

KOMÓRKI GRANICZNE – STRUKTURALNY I FUNKCJONALNY SKŁADNIK SYSTEMU KORZENIOWEGO*

BORDER CELLS – A STRUCTURAL AND FUNCTIONAL
COMPONENT OF THE ROOT SYSTEM

Jolanta JAROSZUK-ŚCISEŁ, Ewa KUREK

Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej,
Lublin

Streszczenie: Komórki graniczne – RBC (ang. *root border cells*) to żywe komórki uwalniane podczas wzrostu korzenia z najbardziej zewnętrznej warstwy czapeczki do gleby, znane wcześniej jako martwe, złuszczone komórki czapeczki. Od komórek pozostających na powierzchni wierzchołka korzenia RBC różnią się morfologicznie, jakością syntetyzowanych białek i funkcją. Liczba RBC, tworzona i uwalniana przez pojedynczy korzeń w okresie 24 godz., jest stała dla roślin należących do tej samej rodziny. Produkcja i uwalnianie komórek granicznych z czapeczki są regulowane przez endogenne sygnały i wiele czynników środowiskowych. Metabolity, syntetyzowane przez RBC po ich uwolnieniu z czapeczki i wydzielane na zewnątrz komórek, to polisacharydy ułatwiające między innymi penetrację gleby przez wierzchołek korzenia, białka o aktywności enzymatycznej, biocydy, regulatory podziałów komórkowych, a także atraktanty dla bakterii, grzybów i nicieni. Te właściwości RBC sprawiają, że należy je traktować jako istotny czynnik kształtujący skład i strukturę zespołów mikroorganizmów zasiedlających strefę korzeniową oraz uczestniczący bezpośrednio lub pośrednio w interakcjach pomiędzy roślinami i mikroorganizmami glebowymi.

Słowa kluczowe: komórki graniczne korzenia (RBC), morfologia, metabolity, funkcja w strefie korzeniowej.

Abstract: Root border cells (RBC) formerly called dead sloughed root cap cells are live cells released to soil by the growing root from the outermost cap layer. They differ from root tip cells in morphology, pattern of synthesized proteins and function. The number of RBC produced by a given root during a 24-h period is conserved at the family level. Production and RBC release from the root cap is controlled by endogenous signals and many environmental factors. Metabolites synthesized by RBC released from the root cap and exported from cells include polysaccharides which facilitate penetration of the soil by the cap, proteins (enzymes and biocides), factors controlling plant and microbial cell division, and attractants for bacteria, fungi and nematodes. The above-mentioned properties of RBC indicate that they are a signifi-

*Publikacja w ramach projektu badawczego MNiSW nr 3PO6R 01025 i nr NB-22-2007/UMCS.

cant factor affecting the composition and structure of the rhizospheric microbial community and also are involved directly or indirectly in interaction between plants and soil microorganisms.

Key words: root border cells (RBC), morphology, metabolites, function in root zone.

1. WSTĘP

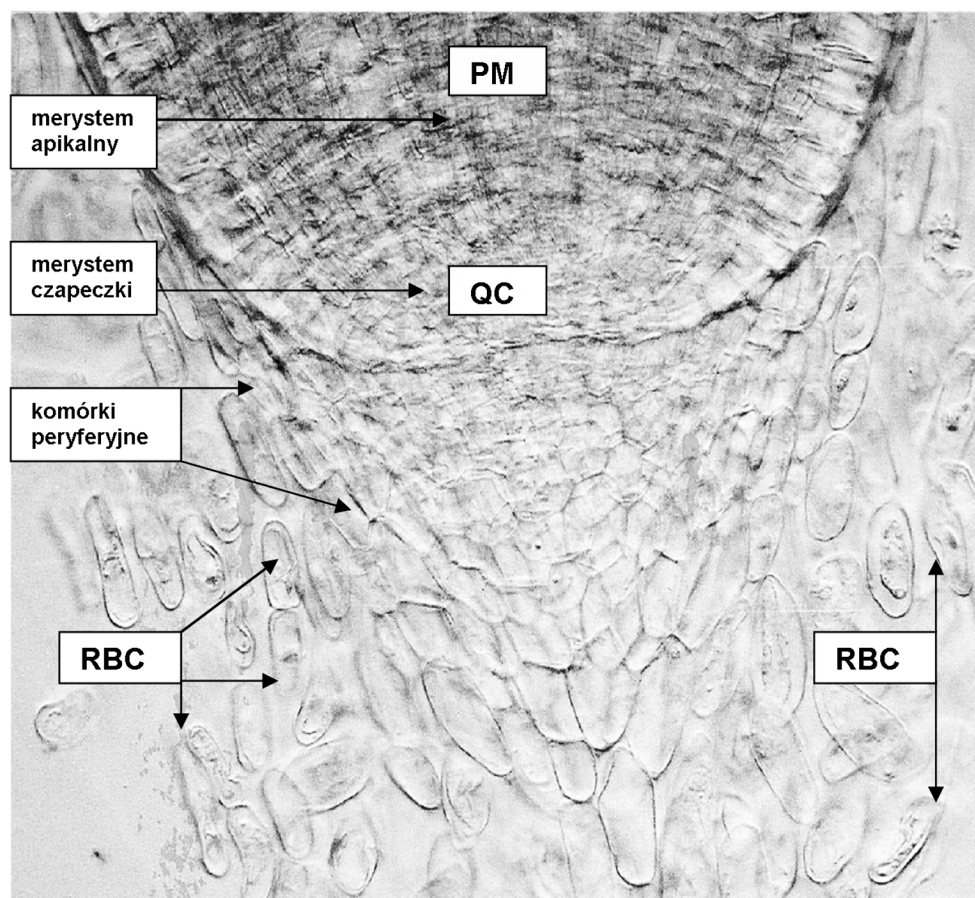
Badania cytochemiczne, biochemiczne, genetyczne i molekularne dostarczyły informacji wskazujących, że czapeczka korzeniowa obejmująca odcinek wierzchołka korzenia o długości 2–3 mm to skomplikowany, dynamiczny i wyspecjalizowany system komórek [2,10]. Jest ona odpowiedzialna za:

- 1) eksport do strefy korzeniowej wydzielin korzeniowych i pobieranie przez roślinę mineralnych związków odżywczych;
- 2) odbieranie sygnałów i odpowiedź rośliny na bodźce biotyczne i abiotyczne pochodzące ze środowiska [17,19];
- 3) kierunek wzrostu korzenia i ułatwianie mu penetracji gleby [11].

Podczas wydłużania się korzeni w glebie z czapeczki uwalnia się najbardziej zewnętrzna warstwa komórek. Mogą być one martwe, gdy uwalnianie jest związane z procesem apoptozy jak w przypadku rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana*) czy cebuli (*Allium cepa*) lub żywe [8,9]. Uwolnione z czapeczki żywe komórki noszą nazwę granicznych komórek korzenia – RBC (ang. *root border cells*). Większość informacji na temat biologii komórek granicznych uzyskano w badaniach *in vitro* roślin motylkowych lub trawiastych [4,9,10,16]. W badaniach tych *in vitro* oznaczało, że korzenie rosły w warunkach zapewniających pozostawanie RBC na powierzchni czapeczki (nie były tracone do środowiska). W tym celu nasiona kiełkuje się aeroponicznie (w powietrzu) lub na podłożu z agaru wodnego przy odseparowaniu nasion od jego powierzchni warstwą bibuły. Komórki do badań uzyskuje się poprzez delikatne otrząsanie w wodzie wierzchołka tak uzyskanych korzeni. Przy takim traktowaniu oddzielają się one również od samych siebie (ryc. 1) [10].

Badania *in vitro* pozwoliły na identyfikację wielu funkcji RBC związanych z syntezą i wydzielaniem przez nie do środowiska metabolitów o różnorodnych aktywnościach biologicznych. Stwierdzono, że funkcjami RBC są:

- 1) wysyłanie sygnałów regulujących podziały mitotyczne w czapeczce [11,30];
- 2) uwalnianie sygnałów kontrolujących ekspresję genów w roślinie i w mikroorganizmach zasiedlających strefę korzeniową [1,6,7,24];
- 3) wydzielanie do środowiska metabolitów stymulujących lub hamujących wzrost mikroorganizmów ryzosferowych [1,11,26];
- 4) uwalnianie do środowiska chemoatraktantów lub repelentów mikroorganizmów [11,28];
- 5) przynęty dla nicieni i innych szkodliwych dla roślin mikroorganizmów, co pozwala na ochronę przed infekcją czapeczki korzeniowej [17,23,27,28,31];
- 6) uwalnianie śluzu i białek [9,15,18].



RYCINA 1. Struktura czapeczki korzenia 3-dniowej siewki *Secale cereale* L.: PM (*proximal meristem*) – strefa proksymalna merystemu, RBC (*root border cells*) – komórki graniczne korzenia, QC (*quiescent center*) – strefa spoczynkowa merystemu, powiększenie 700 x (autorzy fotografii: J. Jaroszuk-Ścisiel, Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, UMCS, K. Winiarczyk, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, UMCS)

Te właściwości RBC czynią je aktywnym uczestnikiem interakcji zachodzących w strefie korzeniowej pomiędzy rośliną a mikroorganizmami [12]. Szczegółowe omówienie tych interakcji jest przedmiotem odrębnego artykułu złożonego w redakcji Postępów Nauk Rolniczych, do którego lektury zachęcamy zainteresowanych czytelników.

2. CHARAKTERYSTYKA RBC

W obrębie wierzchołka korzeniowego występują dwie strefy merystematyczne: 1) apikalna odpowiedzialna za rozwój korzenia właściwego i 2) czapeczkowa odpowiedzialna za rozwój czapeczki. Usunięcie czapeczki powoduje brak reakcji korzenia na bodźce środowiskowe, np. grawitację, chociaż merystem apikalny i region

TABELA 1. Zidentyfikowana liczba tworzonych *in vitro* komórek granicznych korzenia (RBC) u roślin różnych gatunków [2, 8, 9, 29]

