

REGULACJA ŁĄCZNOŚCI SYMPLASTOWEJ W PROCESACH WZROSTU I ROZWOJU ROŚLIN

REGULATION OF SYMPLASTIC CONTINUITY IN PROCESSES OF GROWTH AND DEVELOPMENT IN PLANTS

Katarzyna SOKOŁOWSKA

Instytut Biologii Roślin, Uniwersytet Wrocławski

Streszczenie: Zjawiska łączności i izolacji symplastowej są związane z procesem komunikacji międzykomórkowej, w którym istotną rolę pełnią plazmodesmy. Poprzez zmianę stanów konformacyjnych tych struktur możliwa jest albo swobodna wymiana związków niskocząsteczkowych w przypadku otwartych plazmodesm, albo jej całkowite zahamowanie przy ich zamknięciu. Stopień komunikacji międzykomórkowej może być także regulowany poprzez tworzenie nowych plazmodesm oraz likwidację już istniejących. W stanie łączności symplastowej znajdują się komórki pełniące podobne funkcje lub nieodróżnicowane. Natomiast, gdy komórki pełnią odrębne funkcje albo rozpoczynają proces różnicowania, pojawia się izolacja symplastowa. Zjawiska łączności i izolacji symplastowej są powszechne w organizmach roślinnych. Występują w tkankach zarówno merystematycznych, jak i w pełni zróżnicowanych. Umożliwienie komunikacji międzykomórkowej w przypadku łączności symplastowej albo wydzielenie pewnych grup komórek dzięki izolacji reguluje procesy wzrostu i rozwoju oraz zapewnia prawidłowe funkcjonowanie dojrzałych struktur roślinnych.

Słowa kluczowe: plazmodesmy, izolacja symplastowa, łączność symplastowa, komunikacja międzykomórkowa, pole i domena symplastowa.

Summary: Symplastic isolation and symplastic continuity are related to a process of cell-to-cell communication via plasmodesmata. Functional states of plasmodesmata are dynamically changing. Opened plasmodesmata facilitate symplastic transport between cells. Closed plasmodesmata isolate a cell or a group of cells and assure their functional integrity. Cell-to-cell communication may also be regulated due to formation of new plasmodesmata and elimination of existing ones. Symplastic continuity is present between mature cells, which perform the same functions, as well as between cells of undifferentiated structures and organs. The cells performing different functions or beginning a differentiation are symplastically isolated. The phenomenon of symplastic isolation is universal in plant organisms. It has been detected in meristematic tissues and in fully differentiated structures. Symplastic continuity, which makes intercellular communication possible and symplastic isolation, which separates particular groups of cells, both regulate processes of growth and development and guarantee proper functioning of cells in mature plant structures.

Key words: plasmodesmata, symplastic isolation, symplastic continuity, cell-to-cell communication, symplastic domains, symplastic fields.

REGULACJA ŁĄCZNOŚCI SYMPLASTOWEJ W PROCESACH WZROSTU I ROZWOJU ROŚLIN

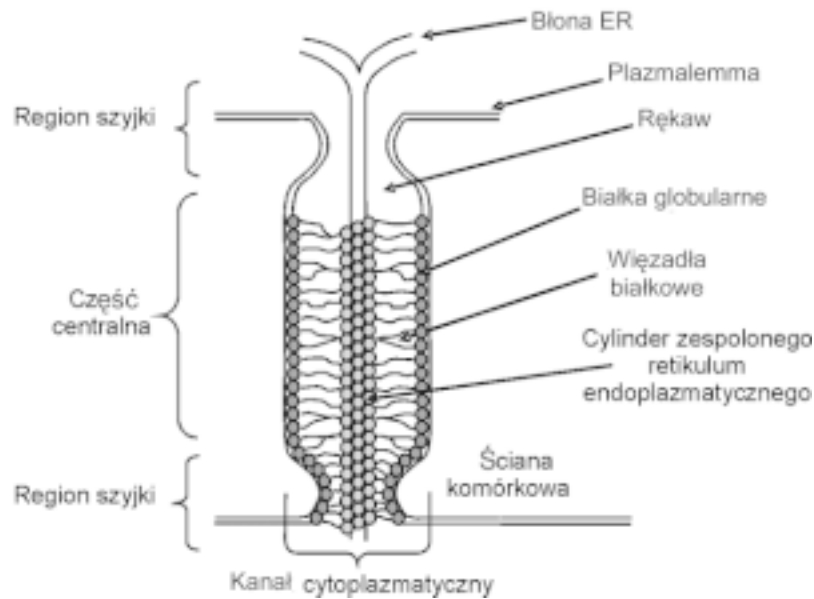
Większość organizmów roślinnych, w tym niektóre glony, mszaki, paprotniki i rośliny nasienne, składa się z dwóch, wzajemnie przenikających się systemów: symplastu i apoplastu. Mianem symplastu określamy system protoplazmy poszczególnych komórek połączony plazmodesmami. Natomiast w skład apoplastu wchodzi pozostałe elementy komórek, czyli system połączonych ścian komórkowych [27].

W obrębie całego organizmu roślinnego symplast nie jest układem ciągłym, ale tworzy mozaikę obszarów izolowanych symplastowo. O obecności ograniczeń w transporcie symplastowym związków niskocząsteczkowych i makrocząsteczek, czyli także o stopniu komunikacji międzykomórkowej zachodzącej w obrębie symplastu, wnioskujemy na podstawie rozprzestrzeniania się symplastowych barwników fluorescencyjnych. Związki te, np. fluoresceina i jej pochodne [5, 6, 19, 28, 30, 41, 47, 54, 60], Lucyfer Yellow [14, 49, 56], HPTS [22, 31, 72] wprowadzone do symplastu są transportowane między komórkami przez plazmodesmy i nie dyfundują do apoplastu. Dzięki temu analiza rozprzestrzeniania się omawianych fluorochromów pozwala określić stopień łączności symplastowej między komórkami, czyli maksymalną masę cząsteczek, jakie mogą być w badanej tkance transportowane przez plazmodesmy. W związku z tym, jeśli między poszczególnymi komórkami transport symplastowych barwników fluorescencyjnych zachodzi swobodnie, komórki te znajdują się w stanie łączności symplastowej. Oznacza to, że molekuly o takiej samej masie jak stosowany znacznik fluorescencyjny lub mniejsze mogą swobodnie dyfundować przez plazmodesmy. Natomiast jeśli transport fluorochromów jest zahamowany, mamy do czynienia ze zjawiskiem izolacji symplastowej [17]. O stopniu łączności symplastowej między komórkami decydują plazmodesmy. Za ich pośrednictwem ciągłość symplastu jest regulowana na dwa sposoby. Po pierwsze następuje modyfikacja stanu konformacyjnego plazmodesm. Po drugie, może zachodzić zmiana liczby plazmodesm występujących między poszczególnymi komórkami. W tym przypadku dochodzi albo do eliminacji istniejących plazmodesm pierwotnych i wtórnych, albo do tworzenia nowych, wtórnych plazmodesm [13]. Zjawiska łączności i izolacji symplastowej decydują o procesie komunikacji międzykomórkowej, a przez to istotnie wpływają na przebieg procesów wzrostu, rozwoju i różnicowania się roślin [34, 46].

