

## Rozdział 7

### ***Biologia eksperymentalna roślin***

*Przemysław Wojtaszek*

Zakład Biologii Molekularnej i Komórkowej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza,  
ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań, email: przemow@amu.edu.pl

*Wprowadzenie + Rys historyczny + Procesy genetyczne + Kwasy nukleinowe roślin – szkoła poznańska + Biologia komórki roślinnej + Morfologia i biologia rozwoju + Regulatory wzrostu i cząsteczki sygnałowe + Rośliny w środowisku + Reakcje roślin na stres + Oddziaływania roślin z innymi organizmami + Uwagi końcowe*

### ***Wprowadzenie***

Rośliny są podstawą życia na Ziemi. Poszukując określenia, które najlepiej oddałoby ich swoistość, warto zwrócić się ku definicji zaproponowanej przez Karla Niklasa: **Rośliny to eukariotyczne fototrofy**. To one w toku ewolucji wykształciły zdolność wiązania CO<sub>2</sub>, napędzając koło krążenia materii organicznej na Ziemi. Wśród roślin znajdują się najstarsze, najdłużej żyjące organizmy, ale i te największe. Bezpośrednio lub pośrednio rośliny zapewniają pożywienie wszystkim grupom organizmów na Ziemi. Wykorzystując fotosyntezę wiążą rocznie około 200 mld ton węgla. Magazynują też w ten sposób ogromne ilości energii. W ich organizmach są wytwarzane polimery, które występują najobficiej na Ziemi: celuloza – polisacharyd, ligniny – związki fenolowe oraz karboksylaza/oksygenaza rybulozo-1,5-bisfosforanu, białko znane bardziej pod swoją skróconą nazwą – rubisco.

Rośliny odgrywają również niezwykle ważną rolę w życiu człowieka, który wykorzystuje je od zarania swoich dziejów. Nie tylko jako źródło energii, czy to w postaci kopaliny, czy też odnawialnej. Bez roślin nie miałyby racji bytu w zasadzie cała gospodarka, a w szczególności przemysł: papierniczy, meblarski czy

spożywczy. To, że można mieszkać w drewnianych domach jest dla wszystkich oczywiste. To, że każdy z nas w chwili czytania tych słów jest ubrany w roślinne ściany komórkowe, a tym są w istocie włoski nasienne bawełny lub włókna lnu, już takie oczywiste nie jest. Co więcej, gwałtowny wzrost populacji ludzkiej wymusza jeszcze silniejszy zwrot w kierunku roślin – naturalnego i najważniejszego źródła pożywienia, ale także nadziei na zapewnienie odnawialnej formy energii w postaci biopaliw.

Gdy spojrzy się, jak kształtowały się relacje poznania naukowego w odniesieniu do roślin, wtedy, niestety, rola roślin w świecie biologicznym schodzi na plan dalszy. Choć wiele znamienitych odkryć zostało poczynionych w trakcie badań roślin, to jednak nie są one dziś organizmami, których badania prowadzą do przełomu w naszym pojmowaniu świata. Nauka stała się niezwykle antropocentryczna. Dość powiedzieć, że samo pojęcie **biologia** (gr. *bios* – życie, *logos* – słowo), zaproponowane przez Karla Friedricha Burdacha w 1800 r., początkowo oznaczało naukę o człowieku. Dopiero znacznie później termin ten zaczął oznaczać naukę o wszelkich przejawach życia. Z drugiej strony, warto także zauważyć, że rośliny pojawiają się w badaniach wybitnych postaci, znanych przede wszystkim z osiągnięć w innych dziedzinach. W tym miejscu przywołam Karola Darwina, który wraz ze swoim bratem Sir Francisem Darwinem, badali reakcje roślin na bodźce i opisali je w książce *The Power of Movement in Plants*. Takim człowiekiem był również wielki poeta niemiecki, Johann Wolfgang von Goethe, którego można nazwać ojcem morfologii roślin, którą opisał w dziele *Versuch die metamorphose der Pflanzen zu erklären*.

W minionym stuleciu rozwój biologii roślin był niezwykle dynamiczny. Podobnie, jak to miało miejsce w badaniach bakterii, grzybów, zwierząt, czy człowieka, nastąpiła znacząca specjalizacja, której towarzyszyło wykształcenie odrębnej terminologii, często trudno zrozumiałej dla obserwatora zewnętrznego. Jak sugeruje tytuł, rozdział niniejszy powinien stanowić próbę całościowego spojrzenia na historię biologii eksperymentalnej roślin. Jest to właściwie niemożliwe do zrealizowania w założonej objętości. Stąd też, zostaną tu przedstawione jedynie wybrane obszary tematyczne.

## ***Rys historyczny***

Rzut oka na listę odkryć naukowych ostatnich dziesięcioleci pokazuje, że badania roślin postępują niejako w ślad za badaniami zwierząt, drożdży, czy też prokariotów. Wiele koncepcji teoretycznych, czy metod postępowania jest adaptowanych do badań organizmów czy komórek roślinnych z innych dyscyplin naukowych. Warto jednak zwrócić uwagę, że w historii biologii nie zawsze tak było i wiele najwybitniejszych odkryć zostało dokonanych na roślinach lub w badaniach roślin. Jeszcze w połowie XVII wieku uczeni uważali, głównie na podstawie badań anatomicznych zwierząt i człowieka, że w budowie wewnętrznej organizmu można wyróżnić organy i tkanki, jednak te są już strukturami ciągłymi, dalej nie podzielonymi na mniejsze części. Pierwszym sygnałem, że może być inaczej były obserwacje Roberta Hooke'a, który, wykorzystując skonstruowany przez siebie ulepszony mikroskop, pierwszy ujrział świat dotąd niedostępny ludzkiemu poznaniu. W swoim dziele *Micrographia* z 1665 roku pokazał, że skrawek korka jest podzielony na drobne przedziały, które nazwał **komórkami**. Nie miał jeszcze świadomości, że obserwuje ściany komórkowe – jedyne pozostałości tego, co kiedyś było żywymi komórkami. Obecność ścian komórkowych, stosunkowo łatwo wykrywalna przy użyciu pierwszych mikroskopów sprawiała, że naukowcom również w późniejszych latach łatwiej było zaakceptować komórkową organizację budowy roślin niż zwierząt. Z taką koncepcją już na początku XIX w. wystąpił Charles Francois Brisseau de Mirbel, wsparty następnie przez Jean Baptiste de Lamarcka oraz Henri Detrucheta. Podsumowaniem tych obserwacji stało się dzieło Matthiasa Schleidena z roku 1838 – *Beiträge der Phytogenese*. Dopiero rok później zoolog, Theodor Schwann, wykazał, że również zwierzęta mają ciała zbudowane z komórek, a zatem organizacja komórkowa jest jedną z podstawowych cech organizmów żywych. W następnych dziesięcioleciach **teoria komórkowa**, obok teorii ewolucji, stała się jednym z najważniejszych filarów współczesnej biologii. Co ciekawe zresztą, to właśnie wśród badaczy roślin, jeszcze w XIX w., zrodziła się koncepcja, która do pewnego stopnia neguje znaczenie organizacji komórkowej, zwana **teorią**

**organizmalną.** Zainteresowanych tym zagadnieniem odsyłam do dokładniejszego omówienia w innym miejscu (Wojtaszek i in. 2006).

Komórki i tkanki roślinne, ze względu na łatwość ich wyróżnienia, były obiektem wielu innych badań. Początki anatomii roślin w drugiej połowie XVII w. wiąże się z działalnością Nehemiaha Grew i Marcello Malpighiego. W 1831 r. Robert Brown badając komórki storczyków odkrył jądro komórkowe. W drugiej połowie lat 30. XIX w. Hugo von Mohl, profesor Uniwersytetu w Tybindze, po raz pierwszy wykazał, że komórki roślin mnożą się przez podział, w trakcie którego dochodzi do uformowania przegrody komórkowej. Jemu oraz Janowi Ewangeliście Purkynie przypisuje się autorstwo pojęcia **protoplazma** i opracowanie koncepcji protoplazmy jako materii życia. Upowszechnienie się stosowania związków chemicznych do barwienia słabo widocznych struktur komórkowych stanowiło znaczący krok naprzód w badaniach mikroskopowych. Dzięki temu w badaniach podziałów komórek roślinnych poczyniono kilka kolejnych ważnych obserwacji. Pierwsze rysunki chromosomów obserwowanych w trakcie mejozy pochodzą z 1851 roku z pracowni Wilhelma Hofmeistera. Kariokinezę, czyli podział jądra komórkowego, opisał w 1875 roku Edward Strasburger. Jego późniejsze badania doprowadziły do pełnego opisu mitozy wraz ze stosowanym do dziś podziałem na poszczególne fazy. Strasburgera uznaje się również za autora terminów **cytoplazma** i **nukleoplazma**. Wreszcie, w latach 50. XX w. w trakcie badań cyklu komórkowego w stożkach wzrostu korzeni fasoli stwierdzono, że synteza DNA ma miejsce w interfazie, co oznacza, że w cyklu komórkowym należy wyróżnić nie dwie fazy, lecz cztery.