Rodziny	Gatunki	Liczba RBC	Żywotność RBC [%]	Typ organizacji merystemu
<i>Solanaceae</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	50–200	50–60	zamknięty
	<i>Nicotiana tabacum</i>	<100	50–60	zamknięty
	<i>Petunia hybrida</i>	<100	50–60	zamknięty
	<i>Solanum melongena</i>	<50	60–70	zamknięty
	<i>Capsicum annuum</i>	80–100	50–60	zamknięty
<i>Asteraceae</i>	<i>Helianthus annuus</i>	1200–2000	0	otwarty
	<i>Zinnia elegans</i>	1000–1500	0	*bd
	<i>Tithonia spp.</i>	1800–3600	>95	*bd
<i>Apiaceae</i>	<i>Daucus carota</i>	2300–2500	>95	otwarty
<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Citrullus lanatus</i>	180–2400	>95	otwarty
	<i>Cucumis melo</i>	180–2500	>95	otwarty
	<i>Cucumis sativa</i>	2400–3100	>95	otwarty
	<i>Luffa cylindrica</i>	1100–1500	>90	otwarty
<i>Fabaceae</i>	<i>Glycine max</i>	2900–3700	>90	otwarty
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	2700–3500	>90	otwarty
	<i>Pisum sativum</i>	3500–4500	>90	otwarty
	<i>Sesbania exaltata</i>	3100–3900	>90	otwarty
	<i>Sesbania javonica</i>	3100–4600	>95	otwarty
	<i>Vigna unguiculata</i>	3800–6000	>90	otwarty
<i>Musaceae</i>	<i>Musa acuminata</i> Grande	3400–7400	50–70	*bd
	<i>Musa acuminata</i> Yangambi	1450–13420	50–70	*bd
<i>Agavaceae</i>	<i>Yucca spp.</i>	1000–1500	>95	*bd
<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Ricinus communis</i>	1600–2700	>95	*bd
<i>Gramineae</i> (<i>Poaceae</i>)	<i>Avena sativum</i>	1800–2300	>95	*bd
	<i>Oryza sativa</i>	1500–2100	>95	*bd
	<i>Panicum miliaceum</i>	900–1200	>95	*bd
	<i>Secale cereale</i> (*w)	1000–2000	>95	*bd
	<i>Triticum aestivum</i>	1100–1500	>95	*bd
	<i>Zea mays</i>	2500–4000	>95	*bd
<i>Malvaceae</i>	<i>Gossypium hirsutum</i>	8000–10000	>95	otwarty
<i>Pinaceae</i>	<i>Abies spp.</i>	8000–11000	>90	*bd
	<i>Picea spp.</i>	8000–11000	>90	*bd
	<i>Pinus spp.</i>	8000–11000	>90	*bd

Objaśnienia: *bd – brak danych; , *w – niepublikowane obserwacje własne

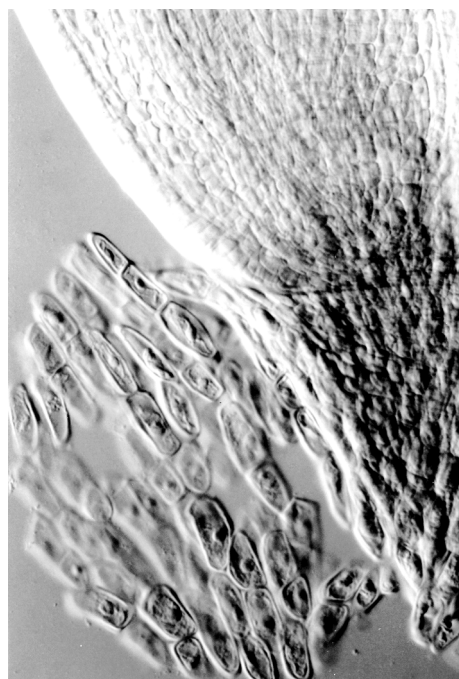
elongacji korzenia pozostają niezmienione [2,5]. W wyniku podziałów komórek merystemu czapeczki powstają zawierające skrobię stomatolity reagujące na grawitację. Komórki te przemieszczając się z regionu kolumelli ku strefie peryferyjnej czapeczki stają się komórkami wydzielniczymi. Są one źródłem śluzu (mucigelu) otaczającego uwolnione do otoczenia RBC [4,5]. Ostateczne oddzielenie RBC z zewnętrznej warstwy czapeczki korzenia zachodzi zwykle w ciągu 24 godz., lecz

czasami proces ten może trwać dłużej w zależności od wielkości czapeczki, gatunku rośliny i niezidentyfikowanych jeszcze czynników środowiskowych [10].

Liczba RBC tworzonych i uwalnianych z powierzchni czapeczki w okresie 24 godz. jest cechą gatunkową, przy czym gatunki należące do jednej rodziny wykazują pod tym względem znaczne podobieństwo (tab. 1). Nie stwierdzono tworzenia RBC u dwóch rodzin: *Brassicaceae* i *Chenopodiaceae* [4,8]. Znikoma ich liczba jest uwalniana z czapeczki gatunków *Solanaceae* (ok. 200), zaś 50-krotnie więcej (ok. 11000) przez gatunki należące do *Pinaceae* i *Malvaceae*. Proces tworzenia RBC rozpoczyna się, gdy korzeń po wykiełkowaniu siewki z nasiona osiąga długość 5 mm. Ich liczba wzrasta wraz z wydłużaniem się korzenia osiągając charakterystyczną dla gatunku liczbę przy jego długości 24 mm [9].

Liczba ta nie zmienia się, dopóki komplet komórek nie zostanie uwolniony z powierzchni czapeczki. Po uwolnieniu RBC mogą pozostawać żywe, *in vitro* do 3 miesięcy, w strefie korzeniowej tylko około tygodnia. Należy jednak zwrócić uwagę, że nie wszystkie uwolnione do otoczenia komórki są żywe. Procent aktywnych metabolicznie RBC jest cechą gatunkową. W przypadku *Solanaceae* żywotność zachowuje 50–60%, natomiast u *Gramineae* (*Poaceae*) ponad 95% uwolnionych komórek granicznych (tab. 1, ryc. 2) [9,25].

