

ULTRASTRUKTURA WIĄZEK PRZEWODZĄCYCH W LIŚCIU ORAZ ZAŁADOWANIE FLOEMU A EWOLUCJA ROŚLIN OKRYTONASIENNYCH

The ultrastructure of veins, phloem loading and evolution of angiospermous plants

Paweł SOWIŃSKI

Summary. The phloem loading is the process, in which photoassimilates move from the place of synthesis, i.e. mesophyll cells into veins. It forces up the long distance transport. In spite of its role in a plant, phloem loading mechanism is still under discussion. At the beginning of the last decade two types of phloem loading, apoplastic and symplastic mechanism were taken into consideration. The apoplastic way seems to be driven by an active uptake of sucrose from apoplast by companion cell/sieve tube complex, while the symplastic way includes polymer trapping mechanism. The given mechanism of phloem loading has been related to the type of vein ultrastructure, specific for angiosperms families. It was suggested that symplastic phloem loading mechanism may operate in plants with so called open vein ultrastructure, while apoplastic mechanism is related to closed vein ultrastructure. The evolution of vein type from the open ultrastructure to the closed one and phloem loading from symplastic to apoplastic were also hypothesized. Current discoveries, concerning different aspects of the problem: molecular, biochemical, physiological, systematic and evolutionary, suggest however, that many plants possess more than one mechanism of phloem loading. Moreover, the third type of phloem loading seems to exist, i.e. symplastic phloem loading driven by turgor pressure. The relative participation of the given mechanism may depend on the species, developmental stage, or environmental conditions. There is also no clear evolutionary trends in both vein ultrastructure and phloem loading mechanisms.

Key words: Anatomy, apoplast, companion cells, long distance transport, phloem loading, plasmodesmata, short distance transport, sieve tubes, symplast

Doc. dr hab. Paweł Sowiński, Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików, 05–870 Błonie, e-mail: p.sowinski@ihar.edu.pl

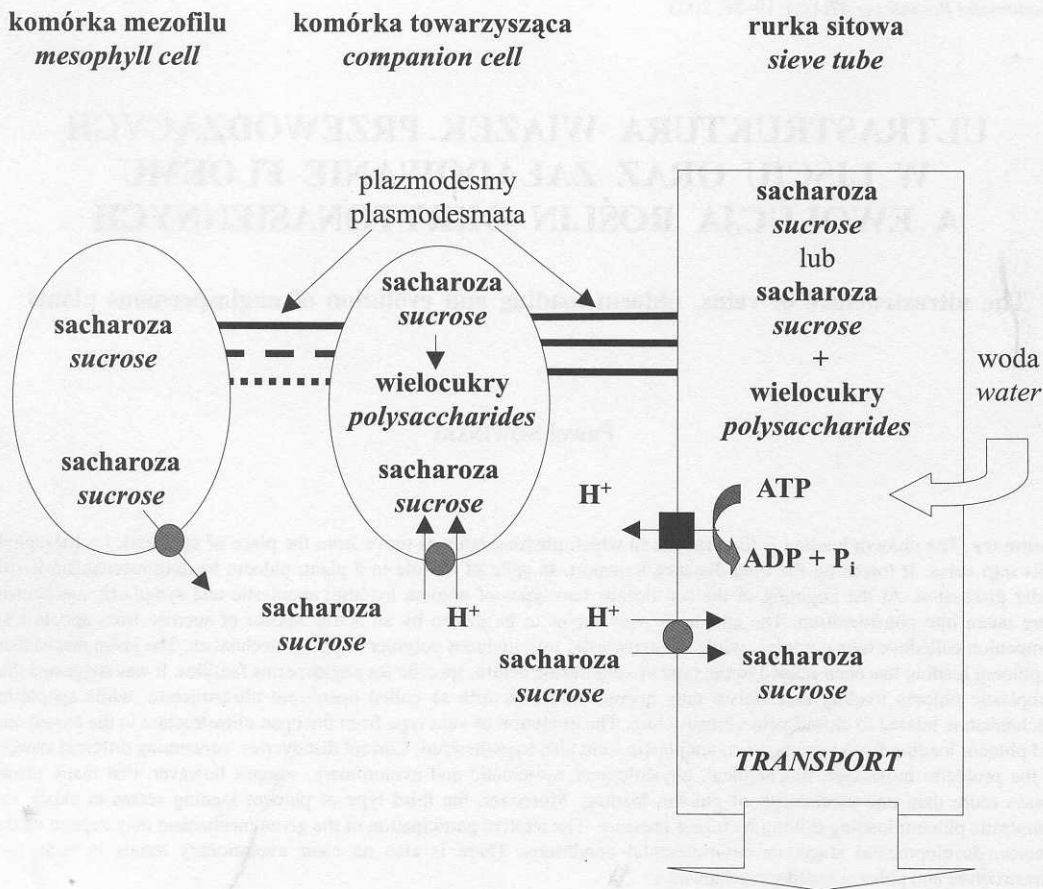
Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Botaniki, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 2, 02–096 Warszawa

