

ZOFIA STARCK

*Katedra Fizjologii Roślin  
Wydział Rolnictwa i Biologii  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa  
E-mail: kfr@sggw.pl*

## FUNKCJA TKANEK PRZEWODZĄCYCH: ZAOPATRZENIE W SUBSTANCJE POKARMOWE I UDZIAŁ W KOORDYNACJI PROCESÓW W ROŚLINACH

### WPROWADZENIE

Badania dotyczące funkcji tkanek przewodzących, floemu i ksylemu, w ostatnich latach ożywiły się po stosunkowo długiej przerwie. Jest to częściowo związane z szybkim rozwojem biologii molekularnej, biochemii i genetyki. Osiągnięcia w tych dyscyplinach pozwoliły na przeprowadzenie badań w dziedzinie transportu waskularnego na poziomie subkomórkowym i molekularnym przy wykorzystaniu nowoczesnych metod badawczych (MINCHIN i LACOINTE 2005). Obecny stan wiedzy pozwala na rozszerzenie, a niekiedy nawet zmianę interpretacji wyników starszych badań. Jest to jedną z przyczyn, dla której coraz częściej cytowana jest, częściowo już zapomniana literatura.

Niniejsze opracowanie nie jest pracą przeglądową. Omówienie problematyki narysowanej w tytule musiałoby być oparte na kilkuset pozycjach literatury. Taką funkcję częściowo spełniły najnowsze, doskonałe artykuły, dotyczące wybranych działów funkcji tkanek przewodzących (OPARKA i CRUZ 2000; RUIZ-MEDRANO i współaut. 2001, 2007; SOWIŃSKI 2002, 2003; VAN BEL i współaut. 2002; VAN BEL 2003; MINCHIN i LACOINTE 2005; THORPE i współaut. 2005; VAN BEL i HAFKE 2005; LOUGH i LUCAS 2006) i dwa opracowania monograficzne na temat transportu waskularnego (HOLBROOK i ZWIE-

NIECKI 2005) oraz transportu i dystrybucji substancji pokarmowych (STARCK 2003).

Wzrost roślin jest uzależniony od ciągłego zaopatrywania komórek w substancje pokarmowe i w wodę. Produkty fotosyntezy dostarczane są do poszczególnych komórek przez całą dobę, pomimo że fotosynteza odbywa się wyłącznie w ciągu dnia. Jest to możliwe dzięki okresowej, często krótkotrwałej akumulacji produktów fotosyntezy. Tego typu zabezpieczenie możliwości nieprzerwanego odżywiania rośliny nie tylko w nocy, lecz także w ciągu różnych etapów ontogenezy, THORPE i współaut. (2005) nazwali „buforową akumulacją”. W takich przypadkach w liściach lub innych organach wegetatywnych gromadzona jest skrobia lub inne substancje pokarmowe. W nocy zarówno tkanki autotroficzne, jak i heterotroficzne odżywiane są tymi właśnie substancjami, uruchamianymi w procesie remobilizacji (STARCK 2003, THORNE i współaut. 2005). Podobny proces wykorzystywania substancji zapasowych ma miejsce u roślin dwuletnich lub wieloletnich po okresie zimy, w czasie której warunki zewnętrzne uniemożliwiają asymilację dwutlenku węgla. U drzew, wiosenny rozwój pączków odbywa się dzięki remobilizacji zakumulowanych substancji pokarmowych w organach wegetatywnych.

Etapy ontogenezy w różnych organach determinują zróżnicowane zapotrzebowanie na substancje pokarmowe, a w konsekwencji zmiany w ich zaopatrzeniu i w dystrybucji substancji pokarmowych mają miejsce np. w czasie przejścia roślin w fazę generatywną. Rozwijające się organy generatywne są wówczas dominującym akceptorem zarówno fotoasymilatów, jak i jonów, głównie azotu, fosforu i potasu (MINCHIN i THORPE 1996, STARCK 2003). Powoduje to konieczność nie tylko zmiany wzoru dystrybucji bieżących asymilatów, lecz również remobilizacji substancji pokarmowych, zakumulowanych w organach wegetatywnych. Taką reakcję obserwuje się u zbóż, u których w czasie kwitnienia i wypełniania ziarniaków powierzchnia liści jest bardzo mała, przez co często występuje niedobór produktów bieżącej fotosyntezy stwarzając konieczność wykorzystania związków z „buforowej akumulacji” (WŁODOWSKA 1972, SCOFIELD i współaut. 2007).

Poza regularnymi zmianami warunków w środowisku, roślina narażona jest na ciągłe zmiany pogody, często niekorzystne, czyli stresowe.

Długotrwałe stresy wymuszają zmiany w przebiegu procesów życiowych rośliny, a szczególnie fotosyntezy i transportu w tkankach przewodzących (SOWIŃSKI 2003, STARCK 2006a). Stąd wynika konieczność ustawicznej regulacji i koordynacji procesów: produkcji związków organicznych, pobierania wody i jonów oraz ich dystrybucji w całym organizmie.

Rośliny w rozwoju ewolucyjnym wykształciły szereg precyzyjnie funkcjonujących mechanizmów – reakcji na sygnały odbierane ze środowiska wewnętrznego (endogennego) lub zewnętrznego. Są to sygnały chemiczne, w wielu przypadkach przekazywane przez tkanki przewodzące: hormony i inne substancje (cukry, różne jony, białka i kwasy nukleinowe) grające rolę regulatorów procesów. Droga od odbioru sygnału np. w liściu, do reakcji rośliny np. w korzeniu lub z korzenia do pędu w wielu przypadkach jest długa, a powinna dostarczać informacje w jak najkrótszym czasie. Powstaje więc fundamentalne pytanie, w jaki sposób roślina przekazuje odebrane informacje? Próbę wyjaśnienia reakcji rośliny na sygnały środowiska podjął już w XIX w. Sachs (1832–1897) postulując koordynację metabolizmu i morfogenezy przy

udziale „posłańców” chemicznych. Narzuca się jednak dalsze pytanie, jak wędrują po roślinie ci „posłańcy”?

Rośliny nie posiadają systemu krwionośnego, rozprawdzającego substancje pokarmowe po całym organizmie, ani układu nerwowego przewodzącego sygnały. Do analogicznych funkcji wykształciły one w pewnym sensie floem i ksylem. Tkanki przewodzące nie tylko transportują związki pokarmowe i wodę, lecz, jak wspomniano powyżej, przemieszczają również substancje sygnałowe. Z tego wynika, że floem, a częściowo również ksylem, uczestniczą pośrednio w koordynacji procesów zachodzących nawet w odległych od siebie organach. Lokalnie odbierane sygnały informują np. o zmianach w zapotrzebowaniu organów na substancje pokarmowe (HOLBROOK i ZWIENIECKI 2005) w czasie suszy lub o deficytowym poziomie oświetlenia obniżającym intensywność fotosyntezy, co pośrednio wymusza zmiany w kluczu dystrybucji substancji pokarmowych (KOCH 1996, STARCK 2003). Sprawne przekazywanie informacji o konieczności modyfikacji procesów życiowych umożliwia przystosowanie organizmu do warunków środowiska (SOWIŃSKI 1999, STARCK 2006a i tam cytowane prace) i przystosowanie się rośliny do kolejnych etapów ontogenezy. W takim ujęciu tkanki przewodzące pośrednio uczestniczą w realizacji programu genetycznego. Znalazło to swój wyraz w określeniu floemu jako magistrali informacji (ang. superhighway of information) (JÖRGENSEN i współaut. 1998, LUCAS i WOLF 1999) lub jako przewodnika w komunikacji międzyorganowej (RUIZ-MEDRANO i współaut. 2001). Reasumując, tkanki przewodzące, a szczególnie floem, są doskonale przystosowane do pełnienia podwójnej funkcji: transportu nie tylko substancji pokarmowych, lecz również różnorodnych związków oraz transdukcji sygnałów uczestniczących w regulacji metabolizmu oraz adaptacji i aklimatyzacji do stresów (SOWIŃSKI 1999, STARCK 2003, MINCHIN I LACOINTE 2005 i tam cytowane prace). Specyfika i finezja funkcji floemu znalazła wyraz w tytułach prac dotyczących tej tkanki: „Rurki sitowe – fenomen funkcjonalności” (SOWIŃSKI 2003) lub „Floem – cud pomysłowości” (VAN BEL 2003). Pełnią one funkcje w pewnym sensie analogiczną do nerwów u zwierząt (HOLBROOK i ZWIENIECKI 2005).

## CHARAKTERYSTYKA TKANEK PRZEWODZĄCYCH

## NOWOCZESNE METODY BADAŃ TKANEK PRZEWODZĄCYCH

W ostatnich latach wielki postęp w poznaniu struktury i w zrozumieniu funkcji floemu i ksylemu wynika w głównej mierze z opracowania i zastosowania w biologii roślin wielu nowych technik badawczych (SOWIŃSKI 2003, MINCHIN i LACOINTE 2005, VAN BEL i HAFKE 2005).

1. Po okresie badań transportu fotoasymilatów znakowanych radioaktywnym węglem  $^{14}\text{C}$ , o bardzo długim okresie półtrwania ( $T_{1/2}$  wynosi 5568 lat), obecnie w doświadczeniach znakuje się rośliny węglem  $^{11}\text{C}$ , o  $T_{1/2}$  wynoszącym tylko 20 min. Stosowanie tego radioaktywnego węgla pozwala na wielokrotne, nieinwazyjne znakowanie tej samej rośliny, w krótkim czasie (MINCHIN i THORPE 2003).

2. Wykorzystywanie możliwości uzyskiwania roślin zmodyfikowanych genetycznie, z wprowadzonym genem umożliwiającym badania transportu w tkankach przewodzących i funkcji produktu jego ekspresji.

3. Śledzenie w tkankach przewodzących transportu związków fluoryzujących np. białka fluoryzującego, pochodzącego z meduzy *Aequorea victoria*. GFP (ang. green fluorescent protein) (IMLAU i współaut. 1999, RUIZ-MEDRANO i współaut. 2001). Białko to jest syntetyzowane w transgenicznej roślinie, do której wprowadzono gen syntazy GFP (IMLAU i współaut. 1999, SOWIŃSKI 2003, NOWAKOWSKA i KOPCEWICZ 2006).

4. Zastosowanie mikroskopu konfokalnego pozwala na nieinwazyjną obserwację transportu floemowego i ksylemowego w roślinach po ich traktowaniu różnymi czynnikami. Fluorescencja białka GFP umożliwia obserwację jego transportu w nieuszkodzonych rurek sitowych czyli badanie „floemu w akcji” (VAN BEL i współaut. 2002).

5. Wykorzystanie mszyc i skoczków wbijających kłujkę dokładnie do wnętrza rurki sitowej. Po odcięciu ciała owada promieniami Lasera kłujka pełni rolę mikrokapilary, z której nawet przez kilka dni wycieka sok, przepływający pod zwiększonym ciśnieniem przez rurkę sitową. Nowoczesne techniki pozwalają na wykonanie szczegółowych analiz chemicznych takiej minikropli. Oznaczenia składu chemicznego soku floemu taką metodą przeprowadzano już w latach 70. (ZIEGLER 1975, STARCK 2003). W wyciekającym z odciętych kłujek soku z rurek sitowych ozna-

czane są obecnie białka transportowane we floemie np. u jęczmienia (GAUPLÉS i współaut. 2008). Ostatnio opracowano metodę wprowadzenia różnych substancji do kropli wydzielonej z kłujki mszycy, które przedostają się do rurek sitowych. Jeśli są to związki fluoryzujące można je śledzić w rurek sitowych przy wykorzystaniu mikroskopu konfokalnego. Powyższa metoda jest też stosowana przy określaniu reakcji floemu na specyficzne substancje, modyfikujące transport floemowy (FUJIMAKI i współaut. 2000, HOLBROOK i ZWIENIECKI 2005). W badaniach wpływu prądu elektrycznego na transport, w kropli soku wydzielonego z rurki sitowej umieszcza się elektrodę, co umożliwia rejestrację *in vivo* zmian potencjałów elektrycznych w rurek sitowych (FROMM i FEI 1998).