Uwolnione z czapeczki komórki graniczne różnią się fenotypowo od komórek w korzeniu. Są dwukrotnie dłuższe, mają zblignifikowaną wtórną ścianę komórkową, zmiany w aparacie Golgiego wskazujące na ich obniżoną zdolność wydzielniczą [25], a także ich profil białkowy różni się od tego z komórek pobranych z wierzchołka korzeniowego [9]. Znakowanie *in vivo* białek ^{35}S wykazało, że spośród 200 polipeptydów widocznych na elektroforogramie materiału pochodzącego z komórek granicznych, 13% jest nieobecne w preparatach z wierzchołka korzenia. Jedna czwarta białek syntetyzowanych w uwolnionych komórkach granicznych w okresie 1 godz. jest eksportowana do środowiska. Wiele z nich charakteryzuje się aktywnością antybiotyczną, enzymatyczną oraz sygnałową wpływającą na podziały komórek roślin i mikroorganizmów [9]. Porównano poziom syntezy trzech białek występujących zarówno w wierzchołku korzenia, jak i w RBC: syntetazy glutaminowej, białka szoku



RYCINA 2. Komórki graniczne uwolnione z czapeczki korzenia 3-dniowej siewki *Secale cereale* L., powiększenie 400 x (autorzy fotografii: J. Jaroszuk-Ściśel, Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, UMCS, K. Winiarczyk, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, UMCS)

termicznego HSP 70 i reduktazy izoflawonowej. Synteza dwóch białek była intensywniejsza w wierzchołku niż w RBC, zaś reduktazy izoflawonowej – na tym samym poziomie. Stwierdzono także, że jakościowe i ilościowe różnice w profilach białkowych pomiędzy preparatami z RBC i z wierzchołka korzeniowego były skorelowane z wykrywanymi metodą mRNA-DD (ang. *mRNA-differential-display*) odmiennymi wzorcami ekspresji genów [9].

W badaniach na materiale pochodzącym z lucerny wykazano, że możliwe jest przekształcenie się RBC w tkankę kalusową w wyniku wielokrotnych podziałów w podłożu odżywczym uzupełnionym regulatorami wzrostu. Po przeniesieniu kallusów do podłoża pozbawionego regulatorów wzrostu uzyskano regenerację tylko korzeni [2].

Znajdujące się w środowisku RBC muszą korzystać ze związków organicznych wydzielin korzeniowych, głównie otaczającego je śluzu, dla zapewnienia swojej aktywności metabolicznej, gdyż ich wewnątrzkomórkowe zapasy skrobi i lipidów są niewystarczające [9]. W strefie korzeniowej konkurują więc one z zasiedlającymi ją mikroorganizmami o składniki odżywcze, przede wszystkim o te zawarte w wydzielinach korzeniowych.

3. CZYNNIKI ENDOGENNE WARUNKUJĄCE TWORZENIE KOMÓREK GRANICZNYCH

Zidentyfikowano dwa geny zaangażowane w powstawanie RBC. Gen *psugt1* kodujący UDP-glukozylotransferazę jest odpowiedzialny za podział komórek merystemu czapeczki, zaś gen *rcpme1* kodujący metyloesterazę pektynową (PME) jest odpowiedzialny za uwalnianie komórek granicznych z peryferii czapeczki. Doświadczenia z wykorzystaniem transgenicznych roślin grochu i lucerny [9], u których zablokowano ekspresję genów (wykorzystując antysensowne mRNA pod kontrolą promotora z wirusa mozaiki kalafiora 35SCMV), wykazały, że brak ekspresji któregoś z tych dwóch genów powoduje zahamowanie powstawania RBC [9,16,27]. Metyloesteraza pektynowa deestryfikuje polimetylogalakturnian zlokalizowany w ścianach komórkowych czyniąc go podatnym na działanie depolimeryzujące liazy pektynianowej i poligalakturnazy. Wykazano, że aktywność PME i ekspresja kodującego ją genu w czapeczce są skorelowane z uwalnianiem RBC. Aktywność PME w czapeczce była wykrywana jedynie u gatunków, które w ciągu 24 godz. uwalniały dużą liczbę RBC. U grochu stwierdzono 6-krotny wzrost aktywności tego enzymu podczas uwalniania RBC w porównaniu z okresem po zakończeniu ich separacji. Drastyczne zwiększenie ilości rozpuszczalnego składnika pektynowego (kwasu pektynowego powstałego po zdeestryfikowaniu polimetylogalakturnianu) w przestrzeniach międzykomórkowych czapeczki było skorelowane z aktywnością PME i obniżeniem pH w strefie ściana/apoplast na peryferiach czapeczki. Indukowane aktywnością PME obniżenie pH najprawdopodobniej powoduje zahamowanie aktywności samej PME (optimum pH 7,0) i jednocześnie aktywuje inne enzymy kompleksu pektynolitycznego (optimum pH dla poligalakturnaz 4,5–4,0) [1,10,27].

Jiang i wsp. [16] porównali profile transkrypcji genów w trzech tkankach korzenia kukurydzy wykorzystując Affymetrix GeneChips zawierające połowę genomu ryżu. Badania te wykazały zwiększoną ekspresję genu dla metyloesterazy pektynowej w czapeczce korzeniowej w porównaniu z poziomem określonym w strefie spoczynkowej – QC (*quiescent center*) i strefie proksymalnej – PM (*proximal meristem*) merystemu apikalnego. Analiza ta wykazała też, że w czapeczce jest zwiększona ekspresja genów dla prekursorów białka ekspansyny, któremu przypisuje się udział w modyfikacji (rozluźnianiu) ściany komórkowej.

