

ZOFIA STARCK

*Katedra Fizjologii Roślin  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
Nowoursynowska 159, 02-779 Warszawa  
E-mail: zstarck@gmail.com*

## FIZJOLOGIA ROŚLIN: JAK BYŁO WCZORAJ, JAK JEST DZIŚ, A CO PRZYNIESIE JUTRO?

### WPROWADZENIE

Przy tak szeroko zakrojonej problematyce określonej w tytule, nie sposób jest przedstawić całościowo fizjologię roślin w ujęciu historycznym, uwzględniając również perspektywę jej dalszego rozwoju. Fizjolog roślin w chwili obecnej znajduje się pod presją zalewu informacji, prezentowanych w ogromnej liczbie publikacji. Świadczą o tym nie tylko nowo pojawiające się czasopisma na temat biologii roślin, lecz również wzrastająca ich objętość. Dlatego w niniejszym opracowaniu przedstawiono jedynie najważniejsze, lecz subiektywnie wybrane zagadnienia, charakteryzujące problematykę i osiągnięcia poszczególnych etapów rozwoju tej dyscypliny.

Fizjologia roślin jest nauką opisującą procesy życiowe. Zgodnie z definicją MARRE (1991), jest to dyscyplina dotycząca dynamicznych badań organizmów roślinnych, najbardziej złożonych systemów we wszechświecie. Jej celem jest nie tylko opis, ale również wyjaśnienie istoty i mechanizmów przebiegu procesów życiowych oraz ich integracji. Bardziej filozoficznie definicję fizjologii roślin przedstawił STEWARD (1971) w swoim autobiograficznym podsumowaniu pracy, jako fizjologa roślin. Jest to długotrwała podróż, zmierzająca do pełnego zrozumienia wszystkich aspektów życia roślin. Jako uzupełnienie tych definicji należy dodać, że życie to stan dynamiczny organizmów, przejawiający się ich zdolnością do odżywiania się, rozmnażania, odtwarzania określonych struktur, reagowania na bodźce, wykonywa-

nia swoistych ruchów i przystosowania do zmian w otoczeniu.

W czasie ontogenezy zachodzi współdziałanie pomiędzy procesami na różnych poziomach organizacji, od komórki do całego organizmu. Wzrost i rozwój roślin to procesy synchronizowane przez liczne czynniki, regulatory, które kontrolują ekspresję specyficznych genów, jako wynik reakcji na zmienne warunki, generujące endogenne i egzogenne sygnały (PIN i NILSSON 2012). Pełny obraz funkcjonowania organizmu uzyskuje się dopiero po zintegrowaniu mechanizmów współdziałania poszczególnych procesów na wszystkich poziomach organizacji, czyli w ujęciu holistycznym. Tę myśl finezyjnie przedstawili w tytule swojej pracy GRANIER i TARDIEU (2009): „Całość jest większa od sumy części”. Genetyka, biochemia i biologia molekularna również dotyczą badań różnych aspektów życia, ale nie na poziomie holistycznym. Stąd, nie tylko trudno jest określić granicę pomiędzy tymi dyscyplinami, ale dyskusyjna jest celowość takiego podziału. Dlatego zasadnym wydaje się coraz częściej stosowanie zamiast terminu Fizjologia Roślin terminu Biologia Roślin, łączącego wyżej wymienione dyscypliny. Znalazło to wyraz w zmianie tytułów kilku czasopism: zamiast *Annual Review of Plant Physiology* na *Annual Review of Plant Biology*; inne czasopisma zmieniły swą nazwę, np. *Functional of Plant Physiology* na *Functional of Plant Biology*. Zamiast *Federation of European Soci-*

eties of Plant Physiology (FESPP) zmieniono nazwę na Federation of European Societies of Plant Biology (FESPB).

Poszukiwanie wyjaśnienia podstawowych mechanizmów funkcjonowania organizmu roślinnego spowodowało konieczność prowadzenia badań również na poziomie molekularnym. Biologia roślin oparta jest na podstawowych wiadomościach z genetyki, biochemii oraz botaniki wyjaśniającej strukturę roślin. Dynamiczny rozwój technik badawczych, które zostały zaadaptowane przez biologów pozwolił na skokowy rozwój biologii, szczególnie na poziomie molekularnym, w wielu przypadkach kosztem badań w aspekcie holistycznym. Stąd zrodziło się zaniepokojenie, a nawet protest fizjologów roślin, z trudem otrzymujących finanse na badania. Przejawiło się to z ogromnym nasileniem po kongresie FESPP we Florencji w 1996 r. Prezentowano tam bowiem prawie wyłącznie badania z zakresu biochemii i biologii molekularnej. Na szczęście niebezpieczna dominacja biologii molekularnej nad dyscyplinami zajmującymi się fizjologią organizmu roślinnego jest już za nami. Obecnie kluczowe osiągnięcia na poziomie genetycznym, biochemicznym i molekularnym są integrowane z badaniami biologii prowadzonymi na poziomie organizmalnym. Ogromny postęp obserwowany w ostatnich latach jest wynikiem osiągnięć w naukach teoretycznych: chemii i fizyce, oraz wykorzystaniem wniosków z ba-

dań wykonanych w poprzednich okresach, przy zastosowaniu mniej precyzyjnej aparatury. Stąd pogląd Huxleya, przewidującego ewolucyjne zmiany w biologii, gdy fizycy i chemicy pomogą biologom „poznać molekularną strukturę tkanek” (STRYER 1999). Rozwój technik badawczych przybliżył takie możliwości. Obserwowana integracja nauk genetyki, biochemii i fizjologii roślin powoduje ogromnie rozbudowaną wiedzę biologii roślin, nie do opanowania przez jednego naukowca. Dlatego ukazujące się w ostatnich latach publikacje mają kilku, a niekiedy nawet kilkunastu autorów różnych specjalności; nazwisko autora integrującego prezentowane wyniki umieszczane jest najczęściej na końcowej pozycji autorów.

Rozwój fizjologii roślin na przełomie XIX i XX w., nazywany „złotym wiekiem biologii”, odbywał się nie w skali linearnej, lecz logarytmicznej. Wynika to między innymi z konieczności wzrostu produkcji żywności, mającej na celu wyżywienie w połowie bieżącego wieku około 9 miliardów ludności. Jest to obowiązek społeczeństw, jaki spoczywa między innymi na biologach i rolnikach. Rozważane są możliwości wzrostu produktywności fotosyntezy i ewentualnie wykorzystanie samych chloroplastów lub fotosystemów do konwersji energii świetlnej w energię chemiczną. Są to zadania nazywane obecnie „obowiązkami biologów naszej planety”.

#### KARTKI Z KALENDARZA FIZJOLOGII ROŚLIN

W rozważaniach dotyczących oceny postępu wiedzy w fizjologii roślin KRAMER (1973) podkreślił, po 40-letnich badaniach, że nie można zrozumieć obecnego stanu wiedzy bez znajomości historii jej rozwoju. Podobną myśl przekazał LEVITT (1990) tytułując swoją pracę „Back to the future,” czyli w tłumaczeniu i rozwinięciu: wróćmy do osiągnięć minionych czasów dla pożytku w przyszłości. Myśli te uzasadniają celowość przedstawienia migawek z historii powstawania fizjologii roślin (Tabela 1). W publikacjach opisujących wyniki badań wykonanych przed laty znajduje się skarbnica twórczych myśli i hipotez naukowców, którzy mimo niesłychanie prymitywnych warunków i narzędzi wykonywali głęboko przemyślane eksperymenty. Niektóre wnioski świadczą o geniuszu ludzkiego umysłu. W innych przypadkach wnioski nie są prawdziwe, ale często wynika

to z braku wiedzy z innych działów nauki, np. chemii czy fizyki. A oto klasyczny przykład. Van Helmont (1577-1644) próbował wyjaśnić z czego roślina buduje swoje ciało, czyli czym się odżywia? W tym celu przez 5 lat obserwował wzrost gałązki wierzby, która przy zakładaniu doświadczenia ważyła 5 funtów. Sadzonka po posadzeniu w donicy ukorzeniła się. Ziemia była dokładnie zważona. Drzewo starannie podlewano wodą deszczową. Po tym czasie wierzba wytworzyła masę wynoszącą prawie 170 funtów, tymczasem masa gleby zmniejszyła się tylko o 2 uncje. Van Helmont z tego prawidłowo założonego, pracochłonnego doświadczenia wyciągnął, jego zdaniem, jednoznaczny wniosek – ciało wierzby powstało z wody. W tym okresie nikomu nie przyszło na myśl, że powietrze zawiera „pokarm” dla roślin, którym jest dwutlenek węgla.

Następny przykład prezentuje sposób uzyskania fundamentalnych informacji z przemyślanego doświadczenia. Dotyczy to badań wykonanych 300 lat temu przez angielskiego duchownego Halesa (1677–1761). Był on jednym z pionierów fizjologii roślin; po raz pierwszy opisał transport wody w drewnie pędu gruszy. Już wtedy określił on współdziałanie siły zlokalizowanej w liściach (siła od góry), wyciągającej wodę z korzeni oraz siły w korzeniach, ułatwiającej transport wody do wierzchołkowej części drzewa, czyli od dołu. W tym doświadczeniu wykazano siłę ssącą ulistnionej rośliny.

Jako dowód, że nie tylko dziś postęp w biologii był uzależniony od odkryć w chemii, Lavoisier w 1777 r. wyjaśnił zjawisko spalania, porównując go z oddychaniem u zwierząt. Priestley (1733–1804) wykazał jednak, że rośliny, odwrotnie jak zwierzęta, oczyszczają powietrze, gdyż wydzielają tlen. Jego doświadczenia nie w każdych jednak warunkach pozwalały na wyciągnięcie takiego wniosku. Dopiero Ingen Housz (1730–1799) stwierdził, że rośliny wydzielają tlen, czyli „oczyszczają” powietrze tylko na świetle, a w ciemności wydzielają dwutlenek węgla, podobnie jak zwierzęta. Te wyniki prowadziły do wyjaśnienia, na czym polega odżywianie roślin – asymilacja

dwutlenku węgla zachodzi na świetle [badania Senebier (1742–1809)]. De Soussure (1767–1767) stwierdził, że rośliny asymilują dwutlenek węgla, który stanowi źródło związków węglowych; w tym procesie bierze również udział woda. W następnym okresie badania nad przebiegiem fotosyntezy i oddychaniem stanowiły główny punkt zainteresowań biologów roślin. Niemiecki biolog Sachs (1832–1897) udowodnił, że w chloroplastach powstaje skrobia tylko na świetle. Zdaniem Sachsa jest to pierwszy „dostrzegalny” produkt fotosyntezy.

Wiele lat po wyjaśnieniu, jak roślina zdobywa „pokarmy” do budowy biomasy, w centrum zainteresowań znalazł się problem transportu produktów fotosyntezy. Niemiecki badacz MÜNCH (1930) opracował hipotezę masowego przepływu substancji pokarmowych w rurkach sitowych, która do dziś jest zaakceptowana, choć wymaga wprowadzenia szeregu modyfikacji (KNOBLAUCH i PETERS 2010, KNOBLAUCH i OPARKA 2012). Opis mechanizmu transportu floemowego, opracowany ponad 80 lat temu, jest dowodem wielkiej intuicji badawczej jej autora (STARCK 2003, 2008 i tam cytowane prace).

Rozwój fizjologii roślin koreluje nie tylko z postępem w chemii i w fizyce, lecz rów-

Tabela 1. Milowe kroki w rozwoju biologii roślin.

Rok	Autor	Problematyka
1600	van Helmont	Co jest pokarmem dla wzrostu roślin?
1727	Hales	Transport wody w roślinach
1772	Priestley	Rośliny wydzielają z liści tlen do atmosfery
1779	Ingen-Housz	Wydzielanie tlenu z liści zachodzi tylko na świetle
1804	de Saussure	W procesie fotosyntezy oprócz CO <sub>2</sub> bierze udział woda
1862	Sachs	Skrobia w liściach tworzy się jedynie na świetle
1920	Gardnem i Alard	Odkrycie zjawiska fotoperiodyzmu
1929	Lohman	Wykrycie roli ATP
1937	Czajłachjan	Hipoteza hormonu kwitnienia - florigenu
1939	Rubid, Hassid, Kamen	Technika izotopowa w fotosyntezie
1952	Borthwick i Hendricks	Wykrycie fitochromów
1953	Watson i Crick	Poznanie struktury DNA
1954	Arnon	Zjawisko fotoosyntetycznej fosforylacji
1959	Decker i Tio	Fotooddychanie
1961	Calvin	Wiązanie dwutlenku węgla w cyklu C <sub>3</sub>
1961	Jacob i Monod	Model regulacji aktywności genów
1970	Hatch i Slack	Wiązanie dwutlenku węgla w cyklu C <sub>4</sub>
1973	Chang i Boyer	Stworzenie pierwszego transgenicznego organizmu
1985	wielu autorów	Pierwsze próby polowe GMO
1998	Furchgottm, Ignaro, Mudar	Biologiczna rola NO; związek roku
2000	zespół naukowców	Oznaczenie genomu <i>Arabidopsis thaliana</i>
2004	Hershko, Ciechanover, Rosa	Rola ubikwiny w degradacji białek

niez z rozwojem techniki (Tabela 1). Nowe metody badawcze zrewolucjonizowały możliwości pomiarów procesów życiowych, z

których można wyciągać poprawne wnioski, eliminując artefakty.