6. Wykorzystywanie Jądrowego Rezonansu Magnetycznego (ang. Nuclear Magnetic Resonance, NMR) do obliczeń rozmieszczenia i szybkości transportu związków we floemie i w ksylemie (PEUKE i współaut. 2001).

7. Zastosowanie metod immunologicznych w badaniach białek i innych substancji transportowanych w soku floemu i ksylemu (SOWIŃSKI 2003).

## TKANKI PRZEWODZĄCE JAKO SYMPLAST I APOPLAST

Przed omówieniem specyfiki dwóch rodzajów tkanek przewodzących, floemu i ksylemu, należy przypomnieć podstawowe pojęcia: co to jest symplast i apoplast? Są to bardzo stare terminy, wprowadzone przez MÜNCHA (1930), ostatnio nabrały one jednak nieco zmienionej treści. Traktuje się je jako dwa systemy komunikacyjne, warunkujące fizyczną ciągłość w całym organizmie roślinnym (ROMBERGER i współaut 1993). Symplast to sieć połączonych ze sobą protoplastów, głównie poprzez plasmodesmy (PD). Z tego wynika, że floem zbudowany z żywych komórek zawierających protoplasty, jest zaliczany do systemu symplastycznego, zwanego też symplazmowym. Apoplastem nazywamy ściany komórkowe oraz światło martwych komórek. W organizmie roślinnym ksylem zaliczany jest do apoplastu (ROMBERGER i współaut. 1993, THORPE i współaut. 2005).

## STRUKTURA I FUNKCJA KSYLEMU

U roślin okrytozalążkowych w skład ksylemu, inaczej drewna, wchodzi naczynia, zbu-



dowane z martwych komórek, pozbawionych żywych struktur, oraz żywe komórki, miększu drzewnego i włókien drzewnych. Martwe komórki naczyń są połączone w człony, tworzące długie rury, wypełnione roztworem wodnym różnych jonów i stosunkowo małą ilością związków organicznych. Na granicy komórek miększowych i naczyń znajdują się jamki, zawierające specyficzne transportery, umożliwiające transport do naczyń związków organicznych i jonów (MENGEL i współaut. 2001).

Podstawowa funkcja ksylemu to dostarczanie do pędu wody i składników mineralnych, pobieranych z podłoża. Warunkiem transportu w naczyniach jest występowanie gradientu potencjału wody w kolejnych środowiskach, wahającego się w bardzo szerokich zakresach wartości: podłoże, głównie gleba lub pożywka – ok.  $-0,1$  MPa, korzeń, ok.  $-0,6$  MPa, pęd od  $-0,8$  do  $-1,2$  MPa, atmosfera – nawet do  $-100$  MPa. Tak duża rozpiętość wartości potencjałów wody odgrywa decydującą rolę w masowym przepływie soku w naczyniach, zwanym też objętościowym przepływem roztworu.

Wzrastające stężenie jonów w naczyniach powoduje obniżenie potencjału wody w soku ksylemu, a w konsekwencji zwiększa osmotyczny transport wody. Przepływ soku w naczyniach odbywa się zwykle w warunkach podciśnienia tylko w jednym kierunku, z korzeni do pędu (akropetalnie). Siłą motoryczną przepływu jest transpiracja, wspomagana przez siły kapilarne, kohezję i adhezję. Intensywność transpiracji jest zróżnicowana przy dużej zmienności warunków w ciągu dnia; z reguły maleje w nocy. Powoduje to duże różnice w szybkości transportu ksylemowego w ciągu doby. Przy zastosowaniu metody NMR obliczono, że szybkość przepływu soku w naczyniach rącznika (*Ricinus communis*) w dzień wynosi około  $1,4$   $\text{mh}^{-1}$  przy znacznie niższych wartościach w nocy (PEUKE i współaut. 2001). Inni autorzy podają większe wartości, wynoszące kilka do kilkunastu  $\text{m h}^{-1}$ , bardzo zróżnicowane u różnych gatunków roślin.

Mechanizm wnikania jonów i różnych związków, szczególnie makromolekuł, do naczyń, czyli załadunek ksylemu jest jeszcze stosunkowo mało poznany. Jony przedostają się do ksylemu na zasadzie gradientu elektrochemicznego. W błonie komórek miększu drzewnego występują transportery załadowywanych związków, pompa  $\text{H}^+$ -ATPaza oraz kanały jonowe. Umożliwia to ścisłą kon-

trołę załadunku naczyń (MENGEL i współaut. 2001). Przez kanały anionowe transportowane są azotany, fosforany i inne jony. Dlatego u mutantu rzodkiewnika (*Arabidopsis*) *pho1*, z zahamowaną syntezą transportera fosforanów, w pędzie obserwowano deficyt fosforu, mimo nie zmienionej absorpcji tego makroelementu. Był to skutek zahamowanego załadunku fosforanów do naczyń (POIRIER i współaut. 1991). W ostatnim okresie poznano całą rodzinę genów kodujących transportery fosforanów, uczestniczących w załadunku naczyń (HAMBURGER i współaut. 2002).

Skład chemiczny soku w naczyniach jest bardzo zmienny. Na wiosnę, gdy u drzew liściastych zaczyna się okres rozwoju pąków liściowych, a u niektórych gatunków najpierw pąków kwiatowych, cukry transportowane są przez ksylem (THORPE i współaut. 2005). Pochodzą one z uruchamiania substancji zapasowych, najczęściej skrobi, akumulowanej w pędach lub w korzeniach. Dlatego przycinanie koron drzew powinno następować dopiero po wycofaniu substancji pokarmowych z tkanek miększowych (ANDERSEN i BRODBECK 1989). Ksylem jest również alternatywną tkanką dostarczającą cukry, aminokwasy, a nawet polipeptydy i inne związki nie tylko na wiosnę, lecz również w przypadkach konieczności szybkiej likwidacji różnego typu zranień i uszkodzeń tkanek lub zaburzeń w transporcie floemowym (STARCK 2003 i tam cytowane prace).

W badaniach SAKUTA i SATOH (2000) w korzeniach ogórka (*Cucumis sativus*) w soku naczyń stwierdzono po raz pierwszy występowanie białek bardzo bogatych w glicynę; reszty glicyny stanowiły w nich do 70% wszystkich aminokwasów. Białka te (ang. glycin rich proteins, GRP) są syntetyzowane w parenchymie centralnej części cylindra korzenia. Ich synteza jest indukowana przez różne stresy, np. zranienia lub metale ciężkie. Obserwowano systemiczny (układowy) transport GRP przez naczynia do pędu i wykorzystywanie do syntezy ścian komórkowych metaksylemu oraz w komórkach sklerenchymy. W ksylemie wykryto również białka, w tym enzymatyczne, powstające w warunkach obrony roślin przed patogenami; są to chitynazy, proteazy, peroksydazy i inne (BUHTZ i współaut. 2004, STARCK 2006a). Dzięki ich obecności, w warunkach ataku patogenów na roślinę i po odbiorze innych, alarmowych sygnałów, uruchamiany jest systemiczny transport powyższych substancji przez ksylem oraz inne mechanizmy obronne (VAN

BEL i GAUPELS 2004). IWAI i współaut. (2003) wykryli w naczyniach mioinozytol, różne oligosacharydy, arabinogalaktany, pektyny i wiele innych związków, które przypuszczalnie pełnią funkcję przekazywania informacji pomiędzy pędem i korzeniem.

Na szczególną uwagę zasługują badania dotyczące transportu przez ksylem różnych hormonów; są one cząsteczkami sygnałowymi, przekazującymi informacje pomiędzy korzeniem i pędem, np. o zaistnieniu suszy. Z reguły w korzeniach wzrasta wówczas ilość ABA (kwas abscysynowy), a maleje – cytokinin. ABA u wielu roślin jest bowiem transportowany do pędu z sokiem ksylemu (ZDUNEK i LIPS 2001).

Cytokiny przemieszczają się zarówno przez ksylem jak i floem i stanowią, podobnie jak ABA, cząsteczkę sygnałową. Potwierdzają to wyniki badań prowadzonych na mutantach z deficytowym poziomem hormonów; zmutowane rośliny są szczepione na roślinach z optymalnym poziomem hormonów. Mutant grochu (*Pisum sativum*), charakteryzujący się deficytem cytokinin, zaszczepiono na dzikim, nie zmutowanym grochu, lub odwrotnie mutant ten był podkładką. Cytokiny przemieszczały się przez zrosty z korzeni do pędu, jednak genotyp pędu w każdym przypadku decydował o poziomie cytokinin przemieszczanych przez ksylem (BEVERIDGE i współaut. 1997).

Wielu autorów podkreśla wpływ odżywiania roślin azotem na syntezę i transport cytokinin (SAKAKIBARA 2006). Z drugiej strony hormony te „informują” roślinę o dostępności azotu w podłożu. Cytokiny w różny sposób uczestniczą w regulacji pobierania jonów azotanowych i amonowych (RAHAYU i współaut. 2005, SAKAKIBARA 2006, STARCK 2008). W klasycznym doświadczeniu przeprowadzonym na kukurydzy TAKEI i współaut. (2004) wykazali, że zarówno azotany, jak i jony amonowe stymulują syntezę zeatyny w korzeniu i jej transport przez ksylem do pędu. W warunkach deficytu azotu w roślinach rzodkiewnika maleje zawartość cytokinin (SAKAKIARA 2006 i tam cytowane prace). Obniżony jest też transport tych hormonów z korzeni do pędu (RAHAYU i współaut. 2005).

Prowadzone ostatnio badania genetyczne rzuciły nowe światło na miejsce biosyntezy cytokinin, ich transport w roślinach oraz przyczyny rozbieżnych wyników wpływu jonów amonowych i azotanów na te procesy. Enzymy uczestniczące w syntezie cytokinin, transferazy izopentylowe (IPT), stanowią całą

grupę izoenzymów; ich synteza jest uwarunkowana ekspresją dziewięciu genów zlokalizowanych w pędzie i w korzeniach. U *Arabidopsis* ekspresja genów *AtPTI3* i *AtPTI5* odbywa się w korzeniach, natomiast *AtPTI3* także w pędzie. Tylko ekspresja genu *AtIPT5*, zachodząca w korzeniu, zależna jest zarówno od jonu amonowego, jak i azotanowego (SAKAKIBARA 2006 i tam cytowane prace). Jest to przyczyną, dla której w różnych badaniach uzyskiwane są odmienne wyniki dotyczące wpływu jonów amonowych lub azotanów na zawartość cytokinin.

W doświadczeniach modelowych (WILKINSON i współaut. 2007) opartych na pomiarach zawartości cytokinin i ABA w soku ksylemu, w warunkach deficytu azotu wzrastała ilość transportowanego przez ksylem ABA, a malała – cytokinin. Bardzo podobne zmiany obserwowano przy ponadoptymalnym poziomie odżywiania azotem. W warunkach dostatecznego zaopatrzenia w azot, zwiększona była zawartość cytokinin, a obniżona ABA, stwarzając warunki do optymalnego wzrostu roślin. Jest to dowodem, że oba transportowane przez naczynia hormony informują zarówno pęd, jak i korzeń o możliwościach syntezy związków budulcowych, uzależnionej od prawidłowego stosunku C/N [ilościowy stosunek węgla organicznego (C) do azotu (N)].