### ***Procesy genetyczne***

Jedność świata żywego na poziomie molekularnym sprawia, że pozycja filogenetyczna modelu organizmalnego, wykorzystanego do konkretnych badań ma do pewnego stopnia znikome znaczenie. Biologia molekularna, od początków jej kształtowania, bazowała na kilku modelach, takich jak *Escherichia coli*, czy *Saccharomyces cerevisiae*, a wnioski wynikające z uzyskanych wyników były niejako automatycznie rozciągane na wszystkie pozostałe grupy organizmów.

Sytuacja zaczęła się zmieniać w ostatnich dziesięcioleciach, gdy zdano sobie sprawę z istnienia mechanizmów molekularnych mniej lub bardziej swoistych ewolucyjnie. Trzeba jednak zaznaczyć, że rośliny nigdy nie stały się popularnym modelem badawczym biologii i genetyki molekularnej. Nagrodą Nobla są wyróżniane między innymi osiągnięcia w zakresie fizjologii lub medycyny, co jednoznacznie kojarzy się z królestwem zwierząt. Co więcej, patrząc na przyznane Nagrody Nobla, można wręcz powiedzieć, że wyniki otrzymywane w badaniach roślin znacznie trudniej uzyskiwały powszechną akceptację. Dwa przykłady ilustrują tę tezę. Barbara McClintock, która odkryła ruchome elementy genetyczne badając kukurydzę w 1948 roku, otrzymała Nagrodę Nobla z Fizjologii lub Medycyny po 35 latach, bo dopiero w 1983 roku! W pewnym sensie i tak miała szczęście, gdyż przyznaniu Nagrody Nobla w 2006 roku towarzyszył skandal nagłośniony także w czasopiśmie typu *Nature* czy *Science*. W tym to bowiem roku Komitet Noblowski przyznał nagrodę za odkrycie zjawiska RNAi. Wśród odkrywców zabrakło badaczy roślin, choć to właśnie oni dokonali kluczowych odkryć procesów, wtedy jeszcze nie nazywanych RNAi.

Ze względu na to, że biologii molekularnej, kwasom nukleinowym i białkom, poświęcone są odrębne rozdziały tego opracowania, w tym miejscu zawarte zostaną jedynie krótkie uwagi odnoszące się do badań roślin. Punktem wyjścia powinna stać się genetyka roślin. Ze względów, o których szczegółowo piszę poniżej, genetyka roślin przez wiele lat nie rozwijała się w Polsce powojennej w ogóle. To sprawiło, że obecnie genetyka roślin jako dyscyplina naukowa uprawiana jest właściwie wyłącznie w Uniwersytecie Śląskim (Miroslaw Małuszyński, Iwona Szarejko) oraz w Instytucie Genetyki Roślin PAN. Niewątpliwym osiągnięciem genetycznym stało się zbudowanie fundamentów genomiki strukturalnej dla gatunków roślin z rodziny *Brassicaceae* przez Jana Sadowskiego i współpracowników z dwóch, kierowanych przez niego zespołów, z Zakładu Biotechnologii UAM oraz z Instytutu Genetyki Roślin PAN. Istotne przy tym okazało się wprowadzenie nowych technik badawczych. Ulepszona technika wizualizacji *in situ* umożliwiła udokumentowanie triploidalnego pochodzenia genomu *Brassica oleracea*. Stało się to również podstawą do zaproponowania nowego modelu ewolucji złożonych genomów roślin z rodziny kapustowatych.

Analizy cytogenetyczne *A. thaliana* są również bardzo mocną stroną zespołu Jolanty Małuszyńskiej z Uniwersytetu Śląskiego. Genetyka roślin to także zastosowania praktyczne. Tu należy wspomnieć o Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin z siedzibą w Radzikowie, którego oddziały, rozsiane po Polsce, specjalizują się w badaniach wybranych grup roślin, np. Młochów – ziemniaka, Poznań – roślin oleistych, głównie rzepaku.

W ostatnich dziesięcioleciach największe chyba zainteresowanie w biologii molekularnej wzbudziły dwa zjawiska: i) epigenetyczna regulacja ekspresji genów oraz ii) wykrycie i określenie regulatorowej funkcji nowego typu cząsteczek RNA, określanych jako mikroRNA. W obu tych obszarach badawczych polscy uczeni mają swój ważny udział. Procesami epigenetycznymi określa się te zjawiska, które są związane z funkcjonowaniem genomu, lecz nie są zapisane w jego sekwencjach. Jednym z takich mechanizmów jest regulacja struktury chromatyny, czyli kontrolowanie stanu upakowania DNA. Proces ten wpływa np. na intensywność transkrypcji, poprzez zmianę dostępności maszyny transkrypcyjnej do genów. Jednym z możliwych mechanizmów jest wprowadzanie lub usuwanie modyfikacji potranslacyjnych w histonach, tworzących białkową część chromatyny. Badaniami tych procesów u roślin zajmuje się Andrzej Jerzmanowski ze współpracownikami z Zakładu Biologii Molekularnej Roślin UW i z Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN. Skupiają swoją uwagę na różnych białkach uczestniczących w procesie remodelowania chromatyny, poszukują nowych partnerów białkowych tych działań, a także analizują zmienność modyfikacji potranslacyjnych histonów i określają ich znaczenie.

### ***Kwasy nukleinowe roślin – szkoła poznańska***

Szczególnym przykładem synergii badawczej, wynikającej z pojawienia się kilku silnych, stymulujących się wzajemnie grup naukowych jest historia ośrodka poznańskiego, specjalizującego się w biologii molekularnej roślinnych kwasów nukleinowych. Badania nad biosyntezą białka u roślin zostały zapoczątkowane w ówczesnej Wyższej Szkole Rolniczej. Założycielem i pierwszym, od roku 1956 kierownikiem Katedry Biochemii był Jerzy Pawełkiewicz. Początek lat 60. XX w.

był okresem kluczowych odkryć związanych z mechanizmem biosyntezy białka. Wtedy rozszyfrowywano i udawadniano eksperymentalnie właściwości kodu genetycznego, podstawowego zestawu reguł funkcjonowania translacji. W Poznaniu skupiono się wówczas na jednym z pierwszych etapów tego procesu, to znaczy na reakcji aminoacylacji. To wymagało również scharakteryzowania funkcji transferowych kwasów rybonukleinowych. Co ciekawe, splot okoliczności sprawił, że obiektem badań stały się rośliny motylkowate, głównie łubin. Zawdzięczamy to przede wszystkim osiągnięciom genetycznym i hodowlanym Stefana Barbackiego, ówczesnego kierownika Katedry Genetyki Roślin WSR. Wybór ten okazał się o tyle szczęśliwy, że przyczynił się też do znaczących osiągnięć w chemii alkaloidów chinolizydynowych (Maciej Wiewiórowski, UAM). „Złote lata” badań kwasów nukleinowych przypadły głównie na lata 70., gdy w Poznaniu działały trzy ośrodki: Zakład Stereochemii Produktów Naturalnych PAN – obecnie Instytut Chemii Bioorganicznej PAN (Maciej Wiewiórowski, 1918-2005), Katedra Biochemii AR (Jerzy Pawełekiewicz, 1922-2008) oraz Zakład Biochemii Biopolimerów UAM (Jacek Augustyniak). Na ten okres przypadają najciekawsze odkrycia z zakresu chemii i biochemii tRNA, procesu aminoacylacji, funkcjonowania rybosomów, czy też białkowych czynników wspomagających translację. W latach późniejszych znaczenie zyskały również badania bardziej dynamicznych procesów, ściśle już związanych ze zjawiskami biologicznymi, np. z procesem nawiązywania symbiozy między roślinami motylkowatymi a bakteriami wiążącymi azot (patrz niżej). Wspecjalizowała się w tym grupa Andrzeja B. Legockiego, który w międzyczasie przeniósł się i objął kierownictwo IChB PAN. Warto również w tym miejscu wspomnieć, że biologowie molekularni korzystali w swych badaniach ze współpracy z biologami komórki. Właśnie badania procesów symbiozy są tego świadectwem. Charakterystyka cytologiczna i ultrastrukturalna procesu brodawkowania była efektem współpracy ze świetnym zespołem Władysława Golinowskiego z SGGW w Warszawie, natomiast analizy cytologiczne z wykorzystaniem technik hybrydyzacji *in situ*, prowadzone przez zespół Marii J. Olszewskiej, doprowadziły do odkrycia zróżnicowania ekspresji nodulin.

