

# HUIDMONDJES: HOE GAAN ZE OPEN ... EN DICHT?

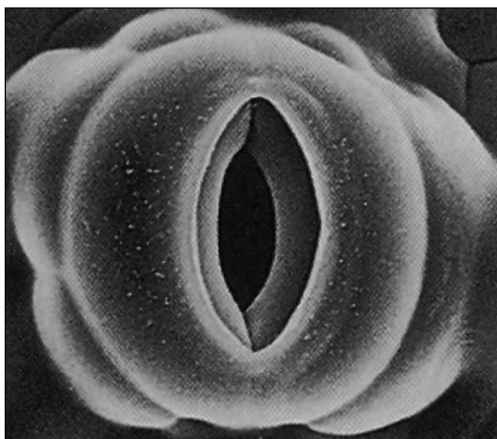
*Prof. dr. Em. Roland Caubergs (UA)*

*m.m.v. Herman Snoeck  
(ere-directeur S.O.)*

## INLEIDING

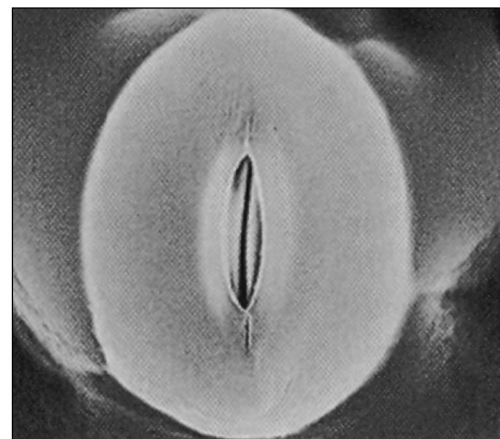
Huidmondjes (stomata) zijn poriën in het blad die kunnen openen en sluiten. In bepaalde omstandigheden zoals in het donker, bij droogte en hoog CO<sub>2</sub>-gehalte gaan ze dicht. In optimale omstandigheden die gekenmerkt worden door het verrichten van fotosynthese zijn ze open. Dit is nodig omdat voor die fotosynthese CO<sub>2</sub> (koolstofdioxide) uit de lucht dient opgenomen te worden. Dat is enkel mogelijk via de open huidmondjes want de epidermis van het blad bezit een waslaag (cuticula) die geen gassen doorlaat.

open stoma



50 µm

gesloten stoma

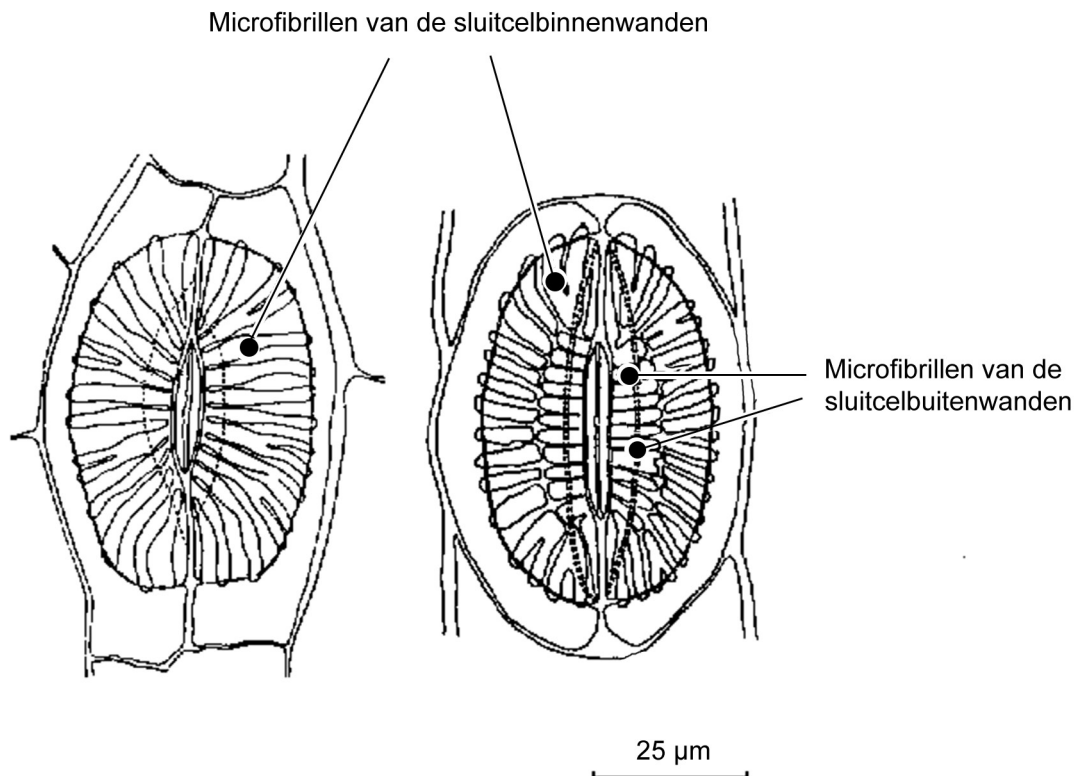


50 µm

Door het feit dat de huidmondjes in een blad open zijn is er onvermijdelijk ook waterverlies omdat in vrijwel alle omstandigheden de lucht minder vocht bevat dan het bladweefsel. Via de open huidmondjes verdwijnt het water naar de omgeving. Deze diffusie moet in de hand gehouden worden om verwelken van de plant te vermijden. Optimaal functioneren van de plant is dus enkel mogelijk als er een balans gevonden wordt tussen voldoende CO<sub>2</sub>-opname en geen te sterk waterverlies.

## OSMOSE

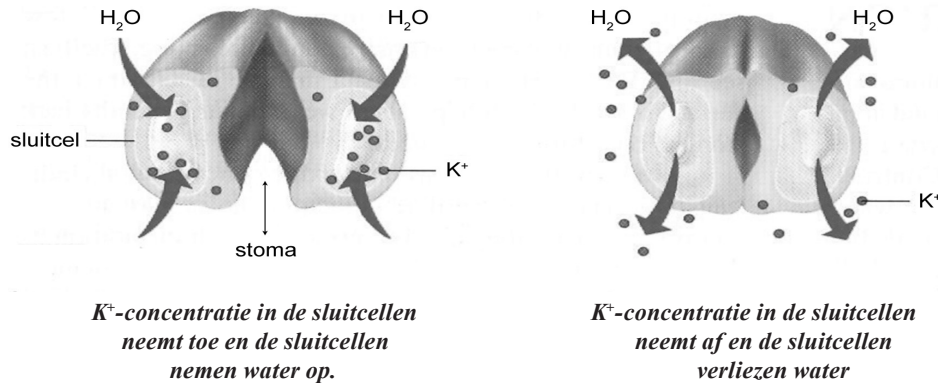
Het sluiten en openen van huidmondjes is gebaseerd op het osmotisch principe. Het zijn de sluitcellen van de huidmondjes die water opnemen en afgeven. In het eerste geval gaan de huidmondjes open. Dit lijkt op het eerste gezicht onlogisch want de cellen zullen in volume toenemen en de opening tussen de twee sluitcellen zou dus kleiner moeten worden. Maar de sluitcellen hebben ongelijk verdikte wanden en daarenboven zijn er afzettingen van microfibrillen die specifiek georiënteerd zijn: de zogeheten radiale micellatie. Bij het opnemen van water zorgt dit alles voor een kromming van de sluitcellen waardoor de spleet tussen beide cellen groter wordt.



