



dr hab. Małgorzata Kozieradzka-Kiszkurno, prof. UG 

Katedra Cytologii i Embriologii Roślin, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, Gdańsk

[https://doi.org/10.18388/pb.2021\\_406](https://doi.org/10.18388/pb.2021_406)

 autor korespondujący: malgorzata.kozieradzka-kiszkurno@ug.edu.pl

**Słowa kluczowe:** cytologia, embriologia roślin, plazmodesmy, suspensor, zarodek

**Wykaz skrótów:** RER – szorstkie retikulum endoplazmatyczne; SER – gładkie retikulum endoplazmatyczne

## STRESZCZENIE

Wieszadełko u większości roślin okrytozalążkowych to zachowany ewolucyjnie organ zarodkowy pełniący funkcję kanału łączącego tkanki zalążka z zarodkiem właściwym dla przepływu składników odżywczych i regulatorów wzrostu. W artykule opisano aktualną wiedzę na temat ultrastruktury i funkcji wieszadełka zarodkowego u reprezentantów rodzajów Crassulaceae: *Sedum*, *Jovibarba*, *Sempervivum*, *Aeonium*, *Monanthes*, *Aichryson* i *Echeveria*. Rolę wieszadełka w transporcie substancji z tkanek zalążka do zarodka właściwego potwierdza struktura komórki bazalnej, a szczególnie charakter mikropylarnej części jej ściany „ściana transferowa”. Komórka bazalna wieszadełka jest miejscem intensywnych procesów metabolicznych. Specjalną uwagę zwrócono na plazmodesmy. Prześladowano korelację między typami wieszadełek a budową plazmodesm. Wysznięto wnioski końcowe i podsumowano przedstawione wiadomości.

## WPROWADZENIE

Rozmnażanie płciowe u roślin okrytozalążkowych (Angiospermae) polega na przejściu sporofitu w fazę gametofitu oraz na podwójnym zapłodnieniu [1,2]. Ta grupa roślin, aby wytworzyć nasiona przechodzi proces podziału mejotycznego, w wyniku którego powstaje haploidalny gametofit żeński (dojrzały woreczek zalążkowy) i haploidalny gametofit męski (dojrzałe ziarno pyłku). Ziarno pyłku kiełkuje na znamieniu słupka, łagiewka pyłkowa wnika do woreczka zalążkowego i zachodzi podwójne zapłodnienie. Jedna komórka plemnikowa łączy się z komórką jajową, natomiast druga z komórką centralną, czego rezultatem jest powstanie diploidalnej zygoty (z której rozwija się zarodek przyszłej rośliny) i triploidalnego bielma (tkanki odżywczej dla rozwijającego się zarodka) [3-5]. Prawidłowe uformowanie się zarodka z zygoty jest efektem wzajemnych zależności rozwojowych między zarodkiem i bielmem podczas tworzenia się nasion.

Zygota u roślin okrytozalążkowych zwykle dzieli się poprzecznie na dwie niejednakowe morfologicznie i funkcjonalnie komórki: większą bazalną (od strony mikropyle), z której powstaje wieszadełko zarodkowe (łac. *suspensor*) – szybko rozwijający się przejściowy organ, ulegający programowanej śmierci komórkowej oraz mniejszą apikalną (po stronie chalazy), z której formuje się zarodek właściwy, w którym dokonuje się organogeneza [6].

Wieszadełko zarodkowe roślin okrytozalążkowych jest strukturą bardzo zróżnicowaną. Może nie formować się w trakcie embriogenezy jak np. u *Acacia*, *Viola* czy *Tilia*, może być małe i niepozorne (u niektórych Orchidaceae), ale także może być dużą, wielokomórkową rozbudowaną strukturą, jak u przedstawicieli Fabaceae, np. u *Phaseolus*, gdzie organ ten tworzy ponad 200 komórek. Przez wiele lat uważano, że wieszadełko zarodkowe jest prymitywną strukturą służącą wyłącznie do wpychania zarodka właściwego do wnętrza woreczka zalążkowego oraz utrzymywania go w odpowiedniej pozycji. Liczne badania nad cytochemią, ultrastruktura i syntetyczną aktywnością tego organu przeprowadzone w ostatnich latach sugerują, że funkcjonuje on w absorpcji, syntezie i/lub translokacji substancji odżywczych z somatycznych tkanek zalążka do zarodka właściwego [7].

Transportowe funkcje suspensora zarodkowego spełniane są dzięki wyspecjalizowanym strukturom, do których należą: wrosty ścienne komórek transferowych suspensora, haustoria oraz plazmodesmy [8]. Specyficzność metabolizmu komórek wieszadełek przejawia się występowaniem dużej liczby aktywnych organelli. Znaczącą cechą tych organelli jest ich ultrastrukturalna i cytochemiczna odmienność w porównaniu do organelli komórek zarodka właściwego [9].

Współczesne badania wykazują, że wieszadełko zarodkowe odgrywa kluczową rolę w prawidłowym rozwoju zarodka u wielu roślin, w tym Crassulaceae

ae. Za pomocą transmisyjnego mikroskopu elektronowego możliwe stało się zbadanie dokładnej budowy organelli i ich lokalizacji w komórkach wieszadełka. Budowa wieszadełek u Crassulaceae stała się przedmiotem licznych doniesień naukowych publikowanych w przeciągu ostatnich lat. Wyniki tych badań przybliżają obraz pełnionych przez wieszadełko funkcji w procesie embriogenezy z perspektywy strukturalnej.

W prezentowanej pracy przeglądowej przedstawiona zostanie najnowsza wiedza na temat badań ultrastrukturalnych wieszadełka zarodkowego u przedstawicieli 7 rodzajów Crassulaceae. Zaprezentowane zostaną analizy porównawcze, morfologiczno-ultrastrukturalne u tego zarodkowego organu, w trakcie pełnego rozwoju i funkcjonowania (stadium późnoglobularne oraz stadium sercowate zarodka właściwego) oraz przedyskutowane zostaną jego przypuszczalne funkcje w embriogenezie.

