

ANNA BILSKA-KOS

*Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Radzików, 05-870 Błonie
Zakład Fizjologii Roślin
Pozawydziałowy Zamiejscowy Instytut Biotechnologii Stosowanej i Nauk
Podstawowych Uniwersytet Rzeszowski
Werynia 502, 36-100 Kolbuszowa
E-mail: a.bilska@ur.edu.pl*

PLAZMODESMY – CZYLI O ELEMENTACH MIĘDZYKOMÓRKOWEJ SIECI KOMUNIKACYJNEJ U ROŚLIN

WSTĘP

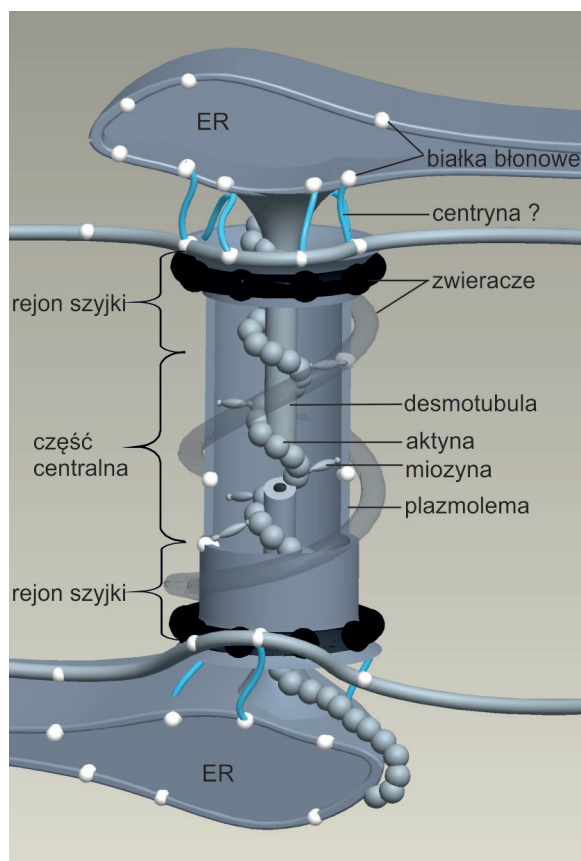
Scenariusz optymalnego rozwoju organizmu opiera się głównie na dostarczaniu „na czas” odpowiedniej ilości składników pokarmowych do jego każdej komórki. Transport krótkodystansowy (międzykomórkowy) może odbywać się w tak zwanym apoplaście, poprzez ścianę komórkową sąsiadujących ze sobą komórek lub/i w symplacie, z udziałem cienkich kanałów cytoplazmatycznych, które noszą nazwę: plazmodesm (grec. *desmos* łącznik, spójnia). Przez plazmodesmy przemieszczają się związki niskocząsteczkowe, w tym produkty fotosyntezy, a także niektóre białka i wirusy. Związki przemieszczające się przez plazmodesmy „wygrywają konkurencję na czas”, gdyż udowodniono, że transport symplastyczny jest co najmniej o dwa rzędy sprawniejszy niż transport przez błony (PATRICK i OFFLER 1996). Właściwość ta warunkowana jest liczbą plazmodesm łączących

komórki, ich drożnością oraz gradientem stężeń transportowanych substancji. Pojedyncze plazmodesmy lub ich skupienia w postaci tzw. „pól plazmodesmatycznych” tworzą u roślin swego rodzaju „sieć komunikacyjną”. Funkcjonowanie tej sieci odgrywa ważną rolę w organizmie roślinnym. Od przepuszczalności plazmodesm zależy między innymi: wydajność transportu produktów fotosyntezy, cząsteczek sygnałowych, a także niekorzystnego dla rośliny rozprzestrzeniania się wirusów. W pracy została przedstawiona generalna budowa elementów sieci komunikacyjnej u roślin, plazmodesm, z wyszczególnieniem różnych typów tych struktur, jak również charakterystyka transportu przez plazmodesmy w zależności od warunków środowiska (czynników stresowych). Ponadto, został przedstawiony rys historyczny dotyczący technik stosowanych do badań plazmodesm.

BUDOWA I TYPY PLAZMODESM

Plazmodesmy, cytoplazmatyczne kanały o średnicy około 50 nm i długości 100 nm przechodzą w poprzek ściany komórkowej umożliwiając transport między żywymi komórkami w tkance roślinnej (ZAMBRYSKI i CRAWFORD 2000, ROBERTS i OPARKA 2003). Kanały te są zbudowane z kompleksu błon białkowo-lipidowych i białek. U roślin wyższych, trzonem plazmodesmy jest cylinder siateczki endoplazmatycznej (ER) zwany desmotubulą, o średnicy około 15-20 nm, która stanowi ciągłość z ER sąsiednich komórek (Ryc. 1).

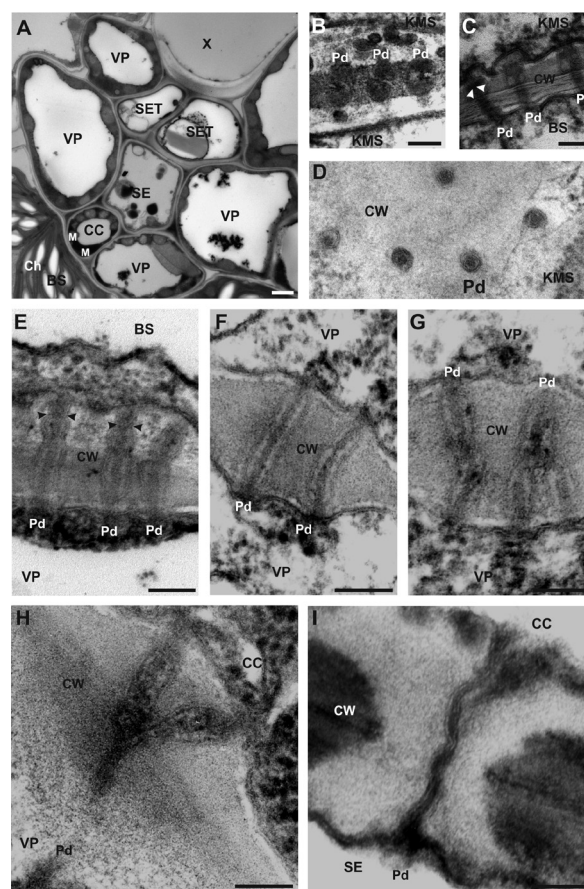
Desmotubula, zwana również „centralnym prętem”, jest widoczna pod mikroskopem



Ryc. 1. Model plazmodesmy (wg OVERALL i BLACKMAN 1996, zmodyfikowany).

Rdzeń plazmodesmy stanowi desmotubula, łącząca błony ER sąsiednich komórek. Wokół desmotubuli są lokalizowane białka: aktyna oraz miozyna, która łączy błonę desmotubuli z plazmolemą. W rejonie szyjki plazmodesm prawdopodobnie występuje centryna, jak również gęste elektronowo elementy zwieraczy. Zwieracze mogą również tworzyć helisę, która otacza całą plazmodesmę.

elektronowym jako ciemna, „elektronowo-gęsta” struktura (OVERALL i BLACKMAN 1996). Na obu końcach plazmodesmy występuje przeżęczenie, zwane rejonem szyjki, które przechodzi w część centralną. Obszar pomiędzy desmotubulą a plazmolemą stanowi rękaw cytoplazmatyczny, który tworzy kanały transportowe o średnicy 3-4 nm (ROBERTS i OPARKA 2003). Wokół desmotubuli zlokalizowane są białka, które stanowią połączenie z pla-



Ryc. 2. Obraz z mikroskopu elektronowego przedstawiający przekrój poprzeczny przez wiązkę przewodzącą (A) oraz wybrane typy plazmodesm (B-I) występujące pomiędzy różnymi rodzajami komórek w liściu kukurydzy.

Przekrój podłużny (B, C, E-I) i poprzeczny (D) przez plazmodesmy. Białe groty (C), zwieracze; czarne groty (E), zwężenie w rejonie szyjki plazmodesmy. Rozgałęzione plazmodesmy (G-I). KMS, mezofil; BS, pochwa okołowiązkowa; VP, parenchyma wiązkowa; CC, komórka towarzysząca; SE, cienkościenne rurki sitowe; SET, grubościenne rurki sitowe; X, ksylen; Pd, plazmodesma; CW, ściana komórkowa; Ch, chloroplast; M, mitochondrium. Skala 100 nm.

