореня кукурудзи також під час елонгації та лігніфікації клітинних стінок (Cordoba-Pedregosa, 2003).

Пероксид водню є первинним індуктором стрес-реакції рослинної клітини та посередником у функціонуванні сигнальних трансдукційних систем (Wojtaszek, 2011; Кордюм и др., 2003). H_2O_2 бере участь не лише в передачі зовнішнього сигналу до ядра та модифікації транскрипційних процесів, але, передусім, координує дію клітинних компартментів, як пероксисом, хлоропластів, для цілісної відповіді рослини на стрес (Corpas et al., 2001).

Аналіз пероксидази клітинних стінок протонемі антарктичного та львівського зразків моху *Ptychostomum imbricatum* свідчить про активну реакцію ферменту на зміну гравітаційної сили. Пероксидазна активність підвищувалася під час кліноостатування (в 1,5–1,7 разів), ще більше під час гравістимуляції (в 1,8–1,9 разів), порівняно з рослинами контролю (табл. 37).

Таблиця 37

Активність пероксидази, вміст пероксиду водню і лігніноподібних сполук у пагонах моху *Ptychostomum imbricatum* з Антарктики та Львівської області залежно від гравітації

Варіанти дослідів	Активність пероксидази, відн. од. / г сухої маси /хв	Вміст H ₂ O ₂ , мкмоль / г сухої маси	Вміст лігніноподібних сполук, мг/г сухої маси
Рослини з Львівської області			
Контроль (світло)	70,94±8,12	7,63±0,81	11,2±0,9
Гравістимуляція	133,11±11,54*	10,48±0,95*	20,3±1,3*
Кліноостатування	111,41±10,24*	8,95±0,93	8,6±0,7*
Рослини з Антарктики			
Контроль (світло)	81,46±9,16	10,81±1,36	12,3±1,1
Гравістимуляція	151,83±17,25*	13,21±1,63	22,6±1,8*
Кліноостатування	138,13±12,82*	12,32±1,42	10,1±0,9

Примітка: * – результати достовірні порівняно з контролем за $P \leq 0,05$.

Підвищення активності пероксидази в умовах кліноостатування зумовлене наростанням процесів вільнорадикального окиснення, що підтверджено у численних дослідях з моделювання ефектів мікрогравітації (Бараненко, 2003; Martzivanou, Hampp, 2003), і свідчить про участь ферменту у пристосуванні рослин до зміненої гравітації. Модуляція пероксидазної активності пов'язана з підвищенням вмісту пероксиду водню у клітинах *P. imbricatum*, хоча після 7-добового кліноостатування збільшення було незначне. Відомо, що вміст пероксиду водню як індуктора активації антиоксидантної системи істотно збільшувався на початкових стадіях, через 2 год після кліноостатування, а надалі його концентрація у клітинах поступово знижувалася (Кияк, Хоркавців, 2016, а, б). Напруженість окиснювальних процесів після гравітаційного стресу зменшувалася і стабілізувалася унаслідок захисної ферментної активності пероксидаз.

Під час гравістимуляції та гіпергравітації у клітинах судинних рослин посилювалися процеси лігніфікації клітинних стінок за участю пероксидази, яка бере участь в біосинтезі лігніну (Wakabayashi et al., 2015). У бріофітів такі процеси не досліджені. У клітинних стінках мохів замість лігніну присутні лігніноподібні сполуки, що є поліфенолами, очевидно, похідні тригідроксибензолу (Karahara et al., 2009), а лігнін судинних рослин – це полімер фенілпропаноїдів (монолігнінів), синтез яких починається з окиснення амінокислоти фенілаланіну (Libbert, 1974; Недуха, 2015; Kukkola et al., 2003).

Встановлено, що вміст лігніноподібних сполук у протонемі *P. imbricatum* після гравістимуляції та кліностакування істотно відрізнявся. У гравістимульованій протонемі зразків моху з Антарктики і Львівської області вміст лігніноподібних сполук був майже удвічі більший, ніж у зразках контролю та становив 2,0–2,2 % від маси сухої речовини (табл. 37). Після кліностакування їх кількість зменшувалася, порівняно з контролем, до 0,8–1,0 % від маси сухої речовини. Зменшення вмісту лігніну клітинних стінок відбувається, зокрема, у проростків *Pisum sativum*, вирощених на 3-D кліностаці (Shimazu et al., 2001), *Pinus sylvestris*, *Vigna radiata*, *Avena sativa* (Hoson, Soga, 2003; Hoson et al., 2003) та *Oryza sativa* (Shimazu et al., 2001) в умовах мікрогравітації. Є чимало досліджень лігніну та активності ферментів (фенілаланінліази та пероксидази), що беруть участь у полімеризації монолігнінів, у проростках сосни, квасолі та вівса після 194 годин реального космічного польоту. На 1–4 % зменшився вміст лігніну у проростках сосни і на 15–24 % в клітинах, порівняно з наземним контролем (Chebli, Geitmann, 2011).

Визначили вміст лігніноподібних речовин у *Ceratodon purpureus* і *Ptychostomum imbricatum* із місцевиростань Львова і Антарктики, які відрізнялися чутливістю до гравітації. На рис. 69 представлено *C. purpureus*, гравічутливий мох з кутом гравітропного згину 80,0 – 85,3° і протонему обидвох зразків *P. imbricatum*, малочутливу з невеликим згином 22,5° у львівського зразка і 26,0° у зразка з Антарктики після 8 год гравістимуляції (рис. 69).

Як можна бачити із результатів, наведених на рис. 70, вміст лігніноподібних сполук у клітинній стінці протонемі мохів корелює із гравічутливістю виду і знижується після кліностакування. У зразках *P. imbricatum* з різних локалітетів кількість лігніноподібних сполук істотно не відрізнялася, тобто основна їх функція стосується структури клітинної стінки, її лабільності під час гравітропізму, незалежно від умов середовища, Львівської обл., чи Антарктики. Проте швидкий розвиток гравітропізму у *C. purpureus* завдяки високій гравічутливості протонемі вимагає механічної стійкості клітинних стінок. Гравітаційний сигнал підвищує жорсткість клітинної стінки, впливаючи на біосинтез біополімерів і лігніну, полімеризацію полісахаридів, різні інші процеси і модифікацію стінки в широкому діапазоні

умов, починаючи від мікрогравітації в космосі до гіпергравітації на Землі. Розвиток механізмів опору гравітації, насамперед міцності клітинної стінки, що регулюються дією гравітаційних сил, набуло особливого значення для функціональних реакцій-відповідей на механічні навантаження впродовж еволюції наземних рослин (Wakabayashi et al., 2009; Chebli, Geitmann, 2011; Toyota, Gilroy, 2013; Soga, 2013; Mohanasundaram, Pandey, 2022).

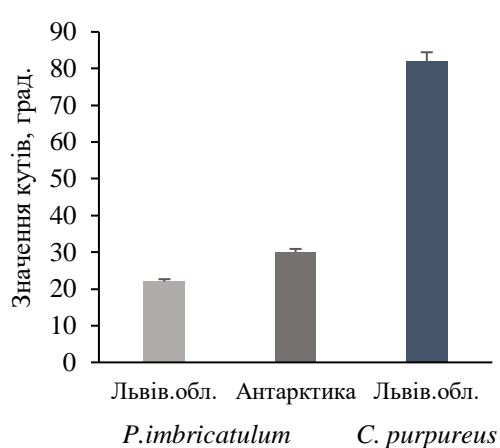


Рис. 69. Кути гравітропного згину протонеми *Ptychostomum imbricatum* і *Ceratodon purpureus* через 8 год після гравістимуляції.

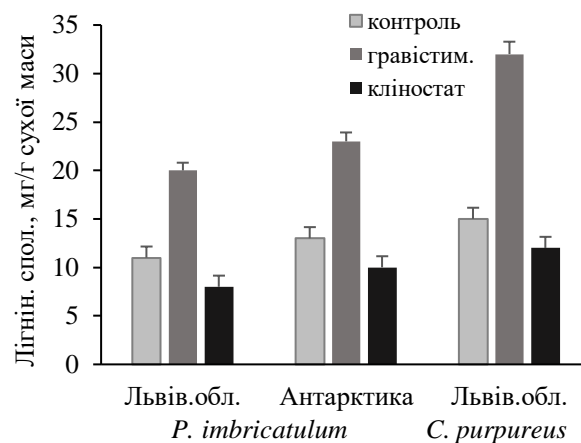


Рис. 70. Вміст лігніноподібних сполук у клітинних стінках протонеми *Ptychostomum imbricatum* і *Ceratodon purpureus*.

Важливу роль у процесах синтезу лігніну відіграють високопластичні пероксидази, зокрема, за їх участю відбувається окиснення монолігнінів і регуляція біосинтезу клітинної оболонки. Не можна не враховувати, що підвищення ферментативної активності пероксидаз під час гравістимуляції діє як активатор регуляції біосинтезу лігніну, але може бути репресором процесу і впливати на хімічні перетворення лігніну та модифікацію структури клітинних стінок у різних гравітаційних умовах на Землі і у Космосі (Kwon et al., 2015; Warinowski et al., 2016). Встановлено, що біосинтез лігніну залежить від 1 g земного тяжіння і, відповідно, його вміст змінюється залежно від векторної направленості гравітаційної сили (Hoson, Wakabayashi, 2015; Wakabayashi et al., 2015).

10. МІНЛИВІСТЬ ГРАВІРЕАКЦІЙ МОХІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ВМІСТУ ОРТОФОСФАТІВ

Дослідження гравітропного росту впродовж онтогенезу мохів свідчить, що кут гравітропізму може змінюватися від 0° до 180° залежно від стадій розвитку та умов природного середовища. Важливо, що кут більшості латеральних гілок встановлюється відносно сили земного тяжіння, а не генеральної осі, і від гравітропного згину залежить стабільне положення (орієнтація) гілок на стеблі. Гравітація контролює загальну структуру галуження і напрям росту латеральних органів, тобто кореляції між морфологічними частинами і цілим організмом. Проаналізовано зміни величин гравітропного кута латеральних галужень і переорієнтації росту стolonів протонеми і гаметофорів щодо вектора сили тяжіння, які видозмінюють морфологію гаметофіту і впливають на гравіморфогенез мохів (Хоркавців та ін., 2015; Лобачевська та ін., 2019).

У поверхневому шарі ґрунту, де часто розростається протонемна дернина мохів, нестача фосфору спричинює зміни у структурі галуження стolonів та формуванні підземних вегетативних органів (Turner et al., 2001; Bay et al., 2013; Rico-Reséndiz et al., 2020, Yang, et al., 2024). У сполуках ортофосфатів $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ фосфор (Pі) є одним з елементів фотосинтезу, структури мембран, біоенергетичних процесів і його вміст становить 0,2% від сухої маси рослин. Висока толерантність до низьких концентрацій фосфору, пришвидшення росту в таких умовах і зміна гравізалезного кута галуження клітин протонеми є перевагою для поширення мохів в екстремальних природних умовах.

З метою визначити чи змінюється ефективність гравітаційного стимулу для росту і галуження протонеми залежно від концентрації фосфору, проаналізувано гравічутливість протонеми *Ceratodon purpureus*, *Physcomitrium patens* з Природного заповідника “Розточчя” і *Ptychostomum imbricatum* з прибережної Антарктики.

10.1. РОЗВИТОК ПРОТОНЕМИ МОХІВ *CERATODON PURPUREUS* І *PHYSCOMITRIUM PATENS* ЗАЛЕЖНО ВІД ВМІСТУ ФОСФОРУ. ЛОКАЛІЗАЦІЯ ФОСФОРУ В КЛІТИНАХ ПРОТОНЕМИ

Латеральні примордії і галуження клітин головних стolonів протонеми є одним із способів розростання мохової дернини. Енергетичним джерелом для ініціації галуження протонеми є світло, а напрям росту бокових галузок контролює гравітаційна сила. Кут нахилу бокових відгалужень є стабільний або змінюється незначно, проте відрізняється між видами. У поверхневому шарі ґрунту, де часто розростається потужна протонемна дернина, ріст і галуження протонеми залежить від поживних речовин, нестача котрих впливає на ініціацію кута латеральних гілок та їх кількість. На зміну вмісту фосфору в природному середовищі рослини

реагують морфологічною модифікацією. Міняється довжина первинних коренів, кількість і довжина латеральних коренів, формуються симбіотичні асоціації, наприклад мікориза з грибами, що має екологічне значення і підвищує ефективність поглинання фосфору (Chopra, Bhatla, 1983; Franco-Zorrilla et al., 2004; Bustos et al., 2010; Péret et al., 2013; Puga et al., 2017; Rico-Resendiz et al., 2020; Liu, Wirén, 2022). Як модельний об'єкт для досліджень реакцій рослин на низький вміст фосфору використовують переважно кореневу систему *Arabidopsis thaliana* і мало відомо про залежну фенотипну пластичність рослин без коренів – мохів, які у природному середовищі нагромаджують фосфор у великих кількостях (Bai et al, 2013; Glime, 2017).

Щоби з'ясувати морфофізіологічні реакції мохів на вміст фосфору, проаналізували швидкість росту і гравітропний кут згину латеральних стolonів на різних концентраціях P_i у поживному середовищі Кнопа – 0, 50,0 і 500,0 мкМ. На підставі отриманих результатів надалі у дослідженнях використовували 50 мкМ ортофосфат. У контролі (середовище Кнопа), який постійно використовується для лабораторної культури мохів, вміст ортофосфату становив ~1мМ.

Результати досліджень вмісту загального фосфору у гравітропній протонемі *Ceratodon purpureus* і *Physcomitrium patens* наведені на рис. 71. Для обидвох видів визначено високий рівень фосфору в контролі, на середовищі з 50 мкМ P_i вміст фосфору в дернині знижувався, однак істотної різниці між *C. purpureus* і *P. patens* не виявлено. У природних локалітетах і лабораторній культурі, коли мохи ростуть на субстратах з різним вмістом ортофосфатів (Glime, 2017), збереглася аналогічна відмінність.

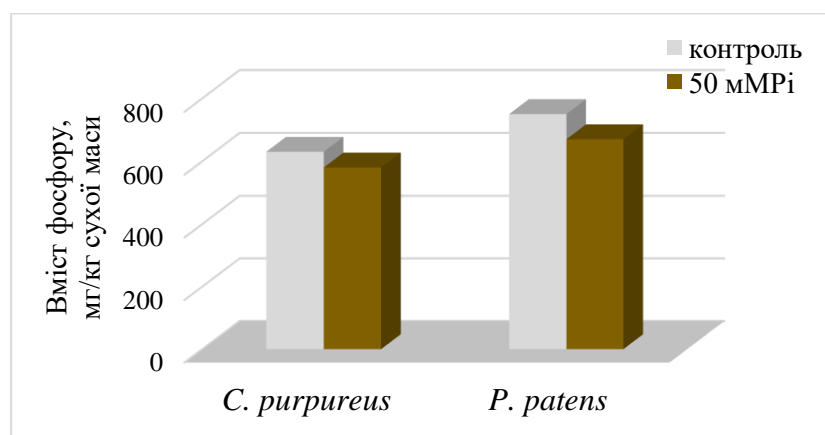


Рис. 71. Вміст загального фосфору у гравітропній протонемі *Ceratodon purpureus* і *Physcomitrium patens* залежно від кількості P_i у поживному середовищі. Різниця між контролем і дослідом для обидвох видів не істотна.

У лабораторній культурі протонемна дернина *C. purpureus* на середовищі з нижчим вмістом 50,0 мкМ ортофосфату розвивалася повільніше, ніж у контролі, стolonи були коротші, їх було менше, тому дернинка не достатньо густа (рис. 72, а, б). Для визначення локалізації

фосфатів у клітинах гравітропної протонеми *Ceratodon purpureus* використали кольорову реакцію з молібдатом амонію (рис. 72, в, г, д). Фосфати фарбувалися у темно-синій колір і чіткіша цитохімічна реакція була в ростучих апікальних клітинах, бокових примордіях ростків та пластидах.

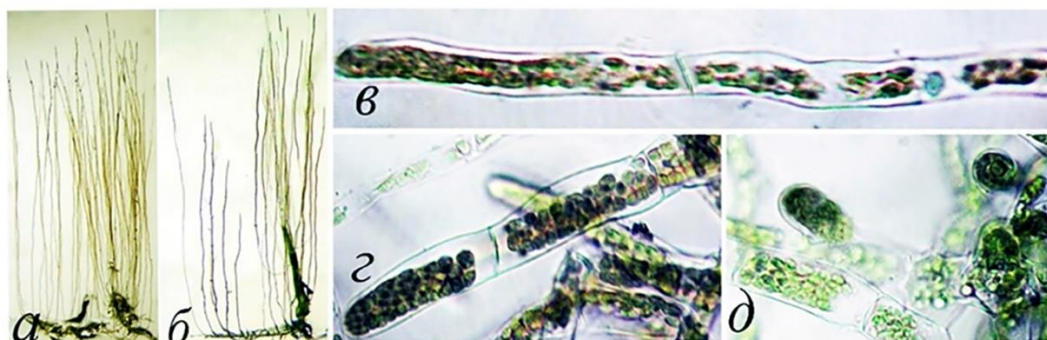


Рис. 72. Гравітропна протонема *Ceratodon purpureus*: (а) щільніша дернина утворилася на середовищі Кнопа з 50 мкМ Рі, ніж у контролі – 1 мМ Рі (б). Клітини протонеми *C. purpureus*, зафарбовані молібдатом амонію (в, г, д). Фосфати у вигляді крапель темносинього кольору локалізуються в апексі верхівкової клітини (в), у пластидах (г) і примордіях галузок (д). Зб.: а, б – 30^x; в, г, д – 170^x.

Встановлено, що швидкість росту стolonів протонеми *Ceratodon purpureus* більша на середовищі з нижчим вмістом Рі, а кут гравітропізму після 4–8 год гравістимуляції менший, проте через 16 год траєкторія і кут згину в контролі і у досліді вирівнювалися (табл. 38).

Таблиця 38

Швидкість росту і гравітропізм протонеми *Ceratodon purpureus* після гравістимуляції залежно від концентрації ортофосфату (Рі) у середовищі Кнопа (n = 50 стolonів)

Умови дослідю	Швидкість росту, мкм/год	Кут гравітропізму, град.		
		0 – 4 год	4 – 8 год	12 – 16 год
Середовище Кнопа з 1,0 мМ Рі (контроль)	43,6 ± 2,3	28,0 ± 1,4	60,2 ± 2,7	87,1 ± 2,9
Середовище Кнопа з 50 мкМ Рі	47,7 ± 2,1	20,8 ± 1,9	47,8 ± 2,6	83,9 ± 2,4

Потенційно довжина стolonів може бути адаптивною ознакою в умовах нестачі фосфатів. Відомо, що дефіцит фосфору збільшує активність фосфатаз, а обмін внутрішнього органічного фосфору сприяє покращенню умов росту рослин (Turner et al., 2001; Plaxton, Tran, 2011). Властива для мохів висока активність фосфатаз, що часто використовується для оцінки концентрації фосфору у середовищі, сприяла підвищенню вмісту Рі (Turner et al., 2001). Однак ініціація гравітропізму протягом 4–8 год в умовах низької концентрації Рі сповільнювалася, мабуть тому, що

чутливість до нестачі фосфору зумовлена переорієнтацією росту і утворенням згину, які метаболічно є більш затратними процесами, ніж звичайний прямолінійний ріст (Sinnott, 2015).

10.2. АНАЛІЗ ГАЛУЖЕННЯ ПРОТОНЕМНОЇ ДЕРНИНКИ; ВЕЛИЧИНА І МІНЛИВІСТЬ ГРАВІЗАЛЕЖНИХ КУТІВ ЛАТЕРАЛЬНИХ ГАЛУЗОК

Для визначення впливу фосфору на гравічутливість протонемі проаналізували кути латеральних галузок трьох видів *Ceratodon purpureus*, *Ptychostomum imbricatum* і *Physcomitrium patens* на 50 мкМ Рі у середовищі Кнопа. Для ініціації галуження чашки з гравітропною протонемою наświetлювали 4 год білим світлом інтенсивністю $15,0 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$, переносили у темряву і для гравістимуляції залишали у горизонтальному положенні, а через 6 год визначали кут бокових гілок відносно головного столону (рис. 73). Середні значення гравітропного кута бокових галузок *C. purpureus* і *P. imbricatum* були в межах 61–64° у контролі, але вертикальніше під кутом 52–54° галузки росли на середовищі з 50 мкМ Рі. Отже, зниження вмісту фосфору вплинуло на залежний від гравітації напрям росту і орієнтацію латеральних галузок. У *Physcomitrium patens* такої залежності не виявили. Необхідність в ортофосфатах для видів, очевидно, насамперед зумовлена їх приуроченістю до середовищ з різним вмістом ортофосфатів – високим чи низьким, або здатністю досягти джерел фосфору завдяки морфологічній будові.

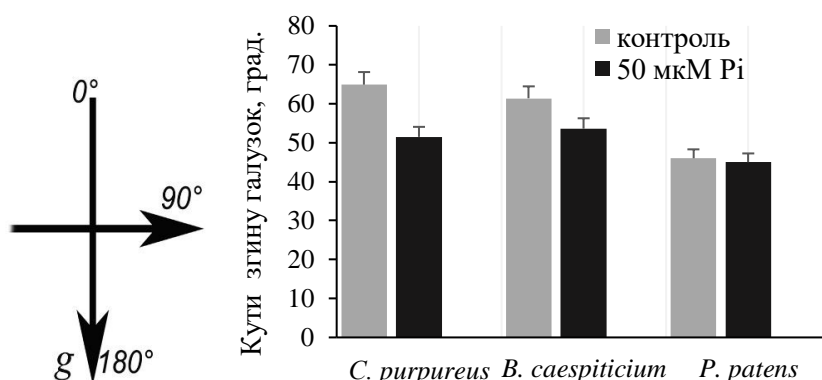


Рис. 73. Розподіл середніх значень кутів латеральних галузок 7–10-денної гравітропної протонемі *Ceratodon purpureus*, *Bryum caespiticium* і *Physcomitrium patens*. Різниця порівняно до контролю статистично достовірна для *C. purpureus* і *B. caespiticium*, $p \leq 0,05$.

Окрім того, визначили розподіл показників гравітропного згину в межах 10–90° і виділили домінуючу величину кутів, що під час обрахунку середнього значення залишалося поза увагою (рис. 74). Найбільша кількість кутів була в межах значень 42–57°, значно менше кутів були у діапазоні 26–41°, 58–73° і 74–89° (рис. 74).

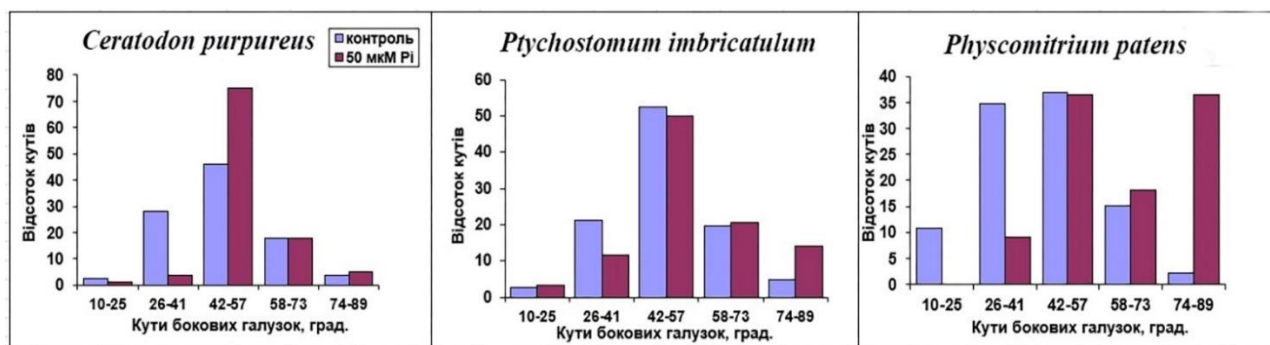


Рис. 74. Діапазон мінливості величини гравітропних кутів латеральних галузок протонеми мохів залежно від вмісту загального фосфору (Pi) у середовищі.

І хоча значення кутів окремих латеральних гілок часоно змінювалася, високий відсоток кутів величиною 42–57° у *C. purpureus* є підставою використати їх для порівняння контролю і досліду. Показником реакції *C. purpureus* на вплив гравітації є більша величина гравітропного кута, ніж в інших видів. Так, відсоток кутів в межах 42–57° у *C. purpureus* під впливом гравітації збільшився з 46 % до 75 %. (рис. 74). У *P. imbricatum* і *P. patens* кут гравітропної реакції майже не змінився, однак збільшилася кількість латеральних гілок, що росли горизонтальніше до площини субстрату у межах 58–73° і 74–89°. Тобто, гравічутливість знизилася і значна кількість столонів протонеми в умовах недостатньої кількості екзогенного фосфору росла майже плагіотропно по поверхні субстрату. Незважаючи, що для *P. patens* визначено високий вміст загального фосфору у протонемній дернині (див. рис. 71), мох чутливий до нестачі фосфатів і горизонтальний ріст столонів домінує над гравітропним вертикальним. Кількість таких бокових галузок у *P. patens* досягала 36 %, у *C. purpureus* і *P. imbricatum* ці показники були нижчі – 5 % і 14 % відповідно. Між видами *C. purpureus* і *P. imbricatum* з'явилася деяка подібність середніх значень гравізалежних кутів, хоча з часом величина кутів дещо змінювалася, насамперед у *P. patens* розмах показників істотно відрізнявся (рис. 74). Одним із пояснень чутливості гравітропного кута до вмісту фосфору і більшої швидкості росту є певні сталі умови місцевиростань різних видів мохів, зокрема вологість, чи органічні сполуки, до яких рослина може дістатися завдяки морфологічним властивостям, наприклад швидкості росту і орієнтації протонемних столонів (Glime, 2017). Можна також допустити, що серед проаналізованих видів, саме у *C. purpureus* завдяки його високій гравічутливості сформувалася певна стійкість до нестачі фосфору в середовищі, що запобігло дезорієнтації кутів росту латеральних гілок протонемної дернини. Натомість, *P. patens* – ефемерний вид, з багаторічною протонемою, яка унаслідок меншої гравічутливості в умовах низького Pi росла горизонтально, й тому могла нагромадити поживні речовини з інших субстратів.

Переважно реакцію рослин на зміни вмісту ортофосфору (Pi) у субстраті визначають для кореневої системи *Arabidopsis thaliana*, де зоною поглинання фосфору є кореневий чохлак і локалізовані на мембрані білки транспортери (Liu, Wiren, 2022). Обговорюють процеси розвитку і фосфатазну активність в умовах нестачі фосфору в печіночників, деяких видів мохів (Press, Lee, 1983; Turner et al., 2001; Rico-Reséndiz et al., 2020). Часто мохи використовують як індикатори забруднення наземних і водних середовищ і значно менше як маркери вмісту поживних речовин у природних місцевиростаннях. Для аналізу вмісту фосфору застосовують метод визначення швидкості поглинання Pi і активності фосфатаз з використанням мохів (Christmas, Whitton 1998; Turner et al., 2001). Показано, що фосфатази локалізуються в апексах верхівкових клітин протонеми, на клітинних стінках і ростучих частинах молодих листків і, каталізуючи гідроліз фосфатів, сприяють їх вивільненню із органічних сполук. Для проаналізованих нами видів мохів встановлена не лише висока толерантність до низьких концентрацій фосфору, а пришвидшення росту і зміна гравізаального кута галуження їх латеральних гілок, що в екстремальних умовах є перевагою рослин. Морфологічна форма галуження в умовах недостатньої кількості фосфору залежить й від гравітаційної сили, яка впливає на орієнтацію кута бічних галузок. Спільна дія гравітації і толерантність до дефіциту Pi дає змогу утворювати щільніші дернини і одночасно пластичніші до мінливого середовища. Загалом, форма галуження інтактної протонеми достатньо стабільна і генетично закріплена, але інтеграція екологічних факторів і програм онтогенезу розширює фізіологічні реакції і можливості для фенотипної модифікації. У *Ceratodon purpureus* це виявилось у значно вертикальнішій гравізаальній орієнтації бічних галузок, у *Physcomitrium patens* підвищилася швидкість росту протонеми і кількість плагіотропних стolonів унаслідок їх нижчої гравічутливості. Різні форми фенотипних реакцій мохів у подоланні стресової дії фосфатного голодування лише підтверджують значення морфологічної варіабельності як адаптивної ознаки.

10.3. АКТИВНІСТЬ ФОСФАТАЗИ МОХІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ВМІСТУ ОРТОФОСФАТІВ (Pi), ВПЛИВУ ФІТОГОРМОНІВ І ГРАВІТАЦІЇ

Висока фосфатазна активність властива для цитоплазматичних мембран вакуолей і пластид, активність ферменту також є показником нагромадження ортофосфатів, перенесення яких відбувається за участю білків-транспортерів (Turner et al. 2001; Stetter et al., 2015; Salazar-Nepao et al., 2016; Guo et al., 2021). Активність фосфатази залежить від вмісту ортофосфатів у середовищі. Існує негативна кереляція між активністю фосфатаз і вмістом фосфатів у рослинному організмі і в середовищі. Дефіцит фосфору збільшує активність фосфатаз та каталізує обмін внутрішнього органічного фосфору, що забезпечує необхідну для росту рослин кількість елемента (Turner et al., 2001; Plaxton, Tran 2011).

Проаналізовано активність кислої фосфатази протонемних дернин *Ceratodon purpureus* і *Physcomitrium patens*, які відрізняються гравічутливістю і стійкістю до нестачі ортофосфатів (Pi). Якщо *C. purpureus* – модельний об’єкт для аналізу гравічутливості, то *P. patens* використовують у дослідженнях гравізалежних процесів диференціації, розвитку, аналізу реакцій оксидативного стресу, у молекулярній біології (Cove et al., 2006; Takemura et al., 2017; Braun et al., 2018; Koochak, Müller, 2021).

Для обидвох видів мохів визначено високий рівень фосфору в контролі, більший у *P. patens*, ніж у *C. purpureus*, що знижувався на середовищі з 50 мкМ Pi (див. рис. 65). Середні значення концентрації фосфору у протонемній дернині були відносно постійними впродовж 4–5 місяців від початку проведення експериментів. У природних локалітетах *C. purpureus* і *P. patens* ростуть на субстратах з різним вмістом ортофосфатів (Glime, 2017), що, очевидно, є причиною відмінностей між мохами у лабораторній культурі.

У *P. patens* і *C. purpureus* активність фосфатази дещо підвищувалася на концентрації 25 мкМ Pi, але майже не змінювалася, порівняно з контролем, і на 50 мкМ Pi (рис. 75). Очевидно, 50 мкМ вміст ортофосфатів не є критичний для росту і галуження протонемі, однак нижча 25 мкМ концентрація фосфатів вже була загрозлива і ферментативна активність підвищувалася.

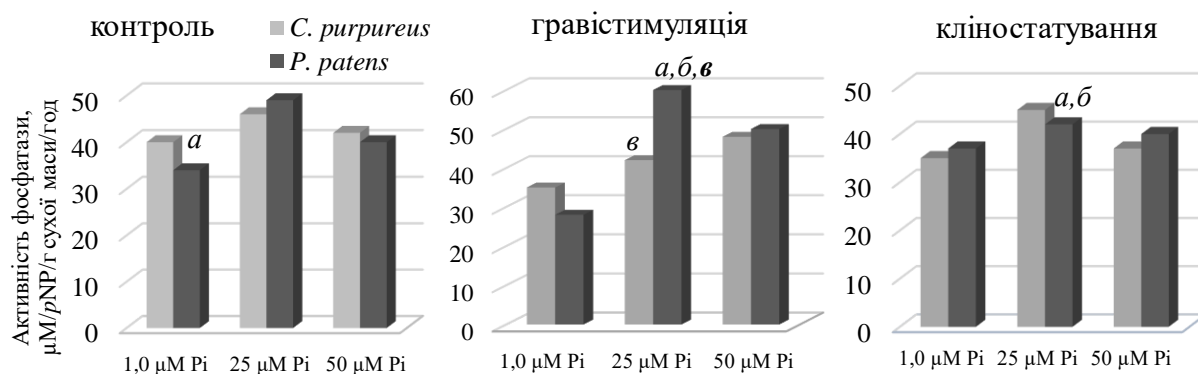


Рис. 75. Активність фосфатази протонемних дернин *Ceratodon purpureus* і *Physcomitrium patens* в умовах зміненої гравітації (8 год гравістимуляції; 8 год кліноостатування) і залежно від ортофосфатів: контроль – протонема росла у темряві.

Примітка: ^a – статистично достовірна різниця для *P. patens* на середовищі з 1,0 мМ і 25 мкМ Pi при $p \leq 0,05$; ^b – достовірність різниці істотна між зразками *P. patens* після гравістимуляції і кліноостатування при $p \leq 0,05$; ^c – статистично достовірна різниця між *C. purpureus* і *P. patens* після гравістимуляції при $p \leq 0,05$.

Проаналізували активність ферменту в гравістимульованій протонемі, що росла на середовищі з 25 мкМ і 50 мкМ фосфором (рис., 75). Якщо на 50 мкМ Pi різниця активності фосфатази після гравістимуляції протонемі і у контролі була незначна, то на 25 мкМ концентрації активність

ферменту підвищувалася і різниця збільшувалася. Це означає, що 50 мкМ вміст P_i у середовищі достатньо високий, відповідно, ферментативна активність низька. За таких умов впливу гравітації не виявили. На концентрації 25 мкМ P_i реактивність фосфатази підвищилася, очевидно, це був пороговий вміст фосфату, що призвело до виснаження субстрату і активації ферменту. Завдяки застосуванню у досліді низьких концентрацій фосфату було визначено значення гравітаційного фактора в умовах фосфатного дефіциту. Підставою для висновку про участь гравітації у регуляції біосинтезу фосфатів було підвищення ферментативної активності після гравістимуляції протонемі. Важливо, що взаємодію світла і гравітації та вплив на фото- / граві- / спіральний ріст протонемної дернини мохів теж було встановлено на дуже низькій ($70 \text{ нмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$) інтенсивності освітлення або в умовах мікрогравітації (Kern, Sack, 1999; Демків та ін., 2006). Безперечно, гравітація не першопричина для зміни активності фосфатаз, але це дієвий фактор, що регулює загальну сигнальну систему фізіолого-біохімічних процесів.