## REWOLUCJA W BIOLOGII ROŚLIN – ROLA NOWYCH TECHNIK BADAWCZYCH

Podstawowa różnica pomiędzy technikami stosowanymi w XX w. i obecnie polega na możliwości pomiarów różnych procesów nie tylko bezinwazyjnie, ale również w naturalnych warunkach wzrostu roślin. Pomiarów mogą być wykonane w fitotronie, w szklarni lub na polu, w łanie. Nie wyklucza to możliwości zastosowania kontrolowanych warunków. W przypadku pomiaru wymiany gazowej zaprogramowanych może być wiele parametrów: temperatura, natężenie i spektrum światła, stężenie CO<sub>2</sub>, wilgotność powietrza. Pomiarów wykonuje się w bardzo krótkich okresach, w niektórych przypadkach nawet w sekundach. Wyniki są automatycznie notowane i drukowane, niekiedy nawet łącznie z obliczeniami statystycznymi. Tak wielkie ułatwienia oszczędzają czas eks-

perymentatora. Niestety, niekiedy zdarza się, że ta „oszczędność” wysiłku i czasu nie koreluje z koncepcją doświadczeń i interpretacją otrzymanych tabel, pełnych liczb. Obecnie krytycznie ocenia się ograniczenie badań do warunków ściśle kontrolowanych, eliminujących naturalną ich zmienność. Coraz więcej uwagi przywiązuje się do prowadzenia doświadczeń w naturalnym środowisku. Dotyczy to przede wszystkim nie tylko natężenia światła, ale również jego składu spektralnego, zmieniającego się w ciągu dnia. W badaniach hodowlanych odporności rośliny na suszę inna będzie reakcja roślin na deficyt wody przy pozostałych warunkach optymalnych, a inna przy naturalnej zmienności czynników w szklarni lub w polu (ATKINSON i URWIN 2012).

## TECHNIKI MIKROSKOPOWE I FLUORESCENCJA

Najlepsze mikroskopy świetlne dają powiększenia ok. 1000-krotne, co stanowiło niegdyś wielkie osiągnięcie, umożliwiające oglądanie struktur komórkowych o wymiarach 0,2 μm. W latach 1939-1940 skonstruowano mikroskop elektronowy, dający powiększenia do 100 000 razy. Przed nauką otworzyły się nowe możliwości. Korzystanie z tego narzędzia jest jednak metodą inwazyjną. Przygotowanie preparatów roślinnych do obserwacji w mikroskopie elektronowym wymaga ich odwodnienia, co powoduje zmiany w strukturach komórkowych. Mikroskopem pozwalającym na niedestrukcyjne obserwacje żywych komórek i tkanek jest mikroskop konfokalny, laserowy, skaningowy (ang. confocal laser scanning microscopy, CLSM) (KNOBLAUCH i OPARKA 2012; patrz też Kosmos 62/2013 - *Mikroskopia świetlna XXI wieku*). W wielu przypadkach preparat traktuje się substancjami fluoryzującymi, np. białkiem zielonym (ang. green fluorescent protein, GFP). Pozwala to na zobaczenie nie tylko struktur znajdujących się np. w rurkach sitowych, ale nawet przepływu fluoryzującego związku. Pierwsze tego typu badania prowadzili OPARKA i współaut. (1994) obserwując u *Arabidopsis* przemieszczający się przez błony

barwnik, karboksylfluoresceinę. Zastosowanie CLSM i barwników fluorescencyjnych pozwoliło na obserwacje przepływu strumienia w rurkach sitowych przez pory w płytkach sitowych (VAN BEL i współaut. 2002). Powyżej podano przykład wykorzystania zielonego białka, naturalnego związku produkowanego w meduzach. Ułatwia on śledzenie transportu i innych przemian w żywej komórce. W celu bardziej „naturalnego” transportu GFP, transgenicznie modyfikuje się badaną roślinę genem *gfp*. Po jego ekspresji możliwa jest obserwacja transportu GFP, imitującego naturalny związek endogenny. W innych, coraz popularniejszych badaniach wykorzystywane są pomiary fluorescencji chlorofilu. W warunkach naturalnych, tylko część zaabsorbowanej przez chlorofil energii świetlnej roślina wykorzystuje w procesie fotosyntezy. Niewielka część energii jest zamieniana na energię cieplną oraz emitowana w postaci promieniowania czerwonego i dalekiej czerwieni. Jest to fluorescencja chlorofilu. Pomiar fluorescencji przy pomocy różnego rodzaju fluorymetrów jest powszechnie wykorzystywany nie tylko do oceny sprawności fotosystemów, ale również jako swego rodzaju wskaźnik stanu fizjologicznego organizmu

roślinnego. Ponadto, pomiar fluorescencji pozwala na przybliżone określenie zawartości chlorofilu (LICHTENTHALER 1997, KALAJI i ŁOBODA 2009, KALAJI 2011). Wynika to z faktu, że proporcja pomiędzy udziałem energii świetlnej wykorzystywanej w konwersji na energię chemiczną w procesie fotosyntezy a ilością energii wysyłanej w postaci fluorescencji ulega zmianie, np. w niekorzystnych warunkach środowiska. Po oświetleniu zmienia się bowiem przebieg krzywej indukcji fluorescencji. W badaniach fizjologii roślin nieinwazyjny pomiar fluorescencji pozwala na określenie aktywności fotosyntetycznej. Przy badaniu reakcji rośliny na niekorzystne warunki środowiska fluorescencja jest wskaźnikiem reakcji na stres. Ulega ona różnego typu zmianom w zależności od czasu i natężenia stresu. Dotyczy to stresów termicznych, zaburzeń w gospodarce wodnej rośliny i zanieczyszczeń środowiska. Zmiany w roślinach

pod wpływem stresora można wykryć metodą fluorescencji jeszcze przed widocznymi symptomami uszkodzeń (LICHTENTHALER 1997). Uzyskane wyniki nie identyfikują jednak charakteru stresu; mogą natomiast być wykorzystywane jako kryteria selekcji w hodowli roślin. Metoda fluorescencji pozwala ponadto na ocenę ogólnego stanu fizjologicznego roślin (warzyw, owoców, kwiatów) po ich spręćcie (BAKER i ROSENQUIST 2004).

Reasumując, metoda z zastosowaniem fluorescencji jest stosunkowo prosta, szybka i pozwala na wykonanie pomiarów zarówno w różnych warunkach wzrostu roślin: w laboratorium, w uprawach pod osłonami, jak i w warunkach polowych. Obecnie dostępna jest aparatura umożliwiająca pomiar fluorescencji nie tylko w całych liściach, lecz nawet w poszczególnych chloroplastach (KALAJI i ŁOBODA 2009).

#### IZOTOPY – NARZĘDZIE BADAWCZE W BIOLOGII ROŚLIN

W połowie XX w. powszechnie wykorzystywaną techniką w badaniach biologii roślin były izotopy stabilne i radioaktywne. W fizjologii roślin najczęściej wykorzystywane są izotopy radioaktywne:  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{45}\text{Ca}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{28}\text{Mg}$ ,  $^{40}\text{K}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{57}\text{Mn}$ ,  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{72}\text{Zn}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{99}\text{Mo}$ . W badaniach wykorzystywane są również izotopy stabilne np.:  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ . W procesie fotosyntezy znakowano fotoasymilaty. Rośliny asymilowały  $^{14}\text{CO}_2$  lub  $^{11}\text{CO}_2$ , po czym śledzono transport radioaktywnych związków w roślinach, głównie w komórkach miękiszowych i we floemie. Izotopy stanowiły również znacznik w badaniach metabolizmu. Powszechnie wykorzystywano też szereg radioaktywnych makroelementów i mikroele-

mentów do badania mineralnego odżywiania. W ostatnim okresie, w którym opracowano szereg nowych technik, izotopy, jako metody na ogół inwazyjne i kosztowne, są w badaniach znacznie mniej stosowane, ponieważ wymagają drogiej aparatury i laboratoriów z zabezpieczeniami przed wpływem promieni jonizujących, groźnych dla zdrowia. Pierwiastki o dużej aktywności i krótkim okresie połowicznego rozpadu, np.  $^{11}\text{C}$ , są stosowane nieinwazyjnie nawet do kilkakrotnego znakowania tej samej rośliny. Detektorami radioaktywności są różnego typu komory jonizacyjne: liczniki Geigera-Millera, scyntylicyjne i inne.

#### WYKORZYSTANIE TRANSFORMACJI GENETYCZNYCH W BADANIACH FIZJOLOGII ROŚLIN

Inżynieria genetyczna roślin zrodziła się w oparciu o obserwację guzowatości korzeni, choroby drzew i krzewów z rodziny Rosaceae. Bakteria *Agrobacterium tumefaciens*, żyjąca w glebie, atakuje korzenie, wprowadzając do ich genomu fragment plazmidu DNA. Przez lata biologom nie udawało się naśladować tego powszechnie występującego zjawiska – włączenia do genomu rośliny obcego genu. Pierwsze próby wzrostu genetycznie modyfikowanych roślin odnotowano dopiero w 1985 r. (cytowane za LE-

DAKOWICZ 2011) (Tabela 1). W fizjologii roślin nowoczesne badania transformacji genetycznej rozpoczęły się przeszło 15 lat temu. Stanowią one nowe „narzędzie” o szerokim aspekcie zastosowań nie tylko w badaniach funkcji poszczególnych genów, lecz również aplikacyjne. Transformacje genetyczne stanowią teoretyczne podwaliny powszechnie uprawianych roślin genetycznie zmodyfikowanych.

Znane są różne metody wprowadzania do rośliny obcych genów. W niektórych przy-

padkach wykorzystuje się do tego zabiegu *A. tumefaciens*. Odgrywa ona rolę wektora, zawierającego cząsteczkę pozachromosomowego DNA, T-DNA, zwanego plazmidem. Inna metoda polega na „wstrzeliwaniu” do komórek cząstek złota lub wolframu, pokrytych materiałem genetycznym, przy

pomocy narzędzia zwanego armatką. Dotyczy to wprowadzenia obcego genu z innego organizmu lub modyfikacji własnego genomu. W wielu przypadkach tego typu doświadczenia prowadzi się na mutantach, w których wyeliminowana jest badana cecha.

## STOSOWANIE SPEKTROSKOPII I MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO W BIOLOGII ROŚLIN

Jądrowy rezonans magnetyczny jest metodą nieinwazyjną (ang. nuclear magnetic resonance, NMR). Niektóre jądra atomowe (np. wodór) wykazują właściwy sobie magnetyzm. Wirujące, dodatnio naładowane protony, wytwarzają moment magnetyczny. Jądra szeregu ważnych pierwiastków dają sygnały NMR (STRYER 1999) (Tabela 2). Metoda ta jest wykorzystywana w medycynie. W biologii roślin NMR jest stosowany stosunkowo niedawno (STRYER 1999, ROBERTS 2000, BLINGNY i DOUCE 2001). NMR pozwala na poznanie atomowej struktury cząsteczek. W pewnym stopniu uzupełnia krystalografię rentgenowską, umożliwia prześledzenie procesów metabolicznych. Ponadto, pozwala na określenie nie tylko ilości substancji, lecz również dynamiki zmian stężenia związków w czasie ich biochemicznej przemiany. To nowe narzędzie pozwala też określić szybkość przepływu substancji zarówno w ksylemie, jak i we floemie. Przy pomocy NMR wykazano w hypokotylu rącznika (*Ricinus conunis*) niemal stabilną szybkość przepływu substancji pokarmowych w rurkach sitowych w dzień i w nocy, lecz zwiększoną szybkość transportu w ksylemie w ciągu dnia (PEUKE i współaut. 2001).

Tabela 2. Jądra atomów dających sygnał magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) wykorzystywane w badaniach biologicznych.

Jądro	Występowanie w przyrodzie (% wagowe w puli pierwiastka)
<sup>1</sup> H	99,9
<sup>2</sup> H	0,02
<sup>13</sup> C	1,1
<sup>14</sup> N	99,6
<sup>15</sup> N	0,4
<sup>17</sup> O	0,04
<sup>23</sup> Na	100,0
<sup>25</sup> Mg	10,0
<sup>31</sup> P	100,0
<sup>35</sup> Cl	75,4
<sup>39</sup> K	93,1

L. STRYER, *Biochemia*, PWN 1999.

W podsumowaniu, metoda NMR ma duże, potencjalne możliwości badania procesów wzrostu i rozwoju oraz przepływu substancji w roślinach. Ponadto, technika NMR może być pomocna w badaniach charakteru metabolizmu, będącego wynikiem nagłych zmian warunków środowiska w roślinach zmodyfikowanych genetycznie (ROBERTS 2000).