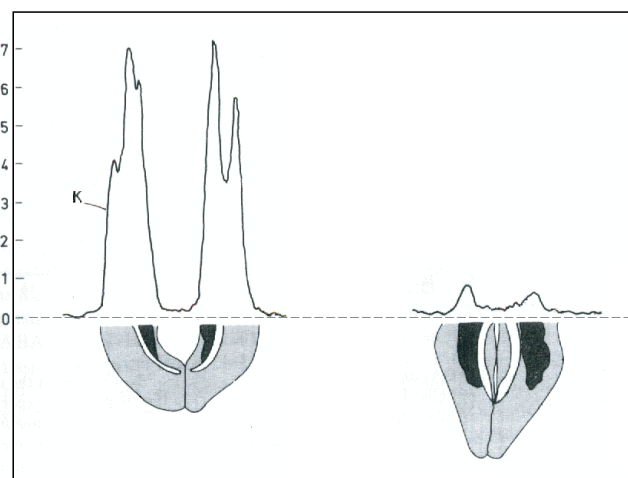
De vraag stelt zich hoe in de sluitcellen de osmotische waarde toeneemt waardoor via wateropname het huidmondje zal opengaan. Een klassieke maar verkeerde verklaring zegt dat het sucrosegehalte toeneemt in de sluitcel. Sucrose is een sterk osmoticum. Die sucrose zou afkomstig zijn van zetmeel en dit fenomeen wordt verwoord in de zetmeel-suikertheorie van E. Loyd (1908). Er zijn echter problemen met deze hypothese. Heel wat sluitceltypes bevatten helemaal geen zetmeelkorrels waardoor directe afbraak ervan tot sucrose niet kan. Misschien zou sucrose gewoonweg direct afkomstig zijn van de fotosynthese. Heel wat sluitceltypes hebben echter geen chloroplasten en dus is er geen fotosynthese. Dan maar veronderstellen dat de sucrose van de nabijgelegen mesofylcellen komt waar wel fotosynthese gebeurt.

### K<sup>+</sup> - IONEN

Belangrijk om het complexe mechanisme te verklaren is de waarneming dat bij het openen van de huidmondjes de concentratie aan kaliumionen sterk toeneemt in de sluitcellen. Niet sucrose maar kalium is het plasmolyticum.



Het mechanisme waardoor de K<sup>+</sup>-concentratie in de sluitcellen verhoogt is behoorlijk ingewikkeld. Dat er K<sup>+</sup>-fluxen waren was een Japanse ontdekking van ± 1940. Voor het Westen ging die ontdekking ongemerkt voorbij door het oorlogsgebeuren. Het fenomeen werd pas in de zestiger jaren herontdekt.



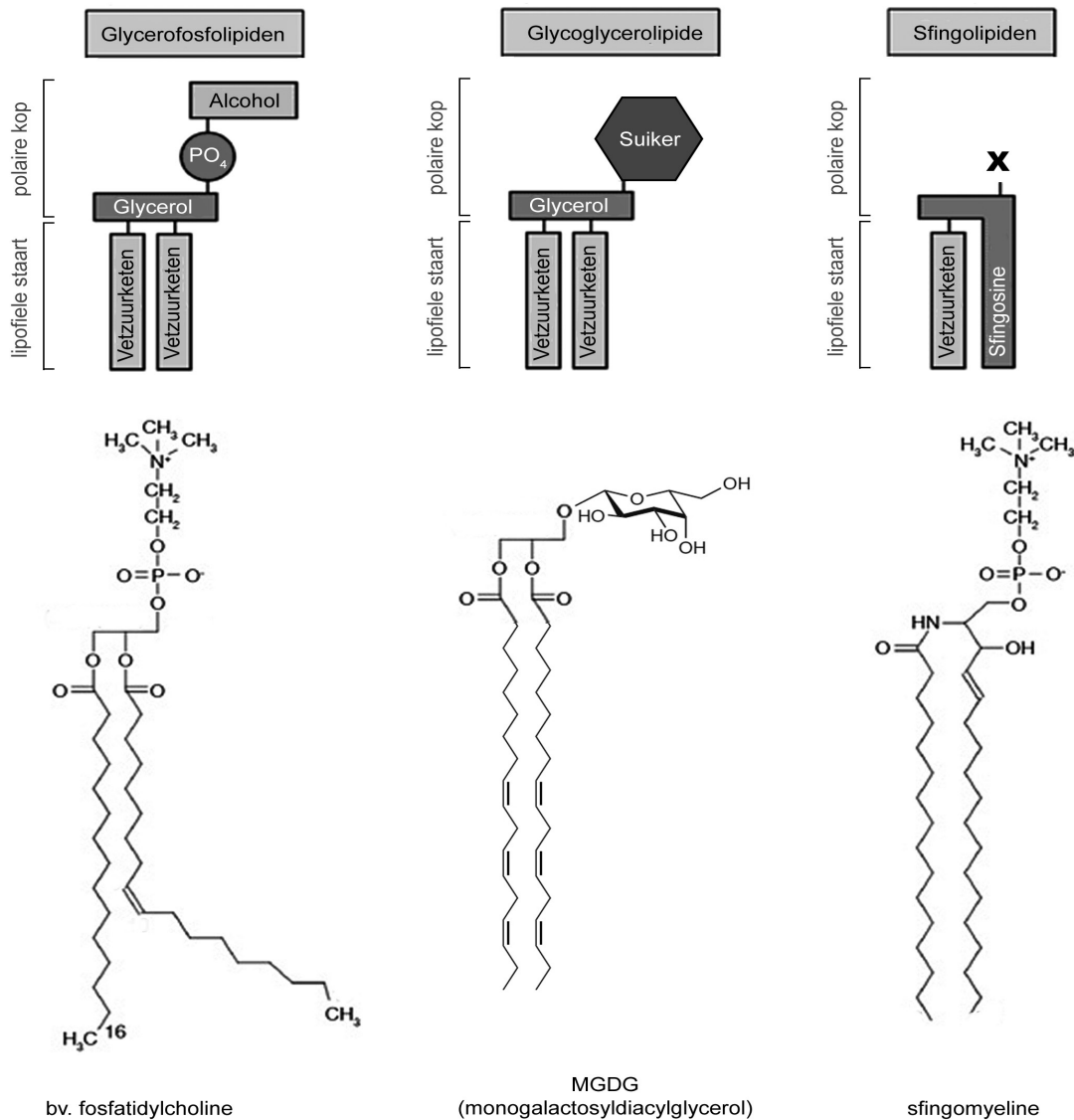
*(Relatieve) spreiding van de K<sup>+</sup>-concentratie in de sluitcellen bij een open (links) en een gesloten huidmondje (rechts)*

Een eerste vaststelling is het feit dat zowel positieve (zoals K<sup>+</sup>) als negatieve geladen deeltjes niet zomaar door membranen kunnen dringen. Verhoogde K<sup>+</sup>concentraties kunnen dus niet door diffusie ontstaan.

De oorzaak waarom membranen een barrière vormen is hun specifieke opbouw. Dit geldt trouwens voor alle biologische membraantypes, daarom spreekt men van de eenheidsmembran.

## MEMBRANEN EN KANALEN

Alhoewel er heel wat variatie kan optreden in samenstelling bestaat de basisstructuur van alle membranen uit **glycerofosfolipiden** en **glycoglycerolipiden** (beide bij planten meestal dominant aanwezig) en **sfigolipiden**.



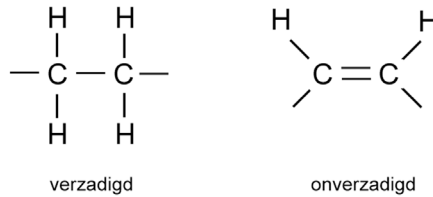
Deze lipidemoleculen zijn amfipatisch:

- het ene eind (de kop) van de lipidemolecule is hydrofyl en dus polair;
- het andere eind (het staartgedeelte) is hydrofoob (wegens apolair) en bestaat meestal uit twee vetzuurketens.