Відомо, що фітогормони стимулюють ріст в умовах фосфорного голодування, що підвищує толерантність культур до токсичної дії P_i (Jain et al., 2007; Lin et al., 2014; Rico-Reséndiz et al., 2020). Мохи синтезують ауксин (ІОК) на протонемній стадії, який контролює ріст, видовження і галуження клітин; цитокініни ініціюють диференціацію бруньок гаметофорів.

Реакція *Ceratodon purpureus* і *Physcomitrium patens* на нестачу фосфатів за умови комплексної дії фітогормонів і гравітації відрізнялася. На середовищі з 50 мкМ P_i гравітропна протонема обидвох видів швидше росла і краще галузилася, ніж у контролі з 1 мМ P_i , а показники активності ферменту на 11% були вищі у чутливішої до фосфору *P. patens*, ніж *C. purpureus* (рис. 76).

Морфологічні показники росту протонемі *C. purpureus* і *P. patens* на середовищі з ауксином і зеатином були різні (Демків та ін., 2006; Хоркавців та ін., 2015). Ауксин стимулював галуження *C. purpureus*, а зеатин посилював закладання бруньок на головних столонах *P. patens*. Активність фосфатази під впливом ауксину підвищувалася в обидвох видів, більше у *C. purpureus*, аніж у *P. patens*, зате в останнього істотно збільшувалася після дії зеатину (рис. 76).

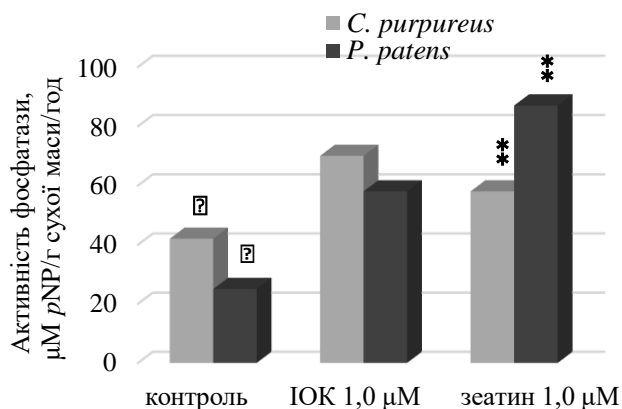


Рис. 76. Активність фосфатази гравістимульованої протонеми *Ceratodon purpureus* і *Physcomitrium patens* залежно від фітогормонів.

Примітка: * – статистично достовірна різниця між *C. purpureus* і *P. patens* у контролі при $p \leq 0,05$; ** – різниця статистично достовірна між зразками обидвох видів під дією 1,0 µM зеатину при $p \leq 0,05$.

Опосередкований вплив гравітації на стимуляцію активності ферменту відрізнявся між видами *C. purpureus* і *P. patens*, найбільш ймовірно, унаслідок кореляції з ростовими процесами обидвох культур. Інтенсивний морфогенез бруньок гаметофорів на протонемі *P. patens* під впливом специфічної дії зеатину вимагає більшої біохімічної активності, ніж стимуляція ауксином росту і галуження протонеми *C. purpureus*. Відповідно нестача фосфатів стимулювала їх ремобілізацію і експресію кислої фосфатази, що підвищило активність ферменту та ендогенний вміст Рі у *P. patens*. Сила тяжіння як критичний фактор природного середовища контролює орієнтацію росту і морфогенез рослин, а за певних умов впливає на регуляцію активності фосфатази, що визначено експериментально. Різна активність фосфатази свідчить про залежність від умов середовища, де поширені види мохів, зокрема, субстратів з широким діапазоном поживних речовин. В експериментальних дослідженнях стандартизація умов вирощування культур і концентрації фосфатів є важливим параметром для оцінки екологічної ролі фосфатази як чутливого індикатора метаболічного стресу наземних мохів.

Дослідження на клітинному рівні можливостей подолати негативний вплив нестачі фосфатів за участю фітогормонів і гравітаційної сили – доступний і перспективний метод для порівняльних аналізів складніших стадій розвитку в онтогенезі рослин. Найперше, він доповнить список рослин-індикаторів, які можна використовувати для визначення вмісту біофосфатів у природних ґрунтах.

11. ВПЛИВ МЕТИЛЮВАННЯ ДНК НА ГРАВІЧУТЛИВІСТЬ МОХІВ

Вивчаючи природу адаптацій рослин до мікрогравітації як прояву фенотипної пластичності, важливо було привернути увагу до епігенетичних систем регуляції генної експресії в індукції стійкості до несприятливих екологічних факторів. Як вдалося з'ясувати, у стресових умовах середовища вплив гравітації на розвиток бріофітів виявляється у фенотипних змінах і гравіморфозах, що сформувалися завдяки епігенетичній регуляції гормональної активності (Lobachevska et al., 2021, a, b; Хоркавців та ін., 2021). Чимало досліджень підтверджують зміни рівня та структури метилювання ДНК залежно від біотичного та різних форм абіотичного стресу – посушливості, засолення, радіаційного опромінення різної потужності і тривалості (Kovalchuk et al., 2004; Kravets et al., 2010; Hauser et al., 2011). Молекулярні компоненти, що контролюють посттранскрипційні зміни регуляції геному, визначені для різних груп організмів, менше для рослин, і переважно на прикладі *Arabidopsis thaliana* (Кордюм, Дубина, 2021), а даних про участь гравітації як поляризуючого екологічного фактора в епігенетичних реакціях немає взагалі.

На основі аналізу гравітропізму протонеми залежно від метилювання ДНК 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 прикріплений спосіб життя (Ріпецький, Хоркавців, 2012; Тищенко та ін., 2016; Lebedeva et al., 2017; Кордюм, Дубина, 2021; Song et al., 2024).

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 змін гравітаційної сили і успішно завершують повний життєвий цикл на космічних орбітальних станціях (Medina et al., 2021, b; Micco et al., 2014; Karahara et al., 2020; Khodadad et al., 2020).

11.1. РОСТОВА РЕАКЦІЯ *PHYSCOMITRIUM PATENS* ЗАЛЕЖНО ВІД ВПЛИВУ 5-АЗАЦИТИДИНУ НА СТАДІЇ ГРАВІПЕРЦЕПЦІЇ

Гравітропну відповідь розділяють на три етапи: сприйняття сигналу, трансдукція і ростова реакція, хоча деякі автори виділяють ще інші етапи у перцепції гравісигналу (Kordyum et al., 2014; Sato et al., 2015; Swarup, Bennett, 2018; Villacampa et al., 2021). Проаналізовано утворення гравітропного згину протонеми *Physcomitrium patens* залежно від впливу інгібітора метилювання 5-азацитидину на стадію сприйняття або трансдукцію гравістимулу.

Протонему в горизонтально розміщених чашках на холоді обробляли 5-азацитидином перед гравістимуляцією (на стадії сприйняття сигналу) і після гравістимуляції (на стадії трансдукції гравісигналу). Після того переносили чашки з протонемою в умови 20–22°C і змінювали положення чашок на вертикальне (для гравістимуляції), або використовували кліноостатування. Встановлено, що унаслідок перцепції гравісигналу на холоді деякий час частина стolonів росла завдяки збереженню пам'яті про вектор стимулу (рис. 77, а, б, в). В умовах 20°C утворився новий згин і гравітропізм ростків відновився (рис. 77 б, 1,2), або напрям росту не змінився (рис. 77, в). Відмінності в рості були показником реакції протонемі на гравістимуляцію на холоді і при кімнатній температурі.



Рис. 77. Фрагмент протонемної дернини *Physcomitrium patens*: а – стolonи у дернині по-різному реагують на гравістимуляцію: відновили першопочатковий напрям гравітропізму, не відновили, не прореагували на стимуляцію; б – зразки стolonів, що відновили гравітропізм, стрілка 1 на вставці – росток після гравістимуляції при температурі +2 °С (клітини пам'ятали про гравісигнал, і протонема росла відповідно до вектора гравітації); 2 – росток в умовах культивування +20 °С (стolonи відновили початковий напрям гравітропізму). Довжина ростка 1 є одним з параметрів визначення тривалості збереження клітинної пам'яті про векторну дію гравітації. Фрагмент в – зразки стolonів, що не відновили гравітропізм; довжина штриха 50 мкм (а, б, в); довжина штриха на вставці – 30 мкм.

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. 78). Якщо звернути увагу на стolonи, що відновили гравітропізм (рис. 78, а), їхня довжина згину була більшою (рис. 78, а''), ніж у контролі, тобто клітини довше пам'ятали про векторну дію гравістимулу. На стадії перцепції таких стolonів була третина – 31,3 %.

Якщо інгібітором метилювання обробили протонему після гравістимуляції на стадії індукції ростової реакції, кількість стolonів, що відновили гравітропізм, також істотно

зменшилася (рис. 78, а) до 22 %, їх було менше, ніж на стадії перцепції. Але збільшився відсоток апікальних клітин, що не відновили гравітропний згин. Таких стolonів було 51,1 %, порівняно з 39,4 % – на стадії перцепції і 45,9 % – у контролі (рис. 78, б), тобто їхня клітинна пам'ять про дію гравітації на холоді також була тривалішою. Отже, незалежно від стадії гравііндукції ростова реакція–відповідь клітин протонемі на деметилування подібна, проте відновлення гравітропізму сповільнене (рис. 78, а).

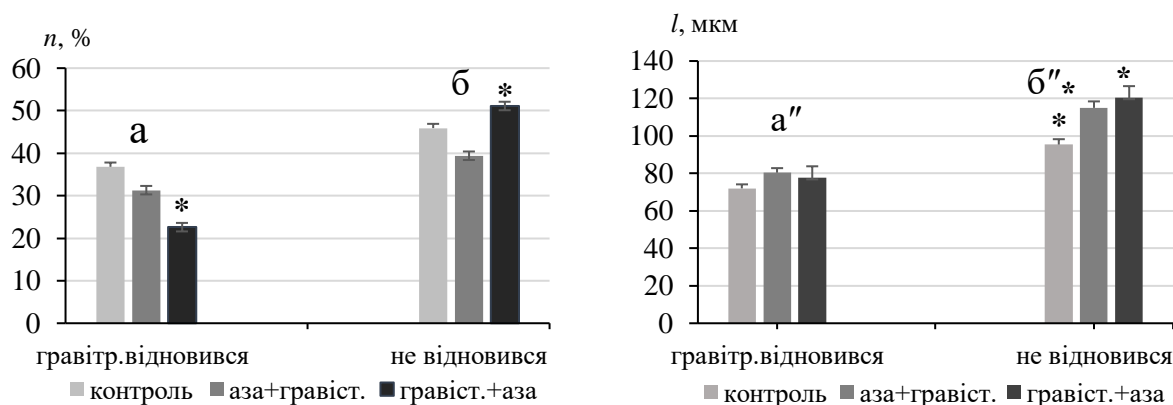


Рис. 78. Гравітропна реакція і довжина згину стolonів протонемі *Physcomitrium patens* залежно від впливу 5-азацитидину на метилування основ ДНК на стадії перцепції і трансдукції гравісигналу; гравістимуляцію проводили на холоді, $t = 2^{\circ}\text{C}$; а – гравітропізм протонемі після деметилування відновився; б – не відновився. Проаналізовано по 200 стolonів у кожному варіанті. Зірочкою позначено статистично достовірну різницю між експериментальними зразками (а, б) та порівняно до контролю (а'', б'') при $p \leq 0,05$.

Відповідно до показників довжини гравітропного згину (рис. 77, б, l ;) і швидкості росту протонемі (3.6 мкм/год), розраховано час збереження пам'яті клітин про гравістимул (рис. 79). Після зміни стану метилування 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 деметилуванням 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. Стадії гравіреакцій виявилися під епігенетичним контролем, що сприяло фенотипній пластичності гравітропізму. Цілком можливо, що такі реакції–відповіді на дію метилування у природному середовищі у різний час і у різних місцях можуть виявитися найбільш пристосованими до специфічних умов.

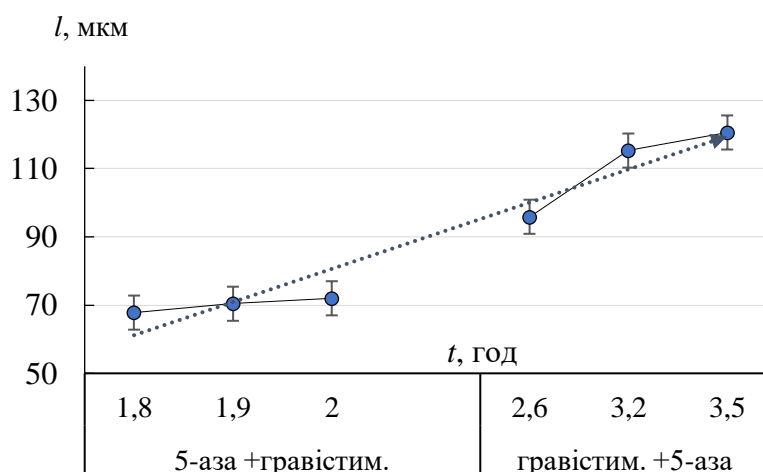


Рис. 79. Тривалість збереження клітинної пам'яті про дію гравістимулу під впливом 5-азацитидину, як похідна довжини гравітропних ростків *Physcomitrium patens* та швидкості їхнього росту; швидкість росту 3,6 мкм/год, $n = 200$.

Після кліностакування гравітропний згин апікальних клітин виражений слабо, ріст столонів переважно спрямований відповідно до напрямку відцентрової сили. Таким чином, втрата поляризуючої дії гравітації під час кліностакування, що безпосередньо пов'язано з полярним транспортом фігормонів, йонів Ca^{2+} (Herranz, Medina, 2014), істотно вплинула на епігенетично обумовлену тривалість пам'яті про орієнтацію росту протонеми і є підтвердженням значимості гравітації у гетерогенному природному середовищі. Якщо ж онтогенетичні ефекти зберігаються нащадками, то в умовах стресу епігенетичне успадкування особливо важливе, оскільки підсилює цей ефект.

Отже, 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. Загалом, метилювання сприяло збереженню пам'яті про гравістимул, що підсилює властиву для мохів природну мінливість гравічутливості. Зміни метилювання ДНК вплинули на тривалість гравітропізму і 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 після дії абіотичних чинників (Hangarter 1997; Roychoudhry et al., 2013; Vandenbrink et al., 2014). Стадії гравіреакцій у певних екологічних ситуаціях можуть контролюватися епігенетично, що сприятиме фенотипній пластичності гравітропізму. Зважаючи, що загальне метилювання ДНК є потенційним біомаркером розвитку (Kordyum, 2014; Sato et al., 2015; Ashapkin et al., 2020), епігенетичні системи контролюють варіабельність

морфогенезу в мінливих природних умовах, зокрема в екстремальних – це важливий елемент 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 (Kim, Costello, 2017; Хоркавців та ін., 2021). За даними досліджень активності ядерної ДНК, не виявлено різниці між контролем і деметильованими зразками. Так, для ртуть–резистентних клонів моху *Tortula caucasica* визначення вмісту ДНК з поєднанням ДНКаз 1 свідчить про незначне збільшення некодуєчої ДНК (Хоркавців та ін., 2009). Отже, якщо зміну положення рослини відносно вектора гравітації розглядати як абіотичний стрес, пам'ять про його дію реалізується епігенетично. Однак, незважаючи на виняткову роль метилювання ДНК хроматину для розвитку рослин, клітина сама може ефективно контролювати епігенетичний сигнал (Holliday, 2005).

11.2. АКТИВНІСТЬ ПЕРОКСИДАЗИ КЛІТИННОЇ СТІНКИ ЗА УМОВИ ДЕМЕТИЛЮВАННЯ ДНК 5-АЗАЦИТИДИНОМ

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 важливу роль в еволюції наземних рослин, сприяло формуванню адаптивних реакцій на механічні навантаження, зокрема різних форм росту, насамперед – вертикального (Gechev, Hille, 2015, 2005; Francoz et al., 2014; Hoson, Wakabayashi, 2015).

Експерименти в Космосі стали засобом для вивчення впливу гравітації на модифікацію клітинної стінки рослин як органу протидії гравітаційній силі на Землі (Correl et al., 2013; Cannon et al., 2015; Jin et al., 2015, 2018). Реакцією, що віддзеркалює біогенез клітинної стінки, є активність ферментів пероксидаз, котрі модифікують метаболізм компонентів стінки, впливають на їх механічну стійкість і апікальний ріст (Passardi et al., 2004; Passardi, Cosio, 2005; Hoson et al., 2014; Johnson et al., 2015; Kwon et al., 2015; Jin et al., 2018). 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* (Cowles et al., 1994; Hoson et al., 2002; Soga et al., 2015; Недуха, 2015). Підвищення загальної пероксидазної активності сприяє розм'якшенню клітинної стінки і зменшує її жорсткість в ділянці гравітропного згину, де стінка повинна бути гнучкою (Gechev, Hille, 2005; Francoz et al., 2014; Hoson, 2014). Зміну механічної пружності та розм'якшення клітинної стінки рослин

під час орбітального польоту розглядають як адаптивну ознаку, оскільки у мікрогравітації стінка не виконує тих структурних механічних функцій, що у природньому середовищі (Hoson et al., 2014; Kwon et al., 2015; Jin et al., 2018).

Модифікація метаболізму компонентів клітинної стінки залежить від активності синтезу пероксидази, що впливає на фенотип верхівкових клітин з апікальним ростом. Визначено селективну експресію генів пероксидази проростків *Arabidopsis thaliana* і утворення коротших кореневих волосків в умовах мікрогравітації, які ефективніше поглинали поживні речовини (Valério et al., 2004; Guyomarc'h, 2012; Jin et al., 2018). Така морфологічна особливість може мати важливе адаптивного значення для життєдіяльності рослин в умовах мікрогравітації.

У зв'язку з участю метилювання в диференціації і розвитку рослин без зміни у послідовності ДНК, було проаналізовано гравічутливість гаметофіту мохів та активність пероксидази залежно від дії 5-азацитидину – ДНК-деметелюючого чинника.

Активність пероксидази у гравістимульованій протонемі *Physcomitrium patens* після дії 5-азацитидину, порівняно з контролем і кліноостатуванням, відбулася унаслідок зміни рівня метилювання ДНК. Наведені у табл. 39 результати свідчать, що активність пероксидази після дії 5-азацитидину збільшувалася, а після 5 год гравістимуляції протонемі була більшою, ніж після кліноостатування.

Таблиця 39

Активність пероксидази у протонемі *Physcomitrium patens* після впливу 50 мкМ 5-азацитидину

Варіанти дослідів	Активність пероксидази, відн.од./1г сухої маси/хв
Гравістимульована протонема, необроблена 5-азацитидином; тривалість гравістимуляції 5 год	1,21 ± 1,1
Гравістимульована протонема після 5 год впливу 5-азацитидину	2,50 ± 2,2*
Кліноостатування +5-азацитидин; тривалість кліноостатування 24 год	2,17 ± 1,9*

Примітка: * – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками при $p \leq 0,05$.

Можемо допустити, що вплив інгібітора на метильовані сайти ДНК, призвів до активації генів пероксидази і синтезу ферменту. 5-азацитидин подіяв як захисний чинник у звичайній стресовій ситуації та індуктор пероксидази, сигнальні властивості якої впливають на структурну перебудову клітинних стінок під час гравістимуляції і гравітропізму. Короткочасне кліноостатування не призвело до підвищення активності ферменту, навпаки,

зменшився вплив 5-азацитидину на експресію пероксидази. Можливо це відбулося унаслідок того, що прямолінійний напрям росту і метаболізм компонентів клітинної стінки за цей час не змінилися. Окрім того, між різними функціями пероксидази та факторами, що можуть на них впливати або обмежити її дію, існує баланс і притому чимало з них є невизначеними або й антагоністичними (Hoson et al., 2002, 2004; Passardi et al, 2004; Kwon et al., 2015). Так, активність аскорбатпероксидази істотно підвищувалася у *Pohlia nutans* після кліностагування протонеми, як резистентна реакція на стрес, на відміну від інших пероксидаз, активність яких змінювалася незначно (Кияк, Хоркавців, 2016).

Для порівняння активності пероксидази проаналізували електрофоретичний спектр зразків *P. patens* у різних умовах впливу 5-азацитидину (рис. 80). Електрофореграми відрізнялися активністю ізоформ після гравістимуляції і кліностагування протонеми (рис. 80, 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. 80). Відмінності між спектрами ізоформ чітко виражені після дії 5-азацитидину: кількісно і якісно змінилася зона активності пероксидази з ММ у межах 45...66 кД, де спостерігали підвищення активності ферменту і зміну кількості ізоформ (рис. 80, б).

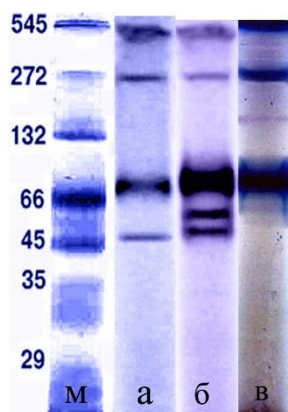


Рис. 80. Електрофореграма активності пероксидази гравітропної протонеми *Physcomitrium patens*: м – маркер; а – контроль; б – після впливу 50 мкМ 5-азацитидину; в – через 24 год після кліноротації.

Після кліностагування (рис. 80, в) активність ізоформ 272 і 66 кД була вищою, ніж у контролі (рис. 80, а), і появилася одна вузька смуга дифузної катіонної фракції з ММ у межах 132 кД. Спільною для кліностагування і 5-азацитидину була інтенсифікація ізоформи пероксидази з 66 ММ кД (рис. 80, б, в). Епігенетичний орегуляція активності пероксидази і перебудова ізоферментних спектрів, сприяє модифікації компонентів клітинної стінки

протонеми *Physcomitrium patens*, від чого залежить міцність стінки в умовах зміненої гравітації.

Можливо, що рівень метилювання ДНК може бути регуляторним чинником впливу на активність ізоформ та мінливість спектру під час порушення статичної векторної направленості гравітації. Доречно буде допустити, що модифікація ізоформ й підвищена активність ензиму унаслідок зміни метилювання ДНК, найперше має відношення до розм'якшення стінки клітин протонеми, що проявилось у тропізмі і утворенні згину – типової ростової відповіді на дію гравітаційної сили.

11.3. ВПЛИВ 5-АЗАЦИТИДИНУ НА ІНІЦІАЦІЮ ГАЛУЖЕННЯ І ВЕЛИЧИНУ ГРАВИТРОПНОГО КУТА ГАЛУЗОК

Протонема мохів реагує на силу тяжіння у темряві і росте пучком оорієнтованих вгору проти вектора гравітації столонів, що є показником їхньої гравічутливості та негативного гравітропного росту. Клітини протонеми галузяться і латеральні гілки ростуть залежно від гравітації під певним кутом до головного столону, який визначено як гравізалежний кут нахилу (GSP, gravitropic set point angle) (Mullen, Hangarter, 2003; Roychoudhry et al., 2013; 2017). 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 гравітаційної сили і світла як результат взаємодії фото– і гравітропізму (Лобачевська та ін., 2015; Хоркавців та ін., 2015).

Використавши інгібітор метилювання ДНК 5–азациитидин для дослідження взаємодії фото/гравітропізму, проаналізували галуження клітин гравітропної протонеми *Polytrichastrum alpinum*. Результатом післядії інгібітора метилювання було інтенсивне галуження клітин на світлі, зміна кута галузок та напрямку їх росту відносно материнської клітини, порівняно з рослинами контролю (рис. 81, а, б, в). 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-азациитидином галузки утворювалися на кожній клітині столону (рис. 81, в). У контролі на протонемному столоні завдовжки 5...8 мм було 5...10 галузок, у досліді – понад 30...50 галузок, з високою амплітудою варіабельності кутів згину – від 20 до 90° (рис. 82).

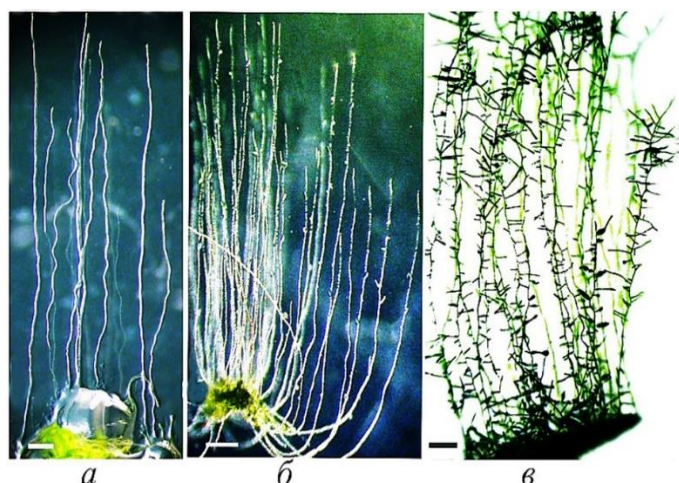


Рис. 81. Гравітропні столони дернини *Polytrichastrum alpinum*: а) столони не галузилися у темряві; б) клітини протонеми погалузилися на світлі; в) після дії 5-азацитину на світлі збільшилася інтенсивність галуження та варіабельність кутів згину; штрих = 250 мкм

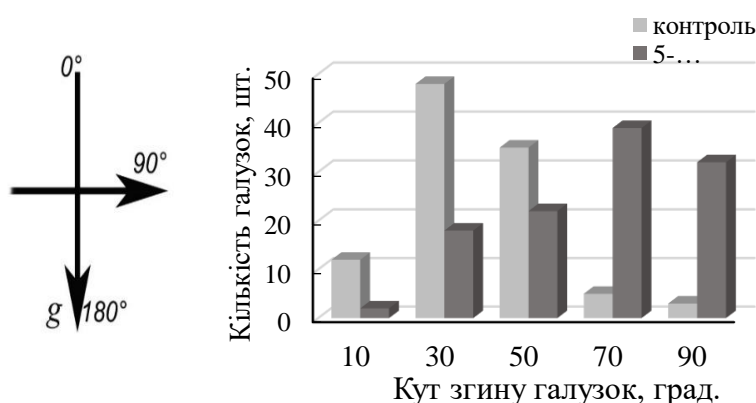


Рис. 82. Величина кута галузок гравітропних столонів *Polytrichastrum arcticum* у контролі та після впливу 50 мкМ 5-азацитину.

Такий діапазон значень кутів означає поступове зниження компетенції до сприйняття гравістимулу аж до втрати гравітропізму. У контролі латеральні галузки *P. alpinum* росли під гострим кутом до головного столону, і максимальна величина кута досягала 30...50°, після обробки 5-азацидином кут збільшувався до 75...90° по усій довжині столону. Отже, модифікація метилювання призвела до зниження гравічутливості, яка є частиною генетичного контролю гравітропізму, що складно виявити у природних умовах без експерименту. Проте, 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 зумовлені епімутаціями, які відбулися унаслідок метилювання ДНК і зміни експресії генів, що зберегло клітинну пам'ять про стрес.

Навіть враховуючи тимчасову роль епімутацій, вони сприяють модифікації процесів розвитку на первинному етапі адаптації (Jablonka, Lamb, 2014; Ashapkin et al., 2020). Те, що частина галузок зберегла майже 90° агравітропний кут нахилу і горизонтальний напрям росту, може змінити життєву форму протонемної дернини. Отже, можна допустити, що опосередковано конформаційні зміни ДНК, зумовлені епігенетичною модифікацією метилювання, впливають на варіабельність галуження і величину гравітропного кута латеральних галузок протонеми *Polytrichastrum alpinum*.

Раніше повідомляли, що латеральні гілки протонеми *Ceratodon purpureus* закладалися перпендикулярно до батьківської клітини (агравітропно), але поступово переорієнтовувалися відповідно до векторної дії гравітації, і кут гравітропного згину зменшувався (Хоркавців та ін., 2015). В 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 зменшувалася протидія гравітаційній силі, кут латеральних галузок досягав 90° і ріст був плагіотропним.

Морфологічні зміни галузок зберігаються у клітинних поділах, а у нестійких, стресових природних умовах підвищують поліморфізм мохів. Ситуативно, у певних умовах середовища горизонтальний плагіотропний ріст може бути вигідним фенотипом, недарма така форма росту поширена серед мохів. 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 нестачі води у ґрунті, а також дають можливість утворити надземну асиміляційну дернину (Структура виду ..., 2001; Лобачевська та ін., 2021). Для *A. thaliana* невертикальна 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 і надалі латеральні корені повільно викривляються, доки зрештою не досягнуть негативно гравітропної орієнтації (Guyomarc'h et al., 2012; Roychoudhry et al., 2017).

Таким чином, зв'язок між метилюванням основ ДНК і стадіями гравііндукції клітин протонеми розглядається як частина сигнальної ланки, що відповідає за модифікацію гравітропного росту протонеми – галуження, величину гравітропного кута латеральних галузок, є джерелом варіабельності морфологічних ознак в межах модифікаційної мінливості, або можуть спадково закріплюватися як адаптивні ознаки, бути потенціалом для морфофізіологічних процесів. 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 метилюванні ДНК.

Досліджено вплив інгібітора метилювання ДНК 5-азацитидину на стадії перцепції гравісигналу та трансдукції його у гравітропізм, модифікацію ізоферментних спектрів пероксидази протонеми *Physcomitrium patens* в умовах зміненої гравітації, фенотип галуження й варіабельність гравітропних кутів латеральних галузок *Polytrichastrum alpinum*, що свідчить про зв'язок між метилюванням і гравііндукцією. Деметилювання, зумовлене дією 5-азацитидину, знижує гравічутливість столонів – менше на стадії перцепції і більше під час трансдукції гравісигналу. Аналіз розвитку гравітропізму після застосування інгібітора метилювання означає, що клітинна пам'ять про сигнал зберігається незалежно від стадії гравістимуляції. Однак тривалість пам'яті коротша на стадії перцепції і довша на стадії трансдукції, що впливає на швидкість відновлення гравітропного росту.

Диференційна дія метилювання ДНК 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. Для біогенезу та механічної стійкості клітинної стінки важливе функціональне значення має пероксидаза. Експресія пероксидази та зміна ізоферментних спектрів ферменту *Physcomitrium patens* відбулися унаслідок деметилювання ДНК, що в умовах зміненої гравітації може бути індикатором індивідуальної стійкості рослин.

Епігенетичні зміни підтримуються біохімічними функціональними процесами, зберігаються у клітинних поділах, найперше у мітозах (напр., вегетативне розмноження) і успадковуються нащадками, тобто є стійкими індукованими модифікаціями. Завдяки значному поширенню серед мохів вегетативного розмноження добір таких резистентних рослин мохів, які виникли у стресових умовах, може забезпечити стійкість популяції та виду та виявити епігенетичну адаптацію у природі.

ПІДСУМКИ

На науковому шляху відділу екоморфогенезу рослин важливою подією стала участь у програмі комплексних досліджень космічної біології, до якої вперше залучили мохоподібні. Оглядаючись назад, згадаємо, що дослідження бріофітів розпочав видатний український ботанік, чл.-кор. АН УРСР професор А.С. Лазаренко, створивши школу львівських бріологів і відділ експериментальної морфології рослин з новими напрямками вивчення бріофлори і експериментального морфогенезу. Розпочинаючи дослідження впливу гравітації на клітинному рівні, перед нами була перспектива одержати нову наукову інформацію про залежність розвитку мохів від гравітаційної сили Землі. На початку це був експеримент „Протонема” з *Funaria hygrometrica*, а згодом у 1996 р. спільний українсько-американський експеримент SPM на космічному кораблі „Columbia” з *Pottia intermedia* і *Ceratodon purpureus*. Керівником підпроєкту був д.б.н., проф. О.Т. Демків. Згодом тривалий час виконували наукові проєкти за підтримки Цільової комплексної програми НАН України з наукових космічних досліджень. Наша багаторічна праця перервана раптово – війною, і яке її майбутнє – невідомо. Ми переконані, що виконана робота і обґрунтування цитофізіологічних основ гравічутливості важливі як для фундаментальної, так і космічної біології. Впевнені у належному рівні проведених досліджень, важливості з’ясованих клітинних механізмів гравічутливості у біології розвитку рослин та адаптивної ролі гравітропізмів у життєвій стратегії мохоподібних.

Гравітаційна біологія – розділ біологічної науки, в якій вивчають вплив гравітації на організм – ріст, орієнтацію у просторі, розмноження, онтогенез. Мохоподібні завдяки гравічутливості на різних стадіях онтогенезу, доволі простій і різноманітній морфологічній структурі, варіабельності адаптивних реакцій і широкому ареалу мають чимало переваг як об’єкт для вивчення ролі поляризуючого природного фактора гравітації в індивідуальному розвитку рослин.

Протонема – ювенільна стадія розвитку мохів, еволюціонувала як засіб для вегетативного розмноження та поширення в природних умовах. Морфологічно однотипні клітини хлоронеми чи каулонеми метаболічно компетентні до диференціації, галуження та закладання бруньок гаметофорів. Це гарантує розростання протонемної дернини, вегетативне розмноження і розвиток гаметофіту та спорофіту.