WSTĘP

Daleki transport w roślinach stanowi ciąg procesów, dzięki którym asymilaty przemieszczają się z donorowych liści do organów akceptorowych, tzn. do młodych liści, korzeni czy organów spichrzowych lub generatywnych. Daleki transport odbywa się w rurek sitowych, ale nie mniej ważną rolę w transporcie dalekodystansowym pełnią komórki towarzyszące. Funkcją komórek towarzyszących jest dostarczanie białek i innych związków wielkocząsteczkowych do członów sitowych, gdyż te pozbawione

są jądra. Ponadto pierwszy etap dalekiego transportu, zwany załadowaniem floemu, w którym asymilaty przemieszczają się z komórek mięszczykowych do rurek sitowych odbywa się przy udziale komórek towarzyszących. Wymiana metabolitów między komórkami towarzyszącymi a rurekami sitowymi jest możliwa dzięki licznym plazmodesmom, czyli kanałom cytoplazmatycznym łączącym komórki roślinne.

Znaczenie załadowania floemu można sobie uświadomić, jeśli zostaną przeanalizowane siły, dzięki którym odbywa się ruch soku floemowego w rurekach sitowych. Stężenie sacharozy w



Ryc. 1. Różne drogi załadunku floemu. Sacharoza może wydostawać się z komórek mezofilu do apoplastu (droga apoplastyczna), skąd jest pobierana na drodze symportu przez komórki towarzyszące lub rurki sitowe przy uczestnictwie przenośnika białkowego zlokalizowanego w błonie komórkowej. Aktywny transport sacharozy do komórek możliwy jest dzięki funkcjonowaniu pompy protonowej o charakterze ATP-azy zlokalizowanej w błonie członów sitowych. Sacharoza może też przedostawać się z mezofilu do kompleksu komórka towarzysząca/rurka sitowa przez plazmodesmy (droga symplastyczna) dzięki mechanizmowi pułapki polimerowej, w którym z sacharozy powstają wielocukry, bądź w wyniku różnicy ciśnienia turgorowego.

Fig. 1. The ways of phloem loading. In apoplastic way, sucrose is taken from apoplast by companion cells and/or sieve tubes by the sucrose carrier localised in plasma membrane. Active transport of sucrose is linked to the activity of proton pump (H^+ ATP-ase). In symplastic way, sucrose may be loaded from mesophyll cells to companion cell/sieve tube complex either by the polymer trapping mechanism, in which polysaccharides are synthesised from sucrose or by turgor pressure difference.

rurkach sitowych może dochodzić nawet do 1 M [40]. Obniża to silnie potencjał osmotyczny komórek, powoduje ruch wody do ich wnętrza i wzrost ciśnienia hydrostatycznego, nawet do 3 MPa [9]. Ciśnienie to jest siłą motoryczną przepływu masowego w rurkach sitowych, który może się odbywać z szybkością dochodzącą do 1 m na godzinę, a czasem i większą.

ULTRASTRUKTURA WIĄZEK PRZEWODZĄCYCH W LIŚCIU

Asymilaty mogą przemieszczać się z komórek mezofilu do rurek sitowych dwiema drogami: symplastyczną i apoplastyczną (Ryc. 1). W pierwszym przypadku, cukry dyfundują poprzez plazmodesmy łączące sąsiadujące ze sobą ko-

mórki tworzące symplast. W drugim, sacharoza jest wydzielana z komórek mezofilu do apoplastu, na który składają się ściany komórkowe i przestrzenie międzykomórkowe, skąd jest pobierana aktywnie przez komórki towarzyszące i/lub rurki sitowe.

Jeszcze do końca lat 80. ubiegłego wieku uważano, że kompleks komórki towarzyszące/rurki sitowe jest izolowany symplastycznie od reszty liścia. Dopiero na początku lat 90. do wiadomości badaczy zachodnich podano wyniki prac rosyjskiego uczonego Jurija Gamalei [5, 6]. Zbadał on ultrastrukturę wiązek przewodzących w liściach kilkuset gatunków roślin i wykazał, że znacząca część tych gatunków charakteryzuje się obecnością licznych plazmodesm na styku między komórkami towarzyszącymi a miększowymi.

Gamalei podzielił badane rośliny na kilka grup pod względem ultrastruktury wiązek przewodzących. Jedną z grup – typ 1, zwany też ultrastrukturą typu otwartego, to rośliny odznaczające się licznymi plazmodesmami między komórkami towarzyszącymi a sąsiadującymi z nimi komórkami miększu ($n = 10$, n – liczba plazmodesm w przeliczeniu na $1 \mu\text{m}^2$ styku). U wielu z tych roślin występują specyficzne komórki towarzyszące, charakteryzujące się długimi cylindrycznymi wiązkami retikulum endoplazmatycznego położonymi równolegle do osi łączącej komórki donorowe z rurkami sitowymi i gęstą cytoplazmą, zawierającą liczne, rurkowate mitochondria. Brak jest tu chloroplastów. Komórki takie nazywane są pośredniczącymi (ang. intermediary cells).