Już z tych kilku przykładów wynika rola naczyń jako tkanki uczestniczącej nie tylko w transporcie wody i jonów, ale również w przekazywaniu sygnałów pomiędzy korzeniem i pędem. Świadczy o tym stosunkowo duża różnorodność transportowanych przez ksylem cukrów i ich pochodnych oraz białek i hormonów.

#### STRUKTURA FLOEMU – GŁÓWNEGO TRANSPORTERA SUBSTANCJI POKARMOWYCH

W skład floemu, czyli łyka roślin okrytozależnych, wchodzi komórki miękiszu łykowego, włókna łykowe, komórki towarzyszące i rurki sitowe (STARCK 2003, VAN BEL 2003, VAN BEL i HAFKE 2005, OMID i współaut. 2007 i tam cytowane prace). Wszystkie te elementy są żywymi komórkami, choć o bardzo zróżnicowanej strukturze. Rurki sitowe nie posiadają jądra komórkowego i rybosomów, a pozostałe organelle, łącznie z nielicznymi mitochondriami, charakteryzują się małą aktywnością metaboliczną. W błonach rurek sitowych występują między innymi transportery sacharozy SUT1 (CYTOVSKY i ZAMBRYSKI 2000). Poprzeczne błony przekształcone w

płytki sitowe są prawie całkowicie drożne. Tylko niewielką część powierzchni pokrywają włókniste, głównie białkowe substancje umożliwiające jednak łatwy przepływ soku floemowego. Przez wiele lat drożność płytek stanowiła główne źródło kontrowersyjnych poglądów, a w konsekwencji zaciętych dyskusji na temat mechanizmu transportu floemowego. W rurkach sitowych występuje siateczka śródplazmatyczna (ang. endoplazmic reticulum, ER), w której wnętrzu akumulowane są jony wapnia, uwalniane podczas syntezy kalozy, procesu zależnego od tego jonu. Zawartość jonów wapnia w soku floemu jest bardzo mała i wynosi około 1  $\mu\text{M}$ . Zmiany w stężeniu tych jonów wpływają na przepuszczalność błon plasmodesm (JACKSON 2000). W warunkach uszkodzeń floemu (zranienia, stresu osmotycznego i in.) zmiany w stężeniu  $\text{Ca}^{2+}$  już w ciągu kilku sekund prowadzą do przekształcenia konformacji białek z postaci krystalicznej do dyspersyjnej; obserwuje się to szczególnie u roślin motylkowatych (KNOBLAUCH i VAN BEL 1998). Obecnie, dzięki nowoczesnym technikom, struktury te udało się obejrzeć w roślinach w mikroskopie konfokalnym, a więc zobaczyć „floem w akcji” (VAN BEL i współaut. 2002).

Komórki towarzyszące mają duże jądro komórkowe i bardzo liczne, aktywne rybosomy. Mitochondria są również bardzo aktywne, a ich liczba jest ok. 10-krotnie większa niż w komórkach tkanek merystematycznych. W komórkach tych zlokalizowane są główne reakcje metabolizmu floemu. Można powiedzieć, że komórki towarzyszące i rurki sitowe tworzą funkcjonalną całość (LUCAS i współaut. 2001, VAN BEL i współaut. 2002, OMID i współaut. 2007); ściśle do siebie przylegają i są połączone przez liczne PD, które umożliwiają transport metabolitów i związków sygnałowych. Występujące we floemie PD różnią się od innych; od strony komórek towarzyszących są one rozgałęzione (OPARKA i TURGEON 1999). Określa się je terminem – pory plasmodesmalne (ang. pore plasmodesmal unit, PPU) (KEHR i BUHTZ 2008).

W ostatnich latach do funkcji PD przywiązuje się wielką wagę. We floemie są one cytoplazmatycznymi połączeniami komórek towarzyszących i rurek sitowych, które przechodzą przez kanały w ścianach komórkowych. W ich centrum znajduje się rdzeń w postaci cylindra zespolonego z siateczką śródplazmatyczną i połączonego włóknami miozyny i/lub aktyny z błoną plazmatyczną (WU i współaut. 2002, THORPE i współaut.

2005). W normalnych warunkach PD są zamknięte, czyli niedrożne. Ich otwieranie, zwane bramkowaniem, jest bardzo energochłonne i ściśle kontrolowane przez roślinę. W warunkach braku aktywności floemu PD blokuje kaloza. Związki o małych wymiarach, masie cząsteczkowej do 1 kDa, przemieszczają się przez otwarte PD stosunkowo łatwo, jednak pod kontrolą. Większe cząsteczki nie są w stanie przemieszczać się przez PD bez dodatkowych ułatwień, czyli swego rodzaju rozciągnięcia PD (WU i współaut. 2002). Warunkowane jest to przekrojem czynnym plasmodesm (ang. size exclusion limit, SEL), limitującym wielkość cząsteczki transportowanej przez PD. Niektóre RNA i białka, o znacznie większych rozmiarach, mają zdolność rozszerzania kanałów PD (LUCAS 1995, LUCAS i WOLF 1999). Należą do nich np. niestrukturalne białka, ułatwiające wirusom wnikanie do rurki sitowej (ang. movement protein, MP). PD regulują zatem ponadkomórkowy transport makromolekuł odgrywających kluczową rolę w procesach życiowych i warunkują utrzymanie ciągłości symplastycznej pomiędzy komórkami towarzyszącymi i rurkami sitowymi (WU i współaut. 2002). Stąd zrodziło się określenie organizmu roślinnego jako struktury ponadkomórkowej (supracellular).

Rurki sitowe na całej swojej długości są załadowywane zarówno przez związki organiczne, jak i jony. Załadunek i rozładunek floemu odbywa się albo przez symplast, w czym, jak już wspomniano, uczestniczą PD, albo przez apoplast, z udziałem specyficznych transporterów (SOWIŃSKI 2003, STARCK 2003, VAN BEL 2003 i tam cytowane prace).

Rurki sitowe nie są „rurą” odizolowaną od otaczających komórek. Ostatnio dużo uwagi poświęca się procesowi wyciekania (np. wydzielanie nektaru), a także odzyskiwania zawartych w nich substancji (DE LA BARRERA i NOBEL 2004). Świadczy to więc, iż w roślinach, obok transportu akropetalnego i bazipetalnego, odbywa się także transport radialny (boczny). Ma on szczególnie duże znaczenie u drzew i innych roślin przyrastających na grubość.

VAN BEL i HAFKE (2005) analizując strukturę i funkcję floemu na długości, od donorów fotosymlatów do ich akceptorów, wyróżnili trzy strefy:

1. floem zbierający produkty fotosyntezy z małych żyłek. Ważną rolę odgrywają w tym procesie między innymi transportery sacharozy, przemieszczające ten cukier do wnętrza rurki sitowej;



2. floem transportujący substancje w dużych żyłkach liści, w ogonkach liściowych, w łodygach i innych organach;

3. floem wydzielniczy, przekazujący transportowane substancje akceptorom. Zróżnicowanie funkcji poszczególnych typów floemu współgra z różną ich strukturą, głównie stosunkiem objętości komórek towarzyszących do rurek sitowych. W sektorze zbierającym, z intensywnym, energochłonnym załadunkiem rurek sitowych, dominują komórki towarzyszące. Ich objętość, w porównaniu do rurek sitowych, zmniejsza się w sektorze transportującym i maleje w jeszcze większym stopniu, w strefie, gdzie odbywa się rozładunek, czyli transport z rurek sitowych do akceptorów.

Sok w rurekach sitowych przepływa pod ciśnieniem wynoszącym około 1 MPa. Ciśnienie to, przy ustawicznych zmianach stężenia soku, jest regulowane z jednej strony dopływem wody z naczyń, a z drugiej – zmienną zawartością jonów, głównie potasu, wędrujących pomiędzy oboma tkankami przewodzącymi. Sok floemu ma stosunkowo wysokie pH, wynoszące u większości gatunków 7–8. Powoduje to konieczność utrzymania obniżonego stężenia jonów wapnia, jako zabezpieczenia przed wytrąceniem fosforanów, obecnych w rurekach sitowych w dość dużych ilościach. Jak już wspomniano, wapń nie może być całkowicie wyeliminowany z floemu (WILL i VAN BEL 2006), dlatego błony komórkowe rurek sitowych są bogate w kanały jonowe  $Ca^{2+}$ , co po raz pierwszy wykazali VOLK i FRANCESCHI (2000).

Szczegółowe zestawienie składu chemicznego soku floemu u ponad 500 gatunków roślin, opracowane przez ZIMMERMAN i ZIEGLER (1975), do dziś jest podstawowym źródłem informacji dotyczących zróżnicowanego składu chemicznego soku z rurek sitowych. W soku tym występuje sacharoza (u dominującej liczby gatunków), oligosacharydy (rafinoza, stachioza, werbaskoza, ajugoza), sorbitol lub mannitol, różne aminokwasy oraz bardzo liczne metabolity, hormony i związki dawniej zwane regulatorami wzrostu i rozwoju, a dziś – regulatorami procesów życiowych. W sporządzaniu tego zestawienia posługiwano się metodą zbierania wycieków z nadciętego łyka lub wykorzystywano sok zbierany przez mszyce (ZIEGLER 1975).

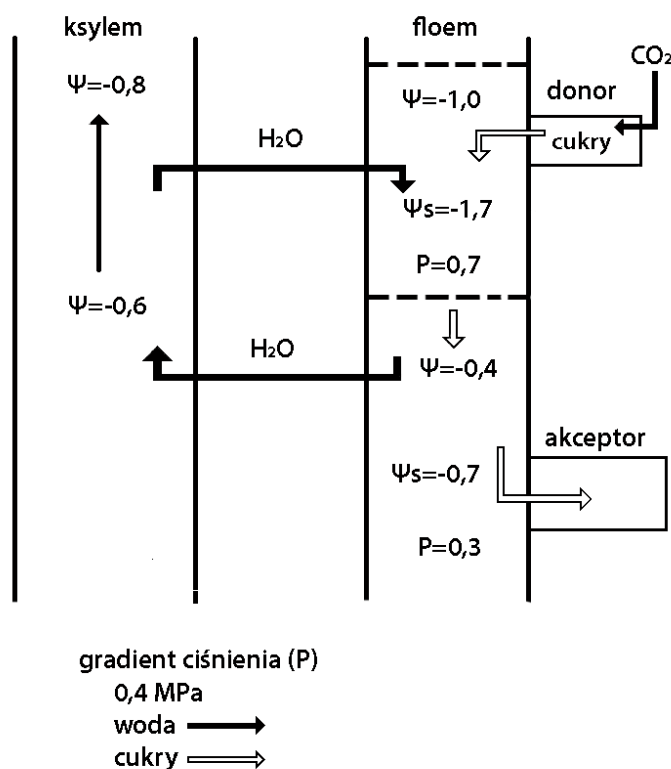
W soku floemu nie stwierdzano obecności heksoz, jednak ostatnio ukazała się praca VAN BEL i HESSA (2008), opisująca floemowy transport heksoz, glukozy i fruktozy, wystę-

pujących w różnych proporcjach u ponad 20 przebadanych gatunków. U roślin z rodzin *Papaveraceae* (Makowate) i *Ranunculaceae* (Jaskrowate) heksozy stanowiły ponad 80 % cukrów, zawartych w soku rurek sitowych. Prezentowane wyniki są bardzo wnikliwie przedyskutowane na tle przyczyn, dla których inni badacze nie stwierdzali heksoz jako substancji transportowanej przez floem. Zaskoczenie autorów tymi wynikami znalazło swój wyraz w tytule ich pracy: "Heksozy jako cukry transportowane we floemie. Czyżby koniec dogmatu?" Należy pokreślić, że w tabelarycznym zestawieniu roślin prezentującym skład chemiczny soku floemu (ZIMMERMAN i ZIEGLER 1975) rodziny analizowane przez VAN BEL i HESSA nie są zamieszczone.

