

DANUTA ZIELIŃSKA

MECHANIZM RUCHU KOMÓREK SZPARKOWYCH W ŚWIETLE DAWNYCH I NOWYCH HIPOTEZ

Wstęp

Szparki pokrywają gęstym sitem mikroskopijnych otworów dolną, a często także górną powierzchnię liści. Wielkość ich wynosi 15—35 μ a liczba występowania od 5000—10 000 na 1 cm². Stanowią one główne drogi dla wszelkiej dyfuzji i wymiany gazów między komórkami tkanek liści a środowiskiem. Zmiany objętości komórek szparkowych powodują zamknięcie lub otwarcie szparek, co decyduje o intensywności procesu transpiracji. W wyniku dyfuzji pary wodnej przez komórki szparkowe, roślina traci aż 90% ogólnej ilości wydalonej wody. Van den Honert (1948) obliczył, że szparki już przy otworze rzędu 50% maksymalnego ich rozwarcia stanowią efektywne regulatory procesu transpiracji. Szparki jako główne drogi wymiany gazów spełniają także zasadniczą rolę w procesie fotosyntezy. Intensywność tego procesu w dużej mierze uzależniona jest od rozwarcia otworu szparkowego, a szczególnie wtedy, gdy CO₂ jest czynnikiem ograniczającym (Gaastra 1960). Dlatego też funkcja komórek szparkowych jest tak bardzo ważna, a mechanizm ich ruchu od dawna budzi szerokie zainteresowanie. Dowodem tego jest bogata literatura dotycząca tego zagadnienia. Liczne hipotezy, które miały na celu wyjaśnienie mechanizmu ruchu szparek są kontrowersyjne i często nie znajdują potwierdzenia w świetle najnowszych badań. Dlatego też wokół tego problemu rozwinęła się szeroka dyskusja, która zachęca do dalszych poszukiwań. Ostatnie prace i badania eksperymentalne stawiają sobie za cel określenie reakcji chemicznych, składających się na proces dynamiki ruchu komórek szparkowych. Próby zastosowania odpowiednich inhibitorów blokujących pewne reakcje tego procesu, zmierzają do efektywnej kontroli procesu transpiracji (Zelitch 1961), bez uszczerbku dla procesu fotosyntezy (Zelitch 1967). Stanowiłoby to duże osiągnięcie na drodze kontrolowania i ekonomicznego wykorzystania zapasu wody glebowej, przy jednoczesnym utrzymaniu wysokiej wydajności plonów.

Celem tego artykułu będzie przegląd hipotez zmierzających do wyjaśnienia mechanizmu ruchu komórek szparkowych, Zawierać on będzie nowe fakty i odkrycia dokonane przy pomocy najnowszej techniki badań, które w bardziej przekonujący sposób prowadzą do wyjaśnienia tego zagadnienia.

Cechy komórek szparkowych

Charakterystyczną cechą komórek szparkowych jest obecność chloroplastów zawierających zarówno chlorofil a, chlorofil b, oraz barwniki karotenoidowe (Yem n, Willis 1954a). Zasadniczo komórki szparkowe otwierają się na świetle, a zamykają się w ciemności. Stwierdzono, że spektrum świetlne warunkujące otwieranie szparek mieści się przede wszystkim w granicach światła niebieskiego i w mniejszym stopniu w granicach światła czerwonego (Kuiper 1964). W komórkach szparkowych wykryto aktywną fosforylazę skrobiową, czułą na zmiany pH (Yin, Tung 1948), której optimum pH różni się diametralnie od innych komórek mesofilu liścia. W ściankach komórek szparkowych nie ma plasmodesm, co przyczynia się do względnej izolacji tych komórek. Jednakże istotną cechą komórek szparkowych jest zdolność do wykonywania ruchu i regulacji otworu szparkowego. Przyczyną tego ruchu są zmiany ciśnienia turgorowego, wywołane ich specyficzną reakcją na czynniki zewnętrzne. Charakterystyczne cechy anatomiczne takie, jak nerkwaty kształt oraz nierównomierne zgrubienia błon celulozowych, umożliwiają powstanie wewnętrznej krzywizny, której wielkość określa rozwarcie szparki. Różnice potencjału wodnego komórek szparkowych w stosunku do komórek epidermy liścia umożliwiają bądź to reakcje otwierania, bądź też zamykania szparek. Zasadniczo przy wysokim turgorze komórek szparkowych, szparki są otwarte na świetle. Natomiast gdy potencjał wodny komórek szparkowych obniży się ponad krytyczną wartość, to zarówno przy optymalnej intensywności światła, jak i też w atmosferze wolnej od CO₂ reakcja otwierania szparek zostaje zastąpiona reakcją zamykania (Stalfelt 1955).

Powstaje zasadnicze pytanie, jaki mechanizm jest odpowiedzialny za zmiany ciśnienia turgorowego wywołującego ruch komórek szparkowych. W jaki sposób dochodzi do pochłaniania wody, aby wzrost ciśnienia turgorowego tych komórek mógł doprowadzić do ruchu otwierania.

Hipotezy dotyczące mechanizmu ruchu komórek szparkowych

A. Hipoteza fotosyntetycznej produkcji substancji osmotycznie czynnych.

Już Van Mohl (1856) wysunął pogląd, że proces fotosyntezy w chloroplastach komórek szparkowych jest źródłem powstania substancji osmotycznie czynnych. Substancje te z kolei powodują wzrost ciśnienia turgorowego tych komórek, co prowadzi do otwierania szparek.