Druga grupa roślin, typ 2 lub ultrastruktura typu zamkniętego, to takie rośliny, u których kompleks komórki towarzyszące/rurki sitowe jest mniej lub bardziej izolowany symplastycznie od komórek donorowych ($n = 1$). Komórki towarzyszące u tych roślin są małe. Zawierają one liczne małe wakuole poprzedzielane wyjątkowo gęstą cytoplazmą z licznymi mitochondriami. W jednej z podgrup, w typie 2b ($n = 0.1$), ściany komórek towarzyszących tworzą wpuklenia. Komórki takie nazywane są komórkami transferowymi (ang. transfer cells).

MECHANIZMY ZAŁADOWANIA FLOEMU

APOPLASTYCZNE ZAŁADOWANIE SACHAROZY

W przypadku załadowania apoplastycznego sacharoza wydzielona do apoplastu jest aktywnie transportowana do wnętrza kompleksu rurki sitowe/komórki towarzyszące, co odbywa się dzięki istnieniu gradientu protonowego w poprzek błony. Gradient ten jest związany z funkcjonowaniem pompy protonowej i powstaje z wykorzystaniem energii związanej w postaci adenozynotrójfosforanu (ATP). Transport sacharozy przez błony komórkowe odbywa się przy współudziale przenośnika białkowego specyficznego dla tego dwucukru. Lokalizacja przenośników sacharozy związanych z załadowaniem floemu może być gatunkowo i komórkowo specyficzna. U pomidora lokalizują się one w rurek sitowych [20], a w *Plantago major* w komórkach towarzyszących [33]. Ponadto, w membranach rurek sitowych może występować jednocześnie kilka przenośników różniących się właściwościami. U rzodkiewnika *Arabidopsis thaliana* znaleziono np. dwa przenośniki białkowe AtSUT1 i AtSUT4 różniące się stałą Michaelisa [44]. Parametr ten jest wskaźnikiem stężenia substratu, przy którym dany enzym, a w tym przypadku błonowy przenośnik białkowy, pracuje najefektywniej. Jednocześnie inny przenośnik AtSUT2 może funkcjonować jako receptor poziomu sacharozy pozakomórkowej. W zależności od stężenia tego węglowodanu przenośnik ten mógłby regulować względne aktywności przenośników białkowych sacharozy różniących się właściwościami kinetycznymi [2]. Przenośniki białkowe sacharozy są lokalizowane nie tylko w komórkach znajdujących się w strefie załadowania floemu, ale również wzdłuż szlaku transportowego. Mogą one brać udział w ponownym ładowaniu sacharozy wyciekającej z rurek sitowych pod wysokim ciśnieniem [33].

Znaczenie przenośników białkowych sacharozy dla eksportu asymilatów z liści wykazano w badaniach z wykorzystaniem roślin transgenicznych z wbudowanym odpowiednim genem w orientacji antysensownej. Tak zmodyfikowane rośliny ziemniaka mają zredukowaną liczbę i rozmiary bulw, a w dojrzałych liściach w du-

zych ilościach gromadzą się cukry [19, 21, 27]. Powstawanie nienormalnie dużych ziaren skrobi w chloroplastach rośliny transgenicznej świadczy o silnym zahamowaniu eksportu asymilatów.

ZAŁADOWANIE SYMPLASTYCZNE CUKRÓW PRZY UDZIALE PUŁAPKI POLIMEROWEJ

Mechanizm pozwalający asymilatom przemieszczać się do floemu przez plazmodesmy drogą dyfuzji przeciwko gradientowi stężenia polega na tym, że jedno- i dwucukry są przekształcane w większe polimery w komórkach towarzyszących. Rozmiary tych cząstek nie pozwalają na dyfuzję w odwrotnym kierunku [35, 38]. Polimerami tymi mogą być wielocukry: rafinoza, stachioza i inne, a także poliole: mannitol, dulcytol i sorbitol. W roślinie gruboszowatej, *Agave deserti*, formą transportową są też fruktany [43]. Opisany mechanizm załadowania floemu określany jest terminem „pułapka polimerowa” (ang. polymer trapping).