#### WSPÓLDZIAŁANIE FLOEMU Z KSYLEMEM

Pomiędzy sąsiadującymi ze sobą tkankami przewodzącymi, naczyniami i sitami, zachodzi stała wymiana wody, jonów, a nawet metabolitów. Generalnie w roślinach naczynia są główną tkanką, dostarczającą wody i jonów do poszczególnych organów. Jak już wspomniano przepływ wody pomiędzy tkankami przewodzącymi odbywa się spontanicznie z obszaru o wyższym potencjale wody ( $\psi$ ) do obszaru o niższej wartości tego potencjału. Szybkość transportu soku w naczyniach uzależniona jest głównie od intensywności transpiracji. W roślinach obserwuje się ustawiczne współdziałanie tkanek przewodzących w utrzymaniu w nich gradientu potencjału wody, a w konsekwencji – turgoru (VAN BEL i HAFKE 2005). W przypadku bardzo słabej transpiracji pęd może być zaopatrywany w zbyt małe ilości jonów, głównie potasu. W takim przypadku  $K^+$  jest w większym stopniu transportowany przez floem. W donorowej strefie rurki sitowej pędu, gdzie przeważają donory asymilatów, załadowujące do floemu produkty fotosyntezy, potencjał wody  $\psi$  jest niski. Dlatego w tej części rurki sitowej woda przemieszcza się z ksylemu do floemu (Ryc. 1). W akceptorowej części rurki sitowej  $\psi$  ma wyższą wartość w porównaniu z sąsiadującymi naczyniami, dlatego woda przemieszcza się tu z floemu do ksylemu (STARCK 2003).

Organy reproduktywne, kwiaty i owoce, mają zwykle wyższe wartości  $\psi$ , wynoszące ok. -0,5 MPa w porównaniu z liśćmi (ok. -0,8 MPa) i łodygą (ok. -0,6 MPa). Z tego wynika, że są one narażone na odwodnienie przez konkurujące z nimi o wodę organy wegetatywne i dlatego kwiaty często są zaopa-



Ryc. 1. Model współzależności pomiędzy przepływem produktów fotosyntezy przez rurkę sitową i transportem wody pomiędzy floemem i ksylemem.

Zmiany parametrów osmotycznych, wyrażone w MPa, ilustrują powstawanie gradientu ciśnienia osmotycznego, pomiędzy donorową i akceptorową częścią floemu (wg STARCK 2003, zmodyfikowana).

trywane w wodę głównie przez floem (DE LA BARRERA i NOBEL 2004).

W celu określenia udziału obu tkanek przewodzących w zaopatrzeniu owoców brzoskwini w wodę i składniki pokarmowe oznaczano przez dzień i noc wzrost objętościowy owoców na podstawie zmian ich średnicy. Zaopatrzenie przez floem obliczano na podstawie różnic we wzroście owoców roślin kontrolnych i obrączkowanych, czyli z usuniętym łykiem. Wielkość wyparowywania wody obliczano na podstawie intensywności transpiracji. Wzrost owoców brzoskwini był w 70% uzależniony od zaopatrzenia przez ksylem, a tylko w 30% przez floem (MORANDI i współ-

aut. 2007). Oba powyżej opisane przykłady ilustrują różny rodzaj współdziałania floemu i ksylemu w zaopatrywaniu organów reprodukcyjnych w wodę i w składniki pokarmowe.

Współdziałanie obu tkanek przewodzących dotyczy również przemieszczania się różnych hormonów, co częściowo było omówione na przykładzie cytokinin. Ten problem wiąże się ze zmianą poglądów na temat miejsca syntezy cytokinin i ABA, która odbywa się nie tylko w systemie korzeniowy. Rozważana jest możliwość ich cyrkulacji w roślinach w transporcie akropetalnym przez ksylem i bazipetalnym przez floem lub wymiana radialna pomiędzy tymi tkankami.

## ROLA FLOEMU I KSYLEMU W KOORDYNACJI PROCESÓW ŻYCIOWYCH

Jak już wspomiano, tkanki przewodzące są w stanie przekazywać informacje nawet do odległych organów. Umożliwia to na bieżąco koordynację procesów, zlokalizowanych w pędzie, produkcję fotoasymilatów i ich transport do poszczególnych akceptorów z pobieraniem i asymilacją składników mineralnych, głównie azotu oraz wody. Ostatnio coraz więcej uwagi poświęca się konieczności utrzymania optymalnego stosunku węgla, głównie cukrowców do azotu organicznego,

czyli stosunek C/N (STARCK 2006b). Wiąże się to z precyzyjną regulacją intensywności fotosyntezy, dostosowywanej do pobieranego i asymilowanego w danych warunkach azotu (STARCK 2004). W skrajnych przypadkach zachodzi konieczność albo stymulacji albo hamowania któregoś z powyższych procesów. Regulacja rozpoczyna się już na poziomie ekspresji genów (KOCH 1996), a informacja o konieczności zmian przekazywana jest systemicznie przez floem lub ksylem. Przeno-



szona jest przez białka i/lub mRNA (SOWIŃSKI 2003, VAN BEL 2003, LOUGH i LUCAS 2006, NOWAKOWSKA i KOPCEWICZ 2006, STARCK 2006a, RUIZ-MEDRANO i współaut. 2007), bądź hormony czy inne regulatory procesów życiowych.

Odbierane sygnały dotyczą bardzo różnorodnych procesów: wzorów dystrybucji fotosymlatów do poszczególnych akceptorów, charakteru wzrostu korzeni i wytwarzania włóśników, nodulacji u roślin motylkowatych, regulacji pory zakwitania i tuberyzacji u ziemniaków, natomiast w przypadku ataku patogenów – aktywacji naturalnego systemu obronnego i przeciwdziałania skutkom stresów abiotycznych.

#### RODZAJE BIAŁEK TRANSPORTOWANYCH WE FLOEMIE I ICH FUNKCJE

W ostatnich latach coraz większą wagę przywiązuje się do występowania w soku floemu licznych białek (SOWIŃSKI 2003; STARCK 2003, 2006a; LOUGH i LUCAS 2006). Warto jednak nadmienić, że już w 70. latach ZIEGLER (1975) zwrócił uwagę na obecność białek w soku floemu.

Liczba różnych białek obecnych we floemie może dochodzić nawet do dwustu. W oparciu o najnowsze prace można stwierdzić (SCHOBBER i współaut. 1998, HAYASHI i współaut 2000, KEHR 2006, STARCK 2006a), że są to białka o bardzo zróżnicowanych funkcjach, które uczestniczą w:

- metabolizmie cukrowców np. pyrofosforylaza,  $\beta$ -amylaza, dehydrogenaza mannitolu, syntaza sacharozy;
- załadunku floemu: pompa ATP-aza, akwaporyna, transportery sacharozy;
- transdukcji sygnałów: kinaza zależna od wapnia, kalmodulina, aneksyny, tioredoksyna, CmPP16;
- metabolizmie hormonów: i innych regulatorów: ACC oksydaza, ACC syntaza; systemina;
- regulacji reakcji oksydo-redukcyjnych, np. stopnia utleniania żelaza (feredeksyna, reduktaza glutationu);
- metabolizmie białek: syntezie i ich degradacji: ubikwityna, inhibitory proteinaz;
- reakcjach obrony po ataku patogenów jako inhibitory proteinaz: lipoksygenaza;
- ograniczaniu uszkodzeń poststresowych: chaperony, metalotioneiny;
- tworzeniu struktury komórek: aktyna, profilina, białka floemowe (PP1 i PP2), białka blokujące płytki sitowe.

Białka syntetyzowane w komórkach towarzyszących, przenoszone przez PD do rurek

sitowych, a następnie transportowane przez rurki sitowe kontrolują realizację zaprogramowanych procesów poza miejscem ich syntezy. Nazwano je białkami z nie komórkową autonomią (ang. non-cell autonomous protein, NCAP) (LOUGH i LUCAS, 2006). Jest to mechanizm supra-komórkowej kontroli różnych procesów odbywających się na poziomie całego organizmu. Potwierdza to, choć w nieco innym aspekcie, stwierdzenie, że floem jest magistralą informacji (LUCAS i WOLF 1999).

Białka z nie komórkową autonomią (NCAP), w zależności od pełnionej funkcji, można podzielić na następujące grupy (NOWAKOWSKA i KOPCEWICZ 2006):

1. białka związane z infekcją wirusową, ułatwiające przedostawanie się makrocząstek wirusowych przez PD;

2. białka floemowe, związane ze strukturą i funkcją tej tkanki, oznaczane w skrócie PP1 i PP2 (ang. phloem proteins). Białko PP1, o masie cząsteczkowej wynoszącej 96 kDa, ma strukturę fibrylarną, PP2 – lektyny. Występują one w postaci dimerów o masie cząsteczkowej wynoszącej 48 kDa. W przypadku zranienia floemu, białka te w kontakcie z tlenem tworzą żele czopujące uszkodzone rurki sitowe, chroniąc je przed wypłynięciem soku;

3. białka regulatorowe. U dyni (*Cucurbita maxima*) zidentyfikowano białko CmPP16 występujące we wszystkich organach i transportowane przez rurki sitowe. Analogiczne białka zidentyfikowano u innych gatunków roślin. Podobnie jak MP, zwiększają one przekrój czynny plasmodesm ułatwiając transport przez PD makromolekuł, np. białek, mRNA i nukleoproteidów.

#### UDZIAŁ KWASÓW NUKLEINOWYCH W REGULACJI EKSPRESJI GENÓW I TRANSPORCIE INFORMACJI

Oprócz białek, w rurek sitowych transportowane są również różne typy RNA. Pełnią one funkcje w zdalnym przenoszeniu informacji, np. w wyciszaniu genów. Przemieszczają się one przez PD z komórek towarzyszących do pozbawionych jąder rurek sitowych, a następnie do docelowych organów, gdzie uczestniczą w regulacji różnorodnych procesów (LOUGH i LUCAS 2006, SZWEJKOWSKA-KULIŃSKA i SZARZYŃSKA 2007, KEHR i BUHTZ 2008). Do niedawna panował pogląd, że RNA wypełnia swoje funkcje wyłącznie w pobliżu miejsca powstawania. Obecnie są liczne dowody, że docelowe struktury są często znacznie oddalone od miejsca ich syntezy. Dlatego nazwano je analogicznie do białek – RNA z nie komórkową autonomią.