Obecnie koncepcja tak prostego fotosyntetycznego mechanizmu ruchu szparek nie może być przyjęta, gdyż nie znajduje potwierdzenia, albo pozostaje w sprzeczności z nowymi faktami w świetle niżej przytoczonych badań. W chloroplastach komórek szparkowych wykryto obecność chlorofilu, ale jego stężenie jest bardzo niskie. U tulipana (*Tulipa gesneriana*) koncentracja chlorofilu komórki szparkowej wynosi

około 1/16, która występuje w chloroplaście mchu (*Mnium*) (Shaw, MacLachlan 1954a). Jakkolwiek stwierdzono, że chloroplasty komórek szparkowych są zdolne do przeprowadzania fotosyntezy, to jednak ich fotosyntetyczna efektywność jest bardzo niska. Oceniono, że maksymalny poziom fotosyntezy był 50-krotnie za mały, aby móc wyjaśnić zmiany osmotyczne występujące w komórkach szparkowych podczas ich otwierania. Ta prosta hipoteza fotosyntetycznej produkcji substancji osmotycznie czynnych nie da się także pogodzić z reakcją komórek szparkowych na różne długości fal świetlnych. Stwierdzono wielokrotnie, że fale świetlne długości 450m μ są bardziej efektywne w procesie otwierania szparek, niż w procesie fotosyntezy. Natomiast fale świetlne długości 650 m μ są bardziej efektywne w procesie fotosyntezy, a nie wywierają większego wpływu na otwieranie szparek (Sierp 1933, Harms 1936, Mouravieff 1958, 1963, Kuiper 1964, Heath 1965). Wielu badaczy wykazało (Heath 1948, 1950, Scarth, Shaw 1951), że największe i najszybsze otwieranie szparek występowało w nieobecności dwutlenku węgla w otaczającej atmosferze, albo też gdy stężenie jego wynosiło poniżej 0,03%. W tych warunkach fotosyntetyczna produkcja jest bardzo niska, albo w ogóle jej nie ma. Ponadto stwierdzono, że wyższe stężenie dwutlenku węgla zapobiega otwieraniu szparek na świetle, natomiast u otwartych szparek indukuje reakcję zamykania (Heath 1959). Zdaniem Heath'a w mechanizmie ruchu szparek większy efekt należałoby przypisać fotosyntezie komórek mesofilu prowadzącej do obniżenia stężenia dwutlenku węgla w przestrzeniach międzykomórkowych, niż w syntezie substancji osmotycznie czynnych.

B. Hipoteza — skrobia — cukier

Jeden z wcześniejszych badaczy Kohl (1895) wysunął sugestię, że przyczyną wzrostu turgoru komórek szparkowych są przemiany skrobi na cukier. W myśl tej sugestii Lloyd (1908) rozwinął hipotezę, która zakłada, że otwieranie szparek na świetle spowodowane jest wytwarzaniem enzymu przez komórki szparkowe, który powoduje hydrolizę skrobi do cukrów. Dzięki temu wzrasta ciśnienie osmotyczne i turgor tych komórek. Hipoteza ta została uznana i rozszerzona przez Sayra (1923, 1926). Dodaje on, że na świetle podczas fotosyntezy dwutlenek węgla zostaje usunięty z tkanek liści, co w konsekwencji prowadzi do wzrostu pH komórek szparkowych. Wzrost pH sprzyja hydrolizie skrobi do cukrów, w wyniku czego wzrasta potencjał osmotyczny i turgor komórek szparkowych. Klasyczny schemat proponowany przez Sayra. Światło \rightarrow fotosynteza \rightarrow obniżenie stężenia CO₂ \rightarrow wzrost pH \rightarrow zamiana skrobi na cukier \rightarrow wzrost wartości osmotycznej \rightarrow wzrost turgoru \rightarrow otwieranie szparek.

W ciemności pH komórek szparkowych obniża się, cukry zostają zamienione na skrobię, co w konsekwencji prowadzi do obniżenia turgoru i zamykania szparek. Scarth (1929) uważał jednak, że otwieranie szparek na świetle jest zbyt gwałtowne, aby mogło się dokonać drogą przemiany skrobi na cukier. Na podstawie

swoich badań i obserwacji dotyczących kształtu i objętości komórek szparkowych wraz ze zmianą pH środowiska dochodzi do wniosku, że ruchy komórek szparkowych regulowane są zmianami jonów wodorowych, oddziałujących na amfoteryczne koloidy wakuoli komórek szparkowych. Powyżej punktu izoelektrycznego amfoteryczne koloidy wakuoli pęczniają, zwiększa się turgor komórek szparkowych i szparki się otwierają. Natomiast poniżej punktu izoelektrycznego następuje kurczenie koloidów wakuoli, co prowadzi do zamykania się szparek. Hipoteza ta nie znalazła jednak potwierdzenia w późniejszych badaniach (Alvim 1949). Sam Scarth (1932) również ją zarzucił, skłaniając się do poparcia hipotezy Sayra. Dalsze poparcie dla hipotezy Sayra nastąpiło dzięki wykryciu fosforylasy skrobiowej w komórkach szparkowych (Yin, Tung 1948). Enzym ten katalizuje odwracalną reakcję, której równowaga zależy od pH (Hanes, Maskell 1942).

