

CZESŁAW TARKOWSKI

*Akademia Rolnicza w Lublinie*

## WPŁYW CYTOPLAZMY NA PROCESY REGULACYJNE I PRODUKCYJNOŚĆ ROŚLIN

Wszystkie organizmy roślinne i zwierzęce mają strukturę komórkową. Wielkość i fenotyp komórek, w zależności od pełnionych funkcji są bardzo różnicowane. Biorąc pod uwagę strukturę komórek, dzieli się wszystkie organizmy na dwie grupy *Procaryota* i *Eucaryota*. Do pierwszej grupy zaliczane są bakterie i sinice. Komórki tych organizmów nie mają jądra, zawierają natomiast DNA w postaci nici zwanej genoforem, RNA i rybosomy. Brak jest u tych organizmów takich organoidów jak plastydy i mitochondria. *Procaryota* mają własny aparat syntezy białka. Na cząsteczce DNA zachodzi transkrypcja mRNA, tRNA i rRNA. Przy pomocy tych trzech rodzajów RNA, różnych enzymów, kationów, jest syntetyzowane białko na rybosomach. Regulacja syntezy białka zachodzi, jak się wydaje, głównie na poziomie transkrypcji. Przy pomocy białka represorowego następuje włączanie i wyłączanie genów strukturalnych. Długość cząsteczki DNA u bakterii — *Escherichia coli* dochodzi często do 1 000  $\mu\text{m}$ , a liczba par nukleotydów wynosi ok. 3 mln. Na tej cząsteczce jest zakodowana sekwencja białek. Liczba różnych cząsteczek białkowych może dochodzić do kilku tysięcy. Najprostsza i najmniejsza komórka — Mykoplazma zawiera ok. 10 tys. cząstek białkowych. Jeden rodzaj cząsteczki białkowej jest zatem wielokrotnie powielany.

Wszystkie organizmy zaliczone do *Eucaryota* mają komórki jądrzaste. Jądro jest oddzielone od cytoplazmy podwójną błoną. W jądrze znajdują się chromosomy, jąderko, karioplazma. U eukariota, w porównaniu do prokariota, chromosomy są organoidami bardzo skomplikowanymi. W ich skład wchodzi DNA, RNA, białko histonowe, niehistonowe, kationy i inne. Morfologicznie chromosom jest organoidem niesłychanie zmiennym. W interfazie, znajduje się w postaci długich, pofałdowanych nici, natomiast w czasie podziałów, a szczególnie w metafazie, przybiera kształt stosunkowo grubych, krótkich nici. W czasie podziałów mejotycznych chromosomy podlegają segregacji wobec czego powstają genetycznie różne gamety. Segregacja chromosomów i genów determinuje dziedziczenie jądrowe, podlegające prawom Mendla.

Ponieważ u eukariota DNA jądrowe oddzielone jest od cytoplazmy i miejsca syntezy białka — rybosomów, wobec czego regulacja genetyczna jest odmienna niż u prokariota. Jak wiemy z badań Watsona i Cricka, cząsteczki DNA mają strukturę podwójnej helikoidy (10). W skład jednej nici DNA wchodzi dezoksyrybonukleotydy. Sekwencja tych nukleotydów warunkuje pierwszorzędową strukturę DNA i jest zapisem dla syntezy RNA. Drugorzędowa struktura powstaje w wyniku odpowiedniego skręcenia cząsteczki DNA w postaci helikoidy. W chromosomach podziałowych, DNA jest odpowiednio pofałdowane i upakowane w postaci organoidu jakim jest chromosom. W chromosomach eukariota, dzięki odpowiedniemu pofałdowaniu i połączeniu z białkiem histonowym, nici DNA są zablokowane i genetycznie nieaktywne. W chromosomach aktywnych, w interfazie są one odpowiednio długie i mają odblokowane fragmenty DNA, na których zachodzi transkrypcja RNA.

