

HUBERT HARAŃCZYK¹, PIOTR NOWAK¹, MARIA OLECH²¹*Instytut Fizyki**Uniwersytet Jagielloński**Reymonta 4, 30-059 Kraków*²*Zakład Badań i Dokumentacji Polarnej im. prof. Zdzisława Czeppego**Instytut Botaniki**Uniwersytet Jagielloński**Kopernika 27, 31-501 Kraków**e-mail: hubert.haranczyk@uj.edu.pl**maria.olech@uj.edu.pl*

POROSTY ANTARKTYCZNE – SPOSOBY PRZETRWANIA W SKRAJNIE NIEPRZYJAZNYM ŚRODOWISKU

WSTĘP

Wraz ze zwiększaniem się szerokości geograficznej spada liczba gatunków roślin kwiatowych zasiedlających środowisko, natomiast zwiększa się udział organizmów zarodnikowych, a zwłaszcza porostów (grzybów zlichenizowanych), które stanowią główny komponent tundry. Spektakularnym przykładem jest obszar Antarktyki, gdzie występują zaledwie dwa rodzime gatunki roślin kwiatowych i to tylko w morskiej Antarktyce, a to: *Colobanthus quitensis* i *Deschampsia antarctica*. Natomiast nawet w odległości zaledwie 300 km od Bieguna Południowego stwierdzono obecność czterech gatunków grzybów zlichenizowanych, w Antarktyce morskiej zaś podawanych jest ich aż 400 gatunków. Ogólnie mówiąc, grzyby zlichenizowane dominują w środowiskach ekstremalnych. Nasuwa się pytanie, jakie własności decydują o tak znacznej przewadze grzybów zlichenizowanych w zasiedlaniu środowisk o skrajnie niskiej temperaturze oraz doświadczających często skrajnego deficytu wody, pomimo że rośliny naczyniowe mają przecież wiele skutecznych przystosowań umożliwiających im przetrwanie w skrajnie niskich temperaturach.

Rośliny wyższe potrafią przetrwać pod śniegiem, jeśli nie zostaną zamrożone (TIESZEN i współaut. 1981). Pokrywa śnieżna

ogranicza wahania temperatury, zapewnia obecność wilgoci oraz przepuszcza dość światła dla zachodzenia procesu fotosyntezy na umiarkowanym poziomie. Nie wiadomo wszakże, czy procesom rozwojowym obserwowanym u roślin wyższych przykrytych warstwą śniegu, a obejmującym wzrost, wytwarzanie liści czy kiełkowanie nasion (SALISBUR i współaut. 1973), towarzyszy aktywność fotosyntetyczna. Uważa się wręcz, że fotosynteza rozpoczyna się dopiero, gdy powłoka śnieżna pokrywająca roślinę w większości zniknie (KIMBALL i SALISBURY 1974).

Wydaje się, że lichenizacja jest skutecznym sposobem na wypełnienie przez grzyba jego zapotrzebowania na glukozę, skoro aż ok. 18% gatunków grzybów podjęło tę strategię przetrwania. Ciało porostu (plechę), jako całość pod względem anatomicznym i fizjologicznym, tworzą strzępki grzyba połączone z komórkami glonu. Oba komponenty, czyli mykobiont i fotobiont, są od siebie ściśle uzależnione. Grzyb zapewnia glonowi schronienie i dostarcza wodę z solami mineralnymi, a sam korzysta z węglowodanów tworzonych w procesie fotosyntezy przez samożywny glon. Brak korzeni, epidermy czy kutikuli powoduje, że aktywność metaboliczna (oddychanie oraz fotosyntetyczna wymia-

na CO₂) grzyba w pełni zależy od środowiskowych relacji wodnych. Ten prymitywny sposób zaopatrzenia w wodę charakteryzuje grzyba zlichenizowanego jako organizm poikilohydryczny (o uwodnieniu dostosowanym do otoczenia plechy). Brak bardziej zaawansowanych struktur morfologicznych nie wydaje się czynnikiem decydującym o przewodze grzybów zlichenizowanych, któ-

ra mogłaby polegać na ograniczeniu rozmiarów organizmu, skoro na przykład niektóre z nich osiągają duże rozmiary właściwe dla wielu roślin naczyniowych. Na przykład w Antarktyce plechy porostów z rodzaju *Usnea* tworzą „krzaczkę” o długości do 20 cm, zaś listkowate plechy rodzaju *Umbilicaria* mogą osiągać średnicę 20 cm (KAPPEN i współaut. 1996).

ODPORNOŚĆ NA SKRAJNIE NISKĄ TEMPERATURĘ I DEHYDRATACJĘ

Zdolności do przetrwania skrajnie niskiej temperatury przez grzyby zlichenizowane są imponujące. Przynajmniej dwa gatunki porostów, a mianowicie *Xanthoria elegans* oraz *Rhizoplaca melanophthalma*, są w stanie przetrwać ochłodzenie do temperatury ciekłego azotu (-196°C) niezależnie od szybkości ochładzania, natomiast osiem innych gatunków jest w stanie wytrzymać równie niską temperaturę pod warunkiem, że plecha jest ochładzana wolno (KAPPEN 1993).

