

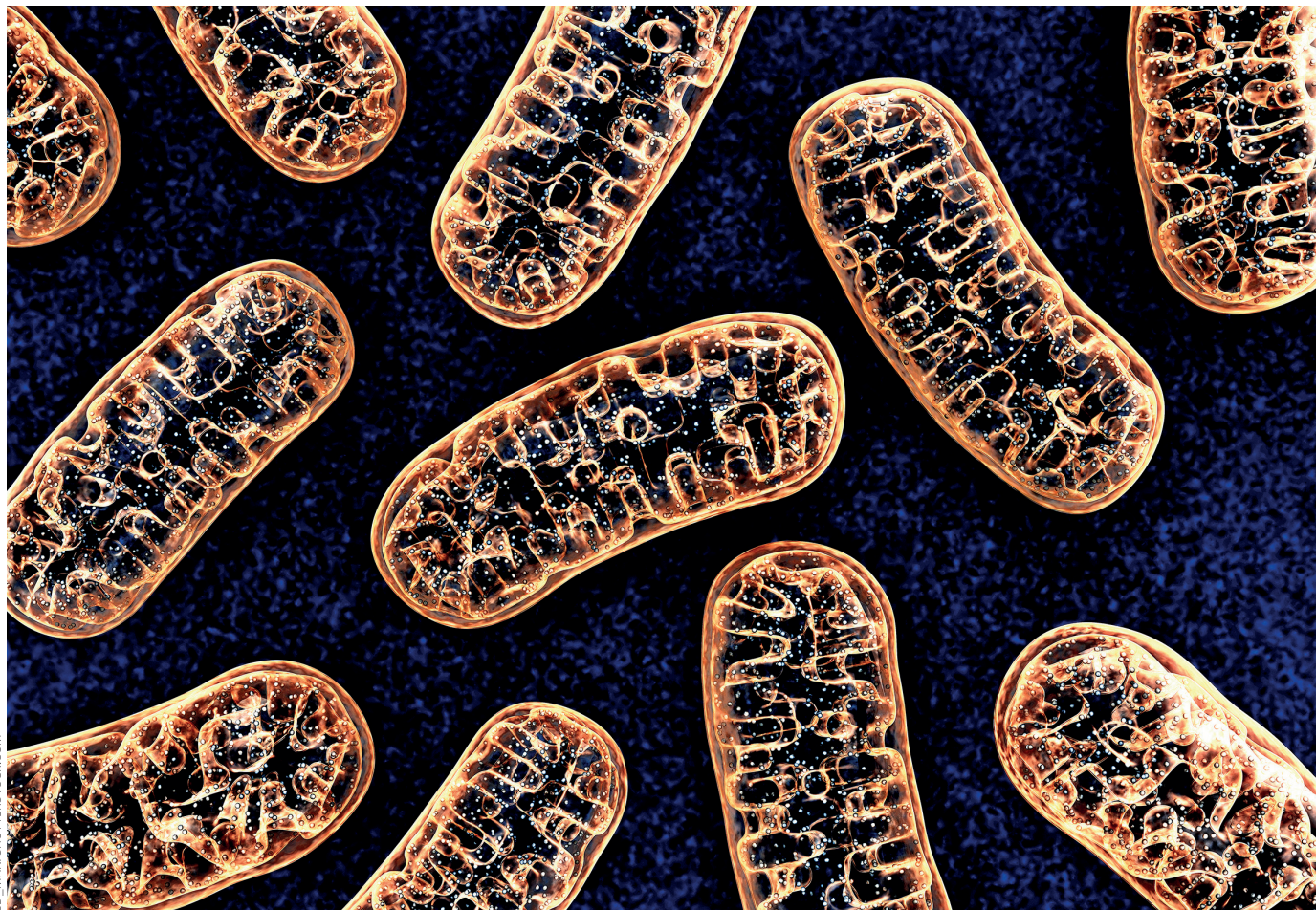
ALARM ENERGETYCZNY NASION



**mgr inż. Joanna
Kijowska-Oberc**

Zajmuje się wpływem zmian klimatu na jakość nasion roślin drzewiastych i ich kiełkowanie. Do jej zainteresowań naukowych należą także mechanizmy kształtujące formy adaptacji drzew do warunków suszy i upałów, takie jak epigenetyka i plastyczność fenotypowa. Pracuje w Instytucie Dendrologii PAN w Zakładzie Biologii Rozwoju.
joberc@man.poznan.pl