## CHARAKTERYSTYKA CRASSULACEAE

Crassulaceae (gruboszowate) – rodzina roślin należąca do rzędu Saxifragales. Obejmuje 35 rodzajów i około 1500 gatunków. Jej reprezentanci to w większości sukulenty liściowe magazynujące wodę w liściach. Są one rozpowszechnione niemal na całym świecie z wyjątkiem obszarów skrajnie chłodnych [10]. Największym w obrębie rodziny jest rodzaj *Sedum* (obejmujący około 420 gatunków), który jest silnie polifiletyczny [11,12].

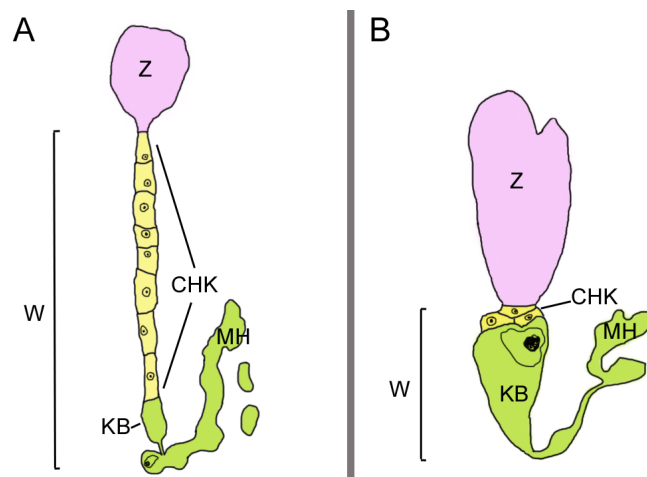
Cechą charakterystyczną gruboszowatych jest doskonale przystosowanie się do funkcjonowania w suchym środowisku, dzięki możliwości gromadzenia zapasów wody „na czarną godzinę” w mięsistych organach. Rośliny te stały się interesującym obiektem badań ze względu na liczne przystosowania: anatomiczne (obecność tkanki wodnej), morfologiczne (organy o pokaźnej grubości, ale zredukowanej powierzchni) i fizjologiczne (fotosynteza CAM – ang. *Crassulacean Acid Metabolism*) [11,12].

Są to popularne rośliny ozdobne, które uprawiane są w mieszkaniach i szklarniach np. z rodzajów: *Echeveria*, *Crassula*, *Aeonium* i *Kalanchoe* lub w ogrodach skalnych *Sedum* czy *Sempervivum*. Niektóre z nich mają także zastosowanie w medycynie np. *Rhodiola rosea* czy *Bryophyllum pinnatum*.

Oprócz powyższych walorów, rośliny z tej rodziny stały się także interesującym obiektem badań w dziedzinie cytoembriologii. Przyciągają one uwagę badaczy ze względu na ciekawy rozwój zarodka.

## TYPY ROZWOJU WIESZADEŁKA ZARODKOWEGO U CRASSULACEAE

Rozwój zarodka u roślin przebiega według ściśle określonego planu, charakterystycznego dla danego gatunku i kontrolowany jest przez genotyp. U Crassulaceae przebiega on wg typu Caryophyllad. W tym typie rozwojowym, zygota dzieli się poprzecznie na dwie komórki różniące się wielkością: większą bazalną (od strony mikropyle) oraz mniejszą apikalną (od strony chalazy). Większa z nich nie ulega dalszym podziałom, powiększa swoje rozmiary i funkcjonuje



Rycina 1. Dwa typy rozwoju suspensora zarodkowego u *Sedum*. (A) Schemat przedstawia długi jednorzędowy suspensor u *S. sediforme* (B) Schemat przedstawia krótki kilkurzędowy u *S. atratum*. KB – komórka bazalna, MH – mikropylarne haustorium, CHK – komórki chalazalne suspensora, W – wieszadełko.

jako komórka bazalna suspensora. Wytwarza ona jednokomórkowe mikropylarne haustorium, które rozgałęzia się i wrasta w głąb tkanek zalążka. Natomiast komórka apikalna jest komórką wyjściową do serii podziałów, w wyniku których powstają chalazalne komórki suspensora oraz zarodek właściwy. Różnicowanie suspensora badano w odniesieniu do rozwoju zarodka właściwego.

U Crassulaceae opisano dwa różne typy rozwoju suspensora: długi jednorzędowy oraz krótki kilkurzędowy (Ryc. 1).

Długi jednorzędowy suspensor występuje jedynie u *Sedum sediforme* (Jacq.) i *S. rupestre* L. (syn. *S. reflexum* L.), gatunków zaliczanych do wyróżnianej w obrębie *Sedum* serii *Rupestris* (klad *Sempervivum*), która bywa podnoszona do rangi rodzaju – *Petrosedum* Grulich [13]. Ten typ rozwoju charakteryzuje się występowaniem małej komórki bazalnej (od strony mikropyle) oraz 8-10 pojedynczych komórek (od strony chalazy), które nazywane są komórkami chalazalnymi wieszadełka (Ryc. 1A). Komórka bazalna u wszystkich Crassulaceae wytwarza jednokomórkowe mikropylarne haustorium, które rozgałęziając się wrasta w tkanki zalążka.

Krótki kilkurzędowy typ rozwoju suspensora przedstawiono u pozostałych reprezentantów *Sedum*: *S. atratum*, *S. acre* (klad *Acre*), *S. hispanicum* i *S. album* (klad *Leucosedum*) oraz w pozostałych 6 rodzajach Crassulaceae: *Jovibarba sobolifera*, *Sempervivum arachnoideum* (klad *Sempervivum*), *Aichryson laxum*, *Aeonium sedifolium*, *Monanthes anagensis*, (klad *Aeonium*) i *Echeveria lutea* (klad *Acre*). Wieszadełko zarodkowe u tych przedstawicieli zbudowane jest z powiększonej komórki bazalnej (od strony mikropyle) i 2-4 komórek chalazalnych ułożonych w 2 rzędach (Ryc. 1B).