Oprócz zdolności do przetrwania skrajnie niskich temperatur, odporność na przechłodzenie manifestuje się u grzybów zlichenizowanych również w zdolności do przetrwania bardzo długiej ekspozycji na mróz. Długa inkubacja (-3,5 roku w -60°C) powietrznie suchej plechy *Alectoria ochroleuca* nie zmienia jej podstawowych fotosyntetycznych i oddechowych reakcji na zmianę temperatury, zmianę intensywności światła oraz poziomu uwodnienia plechy po rozmrożeniu (LARSON 1978).

Ostatnio przeprowadzono eksperyment w przestrzeni kosmicznej, w którym ustalono, że plechy niektórych gatunków grzybów zlichenizowanych mogą nawet znieść jednocześnie działanie skombinowanych czynników stresowych, a mianowicie temperatury przestrzeni bliskiej zera bezwzględnej, próżni kosmicznej oraz pełnego widma słonecznego promieniowania elektromagnetycznego. Ekspozowane przez 10 dni do próżni kosmicznej plechy *Rhizocarpon geographicum*, *Xanthoria elegans* i *Aspicilia fruticulosa* po rehydratacji powróciły do aktywności metabolicznej (DE LA TORRE i współaut. 2010).

Należy zaznaczyć, że procesy metaboliczne zamierają w temperaturach dużo wyższych, zjawiska dynamiki molekularnej, dyfuzji, jak również sublimacji do próżni są drastycznie spowolnione, więc istotnie nową informacją o ekstremofilnych możliwościach grzyba zlichenizowanego niesioną przez eks-

peryment kosmiczny, poza samym faktem przetrwania w przestrzeni międzyplanetarnej, jest zdolność do przetrwania wysokiego poziomu promieniowania elektromagnetycznego oraz wysokich gradientów temperatury wywołanych zmienną ekspozycją do światła słonecznego.

Wiążącym się z poprzednim wyróżnikiem jest właściwa dla wielu gatunków grzybów zlichenizowanych zdolność do przeprowadzania procesu fotosyntezy w temperaturach znacznie poniżej równowagowego punktu dla zamarzania. W warunkach laboratoryjnych stwierdzono zachodzenie procesu fotosyntezy w temperaturze -24°C u *Cladonia foliacea* (LANGE 1965) oraz w -22°C u *Cladonia convoluta* i -20°C u *Flavocetraria nivalis* (KALLIO i HEINONEN 1971). Najniższa temperatura zachodzenia fotosyntezy, jaką stwierdzono w warunkach terenowych, wynosi -17°C. W tak niskiej temperaturze zmierzono poziom wymiany CO₂ dla plechy *Umbilicaria aprina* zasiedlającej Cape Geology na Antarktydzie. Poziom oddychania znacząco obniżył się w -7°C, a proces zatrzymał się całkowicie w -11°C. Temperatura maksimum i maksymalny poziom wydajności fotosyntezy (zależne od intensywności oświetlenia) obniżały się wraz z obniżaniem temperatury (SCHROETER i SCHEIDEGGER 1995).

Zadziwiająca jest przy tym, że dla wielu gatunków grzybów zlichenizowanych nukleacja lodu w płynach ustrojowych plechy rozpoczyna się w temperaturach znacznie przekraczających dolną granicę temperatury dla zachodzenia procesu fotosyntezy. Podczas wolnego chłodzenia plechy *Umbilicaria aprina* metodą kalorymetri różnicowej (DTA) stwierdza się nukleację lodu w temperaturze 5,4°C (SCHROETER i SCHEIDEGGER 1995).

Za „wysoką” temperaturę nukleacji lodu w plesze zwykle uważa się -5°C, a inicjujące wzrost kryształitu lodu czynniki zwane



Ryc. 1. *Usnea aurantiaco-atra*.

są zwykle jądrami (nukleatorami) Typu I (PHELPS i współaut. 1986).

Układami biologicznymi działającymi jako aktywne („wysokotemperaturowe”) nukleatory krystalitów lodu są niektóre bakterie epifityczne, jednak takie nie zostały wyizolowane z plechy grzybów zlichenizowanych (LINDOW 1983). Uważa się więc, że mykobiont lub fotobiont są źródłami nukleatorów (KIEFT 1988). Wydaje się jednak, że jądra Typu I obecne są raczej w mykobioncie niż we fotobioncie, jak stwierdzono to na przykład u *Cladonia rangiferina* w -5°C , podczas gdy mykobiont *Cladonia bellidiflora* wykazuje nukleację lodu dopiero w temperaturze $8,3^{\circ}\text{C}$ (KIEFT i AHMADJIAN 1989). Jądra nukleacji Typu I (aktywne w około -4°C) wyizolowane z *Rhizoplaca chrysoleuca* pozostawały aktywne w zakresie od pH 1,5 do 12 po uprzednim ogrzewaniu (w $+60^{\circ}\text{C}$ przez 10 minut), natomiast ulegały działaniu proteaz, co sugeruje ich charakter białkowy (KIEFT i RUSCETTI 1990).