На світлі протонема мохів росте плагіотропно, у темряві верхівки загинаються негативно гравітропно, що є, звичайно, найкоротшим шляхом до світла. Роль гравітації в умовах освітлення не настільки очевидна, як у темряві, плагіотропна форма росту протонеми розвивається завдяки взаємодії світла і гравітації. У динаміці гравітропізму латеральних гілок і розгалуження вздовж протонемного столону виразно простежується тенденція до зміни

напряму росту. Відбувається поступове зменшення кута гравітропного згину гілок від верхівки до базальної частини протонеми аж до плагіотропного росту в основі столону (Хоркавців та ін., 2015). Встановлено, що під час індукції згину і у місцях закладання латеральних примордіїв підвищується концентрація ІОК (Smet et al., 2007, 2013; Guseman et al., 2015; Thelander et al., 2018). Подібна ростова реакція і у бокових коренів *Arabidopsis thaliana* (Lucas et al., 2008; Péret et al., 2012; 2013; Sakai et al., 2012). Редукцію гравічутливості латеральних гілок протонеми також можна пояснити апікально-базальним градієнтом ІОК: найбільше ауксину в апікальних клітинах і мінімальна кількість в основі протонемного столону, через що сигнальна асиметрична дія ауксину знижується від апексу до основи. Низький вміст ауксину (10–16 моль ІАА/мг сирої речовини) підтримує стан диференціації каулонемі, і баланс між клітинами хлоронемі і каулонемі на подальших стадіях розвитку протонеми (Bhatla, Dhingra-Babbar 1990; Glime, 2017). Таким чином, обов'язковою умовою гравітропізму для різних видів рослин (Хоркавців, Демків, 2003; Thelander et al., 2018) є градієнтний розподіл ІОК – аж до зміни негативного гравітропного росту протонеми мохів на плагіотропний (Хоркавців та ін., 2015).

У дослідженні гравічутливості перевага протонеми у тому, що це одноклітинна нитчаста структура, де сприйняття, трансдукція і реалізація гравістимулу обмежені однією апікальною клітиною – і єдиною клітиною, що ділиться. Це скорочує відстань сигналу до зони росту, порівняно з трансдукцією в корені чи стеблі. Крім того, гаплоїдний набір хромосом у тканинах головної життєвої форми мохів – гаметофіті, спрощує регуляцію (включення-виключення) генної активності, розширює можливості для молекулярних досліджень. Тому протонема, зокрема апікальна клітина, є зручною моделлю для аналізу, порівняно з статоцитами коренів і пагонів квіткових рослин. Для з'ясування молекулярних механізмів сприйняття гравістимулу і гравітропного росту у космічних польотах часто використовують також протонему зеленої водорості *Chara* (Braun et al., 2018).

Ростові гравітропні рухи відбуваються внаслідок апікального домінування та видовження і поділу верхівкової клітини, а гравісенсорною системою протонеми мохів, як й статоцитів квіткових рослин, є амілопласти (Barlow, 1995; Merkys, Laurinavicius, 1990). Часто протонема чутлива до несприятливих чинників середовища, але швидка гравізалежна поляризація проростків на стадії проростання спор є першою можливістю вибратися з-під ґрунту та закріпитися на освітленій поверхні ґрунту. Тому гравітропізм є адаптивною ростовою реакцією протонеми. Для багатьох видів чіткої диференціації гравітропних проростків спор не виявлено. Зате чимало видів гравічутливі на пізніших стадіях диференціації – каулонемі і листкостеблових гаметофорах. Стандартним контролем для

обґрунтування гравічутливості на різних стадіях гаметофіту було горизонтальне кліностагування культур мохів.

Висока міжвидова морфологічна різноманітність структурної організації і ростових реакцій протонеми мохів (Ворр, 1983; Демків, Сытник, 1985; Glime, 2017; Braun, 2018; Lobachevska et al., 2021, a, b) зумовлена також різною гравічутливістю клітин хлоронеми, каулонеми, ризоїдів (Kofler, Chevalier, 1973; Структура виду ..., 2001). Реакція на дію постійного гравітаційного сигналу формувалася залежно від диференціації клітин протонеми і відповідно до життєвої стратегії та умов поширення мохів (Chaban et al., 1998; Пундяк та ін., 2002; Хоркавців та ін., 2015; Lobachevska et al., 2022). Гравічутливими є проростки і хлоронема мохів *Ceratodon purpureus*, *Pohlia nutans*, *Physcomitrium patens*, хлоронема *Funaria hygrometrica*, *Leptobryum pyriforme*, *Dicranella cerviculata*, *Bryum argenteum*, каулонемні столони і латеральні галузки *Tortula caucasica*, *Weissia controversa*, *Ptychostomum imbricatum*. Одночасно мохи вирізняються варіабельністю морфологічних особливостей, високим регенераційним потенціалом, їх онтогенез залежать від багатьох природних факторів (Ворр, 1983; During, 1979, 2001; Shaw, 2000; Tuba et al., 2011; Lobachevska et al., 2021, a, b). Якщо висока регенераційна здатність на ювенільній стадії гарантує вегетативне поновлення мохів, то гравічутливість є головним механізмом для орієнтації органів рослин у просторі. Для дослідження гравічутливості гаметофіту в умовах дії різних факторів використовували лабораторну культуру гаметофіту на стадії протонеми і листостеблових пагонів. Надалі це стало предметом численних досліджень і дискусій про механізми гравічутливості, гравіморфогенез з метою визначення морфо-фізіологічних реакцій-відповідей на дію гравістимулу та адаптивного значення в життєвій стратегії мохів (Демків та ін., 2006; Кияк, Хоркавців, 2016, а, б; Kordyum et al., 2009; Лобачевська, 2006; Лобачевська та ін., 2015; Lobachevska et al., 2022; Хоркавців та ін., 2023).

Проростання одноклітинних спор і реакція перших проростків на сигнал гравітації у різних видів відрізняється і часто має чітку адаптивну функцію. Якщо порівняти види бріюфітів, що використовують у дослідженнях, чутливішими є проростки *Funaria hygrometrica*, *Leptobryum pyriforme* і *Physcomitrium patens*, більша варіабельність орієнтації ростків у *Ceratodon purpureus* і *Pohlia nutans*, низька гравічутливість *Tortula caucasica* (Jenkins et al., 1986; Chaban et al., 1998; Schwuchow et al., 2001; Пундяк та ін., 2002; Лобачевська, Хоркавців, 2014). Перший ризоїдальний проросток спор *F. hygrometrica* росте позитивно гравітропно (донизу), другий – чітко негативно гравітропно (доверху) з мінімальною дисперсією кутів $\sigma = 18,1^\circ$. Для інших видів дуже висока варіабельність кутів між двома ростками $\sigma = 78^\circ$ означає низьку гравічутливість і ріст у різні боки. Орієнтацію проростків

спор різних видів обговорюють як функціонально залежну від життєвої стратегії і рівня толерантності моху. В історичному перерізі гравітаційний компонент сприяв розвитку конкретних ростових і морфологічних функцій мохів.

Особливістю багатьох мохів є пластичність клітин протонеми, висока тотіпотентність і здатність до дедиференціації, завдяки якій каулонема у несприятливих умовах (при низькій інтенсивності освітлення, менше ніж 500 лк і температурі 5° С або менше) утворює хлоронемні столони (Vorr et al., 1983). Реверсія розвитку клітин каулонема до гравічутливих хлоронемних клітин є винятковою властивістю *W. controversa*. Саме на клітинному рівні були визначені гравіреакції хлоронемі і каулонемі, що ростуть у різних умовах: на поверхні ґрунту, або у його верхньому шарі. Завдяки негативному гравітропному росту клітин хлоронемі зі столонів каулонемі проростають ростки *W. controversa*, а на світлі розвивається густа розгалужена фотосинтетично активна дернинка з гаметофорами. Це приклад двох різних гравітропних реакцій, які є адаптивними ознаками виду, як відповідь на умови їх природних місцевиростань.

Лише детальний аналіз гравічутливості та гравіморфозів є шансом пояснити дію гравітації у життєвому розвитку моху та визначити його екоморфологічні адаптивні прояви, зумовлені природними умовами. Очевидно тому, поділ мохів на гравічутливі і нечутливі досить довільний і обмежений з багатьох різних причин через недостатню кількість досліджень у космосі й на Землі (Sack, 1991; Schwuchow et al., 2002; Glime, 2017; Braun et al., 2018; Lobachevska et al., 2022; Кордюм, 2023). Тим не менше, успіхів у з'ясуванні природи гравітропізму протонеми досягнуто і знайдено чимало видів, життєва стратегія яких пов'язана з екстремальними умовами і специфічними гравіреакціями.

Окрім функціонального значення, морфологічна форма дернини як орган енергетичного життєзабезпечення виду набула адаптивних ознак – стала функціональним захисним бар'єром від високої енергії світла та УФ опромінення. Ефект гравітації у наведеному прикладі з *W. controversa* має системну дію: по-перше, він чітко реалізований у морфологічній структурі дернини як ознака фенотипної пластичності, по-друге, закріпився в онтогенезі і став для мохів механізмом захисту у загрозливих умовах сонячного опромінення.

Мохи адаптувалися до широкого діапазону освітлення, високотолерантні до висушування, ростуть як на високому рівні інсоляції (близько 100 ккал/см² на рік, майже як на екваторі), так і при УФ опроміненні. У складі сонячного світла УФ випромінювання є важливим тригером фотоморфогенетичної акліматизації та стресових реакцій наземних рослин. Проте, виснаження озонового шару стратосфери в результаті антропогенної діяльності підвищує показники УФ опромінення поверхні Землі і призводить до шкідливих біологічних наслідків загалом для рослин. Потенційно бріофіти можуть бути біоіндикаторами

стійкості до опромінення, насамперед мохи з Антарктики (Martínez-Abaigar et al., 2006; Wolf et al., 2010; Robinson, Waterman, 2014; Carvalho et al., 2017). Описано на морфологічному і генетичному рівнях реакцію на УФ опромінення та вищу стресову стійкість *Physcomitrium patens* до УФ, аніж *Arabidopsis thaliana* (Wolf et al., 2010). Хоча багато видів мохів ростуть у незатінених місцях, розуміння їх відповідей на УФ обмежені. Реакції на УФ світло та захисні системи не достатньо систематизовані, для цього необхідний адекватний добір змінних параметрів, умов і видів мохів, щоби гарантувати, що результати не є унікальними для одного генотипу. Тому відповідні моделі, умови і протоколи експериментальних досліджень повинні бути чітко означені. Наші дослідження *W. controversa* і *Ptychostomum imbricatum* з екстремальних умов є певним здобутком про вплив гравітації на морфогенез і механізми толерантності рослин. Вперше встановлено, що гравітропізм бріофітів видоспецифічний і залежить від екологічних факторів.

Ефективним прикладом залежного від гравітації морфогенезу мохів є формування бруньок в апікальній частині протонемного столону. Поляризуюча дія гравітації у цьому випадку є тригером градієнтного розподілу фітогормонів, активного полярного транспорту Ca^{2+} та ІОК атрагуючого центру в апексі столону. На гравістимульованій протонемі в апікальній частині протонемного столону дернини на кожній клітині утворювалися бруньки, з котрих згодом формувалася розетка гаметофорів. Після кліноротації бруньки утворювалися вздовж столонів, їх було небагато, і не обмежувалися лише апікальною зоною. В експерименті з *Tortula caucasica* на кораблі *Columbia* (за програмою STS-87) після 14-денного космічного польоту в умовах мікрогравітації закладалися поодинокі апікальні бруньки ($\approx 0,2\%$), причому вони такі і залишалися на ініціальной стадії диференціації. Отже, у різних гравітаційних умовах компетентність верхівкової клітини, яка незмінно є меристемною, змінюється, але можуть активуватися нові зони росту і нові дочірні клітини, відділившись від апікальної. З таких ініціальних клітин і їх нащадків утворюються бруньки гаметофорів. Гравізалежний процес утворення бруньок на апікальних клітинах протонемних столонів пришвидшує фотоморфогенез листкостеблових пагонів і розвиток гаметофіту, тобто виконує адаптивну функцію.

Апікальне брунькоутворення належить до особливих гравіморфозів, що досліджено на клітинному рівні: бруньки можуть утворюватися з однієї апікальної клітини або з групи клітин в апікальному домені протонемного столону. Вперше поляризуюча дія сили тяжіння розглядається як фактор морфогенезу листкостеблових пагонів, котрі є структурною основою домінуючої гаметофітної стадії розвитку мохів. Це дає підстави стверджувати про загальнобіологічне значення гравітації у трансформації одномірного росту в тримірний

залежно від екзогенного фактора. Щоби клітини набули компетентності до диференціації і формування бруньок, повинні появитися ендogenousні передумови для морфогенезу. Найперше це зміни структурної організації клітин, частота мітозів, ініціація поперечних і поздовжніх поділів та утворення трисічної апікальної клітини. Крім того, формування нових осей росту і диференціація залежить від фізіологічних процесів, поляризованого транспорту фітогормонів, реорганізації цитоскелету, синтезу компонентів клітинної стінки, різних супутніх чинників. Апікальна клітина під впливом гравітації стає полярним атрагуючим центром метаболітів. В апексі верхівкової клітини протонеми максимально зростає концентрація білків, активність ферментів, нагромаджуються везикули Гольджі та компоненти клітинної стінки, змінюється співвідношення фітогормонів і локалізація елементів цитоскелету (Ripetskyj et al., 1999; Vorr, 1983; Rose et al., 1983; Demkiv et al., 2003; Демків та ін., 2006, 2009; Keijzer et al., 2021).

Перехід від нитчастого росту протонеми до об'ємної конфігурації бруньок супроводжується низкою полярних асиметричних поділів і утворенням тетраїдної апікальної клітини та фізіологічними процесами, що формує компетенцію до диференціації (Zagórska-Marek et al., 2018). Це загальна ендogenousна інформація (контроль) про площину поділу, активацію цитокінів, синтез білків рецепторів фітогормонів (Vorr, 1983) та участь екзогенних факторів, конкретно гравітації, як сигналу поляризуючої і механічної сили. Підвищені концентрації екзогенної ІОК у *Physcomitrium patens* сповільнюють ріст і розміри клітин, від чого залежить площина поділу ядра, цитокінін індукує утворення примордія гаметофору і диференціацію багатоклітинної бруньки (Thelander et al., 2018; Cove et al., 2006).

Чітко виражена залежність розвитку протонеми від гормонального співвідношення встановлена для цитотипів *Tortula caucasica*, які відрізняються вищим рівнем ауксину і нижчим вмістом цитокініну в диплоїда, порівняно з гаплоїдом (Демків та ін., 2005). Це зумовлює морфологічні особливості в умовах поляризуючої дії гравітації у темряві. Після гравістимуляції апікальні клітини протонеми диплоїдного цитотипа спочатку галузилися, утворюючи пучок гілок, а вже тоді закладалися бруньки в апексі між галузками, в гаплоїда ж бруньки формуються відразу на головних столонах. У розгалуженій верхівковій частині столонів у диплоїдів, очевидно, синтезуються і нагромаджуються цитокініни, лише після цього розпочинається диференціація бруньок. Морфологічні особливості обидвох цитотипів *T. caucasica* зумовлені фітогормонами, вміст яких, в умовах поляризуючої дії гравітації у темряві перебуває під її контролем.

Скоординований баланс ауксину та цитокініну контролює також точне положення площини клітинного поділу і кількість клітин, необхідних для розвитку бруньок гаметофорів і залежить від орієнтації мікротрубочок цитоскелету (Vorselen et al., 2014; Schulz et al., 2001;

Moody, 2022; Schwartzberg, 2009; Schwartzberg et al., 2016). Вже на тетраїдній стадії закладання бруньки *P. patens*, рівень ауксину знижується до початкового значення і завдяки цьому зберігається ідентичність материнської апікальної клітини (Moody, 2022). Тому тримірна спеціалізація росту і формування гаметофору регулюється гормонально через індукцію росту, поділів і галуження клітин, а її порушення неминуче позначається на диференціації клітин та морфогенезі апікальних бруньок. Клітинна полярність, гормональна регуляція і елементи цитоскелету спільно впливають на міграцію і положення ядра, що модулює морфологію клітин і є фундаментальним механізмом багатоклітинності та диференціації бруньок. Для визначення зв'язку між такими процесами та ролі кожного фактора у формуванні клітинних поділів і гравіморфозів необхідні цілеспрямовані морфологічні і молекулярні дослідження.

Такі дослідження проводяться в галузі космічної біології, значним досягненням яких є результати експериментів у космосі (Zabel et al., 2016; Kordyum, Hasenstein, 2021, 2023). Наприклад, за відсутності гравітропних подразників під час космічних польотів, посилювалася регуляція генів відповідальних за функціонування хлоропластів і фотосинтез проростків *Arabidopsis thaliana*, активація мітохондріального геному, синтез ауксину і цитокінінів (Kruse et al., 2020; Medina et al., 2022). У серії космічних експериментів 2013–2018, у яких застосували різні *g*-рівні, визначено, що рослини здатні адаптуватися до стресу в умовах мікрогравітації через фотостимуляцію та модуляцію геному (Häder, Hemmersbach, 2017; Häder, Iseki, 2017; Häder et al., 2018; Voosen, 2019; Medina, 2021; Manzano et al., 2022). В експериментах на Землі підтверджено перепрограмування експресії генів і порушення клітинної проліферації та біогенезу рибосом під впливом сили тяжіння, що призводить до змін в меристематичній тканині і дисбалансу між поділом та ростом клітин (Millar et al., 2010; Medina et al., 2022). Експерименти цікаві, вони значно доповнюють знання про механізми і різні стратегії, які рослини можуть використовувати для адаптації та розвитку у відмінних гравітаційних умовах космосу. Чимало оглядових робіт, у яких наголошується на проблемах через складні технології наукових досліджень, розробляються напрями досліджень, які б покращили життєзабезпечення рослин, зменшили негативний вплив мікрогравітації, пропонують середовища і умови для вирощування рослин на Місяці і Марсі (Zabel et al., 2016; Kordyum, Hasenstein, 2021; 2023; Medina et al., 2022).

Для з'ясування механізмів адаптації рослин до зміненої гравітаційної сили на Землі і мікрогравітації у космосі використовують методи ідентифікації генної експресії (Xu et al., 2018). Дослідження гравітропізму і ефектів мікрогравітації ґрунтуються та обговорюються з огляду на механізми впливу сили тяжіння на ріст і адаптацію рослин до гравітаційного стресу

(Міщенко та ін., 2011; Kordyum, 2014; Xu et al., 2022; Kordyum, Hasenstein, 2021, 2023). Чимало експериментальних підтверджень, що метилювання ДНК впливає на синтез на рівні мРНК і функціонально важливе в умовах абіотичного і біотичного стресу (Blancaflor, 2013; Correll et al. 2013; Paul et al., 2012; Ferl et al., 2015; Wei et al., 2022; Guo et al., 2023). Регуляція процесів тривимірного росту теж залежить від диференційної активності геному, в тому числі епігенетичної регуляції (Okano et al., 2009; Хоркавців та ін., 2023) та змін на транскрипційному і посттрансляційному рівнях (Pereman et al., 2016; Moody et al., 2022; Kriegshauser et al., 2021). Потенційно гравітація є екзогенним фактором модифікації генної експресії і функціональної активності розвитку мохів (активатором чи блокатором) та може проявлятися у гравічутливості, тропізмі, гравіморфозах. Гравічутливість та інтенсивне закладання бруньок на гравістимульованій протонемі *Physcomitrium patens* і *Tortula caucasica* контролюється епігенетично унаслідок зміни стану метилювання ДНК (Ріпецький, Хоркавців, 2012; Хоркавців та ін., 2021, 2023). Зменшення кількості метильованих основ ДНК за участю блокатора 5-азацитину порушувало сприйняття гравісигналу і впливало на тривалість збереження пам'яті про гравістимул. Зв'язок між метилюванням основ ДНК та гравііндукцією клітин протонеми розглядається як сигнальна ланка в модифікації гравітропного росту. Наприклад, унаслідок конформаційних епігенетичних змін ДНК підвищувалася варіабельність галуження стolonів, зростала частота варіантів мінливості гравітропних кутів латеральних гілок протонеми *Polytrichastrum arcticum*. Отже, морфологічна форма галуження зберігається у клітинних поділах і може спадково закріпитися, а від мінливості і частоти розгалужень залежить щільність дернини, що у стресових умовах набуває адаптивного значення (Clarke, Robinson, 2008; Ріпецький, Хоркавців, 2012; Pereman et al., 2016). Епігенетичні модифікації також є опосередкованим регулятором під час переходу гаметофітної стадії розвитку мохів на спорофітний (Horst, Reski 2016) і специфічних реакцій *Arabidopsis thaliana* впродовж онтогенезу (Schubert et al., 2003; Moody, 2022).

Епігенетичні варіації, крім метилювання ДНК, включають ацетилювання гістонів, фосфорилювання та рибозилування специфічних амінокислотних залишків (Pereman et al., 2016; Moody, 2022; Horst, Reski, 2016). Ідентифіковано комплекс білків гістонів, які унаслідок ацетилювання змінюють експресію генів, що впливає на розвиток моху *Physcomitrium patens* і одноклітинної зеленої водорості *Chlorella* (Lee et al., 2008; Pereman et al., 2016). Модифікації октамерного білкового комплексу порушували полярність цитоскелету і поділу клітин, унаслідок чого гаметофори формувалися одночасно як на каулонемних, так і хлоронемних столонах *P. patens* (Rawat et al., 2017; Brejšková et al., 2021). Деацетилювання гістонів за участю трихостатину А (ТСА) змінювало диференціацію гаметофорів *P. patens* на ранніх стадіях

розвитку протонеми, активуючи закладання бруньок в апікальній частині стolonів (Хоркавців та ін., 2023).

Вплив світлового подразнення на рослини у космосі в умовах мікрогравітації є ключовим фактором для з'ясування того, як пристосовується організм до нового середовища. Світловий сигнал може повністю або частково замінити гравітаційний сигнал, сприяти росту та розвитку рослин в умовах мікрогравітації. Втім важливо, що гравітаційний стрес стимулює нові стратегії рослин в мікрогравітації, про що свідчать експериментальні дослідження і вирощування різних рослин під час розширених космічних місій (Manzano et al., 2020; Kordyum, Hasenstein, 2021).

Взаємодія між фото- і гравітропізмом складна і не завжди зрозуміла в умовах постійного вектора гравітації на Землі, а експерименти в космосі кількісно обмежені. Ряд досліджень про вплив взаємодії світла і гравітації виконані в умовах імітованої гравітації, узагальнення про вплив мікрогравітації зроблено переважно для *Arabidopsis thaliana* і *Zea mays* (Kiss et al., 2003; Herranz et al., 2013; Kiss et al., 2012; Vandenbrink et al., 2014). Є кілька експериментів з мохами у двох програмах NASA Space Shuttle (STS) Columbia про ефект фото-і гравітропізму та спіральний ріст протонеми у мікрогравітації, які підтверджують конкурентну взаємодію між фото- і гравітропізмом при 1g. Звичайно, світло як потужніший фізичний чинник, блокує реакцію рослин на поляризуючу дію гравітації.

Світло і гравітація є основними факторами розвитку рослин за участю фото- і гравітропізмів, що детермінує формування габітусу. Потенціалом для життєдіяльності мохів є розгалуження протонеми і пагонів. Тоді як галушення клітин протонеми, відповідно до концепції апікального домінування, контролюється апікально-базальним транспортом фітогормонів, розгалуження пагонів відрізняється метамерним розподілом гілок, поступовим дозріванням гілок вздовж пагонів, щільністю, функціями і є основою формування життєвої форми мохів (Worr, 1983; Cooke et al., 2002; Goffinet, et al., 2009; Glime, 2017).

На габітус впливає передусім спосіб галушення клітин, кут нахилу і зміна напрямку росту бічних гілок відносно вектора сили тяжіння. Це загальнобіологічне явище, що визначає специфіку кута нахилу гілок рослин впродовж онтогенезу. Величина кута залежить від строгої координації росту і проліферації клітин, контролюється градієнтним розподілом ауксину та дозою гравітаційної сили (Herranz, Medina, 2014; Kordyum, 2014).

Просторова орієнтація бічних гілок протонеми змінюється залежно від положення рослин відносно напрямку дії світла і гравітації, у різних видів кут розгалуження суттєво відрізняється (Демків та ін., 2006; Хоркавців та ін., 2015). Кореляційна залежність між ростом і кутом згину бокових гілок зрівноважується дією сили тяжіння, світла і автотропізму.

Взаємодія таких факторів на різних етапах онтогенезу мохів визначає структуру та форму рослин у природних умовах (Hoson, 2014; Lobachevska et al., 2021, a, b). На світлі клітини протонеми в дистальній частині столона галузяться під кутом 30° , а вже в основі латеральні гілки ростуть плагіотропно, тобто під кутом $80\text{--}90^\circ$; при кліноротації кути збільшуються. Гравічутливість бічних гілок поступовому знижується унаслідок апікально-базального градієнта ауксину та збільшення вмісту ауксину в ростучих апікальних клітинах гілок (Cove et al., 2006; Roouchoudhry et al., 2013). Ауксин діє як індуктор, від якого залежить гравітропний кут гілок і тривалість автотропного росту (Хоркавців та ін., 2015; Roouchoudhry, Kerinski, 2015). Гравітропно заданий кут (GSA gravitropic set-point angle) гілок збільшується після додавання у середовище з культурами ІОК. Антиауксин *N*-1-нафтилфталамова кислота (НФК) та інгібітор протеїнів брефелдін А пригнічують полярний транспорт ІОК і кут нахилу зменшується. Здатність органів переорієнтовувати ріст відносно гравітаційного вектора ґрунтується на видозміні величини GSA, а порушення полярного транспорту фітогормонів зменшує протидію гравітаційній силі і плагіотропному росту бічних гілок (Lobachevska et al., 2021, a; Хоркавців та ін., 2015).

Поширеною формою морфогенезу рослин є спіральний ріст. Спіральність властива кожному рослинному організму і найпростішим об'єктом для експериментального вивчення спіральності є сама клітина, а значно складнішим – спіральна симетрія суцвіть (Sinnott, 2015). До них належить спіральний тип дернини мохів, описаний відомими бріологами (Kofler, 1957, 1959; Лазаренко та ін., 1961; Ворр, 1983), і є доволі розповсюдженою формою росту (Структура виду..., 2001; Kern et al., 2005; Демків та ін., 2006; Lobachevska et al., 2022).

Підставою для досліджень впливу гравітації на спіральний фенотип дернини стали експерименти у космосі, коли вперше таку форму росту побачили в умовах мікрогравітації (Демків та ін., 1998; Kern, Sack, 1999; Kern et al., 2005). Спіральна форма росту була неочікуваною, тому що на Землі при 1 g протонема росла негативно гравітропно, а у жодного з виду рослин, корені яких розвиваються у темряві, не виявляли подібної форми у мікрогравітації (Natakeda et al, 2003; Johnsson et al., 2009; Schultz et al., 2917).

Мінливість росту і диференціації протонеми мохів у різних умовах середовища є винятково високою, модуляція ростових форм здійснюється гравітацією і світлом. (Структура виду ..., 2001; Хоркавців, Демків, 2009; Лобачевська, Хоркавців, 2014). Від взаємодії світла і гравітації залежать усі форми росту, інколи, особливо при нестачі вологи чи поживних речовин, столони ростуть спірально, хоча проявляється це нечасто. Передумовою спіральної форми протонемної дернини є диференціація каулонемі, довготривалої стадії для багатьох видів мохів. Утворення спіралі відбувається унаслідок ротації апексу верхівкової клітини,

супроводжується нахилом столонів і залежить від взаємодії світла і гравітації (Демків та ін., 2006). Лише апікальна зона каулонемних столонів з косими клітинними перетинками, утворює невеликий $\approx 20^\circ$ нахил відносно горизонтальної прямолінійної осі росту, що ініціює початок спіралізації. Нахил клітинних перетинок дає можливість верхівковій клітині обертатися вздовж і навколо поздовжньої осі росту, долати опір субстрату і вектора гравітації та закручуватися. На клітинному рівні зміщення ростової зони унаслідок формування косої перетинки в апікальній меристемній клітині, що ділиться, індукує спіральну модель росту. Порівняно з плагіотропним ростом, коли у взаємодії факторів домінує світло, під час ініціації спірального росту взаємовплив світла і гравітації змінюється. Це важлива проблема для дослідження огляду й на те, наскільки мінлива морфологічна форма рослин і участь статичних фізичних факторів – світла і гравітації – у цих процесах.

На підставі досліджень росту протонеми в умовах гравітації Землі (1 g), мікрогравітації, де елімінована сила пришвидшення, і кліноостатування, коли порушена константа g вектора, під впливом різного освітлення та складу поживного середовища встановлено, що спіральність є спадковою властивістю, але зазвичай маскується дією і сили тяжіння, і світла.

На Землі часто використовується кліноостатування для імітації умов мікрогравітації, коли ріст протонеми умовно можна розділити на лінійний і рандомічний, та лише окремі столони утворюють спіральні згини. Тобто, спіральну модель росту можна активувати у загальній програмі розвитку, змінюючи вектор гравітаційного стимулу кліноостатуванням, або силу пришвидшення в умовах мікрогравітації. Враховуючи фундаментальні відмінності між безперервним обертанням організму на кліноостаті на Землі і умовами віртуального вільного падіння у космічному польоті, можна допустити, що на загальну ростову реакцію впливають різні чинники. Тим паче, що при освітленні на Землі, коли виключено реакцію рослин на гравітацію, також є спіральні дернини (Демків та ін., 2006).

У космічному польоті NASA на Space Shuttle *Columbia* (STS-87) спіральні столони *Ceratodon purpureus* утворювалися за відсутності світла і в умовах мікрогравітації. Можна допустити, що зміна прямолінійної моделі росту на спіральну у мікрогравітації та під час кліноостатування, унаслідок втрати чи постійної зміни вектора гравітації, регулюється різними механізмами. Можливо, змінюється інтенсивність взаємодії між силою тяжіння і світлом або між фото- і гравітропізмом, а від внутрішньовидових морфологічних властивостей залежить ступінь спіралізації дернини і її форма. Якби не були механізми спіралізації, унікальний спіральний фенотип протонемної дернини є прикладом залежного від поляризації клітин граві- і фотоморфозу, збагачує морфологічну пластичність і стійкість мохів до стресорів.

Однією з причин втрати гравічутливості у мікрогравітації і під час кліноротації на клітинному рівні є утворення кластерів амілопластів у субапикальній зоні апікальних клітин. Наявність груп пластид означає, що існують ендогенні процеси, які запобігають седиментації і блокують гравітропізм: віддаленим наслідком цього може бути зміна типу росту з лінійного на спіральний. Залишається питання, чи спіральність, як конститутивна форма росту маскується гравітропізмом, чи індукція зміни моделі росту відбувається лише за умови, коли гравітаційний стимул змінюється. Що спіральна дернина утворюється у різних умовах – на світлі при статичній величині $1g$ і у мікрогравітації, підтверджує її спадкову природу, яка, зазвичай, залежить від світла і гравітації. Інколи таку форму виявляли в посушливих природних умовах рослин Південної Африки, наприклад *Aloe polyphylla* (Kofler, 1965) та *Ceratodon purpureus*, в експерименті з невисокими концентраціями ІОК і вуглеводів (Демків та ін., 2006). Радіальна симетрія – правильне спіральне розміщення латеральних органів – розповсюджена властивість рослин з вертикальною віссю, коли дія сили тяжіння і світла приблизно однакова з усіх сторін. У горизонтально розміщених осях, через нерівномірний вплив гравітації і світла спіральність замаскована (Sinnott, 2015; Leopold, 1964). Спіралі поширені в природі і часто мають адаптивне значення при розміщенні супротивних листків або листків на верхівці пагона. Спіральна форма протонемної дернинки на світлі дає можливість оптимізувати розподіл розгалужень і закладання листкостеблових гаметофорів, що сприяє ефективній фотосинтетичній активності і заселенню території. Якщо завдяки спіральності підвищується фотосинтез, очевидно, не була заблокована програма спірального росту в темряві. Така форма недостатньо розвинута у темряві через енергетичний дефіцит, але утворюється після додавання цукрів. Як альтернатива, виник потужний гравітропний механізм, який теж нівелював спіральність. Спіральний ріст у темряві може бути древнішою і незалежною формою від спіралі, що розвинулася на світлі (Kern et al., 2005). Не дивлячись на припущення еволюційного походження, спіральність у темряві майже втрачена і стає візуальною лише у мікрогравітації або під час кліностагування, тобто за умов порушення g -вектора, що чітко репрезентує її гравізалежну природу.

Робіт із досліджень спірального росту мохів небагато, можна зробити посилання на повідомлення (Kofler, 1957; Vorr, 1959; Лазаренко та ін., 1961) і публікації (Kern et al, 2005; Braun et al., 2018, Lobachevska et al., 2022), в яких описані окремі приклади утворення спіральних дернин, витких гвинтоподібних стolonів, спіральних апогамних структур та можливі умови для активації їх утворення. Залежні від гравітації модифікації фенотипу визначено для первинних коренів і кореневих волосків та нутаційних агравітропних рухів пагонів *Arabidopsis thaliana* (Hatakeda et al, 2003; Johnsson et al., 2009). Зміни коливних рухів

можуть бути зумовлені також гравітропною стимуляцією реакцій стискання↔розтягання компонентів тканин і клітинної стінки, які розглядаються як «резонансні імпульси», що збуджують систему (Califar et al., 2020). Дискусійне обговорення означає, що потрібні нові дослідження дії 1 g на просторову орієнтацію і розвиток органів, які підтвердять результати аналізів про участь гравітації у життєдіяльності рослин на Землі.