Badania cytologiczne wierzchołków korzeniowych wskazują, że liczba tworzonych komórek granicznych i ich żywotność po uwolnieniu do środowiska są związane z występującym w roślinie typem organizacji merystemu czapeczki korzenia (tab. 1). Zamknięty typ merystemu, tzn. zawierający trzy oddzielne piętra komórek inicjalnych, zdaje się nie sprzyjać intensywnej produkcji komórek granicznych, zaś systemy w różnym stopniu otwarte, tzn. zawierające mniej niż trzy piętra komórek inicjalnych, sprzyjają ich tworzeniu [8].

Gdy specyficzna dla gatunku liczba RBC zakumuluje się na peryferiach czapeczki, mitozą w obrębie jej merystemu, lecz nie w merystemie apikalnym ulega supresji [5]. Po usunięciu RBC, poprzez zanurzenie wierzchołka korzeniowego w wodzie, wznowienie podziałów mitotycznych w merystemie czapeczki można zaobserwować już po 5 min, zaś w okresie 30 min indeks mitotyczny zwiększa się o 400%, a po 2 godz. (gdy liczba RBC właściwa dla gatunku jest utworzona) powraca do stanu przedindukcyjnego [4]. Jednocześnie ze wznowieniem tworzenia RBC (zwiększeniem intensywności podziałów mitotycznych w merystemie czapeczki) w generowanych komórkach w ciągu 15 min rozpoczynają się zmiany w ekspresji genów. Profil mRNA zmienia się przez okres 60 min od usunięcia RBC [27], a różnice w profilu białkowym można już stwierdzić w komórkach jeszcze nieoddzielonych od czapeczki [9,27].

Podczas indukcji podziałów mitotycznych w dzielących się komórkach czapeczki grochu (*Pisum sativum*) stwierdzono zróżnicowaną ekspresję trzech mRNA. Ich analiza sekwencyjna wykazała, że *PsHRGP1* koduje białko o bardzo dużej homologii do bogatego w hydroksyprolinę glikoproteidu występującego u fasoli i soi, *PsCaP23* koduje białko o wysokiej homologii do białka kallusa lucerny lub kontrolowanego transkrypcyjnie białka P23 ludzkiego lub mysiego guza nowotworowego, zaś *PsRBL41* – białko o dużej homologii do zasadowego białka L41 podjednostki 60S rybosomów. *PsHRGP1* był wykrywany tylko w korzeniach i czapeczce korzeniowej, a nie był identyfikowany w liściach i łodydze grochu. Wysoki poziom jego ekspresji obserwowano w nieindukowanych czapeczkach. Ekspresja obniżała się 10–11-krotnie skoro tylko rozpoczynały się nowe podziały komórek, a po 30 min poziom jego ekspresji przewyższał obserwowany w nieindukowanych czapeczkach o 80%. Ekspresja dwóch pozostałych mRNA zwiększała się trzykrotnie w ciągu 15 min po indukcji [27].

Wyniki badań Brigham i wsp. [5], a także obserwacje innych autorów [2] sugerują, że istnieje pewnego rodzaju fizjologiczne powiązanie pomiędzy RBC otaczającymi czapeczkę i aktywnością mitotyczną w merystemie czapeczki. Za utrzymanie stałej liczby nieusuniętych z wierzchołka korzenia komórek granicznych odpowiedzialny jest wydzielany przez nie metabolit, obecny w słuźwie, hamujący

podziały mitotyczne merystemu czapeczki, nazwany przez Brigham i in. [5] „czynnikiem B”. Mechaniczne usunięcie komórek granicznych wraz z otaczającym je śluzem (akumulującym czynnik B) lub zanurzenie wierzchołka na okres 1 s w wodzie powoduje wznowienie podziałów mitotycznych merystemu czapeczki i tworzenie nowego garnituru komórek granicznych. Czynnik B w stężeniu wystarczającym do całkowitego zahamowania mitozy w merystemie czapeczki nie wpływał na podziały merystemu apikalnego. Komórki merystemu czapeczkowego reagowały natychmiast na zmiany jego stężenia. Zmianą stężenia śluzu, a wraz z nim czynnika B można chyba tłumaczyć obserwowany spadek uwalniania komórek granicznych z czapeczki korzenia w gęstej hodowli hydroponicznej, a zwiększone w hodowlach o mniejszej gęstości korzeni [5].

4. CZYNNIKI ŚRODOWISKOWE WPLYWAJĄCE NA TWORZENIE I UWALNIANIE RBC

Komórki graniczne są elementami morfotycznymi korzenia, które w pierwszej kolejności reagują na warunki glebowe (czynniki środowiskowe).

Jednym ze zidentyfikowanych czynników środowiskowych, który może mieć większy wpływ na tworzenie i uwalnianie RBC u grochu niż czynniki endogenne, jest zwiększone stężenie CO_2 w strefie korzeniowej. W takiej sytuacji zamiast 4000 komórek, liczby charakterystycznej dla tego gatunku, może być tworzone 8000. Należy jednak zaznaczyć, że wrażliwość na ten sygnał jest cechą gatunkową, np. lucerna na niego nie reaguje [10].

Temperatura to inny czynnik środowiskowy, którego wpływ na tworzenie i uwalnianie RBC zależy od gatunku, a być może nawet odmiany roślin. Badania z użyciem RBC jęczmienia wykazały, że zmiany temperatury w zakresie 10–35°C nie miały istotnego wpływu na tworzenie RBC, podczas gdy temperatura 35°C całkowicie hamowała elongację korzenia [21]. W przypadku grochu wyniki badań są zróżnicowane. Są obserwacje wskazujące, że podobnie jak u jęczmienia temperatura w zakresie 10–30°C nie wpływa na liczbę tworzonych komórek granicznych, ale także obserwacje udowadniające, że tworzenie RBC jest procesem temperaturowo-wrażliwym regulowanym niezależnie od procesu elongacji korzenia [9].