Tabela 1. Wybrane białka i polisacharydy lokalizowane w/przy plazmodesmach (pd), SEL (*size exclusion limit*) – przekrój czynny plazmodesmy (objaśnienie w tekście).

Białko	Przypuszczalna funkcja	Referencje
aktyna	komponent plazmodesmy, rola w regulacji SEL	(WHITE i współaut. 1994, BLACKMAN i OVERALL 1998)
białka z rodziny Arp3	udział w organizacji filamentów aktynowych i w regulacji SEL	(VAN GESTEL i współaut. 2003)
β -1,3-glukanaza	pośredni udział w regulacji SEL poprzez degradację kalozy	(LEVY i współaut. 2007)
centryna	komponent pd, białko wiążące jony Ca^{2+} , rola w regulacji SEL	(BLACKMAN i współaut. 1999)
białko dehydronopodobne	rola w ochronie pd podczas odwodnienia komórki	(KARLSON i współaut. 2003)
kaloza	udział w tworzeniu zwieraczy i tym samym w regulacji SEL	(OPARKA i PRIOR 1992, RADFORD i współaut. 1998, HOLDAWAY-CLARKE i współaut. 2000)
kalretikulina	białko wiążące jony Ca^{2+} , rola w regulacji transportu przez pd	(BALUŠKA i współaut. 1999, 2001)
kinazy białkowe	udział w sygnalizacji komórkowej wykorzystywanej przez białka wirusowe (<i>viral movement proteins</i>)	(YAHALOM i współaut. 1998, WAIGMANN i współaut. 2000)
miozyna	komponent pd – tworzy połączenie desmotubuli z plazmolemą, białko motoryczne, rola w regulacji SEL	(BLACKMAN i OVERALL 1998, RADFORD i WHITE 1998)
miozyna VIII	forma miozyny zlokalizowana tylko u roślin, kontroluje transport przez pd	(REICHELT i współaut. 1999, BALUŠKA i współaut. 2001)
pektyny	udział w modyfikacji właściwości biomechanicznych ściany komórkowej w polach plazmodesmatycznych	(ROY i współaut. 1997, KNOX i BENITEZ-ALFONSO 2014)
PME – metyloesteraza pektynowa)	pośredni udział w modyfikacji właściwości biomechanicznych ściany komórkowej wokół pd poprzez demetylację pektyn	(MORVAN i współaut. 1998)
PRms	udział w regulacji transportu wirusa przez pd	(MURILLO i współaut. 1997)
remoryny	udział w regulacji transportu wirusa przez pd	(RAFFAELE i współaut. 2009)
synaptotagmina 1	kontrola integralności błony komórkowej	(SCHAPIRE i współaut. 2008)
ubikwityna	udział w procesie degradacji białek pd	(EHLERS i współaut. 1996)

zmolemą poprzez struktury przypominające szprychy (Ryc. 1). Niektórzy badacze wskazują, że białko, miozyna VIII, może wchodzić w skład tych szprych (BALUŠKA i współaut. 2001). W niektórych typach plazmodesm są obserwowane elementy określane według terminologii Hejnowicza (2002) jako zwieracze (ang. sphincters). W ich skład wchodzi elektronowo gęste cząsteczki (ang. electron-dense particles), które mogą występować wewnątrz plazmodesmy (ang. intracellular sphincter). Elementy zwieraczy wewnętrznych tworzą strukturę w rodzaju pierścienia, który otacza desmotubulę, wypełniając rękaw cytoplazmatyczny w rejonie szyjki plazmodesmy (EVERT i współaut. 1977). Zwieracz wewnętrzny albo „kołnierz” występujący w rejonie szyjki plazmodesmy widoczny jest tylko po utrwaleniu tkanki w aldehydzie glutarowym z dodatkiem kwasu taninowego (BADEL i współaut. 1994, RADFORD i współaut. 1998). Kompleksy kwasu taninowego i aldehydu glutarowego w połączeniu z białkami są widoczne na obrazach z mikroskopu elektronowego jako regularnie rozłożone, gęste elektronowo cząsteczki (OLESEN 1979). W niektórych przypadkach występują też zwieracze zewnętrzne (ang. extracellular sphincter) otaczające plazmodesmę po stronie zewnętrznej. Istnieje kilka modeli budowy plazmodesmy z uwzględnieniem występowania potencjalnych zwieraczy (DING i współaut. 1992, OVERALL i BLACKMAN 1996, ROBERTS i OPARKA 2003). W jednym z modeli (Ryc. 1), zaproponowanym przez OVERALL i BLACKMAN (1996), gęste elektronowo elementy zwieraczy mogą tworzyć pierścień w obrębie szyjki plazmodesmy lub jako „przezroczysta” struktura (ang. electron-lucent) w postaci helisy może otaczać plazmodesmę na całej jej długości.

Plazmodesmy różnią się budową w zależności od typu komórek, między którymi tworzą połączenia (Ryc. 2). Badania ultrastrukturalne plazmodesm u kukurydzy łączących ze sobą komórki mezofilu oraz komórki mezofilu z komórkami pochwy okołowiązkowej

wykazały w nich obecność zwieraczy. Gęste elektronowo elementy strukturalne były obserwowane w rejonie szyjki plazmodesmy po obu jej stronach na styku komórka mezofilu/komórka mezofilu (Ryc. 2B) oraz po stronie komórek mezofilu na styku komórka mezofilu/pochwa okołowiązkowa (Ryc. 2C). W tym przypadku, zwieracze nie były lokalizowane w innych typach plazmodesm, np. pomiędzy komórkami pochwy okołowiązkowych i parenchymą wiązkową. Plazmodesmy te wykazują zwężenie rękawa cytoplazmatycznego w obydwóch rejonach szyjki, jak i w części środkowej plazmodesmy (Ryc. 2E). Plazmodesmy łączące komórki w wiązce przewodzącej, np. pomiędzy komórkami towarzyszącymi a cienkościnnymi rurkami sitowymi wykazują często rozgałęzienia w kształcie litery X lub Y (Ryc. 2G-I).

W ostatnich latach za pomocą metod cytochemicznych zlokalizowano szereg białek w plazmodesmach bądź blisko nich. Część z tych białek, oprócz funkcji regulacyjnych, stanowi element strukturalny plazmodesm, np. aktyna, zlokalizowana wzdłuż całej długości desmotubuli (WHITE i współaut. 1994), miozyna łącząca rdzeń plazmodesmy z plazmolemą (BLACKMAN i OVERALL 1998, RADFORD i WHITE 1998) oraz centryna zlokalizowana tylko w rejonie szyjki plazmodesm (BLACKMAN i współaut. 1999). Wybrane białka zlokalizowane w plazmodesmach zostały przedstawione w Tabeli 1.

W pobliżu plazmodesm lokalizowane są pektyny (ROY i współaut. 1997, ORFILA i KNOX 2000) oraz kaloza (β -1,3-D-glukan), polisacharyd, którego poziom ulega zwiększeniu w odpowiedzi na stresy abiotyczne i biotyczne. Niektórzy badacze uważają, że kaloza może być składnikiem zwieracza występującego na zewnątrz plazmodesmy (OLESEN i ROBARDS 1990, RITZENTHALER i współaut. 2000). Natomiast TURNER i współaut. (1994) lokalizują kalozę w ścianie komórkowej pomiędzy zwieraczami plazmodesm i na tej podstawie przypuszczają, że kaloza nie jest składnikiem zwieraczy.