## DŁUGI JEDNORZĘDOWY SUSPENSOR – ULTRASTRUKTURA

W tym typie rozwoju suspensora, który opisano wyłącznie u *S. sediforme* i *S. rupestre*, mikropylarna część ściany ko-

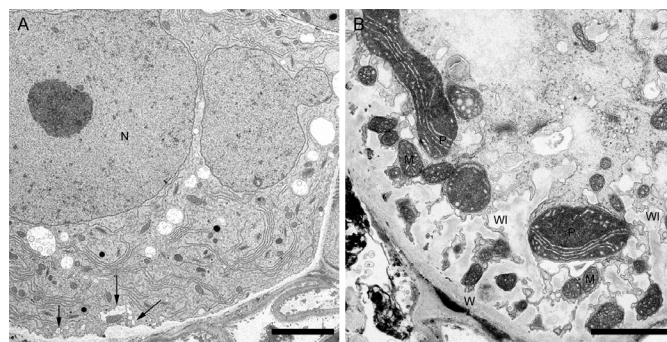
mórki bazalnej pokryta jest od wewnątrz niezbyt licznymi rozgałęzionymi wyrostkami. Cytoplazma komórki bazalnej i haustorium mikropylarnego jest podobna pod względem gęstości i występujących organelli. W haustorium występują liczne organelle: profile szorstkiego retikulum endoplazmatycznego (RER), mitochondria, diktiosomy, wakuole i plastydy. Ściana haustorium mikropylarnego, charakteryzuje się obecnością licznych rozgałęzionych wyrostków ściennych o typowej budowie dla komórek transferowych. W sąsiedztwie wyrostków lokalizowane są liczne mitochondria. W cytoplazmie zarówno haustorium jak i komórki bazalnej dość równomiernie rozprzestrzenione są niezbyt liczne krople lipidowe. Komórka bazalna zawiera ogromne silnie pofałdowane jądro z jednym jąderkiem. Zajmuje ono mikropylarną część komórki a jego wnętrze wypełnia luźna chromatyna, która miejscami przechodzi w większe bloki zwartej chromatyny. Wyłącznie u gatunków z jednorzędowym suspensorem obserwowano wypychanie ogromnego jądra komórkowego z komórki bazalnej do haustorium mikropylarnego. W cytoplazmie komórki bazalnej obserwowano również liczne, równomiernie rozmieszczone cysterny RER. Natomiast profile gładkiego retikulum endoplazmatycznego (SER) były nieliczne. Ponadto obserwowano umiarkowaną liczbę aktywnych diktiosomów, nieliczne mikrociała oraz drobne i większe niezbyt liczne wakuole zawierające drobnofibrylarny lub elektronowo-gęsty materiał. Największymi organellami, lecz niezbyt licznie występującymi są elektronowo-gęste plastydy, które w stromie posiadają liczne tubule, lamelle a niekiedy inkluzje. Komórki chalazalne wieszadelka pod względem ultrastrukturalnym są bardzo podobne do komórki bazalnej. Dominującymi liczebnie organellami w tej strefie wieszadelka są mitochondria. We wszystkich poprzecznych ścianach suspensora oraz bocznych (na granicy bielma) występują proste plazmodesmy.

#### KRÓTKI WIELORZĘDOWY SUSPENSOR - ULTRASTRUKTURA

Taki typ rozwoju suspensora opisano u pozostałych gatunków *Sedum*: *S. atratum*, *S. acre*, *S. hispanicum* i *S. album* oraz gatunków z 6 rodzajów *Crassulaceae*: *Jovibarba sobolifera*, *Sempervivum arachnoideum*, *Aichryson laxum*, *Aeonium sedifolium*, *Monanthes anagensis* i *Echeveria lutea*.

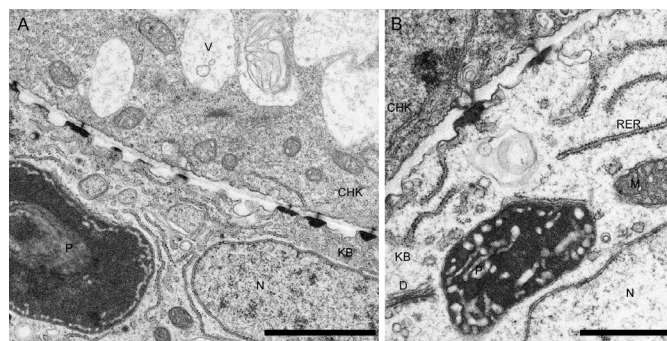
Schemat rozwoju wieszadelka u tych wszystkich gatunków/rodzajów jest podobny, jednak pewne szczegóły rozwojowe są właściwe dla poszczególnych gatunków. Różnice zaznaczają się m.in. w kształcie i wielkości komórki bazalnej jak też stopniu rozgałęzienia mikropylarnego haustorium.

Na mikropylarnym końcu komórki bazalnej widoczne są nieliczne, małe wyrostki ścienne (Ryc. 2A), natomiast liczne wyrostki ścienne obserwowano w ścianach haustorium mikropylarnego (Ryc. 2B). U wszystkich gatunków ilość wyrostków i stopień ich rozgałęzienia jest podobny jak u gatunków w długim jednorzędowym suspensorze. W pobliżu wyrostków ściennych zlokalizowane są licznie mitochondria. W cytoplazmie haustorium mikropylarnego widoczne są nieliczne, duże i ameboidalnego kształtu plastydy. Stroma plastydów jest elektronowo-gęsta, ze słabo rozwiniętym systemem błon wewnętrznych. W niektórych plastydach