1.1. Plazmodesmy – dynamiczne bramki decydujące o łączności symplastowej

Plazmodesmy są wąskimi kanałami cytoplazmatycznymi przenikającymi ścianę komórkową [38, 39, 43, 51, 58, 64, 74]. Stanowią złożony kompleks zbudowany z błon białkowo-lipidowych i białek (ryc. 1).

Kanał cytoplazmatyczny plazmodesmy wyściela plazmalemma, w jego centrum znajduje się cylinder zespolonego retikulum endoplazmatycznego (ER) określane jako desmotubula. Na powierzchni cylindra ER ułożone są białka globularne. Zespolone ER połączone jest z plazmalemmą więzadłami białkowymi, które łączą białka zewnętrznej powierzchni cylindra ER z białkami umieszczonymi na plazmalemmie. Przestrzeń, w której znajdują się więzadła, określana jest mianem rękawa [39, 51]. W



RYCINA 1. Schemat budowy plazmodesmy pierwotnej (wg Lucas i in. [1993], zmienione)

skład plazmodesm wchodzą także elementy cytoszkieletu komórkowego: filanty aktynowe [71] w połączeniu z miozyną lub białkami podobnymi do miozyny [55] są ułożone helikalnie w rejonie szyjki i wzdłuż całego cylindra ER oraz nanofilanty centryny obecne jedynie w regionie szyjki [4].

Przez większość plazmodesm swobodnie transportowane są związki o masie cząsteczkowej mniejszej niż 1000 Da [23]. Liczba ta stanowi tzw. wartość graniczną – SEL (*size exclusion limit*). Wartość SEL może się zmieniać i zależy często od gatunku, rodzaju i wieku tkanki oraz organu [7, 17, 23, 29, 45], obecności jonów dwuwartościowych [16], infekcji wirusowej [8, 9, 30, 33, 69, 70], warunków środowiskowych [7], a także od zastosowanych metod badawczych [41, 48, 55, 74].

Plazmodesmy występują w trzech stanach konformacyjnych: otwartym (*open*), zamkniętym (*closed*) i rozszerzonym (*dilated*). Rodzaj stanu konformacyjnego reguluje stopień łączności symplastowej. W stanie zamkniętym nie zachodzi transport symplastowy między komórkami, w związku z tym komórka, której plazmodesmy są zamknięte, jest izolowana symplastowo od komórek sąsiadujących. W stanie konformacyjnym otwartym następuje wymiana związków niskocząsteczkowych, których masa mieści się w granicach SEL. Wówczas komórka znajduje się w stanie łączności symplastowej z komórkami otaczającymi. W stanie rozszerzonym przez plazmodesmy zachodzi transport związków o masie większej niż SEL danej tkanki. Są to na ogół makrocząsteczki, takie jak: wirusowe białka MP [9, 30, 59], czynniki transkrypcyjne [32, 44, 62], białka endogenne [37, 63]. Oczywiście komórki, których plazmodesmy znajdują się w stanie rozszerzonym, są w łączności symplastowej z komórkami sąsiadującymi [74]. Transport makrocząsteczek odgrywa istotną rolę w procesach wzrostu i rozwoju roślin [10, 25, 37,

40]. Może on zachodzić na dwa sposoby. Po pierwsze makrocząsteczki (np. białko GFP) mogą być transportowane przez plazmodesmy w drodze dyfuzji. Tego typu transport określamy jako nieukierunkowany (*non-targeted*). Jest on zależny od wielu czynników, takich jak: wiek tkanki, warunki środowiskowe czy gatunek rośliny [7, 73]. Drugim typem transportu makrocząsteczek jest transport ukierunkowany (*targeted*). Nie podlega on wpływowi środowiska, nie zależy od wieku tkanki i gatunku [7]. Jest on selektywny i uwarunkowany obecnością specyficznych białek [10, 38], które tworzą z transportowanymi makrocząsteczkami kompleksy białkowe lub białkowo-nukleinowe (w przypadku kwasów nukleinowych). Kompleksy te oddziałują z elementami cytoszkieletu plazmodesmy rozszerzając średnicę rękawa i zwiększając wartość SEL. W czasie transportu ukierunkowanego zmienia się także struktura przestrzenna makrocząsteczek dopasowując się w ten sposób do wąskiego kanału cytoplazmatycznego plazmodesmy [25, 34]. Specyficzność transportu makrocząsteczek polega także na tym, że nie jest on zależny od transportu związków niskocząsteczkowych. Niekiedy między rejonami, które są izolowane symplastowo, dla substancji o masie mniejszej niż 1000 Da zachodzi transport makrocząsteczek [30, 68].

Plazmodesmy decydują więc o występowaniu lub braku transportu symplastowego, dlatego wszystkie czynniki, które regulują stan konformacyjny plazmodesm, określają także stopień łączności symplastowej komórek. Stan konformacyjny plazmodesm może być regulowany między innymi przez kalozę. Jej synteza i odkładanie się na powierzchni ścian otaczających cylinder ER skutecznie zamyka plazmodesmy. Proces ten jest odwracalny; rozkład kalozy odblokowuje plazmodesmy i przywraca łączność symplastową [39, 55, 56, 61]. Innymi czynnikami wpływającymi na stan konformacyjny plazmodesm są elementy cytoszkieletu [1]. Wskutek kurczenia się filamentów aktynowo-miozynowych w części centralnej plazmodesmy, następuje ich przesunięcie w regionie szyjki, wskutek czego kanał cytoplazmatyczny otwiera się [50]. Stopień otwarcia plazmodesm regulują także skurcze nanofilamentów centryny. Wraz ze wzrostem poziomu wapnia następuje spadek fosforylacji centryn, ich kurczenie, a w konsekwencji zamknięcie plazmodesm [4]. Fragment ściany komórkowej w regionie szyjki plazmodesmy tworzy charakterystyczną strukturę w kształcie pierścienia, określaną jako zwieracz. Przypuszcza się, że zwieracz współdziała z filamentami aktynowo-miozynowymi i nanofilamentami centryny regulując stopień otwarcia plazmodesmy [2, 50].

1.2. Pola i domeny symplastowe

Grupy komórek izolowane symplastowo od komórek otaczających tworzą pola i domeny symplastowe. W obszarach tych zachowana jest łączność symplastowa oraz mniej lub bardziej swobodna wymiana takich związków, jak: metabolity, hormony, cząsteczki sygnałowe, wtórne przekaźniki informacji czy jony [11, 39, 67]. Domeny i pola symplastowe stanowią zatem izolowane grupy komórek komunikujących się wzajemnie ze sobą, które funkcjonują w organizmie roślinnym jako odrębne jednostki rozwojowe i fizjologiczne [26].