Porównawcza analiza grzybów zlichenizowanych, mchów i roślin naczyniowych pochodzących z Antarktyki morskiej pokazuje, że liczba jąder nukleacji aktywnych w temperaturze -7°C różni się o ponad rząd wielkości, spadając w tych grupach organizmów w podanej kolejności (WORLAND i współaut. 1996). Zwiększony udział jąder Typu I skutkuje zarówno w zwiększonym przyjmowaniu wody z fazy gazowej przez indukowanie depozycji lodu w plechce grzyba, jak również w ochronie przed uszkodzeniami wywołanymi zamarzaniem przez stymulowanie tworzenia się w relatywnie wyższych temperaturach mniejszych krystalitów lodu (KIEFT 1988).

Wydaje się, że skuteczność nukleatorów obecnych w plechce grzybów zlichenizowa-

nych jest tak duża, iż tolerujące przemarzanie owady, chcąc wymusić nieletalną nukleację lodu w swoich jelitach, pożerają plechy porostów. W jelitach subantarktycznego chrząszcza *Hydromedion sparsutum* stwierdzono fragmenty plechy *Usnea aurantiaco-atra* (Ryc. 1), trzeba jednak zauważyć, że nukleację lodu stwierdza się u tego chrząszcza w temperaturze $-3,9\pm 1,0^{\circ}\text{C}$, zaś temperatura nukleacji dla plechy wynosi $-5,0^{\circ}\text{C}$ (WORLAND i współaut. 1993).

W odróżnieniu od roślin naczyniowych, pokrywa śniegu o grubości od 1 do 4 cm nie zatrzymuje aktywności fotosyntetycznej u grzybów zlichenizowanych. Na przykład w pokrytej śniegiem plechce *Usnea sphacelata* w kontynentalnej Antarktyce jedynie w okresie kilkugodzinnego, bardzo silnego nasłonecznienia (ponad $600 \text{ mEm}^{-2}\text{s}^{-1}$) wypadkowy poziom fotosyntezy odwracalnie się obniża (KAPPEN 1989, KAPPEN i współaut. 1991). *Usnea antarctica* zwykle zasiedla wolne od śniegu środowiska Antarktyki morskiej, jest jednak również znajdowana w pokrytych śniegiem środowiskach Antarktyki kontynentalnej (HANCOCK i SEPPELT 1988).

Zadziwiająco zdolnością grzybów zlichenizowanych jest pobieranie wody z pokrywającej plechę warstwy śniegu, a więc z fazy stałej. *Flavocetraria nivalis* pokryta warstwą śniegu o grubości 10-20 cm uwadnia się do poziomu $\Delta m/m_0 = 1,70-2,05$, gdzie m_0 to sucha masa plechy, a Δm to masa wody związanej, natomiast gdy warstwa śniegu waha się o 1 do 5 cm grubości $\Delta m/m_0 = 0,50-1,10$ (KAPPEN i współaut. 1995). Skuteczność wiązania wody ze śniegu spada wraz ze spadkiem temperatury, na przykład plecha *Umbilicaria aprina* pokryta opadem śnieżnym przez przynajmniej 16 godz. w ciemności, zwiększa poziom uwodnienia od wartości dla plechy powietrznie suchej ($\Delta m/m_0 = 0,09$) do 0,56 w temperaturze $-4,5^{\circ}\text{C}$, do 0,50 w temperaturze -6°C , oraz do 0,25 w -14°C , a nawet do 0,20 w temperaturze -21°C (SCHROETER i SCHEIDEGGER 1995). Opad śniegu w temperaturze poniżej 0°C może aktywować fotosyntetyczne pobieranie CO_2 w plechach *Usnea sphacelata* oraz *Umbilicaria aprina* (do -10°C oraz -17°C , odpowiednio) (SCHROETER i współaut. 1994).

Grzyb zlichenizowany nie posiada specjalnych narządów przeznaczonych do pochłaniania śniegu, a pobieranie wody ze śniegu w temperaturach poniżej 0°C zachodzi za pośrednictwem fazy gazowej, z pary sublimującej ze śniegu.

Plecha wielu gatunków grzybów zlichenizowanych może odwracalnie odwadniać się do poziomu wywołującego zatrzymanie aktywności fotosyntetycznej. Dla niskich hydratacji poziom aktywności fotosyntetycznej rośnie niemal liniowo wraz z poziomem uwodnienia, następnie obserwuje się maksimum, a wreszcie, wraz z dalszym wzrostem hydratacji, poziom aktywności fotosyntetycznej zaczyna spadać. Pomiar w warunkach polowych pokazały dla *Ramalina terebrata* maksimum aktywności fotosyntetycznej dla

$\Delta m/m_0 = 0,87$ (KAPPEN i współaut. 1987), dla *Usnea sphacelata* dla *Usnea aurantiaco-atra* dla $\Delta m/m_0 = 0,70$ (KAPPEN i współaut. 1987), a wreszcie dla *Umbilicaria aprina* $\Delta m/m_0 = 1,2$ oraz dla *Umbilicaria decussata* $\Delta m/m_0 = 1,0$ (KAPPEN i BREUER 1991).

Zatrzymanie aktywności życiowych grzyba zlichenizowanego przy odwodnieniu oraz jej wznowienie zachodzi przy rehydratacji do $\Delta m/m_0 = 0,2-0,3$ dla *Usnea aurantiaco-atra*, wreszcie do $\Delta m/m_0 = 0,3-0,4$ dla *Ramalina terebrata* (KAPPEN i współaut. 1987).