## METODY POMIARÓW ILOŚCIOWYCH HORMONÓW W ROŚLINACH

Do oznaczania hormonów przez wiele lat stosowano metodę testów biologicznych. Jest ona oparta na założeniu, że reakcje biologiczne są proporcjonalne do stężenia hormonu w komórce lub tkance. Obecnie, w świetle najnowszych badań wiadomo, że reakcja roślin na hormon jest uzależniona nie tylko od jego stężenia, lecz również od obecności innych regulatorów procesów, etapu ontogenezy, a nawet warunków, w jakich odbywał się wzrost roślin. Dlatego klasyczne biotesty są obecnie metodą mało przydatną. Inna grupa metod oparta jest na oznacze-

niach chemicznych zawartości hormonu w ekstraktach tkankowych. Często stosowana jest chromatografia lub radiochromatografia. Ostatnio do oznaczenia zawartości hormonów stosuje się immunotesty. Podstawą tej metody jest reakcja organizmu zwierzęcego na określone białko lub małe cząsteczki, jeśli są one przyłączone do makrocząsteczek, zwanych antygenami. Podstawą oznaczeń jest reakcja wiązania przeciwciała z antygenem, czyli z oznaczanym związkiem, np. z ABA. Jako znacznik stosuje się albo radioaktywny izotop albo enzym, który w połączeniu z

substratem daje barwny związek, łatwy do ilościowego oznaczenia metodą absorbancji, na podstawie natężenia barwy. Metoda znana jest pod nazwą ELISA (ang. enzyme linked

immunosorbent assay). Pozwala ona na oznaczenia minimalnych ilości, wynoszących  $10^9$  g świeżej masy tkanki.

## MECHANIZMY REGULACJI PROCESÓW ŻYCIOWYCH ROŚLIN

Początkowo fizjolog szukał odpowiedzi, czy lub jak wpływa badany czynnik na określony proces. Dziś interesuje go, jaki jest mechanizm przebiegu procesów i na czym polegają współdziałania pomiędzy hormonami i innymi regulatorami procesów życiowych, a w konsekwencji, procesami, oraz jak roślina reaguje na ustawicznie zmieniające się czynniki środowiska? Jak reagują rośliny na kilka sygnałów wymagających niekiedy przeciwnych zmian w metabolizmie, a w skrajnych przypadkach, w przebiegu kilku procesów? Innymi słowy, fizjolog szuka obecnie odpowiedzi, jaki jest mechanizm regulacji procesów i kontroli optymalnego ich przebiegu. Tu od razu nasuwa się wątpliwość, co oznacza optymalny przebieg procesów? Na tak postawione pytanie inną odpowiedź poda ekolog, fizjolog, a jeszcze inną rolnik, którego celem jest otrzymanie maksymalnego plonu o dobrej jakości. Z punktu widzenia fi-

zjologa, ekstremalny rozrost kwiatu kalafiora czy ogonków liściowych selera naciowego i rabarbaru można drastycznie nazwać antropopresją lub łagodniej określając, wynaturzeniem struktury rośliny. A jednak roślina „zaakceptowała” takie zmiany, narzucone przez hodowcę.

Mając na uwadze powyżej przykładowo przytoczone pytania, można zrozumieć, że obecne badania dotyczą sposobów przekazywania informacji pomiędzy strukturami na wszystkich poziomach organizacji życia rośliny, a szczególnie regulacji ekspresji genów oraz reakcji na niekorzystne warunki środowiska i odporności na stresy.

Większą niż poprzednio uwagę przywiązuje się do czynników, które hamują reakcje lub procesy, np. zakwitanie, syntezę lub transport hormonów, stymulują rozkład substancji niekorzystnych dla rośliny, bądź umożliwiają ekspresję niektórych genów.

## FUNKCJA SYGNAŁÓW W MECHANIZMACH REGULACJI PROCESÓW ŻYCIOWYCH

Warunkiem prawidłowej realizacji procesów życiowych jest odbiór informacji endogennej (wewnętrznej) lub pochodzącej ze środowiska (informacja zewnętrzna). W obu przypadkach są one odbierane przez bardzo liczne związki, pełniące funkcje sygnałowe. Rozróżniane są sygnały bliskiego zasięgu: np. NO, niektóre hormony, lub dalekiego zasięgu: sygnały elektryczne, kwasy rybonukleinowe: miRNA (małe RNA) i siRNA (małe, interferujące RNA), cukry i wiele innych związków. Przemieszczane są one najczęściej przez floem, rzadziej przez ksylem. Funkcję sygnałów jako wtórnych przekazników odgrywają też inne regulatory, np. kwas salicylowy. Czynniki sygnałowymi wewnątrzkomórkowymi mogą być czynniki transkrypcyjne. Warunkiem odbioru sygnału jest połączenie cząsteczki sygnałowej z receptorem. Substancje sygnałowe, w tym hormony, mają trudne zadanie, polegające na odnalezieniu, rozpoznaniu i selektywnym, ale odwracalnym, przyłączeniu się do specy-

ficznego receptora. Lokalizacja receptorów w różnych strukturach komórkowych wpływa na ich kompetencję w stosunku do substancji sygnałowej. Rozmieszczenie receptorów w komórkach jest różne. Mogą to być receptory błonowe lub wewnątrzkomórkowe. Fitochromy i kryptochromy są specyficznymi receptorami białkowymi, absorbującymi promienie świetlne.

Funkcja sygnałów elektrycznych u roślin do dziś jest stosunkowo mało wyjaśniona. Pod koniec XIX w. po raz pierwszy stwierdzono powstawanie u roślin tak zwanego potencjału czynnościowego (ang. action potential, AP) (patrz FROMM i AUTNER 2007). Sygnał elektryczny u mimozy jest zbliżony do analogicznego zjawiska zachodzącego w neuronach. Obecne badania wykazały, że wszystkie rośliny posługują się sygnałami elektrycznymi, wpływającymi na różne procesy. Po zranieniu rośliny pojawia się potencjał zmienny (ang. variation potential, VP). Transmisja AP przebiega przez kanały jonowe,

głównie wapniowe, zlokalizowane w żyłkach liści. Oba typy potencjałów elektrycznych przemieszczają się na małe odległości przez plasmodesmy, a następnie są transportowane do kompleksu komórki towarzyszące-rurki sitowe. Transport tego typu sygnałów odbywa się również przez ksylem z szybkością kilku mm s<sup>-1</sup>, czyli znacznie przewyższającą przesyłanie sygnałów natury chemicznej. Zarówno AP, jak i VP pełnią funkcję przekazu sygnału na duże odległości, informując o konieczności szybkich reakcji, np. na zranienie, atak patogenów lub nieoczekiwane zmiany warunków w środowisku, np. stres deficytu wody lub pojawienie się w atmosferze toksycznych substancji. Konieczne są wówczas szybkie reakcje: zamykanie szparek, regulacja ustawienia lub ruchu liści, obserwowana np. u mimozy, oraz wzrost intensywności

oddychania na skutek zwiększonego zapotrzebowania energetycznego na ATP. W wielu przypadkach następują zmiany we właściwościach, a nawet w składzie chemicznym błon. Z badań FILEK (1997) wynika, że stres termiczny działając nawet tylko na część rośliny, powodował zmiany fal elektrycznych, rejestrowanych w odległych tkankach. Modyfikacja właściwości fizyko-chemicznych błon w organach nie traktowanych niską temperaturą może więc świadczyć o udziale zjawisk elektrycznych w przekazywaniu sygnału do odległych organów. Przypuszczalnie, transmisja potencjału czynnościowego jest pierwszym sygnałem informującym o stresie chłodu. Opisane badania prowadzą do wniosków o kluczowej roli zjawisk elektrycznych w roślinach, polegającej na specyficznym charakterze przekazywania informacji (FILEK 1997).

#### FUNKCJA HORMONÓW – STARE WYNIKI W NOWEJ INTERPRETACJI

Sygnalizacja hormonalna odgrywa kluczową rolę w życiu roślin. Hormony wpływają nie tylko na wzrost i rozwój, jak sądzono jeszcze na początku ubiegłego stulecia. Obecnie nie ma wątpliwości, że regulują wszystkie procesy na różnych poziomach organizacji, począwszy od ekspresji genów, a skończywszy na koordynacji procesów prowadzących do programowanej śmierci organizmu (LEWAK 2012). Obecnie uwagę biologów roślin przykuwa stosunkowo nowo poznana funkcja auksyn, szczególnie ich udział w sygnalizacji (QUINT i GRAY 2006) oraz w regulacji ekspresji genów. To zjawisko nazywane jest bezpośrednią lub pierwotną reakcją na auksynę. Odmienna jest funkcja auksyn, przy ich zwiększonym stężeniu w korzeniach, w porównaniu z analogicznymi zmianami w pędzie czy organach generatywnych. Przedmiotem badań są obecnie nie tylko geny, których ekspresja jest indukowana przez auksyny, ale również funkcje kodowanych przez nie białek. Uczestniczą one w procesie wydłużeniowego korzeni i hypokotyli, w fotomorfogenezie oraz w reakcji na stresy biotyczne i abiotyczne (OSTROWSKI i JAKUBOWSKA 2010). Ponadto, nowe spojrzenie na rolę hormonów wynika z ich wielorakiej, czyli plejotropowej funkcji. Każdy hormon wpływa na różne procesy, a w konsekwencji, każdy proces jest regulowany przez kilka hormonów. Ponadto, funkcja określonego hormonu jest modyfikowana nie tylko przez inne hormony, ale również przez różne substancje i

jony. Jako przykład reakcja roślin na auksyny uzależniona jest nie tylko (a może nawet – nie tyle) od stężenia, ale raczej od obecności innych hormonów, etapu ontogenezy i zmieniających się czynników środowiska. Podstawowym warunkiem pełnego zrozumienia mechanizmów działania hormonów są obecnie próby wyjaśnienia współdziałania pomiędzy nimi (ang. cross-talk) i innymi związkami modyfikującymi ich funkcje, np. przez reaktywne formy tlenu (ROS) i reaktywne formy azotu (RNS), do których należy tlenek azotu (NO). Auksyny regulują inicjację organów, natomiast cytokininy – transport auksyn. Z kolei auksyny hamują biosyntezę brasinosteroidów (BR), zaliczanych obecnie do fitohormonów. Auksyny i cytokininy w wielu przypadkach powodują przeciwstawne reakcje rośliny, co nazwano antagonistycznymi interakcjami. Niekiedy cytokininy znoszą nawet sygnalizację, przekazywaną przez auksyny (PERILLI i współaut. 2010 oraz tam cytowane prace).

Gibereliny (GA) są najliczniejszą grupą hormonów; jest ich ponad 130, ale fizjologiczną aktywność, według wielu autorów, posiada zaledwie kilka: GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> i GA<sub>6</sub>, GA<sub>7</sub>, GA<sub>19</sub>. Funkcja pozostałych GA nie jest dokładnie poznana. Są one prekursorami albo produktami katabolizmu GA (MARCINIAK i współaut. 2012a oraz tam cytowane prace). Gibereliny uczestniczą w regulacji bardzo różnych procesów: wzrostu elongacyjnego, kiełkowania nasion, regulacji procesu kwit-



nienia i wielu innych. Głównym, swoistym modulatorem w przekazywaniu sygnałów giberelinowych jest białko DELLA; może ono pełnić funkcję nie tylko represora, lecz również aktywatora genów w reakcjach uczestniczących w szlaku giberelinowym. Białko DELLA jest obecnie w centrum uwagi biologów jako ważny czynnik w kontroli homeostazy rośliny (ACHARD i GENSHIK 2009, MARCINIAK i współaut. 2012b).

Kwas abscysynowy (ABA) oraz etylen (Et) i kwas jasmonowy (JA) stanowią grupę hormonów, w ogromnym uproszczeniu określaną niegdyś jako inhibitory wzrostu. Poznane obecnie ich bardzo różnorodne funkcje dotyczą wielu procesów, wśród których dominuje przystosowanie do niekorzystnych warunków środowiska.

Stosunkowo niedawno, po burzliwych dyskusjach, do hormonów zaliczono związki steroidowe, brasinosteroidy. W roślinach wykryto je w 70. latach ubiegłego wieku. Występują w bardzo różnych ilościach, od nanogramów (w organach wegetatywnych), prawie do mikrogramów (w pyłku kwiatowym). BR stymulują podziały komórkowe, różnicowanie tkanek waskularnych, a przede wszystkim, w interakcji z ABA, zwiększają odporność roślin na stresy (TAE-WUK i ZHI-YONG 2010).

Jasmoniany są związkami sygnałowymi; w formie metylowej są substancjami gazowymi. W warunkach zagrożenia informują organizm o konieczności uruchomienia procesów obrony, często kosztem wzrostu. Dotyczy to różnego typu zranień, skutków ataku patogenów lub roślinożerców (WILMOWICZ i współaut. 2012 oraz tam cytowane prace). Następuje wówczas przestawienie produkcji białek i innych związków koniecznych do wzrostu komórek na równie „kosztowną” produkcję białek stresowych i chroniących rośliny przed patogenami (ang. *pathogen related proteins*, PR). Kwas jasmonowy wydaje się być „przełącznikiem” zmian w metabolizmie (FONSECA i współaut. 2009).