Mechanizm ten jest już dobrze udokumentowany. Wykazano immunocytochemicznie, że synteza rafinozy zachodzi w komórkach towarzyszących [3, 14]. Ponadto, poprzez mikroinjekcję znaczników fluorescencyjnych o znanej masie cząsteczkowej do komórek pośredniczących udowodniono, że przekrój czynny plazmodesm jest wystarczający dla przemieszczenia się sacharozy i galaktynu, a zbyt mały dla wstecznej dyfuzji rafinozy i stachiozy [39]. Co więcej, syntaza galaktynu, enzym kluczowy dla przemian związanych z symplastycznym mechanizmem załadowania floemu, lokalizuje się specyficznie w komórkach pośredniczących [32]. Enzym ten katalizuje syntezę galaktynu z myoinozytoli i UDP-galaktozy, co poprzedza polimeryzację galaktynu do stachiozy. Mimo że biochemiczne i molekularne aspekty mechanizmu pułapki polimerowej są już dobrze poznane, symplastyczna droga załadowania floemu kryje jednak pewne zagadki. Stwierdzono bowiem, że zawartość galaktynu w rurkach sitowych jest około pięciokrotnie mniejsza niż stachiozy, której jest prekursorem. Jeśli przemieszczanie cukrów między komórkami pośredniczącymi a rurkami sitowymi odbywa się drogą dy-

fuzji przez plazmodesmy, zawartość obu cukrów powinna być jednakowa. Wskazuje to, że istnieje jakiś nieznanый jeszcze mechanizm regulacji transportu związków małocząsteczkowych między komórkami obu typów [36].

SYMPLASTYCZNE ZAŁADOWANIE SACHAROZY

Symplastyczne załadowanie floemu może się też odbywać bez udziału mechanizmu pułapki polimerowej. U drzew z rodzajów *Salix* i *Populus* nie stwierdzano hamującego efektu PCMBs – inhibitora pompy protonowej, mimo że formą transportową jest tu sacharoza, a nie wielocukry lub poliole jak u roślin z symplastycznym typem załadowania floemu opartym o mechanizm pułapki polimerowej [37, 40]. Obecnie przyjmuje się, że rośliny te nie transportują cukrów do rurek sitowych aktywnie – tzn. przy uczestnictwie nośnika białkowego lub poprzez przemianę sacharozy do wielocukrów z wydatkowaniem energii. Transport sacharozy z miejsca jej produkcji do rurek sitowych mógłby być napędzany ciśnieniem turgorowym [11, 23, 24, 31].

U wspomnianych drzew z rodzajów *Salix* i *Populus* opisany mechanizm funkcjonuje samodzielnie [41]. Sugerowano ponadto, że przemieszczanie sacharozy do rurek sitowych mogłoby współistnieć z drogą apoplastyczną u takich roślin jak rącznik [23, 24], rzodkiewnik [11] i kukurydza [31]. Można przypuszczać, że ten mechanizm mógłby funkcjonować u wielu roślin jako uzupełnienie podstawowego. Warunkiem koniecznym jest występowanie plazmodesm, a więc obecność drogi, którą mogą przemieszczać się asymilaty.

STRUKTURA WIĄZEK PRZEWODZĄCYCH A MECHANIZM ZAŁADOWANIA FLOEMU

Na podstawie analizy budowy liści około siedmiuset gatunków roślin okrytonasiennych przyjęto, że poszczególne typy budowy wiązek przewodzących stanowią ciąg ewolucyjny mechanizmu załadowania floemu [6]. W hipotezie tej pierwotny byłby typ 1 (ultrastruktura typu otwartego), w którym liczba plazmodesm w przeliczeniu na mikrometr kwadratowy styku

(n) między komórkami towarzyszącymi a mięszkiem jest większa od 10. Takim bowiem typem ultrastruktury charakteryzują się badane gatunki z prymitywnych rodzin z podklasy Magnoliidae. Z typu otwartego wyewoluowała ultrastruktura typu pośredniego oznaczona jako 1–2a (1 n). Z typu otwartego wyewoluowały również inne, bardziej zaawansowane typy ultrastruktury, tzn. 2a (n) i typ 2b, praktycznie bez plazmodesm łączących kompleks komórki towarzyszące/rurki sitowe z resztą liścia. Wyodróżniono tu jeszcze dodatkowy typ 2c, charakterystyczny dla wielu roślin typu CAM i C4. Typ ten jest podobny do typu 2a pod względem liczby połączeń między komórkami towarzyszącymi a sąsiadującymi z nimi komórkami pochew okołowiązkowych. Te jednak są połączone bardzo licznymi plazmodesmami z komórkami mezofilu.

Analiza rozmieszczenia geograficznego badanych gatunków pokazała, że rodziny z ultrastruktura otwartą występują głównie w tropikach, przy dużej dostępności wody i w wysokiej temperaturze [6]. W terenach chłodnych występują głównie przedstawiciele rodzin typu 2a i 2b, zaś na obszarach gorących i suchych obserwuje się liczną obecność gatunków ze strukturą typu 2c.

Efektem prac nad budową wiązek przewodzących u roślin okrytonasiennych było wysunięcie hipotezy, że u roślin z ultrastruktura typu otwartego załadowanie floemu odbywa się drogą symplastyczną, natomiast u roślin z ultrastruktura zamkniętą – drogą apoplastyczną [5]. Logicznym wnioskiem obserwacji dotyczących geograficznego rozmieszczenia roślin z różnym typem ultrastruktury wiązek przewodzących było, że ewolucja mechanizmu załadowania floemu odbywała się pod wpływem dwóch czynników: temperatury i dostępności wody. Wraz z opanowywaniem kolejnych środowisk charakteryzujących się mniej sprzyjającymi warunkami, zarówno co do temperatury jak i wody, dominować zaczynał apoplastyczny mechanizm załadowania floemu, uznany za młodszy ewolucyjnie i bardziej wydajny.