MOLEKULARNE PODSTAWY ODPORNOŚCI NA PRZEMARZANIE I WYSUSZANIE

Fakt, że proces ewolucji, który u roślin naczyniowych doprowadził do powstania wyspecjalizowanych struktur i organów, nie dość że nie dał im przewagi w przetrwaniu skrajnie niskich temperatur, to wręcz upośledził je w porównaniu do prostszych organizmów – grzybów, oznacza, że przyczyna skuteczności grzybów zlichenizowanych w zasiedlaniu skrajnych środowisk leży w molekularnych mechanizmach odporności na przemarzanie i wysuszenie.

Z punktu widzenia fizyki fazy skondensowanej odwodniona plecha grzyba zlichenizowanego przypomina układ porowaty. Porowatość plechy porostów z rodziny Umbilicariaceae wyznaczana metodą porozymetrii ręciowej zmienia się z zakresem od 30% dla *Lasalia hispanica* do 10% dla *Umbilicaria cinereorufescens* (VALLADARES i współaut. 1998). Oznacza to, że wraz ze spadkiem poziomu uwodnienia plecha w naturalny sposób, czyli bez naruszania ciągłości swoich struktur, ujawnia pory, w których mogą się pomieścić kryształki lodu nie powodując swą obecnością zmian letalnych organizmu. Pomiar mikroskopowe uwidaczniają sposób rozmieszczenia kryształków lodu w obrębie struktur plechy, który zachodzi bez ich uszkodzenia (SCHROETER i SCHEIDEGGER 1995).

Dla układów o bardzo niskiej dehydratacji lepiej analizować poziom uwodnienia w zależności od lokalizacji i mobilności frakcji cząsteczek różniących się tylko odległością od powierzchni układu, bez rozróżnienia czy jest to woda wewnątrz- czy też woda zewnątrzkomórkowa. Poszczególne frakcje wody różnić się będą w stopniu wiązania do powierzchni, swoją ruchliwością, dynamiką molekularną oraz skłonnością do tworzenia kryształu lodu przy ochłodzeniu do temperatur poniżej równowagowej dla zamarzania.

W skrajnie niskim uwodnieniu układu, kiedy średnie pokrycie jego powierzchni wewnętrznych i zewnętrznych jest mniejsze niż pojedyncza warstwa cząsteczek wody, warto wprowadzić jeszcze jeden stopień skali hydratacji, a mianowicie uwodnienie powyżej bądź poniżej progu perkolacji. Progiem perkolacji nazywamy takie pokrycie powierzchni, przy którym znika (przy spadku pokrycia) lub pojawia się (przy narastaniu pokrycia) rozpościerająca się od nieskończoności do nieskończoności grupa obiektów (tu cząsteczek wody) tę powierzchnię pokrywających. Jest to jednoznacznie określona wartość charakterystyczna dla danej sieci (STAUFFER i AHARONY 1991). Plechy grzybów zlichenizowanych są jedynymi makroskopowymi organizmami żywymi odwracalnie odwadniającymi się poniżej progu perkolacji wody związanej na powierzchniach plechy. Próg perkolacji w plezje *Himantormia lugubris* z Antarktyki morskiej stwierdzono dla poziomu uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0,099$, natomiast dla *Cladonia mitis* z siedlisk w północnej Szwecji dla $\Delta m/m_0 = 0,093$. Warto zauważyć, że jest to poziom uwodnienia przypadkowo zbliżony do poziomu uwodnienia dla plechy powietrznie suchej wynoszącego $\Delta m/m_0 = 0,102$ dla *Himantormia lugubris* oraz $\Delta m/m_0 = 0,091$ dla *Cladonia mitis*. Wynik ten pozwolił oszacować dostępną dla wody sumaryczną powierzchnię plechy na ok. $447 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ dla *Himantormia lugubris* oraz na ok. $377 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ dla *Cladonia mitis* (HARAŃCZYK 2003).

Badanie kinetyki wiązania wody pozwala rozróżnić jej frakcje z uwagi na siłę wiązania do powierzchni (której miarą jest szybkość ucieczki do atmosfery).

Wstępna inkubacja w atmosferze o wilgotności względnej p/p_0 równej 0% (nad żelem



Ryc. 2. *Ramalina terebrata*.

krzemionkowym) pozwala w bardzo znacznym stopniu usunąć wodę z plechy grzyba zlichenizowanego. Kinetyka hydratacji przeprowadzana z fazy gazowej (w atmosferze o kontrolowanej wilgotności względnej) pozwala wyodrębnić frakcję wody bardzo ściśle związanej, która wiąże się w czasie krótszym niż 10 minut. W plezje krzaczkowatej *Usnea antarctica* udział tej frakcji wynosi $\Delta m/m_0 = 0,04 \pm 0,011$ (HARAŃCZYK i współaut. 2006), w listkowatej *Umbilicaria aprina* z Antarktyki morskiej $\Delta m/m_0 = 0,054 \pm 0,011$ (HARAŃCZYK i współaut. 2008). Izoterma sorpcyjna opisuje masę wody związanej do układu w funkcji wilgotności względnej atmosfery. Pozwala ona wyłowić tzw. pulę pierwotnych miejsc wiążących (bezpośrednio do powierzchni układu). Dla *Leptogium puberulum* $\Delta m/m_0 = 0,043 \pm 0,007$ (HARAŃCZYK i współaut. 2009), wreszcie w plezje *Ramalina terebrata* (Ryc. 2) $\Delta m/m_0 = 0,046$ (HARAŃCZYK i współaut. 2012a). Dla niektórych grzybów zlichenizowanych jest to liczba odpowiadająca frakcji wody najściślej związanej, jednakże nie jest to regułą, ponieważ różnice mogą wynikać na przykład z powodów morfologicznych.