Etylen jest substancją gazową o bardzo prostej strukturze chemicznej, ale ma doniosłe funkcje w roślinach. Jest on syntetyzowany praktycznie w każdej tkance. Stosunkowo niedawno poznano kilka jego białkowych receptorów (ETR), zlokalizowanych w siateczce śródplazmatycznej. Ekspresję genów syntezy etylenu regulują hormony, w tym auksyny. Etylen pośredniczy w reakcji roślin na różne stresy. Hormon ten uważany jest za swego rodzaju mediatora pomiędzy in-

formacjami wewnętrznymi i pochodzącymi ze środowiska. Et moduluje wzrost i rozwój roślin w wyniku interakcji z innymi hormonami, metabolitami i sygnałami egzogennymi. Dokładne zrozumienie znaczenia sygnalizacji nadawanej przez etylen na poziomie molekularnym i komórkowym może stanowić nowe narzędzie, zwiększające odporność roślin na niekorzystne i często niespodziewane fluktuacje warunków. W przyszłości może to być wykorzystane w aspekcie wzrostu plonów i poprawy ich jakości (YOO i współaut. 2005).

W nawiązaniu do omówionej konieczności przekazywania sygnałów z dużą szybkością, jak w przypadku sygnałów elektrycznych, należy podkreślić, że hormony i inne regulatory procesów, występujące w formie gazowej, również niemal błyskawicznie przekazują informacje. Sygnały gazowe docierają do oddalonych organów, a nawet do sąsiadujących roślin. Takimi lotnymi właściwościami charakteryzują się, poza etylenem i metylową formą kwasu jasmonowego, tlenek azotu.

Strigolaktyny (SL), pochodne karotenoidów, w ostatnich latach dołączono do listy hormonów (MARZEC i MUSZYŃSKA 2012, SETO i współaut. 2012). SL są syntetyzowane w korzeniach i transportowane do pędu oraz wydzielane do środowiska, regulują wzrost grzybów mikoryzowych (SETO i współaut. 2012). Odgrywają też rolę w regulacji procesów wzrostu i w interakcjach międzyorganowych poprzez współdziałanie z innymi hormonami: ABA i auksyną. ABA jest regulatorem biosyntezy SL. U mutantów z obniżoną zawartością ABA, stwierdzono niższą zawartość strigolaktyn. Mechanizm tego zjawiska czeka jeszcze na wyjaśnienie (LÓPEZ-RAEZ i współaut. 2010). Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że SL hamuje wzrost pączków kątowych oraz transport auksyn, wpływając na jej białkowy transporter, PIN (DURBAK i współaut. 2012, MARZEC i MUSZYŃSKA 2012). Tymczasem auksyna stymuluje ekspresję genu warunkującego syntezę SL. Po dekapitacji rośliny, jak wiadomo od dawna, obserwowany jest obniżony poziom auksyn. W konsekwencji powoduje to obniżenie syntezy SL, inhibitora wzrostu pączków. Takie zmiany stymulują wzrost uśpionych pączków kątowych. Z tego wynika, że zbliżyliśmy się do wyjaśnienia mechanizmu dominacji wierzchołkowej. Polega on na regulacji biosyntezy SL, między innymi przez zmiany poziomu auksyny. Dlatego po dekapitacji uruchamiany jest wzrost pączków bocznych, powodując rozkrzewianie się pędu, czyli zmianę pokroju rośliny.

Z podsumowania powyższych rozważań wynika, że interakcja pomiędzy hormonami polega na ich wzajemnym wpływie na: syntezę, transport i indukowane przez hormony szlaki sygnałowe (DURBAK i współaut. 2012).

Kluczowym warunkiem funkcjonowania hormonów jest ich odpowiednia (często specyficzna) lokalizacja w roślinie i regulacja charakteru i aktywności rozwoju rośliny.

#### ROLA TLENKU AZOTU I REAKTYWNYCH FORM TLENU I AZOTU

Tlenek azotu, należący do reaktywnych form azotu (ang. relative nitrogen species, RNS) odgrywa bardzo ważną rolę u wielu organizmów. Dlatego był on nazwany „związkiem 1998 roku”. Obecnie NO jest nadal w centrum uwagi biologów. U człowieka jest transmitterem przekazującym sygnały w reakcjach immunologicznych, w pracy mięśni, serca oraz w regulacji tętniczego ciśnienia krwi.

Tlenek azotu jest gazem, należy do wolnych rodników. Stanowi on substancję sygnałową, przekazującą informacje pomiędzy organami, a co ciekawsze, jak już wspomniano, nawet pomiędzy roślinami. NO pełni skrajnie różne funkcje: ochronną, szczególnie w warunkach stresowych lub cytotoksyczną (GNIAZDOWSKA 2004, ROSALES i współaut. 2011). Stężenie NO podlega ścisłej regulacji w miejscu jego działania, polegającej na kontroli syntezy oraz usuwania NO. Stresy powodują wzrost stężenia NO, zmniejsza on bowiem uszkodzenia spowodowane powstawaniem wolnych rodników (GRZEGORZEWSKA i współaut. 2009). Związek ten stymuluje wiele procesów: kiełkowanie nasion, jest ważnym regulatorem metabolizmu azotowego, wpływa na aktywność reduktazy azotanowej. Dotyczy to szczególnie jego roli w warunkach stresów biotycznych. W interakcji z etylenem i ABA bierze udział w inicjowaniu reakcji obronnej roślin, zaatakowanych przez

mikroorganizmy. Niektórzy biologowie proponują, aby zaliczyć NO do fitohormonów.

Do następnej grupy związków o kluczowej, regulacyjnej funkcji, należą wspomniane już reaktywne formy tlenu. ROS (ang. relative oxygen species) są to, oprócz  $H_2O_2$ , wolne rodniki: anionorodnik ponadtlenkowy, tlen singletowy i rodnik hydroksylowy. Ich produkcja zachodzi w chloroplastach, mitochondriach, peroksyzomach i w ścianie komórkowej. W warunkach nadmiernej ilości ROS powoduje niekorzystne zmiany: utlenianie lipidów, białek, barwników i DNA. W wielu przypadkach prowadzi to do dysfunkcji struktur komórkowych (JASPERS i KANGASJARVI 2010). W sytuacjach skrajnych mogą powstawać nawet mutacje. Jednak ROS to związki groźne, lecz konieczne. Stosunkowo niedawno stwierdzono bowiem ich pozytywne funkcje. Dlatego rośliny dążą do utrzymania równowagi pomiędzy ich powstawaniem a usuwaniem, przez mechanizmy antyoksydacyjne. Pozytywna rola polega na przekazywaniu sygnałów o niekorzystnych warunkach. Uczestniczą one w szeroko pojętej regulacji procesów, współdziałających z fitohormonami. Ponadto, biorą udział w regulacji ekspresji genów w obronie przeciw patogenom oraz skutkom stresów biotycznych i abiotycznych. Pośrednio przekazują informacje o zbyt silnym natężeniu oświetlenia, powodującego fotooksydację.

#### LIGAZY UBIKWITYNOWO-BIAŁKOWE – NOWY SYSTEM SYGNALIZACJI WEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ

Jak już wspomniano, kluczowe cechy mechanizmu działania fitohormonów dotyczą sposobu percepcji emitowanych sygnałów. Postępem w tych badaniach jest poznanie receptorów poszczególnych hormonów i elementów szlaków przekazywania sygnałów. Dotychczas mało było informacji, wyjaśniających mechanizm regulacji poziomu hormonów i czasu trwania ich aktywności.

Istotą działania szlaków sygnalizacyjnych auksyn, giberelin i jasmonianów jest aktywa-

cja ligaz ubikwitynowo-białkowych. W konsekwencji aktywacji odpowiedniej ligazy następuje uruchomienie procesu proteolitycznej degradacji specyficznych białek, uczestniczących w regulacji aktywności genów odpowiednio na te hormony. W ostatnich latach stwierdzono w komórkach obecność precyzyjnie funkcjonującego systemu określającego „programowaną destrukcję białek”, czyli czasu ich półtrwania. Nowym osiągnięciem w fizjologii roślin jest wyjaśnienie ogólnych

zasad mechanizmów degradacji białek w komórce. Białka przeznaczone do rozkładu są przyłączane do ubikwityny i jako kompleks są transportowane do proteasomów. Tam zachodzi degradacja ich trzeciorzędowej struktury. Następnie, proteazy hydrolizują łańcuch białkowy. Uwolnione z białek aminokwasy wykorzystywane są do syntezy innych białek. W komórkach eukariotycznych roślin i zwierząt system ubikwitynowo-proteasomalny (UPS) gra rolę sygnalizacji wewnątrzkomórkowej; jest on odpowiedzialny za degradację białek. Proteolityczny rozkład białek został ostatnio uznany za centralny problem w badaniach biologicznych. W 2004 r. A. Hershko, A. Ciechanower i I. Rose otrzymali

nagrodę Nobla w dziedzinie chemii za pionierskie prace dotyczące ubikwitynacji białek (GRZELAKOWSKA-SZTABERT 2005, NANDI i współaut. 2006, BARTEL i CITOVSKY 2012). O specyficzności UPS decydują ligazy ubikwitynowo-białkowe, których główna funkcja polega na rozpoznawaniu i wiązaniu białkowego substratu przeznaczonego do degradacji i przeniesieniu go na białko znacznikowe, ubikwitynę. Do funkcji UPS należy też regulacja biosyntezy, transportu i percepcji hormonów. Stanowi to bezpośredni mechanizm kontroli wielkości i czasu trwania sygnałów hormonalnych (MARCINIAK i współaut. 2010 oraz tam cytowane prace, KELLEY i ESTELLE 2012).

#### FOTOSYNTENZA, FOTOODDYCHANIE, ODDYCHANIE I TRANSPORT ASYMLATÓW – PROCESY DETERMINUJĄCE PLON

W ostatnich latach kluczowym zagadnieniem w fizjologii roślin, w znaczeniu aplikacyjnym, jest wyjaśnienie, w jaki sposób można zwiększyć produkcję fotosyntetyczną. Jest ona wynikiem asymilacji dwutlenku węgla brutto i strat związków węglowych w procesie oddychania i fotooddychania. Udział strat dwutlenku węgla w wyniku oddychania w ciągu doby wynosi przeciętnie 30-50% zasymilowanego dwutlenku węgla. W bilansie rocznym drzew, mogą one dochodzić nawet do 70%. Intensywny wzrost zarówno organów wegetatywnych, jak i reproduktywnych jest bardzo energochłonny. Wysokie też są koszty energetyczne tak zwanego oddychania bytowego (ang. maintenance), warunkującego utrzymanie homeostazy organizmu: utrzymanie struktur komórkowych, ich odnowa i synteza nowych, reakcje obronne. Energochłonne są też procesy pobierania jonów i ich metabolizmu oraz transport różnego typu związków. Ze względu na funkcję procesu oddychania, w pracach hodowlanych dyskusyjna jest celowość zmniejszenia jego intensywności. Badania mające na celu zwiększenie produktywności fotosyntezy powinny być poprzedzone modelowaniem matematycznym (PIETKIEWICZ i PALA 2002). Ich celem jest między innymi określenie teoretycznie obliczonych maksymalnych wartości poszczególnych reakcji i procesów. Dotyczy to np. aktywności bifunkcjonalnego enzymu Rubisko-karboksylazy i oksygenazy RuBP, w różnych warunkach środowiska. Ważne znaczenie ma również obliczenie maksymalnych wartości współczynnika wykorzystania przez

rośliny energii świetlnej u roślin z typem fotosyntezy  $C_3$  i  $C_4$  oraz minimalnej wielkości strat dwutlenku węgla w procesach oddychania i fotooddychania, niepowodujących jeszcze zaburzeń w przebiegu procesów. Wiąże się to z poznaniem czynników stymulujących i ograniczających powyższe reakcje i procesy (ZHU i współaut. 2004, 2010 oraz tam cytowane prace, SUN i współaut. 2009). Analizując perspektywę wzrostu produkcji fotosyntetycznej roślin  $C_3$  i  $C_4$  należy sprecyzować możliwości ich adaptacji i aklimatyzacji do zmiennych warunków atmosferycznych. Większość poniżej opisanych procesów dotyczy roślin  $C_3$  klimatu umiarkowanego, z przerwą w aktywnej wegetacji w ciągu roku, wynikającą z okresu zimowego. Rośliny  $C_4$  są przystosowane do stosunkowo wysokiego natężenia światła i do wysokiej temperatury. Są one bardzo wrażliwe na ocienienie i chłody. W warunkach optymalnych dla tej grupy roślin charakteryzują się większą intensywnością fotosyntezy, brakiem lub zredukowanym do minimum fotooddychaniem, a w konsekwencji, większą od roślin  $C_3$  produktywnością. Jednak przykładem odmiennych reakcji, czyli zróżnicowania powyżej wymienionych wrażliwości, jest *Miscanthus*, roślina  $C_4$ , która w dużym stopniu przystosowała się do klimatu w Polsce, produkując wysokie plony biomasy. Rośliny trzeciego typu, metabolizmu kwasowego, zwanego w skrócie CAM (ang. crassulacean acid metabolism), zaadaptowały się do klimatu gorącego i suchego. Do perfekcji przystosowane są do oszczędnej gospodarki wodnej. W klimacie umiarkowa-

nym uprawia się je w szklarniach i namiotach foliowych.