WSPÓŁCZESNY STAN BADAŃ STRUKTURY WIĄZEK PRZEWODZĄCYCH I MECHANIZMU ZAŁADOWANIA FLOEMU

W ciągu ostatnich 10 lat prosty obraz ewolucji od symplastycznej drogi załadowania floemu u prymitywnych roślin z podklasy Magnoliidae, charakteryzujących się otwartą strukturą wiązek, do bardziej zaawansowanej drogi apoplastycznej u roślin z wyżej stojących podklas, ze strukturą zamkniętą, uległ znacznym zmianom. Interesujących wniosków dostarczyło nałożenie danych dotyczących budowy komórek towarzyszących i typu ich połączeń z komórkami sąsiednimi na związki filogenetyczne roślin okrytonasiennych, zdefiniowane na nowo na podstawie matrycy molekularnej opracowanej ostatnio dla roślin wyższych [41]. Potwierdzono co prawda, że pierwotnym typem jest ultrastruktura otwarta. Wydaje się natomiast, że pozostałe typy ewoluowały do pewnego stopnia niezależnie od siebie. Komórki transferowe powstały zapewne w wielu grupach taksonomicznych. Wydaje się, że ten typ komórek towarzyszących mógł powstawać i zanikać wielokrotnie podczas ewolucji. Również komórki pośredniczące, typowe dla załadowania symplastycznego, powstały niezależnie, w kilku odległych grupach i mogły wyewoluować zarówno bezpośrednio z typu 1 lub z typu 1–2a. Typ 2a z kolei wyewoluował zarówno z typu 1, z typu 1–2a, z komórek transferowych i z komórek pośrednich.

Badania prowadzone w ostatnich latach dostarczyły również danych, na podstawie których należy zweryfikować pogląd o mniejszej sprawności symplastycznego mechanizmu pułapki polimerowej od mechanizmu apoplastycznego, uważanego za młodszy ewolucyjnie. Sprawność obu typów załadowania floemu porównano badając poziom cukrów niestrukturalnych w liściach roślin z różnym typem załadowania floemu przy podwyższonym stężeniu dwutlenku węgla w powietrzu, czyli przy zwiększonej dostępności substratu dla fotosyntezy [18]. Przyjęto założenie, że rośliny z symplastycznym, pierwotnym, a więc mniej wydajnym typem załadowania floemu, powinny gromadzić w takich warunkach więcej cukrów niestrukturalnych w li-

ściach niż rośliny z zaawansowanym i sprawniejszym mechanizmem apoplastycznym. Jednak akumulacja cukrów niestrukturalnych w liściach roślin z różnym typem załadowania floemu była podobna, mimo różnego poziomu wyjściowego. W innych badaniach stwierdzono ponadto, że mechanizm związany z pułapką polimerową wymaga mniej nakładów energetycznych w porównaniu z mechanizmem apoplastycznym [22].

Mechanizm symplastyczny, choć równie sprawny jak apoplastyczny w warunkach optymalnych, może być bardziej od tego ostatniego wrażliwy na niską temperaturę [7, 8, 31]. Przekrój czynny plazmodesm, przez które odbywa się transport symplastyczny jest regulowany przez jony wapnia [4], które uczestniczą też w przekazywaniu sygnału o stresie chłodu u roślin [15, 16]. Ponadto, w niskiej temperaturze zwolnieniu ulega proces dyfuzji, dzięki której metabolity przemieszczają się przez plazmodesmy. Jest to wynikiem zarówno zwolnienia ruchów Browna, co wyraża się obniżeniem wartości współczynnika dyfuzji, jak i zwiększenia lepkości cytoplazmy. Z drugiej strony, znane są rośliny, np. *Ajuga japonica*, charakteryzujące się symplastycznym mechanizmem załadowania floemu, a mimo to zdolne do aklimatyzacji do niskiej temperatury [13]. Hipoteza o większej wrażliwości mechanizmu symplastycznego na chłód została ostatnio zakwestionowana [26]. Porównano retencję znakowanych radioaktywnie asymilatów w liściach kilku gatunków roślin z apoplastycznym bądź symplastycznym typem załadowania floemu poddanych działaniu niskiej temperatury. Ocena wpływu chłodu na mechanizm apoplastyczny i symplastyczny miała tu jednak charakter jakościowy, a nie ilościowy.