Nieliczne badania przeprowadzone podczas wzrostu korzenia w glebie wskazują, że uwolnione z czapeczki RBC są obecne tylko w warstwie 1,0–2,0 mm gleby przylegającej do korzenia, a ich liczba uwalniana w okresie 24 godzin zależy od jej struktury [14,30]. W glebie piaszczystej luźnej ich liczba jest wystarczająca do pokrycia około 10% powierzchni czapeczki korzenia, natomiast w glebie związanej wytworzonej z piasku może być wystarczająca do pokrycia całej powierzchni czapeczki. RBC, pozostające (w wyniku przesuwania się rosnącego korzenia) w glebie poza strefą uwalniania, mogą pokrywać także około 45% strefy elongacji. Badania Iijima i wsp. [15] wykazały, że dzienne uwalnianie RBC z pojedynczego

wierzchołka korzenia kukurydzy może się zwiększyć z 1930 do 3220, gdy zwiększa się opór mechaniczny gleby. Zwiększeniu liczby uwalnianych RBC towarzyszy zwiększone wydzielanie śluzu. Zapewnia to dodatkowe smarowanie powierzchni stykającej się pomiędzy cząstkami gleby i powierzchnią czapeczki. RBC i wydzielany przez nie śluz redukują tarcie powierzchni czapeczki o otaczające cząstki gleby.

5. ZEWNĄTRZKOMÓRKOWE PRODUKTY METABOLIZMU RBC ODDZIAŁUJĄCE NA MIKROORGANIZMY W STREFIE KORZENIOWEJ

RBC i związane z nimi wydzieliny, w tym śluz, mogą stanowić do 98% bogatego w C materiału roślinnego w strefie korzeniowej. Dostarczają więc one, podobnie jak inne komórki wierzchołka korzenia, ogromną różnorodność substratów wykorzystywanych jako substancje odżywcze.

Różnica w ekspresji genów RBC w stosunku do tej w komórkach w korzeniu [9] czyni je źródłem związków biologicznie aktywnych wpływających bezpośrednio i pośrednio na wzrost i kształtowanie składu zespołu mikroorganizmów ryzosferowych oraz umożliwia im uczestniczenie w różnorodnych interakcjach pomiędzy mikroorganizmami glebowymi a roślinami. RBC produkują zewnątrzkomórkowe substancje sygnałowe, które mogą kontrolować ekspresję genów lub działać jako atraktanty lub repelenty dla mikroorganizmów, a każda z tych aktywności jest specyficzna dla gatunku rośliny i dla genotypu mikroorganizmu [9,10,28].

Stwierdzono, że RBC jednego z gatunków nawrotu (*Lithospermum erythrorhizon*) syntetyzują konstytutywnie naftochinonowe biocydy szikoniny o szerokim spektrum aktywności w stosunku do mikroorganizmów glebowych, z których najwyższą efektywnością biocydalną charakteryzują się dwie pochodne szikoniny: acetylo-szikonina i β -hydroksyizopentailo-szikonina. W obecności czynników stresowych abiotycznych lub biotycznych są one uwalniane do środowiska, a ich synteza może wzrosnąć 30-krotnie [3].

W ścianie komórek granicznych szkarłatki amerykańskiej (*Phytolacca americana*) Park i wsp. [22] stwierdzili obecność białka PAP-H, należącego do enzymów inaktywujących rybosomy (RIPs). Białka te są N-glikozydazami usuwającymi specyficznie adeninę z konserwatywnego wyeksponowanego na powierzchni rybosomu fragmentu S/R pętli w 28S rRNA hydrolizując wiązanie N-C. Zapobiega to wiązaniu kompleksu EF-2-GTP z pętlą S/R, co powoduje zahamowanie syntezy białek i prowadzi do śmierci komórki. Białka RIPs, powodują depurynację rybosomalnego RNA ssaków, roślin, bakterii i grzybów, odznaczają się jednak specyficznością substratową zależną prawdopodobnie od konformacji rybosomu wrażliwego organizmu. Oczyszczony preparat PAP-H z RBC szkarłatki powodował *in vitro* depurynację rRNA *Trichoderma resei* i *Rhizoctonia solani*, jakkolwiek do zahamowania wzrostu tych grzybów konieczne było współdziałanie PAP-H ze

składnikami wydzielin korzeniowych. Współdziałanie obecnych w wydzielinach chitynazy, β -1,3-glukanazy i proteazy ułatwiało PAP-H penetrację grzybowej ściany komórkowej [22].