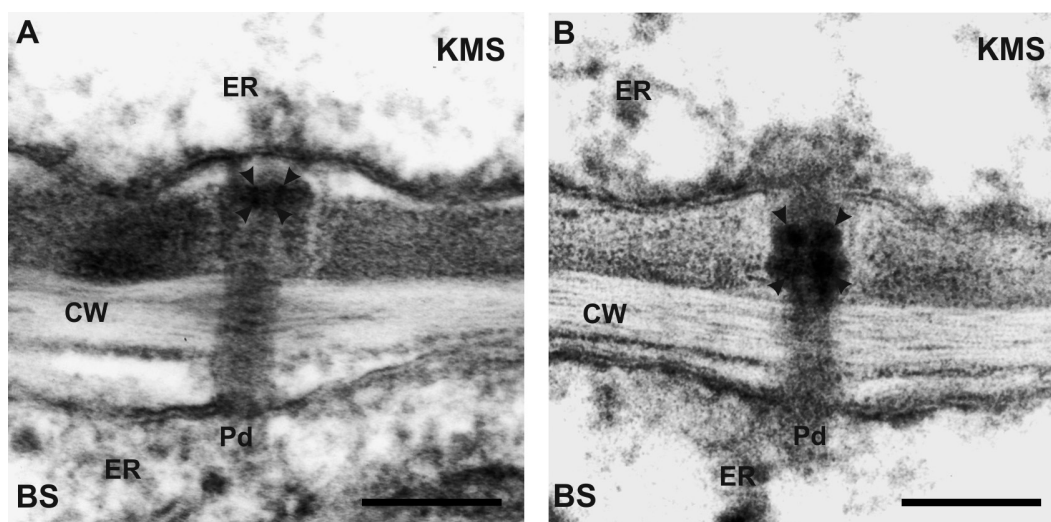
REGULACJA PRZEPUSZCZALNOŚCI PLAZMODESM

Transport przez plazmodesmy może odbywać się na zasadzie dyfuzji lub przepływu masowego (PATRICK 1997). Uważa się, że w stanie podstawowym plazmodesmy przepuszczają związki o masie nie większej niż 1 kDa

(GOODWIN 1983), a więc wodę, cukry, jony i małe związki sygnałowe (ROBARDS i LUCAS 1990). Wartość progowa dla przepuszczalności plazmodesm (ang. size exclusion limit, SEL), według terminologii SOWIŃSKIEGO

(2002) określana jest jako przekrój czynny plazmodesmy. W regulację przekroju czynnego plazmodesm mogą być zaangażowane elementy strukturalne cytoszkieletu, głównie białek: aktyny i miozyny (Tabela 1). Występowanie aktyny i miozyny wzdłuż desmotubuli umożliwia regulację przepuszczalności kanałów w całym obszarze rękawa cytoplazmatycznego, a tym samym kontrolę transportu zachodzącego w plazmodesmie (RADFORD i WHITE 1998, ZAMBRYSKI i CRAWFORD 2000). Stwierdzono, że w protoplastach korzeni rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana* L.) poddanych 1,5 godzinnemu działaniu stresu osmotycznego dochodzi do relokacji miozyny VIII, której towarzyszy reorganizacja filamentów aktynowych i indukcja plazmolizy (WOJTASZEK i współaut. 2005). W tym przypadku, aktyno-miozynowy mechanizm kontroluje osmoregulację w komórkach korzenia rzodkiewnika poprzez zmiany w przekroju czynnym plazmodesm. Szczególną rolę przypisuje się białkom zależnym od jonów Ca^{2+} , centrynie i kalretikulinie, które zlokalizowano w rejonie szyjki plazmodesmy. Postulowano, że wraz ze wzrostem poziomu cytoplazmatycznego wapnia dochodzi do defosforylacji centryny, kurczenia filamentów zbudowanych z tego białka i w rezultacie zamknięcia plazmodesmy (BLACKMAN i współaut. 1999). Kalretikulina, białko wiążące jony wapnia, może być również zaangażowane w regulację transportu przez plazmodesmy (BALUŠKA i współaut. 1999, 2001). Uwalnianie z wakuoli do cytoplazmy jony Ca^{2+} mogą kontrolować przekrój czynny plazmodesm, w sposób pośredni poprzez wspomniane powyżej białka plazmodesmatyczne zależne od wapnia (centryna, kalretikulina, miozyna), lub/i mogą stanowić cząsteczkę sygnałową w łańcuchu reakcji na stres. Stwierdzono, że wzrost stężenia jonów Ca^{2+} w komórkach włosków pręcików setkrezji purpurowej (*Setcreasea purpurea*) powoduje zamykanie się plazmodesm (TUCKER 1990). Również, badania HOLDAWAY-CLARKE i współaut. (2000) wykazały szybką reakcję plazmodesm roślin wyższych na zmiany koncentracji jonów Ca^{2+} w cytoplazmie komórkowej. Stwierdzili, że indukowany niską temperaturą w zakresie 0-5°C wzrost stężenia jonów wapnia w zawieszinie komórkowej kukurydzy prowadzi do przerwania kontaktu elektrycznego między komórkami w zawieszinie, co pośrednio wskazuje na przerwanie kontaktu symplastycznego. Reaktywne formy tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS) również

mogą stanowić element w transdukcji sygnału prowadzącego do modyfikacji przekroju czynnego plazmodesm (BENITEZ-ALFONSO i współaut. 2011). Stwierdzono, że zmiany stanu redox w mitochondrium powodują wzrost wydajności transportu przez plazmodesmy, podczas gdy ROS pochodzenia plastydowego blokuje transport symplastyczny (STONEBLOOM i współaut. 2012). Z kolei, w korzeniach grochu zwyczajnego (*Pisum sativum* L.), w warunkach stresu osmotycznego dochodzi do relatywnie szybkiego (1 godz.) zwiększenia przekroju czynnego plazmodesm, co sugeruje, że potencjał wodny komórki może być regulatorem wydajności transportu symplastycznego (SCHULZ 1995). Na przekrój czynny plazmodesm mogą wpływać temperatura oraz ciśnienie turgorowe. Wykazano, że w niskiej temperaturze transport sacharozy i innych związków niskocząsteczkowych w cylindrze ER jest mniej sprawny (GAMALEI i współaut. 1994), oraz że podwyższone ciśnienie turgorowe może obniżać drożność plazmodesm (OPARKA i PRIOR 1992). Wykazano również, że w warunkach plazmolizy w plazmodesmach dochodzi do zmian uniemożliwiających międzykomórkowy transport znaczników fluorescencyjnych wprowadzonych do symplastu poprzez mikroiniekcję (ERWEE i GOODWIN 1984). Zakłócony transport międzykomórkowy barwników może być efektem kurczenia się elementów strukturalnych plazmodesm, co prowadzi do zmniejszania się obszarów rękawa cytoplazmatycznego lub desmotubuli (OPARKA i współaut. 1994). Przekrój czynny plazmodesm może być zależny od kalozy (β -1,3-glukan). Ten polisacharyd gromadzi się w rejonie szyjki plazmodesmy, blokując całkowicie transport symplastyczny. Udowodniono na przykład, że zranienie prowadzi do wyraźnego zwężenia w rejonie szyjki plazmodesm w korzeniu cebuli zwyczajnej (*Allium cepa* L.), co jest związane z akumulacją kalozy (RADFORD i współaut. 1998). Odkładanie kalozy przy plazmodesmach zachodzi również w wyniku działania jonów: glinu, ołowiu, arsenu oraz kadmu (SIVAGURU i współaut. 2000, UEKI i CITOVSKY 2005, PIRŠELOVÁ i współaut. 2012, SAMARDAKIEWICZ i współaut. 2012). W przypadku efektu działania jonów kadmu i arsenu w korzeniach soi warzywnej (*Glycine max*) autorzy sugerują, że depozyty kalozy przy plazmodesmach mogą stanowić element obronny rośliny związany z „budowaniem” szczelnej bariery ochronnej zabezpieczającej tkankę przed przemieszczaniem



Ryc. 3. Ultrastruktura plazmodesm w liściach kukurydzy na styku: mezofil – pochwa okołowiązkowa.