Jak wygląda i jak działa biologiczna elektrownia?
Dlaczego produkcja „cząsteczki energii” stanowi tak skomplikowany proces? Dlaczego nasiona się starzeją i czy jest to konsekwencją zmian klimatu?
Odpowiedzi na te pytania związane są z jedną z najbardziej złożonych organelli – mitochondrium.





dr hab.

Ewelina Ratajczak

Jest specjalistką w dziedzinie fizjologii i biochemii nasion, zatrudnioną w Instytucie Dendrologii PAN. Naukowo zajmuje się molekularnymi podstawami starzenia się nasion roślin drzewiastych. Bada związki regulujące stan redoks w nasionach, poszukując potencjalnych markerów ich żywotności.

eratajcz@man.poznan.pl



dr Hanna Fuchs

Zajmuje się badaniem procesów starzenia się nasion roślin drzewiastych i czynników wpływających na ich długowieczność na poziomie molekularnym. Szczególnie miejsce w jej zainteresowaniach naukowych zajmuje genetyka roślin i identyfikacja genów odpowiedzialnych za nabywanie przez nasiona odporności na przesuszanie.

hkijak@man.poznan.pl

Joanna Kijowska-Oberc
Ewelina Ratajczak
Hanna Fuchs

Instytut Dendrologii
Polskiej Akademii Nauk w Kórniku

Aleksandra Maria Staszak

Katedra Biologii i Ekologii Roślin
Uniwersytetu w Białymstoku

Ze względu na kluczową rolę w produkcji energii koniecznej do życia mitochondria często nazywa się komórkowymi elektrowniami. Badanie informacji genetycznej zawartej w mitochondriach (mitochondrialnego DNA – mtDNA) wskazuje, że organelle te pochodzą od wspólnego przodka – α -proteobakterii, tzw. protomitochondriów. Te odkrycia stały się podstawą tzw. teorii endosymbiozy, która zakłada, że około 2 mld lat temu beztlenowa komórka wchłonęła mniejszą, wymagającą tlenu proteobakterię, tworząc symbiotyczny związek. Ten „sojusz” pozwolił beztlenowej komórce przejść na metabolizm związany z tlenem, dzięki czemu mogła ona wyprodukować znacznie więcej energii niż dotychczas. W toku ewolucji protomitochondrium przekształciło się w organelę, stanowiącą maszynę energetyczną komórki eukariotycznej – mitochondrium. Okazuje się jednak, że w obliczu zmian klimatu te mikroskopijne elektrownie są narażone na poważne niebezpieczeństwo – zwłaszcza w komórkach nasion.

Budowa mitochondriów

Po raz pierwszy mitochondria zostały odkryte w komórkach mięśni skrzydeł owadów przez Rudolfa Alberta von Köllikera. Dziś już wiemy, że zdecydowana większość organizmów eukariotycznych posiada w swoich komórkach mitochondria, które przyjmują okrągły lub owalny kształt, mają około 2–8 μm długości i około 0,5 μm średnicy. Są otoczone błonami zewnętrzną i wewnętrzną, rozdzielonymi przestrzenią międzybłonową. Wnętrze mitochondrium jest wypełnione macierzą mitochondrialną, zwaną matriks. Macierz to nic innego jak roztwór wodny białek i metabolitów zużywanych przez organelę w procesie oddychania komórkowego. Centrum energetyczne mitochondriów stanowi błona wewnętrzna. Jej powierzchnia fałduje się w głąb matriks, tworząc grzebienie, które zwiększają powierzchnię, na której zachodzi produkcja cząsteczek energii – adenozyntrofosforanu (ATP). Można je określić jako molekularne akumulatory, transportujące i gromadzące energię niezbędną

do funkcjonowania komórek. Energia ta jest magazynowana w wiązaniach chemicznych i uwalniana wskutek ich rozpadu. To właśnie w grzebieniach mitochondrialnych są zakotwiczone enzymy związane z tzw. łańcuchem oddechowym. Mitochondria komórek pełniących różne funkcje tworzą różną liczbę grzebieni, w zależności od zapotrzebowania energetycznego. Liczba samych organelli także jest zależna od typu organizmu i komórki. Zwykle komórka zawiera od kilkuset do kilku tysięcy tych organelli, które ulegają samodzielnemu podziałowi (fot. 1).