Pierwszy raz obecność domen symplastowych zaobserwowali Erwee i Goodwin [17]. Ich doświadczenia wykazały, że w organizmie *Egeria densa* istnieje pięć barier transportu symplastowego. Obecne są one w korzeniu (między czapeczką i pozostałymi tkankami

oraz między epidermą i korą pierwotną), w łodydze (między epidermą i korą pierwotną oraz między węzłem i otaczającymi go epidermą i korą pierwotną międzywęźli) oraz u nasady liścia [17]. Późniejsze badania pokazały, że zjawisko regulacji transportu lub całkowitej izolacji symplastowej jest powszechne w organizmach roślinnych. Występuje ono zarówno w tkankach merystematycznych, np. w merystemie apikalnym pędu [21, 48, 56, 57, 67] czy strefie kambium [42], jak i w komórkach w pełni zróżnicowanych, np. epidermie strefy włóśnikowej korzenia [11], aparatach szparkowych [17, 52], pasmach floemowych [6, 66] czy podczas rozwoju włókien bawełny [60, 61] lub powstawania brodawek korzeniowych [6].

Z ograniczeniem łączności symplastowej między komórkami i wydzielaniem odrębnych domen symplastowych mamy do czynienia również w regenerujących fragmentach tkanek hodowanych *in vitro*. Między komórkami tytoniu (epidermy i kilku warstw subepidermy umieszczonych w odpowiedniej pożywce) zachowana jest łączność symplastowa, a cały regenerujący się fragment liścia stanowi jedną domenę symplastową. Jednak w momencie wytworzenia wierzchołka, układ ten ulega zaburzeniu, pojawia się izolacja symplastowa, która odgranicza tworzący się wierzchołek od pozostałych komórek, a regenerujący fragment liścia składa się od tej chwili z dwóch domen symplastowych [5].

1.2.1. Pojawienie się izolacji symplastowej jest istotnym czynnikiem wpływającym na przebieg procesów wzrostu i różnicowania u różnych gatunków roślin

Spadek stopnia łączności symplastowej między komórkami zaobserwowano w rozwijającym się zarodku u *Arabidopsis thaliana* [31] oraz w dojrzewającym woreczku zalążkowym u *Torenia fournieri* [24]. Dzień przed wykształceniem pręcików, między komórkami centralną i jajową woreczka zalążkowego zaobserwowano transport związków o masie do 10 kDa. Świadczy to o dużym stopniu łączności symplastowej. Jednak już następnego dnia przepuszczalność plazmodesm spada, umożliwiając rozprzestrzenianie się związków o masie do 3 kDa. Natomiast dwa dni po wytworzeniu pręcików między komórkami centralną i jajową transportowane są związki o masie mniejszej niż 1 kDa. Jak widać, w miarę dojrzewania woreczka zalążkowego spada przepuszczalność plazmodesm między komórkami centralną i jajową oraz zmniejsza się stopień łączności symplastowej. Następnie, po zapłodnieniu komórki jajowej powstała zygota jest izolowana symplastowo od tworzącego się endospermu [24]. Od tego momentu rozwijający się sporofit jest izolowany symplastowo od otaczającego go gametofitu. Zjawisko izolacji zarodka zaobserwowano także u *Arabidopsis thaliana* [29].

W rozwijającej się plemni u *Chara* sp. między komórkami reprezentującymi różne etapy rozwoju występuje czopowanie plazmodesm łączących komórki przez osmofilny materiał, umożliwiający jednak transport Lucyfer Yellow [36]. Natomiast kiedy komórki nici spermatogenicznych dzielą się lub różnicują synchronicznie, są w stanie swobodnej łączności symplastowej, a w ich plazmodesmach występuje tylko cytoplazma [35]. Prawdopodobnie, czasowa lub permanentna blokada transportu symplastowego, w wyniku zatkania plazmodesm osmofilnym materiałem, umożliwia komórkom powstałym z jednej komórki inicjalnej dzielić się niezależnie bądź realizować odrębne ścieżki rozwojowe [35, 36]. Podobną zależność zaobserwowano między komórkami

siostrzanymi powstałych z protoplastów mikrokallusów u *Solanum nigrum* L. Jeśli komórki siostrzane znajdują się w stanie łączności symplastowej, to dzielą się synchronicznie, pozostając na tym samym etapie rozwoju. Prawdopodobnie rozpoczęcie mitozy w jednej z komórek siostrzanych wywołuje taki sam proces w drugiej komórce siostrzanej. Natomiast asynchroniczność w podziałach komórkowych oraz niezależny czas rozpoczęcia i trwania mitozy, związane często z procesem różnicowania, występują tylko w komórkach izolowanych symplastowo [14]. Można przypuszczać, że regulacja synchronizacji aktywności podziałowej i procesów różnicowania komórek zależy od transportu przez plazmodesmy pewnych cząsteczek sygnałowych. Pojawienie się nawet czasowej izolacji symplastowej komórek hamuje transport cząsteczek sygnałowych, pozwalając izolowanym obszarom na indywidualny rozwój [13]. Selektywne zamykanie plazmodesm osmofilnym materiałem i wydzielanie w ten sposób rejonów izolowanych symplastowo ma także miejsce w rozwijającym się kallusie u *Molinia caerulea*. Rozwijający się z kallusa proembrion jest izolowany symplastowo od pozostałych komórek kallusa. Również wewnątrz proembrionu znajdują się kilkukomórkowe regiony izolowane symplastowo. Interesujące jest to, że proces zamykania plazmodesm zachodzi w komórkach, które otaczają region izolowany symplastowo, a nie w komórkach, które do niego należą [12].

Zatem zjawisko izolacji symplastowej pojawia się na wczesnych i ściśle określonych etapach rozwoju oraz formowania się określonych struktur i organów roślinnych. Wydaje się, że ograniczenie transportu symplastowego może stanowić istotny czynnik, który wpływa na pojawienie się asynchronicznych podziałów komórkowych i rozpoczęcie określonych procesów różnicowania [12] oraz zapewnia ich prawidłowy przebieg.

W epidermie liści u *Commelina* [15, 17, 52] i *Allium* [52] dojrzałe komórki szparkowe są izolowane symplastowo od siebie oraz od komórek otaczających. Jednak macierzyste komórki szparkowe oraz młode, jeszcze nie w pełni wykształcone szparki znajdują się w łączności symplastowej ze sobą i z komórkami otaczającymi. Dopiero w drugim etapie formowania się kompleksu szparkowego, w momencie, kiedy szparki zaczynają się powiększać, a por jeszcze się nie wykształcił, komórki szparkowe są izolowane symplastowo [52]. Należy także zwrócić uwagę, że izolacja symplastowa komórek szparkowych obserwowana jest w momencie, kiedy w ścianach łączących komórki szparkowe z komórkami otaczającymi występują jeszcze plazmodesmy. W związku z tym obecność izolacji symplastowej nie jest spowodowana zanikiem plazmodesm, ale modyfikacją ich stanu konformacyjnego [52]. Zatem izolacja symplastowa komórek szparkowych pojawia się w trakcie procesu rozwojowego i jest zachowywana niezmiennie w pełni wykształconych strukturach. Podobna sytuacja występuje w korzeniu u *Arabidopsis*. Strefy niezróżnicowane, czyli merystematyczna i wydłużeniowa są połączone symplastowo [11, 28]. Natomiast w momencie, kiedy rozpoczyna się tworzenie włóśników, a więc proces różnicowania, następuje izolacja symplastowa epidermy strefy włóśnikowej od kory pierwotnej oraz epidermy strefy wydłużeniowej [11]. Również w obrębie epidermy dwa typy komórek, czyli trichoblasty i atrichoblasty są izolowane symplastowo od siebie [11]. Jednak mimo że między trichoblastami i atrichoblastami występuje izolacja symplastowa, zachodzi między nimi transport makrocząsteczek. Białko CAPRICE decyduje o wytworzeniu przez komórkę włóśników.