Vetzuren zijn koolwaterstofmoleculen die variëren in lengte. Bij planten zijn palmitinezuur (18:1), stearinezuur (16:0), oliezuur (18:2) en linolzuur (18:2) frequent aanwezig.

Het eerste cijfer binnen de haakjes geeft het aantal koolstofatomen in de keten; het tweede geeft de verzadigingsgraad weer:

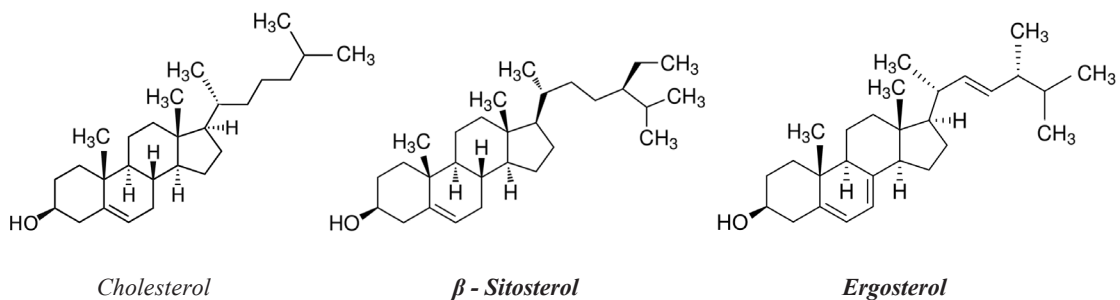
- het cijfer 0 staat voor een **verzadigd** vetzuur; elk C-atoom in de keten is gebonden aan twee H-atomen.
- de cijfers 1, 2 en 3 duiden op het aantal dubbele bindingen per vetzuurketen. Deze vetzuren zijn **onverzadigd**.



Verderop wordt uitgelegd dat de graad van verzadiging de fysicochemische eigenschappen van de membraan, zoals de beweeglijkheid (fluiditeit), mee zal bepalen.

Een andere groep lipidencomponenten van membranen zijn de **sterolen**. Die zijn opgebouwd uit een aantal zesringen in één vlak waardoor ze plaatvormig worden. Naast dit apolair gedeelte is er ook een relatief klein polair gebied zodat het geheel amfipatisch is.

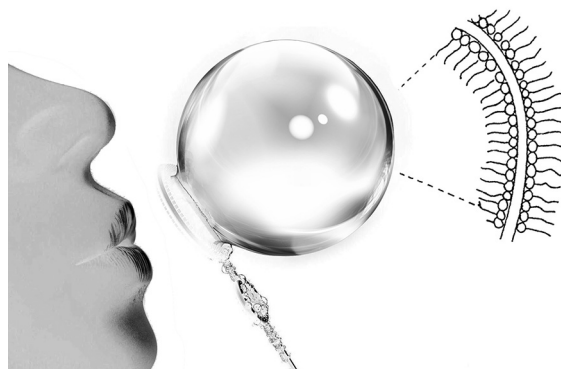
Sterolen behoren tot de steroïden waarvan vele bij dieren een hormonale werking hebben, niet zo bij planten. Een goed gekend sterol is cholesterol waarvan geweten is dat een te hoog gehalte slecht is voor onze gezondheid omdat het de beweeglijkheid (= fluiditeit) van de membraan verlaagt. Het komt (gelukkig) slechts voor enkele procenten voor in plantenmembranen. Veel voorkomend in hogere planten zijn sitosterol, campisterol en stigmasterol. In schimmelmembranen is ergosterol dominant.



Elk biologisch membraan bestaat uit een **lipidendubbellaag**.

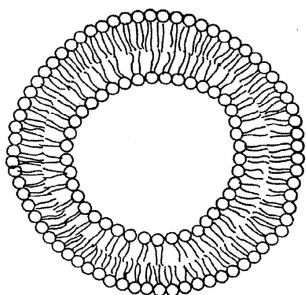
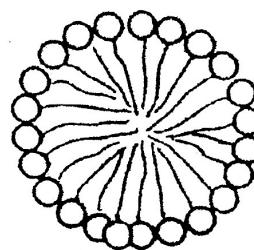
De amfipatische natuur van de lipiden is de oorzaak dat ze in waterig milieu specifieke aggregaties vormen: de monolagen, de micellen en (belangrijk voor de membraanstructuren) de dubbellen.

De reacties van zeep in water zijn een gekend voorbeeld om deze begrippen te verduidelijken. Zeep wordt gevormd door vetzuren te behandelen met een basische oplossing. Zo worden moleculen gevormd die zich in waterig midden als lipiden gedragen.



Een zeepbel is een dun laagje water, aan weerszijden afgeschermd door een laag zeepmoleculen, waarbij de hydrofiele carboxylgroep van de zeepmoleculen naar de waterlaag geïntendeerd zijn. Aan beide zijden van het gevangen waterlaagje ontstaat wat men een **monolaag** noemt. Deze structuur heeft een zekere stabiliteit die ervoor zorgt dat de zeepbel een tijd blijft bestaan.

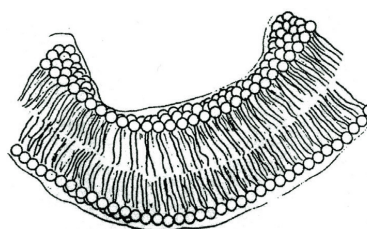
Zeep in water vormt **micellen**. Hier zullen de polaire koppen de buitenwand vormen van een sfeer, waarbij de vetzuurstaarten naar het centrum zijn gericht. De waswerking van zeep berust op de vorming van dergelijke micellen. Een vuildeeltje wordt omgeven door de zeepmoleculen, waarbij de hydrofobe staartjes het vuildeeltje binnendringen. Uiteindelijk wordt het deeltje volledig omringd door zeepmoleculen en er ontstaat een micel. De hydrofiele koppen zijn naar het waswater gericht en de micel komt samen met het ingesloten vuildeeltje vrij.



**Liposomen** zijn sferische structuren van lipiden, die een waterige inhoud insluiten. In de praktijk worden ze gebruikt om een wateroplosbare stof, zoals een geneesmiddel, beter door de plasmamembraan te sluzen. De techniek wordt ook frequent gebruikt voor de penetratie van cosmetica in de huid.