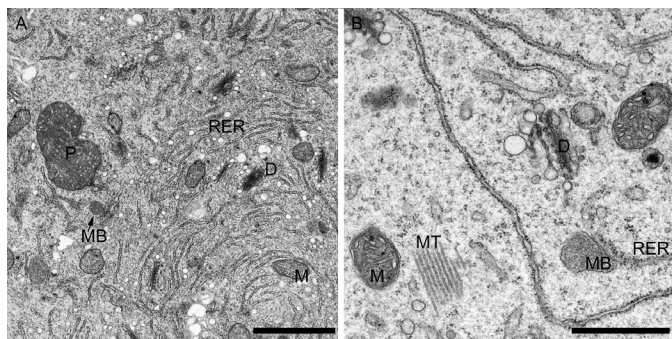


**Rycina 2.** Ultrastruktura komórki bazalnej wieszadelka i mikropylarnego haustorium u *Aichryson laxum*. (A) Fragment komórki bazalnej z ogromnym jądrem i licznymi organellami. W mikropylarnej części komórki widoczne drobne wyrostki ściany komórkowej (strzałki) (B) Porcja cytoplazmy z mikropylarnego haustorium z widocznymi silnie rozwiniętymi wyrostkami ściennym. W pobliżu wyrostków zlokalizowana duża ilość mitochondriów. M – mitochondrium, N – jądro komórkowe, P – plastyd, W – ściana komórkowa, WI – wyrostki ścienne. Skala liniowa (A = 5 µm, B = 2 µm).

widoczne są elektronowo-przejrzyste inkluzje i drobne tubule (Ryc. 2B). W cytoplazmie obserwowano również duże ilości cystern RER, najczęściej biegnących równoległe do siebie, diktiosomy z dużą ilością aktywnych pęcherzyków lokalizowane głównie przyściennie oraz drobne wakuole (Ryc. 4A, B). U wszystkich gatunków w komórce bazalnej jądro płatkowatego kształtu z 1 jąderkiem zajmuje zwykle chalazalną lub centralną część komórki (Ryc. 2A). W cytoplazmie komórki bazalnej widoczne są liczne cysterny RER i dobrze rozwinięte SER. Dużą grupę organelli stanowią mitochondria, które są dość równomiernie rozproszone w cytoplazmie i posiadają dobrze rozwinięte grzebienie. Często w pobliżu tych organelli widoczne są cysterny RER. Stosunkowo liczną grupę organelli stanowią aktywne diktiosomy, które są rozprzestrzenione na całej powierzchni przekroju komórki. Mikrociała występują dość rzadko. W cytoplazmie obserwowano krople lipidowe. Plastydy są największymi, choć bardzo nielicznymi organellami, ze słabo rozwiniętym systemem błon wewnętrznych. W gęstej stromie obecne są drobne tubule, lamelle lub inkluzje (elektronowo-gęste lub



**Rycina 3.** Ultrastruktura wieszadelka zarodkowego na granicy komórka bazalna/komórka chalazalna (A) U *Monanthes anagensis* w cytoplazmie od strony komórki bazalnej widoczny fragment jądra i ogromnego elektronowo-gęstego plastydu. W poprzecznej ścianie pomiędzy komórkami widoczne charakterystyczne plazmodesmy z elektronowo-gęstym materiałem. W komórce chalazalnej widoczne wakuole (B) U *Sedum atratum* w cytoplazmie od strony komórki bazalnej widoczny fragment jądra, plastyd, mitochondrium i profile szorstkiego retikulum endoplazmatycznego. W ścianie komórkowej charakterystyczne plazmodesmy, KB – komórka bazalna, CHK – komórka chalazalna, D – diktiosom, P – plastyd, RER – szorstkie retikulum endoplazmatyczne, V – wakuola. Skala liniowa (A = 2 µm, B = 1 µm).



**Rycina 4.** Ultrastruktura komórki bazalnej wieszadełka z chalazalnej części komórki u *Echeveria lutea* (A) Gęsta cytoplazma z dużą ilością aktywnych organelli (B) Widoczne organella w większym powiększeniu, D – diktiom, M – mitochondrium, MB – mikrociało, MT – mikrotubule, P – plastyd, RER – szorstkie retikulum endoplazmatyczne. Skala liniowa (A = 2  $\mu$ m, B = 1  $\mu$ m).

elektronowo-rzadkie) (Ryc. 3A, B, Ryc. 4A). W cytoplazmie komórki bazalnej obserwowano mikrotubule (Ryc. 4B).

W poprzecznej ścianie komórkowej, pomiędzy komórką bazalną a pierwszym rzędem komórek chalazalnych, występują charakterystyczne plazmodesmy, którym towarzyszą elektronowo-gęste struktury cytoplazmatyczne od strony komórki bazalnej (Ryc. 3A, B). Plazmodesmy takie dodatkowo opisano w bocznej ścianie komórki bazalnej na granicy z bielmem. Ten rodzaj plazmodesm opisano u wszystkich gatunków posiadających taki typ rozwoju suspensora. Złożony pod względem budowy rodzaj połączeń cytoplazmatycznych nie był opisywany w wieszadełkach u innych rodzin.

Cytoplazma komórek chalazalnych wieszadełka jest gęstsza od cytoplazmy komórki bazalnej. W niej obserwowano dość liczne wakuole, które są większe niż obserwowane w komórce bazalnej (Ryc. 3A). Oprócz wakuol widoczne są głównie mitochondria, które przypominają te obserwowane w komórce bazalnej. Natomiast plastydy, w porównaniu do tych z komórki bazalnej są mniejsze i posiadają słabiej rozwinięty system błon wewnętrznych. Ponadto, krótkie pojedyncze cysterny RER leżą głównie przyściennie. W cytoplazmie obserwowano również nieliczne małe mikrociała (Ryc. 4B).

## TRANSPORTOWE FUNKCJE WIESZADEŁKA

Transportowe funkcje suspensora zarodkowego spełniane są dzięki wyspecjalizowanym strukturom, do których należą: wrosty ściennie komórek transferowych suspensora, haustoria oraz plazmodesmy.

Komórka bazalna suspensora u Crassulaceae wykształcona jest jako tzw. „komórka transferowa”, na co wskazuje obecność wyrostków ściennych na mikropylarnej części jej ściany [14]. Wrosty ściennie wyraźnie zwiększają powierzchnię ściany komórkowej i plazmalemy, co powoduje usprawnienie krótkodystansowego, aktywnego transportu substancji odżywczych przez błonę komórkową. Wrosty ściennie transferowej ściany komórki bazalnej suspensora u wielu roślin okrytozalążkowych, często bywają bardzo rozbudowane i tworzą niekiedy labirynt ścienny.