Jego ekspresja zachodzi w atrichoblastach. Następnie jest ono transportowane do trichoblastów (prawdopodobnie przez plazmodesmy), gdzie hamuje transkrypcję genu *GLABRA2*, odpowiedzialnego za fenotyp bezwłosnikowy [68]. Tak jak wspomniano wcześniej, transport makrocząsteczek, a więc także białka CAPRICE, może zachodzić między regionami izolowanymi symplastowo. Jest to możliwe, ponieważ makrocząsteczki oddziałują z cytoszkieletem plazmodesm zwiększając wartość SEL oraz modyfikują swoją strukturę przestrzenną, dopasowując się do wąskiego kanału cytoplazmatycznego [26].

Zjawisko izolacji symplastowej pełni istotną rolę w procesie powstawania kompleksu rurek sitowych i komórek towarzyszących (SE-CC; *sieve elements and companion cells*). Kompleks SE-CC tworzy podłużnie zorientowaną domenę symplastową, którego izolacja pojawia się w trakcie procesu formowania. Na etapie komórek macierzystych zarówno w kierunku osiowym, jak i radialnym występuje łączność symplastowa. Jednak już w momencie zaniku silnej wakuolizacji przyszłych komórek kompleksu pojawia się izolacja w kierunku radialnym. Natomiast podczas różnicowania się komórek towarzyszących i obecności płyt sitowych zostaje dodatkowo zahamowany transport symplastowy w kierunku osiowym. Na tym etapie przyszły kompleks rurek sitowych i komórek towarzyszących jest izolowany zarówno w kierunku osiowym, jak i radialnym. Dopiero w pełni wykształcony kompleks SE-CC odzyskuje łączność symplastową w kierunku osiowym, zachowując izolację w kierunku radialnym [66]. Należy pamiętać, że zahamowanie transportu symplastowego w kierunku radialnym występuje jedynie w przypadku związków niskocząsteczkowych. Makrocząsteczki, takie jak wirusowe białka MP, są w stanie rozprzestrzeniać się z kompleksu SE-CC do komórek otaczających [30]. Jest to kolejny przykład, obok transportu białka CAPRICE [68], rozprzestrzeniania się makrocząsteczek między regionami izolowanymi symplastowo. Zjawisko izolacji symplastowej kompleksu SE-CC zaobserwowano także u *Arabidopsis* [11, 21], *Lupinus luteus* [66], *Zea mays* L. [28] czy w niezainfekowanych korzeniach *Medicago* sp. [6]. Jednak izolacja pasm floemowych może zaniknąć w wyniku infekcji bakteriami z rodzaju *Rhizobium* [6]. Już w pierwszym dniu infekcji korzeni *Medicago truncatula* i *Medicago sativa* między komórkami floemu i kory korzenia zostaje przywrócona łączność symplastowa [6]. W tym samym czasie komórki inicjalne przyszłej brodawki korzeniowej, powstałe z odróżnicowanych komórek endodermy, kory i perycyklu, izolują się symplastowo od pozostałych komórek kory korzenia [6] tworząc pole symplastowe. Interesujący jest mechanizm rozszerzania się granic tego pola. Komórki znajdujące się poza jego obrębem, ale które mają być do niego włączone, najpierw zostają odizolowane symplastowo od komórek kory korzenia. Następnie zachodzą w nich odróżnicujące podziały komórkowe, które prowadzą do powiększenia objętości brodawki. Wyraźnie widać, że zanim komórki ulegną odróżnicowaniu, musi zaistnieć, dzięki zwiększeniu przepuszczalności plazmodesm między określonymi komórkami i izolacji symplastowej między innymi, swoisty proces regulacji komunikacji plazmodesmowej [6].

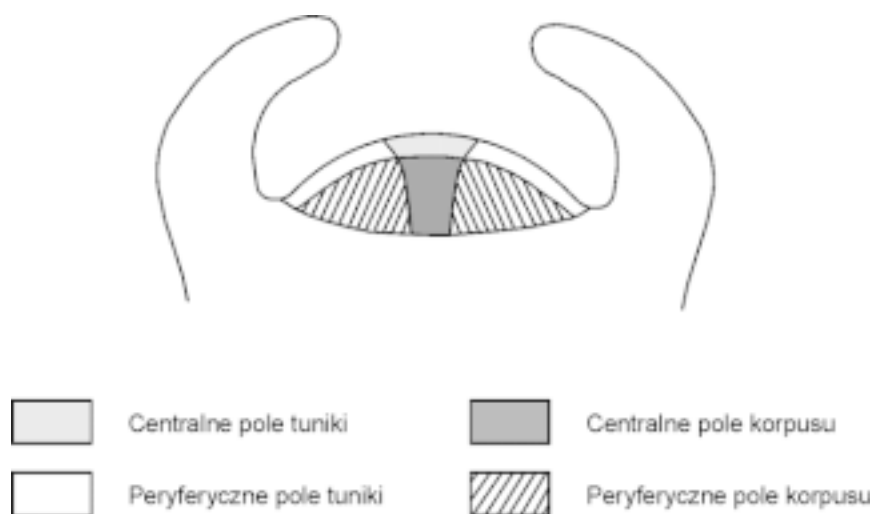
Powyższe przykłady ukazują, że regulacja łączności symplastowej stanowi powszechny mechanizm, który kontroluje oraz koordynuje procesy wzrostu i różnicowania u roślin. Zamknięcie plazmodesm ogranicza nie tylko ruch cząsteczek sygnałowych, jonów czy fotoasymilatów, ale wpływa także na potencjał turgorowy [58]. Zmiany potencjału turgorowego, współdziałając ze zmianami ekspresji transporterów K^+ ,