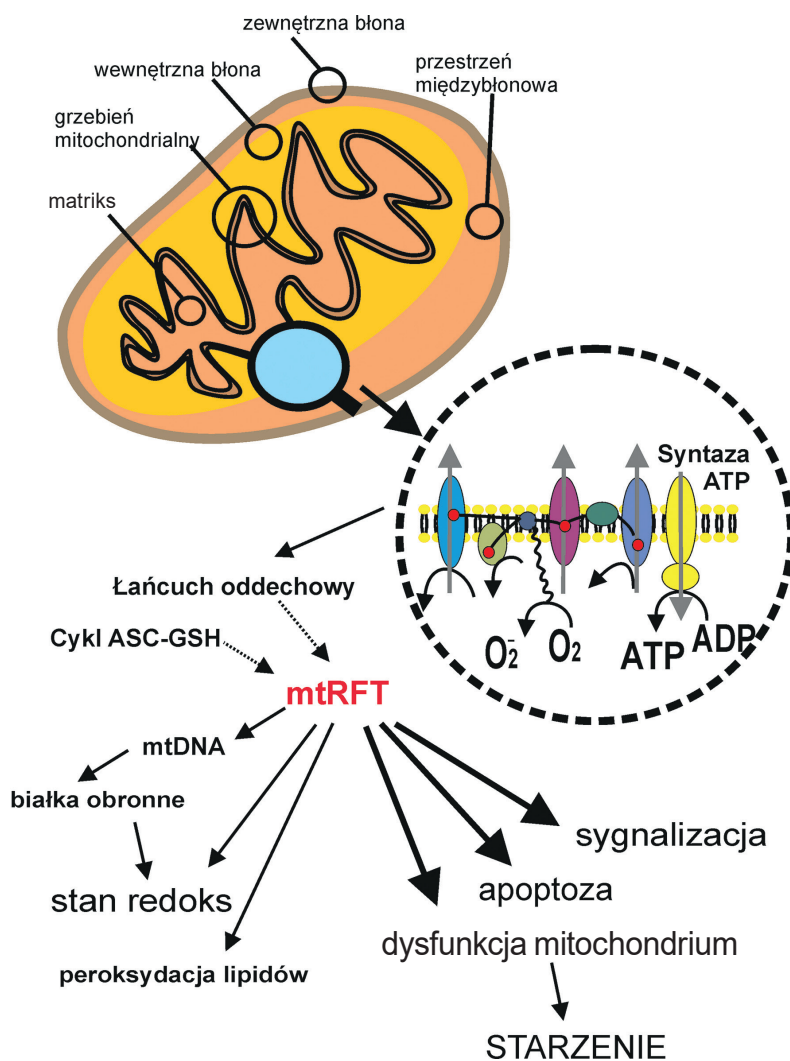
DNA znajdujące się w komórce może przybierać różne formy. Najczęściej jest to dwuniciowa, liniowa cząsteczka, ale istnieją od tej zasady wyjątki. W komórkach bakterii genom przyjmuje formę kolistą. Mitochondria również posiadają swój własny, odrębny od innych organelli genom. Ze względu na ich prokariotyczne pochodzenie ma on postać kolistego nukleoidu (mtDNA), w którym jest zakodowana część białek i RNA związanych z ich funkcjonowaniem. W czasie transformacji protomitochondrium w organelę komórkową genom mitochondrialny ulegał licznym modyfikacjom, takim jak przenoszenie genów z protomitochondrium do jądra komórkowego i odwrotnie. Co ciekawe, zwierzęce i roślinne genomy mitochondrialne cechują się odmienną budową. Podczas gdy u zwierząt jest to zwykle prosta, niewielka kolistą cząsteczka DNA, u roślin mtDNA nie zostało dotąd tak dobrze poznane. Jest to związane z dużą różnorodnością w budowie, długości i organizacji roślinnych mtDNA. Dla uproszczenia roślinny genom przedstawia się jako cząsteczkę kolistą, zawierającą całość informacji genetycznej mitochondrium – tzw. główny chromosom (ang. *master chromosome*).