Uwzględniając konieczność wzrostu globalnej produkcji fotosyntetycznej, w centrum uwagi biologów roślin są badania oceniające możliwości wzrostu produktywności roślin (MAURINO i WEBER 2013); analizowana jest celowość przenoszenia niektórych genów roślin  $C_4$  do genomu roślin  $C_3$ . Dotyczy to nie tylko fotooddychania, ale również możliwości koncentracji dwutlenku węgla wewnątrz chloroplastów i szeregu zmian anatomicznych liści. Liczne modyfikacje w genomie roślin  $C_3$  wydają się być mało realne. Obiecujące natomiast są próby integracji czynników powodujących wysoką wydajność mechanizmu asymilacji dwutlenku węgla z cyjanobakterii do chloroplastów roślin  $C_3$  poprzez transformację genomową. Jedną z możliwych modyfikacji pszenicy i ryżu na drodze inżynierii genetycznej jest wprowadzenie do ich chloroplastów bardzo wydajnego mechanizmu zagęszczania dwutlenku węgla. Ważne może być przeniesienie transportera dwuwęglanu z cyjanobakterii do chloroplastu rośliny uprawnej. Naśladując strategię roślin transgenicznych można wykorzystać cyjanobakterie do usprawnienia wydajności wykorzystania wody (ang. water use efficiency, WUE) (PRICE i współaut. 2013).

Główne wysiłki, zmierzające do zwiększenia wydajności fotosyntezy, koncentrują się wokół prób zwiększenia aktywności Rubisko jako karboksylazy. W wielu przypadkach liczne próby takich transformacji jądrowych, nie dawały pozytywnych rezultatów. Sukcesem zakończyły się natomiast modyfikacje większych jednostek tego enzymu. W tej serii badań stwierdzono ważną rolę współdziałających białek z aktywną rolą Rubisko. Inne, bioinżynieryjne działania mające na celu wzrost aktywności Rubisko, wymagają modyfikacji syntezy i degradacji inhibitorów tego enzymu (PARRY i współaut. 2013). Różnorodność mechanizmów asymilacji dwutlenku węgla w naturze jest zadziwiająca. U roślin  $C_3$  (tytoniu i selera) stwierdzono, że ogonki liściowe i łodyga, posiadają duże ilości chloroplastów i asymilują dwutlenek węgla z intensywnością podobną do roślin  $C_4$ . Ponadto, u tych gatunków stwierdzono ciemniową asymilację  $CO_2$ , zlokalizowaną w korzeniach. Powstałe związki organiczne przemieszczane są przez ksylem do części nadziemnej (HIBBERD i QUICK 2002). Dużą wagę do tego typu asymilacji dwutlenku węgla przywiązywał KURSANOW (1984); wyniki te zostały jednak zapomniane.

## FOTOODDYCHANIE

Przełomem w poglądach dotyczących wymiany gazowej u roślin było odkrycie fotooddychania przez Deckera w 1959 r. Jest to proces, w wyniku którego roślina wydziela dwutlenek węgla, podobnie jak w procesie oddychania, jednak bez produkcji energii, akumulowanej w ATP (STRZAŁKA 2012). Poglądy na temat roli fotooddychania są do dziś bardzo rozbieżne (SUN i współaut. 2009 oraz tam cytowane prace). Nawet na początku XXI w. niektórzy autorzy traktują ten proces jako rozrzutny, powodujący tylko niekorzystne dla roślin straty  $CO_2$ , wynoszące przeciętnie co najmniej 30% zasymilowanego węgla. Jako argument zbędności tego procesu przytaczane są obserwacje, że u roślin z typem fotosyntezy  $C_4$ , praktycznie nie stwierdza się fotooddychania lub tylko jego śladową intensywność. W innych badaniach, prowadzących do podobnych wniosków wykazano, że mutanty roślin  $C_3$ , u których nie stwierdzano fotooddychania, rozwijały się normalnie. Tego typu poglądy, prowadzą do wniosku o celo-

wości wyeliminowania w hodowli u roślin  $C_3$  procesu fotooddychania lub obniżenia go do minimalnych wartości. Tymczasem ALIYEV (2012), badając różne genotypy pszenicy i soi, uprawiane w warunkach optymalnej architektury łąnu, charakteryzujące się wysoką lub niską produktywnością fotosyntezy, a w konsekwencji różną wielkością plonu, doszedł do odmiennych wniosków. Rośliny z wysoką produktywnością charakteryzowały się również wysoką intensywnością fotooddychania. U genotypów charakteryzujących się mniejszą produktywnością i niższym plonem, oba badane procesy były mniej intensywne. Z tego wynika wniosek, że proces fotooddychania u roślin  $C_3$  pełni ważną funkcję fizjologiczną, nie koniecznie korelującą z niskim plonowaniem roślin; tym niemniej, u tych kontrastowo różnych odmian udział fotooddychania wynosił 28-35% produktów fotosyntezy.

Podsumowując obecne poglądy dotyczące funkcji fotooddychania, nie wydaje się

prawdopodobne, aby proces, który przetrwał ewolucyjne doskonalenie procesów życiowych nie odgrywał ważnej, fizjologicznej funkcji. Do takich wniosków prowadzą liczne badania ostatnich lat. Wielorakość reakcji biochemicznych i ich produktów w procesie fotooddychania nazwano „dyspozytornią metabolitów”. Proces ten dotyczy bowiem bioenergetyki roślin, metabolizmu węgla i azotu oraz oddychania (PETERHANSEN i MAURINO 2011). W komórkach fotosyntetyzujących fotooddychanie jest głównym donorem metabolicznego  $H_2O_2$  (PETERHANSEN i MAURINO

2011), który odgrywa kluczową rolę w homeostazie redoks. Ponadto, fotooddychanie ułatwia reakcje obronne (FOYER i współaut. 2009); jest donorem glutaminy, kwasu gamma-glutarowego, glicyny i seryny, ważnych substratów do syntezy hormonów i białek. W warunkach bardzo intensywnego oświetlenia fotooddychanie likwiduje nadmierną ilość energii, zabezpieczając rośliny przed chroniczną fotoinhibicją (ALIYEV 2012). Ponadto, fotooddychanie uczestniczy w metabolizmie azotu (PETERHANSEN i MAURINO 2011).

#### PERSPEKTYWY ZWIĘKSZENIA PRODUKTYWNOŚCI FOTOSYNTEZY PRZY WZRASTAJĄCYM STĘŻENIU DWUTLENKU WĘGLA W ATMOSFERZE

Stężenie dwutlenku węgla w atmosferze systematycznie wzrasta, co teoretycznie stwarza możliwości zwiększenia intensywności fotosyntezy. Wyniki są jednak niejednoznaczne. Dlatego toczy się kontrowersyjna dyskusja, czy i w jakich warunkach zwiększone stężenie  $CO_2$  w atmosferze stwarza szanse wzrostu intensywności fotosyntezy, a w konsekwencji, wielkości plonu? Podstawowym warunkiem takiej reakcji jest optymalne zaopatrzenie roślin w niezbędne składniki mineralne. Niewątpliwie w warunkach podwyższonego stężenia  $CO_2$  wzrasta aktywność Rubisko jako karboksylazy, przy jednoczesnym obniżeniu jej aktywności jako oksygenazy. Różnice w wykorzystaniu wzrastającego stężenia dwutlenku węgla pomiędzy roślinami  $C_3$  i  $C_4$  stopniowo maleją na skutek obniżonej intensywności fotooddychania u roślin  $C_3$  (ZHU i współaut. 2008). Przy zwiększonym stężeniu  $CO_2$  największy wzrost intensywności fotosyntezy obserwuje się w początkowym okresie. Zwykle po kilku dniach i dłuższym czasie, intensywność fotosyntezy nawet obniża się (BLOOM i współaut. 2010).

Rozważając celowość obniżenia strat węgla w procesach oddychania, należy zaznaczyć, że sama natura stwarza warunki obniżające takie straty. Rośliny  $C_3$ , np. ryż, słonecznik i pszenica, dysponują specyficznym mechanizmem ułatwiającym reasymilację wydzielanego w czasie oddychania i fotooddychania dwutlenku węgla. Polega on na zmniejszeniu dyfuzji tego gazu do atmosfery (BUSCH i współaut. 2013). Blokowane jest wydzielanie dwutlenku węgla do międzykomórkowej przestrzeni powietrznej. W takiej sytuacji  $CO_2$  jest natychmiast reasymilowany. Chloroplasty produkują specyficzne struktury, „pułapki” dla  $CO_2$ , nazwane stromule, w których zlokalizowany jest enzym Rubisko, asymilujący wydzielany dwutlenek węgla. W efekcie reasymilacja tego gazu wydzielanego w procesie fotooddychania wynosi u ryżu i słonecznika około 15%, a u pszenicy nawet ok. 50%. Podobnego typu reasymilację dwutlenku węgla stwierdzono w strąkach grochu intensywnie asymilującego dwutlenek węgla (Nalborczyk dane niepublikowane).

#### WYDAJNOŚĆ ENERGETYCZNA PROCESU FOTOSYNTEZY

Następnym problemem, wymagającym szczegółowych badań są możliwości zwiększenia stosunkowo niskiej konwersji zaabsorbowanej przez chloroplasty energii świetlnej w energię chemiczną, akumulowaną w biomasie. Maksymalna wartość tego współczynnika, przy 380 ppm  $CO_2$  w atmosferze i 30° C wynosi 4,6% u roślin z typem fotosyntezy  $C_3$ , a 6% u roślin  $C_4$  (LONG i

współaut. 2006). Są to wartości określające teoretyczny limit konwersji energii świetlnej w energię zakumulowaną w produktach fotosyntezy (ZHU i współaut. 2008, 2010). W naturalnych warunkach, odbiegających od optymalnych, wartości te są jeszcze niższe. Prawidłowe odżywianie mineralne, szczególnie azotem, umożliwia uzyskanie wydajności konwersji energii świetlnej na nieco wyż-

szym poziomie. Również optymalna architektura łańcucha powoduje wydajniejsze wyko-

rzystywanie energii świetlnej w fotosyntezie (STARCK 2012).

### KONCEPCJA ZBUDOWANIA SZTUCZNEGO LIŚCIA

Naśladowanie unikalnej zdolności liścia do konwersji energii słonecznej w energię chemiczną jest od dawna marzeniem biologów. W ostatnich latach zaczynają się one spełniać. Zbudowanie sztucznego liścia, wykorzystującego energię słoneczną do produkcji wodoru, byłoby milowym krokiem do zażegnania kryzysu energetycznego na świecie. Warto bowiem uświadomić sobie, że Słońce w ciągu jednej godziny emituje na Ziemię więcej energii, niż ludzkość zużywa jej przez cały rok (REGALADO 2010).

Badania biologów zmierzające do skonstruowania sztucznego liścia prowadzone są w USA, Japonii i Szwecji. Projektowana jest konstrukcja z cieniuteńkich nanodrutów krzemowych, absorbujących energię słoneczną (fotony), wykorzystywaną do rozkładu wody i produkcji wodoru, paliwa przyszłości. Ten proces mógłby się odbywać przy udziale

kolektora w obecności elektrolizera, wykorzystującego energię elektronów do rozkładu wody, przy udziale odpowiedniego katalizatora, np. bardzo drogiej platyny. Współdziałanie tych dwóch elementów jest następujące: kolektor zamienia energię słoneczną na elektryczną, a elektrolizer wykorzystuje ją do rozszczepienia wody, powodując produkcję wodoru. Problem utrudniający obecnie wykorzystywanie tego typu sztucznego liścia w praktyce wynika z trudności doboru tanich katalizatorów. Sprawność konwersji energii świetlnej w chemiczną w takim sztucznym liściu wynosiłaby około 7%, czyli niewiele przewyższałaby analogiczną wydajność w liściu roślin  $C_4$  (REGALADO 2010). Niedługo przyszłość pokaże, kiedy świat będzie korzystał z wodoru uzyskanego z rozszczepienia wody, przy udziale energii słonecznej jako paliwa.

### W JAKIM STOPNIU PROCESY FOTOSYNTETY I ODDYCHANIA ORAZ TRANSPORT I DYSTRYBUCJA FOTOASYMILATÓW DETERMINUJĄ PŁON?

Wytwarzanie biomasy jest niewątpliwie skorelowane z globalną produkcją fotosyntetyczną. Należy jednak zaznaczyć, że w wielu przypadkach te zależności nie są poprawnie obliczane. Porównywana jest bowiem nie sumaryczna produkcja całej rośliny, lecz intensywność fotosyntezy netto fragmentu wybranego liścia, który jej nie charakteryzuje. Przy ocenie współzależności pomiędzy fotosyntezą i wielkością plonu biomasy konieczne jest przeprowadzenie bilansu węgla, czyli stosunku wielkości asymilacji dwutlenku węgla i jego strat w wyniku oddychania w ciągu całej doby i fotooddychania, podczas dnia. W tym bilansie niezbędna jest znajomość wielkości strat węgla w procesie całodobowego oddychania organów heterotroficznych.