Kinetyka wiązania wody do plechy grzyba zlichenizowanego opisana jest zwykle funkcją dwueksponencjalną. Jako następną w kolejności wiąże się frakcja wody ściśle związanej. Jej udział w plezje *Usnea antarctica* wynosi $\Delta m/m_0 = 0,087 \pm 0,028$, a czas hydratacji $t_{hyd} = 4,7 \pm 2,6$ h, w *Umbilicaria aprina* wynosi $\Delta m/m_0 = 0,051 \pm 0,038$, $t_{hyd} = 3,5 \pm 1,0$ h, natomiast dla *Ramalina terebrata* $\Delta m/m_0 = 0,059 \pm 0,007$, oraz czas hydratacji $t_{hyd} = 1,2 \pm 0,2$ h. Z dłuższym czasem hydratacji wiąże się frakcja wody luźno związanej, której

masa stopniowo narasta wraz ze wzrostem wilgotności względnej środowiska, natomiast czas hydratacji jest znacznie dłuższy, a mianowicie dla *Umbilicaria aprina* wynosi on $t_{hyd} = 31,0 \pm 1,9$ h, dla *Leptogium puberulum* $t_{hyd} = 25,8 \pm 3,2$ h, zaś dla *Ramalina terebrata* $t_{hyd} = 14,4 \pm 2,1$ (HARAŃCZYK i współaut. 2006, 2008, 2009, 2012a).

Można wskazać też inne grzyby zlichenizowane, jak *Usnea antarctica* czy *Caloplaca regalis*, dla których kinetyka rehydratacji (oraz dehydratacji) jest opisana prostą zależnością eksponencjalną, jakiej można by spodziewać się dla organizmów poikilohydrycznych (HARAŃCZYK 2003). Złożona kinetyka hydratacji powinna nieść korzyści stosującemu ją organizmowi. Faktycznie, obserwowana jest na ogół u porostów o plezje krzaczkowatej, których plecha nie jest zlokalizowana przy samym podłożu. Dwuetapowy przebieg hydratacji, a jej skutkiem spowolnienie osiągania wyższych wartości uwodnienia, może mieć znaczenie dla grzybów zlichenizowanych nie stymulujących nieletalnej nukleacji lodu, a mianowicie zabezpieczać plechę przed letalną nukleacją lodu w sytuacji przypadkowego bardzo intensywnego zwilżenia.

W niektórych grzybach zlichenizowanych, jak *Himantormia lugubris* czy *Usnea aurantiaco-atra*, można wręcz mówić o preferowanym niskim poziomie uwodnienia stosunkowo szybko osiąganym przez plechę, a niewystarczającym jeszcze do inicjacji procesów fotosyntezy (HARAŃCZYK 2003). Stwarza to organizmowi stosującemu tę strategię wyprzedzenie w sytuacji, gdy warunki pogodowe uległy poprawie, a jednocześnie chroniąc przed ryzykiem uszkodzeń wywołanych przez nieprzewidzianą nukleację lodu. Rozgrywa się to na bardzo podstawowym poziomie fizykochemicznych własności powierzchni grzyba.

Dynamika molekularna pozwala na inną klasyfikację poszczególnych frakcji wody w plezje grzyba zlichenizowanego. Magnetyczny rezonans jądrowy (MRJ) jest jedną z niewielu metod doświadczalnych pozwalających w układzie nieprzezroczystym określić stan mobilności molekuł wody w plezje o bardzo niskim stopniu uwodnienia. Pomiar MRJ na ogół nie rozróżnia frakcji wody najściślej związanej do powierzchni plechy grzyba zlichenizowanego oraz frakcji wody ściśle związanej, co sugeruje, że te frakcje różnią się raczej siłą wiązania, a nie mobilnością molekuł wody. Pozwala to stwierdzić, że plecha grzyba zlichenizowanego po inkubacji

w atmosferze $p/p_0 = 0\%$ nie zawiera wody luźno związanej. Oznacza to, że w badanych plechach nie występują izolowane kawerny wypełnione wodą pułapkowaną (HARAŃCZYK 2003; HARAŃCZYK i współaut. 2000, 2003a, b, 2006, 2008, 2009, 2012a, b).

Ponadto, pomiar MRJ pokazuje, że frakcja wody ściśle związanej, to w znacznej części woda niezamarzająca, mobilna do bardzo niskich temperatur (w plezje grzyba zlichenizowanego są rzędu około -60°C), natomiast woda luźno związana zamarza (kooperatywnie) z utworzeniem krystalitu lodu lub stopniowo unieruchamia się niekooperatywnie wraz z obniżaniem temperatury (HARAŃCZYK i współaut. 2012b).