pH 7

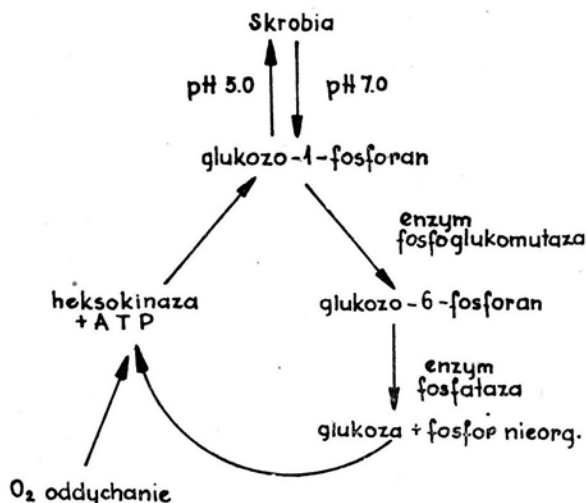
Skrobia + nieorg. fosfor $\xrightarrow{\text{fosforylaza}}$ jednofosforan-glukozy

pH 5

Przy pH wyższym (pH 7) w obecności nieorganicznego fosforu następuje hydroliza skrobi i powstaje jednofosforan-glukozy. Przy pH niższym (pH 5) reakcja przebiega w odwrotnym kierunku, prowadząc do powstania skrobi. Jednakże Heath (1959) wykazał, że sama hydroliza skrobi nie mogłaby wystarczająco podnieść potencjału osmotycznego komórek szparkowych, ponieważ na każdą utworzoną cząsteczkę fosforo-glukozy, jeden jon fosforu nieorganicznego musiałby wypaść z roztworu, co obniżyłoby potencjał osmotyczny. Aby potencjał osmotyczny został odpowiednio podniesiony, musiałyby zachodzić jeszcze inne reakcje. Steward (1967) proponuje następujący schemat przemian skrobi w komórkach szparkowych, gdzie efekt osmotyczny przypisywany byłby zarówno cząsteczkom glukozy, jak i cząsteczkom nieorganicznego fosforu (rys. 1).

Zgodnie ze schematem Stewarda reakcje prowadzące do syntezy skrobi, a tym samym do zamykania szparek, wymagałyby warunków tlenowych i nakładu metabolicznej energii w formie ATP. Tymczasem Heath, Orchard (1956) wykazali, że zamykaniu szparek sprzyjają warunki beztlenowe. Ponadto Walker i Zelitch (1963) stwierdzili, że tlen jest konieczny dla otwierania szparek na świetle, a jego brak nie zapobiega zamykaniu tych szparek, które były już otwarte. Prowadzi to do wniosku, że nie zamykanie, ale otwieranie szparek jest procesem aktywnym. Williams (1952), a następnie Williams, Barrett (1954) oznaczali ilościowo skrobię zlokalizowaną w komórkach szparkowych pelargonii (*Pelargonium* sp.). Gdy liście były przetrzymywane w atmosferze wysokiej wilgotności, wykazano dobrą negatywną korelację między zawartością skrobi, a szerokością otworu szparkowego na świetle i w ciemności. Jednakże przy niskiej wilgotności, szparki były szeroko otwarte na świetle, skrobia nie zniknęła, ale duże jej ilości pozostawały w komórkach szparkowych. Przeprowadzono także dokładne analityczne badania cukrów rozpuszczalnych i skrobi w epidermie liści złocienia (*Chrysanthemum maxi-*

mum) i bobu (*Vicia faba*) (Yemn, Willis 1954b). Ogólnie wykazano korelację między szerokością otworu szparki, a zawartością cukrów, ale nie zawsze była ona doskonała. W jednym doświadczeniu wykazano maksymalne rozwarcie szparki około godz. 9, a maksymalną koncentrację cukrów stwierdzono kilka godzin pó-



Rys. 1. Schemat metabolizmu skrobi warunkujący otwieranie i zamykanie szparek (Steward 1965)

źniej. W innych przypadkach koncentracja cukru pozostawała na wysokim poziomie gdy szparki były zamknięte. Dlatego też klasyczna hipoteza skrobia-cukier nie potwierdzona nowszymi wynikami ilościowymi, pozostaje nadal otwarta.

C. Metabolizm kwasu glikolowego jako główna przyczyna ruchu szparek.

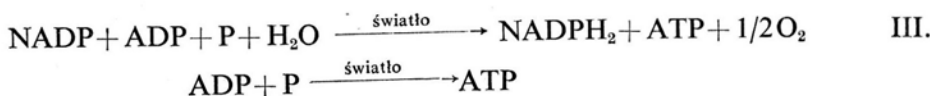
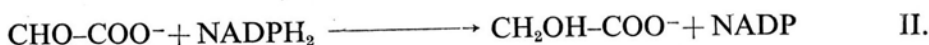
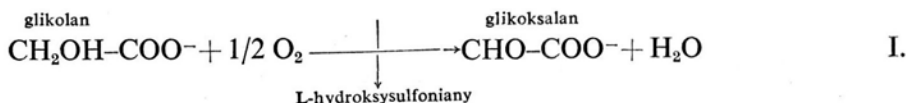
Nową interesującą hipotezę dotyczącą mechanizmu otwierania szparek wysunął Zelitch (1964, 1965). Hipoteza ta zawdzięcza swój początek badaniom metabolizmu kwasu glikolowego i jego inhibitorów w liściach różnych roślin. Zaobserwowano, że liście, bądź krążki liści umieszczone w jednym z roztworów, które inhibują oksydazę kwasu glikolowego, w krótkim czasie nagromadziły duże ilości kwasu glikolowego na świetle (Zelitch 1958, 1959). L-hydroksysulfoniany, jedne z efektywnych inhibitorów oksydazy kwasu glikolowego, zapobiegały równocześnie otwieraniu szparek na świetle. Stwierdzenie to zasugerowało zależność między metabolizmem kwasu glikolowego i mechanizmem otwierania szparek. W dalszych badaniach okazało się, że synteza kwasu glikolowego i jego oksydacyjny metabolizm u roślin przebiegają w takich warunkach, które sprzyjają także otwieraniu szparek. Może najbardziej interesujący jest wspólny efekt wysokiej koncentracji

