

CELIČNA STENA RASTLIN IN NOVA SPOZNANJA O PROCESIH NASTANKA LESA

Cell wall of plants and current knowledge on wood formation processes

Izvleček: V prispevku je opisana celična stena rastlin in različni tipi celic v drevesu. Predstavljene so modelne rastline, na katerih potekajo raziskave o delovanju kambija in celični diferenciaciji. Podana so nova spoznanja o biologiji nastanka lesa.

Gljučne besede: celična stena, diferenciacija, lignifikacija, modelne rastline, nastanek lesa (ksilogeneza), sklerenhim

Abstract: In the paper, cell wall of plants and various cell types in trees are described. Model plants used for studies of cambial activity and cell differentiation are presented. Current knowledge on biology of wood formation is given.

Key words: cell wall, differentiation, lignification, model plants, wood formation (xylogenesis), sclerenchyma

CELIČNA STENA RASTLIN

Celična stena rastlin je urejena struktura, sestavljena iz različnih polisaharidov, proteinov in aromatskih spojin (Dermaš, 2007). Celične stene bi lahko poimenovali tudi zunanje ogrodje rastline, saj določajo obliko celice, končnega organa in s tem celotne morfologije rastline. Rastlini nudijo mehansko oporo in delujejo kot fizična pregrada za abiotske in biotske dejavnike. Vendar pa vloga celičnih sten ni zgolj mehanska, pač pa so vključene tudi v rast rastlin, celično diferenciacijo, medcelično komunikacijo in pretok vode. Brez celičnih sten bi bile rastline upogljive gmote protoplazme, bolj podobne sluzastim kupom kot pa veličastnim drevesom in drugemu zelenju, ki krasi naš planet (Cosgrove, 2005). Rastline vsebujejo okoli 35 različnih tipov celic, ki se razlikujejo v velikosti obliki, stenskih značilnostih in mestu v rastlini (Cosgrove, 2005). Zgradba in ureditev stenskih komponent se razlikuje med rastlinskimi vrstami, med tkivi iste vrste, med posameznimi celicami in posameznimi sloji. Celične stene rastlin so za življenje ljudi zelo pomembne, saj predstavljajo surovino v tekstilni, lesni, celulozni in papirni industriji, pa tudi kot gorivo, zato je številčnost raziskav na tem področju povsem razumljiva (Zhong in Ye, 2007).

Pretežen del celic v drevesu je obdanih s togo celično steno, sestavljeno iz celuloz, hemiceluloz, pektina, proteinov in/ali lignina. Delež teh komponent se spreminja znotraj mikropodročij celične stene posamezne celice, pa tudi med različnimi tipi celic. Sestava celičnih sten je prilagojena osnovni funkciji celice, zato imajo trahealni elementi, ki so namenjeni prevajanju vode, drugačno sestavo celične stene kot na primer celice krovnih tkiv, ki imajo zaščitno funkcijo. Debelina in sestava sten se lahko spreminja med rastjo celice, pa tudi kot odziv na neugodne abiotske in biotske dejavnike. Rastline so zmožne sintetizirati ustrezno količino različnih stenskih komponent in jih vgraditi na primerno mesto, tako da nastala celična stena ustreza nalogam, ki so specifične za vsak tip celice. Številni dejavniki, vključno s hormoni, citoskeletom, proteini, fosfoinoziditi ter oskrbo s sladkorji nukleotidov, so vpleteni v usmerjeno izločanje stenskega materiala, s čimer uravnavajo dinamiko nastajanja celične stene in njeno heterogenost (Zhong in Ye, 2007).

TIPI RASTLINSKIH CELIC GLEDE NA ZNAČILNOST CELIČNIH STEN

Celične stene lahko v splošnem delimo na primarne in sekundarne. Primarne stene so značilne za vse celice, nastanejo med citokinezo in se kasneje med celično ekspanzijo še spremenijo, sekundarne stene pa se v določenih celič-

* dr., Gozdarski inštitut Slovenije, Oddelek za prirastoslovje in gojenje gozda, Večna pot 2, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: jozica.gricar@gozdis.si

nih tipih oblikujejo po zaključku postkambijske rasti (Taiz in Zeiger, 2002). Glede na značilnosti celičnih sten lahko rastlinske celice delimo v tri osnovne tipe: parenhim, kolenhim in sklerenhim. Parenhimske in kolenhimske celice imajo samo primarno steno, sklerenhimske pa primarno in sekundarno steno (Cosgrove, 2005; Dermastia, 2007).

Stene parenhimskih celic so navadno tanke in enotne zgradbe, vendar njihova sestava med različnimi tipi parenhimskih celic zelo variira (Zhong in Ye, 2007). Parenhimske celice se razlikujejo v velikosti, obliki in nalogah, ki jih opravljajo, vsem pa je skupna fleksibilna stena in živ protoplast v zreli stopnji razvoja. Razen poudarjene oporne vloge, ki jo danes opravljata kolenhim in sklerenhim, večino nalog v drevesu opravljajo parenhimske celice (Dermastia, 2007).

Kolenhim je eno izmed specializiranih mehanskih tkiv rastlin, katerega razvoj je bil povezan s prehodom višjih rastlin na kopno. Pri majhnih rastlinah je bil namreč že turgorski tlak parenhimskih celic dovolj za oporo, medtem ko hitro rastočim in višjim zelnatim rastlinam to ni zadoščevalo (Dermastia, 2007). Kolenhimske celice imajo dodatno odebelitev primarne stene z materialom, ki vsebuje veliko pektinskih spojin. Kolenhimske stene so slojevite, kjer se izmenjujejo sloji, bogatimi s celulozo, s sloji, bogatimi s pektini. Orientacija celuloznih mikrofibril se v slojih spreminja. Stena ni enotno odebljena, temveč le mestoma in zagotavlja ustrezno mehansko trdnost celice, ne da bi se zmanjšala plastičnost tkiv, kar je nujno, saj celice med rastjo ves čas spreminjajo obliko. Plastično snov lahko raztegnemo ali stisnemo v novo obliko brez poškodb, obliko pa snov zadrži, tudi ko delovanje sile preneha. Ko celice dozori, se lahko v stene odloži tudi lignin, ki jih dodatno ojača in naredi vodovzdržne (Dermastia, 2007).