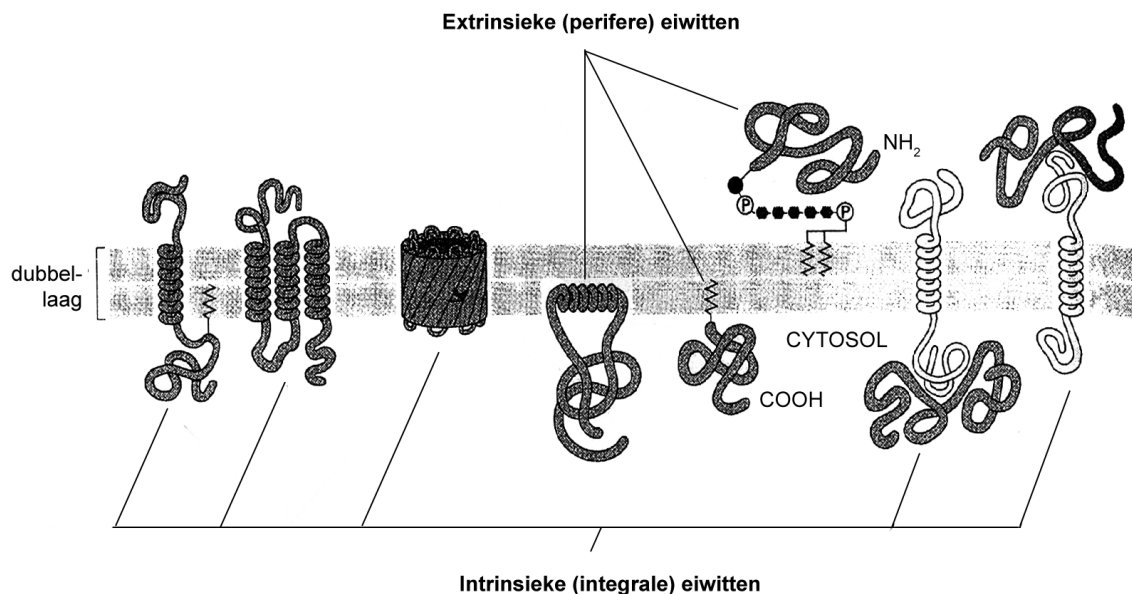
Zulke liposomen zijn in principe twee lagen van lipidenmoleculen, waarvan de hydrofiele gedeelten naar buiten zijn gericht. We hebben hier dus te doen met een lipidendubbellaag.

De basisstructuur van alle membraantypes (plasmamembraan, tonoplast, chloroplast- en mitochondriale membranen...) zijn dubbellaagen. Een voorwaarde voor de vorming is wel dat de lipiden moleculen zijn **met twee vetzuurstaarten**. Lysofosfolipiden met slechts één vetzuurstaart en sterolen met een star systeem van ringstructuren vormen geen dubbellaagen.



Elk celorganel, dus ook de plasmamembraan, bevat eiwitten die mee hun functies bepalen. Maar niet enkel de aanwezigheid van specifieke eiwitten is belangrijk, ook de wijze van associatie met de dubbellaag. Naargelang hun positie (schikking) zijn er intrinsieke (integrale) en extrinsieke (perifere) eiwitten.

Extrinsieke eiwitten zijn slechts zwak gebonden aan de oppervlakte van de dubbellaag. (Ze komen snel vrij door bv. een wasbeurt met een zoutoplossing, waardoor de interactie tussen het eiwit en de dubbellaag verbroken wordt.)



Intrinsieke eiwitten steken door de membraan en fungeren dikwijls als verbinding tussen binnen- en buitenzijde van het organel. Structureel zijn het dikwijls  $\alpha$ -helixen: dit is een typische spiraalvormige structuur opgebouwd uit specifieke aminozuren die er voor zorgen dat het eiwit verankerd zit in de membraan. (De membraan moet opgelost worden door middel van detergenten om deze eiwitten vrij te krijgen.)

Intrinsieke eiwitten kunnen complexe structuren vormen: van een eenvoudige type waarbij slechts één  $\alpha$ -helix de membraan overspant tot een tiental en meer. Gelijkaardige proteïnen vormen dikwijls samen een proteïnecomplex. Zo ontstaan ook de zogeheten kanaalproteïnen die een hydrofiele verbinding maken tussen binnen- en buitenzijde van de dubbellaag. Deze structuren zijn belangrijk voor de verplaatsing van de  $K^+$ -ionen in en uit de stomasluitcellen.

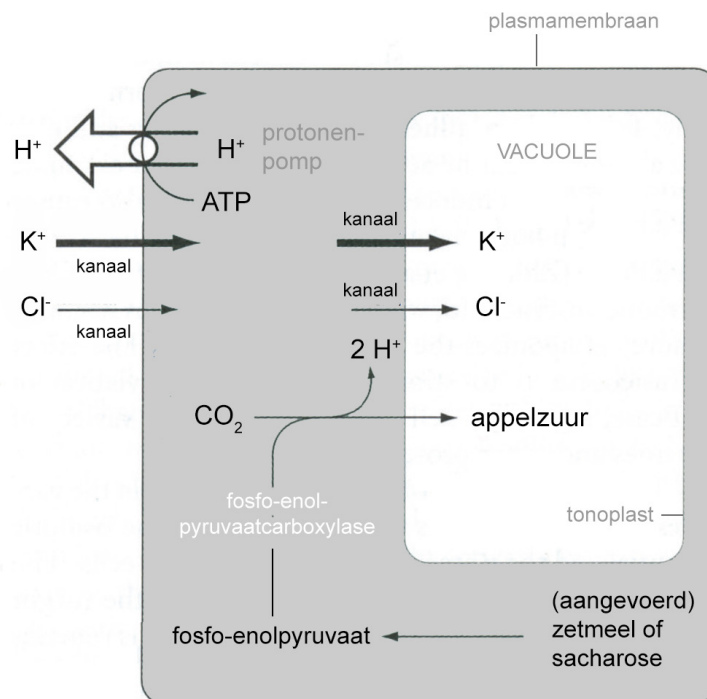
## DE ATP-ASE POMP

Als  $K^+$  bij het openen van huidmondjes het plasmolyserend ion is, dan moet het dus in hoge concentraties in de vacuole aanwezig zijn. Enkel een verschil in concentratie buiten en binnen de cel zorgt voor de diffusie van het water, waardoor de sluitcel gaat zwellen en het huidmondje open gaat.

Hier stelt zich het probleem dat geladen deeltjes niet zomaar door de plasmamembraan kunnen diffunderen. Zoals gezegd zijn deze membranen lipidendubbellen en vrijwel ondoordringbaar voor ionen. Een mogelijkheid is het bestaan van transportkanalen. Zoals vermeld vormen deze proteïnecomplexen waterige poriën die doorheen de membraan steken.

Een diffusieweg alleen is echter onvoldoende. Er moet ook nog een diffusiekracht zijn die de kaliumionen doorheen de porie transporteert. Die drijfkracht wordt geleverd door een ATP-ase of protonenpomp. De vaststelling dat de pH daalt bij het openen van een huidmondje is hier een aanwijzing voor. Concreet betekent dit dat protonen ( $H^+$ -ionen) van de omgevende cellen (vnl. de nevcellen) naar de sluitcellen worden vervoerd.

Aangezien een proton een geladen deeltje is, is het ATP-ase een protonkanaal. Voor het pompen van deze protonen is energie nodig. Daar zorgt de splitsing van ATP in ADP en  $P_i$  voor, waarbij de vrijkomende energie de pomp doet werken.

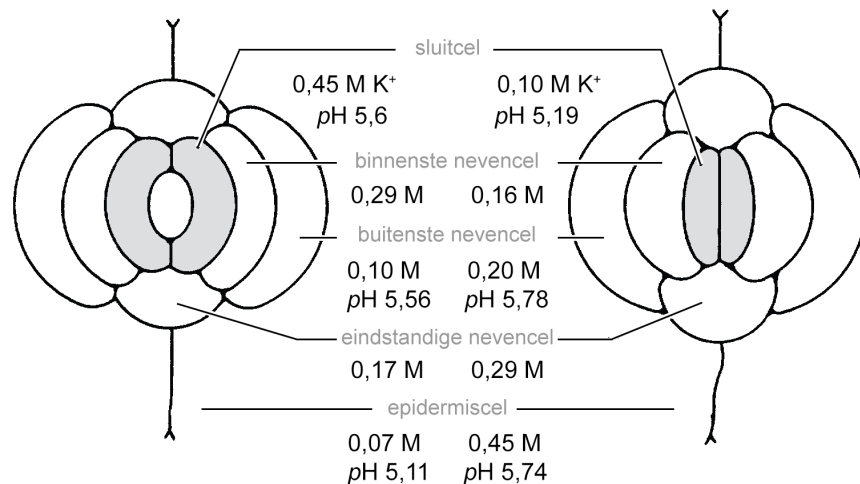


*Een vereenvoudigd model van de ionenstroom in de sluitcellen wanneer het huidmondje open staat. De opname van kaliumionen wordt mogelijk gemaakt door een ATP-ase protonenpomp in de plasmamembraan.*

*Door het opslaan van ionen in de vacuole verlaagt de waterdruk in de sluitcellen, waardoor het osmotisch opnemen van water door die cellen gestimuleerd wordt en de turgor stijgt.*

Door de verplaatsing van de positieve lading ontstaat er een verhoogd elektrisch spanningsverschil (hyperpolarisatie) over de plasmamembraan. Dit ligt aan de basis van de drijfkracht die de  $K^+$ -ionen via hun specifiek transportkanaal naar het cytoplasma van de sluitcellen stuurt.