Gęste elektronowo elementy zwieraczy (groty) zlokalizowane w rejonie szyjki plazmodesm; w roślinach kontrolnych (niechłodzonych), zwieracz niepowiększony (A), w roślinach traktowanych niską temperaturą, zwieracz powiększony (B). KMS, mezofil; BS, pochwa okołowiązkowa; Pd, plazmodesma; CW, ściana komórkowa; ER, siateczka endoplazmatyczna. Skala 100 nm

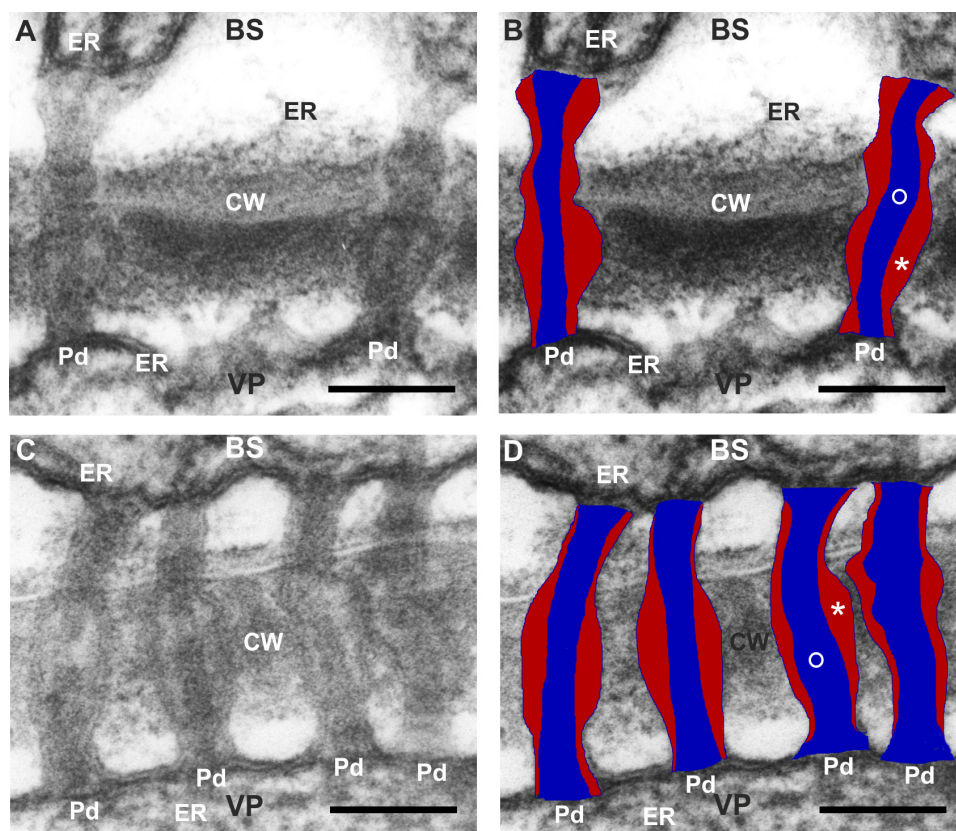
się toksycznych jonów (PIRŠELOVÁ i współaut. 2012). Jednak SAMARDAKIEWICZ i współaut. (2012) wskazują, że efektywność takiej „linii obrony” zależy od sposobu dystrybucji kalozy w ścianie komórkowej.

KNOX i BENITEZ-ALFONSO (2014) dowodzą, że zmiany przekroju czynnego plazmodesm mogą być związane z innymi polisacharydami, składnikami pierwotnej ściany komórkowej – pektynami. W pracy tej, wysunięto przypuszczenie, że przekrój czynny plazmodesm może być uzależniony od charakteru chemicznego (poziom metylacji) i/lub rozmieszczenia pektyn w ścianie komórkowej, co z kolei może być związane z poziomem auksyn w komórce.

W regulację transportu symplastycznego mogą być również włączone opisane wcześniej elementy strukturalne plazmodesm, zwieracze (Ryc. 1). Zwieracze, występujące w rejonie szyjki, mogą kontrolować transport międzykomórkowy u roślin w tym rejonie plazmodesmy (EVERT i współaut. 1977, ANISIMOV i EGOROV 2002, BOTHÁ i współaut. 2005). RINNE i VAN DER SCHOOT (1998) stwierdzili, że zwieracze zewnętrzne plazmodesm w merystemie wierzchołkowym pędu u brzozy omszonej (*Betula pubescens*) ulegają znacznemu powiększeniu, co przerywa komunikację międzykomórkową przy wchodzeniu w stan spoczynku. Ponadto wykazano, że

już po jednej godzinie działania chłodu dochodzi do powiększania się elementów zwieraczy w plazmodesmach liści kukurydzy (*Zea mays* L.) (Ryc. 3) (BILSKA i SOWIŃSKI 2010). W tym przypadku powiększone zwieracze wypełniały rękaw cytoplazmatyczny w rejonie szyjki plazmodesm. Natomiast w drugim typie plazmodesm, które nie posiadają zwieraczy, obserwowano zwężanie w rejonie szyjki (Ryc. 4). Obie zmiany w ultrastrukturze plazmodesm były związane z zahamowaniem transportu produktów fotosyntezy w liściach kukurydzy (BILSKA i SOWIŃSKI 2010).

Pewną rolę w regulacji wydajności transportu przez plazmodesmy mogą odgrywać procesy tworzenia nowych (wtórnych) plazmodesm lub/i modyfikacje strukturalne już istniejących, na przykład w kierunku tworzenia różnego rodzaju rozgałęzień. I tak na przykład: u siewek chłodotolerancyjnej linii kukurydzy (*Zea mays* L.) rosnących w niskiej temperaturze (12–14°C) liczba plazmodesm pomiędzy komórkami mezofilu, pochwy okołowiązkowej i parenchymy wiązkowej znacznie wzrasta, w porównaniu do liczby plazmodesm łączących te komórki w roślinach kontrolnych (SOWIŃSKI i współaut. 2003). Zjawisko to korelowało z przystosowaniem się do chłodu aparatu fotosyntetycznego u tej linii kukurydzy. Podobnie, poziom natężenia światła zastosowanego w trakcie wzro-



Ryc. 4. Ultrastruktura plazmodesm w liściach kukurydzy na styku: pochwa okołowiązkowa – parenchyma wiązkowa.

Plazmodesmy w roślinach kontrolnych (niechłodzonych) bez zwężenia w rejonie szyjki (A, B), plazmodesmy zwężone w rejonie szyjki w roślinach traktowanych niską temperaturą (C, D). W celu lepszej wizualizacji elementów plazmodesm oznaczono: *rękaw cytoplazmatyczny; o desmotubula. BS, pochwa okołowiązkowa; VP, parenchyma wiązkowa Pd, plazmodesma; CW, ściana komórkowa; ER, siateczka endoplazmatyczna. Skala 100 nm

stu roślin może mieć wpływ na tworzenie się nowych połączeń cytoplazmatycznych. Stwierdzono na przykład, że u roślin rosnących w warunkach wysokiego natężenia światła występuje większa gęstość plazmodesm (pochodząca z większej liczby wiązek przewodzących), aniżeli w przypadku roślin rosnących w warunkach niskiego natężenia światła (AMIARD i współaut. 2005). Podobnie, wysokie natężenia światła ($1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

powodowało wzrost gęstości plazmodesm w liściach roślin typu C_4 (SOWIŃSKI i współaut. 2007). Taki schemat odpowiedzi może być związany z dostosowaniem się rośliny do nadmiaru produktów fotosyntezy (występującego w warunkach wysokiego natężenia światła) poprzez „usprawnienie” transportu tych metabolitów do poszczególnych komórek w organizmie.