Sklerenhim je eno pomembnejših tkiv v drevesu. V splošnem ga delimo na prevodne elemente ksilema in neprevodne sklerenhimske celice. Pri slednjih nadalje ločimo sklereide in vlakna (Dermastia, 2007). Od kolenhima se razlikuje predvsem po načinu ojačitve rastline. Medtem ko je kolenhim močan zaradi plastičnosti sten, je sklerenhim elastičen. Elastična snov se vrne v prvotno položaj in obliko, ko delovanje sile preneha (Dermastia, 2007). Sklerenhimske celice ojačujejo popolnoma razvite organe. Sklereide in vlakna imajo v splošnem enotno odebeljene sekundarne stene, razen na območju pikenj, kjer sekundarna debelitev izostane. Sekundarna debelitev v trahealnih elementih ima navadno določen vzorec; npr. krožen, spiralen, mrežast, lestvičast (Zhong in Ye, 2007).

Les (sekundarni ksilem) je zgrajen pretežno iz sklerenhimskih celic, zato je razumevanje njihovega razvoja z vidika ksilogeneze ključno. V nadaljevanju prispevka je opisan nastanek sklerenhimskih celic lesa.

OMEJITVE PRI RAZISKAVAH NASTANKA LESA

Znanstveniki so se že več kot pol stoletja nazaj zavedali pomena razumevanja nastanka lesa (npr. Bailey, 1952). V zadnjih letih je mogoče opaziti povečanje števila objav in posledično novih spoznanj na področju razvoja višjih rastlin, vendarle pa pretežen del raziskav poteka na primarnih meristemih poganjkov ali korenin ter na celicah in tkivih primarnega rastlinskega telesa (Chaffey, 2002). Tako je znanje o ksilogenezi, kambiju in sekundarnem vaskularnem sistemu še vedno precej skromno. V želji, da bi se vrzeli zapolnile, poteka danes veliko integralnih študij, kjer raziskovalci različnih znanstvenih disciplin (biologi, gozdarji, lesarji, biokemiki, matematiki) združujejo znanje in izkušnje ter proučujejo sekundarni vaskularni sistem na celičnem in molekularnem nivoju (Chaffey, 2002).

Sekundarno rastlinsko telo nastane z delovanjem sekundarnih lateralnih meristemov in se začne v lesnatih rastlinah oblikovati po prvem letu rasti. Sestavljeno je iz sekundarnega floema, prevodnega kambija in sekundarnega ksilema, ki skupaj tvorijo sekundarni vaskularni sistem (Chaffey, 2002). Les predstavlja pretežni delež debelinske rasti dreves in je za ljudi pomemben predvsem za gorivo, pridobivanje vlaken in gradbeno/pohištveno industrijo. Z naraščajočo porabo lesa se je povečala tudi želja po njegovi učinkovitejši izrabi, ki pa zahteva tudi boljše razumevanje celične biologije nastanka lesa. Te raziskave pokrivajo področje genskega inženiringa lesa (izboljšanje metod za prenos genov) ter celične biologije (razumevanje razvojnih procesov nastanka lesa). Chaffey (2002) navaja kot glavne razloge za relativno skromen napredek na področju ksilogeneze: raziskave nastanka lesa so zelo zapletene, saj delo poteka na počasi rastočih (velikih) drevesih, za katere je značilna velika variabilnost v horizontalni in vertikalni smeri, kakor tudi med drevesi na istem rastišču in različnimi drevesnimi vrstami. Sekundarni vaskularni sistem je kompleksen in sestavljen iz različnih tipov celic, ki so aksialno ali radialno usmerjene, nekatere med njimi pa se lahko preoblikujejo iz enega tipa v drugega. Delovanje kambija je periodično, proces nastanka lesa pa vključuje številne razvojne faze (od delitev do ojedritve). Razvoju ene celice je nemogoče slediti, s ponavljajočim vzorčenjem tkiva nastajajoče branike na različnih mestih drevesa v kratkih časovnih intervalih pa v analize zajamemo še prostorsko komponento, saj se širina branike po obodu drevesa spreminja. Les je nehomogen material, vendar pa je uporaba naprednih tehnik odpravila kar nekaj ovir. Težave so se pojavljale tudi pri izbiri primernih modelnih vrst, na srečo pa sekundarna rast ni omejena le na lesnate rastline (Chaffey, 2002).