Powierzchnie transferowe w wieszadełkach opisano u wielu gatunków Angiospermae np. *Alisma*, *Capsella*, *Stellaria*, *Diplotaxis* [6,7,9]. Aktywny transport substancji przez błony plazmatyczne wymaga energii. Dostarczają jej mitochondria, bardzo liczne w komórkach transferowych. U Crassulaceae w haustorialnych komórkach bazalnych ilość tych organelli jest bardzo liczna a przestrzenne i funkcjonalne powiązanie tych organelli z wyrostkami ściany komórkowej najlepiej jest widoczne w mikropylarnej części ściany komórki bazalnej i w haustorium. W trakcie rozwoju wyrostki ściennie zajmują większą część mikropylarnego bieguna komórki bazalnej. Tak szybko zachodząca strukturalna specjalizacja ściany komórkowej oraz rozprzestrzenienie wyrostków ściennych w trakcie rozwoju sugerują, że region ten ma wysokie wymagania transportowe ze względu na wysoką aktywność metaboliczną [14,15].

U Crassulaceae i wielu innych reprezentantów rodzin okrytozalążkowych jak Fumariaceae, Orchidaceae, Podostamaceae, Rubiaceae, Trapaceae, Tropaeolaceae opisano wieszadełka z haustoriami, bardzo często rozbudowanymi, penetrującymi tkanki bielma, ośrodek albo osłonki zalążka, pobierającymi z tych tkanek substancje odżywcze dla rozwijającego się zarodka właściwego [6]. U gruboszowatych, mikropylarne haustoria są dobrze rozwinięte i najczęściej penetrują tkanki osłonki wewnętrznej i zewnętrznej, jak np. u *Jovibarba sobolifera* i *Semprevivum arachnoideum* [14] czy sznureczek lub chalazalną część zalążka u *S. rupestre* [15]. Ściana haustorium mikropylarnego u Crassulaceae, charakteryzuje się obecnością wyrostków ściennych o typowej budowie dla komórek transferowych. Wyrostki, są lepiej rozwinięte niż te w mikropylarnej części ściany komórki bazalnej, tworzą nierzadko labirynt ścienny jak np. u *S. atratum*. Obecność wyrostków ściennych i brak plazmodesm w zewnętrznych ścianach haustorium wskazuje, że substancje odżywcze transportowane są apoplastycznie z wykorzystaniem tychże wyrostków. Transport taki wymaga nakładów energetycznych, które pokrywane są przez sąsiadujące z wyrostkami liczne mitochondria [16].

Rolę suspensora w transporcie metabolitów u roślin okrytozalążkowych podkreśla dodatkowo występowanie licznych plazmodesm [6,7,9]. U Crassulaceae występują one w: chalazalnej ścianie komórki bazalnej, w ścianach dzielących komórki chalazalnego suspensora oraz w ścianach oddzielających komórki zarodka właściwego od komórek wieszadełka (przy jednoczesnym ich braku w zewnętrznych ścianach zarodka właściwego). U wszystkich dotychczas zbadanych gatunków w suspensorze Crassulaceae opisano bardzo nietypowe w budowie, plazmodesmy z elektronowo-gęstym materiałem, występujące wyłącznie w krótkich wielorzędowych suspensorach [16-18]. Takie nietypowe, plazmodesmy opisywano również w ścianie na granicy komórki bazalna/bielmo, co wydaje się zaprzeczać powszechnemu pogładowi o symplastycznej izolacji zarodka od bielma u roślin okrytozalążkowych [19]. Obecność plazmodesm między komórką bazalną a bielmem odnotowano do tej pory w literaturze tylko u trzech gatunków z rodziny Fabaceae [6].

Natomiast w długich jednorzędowych suspensorach z serii *Rupestrina* (*S. sediforme* i *S. rupestre*) opisywano typowe

plazmodesmy [15,16]. Co jest interesujące, że u *S. sediforme* dodatkowo plazmodesmy obserwowano w zewnętrznych ścianach komórek chalazalnych wieszadełka (pomiędzy komórkami chalazalnymi a bielmem). Tak rozmieszczonych plazmodesm do tej pory nie obserwowano u roślin. Być może jest to związane z filamentową budową tego organu. Można przypuszczać, że stosunkowo mała komórka bazalna nie jest w stanie pokryć zapotrzebowania zarodka właściwego na składniki odżywcze, dlatego też są one dodatkowo transportowane z bielma. Wskazuje na to również budowa komórek mikropylarnej części bielma, szczególnie obecność wyrostków ściennych, a także duża zawartość białek w tych komórkach [16].

Rozmieszczenie plazmodesm wzdłuż wieszadełka umożliwia transport składników do rozwijającego się zarodka. Badania u *Arabidopsis* dowodzą, że w stadium globularnym komunikacja symplastowa między zarodkiem właściwym a wieszadełkiem zachodzi w obu kierunkach, tzn. od zarodka do wieszadełka i w kierunku przeciwnym, natomiast od stadium sercowatego tylko w kierunku od wieszadełka do zarodka [20]. Natomiast najnowsze badania, u *Sedum acre* dotyczą analizy ruchu fluorochromów pomiędzy poszczególnymi kompartmentami nasiona. Wykazano jednokierunkowy ruch fluorochromów między komórkami suspensora, w szczególności na granicy: komórka bazalna/zarodek właściwy oraz komórka bazalna/bielmo. Transport w kierunku przeciwnym, czyli do komórki jest zahamowany [21]. W obecności niezidentyfikowanej (pod względem chemicznym) do tej pory substancji, występującej w sąsiedztwie plazmodesm komórki bazalnej, postrzega się strukturalnej podstawy istnienia jednokierunkowego transportu w analizowanych przedziałach nasion *S. acre* [21].

#### **SPECYFICZNY METABOLIZM KOMÓRKI BAZALNEJ WIESZADEŁKA U CRASSULACAE**

Rola suspensora a szczególnie jego komórki bazalnej nie jest jedynie ograniczona do transportowania substancji odżywczych do zarodka. Specyficzność metabolizmu komórek wieszadełek przejawia się występowaniem dużej liczby aktywnych organelli m. in.: mitochondriów (przestrzenie i funkcjonalnie powiązanych z wyrostkami ściany transferowej), profili retikulum endoplazmatycznego, diktiosomów, wyspecjalizowanych plastydów, mikrociał i obecności kropli lipidowych. Znamioną cechą tych organelli jest ich ultrastrukturalna i cytochemiczna odmiennosc w porównaniu do organelli komórek zarodka właściwego.