dwutlenku węgla. Warburg i Krippal (1960) wykazali, że synteza kwasu glikolowego była inhibowana w zawiesinie *Chlorelli*, gdy koncentracja dwutlenku węgla wynosiła 0,1—0,2%. Zelitch i Walker (1964) stwierdzili, że zarówno synteza kwasu glikolowego, jak i otwieranie szparek były w tym samym stopniu inhibowane w krążkach liści tytoniu, które znajdowały się w atmosferze zawierającej 0,5% stężenia dwutlenku węgla. Jeżeli zamknięcie szparek przy wysokiej koncentracji dwutlenku węgla jest wynikiem inhibicji syntezy kwasu glikolowego, dodanie do tkanki kwasu glikolowego powinno wywołać reakcję odwrotną i spowodować otwarcie szparek. Wysoce specyficzną reakcję otwierania szparek osiągnięto, gdy koncentracja dwutlenku węgla wynosiła 1,8%, a następnie krążki liści zanurzone były w 0,001 M roztworze kwasu glikolowego, ale nie w innych próbowanych roztworach (Zelitch, Walker 1964). Wyniki te stały się podstawą dla hipotezy, że utlenienie kwasu glikolowego ma zasadnicze znaczenie dla otwierania szparek.

Istnieje jeszcze inne podobieństwo między metabolizmem kwasu glikolowego, a otwieraniem szparek. Wykazano, że stopień otwarcia szparek był silnie inhibowany w warunkach beztlenowych. (Walker, Zelitch 1963). Stwierdzono także, że tlen atmosferyczny stymuluje syntezę kwasu glikolowego u *Chlorelli* (Tanner i inni 1960, Bassham, Kirk 1962), co zostało także potwierdzone na krążkach liści. Tak więc zarówno w pierwszej, jak i w drugiej reakcji wymagany jest tlen.

Na podstawie tych faktów Zelitch wysuwa hipotezę, że otwieranie szparek jest bezpośrednio związane z metabolizmem kwasu glikolowego w chloroplastach komórek szparkowych. Utlenienie kwasu glikolowego na świetle dostarcza energii, która służyłaby do osmotycznej pracy pompowania wody względnie roztworów do komórek szparkowych.

Wykazano, że cykl glikolanowo-glioksalanowy bierze udział w syntezie ATP na świetle (Butt, Peel 1963). Zatem przypuszcza się, że za pośrednictwem ATP, albo też związków pośredniczących w syntezie ATP, czynne pompowanie wody umożliwiałoby uzyskanie turgoru komórek szparkowych. Zelitch proponuje następującą sekwencję reakcji (1965).



Reakcja I przedstawia działanie oksydazy kwasu glikolowego, która jest inhibowana przez L-hydroksysulfoniany.

Reakcja II katalizowana jest przez reduktazę glioksalanu; enzym, który został znaleziony w liściach (Zelitch, Glotto 1962).

Reakcja III przedstawia niecykliczną fosforylację w chloroplastach opisaną przez Arnona (1959).

Zapas kwasu glikolowego i jego enzymatyczne utlenienie byłoby nieodzowne aby na nowo utlenić NADPH_2 i umożliwić syntezę ATP. Jak wykazano przy niskiej koncentracji dwutlenku węgla, produktem fotosyntezy jest kwas glikolowy, a ponadto przy niskiej intensywności fotosyntezy mniej cząsteczek NADPH_2 mogłoby być utlenione przy redukcji dwutlenku węgla. W takich warunkach więcej energii z ATP mogłoby być przyswojone do pompowania wody do komórek szparkowych, a uzyskanie odpowiedniego turgoru spowodowałoby otwieranie szparek.

Mimo wielu potwierdzających faktów i logicznej ich interpretacji, hipoteza ta budzi szereg zastrzeżeń. Głównym przeciwnikiem jest Levitt (1967), który wyklucza otwieranie szparek jako proces aktywny i uważa, że istnienie aktywnej siły tzw. „pompy“, dzięki której wzrastałby turgor komórek szparkowych, nie jest potwierdzone eksperymentalnie. Sugerowana rola utleniania kwasu glikolowego wydaje się być wykluczona w świetle badań Mansfielda (1965) i Meidnera (1965). Głównym zastrzeżeniem przeciwko tej hipotezie jest fakt otwierania szparek w ciemności, w atmosferze wolnej od dwutlenku węgla, gdyż w tych warunkach nie powstaje kwas glikolowy.

Allaway i Mansfield (1967) przeprowadzili badania dotyczące udziału fosforylacji w reakcji otwierania szparek. Jako inhibitor fotofosforylacji zastosowali oni 3-(4-chlorophenol)-1, 1-dwumetylomocznik (DCMU) zakładając, że w tych warunkach będzie inhibowana fotosynteza, a dwutlenek węgla będzie nagromadzał się w przestrzeniach międzykomórkowych jako efekt oddychania. Gdy inhibitor przedyfundował do blaszek liściowych szparki zamknęły się, ale z powrotem otworzyły się gdy przestrzenie międzykomórkowe zostały wypełnione powietrzem wolnym od dwutlenku węgla. Fakt ten sugeruje, że ruch zamykania szparek był reakcją na nagromadzenie dwutlenku węgla w następstwie zahamowania fotosyntezy. Ponowne otwieranie szparek po usunięciu dwutlenku węgla wykazuje, że szparki mogą się otwierać chociaż fosforylacja jest silnie inhibowana.