Funkcje mitochondriów

Główną funkcją, którą pełnią mitochondria, jest produkowanie energii na potrzeby komórki. Ale mają też inne zadania, takie jak m.in. regulowanie potencjału błonowego, apoptoza, czyli programowana śmierć komórki, czy regulacja stanu redoks.

Produkcja energii w postaci ATP jest nazywana fosforylacją oksydacyjną i odbywa się w wewnętrznej błonie mitochondrialnej, w której są zakotwiczone białka enzymatyczne łańcucha oddechowego. Łańcuch oddechowy składa się z pięciu głównych enzymów, takich jak: oksydoreduktaza NADH-koenzym Q (kompleks I), oksydoreduktaza bursztynian-ubichinon (kompleks II), oksydoreduktaza koenzym Q-cytochrom c (kompleks III) oksydaza cytochromu c (kompleks IV) i syntaza ATP.

Istotą fosforylacji oksydacyjnej jest transport elektronów przez kolejne elementy łańcucha oddechowego. Dzieje się to dzięki wielu reakcjom utleniania i redukcji, w skrócie zwanych redoks. Dostawcami elektronów są dwa związki chemiczne powstające



dr Aleksandra Maria Staszak

Specjalistka w dziedzinie fizjologii roślin. Prowadzi m.in. badania dotyczące wpływu różnych czynników środowiska na kiełkowanie nasion, zajmuje się także interakcjami, jakie zachodzą między roślinami a patogenami. a.staszak@uwb.edu.pl

Rys. 1
Powiązanie fosforylacji oksydacyjnej zachodzącej w mitochondriach z procesami wytwarzania reaktywnych form tlenu (mtRFT) i ich wpływ na zmiany w metabolizmie i indukcję starzenia nasion

w innych miejscach w komórce, są to dinukleotydy nikotyamidoadeninowy (NADH) i flawinoadeninowy (FADH₂). To właśnie energia zawarta w elektronach tych związków daje siłę napędową dla fosforylacji oksydacyjnej. Transport elektronów przez kolejne kompleksy białkowe łańcucha oddechowego powoduje wytworzenie tzw. siły protonomotorycznej. Sprawia, że protony są wypompowywane z matriks mitochondrialnej do przestrzeni międzybłonowej. Następnie, pod naciskiem protonów powracających do macierzy mitochondrialnej, syntaza ATP syntetyzuje cząsteczki ATP (rys. 1).

Ważną rolę w fosforylacji oksydacyjnej odgrywa cząsteczka tlenu, która jest końcowym odbiorcą elektronów w łańcuchu oddechowym. Ze względu na swoje powinowactwo do elektronów wytwarza znaczne ilości siły napędowej dla łańcucha oddechowego. Częściowa redukcja prowadzi do powstania niebezpiecznych związków, tzw. reaktywnych form tlenu (RFT). To właśnie te cząsteczki są uważane za głównych prowodyrów starzenia się komórek. Także komórek nasion, które zwykle kojarzą się ze stanem spoczynku

i ograniczonym metabolizmem. A jednak w czasie długoterminowego przechowywania w ich komórkach, w czasie przemian metabolicznych związanych z oddychaniem, może dochodzić do zwiększonej produkcji RFT, które negatywnie wpływają na ich materiał genetyczny i materiały zapasowe. Mitochondrialne DNA nie jest w żaden sposób chronione przez błony białkowe ani związane z białkami stabilizującymi, tzw. histonami, co czyni je wrażliwszym na uszkodzenia.