BADANIA ULTRASTRUKTURY PLAZMODESM – HISTORIA I PERSPEKTYWY

W 1879 r. Edward Tangl (1848–1905), mając do dyspozycji prosty mikroskop świetlny, po raz pierwszy opisał cytoplazmatyczne połączenia protoplastów w endospermie kulczyby (*Strychnos nux-vomica* L.) jako „open communications”. Ponad dekadę później, niemiecki botanik, Edward Strasburger, wpro-

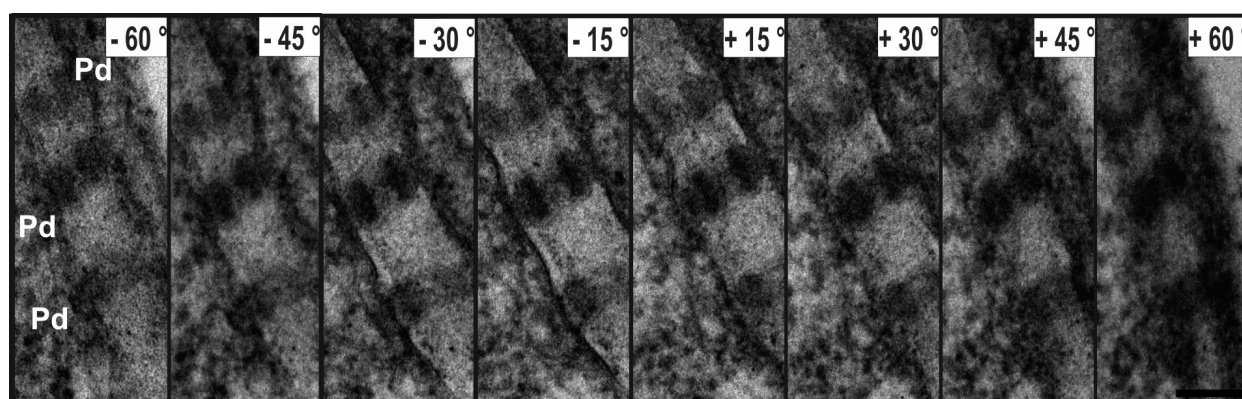
wadził nazwę „plazmodesmy”. Dalej, przez następne pół wieku, przy ograniczeniach w rozdzielczości obrazu, jakie niosła ze sobą mikroskopia świetlna, badania nad strukturą plazmodesm nie wniosły niczego nowego do tej dziedziny nauki (ROBERTS 2005). W pracach z tego okresu próbowano scharaktery-

zować plazmodesmy pod względem liczebności w różnych komórkach i tkankach. LIVINGSTON (1935) podaje m. in. liczbę plazmodesm w epidermie komórkowej łądki tytoniu, gdzie dla 100 μm^2 ściany komórkowej zanotowano ich około 30. W świetle dzisiejszych badań, powyższe dane liczbowe wydają się mocno niedoszacowane. Na przykład, w dojrzałym liście dyni (*Cucurbita pepo* L.), średnio jedna plazmodesma przypada na 1-mikrometrowy odcinek ściany komórkowej (AMIARD i współaut. 2005). Prawdopodobnie takie niedoszacowanie w pracy LIVINGSTON'A (1935) wynikało ze wspomnianego wcześniej ograniczenia w rozdzielczości obrazu, a także ze stosowanych ówczesznie „inwazyjnych” technik badawczych. Sam autor tego doniesienia wskazuje na wiele problemów z przygotowaniem tkanki w celu obrazowania plazmodesm. Wybrana przez niego metoda polegała na „zabiciu” i „zabezpieczeniu” tkanki w roztworze jodku potasu, a następnie barwieniu w podgrzanym do 50°C roztworze fioletu gencjanowego na bazie kwasu siarkowego (!). W rezultacie, otrzymywano obraz plazmodesm w postaci ciemnych, niebiesko-czarnych pasemek. Co prawda, badacz zastosował kwas siarkowy w niskim stężeniu (5%), jednak trudno sobie wyobrazić zupełny brak negatywnego wpływu tego odczynnika na zachowanie ściany komórkowej i plazmodesm.

W tym okresie dyskutowano także nad potencjalnym „składem” i ewentualną funkcją plazmodesm w komórce roślinnej, gdzie udział w transporcie międzykomórkowym, a także w procesach przekazywania sygnału był rozpatrywany (MEEUSE 1940). Kathrine Esau, przodowniczka badań anatomicznych u roślin, w swojej książce (ESAU 1953) poświęca plazmodesmom trzystronicowy rozdział, zawierający także tablicę z fotografiami pól plazmodesmatycznych u kilku gatunków roślin, autorstwa innych anatomów. W książce rozpatruje m. in. cytoplazmatyczny charakter plazmodesm, a także możliwy ich udział w transporcie wirusów oraz w przekazywaniu sygnału między ścianą a protoplastem.

Przełom w badaniach (ultra)struktury plazmodesm nastąpił w drugiej połowie lat 50. XX w., kiedy do analizy tych struktur włączono mikroskop elektronowy. Oczywiście zaletą zastosowania tego sprzętu, była możliwość uzyskania lepszego kontrastu, w porównaniu do mikroskopu świetlnego, a co za tym idzie, lepszej rozdzielczości obrazu. Ówczeszni badacze początkowo skupili się

na udoskonaleniu procedury przygotowania materiału do obserwacji, w celu uzyskania jak najlepszych obrazów plazmodesm. Już w 1957 r. wykonano pierwsze preparaty z użyciem czterotlenku osmu, odczynnika do dziś stosowanego z powodzeniem w procedurze przygotowania materiału do mikroskopii elektronowej w celu kontrastowania i drugiego utrwalenia (ang. post-fixation). Na tak przygotowanych preparatach z korzeni cebuli zwyczajnej (*Allium cepa* L.) i pszenicy zwyczajnej (*Triticum vulgare*) obserwowano plazmodesmy jako *continuum* protoplastów sąsiednich komórek (BUVAT 1957, STRUGGER 1957). SUN (1960) do utrwalania materiału zastosował mieszaninę czterotlenku osmu i dwuchromianu w celu obserwacji ultrastruktury plazmodesm w liściach jednego z gatunków egzotycznej, wschodnioazjatyckiej paproci *Cibotium chamissoi*. W pracy tej, badaczowi „udało się” m. in. zmierzyć średnicę plazmodesm, która dla dojrzałego liścia wynosiła 150 nm. W kolejnych badaniach z wykorzystaniem mikroskopu elektronowego do utrwalania materiału włączono aldehydy, co pozwoliło na lepszą wizualizację elementów strukturalnych plazmodesm, np. rdzenia/trzonu plazmodesmy (Ryc. 1). W plazmodesmach koleoptyla owsa (*Avena sativa* L.) obserwowano wyraźny, centralny pręt opisany jako „electron-dense core” (O'BRIEN i THIMANN 1967). Autorzy doniesienia wskazują na silny związek tego elementu z ER znajdującym się w bliskim sąsiedztwie ściany komórkowej, dyskutując o potencjalnej roli kompleksu plazmodesma-ER w transporcie auksyn. Jednak tabularny charakter rdzenia plazmodesmy zasugerował dopiero ROBARDS w 1968 r., wprowadzając nazwę „desmotubula”. W kolejnych latach wprowadzono szereg modyfikacji do procedury przygotowania materiału do mikroskopu elektronowego. Jednym z przykładów takiej modyfikacji, było zastosowanie kwasu taninowego w mieszaninie utrwalającej, który tworząc kompleksy z osmem chroni natywną konformację białek oraz minimalizuje uszkodzenia materiału zachodzące na etapie odwadniania. Użycie kwasu taninowego pozwoliło na obserwację „nowych” elementów strukturalnych plazmodesm (zwieraczy) (OLESEN 1979), a także wspomnianych „szprych” łączących desmotubulę z plazmolemą (TILNEY i współaut. 1991). Z drugiej strony, procedury z wykorzystaniem różnego rodzaju związków chemicznych (włączając aldehydy) w mieszaninie utrwalającej (tzw. „chemiczne utrwalanie”), mogą prowadzić



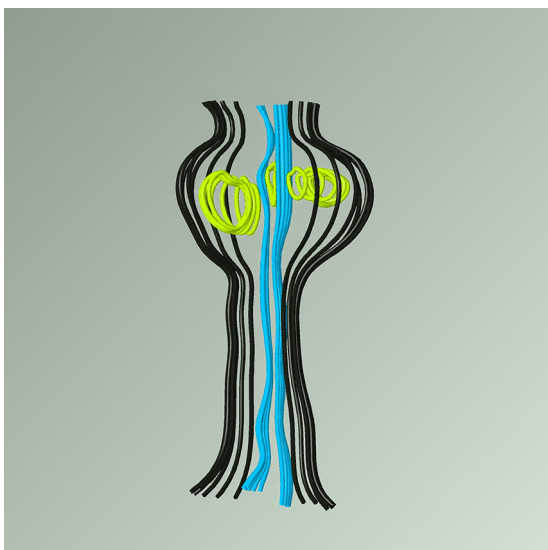
Ryc. 5. Przykładowa seria zdjęć z pojedynczej tomografii elektronowej przedstawiająca plazmodesmy w liściu kukurydzy na styku komórkowym: mezofil-mezofil, przy różnych kątach ustawienia uchwyty (-60° , -45° , -30° , -15° , $+15^\circ$, $+30^\circ$, $+45^\circ$, $+60^\circ$). Skala 100 nm