MODELNE RASTLINE

Izbrane modelne vrste omogočajo usmerjene raziskave rastlin, kar zagotavlja hiter in usklajen napredek na tem

področju. Sprva je bilo veliko raziskav o ksilogenezi in vitro opravljenih na cinijah (*Zinnia elegans*) iz družine nebinovk, vendar pa rastlina ni najprimernejša za procese nastanka lesa, ki potekajo v drevesu. Druga modelna rastlina je navadni repnjakovec (*Arabidopsis thaliana*) iz družine križnic, sorodnik brokolija in cvetače (slika 1). Ima kratek življenjski cikel in se ga brez težav goji v laboratoriju. Na različne strese se odziva podobno kot mnoge poljščine. V primerjavi z drugimi rastlinami ima majhen genom (120 milijonov baznih parov – Mb), ki so mu ga v celoti določili in o tem poročali v reviji Nature leta 2000 (Dennis in Suggidge, 2000; http://novebiologije.wikia.com/wiki/Genomi_rastlin). Na 5 kromosomih so zapisi za okrog 25.000 genov. Za primerjavo: genom koruze je velik 2500 Mb in pšenice 16000 Mb. Leta 1777 je angleški botanik in entomolog William Curtis v svoji knjigi Flora Londinensis zapisal, da je repnjakovec rastlina brez posebnih lastnosti in uporabe, danes pa je zaradi svojega genoma ena izmed pomembnejših na svetu (Endersby, 2007). Na repnjakovcu je mogoče opraviti preliminarne raziskave nastanka lesa in jih nato potrditi na drevesih. Rastlina razvije kambij, ki lahko živi in deluje nekaj mesecev ter v tem času proizvede znatno količino lesa. Zgradba lesa in kambija je morfološko in ultrastrukturno podobna kot pri topolu. V tem smislu je mogoče repnjakovec obravnavati kot »miniaturno drevo« in ga uporabiti za osnovna vprašanja o celični biologiji sekundarnega vaskularnega sistema (zlasti za nastanek lesa). Vendarle pa ima uporaba repnjakovca kot modelne rastline za raziskave ksilogeneze omejitve, saj ne obsega vseh pomembnih značilnosti sekundarnega vaskularnega sistema dreves, kot na primer produkcije ranega in kasnega lesa, procesa ojedritve ali periodičnega delovanja kambija (Chaffey, 2002).

Med lesnatimi rastlinami se je kot model najprej začel uporabljati topol (rod *Populus*) zaradi majhnega genoma, ki je primerljiv z repnjakovcem. Topoli, zlasti nekateri hibridi, so zelo primerni za tovrstne raziskave tudi zato, ker



Slika 1. Navadni repnjakovec (www2.arnes.si).

rastejo zelo hitro in je znana njihova anatomska zgradba lesa. V reviji Science je jeseni 2006 izšel članek (Tuskan in sod., 2006), v katerem raziskovalci iz 39 sodelujočih skupin poročajo o osnovnih podatkih o genomu prvega drevesa, topola (*Populus trichocarpa*). To je vrsta topola, ki uspeva na zahodu Severne Amerike in je zaradi hitre rasti zelo pomemben za lesno-predelovalno industrijo. Nukleotidno zaporedje so določili s hitro (t.i. »shotgun«) metodo, kot je to danes običajno tudi pri določanju drugih genomov. Genom so prebrali po kosih, ki so se prekrivali, tako da so v povprečju vsako bazo določili 7,5-krat. Celoten genom je velik okrog 500 milijonov baznih parov, kar je približno 4-krat več kot pri repnjakovcu, a dosti manj kot nekatere druge višje rastline. Skupaj ima topol 19 kromosomov (http://novebiologije.wikia.com/wiki/Genom_topola).

Zaradi dolgega življenjskega cikla dreves je veliko raziskav opravljenih na juvenilnem lesu, zlasti pri transgenih drevesih. Vendar pa se mehanizem nastajanja juvenilnega lesa razlikuje od adultnega lesa, zato ugotovitev ni mogoče neposredno aplicirati na slednjega. Navkljub številnim prednostim topola kot modelne lesnate rastline pa se je potrebno zavedati, da je to le eden izmed difuzno poroznih listavcev severne poloble, za katerega je značilen neetažni kambij. Za venčasto porozne vrste, iglavci, tropske vrste oz. vrste z etažnim kambijem so ti rezultati le deloma uporabni, zato so se raziskave razširile tudi na druge vrste: evkalipt, oreh, robinijo in bor (Chaffey, 2002).

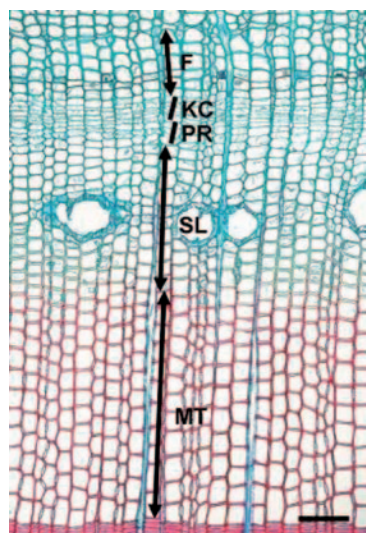
KSILOGENEZA

Proces nastanka sekundarnega ksilema (lesa) oz. ksilogeneza zajema celične delitve v kambiju in diferenciacijo, kjer se tankostene kambijeve celice razvijejo v funkcionalne elemente z lignificirano sekundarno celično steno (Samuels in sod., 2006). Diferenciacijo pri trahealnih elementih in vlaknih razdelimo na več zaporednih faz, ki so med seboj povezane: determinacijo, postkambijsko rast celic, biosintezo slojevite sekundarne celične stene, lignifikacijo ter programirano celično smrt (slika 2). V enem radialnem nizu lahko sledimo vsem različnim stopnjam razvoja celice (slika 3). Ksilogeneza vodi do specializacije celic glede na njihovo kemijsko zgradbo, morfološke značilnosti in funkcije. Iz kambijeve celice nastanejo različni tipi ksilemskih celic, katerih edinstvene lastnosti in tridimenzionalna zgradba določajo strukturo in s tem lastnosti lesa. Delitve v kambiju in postkambijska rast določata širino letnega ksilemskega prirastka, odlaganje sekundarne celične stene (in lignifikacija) pa akumulacijo biomase v celične stene ksilemskih in floemskih celic (letni prirastek biomase) (Larson, 1994; Plomion in sod., 2001).