sacharozy i ekspansyn, uczestniczą w złożonym procesie rozwoju włókien bawełny [60, 61]. Każde włókno bawełny stanowi pojedynczą komórkę, która podczas swojego rozwoju wydłuża się ponad 2000-krotnie. Proces ten można podzielić na trzy fazy. W pierwszej fazie wydłużanie włókien jest powolne. Plazmodesmy łączące komórkę włókna z okrywą nasienną są otwarte. Zachodzi maksymalna ekspresja ekspansyn, dzięki czemu struktura ściany komórkowej ulega rozluźnieniu. W drugiej fazie następuje intensywne wydłużanie włókien bawełny. Jest to możliwe dzięki współdziałaniu dwóch procesów. Po pierwsze rozwijające się włókno zostaje odizolowane symplastowo od komórek okrywy nasiennej w wyniku zamknięcia plazmodesm (poprzez odłożenie kalozy w regionie szyjki plazmodesmy). Po drugie maksymalna ekspresja transporterów K^+ oraz sacharozy powoduje wzrost stężenia substancji osmotycznie czynnych i transport wody do komórek włókien bawełny, co generuje w ten sposób wysoki turgor. Duże ciśnienie turgorowe, dzięki izolacji symplastowej, jest utrzymywane przez kilka dni, umożliwiając intensywny wzrost wydłużeniowy włókien. W ostatniej fazie wskutek degradacji kalozy [61] następuje otwarcie plazmodesm i spadek turgoru włókien. W związku z tym, wydłużanie komórek ulega wyraźnemu zahamowaniu lub zanika zupełnie. Ekspresja ekspansyn oraz transporterów K^+ i sacharozy jest minimalna, a struktura ściany komórkowej ulega zacieśnieniu. Proces rozwoju włókien bawełny zostaje zakończony [60, 61]. Opisany mechanizm świetnie obrazuje, jak duże znaczenie dla rozwoju niektórych struktur roślinnych może pełnić czasowo istniejąca izolacja symplastowa komórek [53, 60]. Im dłużej włókna bawełny w trakcie swojego rozwoju będą izolowane symplastowo, tym będą dłuższe. U gatunków, u których plazmodesmy są przez cały czas otwarte, wydłużanie włókien jest nieznaczne i zachodzi dzięki ekspresji ekspansyn oraz rozluźnieniu ściany komórkowej [61].

1.2.2. Czasowe i przestrzenne zmiany w układzie pól symplastowych merystemu apikalnego pędu

W wyniku analizy rozprzestrzeniania się fluorescencyjnych barwników symplastowych w merystematy apikalnych pędu u *Arabidopsis* [21, 22], *Betula pubescens* [56, 57] oraz *Sinapis alba* [48] powstał model rozmieszczenia pól symplastowych w merystemie apikalnym pędu roślin okrytozalążkowych (ryc. 2), w którym wyróżniamy: centralne pole tuniki, centralne pole korpusu, peryferyczne pole tuniki oraz peryferyczne pole korpusu [20, 67]. Każde z tych pól pełni inną funkcję. Centralne pole tuniki, poprzez podziały antyklinalne, powoduje wzrost powierzchniowy merystemu. Centralne pole korpusu, przez podziały we wszystkich płaszczyznach, prowadzi do wzrostu objętości trzonu merystemu. Natomiast peryferyczne pola tuniki i korpusu stanowią strefę organogeniczną [67].

Dzięki wprowadzeniu barwników fluorescencyjnych do komórek centralnego i peryferycznego pola tuniki za pomocą techniki mikroiniekcji oraz obserwacji ich rozprzestrzeniania się w symplacie udowodniono, że pola symplastowe merystemu apikalnego podlegają czasowym zmianom kształtu i wielkości pod wpływem długości fotoperiodu. Ekspozycja *Betula pubescens* na działanie krótkiego fotoperiodu powoduje przejście rośliny w stan spoczynku zimowego bezwzględnie. Na tym etapie, w wyniku zamknięcia plazmodesm przez kalozę, nie obserwuje się jakiegokolwiek łączności



RYCINA 2. Układ pól symplastowych w merystemie apikalnym pędu roślin okrytozalążkowych (wg van der Schoot, Rinne [1999], zmienione)

symplastowej między komórkami merystemu apikalnego, zanikają więc pola symplastowe [56, 57].

Natomiast w wyniku działania długiego fotoperiodu, następuje indukcja do kwitnienia i przejście merystemu ze stanu wegetatywnego w generatywny. W tym okresie merystem apikalny jest izolowany symplastowo od pasm floemowych [21, 22]. Łączność symplastowa z floemem zostanie przywrócona dopiero w merystemie kwiatowym w momencie, kiedy pojawią się dojrzałe owoce [21]. Wydaje się, że odizolowanie symplastowe merystemu apikalnego pędu od pasm floemowych podczas indukcji do kwitnienia, czyli zmniejszenie stopnia komunikacji międzykomórkowej merystemu z pozostałymi częściami rośliny jest korzystne. Chroni ono merystem przed wpływem czynników, które mogłyby zaburzyć szereg procesów zachodzących w tym czasie [75]. U *Sinapis alba* w pierwszym oraz drugim dniu działania długiego fotoperiodu zmienia się organizacja i geometria merystemu. Centralne pole symplastowe, obserwowane z góry na powierzchni merystemu, zmienia wówczas swój kształt z trójkątnego na kolisty oraz rozrasta się trzykrotnie w porównaniu ze strefą peryferyczną [48]. W tym czasie następuje także dwu-, a nawet czterokrotny wzrost częstości występowania plazmodesm w warstwach L_1 , L_2 i L_3 oraz pomiędzy nimi zarówno w strefie centralnej, jak i w peryferycznej merystemu. Sytuacja ta nie trwa zbyt długo, ponieważ już w trzecim dniu działania długiego fotoperiodu, kiedy wzrasta częstość podziałów mitotycznych oraz zwiększa się objętość i wielkość komórek merystemu, nowo powstałe plazmodesmy zanikają [49]. Natomiast w merystemie apikalnym u *Iris*, w momencie przekształcenia merystemu wegetatywnego w generatywny następuje redukcja częstości występowania plazmodesm w obrębie warstwy L_2 oraz między warstwą L_2 i otaczającymi ją komórkami warstwy L_1 i korpusu. W tym przypadku nie mamy do czynienia z izolacją symplastową warstwy L_2 , jednakże następuje istotne zmniejszenie stopnia jej łączności symplastowej.

Należy przy tym zaznaczyć, że w tym samym czasie częstość występowania plazmodesm w warstwie L_1 i korpusie nie uległa zmianie [3].

W okresie indukcji do kwitnienia zmienia się geometria merystemu apikalnego pędu. Zachodzą także zmiany w systemie komunikacji symplastowej dzięki tworzeniu nowych plazmodesm i likwidacji już istniejących. I chociaż u *Sinapis alba* [49] dochodzi do zwiększenia, a u *Iris* [3] do zmniejszenia stopnia łączności symplastowej, zjawiska te świadczą o tym, jak dużą rolę w procesach rozwojowych pełnią plazmodesmy.