Ten specyficzny dla floemu sposób przekazywania informacji na duże odległości poprzez informacyjne RNA po raz pierwszy wykazano po infekcji wirusowej. W ostatnich latach w rurek sitowych stwierdzono różne typy RNA, o stosunkowo małych cząsteczkach, zawierających nieco ponad 20 nukleotydów (LOUGH i LUCAS 2006, SZWEYKOWSKA-KULIŃSKA i SZARZYŃSKA 2007). Zdaniem LOUGH i LUCASA (2006) rozszyfrowanie tego specyficznego systemu regulacji na poziomie genetycznym, polegającego na przekazywaniu informacji przy udziale różnych mobilnych RNA, jest jednym z najbardziej fascynujących odkryć w biologii ostatnich lat. Obecność RNA we floemie pomaga w zrozumieniu koordynacyjnej roli tkanek przewodzących. We floemie przemieszczane są tak zwane interferencyjne RNA, które mogą zakłócać syntezę nie funkcjonalnego lub potencjalnie szkodliwego dla rośliny białka. Należą do nich siRNA oraz miRNA (ang. short interferent RNA, micro interferent RNA). Oba typy niskocząsteczkowego, niekodującego RNA, różniące się biogenezą, spełniają zbliżoną funkcję, polegającą na wyciszaniu aktywności genów; siRNA uczestniczy w post-transkrypcyjnym wyciszaniu genów (ang. post transcription gene silencing, PTGS). Są to cząsteczki sygnałowe, uczestniczące w obronie rośliny przed wirusami. Cząsteczki miRNA są uniwersalnymi, negatywnymi regulatorami ekspresji genów. Ich docelowa funkcja polega na wybiórczej degradacji mRNA lub represji translacji tego RNA. Ma to na celu ochronę komórek przed inwazyjnymi formami kwasów nukleinowych, np. wirusów (SZWEYKOWSKA-KULIŃSKA i SZARZYŃSKA 2007). Jest to uniwersalny system zabezpieczeń przed wirusami lub przed obcym dla rośliny białkiem. Systemiczne przesyłanie wyciszającego mRNA z komórki zaatakowanej, np. wirusem, do komórek zdrowych umożliwia wcześniejsze uruchomienie systemu obronnego przed rozprzestrzenieniem się infekcji (BAULCOMBE 2002).

Jako dowód transportu, zarówno białek, jak i RNA przez floem, a nie tylko ich obecności w soku rurek sitowych, przeprowadzono serię doświadczeń z roślinami szczepionymi w różnych układach zraz-podkładka. Wykazano, że strukturalne, specyficzne białka floemowe zraza ogórka *Cucumis dativeus* sp. Podobne wnioski wypływają z doświadczeń dotyczących transportu na duże odległości mRNA w roślinach pomidora, w których mutant z deformacją liści był podkład-

ką, a dzika forma – zrazem (KIM i współaut. 2001). Przemieszczany z podkładki (mutanta) mRNA spowodował zmiany w morfologii liści dzikiej formy (czyli zraza). Nieco inne wyniki uzyskali OMID i współaut. (2007). W przypadku szczepień melona (*Cucumis melo*), jako zraza, i dyni, jako podkładki, z 43 badanych transkryptów tylko sześć było zdolnych do transportu na duże odległości. W tej grupie trzy transkrypty dotyczyły transdukcji sygnału auksynowego. Ponad 40% było związane z reakcją na stresy i z mechanizmami obronnymi, a około 15% dotyczyło transdukcji sygnałów. Stosunkowo mała ich liczba warunkowała przenoszenie informacji dotyczących fotosyntezy.

Reasumując, RNA, które są zdolne do post-tranzlacyjnego wyciszania genów (PTGS) mają za zadanie chronić roślinę przed możliwością wtargnięcia do organizmu szkodliwych substancji czy infekcji patogenów; dochodzi wówczas do degradacji niepożądanego RNA wirusowego. Jak widać roślina uruchamia system obronny, wyciszania RNA wirusa, natomiast wirusy, w obronie własnej, kodują białka, które częściowo lub całkowicie przeciwdziałają temu wyciszaniu, czyli wirusy włączają swój system obronny (LUCAS i WOLF 1999). Powstaje wówczas specyficzna forma wyciszania genów rośliny przez wirusy (ang. virus induced gene silencing, VIGS) (VOINNET i współaut. 2000). OMID i współaut. (2007) wykonali u melona bardzo szczegółową analizę transkryptów znajdujących się w soku floemu. W końcowych wnioskach tej pracy potwierdzono występowanie we floemie „ponad-komórkowej sieci komunikacyjnej” (ang. supercellular communication network), uczestniczącej w przekazywaniu na odległość informacji.

#### FUNKCJA FLOEMU W REGULACJI PROCESU ZAKWITANIA. FLORIGEN „PO70-TCE”

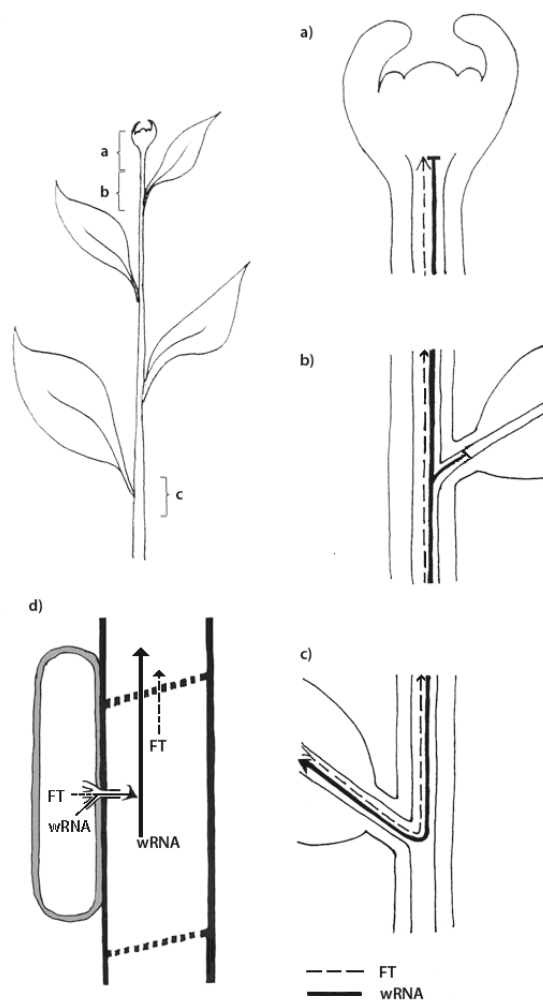
Wyjaśnienie mechanizmu zakwitania roślin od lat pozostaje w kręgu zainteresowań wielu biologów roślin. Kwitnienie jest regulowane głównie przez fotoperiod, często sprzężony z oddziaływaniem okołodobowej rytmiki i wernalizacją. Na szczególną uwagę zasługują wieloletnie badania szkoły CZAJŁACHJANA (1968), zapoczątkowane w latach 30. ubiegłego wieku. Dotyczyły one identyfikacji florigenu, czyli hormonu kwitnienia, powstającego w czasie induktywnego fotoperiodu, a w wielu przypadkach poprzedzanego okresem chłodu czyli wernalizacją. Sygnał fotoperiodyczny jest odbierany w liściach, w któ-

rych zachodzi synteza stymulatora kwitnienia, zwanego przez Chajłachjana florigenem, transportowanego przez tkanki przewodzące do wierzchołka wzrostu, gdzie zachodzi zmiana charakteru różnicowania się komórek i przejście rośliny w fazę generatywną. Pomimo wielu badań w laboratoriach różnych krajów, hipotetycznego florigenu nie udało się z roślin wyodrębnić. Nadal jednak trwają poszukiwania induktora kwitnienia powstającego w liściu, transportowanego przez floem do wierzchołka wzrostu.

W ostatnich latach do badań mechanizmu kwitnienia włączono metody genetyki molekularnej, prowadząc jednocześnie doświadczenia na całej roślinie. W ich wyniku odżywa hipoteza istnienia florigenu. Obrazowo wyraził to ZEEVAART (2006) w tytule swojej przeglądowej pracy "Florigen po siedemdziesiątce". Termin florigen powrócił bowiem do publikacji opisujących mechanizm kwitnienia roślin (CORBESIER i COUPLAND 2006, IMAIZUMI i KAY 2006, LOUGH i LUCAS 2006, NOWAKOWSKA i KOPCEWICZ 2006). Oczywiście nie jest to taki florigen jakiego szukał Chajłachjan. Stąd pojawiają się dyskusje, czy można zachować ten termin (WOJCIECHOWSKI i współaut. 2007). Pozostała jednak koncepcja CZAJŁACHJANA, która jest nadal punktem wyjścia do poznania mechanizmu zakwitania.

Nowo odkrytym florigenem jest przypuszczalnie białko o masie cząsteczkowej 23 kDa, syntetyzowane w tkankach przewodzących liści. Jest to produkt ekspresji genu określającego porę zakwitania rośliny (ang. flowering locus time, FT) (LIN i współaut. 2007), przy współdziałaniu z innymi „genami kwitnienia”. Białko to lub transkrypt genu FT-mRNA są przemieszczane z miejsca syntezy, czyli z komórek towarzyszących do rurek sitowych przez PD (IMAIZUMI i KAY 2006). FT odgrywa rolę niekomórkowego, autonomicznego białka sygnałowego, transportowanego do stożka wzrostu (Ryc. 2) i tam indukującego zakwitanie (LIN i współaut. 2007). Nie do końca wyjaśniono jeszcze, czy transportowane jest białko FT, czy FT-mRNA, lub oba związki (LOUGH i LUCAS 2006).

Ten bardzo uproszczony opis udziału zmodyfikowanego florigenu w transdukcji sygnału z liścia do wierzchołka wzrostu, dotyczącego zakwitania, pozostawia jeszcze wiele zagadnień do wyjaśnienia, np. jaki jest mechanizm przedostawania się FT do wierzchołka wzrostu nie mającego symplastycznego kontaktu z rurką sitową? Należy jednak podkreślić, że powyższe wyniki stanowią



Ryc. 2. Schemat kontrolowanego transportu w rurce sitowej: wiroida (wRNA) i białka FT – produktu ekspresji genu wpływającego na zakwitanie roślin, stymulatora kwitnienia o funkcji florigenu.

a – transport FT do wierzchołka wzrostu i blokada transportu wiroida (wRNA); b – blokada transportu wRNA do młodego liścia – akceptora asymilatów; c – transport wRNA do liścia – donora asymilatów; d – schemat rurki sitowej z komórką towarzyszącą z plasmodesmą (PD), przez którą transportowane są wRNA i FT (wg DINGA i współaut. 2003, QI i współaut. 2004).

„milowy krok” w kierunku zrozumienia mechanizmu zakwitania roślin i roli floemu w tym procesie.

#### UDZIAŁ TKANEK PRZEWODZĄCYCH W PRZEKAZYWANIU SYGNAŁÓW O STRESACH

W związku z narażeniem roślin na częste oddziaływanie niekorzystnych warunków środowiska, są one wyposażone w precyzyjnie działający mechanizm zabezpieczający



je przed ujemnymi skutkami biotycznych i abiotycznych stresów. Należy podkreślić ogromną wrażliwość floemu na stresy. Po zranieniu tej tkanki może dochodzić do blokady transportu na skutek produkcji kalozy czopującej płytki sitowe, co uniemożliwia przepływ (KNOBLAUCH i VAN BEL 1998). Różnorodne, niekorzystne warunki powodują stres oksydacyjny, w czasie którego powstają wolne rodniki. Wielu biologów stres ten uważa za generalną reakcję roślin na niekorzystne warunki środowiska. W rurek sitowych stwierdzono obecność podstawowych antyoksydantów likwidujących szkodliwe skutki reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS). Wykryto również enzymy uczestniczące w „zmiataniu” wolnych rodników: peroksydazę i ponadtlenkową oksydazę, SOD. Ich aktywność wzrastała np. w warunkach stresu suszy. Świadczy to o pełnym zabezpieczeniu floemu przed uszkodzeniami stresem oksydacyjnym. ROS, występujący w tej tkance, spełnia jednak dodatkowo pozytywną funkcję – obronę przeciwko patogenom (wirusom i bakteriom) często atakującym rośliny (WALZ i współaut. 2002).