Komórki graniczne i towarzyszący im wysokocząsteczkowy śluz całkowicie zapobiegają kolonizacji i infekcji wierzchołka korzenia, pełniąc prawdopodobnie funkcję powierzchni zastępczej w stosunku do czapeczki lub warstwy oddzielającej, niedopuszczającej do kontaktu powierzchni czapeczki z mikroorganizmami [13]. Mechanizm ochrony przez RBC wierzchołka korzenia przed infekcją patogenów polega na ich działaniu jako wabik (atraktant) i utrzymywaniu patogenów z dala od niego [9,10]. W przypadku grzybowych patogenów roślin są one zatrzymywane w strukturze przypominającej mufkę (ang. *mantle*), występującą w symbiozie ektomikoryzowej, tworzoną przez sieć strzępek oddziałujących z RBC [7]. RBC nie tworzą natomiast mufki z niepatogenicznymi szczepami grzybowymi. Zoospory *Pythium dissotocum* są specyficznie wabione do RBC bawełny, a *P. catenulatum* rozpoznaje i trawi RBC ogórka. Rozwój tych patogenów w uwalnianych z czapeczki RBC umożliwia ochronę wierzchołka korzeniowego przed infekcją [9]. Ochronna rola RBC przed inwazją nicieni polega na wabieniu ich (poruszały się dwukrotnie szybciej), a następnie indukowaniu przejściowego stanu bezruchu pozwalającego, aby w tym czasie wierzchołek, w wyniku wzrostu korzenia, znalazł się poza strefą zagrożenia ich atakiem [10,23,31].

Związki chemiczne uwalniane przez RBC mogą wpływać na ekspresję bakteryjnych genów warunkujących ustalenie asocjacji mutualistycznej roślina – mikroorganizm, takich jak: *virE* (warunkującego patogeniczność *Agrobacterium tumefaciens*), operonu *nod(ABCIJ)* *Rhizobium leguminosarum* var. *vici* (koniecznego dla brodawkowania grochu) czy *nodC* *R. meliloti* (niezbędnego dla nodulacji lucerny) [9].

Dotychczas dysponujemy jedynie pośrednimi dowodami na zaangażowanie RBC w ustalenie endosymbiotycznej mikoryzy. W ekstraktach alkoholowych RBC marchwi (*Daucus carota*) stwierdzono obecność czynnika stymulującego rozgałęzianie końców strzępek grzyba AM *Gigaspora gigantea*, będące pierwszym objawem rozpoznawania partnerów tej symbiozy [20].

6. PODSUMOWANIE

„Komórki graniczne” – nowa nazwa dla złuszczonych komórek czapeczki odzwierciedla poznana ich funkcję w środowisku, a mianowicie fizycznej i biologicznej strefy przejściowej pomiędzy czapeczką korzenia (jego częścią istotną dla odbierania sygnałów środowiskowych) a środowiskiem glebowym. Ich aktywność jest istotna dla regulowania w strefie korzeniowej równowagi pomiędzy mikroorganizmami korzystnie oddziałującymi na wzrost roślin a patogenami poprzez wydzielanie do środowiska biocydów i substancji odżywczych. Komórki graniczne są także bezpośrednio zaangażowane w wielorakie interakcje roślina – mikroorganizmy. Wiedzę

dotyczącą charakterystyki tych elementów morfotycznych korzenia, czynników warunkujących ich tworzenie i uwalnianie do środowiska, a także ich roli w interakcjach pomiędzy rośliną a patogenami, szkodnikami roślin (nicieniami), a także mikroorganizmami symbiotycznymi uzyskano prawie wyłącznie na podstawie badań przeprowadzonych *in vitro*. Badania te mogły być tak owocne, gdyż komórki graniczne łatwo oddzielają się od czapeczki i dają się hodować w odpowiednich warunkach laboratoryjnych, co czyni z nich wygodny obiekt badań.

Manipulowanie na poziomie genetycznym zdolnością korzeni do uwalniania RBC może być nowym kierunkiem badań nad skutecznym sposobem ochrony roślin przed patogenami i szkodnikami, a także efektywnością interakcji mutualistycznych.

PODZIĘKOWANIE

Autorzy dziękują Pani Dr Krystynie Winiarczyk oraz Panu Prof. dr hab. Józefowi Bednarze za pomoc przy sporządzeniu dokumentacji fotograficznej komórek granicznych oraz uwagi merytoryczne i wnikliwą dyskusję artykułu.

LITERATURA

- [1] BAIS HP, PARK SW, WEIR TL, CALLAWAY, VIVANCO JM. How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends Plant Sci* 2004; **9**: 26–32.
- [2] BARLOW PW. The root cap: cell dynamics, cell differentiation and cap function. *J Plant Growth Regul* 2003; **21**: 261–286.
- [3] BRIGHAM LA, MICHAELS PJ, FLORES HA. Cell-specific production and antimicrobial activity of naphthoquinones in roots of *Lithospermum erythrorhizon*. *Plant Physiol* 1999; **119**: 417–428.
- [4] BRIGHAM LA, WOO HH, HAWES MC. Root border cells as tools in plant cell studies. *Methods Cell Biol* 1995; **49**: 377–387.
- [5] BRIGHAM LA, WOO HH, WEN F, HAWES MC. Meristem-specific suppression of mitosis and a global switch in gene expression in the root cap of pea by endogenous signals. *Plant Physiol* 1998; **118**: 1223–1231.
- [6] ELDHUSET TD, BØRJA I, SWENSEN B. Root border cells from *Picea abies* stimulate the germination of *Fusarium* sp. and *Cylindrocarpon* sp. conidia. *J Plant Nutr Soil Sci* 2006; **169**: 116–117.
- [7] GUNAWARDENA U, HAWES MC. Tissue specific localization of root infection by fungal pathogens: role of root border cells. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 2002; **15**: 1128–1136.
- [8] HAMAMOTO L, HAWES MC, ROST TL. The production and release of living root cap border cells is a function of root apical meristem type in dicotyledonous angiosperm plants. *Ann Bot* 2006; **97**: 917–923.
- [9] HAWES MC, BENGOUGH G, CASSAB G, PONCE G. Root caps and rhizosphere. *Plant Growth Regul* 2003; **21**: 352–367.
- [10] HAWES MC, GUNAWARDENA U, MIYASAKA S, ZHAO X. The role of root border cells in plant defense. *Trends Plant Sci* 2000; **5**: 128–133.
- [11] HIRSCH AM, BAUER WD, BIRD DM, CULLIMORE J, TYLER B, YODER JI. Molecular signals and receptors: controlling rhizosphere interactions between plants and other organisms. *Ecology* 2003; **84**: 416.
- [12] HUANG PM, GERMIDA JJ. Chemical and biological processes in rhizosphere: metal pollutants. W: Huang PM, Bollag J-M, Senesi N [red.] *Interactions Between Soil Particles and Microorganisms*. West Sussex, England, John Wiley & Sons, Ltd 2002: 382–438.