Мохи мають істотні переваги перед судинними рослинами завдяки необтяжливому способу отримання лабораторної культури, одностійковій будові протонеми, наявності дво- і тривимірного росту на стадії гаметофіту, із значним потенціалом для молекулярних і клітинних досліджень – наприклад, домінування в онтогенезі статевого покоління– гаплоїдного гаметофіту та високої частоти гомологічної рекомбінації, сприяло виконанню повного секвенування нуклеотидних основ ДНК *Physcomitrium patens* методами високоефективної трансформації (Floriach-Clark et al., 2022). Цікаві роботи (Kruse et al., 2020, Yang et al., 2020; Manzano et al., 2020, 2021) про взаємодію сигналів світла і гравітації, які можуть бути вирішальними для регуляції росту і розвитку рослин у мікрогравітації, зокрема, з метою пригнічення негативного ефекту гравітаційного стресу. Чимало механізмів взаємодії світла і гравітації, що створюють перешкоди для регуляції росту рослин, залишаються нез'ясованими. Взаємодію між двома сигналами можна доповнити, зосередившись на їх трансдукції та провідній ролі ауксину в механізмах сигналізації. Є питання, чи може світло компенсувати шкідливий вплив зміненої гравітації, однак незаперечним залишається те, що ефекти світла і гравітації залежать один від одного (Демків та ін., 2009; Toledo-Ortiz et al., 2014; Хоркавців та ін., 2015; Millar et al., 2010; Kim et al., 2011; Kiss, 2006; Kiss et al., 2012; Valbuena et al., 2018; Lobachevska et al., 2022).

Космічні дослідження забезпечують унікальне середовище, в якому можна аналізувати поведінку рослин і потенційно нові реакції у відповідь на гравітаційний стрес. Рослини утворили набір механізмів опору гравітації у філогенезі їх на Землі, але не сформували стабільний і надійний сигнал гравітації і гравітропізм в умовах невагомості. У мікрогравітації можуть відбуватися зміни моделі росту, структури клітин, з'являтися специфічні механічні стимули, що збільшує напруження на організм. Це призвело до ослаблення опірної системи цілого організму, і як результат розвиток адаптивних реакцій до таких змін на різних рівнях організації, як епігенетичні, транскрипційні, метаболічні і морфологічні структурні модифікації рослин (Penterman et al. 2007; Jin et al. 2015; Johnson et al. 2017; Xu et al. 2018).

Умови мікрогравітації впливають на активність генів, пов'язаних з біосинтезом і модифікацією клітинної стінки, метаболізмом її компонентів (Hoson, 2014). Порушення рівноваги механічних сил всередині клітини можна пояснити впливом мікрогравітації на

пружність клітинної стінки рослин, експресію гена аквапорину і транспортом води через мембрану, балансом між міцністю клітинної стінки і тургорним тиском клітини (Hu et al., 2007; Fengler et al. 2015; Jin et al. 2015; 2018). Встановлена участь кортикальних мікротрубочок (Hoson et al., 2004; Hoson, 2014; Prasad, 2020) в структурі клітинної стінки в умовах невагомості, ймовірно, через трансдукцію сигналу у процеси міцності клітинної стінки *Arabidopsis thaliana* і *Lactuca sativa* та втрати гравітропізму. Вважають, що усі реакції видозмінюють ріст клітин – унаслідок варіацій гравітаційних хвиль, що впливає на загальну структуру атмосфери та дію гравітаційної сили (Chen, 2019; Baba et al., 2022).

Середовище космічного польоту пов'язане з різними впливами, що призводять до окиснювального стресу і захисних реакцій-відповідей рослин, модифікацій форми тіла, метаболізму клітинної стінки, зміни активності ферментів і рН апопласту стінки, метаболізму хлорофілу (Soga, 2013; Takemura et al., 2017; Tamaoki et al., 2013; Swamy et al., 2021; Hassanpour, Latif, 2023). Фізіологічні та анатомічні реакції мохоподібних у змінених умовах гравітації важливі з огляду еволюції властивостей наземних рослин, серед яких мохи найдревніша група, що перейшла з водного до наземного середовища і адаптувалася до впливу гравітаційної сили.

Морфологічні відповіді мохів на змінену силу тяжіння (гравітаційний стрес, наприклад після кліноостатування), пов'язані з фізіолого-біохімічними процесами, від них залежить цитокінез, ріст і розвиток рослин (Лобачевська та ін., 2015; Кияк та ін. 2021; Tamaoki et al., 2006). Мікрогравітація впливає на структуру клітинних стінок, цитоплазматичні органели, форму клітин *Funaria hygrometrica* (Недуха, 2015). В таких умовах відбувалася деструкція хлоропластів, збільшувалися кількість та розміри пероксисом, пришвидшувалося старіння клітин (Gazaryan et al., 2006; Kordyum, 2014). Долучаються також антиоксидантні системи захисту від окиснювальної деструкції, динаміка і фазові зміни інтенсивності реакцій. Встановлено фазну закономірність прооксидантно/антиоксидантної рівноваги для гаметофіту *Pohlia nutans* залежно від тривалості кліноостатування. Тому перебіг і зворотність біохімічних реакцій та морфологічні зміни розглядають як регулятор захисту від окиснювального стресу, спричиненого гравітаційним стресом. Специфіка метаболізму клітин протонеми і гаметофіту, таким чином, є адаптаційним механізмом до умов зміненої гравітації.

Гравітація є єдиною постійною силою впродовж еволюції Землі і всі живі організми еволюційно пристосувалися до земного тяжіння 1g. Будь-яке відхилення від сили тяжіння Землі (1 g) – гіпер-/ чи гіпогравітації спричинює фундаментальні зміни у фізіології, структурі, функціях і поведінці організмів, насамперед рослин (Santos et al., 2012; Swamy et al., 2021). Відомо, що в умовах гіпергравітації з'являються деякі фенотипні і фізіологічні переваги

рослин, як швидкість проростання насіння і стійкість до сольового стресу калуса *Daucus carota*, інтенсивність фотосинтезу моху *Physcomitrium patens* унаслідок збільшення кількості хлоропластів (Swamy et al., 2021).

Резистентність мохоподібних до дії абіотичних стресових факторів унікальна. Для *Weissia controversa* обґрунтовано, що різна форма росту наземних і підземних столонів протонеми є адаптацією до аридного клімату: забезпечує виживання рослини, якщо висихають її наземні органи, і є захисним бар'єром від впливу УФ опромінення, екрануючи критичні ультраструктури клітини від УФ променів (Лобачевська та ін., 2019; Кияк та ін., 2021). Чи є зв'язок між морфофункціональною організацією протонеми *W. controversa*, її реакцією на гравітаційне подразнення і підвищеною стійкістю рослин моху до УФ-випромінювання? Відповідь була позитивною: встановлено вплив гравітації на морфологію протонемної дернини і визначено зв'язок між стійкістю до УФ і клітинною структурою дернини. Саме завдяки щільній дендроїдній протонемі, що екранує каулонемні столони, поріг виживання *W. controversa* був набагато вищий, ніж у інших виді мохів.

Високу індуковану стійкість мохів до УФ опромінення визначено для видів з Антарктики, де особливо високий рівень радіоактивного опромінення і УФ променів різних довжин хвиль (Гродзинский, 2013). В незамерзаючих прибережних районах Антарктики мохи є головним компонентом рослинного покриву і в екстремальних умовах регіону кількість мохів досягає 40 % флори. Обговорюючи пластичність мохів, як спосіб реакції на зміну фактора середовища, описано чимало біохімічних, фізіологічних і морфологічних механізмів, що обмежують їх пошкодження від стресових температурних флуктуацій Антарктики (Robinson et al., 2000; Wasley et al., 2006; Block et al., 2009; Bramley-Alves et al., 2014).

Приуроченість мохів до стресових кліматичних умов Антарктики є результатом різноманіття морфологічних властивостей, зокрема галуження і щільності дернин, густоти пагонів. Ультрафіолетове опромінення індукує в клітинах «окиснювальний стрес», до якого чутливі ліпіди мембранних структур і хлорофіл тилакоїдів хлоропластів. Запобігають такому пошкодженню УФ-абсорбуючі сполуки фенольної природи (УФ-АС), що є найпоширенішою реакцією судинних рослин Антарктики на дію УФ (Sroka, 2005; Iqbal et al, 2019; Newsham., Robinson, 2009; Newsham, 2010). Не завжди існує пряма залежність між накопиченням УФ-АС і толерантністю до УФ-опромінення, але феноли суттєво зменшують проникнення УФ променів у клітину, або сприяють біохімічному захисту від вільнорадикальних реакцій. Цю роль виконують флавоноїди, що функціонують як антиоксиданти і поглинальні молекули (Sroka, 2005). Фотопротекторні властивості флавоноїдів забезпечує їх висока поглинальна здатність в УФ-спектрі та швидка електронно транспортна система фотореакцій (Dixon, Paiva,

1995). Вміст та локалізація УФ-АС для бріофітів, порівняно з судинними рослинами, вивчена менше (Newsham, 2010; Zhao, Dixon, 2013; Fabon, et al., 2012). Дослідження загального вмісту фенолів (розчинної вакуолярної і зв'язаної у клітинній стінці фракцій), спектри поглинання флавоноїдів, світлозахисних пігментів антоціанів і каротиноїдів (Кияк та ін., 2021, Кууак et al., 2021; 2022) та монографічний огляд фізіології бріофітів (Glime, 2017) доповнили моделі адаптивної стратегії мохів і пояснення механізмів стійкості бріофітів до УФ опромінення.

Заселення мохів в Антарктиці стало можливим унаслідок скоординованих систем захисту структури і функцій мембран розчинними вуглеводами і ліпідами, каротиноїдами, вміст і показники котрих були високі і, очевидно, як прогресивна адаптивна ознака, закріпилися в онтогенезі. Можна теж прийняти, що середовище Антарктики стало регуляторним чинником гравізалезного фенотипу мохів унаслідок морфологічних і функціональних змін.

Цікавий, і на перший погляд малоімовірний факт впливу гравітації на вегетативне розмноження в екстремальних умовах. Однак, експериментально підтверджено, що вегетативні органи *P. imbricatum* з Антарктики закладалися не у ґрунті на протонемі, як звичайно у мохів (наприклад, у популяції *P. imbricatum* з Львівської області), а на гравічутливих пагонах (Лобачевська та ін., 2019). У бріологічній літературі така морфологічна особливість має назву гравіморфозу, а його механізмом є гравітропізм, що дає можливість протонемі чи гаметофорам *P. imbricatum* піднятися над поверхнею дернини, часто зануреної у воду під час весняних повеней. У *P. imbricatum* на гравітропних гаметофорах закладалися виводкові бульбочки, і це пришвидшувало їх формування під час короткого весняно-літнього періоду в Антарктиці, а гравіморфоз став онтогенетичною адаптивною ознакою. Щоби обґрунтувати такий висновок для різних видів мохів, а тим більше для інших груп рослин, необхідно розширити дослідження (Lobachevska et al., 2022; Prather et al., 2019). Слід наголошувати на необхідності використовувати різні, інколи простіші біологічні об'єкти для визначення порогу чутливості до дії стресора і гравіперцепції та механізмів, що контролюють розвиток гравіморфозів (Braun et al., 2018; Kordyum, Hasenstein, 2021; Кордюм, 2023).

Для визначення впливу мікро- та гіпергравітації на рослини та їх реакцію на дію чинників необхідно відповідним чином маніпулювати силою тяжіння. За сучасними технологіями ми можемо імітувати умови невагомості і гіпергравітації на Землі кліностакуванням або використовуючи ультрацентрифуги. Немає сумніву, що в еру космічної біології, рослини слід вирощувати у космосі, але паралельні експериментальні роботи на Землі також важливі для з'ясування механізмів гравітропізму. Зокрема, відомо, що сила тяжіння може призвести до зміни процесів проліферації, диференціації клітин, сигналізації, експресії

генів (Blancaflor, 2002; Vorselen et al., 2014; Tobias et al., 2020; Su et al., 2020). Щойно доступнішими стануть дослідження в космосі, про роль гравітації у життєдіяльності рослин ми дізнаємося докладніше.

Запропоновано декілька моделей трансдукції сигналу унаслідок осідання/переміщення амілопластів у латеральний транспорт ауксину, що зрештою призводить до згину і гравітропного росту (Braun et al., 2018; Su et al., 2020). Проте чимало суперечливих результатів щодо підвищення рівня Ca^{2+} і без значного зміщення амілопластів, тому очікуємо на сучасні методичні підходи і високочутливі датчики Ca^{2+} , що зможуть підтвердити зв'язок між зміною Ca^{2+} і гравітропною сигналізацією.

Одна з моделей передбачає, що ендогенні та екзогенні сигнали просторово-часово кодуються через іонні системи, де рівень цитоплазматичного Ca^{2+} і Ca^{2+} -залежних потоків функціонує як внутрішньоклітинний вторинний месенджер (Saunders et al., 1999; Plieth, Trewavas, 2002; Toyota et al., 2008; Dodd et al., 2010). Встановлено, що 10 хв вплив мікрогравітації, або у земних умовах гіпергравітація і незначне зміщення пластид, ініціюють зміни цитозольного кальцію (Bizet et al., 2018). Визначено особливе значення кальцію для клітин з верхівковим типом росту. Градієнт Ca^{2+} встановлено для пилкових трубок, корневих волосків, ризоїдів водоростей, протонеми мохів (Sievers et al., 1996; Хоркавців та ін., 2002; Demkiv et al., 2003; Kordyum et al., 2009). Апікально-базальний градієнт кальцію є основою біоелектричної полярності клітин протонеми, який регулює ріст розтяганням та є посередником у передачі гравісигналу. Унаслідок осідання амілопластів відбувається перерозподіл іонів Ca^{2+} , змінюється вісь полярності і росту – утворюється гравітропний згин. Блокатори потенціал-залежних кальцієвих каналів і Ca^{2+} -АТФаз пригнічували граві- і фототропну реакцію, впливали на локалізацію пластид. Це означає, що градієнт Ca^{2+} є пріоритетним в індукції гравітропізму протонеми мохів (Демків та ін., 2009; Кордюм, 2016).

Полярна транспорта система Ca^{2+} є регулятором фізіологічних процесів розвитку рослин. Канали, насоси та переносники, як функціональна основа гомеостазу Ca^{2+} , забезпечують механічні засади для генерації сигналів Ca^{2+} , регулюючи рух іонів між субклітинними компартментами, між клітиною та її позаклітинним середовищем (Dodd et al., 2010). Блокатори Ca^{2+} -каналів, інгібітори кальмодуліну та/або Ca^{2+} /кальмодулінзалежних протеїнкіназ (як KN-93), призводять до порушень гравітропізму (Sinclair, Trewavas, 1997; Lu, Feldman, 1997; Monshausen et al., 2011; Su et al., 2020). Встановлена участь Ca^{2+} у модулюванні змін позаклітинного рН, що відбуваються вздовж гравістимульованих кінчиків коренів *Arabidopsis* на дію ауксину і під час гравітропного згину (Monshausen et al., 2007, 2011). Проте, досліджені

часові та просторові параметри недостатні для визначення, на яку саме фазу гравітропізму впливає Ca^{2+} (Plieth, 2005; Bender, Snedden, 2013).

Специфічні амплітуда і коливання вмісту і потоків Ca^{2+} є критично важливі для гравістимулу на початкових етапах перцепції, коли відразу і різко підвищується рівень цитозольного кальцію (Scraser-Field, Knight, 2003; Dodd et al., 2010). Крім того, ідентифікація системи Ca^{2+} потоків має вирішальне значення для з'ясування сигнальних шляхів і фізіологічних реакцій під час тривалої дії подразника, яким є гравітаційний стрес (Toyota, Gilroy, 2013). Підтримка затяжних реакцій може відбуватися через сигнальну біохімічну мережу, яка має бути дієвою протягом тривалого часу після їх активації. Для гравітропізму, зокрема, необхідна серія трансдукції між активацією іонних каналів (від секунд до хвилин) до латерального градієнту ауксину (5 хв у коренях арабідопсису) і його підтримки (1–2 год), а також росту (багато год).

Для формування гравітропних кутів під час ініціації галуження багатьох органів, необхідна динамічніша система, здатна довго або й постійно моніторити гравітропну стимуляцію/відповідь. Одним з молекулярних компонентів, що може забезпечити тривалу гравіреакцію, є модуляція цитоскелету (Nick, 2008; Buschmann, Lloyd, 2008; Buschmann et al., 2016; Soda et al., 2016) і його динамічні зміни, від яких залежить також толерантність і адаптація до зміненої гравітаційної сили.

Інформація про зміну напрямку вектора сили тяжіння перетворюється на біохімічні сигнали і призводить до диференційного потоку ауксину переважно за участю білків PIN, які реполяризуються на плазматичній мембрані і регулюють транспорт ІОК (Harrison, Masson, 2008; Roychoudhry et al., 2013; Rosquete et al., 2018). Значних успіхів у з'ясуванні механізмів гравістимуляції отримано завдяки ідентифікації білків родини *LAZY1*, як сигнальних факторів гравітації, що контролюють, зокрема, архітектуру рослини (Kawamoto, Morita, 2022). Пригнічує гравітропізм коренів АБК, інгібуючи поділи клітин у меристемі та ріст розтяганням, унаслідок зменшення рецепторів АБК (Gasperini et al., 2015; Sathasivam et al., 2022).

Класичні фізіологічні дослідження допускають участь цитоскелету у сприйнятті/відповіді на гравісигнал під час тривалої ростової реакції незалежно від біохімічних сигнальних процесів, що були зумовлені гравіперцепцією. Враховуючи, що амілопласти передають гравітаційне напруження на мембрани і цитоскелет, гравітропна реакція має бути чутливою до величини сили тяжіння. Проте фізіологічні експерименти з покритонасінними поєднані з гіпергравітацією або кліноостатуванням свідчать, що гравітропізм пагонів залежить від кута нахилу пластид (Chauvet et al., 2016). Очевидно, найменше зміщення пластид під час седиментації активує їх збуджений стан, який

підтримується через зв'язок з актиновим цитоскелетом (Nakamura et al., 2019). Гравітропна ростова реакція протонеми моху *Physcomitrium pyriforme*, однак, підвищується залежно від дози (величини) гравітаційної сили (Takemura et al., 2017). Звичайно, що гіпотеза положення пластид має право бути робочою концепцією для з'ясування зв'язку між седиментацією амілопласту і трансдукцією біохімічного сигналу в гравітропізм (Kawamoto, Morita, 2022).

Мікротрубочки та мікрофіламенти не розглядають як первинні акцептори гравітаційного стимулу, а скоріше вважають частиною сигнальної системи, індукованої гравітацією. Для організмів з верхівковим типом росту цитоскелет є динамічним каркасом структурних білків, що має вирішальне значення для процесів росту (Schwuchow et al., 1990; Braun 1997; Braun, Limbach 2006; Finka et al., 2007; Vorselen et al., 2014; Braun et al., 2018). Визначено регуляторну роль мікротрубочок (МТ) і мікрофіламентів (МФ) у морфогенезі (Wasteneys, Yang, 2004), відкладанні та формуванні целюлозного мікрофібрильного кута деревини на дію гравітації (Barnett, Bonham, 2004; Tobias et al., 2020), детермінації форми клітин і порушенні процесів росту (Chan et al., 2011; Crowell et al., 2011). Мікроструктура цитоскелету реагує на зовнішні і ендогенні подразники і може суттєво відрізнятися у різних місцях клітини (Kwon, Kim, 2020); МТ і АФ впливають на поляризацію клітин і процеси клітинної диференціації (Nick, 2011; Шевченко, 2024).

Апікальна клітина протонеми мохоподібних є об'єктом експериментальних досліджень ролі цитоскелету у гравічутливості (Schwuchow et al., 1990; Demkiv et al., 2003; Kern et al., 2005; Cove et al., 2006; Korodyum et al., 2009). Первинна реакція клітин на змінену гравітацію особливо важлива для визначення фізіологічних реакцій організму під час космічних польотів. Вважається, що іони Ca^{2+} необхідні для полярного росту клітин насамперед тому, що підтримують їх поляризацію, контролюючи активність цитоскелету. Робота цитоскелету у ростучих апікальних клітинах залежить від Ca^{2+} і функціонування Ca^{2+} -АТФази; градієнт кальцію є посередником у передачі сигналу у статоцитах коренів (Демків та ін., 2009; Кордюм, 2009). Актинові, тубулінові білки і Ca^{2+} спільно локалізуються у зонах росту протонеми *Funaria hygrometrica* (Demkiv et al., 2003). МТ орієнтуються паралельно вздовж осі росту протонеми і, не досягаючи апексу верхівкової клітини зосереджуються у перинуклеарній зоні і навколи пластид. Очевидно, МТ не беруть участі у первинних процесах гравісигналізації. Мікротрубочки підтримують зональність цитоплазми, стабілізують базальну вакуолярну зону та положення ядра, а також розподіл органел у субапікальній частині клітини. Червоне світло $\lambda = 630\text{-}670$ нм активує полімеризацію тубуліну, що супроводжується підвищенням імунофлуоресценції білку; фітохромна система регулює процеси морфогенезу мохів, не без того, що впливає на баланс активного тубуліну. Морфози апікальних клітин *Funaria*

hygrometrica на високих інтенсивностях червоного світла ($1,5 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$) супроводжувалися порушенням мітозів і формуванням клітинної перетинки, структурою мережі мікротрубочок, яка відновлювалася одночасно з ініціацією росту (Demkiv et al., 2003; Демків та ін., 2005; Korodyum et al., 2008).

Визначено, що мікротрубочки в культурі протопластів у мікрогравітації менше впорядковані, ніж у наземному контролі (Kolesnikov et al., 2016). У мутантів *Arabidopsis* із порушеним тубуліновим цитоскелетом і дещо скрученим стеблом, під впливом гіпергравітації змінювалася орієнтація мікротрубочок (Su et al., 2017). Впливаючи на відкладання целюлози, мікротрубочки корегують структурну організацію і ріст клітинної стінки, щоби подолати дію сили гравітації (Vandenbrink et al., 2016).

МФ локалізуються в апексі клітини, що функціонує як місце полімеризації актину, а деполімеризація МФ цитохалазином В повністю руйнує верхівковий ріст. Мікрофіламенти актину сконцентровані у верхівці апікальної клітини протонеми, утворюючи лабільний каркас, який змінювався з переорієнтацією росту протонеми (Demkiv et al., 2003). Динамічний комплекс актинових філаментів у апікальному домені клітини має функціональне значення на різних стадіях гравісприйняття і гравітропізму. В куполі апікальних клітин тонкі аксіально розміщені актинові мікрофіламенти утворюють щільний комплекс з ендоплазматичним ретикулумом і транспортними білками, які переносять везикули вздовж цитоскелету до апікальної зони росту протонеми (Limbach, Braun, 2008; Braun, 2018). Для гравітропізму коренів актинові філаменти важливі як структура, через яку поширюється гравісигнал, що супроводжується змінами кута нахилу і орієнтації росту. Актин може виконувати механочутливу функцію і бути регулятором сили сигналу. Визначено, що вміст актинових білків та склад молекулярних форм актину під час тривалого кліностакування не змінювався (Kozeko et al., 2009), але в умовах мікрогравітації порушувалася щільність і впорядкованість мікрофіламентів, які відновлювалися через 48 год (Vorselen et al., 2014). Визначено, що зумовлена гравісигналом переорієнтація МФ з прямолінійної на косу і більш косу, цілком ймовірно, свідчить про транспортний шлях ендцитозних везикул з PIN-білками і пероксисом з ферментами до плазматичної мембрани, контролює асиметричний розподіл ауксину (García-González, Gelderen, 2021; Шевченко, 2024). Наразі не відомо, яким чином сітка актинових мікрофіламентів реагує на сигнал від седиментації пластид і ретранслює його у диференційний розподіл PIN та гравітропізм (Blancaflor, 2002; Pozhvanov et al., 2013; Oulehlová et al., 2019; García-González, Gelderen, 2021). Чутлива також до вектора і сили гравітації самоорганізація тубулінових мікротрубочок, хоча це було з'ясовано лише після експериментів у космосі, сьогодні результати підтверджують функціональну залежність змін цитоскелету від

гравітаційної сили (Vorselen et al., 2014). Взаємодія між актиновими філаментами і мікротрубочками важлива для різних клітинних процесів еукаріот. Визначені типи з'єднань між МФ і МТ і безпосередня участь F-актинів, які утворюють містки між мікротрубочками, що сприяє формуванню препрофазного мітотичного кільця у *Allium cepa* (Collings, 2008; Takeuchi et al., 2016; He et al., 2020). У перспективі досліджень реакцій цитоскелету на дію гравітації та зовнішні сигнали слід з'ясувати, принаймні, ще один молекулярний механізм – системну дію білкових молекул МТ і МФ у регуляції транспорту і асиметричному розподілі органел цитоплазми та переносників ауксину для їх локалізації у зоні росту, що життєво важливо для рухів, тропізму і росту рослин.

У монографії представлено результати досліджень гравічутливості і механізмів реакції-відповіді мохоподібних на зміну вектора гравітації та значення сили тяжіння у життєвій історії рослин. Чітко визначена ланка процесів від перцепції гравісигналу до тропізму і морфозів, як пряме підтвердження гравітаційного впливу на ріст і морфогенез рослин. Визначені клітинні аспекти гравітропного сигнального шляху, молекулярні механізми сприйняття гравітації і ростових реакцій, цитоскелетна структура як механочутлива і транспортна система. Гравітаційно залежна орієнтація у просторі та гравіморфози є екологічною властивістю органів і чітким морфологічним пристосуванням у стресових кліматичних умовах. Фундаментальні дослідження гравічутливості сприятимуть розвитку біорегенеративної системи і вирішенню проблеми забезпечення рослин та людей у космосі, максимально ефективного обмеження ресурсів і маси під час дослідницьких місій у космосі, для наземного застосування на полярних станціях і у різних віддалених екстремальних районах Землі.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

У монографії «Гравічутливість мохів: значення гравітаційної сили в онтогенезі» представлено результати досліджень гравітаційної біології мохів, вперше сформульовані основні концепції щодо гравітропних реакцій мохів, з'ясовані механізми гравічутливості, гравітропізму, гравіморфозів, фенотипної пластичності гаметофіту та адаптивне значення гравітації у життєдіяльності мохів у природних екологічних умовах, реакції захисту рослин при змінній гравітації. Визначено внесок результатів виконаних робіт у сучасну космічну біологію і подано новітні експериментальні напрямки досліджень на теперішній час.

Відзначимо, що мохи є одними з перших об'єктів вивчення гравічутливості рослин, і лише згодом ініціатива перейшла до судинних рослин. Ми ж не перестаємо підкреслювати переваги і перспективи досліджень мохоподібних для всебічного й точного розуміння гравітаційних реакцій рослин. Підтвердженням цього є завершена колективна монографія та чисельні оглядові статті опубліковані у різні роки. У монографії описані 8 нових гравічутливих видів, в яких визначено кореляцію між морфо- функціональними особливостями амілопластів та гравітропним ростом протонеми, показано значення гравітації в життєвому циклі мохів.

Протонема – це одноклітинна нитчаста структура, де сприйняття, трансдукція і реалізація гравістимулу обмежені однією апікальною клітиною, єдиною, що ділиться. Це скорочує відстань сигналу до зони росту, порівняно з трансдукцією в корені чи стеблі. Крім того, гаплоїдний набір хромосом у тканинах головної життєвої форми мохів – гаметофіті, спрощує регуляцію (включення-виключення) генної активності, розширює можливості для молекулярних досліджень.

Одноклітинні спори мохів реагують на вплив гравітаційної сили так само як окремі органи і цілі рослини, а амілопласти є їх гравісенсорною системою. Особливістю протонеми є те, що на світлі в умовах 1g вона росте плагіотропно, в темряві апікальні клітини піднімаються над агаром, виявляючи негативний гравітропізм, а після кліностакування столони протонеми утворюють спіральні, гвинтоподібні згини.

Здатність спор реагувати на вектор гравітації впливає на варіабельність закладання та вісь росту проростків. Реакція перших проростків на сигнал гравітації у різних видів відрізняється, сприяючи морфологічній варіабельності мохів, та виконує чітку адаптивну функцію. Вважають, що гравізалежний ріст проростків корелює із компетенцією клітин реагувати на дію гравістимулу відповідно до програми формотворчих процесів, а седиментація амілопластів є її тригерним механізмом. Для багатьох видів мохів чіткої гравічутливості проростків спор не виявлено, а гравітропізм розвивається на інших стадіях

гаметофіту. Наприклад, дедиференціація клітин каулонами *Weissia controversa* до гравічутливої хлоронемі є винятковою гравіреакцією, завдяки якій з хлоронемних проростків на поверхні ґрунту розвивається густа розгалужена протонемна дернинка з гаметофорами. Тому виняткове значення позитивний і негативний гравітропний ріст має у тих стресових кліматичних умовах, де поширений вид. На основі досліджень гравічутливості видів мохів з екстремальних умов поширення встановлено, що гравітропізм видоспецифічний і проявляється залежно від екологічних факторів.

Важливим етапом розвитку протонемі мохів є закладання бруньок і розвиток гаметофорів. Апікальне брунькоутворення належить до особливих гравіморфозів, і сила тяжіння вперше розглядається як фактор морфогенезу листкостеблових пагонів. Заключення про розвиток бруньок залежно від взаємодії світла і гравітації зроблено у серії експериментів в умовах реальної мікрогравітації. У досліджах з морфогенетично активним червоним світлом, спільно з американськими вченими, чітко доведено, що векторна дія гравітації є обов'язковою умовою для фотоморфогенезу бруньок. Поляризуючий ефект гравітації коректує градієнтний розподіл фітогормонів, активний транспорт Ca^{2+} та ІОК, індукує формування атрагуючого центру в апексі верхівкових клітин протонемі.

Поширеною формою морфогенезу рослин є спіральний ріст. Завдяки унікальних дослідів у Космосі розкрито ендегенну природу спірального морфогенезу, ефект фото / гравітропізму і конкурентну взаємодію між тропізмами. Досліджуючи ріст протонемим *C. purpureus*, *B. unguiculata* і *P. patens* в умовах 1g, мікрогравітації, кліностакування встановлено, що спіральність протонемі регулюється екзо- та ендегенними чинниками, дія яких на Землі маскується гравітацією або світлом.

Для космічної біології важливо з'ясувати стійкість генеративної системи рослин до умов мікрогравітації, вплив гравітації на тривалість життєвого циклу, механізми адаптації до польотів. Більшість мохів, звісно, розмножується і вегетативно, і генеративно. На прикладі декількох видів мохів встановлено, як у природньому середовищі змінюється закладання вегетативних репродуктивних органів під впливом гравітації. У *Ptychostomum pseudotriquetrum* завдяки гравічутливості гаметофорів у пазухах листків утворювалися бульбочки, як надійний спосіб розмноження в умовах короткого вегетаційного періоду Антарктики. Поляризуюча дія гравітації підтримує осморегуляцію і може зменшити негативний вплив дефіциту води. В умовах сезонного дефіциту води завдяки гравітропізму протонемі це пришвидшує розвиток дернинки, впливає на збільшення чисельності виводкових тілець, запасання поживних речовин у *Leptobryum pyriforme*. Розмноження спеціалізованими виводковими органами водночас полегшує поглинання й утримання води з

грунту, підтримує банк життєздатних діаспор. Тому гравіморфози ми оцінюємо як нову стратегію пристосування мохів у екстремальних природних умовах, яка сприяє їх розмноженню і виживанню.

Мікрогравітація чи зміна величини сили тяжіння на Землі є стресовим середовищем, на яке рослина відповідає захисними реакціями. Космічні дослідження забезпечують унікальні умови і можливості для потенційно нових реакцій у відповідь на гравітаційний стрес. Розвиток адаптивних реакцій на зміну $1g$ відбуваються внаслідок метаболічних і морфологічних структурних модифікацій на різних рівнях організації. Такі гравізалежні процеси як активація галуження та кути бокових галузок в умовах зміненої гравітації ініціюють морфологічну видозміну габітусу дернин мохів. Морфологічні відповіді мохів на змінену силу тяжіння пов'язані з фізіолого-біохімічними процесами, від них залежить цитокінез, ріст і розвиток рослин.

Мікрогравітація впливає на структуру клітинних стінок, цитоплазматичні органели, форму клітин *Funaria hygrometrica*. В таких умовах відбувалася деструкція хлоропластів, збільшувалися кількість та розміри пероксисом, пришвидшувалося старіння клітин. Долучаються антиоксидантні системи захисту від окиснювальної деструкції. Одним із індукторів функціональних стрес-реакцій є пероксид водню. В умовах симульованої мікрогравітації у культурі *Pohlia nutans* збільшувався вміст H_2O_2 , якому передувало накопичення цитозольного Ca^{2+} та активація Ca^{2+} -залежної НАДФН-оксидази. Концентрація пероксиду після гравітаційного стресу знижувалася і поступово відновлювалася прооксидантно/антиоксидантна рівновага.

У протонемних дернинках *Physcomitrella patens* і *Bryum argenteum* унаслідок кліностаування істотно збільшувався вміст первинних продуктів ліпопероксидації – дієнових кон'югатів та незначно підвищувався вміст малонового діальдегіду, що послаблює клітинну стінку і опірну системи цілого організму. Вважають, що розвиток процесів ПОЛ і зворотність біохімічних реакцій є ключовою ланкою захисту від окиснювального стресу.

Гравітропізм і ефекти мікрогравітації обговорюються з огляду механізмів впливу сили тяжіння на ріст і адаптацію до гравітації. Структурним компонентом процесів галуження клітин, форми гравітропного кута, орієнтації галузок є динамічна система цитоскелету, що підтримує тривалу гравіреакцію. Участь цитоскелету залежить від Ca^{2+} і Ca^{2+} -АТФази в апікальних клітинах, де кальцій є посередником у передачі сигналу. МТ, МФ і Ca^{2+} спільно локалізуються у зонах росту протонемі мохів. У мікрогравітації мікротрубочки в культурі протопластів і апікальних клітинах протонемі менше впорядковані, ніж у контролі на Землі. Вміст актину та склад молекулярних форм білку під час кліностаування не змінювався.

Мікротрубочки корегують структурну організацію і ріст клітинної стінки, впливаючи на відкладання целюлози. Це підвищує силу опору клітинної стінки на дію гравітації. МФ функціонують як механочутлива структура і регулятор гравісигналу. Системна дія білкових молекул МТ і МФ у регуляції транспорту і асиметричному розподілі органел цитоплазми та переносників ауксину до зони росту особливо важлива для тропізму рослин.