Jak już wspomniano, przez tkanki przewodzące transportowane są również tak zwane hormony stresowe. Problemy te są częściowo omówione w pracach przeglądowych (SOWIŃSKI 2003, STARCK 2006a). Należy jedynie podkreślić rolę tkanek przewodzących w natychmiastowej reakcji rośliny na stres, polegającej na przeprogramowaniu przebiegu niektórych procesów. Sprawna sygnalizacja między organami, realizowana przez ksylem i floem, jest wówczas podstawowym warunkiem przetrwania organizmu. Sygnał o deficycie wody w liściach musi być szybko przekazywany do korzeni, a brak wody w podłożu – z korzeni do liści. W miarę możliwości korzenie zwiększają pobieranie wody z podłoża, a liście zamykają szparki. Informacja przekazywana do różnych organów o zaburzeniach w przebiegu fotosyntezy, grożących deficytem substancji pokarmowych, wymusza w całej roślinie poszukiwanie „rezerw pokarmowych” (THORPE i współaut. 2005, STARCK 2006a). Lokalny atak patogenów powoduje systemiczne rozesłanie do całej rośliny informacji o grożącym niebezpieczeństwie (VAN BEL i GOUPLES 2004). Taką reakcję obserwowano np. po infekcji liści tytoniu wirusem mozaiki tytoniowej (SHULAEV i współaut. 1995). W liściu zakażonym wirusem pojawił się kwas sali-

cytowy, który systemicznie został przesłany przez tkanki przewodzące do innych części rośliny, głównie położonych powyżej liścia zainfekowanego. Zranienia tkanek, wynikające z ataku patogenów czy też uszkodzeń mechanicznych, spowodowane wiatrem lub gradem, wywołują również szybką reakcję sygnałową. Uszkodzony liść, np. pomidora, uruchamia syntezę systeminy, polipeptydu zbudowanego z 18 reszt aminokwasów. Systemina jest substancją sygnałową, występującą u pomidorów i ziemniaków. Powstaje ona w tkankach przewodzących z pro-systeminy i przekazuje systemiczny sygnał o zranieniu. Również kwas jasmonowy jest w pewnym sensie hormonem stresowym transportowanym przez floem, informującym np. o zranieniu (HOWE 2004).

W ramach uruchamiania systemu obronnego przeciw patogenom, w którym uczestniczą tkanki przewodzące, powstaje kwas jasmonowy, a następnie inhibitor proteinaz, przeciwdziałający rozkładowi białek po ataku patogenów (STARCK 2006a). W doświadczeniach prowadzonych na tytoniu (*Nicotiana tabacum*) wykryto we floemie prolinę, która jest kluczowym metabolitem ochronnym w czasie stresów, głównie deficytu wody. W jej produkcji pośrednio bierze udział syntetaza glutaminy (GS) (BRUGIÈRE i współaut. 1999).

W czasie stresów biotycznych, np. inwazji mszyc, zranienie floemu grozi, jak już wspomniano, wyciekami soku z rurek sitowych. Uszkodzona rurka sitowa jest wówczas bardzo szybko czopowana przez białko PP2, a po dłuższym czasie zalewana kalożą. W tym procesie niezbędna jest obecność jonów wapnia (WILL i VAN BEL 2006). Jako reakcja na porażenia różnymi patogenami w roślinach stopniowo narasta systemiczna odporność na tego typu stresy (ang. systemic acquired resistance, SAR). Jedną z przyczyn wzrostu odporności jest synteza białek obronnych, zwanych białkami zaangażowanymi w obronie przeciw patogenom (ang. pathogenesis related proteins, PR). Związki wytwarzane w ramach systemicznie nabytej odporności są to sygnały chemiczne, transportowane przez floem lub ksylem. Do tych związków zaliczono również ROS, kwas salicylowy i pochodne lipidów. Reasumując, rola SAR polega na ich transporcie w czasie stresów do oddalonych organów, w których uruchamiana jest ekspresja określonych genów (VAN BEL i GAUPELS 2004).

## MECHANIZM TRANSPORTU FLOEMOWEGO W ŚWIETLE ZRÓŻNICOWANYCH JEGO FUNKCJI

Mechanizm transportu we floemie jest przedstawiony w pracach przeglądowych (STARCK 2003, MINCHIN i LACOINTE 2005, THORPE i współaut. 2005, VAN BEL i HAFKE 2005). Większość biologów hipotezę MÜNCHA (1930), czyli masowego przepływu przez rurki sitowe, uważa za najlepiej prezentującą transport we floemie.

Jednak w świetle wyników nowych badań, hipoteza ta wymaga szeregu modyfikacji. Dotyczy to szczególnie wyjaśnienia nowo poznanych funkcji floemu, jako magistrali informacji.

W założeniu hipotezy Müncha, niekiedy porównywanego do przepływu wody w rzece, wszystkie substancje i jony przemieszczają się przez rurki sitowe jako roztwór wodny, przepływający pod ciśnieniem, wynoszącym ok. 1 MPa. Münch postulował, że siłą motoryczną transportu jest gradient ciśnienia osmotycznego, powstającego pomiędzy wyższym ciśnieniem osmotycznym w donorowej części rurki sitowej (załadunek floemu głównie przez produkty fotosyntezy) a niższym – w akceptorowej części, w której odbywa się rozładunek floemu. Takim zmianom muszą towarzyszyć różnice potencjału wody ( $\psi$ ), uzupełnianej z ksylemu w części donorowej. Rozładunek floemu powoduje obniżenie stężenia cukrów w soku rurki sitowej, stąd potencjały wody i osmotyczny wzrastają powodując przepływ wody z floemu do ksylemu (Ryc. 1). Szybkie zmiany stężenia soku floemowego, a w konsekwencji, obniżanie potencjału osmotycznego jest oparte nie tylko na zmianach zawartości cukrów i innych związków organicznych, lecz również jest zależne od obecności jonów, głównie potasu. W niektórych przypadkach ok. 1/3 wartości potencjału osmotycznego w soku floemu wynika z obecności tego jonu. Należy też podkreślić ogromną ich mobilność pomiędzy floemem i ksylemem.

Hipotezę masowego przepływu przez szereg lat bardzo ostro krytykowano. Rozbieżne były poglądy dotyczące drożności płytek sitowych i zróżnicowanej szybkości transportu różnych substancji i jonów oraz możliwości dwukierunkowego transportu (bazipetalnego i akropetalnego) w tej samej rurce sitowej. Münch traktował rurki sitowe jako struktury hermetyczne, czyli o ścianach nieprzepuszczalnych, co stanowić miało jeden z warunków utrzymania w nich gradientu ciśnienia turgorowego.

Wykorzystanie nowych technik badawczych pozwoliło na wyjaśnienie szeregu wątpliwości. Jak już wspomniano, płytka sitowa jest na tyle drożna, że umożliwia swobodny przepływ roztworu (VAN BEL i współaut. 2002, VAN BEL i HAFKE 2005). Przycichły dyskusje na temat możliwości dwukierunkowego transportu w jednej rurce sitowej, bowiem badania na ten temat są metodycznie bardzo trudne. W dyskusji wyników doświadczeń HENTONA i współaut. (2002) rozważana jest możliwość transportu zarówno bazipetalnego, jak i akropetalnego w tej samej rurce sitowej, ale tylko w warunkach zmieniającego się kierunku transportu w tej samej rurce sitowej na różnych odcinkach lub przy zmianie kierunku przepływu w czasie. Na podstawie wyników większości badań bardziej prawdopodobnym wydaje się jednak, że dwukierunkowy transport odbywa się w innych rurkach. W ogromnej większości przypadków przemieszczanie akropetalne różnych substancji (hormonów i innych regulatorów wzrostu) oraz jonów odbywa się przez ksylem.

Jak już wspomniano, rurka sitowa nie tylko nie jest hermetyczna, jak sugerował Münch, lecz na całej długości odbywa się swoisty załadunek i rozładunek, zwany też wyciekaniem, i odzyskiwaniem substancji i jonów (VAN BEL i HAFKE 2005). Z takimi możliwościami wiąże się też transport radialny, warunkujący aktywność kambium i przyrosty organów na grubość.

Następna wątpliwość utrudniająca całkowitą akceptację hipotezy Müncha, to wyjaśnienie często obserwowanych różnic w selektywnym transporcie poszczególnych substancji, w tym głównie makrocząsteczek, białek i RNA. Wyniki badań nie zawsze potwierdzają pogląd, że makrocząsteczki te „płyną” razem z prądem fotoasymilatów czy innych metabolitów. Pojawiają się zasadniczej natury pytania, jak makrocząsteczki transportowane są przez floem, w jaki sposób rozpoznawane są przez komórki czy ponad-komórkowe struktury, w jaki sposób kierowane są np. jako sygnały do docelowych komórek bez obawy „zblądzenia” i trafienia pod nieodpowiedni adres (QI i współaut. 2004). Kolejne pytania to: w jaki sposób transportowane są cząsteczki sygnałowe w przypadku braku ciągłości symplastycznej np. z merystemu wierzchołkowego lub w przeciwnym kierunku, w jaki sposób roślina zabezpiecza ten organ przed atakiem

wirusów i wiroidów oraz przed transportem szkodliwych substancji (DING i współaut. 2003)? Już same pytania nasuwają wstępną, logiczną odpowiedź – transport wszystkich substancji nie może odbywać się jednakowo, z biernym przepływem soku floemu, kontrolowanym przez gradient ciśnienia. Musi on być precyzyjnie nadzorowany przez roślinę. Badania rozprzestrzeniania się wiroidów są potwierdzeniem kontrolowanego transportu we floemie (ZHU i współaut. 2002, QI i współaut. 2004). Jako przykład można podać systemiczny transport wiroida PSTV (ang. potato spindle tuber viroid), który odbywa się we floemie pod nadzorem rośliny. Jest on regulowany przypuszczalnie poprzez specyfikę motywów jego RNA. PSTV przemieszczany jest do liści-donorów fotoasymilatów, natomiast nie stwierdzono jego transportu do liści-akceptorów. Ponadto wiroidy mają „zamkniętą drogę” do generatywnych części kwiatu: pręcików i słupka (Ryc. 2). Są natomiast transportowane do działek kielicha.

Zdaniem VAN BEL (2003), transport w rurkach sitowych można by porównać do przepływu cieczy przez kolumnę chromatograficzną. Niektóre substancje transportowane są razem z czołem fazy płynnej, a inne osadzają się w różnych punktach chromatogramu.

AYRE i współaut. (2003) podjęli próbę sprawdzenia, czy istotnie transport różnych substancji odbywa się jednakowo, czy też jest w jakiś sposób różnicowany przez roślinę. Badania transportu substancji obcych, czyli nie występujących w roślinach, przeprowadzono na tytoniu. Były to: galaktinol (glukozyd galaktozy i mezoinozytolu) oraz oktopina, niskocząsteczkowa substancja o masie 246. Nie występuje ona w roślinach, ale jest obecna w galasach po infekcji przez *Agrobacterium tumefaciens*. W doświadczeniach obie substancje zostały transgenicznie zsyntetyzowane w komórkach towarzyszących liści tytoniu, po wprowadzeniu genów kodujących syntazy obu związków. Zarówno galaktinol, jak i oktopina przemieściły się przez PD do rurek sitowych, gdzie w sposób częściowo selektywny odbywał się ich transport na duże odległości, co potwierdzono w doświadczeniach ze szczepieniami, w których badane substancje przemieszczały się pomiędzy zrazem i podkładką. Galaktinol jednak w dużych ilościach wykrywano na zewnątrz rurek sitowych. Związek ten przemieszczał się do sąsiadujących z rurkami sitowymi komórek, gdzie był wykorzystywany jako substrat

do syntezy oligosacharydów. W konsekwencji, tylko małe ilości galaktinolu docierały do organów-akceptorów, być może na skutek braku specyficznych receptorów i transporterów. Jednocześnie transportowana we floemie sacharoza była wydzielana z rurek sitowych, jednak w dużym stopniu była ponownie odzyskiwana przy udziale transportera sacharozy. Oktopina przemieszczała się natomiast wraz z masowym przepływem soku; stwierdzono jej rozładunek w typowych akceptorach fotoasymilatów. Ważnym wnioskiem wypływającym z tych doświadczeń jest pośredni udział floemu w losach transportowanych substancji, a w konsekwencji, w ich dystrybucji w roślinie.