Przy oznaczaniu sumarycznej asymilacji całej rośliny należy uwzględnić asymilację dwutlenku węgla liści i pozostałych zielonych organów. U zbóż w fazie generatywnej na szczególne podkreślenie zasługuje fakt niejednakowego udziału poszczególnych organów w sumarycznej fotosyntezie. NALBORCZYK i SOWA (2001) przedstawili trzy typy udziału produkcji fotosyntetycznej u zbóż; są

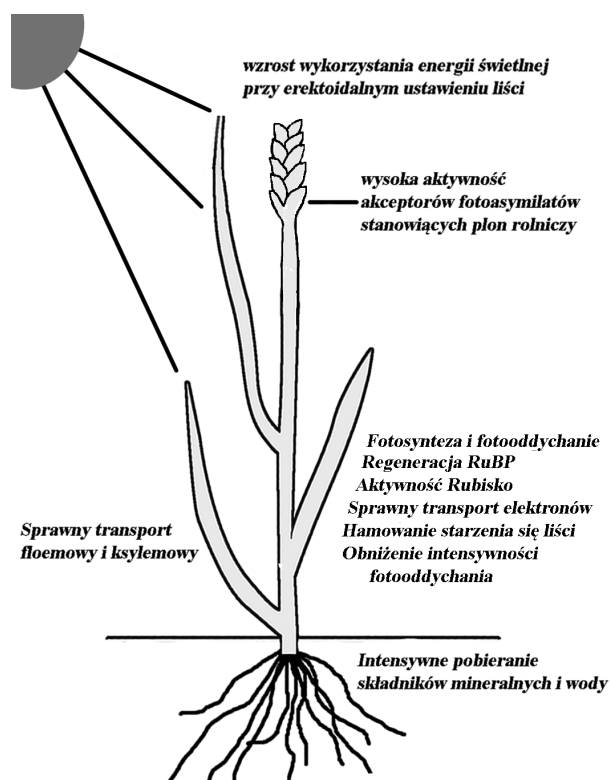
to: typ liściowy, źdźbłowy i liściowo-kłosowy. Pšenica i jęczmień produkują najwięcej fotoasymilatów w liściach, przy stosunkowo małym ich udziale u żyta, u którego ważnym donorem produktów fotosyntezy są pochwy liściowe i źdźbło. Z kolei u owsa dominuje udział fotosyntezy kłosa.

Kluczową rolę w zależności pomiędzy fotosyntezą a wielkością plonu rolniczego odgrywa transport substancji pokarmowych i ich dystrybucja w roślinie (REYNOLDS i współaut. 2009). Sumaryczna produkcja biomasy nie zawsze koreluje z plonem. Zależy on od wielu czynników zakodowanych w genomie, lecz modyfikowanych przez warunki środowiska. Często determinują one stosunek masy organu stanowiącego plon do biomasy całej rośliny. W opinii wielu autorów aktywność akceptorów fotoasymilatów stymuluje produktywność fotosyntezy. Zależności te są jednak złożone i nawet z najnowszych badań wyciągane są rozbieżne wnioski. W warunkach optymalnych dla fotosyntezy wielkość zapotrzebowania akceptorów na fotoasymilaty na ogół nie wpływa lub nieznacznie modyfikuje jej intensywność. Tymczasem w przy-

padku ograniczenia wzrostu z powodu niskiej produkcji fotosyntetycznej (ang. source limiting), czyli gdy zapotrzebowanie na fotosymlaty przewyższa zaopatrzenie, akceptory mogą modyfikować poziom asymilacji dwutlenku węgla (STARCK 2003, 2009). W warunkach naturalnych optymalna dla rośliny dystrybucja zapewnia homeostazę organizmu. Priorytet w zaopatrzeniu wynika bowiem z fizjologicznej funkcji określonego organu, zmiennej w ontogenezie rośliny i w różnych warunkach środowiska. Regulacja poziomu zaopatrzenia poszczególnych organów-akceptorów jest procesem bardzo złożonym. Uczestniczą w nim hormony i inne regulatory procesów, a w wielu przypadkach, również sygnały elektryczne. Kluczową rolę odgrywa tu również sam floem, pełniący funkcję nie tylko tkanki transportującej związki pokarmowe, ale również odgrywającej ważną rolę w koordynacji procesów w roślinie. Dlatego w ostatnim okresie floem nazywany jest „magistralą informacji”, czyli tkanką przekazującą sygnały do całego organizmu. Transport floemowy kontrolowany jest przez precyzyjnie regulowane wnikanie substancji przez plasmodesmy do rurek sitowych, a następnie, przez modyfikowaną w różnych warunkach drożność płytek sitowych. W przeciwieństwie do poglądów MÜNCHA (1930), transportowane przez rurki sitowe substancje nie tylko przepływają bazypetalnie lub akropetalnie, ale mają możliwość przemieszczania się lateralnie w obu kierunkach: do i z tkanek otaczających wiązki sitowe (STARCK 2003, 2008 i tam cytowane prace). O kluczowej funkcji floemu świadczy wielorakość substancji przemieszczanych przez rurki sitowe. Są to, oprócz substancji pokarmowych, hormony, niskocząsteczkowe RNA, makro- i mikroelementy, aminokwasy i białka, a nawet kwasy tłuszczowe. Ostatnie lata dostarczyły dużo dowodów na kluczową funkcję jonów wapnia w fizjologii floemu. W soku rurek sitowych występuje on w bardzo małych ilościach. W wielu przypadkach jon wapnia jest jednak uwalniany z elementów strukturalnych floemu, na przykład w przypadku konieczności zablokowania płytki sitowej. Jon wapnia uczestniczy w transformacji struktury specyficznego białka, forisomu, blokującego te płytki. Po zmianie struktury forisomu pokrywa on powierzchnię płytki sitowej. Następuje wówczas bardzo szybkie hamowanie przepływu soku floemowego (KNOBLAUCH i współaut. 2012). W taki sposób roślina broni się np. przed agresywnymi mszycami, wy-

pijającymi sok z wnętrza rurki sitowej. Tego typu blokada transportu jest obserwowana u roślin bobowatych. U innych gatunków roślin, w pierwszym okresie, podobnego typu blokadę tworzą białka floemowe PP1 i PP2, a następnie pojawia się kaloza. Okazuje się, że u dyni, transportującej do owoców ogromne ilości substancji, występują dwa rodzaje floemu. Rurki sitowe transportujące fotosymlaty i inne związki pokarmowe zlokalizowane są w wiązках sitowo-naczyniowych zlokalizowanych na zewnątrz ksylemu. Po zranieniu rośliny kaloza blokuje przepływ soku. W łodydze występuje jeszcze inna tkanka przewodząca nazywana floemem dodatkowym (lub ekstra), tworzącym anastomozowe, nitkowate struktury, przewodzące bardzo liczne białka, RNA i inne cząsteczki sygnałowe, natomiast tylko znikome ilości cukru. W tych rurkach sitowych nie powstaje kaloza, gdyż muszą one być zawsze drożne. Transportują one związki przekazujące ważne informacje: o konieczności uruchomienia reakcji obronnych, o ataku patogenów, czy o innym rodzaju zranienia (TURGEON i OPARKA 2010).

Reasumując rozważania o możliwych sposobach zwiększenia plonowania roślin, nale-



Ryc. 1. Warunki usprawnienia procesów uczestniczących w produkcji plonu (wg SUN i współaut. 2009, zmieniona).

ży wymienić następujące procesy: modyfikacje asymilacji dwutlenku węgla, oddychanie i transport substancji pokarmowych na duże odległości. Warunki optymalizacji powyżej przedstawionych procesów (SUN i współaut. 2009) zilustrowano na Ryc. 1. Są to:

- zwiększenie absorpcji światła przez chloroplasty;
- wzrost konwersji energii świetlnej w energię chemiczną;

- zwiększenie aktywności akceptorów fotoasymilatów, stanowiących plon rolniczy;
- wzrost aktywności fotosyntezy;
- obniżenie intensywności fotooddychanie;
- usprawnienie pobierania składników mineralnych i wody;
- wzrost odporności na stresy.

#### PRECYZJA FUNKCJONOWANIA ZINTEGROWANEGO ORGANIZMU ROŚLINNEGO NIEPOSIADAJĄCEGO UKŁADU NERWOWEGO

Powyższe rozważania dotyczące funkcjonowania organizmów roślinnych nasuwają podstawowe pytanie, jaki jest mechanizm pozwalający na szybkie i w większości przypadków trafne podejmowanie „decyzji”, czyli reakcji na otrzymywane, często przeciwstawne sygnały, niekiedy informujące o zagrożeniu prawidłowego przebiegu procesów. Taką sytuację określono jako konieczność „zbilansowania ryzyka”, warunku przetrwania jednocześnie pojawiających się kilku stresów.

Czy roślina jest w stanie „zapamiętać” odebraną informację? Wiadomo, że jest ona przystosowana do powtarzających się zmian warunków: ciemność-noc, a następnie światło-dzień. Ewolucyjnie przystosowała się też do zmienności warunków w różnych porach roku. Już późnym latem zaczyna przygotowywać się do zimy. Nasuwa się pytanie, czy są to przejawy „długotrwałej pamięci”, czy dowód na inteligencję rośliny? (STARCK 2011 i prace tam cytowane). W takich rozważaniach należy podać definicję, co to jest inteligencja? Jest to umiejętność trafnego rozwiązywania problemów, nawet w trudnych warunkach. W naszych organizmach „siedzibą” inteligencji jest umysł. Rośliny funkcjonują bez udziału umysłu (ang. mindless mastery) (TREWAVAS 2002). Tego typu problemami zajmuje się nowa dyscyplina – neurobiologia roślin. Autorzy prac dotyczących neurobiologii porównują powyższe zjawiska z mechanizmem działania układu nerwowego. Wiele jest w systemie nerwowym człowieka neurotransmiterów (acetylocholina), efektorów (aktyna) oraz związków regulujących syntezę przekaźników nerwowych (kalmodulina), które funkcjonują również w roślinach (STRYER 1999, FROMM i AUTNER 2007 oraz tam cytowane prace). W ostatnich latach neurobiologia ma coraz więcej zwolenników, jak i przeciwników, niemogących się pogodzić z

określeniem, że rośliny to organizmy obdarzone inteligencją i posiadające pamięć. W odpowiedzi na pytanie, czy zielone rośliny są organizmami inteligentnymi TREWAVAS (2002, 2005, 2006) twierdzi, że zgodnie z definicją, można je za takie uznać. W pracach tego autora zamieszczona jest replika na protesty przeciwników poglądu dotyczącego inteligencji roślin. Obie grupy badaczy poszukują jednak dowodów bezpośrednio potwierdzających powyższy, ale odmienny pogląd. Pośrednio o inteligencji u roślin może świadczyć ogromna precyzja wyboru optymalnej reakcji na odbierane sygnały; brakuje jednak pełnego wyjaśnienia mechanizmu wyboru odpowiedniej „strategii działania”, szczególnie przy jednoczesnym odbiorze przeciwstawnych sygnałów. Dotyczy to na przykład uszeregowania priorytetu w zaopatrzenie akceptorów w fotoasymilaty w warunkach deficytowego poziomu produktów asymilacji dwutlenku węgla. Roślina musi rozprawić się z dylematem, czy ważniejszy jest wówczas rosnący liść czy korzeń (STARCK 2009).

Zagadnieniami inteligencji i pamięci u roślin od szeregu lat zajmuje się zespół Karpińskiego. W ich badaniach wykazano, że rośliny wykształciły finezyjny mechanizm pozwalający na natychmiastową reakcję oraz długotrwałą aklimatyzację do zmieniających się warunków środowiska. Dotyczy to np. ilości i składu spektralnego światła oraz możliwości reakcji na tego typu zmiany nawet po dłuższym czasie. Podkreślono znaczenie nie tylko pamięci dotyczącej aktualnej jakości światła, ale również takiej, którą uprzednio traktowano rośliny. Wykazano również możliwości przekazywania zapamiętanych faktów zarówno pomiędzy strukturami w komórce, jak i pomiędzy różnymi organami, np. liśćmi, które były poddane różnym warunkom oświetlenia.



Reakcje te są przekazywane na zasadzie sygnałów elektrycznych. Ponadto, rośliny zapamiętują okresowe zmiany natężenia światła i wykorzystują te informacje do adaptacji w zmieniających się warunków (KARPIŃSKI i współaut. 1999). Natychmiastową aklimatyzację indukowaną przez światło nazwano komórkową pamięcią światła (ang. cellular light memory). Nadmiar energii wzbudzenia (ang. excess excitation energy, EEE) uważany jest za swego rodzaju stres; jest on natychmiast zapamiętywany. Przy nadmiernej ilości zaabsorbowanej energii świetlnej roślina nie wykorzystuje jej w procesie fotosyntezy, lecz do zwiększenia odporności organizmu na niekorzystne czynniki środowiska. Ponadto, następuje rozpraszanie energii cieplnej oraz zmiana fluorescencji chlorofilu i metabolizmu w stromie chloroplastów. Wysyłane sygnały redoks informują o konieczności aklimatyzacji do zmiennych warunków. Jednogodzinne traktowanie rośliny światłem białym, czerwonym lub niebieskim jest zapamiętywane przez nią co najmniej

przez kilka dni (SZECHYŃSKA-HEBDA 2010, KARPIŃSKI i SZECHYŃSKA-HEBDA 2012).

Niektóre z powyższych przykładów, nazywanych pamięcią, są opisywane w klasycznej fizjologii roślin jako przejaw sprawnej aklimatyzacji czy adaptacji do zmiennych warunków, a w skali długiego czasu – jako wynik zmian w ewolucji.