Eden prvih ključnih korakov za razumevanje procesov nastanka celične stene je molekularna in biokemijska raz-



Slika 2. Shematski prikaz oblikovanja traheide iz kambijeve celice.



Slika 3. Lesne celice v različnih stopnjah razvoja pri navadni smreki: celice v postkambijski rasti (PR), odlaganje sekundarne celične stene in lignifikacija (SL) ter zrele traheide (MT). KC – kambij, F – nastajajoča branika sekundarnega floema, daljica – 100 μ m.

člemba genov, ki so vključeni v biosintezo posamezne komponente celične stene. V zadnjem desetletju lahko zasledimo silen napredek v identifikaciji in opredelitvi genov, ki so vključeni v biosintezo stenskih polisaharidov (celuloze, glukomanana, ksiloglukana, ksilana in pektina) in lignina (Cosgrove, 2005; Zhong in Ye, 2007; Mellerowicz in Sundberg, 2008; Vanholme et al., 2008).

DIFERENCIACIJA

Ko se celica preneha deliti, je obdana s primarno celično steno, ki je zelo tanka in raztegljiva. Prične se specifičen razvoj celice (t.i. diferenciacija), kjer se usposobi za opravljanje določenih nalog (Wardrop, 1965; Plomion in sod., 2001). Diferenciacija je proces specializacije celic, v katerem nastanejo različni tipi celic z različnimi strukturnimi in funkcijskimi lastnostmi in obsega številne medsebojno

povezane biokemijske, fiziološke in morfološke procese (Torelli, 1990, 1998). Ko je proces celične diferenciacije zaključen, se celica strukturno in/ali biokemijsko loči od izvorne kambijeve celice (Savidge, 1996).

Prva stopnja je determinacija, ki določi smer razvoja (tip) celice. Determinacijo lahko definiramo kot izpolnitev pogojev, ki omogočajo prehod iz enega celularnega stanja v drugega. Zgodijo se številne biokemijske in genetske spremembe, ki so potrebne za takšen prehod. V nadaljevanju so možnosti celice za nadaljnji razvoj omejene, saj lahko

iz nje nastane le en tip celice (Chaffey, 1999, 2002). Različen razvoj prvotno podobnih celic je rezultat selektivne genske ekspresije. V določeni celici se izrazijo in prepisujejo mRNA ter nato prevedejo v proteine le izbrani geni. Nastali specifični proteini določajo identiteto celice (Torelli, 2000).

Med diferenciacijo derivatov kambijeve celice se vrši proces celične morfogeneze, v katerega je vključen mikrotubularni citoskelet (Chaffey in sod., 1997). Citoskelet je zbirka raznovrstnih proteinov, ki se nahajajo v citoplazmi vseh evkariontskih celic in so v rastlinskih celicah zastopane predvsem v dveh oblikah; kot mikrotubuli in mikrofilamenti (Chaffey, 1999). Mikrotubuli so zgrajeni iz enakih količin molekul beljakovin α - in β -tubulina. V rastočih celicah imajo mikrotubuli vlogo pri usmeritvi celuloznih mikrofilamentov razvijajočih se celičnih sten. V manjšem obsegu so vključeni tudi v celične delitve (Farrar in Evert, 1997; Chaffey, 1999). Prerazporeditev mikrotubulov kaže na pričetek determinacije kambijevega derivatov (Chaffey in sod., 1997). Trakovne in fuziformne celice kambijeve cone imajo mrežasto razporejeni mikrotubularni citoskelet, s pričetkom diferenciacije kambijeve celice v sekundarni floem ali ksilemska vlakna pa se naključno, mrežasto razvrščeni kortikalni mikrotubuli prerazporedijo helikalno (Chaffey in sod., 1997). Kortikalni mikrotubuli so v floemskih celicah ter ksilemskih vlaknih znatno daljši kot v fuziformnih kambijeve celicah.

Mikrofilamenti so navadno prisotni v svežnjih in zgrajeni predvsem iz molekul beljakovin aktina (Pickering, 1996). Dolgi so lahko več mikronov in pogosto so enako orientirani in nameščeni kot mikrotubuli in lahko sodelujejo pri ureditvi mikrotubulov s križnim povezovanjem z njimi (Chaffey, 1999). Mikrofilamenti naj bi vplivali na spremembo orientacije kortikalnih mikrotubulov (Lachaud in sod., 1999).

RAST CELICE

Prvi znak diferenciacije je razločna ekspanzija kambijevega derivatov, ki nastane zaradi povečanja volumna vakuol brez kakršnih koli očitnih sprememb v strukturi celice

(Larson, 1994). V fazi površinske rasti lahko celica nekajkrat poveča svoje dimenzije. Smer, v kateri je rast najinenzivnejša, je odvisna od tipa celice. Premer povečajo aksialne traheide ranega lesa iglavcev in še posebej trahejni členi ranega lesa venčasto poroznih listavcev (Torelli, 1998). Površinska rast pri traheidah gre v glavnem na račun povečanja radialnih dimenzij, medtem ko se trahejni členi najprej povečajo v radialni, nato pa še tangencialni smeri. Tangencialni premer trahejnih členov je lahko do 50-krat večji od tangencialnega premera fuziformnih kambijevih celic. Dolžina trahejnih členov je pri evolucijsko primitivnejših vrstah nekoliko večja, pri naprednejših pa celo nekoliko krajša od fuziformnih inicialk. V splošnem je podaljševanje aksialnih traheid pri iglavcih z dolgimi fuziformnimi celicami majhna in ne preseže 20 %, pri naprednih vrstah kritosemenk s kratkimi fuziformnimi celicami pa je lahko tudi preko 400 % (Torelli, 1998; Čufar 2006).