Wraz z obniżaną temperaturą w plezje *Cladonia mitis*, *Usnea aurantiaco-atra*, *Himantormia lugubris* oraz *Umbilicaria aprina* ma miejsce dodatkowe zjawisko. Otóż wzrasta udział frakcji wody ściśle związanej, niezamarzającej, kosztem frakcji wody luźno związanej, zamarzającej. Odpowiada to zwiększeniu powierzchni układu dostępnej dla wiążących się cząsteczek wody, a może polegać na wydzielaniu substancji, która miałaby strukturę przypominającą żel, a zlokalizowaną wewnątrz plechy (HARAŃCZYK i współaut. 2000, 2003a, b, 2012b).

W plezje *Cladonia mitis* z północnej Szwecji, a uwodnionej do $\Delta m/m_0 = 0,388$, mechanizm transferu frakcji wody zamarzającej do frakcji wody niezamarzającej nie jest wystarczająco efektywny i obserwuje się kooperatywne zamarzanie wody. Szacowane maksymalne uwodnienie, w którym frakcja wody zamarzającej jest w pełni przekształcana w niezamarzającą wynosi $\Delta m/m_0 \gg 0,26$, natomiast wyznaczona kalorymetrycznie dla *Umbilicaria aprina* graniczna wartość uwodnienia wynosi $\Delta m/m_0 = 0,202 \pm 0,050$ dla chłodzenia oraz $\Delta m/m_0 = 0,127 \pm 0,027$ dla ogrzewania próbki (HARAŃCZYK i współaut. 2000, 2012b).

Podobnie, często zdarzające się w warunkach naturalnych odwodnienie do fazy gazowej może prowadzić do kompletnego zaniku frakcji wody luźno związanej zamarzającej oraz do znaczącej redukcji frakcji wody ściśle związanej może znacząco ułatwiać gatunkom grzybów zlichenizowanych, które unikają zamarzania lodu wewnątrz plechy przetrwanie obniżenia temperatury otoczenia.

Wydaje się, że molekularne mechanizmy odporności na skrajnie niską temperaturę oraz na dehydratację poznane zostały jedynie częściowo. Na przykład ostatnio zaobserwowano występowanie przemiennych strategii odporności na przemarzanie u grzybów zlichenizowanych. Plecha *Umbilicaria aprina* pochodząca z Antarktyki morskiej, a uwodniona do $\Delta m/m_0 = 0,70$, wykazuje nukleację lodu w temperaturze $-15,6^\circ\text{C}$ (HARAŃCZYK i współaut. 2012b) w odróżnieniu od $-5,4^\circ\text{C}$ dla plechy *Umbilicaria aprina* z Antarktyki kontynentalnej (SCHROETER i SCHEIDEGGER 1995). Wcześniej zmianę strategii przetrwania skrajnie niskich temperatur obserwowano jedynie u owadów, na przykład u larwy *Gynaephora groenlandica* zasiedlającej kanadyjski Archipelag Arktyczny, która w lecie unika przemarzania (przeżywa przemrożenie do -15°C), natomiast w zimie toleruje zamarzanie (przeżywa przemrożenie do -70°C) (KUKAL 1991).

Molekularne mechanizmy przetrwania skrajnie niskiej temperatury oraz drastycznego odwodnienia nie zostały dotąd w pełni poznane i stanowią cel intensywnych badań prowadzonych przez nasz zespół badawczy łączący zarówno specjalistów z botaniki, biofizyki, jak i fizyki.

Wydaje się, że lepsze poznanie molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za odporność na przemarzanie i dehydratację miałyby ważne zastosowania praktyczne, np. pozwalając przedłużyć czas przechowywania organów przeznaczonych do przeszczepów.

POROSTY ANTARKTYCZNE – SPOSOBY PRZETRWANIA W SKRAJNIE NIEPRZYJAZNYM ŚRODOWISKU

Streszczenie

Porosty, czyli grzyby zlichenizowane, znakomicie znoszą ekstremalne warunki środowiska antarktycznego. Dzięki specjalnym adaptacjom rosną najdalej na południu Ziemi, spotkać je można nawet w odległości 300 km od Bieguna Południowego, gdzie stwierdzono cztery gatunki. W Antarktyce Morskiej podawanych jest ponad 400 gatunków i stanowią one główny składnik tundry, podczas gdy rośliny

naczyniowe reprezentowane są zaledwie przez dwa rodzime gatunki. Lichenizacja jest bardzo skutecznym wypełnieniem przez grzyba jego zaopatrzenia w glukozę, gdyż ok. 18% gatunków grzybów podjęło tę strategię przetrwania.

Przewaga nad roślinami naczyniowymi przy zasiedlaniu środowisk o skrajnie trudnych warunkach klimatycznych wynika z tego, że porosty potrafią

przetrwać skrajną dehydrację oraz ekstremalnie niskie temperatury. Wiele gatunków wytrzymało oziębienie do temperatury ciekłego azotu, a nawet ekspozycję do przestrzeni kosmicznej. Potrafią pobierać wodę wprost ze śniegu do poziomu wystarczającego do uruchomienia reakcji fotosyntezy.