Osobny temat stanowi wrażliwość symplastycznego mechanizmu załadowania floemu na deficyt wodny, co było postulowane przez Gamalei [6], brak jednak bezpośrednich dowodów eksperymentalnych. Uważa się, że transport asymilatów, a zwłaszcza załadowanie floemu są szczególnie odporne na deficyt wodny [12, 34]. Postulowano nawet, że obniżenie potencjału wodnego liścia stymuluje załadowanie floemu [28, 29], co zwiększa podaż asymilatów do ko-

rzeni, a w konsekwencji umożliwia przeżycie rośliny w warunkach suszy dzięki podtrzymaniu, a nawet stymulacji wzrostu systemu korzeniowego. Można by nawet uznać taki mechanizm za jeden z czynników warunkujących homeohydryczność roślin lądowych, tzn. ich zdolność do utrzymania swojego bilansu wodnego na stałym poziomie. Brak jest niestety badań, czy rośliny z mechanizmem symplastycznym również wykazują stymulację załadowania floemu przy obniżającym się potencjale wodnym. Jeśli załadowanie floemu odbywające się tą drogą jest napędzane, przynajmniej częściowo, przez ciśnienie turgorowe, nie można wykluczyć, że ten typ załadowania floemu jest mniej wydajny niż apoplastyczny w warunkach suszy, co byłoby zgodne z hipotezą Gamalei [6].

ZAŁADOWANIE FLOEMU JAKO MECHANIZM WIELOPROCESOWY

U wielu roślin załadowanie floemu może mieć charakter mieszany, a przewaga danej drogi może zależeć od gatunku, stadium rozwojowego rośliny bądź od warunków środowiska. Możliwość taką sugerowano już dawno [42], jednak dopiero ostatnio uzyskano dane potwierdzające taką hipotezę. Wykazano bowiem obecność drogi symplastycznej u roślin, zarówno jedno- jak i dwuliściennych [11, 23, 24, 31], u których funkcjonowanie mechanizmu apoplastycznego jest dobrze udokumentowane [1, 10, 11, 23, 30]. Stwierdzono także obecność apoplastycznego komponentu u roślin z rodzaju *Scrophulariaceae*, z symplastycznym typem załadowania floemu [17].

Interesujący problem stanowi opisany wcześniej mechanizm załadowania floemu, którego występowanie stwierdzono w rodzajach *Populus* i *Salix*. Niedawno uważano, że taki mechanizm mógł być punktem wyjścia dla ewolucji załadowania floemu roślin okrytonasiennych [40]. Jednak analiza dokonana na podstawie matrycy molekularnej związków filogenetycznych u roślin okrytonasiennych [41] wskazuje, że jest to wtórna adaptacja, a otwarta ultrastruktura wiązki charakterystyczna dla tych roślin ewoluowała wstecznie z typu 1–2a. Możliwość

występowania tego mechanizmu u roślin z różnych grup systematycznych: rącznika (*Euphorbiaceae*) [23, 24], rzodkiewnika (*Brassicaceae*) [11] i kukurydzy (*Poaceae*) [31], wskazuje, iż jest on zapewne rozpowszechniony u roślin okrytonasiennych.

Możliwe, że jednoczesne funkcjonowanie kilku mechanizmów pozwala roślinie lepiej przystosować się do warunków środowiska. Symplastyczne załadowanie sacharozy mogłoby wspomagać mechanizm apoplastyczny w warunkach sprzyjających fotosyntezie, gdy w liściach nagromadzają się asymilaty, natomiast apoplastyczny komponent u roślin z mechanizmem symplastycznym umożliwiałby ponowne ładowanie sacharozy wyciekającej z rurek sitowych. Z podobnymi zjawiskami mamy do czynienia w przypadku rozładowania floemu. Proces ten, w którym sacharoza jest odprowadzana z rurek sitowych do tkanek akceptorów odbywa się drogą symplastyczną, wspomaganą niekiedy przez mechanizm apoplastyczny. W łodydze fasoli, gdy stosunek aktywności donora do akceptora jest duży, rozładowanie odbywa się symplastycznie [25], natomiast, gdy aktywność donora w stosunku do akceptora jest mała, zmniejszające się ciśnienie turgorowe powoduje zamykanie plazmodesm, a rozładowanie odbywa się drogą apoplastyczną.

ZAKOŃCZENIE

W nauce współczesnej istnieje tendencja do coraz bardziej wnikliwego i szczegółowego, a jednocześnie jednostronnego zagłębiania się w badane zjawiska. Problem przedstawiony w artykule zmusza badaczy do szerszego spojrzenia, albowiem bez uwzględnienia różnych aspektów zagadnienia – molekularnego, biochemicznego, fizjologicznego i ewolucyjnego, niemożliwe jest zrozumienie procesu załadowania floemu jako zjawiska wieloprocessowego. Poznanie tych mechanizmów ma również istotne znaczenie praktyczne. Od lat postuluje się bowiem wprowadzanie do roślin takich modyfikacji genetycznych, aby w efekcie uzyskać poprawę cech użytkowych przez zmianę dystrybucji asymilatów. Stopień komplikacji procesów związanych z za-

ładowaniem floemu neguje możliwość uzyskania zamierzonych efektów przez proste manipulacje genetyczne.