Raztezanje sten rastlinskih celic poteka v procesu nadzorovanega polimerskega lezenja. Encimi rahljajo celično steno in ji tako omogočajo raztezanje, istočasno pa se v celično steno integrirajo novi polimeri, da stena ne postane pretanka in šibka (Cosgrove, 2005). V tem počasnem, časovno odvisnem in nepovratnem raztezanju se celulozne mikrofibrile in polisaharidni matriks znotraj stene počasi premikajo in s tem povečujejo svojo površino. Razporeditev celulozних mikrofibril določa, kako bo celica rasla. Pektini imajo pomembno vlogo pri nadzoru razteznosti celične stene (Plomion in sod., 2001). Med razvojem celične stene so v njej prisotni različni proteini, ki imajo pomembno vlogo pri sestavi in morfologiji celičnih sten ksilemskih elementov (Plomion in sod., 2001). Ekspanzini so proteini, ki rahljajo vodikove vezi med polisaharidi celične stene (Cosgrove, 2005). V celicah, ki se podaljšujejo, so mikrotubuli postavljeni pravokotno na smer širjenja celice, ko se podaljševanje ustavi, pa se mikrotubuli preusmerijo v podolžno smer (Dermastia, 2007). Na mestih bodočih pikenj se oblikujejo številna krožna območja brez mikrotubulov (Chaffey, 2002).

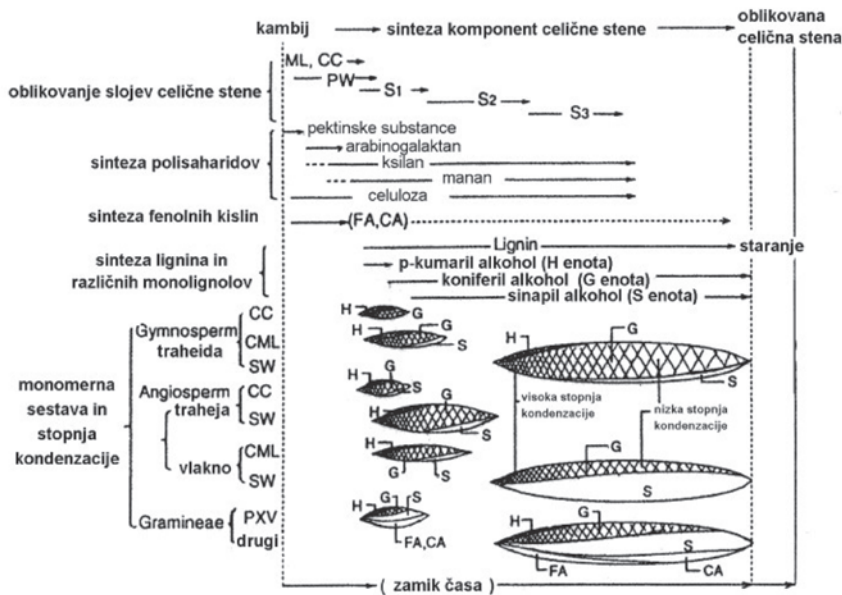
Ker so celice tesno povezane med seboj, prosti premiki celic niso mogoči, zato je rastlinska morfogeneza omejena na lokalna območja, kjer potekajo celične delitve in selektivno povečanje celic (Cosgrove, 2005). V rastočih celicah je stena značilno tanka (od 0,1 μm do 1 μm) in fleksibilna, sestavljena večinoma iz polisaharidov in v manjši meri strukturnih proteinov. Pod svetlobnim mikroskopom je videti kot nežna koprena, opazovanja pod elektronskim mikroskopom pa razkrijejo njeno vlaknasto strukturo. Navkljub tankosti pa stena oblikuje močno omrežje, ki deluje podobno kot steznik, saj stiska in daje obliko protoplastu, ki ga obdaja (Cosgrove, 2005).

BIOSINTEZA SEKUNDARNE CELIČNE STENE

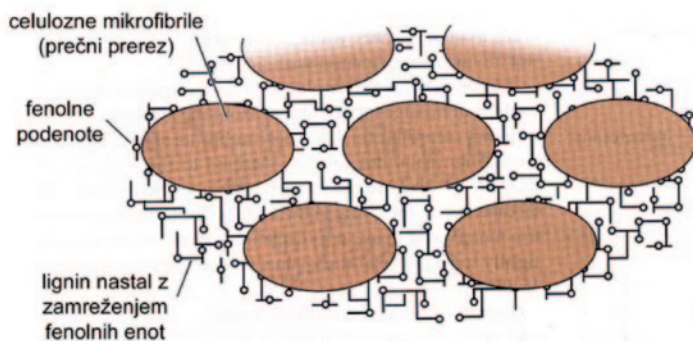
Ko je primarna celična stena oblikovana, začne nastajati masivna, toga in večslojna sekundarna celična stena (sloji S1, S2 in S3) (slika 4). Sintezo aktivnega širjenja pektinske bogate primarne celične stene zamenja sinteza sekundarne celične stene, ki sestoji pretežno iz celulozних in hemicelulozних slojev, ki se v naslednji stopnji lignificirajo. Proces je voden z usklajeno ekspresijo številnih genov specifično vključenih v biosintezo ter zgradbo štirih glavnih komponent celične stene: polisaharidov (celuloza in hemiceluloze), lignina, proteinov in drugih topnih (stilbeni, flavonoidi, tanini, terpeni) in netopnih (pektini) komponent celične stene (Plomion in sod., 2001). V tej fazi v celični steni poteka tudi oblikovanje obokanih pikenj. Biosinteza hemiceluloz poteka v Golgijevem aparatu v dveh korakih: sinteza glavne verige s polisaharidno sintazo in nato dodajanje stranskih verig v reakcijah, ki jih katalizirajo različne glikoziltransferaze (Plomion in sod., 2001). Polisaharidi prehajajo v celično steno z eksocitozo drobnih veziklov (Torelli, 2000). Celulozne mikrofibrile se sintetizirajo v plazmalemi v posebnih terminalnih proteinskih kompleksih – rozetah. Na njih se nahajajo enote celuloze sintaze, ki so vključene v biosintezo celuloze, rastoča celulozna veriga pa se izloča skozi membrano prek por (Torelli, 2000; Plomion in sod., 2001). Sinteza strukturnih stenskih proteinov in encimov za preoblikovanje stene poteka na zrnatem endoplazemskem retiklu (Dermastia, 2007). Mikrotubuli naj bi upravljali gibanje celulozno-sintaznega kompleksa v plazemski membrani (Chaffey, 1999, 2002). Najnovejše študije kažejo, da so v nastajanje celulozних mikrofibril primarne in sekundarne celične stene vključeni različni geni, saj se okolje, v katerem se sintetizirajo, razlikuje. Primarne stene so namreč bogate s pektinom in nastajajo med rastjo celice, sekundarne stene vsebujejo zelo malo pektina, celulozne mikrofibrile pa so v vseh treh slojih urejene (Zhong in Ye, 2007).