Molekularne mechanizmy przetrwania skrajnie niskiej temperatury oraz drastycznego odwodnienia nie zostały dotąd w pełni poznane i stanowią cel intensywnych badań prowadzonych przez nasz zespół łączący zarówno specjalistów z botaniki, biofizyki jak

i fizyki. Wykorzystując metody magnetycznego rezonansu jądrowego (MRJ) oraz kalorymetrii różnicowej udało nam się zaobserwować proces przemiany frakcji wody luźno związanej w pleśze porostu do frakcji wody ściśle związanej, niezamarzającej.

Lepsze zrozumienie molekularnych mechanizmów odporności organizmu/tkanki na przemarzanie może mieć w przyszłości ważne zastosowania praktyczne, jak choćby dla zwiększenia czasu przechowywania organów przeznaczonych do przeszczepów.

ANTARCTIC LICHENS – HOW TO SURVIVE IN AN EXTREMELY HOSTILE ENVIRONMENT

Summary

Lichens or the lichenized fungi, perfectly well tolerate the extreme conditions of Antarctic environment. The lichens thanks to special adaptations grow southernmost on Earth. They have been encountered only 300 km from the South Pole, where four lichen species were found. From the maritime Antarctica over 400 species are listed, and they comprise the main component of the tundra, whereas the vascular plants are represented only by the two native species. The lichenization for the fungus is a very effective way to accomplish its supplies of glucose, since about 18% of fungi species undertook such survival strategy. The advantage of fungi over the vascular plants in populating the environments with the extremely difficult climate conditions is due to the fact that the lichens can survive the extreme dehydration and extremely low temperatures. Many species resist cooling down to the tempera-

ture of liquid nitrogen, and even the exposure to the cosmic space. The lichens can uptake the water directly from the snow up to the level sufficient to start the photosynthesis. Molecular mechanisms of the low temperature and drastic dehydration survival are not, until now, fully understood and are the aim of intensive investigations carried out by our research team including specialists from botany, biophysics and physics. Taking advantage of the nuclear magnetic resonance and the differential calorimetry we were able to observe the transformation process of the water fraction loosely bound in the lichen thallus to the water fraction tightly bound, and not freezing. Better understanding of the molecular mechanisms of the organism/tissue resistance can have in the future a practical application, such as the increased time of keeping the organs for transplantations.

LITERATURA

- DEL LA TORRE R., SANCHO L. G., HORNECK G., DE LOS RIOS A., WIERZCHOS J., OLSSON-FRANCIS K., COCKELL CH. S., RETTBERG P., BERGER T., DE VERA J. P., OTT S., FRIAS J. M., MELENDI P. G., LUCAS M. M., REINA M., PINTADO A., DEMETS R. 2010. *Survival of lichens and bacteria exposed to outer space conditions – Results of the Lithopanspermia experiments*. Icarus 208, 735–748.
- HANCOCK R. J., SEPPELT R. D., 1988. *Habitat specificity and morphological variation in two Antarctic Usnea species*. Polarforschung 58, 171–179.
- HARAŃCZYK H., 2003. *On water in extremely dry biological systems*, WUJ, Kraków.
- HARAŃCZYK H., GAŹDZIŃSKI S., OLECH M., 2000. *Freezing protection mechanism in Cladonia mitis as observed by proton magnetic relaxation*. New Asp. Cryptog. Res., Contribution in Honour of Ludger Kappen. Bibl. Lichenol., 75, 265–274.
- HARAŃCZYK H., GRANDJEAN J., OLECH M., 2003a. *Freezing of water bound in lichen thallus as observed by ¹H NMR. I. Freezing of loosely bound water in Cladonia mitis at different hydration levels*. Colloids Surfaces B 28, 239–249.
- HARAŃCZYK H., GRANDJEAN J., OLECH M., MICHALIK M., 2003b. *Freezing of water bound in lichen thallus as observed by ¹H NMR. II. Freezing protection mechanisms in a Cosmopolitan lichen Cladonia mitis and in Antarctic lichen species at different hydration levels*. Colloids & Surfaces, B: Biointerfaces 28, 251–260.
- HARAŃCZYK H., PIETRZYK A., LEJA A., OLECH M. A., 2006. *Bound water structure on the surfaces of Usnea antarctica as observed by NMR and sorption isotherm*. Acta Phys. Polonica A109, 411–416.
- HARAŃCZYK H., BACIOR M., OLECH M. A., 2008. *Deep dehydration of Umbilicaria aprina thalli observed by proton NMR and sorption isotherm*. Antarctic Sci. 20, 527–535.
- HARAŃCZYK H., BACIOR M., JASTRZEBSKA P., OLECH M. A., 2009. *Deep dehydration of Antarctic lichen Leptogium puberulum Hue observed by NMR and sorption isotherm*. Acta Phys. Polon. A115, 516–520.
- HARAŃCZYK H., PATER Ł., NOWAK P., BACIOR M., OLECH M. A., 2012a. *Initial phases of Antarctic Ramalina terebrata Hook f. & Taylor thalli rehydration observed by proton relaxometry*. Acta Phys. Polon. 121, 478–482.
- HARAŃCZYK H., NOWAK P., BACIOR M., LISOWSKA M., MARZEC M., FLOREK M., OLECH M. A., 2012b. *Bound water freezing in Umbilicaria aprina from continental Antarctica*. Antarctic Sci. 24, 342–352.
- KALLIO P., HEINONEN S., 1971. *Influence of short-term low temperature on net photosynthesis in some subarctic lichens*. Reports on Kevo Subarctic Research Station 8, 63–72.
- KAPPEN L., 1989. *Field measurements of carbon dioxide exchange of the Antarctic lichen Usnea*