U Crassulaceae rozwój komórki bazalnej suspensora jest ściśle związany z różnicowaniem się jej jądra komórkowego. Jądra nabierają płatkowatego kształtu a w cytoplazmie komórki bazalnej widoczne są duże ilości rybosomów i profili retikulum endoplazmatycznego. U wielu Angiospermae różnicowaniu się komórek wieszadełka towarzyszy poliploidyacja ich jąder. Takie komórki są charakterystyczne dla organów pełniących funkcje wydzielnicze i odżywcze, tj.: antypody, synergidy, bielmo i wieszadełko zarodkowe. Poliploidyacja, pojawiająca się podczas różnicowania komórki bazalnej wieszadełka najczęściej jest wynikiem endoreduplikacji, jak na przykład u *Sedum acre* - 1024C [22] czy u wielu innych gatunków okrytozalążkowych [6]. Zwie-

lokrotnienie liczby genomu w jądrze zwykle prowadzi do proporcjonalnego wzrostu aktywności syntetycznej komórki [23].

U *Sedum sediforme*, na szczególną uwagę zasługuje wypychanie ogromnego jądra komórki bazalnej do haustorium mikropylarnego. W literaturze brak jest danych dotyczących tego zjawiska. U tych gatunków komórki bazalne suspensora są bardzo małe w porównaniu do innych wieszadełek w tej rodzinie. Przypuszcza się, że: (i) jądro komórki bazalnej przemieszczane jest w kierunku większej masy cytoplazmy komórki, gdzie zachodzą intensywniejsze procesy metaboliczne; (ii) duże poliploidalne jądro komórki bazalnej jest wypychane pod wpływem ciśnienia ze stosunkowo niewielkiej komórki bazalnej; (iii) proces jest związany ze specyficzną interakcją poszczególnych elementów cytoszkieletu [16].

Właśnie cytoszkielet, który tworzy przestrzenną sieć mikrofilamentów i mikrotubul jest bardzo ważnym składnikiem cytoplazmy odgrywającym ogromną rolę w trakcie wzrostu i wydłużania komórek roślinnych. Długodystansowy transport substancji w komórce uzależniony jest od tubuliny, natomiast aktyna zaangażowana jest w transport na krótszych odcinkach [24]. U Crassulaceae, w trakcie różnicowania wieszadełek jak np. u *S. acre*, *S. atratum*, *S. album* obserwowano liczne filenty aktynowe zwykle biegnące wzdłuż osi mikropyle-chalaza, bardzo często w bliskim sąsiedztwie licznych organelli. Natomiast filenty tubulinowe tworzyły długie wiązki, układające się wzdłuż długiej osi komórki oraz biegnące wzdłuż otoczki jądrowej [16,25]. Zmiany zachodzące w organizacji mikrotubul w komórkach bazalnych badanych gatunków z rodzaju *Sedum*, podobnie jak u *Cymbidium* i *Phaius*, związane są z prawidłowym rozwojem wieszadełka. Cytoszkielet, oprócz roli w regulacji wzrostu komórki, pełni ważne funkcje w wielu wewnątrzkomórkowych procesach, takich jak: sygnalizacja wewnątrzkomórkowa, przemieszczanie organelli oraz tworzenie przedziałów komórkowych [25]. Badania cytoszkieletu drożdży wykazały, że wzajemne oddziaływanie mikrotubul i aktyny umożliwia migrację jądra w pączkujących komórkach [26]. Można przypuszczać, że wypychanie jądra komórki bazalnej do haustorium mikropylarnego u *S. sediforme*, o którym wcześniej wspomniano może być związane ze specyficznym, wzajemnym oddziaływaniem poszczególnych elementów cytoszkieletu.

Cechą strukturalną komórek suspensora u Crassulaceae jest obecność, silnie różnicowanych plastydów. Odbiegają one budową, kształtem i wielkością od tych obserwowanych w zarodku właściwym [27]. Przypuszczalnie ma to związek ze specjalizacją komórek wieszadełka. Takie wyspecjalizowane organella obserwowano również w suspensorach u członków wielu rodzin roślin okrytozalążkowych np. Caryophyllaceae, Tropaeolaceae, Fabaceae [7,9]. Większość takich plastydów charakteryzuje się występowaniem gęstej stromy i słabo rozwiniętego systemu błon wewnętrznych. W stromie często obserwowano elektronowo-przejrzyste lub gęste inkluzje, czasami z drobnofibrylarnym materiałem. Podobne inkluzje w plastydach obserwowano również w wieszadełku *Stellaria* oraz *Medicago*. Powstawanie, a następnie zanik inkluzji w plastydach, odgrywa znaczącą rolę

w rozwoju zarodka i związany jest z transportem specyficznych substancji z plastydów do cytoplazmy. Ziarna skrobi w plastydach obserwowane były sporadycznie. Plastydy w wieszadelkach Crassulaceae zwykle znajdują się w bliskim kontakcie z mitochondriami, siateczką śródplazmatyczną oraz jądrem, co sugeruje na wzajemne oddziaływanie pomiędzy tymi organellami, które może przejawiać się aktywnością syntetyczną i metaboliczną [27]. Plastydy zaangażowane są w wiele szlaków metabolicznych, takich jak synteza azotanów, metabolizm skrobi czy biosynteza kwasów tłuszczowych [27]. Plastydy w wieszadelkach gruboszowatych przypuszczalnie mogą pełnić wyspecjalizowane funkcje w trakcie rozwoju zarodka. Biochemiczne badania sugerują, że plastydy są zdolne do biosyntezy terpenoidów. Można przypuszczać, że produkty degradacji plastydów u Crassulaceae mogą służyć do odżywiania zarodka właściwego w późniejszych stadiach rozwoju wieszadelka. U *Jovibarba sobolifera*, *Sedum hispanicum*, *Sempervivum arachnoideum* w trakcie rozwoju zarodka wykazano unikalny stopniowy spadek wielkości plastydów wzdłuż osi mikropyle-chalaza. Plastydy te różniły się wielkością, morfologią oraz wewnętrzną strukturą. Przypuszczalnie ma to również związek ze specjalizacją komórek wieszadelka [27].