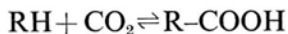
D. Reakcja szparek na zmiany koncentracji CO_2

Wcześniejsze badania dotyczące kontroli ruchu szparek poprzez zmiany w koncentracji dwutlenku węgla, datują się z okresu kiedy jeszcze nie było pełnej oceny tej reakcji (Linsbauer 1916, Kissielew 1925, Freudenberg 1940). Dopiero Heath (1948, 1950) w pełni uznał ważność tego czynnika i na podstawie wyników swoich badań sugerował, że reakcje otwierania na światło zachodzą dzięki zużyciu dwutlenku węgla z przestworów międzykomórkowych w procesie fotosyntezy, a zamykanie w ciemności dzięki nagromadzeniu się dwutlenku węgla z procesu oddychania. Zatem dwutlenek węgla pochodzący z oddychania mógłby doprowadzić

do wzrostu zakwaszenia komórek szparkowych, spowodować zmianę cukrów do skrobi i na tej drodze doprowadzić do zamykania szparek. Kiedy jednak okazało się, że stosunkowo małe zmiany w koncentracji dwutlenku węgla mogą spowodować ruch komórek szparkowych, wydawało się niemożliwym, aby tylko sam dwutlenek węgla mógł przyczynić się do tak znacznego ich zakwaszenia (Scarath, Shaw 1951). Zwrócono więc uwagę na możliwość wiązania dwutlenku węgla na drodze karboksylacji przez komórki szparkowe, co doprowadziłoby do powstania kwasów organicznych. Hipoteza wiązania dwutlenku węgla na drodze karboksylacji była najpierw zasugerowana przez Heath'a (1950), a następnie przekonująco potwierdzona przy pomocy węgla znaczonego C^{14} (Shaw, Maclachlan 1954a, 1954b). Wysłunięto także sugestię, że dwutlenek węgla może reagować bezpośrednio z produktami glikozy, w następstwie czego w komórkach szparkowych powstaje kwas jabłkowy silnie zakwaszający środowisko (Heath, Orchard 1956). Istnieje wiele faktów, które sprzyjają i potwierdzają tą hipotezę. Stwierdzono, że pH komórek szparkowych jest niższe gdy szparki są zamknięte (Sayre 1926, Scarth 1929, Pekarek 1934, Small, Clark i inni 1942). Powstanie więc kwasów organicznych mogłoby znacznie przyczynić się do obniżenia pH. Stwierdzono, że wiązanie dwutlenku węgla na drodze karboksylacji kontroluje ruchem szparek zarówno w ciemności, jak i na świetle. Ponieważ fotosyntetyczna efektywność komórek szparkowych jest znacznie niższa niż komórek mesofilu (Shaw, Maclachlan 1954a), zatem mechanizm karboksylacyjnego wiązania dwutlenku węgla mógłby operować także na świetle przy niskiej koncentracji dwutlenku węgla. Wyjaśniałoby to niektóre wypadki zamykania szparek na świetle (Heath, Russel 1954b). Ponadto stwierdzono, że proces ten podobnie jak ruchy komórek szparkowych jest bardzo czuły na małe zmiany w koncentracji dwutlenku węgla w granicach poziomów fizjologicznych (Bonner, Bonner 1948).

Levitt (1967) w swoich rozważaniach dotyczących przyczyn wzrostu turgoru w komórkach szparkowych poddaje ostrej krytyce hipotezy które tłumaczą wzrost turgoru na drodze aktywnego udziału sił. Uważa on, że jedynie teoria klasyczna, której jednym z rzeczników był Scarth (1932) jest zdolna wyjaśnić wszelkie zjawiska, a nawet sprzeczne fakty dotyczące ruchu szparek, po uprzedniej jej modyfikacji i uzupełnieniu nowymi wynikami badań. Zatem opiera się on na stwierdzeniu, że podniesienie turgoru komórek szparkowych i ich otwieranie, jest rezultatem pasywnej absorpcji wody na skutek wzrostu potencjału osmotycznego poprzez hydrolizę skrobi do cukrów. Zamykanie szparek następuje w wyniku reakcji odwrotnych. Zgodnie z teorią klasyczną, reakcje te kontrolowane są zmianami pH w komórkach szparkowych, jakie występują na skutek różnej koncentracji dwutlenku węgla. Stwierdzono jednak, że obniżenie koncentracji CO_2 z 0,03—0,01 % może tylko zmienić pH w granicach 0,1—0,3 gdy tymczasem kwasowość komórek szparkowych musi się zmienić w granicach dwóch jednostek pH (hydroliza skrobi wymaga wzrostu pH z 5 do 7). Biorąc pod uwagę karboksylacyjne wiązanie dwutlenku węgla

Levitt uważa, że na tej drodze powstają kwasy organiczne R-COOH, które znacznie bardziej obniżają pH komórki, niż sam dwutlenek węgla.

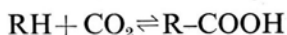


Reakcja ta związana jest z bardzo małymi zmianami energetycznymi (ok. 15 cal.) i dlatego może być łatwo odwrócona. Ponieważ dwutlenek węgla w soku komórkowym występuje w równowadze z kwasem węglowym, zatem należy się liczyć, że w komórce roślinnej istnieje następująca równowaga chemiczna.