LITERATURA

- [1] AOKI N., HIROSE T., TAKAHASHI S., ONO K., ISHIMARU K., OHSUGI R. 1999. Molecular cloning and expression analysis of a gene for a sucrose transporter in maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Physiol.* **40**: 1072–1078.
- [2] BARKER L., KÜHN C., WEISE A., SCHULZ A., GEBHARDT C., HIRNER B., HELLMENN H., SCHULZE W., WARD J. M., FROMMER W. B. 2000. SUT2, a putative sucrose sensor in sieve elements. *The Plant Cell.* **12**: 1153–1164.
- [3] BEEBE D. U., TURGEON R. 1992. Localisation of galactinol, raffinose, and stachyose synthesis in *Cucurbita pepo* leaves. *Planta* **188**: 354–361.
- [4] DING B., ITAYA A., WOO Y.-M. 1999. Plasmodesmata and cell-to-cell communication in plants. *Int. Rev. Cyt.* **190**: 251–316.
- [5] GAMALEI YU. 1989. Structure and function of leaf minor veins in trees and herbs. A taxonomic review. *TREES* **3**: 96–110.
- [6] GAMALEI YU. 1991. Phloem loading and its development related to plant evolution from trees to herbs. *TREES* **5**: 50–64.
- [7] GAMALEI YU., PAKHOMOVA M. V. 2000. The time course of carbohydrate transport and storage in the leaves of the plant species with symplastic and apoplastic phloem loaded under the normal and experimentally modified conditions. *Russ. J. Plant Physiol.* **47**: 109–128.
- [8] GAMALEI YU., VAN BEL A. J. E., PAKHOMOVA M. V., SJUTKINA A. V. 1994. Effects of temperature on the conformation of the endoplasmic reticulum and on starch accumulation in leaves with the symplastic minor-vein configuration. *Planta* **194**: 443–453.
- [9] GEIGER D. B. Phloem loading and associated processes. 1974. W: S. A. ARONOFF, J. DAINTY, P. R. GORHAM, L. M. SRIVASTAVA, C. A. SWANSON (red.), *Phloem Transport*. New York. Plenum Press, s. 251–281.
- [10] HARITATOS E., AYRE B. G., TURGEON R. 2000. Identification of phloem involved in assimilate loading in leaves by the activity of the galactinol synthase promoter. *Plant Physiol.* **123**: 929–937.
- [11] HARITATOS E., MEDVILLE R., TURGEON R. 2000. Minor vein structure and sugar transport in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* **211**: 105–111.
- [12] HODDINOTT J., EHRET D. L., GORHAM P. R. 1979. Rapid influences of water stress on photosynthesis and translocation in *Phaseolus vulgaris*. *Can. J. Bot.* **57**: 768–776.
- [13] HOFFMANN-THOMA G., VAN BEL A. J. E., EHLERS K. 2001. Ultrastructure of minor – vein phloem and assimilate export in summer and winter leaves of the symplastically loading evergreens *Ajuga reptans* L., *Ajuga japonica* Thunb. and *Hedera helix* L. *Planta* **212**: 231–242.