W haustorialnych wieszadelkach Crassulaceae obserwowano znaczną liczbę cystern (ER). Obecność rozległego RER związana jest z intensywną syntezą białek. U wszystkich gruboszowatych, RER często występuje w postaci bardzo długich cystern biegnących od mikropylarnej do chalazalnej części komórki bazalnej. Tak ułożone cysterny RER odgrywają znaczącą rolę w absorpcji i transporcie wewnątrzkomórkowym [16]. Funkcje transportowe dla RER w komórce bazalnej proponowane były dla licznych gatunków roślin okrytozalążkowych [6,7,9]. U Crassulaceae, badania cytochemiczne w wieszadelku i zarodku wykazały obecność znaczących ilości kropli lipidowych, co związane jest obecnością licznych profili SER. Gładka siateczka śródplazmatyczna uczestniczy w syntezie i sekrecji lipidów, a także zawiera enzymy i strukturalne białka zaangażowane w procesy biogenezy ciał olejowych i magazynowanie lipidów. U *Phaseolus* obecność rozległego SER związana jest także z biosyntezą giberelin [6].

W wieszadelku Crassulaceae, mikrociała są bardzo nieliczne, zwykle zlokalizowane są w pobliżu wyrostków ściennych. Większość mikrociał zaangażowana jest w przynajmniej część szlaku glikolanowego oraz cyklu glioksylanowego, co powoduje że organelle te są ważne metabolicznie. W mikrociałach roślinnych stwierdzono obecność enzymów metabolicznych [6]. U większości mikrociał obserwowano ścisły związek z cysternami szorstkiego retikulum endoplazmatycznego. Niestety na podstawie przeprowadzonych badań nie można określić charakteru chemicznego wnętrza mikrociał ani natury przemian metabolicznych w nich zachodzących.

Natomiast diktiosomy jako funkcjonalne jednostki aparatu Golgiego licznie występują w suspensorze Crassulaceae. Najczęściej położone są w pobliżu ściany komórkowej i wyrostków ściennych. W komórce roślinnej aparat Golgiego odgrywa ważną rolę w końcowych etapach glikozylacji, a także w biosyntezie złożonych polisacharydów, lipidów i

glikolipidów błony komórkowej, a także materiałów zapasowych [28]. Odpowiada również za sortowanie, pakowanie i kierowanie pęcherzyków transportujących do miejsc docelowych, którymi mogą być wakuole lityczne i gromadzące białka zapasowe oraz błona i ściana komórkowa [28]. Diktiosomy u wszystkich badanych gatunków są bardzo aktywne. O wysokiej aktywności organelli świadczy duża liczba pęcherzyków w pobliżu diktiosomów oraz ich spęczniałe brzegi cystern. Wysoką aktywność diktiosomów obserwowano również w wieszadelku *Capsella bursa-pastoris* i *Diploptaxis erucoides*. Powszechnie uznaje się, że pęcherzyki diktiosomalne mogą uczestniczyć w dostarczaniu materiału tworzącego wyrostki ścienne. Na taką funkcję diktiosomów w wieszadelku u gruboszowatych wskazuje ich położenie w pobliżu ściany komórkowej i wyrostków ściennych.

## PODSUMOWANIE

Wieszadelko w wybranych gatunkach i/lub rodzajach Crassulaceae jest dynamiczną częścią kompleksu zarodkowego, funkcjonującą w absorpcji, translokacji na krótkie dystanse i wymianie metabolitów potrzebnych we wczesnych etapach embriogenezy. Organ ten u wszystkich gatunków utrzymuje połączenia symplastyczne (plazmodesmy) nie tylko między jego komórkami a zarodkiem właściwym, ale również między bielmem, a dodatkowo tworzy połączenia apoplastyczne z tkankami załączka (haustorium i ściana transferowa). Rolę wieszadelka w transporcie substancji z tkanek załączka do zarodka właściwego potwierdza struktura komórki bazalnej, a szczególnie charakter mikropylarnej części jej ściany „ściana transferowa”. Komórka bazalna wieszadelka jest miejscem intensywnych procesów metabolicznych. Badania morfologiczne i ultrastrukturalne sugerują, że szczególnie u *Sedum* wzór rozwojowy suspensora wpływa na różnorodność struktury plazmodesm. W tym rodzaju stwierdzono występowanie dwóch rodzajów plazmodesm: proste w *S. sediforme* i *S. rupestre* (w długim jednorzędowym suspensorze) i rozgałęzione z elektronowo-gęstym materiałem (w krótkim wielorzędowym suspensorze) u *S. atratum*, *S. acre*, *S. hispanicum*, *S. album*. Natomiast wyłącznie nierozgałęzione/rozgałęzione plazmodesmy z elektronowo-gęstym materiałem opisano w rodzajach (*Jovibarba*, *Sempervivum*, *Aeonium*, *Aichryson*, *Monanthes* i *Echeveria*).

Zjawisko różnorodności plazmodesm u Crassulaceae może być adaptacją ewolucyjną regulującą przepływ substancji odżywczych do zarodka.