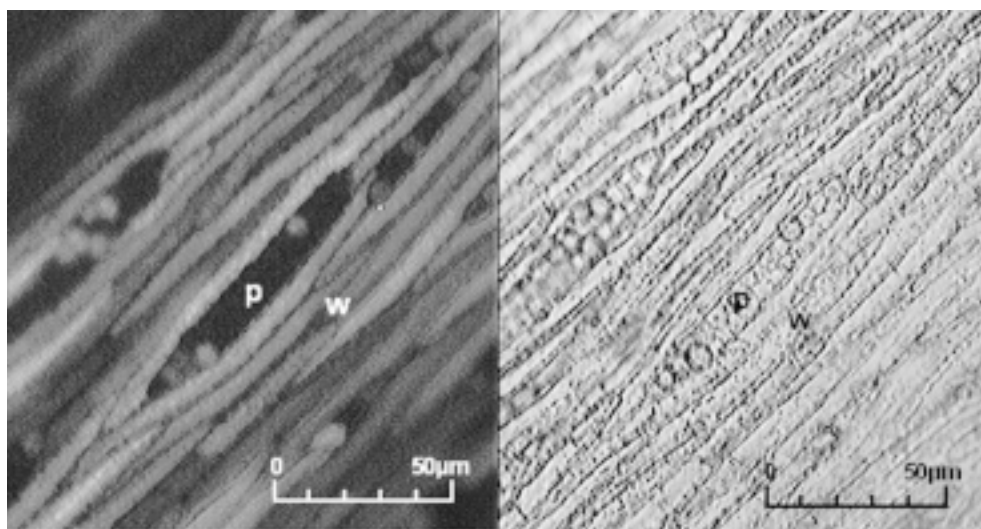
1.2.3. Izolacja symplastowa w kambium i łyku wtórnym

Kambium jest merystemem niejednorodnym (w jego skład wchodzi komórki wrzecionowate i promieniowe), którego aktywność zmienia się w ciągu roku [18, 27]. Analiza rozprzestrzeniania się jednego z symplastowych barwników fluorescencyjnych – fluoresceiny wykazała, że w kambium aktywnym u *Ulmus minor* i *Acer pseudo-platanus* komórki promieniowe są izolowane symplastowo od otaczających je komórek wrzecionowatych (ryc. 3). Natomiast w kambium spoczynkowym izolacja zanika, a między komórkami inicjalnymi wrzecionowatymi i promieniowymi zachowana jest łączność symplastowa [42].

Obecność izolacji symplastowej komórek inicjalnych w kambium aktywnym można wyjaśnić tym, że komórki te pełnią inne funkcje. W wyniku aktywności podziałowej komórek wrzecionowatych tworzony jest osiowy układ ksylemu i floemu, natomiast w wyniku podziałów komórek promieniowych powstaje układ poprzeczny. Stąd, podobnie jak w merystemie apikalnym pędu, w którym komórki z poszczególnych pól symplastowych pełnią odrębne funkcje [67], izolacja symplastowa w kambium aktywnym umożliwia dwóm rodzajom komórek inicjalnych funkcjonować niezależnie.

Van Bel i in. [65] przypuszczają, że zmiany stanów konformacyjnych plazmodesm wymagają nakładów energii. Najwięcej energii potrzebne jest do utrzymania stanu zamkniętego, stan otwarty plazmodesm wymaga znacznie mniejszych nakładów [65]. W związku z tym, jeśli w kambium spoczynkowym podziały komórkowe nie zachodzą, izolacja symplastowa komórek inicjalnych promieniowych od wrzecionowatych nie jest potrzebna. A skoro stan otwarty plazmodesm jest korzystniejszy pod względem energetycznym niż stan zamknięty, plazmodesmy w kambium spoczynkowym są otwarte, a między komórkami inicjalnymi utrzymywana jest łączność symplastowa.

Zjawisko izolacji symplastowej obecne jest także między komórkami floemu wtórnego. Promienie łykowe, które tworzą układ poprzeczny, są izolowane symplastowo od otaczających je komórek miękiszu osiowego i elementów przewodzących układu podłużnego. Izolacja symplastowa obecna jest w łyku zarówno zimowym, jak i wiosennym; nie mamy więc do czynienia, tak jak w kambium, ze zmianami sezonowymi [42]. Prawdopodobnie, w związku z tym, że łyko wtórne jest tkanką w pełni zróżnicowaną, która powstaje w wyniku podziałów peryklinalnych kambium [27] oraz ze względu na to, że w kambium aktywnym występuje izolacja symplastowa komórek promieniowych tworzących układ poprzeczny łyka i drewna wtórnego, obecność izolacji symplastowej promieni w łyku wtórnym jest ich własnością nadaną podczas procesu różnicowania.



RYCINA 3. Izolacja symplastowa komórek wrzecionowatych od komórek promieniowych w kambium aktywnym u *Acer pseudoplatanus*; przekrój podłużny styczny; w – komórka wrzecionowata, p – komórka promieniowa. Przedstawiono dwie mikrofotografie: pierwsza (po lewej stronie) wykonana w świetle niebieskim obrazuje rozprzestrzenianie się roztworu fluoresceiny (jasny kolor) między komórkami, druga mikrofotografia (po prawej) wykonana w świetle białym (zdjęcie wykonała K. Sokołowska)

1.3. Podsumowanie

Zjawiskiem regulacji łączności symplastowej, obecnością domen i pól symplastowych w organizmach roślinnych naukowcy zajmują się od ponad dwudziestu lat. Na początku jedynie obserwowano regiony izolowane symplastowo oraz wyznaczano wartości SEL w badanych obiektach. Z biegiem czasu coraz ciekawsze stawało się nie samo zagadnienie regulacji transportu symplastowego i obecności izolacji symplastowej, ale także moment ich pojawienia się w czasie rozwoju organizmu oraz pod wpływem czynników środowiskowych, mechanizm powstawania i rozszerzania granic pola czy domeny symplastowej, a przede wszystkim ich znaczenie w procesach wzrostu i różnicowania roślin, na które wskazują przytoczone w artykule przykłady.

LITERATURA

- [1] AAZIZ R, DINANT S, EPEL BL. Plasmodesmata and plant cytoskeleton. *Trends Plant Science* 2001; **6**: 326–330.
- [2] ANISIMOV AV, EGOROV AG. Plasmodesmata as a modulator of osmotic water fluxes in plants. *Russian J Plant Physiol* 2002; **49**: 677–684.
- [3] BERGMANS ACJ, DE BOER AD, DERKSEN JWM, VAN DER SCHOOT C. The symplasmic coupling of L_2 -cells diminishes in early floral development of *Iris*. *Planta* 1997; **203**: 245–252.
- [4] BLACKMAN LM, HARPER JD, OVERALL RL. Localization of a centrin-like protein to higher plant plasmodesmata. *Eur J Cell Biol* 1999; **78**: 255–261.
- [5] CANTRILL LC, OVERALL RL, GOODWIN PB. Changes in symplastic permeability during adventitious shoot regeneration in tobacco thin cell layers. *Planta* 2001; **214**: 206–214.