do wystąpienia artefaktów w ultrastrukturze, obserwowanych na przykład jako zwężenia plazmodesm. Stąd, w celu minimalizacji/uniknięcia fałszywych obrazów zastosowano niską temperaturę jako substytut chemicznego utrwalania lub/i jako czynnik „stabilizujący” tkankę roślinną. Wprowadzono wtedy nowe techniki m. in.: „freeze-etching”, „freeze-fracture” i „freeze-substitution”, bądź ich kombinacje. W technikach typu „freeze-etching” czy „freeze-fracture”, materiał zabezpieczany 20% roztworem glicerolu zamrażany jest w temperaturze ciekłego azotu w atmosferze freonu. W tym zakresie temperatury przeprowadzane są kolejne etapy procedury, włączając krojenie materiału, trawienie i odparowywanie węgla. Technika typu „freeze-substitution” polega na odwodnieniu tkanek w rozpuszczalniku organicznym (aceton, tlenek propylenu) w niskiej temperaturze (-80°C) umożliwiającej utrwalenie tkanki bez udziału substancji, których pozostałości mogą zaburzać obraz uzyskiwany z mikroskopu elektronowego. Techniki te pozwoliły m. in. na odróżnienie komponentów substruktur plazmodesm (zwieracze, desmotubula) (THOMSON i PLATT-ALOIA 1985, DING i współaut. 1992), jak również na dokładną analizę powierzchni błon komórkowych (NORTHOTE i LEWIS 1968). Jednak, niektórzy badacze wskazywali, że glicerol stosowany w tych procedurach jako krioprotektant, może również prowadzić do artefaktów, powodując np. plazmolizę komórkową, co może być przyczyną nieodwracalnych zmian w ultrastrukturze plazmodesm (WILLISON 1976). Współcześnie, modyfikacja tych technik poprzez wprowadzenie innych związków zabezpieczających tkankę przed niepożądanym działaniem niskiej

temperatury, w połączeniu z obrazowaniem w mikroskopach skaningowych o wysokiej rozdzielczości, przyniosła zadawalające rezultaty w badaniach strukturalnych plazmodesm (FAULKNER i współaut. 2008, BRECKNOCK i współaut. 2011).

Wprowadzenie trzeciego wymiaru w mikroskopii elektronowej stanowiło bardzo duży postęp dla badań ultrastrukturalnych, zważywszy na możliwość otrzymywania większej ilości informacji na temat badanych struktur, a także poprzez modelowanie 3-D, uzyskiwania lepszego wyobrażenia na temat budowy i umiejscowienia przestrzennego struktur/organeli w komórkach. Metoda tomografii elektronowej polega na uzyskiwaniu obrazów trójwymiarowych (3D) obiektu na podstawie serii zarejestrowanych obrazów 2D. Jest to możliwe, dzięki zastosowaniu specjalnego uchwyty typu: tilt-rotate, w którym umieszcza się preparaty, a także odpowiednio wyższego napięcia – powyżej 100 kV (nawet do 1 MV), w porównaniu do standardowego obrazowania w mikroskopie elektronowym. W pierwszej kolejności zbierana jest seria 2D-tomogramów, najczęściej w zakresie -60° do $+60^\circ$ (Ryc. 5), która jest przetwarzana w celu dopasowania elementów obrazu, a także usunięcia szumów oraz wykrycia i „zneutralizowania” pojedynczych zdjęć złej jakości lub ich całkowitego braku (np. z powodu tzw. samoistnego „wypadania klatek”). W kolejnym etapie wykonywana jest rekonstrukcja obrazu i tworzenie modeli trójwymiarowych. Przykładowy 3D-model dla plazmodesmy w liściu kukurydzy pokazany jest na Ryc. 6.

Wieloletowa, pracochłonna procedura przygotowania materiału do mikroskopii



Ryc. 6. 3D model plazmodesmy z elementami zwieraczy i desmotubulą skonstruowany na podstawie serii zdjęć pochodzących z tomografii elektronowej.

elektronowej „zmusiła” badaczy do poszukiwania innych rozwiązań obrazowania plazmodesm. Idealnym kandydatem wydawał się mikroskop konfokalny, umożliwiający badania przyżyciowe. Jednak rozdzielczość standardowego mikroskopu konfokalnego utrzymuje się na poziomie około 200 nm w osiach x i y oraz 500 nm w osi z , czyli znacznie „powyżej” rozmiarów pojedynczej plazmodesmy. Dlatego FITZGIBBON i współaut. (2010) w badaniach ultrastruktury plazmodesm u tytoniu (*Nicotiana tabacum*) zastosowali mikroskop typu: three-dimensional structured illumination microscopy (3D-SIM), który osiąga relatywnie wysoką rozdzielczość, w porównaniu do konwencjonalnych

mikroskopów konfokalnych (około 100 nm). Przy wykorzystaniu tego mikroskopu uzyskano szczegółowy obraz plazmodesm z wyróżnieniem rejonu szyjki oraz części centralnej, wraz z lokalizacją białka wirusowego typu „movement protein”.

Opisane techniki obrazowania uniemożliwiają badania przyżyciowe plazmodesm, a więc wyzwaniem dla współczesnych badaczy wydaje się być identyfikacja tych struktur *in vivo* na poziomie rozdzielczości 1 nm. Taka możliwość przyniosłaby dwie korzyści. Z jednej strony, zostałby wyeliminowany problem występowania ewentualnych artefaktów związanych z przygotowaniem materiału do mikroskopii elektronowej. Z drugiej strony, możliwość badań przyżyciowych pozwoliłaby na bezpośrednią analizę funkcji transportowych plazmodesm, zachodzących w czasie rzeczywistym, przy jednoczesnym obrazowaniu (sub)struktury tych kanałów. Takie podejście nie tylko wniosłoby *novum* do tej dziedziny badań, ale być może rozwiązałoby zagadkę, którą stanowi skład elementów zwieraczy, a także umożliwiłoby odkrycie nieznanych dotąd cząsteczek potencjalnie zaangażowanych w regulację przepuszczalności plazmodesm.

Podziękowania

Obserwacje mikroskopowe prowadzono w Laboratorium Mikroskopii Elektronowej, IBD PAN w Warszawie z wykorzystaniem mikroskopu elektronowego JEM 1400 (JEOL Co., Japonia) wyposażonego w system do tomografii elektronowej. Podziękowania dla Szymona Suskiego za pomoc w obsłudze tomografu elektronowego i dla Henryka Kosa za pomoc w konstruowaniu trójwymiarowego modelu plazmodesmy.

LITERATURA

- AMIARD V., MUEH K. E., DEMMIG-ADAMS B., EBBERT V., TURGEON R., ADAMS W. W., 2005. *Anatomical and photosynthetic acclimation to the light environment in species with differing mechanisms of phloem loading*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102, 12968–12973.
- ANISIMOV A. V., EGOROV A. G., 2002. *Plasmodesmata as a modulator of osmotic water fluxes in plants*. Rus. J. Plant Physiol 49, 677–684.
- BADELT K., WHITE R. G., OVERALL R. L., VESK M., 1994. *Ultrastructural specializations of the cell wall sleeve around plasmodesmata*. Am. J. Bot. 81, 1422–1427.
- BALUŠKA F., ŠAMAJ J., NAPIER R., VOLKMANN D., 1999. *Maize calreticulin localizes preferentially to plasmodesmata in root apex*. Plant J. 19, 481–488.
- BALUŠKA F., CVRČKOVÁ F., KENDRICK-JONES J., VOLKMANN D., 2001. *Sink plasmodesmata as gateways for phloem unloading. Myosin VIII and calreticulin as molecular determinants of sink strength?* Plant Physiol. 126, 39–46.
- BENITEZ-ALFONSO Y., JACKSON D., MAULE A., 2011. *Redox regulation of intercellular transport*. Protoplasma 248, 131–140.
- BILSKA A., SOWIŃSKI P., 2010. *Closure of plasmodesmata in maize (Zea mays) at low temperature: a new mechanism for inhibition of photosynthesis*. Ann. Bot. 106, 675–686.