LIGNIFIKACIJA

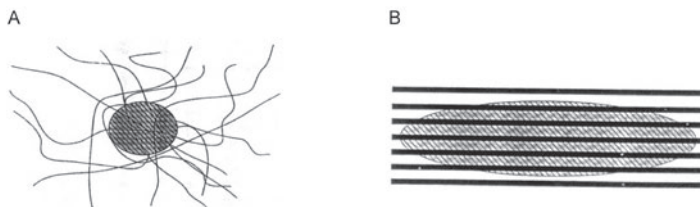
Sinteza lignina je bil eden ključnih dogodkov v evoluciji kopenskih rastlin, saj jim zagotavlja mehansko jakost in odpornost proti razkroju, ki sta bili ključni za prehod z vodnega v kopensko okolje (Torelli, 2000; Dermastia, 2007). Lignifikacija oziroma olesenitev celičnih sten je pomembna biokemična ter morfološka sprememba v rastlinski celici med diferenciacijo. Proces lignifikacije zajema biosintezo monolignolov, njihov transport v celično steno ter polimerizacijo fenil propanskih molekul v končno makromolekulo lignina (Hatfield in Vermerris, 2001). V energijsko zelo potratnem biosinteznem procesu nastane heterogeni ligninski polimer z visokim razmerjem C/H in C/O, kar se izraža v njegovi visoki kalorični vrednosti (Boudet, 2000). Lignin se odloži znotraj ogljiko-hidratnega matriksa



Slika 4. Shema nastanka celične stene. ML – srednja lamela, P – primarna stena, S1, S2, S3 – sloji sekundarne celične stene, CC – celični vogali, CML – združena srednja lamela, SW – sekundarna stena, H – p-hidroksifenilpropane enote, G – gvajacilpropane enote, S – siringilpropane enote, FA – ferulska kislina, CA – p-kumaridna kislina, PVX – traheja protoksilema (Terashima, 2000).



Slika 5. Shematski prikaz biosinteze lignina v celični steni (Taiz in Zeiger, 2002).



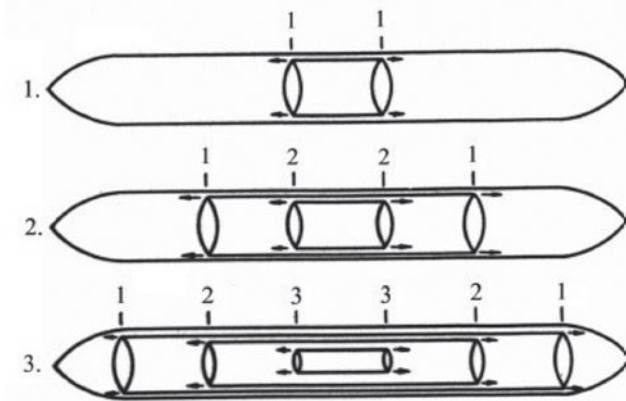
Slika 6. Shematski prikaz odlaganja lignina v primarni steni in srednji lameli (A) ter v slojih sekundarne celične stene, kjer so celulozne mikrofibrile usmerjene (B) (Donaldson, 1994).

celične stene, s čimer zapolni interlamelarne prazne prostore in se istočasto poveže z neceluloznimi polisaharidi s kovalentnimi vezmi (slika 5) (Terashima, 2000; Donaldson, 2001).

Lignin se brez navzočnosti ogljikovodikov nikoli ne oblikuje (Ruel in sod., 1999; Terashima, 2000). Polisaharidni matriks vpliva na proces lignifikacije (slika 6) (Donaldson, 2001). Biosinteza lignina se prične v številnih posamičnih mestih, ki so najbolj oddaljena od plazemske membrane v diferencirajoči se celični steni. Proces lignifikacije se nadaljuje z dodajanjem ligninskih monomerov rastočim ligninskim delcem, dokler se ne združijo (Donaldson, 1994). Odlaganje lignina v srednji lameli in primarni steni traheid poteka v obliki razvejanega omrežja medsebojno povezanih delcev brez kakršne koli orientacije (slika 6). V sloju S1 in S2 sekundarne stene se lignin odlaga hitreje

vzdolž celuloznih mikrofibril kot pa prečno na njih. Ob tem nastajo podaljšane krpe lignina, ki so lahko med seboj tudi povezane. Celulozne mikrofibrile mehansko omejujejo odlaganje lignina v prečni smeri (Donaldson, 1994).