Jak wspomniano wcześniej, jednym z najnowszych i najciekawszych odkryć w biologii molekularnej ostatnich lat jest wykrycie mikroRNA. Te małe, liczące 21-24 nukleotydów cząsteczki RNA są silnymi regulatorami procesów rozwojowych. Odkryte zaledwie kilka lat temu są obiektem bardzo intensywnych badań, także ze względu na potencjalne zastosowania terapeutyczne. Tradycja badań kwasów nukleinowych w Poznaniu zaowocowała wyłonieniem się nurtu badań metabolizmu RNA. Wierni modelom roślinnym pozostali uczniowie Jacka Augustyniaka, działający w Zakładzie Ekspresji Genów UAM, Zofia Szweykowska-Kulińska i Artur Jarmołowski. Ich pracom zawdzięczamy m.in. i) scharakteryzowanie roślinnych kompleksów białkowych wiążących się z końcem 5' mRNA; ii) badania zjawiska alternatywnego splicingu u roślin; iii) identyfikację oraz poznanie struktury i biogenezy wybranych genów kodujących roślinne mikroRNA.

### ***Biologia komórki roślinnej***

Tradycyjnie, anatomie roślin rozpatruje się zwykle łącznie z cytologią, i do pewnego stopnia przeciwstawia morfologii. Ze względu na klarowność opisu historycznego takie rozróżnienie wydaje się stosowne. Ma ono również pewne uzasadnienie merytoryczne. Początkowo bowiem, w czasach Goethego, a również i później, **morfologia** była traktowana jako nauka o charakterze holistycznym, analizująca i opisująca procesy rozwojowe na poziomie zmian kształtu i budowy zewnętrznej tkanek, organów i całych roślin, jak również powiązania ewolucyjne między różnymi częściami roślin. Przeciwstawiano jej właśnie **anatomie**, **histologię** i **cytologię** roślin, które były uważane za nauki redukcjonistyczne, ukazujące szczegóły budowy części roślin opisywanych przez morfologię. Z dzisiejszej perspektywy widać, że w ten sposób dyscypliny te znakomicie się uzupełniały. Jeszcze później, na styku tych wszystkich nauk wyłoniła się **embriologia** roślin, która skupiła się na szczegółowym opisie procesów rozmnażania roślin. W XX w. te wszystkie dyscypliny w zasadzie zatraciły swój opisowy charakter i stały się typowymi naukami doświadczalnymi, budując



wspólnie, również z udziałem biochemii, biologii molekularnej, czy fizjologii, dyscyplinę nazywaną **biologią komórki**.

Opisując osiągnięcia polskich uczonych nie sposób nie zacząć od Edwarda Strasburgera (1844-1912). Urodzony w Warszawie, studiował w Paryżu, Bonn i Jenie, gdzie się doktoryzował w 1866 r., jednak jego pierwszym miejscem pracy stała się Szkoła Główna w Warszawie, czyli poprzedniczka Uniwersytetu Warszawskiego. Później przeniósł się do Jeny, a ostatnie 30 lat życia spędził w Bonn, gdzie był profesorem, a także rektorem Uniwersytetu. Uważa się go za współtwórcę współczesnej cytologii roślin. Do osiągnięć wymienionych już wcześniej należy dodać m.in. opisanie zjawiska mejozy u roślin wyższych i wyjaśnienie znaczenia procesu redukcji liczby chromosomów w jej trakcie, czy też opisanie procesów zapłodnienia u nagonasiennych i paprotników. Na całym świecie jest znany również jako główny autor klasycznego podręcznika botaniki: *Lehrbuch der Botanik*, napisanego wspólnie z Fritzem Nolle, Hobartem C. Porterem, Heinrichem Schenckiem i Andreasem F. W. Schimperem. Jego pierwsze wydanie ukazało się w 1894 roku. Do dziś książka ta miała ponad 40 wydań i nadal znana jest pod zwyczajową nazwą podręcznika Strasburgera.

W okresie międzywojennym badania z zakresu cytologii roślin prowadzono w zasadzie wyłącznie w Uniwersytecie Warszawskim, gdzie działał Zygmunt Wóycicki (1871-1941), znakomity embriolog i eksperymentator. Pod jego kierunkiem szlify zdobywali działający również po wojnie: Anna Wałek-Czarnecka, Waław Gajewski, czy Henryk Teleżyński. Ten ostatni, jeszcze przed wojną, badając strukturę chromosomów i cykl ich przemian w jądrze, jako pierwszy na świecie wykazał w obserwacjach przyżyciowych ciągłość rozwojową chromosomów.

Na rozwoju biologii doświadczalnej roślin w Polsce w XX w. swoje okrutne piętno położyły dwie katastrofy dwóch totalitaryzmów. Ciągłość biologiczną, a więc i ciągłość naukową zniszczyła II wojna światowa. Stąd pierwsze dziesięciolecie powojenne to przede wszystkim nie etap działalności stricte naukowej, lecz przede wszystkim organizacyjnej, związanej z odbudową zniszczonej bazy materialnej. W dość krótkim czasie w istniejących lub powstających uniwersytetach utworzono lub odtworzono katedry, których

głównym celem działania stała się biologia eksperymentalna roślin we wszystkich jej przejawach. Niestety, okres tuż po wojnie, na przełomie lat 40. i 50., to również szaleństwo „nowej biologii”, czyli łysenkizmu zaimportowanego ze Związku Sowieckiego i wprowadzanego odgórnie w Polsce. Jego konsekwencją stało się zahamowanie rozwoju wielu dziedzin nauk biologicznych, szczególnie genetyki, w tym i genetyki roślin. Tych uczonych, którzy sprzeciwiali się „jedynie słusznym” koncepcjom, spotykały konsekwencje administracyjne. Genetyk, Waław Gajewski (1911-1997), otrzymał zakaz prowadzenia zajęć ze studentami; powrócił do nich dopiero w 1956 r. Treści zawarte w jego skrypcie „Genetyka” rozpowszechniano jednak na zajęciach z cytologii roślin w postaci zagadnień dotyczących cytogenetyki. Czynił tak m.in. prof. Teleżyński, który również otwarcie sprzeciwiał się uznaniu naukowości podstaw „nowej biologii”.

W latach późniejszych właściwie w większości polskich ośrodków naukowych zaczęły rozwijać się badania z zakresu biologii komórki roślinnej, a polscy naukowcy włączyli się w nurt badań światowych. Z czasem badania różnych aspektów funkcjonowania roślin i komórek roślinnych pojawiły się i w innych zakładach, niekoniecznie niosących w nazwie anatomię czy cytologię roślin. Krótki z konieczności przegląd najważniejszych miejsc na mapie naukowej Polski rozpocząć należy od Uniwersytetu Łódzkiego, który szybko, dzięki działalności Marii J. Olszewskiej, stał się głównym ośrodkiem badawczym i szkołą kadr nowoczesnej cytochemii i cytogenetyki molekularnej w Polsce. Wykorzystując staże w wiodących ośrodkach zagranicznych prof. Olszewska wprowadziła do praktyki badawczej wiele metod doświadczalnych, m.in. autoradiografię na poziomie komórkowym, czy też przystosowała wybrane techniki biochemiczne do badań *in situ*. Wśród wielu ważnych wyników naukowych wymienić należy: i) wykazanie na początku lat 60. na modelu *Acetabularia mediterranea*, że RNA cytoplazmatyczny jest syntezowany w jądrze komórkowym; ii) udowodnienie, że w niciach spermatogenicznych ramienicy *Chara vulgaris* mamy do czynienia z synchronicznymi podziałami komórkowymi, lecz w cyklu komórkowym właściwie brakuje fazy G1, a po ostatnim podziale komórki przekształcają się w plemniki; iii) opracowanie techniki synchronizacji cykli komórkowych w merystemach roślin wyższych przez zastosowanie

czynników fizycznych, takich jak światło, czy temperatura; iv) wykorzystanie tej techniki do analizy transportu rRNA między jądrem i cytoplazmą, czy też do badań procesu endoreplikacji. Wspomnieć również należy, że Maria J. Olszewska była autorką przełomowego podręcznika akademickiego (1971), który na dziesięciolecie wyznaczył standardy nauczania cytologii roślin. Dopiero po ponad 30 latach w księgarniach pojawił się nowy podręcznik biologii komórki roślinnej (Wojtaszek i in. 2006, 2007). Spośród współpracowników i uczniów prof. Olszewskiej wymienić należy: Andrzeja K. Kononowicza, Marię Kwiatkowską, Janusza Maszewskiego.