Mimo że aktualne wartości wolnego dwutlenku węgla są niskie, nie jest to czynnikiem ograniczającym reakcje karboksylacji, gdyż względnie małe zmiany w zawartości dwutlenku węgla w protoplazmie spowodują przesunięcie równowagi chemicznej, co przyczyni się do znacznych zmian w aktualnej koncentracji kwasów — R-COOH. Jeżeli przyjmemy, że wzrost kwasów karboksylowych w komórkach szparkowych prowadzi do zamiany cukrów prostych do polisacharydów i dlatego szparki się zamykają, obniżenie zawartości kwasów karboksylowych prowadzi do otwarcia szparek zgodnie z równaniem.

→ zamknięcie szparek



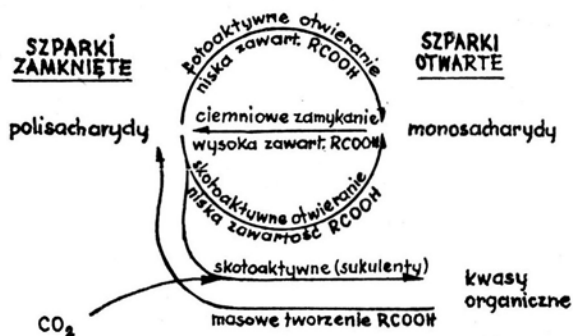
otwarcie szparek ←

Tak więc na świetle fotosynteza obniża koncentrację dwutlenku węgla przesuując równowagę reakcji w kierunku dekarboksylacji, obniża się zawartość kwasów — R-COOH, co w konsekwencji prowadzi do otwierania szparek. W ciemności przy braku fotosyntezy proces oddychania podnosi zawartość dwutlenku węgla co przesuwa reakcję w kierunku karboksylacji, wzrasta zawartość kwasów organicznych, przyczyniając się do zamykania szparek.

W takiej postaci teoria ta nie tłumaczy jednak otwierania szparek w ciemności u sukulentów (tzw. skotoaktywny ruch otwierania) kiedy ciemniowe wiązanie dwutlenku węgla jest najwyższe (Nishida 1963). Jeżeli sukulenty reagują normalnie, to fakt ten byłby niezgodny z tą hipotezą. Wiadomo jest jednak, że fizjologia tej grupy roślin jest zupełnie inna (Ranson, Tomas 1960). Levitt wyjaśnia, że skotoaktywne otwieranie szparek u sukulentów występuje dzięki nagromadzeniu się kwasów organicznych. U tych roślin kwasy organiczne syntetyzowane są w protoplazmie z dwutlenku węgla uwolnionego podczas oddychania w takiej ilości, że są one wydzielane do wakuoli, gdzie się nagromadzają i w wystarczającej mierze podnoszą potencjał osmotyczny, a w następstwie tego turgor komórek szparkowych. U sukulentów asymilacja węgla prowadziłaby do dwóch konkurujących ze sobą procesów. Utworzone kwasy organiczne musiałyby początkowo sprzyjać zamianie cukrów do skrobi. Jednakże skrobia tutaj się nie nagromadza, gdyż zachodzi proces oddychania a jego produkty pośrednie przekształcane są w kwasy organiczne na drodze karboksylacyjnego wiązania dwutlenku węgla. Dlatego też dwutlenek

węgla i jego karboksylacyjne wiązanie przez pośrednie produkty utleniania skrobi warunkują masowe powstawanie kwasów organicznych, co u sukulentów powoduje skotoaktywne otwieranie szparek.

Levitt proponuje następującą współzależność między węglowodanami i kwasami organicznymi w mechanizmie ruchu komórek (rys. 2).



Rys. 2. Współdziałalność między węglowodanami i kwasami organicznymi w mechanizmie ruchu szparek (Levitt 1957) Wysoka i niska zawartość R-COOH odnosi się do protoplazmy, masowe tworzenie w R-COOH odnosi się do wakuoli.

Proponowany związek między zawartością R-COOH w protoplazmie i otwieraniem szparek, zdaniem Levitta nie odmawia słuszności teorii klasycznej, gdyż efekt uzyskiwany jest dzięki temu samemu czynnikowi (czynnik pH). Rozumując w ten sposób Levitt uważa, że teoria klasyczna jest zdolna wyjaśnić w każdym warunkach wszystkie przypadki otwierania i zamykania szparek, z tą modyfikacją, że protoplazmatyczna kwasowość kontrolowana jest nie poprzez koncentrację dwutlenku węgla, ale poprzez koncentrację kwasów organicznych R-COOH. Znaczną luką w tej teorii jest jednak brak wyszczególnienia i dokładnego sprecyzowania reakcji enzymatycznych, które biorą udział w szeregu reakcji składających się na przebieg całego tego procesu. Wydaje się więc, że dopóki to zagadnienie nie zostanie w pełni rozwiązane, teoria ta podobnie jak teoria Zelitcha pozostaje jednak w sferze hipotez.

Oprócz wymienionych tutaj hipotez istnieje jeszcze wiele innych sugestii odnośnie mechanizmu ruchu szparek (Heath 1959). Szczupłe ramy nieniejszego artykułu nie pozwalają na dalsze ich omówienie.

Z przedstawionych hipotez na uwagę zasługują dwie ostatnie. Hipoteza Zelitch'a, oparta na śmiałej koncepcji aktywnego pompowania wody do komórek szparkowych, jest bardzo sugestywna. Zgodnie z tą hipotezą zwiększenie turgoru komórek szparkowych w stosunku do komórek epidermy zachodziłoby dzięki nakładowi energii za pośrednictwem wysokoenergetycznych związków ATP powstających w komórkach szparkowych, w efekcie metabolicznego utlenienia kwasu glikolowego. Jakkolwiek przytoczone dowody potwierdzają związek między me-

tabolizmem kwasu glikolowego i otwieraniem szparek, stwierdzono także sprzeczności, a niektóre uogólnienia nie są potwierdzone eksperymentalnie. Na uznanie zasługuje nowa metoda badań i logiczna interpretacja uzyskanych wyników, a sprzeczne fakty oczekują na dalsze wyjaśnienia.