Lignifikacija celične stene poteka postopoma. Prostorsko in časovno gledano se lignifikacija ksilemskih elementov vedno prične v celičnih vogalih in srednji lameli, nato pa v primarni celični steni takoj na začetku oblikovanja zunanega S1 sloja sekundarne celične stene. Odložijo se predvsem p-hidroksifenilne enote, ki vsebujejo manjše količine metoksilnih skupin (Ruel in sod., 1999; Terashima, 2000). Sledi lignifikacija zunanega S1 sloja sekundarne celične stene, nato se postopoma širi po sekundarni celični steni v centripetalni smeri proti lumnu. Pri iglavcih se tedaj odložijo predvsem gvajacilne enote. Med nastajanjem sekundarne celične stene odlaganje lignina poteka počasneje. Siringilne enote se v zadnji fazi lignifikacije pojavijo v manjših količinah ob lumnu sekundarne celične stene (Terashima, 2000). Največ lignina se odloži po oblikovanju sloja S3 sekundarne celične stene.



Slika 7. Shematski prikaz oblikovanja slojev sekundarne celične stene v diferencirajoči celici. Faze diferenciacije so med seboj povezane. Debelitev celične stene (1) se v osrednjem delu celice prične, preden se rast celice v vršičkih ustavi. Lignifikacija se začne, preden je celična stena dokončno formirana (Wardrop, 1965).

Pričakovati je, da so starejše celice, ki so bolj oddaljene od kambija, bolj lignificirane, vendar to ni nujno. Študije kažejo, da vsaka celica individualno nadzoruje proces lignifikacije. Poleg tega se stopnja lignifikacije celične stene razlikuje tudi po dolžini traheide (Donaldson, 1992). Diferenciacija sekundarne stene se najprej začne v osrednjem delu celice, kjer se podaljševanje konča prej kot v celičnih vršičkih, posledično se osrednji deli tudi prej lignificirajo (slika 7) (Wardrop, 1965; Torelli, 1998).

PROGRAMIRANA CELIČNA SMRT

Ko je celična stena popolnoma oblikovana, v prevodnih ksilemskih elementih sledi programirana celična smrt z avtolizo citoplazme (Wardrop, 1965; Plomion in sod., 2001). Celice tako postanejo prazne cevi in so pripravljene za prevajalno funkcijo v drevesu. Osrednji dogodek smrti je nabrekanje vakuole, ki mu sledi porušitev tonoplasta in nato še hitra degradacija jedra. Medtem ko so starejše raziskave domnevale, da je tok kalcija sprožilo, ki povzroči kolaps vakuole, danes kaže, da je vpleten bolj kompleksen signalni mehanizem, ki vključuje dušikov oksid in ciklični gvanozinmonofosfat. Ob porušitvi tonoplasta se iz vakuole sprostijo nakopičeni hidrolitični encimi (npr. DNaze, RNaze, proteaze), ki razgradijo celično vsebino (organele in citoplazmo), celična stena pa ostane nepoškodovana (Plomion in sod., 2001; Samuels in sod., 2006).

ZAHVALA

Prispevek je bil pripravljen v okviru raziskovalnega programa Gozdna biologija, ekologija in tehnologija P4-0107.

VIRI

1. Bailey I.W. (1952) Biological processes in the formation of wood. *Science*, 115: 255-259
2. Boudet A.M. (2000) Lignins and lignification: selected issues. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38: 81-96
3. Chaffey N., Barlow P., Barnett J. (1997) Cortical microtubules rearrange during differentiation of vascular cambial derivatives, microfilaments do not. *Trees*, 11: 333-341
4. Chaffey N. (1999) Cambium: old challenges – new opportunities. *Trees*, 13: 138-151
5. Chaffey N. (2002) Why is there so little research into the cell biology of the secondary vascular system of trees? *New Phytologist*, 153: 213-223
6. Cosgrove D.J. (2005) Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews, Molecular Cell Biology*, 6: 850-861
7. Čufar K. (2006) Anatomija lesa. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, 185
8. Dennis C., Suggidge C. (2000) *A. thaliana* genome. *Nature*, 408: 491
9. Dermastia M. (2007) Pogled v rastline. Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana, 237
10. Donaldson L.A. (1992) Lignin distribution during latewood formation in *Pinus radiata*. *IAWA Bulletin*, 12: 381-387
11. Donaldson L.A. (1994) Mechanical constraints on lignin deposition during lignification. *Wood Science and Technology*, 28: 111-118
12. Donaldson L.A. (2001) Lignification and lignin topochemistry – an ultrastructural view. *Phytochemistry*, 57: 859-873
13. Endersby J.A. (2007) Guinea pig's history of biology. Heinemann (Random House), London, 512
14. Farrar J.J., Evert R.F. (1997) Seasonal changes in the ultrastructure of the vascular cambium of *Robinia pseudoacacia*. *Trees*, 11: 191-202
15. http://novebiologije.wikia.com/wiki/Genomi_rastlin
16. http://novebiologije.wikia.com/wiki/Genom_topola
17. http://www2.arnes.si/~bzwitt/flora/arabidopsis_thaliana.html
18. Hatfield R., Vermerris W. (2001) Lignin formation in plants. The dilemma of linkage specificity. *Plant Physiology*, 126: 1351-1357
19. Lachaud S., Catesson A.M., Bonnemain J.L. (1999) Structure and functions of the vascular cambium. *Life Sciences*, 322: 633-650
20. Larson P.R. (1994) The vascular cambium. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 725
21. Mellerowicz E.J., Sundberg B. (2008) Wood cell walls: biosynthesis, developmental dynamics and their implications for wood properties. *Current Opinion in Plant Biology*, 11:293-300
22. Pickering W.R. (1996) Biologija. Shematski pregledi. Tehniška založba Slovenije, 128
23. Plomion C., Leprovost G., Stokes A. (2001) Wood formation in trees. *Plant Physiology*, 127: 1513-1523
24. Ruel K., Burlat V., Joseleau J.-P. (1999) Relationship between ultrastructural topochemistry of lignin and wood properties. *IAWA Journal*, 20: 203-211
25. Samuels A.L., Kaneda M., Rensing K.H. (2006) The cell biology of wood formation: from cambial divisions to mature secondary xylem. *Canadian Journal of Forest Research*, 36: 631-639
26. Savidge R.A. (1996) Xylogenesis, genetic and environmental regulation – a review. *IAWA Journal*, 17: 269-310
27. Taiz L., Zeiger E. (2002) *Plant physiology*. Third edition. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts, 690