- [14] HOLTHAUS U., SCHMITZ K. 1991. Distribution and immunolocalization of stachyose synthase in *Cucurbita melo* L. *Planta* **185**: 479–486.
- [15] KITAGAWA Y., YOSHIZAKI K. 1998. Water stress-induced chilling tolerance in rice: putative relationship between chilling tolerance and Ca^{2+} flux. *Plant Sci.* **137**: 73–85.
- [16] KNIGHT H., TREWAVAS A. J., KNIGHT M. R. 1996. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* involves two cellular pools and change in calcium signature after acclimation. *The Plant Cell*. **8**: 489–503.
- [17] KNOP C., VOITSEKHOVSKAJA O., LOHAUS G. 2001. Sucrose transporters in two members of the *Scrophulariaceae* with different types of transport sugar. *Planta* **213**: 80–91.
- [18] KÖRNER Ch., PELAEZ-RIEDL S., VAN BEL A. J. E. 1995. CO_2 responsiveness of plants: a possible link to phloem loading. *Plant, Cell Environ.* **18**: 595–600.
- [19] KÜHN C., QUICK W. P., SCHULZ A., RIESMEIER J. W., SONNEWALD U., FROMMER W. B. 1996. Companion cell-specific inhibition of the potato sucrose transporter SUT 1. *Plant, Cell Environ.* **19**: 1115–1123.
- [20] KÜHN C., FRANCESCHI V. R., SCHULZ A., SONNEWALD U., FROMMER W. B. 1997. Localization and turnover of sucrose transporters in enucleate sieve elements indicate macromolecular trafficking. *Science* **275**: 1298–1300.
- [21] LEMOINE R., KÜHN C., THIELE N., DELROT S., FROMMER W. B. 1996. Antisense inhibition of the sucrose transporter in potato: effect on amount and activity. *Plant, Cell Environ.* **19**: 1124–1131.
- [22] NOGUCHI K., GO C.-S., MIYAZAWA S.-I., TERASHIMA I., UEDA S., YOSHINARI T. 2001. Costs of protein turnover and carbohydrate export in leaves of sun and shade species. *Aust. J. Plant Physiol.* **28**: 37–47.
- [23] ORLICH G. 1998. Analysis of the driving forces of phloem transport in *Ricinus* seedlings: sucrose export and volume flow are determined by the source. *Planta* **206**: 266–271.
- [24] ORLICH G., HOFBRÜCKL M., SCHULZ A. 1998. A symplasmic flow of sucrose contributes to phloem loading in *Ricinus* cotyledons. *Planta* **206**: 108–116.
- [25] PATRICK J. W., OFFLER C. E. 1996. Post-sieve element transport of photoassimilates in sink regions. *J. Exp. Bot.* **47**: 1165–1177.
- [26] SCHRIER A. D., HOFFMANN-THOMA G., VAN BEL A. J. E. 2000. Temperature effects on symplasmic and apoplasmic phloem loading and loading-associated carbohydrate processing. *Aust. J. Plant Physiol.* **27**: 769–778.
- [27] SCHULZ A., KÜHN C., RIESMEIER J. W., FROMMER W. B. 1998. Ultrastructural effects in potato leaves due to antisense-inhibition of the sucrose transporter indicate an apoplasmic mode of phloem loading. *Planta* **206**: 533–543.
- [28] SMITH J. A. C., MILBURN J. A. 1980. Phloem turgor and the regulation of sucrose loading in *Ricinus communis* L. *Planta* **148**: 42–48.
- [29] SMITH J. A. C., MILBURN J. A. 1980. Water stress and phloem loading. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* **93**: 269–280.
- [30] SOWIŃSKI P. 1988. The effect of irradiance, p-chloromercuribenzenesulphonic acid and fusicoccin on the long distance transport in *Zea mays* L. seedlings. *Acta Physiol. Plant.* **20**: 79–84.
- [31] SOWIŃSKI P., RUDZIŃSKA-LANGWALD A., DALBIK A., SOWIŃSKA A. 2001. Assimilate export from leaves of chilling-treated seedlings of maize. The path to vein. *Plant Physiol. Biochem.* **39**: 881–889.
- [32] SPRENGER N., KELLER F. 2000. Allocation of raffinose family oligosaccharides to transport and storage pools in *Ajuga reptans*: the roles of two distinct galactinol synthases. *The Plant J.* **21**: 249–258.
- [33] STADLER R., BRANDNER J., SCHULZ A., GAHRTZ M., SAUER N. 1995. Phloem loading by the PmSUC 2 sucrose carrier from *Plantago major* occurs into companion cells. *The Plant Cell*. **7**: 1545–1554.
- [34] SUNG F. J. M., KRIEG D. R. 1979. Relative sensitivity of photosynthetic assimilation and translocation of ^{14}C carbon to water stress. *Plant Physiol.* **64**: 852–856.
- [35] TURGEON R. 1991. Symplastic phloem loading and the sink-source transition in leaves: a model. W: J.-L. BONNEMAIN, S. DELROT, W. J. LUCAS (red.), *Recent Advances in Phloem Transport and Assimilate Compartmentation*. Oest Editions, Nantes, s. 18–22.
- [36] TURGEON R. 1996. Phloem loading and plasmodesmata. *Trends in Plant Sci.* **1**: 418–423.
- [37] TURGEON R. 2000. Plasmodesmata and solute exchange in the phloem. *Aust. J. Plant Physiol.* **27**: 521–529.
- [38] TURGEON R., GOVAN E. 1990. Phloem loading in *Coleus blumei* in the absence of carrier-mediated uptake of export sugar from the apoplast. *Plant Physiol.* **94**: 1244–1249.
- [39] TURGEON R., HEPLER P. K. 1989. Symplastic continuity between mesophyll and companion cells in minor veins of mature *Cucurbita pepo* L. leaves. *Planta* **179**: 24–31.
- [40] TURGEON R., MEDVILLE R. 1998. The absence of phloem loading in willow leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **95**: 12055–12060.
- [41] TURGEON R., MEDVILLE R., NIXON K. C. 2001. The evolution of minor vein phloem and phloem loading. *Am. J. Bot.* **88**: 1331–1339.
- [42] VAN BEL A. J. E. 1992. Different phloem-loading machineries correlated with the climate. *Acta Bot. Neerl.* **41**: 121–141.
- [43] WANG N., NOBEL P. S. 1998. Phloem transport of fructans in the crassulacean acid metabolism Species *Agave deserti*. *Plant Physiol.* **116**: 709–714.
- [44] WEISE A., BARKER L., KÜHN C., LALONDE S., BUSHMANN H., FROMMER W. B., WARD J. M. 2000. A new subfamily of sucrose transporters, SUT 4, with low affinity/high capacity localized in enucleate sieve elements of plants. *The Plant Cell*. **12**: 1345–1355.