Потенційно гравітація є екзогенним фактором модифікації генної експресії. Метилування ДНК впливає на синтез на рівні мРНК і в умовах абіотичного і біотичного стресу епігенетична система контролює стійкість до несприятливих умов. Визначено, що метилування ДНК впливає на стадії перцепції і трансдукції гравісигналу і на тривалість збереження пам'яті про гравістимул. Епігенетична пам'ять, як природний механізм, розширює варіації фенотипних ознак у відповідь на постійні флуктуації природного середовища. Фенотип галуження й варіабельність гравітропних кутів латеральних галузок *Polytrichastrum arcticum* і модифікація ізоферментних спектрів пероксидази протонеми *Physcomitrium patens* в умовах зміненої гравітації контролюються епігенетично унаслідок зміни стану метилування ДНК. Морфологічна форма галуження зберігається у клітинних поділах і може спадково закріпитися, а від мінливості і частоти розгалужень залежить щільність дернини. У стресових умовах це набуває адаптивного значення.

У монографії визначена ланка процесів від перцепції гравісигналу до тропізму і морфозів, як пряме підтвердження гравітаційного впливу на ріст і морфогенез рослин. Визначені клітинні аспекти гравітаційного сигналіngu, молекулярні механізми сприйняття гравітації і ростових реакцій, цитоскелет як транспортна і механічна структура у динамічному гравітропному рості. Гравітаційно залежна орієнтація у просторі та гравіморфози є екологічною стратегією і чітким морфологічним пристосуванням у стресових кліматичних умовах.

У перспективі нові проекти і дослідження космічної біології могли б зменшити обсяг нерозв'язаних питань про значення гравітаційної сили в онтогенезі та життєвій стратегії рослин, поляризації фізіологічних процесів, у морфогенезі, структурі та функціях, вирішити проблеми планування експериментів та вирощування рослин у космосі як ключових компонентів життєзабезпечення пілотованих систем.

SUMMARY

The monograph "Gravisensitivity of mosses: the importance of gravitational force in ontogenesis" presents the results of research of the gravitational biology of mosses, for the first time formulates the basic concepts of gravitropic reactions of mosses, elucidates the mechanisms of gravisensitivity, gravitropism, gravimorphosis, phenotypic plasticity of the gametophyte and the adaptive significance of gravity in the life of mosses in natural ecological conditions, as well as the reactions of plant defense under changed gravity. It is estimated the contribution of the results of the work to modern space biology and presented the newest experimental research directions at the present time.

It should be noted that mosses are one of the first objects for studying the gravisensitivity of plants, and only later the initiative was transferred to vascular plants. We do not cease to emphasize the advantages and perspectives of studying bryophytes for a comprehensive and accurate understanding of the gravitational reactions of plants. This is confirmed by the completed collective monograph and numerous review articles published in different years. The monograph describes 8 new gravisensitive species, in which the correlation between the morphofunctional features of amyloplasts and the gravitropic growth of the protonemata is determined, and the importance of gravity in the life cycle of mosses is shown.

The protonema is a unicellular filamentous structure, where the perception, transduction and implementation of the gravistimulus are limited to one apical cell, the only one that divides. This shortens the distance of the signal to the growth zone, compared to transduction in the root or stem. In addition, the haploid set of chromosomes in the tissues of the gametophyte – the main life form of mosses, simplifies the regulation (switching on and off) of gene activity, expanding the possibilities for molecular research.

Unicellular moss spores respond to the influence of gravitational force in the same way as individual organs and whole plants, and amyloplasts are their gravisensory system. A feature of the protonemata is that in the light under 1g conditions it express plagiotropic growth, in the dark the apical cells rise above the agar, showing negative gravitropism, and after clinorotation the protonema stolons form spiral folds.

The ability of spores to respond to the gravity vector affects the variability of initiation and the axis of the growth of outgrowths. The reaction of the first outgrowths to the gravity signal differs from species to species, contributing to the morphological variability of mosses, and performs a clear adaptive function. It is believed that gravidependent growth of outgrowths correlates with the competence of cells to respond to the gravistimulus influence in accordance with the program of form-forming processes, and amyloplasts sedimentation is its trigger mechanism. For many moss

species, clear gravity sensitivity of spore outgrowths has not been detected, and gravitropism develops at other stages of the gametophyte. For example, the dedifferentiation of *Weissia controversa* caulonema cells to gravisensitive chloronema is an exceptional gravity reaction, due to which a dense branched protonemata turf with gametophores develops from chloronema outgrowths on the soil surface. Therefore, positive and negative gravitropic growth is of exceptional importance in those stressful climatic conditions where the species is widespread. Based on studies of the gravisensitivity of moss species from extreme distribution conditions, it has been established that gravitropism differs from species to species and appears depending on environmental factors.

An important stage in the mosses protonema development is the buds formation and the development of gametophores. Apical buds formation belongs to special gravimorphoses, and for the first time gravity considered as a factor in the morphogenesis of leaf-stem shoots. The conclusion about the development of buds depending on the interaction of light and gravity was formulated after the series of experiments under real microgravity conditions. In experiments with morphogenetically active red light, together with American scientists, it was clearly proven that the gravity vector is a prerequisite for the photomorphogenesis of buds. The polarizing effect of gravity corrects the gradient of phytohormones distribution, active transport of Ca^{2+} and IAA, induces the formation of an attractive center in the apex of the protonema apical cells.

A common form of plant morphogenesis is spiral growth. Due to unique experiments in Space, the endogenous nature of spiral morphogenesis, the effect of photo-gravitropism, as well as the competitive interaction between tropisms have been revealed. Investigation the growth of protonema of *C. purpureus*, *B. unguiculata* and *P. patens* in conditions of 1g, microgravity, and clinorotation, showed that the spirality of the protonema is regulated by exogenous and endogenous factors and their influence masked by gravity or light on Earth. For some species, spirality represents gravity-dependent morphogenesis; for others, light dependent morphogenesis.

For space biology, it is important to find out the resistance of the generative system of plants to microgravity conditions, the effect of gravity on the life cycle duration, and the adaptation mechanisms to flights. Most mosses, of course, reproduce both vegetatively and generatively. Using the example of several mosses species, it has been established how the initiation of vegetative reproductive organs changes in the natural environment depending on the influence of gravity. In *Ptychostomum pseudotriquetrum*, due to the gravisensitivity of gametophores, tubers were formed in the leaf axils as a reliable way of reproduction in the conditions of the short growing season of Antarctica. The polarizing effect of gravity supports osmoregulation and can reduce the negative effect of water deficit. In conditions of seasonal water deficit, the gravitropism of protonema accelerates the turf development, increases the number of brood bodies, and increases the nutrients

supply in *Leptobryum pyriforme*. Reproduction by specialized brood organs simultaneously facilitates the absorption and retention of water from the soil and maintains a bank of viable diaspores. Therefore, we evaluate gravimorphosis as a new adaptation strategy of mosses in extreme natural conditions, which contributes to their reproduction and survival.

Microgravity or changes in the gravity magnitude on Earth is a stressful environment to which plants respond with protective reactions. Investigation in Space provides unique conditions and opportunities for potentially new reactions in response to gravitational stress. The development of adaptive responses to a change in 1g occurs as a result of metabolic and morphological structural modifications at different levels of organization. Gravidependent processes such as branching activation and lateral branch angles under conditions of altered gravity initiate morphological modification of the habit of moss turfs. Morphological responses of mosses to altered gravity are associated with physiological and biochemical processes, which influence on cytokinesis, plant growth and development.

Microgravity affects the structure of cell walls, cytoplasmic organelles, and cell shape of *Funaria hygrometrica*. Under such conditions, chloroplast destruction occurred, the number and size of peroxisomes increased, and cell aging accelerated. Under the condition of microgravity antioxidant protection systems against oxidative destruction in cells are involved. One of the inducers of functional stress responses is hydrogen peroxide. Under conditions of simulated microgravity, the H₂O₂ content in the culture of *Pohlia nutans* increased, which was preceded by the accumulation of cytosolic Ca²⁺ and the activation of Ca²⁺-dependent NADPH oxidase. The peroxide concentration decreased after the gravitational stress and the prooxidant/antioxidant balance was gradually restored.

In the protonemal turfs *Physcomitrella patens* and *Bryum argenteum*, as a result of clinorotation, the content of primary lipoperoxidation products (diene conjugates) significantly increased and the content of malondialdehyde slightly increased, which weakens the cell wall and the defense system of the whole organism. It is believed that the development of lipid peroxidation processes and the reversibility of biochemical reactions are a key link in the protection against oxidative stress.

Gravitropism and the effects of microgravity are discussed from the perspective of the mechanisms of the gravity influence on growth and adaptation to altered gravity. Dynamic cytoskeleton system, that supports a long-term gravireaction, is the structural component of the processes of cell branching, the shape of the gravitropic angle, and the orientation of branches. The participation of the cytoskeleton depends on Ca²⁺ and Ca²⁺-ATPase in apical cells, where calcium is an intermediary in signal transmission. Actin and tubulin as well as Ca²⁺ co-localize in the growth zones of the mosses protonema. Under microgravity conditions, microtubules in protoplast culture

and apical cells of protonema are less ordered than in the control on Earth. The content of actin and the composition of actin molecular forms did not change during clinorotation. Microtubules adjust the structural organization and growth of the cell wall, affecting the deposition of cellulose. This increases the resistance of the cell wall to the influence of altered gravity. Actin functions as a mechanosensitive structure and a regulator of the gravisignal. The systemic effect of protein molecules microtubules and microfilaments in the transport regulation and asymmetric distribution of cytoplasmic organelles and auxin transporters to the growth zone is especially important for plant tropism.

Gravity is potentially an exogenous factor of modifying gene expression. DNA methylation affects synthesis at the template RNA level and under abiotic and biotic stress, epigenesis contributes to resistance to adverse conditions. It has been determined that DNA methylation affects the stages of perception and transduction of the gravisignal, as well as the duration of memory retention of the gravistimulus. Epigenetic memory, as a natural mechanism, expands the variations of phenotypic traits in response to constant fluctuations in the natural environment. It was shown, that the branching phenotype and variability of gravitropic angles of *Polytrichastrum arcticum* lateral branches and the changes in the expression of peroxidase genes and enzyme isoforms in the *Physcomitrium patens* protonemata under conditions of altered gravity 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. The morphological form of branching is preserved in cell divisions and can be hereditarily fixed, and the density of the turf depends on the variability and frequency of branching. Under stressful conditions, this acquires adaptive significance.

The monograph defines the link of processes from the perception of the gravisignal to tropism and morphosis, as a direct confirmation of the influence of gravity on the growth and morphogenesis of plants. It was determined the cellular aspects of gravitational signaling, molecular mechanisms of gravity perception and growth reactions, the cytoskeleton as a transport and mechanical structure in dynamic gravitropic growth. It was shown, that gravity-dependent orientation in space and gravimorphosis are an ecological strategy and a clear morphological adaptation to stressful climatic conditions.

In the future, new projects and research in space biology could reduce the volume of unresolved questions about the significance of gravitational force in the ontogenesis and life strategy of plants, the polarization of physiological processes, in morphogenesis, structure and functions, and solve the problems of planning experiments and growing plants in Space as key components of life support for manned systems.

ЛІТЕРАТУРА

- Adams A.E.M. (1991). Principle staining of actin with fluorochrome-conjugated phalloidin. *Meth. Enzymol.* – **194**: 729.
- Ajay S.M., Bhalla U.S. (2007). A propagating ERKII switch forms zones of elevated dendritic activation correlated with plasticity. *HFSP Journal*, **1**(1): 49–66. doi/10.2976/1.2721383/10.2976/1
- Ahmad P., Jaleel C.A., Salem M.A., Nabi G., Sharma S. (2010). Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology*. **30**(3): 161–175. doi: 10.3109/07388550903524243
- Alani F., Iranbakhsh A., Ebadi M., Hassanpour H., Hekmat A. (2023). Simulated microgravity improved secondary metabolism in *Physalis alkekengi* via influencing gene expression and DNA methylation in a light quality-dependent manner. *Acta Physiologiae Plantarum*, **45**(129): 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11738-023-03596-7>
- Allsopp A., Mitra G. (1958). The Morphology of Protonema and Bud Formation in the Bryales. *Ann. Bot.* (Oxford), **22**: 95–115.
- Aloni R., Aloni E., Langhans M., Ullrich C. I. (2006). Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. *Ann Bot.*, **97**(5): 883-893. doi: 10.1093/aob/mcl027.
- Ashapkin V.V., Kutueva L.I., Aleksandrushkina N.I., Vanyushin B. F. (2020). Epigenetic Mechanisms of Plant Adaptation to Biotic and Abiotic Stresses *Int. J. Mol. Sci.*, **21**(20): 1–33. 7457. doi:10.3390/ijms21207457
- Ashton N.W., Chulze A., Hall P., Bandurski R.S. (1985). Estimation of indole-3-acetic acid in gametophytes of the moss *Physcomitrella patens*. *Planta*, **164**: 142–144 <https://doi.org/10.1007/BF00391040>
- Baba A.I., Mir M.Y., Riyazuddin R., Cséplő Á., Rigó G., Fehér A. (2022). Plants in Microgravity: Molecular and Technological Perspectives. *Int J Mol Sci.*, **23**(18): 10548. doi: 10.3390/ijms231810548
- Bai C.H., Liang Y.L., Hawkesford M.J. (2013). Identification of QTL associated with seedling root traits and their correlation with plant height in wheat. *Journal of Experimental Botany*, **64**: 1745–1753.

Baldwin K.L., Strohm A.K., Masson P.H. (2013). Gravity sensing and signal transduction in vascular plant primary roots. *American Journal of Botany*, 100(1): 126–142. doi: 10.3732/ajb.1200318.

Baluška F., Mancuso S. (2009). Plant neurobiology. *Plant Signal Behav.*, 4(6): 475–476. doi: 10.4161/psb.4.6.8870.

Baluška F., Schlicht M., Wan Y-L., Burbach C., Volkmann D. (2009) Intracellular domains and polarity in root apices: from synaptic domains to plant neurobiology. *Nova Acta Leopold*, 96:103–122.

Baluška F., Volkmann D. (2011). Mechanical Aspects of Gravity-Controlled Growth, Development and Morphogenesis. In: Wojtaszek P. (Ed.). *Mechanical Integration of Plant Cells and Plants*. Springer Heidelberg Dordrecht London New York, 195–232. DOI 10.1007/978-3-642-19091-9

Barkasdjieva N.T., Chrostov K.N., Christina K.N. (2009). Effect of calcium and zinc on the activity and thermostability of superoxide dismutase and peroxidase. *Biologia Plantarum*, 43: 73–78.

Barlow P.W. (1995). Gravity perception in plants: a multiplicity of systems derived by evolution. *Plant Cell Environ.*, 18: 951–960. doi: 10.1111/j.1365-3040.1995.tb00606.x.

Barnett J.R., Bonham V.A. (2004). Cellulose Microfibril Angle in the Cell Wall of Wood Fibres. *Biological Reviews*, 79: 461–472. <http://dx.doi.org/10.1017/S1464793103006377>

Bay G., Nahar N., Oubre M., Whitehouse M. J., (+3), Rasmussen U. (2013). Boreal feather mosses secrete chemical signals to gain nitrogen. *New Phytologist*, 200: 54–60. DOI:[10.1111/nph.12403](https://doi.org/10.1111/nph.12403)

Beisel N.S. Noble J., Barbazuk W.B., Paul A.L., Ferl R.J. (2019). Spaceflight-induced alternative splicing during seedling development in *Arabidopsis thaliana*. *Microgravity*, 7: 1–5. doi: 10.1038/s41526-019-0070-7.

Bender K. W., Snedden W. A. (2013). Calmodulin-Related Proteins Step Out from the Shadow of Their Namesake. *Plant Physiology*, 163: 486–495. doi: 10.1104/pp.113.221069.

Bengtsson-Palme J., Kristiansson E., Larsson D.G.J. (2018). Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 42: 68–80. doi: 10.1093/femsre/fux053.

Bentrop F. (1984). Cellular polarity. *Encyclopedia of plant physiology: Cellular interactions*. Springer, 17: 473–490.

Bhatla S.C., Bopp M. (1985). The hormonal regulation of protonema development in mosses. III. Auxin-resistant mutants of the moss *Funaria hygrometrica* Hedw. *J. Plant Physiol*, [120\(3\)](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(85)80110-3): 233–243 [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(85\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(85)80110-3)

Bhatla S., Dhingra-Babbar S. (1990). Growth regulating substances in mosses In: Chopra R. N., Bhatla S. C. (Eds.). *Bryophyte Development: Physiology, and Biochemistry*. CRC Press, Boca Raton, FL, 79–101. <https://doi.org/10.1201/9780429260568>

Bischoff H. (1912). Untersuchungen über den Geotropismus der Rhizoiden. *Botanisches Zentralblatt Beihefte*, **28**: 94–133.

Bizet F., Pereda-Loth V., Chauvet H., Gerard J., (+4), Legue V. (2018). Both gravistimulation onset and removal trigger an increase of cytoplasmic free calcium in statocytes of roots grown in microgravity. *Scientific Reports*, **8**(1): 1–10. doi: 10.1038/s41598-018-29788-7.

Bjorn L.O., Callaghan T.V., Gehrke C. (1998). The problem of ozone depletion in northern Europe. *Ambio*, **27**: 275–279.

Blancaflor E.B. (2002). The cytoskeleton and gravitropism in higher plants. *J. Plant Growth Regul.*, **21**(2): 120–136 doi: 10.1007/s003440010041.

Blancaflor E.B. (2013). Regulation of plant gravity sensing and signaling by the actin cytoskeleton. *Am. J. Bot.*, **100**(1): 143–152. [10.3732/ajb.1200283](https://doi.org/10.3732/ajb.1200283)

Blancaflor E.B., Hasenstein D.K.H. (1997). The organization of the actin cytoskeleton in vertical and graviresponding primary roots of maize. *Plant Physiology* **113**(4): 1447–1455. doi: 10.1104/pp.113.4.1447.

Blancaflor E.B., Masson P.H. (2003). Update on plant gravitropism. Unraveling the ups and downs of a complex process. *Plant Physiology*, **133**(4): 1677–1690. <http://www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.103.032169>

Block W., Smith R.I.L., Kennedy A.D. (2009). Strategies of survival and resource exploitation in the Antarctic fellfield ecosystem. *Biol. Rev.*, **84**: 449–484. doi: 10.1111/j.1469-185X.2009.00084.x

Bobo-Garcha G., Davidov-Pardo G., Arroqui C. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *J. Sci. Food Agric.*, **95**(1): 204–209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>

Boyko A., Kovalchuk I. (2011) Genome Instability and Epigenetic Modification—Heritable Responses to Environmental Stress? *Curr. Opinion in Plant Biology*, **14**(3): 260–266. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2011.03.003>

Bopp M. (1953). Die Wirkung von Heteroauxin auf Protonemawachstum und Knospenbildung von *Funaria hygrometrica*. *Z. Bot.*, **41**:1–16.

Bopp M. (1959). Versuche zur Anaylase von Wachstum und Differenzierung des Laubmoosprotonemas. *Planta*, **53**: 178–197.

- Bopp M. (1963). On the physiology of sporogonium differentiation in mosses. *J. Linn. Soc. London (Bot)*. **58**: 343–351.
- Bopp M. (1965). Time Factor in the Action of 5-Fluorodeoxyuridine on the Development of Crown-galls. *Nature*, **207**: 83–84.
- Bopp M. (1974). Action mechanism of cytokinins in mosses. A model for the effects of cytokinins. In: Plant growth substances 1973. *Proceeding of the 8th International Conference on Plant Growth Substances*. Tokyo; Hirokawa, 934–944.
- Bopp, M. (1980). The hormonal regulation of morphogenesis in mosses. In: Skoog F. (Ed). *Plant Growth Substances*. Springer-Verlag, Berlin, 351–361. https://doi.org/10.1007/978-3-642-67720-5_35
- Bopp M. (1983). Development Physiology of Bryophytes. In: Schuster R.M. (Ed.). *New Manual of Bryology*. Hattori Bot. Lab., Nichinan, Miyazaki, Japan. Vol. **1**, 276–324.
- Bopp M. (1990). Hormones of the moss protonemata. In: Chopra R.N., Bhatla S.C. (Eds). *Bryophyte Development: Physiology and Biochemistry*. CRC Press: Boca Raton, FL, USA: 55–77.
- Bopp M., Geier U. (1988). Protoplasts and transport. In: Glime J.M. (Ed.): *Methods in bryology*. Proc. Bryol. Meth. Workshop, Mainz. Hattori Bot. Lab.: Nichinan, 89–97.
- Bradford M. (1976). Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.*, (**72**): 248–254.
- Bramley-Alves J., King D.H., Robinson S.A., Miller R.E. (2014). Dominating the Antarctic environment: bryophytes in a time of change. In: *Photosynthesis in bryophytes and early land plants*. Eds. Hanson D.T., Rice S.K. Dordrecht: Springer: 309–324.
- Braun M (2002). Gravity perception requires statoliths settled on specific plasma-membrane areas in characean rhizoids and protonemata. *Protoplasma*, **219**:150–159. doi: 10.1007/s007090200016.
- Braun M. (1997). Gravitropism in tip-growing cells. *Planta*, **203**: 11–19. <https://doi.org/10.1007/PL00008098>
- Braun M., Richter P. (1999). Relocalization of the calcium gradient and a dihydropyridine receptor is involved in upward bending by bulging of *Chara* protonemata, but not in downward bending by bowing of *Chara* rhizoids *Planta*, **4**: 414–423. doi: 10.1007/s004250050744.
- Braun M., Limbach C. (2006). Rhizoids and protonemata of characean algae: model cells for research on polarized growth and plant gravity sensing. *Protoplasma*, **229**(2-4):133-42. doi: 10.1007/s00709-006-0208-9.
- Braun M., Bohmer M., Häder D.P., Hemmersbach R., Palme K. (2018). Gravitational Biology 1. Gravity sensing and graviorientation in microorganism and plants. In: Ryuters G., Braun M. (Eds.).

Springer Brief in Space Life Sciences. Springer, Cham, Switzerland; Germany Aerospace Centre: Bonn, Germany, 134.

Brejškova L., Hála M., Rawat A., Soukupová H., (+4), Žárský V. (2021). SEC6 exocyst subunit contributes to multiple steps of growth and development of *Physcomitrella* (*Physcomitrium patens*). *The Plant Journal*, **106**(3): 831–843. doi: 10.1111/tpj.15205

Brini M., Cali T., Ottolini D., Carafoli E. (2013). The plasma membrane calcium pump in health and disease. *FEBS Journal*, **280**: 5385–5397. doi: 10.1111/febs.12193.

Brown A.H., Chapman D.K., Lewis R.F., Venditti A.L. (1990). Circumnutations of Sunflower Hypocotyls in Satellite Orbit. *Plant Physiology*, (**94**)1: 233–238 <https://doi.org/10.1104/pp.94.1.233>

Bunning, E., Mohr H. (1955). Das Aktionspektrum des Lichteinflusses auf die Keimung von Farnsporen. *Naturwissenschaften*, **42**: 212.

Burstone M.S. (1962). Enzyme histochemistry and its application in the study of neoplasms. Academic press: New York, London, 464 p.

Buschmann H., Holtmannspötter M., Borchers A., O'Donoghue M.-T., Zachgo S. (2016). Microtubule dynamics of the centrosome-like polar organizers from the basal land plant *Marchantia polymorpha*. *New Phytologist*, **209**: 999–1013. <https://doi.org/10.1111/nph.13691>

Buschmann H., Lloyd C. W. (2008). *Arabidopsis* mutants and the network of microtubule-associated functions. *Mol. Plant*, **1**(8): 888–898. doi: 10.1093/mp/ssn060

Bushart T.J., Cannon A. E., Haque A., Miguel P.S., (+3), Roux S.J. (2013). RNA-seq analysis identifies potential modulators of gravity response in spores of *Ceratopteris* (Parkeriaceae): Evidence for modulation by calcium pumps and apyrase activity. *American Journal of Botany*, **100**(1): 161–174. doi: 10.3732/ajb.1200292.

Bustos R., Castrillo G., Linhares F., Puga M.I., (+4), Paz-Ares J. (2010). A central regulatory system largely controls transcriptional activation and repression responses to phosphate starvation in *Arabidopsis*. *PLoS Genet.*, **6**(9). e1001102. doi: 10.1371/journal.pgen.1001102.

Califar B., Sng N.J., Zupanska A., Paul A.-L., Ferl R.J. (2020). Root Skewing-Associated Genes Impact the Spaceflight Response of *Arabidopsis thaliana*. *Front. Plant Sci*, **11**: 1–25. doi: 10.3389/fpls.2020.00239

Cannon A.E., Salmi M.L., Clark G.B., Roux S. (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

Cannon A.E., Vanegas D.C., Sabharwal T., Salmi M.L., (+3), Roux S.J. (2023). Polarized distribution of extracellular nucleotides promotes gravity-directed polarization of development in spores of *Ceratopteris richardii*. *Front Plant Sci.*, **14**: 1–10. doi: [10.3389/fpls.2023.1265458](https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1265458)

Carvalho R.C., Catalá M., Branquinho M.C., Silva J. M., Barreno E. (2017). Dehydration

rate determines the degree of membrane damage and desiccation tolerance in bryophytes. *Physiologia Plantarum*, **159**(3): 277–289. <https://doi.org/10.1111/ppl.12511>

Chaban C.I., Kordyum E.L., Demkiv O.T., Khorkavtsiv O.Ya., Khorkavtsiv Ya.D. (1999). The gravireaction of *Ceratodon protonemata* treated with gibberellic acid. *Adv. Space Res.*, **24**(6): 717–721. [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(99\)00404-4](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(99)00404-4)

Chaban Ch.I., Kern V.D., Ripetsky R.T., Demkiv O.T., Sack F. (1998). Gravitropism in caulonemata of the moss *Pottia intermedia*. *J. Bryology*, **20**(2): 287–299. DOI:[10.1179/jbr.1998.20.2.287](https://doi.org/10.1179/jbr.1998.20.2.287)

Chan J., Eder M., Crowel E.F., Hampson J., Calder G., Lloyd C.W. (2011). Microtubules and CESA tracks at the inner epidermal wall align independently of those on the outer wall of light-grown *Arabidopsis* hypocotyls. *J. Cell Sci.*, **124**(7): 1088–1094. doi: 10.1242/jcs.086702.

Chatterjee A., Perterfield D.M., Smith P.J.S., Roux S.I. (2000). Gravity directed calcium current in germinating spores of *Ceratopteris richardii*. *Planta*, **210**(4): 607–610. doi: 10.1007/s004250050050.

Chazotte B. (2011). Labeling nuclear DNA using DAPI. *Cold Spring Harbor Protoc.*, 80–83. doi: 10.1101/pdb.prot5556

Chauvet H., Pouliquen O., Forterre Y., Legué V., Moulia B. (2016). Inclination not force is sensed by plants during shoot gravitropism. *Scientific Reports*, **6**: 1–8. DOI: 10.1038/srep35431

Chebli Y., Geitmann A. (2011). Gravity research on plants: use of single-cell experimental models. *Plant science*, **2**: 1–10. doi:10.3389/fpls.201100056

Chinnusamy V., Zhu J.-K. (2009). Epigenetic regulation of stress responses in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, **12**(2): 133–139. doi.org/10.1016/j.pbi.2008.12.006

Chopra R.N., Bhatla S.C. (1983). Regulation of gametangial formation in bryophytes. *The Botanical Review.*, **49**: 29–63.

Chopra R.N., Vashistha B.D. (1990). The effect of auxins and antiauxins on shoot-bud induction and morphology in the moss *Bryum antroviensis* Will, ex Brid. *Austral. J. Bot.*, **38**: 177–184 <https://doi.org/10.1071/BT9900177>

Clarke L.J., Robinson S.A. (2008). Cell wall-bound ultraviolet-screening compounds explain the high ultraviolet tolerance of the Antarctic moss, *Ceratodon purpureus*. *New Phytologist*, **179**: 776–783. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02499.x>

Christmas M., Whitton B.A. (1998). Phosphorus and aquatic bryophytes in the Swale-Ouse river system, north-east England. 2. Phosphomonoesterase and phosphodiesterase activities of *Fontinalis antipyretica*. *Science of the Total Environment*, **210/211**: 401–409. DOI: 10.1016/S0048-9697(98)00026-6

Collings D.A. (2008). Crossed-wires: interactions and cross-talk between the microtubule and microfilament networks in plants. In: Nick P. (Ed). *Plant Microtubules: development and flexibility*. Berlin: Springer, 47–79. https://doi.org/10.1007/7089_2007_146

Cooke T.J., Poli D., Sztein, A., Gohen J.D. (2002). Evolutionary patterns in auxin action. *Plant Molec. Bol.*, **449**: 319–338. doi.org/10.1007/978-94-010-0377-3_5

Corpas F.J., Barroso J.B., del Río L.A. (2001). Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. *Trends Plant Sci.*, **6**: 145–150. doi: [10.1016/s1360-1385\(01\)01898-2](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(01)01898-2)

Correll M. J., Pyle T. P., Millar K. D. L., Sun J., (+2), Kiss J.Z. (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](https://doi.org/10.1007/s00425-013-1909-x).

Cosio C., Dunand C. (2009). Specific functions of individual class III peroxidase genes. *J. Exp. Bot.*, **60**(2): 391–408. doi: [10.1093/jxb/ern318](https://doi.org/10.1093/jxb/ern318)

Cove D.J., Knight C.D. (1987). Gravitropism and phototropism in the moss *Physcomitrella patens*. In: Thomas H., Grierson D. (Eds.). *Developmental Mutants of Higher Plants*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK: 181–196.

Cove D.J., Quatrano R.S. (2006). Agravitropic mutants of the moss *Ceratodon purpureus* do not complement mutants having a reversed gravitropic response. *Plant, Cell and Environment*, **29**: 1379–1387. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01519.x>

Cove D.J., Schild A, Ashton N.W, Hartmann E. (1978). Genetic and physiological studies of the effect of light on the development of the moss *Physcomitrella patens*. *Photochemistry and photobiology*, **27**(2): 249-254 <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1978.tb07596.x>

Cove M. E., Tingey A. P., Maxwell A. (1997). DNA fragments in the presence of quinolone drugs. *Nucleic Acids Research*, **25**(14): 2716–2722. <https://doi.org/10.1093/nar/25.14.2716>

Cove D., Bezanilla M., Harries P., Quatrano R. (2006). Mosses as model systems for the study of metabolism and development. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**: 497–520. doi: [10.1146/annurev.arplant.57.032905.105338](https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105338).

Cowles J.R., LeMay R., Jahns G. (1994). Seedling growth and development on space shuttle. *Adv Space Res.*, **14**(11): 3–12. [https://doi.org/10.1016/0273-1177\(94\)90273-9](https://doi.org/10.1016/0273-1177(94)90273-9)

Crowell E.F. , Timpano A., Desprez T., Franssen-Verheijen T., (+2), Vernhettes S. (2011). Differential regulation of cellulose orientation at the inner and outer face of epidermal cells in the *Arabidopsis* hypocotyl. *Plant Cell*, **23**(7): 2592–2605. doi: [10.1105/tpc.111.087338](https://doi.org/10.1105/tpc.111.087338)

Cuming A.C. (2009). Mosses as Model Organisms for Development, Cellular and Molecular Biology. In: Goffinet B., Shaw A.J. (Eds.). *Bryophyte Biology*. Cambridge: Cambridge Univer. Press, 199–236.

Czapek F. (1898). Weitere Beitrage zur Kenntnis der geotropischen Reizbewegungen. *Jahrbucher für wissenschaftliche Botanik*, **32**: 175–308.

Delbarre A., Muller P., Imhoff V., Cuern J. (1996). Comparison of mechanisms controlling uptake and accumulation of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid, naphthalene-1-acetic acid, and in suspension-cultured tobacco cells. *Planta*, **198**(4): 532–541. doi: 10.1007/BF00262639.

Demkiv O.T., Kordyum E.L., Khorkavtsiv Ya.D. (1997). Behavior of amyloplasts in photo- and gravitropism of the moss protonema. *J. of Gravitational Physiology*, **4**(2): 75–76.

Demkiv O.T., Kordyum E.L., Khorkavtsiv Ya.D., Kardash O.R., Chaban Ch.L. (1998). Gravi- and photostululi in moss protonema growth movements. *Adv. Space Res.*, **21**(8/9): 1191–1195. [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(97\)00634-0](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(97)00634-0)

Demkiv O., Kordyum E., Kardash O., Khorkavtsiv O. (1999). Gravitropism and phototropism in protonemata of the moss *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. *Adv. Space Res.*, **23**(12): 1999–2004. [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(99\)00349-X](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(99)00349-X)

Demkiv O.T., Khorkavtsiv O.Ya., Pundiak O.I. (2003). Changes of protonemal cell growth related to cytoskeleton organization. *Cell Biol. Int.*, **27**(3), 187–189. doi: 10.1016/s1065-6995(02)00303-7.

Dey A., De J.N. (2012). Antioxidative potential of bryophytes: Stress tolerance and commercial perspectives: A Review. *Pharmacologia*, **3**: 151–159. doi: 10.5567/pharmacologia.2012.151.159

Digby J., Firn R.D. (1995). The gravitropic set-point angle (GSA): the identification of an important developmentally controlled variable governing plant architecture. *Plant Cell Environ.*, **18**(12): 1434–1440. doi: 10.1111/j.1365-3040.1995.tb00205.x.

Dixon R.A., Paiva N.L. (1995). Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. *Plant Cell*, **7**(7): 1085–1097. doi:10.1105/tpc.7.7.1085

Dodd A.N., Kudla J., Sanders D. (2010). The language of calcium signaling *Annu Rev Plant Biol.* **61**: 593–620. DOI: 10.1146/annurev-arplant-070109-104628

During, H.J. (1979). Life strategies of Bryophytes: A preliminary review. *Lindbergia*, **5**: 2–18.