28. Terashima N. (2000) Formation and ultrastructure of lignified plant cell walls. V: New horizons in wood anatomy. Proceedings of the 4th. Pacific Regional Wood Anatomy Conference. Kim YS (Ur.), Chonnam National University Press, Kwangju, Korea South, 169-180
29. Torelli N. (1990) Les in skorja. Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Ljubljana, 70
30. Torelli N. (1998) Zunajkambijska rast v lesu dvokaličnic. Les, 50: 293-298
31. Torelli N. (2000) Ksilogeneza. Les, 52: 325-335
32. Tuskan G.A., DiFazio S., Jansson S., Bohlmann J., Grigoriev I., Hellsten U., Putnam N., Ralph S., Rombauts S., Salamov A., Schein J., Sterck L., Aerts A., Bhalerao R.R., Bhalerao R.P., Blautz D., Boerjan W., Brun A., Brunner A., Busov V., Campbell M., Carlson J., Chalot M., Chapman J., Chen G.-L., Cooper D., Coutinho P.M., Couturier J., Covert S., Cronk Q., Cunningham R., Davis J., Degroove S., Déjardin A., dePamphilis C., Detter J., Dirks B., Dubchak I., Duplessis S., Ehlting J., Ellis B., Gendler K., Goodstein D., Gribskov M., Grimwood J., Groover A., Gunter L., Hamberger B., Heinze B., Helariutta Y., Henrissat B., Holligan D., Holt R., Huang W., Islam-Faridi N., Jones S., Jones-Rhoades M., Jorgensen R., Joshi C., Kangasjärvi J., Karlsson J., Kelleher C., Kirkpatrick R., Kirst M., Kohler A., Kalluri U., Larimer F., Leebens-Mack J., Leplé J.-C., Locascio P., Lou Y., Lucas S., Martin F., Montanini B., Napoli C., Nelson D. R., Nelson, K. Nieminen, O. Nilsson, V. Pereda, G. Peter, R. Philippe, G. Pilate, A. Poliakov, J. Razumovskaya C., Richardson P., Rinaldi C., Ritland K., Rouzé P., Ryaboy D., Schmutz J., Schrader J., Segerman B., Shin H., Siddiqui A., Sterky F., Terry A., Tsai C.-J., Uberbacher E., Unneberg P., Vahala J., Wall K., Wessler S., Yang G., Yin T., Douglas C., Marra M., Sandberg G., Van de Peer Y., Rokhsar D. (2006) The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). Science, 313: 1596-1604, DOI: 10.1126/science.1128691
33. Vanholme R., Morreel K., Ralph J., Boerjan W. (2008) Lignin engineering. Current Opinion in Plant Biology, 11:1-8
34. Wardrop A. B. (1965) Cellular differentiation in xylem. V: Cellular ultrastructure of woody plants. Proceedings of the Advanced Science Seminar Pinebrook Conference Center. Cote WA (Ur.), Syracuse University Press, New York, 61-97
35. Zhong R., Ye Z.-H. (2007) Regulation of cell wall biosynthesis. Current Opinion in Plant Biology, 10:564-572

PROF. DR. ROKO ŽARNIČ – ČLAN UREDNIŠKEGA ODBORA REVJE LES PREDLAGAN ZA MINISTRA ZA OKOLJE IN PROSTOR



Kandidat za Ministra za okolje in prostor RS prof. dr. Roko Žarnič

Bralci revije Les nismo bili presenečeni, ko smo iz medijev izvedeli, da je resni kandidat za okoljskega ministra prof. dr. Roko Žarnič. Kandidata poznamo kot dobrega strokovnjaka za probleme okolja, s katerim se sooča svet in tudi Slovenija. Je ustanovitelj in vodja Slovenske gradbene tehnološke platforme (SGTP) - ene najuspešnejših platform v Sloveniji ter vodja 4. razvojne skupina za okolje in gradbeništvo pri Službi vlade RS za razvoj in evropske zadeve. Kot vodja SGTP je dobro sodeloval s Slovensko gozdno lesno tehnološko platformo (SGLTP) in je velik zagovornik vsesplošne rabe lesa.

Pred dvema letoma, ko je postal član uredniškega odbora revije Les, je veliko prispeval k vsebinski prenovi revije. Njegovi konstruktivni predlogi so odločilno pomagali za ponovno uveljavitev revije Les. V zadnjih letih je bil v reviji Les soavtor nekaj znanstvenih člankov s področja lesne gradnje in potresne varnosti.

Prof. Žarniču želim uspešno kandidaturo, kot ministru za okolje in prostor pa uspešno delo ter da bi Slovenijo popeljal v do ljudi in okolja prijazno deželo.

prof. dr. Franc Pohleven