## PIŚMIENNICTWO

1. Dresselhaus T, Sprunck S, Wessel GM (2016) Fertilization mechanisms in flowering plants. *Curr Biol* 26: R125–R139
2. Dresselhaus T, Jürgens G (2021) Comparative embryogenesis in angiosperms: activation and patterning of embryonic cell lineages. *Annu Rev Plant Biol* 72:641–676
3. Adhikari PB, Liu X, Wu X, Zhu S, Kasahara RD (2020) Fertilization in flowering plants: an odyssey of sperm cell delivery *Plant Molecular Biology* (2020) 103:9–32
4. Shirley NJ, Aubert MK, Wilkinson LG, Bird DC, Lora J, Yang X, Tucker MR (2019) Translating auxin responses into ovules, seeds and yield: Insight from *Arabidopsis* and the cereals. *J Integr Plant Biol* 61: 310–336
5. Bleckmann A; Alter S; Dresselhaus T (2014) The beginning of a seed: regulatory mechanisms of double fertilization. *Front Plant Sci* 5: 452

6. Raghavan, V. (2006) Double fertilization: embryo and endosperm development in flowering plants. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg
7. Kawashima T; Goldberg RB (2010) The suspensor: not just suspending the embryo. Trends Plant Sci 15: 23-30
8. Jacob D, Brian J (2020) The short and intricate life of the suspensor. Physiol Plant 169: 110-121
9. Kozieradzka-Kiszkurno M (2011) Do czego roślinie potrzebne jest wieszadło? Kosmos 60 (1-2):153-160
10. Thiede J, Eggli U (2007) Crassulaceae, W: Kubitzki W (red) The families and genera of vascular plants. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, str. 83-118
11. Christenhusz MJM, Byng JW (2016) The number of known plants species in the world and its annual increase. Phytotaxa 261(3):201-217
12. Hart H't, Bleij B (2003) *Sedum*. W: Eggli U (red) Illustrated handbook of succulent plants. Crassulaceae. Springer, Berlin, s. 235-332
13. Nikulin VY, Gontcharova SB, Stephenson R, Gontcharov AA (2016) Phylogenetic relationships between *Sedum* L. and related genera (Crassulaceae) based on ITS rDNA sequence comparisons. Flora 224:218-229
14. Kozieradzka-Kiszkurno M, Plachno BJ, Bohdanowicz J (2012) New data about the suspensor of succulent angiosperms: ultrastructure and cytochemical study of the embryo-suspensor of *Sempervivum arachnoideum* L. and *Jovibarba sobolifera* (Sims) Opiz. Protoplasma 249: 613-624
15. Czaplejewicz, D; Kozieradzka-Kiszkurno M. (2013) Ultrastructural and cytochemical studies of the embryo suspensor of *Sedum reflexum* L. (Crassulaceae). Acta Biol Cracov Ser Bot 55:76-89
16. Kozieradzka-Kiszkurno M, Majcher D, Brzezicka E, Rojek J, Wróbel-Marek J, Kurczyńska E (2020) Development of embryo suspenders for five genera of Crassulaceae with special emphasis on plasmodesmata distribution and ultrastructure. Plants 9: 320
17. Kozieradzka-Kiszkurno M, Bohdanowicz J (2010) Unusual electron-dense dome associates with compound plasmodesmata in the embryo-suspensor of genus *Sedum* (Crassulaceae). Protoplasma 247:117-120
18. Kozieradzka-Kiszkurno M, Plachno BJ, Bohdanowicz J (2011) Are unusual plasmodesmata in the embryo-suspensor restricted to species from the genus *Sedum* among Crassulaceae? Flora 206: 684-690
19. Kozieradzka-Kiszkurno M, Plachno BJ (2012) Are there symplastic connections between the endosperm and embryo in some angiosperms? – A lesson from the Crassulaceae family. Protoplasma 249: 1081-1089
20. Kim I, Zambryski PC (2005). Cell-to-cell communication via plasmodesmata during *Arabidopsis* embryogenesis. Curr Opin Plant Biol 8: 593-599
21. Wróbel-Marek J, Kurczyńska E, Plachno BJ, Kozieradzka-Kiszkurno M (2017) Identification of symplasmic domains in the embryo and seed of *Sedum acre* L. (Crassulaceae). Planta 245: 491-505
22. Kozieradzka-Kiszkurno M, Bohdanowicz J (2003) *Sedum acre* embryogenesis: polyploidization in the suspensor. Acta Biol Cracov Ser Bot 45: 159-163
23. Joubès J Chevalier C (2000) Endoreduplication in higher plants, W: Inzé D (red) The Plant Cell Cycle. Dordrecht: Springer Netherlands, str. 191-201
24. Mathur J, Hülskamp M (2002) Microtubules and microfilaments in cell morphogenesis in higher plants. Curr Biol 12: R669-R676
25. Kozieradzka-Kiszkurno M, Świerczyńska J, Bohdanowicz J (2011) Embryogenesis in *Sedum acre* L.: structural and immunocytochemical aspects of suspensor development. Protoplasma 248: 775-784
26. Goode BL, Drubin DG, Barnes G (2000) Functional cooperation between the microtubule and actin cytoskeletons. Curr Opin Plant Biol 12: 63-71
27. Kozieradzka-Kiszkurno M, Plachno BJ (2013) Diversity of plastid morphology and structure along the micropyle-chalaza axis of different Crassulaceae. Flora 208:128-137
28. Hawes C, Satiat-Jeunemaitre B (2005) The plant Golgi apparatus-going with the flow. Biochim Biophys Acta 1744: 93-107

# Embryogenesis in Crassulaceae: structural aspect of suspensor development

Małgorzata Kozieradzka-Kiszkurno ✉

Department of Plant Cytology and Embryology, Faculty of Biology, University of Gdańsk, Gdańsk

✉corresponding author: malgorzata.kozieradzka-kiszkurno@ug.edu.pl

Keywords: cytology, plant embryology, plasmodesmata, suspensor, embryo

## ABSTRACT

The suspensor in the majority of angiosperms is an evolutionally conserved embryonic organ functioning as a conduit that connects ovule tissues with the embryo proper for nutrients and growth regulators flux. In this article the present knowledge on the embryo-suspensor ultra-structure and function in representatives of Crassulaceae genera: *Sedum*, *Jovibarba*, *Sempervivum*, *Aeonium*, *Monanthes*, *Aichryson* and *Echeveria*. The role of the suspensor in the transport of nutrients from the tissues of the ovule to the embryo proper is confirmed by the structure of the basal cell, especially the nature of the micropylar part of its wall, the "transfer wall". The basal suspensor cell is a site of intense metabolic activity. The special attention is paid to the plasmodesmata. The correlation between types of suspensors and structure of plasmodesmata was investigated. Final conclusions are given and the presented data summarized.