Innym przykładem transportu we floemie „obcej substancji” jest wspomniane już fluoryzujące białko GFP. Wprowadzono go również transgenicznie, poprzez gen syntazy GFP, do liści badanych roślin. Synteza GFP i w tym przypadku zachodziła w komórkach towarzyszących, z których GFP przemieszczało się przez PD do rurek sitowych. Ta makrocząsteczka po włączeniu się do strumienia przemieszczanych substancji, była transportowana na duże odległości i przekazywana do typowych akceptorów w sposób powszechnie obserwowany dla fotoasymilatów (IMLAU i współaut. 1999). Wykazano transport GFP do liści młodych, będących jeszcze akceptorami produktów fotosyntezy, a nie stwierdzano go w liściach-donorach, do których nie są transportowane produkty fotosyntezy (QI i współaut. 2004).

Podsumowując mechanizm transportu floemowego należy wrócić do podstawowego pytania, czy wszystkie uzyskane wyniki, bardzo precyzyjnych, różnorodnych badań, można wyjaśnić przyjmując podstawowe założenia hipotezy Müncha? Na jednoznaczną odpowiedź trzeba jeszcze poczekać. Masowy przepływ w rurkach sitowych tylko częściowo wyklucza selektywność transportu. Stąd wynikają poszukiwania punktów i mechanizmów kontrolnych, umożliwiających selekcje transportowanych substancji bez negowania masowego przepływu.

W większości badań ostatnich lat nieliczne są poszukiwania odpowiedzi na tak postawione pytanie. W pracach analizujących poprawność teorii masowego przepływu MÜNCHA najczęściej obliczane są parametry fizyczne transportu floemowego i prezentowane modele matematyczne. Brak jest natomiast rozważań wiążących teorię przepływu masowego MÜNCHA z wynikami uzyskanymi dzięki



zastosowaniu metod biologii molekularnej. Główna uwaga biologów jest obecnie zwrócona na szczegółowe poznanie mechanizmu selektywnego transportu międzykomórkowego oraz załadunku i rozładunku floemu przez plazmodesmy. Spełniają one funkcje „portiera” nadzorującego transport. Różnymi metodami wykazano, że nie wszystkie cząsteczki i jony mogą przedostać się do rurek sitowych i przemieścić na duże odległości do docelowego akceptora (ZAMBRYSKI i CRAWFORD 2000). Jak już wspomniano, PD są na ogół zamknięte i nie otwierają się dla niektórych, nawet drobnocząsteczkowych substancji, a jednocześnie są „drożne” dla makrocząsteczek. Z tego wynika, że masa cząsteczki nie jest jedynym wskaźnikiem dla selektywnej kontroli transportu do rurki sitowej (IMLAU i współaut. 1999, DING i współaut. 2003). Najwięcej jest dowodów na selektywny transport białek i RNA oraz nukleoprotein (RNP). Nadzór nad transportem przez PD wynika, między innymi, z rozpoznawania niejednakowych motywów charakteryzujących makrocząsteczki. Są one wynikiem między innymi struk-

tury trzeciorzędowej białek lub sekwencji nukleotydów w RNA. Decydującą rolę mogą w tym procesie odgrywać chaperony i tak zwane białka dokujące, zlokalizowane w PD (QI i współaut. 2004). Poza ważną rolę, jaką MP odgrywa w transporcie wirusów przez PD, u dyni podobną funkcję spełniają białka CmPP16-1. Wiążą one mRNA, ułatwiając ich wnikanie do rurek sitowych.

Reasumując, we floemie odbywa się masowy przepływ soku, ale poprzedzony i zakończony selektywną regulacją załadunku oraz rozładunku w donorze i docelowym akceptorze. Można przypuszczać, że na tym polega nadzór rośliny nad jakością, a być może również sprawnością transportu na duże odległości, zarówno substancji pokarmowych, jak i cząsteczek sygnałowych. W najbliższej przyszłości można oczekiwać wyjaśnienia mechanizmu zróżnicowanego transportu we floemie.

—————  
Anonimowemu Recenzentowi bardzo serdecznie dziękuję za cenne uwagi i wnikliwą analizę niniejszej pracy.

## THE ROLE OF CONDUCTIVE SYSTEM IN NUTRIENT SUPPLY AND COORDINATION OF PLANT PROCESSES

### Summary

The review presents actual knowledge of the role of conductive system (phloem and xylem) in plants. Conductive system transfer organic and inorganic products of absorbed nutrients and photoassimilates. Far distance transport of water and ions as well as various metabolites and phytohormones also take place in the phloem in interaction with the xylem. Phloem functions as superhighway of information by transporting signalling molecules (hormones, proteins, mRNAs and not coded RNAs) to different plant organs. The movement of these macromolecules from companion cells into sieve tubes occurs *via* plasmodesmata and involves

selectively regulated mechanisms. Some proteins and RNAs in the sieve tubes are non-cell autonomous molecules. Therefore it may be concluded that phloem takes part in long distance communication between different plant organs. It allows plant to respond efficiently to ontogenetic changes and external conditions as well as to coordinate transport and distribution of resources required in various proportion for growth and development. It is stressed, that understanding of function of conductive systems may be relevant for modelling of carbon partitioning between competing sinks and finally of plant growth.

## LITERATURA

- ANDERSEN P. C., BRODBECK B. V., 1989. *Diurnal and temporal changes in the chemical profile of xylem exudate from Vitis rotundifolia*. *Physiol. Plant.* 75, 63–70.
- AYRE B. G., KELLER F., TURGEON., 2003. *Symplastic continuity between companion cells and the translocation stream: long-distance transport is controlled by retention and retrieval mechanism in the phloem*. *Plant Physiol.* 131, 1518–1528.
- BAULCOMBE D., 2002. *RNA silencing*. *Current Biol.* 12, 82–84.
- BEVERIDGE C. A., MURFET I. C., KERHOAS L., SOTTA B., MIGINIAC E., RAMEAU C., 1997. *The shoot controls zeatin ribose export from pea roots. Evidence from the branching mutant rms4*. *Plant J.* 11, 339–345.
- BRUGIERE N., DUBOIS F., LIMAMI A. M., LELANDAIS M., ROUX Y., SANGWAN R. S., HIREL B., 1999. *Glutamine synthetase in the phloem plays a major role in controlling proline production*. *Plant Cell.* 11, 1995–2011.
- BUHTZ A., KOLASA A., ARLT K., WALZ C., KEHR J., 2004. *Xylem sap protein composition is conserved among different plant species*. *Planta* 219, 610–618.

- CHAILAKHYAN M. K., 1968. *Internal factors of plant flowering*. Annu. Rev. Plant Physiol. 19, 1-36.
- CITOVSKY V., ZAMBRYSKY P., 2000. *Systemic transport of RNA in plants*. Trends Plant Sci. 5, 52-54.
- CORBESIER L., COUPLAND G., 2006. *The quest for florigen: a review of recent progress*. J. Exp. Bot. 57, 3395-3403.
- DE LA BARRERA E., NOBEL P. S., 2004. *Nectar: properties, floral aspects, and speculations on origin*. Trends Plant Sci. 9, 65-69.
- DING B., ITAYA A., QI Y., 2003. *Symplasmic protein and RNA traffic: regulatory points and regulatory factors*. Cur. Opin. Plant Biol. 6, 596-602.
- FROMM J., FEI H., 1998. *Electrical signaling and gas exchange in maize plants of draying soil*. Plant Sci. 132, 203-213.
- FUJIMAKI S., FUJIWARA T., HAYASHI H., 2000. *A new method for direct introduction of chemicals into single sieve tube of intact rice plants*. Plant Cell Physiol. 41, 124-128.
- GAUPELS F., KNAUER T., VAN BEL A. J. E., 2008. *A combinatory approach for analysis of protein sets in barley sieve-tube samples using EDTA-facilitated exudation and aphid stylectomy*. J. Plant Physiol. 165, 95-103.
- HAMBURGER D., REZZONICO E., MACDONALD-COMBER PETOTOT J., SOMERVILLE C., POIRIER Y., 2002. *Identification and characterization of the Arabidopsis PHO1 gene involved in phosphate loading to the xylem*. Plant Cell 14, 889-902.
- HAYASHI H., FUKUDA A., SUZUI N., FUJIMAKI S. 2000. *Proteins in the sieve element-companion cell complexes: their detection, localization and possible functions*. Aust. J. Plant Physiol. 27: 489-496.
- HENTON S. M., GREAVES A. J., PILLER G. J., MINCHIN P. E. H., 2002. *Revisiting the Münch pressure-flow hypothesis for long-distance transport of carbohydrates: modelling the dynamics of solute transport inside a semipermeable tube*. J. Exp. Bot. 53, 1411-1419.
- HOLBROOK N. M., ZWIENIECKI M. A., 2005. *Integration of long distance transport system in plants: perspectives and prospects for future research*. [W:] *Vascular transport in plants*. HOLBROOK N. M., ZWIENIECKI M. A. (red.) Elsevier Academic Press. 537-545.
- HOWE G. A., 2004. *Jasmonate as signals in the wound response*. J. Plant Growth Regul. 23, 223-237.
- IMAIZUMI T., KAY S. A., 2006. *Photoperiodic control of flowering: not only by coincidence*. Trends Plant Sci. 11, 550-557.
- IMLAU A., TRUERNIT E., SAUER N., 1999. *Cell-to-cell and long-distance trafficking of the green fluorescent protein in the phloem and symplastic unloading of the protein into sink tissue*. Plant Cell 11, 309-322.
- IWAI H., USUI M., HOSHINO H., KAMADA H., MATSUNGA T., KAKEGAWA K., ISHII T., SATOH S., 2003. *Analysis of sugar in squash xylem sap*. Plant Cell Physiol. 44, 582-587.
- JACKSON D., 2000. *Opening up the communication channels: recent insight into plasmodesmal function*. Cur. Opin. Plant Biol. 3, 394-399.
- JÖRGENSEN R. A., ATKINSON R. G., FORSTER R. L. S., LUCAS W. J. 1998. *An RNA-based information superhighway in plants*. Science. 279: 1486-1487.
- KEHR J., 2006. *Phloem sap proteins: their identities and potential roles in the interaction between plants and phloem-feeding insects*. J. Exp. Bot. 57, 767-774.
- KEHR J., BUHTZ A., 2008. *Long distance transport and movement of RNA through the phloem*. J. Exp. Bot. 59, 85-92.
- KIM M., CANIO W., KESSLERS., SINHAN., 2001. *Developmental changes due to long-distance movement of a homeobox fusion transport in tomato*. Science 293, 287-289.
- KNOBLAUCH M., VAN BEL A. J. E., 1998 *Sieve tubes in action*. Plant Cell. 10, 35-50.
- KOCH K. E. 1996. *Carbohydrate-modulated gene expression in plants*. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47: 509-540.
- LIN M. K., BELANGER H., LEE Y. J., VARKONYI-GASIC E., TAOKA K. I., MIURA E., XOCONTSL-CAZARES B., GENDLER K., JORGENSEN R. A., PHINNEY B., LOUGH T. J., LUCAS W. J., 2007. *Flowering locus T protein may act as the long-distance florigen-signal in the Cucurbitis*. Plant Cell 19, 1488-1506.
- LOUGH T. J., LUCAS W. J., 2006. *Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking*. Annu. Rev. Plant Biol. 57, 203-232.
- LUCAS W. J., 1995. *Plasmodesmata: intercellular channels for macromolecular transport in plants*. Cur. Opin. Cell Biol. 7, 673-680.
- LUCAS W. J., WOLF S., 1999. *Connections between virus movement, macromolecular signaling and assimilate allocation*. Cur. Opin. Plant Biol. 2, 192-197.
- LUCAS W. J., YOO B. C., KRAGLER F., 2001. *RNA as a long-distance information macromolecule in plants*. Mol. Cell Biol. 2, 849-857.
- MENDEL K., KIRKBY E. A., KOSEGARTEN H., APPEL T., 2001. *Principles of plant nutrition*. Kluwer Acad. Publishers.
- MINCHIN P. E. H., LACOINTE A., 2005. *New understanding on phloem physiology and possible consequences for modelling long-distance carbon transport*. New Phytol. 166, 771-779.
- MINCHIN P. E. H., THORPE M. R., 2003. *Using the short-lived isotope <sup>14</sup>C in mechanistic studies of photosynthate transport*. Func. Plant Biol. 30, 831-841.
- MINCHIN P. E. H., THORPE M. R., 1996. *What determines carbon partitioning between competing sink?* J. Exp. Bot. 47, 1293-1296.
- MORANDI B., REIGERM., GRAPPADILLI C. 2007. *Vascular flows and transpiration affects peach (Prunus persica Batsch.) fruit daily growth*. J. Exp. Bot. 58, 3941-3947.
- MÜNCH E. 1930. *Die Stoffbewegungen in der Pflanze*. Jena. Verlag von Gustav Fischer.
- NOWAKOWSKA P., KOPCEWICZ J. 2006. *Symplastowy transport białek i RNA u roślin*. Post. Biol. Kom. 33, 473-491.
- OMID A., KEILIN T., GLASS A., LESHOWITZ D., WOLF S., 2007. *Characterization of phloem-sap transcription profile in melon plants*. J. Exp. Bot. 58, 3645-3656.
- OPARKA K. J., CRUZ S. S. 2000. *The great escape: phloem transport and unloading of macromolecules*. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51: 323-347.
- OPARKA K. J., TURGEON R., 1999. *Sieve elements and companion cell - traffic control centers of the phloem*. Plant Cell 11, 730-739.
- PEUKE A. D., ROKITTA M., ZIMMERMANN U., SCHREIBER L., HAASE A., 2001. *Simultaneous measurement of water flow velocity and solute transport in xylem and phloem of adult plants of Ricinus communis over a daily time course by nuclear magnetic resonance spectrometry* Plant Cell Env. 24, 491- 503.
- POIRIER Y., THOMA S., SOMERVILLE C., SCHIEFELBEIN J., 1991. *A mutant of Arabidopsis deficient in xylem loading phosphate*. Plant Physiol. 97, 1087-1093.
- QI Y., PELISSIER T., ITAYA A., HUNT E., WASSENEGGER M., DING B., 2004. *Direct role of a viroid RNA*