Jak wykazały badania ostatnich lat na chromatynie odbywa się synteza prekursorowego mRNA (4). W pierwszym etapie powstaje duża cząsteczka pre-mRNA, która natychmiast łączy się z białkiem informoferem. W ten sposób zostaje zablokowana aktywność biochemiczna wiązań RNA. W drugim etapie, wielka cząsteczka pre-mRNA, pod wpływem enzymów endo- i egz nukleaz rozpada się na mniejsze. W ten sposób rozpoczyna się proces „dojrzenia” mRNA. Z wielkiej cząsteczki pre-mRNA tylko określony fragment staje się informacyjnym RNA, do którego dołącza się łańcuch poliadenylowy, liczący ok. 200 nukleotydów. Łańcuch ten wykazuje silne powinowactwo z białkiem.

W etapie trzecim, mRNA przechodzi przez pory błony jądrowej. Proces ten jest słabo poznany. Prawdopodobnie cząsteczka mRNA, znajdująca się jeszcze w jądrze, odłącza się od informoferu, a pozostaje jedynie białko połączone z łańcuchem poliadenylowym. Cząsteczka informacyjnego RNA wraz z łańcuchem poliadenylowym przechodzi przez pory jądrowe do cytoplazmy, w której zostaje natychmiast związana z białkiem cytoplazmatycznym. Powstaje w ten sposób informosom. Zarówno więc mRNA, jak i rRNA są w cytoplazmie związane z białkiem. Jedynie cząsteczki rozpuszczalnego RNA dzięki połączeniu zasad purynowych i pirymidynowych w obrębie tego samego łańcucha, występują w stanie wolnym.

W czwartym etapie, na poziomie translacji, zachodzi regulacja syntezy białka. Specyficzne białka cytoplazmatyczne stabilizują cząsteczki mRNA oraz powodują jej aktywację lub inhibicję. Jak wykazały badania przeprowadzone na *Acetabularia* (3) mimo pozbawienia komórki jądra, informacyjne RNA może funkcjonować przez kilka tygodni w cytoplazmie. Dzięki temu syntetyzowane jest białko i zachodzi także proces regulacji komórkowej prowadzący do różnicowania u tego organizmu kapelusza.

Organizmy eukariotyczne mają więc odmienny proces regulacji komór-

kowej niż prokariota. Jeśli u prokariota, jak wykazały badania Jakoba i Monoda, regulacja zachodzi na poziomie transkrypcji, to u eukariota odbywa się na poziomie translacji. Oczywiście nie jest wykluczone, że zarówno u jednych jak i drugich organizmów proces regulacji zachodzi na dwóch poziomach. Różnice polegają jednak na tym, iż u prokariota proces regulacji na poziomie transkrypcji odgrywa prawdopodobnie większą rolę niż na poziomie translacji. Odwrotnie u eukariota regulacja na poziomie translacji spełnia bardzo istotną rolę.

U eukariota regulacja syntezy białka na poziomie translacji powoduje cały szereg następstw. Przede wszystkim poziom białka jest kontrolowany częściowo przez geny jądrowe, a częściowo przez czynniki cytoplazmatyczne. W nasionach dojrzałych, w temperaturze pokojowej i po ich namoczeniu w wodzie, już po kilku godzinach rozpoczyna się synteza białka w oparciu o mRNA zsyntetyzowane w czasie dojrzewania nasion. Regulacja białka jest w tym przypadku kontrolowana na poziomie cytoplazmatycznym. Powszechnie znany jest wpływ suszy na zawartość białka. Analizy zawartości białka wykonane na pojedynczych roślinach czy ziarniakach umożliwiają wykreślenie krzywej normalnej. Krzywa Gausa wskazuje, iż zmienność białka dziedziczy się jako cecha ilościowa. Spowodowane to jest zapewne mnogością genów kontrolujących syntezę RNA i białka, jak również wpływem regulatorów cytoplazmatycznych i czynników siedliskowych.

Z dotychczasowych badań wiemy, iż nieco inaczej jest kontrolowana synteza frakcji białkowych. Z analiz genetycznych przeprowadzonych na kukurydzy wiemy, iż synteza prolaminy jest kontrolowana przez recesywny gen — opaque 2. Prosty sposób dziedziczenia regulowany jest przez zablokowanie syntezy białek zapasowych w określonym miejscu reakcji łańcuchowej. Blokowanie syntezy określonych frakcji jest kontrolowane genetycznie lecz zachodzi na poziomie cytoplazmy. Ponieważ frakcje białkowe różnią się zawartością aminokwasów egzogennych, takich jak lizyna, metionina czy tryptofan wobec czego łatwiej jest zwiększyć zawartość określonych aminokwasów w białku, niż ilość białka w suchej masie. U zbóż i wielu innych roślin wraz ze zwiększeniem ilości białka odkłada się duża zawartość frakcji prolaminowej, ubogiej w lizynę, stąd występują trudności w wyhodowaniu odmian o wysokiej zawartości białka i dobrej jego jakości. Dla hodowli można wyciągnąć stąd dwa wnioski:

- 1) zwiększenie zawartości białka można osiągnąć poprzez długotrwałą selekcję. Ponieważ zawartość białka dziedziczy się jak cecha ilościowa dlatego też ciągła, wieloletnia selekcja na wysoki poziom białka przynosi z reguły zadowalające rezultaty;

- 2) jakość białka związana jest ze stosunkiem frakcji białkowych. W miarę zwiększania frakcji albuminowych i globulinowych kosztem frakcji prolaminowej, jakość białka wzrasta. W pracach hodowlanych zbóż duże

znaczenie ma także stosunek frakcji prolaminowej do gluteninowej, kształtujący się na poziomie 1:1. Duża zmienność jest także w obrębie poszczególnych frakcji białkowych. Zmienność podfrakcji białkowych stwarza możliwości wyhodowania odmian o korzystnym składzie i dobrej wartości białka.

Pomiędzy informacją genetyczną zawartą w jądrze i cytoplazmie istnieje ścisły związek. Informacja jest przekazywana nie tylko z jądra do cytoplazmy lecz także odwrotnie. Na temat wpływu cytoplazmy na geny jądrowe wiemy stosunkowo mało. Niemniej jednak synteza białka i innych związków w jądrze zachodzi przy pomocy substratów dostarczanych z cytoplazmy. Jak wiemy z badań nad formami alloplazmatycznymi na funkcjonowanie genów wpływa cytoplazma pochodząca od innego gatunku. Także kierunek krzyżowania roślin wskazuje na wpływ cytoplazmy na funkcjonowanie genów. Powiązanie genów jądrowych z cytoplazmą zachodzi na zasadzie sprzężenia zwrotnego, przy czym wpływ genów jądrowych na cechy, może być większy lub mniejszy w zależności od udziału cytoplazmy w kontrolowaniu tych właściwości. Zależność między genami i cechami u eukariotów jest raczej pośrednia, a nie bezpośrednia. W zasadzie nie ma genów barwy kwiatów, wysokości roślin, kształtu liści itp. Cechy i właściwości roślin wykształcają się w wyniku procesów regulacyjnych zachodzących w czasie i przestrzeni, głównie na poziomie cytoplazmatycznym.

Ważną rolę w procesach regulacyjnych spełniają błony wewnątrzkomórkowe, na których zachodzą reakcje biochemiczne w sposób uporządkowany. Istota informacji sprowadza się do niestatystycznego uporządkowania podstawowych cegiełek w dużych molekułach. W DNA nukleotydy są ułożone w swoisty sposób. Od ich sekwencji zależy z kolei ułożenie aminokwasów w białku. Aminokwasy w białku powtarzają się w określony sposób właściwy dla danego gatunku lub grupy gatunków. Regulacja genetyczna, prowadząca do powielenia tych samych cząsteczek białkowych ma charakter ilościowy i statystyczny.

W cytoplazmie eukariota znajdują się organoidy odznaczające się w stosunku do genów jądrowych mniejszą lub większą autonomią. W plastydach i mitochondriach znajduje się DNA, RNA, rybosomy i enzymy kontrolujące syntezę białka. Organoidy te mają zatem własny materiał genetyczny i własny mechanizm syntezy białka. Oczywiście ilość DNA nie jest duża niemniej jednak wystarcza do zsyntetyzowania co najmniej kilkudziesięciu różnych cząsteczek białkowych.