- sphacelata* in the frozen state. *Antarctic Science* 1, 31-34.
- KAPPEN L., 1993. *Plant activity under snow and ice, with particular reference to lichens*. *Arctic* 46, 297-302.
- KAPPEN L., BREUER M., 1991. *Ecological and physiological investigations in continental Antarctic cryptogams. II. Moisture relations and photosynthesis of lichens near Casey Station, Wilkes Land*. *Antarctic Sci.* 3, 273-278.
- KAPPEN L., BÖLTER M., KÜHN A., 1987. *Photosynthetic activity of lichens in natural habitats in the maritime Antarctic. Progress and Problems in Lichenology in the Eighties*. *Bibl. Lichenol.* 25, 297-312.
- KAPPEN L., BREUER M., BÖLTER M., 1991. *Ecological and physiological investigations in continental Antarctic cryptogams. III. Photosynthetic production of Usnea sphacelata: Diurnal courses, models, and the effect of photoinhibition*. *Polar Biol.* 11, 393-401.
- KAPPEN L., SOMMERKORN M., SCHROETER B., 1995. *Carbon acquisition and water relations of lichens in polar regions – potentials and limitations*. *Lichenologist* 27, 531-545.
- KAPPEN L., SCHROETER B., SCHEIDEGGER C., SOMMERKORN M., HESTMARK G., 1996. *Cold resistance and metabolic activity of lichens below 0°C*. *Adv. Space Res.* 18, 119-128.
- KIEFT T. L., 1988. *Ice nucleation activity in lichens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 1678-1681
- KIEFT T. L., AHMADJIAN V., 1989. *Biological ice nucleation activity in lichen mycobionts and photobionts*. *Lichenologist* 21, 355-362.
- KIEFT T. L., RUSCETTI T., 1990. *Characterization of biological ice nuclei from a lichen*. *J. Bacteriol.* 172, 3519-3523.
- KIMBALL S. L., SALISBURY F. B., 1974. *Plant development under snow*. *Bot. Gazette* 135, 147-149.
- KUKAL O., 1991. *Behavioral and physiological adaptations to cold in a freeze tolerant Arctic insect*. [W:] *Insects at low temperatures*. LEE R. E., DENLINGER D. L. (red.). Chapman and Hall, London, 276-300.
- LANGE O. L., 1965. *Der CO₂ Gaswechsel von Flechten bei tiefen Temperaturen*. *Planta* 64, 1-19.
- LARSON D. W., 1978. *Patterns of lichen photosynthesis and respiration following prolonged frozen storage*. *Canad. J. Bot.* 56, 2119-2123.
- LINDOW S. E., 1983. *The role of bacterial ice nucleation in frost injury to plants*. *Ann. Rev. Phytopathol.* 21, 363-384.
- PHELPS P., GIDDINGS T. H., PROCHODA M., FALL R., 1986. *Release of cell-free ice nuclei by Erwinia herbicola*. *J. Bacteriol.* 167, 496-502.
- SALISBURY F. B., KIMBALL S. L., BENNETT B., ROSEN P., WEIDNER M., 1973. *Active plant growth at freezing temperatures*. *Space Life Sci.* 4, 124-138.
- SCHROETER B., GREEN T. G. A., KAPPEN L., SEPELT R. D., 1994. *Carbon dioxide exchange at subzero temperatures. Field measurements on Umbilicaria aprina in Antarctica*. *Crypt. Bot.* 4, 233-241.
- SCHROETER B., SCHEIDEGGER CH., 1995. *Water relations in lichens at subzero temperatures: structural changes and carbon dioxide exchange in the lichen Umbilicaria aprina from continental Antarctica*. *New Phytol.* 131, 273-285.
- STAUFFER D., AHARONY A., 1991. *Introduction to percolation theory*. Taylor & Francis, London, Washington DC.
- TIESZEN L. L., LEWIS M. C., MILLER P. C., MAYO J., CHAPIN III F.S., OECHEL W., 1981. *An analysis of processes of primary production in tundra growth forms*. [W:] *Tundra ecosystems: A comparative analysis*. BLISS L. C., HEAL O. W., MOORE I. J. (red.). Cambridge University Press, Cambridge, 285-356.
- VALLADARES F., SANCHO L. G., ASACASO C., 1998. *Water storage in the lichen family Umbilicariaceae*. *Bot. Acta* 111, 99-107.
- WORLAND M. R., BLOCK W., OLDALE H., 1996. *Ice nucleation activity in biological materials with examples from antarctic plants*. *Cryo-Letters* 17, 31-38.
- WORLAND M. R., BLOCK W., ROTHERY P., 1993. *Ice nucleation studies of two beetles from sub-antarctic South Georgia*. *Polar Biol.* 13, 105-112.