*Kwantitatieve veranderingen in de  $K^+$ -concentraties en de pH-waarden in de vacuolen van de diverse cellen die samen het huidmondje vormen bij *Commelina communis* in open en gesloten toestand*

Natuurlijk zou de influx van  $K^+$ -ionen dat spanningsverschil onmiddellijk teniet doen en dus ook het osmotisch effect nodig voor het aanzuigen van water. Daarom neemt de sluitcel ook negatieve ladingen op. Een gedeelte hiervan zijn  $Cl^-$ -ionen die via een ander specifiek kanaal worden aangevoerd. De productie van organische zuren (voornamelijk malaat = appelzuur) zorgt voor een tweede bron van anionen. Deze zullen niet alleen de lading in balans houden maar door de anionvorming (dissociatie) ook protonen in de cytosol brengen, nodig voor de verplaatsing via de ATP-protonenpomp.

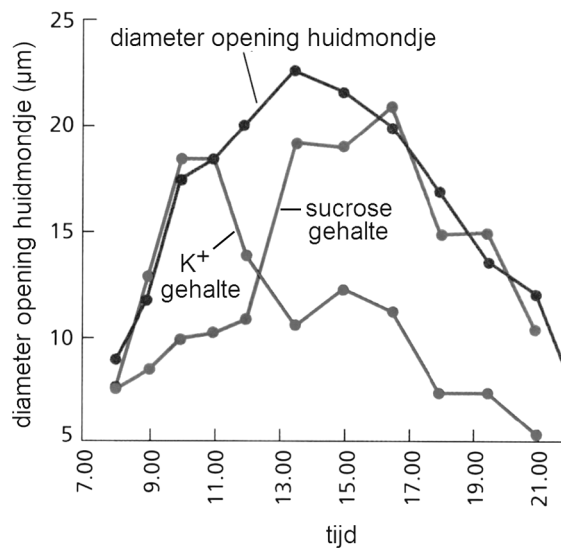
De malaatconcentratie in de sluitcellen van geopende huidmondjes is vijfmaal groter dan in gesloten huidmondjes. Het malaat wordt gevormd uit het zetmeel aanwezig in de chloroplasten of uit sacharose dat aangevoerd wordt. Beide worden omgezet tot fosfoënylpyruvaat en uiteindelijk tot malaat via het enzym fosfoënyl-pyruvaatcarboxylase dat massaal aanwezig is in het cytoplasma.

$K^+$ -opname is dus het resultaat van het in gang schieten van de protonenpomp. De vraag is nu wat daarvan de oorzaak is.

### **Sucrose: toch een osmotische actieve oplossing in de sluitcellen**

Een studie waarbij het dagelijkse verloop van de stomatale beweging werd nagegaan, toonde aan dat naast de invloed van  $K^+$  influx op de inductie van de stomatale opening er ook een invloed moest zijn van een ander osmoticum.

Uit de grafiek opvolgende bladzijde blijkt dat het verloop van de stomatale beweging de  $K^+$ -kinetiek niet volgt. Een tweede fase, die klaarblijkelijk niet door  $K^+$  aanwezigheid wordt gedomineerd, valt wel samen met de aanwezigheid van sucrose, waarvan de concentratie langzaam toeneemt. De sucrosefase kan mogelijk geassocieerd zijn met de functionele koppeling van de stomatale conductie in de epidermis en met de fotosynthesesnelheid



*Het dagelijks verloop van het stomatale openen in verband met het K<sup>+</sup>- en sucrosegehalte in sluitcellen van bladeren van de boon *Vicia faba*. De resultaten geven aan dat de verandering in osmotische potentiaal nodig voor het openen van de huidmondjes gemedieerd wordt door K<sup>+</sup> in de morgen maar in de namiddag door sucrose.*

in de mesofyllcellen. Het is mogelijk dat dit sucrose afkomstig is van gehydrolyseerd zetmeel. Niet altijd echter zijn zetmeelkorrels aanwezig. Maar er is natuurlijk nog de mogelijkheid dat sucrose gewoonweg door de fotosynthese van de chloroplasten wordt gegenereerd. Zelfs al zijn er geen chloroplasten in de sluitcellen aanwezig, toch blijft de sucrose-invloed op de stomatale opening nog mogelijk door aan te nemen dat er een sucroseopname bestaat van sucrose geproduceerd in de mesofyllcellen.