- [13] HUMPHRIS SN, BENGOUGH AG, GRITHS BS, KILHAM K, RODGER S, STUBBS V, VALENTINE TA, YOUNG IM. Root cap influences root colonisation by *Pseudomonas fluorescens* SBW25 on maize. *FEMS Microb Ecol* 2005; **54**: 123–130.
- [14] IJIMA M, GRIFFITHS BS, BENGOUGH GA. Sloughing of cap cells and carbon exudation from maize seedling roots in compacted sand. *New Phytol* 2000; **145**: 477–482.
- [15] IJIMA M, HIGUCHI T, BARLOW PW. Contribution of root cap mucilage and presence of an intact root cap in maize (*Zea mays*) to the reduction of soil mechanical impedance. *Ann Bot* 2004; **94**: 473–477.
- [16] JIANG K, ZHANG S, LEE S, TSAI G, KIM K, HUANG H, CHILCOTT C, ZHU T, FELDMAN LJ. Transcription profile analyses identify genes and pathways central to root cap functions in maize. *Plant Mol Biol* 2006; **60**: 343–363.
- [17] KUĆ J. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *Eur J Plant Pathol* 2001; **107**: 7–12.
- [18] KUMAR R, PANDEY S, PANDEY A. Plant roots and carbon sequestration. *Curr Sci* 2006; **91**: 885–890.
- [19] MONTESANO M, BRADER G, PALVA ET. Pathogen derived elicitors: searching for receptors in plants. *Mol Plant Pathol* 2003; **4**: 73–79.
- [20] NAGAHASHI G, DOUDS JR DD. Rapid and sensitive bioassay to study signals between root exudates and arbuscular mycorrhizal fungi. *Biotech Tech* 1999; **13**: 893–897.
- [21] PAN JW, YE D, WANG LL, HUA J, ZHAO GF, PAN GW, HAN N, ZHU MU. Root border cell development is a temperature-insensitive and AI-sensitive process in barley. *Plant Cell Physiol* 2004; **45**: 751–760.
- [22] PARK S-W, LAWRENCE CB, LINDEN JC, VIVANCO JM. Isolation and characterization of a novel ribosome-inactivating protein from root cultures of pokeweed and its mechanism of secretion from roots. *Plant Physiol* 2002; **130**: 164–178.
- [23] RODGER S, BENGOUGH AG, GRIFFITHS BS, STUBBS V, YOUNG IM. Does the presence of detached root border cells of *Zea mays* alter the activity of the pathogenic nematode *Meloidogyne incognita*? *Biol Cont* 2003; **9**: 1111–1114.
- [24] SHAW LJ, MORRIS P, HOOKER JE. Perception and modification of plant flavonoid signals by rhizosphere microorganisms. *Environ Microbiol* 2006; **8**: 1867–1880.
- [25] STUBBS VEC, STANDING D, KNOX GG, KILLHAM K, BENGOUGH G, GRIFFITHS B. Root border cells take up and release glucose-C. *Ann Bot* 2004; **93**: 221–224.
- [26] TAMÁS L, BUDÍKOVÁ S, HUTTOVÁ J, MISTRÍK I, ŠIMONOVICHOVÁ M, ŠIROKÁ B. Aluminum-induced cell death of barley-root border cells is correlated with peroxidase- and oxalate oxidase-mediated hydrogen peroxide production. *Plant Cell Rep* 2005; **24**: 189–194.
- [27] WEN F, ZHU Y, HAWES MC. Effect of pectin methylesterase gene expression on pea root development. *Plant Cell* 1999; **11**: 1129–1140.
- [28] WOO HH, HIRSCH AM, HAWES MC. Altered susceptibility to infection by *Sinorhizobium meliloti* and *Nectria haematococca* in alfalfa roots with altered cell cycle. *Plant Cell Rep* 2004; **22**: 967–973.
- [29] WUYTS N, MAUNG ZTZ, SWENNEN R, DE WAELE D. Banana rhizodeposition: characterization of root border cell production and effects on chemotaxis and motility of the parasitic nematode *Radopholus similis*. *Plant Soil* 2006; **283**: 217–228.
- [30] YOUNG IM. Biophysical interactions at the root: soil interface: A review. *J Agric Sci* 1998; **130**: 1–7.
- [31] ZHAO X, SCHMITT M, HAWES MC. Species-dependent effects of border cell and root tip exudates on nematode behavior. *Phytopathology* 2000; **90**: 1239–1245.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 03.09. 2007 r.

Przyjęto: 02.10. 2007 r.

Dr Jolanta Jaroszuk-Ścisł,

Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej,

20-033 Lublin, ul. Akademicka 19

e-mail: jaros@biotop.umcs.lublin.pl