Z Uniwersytetu Łódzkiego wywodzi się również Bohdan Rodkiewicz (1925-1998), który w Uniwersytecie Marii Curie-Skłodowskiej stworzył po wojnie znakomity ośrodek embriologii doświadczalnej roślin. Początkowo zajmował się hodowlą tkanek roślinnych oraz cytofotometrycznym i autoradiograficznym oznaczaniem DNA. W latach późniejszych zajął się analizą procesu megasporogenezy u roślin okrytozalążkowych. Do najciekawszych należą badania mechanizmów rozdzielania organelli komórkowych w mejozie i polarnego rozwoju zarodków w młodych nasionach. W UMCS w Lublinie funkcjonuje również znakomity ośrodek badań biofizycznych, zwłaszcza biofizyki fotosyntezy, ale również elektrofizjologii roślin, którego rozwój i powstanie nie byłyby możliwe bez aktywności Adama Paszewskiego i Tadeusza Zawadzkiego. To oni, w pierwszej połowie lat 70., wykazali występowanie potencjałów czynnościowych u łubinów. Nieco później, bo w 1978 roku, Stanisław Krawczyk udowodnił występowanie kanałów jonowych w komórkach roślin. Badania elektrofizjologiczne są nadal prowadzone w UMCS w Zakładzie Biofizyki pod kierunkiem Kazimierza Trębacza.

Ośrodkiem, który w szczególny sposób połączył biologię komórki z biofizyką był i jest Instytut Biologii Molekularnej UJ, funkcjonujący obecnie jako Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ. Jego współorganizatorem i pierwszym dyrektorem był Jan Zurzycki (1925-1984). Zastąpił w świecie swoimi badaniami rozmieszczenia chloroplastów w komórkach roślin i zmian tegoż rozmieszczenia wywołanych światłem. Jest to niezwykle ważne przystosowanie roślin umożliwiające im optymalizację wydajności fotosyntezy w warunkach oświetlenia

o zmiennej intensywności. Prof. Zurzycki wykrył i określił widmo czynnościowe procesu rozmieszczania chloroplastów, a więc ustalił, przy jakich długościach fali świetlnej następuje uruchomienie tego procesu. Wiele swoich badań prowadził wykorzystując własnoręcznie konstruowaną, unikatową aparaturę pomiarową. Badania chloroplastów lub, szerzej, zjawisk związanych z fotosyntezą są kontynuowane do dziś. Kazimierz Strzałka rozwija wiele badań z pogranicza biochemii i biofizyki, analizując funkcjonowanie fotosyntezy, a zwłaszcza niektórych składników aparatów fotosyntetycznych, w warunkach stresu, zwłaszcza świetlnego, ale również wpływów np. metali ciężkich. Z kolei badaniami ruchów chloroplastów zajmuje się grupa kierowana przez Halinę Gabryś. Z tego laboratorium pochodzą prace pokazujące, że ruchy chloroplastów są zależne od cytoszkieletu aktynowego, i że w różny sposób są kontrolowane przez światło czerwone i niebieskie, także w zależności od natężenia światła danej barwy. Badania plastydów i funkcji aparatów fotosyntetycznych były również lub są domeną kilku grup poznańskich, spośród których wymienić należy zespół Adama Woźnego oraz grupę Grzegorza Jackowskiego.

Na pograniczu anatomii i cytologii roślin oraz embriologii rozwijały się badania w Uniwersytecie Warszawskim, jeszcze pod kierunkiem Henryka Teleżyńskiego. Było to szczególnego rodzaju połączenie głębokiej znajomości struktury tkanek roślinnych i procesów rozwojowych nimi rządzących z precyzyjną analizą doświadczalną, tak typową dla embriologii roślin. Ta metodologia jest wykorzystywana do dnia dzisiejszego. W tym miejscu warto wymienić np. udowodnienie występowania programowanej śmierci komórek tapetum w ontogenezie pylnika przez zespół pod kierunkiem Marii Charzyńskiej.

W ostatnich latach w kilku ośrodkach badawczych zaczyna kształtować się podejście badawcze, które najpełniej chyba oddaje współczesne rozumienie terminu **biologia komórki**. Ma ono charakter integracyjny, łącząc najczęściej koncepcje i techniki badawcze wywodzące się z różnych dyscyplin naukowych. Do takich miejsc należy Zakład Biologii Molekularnej Komórki Uniwersytetu Wrocławskiego, kierowany przez Hannę Jańską, w którym prowadzi się prace nad funkcjonowaniem mitochondriów roślinnych, spoglądając zarówno na genom mitochondrialny, ale także, a może przede wszystkim, na ich proteom. Obiektem

badan są m.in. białka, których funkcją jest kontrolowanie jakości proteomu organellowego, w tym proteaz i białek opiekuńczych. Takim miejscem staje się również Zakład Biologii Molekularnej i Komórkowej UAM (Przemysław Wojtaszek), gdzie rozwijają się badania strukturalnej i funkcjonalnej integralności komórek roślinnych, wynikające ze współdziałania trzech elementów: ścian komórkowych, błony komórkowej i cytoszkieletu. Tu wykazano m.in. i) udział NO w regulacji aranżacji cytoszkieletu aktynowego; ii) zróżnicowanie składu i budowy różnych domen ścian komórkowych otaczających pojedyncze komórki oraz wynikające z tego odmienne zakotwiczenie cytoszkieletu aktynowego w ścianach; iii) funkcjonalną zmienność procesu endocytozy wywołaną warunkami stresowymi (stres osmotyczny) lub adaptacją do tych warunków.

### ***Wrocławska szkoła anatomii rozwojowej roślin***

W latach 50. XX w. w Instytucie Biologii Roślin Uniwersytetu Wrocławskiego zaczęła rozwijać się szczególna metodologia badawcza łącząca opis morfologiczny cech i procesów rozwojowych roślin z precyzją języka matematycznego, stosowanego w tym opisie. Za inspiratora tego podejścia można uznać Stanisława Kulczyńskiego, wywodzącego się z lwowskiego Uniwersytetu Jana Kazimierza, pierwszego rektora Uniwersytetu Wrocławskiego. Wykorzystanie tej metodologii do analizy układu komórek i umiejscowienia podziałów komórkowych w wierzchołkach korzeni doprowadziło Henryka Teleżyńskiego (1905-1989) w 1950 r. do sformułowania, po raz pierwszy w świecie, tezy o istnieniu centrum spoczynkowego – grupy komórek najwolniej rosnących w całym merystemie. Dopiero rok później istnienie centrum spoczynkowego zostało udowodnione eksperymentalnie przez F.A.L. Clowesa. Prawdziwy rozkwit wrocławskiej szkoły anatomii rozwojowej roślin nastąpił jednak na przełomie lat 60. i 70. XX w. dzięki badaniom Zygmunta Hejnowicza. Analizując u drzew historię kambium – merystemu bocznego, zakodowaną w strukturze drewna, odkrył on występowanie kambialnych fal morfogenetycznych. Stwierdził również, że te fale ukierunkowania zdarzeń mogą różnić się znacznie długością i prędkością propagacji, lecz zachowują niezmienniczy okres (kilkanaście lat, zwykle około 20).

Tym samym można go uznać za odkrywcę prawdopodobnie jednego z najdłuższych rytmów biologicznych. W latach późniejszych, już po przeniesieniu na Uniwersytet Śląski, prof. Hejnowicz sformułował koncepcję tensora (szybkości) wzrostu jako wielkości opisującej przestrzenne aspekty wzrostu organów roślinnych. Wykazał również, że tensorowy charakter wzrostu implikuje główne kierunki wzrostu, czyli kierunki, w których szybkość wzrostu w danym miejscu osiąga wartości ekstremalne. Na podstawie badań merystemów wierzchołkowych, sformułował również hipotezę, że podziały komórkowe zachodzą prostopadłe do jednego z trzech głównych kierunków wzrostu. Hipoteza ta została potwierdzona empirycznie dopiero kilka lat później przez innych autorów, którzy wykazali, że tensor wzrostu jest powiązany z tensorem naprężeń, a główne kierunki obu tensorów pokrywają się. Po odejściu Zygmunta Hejnowicza do Uniwersytetu Śląskiego, badania we Wrocławiu kontynuuje Beata Zagórska-Marek. W swych pracach wykorzystuje analizę klonalną układów komórkowych m.in. do badania różnorodności wzorów filotaksji oraz ich transformacji ontologicznej. Z tego zespołu wywodzi się również Dorota Kwiatkowska (obecnie Uniwersytet Śląski), autorka matematycznej metody opisu deformacji powierzchni, wykorzystywanej do analizy wzrostu merystemów wierzchołkowych *Anagallis arvensis* czy *Arabidopsis thaliana*, roślin zarówno typu dzikiego, jak i mutantów (np. Kwiatkowska i Dumais 2003). Warto również w tym miejscu wspomnieć nazwisko Przemysława Prusinkiewicza – informatyka, absolwenta Politechniki Warszawskiej, obecnie profesora Uniwersytetu w Calgary w Kanadzie, który wykorzystuje metody informatyczne do modelowania, symulacji i wizualizacji procesów rozwojowych roślin (Prusinkiewicz i Lindenmayer 1990).