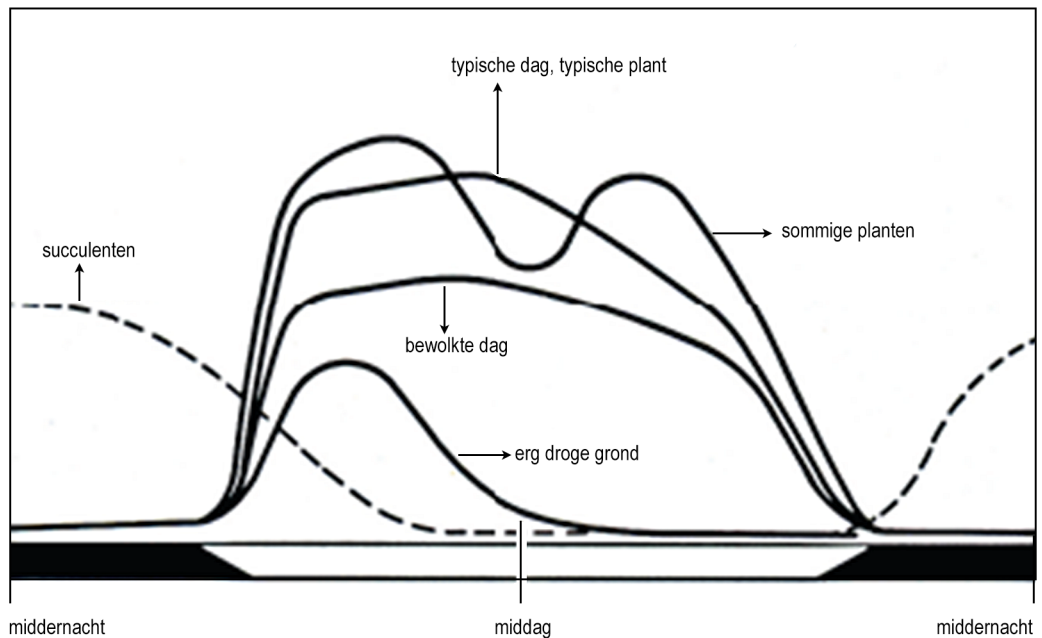
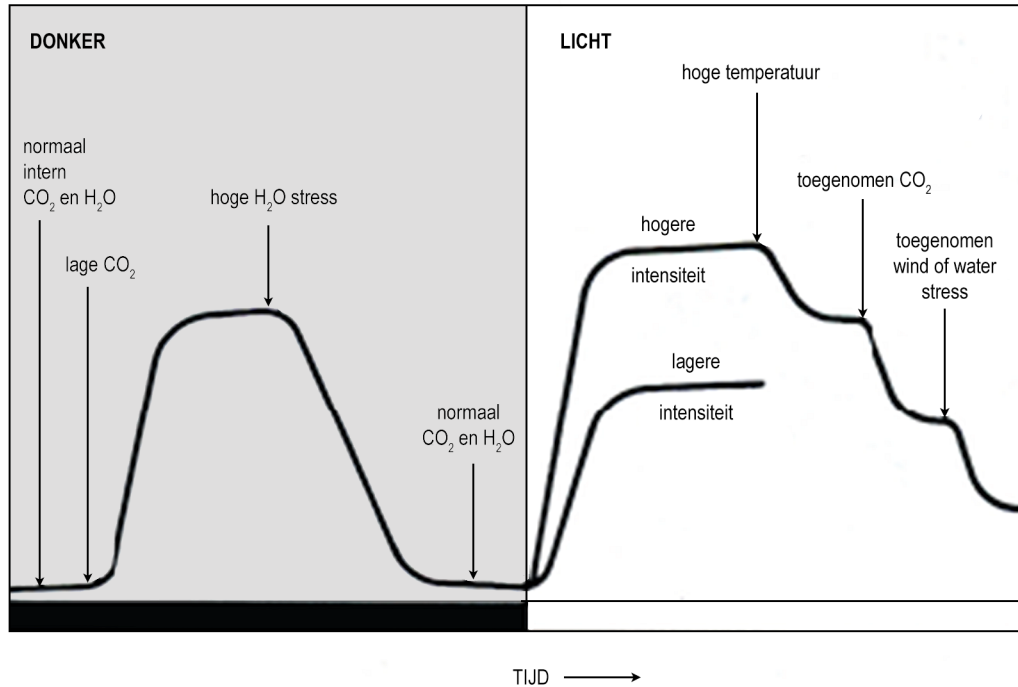
Na de ontdekking van de K<sup>+</sup>-opname en de geassocieerde fenomenen, kwam de zetmeel/suiker hypothese in diskrediet. Aangezien de sucroseconcentraties in de loop van de dag gedeeltelijk overeen komen met het verloop van de beweging van de stomata, is de rol van de sucrosefase in de huidmondjesbeweging niet zomaar te verwerpen, en dat niet alleen bij het openen ervan maar ook bij het sluiten.

## UITWENDIGE FACTOREN BEÏNVLOEDEN DE STOMATALE BEWEGING

Licht is één van de factoren die de stomatale bewegingen beïnvloeden. Voor sommige planten neemt de stomatale opening toe met de lichtintensiteit tot de volle fotonfluxdensiteit van het zonlicht ( $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) bereikt wordt. Voor andere is dit enkel ongeveer  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Licht heeft een indirect effect op de sluitbeweging van huidmondjes en dit is sterk gekoppeld aan de invloed van CO<sub>2</sub>. In het algemeen doet een laag CO<sub>2</sub>-gehalte de huidmondjes opengaan. Aangezien de fotosynthese CO<sub>2</sub> verbruikt, kan het niveau van het CO<sub>2</sub>-gehalte in de intercellulaire ruimte en dus ook in de sluitcellen dalen. Hierdoor

gaan de huidmondjes open. Het omgekeerde is ook waar, nl. het sluiten van huidmondjes gaat door bij hoge CO<sub>2</sub>-concentraties.

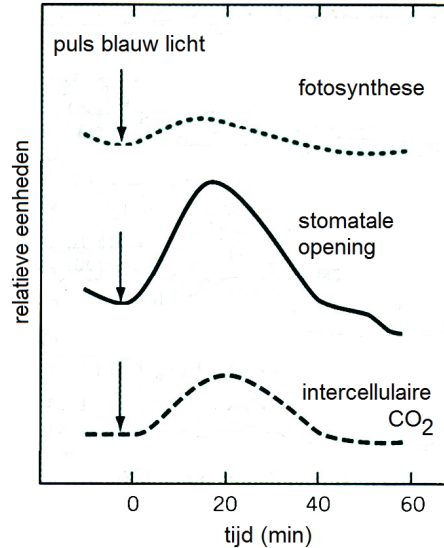


*Samenvattende figuur voor de invloed van een aantal omgevingsfactoren op de stomatale reacties*

Hoge  $\text{CO}_2$ -concentraties zijn het gevolg van de respiratie in het donker. Blijkbaar is het  $\text{CO}_2$  gehalte ook een 'trigger' van de stomatabeweging. Het mechanisme dat met de  $\text{CO}_2$ -gevoeligheid samenhangt is echter onbekend.

Licht heeft echter ook een rechtstreeks effect. Hiermede wordt niet bedoeld dat via de fotosynthese assimilaten worden geproduceerd die een invloed zouden hebben op de osmotische potentiaal die heerst in de sluitcellen. Het gaat eerder om het specifiek effect dat blauw licht heeft op de stomatale beweging. Lage lichtintensiteiten (lager dan  $15 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) van blauw licht veroorzaken nog opening. Terwijl rood licht dit niet (meer) doet.

*Bladeren van *Commelina communis* kregen op een achtergrond van rood licht een puls blauw licht van 30 s. Hierdoor gingen de huidmondjes open en steeg de fotosynthese en het gehalte intercellulaire  $\text{CO}_2$ .*

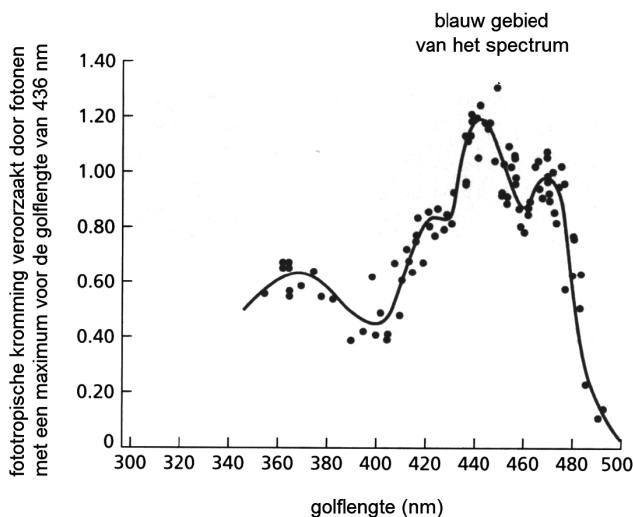


Actiespectroscopie heeft uitgemaakt dat het gaat om een reactie van een typische blauw licht fotoreceptor.

Actiespectroscopie is een methode, waarbij de vorm van het absorptiespectrum van de fotoreceptor kan gereconstrueerd worden. Door het blad te bestralen met monochromatisch licht met één van de golflengten van zichtbaar licht zullen de huidmondjes alleen opengaan wanneer de fotoreceptor geactiveerd wordt.

Men bekomt een actiespectrum wanneer men deze golflengten uitzet tegen de activiteit (in ons geval het openen van de huidmondjes).

Dit is het principe, maar in realiteit is het resultaat niet altijd eenduidig. Voor door blauw licht geïnduceerde verschijnselen werden diverse actiespectra gemaakt, die erg gelijkend zijn.