Hipoteza dotycząca reakcji komórek szparkowych na zmiany stężenia dwutlenku węgla wywodzi się z klasycznej koncepcji opartej na pasywnym przenikaniu wody do komórek szparkowych. Decydującym momentem byłyby tutaj przemiany skrobi, które są źródłem wzrostu względnie obniżenia potencjału osmotycznego komórek szparkowych, a tym samym wzrostu względnie obniżenia ich turgoru. Przemiany te umożliwiają odpowiednie pH, które w komórkach szparkowych może się łatwo zmieniać w szerokim zakresie, nie tylko dzięki zmieniającej się koncentracji dwutlenku węgla na świetle i w ciemności, ale przede wszystkim dzięki powstaniu kwasów organicznych na drodze karboksylacyjnego wiązania dwutlenku węgla, co zapewniłoby optimum pH dla aktywności fosforylasy skrobiowej komórek szparkowych.

Wydaje się, że fakt ten jest ważnym ogniwem, które podbudowało tę hipotezę. Blizsze określenie enzymatycznych reakcji karboksylacji i dekarboksylacji oraz poszczególnych etapów syntezy i hydrolizy skrobi może przyczynić się do przewagi tej hipotezy.

Katedra Fizjologii Roślin WSR w Poznaniu

LITERATURA

- Allaway W. G., Mansfield T. A., 1967. *Stomatal responses to changes in carbon dioxide concentration in leaves treated with 3-(4-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea* New Phytol. 66. 57—63.
- Alvim P. de T., 1949. *Studies on the mechanism of stomatal behaviour*, Amer. J. Bot. 36. 781—91.
- Arnon D. I., 1959. *Conversion of light into chemical energy in photosynthesis*. Nature, Lon. 184, 10—12.
- Bassham J. A., Kirk M., 1962. *The effect of O₂ the reduction of CO₂ to glycolic acid and other products during photosynthesis by Chlorella*. Bioch. biophys. Res. Commun 9, 376—80.
- Butt V. S., Pell M., 1963. *The participation of glycollate oxidase in glucose uptake by illuminated Chlorella suspensions*. Biochem. J. 88, 31 P.
- Bonner W., Bonner J., 1948. *The role of carbon dioxide in acid formation by succulent plants*. Am. J. Bot. 35, 113—17.
- Freudenberger H., 1940. *Die Reaction der Schliesszellen auf Kohlensäure und Sauerstoff-Entzug*. Protoplasma. 35 15—54.
- Gaastra P., 1959. *Photosynthesis of crop plants as influenced by light, carbon dioxide, temperature, and stomatal diffusion resistance*. Mededelingen de Landbouwhogeshool Wageningen. Nederland, 59. 1—68.
- Hanes C. S., Maskell E. J., 1942. *The influence of hydrogen ion concentration upon the equilibrium state in phosphorylase systems*. Biochem. J. 36. 76.
- Harms H., 1936. *Beziehungen zwischen Stomataweite, Lichtstärke und Lightfarbe*. Planta 25, 155—93.
- Heath O. V. S., 1948. *Studies in stomatal action. Control of stomatal movement by a reduction in the normal carbon dioxide content of the air*. Nature, Lond. 161. 178—81.
- Heath O. V. S., Russell J. 1954. *Studies in stomatal behaviour VI. An investigation of the light responses*