### ***Regulatory wzrostu i cząsteczki sygnałowe***

Ze względu na swój tryb życia, budowę, jak również konstrukcję szlaków transportowych, rośliny wykształciły nieco odmienny od zwierząt sposób regulacji procesów życiowych, jak i sygnalizacji. Osiadły tryb życia wymusza ich ogromną plastyczność rozwojową, umożliwiającą reagowanie na zmieniające się warunki najbliższego otoczenia w taki sposób, by maksymalnie wykorzystać dostępne

zasoby środowiska, przede wszystkim światła, wody oraz substancji mineralnych. Również komórki roślinne są unieruchomione, ze względu na obecność ścian komórkowych, choć ich protoplasty połączone są między sobą kanałami plazmodesm. Dzięki temu wyróżnia się zwykle dwa główne, wzajemnie się przenikające układy ponadkomórkowe: **symplast** – obejmujący protoplasty wszystkich komórek wraz z plazmodesmami, który jest oddzielony błonami komórkowymi od **apoplastu**, w skład którego wchodzi ściany komórkowe wraz z przestworami międzykomórkowymi. Ten drugi system jest przesycony wodą, dzięki czemu do wszystkich komórek mogą docierać substancje odżywcze, a także cząsteczki regulatorowe i sygnałowe. Jednak konstrukcja ścian komórkowych w pewien sposób determinuje typ cząsteczek, które tą drogą mogą się przemieszczać. Stąd wszystkie roślinne regulatory wzrostu i rozwoju są zwykle małymi cząsteczkami.

Odkrycie i poznanie działania hormonów roślinnych to właściwie historia całego XX wieku. Pierwsze informacje, sugerujące regulację wzrostu i rozwoju roślin, znaleźć można już we wspomnianej wyżej książce braci Darwinów. Istnienie **auksyn**, kontrolujących m.in. wzrost wydłużeniowy roślin, udowodnił P. Boysen-Jensen w latach 1910-1913. Ich ukierunkowany transport od stożków wzrostu ku korzeniom wykazuje Fritz Went w 1926 roku. Jednak pierwsze kryształki IAA – kwasu indolilo-3-octowego – naturalnej auksyny roślin uzyskują w 1931 r. F. Kögl i J. Hagen-Smit izolując tę substancję z moczu. W latach 30. XX w. odkryto jeszcze dwa inne hormony roślinne. W 1934 r. R. Gane udowodnił, że rośliny są zdolne do syntezy **etylenu**, który jest uwalniany w trakcie dojrzewania niektórych owoców. Do lat 80., kiedy to u zwierząt odkryto regulatorową rolę tlenu azotu, był to jedyny znany nauce hormon o charakterze gazu. Stąd też upłynęły dziesięciolecia zanim jego funkcjonowanie w organizmach roślin zostało powszechnie zaakceptowane. Przyczyniły się do tego prace z lat 60. i 70. XX w. zespołu Shang Fa Yanga z University of California Davis, w których badacze Ci zidentyfikowali szlak biosyntezy fitohormonu, wiodący od metioniny poprzez S-adenozylometioninę i kwas 1-aminocyklopropano-1-karboksyłowy do etylenu. W 1934 roku w Japonii Teijiro Yabuta wyizolował i skryzalizował pierwszą **giberelinę**, nazwaną tak od grzyba *Gibberella fujikuroi*, który wywoływał chorobę

ryżu – bakanae. Jednak udowodnienie, że gibereliny są fitohormonami naturalnymi zajęło znacznie więcej czasu, gdyż pierwsze dane pojawiły się dopiero w latach 50. XX w. Mniej więcej w tym samym czasie pojawiły się również pierwsze informacje o **cytokininach**. W 1955 r. Miller i wsp. opublikowali procedurę izolacji kinetyny ze spermy śledzia. Pierwsza cytokinina roślinna – zeatyna – została zidentyfikowana niezależnie przez zespoły Millera i Lethama na początku lat 60. Wtedy też odkryto i określono strukturę ostatniego z tzw. klasycznych hormonów roślinnych, czyli **kwasu abscysynowego** (ABA). Dokonały tego również niezależnie dwa zespoły: Philipa Wareinga z University College of Wales w Aberystwyth, oraz Fredericka Addicotta z University of California, Davis. W ostatnich latach, wraz z gwałtownym rozwojem technik analitycznych, identyfikuje się kolejne regulatory wzrostu, które odgrywają znaczącą rolę w życiu roślin. Należą do nich: jasmonidy, brasinosteroidy, kwas salicylowy, tlenek azotu oraz coraz liczniej identyfikowane peptydy sygnałowe. Szczególną rolę przypisuje się również fitoaleksynom, czyli roślinnym metabolitom o charakterze antybiotyków, oraz oligosacharydom – krótkim łańcuchom cukrowym o aktywności biologicznej.

Badania dotyczące funkcjonowania hormonów roślinnych stanowią domenę fizjologii – jednej z najważniejszych nauk o roślinach wykorzystujących doświadczenie jako źródło poznania. W Polsce powojennej rozwinęły się szczególnie w dwóch ośrodkach – Toruniu i Poznaniu. W Uniwersytecie Mikołaja Kopernika wiodącą postacią od samego początku był Marian Michniewicz, a badania koncentrowały się na mechanizmach wzrostu i rozwoju roślin kontrolowanych przez hormony roślinne. Początkowo dużym zainteresowaniem cieszyły się badania, których zamierzonym efektem miało być wykorzystanie syntetycznych pochodnych hormonów naturalnych w praktyce rolniczej. Warto w tym miejscu bowiem wspomnieć, że hormony roślinne mają aktywność regulatorową jedynie w bardzo niskich stężeniach. Natomiast w dużych stężeniach mogą działać jak herbicydy. Najgroźniejszym przykładem i swoistym symbolem takiej aktywności jest **Agent Orange**, defoliant zastosowany na masową skalę przez wojska USA w wojnie z Wietnamem, w którego skład wchodziły dwie syntetyczne pochodne auksyn.



Badania hormonów roślinnych i mechanizmów ich działania są prowadzone w Toruniu do dziś. Przez wiele lat prowadzone były dzięki funduszom przekazywanym przez amerykańską agencją rządową USDA i dotyczyły głównie regulatorowej funkcji fitohormonów u drzew leśnych. W ostatnich latach dominować zaczęła tematyka regulacji procesów kwitnienia przez dwa układy: fitochromowy – zależny od światła, oraz hormonalny, prowadzona w zespole kierowanym przez Jana Kopcewicza. Głównym obiektem badawczym jest roślina dnia krótkiego – *Pharbitis nil*, najpowszechniej wykorzystywana do badań powtarzających się okresowo i zależnych od światła zjawisk w życiu roślin. Warto również wspomnieć o dwóch nieco innych wątkach badawczych. Pod kierunkiem Andrzeja Tretyna od wielu lat są prowadzone prace zmierzające do wyjaśnienia roli pewnych nieswoistych związków niskocząsteczkowych, które do niedawna uważano za substancje charakterystyczne dla zwierząt, u których spełniają ważną funkcję sygnalizacyjną w układzie nerwowym. Należy do nich m.in. acetylocholina. Odmienny nurt badań jest związany z odkryciami ostatnich lat dotyczącymi molekularnych i komórkowych mechanizmów ukierunkowanego transportu auksyn. Dzięki ściślejszej współpracy ośrodka toruńskiego z ośrodkami zagranicznymi, niektórzy pracownicy, m.in. Justyna Wiśniewska, uczestniczyli w przełomowych badaniach, które udowodniły udział rodziny białek PIN w transporcie auksyn. Badania te jednoznacznie pokazały, że jedynie niewielka część auksyn wędruje apoplastem, natomiast ukierunkowanie strumienia auksyn od wierzchołka pędu ku korzeniom wynika z kontrolowanego przekazywania auksyn z komórki do komórki na drodze egzo- i endocytozy.