- [6] COMPLAINVILLE A, BROCARD L, ROBERTS I, DAX E, SEVER N, SAUER N, KONDOROSI A, WOLF S, OPARKA K, CRESPI M. Nodule initiation involves the creation of a new symplasmic field in specific root cells of *Medicago* species. *Plant Cell* 2003; **15**: 2778–2791.
- [7] CRAWFORD KM, ZAMBRYSKI PC. Non-targeted and targeted protein movement through plasmodesmata in leaves in different developmental and physiological states. *Plant Physiol* 2001; **125**: 1802–1812.
- [8] DERRICK PM, BAKER H, OPARKA KJ. Increase in plasmodesmatal permeability during cell-to-cell spread of tobacco rattle virus from individually inoculated cells. *Plant Cell* 1992; **4**: 1405–1412.
- [9] DING B, HAUDENSHIELD JS, HULL RJ, WOLF S, BEACHY RN, LUCAS WJ. Secondary plasmodesmata are specific sites of localization of the tobacco mosaic virus movement protein in transgenic tobacco plants. *Plant Cell* 1992; **4**: 915–928.
- [10] DING B, ITAYA A, QI Y. Symplasmic proteins and RNA traffic: regulatory points and regulatory factors. *Curr Opin Plant Biol* 2003; **6**: 596–602.
- [11] DUCKETT CM, OPARKA KJ, PRIOR DAM, DOLAN L, ROBERTS K. Dye-coupling in root epidermis of *Arabidopsis thaliana* is progressively reduced during development. *Development* 1994; **120**: 3247–3255.
- [12] EHLERS K, BINDING H, KOLLMANN R. The formation of symplasmic domains by plugging of plasmodesmata: a general event in plant morphogenesis? *Protoplasma* 1999; **209**: 181–192.
- [13] EHLERS K, KOLLMANN R. Primary and secondary plasmodesmata: structure, origin and functioning. *Protoplasma* 2001; **216**: 1–30.
- [14] EHLERS K, KOLLMANN R. Synchronization of mitotic activity in protoplast-derived *Solanum nigrum* L. microcalluses is correlated with plasmodesmal connectivity. *Planta* 2000; **210**: 269–278.
- [15] ERWEE MG, GOODWIN PB, VAN BEL A. Cell-cell communication in the leaves of *Commelina cyanea* and other plants. *Plant Cell Environ* 1985; **8**: 173–178.
- [16] ERWEE MG, GOODWIN PB. Characterization of the *Egeria densa* Planch. leaf symplast: inhibition of the intercellular movement of fluorescent probes by group II ions. *Planta* 1983; **158**: 320–328.
- [17] ERWEE MG, GOODWIN PB. Symplast domains in extrastellar tissues of *Egeria densa* Planch. *Planta* 1985; **163**: 9–19.
- [18] ESAU K. Anatomia roślin. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1973: 183–198.
- [19] FISHER DB, CASH-CLARK CE. Sieve tube unloading and post-phloem transport of fluorescent tracers and proteins injected into sieve tubes via severed aphid stylets. *Plant Physiol* 2000; **123**: 125–137.
- [20] FLETCHER JC, MEYEROWITZ EM. Cell signaling within the shoot meristem. *Curr Opin Plant Biol* 2000; **3**: 23–30.
- [21] GISEL A, BARELLA S, HEMPEL FD, ZAMBRYSKI PC. Temporal and spatial regulation of symplastic trafficking during development in *Arabidopsis thaliana* apices. *Development* 1999; **126**: 1879–1889.
- [22] GISEL A, HEMPEL FD, BARELL S, ZAMBRYSKI P. Leaf-to-apex movement of symplastic tracer is restricted coincident with flowering in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 1713–1717.
- [23] GOODWIN PB. Molecular size limit for movement in the symplast of the *Elodea* leaf. *Planta* 1983; **157**: 124–130.
- [24] HAN Y-Z, HUANG B-Q, ZEE S-Y, YUAN M. Symplastic communication between the central cell and the egg apparatus cells in the embryo sac of *Torenia fournieri* Lind. before and during fertilization. *Planta* 2000; **211**: 158–162.
- [25] HAYWOOD V, KRAGLER F, LUCAS WJ. Plasmodesmata: pathways for protein and ribonucleoprotein signaling. *Plant Cell* 2002: S303–S325.
- [26] HEINLEIN M. Plasmodesmata: dynamic regulation and role in macromolecular cell-to-cell signaling. *Curr Opin Plant Biol* 2002; **5**: 543–552.
- [27] HEJNOWICZ Z. Anatomia i histogeneza roślin naczyniowych. Organy wegetatywne. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2002: 761–800.
- [28] HUKIN D, DOERING-SAAD C, THOMAS CR, PRITCHARD J. Sensitivity of cell hydraulic conductivity to mercury is coincident with symplasmic isolation and expression of plasmalemma aquaporin genes in growing maize roots. *Planta* 2002; **215**: 1047–1056.
- [29] IMLAU A, TRUERNIT E, SAUER N. Cell-to-cell and long-distance trafficking of the green fluorescent protein in the phloem and symplastic unloading of the protein into sink tissues. *Plant Cell* 1999; **11**: 309–322.
- [30] ITAYA A, MA F, QI Y, MATSUDA Y, ZHU Y, LIANG G, DING B. Plasmodesmata-mediated selective protein traffic between “symplasmically isolated” cells probed by a viral movement protein. *Plant Cell* 2002; **14**: 2071–2083.
- [31] KIM I, HEMPEL FD, SHA K, PFLUGER J, ZAMBRYSKI PC. Identification of a developmental transition in plasmodesmatal function during embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 2002; **129**: 1261–1272.
- [32] KIM M, CANIO W, KESSLER S, SINHA N. Developmental changes due to long distance movement of a homeobox fusion transcript in tomato. *Science* 2001; **293**: 287–289.