During H.J. (2001). Diaspore Banks. *The Bryologist*, **104**(1): 92–97. [http://dx.doi.org/10.1639/0007-2745\(2001\)104\[0092:DB\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1639/0007-2745(2001)104[0092:DB]2.0.CO;2)

Edelmann J., Kuegnemann F., Guds G. (2002). The gravitropic setpoint angle of dark-grown rye seedlings and the role of ethylene. *Journal of Experimental Botany*, **53**(374): 1627–1634 <https://doi.org/10.1093/jxb/erf007>

Eppel D. (1990). The initiation of development at fertilization. *Cell Differentiation and Development*, **29**(1):1–12. DOI:[10.1007/pl00008120](https://doi.org/10.1007/pl00008120)

Fabon G., Monforte L., Tomas-Las-Heras R., Nicez-Olivera E., Martinez-Abaigar J. (2012). Dynamic response of UV-absorbing compounds, quantum yield and the xanthophyll cycle to diel changes in UV-B and photosynthetic radiations in an aquatic liverwort. *Journal of Plant Physiology*. **169**: 20–26. doi: [10.1016/j.jplph.2011.08.010](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.08.010)

Fasano J.M., Swanson S.J., Blancaflor E.B., Dowd P.E., Kao T.H., Gilroy S. (2001). Changes in root cap pH are required for the gravity response of the *Arabidopsis* root. *Plant Cell*, **13**(4): 907–921. doi: 10.1105/tpc.13.4.907.

Felle H. (1988). Auxin causes oscillations of cytosolic free calcium and pH in *Zea mays* coleoptiles. *Planta*, **174**(4): 495–499. doi: 10.1007/BF00634478. PMID: 24221565

Fengler S., Spierer I., Neef M., Ecke M., Nieselt K., Hampp R. (2015). A whole-genome microarray study of *Arabidopsis thaliana* semisolid callus cultures exposed to microgravity and nonmicrogravity related spaceflight conditions for 5 days on board of Shenzhou 8. *Biomed Res Int.*, 547495. doi: 10.1155/2015/547495.

Finka A., Schaefer D. G, Saidi Y., Goloubinoff P , Zrjyd J.-P. (2007). *In vivo* visualization of F-actin structures during the development of the moss *Physcomitrella patens*. *New Phytologist*, **174**: 63–76. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.01989>.

Ferl R.J., Koh J., Denison F., Paul A.-L. (2015). Spaceflight Induces Specific Alterations in the Proteomes of *Arabidopsis*. *Astrobiology*, **15**(1): 32–56. DOI: 10.1089/ast.2014.121032

Floriach-Clark J., Tang H., Willemsen V. (2022). Mosses: Accessible Systems for Plant Development Studies In: Abdurakhmonov I.Y. (Ed.). *Model Organisms in Plant Genetics*. Research output. DOI: [ttp://dx.doi.org/10.5772/intechopen.100535](https://doi.org/10.5772/intechopen.100535)

Foyer C.H., Harbinson J. (1999). Relationships between antioxidant metabolism and carotenoids in the regulation of photosynthesis. In: Frank H.A., Young A.J., Cordell R.J. (Eds.). *The photochemistry of carotenoids*. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ.: 305–325. https://doi.org/10.1007/0-306-48209-6_17

Francoz E., Ranocha P., Nguyen-Kim H., Jamet E., Burlat V., Dunand C. (2014). Roles of cell wall peroxidases in plant development. *Phytochem.*, **112**(1): 15–21. doi: 10.1016/j.phytochem.

Franco-Zorrilla J. M., González E., Bustos R., Linhares F., Leyva A., Paz-Ares J. (2004). The transcriptional control of plant responses to phosphate limitation. *J. Exp. Botany*, **55**(396): 285–293. DOI: 10.1093/jxb/erh009

Franklin K.A., Whitelam G.C. (2005). Phytochromes and Shade-avoidance Responses in Plants. *Annals of Botany*, **96**(2): 169–175. doi:10.1093/aob/mci165

Frey W., Kürschner H. (2011). Asexual reproduction, habitat colonization and habitat maintenance in bryophytes. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, **206**(3): 173–184 <https://doi.org/10.1016/j.flora.2010.04.020>

Gadalla D., Braun M., Maik Böhmer (2018). Gravitropism in Higher Plants: Cellular Aspects. In: Ryters G., Braun M. (Eds). *Gravitational Biology I*, Springer Briefs in Space Life Sciences, 75–92. https://doi.org/10.1007/978-3-319-93894-3_6

García-González J., Gelderen K. (2021). Bundling up the role of the actin cytoskeleton in primary root growth. *Front. Plant Sci.* **12**: 1–16. 777119. doi: 10.3389/ fpls.2021.777119

Gasperini D., Chételat A., Acosta I. F. , Goossens J., (+4). and Farmer E.F. (2015). Multilayered Organization of Jasmonate Signalling in the Regulation of Root Growth. *PLOS Genetics*, **12**: 1–27. DOI:10.1371/journal.pgen.1005300

Gazaryan I., Hushpulia D., Tishkov V. (2006). Features of the structure and mode of action of peroxidases in plants. *Usp. Biol. Khim.*, **46**: 303–322.

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

Geier U., Werner O., Bopp M. 1990). Indole-3-acetic acid uptake in isolated protoplasts of the moss *Funaria hygrometrica*. *Physiol. plant.*, **80**: 584–592. (<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1990.tb05682.x>)

Geitmann A. (2007). Cytochemical tools for plant gravitational biology. *Gravit. and Space Biol.*, **20**(2): 31–42.

Ghamsari L., Keyhani E., Golkhoo S. (2007). Kinetics properties of guaiacol peroxidase activity in *Crocus sativus* L. corm during rooting. *Iran Biomed J.*, **11**(3): 137–146.

Giles C., Soutar A. (1971). Surface Tension of Ionised Dye Solutions. *Journal of the Society of Dyers and Colourists*, **87**(9): 301–304 <https://doi.org/10.1111/j.1478-4408.1971.tb03029.x>

Glime J.M. (2017). *Physiological Ecology*. In: Glime J.M. (Ed.). *Bryophyte Ecology*. Vol. 1. Ebook Sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Michigan Technological University, Houghton MI USA. Available online: <http://www.bryocol.mtu.edu/>

Goffinet B., Buck W.R., Shaw A.J. (2009). Morphology, anatomy, and classification of the Bryophyta. In: Goffinet B., Shaw A. J. (Eds.). *Bryoph. Biol.* (ed. 2). Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 55–138.

Goode H, Webster N., Howdle P, Leek J., Lodge J., Sadek S., Walker B. (1994). Reperfusion Injury, Antioxidants and Hemodynamics During Orthotopic Liver Transplantation. *Hepatology*, **19**(2): 354–359. 0270-9139/94 \$3.00 + 0 31/1/51674

Goodwin B.C. (1976). *Analytic Physiology of Cells and Developing Organisms*. Academic Press: London, New York, San Francisco, 285 p.

Guo L., Klaus A., Baer M., Kirschner G. K., Salvi S., Hochholdinger F. (2023). Enhanced gravitropism 2 coordinates molecular adaptations to gravistimulation in the elongation zone of barley roots. *New Phytologist*, **37**: 2196–2209. doi: 10.1111/nph.18717

Guo M.N., Ruan W.Y., Zhang Y.B., Zhang Y.X., (+5), Yi K.K. (2021). A reciprocal inhibitory module for Pi and iron signaling. *Mol Plant.*, **15**(1):138–150. doi.org/ 10.1016/j.molp.2021.09.011

Guseman J. M., Hellmuth A., Lanctot A., Feldman T. P., Nemhauser J. L. (2015). Auxin-induced degradation dynamics set the pace for lateral root development. *Development*, **142**(5): 905-909. <https://doi.org/10.1242/dev.117234>

Guyomarc'h S., L eran S., Auzon-Cape M., Perrine-Walker F., Lucas M., Laplaze L. (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

H ader D.-P., Braun M., Hemmersbach R. (2018). Bioregenerative Life Support Systems in space research. In: Ruyters G., Braun M. (Eds.). *Gravitational Biology I: Gravity Sensing and Graviorientation in Microorganisms and Plants*. Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 113–122. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-93894-3>

H ader D.-P., Hemmersbach R. (2017). Gravitaxis in *Euglena*. In: Schwartzbach S., Shigeoka S. (Eds.) *Euglena: Biochemistry, Cell and Molecular Biology*. Springer, Cham, Switzerland, 237–266. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54910-1_12

H ader D.-P., Iseki M. (2017). Photomovement in *Euglena*. In: Schwartzbach S., Shigeoka S., (Eds.). *Euglena: Biochemistry, Cell and Molecular Biology*. Springer, Cham, Switzerland, 20: 207–235.

Hangarter R.P. (1997). Gravity, light and plant form. *Plant Cell Environ.* **20**: 796–800. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1997.d01-124.x>

Hanson D.T., Rice S.K. (2014). *Photosynthesis in Bryophytes and Early Land Plants*. Springer Dordrecht, Heidelberg New York London, (eBook): **37**: 1–27. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-6988-5>

- Harrison B. R., Masson P. H. (2008). ARL2, ARG1 and PIN3 define a gravity signal transduction pathway in root statocytes. *The Plant Journal.*, 53(2): 380–392. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03351.x.
- Hartmann E. (1984). Influence of light on phototropic bending of moss protonemata of *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. *J. of the Hattori Bot. Lab.*, **55**: 87–98.
- Hartmann E., Weber M. (1988). Storage of the phytochrome-mediated phototropic stimulus of moss protonemal tip cell. *Planta*, 175(1): 39–49.
- Hartmann E., Weber M. (1990). Photomodulation on protonema development. In: Chopra R.N., Bhatla S.C. (Eds.) *Bryophyte development: physiology and biochemistry*. CRC Press, Inc Boca Raton, FL, USA, 33–54.
- Hartmann W. (1984). Space exploration and environmental issues *Environmental Ethics*, **6**(3): 227-239. 10.5840/enviroethics19846325
- Hasenstein K.H. (2009). Plant responses to gravity—Insights and extrapolations from ground studies. *Gravit Space Biol.*, **22**: 21–32.
- Hassanpour H., Latef A. (2023). Changes in chlorophyll metabolism, Rubisco gene expression, and antioxidant metabolites of *Ocimum basilicum* seedlings subjected to clinorotation. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **153**(1): 119–132. 10.1007/s11240-023-02448-z.
- Hatakeda Y., Kamada M.N., Goto H., Fukaki M., (+2), Tasaka H. (2003). Gravitropic response plays an important role in the nutational movements of the shoots of *Pharbitis nil* and *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia plantarum*, (**118**)3: 464–473 <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00080.x>
- Hauser M.T., Aufsatz W., Jonak C., Luschnig C. (2011). Transgenerational epigenetic inheritance in plants. *Biochim. Biophys. Acta*, **1809**(8): 459–468. doi: 10.1016/j.bbagr.2011.03.007.
- Hausmann N., Fengler S., Hennig A., Franz-Wachtel M., Hampp R., Neef M. (2014). Cytosolic calcium, hydrogen peroxide and related gene expression and protein modulation in *Arabidopsis thaliana* cell cultures respond immediately to altered gravitation: parabolic flight data. *Plant Biol (Stuttg)*, **16**: 120–128. doi: 10.1111/plb.12051.
- Haußer I., Herth W., Reiss H.-D. (1984). Calmodulin in tip-growing plant cells, visualized by fluorescing calmodulin-binding phenothiazines. *Planta*, **162**(1): 33–39. doi: 10.1007/BF00397418
- He F., Chen H., Han R. (2020). The Plant Cytoskeleton and Crosslinking Factors. *Cell Biol.* **9**(2): 85–99. DOI: 10.4236/cellbio.2020.92004
- Hepler P.K., McIntosh R., Cleland S. (1970). Intermicrotubule bridges in mitotic spindle apparatus. *J. Cell Biol.*, **45**(2): 438–444. <https://doi.org/10.1083/jcb.45.2.438>

Herranz R., Medina F. J. (2014). Cell proliferation and plant development under novel altered gravity environments. *Plant Biol.*, **1**(16): 23–30. doi: 10.1111/plb.12103 PMID: 24112664

Herranz R., Vandenbrink J.P., Villacampa A., Manzano A., (+3), Medina F.J. (2019). RNAseq Analysis of the Response of *Arabidopsis thaliana* to Fractional Gravity Under Blue-Light Stimulation During Spaceflight. *Front. Plant Sci.*, **10**(1) 1–11: 1529. doi: 10.3389/fpls.2019.01529

Hertel R. (1983). The mechanism of auxin transport as a model for auxin action. *Plant Physiol.*, **112**: 176–181. DOI:[10.1098/rspb.1985.0064](https://doi.org/10.1098/rspb.1985.0064)

Heslop-Harrison J.S., Heslop-Harrison John, Heslop-Harrison Y., Reger B.J. 1985. The distribution of calcium in the grass pollen tube. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **225**: 315–327. DOI:[10.1098/rspb.1985.0064](https://doi.org/10.1098/rspb.1985.0064)

Hock B. 1995. Phytochrome, *Progress in Botany*, **56**: 201–235. https://doi.org/10.1007/978-3-642-79249-6_9

Holliday R. (2005). DNA methylation and epigenotypes. *Biochemistry*, **70**(5): 500–504. doi: 10.1007/s10541-005-0144-x.

Hollozy F. (2002). Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron.*, **33**(2): 179–197. doi: 10.1016/s0968-4328(01)00011-7.

Hoson T. (2014). Plant growth and morphogenesis under different gravity conditions: relevance to plant life in space. *Life*, **4**(2): 205–216. doi:10.3390/life4020205

Hoson T., Soga K. (2003). New aspects of gravity responses in plant cells. *Int. Rev. Cytol.*, **229**: 209–244. doi: 10.1016/s0074-7696(03)29005-7

Hoson T., Soga K., Mori R., Saiki M., (+2), Kamisaka S. (2002). Stimulation of elongation growth and cell wall loosening in rice coleoptiles under microgravity conditions in space. *Plant Cell Physiol.*, **43**(9): 1067–1071. doi:10.1093/pcp/pcf126

Hoson T., Soga K., Mori R., Saiki M., Nakamura Y., Wakabayashi K., Kamisaka S. (2004). Cell wall changes involved in the automorphic curvature of rice coleoptiles under microgravity conditions in space. *J. Plant Res.*, **117**(6): 449–455. doi: [10.1007/s10265-004-0182-2](https://doi.org/10.1007/s10265-004-0182-2)

Hoson T., Soga K., Wakabayashi K., Kamisaka S. Tanimoto E. (2003). Growth and cell wall changes in rice roots during spaceflight. *Plant and soil*, **255**(1): 19–26. doi: 10.1023/A:1026105431505

Hoson T., Wakabayashi K. (2015). Role of the plant cell wall in gravity resistance. *Phytochemistry*, **112**(1): 84–90. doi: 10.1016/j.phytochem.2014.08.022.

Horst N.A., Reski R. (2016). Alternation of generations - unravelling the underlying molecular mechanism of a 165-year-old botanical observation. *Plant Biol (Stuttg)*, **18**(4): 549–551. doi: 10.1111/plb.12468

Hu Y., Rolfs A., Bhullar B., Murthy T.V., (+19), LaBaer J. (2007). Approaching a complete repository of sequence-verified protein-encoding clones for *Saccharomyces cerevisiae*. *Genome Res.*, **17**(4): 536–543. doi: 10.1101/gr.6037607.

Hurtado F., Estébanez B., Aragón P., Hortal J., Molina-Bustamante M., Medina N.G. (2022). Moss establishment success is determined by the interaction between propagule size and species identity. *Sci. Rep.*, **12**(2): 1–19. 20777. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24354-8>

Iqbal Z., Javed M., Gull S., Mahmood M. H.-R., Hai Z. (2019). Total phenolic contents of two varieties of *Crocus sativus* and their antioxidant activity. *International Journal of Biosciences*, **14**(3): 128–132. <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/14.3.128-132>

Jablonka E., Lamb M. J. (2014). Evolution in Four Dimensions: Genetic, Epigenetic, Behavioral, and Symbolic Variation in the History of Life. In: Sterelny K., Wilson R. A. (Eds.). A Bradford Book. The MITT Pres. Series. Cambridge, Massachusetts; London, England, 563 p. doi:10.1186/1475-

Jagtap S.S., Dhumal K.N., Vidyasagar P.B. (2011). Effects of Slow Clinorotation on Growth and Yield in Field Grown Rice. *Gravitational and Space Biology*, **25**(1): 48–50. <http://www.gravitationalandspacebiology.org/index.php/journal/article/view/532/560>

Jagtap S.S., Kamble S.M., Dixit J., Vidyasagar P. B. (2024). Comparative Studies on Effects of Simulated Microgravity on Growth and Photosynthetic Parameters in Rice and Mungbean. *Curr Agri Res.*, **12**(1): 180–189. doi : <http://dx.doi.org/10.12944/CARJ.12.1.15>

Jain A., Poling M.D., Karthikeyan A.S., Blakeslee J.J., (+3), Raghothama K.G. (2007). Differential effects of sucrose and auxin on localized phosphate deficiency-induced modulation of different traits of root system architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, **144**(1): 232-247. doi: 10.1104/pp.106.092130

Jansen M.A.K., Urban O. (2019). Plant Responses to UV-B Radiation. *New York: John Wiley & Sons*, 2019, 166 p. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0027966>

Jayaswal R. K., Johri M. M. (1985). Occurrence and diosynthesis of auxin in protonema of the moss *Funaria hygrometrica*. *Phytochemistry*, **24**(6): 1211–1214. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)81103-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81103-6)

Jenkins G.I., Courtice G.R., Cove D.J. (1986). Gravitropic responses of wild-type and mutant strains of moss *Physcomitrella patens*. *Plant Cell Environ.*, **9**(8): 637–644. doi: 10.1111/j.1365-3040.1986.tb01621.x.

Jensen W.A. (1962). Botanical histochemistry: Freeman W.H. (Edt.). San-Francisco, London, 367 p.

Jin J., Chen H., Cai W. (2015). Transcriptome analysis of *Oryza sativa* calli under

microgravity. *Microgravity Sci. Technol.*, **27**: 437–453. doi:10.1007/s12217-015-9432-2

Jin J., Chen H., Cai W. (2018). Transcriptomic Analysis Reveals the Effects of Microgravity on Rice Calli on Board the Chinese Spaceship Shenzhou 8. *Microgravity Sci. and Technol.*, **30**(6): 807–

Johannes W., Smilde P. (2009). Gravity Interpretation: Fundamentals and Application of Gravity Inversion and Geological Interpretation. Springer, 232. doi:10.1007/978-3-540-85329-9

Johnson C.M., Subramanian A., Pattathil S., Correll M.J., Kiss, J.Z. (2017). Comparative transcriptomics indicate changes in cell wall organization and stress response in seedlings during spaceflight. *Am. J. Bot.*, **104**: 1219–1231. doi:10.3732/ajb.1700079

Johnsson A, Solheim B.G.B., Iversen T.-H. (2009). Gravity amplifies and microgravity decreases circumnutations in *Arabidopsis thaliana* stems: results from a space experiment. *New Phytol.*, **182**: 621–629 <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02777.x>

Johri M.M., Desai S. (1973) Auxin regulation of caulonema formation in moss protonema. *Nature New Biol.*, **245**: 223–224. <https://doi.org/10.1038/newbio245223a0>

Johri M.M. (2020). Caulonema differentiation in *Funaria* protonema. *Int. J. Dev. Biol.*, **64**: 21–28. <https://doi.org/10.1387/ijdb.190290mj>

Jovanovic S.V. (1994). Flavonoids as antioxidants. *J. Amer. Chem. Soc.*, **116**(11): 4846–4851. <https://doi.org/10.1021/ja00090a032>

Kanchiswamy C.N., Malnoy M., Occhipinti A., Maffe M. (2014). Calcium Imaging Perspectives in Plants. *Int J Mol Sci.*, **15**(3): 3842–3859. [10.3390/ijms15033842](https://doi.org/10.3390/ijms15033842)

Karahara I., Tamaoki D., Nishiuchi T., Schreiber L., Kamisaka S. (2009). Effects of Altered Gravity Conditions on Lignin and Secondary Wall Formation in Herbaceous Dicots and Woody Plants. *Biological Sciences in Space*, **23**(4): 177–182. doi: 10.2187/bss.23.177

Karahara I., Suto T., Yamaguchi T., Yashiro U., Tamaoki D., Okamoto E., (+8), Kamisaka S. (2020). Vegetative and Reproductive Growth of *Arabidopsis* Under Microgravity Conditions in Space. *J. Plant Res.* **133**(4): 571–585. doi:10.1007/s10265-020-01200-4

Kawamoto N., Morita M.T. (2022). Gravity sensing and responses in the coordination of the shoot gravitropic setpoint angle. *New Phytologist*, **236**: 1637–1654. doi: 10.1111/nph.18474

Keijzer J., Rios A.F., Willemsen V. (2021). *Physcomitrium patens*: A Single Model to Study Oriented Cell Divisions in 1D to 3D Patterning. *J Mol Sci.*, **22**(5): 1–16. 2626. doi: [10.3390/ijms22052626](https://doi.org/10.3390/ijms22052626)

Kelly M.O., Leopold A.C. (1992). Springback and Diagravitropism in Merit Corn Roots. *Plant Physiology*, **99**(2): 632–634. doi: [10.1104/pp.99.2.632](https://doi.org/10.1104/pp.99.2.632)

Kern V., Smith J., Schwuchow J., Sack F. (2001). Amyloplasts That Sediment in Protonemata of the Moss *Ceratodon purpureus* Are Nonrandomly Distributed in Microgravity. *Plant Physiology*, **125** (4): 2085–2094, <https://doi.org/10.1104/pp.125.4.2085>

Kern V.D., Sack F.D. (1999). Irradiance-dependent regulation of gravitropism by red light in protonemata of the moss *Ceratodon purpureus*. *Planta*, **209**: 299–307. doi: 10.1007/s004250050636.

Kern V.D., Sack F.D., White N.J., Anderson K., Wells W., Martin C. (1999). Spaceflight hardware allowing unilateral irradiation and chemical fixation in petri dishes. *Adv. Space Res.*, **24**: 775–778.

Kern V.D., Schwuchow J.M., Reed D.W., Nadeau J.A., (+2), Sack F.D. (2005). Gravitropic moss cells default to spiral growth on the clinostat and in microgravity during spaceflight. *Planta*, **221**: 149–157. DOI: [10.1007/s00425-004-1467-3](https://doi.org/10.1007/s00425-004-1467-3)

Khodadad C.L. M., Hummerick M.E., Spencer S.E., Dixit A.R., (+4), Massa G.D. (2020). Microbiological and Nutritional Analysis of Lettuce Crops Grown on the International Space Station. *Front. Plant Sci.*, **11**(199): 1–15. doi:10.3389/fpls.2020.00199

Khorkavtsiv O.Ya, Kardash O.R. (2001). Gravity-dependent reactions of the moss *Pohlia nutans* protonemata. *Adv. Space Res.*, **27**(5): 989–993. [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(01\)00190-9](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(01)00190-9)

Khorkavtsiv Ya. D., Kit N.A. (2013). Cravity modulation of the moss *Tortula modica* branching / European Low Gravity 46 Association (ELGRA) *Biennial Symposium and General Assembly*, 11 – 14 September, Vatican, Italy, 192.

Kim M., Costello J. (2017). DNA methylation: an epigenetic mark of cellular memory. *Exp. and Molecular Med.*, **49**: 1–8. doi:10.1038/emm.2017.10

Kim Y.W., Kim Y.M., Yang Y.M., Kay H.Y, (+3), Kim S.G. (2011). Inhibition of LXR α -Dependent Steatosis and Oxidative Injury by Liquiritigenin, a Licorice Flavonoid, as Mediated with Nrf2 Activation. *Antioxidants & Redox Signaling*, **14**(5): <https://doi.org/10.1089/ars.2010.32>

Kiss J.Z, Millar K.D, Edelman R.E. (2012). Phototropism of *Arabidopsis thaliana* in microgravity and fractional gravity on the International Space Station. *Planta*, **236**: 635–645. doi: 10.1007/s00425-012-1633-y.

Kiss J.Z. (2006). Up, down, and all around: how plants sense and respond to environmental stimuli. *Proc Natl Acad Sci USA*, **103**(4): 829–30. doi: 10.1073/pnas.0510471102.

Kiss J.Z., Mullen J.L., Correll M.J., Hangarter R.P. (2003). Phytochromes A and B mediate red-light-induced positive phototropism in roots. *Plant Physiol.*, **131**(3): 1411–1417. DOI: 10.1104/pp.013847

Kit N., Ripetskyj R. (1991). Observations upon Development of Primary and Regenerative Protonema of the Moos *Pottia intermedia*. In: Bryology in the USSR, Achivemens and Prospects. Lviv, 103–106.

Knoop B. (1984). Development in Bryophytes. In: Dyer A.F., Duckett J.G. (Eds.). The experimental biology of bryophytes. London: Academic Press, 143–176.

Knight C.D, Cove D.J. (1991). The polarity of gravitropism in the moss *Physcomitrella patens* is reversed during mitosis and after growth on a clinostat. *Plant Cell Environ.*, **14**(9): 995–1001. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb00970.x>

Knight T. A. (1806). On the direction of the radicle and germen during the vegetation of seeds. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **96**: 99–108.

Kochubey S., Adamchuk N., Kordyum E., Guikema J. (2004). Microgravity affects the photosynthetic apparatus of *Brassica rapa* L. *Plant Biosystems: An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*, **138**(1): 1–9. <https://doi.org/10.1080/11263500410001684062>

Kofler L. (1957). Croissance spiralee du protonema de *Funaria hygrometrica* (L.) Sibth. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **245**: 1823–1825.

Kofler L. (1959). Contribution à l'étude biologique des mousses cultivées in vitro. *Revue Briologique et Lichenologique*, **28**(1/2): 1–202.

Kofler L. (1965). Croissance et Developpement des Plantes. *Quartely Rev. of Biology*, **40** (3): 1–15.

Kofler L., Chevalier D. (1973). Comparasion des effets de la DSMU et d'une carence en manganese sur la germination des spores et la croissance du jeune protonema de mousses. *Phisiol. Vég.* **11**: 121–136.

Kolesnikov Y.S., Kretynin S.V., Volotovskiy I.D., Kordyum E.L., Ruelland E., Kravets V.S. (2016). Molecular mechanisms of gravity perception and signal transduction in plants. *Protoplasma*, Springer Verlag, **253** (4): 987-1004. [10.1007/s00709-015-0859-5](https://doi.org/10.1007/s00709-015-0859-5)ff.

Konings H. (1995). Gravitropism of roots: an evaluation of progress during the last three decades *Acta Bot. Neerl.*, **44**(3): 195–223.

Koochak H., Mülle J.L. (2021). *Physcomitrium patens* Mutants in Auxin Conjugating GH3Proteins Show Salt Stress Tolerance but Auxin Homeostasis Is Not Involved in Regulation of Oxidative Stress Factors. *Plants*, **10**(7): 1–23. 1398. <https://doi.org/10.3390/plants10071398>

Kordyum E.L. (2014). Plant cell gravisensitivity and adaptation to microgravity. *Plant Biology*, **16**(1): 79–90. doi: 10.1111/plb.12047

Kordyum E., Hasenstein K. (2021). Plant biology for space exploration – Building on the past, preparing for the future. *Life Sci. Space Res.*, **29**: 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.lssr.2021.01.003>

Kordyum E., Hasenstein K. (2023). Preamble to the Special Edition Plants and Microgravity. *Life*, **13**(5):1–2. 1113. <https://doi.org/10.3390/life13051113>

Kordyum E.L., Nedukha O.M, Popova A.F. (1983). Prospect of autotropic link functioning in biological life-support systems based on the cell biology studies. *Astronautica*, **10**: 225–228.

Kordyum E.L., Belyavskaya N., Nedukha O.M, T.A. Palladina, V.A. Tarasenko (1984). The role of calcium ions in cytological effects of hypogravity. *Adv. Space Research*, **4**(12): 23–26.

Kordyum E.L., Guikema J.A. (2001). An active role of the amyloplasts and nuclei of root statocytes in graviperception. *Adv. Space Research*, **27**(5): 951–956. [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(01\)00162-4](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(01)00162-4)

Kordyum E.L., Shevchenko G.V., Kalinina I.M., Demkiv O.T., Khorkavtsiv Ya.D. (2009). The role of the cytoskeleton in plant cell gravisensitivity. In: Blume Y.B., Baird W.V., Yemets A.I., Breviario D. (Eds.). *The plant cytoskeleton: a key tool for agro biotechnology*. Berlin: Springer, 173–196. doi:10.1093/aob/mcp084

Kordyum E.L. (2003). Calcium signaling in plant cells in altered gravity. *Adv. Space Research*, **32**(8): 1621–1630. [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(03\)90403-0](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(03)90403-0)

Kovalchuk I., Abramov V., Pogribny I., Kovalchuk O. (2004). Molecular aspects of plant adaptation to life in the Chernobyl Zone. *Plant Physiol.*, **135**: 357–363.

Kozeko L., Ovcharenko Yu., Kordyum E. (2008). Alcohol dehydrogenase expression in aerial-aquatic plants in response to different water environment. *Adv. Agricult. Sci. Probl.*, **524**: 167–171.

Kravets E.A., Zelena L.B., Zabara E.P., Blume Ya.B. (2012). Adaptation strategy of barley to UV-B radiation. *Emir. J. Food Agric.*, **24** (6): 632-645 doi: 10.9755/ejfa. v 24i6.14682

Kriegshauser L., Knosp S., Grienberger E., Tatsumi K., (+7), Renault H. (2021). Function of the HYDROXYCINNAMOYL-CoA:SHIKIMATE HYDROXYCINNAMOYL TRANSFERASE is evolutionarily conserved in embryophytes. *Plant Cell*, **33**(5): 1472-1491. doi: 10.1093/plcell/koab044.

Kruse C.P.S., Meyers A.D., Basu P., Hutchinson S., Luesse D.R., Wyatt S.E. (2020). Spaceflight induces novel regulatory responses in *Arabidopsis* seedling as revealed by combined proteomic and transcriptomic analyses. *BMC Plant Biol.*, **20**(1): 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02392-6>.

Kukkola E.M., Koutaniemi S., Gustafsson M., Karhunen P., (+5), Fagerstedt K.V. (2003). Localization of dibenzodioxocin substructures in lignifying Norway spruce xylem by transmission electron microscopy-immunogold labeling. *Planta*, **217**: 229–237. [10.1007/s00425-003-0983-x](https://doi.org/10.1007/s00425-003-0983-x)

Kwon S., Kim K.S. (2020). Qualitative analysis of contribution of intracellular skeletal changes to cellular elasticity. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **77**(7): 1345–1355. doi: 10.1007/s00018-019-03328-6

Kwon T., Sparks J.A., Nakashima J., Alleet S.N., (+3), Blancaflor E.B. (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>

Kyyak N., Lobachevska O., Kordyum E., Khorkavtsiv Y. (2022). Gravisensitivity and adaptation to UV irradiation of the moss *Bryum caespiticium* Hedw. from Antarctica. *44th COSPAR Scientific Assembly*, 16-24 July, 75. Online at <https://www.cosparathens2022.org/>. Abstract F1.1-0014-22.

Kyyak N.Y., Lobachevska O.B., Khorkavtsiv Y.D. (2021). Photoprotector functions of UV-absorbing phenolic compounds of bryophytes from Antarctica. *X international Antarctic Conference dedicated to the 25th anniversary of raising of the national flag of Ukraine at the Ukrainian Antarctic Akademik Vernadsky Station: Book of Abstracts*. (Kyiv, May 11-13): 107–108.

Lamparter T., Esch H., Cove D., Hartmann E. 1997. Phytochrome control of phototropism and chlorophyll accumulation in the apical cells of protonemal filaments of wild type and an aphototropic mutant of the moss *Ceratodon purpureus*, *Plant Cell Physiol.*, **38**(1): 51–58.

Lamparter T., Hughes J., Hartmann E. (1998). Blue light and genetically-reversed gravitropic response in protonemata of the moss *Ceratodon purpureus*. *Planta*, **206**: 95–102.

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

Lee J.S., Mulkey T.J., Evans M.L. (1983). Gravity-induced polar transport of calcium across root tips of maize. *Plant Physiology*, **73**(4): 874–876. doi: [10.1104/pp.73.4.874](https://doi.org/10.1104/pp.73.4.874)

Lee H. S., Park H.J., Kim M. K. (2008). Effect of *Chlorella vulgaris* on lipid metabolism in Wistar rats fed high fat diet. *Nutr. Res. Pract.*, **2**(4): 204–210. <https://doi.org/10.4162/nrp.2008.2.4.204>

Lehnert B., Bopp M. (1983). The hormonal regulation of protonema development in mosses. I. Auxin-cytokinin interaction. *Z. Pflanzenphysiol.*, **110**(5): 379–391. [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(83\)80189-5](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(83)80189-5)

Leopold A.K. (1964). Plant growth and development. McGraw-Hill Book Company, 494 p.