Od dziesiątków lat największym problemem badaczy roślin było to, że obiekty ich badań miały charakter sezonowy. Z jednej strony ograniczało to czas, w którym można było prowadzić doświadczenia. Z drugiej zaś sprawiało, że każdego roku w danym miejscu rośliny tego samego gatunku były nieco inne, co wynikało z dynamiki klimatu i odmiennych reakcji roślin na te zmiany. Marzeniem badaczy było takie uniezależnienie się od kaprysów klimatu, które pozwoliłoby na ciągle prowadzenie doświadczeń. Pierwszym krokiem ku temu stały się uprawy szklarniowe, drugim – rozwój techniki kultur *in vitro*. Dzięki tej drugiej możliwe staje się hodowanie roślin w całkowicie kontrolowanych warunkach. Tą drogą

można namnażać klonalnie rośliny uzyskując materiał zdolny do dalszego wzrostu w gruncie. W warunkach *in vitro* można hodować w postaci zawiesin komórki roślinne, a także izolowane protoplasty komórek roślinnych. Metoda ta ma obecnie wszechstronne zastosowanie przemysłowe, od uzyskiwania nowych odmian roślin uprawnych, poprzez uzyskiwanie roślin wolnych od patogenów, np. wirusów, do wytwarzania produktów naturalnych o interesujących właściwościach biologicznych. Jednym z kluczowych elementów każdego protokołu kultur *in vitro* jest precyzyjne określenie składu pożywki, w tym również fitohormonów. Prawdziwym przełomem w technice roślinnych kultur *in vitro* stała się klasyczna dziś praca Folke S. Skooga i Toshio Murashige (1962), w której autorzy podali formułę ilościową i jakościową mieszaniny soli mineralnych niezbędnych do wzrostu roślin. Do dziś jest to jedna z najczęściej cytowanych prac biologicznych. W powojennym Poznaniu na przełomie lat 40. i 50. XX w. powstało pierwsze w Europie Wschodniej laboratorium kultur *in vitro*, założone przez Jerzego Czosnowskiego. Wykorzystując tę technikę scharakteryzował on biochemicznie tkanki normalne i tumorowe *Vitis vinifera*. Tu rozpoczynały pracę m.in. Janina Rogozińska oraz Alicja Szweykowska. Obie miały również okazję odbyć staż zagraniczny w laboratorium Folke Skooga w Madison (USA), gdzie uczestniczyły w badaniach zmierzających do identyfikacji (Rogozińska), a następnie określenia roli (Szweykowska) naturalnych cytokinin. Analiza roli cytokinin w regulacji procesów morfogenezy, rozwoju, a także regeneracji stała się swoistym znakiem firmowym prof. Szweykowskiej. W nieco innym kierunku podążył natomiast Maciej Zenkteler. Odbyty w połowie lat 60. staż w Uniwersytecie w Delhi zapoczątkował jego zainteresowania embriologią eksperymentalną. Jego zdolnościom i pasji badawczej nauka polska zawdzięcza kilka osiągnięć, m.in. wyprowadzenie haploidalnych roślin *Atropa belladonna* z kultur pylnikowych, uzyskanie zarodków mieszańcowych roślin w obrębie kilku rodzin, wprowadzenie do praktyki kultur załączków, bielma, pylników, makrospor oraz zarodków somatycznych i haploidalnych (Zenkteler 2009). Warto również zaznaczyć, że jego uczniami jest spora grupa profesorów aktywnie działających w różnych ośrodkach w Polsce.

## ***Rośliny w środowisku***

Rośliny jako organizmy osiadłe nie mają możliwości przemieszczania się, a więc i nie mogą uciec od źródła zagrożenia. To wymusiło ewolucyjną adaptację do zmiennych warunków bezpośredniego otoczenia. Z jednej strony, rośliny wykształciły wiele przystosowań i mechanizmów umożliwiających przetrwanie oraz maksymalizację wykorzystania abiotycznych zasobów środowiska. Z drugiej zaś, rośliny nieustannie oddziałują z innymi organizmami. Będąc podstawowymi producentami szkieletów węglowych i) stanowią źródło pożywienia roślinożerców, ii) konkurują z innymi roślinami o zasoby środowiska, iii) wchodzą w symbiozę z bakteriami czy grzybami, iv) są atakowane przez patogeny, a po śmierci v) są również źródłem wielu substancji dla organizmów saprofitycznych. Poznanie tych złożonych sieci zależności jest jednym z ważnych zadań nauk o roślinach, zwłaszcza w aspekcie praktycznego wykorzystania zdobytej wiedzy w rolnictwie.

## ***Reakcje roślin na stres***

Dla każdego gatunku roślin istnieje pewien zestaw parametrów środowiskowych, w obrębie których organizm funkcjonuje w sposób optymalny. W warunkach naturalnych bardzo rzadko ten optymistyczny wariant ulega spełnieniu, stąd też rośliny są organizmami bardzo plastycznymi, zdolnymi do funkcjonowania w dość zróżnicowanych warunkach klimatycznych i glebowych. Ta plastyczność ma jednak swoje granice, które utrudniają lub uniemożliwiają życie roślin z dala od swojego obszaru występowania. Na przykład, nasiona roślin tropikalnych nie są lub są w bardzo znikomym stopniu przystosowane do niskich temperatur, a z kolei rośliny strefy umiarkowanej są gorzej przystosowane do intensywnego oświetlenia. Adaptacja roślin do określonych środowisk ma również swoje znaczenie praktyczne. Współczesne rośliny uprawne wywodzą się jedynie z kilku regionów geograficznych świata, lecz poprzez krzyżówki z odmianami lokalnymi i dalszą hodowlę można było uczynić je zdolnymi do wzrostu prawie na

wszystkich ładach Ziemi. Obecnie, gdy poszukuje się dróg umożliwiających wyżywienie szybko przyrastającej populacji ludzkiej, zwraca się uwagę na rośliny, które w toku ewolucji nabyły zdolności do radzenia sobie ze szczególnie trudnymi warunkami. Z punktu widzenia rolnictwa, najważniejszymi cechami, na które obecnie zwraca się uwagę poza cechami związanymi bezpośrednio z plonowaniem, są te warunkujące odporność lub tolerancję na: niedobór wody, zasolenie, wysokie pH gleby, chłód lub wysoką temperaturę oraz na zanieczyszczenia środowiska, wywołane m.in. działalnością człowieka, w tym takie metale ciężkie, jak ołów, kadm, miedź, czy rtęć. Aby takie cechy wprowadzić do roślin uprawnych, trzeba je najpierw dokładnie rozpoznać na każdym poziomie hierarchii organizacyjnej roślin. Nie jest to łatwe, gdyż w zasadzie wszystkie są cechami wielogenowymi.

Badania reakcji roślin na stresy środowiskowe są właściwie domeną fizjologii roślin. Przegląd aktywności polskich zespołów badawczych pokazuje, że tak też jest rzeczywiście. Ze wspomnianych powyżej procesów, najintensywniej są badane odpowiedzi roślin na niedobór wody, zanieczyszczenia metalami ciężkimi oraz niskie temperatury. Zgodnie z corocznie publikowanym raportem wodnym, Polska jest krajem o najmniejszych, mniej więcej 3-krotnie niższych niż przeciętna, zasobach wody słodkiej w Europie. Szacunki wskazują również, że w skali światowej około 70% zasobów wodnych jest zużywanych przez rolnictwo. Poszukiwania sposobów zwiększenia tolerancji roślin na suszę są prowadzone m.in. w kilku zespołach Instytutu Biologii Molekularnej i Biotechnologii UAM (Zofia Szweykowska-Kulińska, Jan Sadowski, Przemysław Wojtaszek), Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Oddział w Młochowie (Waldemar Marczewski), czy też w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN (Jacek Hennig). Drugi kierunek badań jest do pewnego stopnia konsekwencją historii naszego kraju w ostatnich dziesięcioleciach. Polska ma gleby bardzo silnie zanieczyszczone różnymi związkami chemicznymi, a olbrzymie obszary wymagają ponownego przystosowania do sposobów użytkowania innych niż składowiska odpadów przemysłowych. Obecność metali ciężkich uruchamia wiele mechanizmów obronnych, które polegają albo na aktywnej akumulacji metali poza cytoplazmą komórek, np. w wakuolach, albo na pasywnym ich pobieraniu z podłoża i unieruchamianiu np. w ścianach komórkowych, albo też na aktywnym