- BLACKMAN L. M., OVERALL R. L., 1998. *Immunolocalization of the cytoskeleton to plasmodesmata of Chara corallina*. Plant J. 14, 733–741.
- BLACKMAN L. M., HARPER J. D. I., OVERALL R. L., 1999. *Localization of a centrin-like protein to higher plant plasmodesmata*. Eur. J. Cell Biol. 78, 297–304.
- BOTHA C. E. J., CROSS R. H. M., LIU L., 2005. *Comparative structure of specialised monocotyledonous leaf blade plasmodesmata*. [W] *Plasmodesmata*. OPARKA K. J. (red.). Blackwell Publishing Ltd., Oxford, 73–89.
- BRECKNOCK S., DIBBAYAWAN T. P., VESK M., VESK P. A., FAULKNER C., BARTON D. A., OVERALL R. L., 2011. *High resolution scanning electron microscopy of plasmodesmata*. Planta 234, 749–758.
- BUVAT R., 1957. *L'infrastructure des plasmodesmes et la continuité des cytoplasmes*. Compt. Rend. Acad. Paris 245, 198–210.
- DING B., TURGEON R., PARTHASARATHY M. V., 1992. *Substructure of freeze-substituted plasmodesmata*. Protoplasma 169, 28–41.
- EHLERS K., SCHULZ M., KOILMANN R., 1996. *Subcellular localization of ubiquitin in plant protoplasts and the function of ubiquitin in selective degradation of outer-wall plasmodesmata in regenerating protoplasts*. Planta 199, 139–151.
- ERWEE M. G., GOODWIN P. B., 1984. *Characterization of the Egeria densa leaf symplast: response to plasmolysis, deplasmolysis and to aromatic amino acids*. Protoplasma 122, 162–168.
- ESAU K., 1953. *Plant Anatomy*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- EVERT R. F., ESCHRICH W., HEYSER W., 1977. *Distribution and structure of the plasmodesmata in mesophyll and bundle-sheath cells of Zea mays L.* Planta 136, 77–89.
- FAULKNER C., AKMAN O. E., BELL K., JEFFREE C., OPARKA K., 2008. *Peeking into pit fields: a multiple twinning model of secondary plasmodesmata formation in tobacco*. Plant Cell Online 20, 1504–1518.
- FITZGIBBON J., BELL K., KING E., OPARKA K., 2010. *Super-resolution imaging of plasmodesmata using three-dimensional structured illumination microscopy*. Plant Physiol. 153, 1453–1463.
- GAMALEI Y., VAN BEL A. J. E., PAKHOMOVA M., SJUTKINA A., 1994. *Effects of temperature on the conformation of the endoplasmic reticulum and on starch accumulation in leaves with the symplasmic minor-vein configuration*. Planta 194, 443–453.
- GOODWIN P. B., 1983. *Molecular size limit for movement in the symplast of the Elodea leaf*. Planta 157, 124–130.
- HEJNOWICZ Z., 2002. *Anatomia i histogeneza roślin naczyniowych*. PWN, Warszawa.
- HOLDAWAY-CLARKE T. L., WALKER N. A., HEPLER P. K., OVERALL R. L., 2000. *Physiological elevations in cytoplasmic free calcium by cold or ion injection result in transient closure of higher plant plasmodesmata*. Planta 210, 329–335.
- KARLSON D. T., FUJINO T., KIMURA S., BABA K., ITOH T., ASHWORTH E. N., 2003. *Novel plasmodesmata associated dehydrin-like proteins in cold-acclimated red-osier dogwood (Cornus sericea)*. Tree Physiol. 23, 759–767.
- KNOX J. P., BENITEZ-ALFONSO Y., 2014. *Roles and regulation of plant cell walls surrounding plasmodesmata*. Curr. Opin. Cell Biol. 22, 93–100.
- LEVY A., ERLANGER M., ROSENTHAL M., EPEL B. L., 2007. *A plasmodesmata-associated β -1,3-glucanase in Arabidopsis*. Plant J. 49, 669–682.
- LIVINGSTON, 1935. *The nature and distribution of plasmodesmata in the tobacco plant*. Am. J. Bot. 22, 75–87.
- MEEUSE A. D. J., 1940. *On the nature of plasmodesmata*. Protoplasma 35, 143–151.
- MORVAN O., QUENTIN M., JAUNEAU A., MARECK A., MORVAN C., 1998. *Immunogold localization of pectin methylesterases in the cortical tissues of flax hypocotyl*. Protoplasma 202, 175–184.
- MURILLO I., CAVALLARIN L., SAN SEGUNDO B., 1997. *The maize pathogenesis-related PRms protein localizes to plasmodesmata in maize radicles*. Plant Cell Online 9, 145–156.
- NORTHOTE D. H., LEWIS D. R., 1968. *Freeze-etched surfaces of membranes and organelles in the cells of pea root tips*. J. Cell Sci. 3, 199–206.
- O'BRIEN T. P., THIMANN K. V., 1967. *Observations on the fine structure of the oat coleoptile*. Protoplasma 63, 417–442.
- OLESEN P., 1979. *The neck constriction in plasmodesmata*. Planta 144, 349–358.
- OLESEN P., ROBARDS A. W., 1990. *The neck region of plasmodesmata: general architecture and some functional aspects*. [W] *Parallels in Cell-to-Cell Junctions in Plants and Animals*. ROBARDS A. W., LUCAS W. J., PITTS J. D., JONGSMA H. J., SPRAY D. C. (red.). Springer-Verlag, Berlin, 145–170.
- OPARKA K. J., PRIOR D. A. M., 1992. *Direct evidence for pressure-generated closure of plasmodesmata*. Plant J. 2, 741–750.
- OPARKA K. J., PRIOR D. A. M., CRAWFORD J. W., 1994. *Behaviour of plasma membrane, cortical ER and plasmodesmata during plasmolysis of onion epidermal cells*. Plant Cell Environ. 17, 163–171.
- ORFILA C., KNOX J. P., 2000. *Spatial regulation of pectic polysaccharides in relation to pit fields in cell walls of tomato fruit pericarp*. Plant Physiol. 122, 775–782.
- OVERALL R. L., BLACKMAN L. M., 1996. *A model of the macromolecular structure of plasmodesmata*. Trends Plant Sci. 1, 307–311.
- PATRICK J. W., 1997. *Phloem unloading: sieve element unloading and post-sieve element transport*. Ann. Rev. Plant Biol. 48, 191–222.
- PATRICK J. W., OFFLER C. E., 1996. *Post-sieve element transport of photoassimilates in sink regions*. J. Exp. Bot. 47, 1165–1177.
- PIRŠELOVÁ B., MISTŘÍKOVÁ V., LIBANTOVÁ J., MORAVČÍKOVÁ J., MATUŠÍKOVÁ I., 2012. *Study on metal-triggered callose deposition in roots of maize and soybean*. Biologia 67, 698–705.
- RADFORD J. E., WHITE R. G., 1998. *Localization of a myosin-like protein to plasmodesmata*. Plant J. 14, 743–750.
- RADFORD J. E., VESK M., OVERALL R. L., 1998. *Callose deposition at plasmodesmata*. Protoplasma 201, 30–37.
- RAFFAELE S., BAYER E., LAFARGE D., CLUZET S., GERMAN RETANA S., BOUBEKEUR T., LEBORGNE-CASTEL N., CARDE J.-P., LHERMINIER J., NOIROT E., SATIAT-JEUNEMAITRE B., LAROCHE-TRAINEAU J., I INNI, 2009. *Remorin, a solanaceae protein resident in membrane rafts and plasmodesmata, impairs potato virus X movement*. Plant Cell Online 21, 1541–1555.
- REICHELT S., KNIGHT A. E., HODGE T. P., BALUSKA F., SAMAJ J., VOLKMANN D., KENDRICK-JONES J., 1999. *Characterization of the unconventional myosin VIII in plant cells and its localization at the post-cytokinetic cell wall*. Plant J. 19, 555.
- RINNE P. L., VAN DER SCHOOT C., 1998. *Symplasmic fields in the tunica of the shoot apical meristem coordinate morphogenetic events*. Development 125, 1477–1485.
- RITZENTHALER C., FINDLAY K., ROBERTS K., MAULE A. J., 2000. *Rapid detection of plasmodesmata in purified cell walls*. Protoplasma 211, 165–171.