- of wheat stomata with attempted elimination of control by the mesophyll. Part I. Effect of light independent of carbon dioxide. J. exp. Bot. 5. 1—15.
- Heath O. V. S., Orchard B., 1956. Studies in stomatal behaviour VII. Effects of anaerobic conditions upon stomatal movements — a test of Williams Hypothesis of stomatal mechanism. J. exp. Bot. 7.3 13—25.
- Heath O. V. S., 1959. Light and carbon dioxide in stomatal movements. Handbuch der Pflanzenphysiologie 17/I. 415—64.
- Heath O. V. S., Mansfield T. A., Meidner H., 1965. Light — induced stomatal opening and the postulated role of glycolic acid. Nature Lond. 960—2.
- Honert van den T. H., 1948. Water transport in plants as a catenary process. Discuss. Faraday Soc. 3. 146—53.
- Kissilew N., 1925. Veränderung der Durchlässigkeit des Protoplasma der Schliesszellen im Zusammenhange mit stomataren Bewegungen. Beih. bot. Zbl. 41. 287—308.
- Kohl F. G., 1895. Zur Mechanik der Spaltöffnungsbewegung. Botanisches Beiblatt zur Leopoldina 31. 1—4.
- Kuiper P. J. C., 1964. Dependence upon wavelenght of stomatal movement in epidermal tissue of *Senecio odoris*. Plant Physiol. 39. 952—55.
- Levitt J., 1967. The mechanism of stomatal action. Planta Berlin 74. 101—118.
- Linsbauer K., 1916. Beiträge zur Kenntnis der Spaltöffnungsbewegungen. Flora, N. F. 9. 100—143.
- Lloyd F. E., 1908. The physiology of stomata. Publ. Carneg. Inst. Wash. 82. 1—142.
- Mansfield T. A., 1965a. Responses of stomata in carbon to short duration increases dioxide concentration. Physiol. Plant. 18. 79—84.
- Meidner H., Mansfield T. A., 1965. Stomatal responses to illumination Biol. Rev. 40. 483—509.
- Mohl von H., 1856. Welche Ursachen bewirken die Erweiterung und Verengung der Spaltöffnungen. Bot. Ztg. 14. 694—704, 713—720.
- Mouravieff I., 1958. Action de la lumière sur la cellule végétale. Production de mouvement d'ouverture stomatique par la lumière des diverses régions du spectre. Bull. soc. bot. Fr. 105. 467—75.
- Mouravieff I., 1963. Ouverture de l'appareil stomatique et photosynthese des feuilles isolées de *Veronica beccabunga* L. en lumière monochromatique. Ann. Sci. nat. Bot. 12. 225—232.
- Nishida K., 1963. Studies on stomatal movement of crassulacean plants in relation to the acid metabolism. Physiol. Plant 16. 281—98.
- Pekarek J., 1934. Über die Aziditätsverhältnisse in den Epidermis — und Schliesszellen bei *Rumex acetosa* im Licht und im Dunkel. Planta 21. 419—446.
- Ranson S. L., Thomas M., 1960. Crassulacean acid metabolism. Ann. Rev. Plant. Physiol. II. 81—110.
- Sayre J. D., 1923. Physiology of stomata of *Rumex patientia*. Science 57. 205—206.
- Sayre J. D., 1926. Physiology of stomata of *Rumex patientia*. Ohio J. Sci. 26. 233—266.
- Scarath G. W., 1929. The influence of H ion concentration on the turgor and movement of plant cells with special reference to stomatal behaviour. Internat. Cong. Pl. Sci. Ithaca Proc. 1151—1162.
- Scarath G. W., 1932. Mechanism of the action of light and other factors on stomatal movement. Plant. Physiol. 7. 481—504.
- Scarath G. W., Shaw M., 1951. Stomatal movement and photosynthesis in *Pelargonium* I. Effects of light and carbon dioxide. Plant Physiol. 26. 207—225.
- Shaw M., Maclachlan G. A., 1954b. The physiology of stomata I. Carbon dioxide fixation of guard cells. Can. J. Bot. 32. 784—94.
- Shaw M., Maclachlan G. A., 1954a. Chlorophyll content and carbon dioxide uptake of stomatal cells. Nature Lond. 173. 29—30.
- Sierp H., 1933. Untersuchungen über die Öffnungsbewegungen der Stomata in verschiedeneu Spectralbezirken. Flora 128. 269—85.
- Small J., Maxwell K. M., 1939. pH phenomena in relation to stomatal opening I. *Coffea arabica* and some other species. Protoplasma 32. 272—288.

- Small J., Clarke M. J., Crosbie-Baird J., 1942. *pH phenomena in relation to stomatal opening II—V*. Proc. Roy. Soc. Edinb. B. 61. 233—66.
- Stalfelt M. G., 1955. *The stomata as a hydrophotic regulator of the water deficit of the plant*. Physiol. Plant. 8. 572—593.
- Steward F. C., 1967. 1967. *Transpiration and the functions of stomata*. In *Plants at work*, Addison-Wesley Publishing Co. Reading Mass. 133—36.
- Tanner H. A., Brown T. E., Eyster C., Treharne R. W., 1960. *The photosynthetic function of manganese and chloride*. Ocho J. Sci. 60. 231—4.
- Walker D. A., Zelitch I., 1963. *Some effects of metabolic inhibitors, temperature and anaerobic conditions on stomatal movement*. Plant Physiol. 38. 390—96.
- Warburg O., Krippahl G., 1960. *Glykolsäurebildung in Chlorella*. Z. Naturforsch, 15. b. 197—9.
- Williams T. W., 1952. *Studies in stomatal behaviour II. The role of starch in the light response of stomata*. J. exp. Bot. 3. 110—27.
- Williams W. T., Barrett F. A., 1954. *The effect of external factors on stomatal starch*. Physiol. Plant. 7. 298—311.
- Yemm E. W., Willis A. J., 1954a. *Chlorophyll and photosynthesis in stomatal guard cells*. Nature. London 173. 726.
- Yemm E. W., Willis A. J., 1954b. *Stomatal movement and change of carbohydrate in leaves of Chrysanthemum maximum*. New Phytol. 53. 373—96.
- Yin H. C., Tung Y. T., 1948. *Phosphorylase in guard cells*. Science, 108. 87—88.
- Zelitch I., 1958. *The role of glycolic acid oxidase in the respiration of leaves*. J. biol. Chem. 233. 1299—1303.
- Zelitch I., 1959. *The relationship of glycolic acid to respiration and photosynthesis in tobacco leaves*. J. biol. Chem. 234. 3077—3081.
- Zelitch I., 1961. *Biochemical control of stomatal opening in leaves*. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 47. 1423—1433.
- Zelitch I., Gotto A. M., 1962. *Properties of a new glyoxylate reductase from leaves*. Bioch. J. 84. 541—546.
- Zelitch I., 1963. *The control and mechanisms of stomatal movement*. In *Stomata and water relations in plants*. Bull. Conn. Agric. exp. Sta. No. 664. 18—42.
- Zelitch I., Walker D. A., 1964. *The role of glycolic acid metabolism opening of leaf stomata*. Plant. Physiol. 39. 856—862.
- Zelitch I., 1965. *Environmental and biochemical control of stomatal movement in leaves*. Biol. Rev. 40. 463—482.
- Zelitch I., 1967. *Water and CO₂ transport in the photosynthetic process*. Harving the Sun. Ac. Press. 231—248.