ograniczaniu pobierania metali. W większości jednak przypadków, obecność metali śladowych powoduje pojawienie się stresu oksydacyjnego (Bartosz 2003), któremu rośliny również muszą przeciwdziałać. Nad tymi problemami pracują w Polsce zespoły m.in. z Uniwersytetu Warszawskiego (Małgorzata Wierzbicka), Instytutu Biologii Roślin Uniwersytetu Wrocławskiego (Grażyna Kłobus), czy też Instytutu Biologii Eksperymentalnej UAM (Edward Gwóźdź, Adam Woźny). Szczególnym miejscem jest obecny Zakład Fizjologii Roślin Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej. Tutaj, pod kierunkiem Tadeusza Baszyńskiego zapoczątkowano badania biochemicznych mechanizmów tolerancji roślin na metale ciężkie, kontynuowane dziś m.in. przez Annę Tukiendorf. Obecne badania skupiają się głównie na analizie budowy i aktywności aparatu fotosyntetycznego roślin poddanych działaniu metali ciężkich (Zbigniew Krupa, Waldemar Maksymiec). Wreszcie, trzecią grupę zagadnień stanowią reakcje roślin na niskie temperatury. Ich badanie jest w naszej strefie klimatycznej koniecznością, gdyż inaczej trudno sobie wyobrazić otrzymywanie roślin dobrze zaadaptowanych do szybkich zmian warunków. Szczególne znaczenie przypisuje się zmianom w strukturze i funkcjonowaniu ścian komórkowych, jak również w funkcjonowaniu systemów transportowych. Wyróżnia się kilka typów reakcji uruchamianych nieco odmiennymi szlakami sygnałowymi w zależności od natężenia stresu i czasu jego trwania (Kacperska 2004). Badania reakcji roślin na chłód są prowadzone od wielu lat w Instytucie Biologii Eksperymentalnej Roślin UW, początkowo przez Alinę Kacperską-Lewak, a dziś są kontynuowane przez Pawła Sowińskiego. Mają one również nieco inny aspekt praktyczny. Poznanie mechanizmów radzenia sobie z chłodem umożliwia również opracowanie strategii przechowywania kriogenicznego nasion i tkanek roślinnych. W tych badaniach specjalizuje się zespół Jana J. Rybczyńskiego z Ogrodu Botanicznego – Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej PAN w Powsinie.

### ***Oddziaływania roślin z innymi organizmami***

Symbiozę definiuje się zwykle jako typ oddziaływań między organizmami, który nie przynosi szkód żadnej ze stron, a zwykle jest korzystny przynajmniej dla jednego z partnerów. W przypadku roślin można mówić o bardzo ścisłych związkach symbiotycznych przynajmniej z dwiema grupami innych organizmów. Jednym z takich oddziaływań jest **mikoryza**, czyli związek roślin z grzybami. Jest to jeden z najpowszechniejszych związków między organizmami, gdyż dotyczy 85-95% wszystkich gatunków roślin wyższych. Badania ewolucyjne pokazują, że mikoryza była prawdopodobnie jednym z tych czynników, który umożliwił roślinom wyjście na ląd. W mikoryzie grzyby, rozwijające się na powierzchni lub wewnątrz korzeni roślin, stają się niejako przedłużeniem korzeni znacznie zwiększając ich powierzchnię chłonną. Sprawia to, że rośliny uzyskują lepszy dostęp do zasobów wodnych i substancji mineralnych zawartych w glebie. Z kolei grzyby korzystają bezpośrednio z asymilatów produkowanych przez rośliny. Odkrycia mikoryzy dokonał w 1880 roku polski botanik, Franciszek Dionizy Kamiński, pracujący m.in. na Uniwersytecie Lwowskim, od 1886 r. profesor morfologii i systematyki roślin uniwersytetu w Odessie. Dziś w badaniach mikoryz znaczącą rolę odgrywa zespół Katarzyny Turnau. W swych doświadczeniach łączą oni aspekt poznawczy z aspektem praktycznym. Badając mikoryzy roślin rosnących na terenach zanieczyszczonych, poznają uwarunkowania tych związków, dzięki czemu możliwa staje się skuteczniejsza fitoremediacja gleb, np. hałd pokopalnianych.

Drugą formą oddziaływań są związki roślin motylkowatych, takich jak np. soja, łubin, fasola, czy lucerna, z bakteriami wiążącymi azot, z rodzajów: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* i innych, określanych kolektywnie mianem **rizobiów**. Bakterie te wnikają do wnętrza korzeni, a następnie zasiedlają swoiste struktury tworzone wyłącznie na potrzeby symbiozy, zwane brodawkami. W tym przypadku rośliny dostarczają partnerom szkieletów węglowych, a same uzyskują dostęp do ogromnych zasobów azotu atmosferycznego, który jest

wiązany przez rizobia i przekształcany do formy przyswajalnej dla roślin, czyli do  $\text{NH}_4^+$ .

Oddziaływania symbiotyczne charakteryzują się tym, że partnerzy muszą wzajemnie „wpuścić się” na kontrolowany przez siebie teren, pozwolić na to, by jeden z nich pojawił się wewnątrz tkanek organizmu-gospodarza. Zarówno w przypadku mikoryzy, jak i rizobiów – bakterii brodawkowych, celem symbiozy stają się korzenie roślin. Mniej więcej od lat 80. XX w. najbardziej fascynującym zagadnieniem stało się rozwikłanie mechanizmów molekularnych rządzących nawiązaniem i regulacją związku symbiotycznego. Badania mikoryz były bardzo utrudnione ze względu na to, że nie udawało się opanować warunków hodowli grzybów mikorytycznych *in vitro*. Stąd przetarcie szlaków przypadło badaniom symbiozy z udziałem bakterii wiążących azot. Stwierdzono, że nawiązanie związku symbiotycznego wymaga wymiany swoistych sygnałów określających tożsamość partnerów, przy czym ważna staje się sekwencja zdarzeń. Bakterie rozpoznają związki sygnałowe z grupy flawonoidów lub izoflawonoidów, wydzielane przez korzenie roślin. Ilość wydzielanych związków fenolowych zależy od dostępności przyswajalnego azotu w glebie (Wojtaszek i in. 1992), dzięki czemu rośliny łatwiej nawiązują symbiozę na glebach słabych. Bakterie w odpowiedzi uruchamiają syntezę złożonych oligosacharydów „ozdobionych” m.in. podstawnikami lipidowymi, zwanych **czynnikiem Nod**. Cząsteczki te, po dotarciu do korzeni, uruchamiają u roślin proces morfogenezy prowadzący do wytworzenia brodawek korzeniowych. Wszystkie te procesy są kontrolowane na poziomie molekularnym poprzez zmiany ekspresji genów roślinnych i bakteryjnych. Białka roślinne, które pojawiają się w różnych fazach nawiązywania symbiozy, nazwano **nodulinami**. Jednym z kluczowych białek, swoistym wskaźnikiem efektywnej symbiozy, jest **leghemoglobina**. Białko to, jak również kilka innych, najpełniej scharakteryzowano dla układu symbiotycznego łubinu z bakteriami *Bradyrhizobium*, w laboratorium Andrzeja B. Legockiego w IChB PAN w Poznaniu (Konieczny i in. 1987, Szczygłowski i Legocki 1990). Co ciekawe, późniejsze badania zespołu Mariusza Jaskólskiego z Centrum Badań Biokrytalograficznych IChB PAN pokazały również, że jedno z takich białek może funkcjonować u roślin jako magazyn cytokinin (Fernandes i in. 2008).

Potwierdzono tym samym, że jednym z induktorów procesów morfogenetycznych w symbiozie mogą być zaburzenia w syntezie lub dystrybucji hormonów roślinnych.

Rośliny muszą się również bronić przed atakami patogenów różnego typu. Otoczenie protoplastów ścianami komórkowymi jest dobrą barierą fizyczną, zabezpieczającą przed większością mikroorganizmów. Grzyby i bakterie patogenne wykształciły jednak wiele mechanizmów umożliwiających pokonanie tej bariery i wykorzystanie zasobów odżywczych komórek roślinnych. Jednym z nich jest wytwarzanie enzymów degradujących składniki ścian komórkowych. Z jednej strony powoduje to osłabienie spójności ścian komórkowych roślin, a więc ułatwia patogenom penetrację. Z drugiej zaś, uwolnione oligomery cukrowe mogą zostać wykorzystane przez patogeny jako źródło węgla. Do takich enzymów należą np. liazy pektyn (Łojkowska i in. 1995). Pektyny stanowią główny składnik blaszki środkowej, która spaja sąsiadujące komórki ze sobą. Ich degradacja prowadzi do separacji komórek, a w konsekwencji do zamierania i uwalniania zawartości na zewnątrz. W ten sposób działają bakterie z rodzaju *Erwinia*, badane m.in. przez Ewę Łojkowską w Gdańsku na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii UG-GUMed.