- [33] KOLL S, BÜTTNER C. Cell-to-cell movement of plant viruses through plasmodesmata: a review. *Acta Phytopath Pflanz* 2000; **33**: 99–110.
- [34] KRAGLER F, LUCAS WJ, MONZER J. Plasmodesmata: Dynamics, Domains and Patterning. *Ann Bot* 1997; **81**: 1–10.
- [35] KWIATKOWSKA M, MASZEWSKI J. Changes in the occurrence and ultrastructure of plasmodesmata in antheridia of *Chara vulgaris* L. during different stages of spermatogenesis. *Protoplasma* 1986; **132**: 179–188.
- [36] KWIATKOWSKA M. Plasmodesmal changes are related to different developmental stages of antheridia of *Chara* species. *Protoplasma* 2003; **222**: 1–11.
- [37] LINDSEY K, CASSON S, CHILLEY P. Peptides: new signaling molecules in plants. *Trends Plant Science* 2002; **7**: 78–83.
- [38] LUCAS JW, LEE J-Y. Plasmodesmata as a supracellular control network in plants. *Nature* 2004; **5**: 712–726.
- [39] LUCAS WJ, DING B, van der SCHOOT C. Plasmodesmata and the supracellular nature of plants. *New Phytol* 1993; **125**: 435–476.
- [40] LUCAS WJ. Plasmodesmata and the cell-to-cell transport of proteins and nucleoprotein complexes. *J Exp Bot* 1999; **50**: 979–987.
- [41] MARTENS HJ, HANSEN M, SCHULZ A. Caged probes: a novel tool in studying symplasmic transport in plant tissues. *Protoplasma* 2004; **223**: 63–66.
- [42] MASZTALERZ K. Symplasmic isolation in cambium and phloem cells and its seasonal variation. I Konferencja PTBER, Olsztyn 2003.
- [43] McLEAN BG, HEMPEL FD, ZAMBRYSKI PC. Plant intercellular communication via plasmodesmata. *Plant Cell* 1997; **9**: 1043–1054.
- [44] NAKAJIMA K, SENA G, NAWY T, BENFEY PN. Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning. *Nature* 2001; **413**: 307–311.
- [45] OPARKA KJ, ROBERTS AG, BOEVINK P, CRUZ SS, ROBERTS I, PRADEL KS, IMLAU A, KOTLIZKY G, SAUER N, EPEL B. Simple, but not branched, plasmodesmata allow the nonspecific trafficking of proteins in developing tobacco leaves. *Cell* 1999; **97**: 743–754.
- [46] OPARKA KJ, ROBERTS AG. Plasmodesmata. A not so open-and-shut case. *Plant Physiol* 2001; **125**: 123–126.
- [47] OPARKA KJ. Uptake and compartmentation of fluorescent probes by plant cells. *J Exp Bot* 1991; **42**: 565–579.
- [48] ORMENESE S, HAVELANGE A, BERNIER G, VAN DER SCHOOT C. The shoot apical meristem of *Sinapis alba* L. expands its central symplasmic field during the floral transition. *Planta* 2002; **215**: 67–78.
- [49] ORMENESE S, HAVELANGE A, DELTOUR R, BERNIER G. The frequency of plasmodesmata increases early in the whole shoot apical meristem of *Sinapis alba* L. during floral transition. *Planta* 2000; **211**: 370–373.
- [50] OVERALL RL, BLACKMAN LM. A model of macromolecular structure of plasmodesmata. *Trends Plant Science* 1996; **1**: 307–311.
- [51] OVERALL RL. Substructure of plasmodesmata. W: van Bel AJE, van Kesteren WJP [red.] Plasmodesmata. Structure, function, role in cell communication. Springer Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hong Kong, London, Milan, Paris, Singapore, Tokyo 1999: 130–145.
- [52] PALEVITZ BA, HEPLER PK. Changes in dye coupling of stomatal cells of *Allium* and *Commelina* demonstrated by microinjection of Lucifer Yellow. *Planta* 1985; **164**: 473–479.
- [53] PFLUGER J, ZAMBRYSKI PC. The power of symplastic isolation. *Curr Biol* 2001; **11**: R436–R439.
- [54] PRADEL KS, ULLRICH CI, SANTA CRUZ S, OPARKA KJ. Symplastic continuity in *Agrobacterium tumefaciens*-induced tumours. *J Exp Bot* 1999; **50**: 183–192.
- [55] RADFORD JE, WHITE RG. Localization of a myosin-like protein to plasmodesmata. *Plant J* 1998; **14**: 743–750.
- [56] RINNE PLH, KAIKURANTA PM, VAN DER SCHOOT C. The shoot apical meristem restores its symplasmic organization during chilling-induced release from dormancy. *Plant J* 2001; **26**: 249–264.
- [57] RINNE PLH, VAN DER SCHOOT C. Symplasmic fields in the tunica of the shoot apical meristem coordinate morphogenetic events. *Development* 1998; **125**: 1477–1485.
- [58] ROBERTS AG, OPARKA KJ. Plasmodesmata and control of symplastic transport. *Plant Cell Environ* 2003; **26**: 103–124.
- [59] ROBERTS IM, BOEVINK P, ROBERTS AG, SAUER N, REICHEL C, OPARKA KJ. Dynamic changes in the frequency and architecture of plasmodesmata during the sink-source transition in tobacco leaves. *Protoplasma* 2001; **218**: 31–44.
- [60] RUAN Y-L, LLEWELLYN DJ, FURBANK RT. The control of single-celled cotton fiber elongation by developmentally reversible gating of plasmodesmata and coordinated expression of sucrose and K⁺ transporters and expansin. *Plant Cell* 2001; **13**: 47–60.

- [61] RUAN Y-L, XU S-M, WHITE R, FURBANK RT. Genotypic and developmental evidence for the role of plasmodesmatal regulation in cotton fiber elongation mediated by callose turnover. *Plant Physiol* 2004; **136**: 4104–4113.
- [62] RUIZ-MEDRANO R, XOCONOSTLE-C?ZARES B, LUCAS WJ. Phloem long-distance transport of CmNACP mRNA: implications for supracellular regulation in plants. *Development* 1999; **126**: 4405–4409.
- [63] RUIZ-MEDRANO R, XOCONOSTLE-C?ZARES B, LUCAS WJ. The phloem as a conduit for inter-organ communication. *Curr Opin Plant Biol* 2001; **4**: 202–209.
- [64] SOWIŃSKI P. Plazmodesmy jako element systemu komunikacji w roślinach. *Post Biol Kom* 2002; **29**: 627–635.
- [65] VAN BEL AJE, GÜNTER S, VAN KESTEREN WJP. Plasmodesmata, a maze of questions. W: van Bel AJE, van Kesteren WJP [red.]. Plasmodesmata. Structure, function, role in cell communication. Springer Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hong Kong, London, Milan, Paris, Singapore, Tokyo 1999:18.
- [66] VAN BEL AJE, VAN RIJEN HVM. Microelectrode-recorded development of the symplasmic autonomy of the sieve element/companion cell complex in the stem phloem of *Lupinus luteus* L. *Planta* 1994; **192**: 165–175.
- [67] VAN DER SCHOOT C, RINNE P. Networks for shoot design. *Nature* 1999; **4**: 31–37.
- [68] WADA T, KURATA T, TOMINAGA R, KOSHINO-KIMURA Y, TACHIBANA T, GOTO K, MARKS D, SHIMURA Y, OKADA K. Role of positive regulator of root hair development CAPRICE, in *Arabidopsis* root epidermal cell differentiation. *Development* 2002; **129**: 5409–5419.
- [69] WAIGMANN E, LUCAS WJ, CITOVSKY V, ZAMBRYSKI P. Direct functional assay for tobacco mosaic virus cell-to-cell movement protein and identification of a domain involved in increasing plasmodesmal permeability. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; **91**: 1433–1437.
- [70] WAIGMANN E, ZAMBRYSKI P. Tobacco mosaic virus movement protein-mediated protein transport between trichome cells. *Plant Cell* 1995; **7**: 2069–2079.
- [71] WHITE RG, BADEL T, OVERALL RL, Vesik. Actin associated with plasmodesmata. *Protoplasma* 1994; **180**: 169–184.
- [72] WRIGHT KM, OPARKA KJ. The fluorescent probe HPTS as a phloem-mobile symplastic tracer: an evaluation using confocal laser scanning microscopy. *J Exp Bot* 1996; **47**: 439–445.
- [73] WYMER CL, FERNÁNDEZ-ÁBALOS JM, DOONAN JH. Microinjection reveals cell-to-cell movement of green fluorescent protein in cells of maize coleoptiles. *Planta* 2001; **212**: 692–695.
- [74] ZAMBRYSKI P, CRAWFORD K. Plasmodesmata: gatekeepers for cell-to-cell transport of developmental signals in plants. *Ann Rev Cell Dev Biol* 2000; **16**: 393–421.
- [75] ZAMBRYSKI P. Cell-to-cell transport of proteins and fluorescent tracers via plasmodesmata during development. *J Cell Biol* 2004; **162**: 165–168.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 04.04.2005 r.

Przyjęto: 11.07.2005 r.

ul. Kanonia 6/8, 50-137 Wrocław

e-mail: kasias@biol.uni.wroc.pl