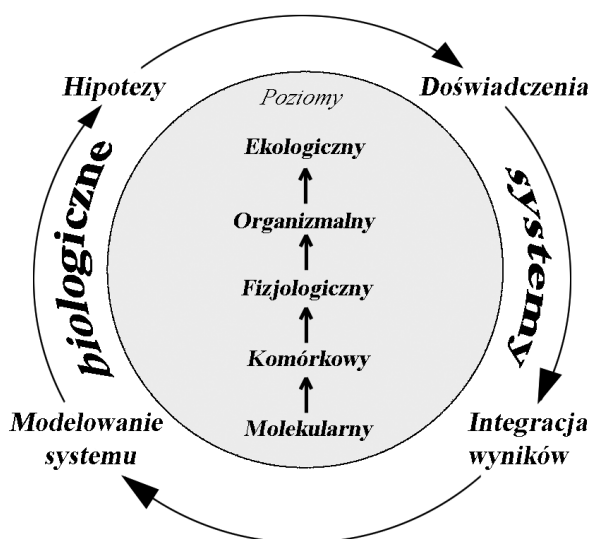
Powyższe rozważania, dotyczące precyzyjnego funkcjonowania organizmu roślinnego nasuwają zasadnicze pytanie. Jeśli roślina potrafi wybierać optymalną reakcję na odebrany sygnał, zachowując homeostazę, jaki jest mechanizm przestawienia organizmu na nową strategię, w przypadku modyfikacji transgenicznych? Często indukowane są nowe cechy, nie zgodne z naturalnymi właściwościami organizmu. Dotyczy to syntezy obcych związków (na przykład insuliny), czy „deformacji” naturalnych kwiatów kalafiora. W jaki sposób roślina w takich okolicznościach utrzymuje homeostazę całego organizmu? Na odpowiedzi trzeba jeszcze poczekać.

#### PERSPEKTYWY ROZWOJU BIOLOGII ROŚLIN W NAJBLIŻSZYM OKRESIE

W tytule niniejszej pracy postawiono pytanie: „co przyniesie jutro?”, na które chyba nikt nie potrafi precyzyjnie odpowiedzieć. Rozwój nauki jest procesem niejednostajnym i dlatego trudno przewidzieć najnowsze osiągnięcia. Są one bowiem nie tylko wynikiem rozwijającej się techniki, nowych metod, ale również, jak to podkreślano, zależą od geniuszu badaczy. Na podstawie analizy rozwoju biologii w pierwszym dziesięcioleciu XXI w., można jedynie przedstawić prawdopodobne perspektywy rozwoju tej złożonej dyscypliny. Takie podejście dominuje w poglądach większości autorów zeszytu Kosmosu z 2000 r., zatytułowanego *Biologia na przełomie wieków*.

Kluczowymi problemami powinny być badania związane z likwidacją globalnych zagrożeń, konieczności wyżywienia wrażliwej liczby mieszkańców naszego globu, deficytu energetycznego i wodnego oraz zanieczyszczenia środowiska. Sugeruje to konieczność kontynuowania, a nawet rozszerzenia badań na powyższe tematy. Dotyczą one: wzrostu produkcji fotosyntetycznej, większego wykorzystania energii słonecznej, ograniczenia chemizacji, w tym środowiska rolniczego, i zwiększenia odporności roślin na stresy.

Niedawno rozpoczęła się era biologii postgenowej. Główne kierunki zainteresowań jak już wspomniano, koncentrują się wokół pytania jak działa cały organizm? Odpowiedzi należy szukać w nowych uogólnieniach, opracowanych na różnych poziomach organizacji. Takie podejście spowodowało konieczność systemowego pojmowania działalności organizmu. Rodzi się obecnie biologia systemów, w tym systemów roślinnych. Biologia systemu organizmu rośliny opiera się na przesłance, że zrozumienie istoty funkcjonowania organizmu nie może opierać się na wyłącznym zbadaniu któregoś z komponentów rośliny, bez uwzględnienia faktu, że jest on zintegrowany w całym organizmie. Dlatego charakterystyczną cechą przejścia od klasycznej biologii do biologii systemów jest analiza zebranych informacji w wieloletnich badaniach struktury i funkcji dynamicznych procesów, oraz ich analiza w oparciu na matematycznych modelach. Najbliższym zadaniem biologii systemów jest zintegrowanie wszystkich, w tym również kontrowersyjnych informacji w zwartą całość. Należy jednak pamiętać, że hipotezy muszą być ciekawe, a fakty prawdziwe. Wyniki badań eksperymentalnych muszą być zgodne z pre-



Ryc. 2. Systemy biologiczne wirtualnej rośliny (wg GUTIÉRREZ i współaut. 2005, zmieniona).

zentowanymi modelami matematycznymi (JOYARD i MCCORMICK 2010). Przy obecnym stopniu zaawansowania biologii podejmowane są próby zintegrowania wiedzy o żywym organizmie roślinnym w poszczególnych dyscyplinach tej nauki. Można będzie wówczas uzyskać holistyczny obraz funkcjonowania systemu roślinnego. Próbę przedstawienia wirtualnego obrazu systemu rośliny ilustruje Ryc. 2 (GUTIÉRREZ i współaut. 2005). Biologia systemów jest dyscypliną zmierzającą do zintegrowania i opisanie naturalnych systemów biologicznych poczynając od sieci komórkowych do grup organizmów (LEGOCKI 2008).

Następnym krokiem w rozwoju biologii roślin XXI w. jest kontynuacja tworzenia organizmów transgenicznych, wykorzystywanych zarówno w produkcji żywności i paszy dla zwierząt, jak również w uzyskiwaniu roślin użytecznych dla celów gospodarczych, dla przemysłu i w innych dziedzinach. Wyniki te, mimo skrajnie różnych opinii społeczeństwa, w najbliższym okresie będą nadal

w centrum uwagi biologów roślin i rolnictwa. Metoda ta może niestety być wykorzystana w różny sposób. Możliwa jest „produkcja organizmów chorobotwórczych”, czyli niesłuchanie groźnej „broni biologicznej”. Obawy, a nawet zagrożenia stwarza również posługiwanie się układami półsyntetycznymi i syntetycznymi genomami. Pojawia się bowiem niepokojące pytanie, czy technologia syntezy genomów nie może być wykorzystana do odtworzenia patogenów (LEGOCKI 2008)? Należy jednak z całą stanowczością podkreślić, że dalszy rozwój nauki jest zależny zarówno od odpowiedzialności, jak i od etyki badaczy. Postęp w biologii stworzył na tyle duże perspektywy, że obecnie podejmowane są wysiłki budowy funkcjonującej komórki z syntetyzowanych w laboratorium, nienaturalnych związków chemicznych. Jest to zadanie nowej dyscypliny Biologii Syntetycznej, z synonimem Bioinżynieria. Ten termin pojawił się po raz pierwszy w latach 70. ubiegłego wieku. Jej zadaniem jest między innymi synteza nienaturalnych, organicznych związków, które miałyby funkcjonować w żywych, ale sztucznych systemach (BENNER i SISMOUR 2005). Celem powyższej dyscypliny nie jest naśladowanie, czy ulepszanie istniejących systemów naturalnych, lecz tworzenie nowych, uproszczonych struktur, wykorzystywanych zarówno w celach poznawczych jak i technologicznych. Nowopowstające, nienaturalne układy biologiczne miałyby z góry zaplanowane cechy użytkowe (LEGOCKI 2008). Wyniki takich badań i możliwość ich wykorzystania pokaże przyszłość.

#### PODZIĘKOWANIE

Serdeczne podziękowania za przejrzenie artykułu, dyskusje na tematy omawiane w pracy oraz za cenne uwagi składam prof. R. Bogatek, prof. St. Pietkiewiczowi, dr. hab. M. H. Kalaji i dr K. Oracz. Dziękuję również za uwagi i sugestie modyfikacji tekstu, przekazane mi w recenzji pracy.

#### FIZJOLOGIA ROŚLIN: JAK BYŁO WCZORAJ, JAK JEST DZIŚ, A CO PRZYNIESIE JUTRO?

##### Streszczenie

Rozwój fizjologii roślin przedstawiono w ujęciu historycznym, prezentując najważniejsze, ale subiektywnie wybrane osiągnięcia. Wynikają one głównie z możliwości wykorzystania nowych technik, pozwalających na prowadzenie badań metodami nieinwazyjnymi. Na przełomie XX i XXI wieku w centrum

uwagi znajdują się próby wyjaśnienia mechanizmów regulacji i koordynacji procesów życiowych na poszczególnych poziomach organizacji: genetycznym, molekularnym, organizmalnym, dających holistyczny obraz funkcjonowania roślin. Wynika on z integracji badań różnych dyscyplin naukowych, składających się

na biologię roślin. Wyjaśniane są zagadnienia przekazywania i odbioru sygnałów. W mechanizmach regulacji procesów życiowych kluczową rolę odgrywają fitohormony z funkcją pleiotropową. Współdziałają one z licznymi regulatorami procesów życiowych, w tym z tlenkiem azotu (NO) i reaktywnymi formami tlenu (ROS). Stwierdzono precyzyjnie funkcjonujący system ligaz ubikwitynowo-białkowych, uczestniczący między innymi w degradacji biologicznie zbędnych, w danym okresie, lub zdenaturowanych białek. Ponadto przedyskutowano badania dotyczące perspektyw wzrostu aktywności i produktywności fotosyntezy. Optymalna dystrybucja fotoasymilatów

i związków sygnałowych, z udziałem ksylemu i floemu, zapewnia zaopatrzenie akceptorów w związki pokarmowe i utrzymanie prawidłowej homeostazy organizmu. Przedyskutowano integrację powyższych procesów w aspekcie wzrostu plonu rolniczego roślin uprawnych. W zakończeniu przedstawiono konieczność badań zwiększenia produkcji żywności, odporności roślin na stresy i likwidacji globalnych zagrożeń, wynikających z zanieczyszczeń środowiska. Jako nowe dyscypliny zasygnalizowano neurobiologię roślin, biologię systemów i biologię syntetyczną.

## PLANT PHYSIOLOGY: YESTERDAY, TODAY AND WHAT WILL BRING TOMORROW?

### Summary

In this paper, the history of plant physiology is shortly reviewed with the main emphasis put on a limited number of subjectively chosen developments connected for the most part with the application of new noninvasive experimental methods. Since the turn of XIX and XX centuries, multidisciplinary studies towards understanding of the mechanisms of regulation and coordination of life processes at various level of organization: genetic, molecular and organismal become dominant allowing for more and more holistic description of plant functioning. The coordination of particular processes as a response to internal and external signals is one of the better understood key problems discussed in this review. In these processes important pleiotropic role is played by phytohormones which cross-talk with one another and cooperate with other regulators like nitrogen monoxide and reactive oxygen species (ROS). Next, a central and new area of research in biology, namely the process of proteins ubiquitination, is the mat-

ter at issue. Targeting of proteins for degradation with the use of ubiquitin proteasome system underlies the mechanism of degradation of denatured or nonfunctional proteins. Another discussed problem is the necessity of global crop improvement connected with an increase in photosynthetic activity and reduction of photorespiration. Special attention is paid to the function of plant phloem and xylem systems in translocation and distribution of products of photosynthesis and nutrients, and a great number of signaling substances. The role of phloem is presented as "superhighway of information". Integration of these processes is discussed in connection with possible improvement of crop yield. The necessity of further studies directed towards increase in plant crop, resistance of plants to environmental stress and suppression of global threats linked to environmental pollution is underlined. Finally, emergence of few new disciplines like plant neurobiology, system biology and synthetic biology is noted.

### LITERATURA

- ACHARD P., GENSHIK P., 2009. *Releasing the brakes of plant growth: how GAs shut down DELLA proteins*. J. Exp. Bot. 60, 1085-1092.
- ALIYEV J. A., 2012. *Photosynthesis, photorespiration and productivity of wheat and soybean genotypes*. Physiol. Plant. 145, 369-383.
- ATKINSON N. J., URWIN P. E., 2012. *The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field*. J. Exp. Bot. 63, 3523-3542.
- BAKER N. R., ROSENQVIST E., 2004. *Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities*. J. Exp. Bot. 55, 1607-1621.
- BARTEL B., CITOVSKY V., 2012. *Focus on ubiquitin in plant biology*. Plant Physiol. 160, 1.
- BENNER S.A., SISMOUR A.M., 2005. *Synthetic biology*. Nat. Rev. Genet., 6, 533-543.
- BLINGNY R., DOUCE R., 2001. *NMR and plant metabolism*. Curr. Opin. Plant Biol., 4, 191-196.
- BLOOM A. J., BURGER M. RUBIO ASENSIO J. S., COUSINS A. B., 2010. *Carbon Dioxide Enrichment Inhibits Nitrate Assimilation in Wheat and Arabidopsis*. Science 328, 899-903.
- BUSCH F., SAGE T. L., COUSINS A. B., SAGE R. F., 2013. *C3 plants enhance rates of photosynthesis by reassimilating photorespired and respired CO<sub>2</sub>*. Plant, Cell Env. 36, 200-212.
- DURBAK A., YAO H., MCSTEEN P., 2012. *Hormone signaling in plant development*. Curr. Opin. Plant Biol., 15, 92-96.
- FILEK M., 1997. *Zjawiska elektryczne w procesach wzrostu i rozwoju roślin*. Rozprawa habilitacyjna. Monografie 6. Wyd. ZFR PAN, Kraków.
- FONSECA S., CHICO J. M., SOLANO R., 2009. *The jasmonate pathway: the ligand, the receptor and the core signalling module*. Curr. Opin. Plant Biol., 12, 539-547.
- FOYER CH., BLOOM A. J., QUEVAL G., NOCTOR G., 2009. *Photorespiratory metabolism: Genes, mutants, energetics and redox signaling*. Ann. Rev. Plant Biol., 60, 455-479.
- FROMM J., AUTNER S., 2007. *Electrical signals and their physiological significance in plants*. Plant Cell Env. 30, 249-257.
- GNIĄZDOWSKA A., 2004. *Rola tlenku azotu w metabolizmie komórki roślinnej*. Kosmos 53, 343-355.
- GRANIER C., TARDIEU F., 2009. *Multi-scale phenotyping of leaf expansion in response to environmental changes: the whole is more than the sum of parts*. Plant Cell Env. 32, 1175-1184.