Uwolnione fragmenty ścian komórkowych mogą spełniać jeszcze jedną istotną funkcję. W toku ewolucji rośliny wykształciły system receptorów, dzięki którym wykrycie oligosacharydów jest interpretowane jako pojawienie się patogenu. Innymi słowy, cząsteczki te działają jako **elicytory** uruchamiające reakcje obronne roślin. Jedną z najszybszych odnotowanych reakcji jest **wybuch oksydacyjny**. U zwierząt w reakcji na wchłonięcie patogennej bakterii makrofagi aktywują enzym – oksydazę NADPH, która wytwarza reaktywne formy tlenu niszczące pochłonięty organizm. Zjawisko to nazwano wybuchem tlenowym ze względu na wzmożone zużycie tlenu, które temu towarzyszy (Wojtaszek 1997). Na początku lat 90. XX w. korzystając ze zgromadzonej wiedzy o funkcjonowaniu makrofagów, wykazano, że również u roślin jest uruchamiany podobny mechanizm. Co więcej, wykazano, że wybuch oksydacyjny jest aktywatorem i źródłem sygnału koordynującego wiele reakcji obronnych roślin prowadzących w konsekwencji do **reakcji nadwrażliwości**, czyli programowanej śmierci zainfekowanej komórki. Co ciekawe, niedawno Magdalena



Krzymowska i wsp. (2007) z Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN udowodnili, że w zależności od typu atakującego mikroorganizmu, forma reakcja nadwrażliwości może również być różna.

Jedną z reakcji uruchamianych przez reaktywne formy tlenu może być oksydacyjne unieruchomienie w ścianach komórkowych roślin białek strukturalnych ścian bogatych w (hydrokso)prolinę (Levine i in. 1994). To prowadzi do wzmocnienia ścian i spowolnienia penetracji tkanek roślinnych przez patogeny. Krótco po tym odkryciu Przemysław Wojtaszek wraz z kolegami z Royal Holloway University of London wykazali, że mechanizm ten może być uruchamiany nie tylko przez oksydazę NADPH, ale także przez swoistą peroksydazę.

Infekcja roślin przez patogeny wywołuje nie tylko natychmiastowe reakcje obronne zmierzające do powstrzymania ataku. Równocześnie są uruchamiane mechanizmy obronne o przedłużonym działaniu, dzięki którym roślina staje się odporna na przyszłe infekcje tego i pokrewnych patogenów. Można zatem w uproszczeniu stwierdzić, że roślina dysponuje mechanizmami analogicznymi do pamięci immunologicznej ssaków. Ten zespół reakcji nazywa się **nabytą odpornością systemiczną** (SAR; ang. *systemie acquired resistance*), gdyż dotyczy już całej rośliny, a nie tylko tkanek bezpośrednio zaatakowanych przez patogen. Problemem, który dość długo nie mógł doczekać się zadowalającego rozstrzygnięcia było pytanie o naturę sygnału uruchamiającego SAR. Choć do dziś trwają dyskusje na ten temat, to wydaje się, że jednym z takich sygnałów może być **kwas salicylowy i jego pochodne**. Szczególne ważne dla badań tego szlaku sygnałowego były publikacje zespołu Daniela Klessiga z Rutgers University, w tym z udziałem Jacka Henniga (1993) z IBB PAN.

### ***Uwagi końcowe***

Jak wspomniano na początku rozdziału, w minionych dziesięcioleciach dynamika rozwoju nauk o roślinach miała charakter specjalizacyjny. Efektem było wyodrębnianie się coraz to nowych dyscyplin naukowych. Jednakże pojawienie się metodologii kompleksowych, takich jak biologia systemów, które próbują spoglądać całościowo na funkcjonowanie organizmów, które z morza danych

wyławiają elementy wspólne, sprawiło, że również w obrębie biologii roślin pojawiły się tendencje integracyjne, próby wykorzystania osiągnięć wielu różnych dyscyplin naukowych dla stworzenia całościowego spojrzenia na funkcjonowanie roślin. Co więcej, wydaje się, że właśnie na styku istniejących, ustabilizowanych dziedzin nauki pojawia się najwięcej nowych, interesujących danych. Naprzeciw takim właśnie prądom wyszła inicjatywa powołania w 2001 roku Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin (<http://ptber.org.pl/>). Zgodnie ze swoim Statutem, w swych działaniach Towarzystwo stara się integrować wszystkich biologów eksperymentalnych, którzy wykorzystują rośliny jako obiekt swoich badań, zarówno w badaniach podstawowych, jak i zastosowaniach praktycznych. Organizowane co dwa lata międzynarodowe konferencje PTBER pokazują, że w nadchodzących latach intensywna współpraca między specjalistami różnych dziedzin będzie się pogłębiała, dzięki czemu możliwe będzie stawienie czoła nowym, fascynującym wyzwaniom biologii roślin.

### ***Podziękowania***

Chciałbym serdecznie podziękować wszystkim Koleżankom i Kolegom za udostępnione materiały, w tym w szczególności prof. Marii J. Olszewskiej i prof. Andrzejowi B. Legockiemu. Ze względu na ograniczoną objętość rozdziału, zabrakło tu informacji o wielu innych osiągnięciach badawczych.

### ***Lektura uzupełniająca***

#### ***Książki, podręczniki:***

Bartosz G. (2003) Druga twarz tlenu. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.

Hejnowicz Z. Anatomia i histogeneza roślin naczyniowych. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa. Trzy wydania: 1980, 1985, 2002

Kopcewicz J., Lewak S. (red.) (2007) Fizjologia roślin. Wyd. II. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.

- Olszewska M.J. (1971): Cytologia roślin. PWN, Warszawa.
- Prusinkiewicz P., Lindenmayer A. (1990) The Algorithmic Beauty of Plants. Springer-Verlag, New York.
- Rodkiewicz B. (1973) Embriologia roślin kwiatowych. PWN, Warszawa.
- Rogalska S., Małuszyńska J., Olszewska M.J. (1999) Podstawy cytogenetyki roślin. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Szweykowska A., Szweykowski J. (2008) Botanika. Tom 1 i 2. Wyd. XI. Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Wojtaszek P., Woźny A., Ratajczak L. (red.) (2006) Biologia komórki roślinnej. Tom 1: Struktura. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Wojtaszek P., Woźny A., Ratajczak L. (red.) (2007) Biologia komórki roślinnej. Tom 2: Funkcja. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Wrocławskie środowisko akademickie. Twórcy i ich uczniowie. 1945-2005. (2007) Ossolineum, Wrocław.
- Załuski T., Korczyński M., Rutkowski L. (red.) (2005) Botanika w Toruniu i Bydgoszczy. Z przeszłości i terażniejszości. Oddział Toruński i Oddział Bydgoski Polskiego Towarzystwa Botanicznego, Bydgoszcz.
- Zenkeler E. (2009) Historia Zakładu Botaniki Ogólnej UAM w Poznaniu. 1919-2009. Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań.

### ***Czasopisma:***

- Fernandes H., Pasternak O., Bujacz G., Bujacz A., Sikorski M., Jaskólski M. (2008) *Lupinus luteus* pathogenesis-related protein as a reservoir for cytokinin. J. Mol. Biol. 378: 1040-1051.
- Hennig J., Malamy J., Gryniewicz G., Indulski J., Klessig D.F. (1993) Interconversion of the salicylic acid signal and its glucoside in tobacco. Plant J. 4: 593-600.
- Kacperska A. (2004) Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity? Physiol. Plant. 122: 159-168.

- Konieczny A, Szczygłowski K, Mądrzak C.J., Legocki A.B. (1987) Cloning and identification of lupin nodule specific cDNA sequences. *Acta Biochim. Polon.* 34: 21-27.
- Krzymowska M., Konopka-Postupolska D., Sobczak M., Macioszek V., Ellis B.E., Hennig J. (2007) Infection of tobacco with different *Pseudomonas syringae* pathogens leads to distinct morphotypes of programmed cell death. *Plant J.* 50: 253-264.
- Kwiatkowska D., Dumais J. (2003) Growth and morphogenesis at the vegetative shoot apex of *Anagallis arvensis* L. *J. Exp. Bot.* 54: 1585-1595.
- Levine A., Tenhaken R., Dixon R., Lamb C. (1994) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79: 583-593.
- Łojkowska E., Masclaux C., Boccara M., Robert-Baudouy J., Hugouvieux-Cotte-Pattat N. (1995) Characterization of the *pell* gene encoding a novel pectate lyase of *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Mol. Microbiol.* 16: 1183-1195.
- Murashige T., Skoog F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 18: 100-127.
- Szczygłowski K., Legocki A.B. (1990) Isolation and nucleotide sequence of cDNA clone encoding nodule-specific (hydroxy)proline-rich protein LENOD2 from yellow lupin. *Plant Mol. Biol.* 15: 361-364.
- Wojtaszek P (1997) Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. *Biochem. J.* 322: 681-692.
- Wojtaszek P, Stobiecki M, Gulewicz K (1993) Role of nitrogen and plant growth regulators in the exudation and accumulation of isoflavonoids by roots of intact white lupin (*Lupinus albus* L.) plants. *J. Plant Physiol.* 142: 689-694.