Mitochondria, choć odgrywają rolę elektrowni zapewniających wzrost i aktywność metaboliczną komórek, są również jednym z głównych miejsc produkcji RFT. Ta grupa cząsteczek powstaje w czasie transportu elektronów przez kompleksy w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym. Anionorodnik nadadtlenkowy (O^{2•-}) jest prekursorem większości RFT i mediatorem w oksydacyjnych reakcjach łańcuchowych. Może on powstać w łańcuchu oddechowym w wyniku jednoelektronowej redukcji zachodzącej z udziałem flawin (np. witaminy B2, która bierze udział w procesach utleniania i redukcji) lub ubichinonu (w przemyśle kosmetycznym znanego głównie jako koenzym Q10).

Miejscem tworzenia tych cząsteczek są kompleksy I, II i III (rys. 1). Równowaga między wytwarzaniem RFT a ich usuwaniem przez specjalistyczny system obronny umożliwia niezakłóconą produkcję energii w komórkach nasion.

Co dziś zagraża nasionom drzew?

Drzewa są organizmami długowiecznymi – rekordziści, np. sosna oścista (*Pinus aristata* Engelm.), osiągają wiek nawet 5 tys. lat. Tak długi czas życia jest związany nieuchronnie z bezustannym oddziaływaniem stresogennych bodźców na poszczególnych etapach rozwoju rośliny. Nawet nasiona dojrzewające jeszcze na gałęziach drzewa rodzicielskiego doświadczają stresu o różnym charakterze i nasileniu. Wzrastająca częstotliwość ekstremalnych zjawisk pogodowych, takich jak susze i fale upałów, jest wynikiem m.in. wysokiego stężenia CO₂ w ziemskiej atmosferze. W 2015 roku poziom CO₂ przekroczył 400 ppm (ang. *parts per milion* – liczba części na milion) po raz pierwszy od rozpoczęcia pomiarów, czyli od 1958 roku, kiedy to wynosił jedynie 315 ppm (dla porównania w 2021 roku stężenie tego gazu w atmosferze to już 416 ppm). Niesie to poważne konsekwencje nie tylko dla możliwości

zasiedlania przez gatunki nowych obszarów, lecz także dla jakości nasion, które zapewniają trwałość lasom.

Przez ostatnie dekady dokonano wielu zaskakujących obserwacji, zwłaszcza w przypadku gatunków wykazujących cykliczność urodzaju, do których należą m.in. buk czy dąb. Wzrost temperatury powietrza jest rozpoznawany przez takie drzewa jako sygnał do rozpoczęcia wysokiej produkcji nasion w przyszłym sezonie – będzie to tzw. rok nasienny. Odnotowywany z roku na rok wzrost średnich temperatur sprawia, że drzewa wciąż na nowo starają się przygotować do roku nasiennego. Tymczasem gatunki wytwarzające nasiona o stosunkowo dużej masie, takie jak żółędzie i bukie, potrzebują nawet do ośmiu lat na ponowne zgromadzenie energii niezbędnej do produkcji dużej ilości kwiatów i owoców. W efekcie, choć nasiona pojawiają się co roku, jest ich znacznie mniej, a większość z nich nie posiada rozwiniętego zarodka – są po prostu puste. A jeszcze do niedawna między obfitymi w zbiory latami nasiennymi nastawały kilkuletnie okresy regeneracji.