W komórkach roślinnych, w miękiszu zieleniowym, znajdują się chloroplasty, w których zachodzi proces fotosyntezy. Liczba chloroplastów w komórkach roślin wyższych waha się najczęściej od 20 do 40 (2). Chloroplasty zawierają wewnątrz matriks oraz system błon wewnętrznych ułożonych

w grana lub w układ międzygranalny. Liczba gran waha się od 40 do 60. W każdym granie znajdują się spłaszczone pęcherzyki — tylakoidy. Liczba tylakoidów w granie może dochodzić do 50 i więcej. Cząsteczki chlorofilu ułożone są w jedną warstwę na błonach tylakoidów. Liczba cząsteczek chlorofilu w jednym chloroplaście szpinaku może wynosić 1—2 miliarda (9). Tak duża liczba cząsteczek chlorofilu stwarza olbrzymie możliwości wychwytywania fotonów światła. Chlorofil silnie pochłania światło fioletowo-niebieskie i pomarańczowo-czerwone, a rozprasza i przepuszcza światło zielone. Asymilacja jednej cząsteczki  $\text{CO}_2$  wymaga 10 do 20 fotonów.

Proces fotosyntezy rozpoczyna się od połączenia cząsteczki  $\text{CO}_2$  z rybulozą, związkem 5-węglowym. Z jednej cząsteczki rybulozy i  $\text{CO}_2$  powstają dwie cząsteczki kwasu glicerynowego. Przy pomocy NADP jako przenośnika wodoru z wody, kwas glicerynowy zostaje zredukowany do aldehydu glicerynowego. Reakcja ta wymaga nakładu energii. Z cząsteczek aldehydu glicerynowego powstaje cukier 6-węglowy — glukoza, a z niej skrobia asymilacyjna. Tworzenie się skrobi odbywa się w chloroplastach w dzień przy udziale światła. W nocy skrobia jest rozkładana do glukozy i rozprowadzana do organów syntetyzujących skrobię zapasową.

Proces fotosyntezy jest częściowo kontrolowany przez geny jądrowe, a częściowo przez geny znajdujące się w chloroplastach. U roślin występuje chlorofil a i b oraz barwniki pochłaniające światło, jak np. karotenoidy. Cząsteczki DNA i RNA są u wszystkich roślin podobne, a u wielu roślin nawet takie same, wobec czego proces fotosyntezy zachodzi w większości roślin w sposób podobny. U kukurydzy i trzciny cukrowej akceptorami  $\text{CO}_2$  są nie tylko rybuloza lecz także pirogronian co bardzo usprawnia fotosyntezę lecz nie zmienia jej istoty.

W świetle powyższych rozważań należałoby się zastanowić w jakim stopniu plon zależy od genów jądrowych, a na ile od genów cytoplazmatycznych. Oczywiście nie istnieją geny warunkujące plon. Poszukiwanie takich genów byłoby stratą czasu. A jednak plon zależy w dużym stopniu od odmiany i jej genotypu. Wysokość roślin jest w dużym stopniu zależna od genów jądrowych, chociaż na tę cechę wpływa kierunek krzyżowania. Hodowca może dzięki temu modelować wysokość. U pszenicy została w znacznym stopniu skrócona słoma. Proces fotosyntezy został tym samym przesunięty z łodyg na liście. Odmiany wysokie, np. u żyta mają większą powierzchnię asymilacyjną przypadającą na łodygę niż na liście. U krótkich odmian pszenicy powierzchnia asymilacyjna liści jest natomiast większa niż łodygi. Ma to określony wpływ na plon, gdyż fotosynteza jest sprawniejsza w liściach niż w łodygach. Skrócenie słomy ma jeszcze inny aspekt. U odmian o długiej słomie duża ilość asymilatów jest gromadzona w łodydze, a mniejsza w ziarniakach. W procesie hodowli wytwarzane są takie modele roślin, które w sposób najbardziej korzystny dla człowieka rozprowadzają

i gromadzą asymilaty w tych organach, które są przeznaczone na konsumpcję, paszę lub służą jako surowiec dla przemysłu. Hodowla roślin to nic innego jak tworzenie takich modeli roślin, które mają stosunkowo dużą powierzchnię, sprawnie asymilują przez długi czas i odkładają związki organiczne w organach służących do zbioru. Długość słomy jako cecha kontrolowana przez geny jądrowe, regulatory wzrostu i podlegająca w dużym stopniu prawom Mendla ma tylko pośredni wpływ na plon. Odmiany o skróconej słomie podlegają często w mniejszym stopniu wyleganiu co oczywiście także wpływa korzystnie na plon.