- GRZEGORZEWSKA W., JAWORSKI K., SZMIDT JAWORSKA A., 2009. Rola tlenu azotu w odpowiedzi roślin na stres abiotyczny. *Post. Biol. Komórki*, 36, 663–678.
- GRZELAKOWSKA-SZTABERT B., 2005. Nagroda Nobla z chemii za 2004 – docenienie kontrolowanej, zależnej od ubikwityny, proteolitycznej degradacji białek. *Post. Biol. Komórki* 32, 3–12.
- GUTIÉRREZ R., SHASHA D. E., CORUZZI G. M., 2005. *Systems Biology for the Virtual Plant*. *Plant Physiol.* 138, 550–554.
- HIBBERD J. M., QUICK W. P., 2002. *Characteristics of C<sub>4</sub> photosynthesis in stem and petioles of C<sub>3</sub> flowering plants*. *Nature* 415, 451–454.
- JASPERS P., KANGASJARVI J., 2010. *Reactive oxygen species in abiotic stress signaling*. *Physiol. Plant.* 138, 405–413.
- JOYARD J., MCCORMICK S., 2010. *Plant Systems Biology*. *Plant Physiol.* 152, 401.
- KALAJI M. H., 2011. *Oddziaływanie abiotycznych czynników stresowych na fluorescencje chlorofilu w roślinach wybranych odmian jęczmienia *Hordeum vulgare* L.* Wydawnictwo SGGW.
- KALAJI M. H., ŁOBODA T., 2009. *Fluorescencja chlorofilu w badaniach stanu fizjologicznego roślin*. Wydawnictwa SGGW, Warszawa.
- KARPIŃSKI S., SZECHYŃSKA-HEBDA M., 2012. *Cellular light memory, photo-electrochemical and redox retrograde signaling in plants*. *Biotechnologia* 93, 27–39.
- KARPIŃSKI S., REYNOLDS H., KARPINSKA B., WINGSLE G., CREISSEN G., MULLINEAUX P., 1999. *Systemic signaling and acclimation in response to excess excitation energy in Arabidopsis*. *Science* 284, 654–657.
- KELLEY D. R., ESTELLE M., 2012. *Ubiquitin-mediated control of plant hormone signaling*. *Plant Physiol.* 160, 47–55.
- KNOBLAUCH M., PETERS W. S., 2010. *Münch, morphology, microfluidics – our structural problem with phloem*. *Plant Cell Env.* 33, 1439–1452.
- KNOBLAUCH M., OPARKA K., 2012. *The structure of the phloem – still more questions than answers*. *Plant J.* 70, 147–156.
- KNOBLAUCH M., STUBENRAUCH M., VAN BEL A. J. E., PETERS W., 2012. *Forisome performance in artificial sieve tubes*. *Plant Cell Env.* 35, 1419–1427.
- KRAMER P. J., 1973. *Some reflections after 40 years in plant physiology*. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24, 1–24.
- KURSANOW A. L., 1984. *Assimilate transport in plants*. Elsevier, Amsterdam.
- LEDAKOWICZ S., 2011. *Inżynieria biochemiczna*. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- LEGOCKI A. B., 2008. *Aplikacyjne perspektywy biologii ery postgenomowej*. *Biotechnologia* 1, 80, 9–14.
- LEVITT J., 1990. *Stress interactions – back to the future*. *HortScience* 25, 1363–2365.
- LEWAK ST., 2012. *Regulacja procesów fizjologicznych przez czynniki endogenne*. [W:] *Fizjologia roślin*. KOPCEWICZ J., LEWAK St. (red.). PWN, 143–175.
- LICHTENTHALER H. K., 1997. *Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress*. *Trends Plant Sci.* 2, 316–320.
- LONG S. P., ZHU X. G., SHAWNA L., NAIDU S. L., ORT D. R., 2006. *Can improvement in photosynthesis increase crop yields?* *Plant, Cell Env.* 29, 315–330.
- LÓPEZ-RÁEZ J. A., KOHLEN W., CHARNIKHOVA T., MULDER P., UNDAAS A. K., SERGEANT M. J., VERSTAPPEN F., BUGG T. D. H., THOMPSON A. J., RUYTER-SPIRA C., BOUWMEESTER H., 2010. *Does abscisic acid affect strigolactone biosynthesis?* *New Phytol.* 187, 343–354.
- MARCINIAK K., TUROWSKI T., WILMOWICZ E., FRANKOWSKI K., KEŚY J., KOPCEWICZ J., 2010. *Ligazy ubikwitynowo-białkowe w szlakach sygnałowych auksyn, jasmonianów i giberelin*. *Post. Biol. Kom.* 37, 409–432.
- MARCINIAK K., KEŚY J., TRETYN A., KOPCEWICZ J., 2012a. *Gibereliny – struktura, biosynteza i dezaktywacja u roślin*. *Post. Bioch.* 58, 14–25.
- MARCINIAK K., ŚWIEŻAWSKA B., KEŚY J., TRETYN A., KOPCEWICZ J., 2012b. *Gibereliny – percepcja i transdukcja sygnału u roślin*. *Post. Biol. Kom.* 39, 25–48.
- MARRE E., 1991. *Short story of plant physiologist and variations on the theme*. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 42, 1–20.
- MARZEC M., MUSZYŃSKA A., 2012. *Strigolaktyny – nowi kandydaci na hormony roślinne*. *Post. Biol. Kom.* 39, 63–86.
- MAURINO V. G., WEBER A. P. M., 2013. *Engineering photosynthesis in plants and synthetic microorganisms*. *J. Exp. Bot.* 64, 743–751.
- MÜNCH E., 1930. *Stoffbewegungen in der pflanze*. Verlag von Gustav Fisher, Jena.
- NALBORCZYK E., SOWA A., 2001. *Physiology of rye*. [W:] *Ray: production, chemistry, and technology*. Wyd. 2. BUSHUK W. (red.). Amer. Assoc. Cereals Chemists (AACCC). Inc. St. Paul Minnesota USA, 53–68.
- NANDI D., TAHILIANI P., KUMAR A., CHANDU D., 2006. *The ubiquitin-proteasome system*. *J. Biosci.* 31, 137–155.
- OPARKA K. J., DUCKETT C. M., PRIOR D. A. M., FISHER D. B., 1994. *Real time imaging of phloem unloading in the root tip of Arabidopsis*. *Plant J.* 6, 759–766.
- OSTROWSKI M., JAKUBOWSKA A., 2010. *Geny wczesnych odpowiedzi na auksynę*. *Post. Biol. Kom.* 37, 449–470.
- PARRY M. A. J., ANDRAŁOJC P. J., SCALES J. C., SALVUCI M. E., CARMO-SILVA A. E., ALONSO H., WHITNEY S. M., 2013. *Rubisco activity and regulation as targets for crop improvement*. *J. Exp. Bot.* 64, 717–730.
- PERILLI S., MOUBAYIDIN L., SABATINI S., 2010. *The molecular basis of cytokinin function Review Article*. *Cur. Opin. Plant Biol.* 13, 21–26.
- PETERHANSEN C., MAURINO V. G., 2011. *Photorespiration redesigned*. *Plant Physiol.* 155, 49–55.
- PEUKE A.D., ROKITTA M., ZIMMERMANN U., SCREIBER 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.
- PIETKIEWICZ ST., PALA J., 2002. *Teoria i praktyka plonowania roślin uprawnych*. [W:] *Fizjologia plonowania roślin*. GÓRECKI R., GRZESIUK ST. (red.). Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, 523–570.
- PIN P. A., NILSSON O., 2012. *The multifaceted roles of FLOWERING LOCUS T in plant development*. *Plant Cell Env.* 35, 1742–1755.
- PRICE G. D., PENGELLY J. J. L., FORSTER B., DU J., WHITNEY S. M., VON CAEMMERER S., 2013. *The cyanobacterial CCM as a source of genes for improving photosynthetic CO<sub>2</sub> fixation in crop species*. *J. Exp. Bot.* 64, 753–768.
- QUINT M., GRAY W. M., 2006. *Auxin signaling*. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9, 448–453.
- REGALADO A., 2010. *Wynaleźć liść*. *Świat Nauki* 11, 72–75.
- REYNOLDS M., FOULKES M. J., SLAFER G. A., BERRY P., PARRY M. A. J., SNAPE J. W., ANGUS W. J., 2009. *Raising yield potential in wheat*. *J. Exp. Bot.* 60, 1899–1918.

- ROBERTS J. K. M., 2000. *NMR adventures in the metabolic labyrinth within plants*. Trends Plant Sci., 5, 30-34.
- ROSALES E. P., IANNONE M. F., GROPPA M. D., BENAVIDES M. P., 2011. *Nitric oxide inhibits nitrate reductase activity in wheat leaves*. Plant Physiol. Biochem. 49, 124-130.
- SETO Y., KAMEOKA H., YAMAGUCHI S., KYOZUKA J., 2012. *Recent advances in strigolactone research: chemical and biological aspects*. Plant Cell Physiol. 53, 1843-1853.
- STARCK Z., 2003. *Transport i dystrybucja asymilatów w roślinach*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
- STARCK Z., 2008. *Funkcja tkanek przewodzących: zaopatrzenie w substancje pokarmowe i udział w koordynacji procesów w roślinach*. Kosmos 57, 67-83.
- STARCK Z., 2009. *Dystrybucja fotoasymilatów kluczowym procesem determinującym plon*. Post. Nauk Roln. 51-59.
- STARCK Z., 2011. *Roślina in vivo – sztuka funkcjonalności*. Wiad. Bot. 55, 9-25.
- STARCK Z., 2012. *Fizjologiczne podstawy produktywności roślin*. [W:] *Fizjologia Roślin*. KOPCEWICZ J., LEWAK ST. (red.). PWN, 729-761.
- STEWART F. C., 1971. *Plant Physiol.: The changing problems, the continuing quest*. Ann. Rev. Pl. Physiol. 22, 1-23.
- STRYER L., 1999. *Biochemia*. PWN.
- STRZAŁKA K., 2012. *Przemiany związków organicznych i energii u roślin*. [W:] *Fizjologia roślin*, KOPCEWICZ J., LEWAK ST. (red.) PWN, 274-391.
- SUN J., YANG L., WANG Y., ORT D. R., 2009. *FACE-ing the global change: opportunities for improvement in photosynthetic radiation use efficiency and crop yield*. Plant Sci. 177, 511-522.
- SZECHYŃSKA-HEBDA M., 2010. *Evidence for light wavelength-specific photoelectrophysiological signaling and memory of excess light episodes in Arabidopsis*. Plant Cell 22, 2201-2218.
- TAE-WUK K., ZHI-YONG W., 2010. *Brassinosteroid signal transduction from receptor kinases to transcription factors*. Ann. Rev. Plant Biol. 61, 681-704.
- TREWAVAS A. J., 2002. *Mindless mastery*. Nature 415, 841.
- TREWAVAS A. J., 2005. *Green plants as intelligent organisms*. Trends Plant Sci. 10, 413-419.
- TREWAVAS A. J., 2006. *The green plant as an intelligent organism*. [W:] *Communications in Plants: Neuronal Aspects of Plant Life*. BALUŠKA F., MANCUSO S., VOLKMANN D. (red.). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1-18.
- TURGEON R., OPARKA K. 2010. *The secret phloem of pumpkins*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107, 13201-13202.
- VAN BEL A. J. E., EHLERS K., KNOBLAUCH M., 2002. *Sieve elements caught in the act*. Trends Plant Sci. 7, 126-132.
- WILMOWICZ E., FRANKOWSKI K., SIDŁOWSKA M., KUĆKO A., KESY J., GĄSIOROWSKI A., GŁAZIŃSKA P., KOPCEWICZ J., 2012. *Jasmonate biosynthesis – the latest discoveries*. Post. Bioch. 58, 26-33.
- YOO S. D., CHO Y. H., SHEEN J., 2005. *Emerging connections in the ethylene-signaling network*. Trends Plant Sci. 14, 270-279.
- ZHU X. G., FORTIS J. R. A., LONG S. P., 2004. *Would transformation of C3 crop plants with foreign Rubisco increase productivity? A computational analysis extrapolating from kinetic properties to canopy photosynthesis*. Plant Cell Env. 27, 155-165.
- ZHU X. G., LONG S. P., ORT D. R., 2008. *What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass? Curr. Opin. Biotech. 19, 153-159.*
- ZHU X. G., LONG S. P., ORT D. R., 2010. *Improving photosynthetic efficiency for greater yield*. Ann. Rev. Plant Biol. 61, 235-261.