*Actiespectrum voor blauw licht gestimuleerde fototropie. Het 'drie-vinger' patroon in het spectraalgebied van 400-500 nm is karakteristiek voor bepaalde blauw licht responsen zoals het openen van huidmondjes.*

Het zogeheten ‘drie-vinger’-patroon is wel typisch, maar laat niet toe om de aard van de fotoreceptor te definiëren. Het kan een flavine of een carotenoïde zijn die beide een zeer gelijkend absorptiespectrum bezitten.

In onderstaande tabel worden een aantal typische blauw licht geïnduceerde fenomenen weergegeven met de vermelding van de mogelijke betrokken fotoreceptor.

BLAUW LICHT GEÏNDUCEERDE FENOMENEN	
Fenomeen	Vermoedelijke fotoreceptor
<ul style="list-style-type: none"> <li>- hypocotylelongatie inhibitie</li> <li>- cotyledonenexpansie</li> <li>- membraandepolarisatie</li> <li>- petioolelongatie</li> <li>- anthicyaninenproductie</li> <li>- circadianeclock regulatie</li> <li>- bloei-inductie</li> </ul>	Cryptochromen CRY1 en CRY2
<ul style="list-style-type: none"> <li>- fototropische respons</li> <li>- chloroplastbeweging</li> <li>- groeiinhibitie van geëtioleerde kiemplanten</li> <li>- bladexpansie</li> </ul>	Fototropinen PHOTO1 en PHOTO2
<ul style="list-style-type: none"> <li>- stomatale opening</li> </ul>	Zeaxantine

Dat er toch diverse fotoreceptoren worden voorgesteld voor de inductie van specifieke blauw licht fenomenen is te danken aan de recente ontwikkelingen in de moleculaire biologie. Heel dikwijls heeft men de betrokken genen kunnen achterhalen door het gebruik van mutanten en alhoewel het genproduct (de fotoreceptormolecule zelf) niet werd geïsoleerd, kent men toch reeds diverse eigenschappen ervan.

Zo zijn de cryptochromen (CRY1,CRY2) proteïnen die op fotolyasen lijken. Dit zijn fotoreceptoren die door blauw licht geactiveerd worden en die in het levende rijk algemeen voorkomen en die ondermeer beschadigd DNA kunnen repareren.

Net zoals bij fotolyasen wordt blauw licht geabsorbeerd door een pterine gekoppeld aan flavineadeninedinucleotide. Cryptochromen hebben echter geen ‘fotorepair’-activiteit en de actiewijze blijft nog onbekend.

Fototropines (PHOT1, PHOT2) zijn gedeeltelijk kinasen en ook flavine bindende proteïnen. Homologen komen voor in *E. coli* en *Azotobacter* waar ze als zuurstof-sensors fungeren. Bij *Drosophyla* en vertebraten reguleren ze K<sup>+</sup>-kanalen. Ook hier zoekt men nog naar het actiemechanisme.

Voor wat de blauw-licht inductie van de stomatale opening betreft wordt soms nog in de

literatuur vermeld dat fototropines of cryptochromen betrokken zijn bij de inductie ervan. Dit blijkt niet het geval te zijn. Een hypothese stelt dat een carotenoïde-proteïne deze reactie zou reguleren. Een mutant van *Arabidopsis* mist de specifieke blauw licht reactie die tot stomatale opening leidt en dit lijkt geassocieerd te zijn met het falen van een enzym dat violoxanthine omzet tot zeaxanthine. Beide zijn carotenoïden die deel uitmaken van de xanthofylcyclus; een mechanisme dat chlorofylen moet beschermen tegen te hoge schadelijke lichtintensiteiten. De suggestie is dat fotosynthese via de xanthofylcyclus onrechtstreeks betrokken zou zijn bij de stomata-opening.

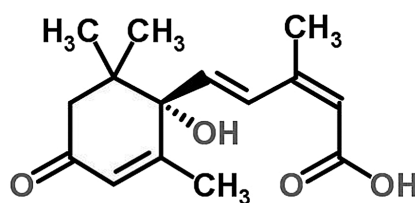
Het is dus duidelijk dat er nog aardig wat werk aan de winkel is over de aard van de fotoreceptor en zijn wijze van actie.

## SLUITEN VAN HUIDMONDJES

Zo de inductie en het openen van huidmondjes ingewikkeld blijkt te zijn, is het sluiten van huidmondjes zeker zo complex. Lang werd aangenomen dat het om een relatief eenvoudig fenomeen ging, gekoppeld aan het passief uitlekken van de betrokken ionen en het malaat (appelzuur). Stomata reageren - naast op licht - op uitwendige invloeden zoals CO<sub>2</sub>-gehalte en temperatuur. Temperatuur is nauw geassocieerd met de waterstatus van de plant. Te hoge temperatuur leidt tot waterstress m.a.w. waterevaporatie treedt op en de turgor van de sluitcellen daalt. Huidmondjes gaan sluiten. De temperatuursinvloed is dus onrechtstreeks en ondermeer terug te brengen tot de beïnvloeding op de metabolische activiteit van de sluitcellen of zelfs van het blad als geheel. Temperatuur heeft namelijk invloed op de fotosynthese / respiratiebalans en bijgevolg op het CO<sub>2</sub>-gehalte. Stomata van sommige soorten vertonen dikwijls een karakteristieke 'middag'sluiting die tot een tijdelijke vermindering van de fotosynthese leidt.

## ABA

Naast het snelle fenomeen, dat wel eens hydropassieve sluiting wordt genoemd, bestaat er een hydroactieve sluiting die met de totale waterstatus van de plant verband houdt. In beide gevallen is de plantenregulator (groeihormoon) abscissinezuur (ABA) betrokken. ABA speelt een regulerende rol bij tal van fysiologische fenomenen veelal als antagonist van andere hormonen (auxines, gibberellines, cytokinines....) ABA wordt in verband gebracht met o.m. de regulatie van groei, zaadrijping en vooral het sluiten van huidmondjes bij waterstress.