Duży wpływ na plon mają czynniki siedliskowe. Wiadomo, że plon zależy od gleby, ilości i częstotliwości opadów, nawożenia, płodozmianu itp. Jeśli zadaniem hodowcy jest wytworzenie takich modeli roślin, które by miały dużą powierzchnię asymilacyjną, to zadaniem rolnika jest stworzenie takiego modelu łąny, ażeby jego powierzchnia asymilacyjna liści i łodyg kilkakrotnie przewyższała powierzchnię gruntu. Przy dużej powierzchni asymilacyjnej łąny produkcja suchej masy jest z reguły wysoka. W wyniku fotosyntezy jedynie 1% energii słonecznej jest wykorzystywany przez rośliny. Zwiększenie tego odsetka do kilku procent jest zadaniem rolnika. W naszych warunkach, czynnikiem ograniczającym proces fotosyntezy jest najczęściej woda. Przy braku wody w glebie i powietrzu zamykają się szparki oddechowe, wobec czego zahamowana jest asymilacja CO<sub>2</sub>. Wysoka temperatura wzmacnia procesy oddychania co powoduje nadmierne zużycie związków organicznych. Dlatego też najbardziej intensywny wzrost roślin odbywa się wiosną przy stosunkowo niskich temperaturach w ciągu dnia i nocy. Wówczas występuje zdecydowana przewaga procesów nagromadzania asymilatów nad ich zużyciem w procesie oddychania. Czynnikiem ograniczającym może być również światło. W dniu słonecznym, występuje nadmiar światła. W okresach pochmurnych ilość światła może być zmniejszona do 1/10. W przypadku mniejszej intensywności światła roślina wykorzystuje nadmiernie nagromadzony chlorofil. Brak światła, jak się wydaje, jest kompensowany dużą ilością chlorofilu znajdującego się w chloroplastach. Stąd rośliny w mniejszym stopniu reagują na brak światła niż na brak wody. W naszych warunkach, przy niedostatku wody w okresie wegetacji i wysokiej temperaturze w lipcu i sierpniu produkcja suchej masy jest często mniejsza niż na wiosnę a nawet jesienią.

Jak podaje Strebeyko (9) produkcja suchej masy w ciągu roku, w skali naszego globu, wynosi ok. 100 miliardów ton, z czego na oceany i morza przypada ok. 80 miliardów ton a na lądy ok. 20 miliardów. Na rolnictwo przypada zaledwie ok. 1,5 mld ton. Na powierzchni 1 ha ziemi uprawnej można wyprodukować do 20 ton suchej masy.

Proces fotosyntezy jest kontrolowany zarówno przez geny jądrowe, jak i geny chloroplastów. Duży wpływ na ten proces mają czynniki siedlisko-

we, takie jak woda, temperatura, światło, CO<sub>2</sub>, sole mineralne i inne. Ponieważ wpływ cytoplazmy na wydajność fotosyntezy jest duży, dlatego też nie podlega ona w sposób dostrzegalny segregacji mendlowskiej. W pracach hodowlanych, a szczególnie roślin aklimatyzowanych w naszych warunkach, niesłuchanie ważną sprawą jest staranny dobór do krzyżowania odmiany przeznaczonej jako formy matecznej.

Niejako odwrotnym procesem w stosunku do fotosyntezy jest oddychanie. Proces glikolizy prowadzący do hydrolizy glukozy do kwasu pirogronowego zachodzi w matriks cytoplazmy. Poczynając od kwasu pirogronowego rozpoczyna się cykl kwasów karboksylowych zwany cyklem Krebsa, który zachodzi w mitochondriach. W cyklu tym bierze udział 11 kwasów karboksylowych w tym 3 ketonokwasy.

Glikoliza beztlenowa jest bardziej pierwotnym sposobem zdobywania energii i jest raczej charakterystyczna dla mikroorganizmów. W początkowych fazach powstawania życia na ziemi był to jedyny sposób przekształcania i zdobywania energii. Z chwilą powstania życia roślinnego i nagromadzenia tlenu w atmosferze wykształciła się glikoliza tlenowa czyli cykl Krebsa. Proces ten jest bardziej wydajny, powstaje bowiem więcej cząsteczek ATP niż w glikolizie beztlenowej. Fosforylacja oksydacyjna i fotosyntetyczna, mimo że zachodzą w różnych organoidach cytoplazmatycznych są typowymi reakcjami, w wyniku których powstają wysokoenergetyczne cząsteczki ATP. Proces zdobywania energii przez komórkę jest kontrolowany genetycznie, ale na poziomie cytoplazmatycznym i zapewne nie podlega regułom Mendla.