Nasiona alarmują – inicjacja starzenia

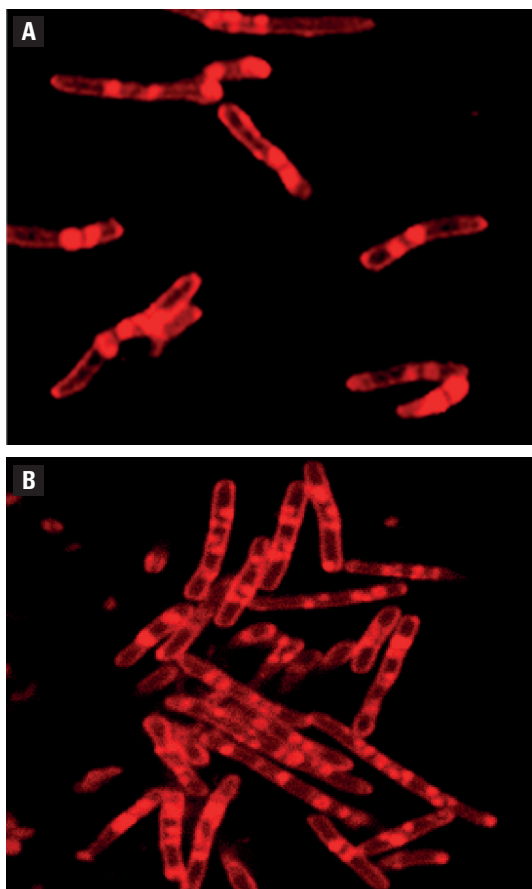
Jak zatem możemy zapobiegać utracie materiału siewnego, niezbędnego dla zachowania trwałości lasów? Musimy stale go gromadzić i przechowywać w ściśle określony i zależny od gatunku sposób, a to nie lada wyzwanie. Wszystko przez wspomniane już wcześniej cząsteczki – reaktywne formy tlenu. Z przeprowadzonych badań wynika, że spadek żywotności nasion przechowywanych przez okres kilku lat jest ściśle związany ze wzrostem stężenia cząsteczek RFT i produktów utleniania materiałów zapasowych w postaci lipidów. Oznacza to, że materiał roślinny uległ procesowi starzenia. Ale na czym właściwie polega starzenie się nasion – organów, które przecież kojarzą nam się z początkiem nowego życia?

Oddychanie i inne procesy metaboliczne kontroluje tzw. potencjał oksydacyjno-redukcyjny (czyli układy utleniania i redukcji występujące w obrębie komórki), który w skrócie nazywamy stanem redoks. Macierz mitochondrialna jest bogata w cały zestaw związków obronnych, które uczestniczą w owej regulacji. W skład tego systemu wchodzi wiele związków, z których najważniejszą rolę odgrywają dysmutaza ponadtlenkowa manganu (Mn-SOD), system askorbinianu-glutationu (ASC-GSH), katalazy, a także białka peroksyredoksyny (w tym peroksyredoksyna IIF, istotna w definiowaniu fizjologicznych różnic między nasionami odpornymi i wrażliwymi na stres suszy) i tioredoksyny. W normalnych warunkach poziom cząsteczek RFT jest efektywnie regulowany, a jego delikatne wahania biorą udział w komunikacji międzykomórkowej, pełniąc funkcję przekaźników

Fot. 1

Obserwacje mikroskopowe mitochondriów w nasionach buka wykazały, że ich ultrastruktura zmienia się stopniowo w trakcie procesu starzenia

- A. Mitochondria wyizolowane z przechowywanych nasion są mniejsze, występują pojedynczo lub w małych skupiskach
B. Mitochondria w komórkach świeżych nasion są znacznie większe, występują w dużych skupiskach, mają wydłużony kształt i wyraźnie zachowują aktywność metaboliczną





odpowiedzi fizjologicznych na różne zjawiska. Jednak pod wpływem czynników stresowych, takich jak susza czy upały, RFT są akumulowane w nadmiernych ilościach, a wówczas – mimo że rola wewnątrzkomórkowych przekaźników jest tak ważna – stają się toksyczne. Dzieje się tak, ponieważ RFT, będąc cząsteczkami o właściwościach silnie utleniających, zmieniają stan redoks w poszczególnych częściach komórki z bardziej redukującego na utleniający. Utleniają lipidy, z których są zbudowane błony komórkowe, w tym również błony mitochondriów (fot. 1). Zaburzają w ten sposób strukturę błon – biologicznych membran – powodując zmiany w ich selektywnej przepuszczalności i aktywności związanych z nimi białek, w tym enzymów antyoksydacyjnych. Zmiany te możemy określić, np. dokonując pomiaru wpływu substancji o charakterze elektrolitów z wnętrza komórki do wody, w której umieszczono badaną tkankę. Stan, w którym komórka nie nadąża z detoksykacją szkodliwych cząsteczek, nazywamy stresem oksydacyjnym. Produkty utleniania lipidów, typowe dla tkanek będących w stanie stresu oksydacyjnego, wykorzystuje się do określania jego poziomu. Tak zwana teoria wolnych rodników autorstwa prof. Denhama Harmana zakłada, że starzenie się jest postępującym wraz z czasem nagromadzeniem uszkodzeń, będących skutkami stresu oksydacyjnego różnego pochodzenia, które stopniowo zwiększają ryzyko śmierci u wszystkich organizmów żywych. Tak postrzegany proces starzenia wpływa bezpośrednio na efektywność mitochondriów i ich zdolność do wytwarzania energii. Za przykład mogą tu posłużyć nasiona wiązów, w których aż 48 białek mitochondrialnych ulega przekształceniu podczas starzenia. Ponadto potwier-