Li Y., Yuan W., Li L, Dai H., Dang X. et al. (2020). Comparative analysis reveals gravity is involved in the MIZ1-regulated root hydrotropism. *Journal of Experimental Botany*, **71**(22): 7316–7330. doi:10.1093/jxb/eraa409

- Libbert E. (1974). Lehrbruch Pflanzenphysiologie. VEB Gustav Fisher Verlag, Jena, 580 p.
- Limbach C., Braun M. (2008). Electron tomographic characterization of a vacuolar reticulum and of six vesicle types that occupy different cytoplasmic domains in the apex of tip-growing *Chara* rhizoids. *Planta*, **227**: 1101–1114 <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0684-y>
- Lin C., Sauter M. (2018). Control of adventitious root architecture in rice by darkness, light, and gravity. *Plant Physiology*, **176**(2): 1352–1364. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01540>
- Lin W.Y., Huang T.-K., Leong S. J., Chiou T.J. (2014). Long-distance call from phosphate: systemic regulation of phosphate starvation responses. *Journal of Experimental Botany*, **65**(7): 1817–1827. doi:10.1093/jxb/ert431
- Liu Y., Wirén N. (2022). Integration of nutrient and water availabilities via auxin into the root developmental program. *Current Opinion in Plant Biology*, **65**: 1–9. 102117. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.10211>
- Lobachevska O.V., Demkiv O.T., Ripetskyj, R.T. (1998). Influence of gravity on spatial orientation and morphogenesis of moss sporophytes. *Adv. Space Res.*, **21**(8/9): 1141–1144. [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(97\)00207-X](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(97)00207-X)
- Lobachevska O., Kyjak N., Khorkavtsiv O., Dovhalyuk A., Kit N., Klyuchkivska O., Stojka R., Ripetsky R., Cove D. (2005). Influence of metabolic stress on the inheritance of cell determination in the moss *Pottia intermedia*. *Cell Biology International*, **29**: 181–186. <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2005.02.001>
- Lobachevska O.V., Khorkavtsiv Ya.D., Kyjak N.Ya., Kordyum E.L. (2018). Adaptive role of gravidependent morphological variability in mosses. *34th Annual Meeting of the American Society for gravitational Space Research*, October–November. Abstracts, MD USA, Bethesda: 148–152.
- Lobachevska O., Kyjak N., Kordyum E., Khorkavtsiv Ya. (2021, a). The role of gravimorphoses in moss adaptation to extreme environment. *Ukrainian Botanical Journal*, **(78)**1: 69–79. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj78.01.069>
- Lobachevska O., Kyjak N., Khorkavtsiv Y., Kordyum E. (2021, b). Biological characteristics gravimorphoses that assist of moss species tolerance in Antarctica conditions. *Proceedings of the X International Antarctic Conference Dedicated to the 25th Anniversary of Raising of the National Flag of Ukraine at the Ukrainian Antarctic Akademik Vernadsky Station*. Kyiv, Ukraine, 11–13 May 2021: 108–109.
- O. Lobachevska., N. Kyjak, E. Kordyum, Y. Khorkavtsiv. (2022). Role of gravimorphoses in moss adaptation to extreme environment. 44th COSPAR Scientific Assembly. Held 16-24 July, 2022: 44 Online at <https://www.cosparathens2022.org>

Lobachevska O.V., Kyyak N.Y., Khorkavtsiv Y.D., Kordyum E.L., Kern V.D. (2022). Gravitational sensitivity of mosses and their gravity-dependent ontogenetic adaptations. *Life*, **12**(1782): 2–14. <https://doi.org/10.3390/life12111782>

Lowry O.H., Lopes J.A. (1946). *J. biol.Chem.*, 162: 421.

Lu Y.-T., Feldman L.J. (1997). Light-regulated root gravitropism: a role for and characterization of a calcium/calmodulin-dependent protein kinase homolog. *Planta*, **203**: 91–97 <https://doi.org/10.1007/PL00008121>

Lucas M., Davière J.-M., Rodrigues-Falcón M., Pontin M., Iglesias-Pedraz, (+4), Prat S. (2008). A molecular framework for light and gibberellin control of cell elongation. *Nature*, **451**(7177) : 480–484. doi: 10.1038/nature06520.

Malik G., Dangwal M., Kapoor S., Kapoor M. (2012). Role of DNA methylation in growth and differentiation in *Physcomitrella patens* and characterization of cytosine DNA methyltransferases. *FEBS Journal*, **279**: 4081–4094. doi:10.1111/febs.12002

Mano S., Nakamori C., Nito K., Kondo M., Nishimura.M. (2006). The *Arabidopsis pex12* and *pex13* mutants are defective in both PTS1- and PTS2-dependent protein transport to peroxisomes. *The Plant Journal*, **47**: 604–618. doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02809.x

Manzano A., Carnero-Diaz E., Herranz R., Medina J. (2022). Recent transcriptomic studies to elucidate the plant adaptive response to spaceflight and to simulated space environments. *iScience*: **25**(8): 1–25. doi: 10.1016/j.isci.2022.104687

Manzano A., Pereda-Loth V., Bures. A., Sáez-Vásquez J., Herranz R., Medina F.J. (2021). Light signals counteract alterations caused by simulated microgravity in proliferating plant cells. *Am J Bot.*, **108**(9):1775–1792. doi: 10.1002/ajb2.1728.

Manzano A., Villacampa A., Saez-Vasquez, J., Kiss J.Z., Medina F.J., Herranz R. (2020). The importance of Earth reference controls in spaceflight omics research: characterization of nucleolin mutants from the seedling growth experiments. *iScience* **23**: 1–25. 101686. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101686>

Manzano A.I., Herranz R., Manzano A., Loon J.-J.W.A., Medina F.J. (2016). Early Effects of Altered Gravity Environments on Plant Cell Growth and Cell Proliferation: Characterization of Morphofunctional Nucleolar Types in an Arabidopsis Cell Culture System. *Frontiers in Astronomy and Space Sciences*, **3**:1–13. doi: 10.3389/fspas.2016.00002

Martínez-Abaigar J., Núñez-Olivera E., Arróniz-Crespo M., Tomás R., Beaucourt N., Otero S. (2006). Effects of ultraviolet radiation on aquatic bryophytes. *Limnetica*, **225**(1/2): 81–94. DOI: 10.23818/limn.25.06

Martzivanou M., Babbick M., Cogoli-Greuter M., Hampp R. (2006). Microgravity-related changes in gene expression after short-term exposure of *Arabidopsis thaliana* cell cultures. *Protoplasma*, **229**(2/4): 155–162.

Martzivanou M., Hampp R. (2003). Hyper-gravity effects on the *Arabidopsis* transcriptome. *Physiol Plant*, **118**(2): 221–231. doi: 10.1034/j.1399-3054.2003.00092.x

Matia I., Gonzallez-Camacho F., Herranz R. (2010). Plant cell proliferation and growth are altered by microgravity conditions in spaceflight. *Journal of Plant Physiology*, **167**(3): 184–193.

Medina F.J., Herranz R. (2010). Microgravity environment uncouples cell growth and cell proliferation in root meristematic cells: the mediator role of auxin. *Plant Signaling and Behavior*, **5**(2): 176–178. DOI: [10.4161/psb.5.2.10966](https://doi.org/10.4161/psb.5.2.10966)

Medina F.-J., Manzano A., Herranz R., Kiss J.Z. (2022). Red Light Enhances Plant Adaptation to Spaceflight and Mars g-Levels. *Life*, **12**(10): 1–17. 1484. <https://doi.org/10.3390/life12101484>

Medina F.J., Villacampa A., Ciska M., Ciska M., Herarz R. (2021a). Understanding Reduced Gravity Effects on Early Plant Development Before Attempting Life-Support Farming in the Moon and Mars. *Front. Astron. Space_Sci.*, **8**(148): 1–8. <https://doi.org/10.3389/fspas.2021.729154>

Medina, F. J., Manzano, A., Kamal, K. Y., Ciska, M., Herranz, R. (2021 b). Plants in Space: Novel Physiological Challenges and Adaptation Mechanisms. In: Lüttge U., Cánovas F.M., Pretzsch H., Risueño M.C., Leuschner C. (Eds.). Progress in Botany. Berlin, Heidelberg: Springer, *Nature*, **83**: 1–36. doi:10.1007/124_2021_53

Medina R., Liu Y., Li-Song W., Shuiliang G., Hylander K., Goffinet B. (2015). DNA based revised geographic circumscription of species of *Physcomitrella* (Funariaceae): *P. patens* new to East Asia and *P. magdalenae* new to East Africa. *Bryologist*, **118**(1): 22–31. <http://doi.org/10.1639/0007-2745-118.1.022>

Merkys A.J., Laurinavicius R.S. (1990). Plant growth in space. In: Asashima M., Malacinski G.M. (Eds.). Fundamentals of Space Biology. Jap. Sci. Soc. Press. Tokyo; Springer Verlag, Berlin, 69–83.

Michalak A. (2006). Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. *Polish J. Environmental Studies*, **15**(4): 523–530.

Micco V., Pascale S., Paradiso R., Arone G. (2014). Microgravity effects on different stages of higher plant life cycle and completion of the seed-to-seed cycle. *Plant Biol.*, **16**(1): 31–38. doi: 10.1111/plb.12098.

Millar K.D.L., Kumar P., Correll M.J., Mullen J.L., (...+4), Kiss Z. (2010). A novel phototropic response to red light is revealed in microgravity. *New Phytologist*, **186**: 648–656. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03211.x

Miller G., Shulaev V., Mittler R. (2008). Reactive oxygen signaling and abiotic stress. *Physiologia Plantarum*, **133**: 481–489.

Mohanasundaram B., Pandey S. (2022). Effect of environmental signals on growth and development in mosses. *J Exp Bot*, **73**(13): 4514–4527. doi: 10.1093/jxb/erac138

Mohr H., Schopfer P. (1992). *Physiology*. Springer Verlag, Berlin, New York: 345–373 p.

Monshausen G.B., Miller N.D., Murphy A.S. Gilroy S. (2011). Dynamics of auxin-dependent Ca²⁺ and pH signaling in root growth revealed by integrating high-resolution imaging with automated computer vision-based analysis. *The Plant Journal* **65**(2): 309–318. doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04423.x

Monshausen G.B., Bibikova T.N., Messerli M.A., Shi C., Gilroy S. (2007) Oscillations in extracellular pH and reactive oxygen species modulate tip growth of *Arabidopsis* root hairs. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **104**, 20996– 21001.

Moody L. (2022). Unravelling 3D growth in the moss *Physcomitrium patens*. *Essays in Biochemistry*, **66**: 769–779. <https://doi.org/10.1042/EBC20220048>

Moor R., Evans M.L. (1986). How roots perceive and respond to gravity. *Am. J. Bot.*, **73**: 574–587. DOI:[10.1002/J.1537-2197.1986.TB12077.X](https://doi.org/10.1002/J.1537-2197.1986.TB12077.X)

Moore B., Zhou L., Rolland F., Hall Q., (+3), Sheen J. (2003). Role of the *Arabidopsis* glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling. *Science*, **300**: 332–336. doi: 10.1126/science.1080585

Morita M.T. (2010). Directional Gravity Sensing in Gravitropism. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **61**:705–720. doi: 10.1146/annurev.arplant.043008.092042.

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.

Müller S.J.; Gütle D.D., Jacquot J.-P., Reski R. (2016). Can mosses serve as model organisms for forest research? *Annals of Forest Science*, **73**(1): 135–146. doi: 10.1007/s13595-015-0468

Musgrave M. , Kuang A., Xiao Y., Stout SC., (+2), Levinskikh MA. (2000). Gravity independence of seed-to-seed cycling in *Brassica rapa*. *Planta*, **210**(3): 400-406. doi: 10.1007/pl00008148.

Muthert L.W.F., Izzo L.G., van Zanten M., Aronne G. (2020). Root Tropisms: Investigations on Earth and in Space to Unravel Plant Growth Direction. *Front. Plant Sci.*, **10**: 1–22. 1807. doi: 10.3389/fpls.2019.01807

Nakamura M., Nishimura T., Morita M.T. (2019). Bridging the gap between amyloplasts and directional auxin transport in plant gravitropism. *Current Opinion in Plant Biology*, 52: 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.07.005>

Nakano M., Furuichi T., Sokabe, M., Iida H., and Tatsumi H. (2021). The gravistimulation-induced very slow Ca^{2+} increase in *Arabidopsis* seedlings requires MCA1, a Ca^{2+} -permeable mechanosensitive channel. *Sci. Rep.*, **11**(227): 1–11. doi: 10.1038/s41598-020-80733-z

Nakano Y., Asada K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*, **22**(5): 867–880.

Neill S.J., Desikan R., Clarke A., Hurst R.D., Hancock J.T. (2002). Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. *Journal of Experimental Botany*, **53**(372): 1237–1247. doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1237

Němec B. (1900). Über die Art der Wahrnehmung des Schwerkraftreizes bei den Pflanzen. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.*, 18(30): 241–245.

Newsham K.K., Robinson S.A. (2009). Responses of plants in Polar Regions to UV-B exposure: a meta-analysis. *Global Change Biology*, **15**(11): 2574–2589. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01944.x>

Newsham K.K. (2010). The biology and ecology of the liverwort *Cephaloziella varians* in Antarctica. *Antarct. Sci.*, **22**: 131–143. doi:10.1017/S0954102009990630

Nick P. (2013). Microtubules, signalling and abiotic stress. *The Plant Journal*, 75: 309–323. doi: 10.1111/tpj.12102

Nick P. Mechanics of the Cytoskeleton. (2011). In: Wojtaszek P. (Ed.) Mechanical Integration of Plant Cells and Plants, Signaling and Communication in Plants. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg: 53–91. DOI 10. 1007/918-3-642-19091-9-3_e

Nick P., Furuya, M. (1996). Buder revisited – cell and organ polarity during phototropism. *Plant, Cell Environ.*, 19(10): 1179–1187. doi: 10.1111/j.1365-3040.1996.tb00433.x.

Nick P., Schäfer E. (1994). Polarity induction versus phototropism in maize: Auxin cannot replace blue light. *Planta*, **195**(1): 61–69. <https://www.jstor.org/stable/23383071>

Nick P. (2008). Microtubules as sensors for abiotic stimuli. In: Nick P. (Ed.). Plant Microtubules. Development and Flexibility. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 175–206. https://doi.org/10.1007/7089_2007_145

- Nymann L.P., Cutter E.G. (2011). Auxin-cytokinin interaction in the inhibition release and morphology of gametophore buds of *Plagiomnium cuspidatum* from apical dominance. *Canadian J. Botany*, **59**(5): 750–762. DOI: 10.1133/b81-106
- Okano Y., Aonoa N., Hiwatashia Y., Murata T., (+3), Hasebe M. (2009). A polycomb repressive complex 2 gene regulates apogamy and gives evolutionary insights into early land plant evolution. *PNAS*, **106**(38): 16321–16326. doi10.1073/pnas.0906997106
- Oulehlová D., Kollarova E., Cifrova P., Pejchar P., Zarsky, V., Cvrckova F. (2019). *Arabidopsis* class I formin FH1 relocates between membrane compartments during root cell ontogeny and associates with plasmodesmata. *Plant Cell Physiol.*, **60**:1855–1870. doi: 10.1093/pcp/pcz102
- Ozheredova I., Parnikoza I., Poronnik O., Kozeretska I., Demidova S., Kunakh V. (2015). Mechanisms of Antarctic Vascular Plant Adaptation to Abiotic Environmental Factors I. P. *Cytology and Genetics*, (**49**)2: 139–145 DOI: 10.3103/S0095452715020085
- Park C.-J., Shin R. (2022). Calcium channels and transporters: Roles in response to biotic and abiotic stresses. *Front Plant Sci.*, **13**: 1–15. 964059. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.964059>
- 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
- Passardi F., Penel C., Dunand C. (2004). Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall. *Trends Plant Sci.*, **9**(11): 534–540. doi: 10.1016/j.tplants.2004.09.002. PMID: 15501178
- Paul A., Elardo S., Ferl R. (2022). Plants grown in Apollo lunar regolith present stress-associated transcriptomes that inform prospects for lunar exploration. *Communications Biol.*, **5**: 382. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03334-8>
- Paul A.-L., Amalfitano C.E., Ferl R.J. (2012). Plant growth strategies are remodeled by spaceflight. *Plant Biology*, **12**(1): 2–14. doi: 10.1186/1471-2229-12-232
- Pearse A.G.E. (1960). Histochemistry theoretical and applied. London, 929 p.
- Pękal A., Pyrzynska K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, **7**: 1776–1782. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>
- Penterman J., Zilberman D., Huh J.H., Ballinger T., Henikoff S., Fischer R.L. (2007). DNA demethylation in the *Arabidopsis* genome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**(16): 6752–6757. doi: 10.1073/pnas.0701861104
- Pereman I., Mosquna A., Katz A., Wiedemann G., (+7), Ohad N. (2016). The Polycomb group protein CLF emerges as a specific tri-methylase of H3K27 regulating gene expression and development in *Physcomitrella patens*. *Biochim Biophys Acta*, **1859**(7): 860–870. [10.1016/j.bbagr.2016.05.004](https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2016.05.004)

Péret B., Middleton A. M., French A. P., Larrieu A., Bishopp A. (2013). Sequential induction of auxin efflux and influx carriers regulates lateral root emergence. *Mol Syst Biol.*, **9**(699): 1–15. doi: 10.1038/msb.2013.43.

Péret B., Guowei Li, Zhao Jin, Band Leah R., (+12), Bennett M. J. (2012). Auxin regulates aquaporin function to facilitate lateral root emergence. *Nature Cell Biology*, **14**: 991–998 <https://doi.org/10.1038/ncb2573>

Pernisova M., Prat T., Grones P., Harustiakova D., (+4), Hejatko J. (2016). Cytokinins influence root gravitropism via differential regulation of auxin transporter expression and localization in *Arabidopsis*. *New Phytol.*, (**212**)2: 497–509. doi: 10.1111/nph.14049

Pfeffer W. (1897). Pflanzenphysiologie: Ein Handbuch der Lehre vom Stoffwechsel in der Pflanze. In: Engelmann W (Ed). Plant physiology, Leipzig: 30 p. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.1609>

Phillips J.R., Oliver M.J. Bartels D. (2002). Molecular genetics of desiccation tolerant systems.: In Black M., Pritchard H. W. (Eds.). Desiccation and Survival in Plants: Drying Without Dying CABI Publishing, New York NY, 319–341 <https://doi.org/10.1079/9780851995342.0319>

Petschow F. (1933). Geotropismus und Statolithenstärke bei Bryophyten. *Botanisches Zentralblatt Beihefte*. **51**: 287–310.

Pierson E.S., Miller D.D., Callahan D.A., Shipley, (+2), Hepler P.K. (1994). Pollen tube growth is coupled to the extracellular calcium ion flux and the intracellular gradient: effect of BARTA-type buffers and hypertonic media. *The Plant Cell*, **6** (12): 1815–1828. doi: [10.1105/tpc.6.12.1815](https://doi.org/10.1105/tpc.6.12.1815)

Pilet P.-E., Saugy M. (1987). Effect on root growth of endogenous and applied IAA and ABA. A critical re-examination. *Plant Physiol.*, **83**(1): 33–38. doi: 10.1104/pp.83.1.33.

Pilet P.I. (1971). Abscisic Acid Action on Basipetal Auxin Transport. *Physiologia plantarum*, **25**(1): 28–31. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1971.tb01082.x>

Pinillos V., Cuevas J. (2008). Standardization of the fluorochromatic reaction test to assess pollen viability. *Biotech Histochem.*, **83**(1): 15–21. doi: 10.1080/10520290801987204.

Pizarro M., Rodrigo A., Contreras H., Köhler G., Zúñiga E. (2019). Desiccation tolerance in the Antarctic moss *Sanionia uncinata*. *Biological Res.*, **52**(46): 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0251-6>

Plaxton W.C., Tran H.T. (2011). Metabolic adaptations of phosphate starved plants. *Plant Physiology*, **156**(3): 1006–1015. DOI: [10.1104/pp.111.175281](https://doi.org/10.1104/pp.111.175281)

Plieth C., Trewavas A.J. (2002). Reorientation of seedlings in the earth's gravitational field induces cytosolic calcium transients. *Plant Physiology*. **129**(2): 786–796. doi: 10.1104/pp.011007.

Plieth Ch. (2005). Calcium: Just Another Regulator in the Machinery of Life? *Annals of Botany*, **96**(1): 1–8, doi:10.1093/aob/mci144

Porterfield D.M., Dreschel T.W., Musgrave E. (2003 a). A ground-based comparison of nutrient delivery technologies originally developed for growing plants in the spaceflight environment. *Hort Technology*. – **10**(1): 179–185.

Porterfield D.M., Neichitailo G.S., Mashinski A.L., Musgrave M.E. (2003 b). Spaceflight hardware for conducting plant growth experiments in space: The early years 1960–2000, *Advances in Space Research*, **31**(1): 183–193. [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(02\)00752-4](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(02)00752-4).

Pouliquen O., Forterre Y., Bérut A., Chauvet H., Bizet F., Legué V., Moulia B. (2017). A new scenario for gravity detection in plants: the position sensor hypothesis. *Physical Biology*, **14**: 035005.

Pourhabibian R., Iranbakhsh A., Ebadi M., Hassanpour H., Hekmat A. (2021). The effect of Simulated Microgravity on The Antioxidant Capacity and Alkaloid Formation In The *Hyoscyamus Niger*. *Research Square*, **6**: 1–17. doi:10.21203/rs.3.rs-1040969/v1

Pozhvanov G.A., Suslov D.V., Medvedev S.S. (2013). Actin cytoskeleton rearrangements during the gravitropic response of *Arabidopsis* roots. *Cell Tissue Biol.*, **7**: 185–191. doi: 10.1134/s1990519x13020120

Prasad B., Grimm D., Strauch S.M., Erzinger G.S., (+5), Krüger M. (2020 a). Influence of Microgravity on Apoptosis in Cells, Tissues, and Other Systems In Vivo and In Vitro. *Int J Mol Sci.*, **21**(24): 1–32. doi: 10.3390/ijms21249373

Prasad D., Mruthyanjaya D., Mangipudi R. (2020 b). Critical Success Factors of Sustainable Supply Chain Management and Organizational Performance. *Transportation Research Procedia. Journ. of Contemporary Issues in Business and Government*, **48**: 327–344. <https://doi.org/10.1016/j.trpro.2020.08.027>

Prather H. M., Casanova-Katny A., Clements A. F., Chmielewski M.W. (+3), Eppley S. M (2019). Species-specific effects of passive warming in an Antarctic moss system. *Royal Society*, **6**(11): 1–13. 190744. doi: 10.1098/rsos.190744

Press M.C., Lee J.A. (1983) Acid phosphatase activity in *Sphagnum* species in relation to phosphate nutrition. *New Phytologist*, **93**: 567–573. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1983.tb02707.x>

Pringsheim, E.G. (1936). Zur Kenntnis saprotropher Algen und Flagellaten I: Über anhängungskulturen polysaprotropher Flagellaten. *Archiv für Protistenkunde*, **87**: 43–96.

Puga M.I., Rojas-Triana M., Lorenzo L., Leyva A., Rubio V., Paz-Ares J. (2017). Novel signals in the regulation of Pi starvation responses in plants: facts and promises. *Current Opinion in Plant Biology*, **39**: 40–49. doi: 10.1016/j.pbi.2017.05.007.

- Qu L.-H., Sun M.-X. (2008). The nucleus as a chief cellular organizer and active defender in response to mechanical stimuli. *Plant Signal Behav.*, **3**(9): 678–680. doi: 10.4161/psb.3.9.5810
- Rao D.B. (2006). Free gravitational oscillations in rotating rectangular basins. *Journal of Fluid Mechanics*, **25**(3): 523–555. doi:10.1017/S0022112066000235
- Rawat A., Brejskova L., Hala M., Cvrckova F., Zarsky V. (2017). The *Physcomitrella patens* exocyst subunit EXO70.3d has distinct roles in growth and development, and is essential for completion of the moss life cycle. *New Phytologist*, **216**: 438–454. doi: 10.1111/nph.14548
- Reski R. (1998). Development, genetics and molecular biology of mosses. *Botanica Acta*, **111**: 1–15. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1998.tb00670.x>
- Rico-Reséndiz F., Cervantes-Pérez S.A., Espinal-Centeno A., Dipp-Álvarez M., (+7), Cruz-Ramírez A. (2020). Transcriptional and morpho-physiological responses of *Marchantia polymorpha* upon phosphate starvation. *Int. J. Mol. Sci.*, **21**: 1–25. 8354. doi:10.3390/ijms21218354
- Ripetskyj R.T., Kit N.A., Chaban Ch.I. (1999). Influence of gravity on the photomorphism of secondary moss protonemata. *Adv. Space Res.*, **23**: 2005–2010. [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(99\)00350-6](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(99)00350-6)
- Robinson S., Waterman M. (2014). Sunsafe Bryophytes: Photoprotection from Excess and Damaging Solar Radiation. *University of Wollongong. Research Online*, **37**: 113–130. doi: 10.1007/978-94-007-6988-5_7.
- Robinson S.A., Wasley J., Popp M., Lovelock C.E. (2000). Desiccation tolerance of three moss species from continental Antarctica. *Australian Journal of Plant Physiology*, **27**(5): 379–388.
- Robinson S., Wasley J., Tobin A.K. (2003). Living on the edge – plants and global change in continental and maritime Antarctica. *Global Change Biology*, **9**(12): 1681–1717. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2486.2003.00693.x>
- Roblin G., Fleurat-Lessard P., Bonmort J. (1989). Effects of compounds affecting calcium channels on phytochrome and blue-pigment mediated pulvinal movements of *Cassia fasciculata*. *Plant Physiology*, **90**(2): 697–701.
- Rolland F., Sheen J. (2005). Sugar sensing and signalling networks in plant. *Biochemical Society Transaction*, **33**(1): 269–271. doi: 10.1042/BST0330269
- Rose S., Bopp M. (1983). Uptake and polar transport of indoleacetic acid in moss rhizoids. *Physiol. Plant*, **58**: 57–61. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1983.tb04143.x>
- Rose S., Rubery P.H., Bopp M. (1983). The mechanism of auxin uptake and accumulation in moss protonemata. *Physiol. Plant*, **58**: 52–56 <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1983.tb04142.x>

Rosquete M. R., Waidmann S., Kleine-Vehn J. (2018). PIN7 Auxin Carrier Has a Preferential Role in Terminating Radial Root Expansion in *Arabidopsis thaliana*. *Int J Mol Sci.*, **19**(4): 1–11. 1238. doi: [10.3390/ijms19041238](https://doi.org/10.3390/ijms19041238)

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.

Roux S.J., Chatterjee A., Hillier S., Cannon T. (2003). Early development of fern gametophytes in microgravity. *Advances in Space Reseach.*, **31**(1): 215–220. doi:10.1016/S0273-1177(02)00749-4

Roux S.J., Tang W.Q., Sun Y. (2001). Extracellular ATF inhibits root gravitropism and concentrations that inhibit polar auxin transport. *Gravitation and Space Biol.*, **15**: 31.

Roychoudhry S., Bianco M. D., Kieffer M., [Kepinski S.](https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.06.034) (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

Roychoudhry S., Kepinski S. (2015). Analysis of gravitropic setpoint angle control in *Arabidopsis*. *Methods Mol Biol.*, **1309**: 31–41. doi: 10.1007/978-1-4939-2697-8_4.

Roychoudhry S., Bianco M., Kepinski S. (2022). The Analysis of Gravitropic Setpoint Angle Control in Plants. *Methods Mol Biol.*, **2368**: 133–151. doi: 10.1007/978-1-0716-1677-2_10.

Roychoudhry S., Kieffer M., Bianco M., Liao C.-Y., Weijers D, Kepinski S. (2017). The developmental and environmental regulation of gravitropic setpoint angle in *Arabidopsis* and bean. *Sci Rep*, **7**: 1–12. 42664. doi: 10.1038/srep42664.

Sack F.D, Leopold A.C. (1985). Cytoplasmic streaming affects gravity induced amyloplast sedimentation in maize coleoptiles. *Planta*, **164**(1): 56–62. doi: 10.1007/BF00391025.

Sack F.D. (1991). Plant gravity sensing. *Int Rev Cytol.*, **127**: 193–252. doi: 10.1016/s0074-7696(08)60695-6.

Sack F.D. (1993). Gravitropism in protonemata of the moss *Ceratodon*. *Mem. Torrey. Bot. Club*, **25**(1): 36–44. DOI: [10.1007/PL00008098](https://doi.org/10.1007/PL00008098)

Sack F.D. (1997). Plastids and gravitropic sensing. *Planta*, **203**: 63–68. doi: 10.1007/pl00008116.

Sakai T., Mochizuki S., Haga K., Uehara Y., (+4), Okad K. (2012). The WAVY GROWTH 3 E3 ligase family controls the gravitropic response in *Arabidopsis* roots *The Plant Journal*, **70**(2): 303–314 doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04870.x

Salazar-Henao J.E., Vélez-Bermúdez I. C., Schmidt W. (2016). The regulation and plasticity of root hair patterning and morphogenesis. *Development*, **143**(11): 1848–1858.

doi:10.1242/dev.132845

Salmi M.L., Haque, U.A., Bushart T.J., Stout S.C., Roux S.J., Porterfield D.M. (2011). Changes in gravity rapidly alter the magnitude and direction of a cellular calcium current. *Planta*, **233**(5): 911–920. <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1343-2>.

Sanders D., Brownlee C., Harper J.F. (1999). Communicating with Calcium. *Plant Cell*, **11**(4): 691–706. <https://doi.org/10.1105/tpc.11.4.691>

Santos M.A., Russomano T., Fachel F.N.H., Cassel E., Astarita L.V. (2012). The effect of hypergravity on the germination and growth of *Eruca sativa* Mill. *Online J. Sci. Technol.* **2**(3): 57–60. <https://dergipark.org.tr/en/pub/tojsat/issue/22671/242109>

Sathasivam M., Swamy B.K., Krishnan K., Sharma R., (+3), Hosamani R. (2022). Insights into the molecular basis of hypergravity-induced root growth phenotype in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) Genomics, **114**(2): 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2022.110307>

Sato E.M., Hijazi H., Bennett M.J., Vissenberg K., Swarup R. (2015) New insights into root gravitropic signalling. *J Exp Bot*, **66**(8): 2155–2165. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru515>

Saunders M.J. (1990). Calcium and plant hormone action. Hormone perception and signal transduction in animals and plants: In: Roberts J.C., Kirk, M. (Eds.). *Veniz. Proc. of Symposia of the Society for Experimental Biology*. The Company of Biol. Limited. Univ. of Cambridge: **44**: 217–283.

Schubert H.L., R.M., Cheng X. (2003). Many paths to methyltransfer: a chronicle of convergence. *Trends Biochem Sci.*, **28**(6): 329–35. doi: 10.1016/S0968-0004(03)00090-2.

Schultz E.R., Zupanska A.K., Sng N.J., Paul A.-L., Ferl R.J. (2017). Skewing in *Arabidopsis* roots involves disparate environmental signaling pathways. *BMC Plant Biol.*, **17**(31):1–16. doi: 10.1186/s12870-017-0975-9

Schulz P.A., Hofmann A.H., Russo V.-E.A., Hartmann E., Laloue M., Schwartzenberg K. (2001). Cytokinin overproducing over mutants of *Physcomitrella patens* show increased riboside to base conversion. *Plant Phys.* **126**: 1224–1231. doi: 10.1104/pp.126.3.1224.

Schwartzenberg K., Lindner A.-C., Gruhn N., Šimura J., (+...4), Hey I. (2016). CHASE domain-containing receptors play an essential role in the cytokinin response of the moss *Physcomitrella patens*. *J Exp Bot.*, **67**(3): 667–679. doi: 10.1093/jxb/erv479

Schwartzenberg K. (2009). Hormonal regulation of development by auxin and cytokinin in moss. In: Knight C., Perroud P.-F., Cove D. (Eds.). The moss *Physcomitrella patens*. *Annual Plant Reviews*, **36**: 246–281. <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0393>

Schwuchow J, Sack F. (1993). Effects of inversion on plastid position and gravitropism in *Ceratodon protonemata*. *Canadian Journal of Botany*, **71** (9): <https://doi.org/10.1139/b93-14>

Schwuchow J, Sack F. (1994). Microtubules restrict plastid sedimentation in protonemata of the moss *Ceratodon*. *Cytoskeleton*, **29** (4): 366-374 <https://doi.org/10.1002/cm.970290409>

Schwuchow J., Sack F.D., Hartmann E. (1990). Microtubule distribution in gravitropic protonemata of the moss *Ceratodon*. *Protoplasma*, **159**: 60–69. DOI: 10.1007/BF01326635

Schwuchow J.M., Kern W.D., Withe N.G., Sack F. (2002). Conservation of the plastid sedimentation zone in all moss genera with known gravitropic protonemata. *J. Plant Growth. Regul.*, **21** (2): 146. DOI 10.1007/s003440010048

Schwuchow J., Kim D, Sack F. (1995). Caulonemal gravitropism and amyloplast sedimentation in the moss *Funaria*. *Can J Bot.*, **73**(7): 1029–1035. DOI: [10.1139/b95-112](https://doi.org/10.1139/b95-112)

Schwuchow J., Michalke W., Hertel R. (2001). An auxin transport inhibitor interferes with unicellular gravitropism in protonemata of the moss *Ceratodon purpureus*. *Plant Biol.*, **3**(4): 357–363. <https://doi.org/10.1055/s-2001-16459>

Scrase-Field S., Knight M.R. (2003). Calcium: just a chemical switch? *Curr Opin Plant Biol.*, **6**(5): 500–506. DOI: [10.1016/s1369-5266\(03\)00091-8](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(03)00091-8)

Shaw A.J. (2000). Population ecology, population genetics and microevolution. In: Shaw A.J., Goffinet B. (Eds.). *Bryophyte Biology*. Cambridge University Press, Cambridge, 369–402.

Shimazu T., Yuda T., Miyamoto K., Ueda J. (2001). Growth and development in higher plants under simulated microgravity conditions on a 3-dimensional clinostat. *Advances in Space Research*, **27**(5): 995–1000. doi: 10.1016/S0273-1177(01)00165-X

Sievers A., Buchen B., Hodick D. (1996). Gravity sensing in tip growing cells. *Trends Plant Sci.* **1**(8): 273–279. doi: 10.1016/1360-1385(96)10028-5.

Sinclair W., Trewavas A.J. (1997). Calcium in gravitropism. A re-examination. *Planta*, **203**(1): 85–90. doi: 10.1007/pl00008120.