- ROBARDS A. W., 1968. *Desmotubule a plasmodesmal substructure*. Nature 218, 784-784.
- ROBARDS A. W., LUCAS W. J., 1990. *Plasmodesmata*. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 41, 369-419.
- ROBERTS A. G., 2005. *Plasmodesmal structure and development*. [W] *Plasmodesmata*. OPARKA K. J. (red.). Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 1-32.
- ROBERTS A. G., OPARKA K. J., 2003. *Plasmodesmata and the control of symplastic transport*. Plant Cell Environ. 26, 103-124.
- ROY S., WATADA A. E., WERGIN W. P., 1997. *Characterization of the cell wall microdomain surrounding plasmodesmata in apple fruit*. Plant Physiol. 114, 539-547.
- SAMARDAKIEWICZ S., KRZESLOWSKA M., BILSKI H., BARTOSIEWICZ R., WOZNY A., 2012. *Is callose a barrier for lead ions entering Lemna minor L. root cells?* Protoplasma 249, 347-351.
- SCHAPIRE A. L., VOIGT B., JASIK J., ROSADO A., LOPEZ-COBOLLO R., MENZEL D., SALINAS J., MANCUSO S., VALPUESTA V., BALUŠKA F., BOTELLA M. A., 2008. *Arabidopsis synaptotagmin 1 is required for the maintenance of plasma membrane integrity and cell viability*. Plant Cell 20, 3374-3388.
- SCHULZ A., 1995. *Plasmodesmal widening accompanies the short-term increase in symplasmic phloem unloading in pea root tips under osmotic stress*. Protoplasma 188, 22-37.
- SIVAGURU M., FUJIWARA T., ŠAMAJ J., BALUŠKA F., YANG Z., OSAWA H., MAEDA T., MORI T., VOLKMAN D., MATSUMOTO H., 2000. *Aluminum-induced 1 $\rightarrow$ 3- β -D-glucan inhibits cell-to-cell trafficking of molecules through plasmodesmata. A new mechanism of aluminum toxicity in plants*. Plant Physiol. 124, 991-1006.
- SOWIŃSKI P., 2002. *Plazmodesmy, jako element systemu komunikacji w roślinach*. Postępy Biologii Komórki 4, 627-635.
- SOWIŃSKI P., RUDZIŃSKA-LANGWALD A., KOBUS P., 2003. *Changes in plasmodesmata frequency in vascular bundles of maize seedling leaf induced by growth at sub-optimal temperatures in relation to photosynthesis and assimilate export*. Environ. Exp. Bot. 50, 183-196.
- SOWIŃSKI P., BILSKA A., BARAŃSKA K., FRONK J., KOBUS P., 2007. *Plasmodesmata density in vascular bundles in leaves of C4 grasses grown at different light conditions in respect to photosynthesis and photosynthate export efficiency*. Environ. Exp. Bot. 61, 74-84.
- STONEBLOOM S., BRUNKARD J. O., CHEUNG A. C., JIANG K., FELDMAN L., ZAMBRYSKI P., 2012. *Redox states of plastids and mitochondria differentially regulate intercellular transport via plasmodesmata*. Plant Physiol. 158, 190-199.
- STRUGGER S., 1957. *Der elektronenmikroskopische Nachweis von Plasmodesmen mit Hilfe der Uranylimprägnierung an Wurzelmeristem*. Protoplasma 48, 231-236.
- SUN C. N., 1960. *A demonstration, by electron microscopy, of plasmodesmata in the embryonic leaf cell walls of Cibotium chamissoi*. Bull. Torrey Bot. Club 87, 337-341.
- THOMSON W. W., PLATT-ALOIA K., 1985. *The ultrastructure of the plasmodesmata of the salt glands of Tamarix as revealed by transmission and freeze-fracture electron microscopy*. Protoplasma 125, 13-23.
- TILNEY L. G., COOKE T. J., CONNELLY P. S., TILNEY M. S., 1991. *The structure of plasmodesmata as revealed by plasmolysis, detergent extraction, and protease digestion*. J. Cell Biol. 112, 739-747.
- TUCKER E. B., 1990. *Calcium-loaded 1,2-bis(2-amino-phenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid blocks cell-to-cell diffusion of carboxyfluorescein in staminal hairs of Setcreasea purpurea*. Planta 182, 34-38.
- TURNER A., WELLS B., ROBERTS K., 1994. *Plasmodesmata of maize root tips: structure and composition*. J. Cell Sci. 107, 3351-3361.
- UEKI S., CITOVSKY V., 2005. *Identification of an interactor of cadmium ion-induced glycine-rich protein involved in regulation of callose levels in plant vasculature*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102, 12089-12094.
- VAN GESTEL K., SLEGGERS H., VON WITSCH M., ŠAMAJ J., BALUŠKA F., VERBELEN J. P., 2003. *Immunological evidence for the presence of plant homologues of the actin-related protein Arp3 in tobacco and maize: subcellular localization to actin-enriched pit fields and emerging root hairs*. Protoplasma 222, 45-52.
- WAGMANN E., CHEN M.-H., BACHMAIER R., GHOSHROY S., CITOVSKY V., 2000. *Regulation of plasmodesmal transport by phosphorylation of tobacco mosaic virus cell-to-cell movement protein*. EMBO J. 19, 4875-4884.
- WHITE R. G., BADELT K., OVERALL R. L., VESK M., 1994. *Actin associated with plasmodesmata*. Protoplasma 180, 169-184.
- WILLISON J. H. M., 1976. *Plasmodesmata: a freeze-fracture view*. Can J Bot 54, 2842-2847.
- WOJTASZEK P., ANIELSKA-MAZUR A., GABRYŚ H., BALUŠKA F., VOLKMAN D., 2005. *Recruitment of myosin VIII towards plastid surfaces is root-cap specific and provides the evidence for actomyosin involvement in root osmosensing*. Funct. Plant Biol. 32, 721-736.
- YAHALOM A., LANDO R., KATZ A., EPEL B. L., 1998. *A calcium-dependent protein kinase is associated with maize mesocotyl plasmodesmata*. J. Plant Physiol. 153, 354-362.
- ZAMBRYSKI P., CRAWFORD K., 2000. *Plasmodesmata: gatekeepers for cell-to-cell transport of developmental signals in plants*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 16, 393-421.

ANNA BILSKA-KOS

Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy

Radzików, 05-870 Błonie

Zakład Fizjologii Roślin

Pozawydziałowy Zamiejscowy Instytut Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych Uniwersytet Rzeszowski

Werynia 502, 36-100 Kolbuszowa

PLAZMODESMY – CZYLI O ELEMENTACH MIĘDZYKOMÓRKOWEJ SIECI KOMUNIKACYJNEJ U ROŚLIN

Streszczenie

Plazmodesmy, cytoplazmatyczne kanały transportowe występujące w ścianie komórkowej, tworzą sieć komunikacyjną w organizmie roślinnym. Przez plazmodesmy przemieszczają się głównie produkty fotosyntezy, stąd zmiany w drożności tych kanałów są istotne dla optymalnego wzrostu i rozwoju roślin. W pracy przedstawiono generalną budowę plazmodesmy wraz z różnymi modyfikacjami w strukturze. Omówione zostały również zmiany w przepuszczalności plazmodesm pod wpływem stresów abiotycznych w relacji do wydajności transportu symplastycznego. Dodatkowo opisane zostały techniki obrazowania plazmodesm - wczoraj i dziś.

ANNA BILSKA-KOS

Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy

Radzików, 05-870 Błonie

Zakład Fizjologii Roślin

Pozawydziałowy Zamiejscowy Instytut Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych Uniwersytet Rzeszowski

Werynia 502, 36-100 Kolbuszowa

PLASMODESMATA – ELEMENTS OF COMMUNICATION NETWORK IN PLANTS

Summary

Plasmodesmata, cytoplasmic transport channels present in the cell wall form a communication network in the plant body. The nutrients mainly move by plasmodesmata thus changes in the permeability of these channels are important for optimal growth and development of plants. The paper presents a general construction of plasmodesmata with various modifications in the structure. Changes in the permeability of plasmodesmata under the influence of abiotic stresses in the relation to the symplasmic transport efficiency are also discussed. In addition, imaging techniques of plasmodesmata – past and present have been described.