ABA

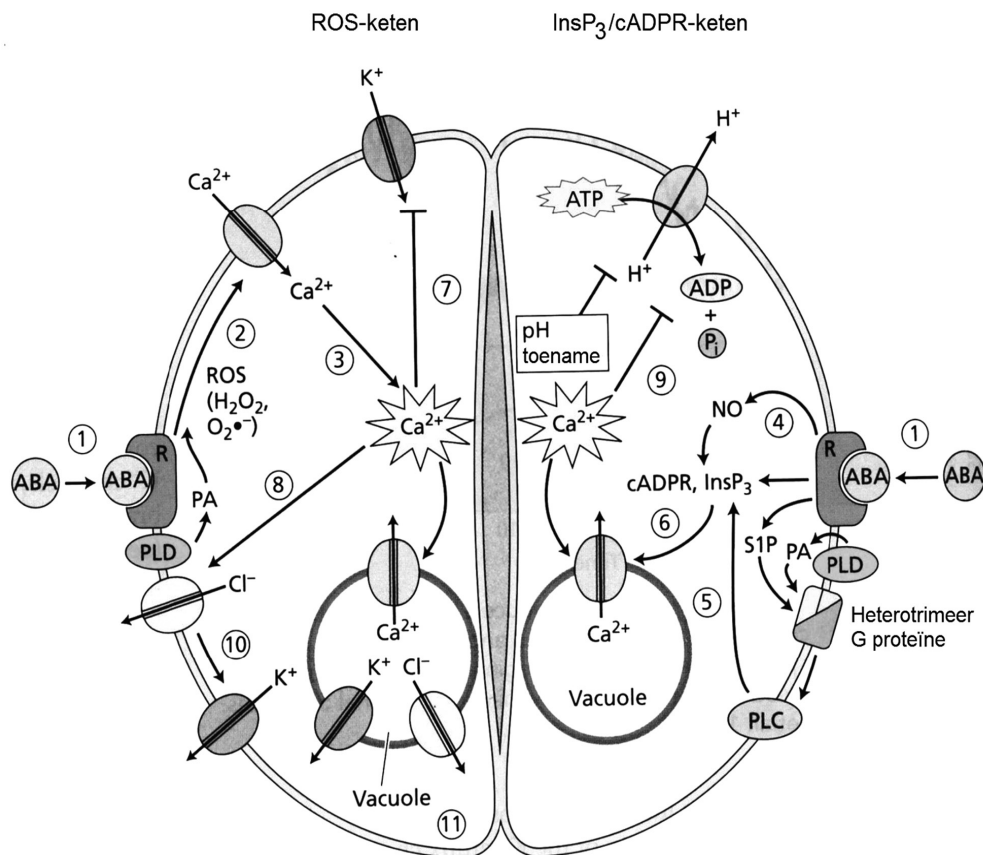
De naam abscissinezuur werd aan dit hormoon gegeven omdat werd gedacht dat er een verband was met bladval (abscissie). Dit blijkt niet zo te zijn. ABA speelt een rol bij het verouderingsproces (senescentie) van bladeren. Het afvallen zelf (een actief fenomeen) staat onder ethyleencontrole (ethyleen is een gasvormig hormoon). ABA is normaal in bladeren aanwezig en wordt door mesofylcellen aangemaakt en opgeslagen in de chloroplasten. Bij gematigd waterverlies wordt ABA via de apoplast vervoerd naar de sluitcellen en veroorzaakt de sluiting. Al 7 minuten na de eerste tekenen van sluiting gaat de ABA-synthese toenemen. De kleine hoeveelheid ABA in de bladeren is blijkbaar een eerste verdediging tegen de dreigende uitdroging en de synthese zorgt voor voldoende hormoon voor een permanente sluiting. Het resultaat is een reductie van waterverlies. ABA wordt een antitranspirant genoemd.

In tegenstelling tot de snelle respons, kent het lange-termijn proces een verandering in het gen-expressie patroon wat onmiddellijk veronderstelt dat een signaaloverdrachtketen moet bestaan tussen inductie en het tot stand komen van een fenomeen, in casu het sluiten van huidmondjes. Een signaaloverdrachtketen (transductieketen) dient te beginnen met de binding van ABA op een receptorproteïne. Aangezien ABA ongeveer 10 % van de genen in *Arabidopsis* en rijst reguleert, gekoppeld aan tal van fysiologische responsen, zijn er tal van receptorproteïnen, die op plastiden, de plasmamembranen en de nucleus gelokaliseerd zijn.

Men gaat ervan uit dat ze mogelijk alle betrokken zijn bij transductieketens die leiden tot het sluiten van huidmondjes indien nodig. Mutanten hebben duidelijk gemaakt dat bij het uitschakelen van een bepaald gen, het beoogde nihiliserend effect toch niet wordt bereikt. Dit fenomeen wordt **redundantie** genoemd dwz. een andere reactieketen wordt ingeschakeld via de activatie van een andere receptor. Zo ontstaat een netwerk dat er voor zorgt dat het beoogde effect (sluiten van de huidmondjes) toch wordt bereikt onder een reeks van veranderlijke condities. Met andere woorden: de plant is niet voor een gaatje te vangen.

Alhoewel er heel wat onzekerheid bestaat over de aard van de diverse ABA-receptoren zelf, zijn er dank zij biochemische, cellulaire en genetische benaderingen heel wat ABA-responselementen en transcriptiefactoren gekend. Zij blijken zelfs in eenzelfde celtype tot meer dan één signaaltransductieketen (redundantie) te behoren. Een model (zie volgende bladzijde) vat de activiteiten van de verschillende deelnemende factoren (dikwijls second messengers) samen in twee ketens: de **ROS-keten** en **InsP<sub>3</sub>/cADPR-keten**.

De rol van Ca<sup>2+</sup> is in beide cruciaal. De oorzaak van het sluiten is het massaal uitstromen van K<sup>+</sup>-ionen en anionen (Cl<sup>-</sup> en malaat<sup>2-</sup>) via kanalen van de plasmamembraan uit de sluitcellen ten gevolge van de depolarisatie van het plasmamembraanpotentiaal door de verhoging van positieve lading (Ca<sup>2+</sup>). Daarenboven induceert de sterke toegenomen ABA concentratie receptorbinding een verhoging van de Ca<sup>2+</sup>-concentratie en de intercellulaire pH. Hierdoor wordt de plasmamembraan H<sup>+</sup>-pomp geïnhibeerd, waardoor ook bijgedragen wordt aan een verdere membraanpolarisatie. De sterke daling van de ionenconcentratie in de cel veroorzaakt het osmotisch verlies van water en het krimpen van de sluitcellen en dus het sluiten van het huidmondje.



<b>cADPR</b> cyclisch adenosine-difosfaat-ribose	<b>NO</b> stikstofoxide	<b>PLC</b> fosfolipase C	<b>S1P</b> sfgosine-1-fosfaat
<b>InsP<sub>3</sub></b> inositol 1,4,5-trifosfaat	<b>PA</b> fosfatidinezuur	<b>ROS</b> reactieve zuurstofverbinding	

1. ABA bindt aan zijn receptoren op de plasmamembraan
2. Vorming van zuurstofradicalen (ROS).
3. De influx van Ca<sup>2+</sup> zorgt voor verdere vrijstelling van Ca<sup>2+</sup>.
4. ABA stimuleert de NO-productie waardoor het cADPR-niveau stijgt.
5. ABA doet het InsP<sub>3</sub>-niveau stijgen via een reactieketen waarbij S1P, heterotrimerie G proteïnes en fosfolipase C en D (PLC en PLD) betrokken zijn.
6. Stijgende cADPR- en InsP<sub>3</sub>-niveaus veroorzaken de activatie van bijkomende Ca<sup>2+</sup>-kanalen op de tonoplast en een verder vrijstellen van Ca<sup>2+</sup> uit de vacuole.
7. Verhoogde Ca<sup>2+</sup>-concentraties blokkeren de K<sup>+</sup>-inkanalen op de plasmamembraan.
8. Stijgend intercellulair Ca<sup>2+</sup> doet de Cl<sup>-</sup> uitkanalen open gaan, waardoor depolarisatie van de plasmamembraan optreedt.
9. De plasmamembraan protonpomp wordt geïnhibeerd door het verhoogd Ca<sup>2+</sup> gehalte en door de stijgende pH treedt verdere depolarisatie op.
10. Deze depolarisatie activeert de K<sup>+</sup>-uitkanalen op de plasmamembraan.
11. K<sup>+</sup> en anionen treden uit de vacuole naar de cytosol.



## GERAADPLEEGDE WERKEN

- Briggs, Winslow G., Olney A., *Photoreceptors in Plant Photomorphogenesis to date. Five Phytochromes, Two Cryptochromes, One Phototropine and One Superchrome*, Plant Physiology, January 2001, Vol. 125, pp. 85-88.
  - Eschrich Walter, 1995, *Funktionelle Pflanzenanatomie*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
  - Hopkins, William G., 1999, *Introduction to Plant Physiology*, Second Edition, John Wiley & Sons Inc., U.S.A.
  - Salisbury, Frank B. & Ross, Cleon W., 1978, *Plant Physiology*, Second Edition, Wadsworth Publishing Company Inc., Belmont, U.S.A.
  - Taiz, Lincoln & Zeiger, Eduardo, 2010, *Plant Physiology*, 5th Edition, Sinauer Associates Inc., Sunderland U.S.A.
-