- motif in mediating directional RNA trafficking across a specific cellular boundary.* Plant Cell 16, 1741–1752.
- RAHAYU Y. S., WALCH-LIU P., NEUMANN G., ROMHELD V., VON WIREN N., BANGRTH F. 2005. *Root-derived cytokinins as long-distance signals for NO<sub>3</sub><sup>-</sup> induced stimulation of leaf growth.* J. Exp. Bot. 56, 1143–1152.
- ROMBERGER J. A., HEJNOWICZ Z., HILL J. F., 1993. *Plant structure: function and development.* Springer Verlag, Berlin.
- RUIZ-MEDRANO R., MOYA J. H., XOCONSTLE-CAZARES B., LUCAS W. J. 2007. *Influence of cucumber mosaic virus infection on the mRNA population present in the phloem translocation stream of pumpkin plants.* Func. Plant Biol. 34, 292–301.
- RUIZ-MEDRANO R., XOCONOSTLE-CAZARES B., LUCAS W. J. 2001. *The phloem as a conduit for inter-organ communication.* Cur. Opin. Plant Biol. 4: 202–209.
- SAKAKIBARA H., 2006. *Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation.* Annu. Rev. Plant Biol. 57, 431–349.
- SAKUTA C., SATOH S., 2000. *Vascular tissue-specific gene expression of xylem sap glycine-rich proteins in root and their localization in the walls of metaxylem vessels in cucumber.* Plant Cell Physiol. 41, 627–638.
- SCHOBERT C., BAKER L., SZEDERKÉNYI J., GROSSMANN P., KOMOR E., HAYASHI H., CHINO M., LUCAS W. J. 1998. *Identification of immunologically related proteins in sieve-tube exudate collected from monocotyledonous and dicotyledonous plants.* Planta. 206: 245–253.
- SCOFIELD G. N., HIROSE T., AOKI N., FURBANK R. T. 2007. *Involvement of the sucrose transporter, OsSUT1, in the long-distance pathway for assimilate transport in rice.* J. Exp. Bot. 58, 3155–3169.
- SHULAEV V., LEON J., RASKIN I., 1995. *Is salicylic acid translocated signal of systemic acquired resistance in tobacco?* Plant Cell. 7: 1691–1701.
- SOWIŃSKI P. 1999. *Transport of photoassimilates in plants under unfavourable environmental conditions.* Acta Phys. Plant. 21. 75–85.
- SOWIŃSKI P. 2002. *Plazmo, desmy, jako element systemu komunikacji w roślinach.* Post. Biol. Kom. . 29, 627–635.
- SOWIŃSKI P., 2003. *Rurki sitowe – fenomen funkcjonalności.* Post. Biol. Kom. 30, 619–633.
- STARCK Z., 2003. *Transport i dystrybucja substancji pokarmowych w roślinach.* Wydawnictwo ŚGGW.
- STARCK Z., 2004. *Plastyczność współdziałania metabolizmu azotu i węgla w niekorzystnych warunkach środowiska.* Zesz. Problem. Post. Nauk Roln. 496, 85–102.
- STARCK Z., 2006a. *Role of conducting systems in the transduction of long-distance stress signals.* Acta Physiol. Plant. 28, 289–301.
- STARCK Z., 2006b. *Różnorodne funkcje węgla i azotu w roślinach.* Kosmos 55, 243–257.
- STARCK Z., 2008. *Stresy wynikające z nieprawidłowego odżywiania roślin azotem.* Post. Nauk Roln. 332, 27–42.
- SZWEJKOWSKA-KULIŃSKA Z., SZARZYŃSKA B. 2007. *Nagroda Nobla 2006 za fundamentalne odkrycia w regulacji ekspresji genów u eucariotów.* Post. Biol. Kom. 34, 3–13.
- TAKEI K., UEDA N., AOKI K., KUROMORI T., HIRAYAMA T., SHINOZAKI K., YAMAYA T., SAKAKIBARA H., 2004. *AtIPT3 is a key determinant of nitrate-dependent cytokinin biosynthesis in Arabidopsis.* Plant Cell Physiol. 45, 1053–1062.
- THORPE M., MINCHIN P., GOULD N., MCQUEEN J., 2005. *The stem apoplast: a potential communication channel in plant growth regulation.* [W:] *Vascular Transport in Plants.* HOLBROOK N. M., ZWIENIECKI M. A., (red.) Elsevier Academic Press, 201–220.
- VAN BEL A. J. E., 2003. *The phloem, a miracle of ingenuity.* Plant Cell Environ. 26: 125–149.
- VAN BEL A. J. E., GAUPELS F., 2004. *Pathogen-induced resistance and alarm signals in the phloem.* Molec. Plant Pathol. 5, 495–504.
- VAN BEL A. J. E., HAFKE J. H., 2005. *Physiochemical determinants of phloem transport.* [W:] *Vascular transport in plants.* HOLBROOK N. M., ZWIENIECKI M. A., (red.) Elsevier Academic Press, 19–44.
- VAN BEL A. J. E., HESS P. H. 2008. *Hexoses as phloem transport sugars : the end of a dogma.* J. Exp. Bot. 59: 261–272.
- VAN BEL A. J. R., EHLERS K., KNOBLAUCH M. 2002. *Sieve elements caught in the act.* Trends Plant Sci. 7: 126–132.
- VOINNET O., LEDERER C., BAULCOMBE D. C., 2000. *A viral movement protein prevents spread of the gene silencing signal in Nicotiana lenthamiana.* Cell 103, 157–167.
- VOLK G. M., FRANCESCHI V. R., 2000. *Localization of calcium channel-like protein in the sieve element plasma membrane.* Aust. J. Plant Physiol. 27, 779–786.
- WALZ C., JUENGER M., SCHAD M., KEHR J., 2002. *Evidence for the presence and activity of complete antioxidant defence system in mature sieve tubes.* Plant J. 31, 189–197.
- WILKINSON S., BACON M. A., DAVIES W. J., 2007. *Nitrate signalling to stomata and growing leaves: interaction with soil drying, ABA, and xylem sap pH in maize.* J. Exp. Bot. 58, 1705–1716.
- WILL T., VAN BEL A. J. E., 2006. *Physical and chemical interaction between aphids and plants.* J. Exp. Bot. 57. 729–737.
- WŁODOWSKA L., 1972. *Udział żdźbła w kształtowaniu się plonu pszenicy.* Praca doktorska. Katedra Fizjologii Roślin S. G. W.-WARSZAWA.
- WOJCIECHOWSKI W., KĘSY J., KOPCEWICZ J., 2007. *Florigen – legenda czy rzeczywistość.* Post. Biol. Kom. . 34, 31–47.
- WU X., WEIGEL D., WIGGE P. A., 2002. *Signaling in plants by intercellular RNA and protein movement.* Gen. Develop. 16, 151–158.
- ZAMBRYSKI P., CRAWFORD K., 2000. *Plasmodesmata: gatekeepers for cell-to-cell transport of developmental signals in plants.* Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 16, 393–421.
- ZDUNEK E., LIPS S. H., 2001. *Transport and accumulation rates of abscisic acid and aldehyde oxidase activity in Pisum sativum L. in response to suboptimal growth conditions.* J. Exp. Bot. 52: 1269–1276.
- ZEEVAART J. A. D., 2006. *Florigen coming of age after 70 years.* Plant Cell. 18, 1783–1789.
- ZHU Y., QI Y., XUN Y., OWENS R., DING B., 2002. *Movement of potato spindle tuber viroid reveals regulatory points of phloem-mediated RNA traffic.* Plant Physiol. 130, 138–146.
- ZIEGLER H., 1975. *Nature of transported substances.* [W:] *Transport in Plants. Phloem transport.* ZIMMERMANN M. H., MILBURN J. A. (red.). Springer Verlag, 59–100.
- ZIMMERMANN M. H., ZIEGLER H., 1975. *List of sugars and sugar alcohol's in sieve-tube exudates.* Encyclopedia Plant Physiol. New series. tom 1, *Transport in Plants. Phloem transport.* (red.) ZIMMERMANN M. H., MILBURN J. A., 480–503.