Singh M, Gupta A., Laxmi A. (2017). Striking the Right Chord: Signaling Enigma during Root Gravitropism. *Front. Plant Sci.* **8**: 1–17. doi: 10.3389/fpls.2017.01304

Singh M., Ghosh D., Kumar J. (2014). A comparative study of different discretizations for solving bivariate aggregation population balance equation. *Applied Mathematics and Computation*, **234**: 434–451. <https://doi.org/10.1016/j.amc.2014.02.052>

Singh R., Singh S., Parihar P., Mishra R.K., (+3), Prasad S.M. (2016). Reactive oxygen species (ROS): beneficial companions of plants developmental processes. *Front Plant Sci.*, **7**: 1–19. doi.org/10.3389/fpls.2016.01299

Sinnott E. (2015). *Plant Morphogenesis*. Andesite Press: London, UK, 564 p.

Smet I. D., Tetsumura T., Rybe B.D.I, Frey N. F., (+ 8), Beckman T. (2007). Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of *Arabidopsis*. *Development*,

134(4): 681–690. doi:10.1242/dev.02753

Smet R., Adams K., Vandepoele K., Peer Y. (2013). Convergent gene loss following gene and genome duplications creates single-copy families in flowering plants. *Biological sciences*, **(110)**8: 2898–2903. <https://doi.org/10.1073/pnas.130012711>

Soga K. (2013). Resistance of plants to gravitational force. *J Plant Res.*, **126**(5): 589–596. doi: 10.1007/s10265-013-0572-4.

Soda N., Sharan A., Gupta B. K., Singla-Pareek S. L., Pareek A. (2016). Evidence for nuclear interaction of a cytoskeleton protein (OsIFL) with metallothionein and its role in salinity stress tolerance. *Scientific Reports*, **6**: 1–14. 34762 | DOI: 10.1038/srep34762

Soga K., Yano S., Matsumoto S., Hoson T. (2015). Hypergravity experiments to evaluate gravity resistance mechanisms in plants. In: Blancaflor E.B. (Eds.). *Methods in Molecular Biology. Plant Gravitropism: Methods and Protocols*: 307–319. doi: [10.1007/978-1-4939-2697-8_21](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2697-8_21)

Song P., Tian E., Cai Z., Chen X., (+4), Jia G. (2024). Methyltransferase ATMETTL5 writes m6A on 18S ribosomal RNA to regulate translation in *Arabidopsis*. *New Phytologist*, **244**(2): 571–587. doi: 10.1111/nph.20034

Soriano G., Fabón G., Monforte L., Séneca A., Söderström L., Martínez-Abaigar J., Núñez-Olivera E. (2013). Ultraviolet absorption capacity of sphagnum species from norwegian peatlands. *Boletín de la Sociedad Española de Biología*. **40**: 1–10. <https://www.researchgate.net/publication/259460785>

Sroka Z. (2005). Antioxidative and Antiradical Properties of Plant Phenolics. *Zeitschrift für Naturforschung*, **60**(11/12): 833–843. <https://doi.org/10.1515/znc-2005-11-1204>

Stadtman E.R., Berlett B.S. (1999). Reactive Oxygen-Mediated Protein Oxidation in Aging and Disease. In: Gilbert D.I., Colton C.A. (Eds.). *Reactive Oxygen Species in Biological Systems.*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, N. Y., 657–675.

Stark L.R., McLetchie D.N., Eppley S.M. (2010). Sex ratios and the shy male hypothesis in the moss *Bryum argenteum* (Bryaceae). *Bryologist*, **113**(4): 788–797. <https://doi.org/10.1639/0007-2745-113.4.788>

Stark L.R. (2017). Ecology of desiccation tolerance in bryophytes: A conceptual framework and methodology. *The Bryologist*, **120**(2): 130–165. <https://doi.org/10.1639/0007-2745-120.2.130>

Stetter M.G., Schmid K., Ludewig U. (2015) Uncovering Genes and Ploidy Involved in the High Diversity in Root Hair Density, Length and Response to Local Scarce Phosphate in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, **10**(3): 1–19. doi: 10.1371/journal.pone.0120604

Su S.-H., Gibb N.M., Jancewicz A.L., Masson P.H. (2017). Molecular Mechanisms of Root Gravitropism. *Current Biology*, **27**(17): 964–972. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2017.07.015>

Su S.-H., Keith M.A., Masson P.H. (2020). Gravity Signaling in Flowering Plant Roots. *Plants*, 9(10): 1–23. doi:10.3390/plants910129

Swamy B.K., Hosamani R., Sathasivam M., Reddy U.G., Moger N. (2021). Novel hypergravity treatment enhances root phenotype and positively influences physio-biochemical parameters in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sci Rep*, 11: 15303. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94771-8>

Swarup R., Bennett M.J. (2018). Root gravitropism. *Annu. Plant. Rev. online*, 37: 157–174. doi:10.1002/9781119312994.apr0401

Sytnik K.M., Demkiv O.T., Kordyum E.L., Neducha O.M., Danevich L.A. (1989). Calcium gradient in plant cells with polarized growth in simulated microgravity. *Adv. Space Res.*, 9(11): 41–44. [https://doi.org/10.1016/0273-1177\(89\)90052-5](https://doi.org/10.1016/0273-1177(89)90052-5)

Takemura K., Kamachi H., Kume A., Fujita T., Karahara I., Hanba T.Y., A (2017). A hypergravity environment increases chloroplast size, photosynthesis, and plant growth in the moss *Physcomitrella patens*. *J Plant Res.*, 130(1): 181–192. doi: 10.1007/s10265-016-0879-z.

Takeuchi M., Karahara I., Kajimura N., Takaoka A., (+4), Mineyuki Y. (2016). Single microfilaments mediate the early steps of microtubule bundling during preprophase band formation in onion cotyledon epidermal cells. *Molecular Biology of the Cell*, 27(1): 1–12. doi:10.1091/mbc.E15-12-0820

Tamaoki D., Karahara I., Nishiuchi T., Wakasugi T., Yamada K., Kamisaka S. (2013). Effects of hypergravity stimulus on global gene expression during reproductive growth in *Arabidopsis*. *Plant Biology*, 16: 179–186. <http://dx.doi.org/10.1111/plb.12124>.

Tamaoki D., Karahara I., Schreiber L., Wakasugi T., Yamada K., Kamisaka S. (2006). Effects of hypergravity conditions on elongation growth and lignin formation in the inflorescence stem of *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res.* 119(2): 79–84. doi:10.1007/s10265-005-0243-1

Taran N.Y., Okanenko A.A., Batsmanova L.M., Svetlova N.B. (2009). Response reaction of *Deschampsia antarctica* Desv. plants to UV-B irradiation and oxidative stress. *Ukrainian Antarctic Journal*, (8), 404–412. <https://doi.org/10.33275/1727-7485.8.2009.472>

Taylor P.J., Eppley S.M., Jesson L.K. (2007). Sporophytic inbreeding depression in mosses occurs in a species with separate sexes but not in a species with combined sexes. *American Journal of Botany* 94: 1853–1859. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.11.1853>

Thelander M., Landberg K., Sundberg E. (2018). Auxin-mediated developmental control in the moss *Physcomitrella patens*. *J. Exper. Botany*, 69(2/5) 277–290. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx255>

Thitamadee S., Tuchiara K., Hashimoto T. (2002). Microtubule basis for left-handed helical

growth in *Arabidopsis*. *Nature*, **417**: 193–196. DOI: [10.1038/417193a](https://doi.org/10.1038/417193a)

Tobias J. A., Ottenburghs J., Pigot A. L. (2020). Avian Diversity: Speciation, Macroevolution, and Ecological Function. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, **51**: 533–560. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110218-02>

Toledo-Ortiz G., Johansson H., Lee K.P., Bou-Torrent J., (+3), Halliday K.J. (2014). The HY5-PIF regulatory module coordinates light and temperature control of photosynthetic gene transcription. *PLoS Genet.*, **(10)6**. e1004416. doi: 10.1371/journal.pgen.1004416.

Toyota M., Furuichi T., Tatsumi H., Sokabe M. (2008). Cytoplasmic calcium increases in response to changes in the gravity vector in hypocotyls and petioles of *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiology*, **146**: 505–514. doi: 10.1104/pp.107.106450.

Toyota M., Gilroy S. (2013). Gravitropism and mechanical signaling in plants. *Am. J. Bot.*, **100**(1): 111–125. doi: 10.3732/ajb.1200408

Tuba Z. (2011). Bryophyte Physiological Processes in a Changing Climate: an Overview. In *Bryophyte ecology and climate change*. Tuba Z., Clack N.G., Stark L.R. Eds. New York: Cambridge University Press, 13–35.

Turner B.L, Baxter R, Whitton BA. (2003). Nitrogen and phosphorus fractions in soil solutions and drainage streams in Upper Teesdale National Nature Reserve, northern England: implications of organic compounds for biological nutrient limitation. *Science of the Total Environment*, **314/316**: 153–170. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(03\)00101-3](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(03)00101-3)

Turner B.L., Baxter R., Ellwood N.T.W., Whitton B.A. (2001). Characterization of the phosphatase activities of mosses in relation to their environment. *Plant Cell and Environment*, **24**(11): 1165–1176.

Une K. (1985). Sexual dimorphism in the Japanese species of *Macromitrium* (Musci: Orthotrichaceae). *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **59**: 487–513.

Valbuena M.A., Manzano A., Vandenbrink J.P., (+4), [Herranz](#) R. (2018). The combined effects of real or simulated microgravity and red-light photoactivation on plant root meristematic cells. *Planta*, **248**: 691–704 <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2930-x>

Valério L., De Meyer M., Penel C., Dunand C. (2004). Expression analysis of the *Arabidopsis* peroxidase multigenic family. *Phytochemistry*, **65**(10): 1331–1342. doi: 10.1016/j.phytochem.2004.04.017.

Vandenbrink J.P., Kiss J.Z., Herranz R., Medina F.J. (2014) Light and gravity signals synergize in modulating plant development. *Front Plant Sci.*, **5**(563): 1–18. doi.org/10.3389/fpls.2014.00563

Vandenbrink J. P., Herranz, R., Medina F. J., Edelmann R. E., Kiss, J. Z. (2016). A novel

blue-light phototropic response is revealed in roots of *Arabidopsis thaliana* in microgravity. *Planta*, **244**, 1201–1215. doi: 10.1007/s00425-016-2581-8

Vanneste S., Friml J. (2009). Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell*, **136**(6): 1005–1016. doi: 10.1016/j.cell.2009.03.001

Vayner A., Miroshnichenko N., Kolupaev Yu., Yastreb T., Khripach V., Sotnikov Yu. (2014). The influence of 24-epibrassinolide on heat resistance and productivity of millet (*Panicum miliaceum*) plants. *Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія*, **(3)**33: 35-42.

Viaene T., Landberg K., Thelander M., Geisler M., Sundberg E., Friml J. (2014). Directional Auxin Transport Mechanisms in Early Diverging Land Plants. *Current Biology*, **24**(23): 2786–2791. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2014.09.056>

Villacampa A., Fañanás-Pueyo I. Medina F.J, Ciska. M. (2021). Root growth direction in simulated microgravity is modulated by a light avoidance mechanism mediated by flavonols. *Physiologia Plantarum*, **174**. e13722. <https://doi.org/10.1111/ppl.13722>

Vitha S, Zhao L, Sack FD. 2000. Interaction of root gravitropism and phototropism in *Arabidopsis* wild-type and starchless mutants. *Plant Physiology*. **122**: 453–461. doi: 10.1104/pp.122.2.453.

Volkman, D., Behrens, H. M, Sievers, A. (1986). Development and gravity sensing of cress roots under microgravity. *Naturwissenschaften*, **73**:438–441. doi: **10.1007/BF00367291**.

Voosen P. (2019). NASA to fly drone on Titan. *Science*, **365**(6448): 1–15. doi.org/10.1126/science.365.6448.

Vorselen D., Roos W.H., MacKintosh F.C., Wuite G.J.L., Loon J.J.W.A. (2014). The role of the cytoskeleton in sensing changes in gravity by nonspecialized cells. *FASEB J.* ,**28**(2): 536–547. doi: 10.1096/fj.13-236356.

Vreeland V., Kwan N. (1999). Marine Algal Vanadium Peroxidase: Substratum Adhesion and Active Recombinant Catalytic Domain. Thesis of Conference “Peroxidase 99”, July 17-21, 1999, Columbus, Ohio USA: 234–235.

Wagner T.A., Sack F.D. (1998). Gravitropism and gravimorphism during regeneration from protoplasts of moss *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., *Planta*: 205: 352–358.

Waidmann S., Rosquete R.M., Schöller M., Sarkel E., (+9), Kleine-Vehn J. (2019). Cytokinin functions as an asymmetric and anti-gravitropic signal in lateral roots. *Nature Communications*, **10**(1): 1–14. doi: 10.1038/s41467-019-11483-4.

Waidmann S., Sarkel E., Kleine-Vehn J. (2020). Same same, but different: growth responses of primary and lateral roots. *Journal of Experimental Botany*, **71**(8): 2397–2411. doi:10.1093/jxb/eraa027

Wakabayashi K., Nakano S., Soga K., Hoson T. (2009). Cell wall-bound peroxidase activity and lignin formation in azuki bean epicotyls grown under hypergravity conditions. *J Plant Physiol*, **166**(9): 947–954. doi: 10.1016/j.jplph.2008.12.006

Wakabayashi K., Soga K., Hoson T., Kotake T., (+ 7), Kamada M. (2015). Suppression of Hydroxycinnamate Network Formation in Cell Walls of Rice Shoots Grown under Microgravity Conditions in Space. *PLoS One*, **10**(9): e0137992. doi: 10.1371/journal.pone.0137992

Walker I.M., Sack F.D. (1990). Amyloplasts as possible statoliths in gravitropic protonemata of the moss *Ceratodon purpureus*. *Planta*, **181**:71–77.

Wang, H.-Z., Yang K.-Z., Zou J.-J., Zhu L.-L., (+8), Le J. (2015). Transcriptional regulation of PIN genes by FOUR LIPS and MYB88 during *Arabidopsis* root gravitropism. *Nat. Commun.* **6**: 1–9. doi: 10.1038/ncomms9822.

Warinowski T., Koutaniemi S., Kärkönen A., Sundberg I., (+3), Teeri T.H. (2016). Peroxidases bound to the growing lignin polymer produce natural like extracellular lignin in a cell culture of *Norway spruce*. *Front. Plant Sci*, **7**: 1523–1533. doi:[10.3389/fpls.2016.01523](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01523)

Wasley J., Robinson S.A., Lovelock C.E., Popp M. (2006). Some like it wet – an endemic Antarctic bryophyte likely to be threatened under climate change induced drying. *Functional Plant Biology*, **33**: 443–455.

Wasteneys G.O., Yang Z. (2004). New Views on the Plant Cytoskeleton. *Plant Physiology*, **36**: 3884–3889. doi/10.1104/pp.104.900133.

Wei Z., Li Y., Ali F., Wang Y., (+4), Li F. (2022). Transcriptomic analysis reveals the key role of histone deacetylation via mediating different phytohormone signalings in fiber initiation of cotton. *Cell & Bioscience*, **107**(12): 1–47. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1138074/v1>

Wojtaszek P. (2011). Mechanical integration of plant cells and plants. Wojtaszek P. (Ed.). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 356 p. https://doi.org/10.1007/978-3-642-19091-9_8

Wolf L., Rizzini L., Stracke R., Ulm R., Rensing S. A. (2010). The Molecular and Physiological Responses of *Physcomitrella patens* to Ultraviolet-B Radiation. *Plant Physiology*, **153**: 1123–1134. www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.110.154658

Xu P., Chen H., Jin J., Cai W. (2018). Single-base resolution methylome analysis shows epigenetic changes in *Arabidopsis* seedlings exposed to microgravity spaceflight conditions on board the SJ-10 recoverable satellite. *npj Microgravity*, **4**(12): <https://doi.org/10.1038/s41526-018-0046-z>

Xu T., Niu J., Jiang Z. (2022). Sensing Mechanisms: Calcium Signaling Mediated Abiotic Stress in Plants. *Front Plant Sci.*, **13**: 925863. doi:10.3389/fpls.2022.925863

Yadav A.K., Pandey A., Pandey G.K. (2012). Calcium Homeostasis: Role of CAXs Transporters in Plant Signaling. *Plant Stress*, **6**: 60–69.

Yang S.-Y., Lin W.-Y., Hsiao Y.-M., Chiou T.-J. (2024). Milestones in understanding transport, sensing, and signaling of the plant nutrient phosphorus. *The Plant Cell*, **36**: 1504–1523. <https://doi.org/10.1093/plcell/koad326>

Yang, P., Wen Q., Yu R., Han X., Deng X.W., Chen H. (2020). Light modulates the gravitropic responses through organ-specific PIFs and HY5 regulation of LAZY4 expression in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **117**(31):18840–18848. doi: 10.1073/pnas.2005871117.

Yoshihara T., Spalding E.P. (2017). LAZY Genes Mediate the Effects of Gravity on Auxin Gradients and Plant Architecture. *Plant Physiology*, **175**: 959–969. www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/

Young J.C., Sack F.D. (1992). Time-lapse analysis of gravitropism in *Ceratodon* protonema. *Am. J. Bot.*, 79: 1348–1358.

Zabel P., Bamsey M., Schubert D., Tajmar M. (2016). Review and Analysis of over 40 Years of Space Plant Growth Systems. *Life Sci. Space Res.*, **10**, 1–16. doi:10.1016/j.lssr.2016.06.004

Zagórska-Marek B., Sokołowska K., Turzańska M. (2018). Chiral events in developing gametophores of *Physcomitrella patens* and other moss species are driven by an unknown, universal direction-sensing mechanism. *American Journal of Botany*, **105**(12): 1986–1994. doi:10.1002/ajb2.1200

Zhao J., Dixon R.A. (2013). MATE transporters facilitate vacuolar uptake of epicatechin 3'-*O*-glucoside for proanthocyanidin biosynthesis in *Medicago truncatula* and *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **21**: 2323–2340. doi: [10.1105/tpc.109.067819](https://doi.org/10.1105/tpc.109.067819)

Бараненко В. В. Пероксидне окиснення ліпідів та активність супероксиддисмутази в рослинах гороху за умов кліностагування : Автореф. дис... канд. біол. наук : 03.00.11 – К., 2003, 24 с.

Бачурина Г.Ф. , Мельничук В.М.(1989). Флора мохів Української РСР. Андрєєві, брієві. Вип. 1. Київ: Наук. думка, 180 с.

Белявская Н.А. (2008). Локализация Са²⁺-активируемых АТФаз в гравирецепторных клетках гороха при действии блокаторов кальциевых каналов. *Цитология и генетика*, **32**, 3–8.

Гродзинський Д.М. (2013). Адаптивна стратегія фізіологічних процесів рослин. К.: Наукова думка, 304 с.

Гудков І. М. (2016). Радіобіологія. К.: НУБіП України, 485 с.

Данілов В. Я. (2019). Статистична обробка даних: навчальний посібник. Київ: КНУ ім. Тараса Шевченка, 156 с.

Демків О.Т, Сьтнік К. М. (1985). Морфогенез архегоніат. Київ: Наук. думка, 204 с.

Демків О.Т., Федык Я.Д. (1977). Полярность клеточной проницаемости и ее контроль фитохромом. *Биофизика*, 22(5): 824–828.

Демків О.Т., Хоркавців Я.Д., Кардаш А.Р., Чабан Х.И. (1997). Взаимодействие света и гравитации в ростовых движениях протонемы мхов. *Физиол. растений*, 44(2), 205–211.

Демків О.Т. (1977). Розвиток нитчастої протонемі листяних мохів. *Укр. ботан. журн.*, 34(4): 426–433.

Демків О.Т., Кордюм Є.Л., Таїрбеков М. Г., Хоркавців Я.Д. (1998). Гравіморфогенез протонемі листяних мохів. *Доп. НАН України. Сер. Біологія*, 7: 163–166.

Демків О.Т., Хоркавців Я.Д., Кияк Н.Я., Кіт Н.А. (2005). Вплив гравітації на фотоморфогенез протонемі *Pottia intermedia* (Turn.) Fürnr., Pottiales. *Укр. ботан. журн.*, 62(3): 329–337.

Демків О.Т., Кордюм Є.Л., Хоркавців Я.Д., Таїрбеков М.Г. (2006). Умови гравітації – експериментальна база для пізнання закономірностей морфогенезу рослин в гравітаційному полі. *Космічна наука і технологія*, 12(5/6): 30–35.

Демків О.Т., Хоркавців Я.Д., Кардаш О.Р. (1999). Спільний американсько-український експеримент SPM на космічному кораблі "Columbia". *Праці НТШ. Екологічний збірник на пошану А.С. Лазаренка*, 3: 13–18.

Демків О.Т., Хоркавців Я.Д., Кардаш О.Я. (2001). Фізіологічні основи експериментальної бріології. Фізіологія рослин на межі тисячоліть. К., 306–311.

Демків О.Т., Хоркавців Я.Д., Пундяк О.І. (2009). Гравітація як формотворчий фактор розвитку мохів. Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. Т.2. За ред. Моргуна В.В. К.: Логос, 403–410.

Деркач М.П. (1963). Елементи статистичної обробки результатів біологічного експерименту. Львів: ЛДУ, 67 с.

Дмитрієв О.П., Поляковський С.О. (2007). УФ-В радіація і рослини. *Вісник Харківського Національного аграрного університету. Серія біологія*. 1(10): 7–23.

Кардаш О.Р., Хоркавців Я.Д., Демків О.Т. (1988). Ріст і морфогенез *Weissia tortilis* (Schwaegr.) C. Müll. з різних місцезростань. *Укр. ботан. журн.*, 45(2): 17–21.

Карпец Ю.В., Колупаєв Ю.Е. (2009). Ответ растений на гипертермию: молекулярно-клеточные аспекты. *Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Серія Біологія*, (1)16: 19–39.

Кияк Н.Я. (2005). Вплив фенольних сполук на фізіолого-біохімічні показники у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica* Hedw. *Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*. 25(1/2): 81–87.

Кияк Н. (2017, а). Адаптація бріофітів до осмотичного стресу. *Біологічні студії*,

11(3/4):. 68–69. http://nbuv.gov.ua/UJRN/bist_2017_11_3-4_

Кияк Н., Хоркавців Я. (2016, а). Оцінка окиснювального стресу моху *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. залежно від впливу гравітації. *Космічна наука і технологія*, **22**(4): 58–66. <https://doi.org/10.15407/knit2016.04.058>.

Кияк Н.Я. (2015). Особливості фізіологічних показників водного режиму у бріофітів із різною толерантністю до дефіциту вологи. *Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна*, **70**: 245–255.

Кияк Н.Я. (2017, б). Особливості метаболізму вуглеводів у бріофітів в умовах осмотичного стресу на території хвостосховища Стебницького ГХП “Полімінерал”. *Рослини та урбанізація: матеріали шостої Міжнародної науково-практичної конференції*, Дніпро, 1–2 березня 2017: Дніпро, 50–53.

Кияк Н.Я., Лобачевська О.В., Хоркавців Я.Д. (2021). Морфо-фізіологічні реакції гравічутливості та адаптації до УФ-випромінювання моху *Bryum caespiticium* Hedw. із Антарктики. *Косм. наука технол.*, **27**(5): 47–59. <https://doi.org/10.15407/knit2021.05.047>

Кияк Н.Я., Хоркавців Я.Д. (2016, б). Вплив H₂O₂ на процеси пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів моху *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. в умовах кліностатування. *16-а українська конференція з космічних досліджень*, Одеса, 22-27 серпня 2016: Київ, 60.

Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. (2010). Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. К: Основа, 352 с.

Кордюм Е.Л. (2016). Космическая биология и медицина в Украине: история и перспективы. *Наука та наукознавство*, **1**: 87–110.

Кордюм Е.Л., Чепмен Д. (2007). Рослини в космосі. Спільний українсько-американський експеримент. Місія 87, 15 листопада – 5 грудня 1997 року. К.: Академперіодика. – 215 с.

Кордюм Є.Л. (2023). Проекти з космічної біології в Україні: сучасні тенденції. *Космічна наука і технологія*, **29**(1): 36–51. <https://doi.org/10.15407/knit2023.01.036>

Кордюм Є.Л., Дубина Д.В. (2021). Роль епігенетичної регуляції в адаптивній пластичності рослин. *Укр. ботан. журн.*, **78**(5): 347–359. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj78.05.347>

Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Бараненко В.В., Белявская Н.А., Климчук Д.А., Недуха Е.М. (2003). Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. К.: Наук. думка, 290 с.

Корольок Д.В (2021). Основи статистичної обробки даних: Ймовірність і статистика.

Навч. посіб. КПІ ім. Ігоря Сікорського, *Електронні текстові дані*. Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 78 с.

Лазаренко А. С. (1959). Спостереження над морфологією і екологією регенеративної протонеми у тортул – сільської (*Tortula ruralis* Hedw.) і пустельної (*T. desertorum* Broth.). *Укр. ботан. журн.*, **16**(5): 55–64.

Лазаренко А.С., Демків О.Т. (1968). Корелятивне гальмування росту протонеми *Funaria hygrometrica* Hedw. *Доповіді АН УРСР*. Серія Б. Геологія, геофізика, хімія, біологія, 8: 763–765.

Лазаренко А.С., Коваленко А.П., Пашук Х.Т. (1961). Деякі спіральні структури протонеми листяних мохів. *Укр. ботан. журн.* **18**(6): 89–98.

Лесняк Ю.І., Демків О.Т. (2005). Сприйняття і реалізація гравістимулу у протонемі мохів *Космічна наука і технологія*, **11**(3/4): 120–123.

Лобачевська О., Рабик І. (2012). Особливості вегетативного розмноження мохоподібних на відвалах сірчаного видобутку. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, **60**: 145–155.

Лобачевська О.В. (2006). Нові види мохів з гравітропною протонемою. В кн.: Наукові основи збереження біотичної різноманітності: *Тематичний збірник Інституту екології Карпат НАН України*. Львів: Ліга–Прес. **7**, 137–143.

Лобачевська О.В., Кияк Н.Я., Хоркавців Я.Д. (2019). Морфофункціональні особливості клітин протонеми *Weissia tortilis* Spreng., що розрізняються гравічутливістю. *Косм. наука технол.*, **25**(2): 60–70. <https://doi.org/10.15407/knit2019.02.060>

Лобачевська О.В., Кияк Н.Я., Баїк О.Л., Хоркавців Я.Д. (+6), Кіт Н.А. (2022). Стійкість та адаптивні структурно-функціональні зміни мохів під впливом аботичних стресорів в умовах антропогенно трансформованого середовища / За ред. к.б.н. О.В. Лобачевської. Львів: Галич–Прес, 280 с.

Лобачевська О.В., Рабик І.В., Кияк Н.Я., Данилків І.С., (+7), Хомин І.Г. (2022). Роль бріофітного покриву в ревіталізації антропогенно трансформованих територій / За ред. к.б.н. О.В. Лобачевської. Львів: Левада, 262 с.

Лобачевська О. В., Хоркавців Я. Д. (2014). Гравічуливість в онтогенезі мохів. *Космічна наука і технологія*, **20**(5): 55–60.

Лобачевська О.В., Хоркавців Я.Д., Кияк Н.Я., Кіт Н.А., Данилків І.С. (2015). Гравіморфогенез гаметофіту мохів. *Космічна наука і технологія*, **21**(4): 94–102. <http://dx.doi.org/10.15407/knit2015.04.094>

Лобачевська О.В., Кияк Н.Я., Хоркавців Я.Д., Кіт Н.А. (2017). Гравізалежна

модифікація репродуктивного розвитку мохів *Укр. ботан. журн.*, **74**(5): 488–496. DOI: 10.15407/ukrbotj74.05.488

Лушак В.І., Багнюкова Т.В., Лушак О.В. (2004). Показники оксидативного стресу. 1. Тіобарбітуратактивні продукти і карбонільні групи білків. *Укр. біохім. журн.*, **76**(3): 136–141.

Мищенко Л.Т., Поліщук В.П., Таран О.П., Гордейчик О.І. Вірусні інфекції картоплі та їх перебіг за умов модельованої мікрогравітації. Київ: Фітосоціоцентр, 143 с.

Мусієнко М., Паршикова Т., Славний П. (2001). Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. Київ: Фітосоціоцентр, 153 с.

Недуха Л.М. (1986). Вплив кліностакування на ультраструктуру протонемі *Funaria hygrometrica* Hedw. *Укр. ботан. журн.*, 43: 20–23.

Недуха О.М. (2015). Клітинна оболонка рослин і фактори середовища. Київ: Альтерпрес, 289 с.

Ніколайчук В.І., Белчгазі В.Я., Білик Р.Р. (2000). Основи наукових досліджень з фізіології рослин. Навч. росібник. Ужгород: Патент, 69 с.

Пундяк О.І., Демків О.Т., Хоркавців Я.Д., Багрій Б.Б. (2002). Полярність проростання спор *Funaria hygrometrica* Hedw. *Космічна наука і технологія*, **8**(1): 96 – 100.

Рипецкий Р.Т. (1985). Экспериментальный апомиксис у мхов и проблема устойчивости детерминированного состояния. *Онтогенез*, **16**(3): 229—241.

Ріпецький Р.Т., Хоркавців Я.Д. (2012). Епігенетична адаптація мохів і феномен клітинної пам'яті. *Укр. ботан. журн.* **69**(2): 302–314.
<http://dspace.nbu.gov.ua/handle/123456789/176981>

Структура виду і механізми видоутворення мохів. Вибрані праці. Лазаренко А.С. (2001). / За ред. М.А. Голубця та ін. Львів: Ліга-прес, 231 с.

Таран Н., Оканенко О., Бацманова Л., Светлова Н. (2007). Реакція відповіді рослин на УФ-В опромінення та оксидний стрес. *Укр. ботан. журн.*, **(64)**2: 279–289.
<http://dspace.nbu.gov.ua/handle/123456789/128586>

Тищенко О. М, Михальська О. М., Моргун Б. В. (2016). Генетична інженерія та клітинна селекція для підвищення осмотолерантності культурних рослин. *Физиология растений и генетика*, **48**(3): 257–266.

Хоркавців О.Я., Демків О.Т. (1999). Гравітропна реакція протонемі моху *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. та її модифікація світлом. *Космічна наука і технологія*, **5**(5/6): 110–117.

Хоркавців Я.Д., Демків О.Т. (2003). Вплив інгібіторів ауксинового транспорту на гравітропізм протонемі *Pohlia nutans* (Hedw.). *Космічна наука і технологія*, **9**(2/3): 77–82.

Хоркавців Я.Д., Демків О.Т. (2009). Взаємовплив світла і гравітації на тропізми

протонеми та морфогенез гаметофіту мохів. *Наук. зап. держав. природознавчого музею*, **25**: 143–148.

Хоркавців О.Я., Демків О.Т., Хоркавців Я.Д. (2002). Участь кальцію у гравітропізмі протонеми моху *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. *Космічна наука і технологія*, **8**(1): 89–95.

Хоркавців Я.Д., Ріпецький Р.Т., Баїк О.Л. (2009). Фенотипічна та епігенетична адаптація клону моху до ртуті. *Цитологія і генетика*, **43**(5): 22–27. doi: <https://www.doi.org/>

Хоркавців Я.Д., Демків О.Т. (1993). Регуляція ростових процесів в ізольованих клітинних системах мохів. *Физиол. и биохим. культ. раст.* **25**(144): 284–289.

Хоркавців Я.Д., Кияк Н.Я., Кіт Н.А. (2014). Гравізалежний морфогенез мохів: Гравічутливість в онтогенезі мохів. *14-та укр. конф. з космічних досліджень*, Ужгород 2–8 вересня 2014. Київ, 71.

Хоркавців Я.Д., Кордюм Є.Л., Лобачевська О.В., Кияк Н.Я., Кіт Н.А. (2015). Галуження протонеми *Ceratodon purpureus* в умовах зміненої сили тяжіння. *Укр. ботан. журн.*, **72**(6): 588–595.

Хоркавців Я.Д., Лобачевська О.В., Кияк Н.Я. (2021). Участь метилування ДНК у гравіморфогенезі мохів *Polytrichum arcticum* і *Physcomitrella patens*. *Актуальні проблеми фізіології рослин і генетики: матеріали Міжн наук. конф., присвяченої 75-річчю Інституту фізіології рослин і генетики НАН України*. Київ, 203–205.

Хоркавців Я.Д., Лобачевська О.В., Кияк Н.Я., Кіт Н.А. (2016). Модифікація репродуктивного розвитку мохів під впливом гравітації. *16-а українська конференція з космічних досліджень: тези доповідей конференції* (Одеса, 22 – 27 серпня 2016 р.). Київ, 70.

Хоркавців Я.Д., Лобачевська О.В., Кияк Н.Я., Кордюм Є.Л. (2023). Вплив метилування ДНК на гравічутливість мохів. *Космічна наука і технологія*, **29**(4): 106–118. <https://doi.org/10.15407/knit2023.04.106>

Хоркавців Я.Д., Ріпецький Р.Т., Баїк О.Л. (2009). Фенотипічна та епігенетична адаптація клону моху до ртуті. *Цитологія і генетика*, **5**: 22–27. doi: <https://www.doi.org/>

Чабан Х.І. (1998). Сучасні уявлення про гравітропічну реакцію рослин. *Укр. бот. ж.*, **55**(4): 376–382.

Шевченко Г. В., Кордюм Е. Л. (2012). Использование трансгенных растений *Arabidopsis thaliana*-GFP-ABD2 в экспериментах по изучению цитоскелета в условиях моделированной микрогравитации. *Космічна наука і технологія*, **18**(6): 51–56. <https://doi.org/10.15407/knit2012.06.051>

Шевченко Г.В. (2024). Цитоскелет в процесі адаптації рослин до модельованої мікрогравітації та гіпоксії: авторефер. дис. доктора біол. наук: 03.00.11. Київ, 50 с.