dono, że zmiany te są związane z transportem elektronów i z cyklem Krebsa, czyli procesami stanowiącymi podstawę oddychania tlenowego. Nadmiar RFT w mitochondriach powoduje uszkodzenia mtDNA, co bardzo utrudnia zachowanie informacji genetycznej, a z kolei brak integralności genomu wpływa negatywnie na żywotność nasion. Sumą tych wszystkich zdarzeń jest postępujące niszczenie materiału genetycznego i hamowanie procesów metabolicznych. Komórki starzejących się nasion nie są w stanie wyprodukować energii i zmagazynować jej w postaci ATP w ilości umożliwiającej rozpoczęcie kiełkowania.

Można zatem powiedzieć, że w odpowiedzi na stres spowodowany zmianami warunków klimatycznych bądź też nieprawidłowym sposobem przechowywania nasion uruchamiany jest specyficzny rodzaj sygnału wewnątrzkomórkowego – alarm deficytu energetycznego. Sygnał ten wpływa na zdolność komórki do wytwarzania białek mitochondrialnych związanych z oddychaniem, takich jak syntaza ATP. Odcięcie dopływu energii metabolicznej, koniecznej do utrzymania w komórce środowiska redukującego, ostatecznie przesądza o losie komórki. Komórka oświadcza, że „pora umierać”. Im zaś więcej umierających komórek, tym bardziej zestarzałe, czyli niezdolne do kiełkowania, nasiono.

Światło w tunelu

Chociaż procesy zachodzące w nasionach, które opisałyśmy, mogą mieć poważne konsekwencje, natura wykształciła mechanizm obronny, który zabezpiecza nasiona przed starzeniem. Istnieją związki chemiczne, które są zdolne do „wylączenia” energetycznego alarmu. Należy do nich prolina – aminokwas intensywnie badany do tej pory głównie w gatunkach zbóż i innych roślin uprawnych. Akumulacja proliny wzrasta w odpowiedzi na środowiskowe czynniki stresowe, np. podczas suszy. Prolina ma zdolność stabilizacji błon komórkowych i białek, co przyczynia się do ograniczenia utraty wody i zwiększenia aktywności systemu antyoksydacyjnego, a co za tym idzie – do skuteczniejszego pozbywania się cząsteczek RFT. Tym samym ów interesujący aminokwas może stanowić wskaźnik poziomu uszkodzeń spowodowanych przez stres oksydacyjny. Mógłby posłużyć również do sprawdzania warunków przechowywania nasion tak, by jak najmocniej ograniczyć możliwości wystąpienia stresu oksydacyjnego w ich komórkach. Możliwe, że komercyjne zastosowanie proliny nie tylko zabezpieczy nasiona przed starzeniem, lecz także poprawi skuteczność produkcji sadzonek lepiej przystosowanych do rozwoju w zmiennych, stresowych warunkach. Wszystko wskazuje na to, że przyszłość przyniesie rozwiązanie problemu starzenia – jeśli nie w przypadku nas, ludzi, to przynajmniej w przypadku nasion! ■

Obserwujemy, że coraz częściej pojawiają się puste nasiona – również w przypadku klonu jaworu (*Acer pseudoplatanus L.*)