W mitochondriach znajduje się: DNA, RNA, rybosomy, enzymy, lipidy i inne składniki. W organoidach tych jest syntetyzowane własne białko. DNA wyizolowane z różnych organizmów roślinnych i zwierzęcych ma podobną sekwencję nukleotydów. Zapis genetyczny w DNA mitochondrialnym jest podobny, a może nawet taki sam u różnych organizmów.

Oddychanie beztlenowe i tlenowe są procesami kontrolowanymi przez enzymy cytoplazmatyczne.

Proces syntezy skrobi, błonnika i innych węglowodanów jest kontrolowany genetycznie ale przez enzymy znajdujące się w matriks, plastydach i błonach cytoplazmatycznych. Synteza lipidów odbywa się także w cytoplazmie. U roślin są specjalne organoidy — sferosomy, bogate w tłuszczce.

Podstawowe więc procesy życiowe takie jak synteza białka, węglowodanów, lipidów, hormonów i innych składników, zachodzą u eukariotów w cytoplazmie. Procesy te podlegają kontroli genetycznej lecz nie bezpośrednio, a poprzez RNA, enzymy i hormony, które wpływają na wytwarzanie różnorodnych substratów, tworzenie się błon i ścian komórkowych, różnicowanie komórek, powstawanie tkanek i organów. Zależność między genami i cechami jest zatem nie bezpośrednia lecz pośrednia. Ponadto

u eukariotów dzięki oddzieleniu cytoplazmy od jądra powstał specjalny mechanizm kontroli genetycznej związany z obecnością takich organoidów jak plastydy, mitochondria, sferosomy u roślin, lizosomy u zwierząt, struktury Golgiego, retikulum endoplazmatyczne i inne. Dziedziczenie kontrolowane cytoplazmatyczne w zasadzie nie podlega jak jądrowe regułom Mendla. Dlatego też, w pracach hodowlanych należy większą uwagę zwracać na cytoplazmę. Wprawdzie jej zróżnicowanie genetyczne jest bez porównania mniejsze niż jądrowe, niemniej jednak wpływ cytoplazmy na plon odmiany, przystosowanie jej do siedliska, fotoperiodyzm, procesy wernalizacyjne i inne są w pewnym stopniu kontrolowane przez cytoplazmę. Ponieważ powiązania genów jądrowych z cytoplazmą są bardzo silne, nie można traktować cytoplazmy jak coś niezmiennego. Pod wpływem genów jądrowych cytoplazma ulega przeobrażeniom dzięki czemu w miarę procesów przystosowawczych rośliny stają się dla hodowcy coraz to bardziej cenne. Nie można także wykluczyć wpływu cytoplazmy na geny jądrowe. Dzięki wzajemnemu powiązaniu i pełnej integracji jądra z cytoplazmą, komórkę należy traktować jako całość.

#### LITERATURA

1. Delevoryas Th.: Ewolucyjne różnicowanie się roślin, PWN, Warszawa, 1972.
2. De Robertis E. D. P., Nowinski W. W., Saez F. A.: Biologia komórki. PWN, Warszawa 1974.
3. Harris H.: Jądro i cytoplazma. PZWL, Warszawa 1973.
4. Jachymczuk W.: Rola kompleksów mRNA z białkiem w regulacji procesu translacji. Postępy Biochemii. T. 21, Nr 2, 1975.
5. Kunicki-Goldfinger W.: Dziedzictwo i przyszłość. PWN. Warszawa 1974.
6. Lewin B.: Gene Expression. Eucaryotic Chromosomes. Vol. 2, 1974.
7. Merkert C. L., Ursprung H.: Genetyka rozwoju. PWN, Warszawa 1974.
8. Olszewska M.: Cytologia roślin. PWN. Warszawa 1971.
9. Strebeyko P.: Fotobiologia. PWN. Warszawa 1971.
10. Watson J. D.: Molecular Biology of the Gene. W. A. Benjamin. INC. New York, 1970.