

Instytut Fizyki UMCS
Dyrektor: prof. dr Stanisław Szpikowski

Jan SIELEWIESIUK

**Wpływ objętościowy cytoplazmy przez plazmodesmy węzłów glonów
Characeae — analiza teoretyczna**

Объёмное вытекание цитоплазмы через плазмодесмы узлов водорослей
Characeae — теоретический анализ

The Volume Outflow of Cytoplasm through the Plasmodesmata in the
Nodes of *Characeae* Algae — a Theoretical Analysis

WSTĘP

Plechcy glonów z rodziny ramienic są zbudowane z dużych komórczaków — międzywęźli, które oddzielone są od siebie pojedynczymi warstwami mniejszych komórek — węzłami. Przypisuje się im zwykle funkcję łącznika, zapewniającego transport substancji, zwłaszcza substancji mineralnych i produktów fotosyntezy od jednego międzywęźla do sąsiedniego [6, 7].

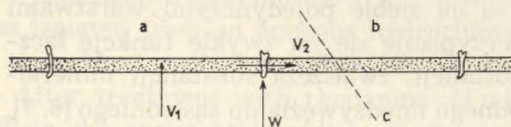
Gdyby jednak transport substancji był jedyną funkcją węzła, można by było uznać węzeł za strukturę nieadekwatną do spełnianej funkcji, ponieważ o wiele sprawniejszy byłby transport w plesze nie podzielonej na komórki. Poza rolę transportera węzeł spełnia co najmniej jeszcze jedną rolę, nie docenianą w literaturze. Przy uszkodzeniu któregoś z międzywęźli części rośliny oddzielone od uszkodzonej komórki węzłami pozostają żywe. Węzeł jest więc strukturą, która w przypadku uszkodzenia jednego z międzywęźli zabezpiecza sąsiednie komórki przed śmiercią. Ta funkcja węzła, jak się wydaje, musiała mieć istotne znaczenie w ewolucji ramienic.

Uszkodzenie jednego z międzywęźli stwarza niebezpieczeństwo śmierci sąsiednich komórek i prawdopodobnie zapoczątkowuje skomplikowane procesy reparacyjne w węzłach przylegających do uszkodzonego międzywęźla. W pracy rozważany jest tylko problem wpływu objętościowego cytoplazmy. Wiadomo, że wewnątrz żywych komórek ramienic panuje pokażne ciśnienie hydrostatyczne (turgor) rzędu 6 atmosfer. Z drugiej strony, jak wyka-

zały badania mikroskopowe Spanswicka i Costertona [22] oraz Śpiewli [23], w ściankach komórek węzła znajdują się plazmodesmy o średnicy 50—60 nm, dzięki którym cytoplazma całej rośliny jest ciągła. Jeżeli w pewnym międzywęźlu na skutek uszkodzenia ciśnienie hydrostatyczne spadnie do poziomu ciśnienia zewnętrznego, to na sąsiednich węzłach wytworzy się różnica ciśnień rzędu 6 atmosfer, co może spowodować wypływ objętościowy cytoplazmy poprzez plazmodesmy. Praca jest poświęcona zbadaniu możliwości takiego wypływu i ewentualnych mechanizmów zmniejszających ten wypływ.

MATEMATYCZNE SFORMUŁOWANIE PROBLEMU

Kilka komórek międzywęzłowych przedzielonych węzłami przedstawiono schematycznie na ryc. 1. Załóżmy, że komórka *b* została uszkodzona (odcięta). Ciśnienie w komórce *a* bezpośrednio po obcięciu komórki *b* nie ulega zmianie, natomiast w komórce *b* maleje do zera (dla przepływu cieczy istotna w tym przypadku jest różnica ciśnień, zatem można przyjąć stałe ciśnienie zewnętrzne za równe zero). Pod wpływem powstałej różnicy ciśnień *p* zawartość komórki *a* wypływa poprzez plazmodesmy węzła na zewnątrz.



Ryc. 1. Odcinek rośliny *Nitellopsis obtusa* z węzłami: *a*, *b* — międzywęzła, *W* — węzeł, *C* — miejsce przecięcia międzywęzła *b*, *V*₁ — objętość wody wpływającej do komórki *a* przez powierzchnię boczną, *V*₂ — objętość cytoplazmy wypływającej z komórki *a* przez plazmodesmy

Wypływowi temu towarzyszy obniżanie się ciśnienia wewnątrz komórki. Na skutek obniżania się ciśnienia następuje kurczenie się ścianki komórkowej i osmotyczne ssanie wody ze środowiska do wnętrza komórki. Dopływ wody ze środowiska zmniejsza stężenie osmotycznie czynnych substancji wewnątrz komórki i powoduje obniżenie ciśnienia osmotycznego wewnątrz komórki. Procesy te można opisać układem równań (1—6).

$$dV_1 = kS(\Pi - p)dt \quad (1)$$

$$dV_2 = A p dt \quad (2)$$

$$dV = dV_1 - dV_2 \quad (3)$$

$$\Pi = cRT \quad (4)$$

$$dp = \frac{\varepsilon}{V_0} dV \quad (5)$$

$$\frac{dc}{dt} = - \frac{C}{V} \frac{dV_1}{dt} \quad (6)$$

gdzie: V_1 — objętość wody wpływającej ze środowiska do międzywęzła a (patrz ryc. 1), V_2 — objętość cytoplazmy wypływającej z komórki a przez węzeł, V — objętość komórki międzywęzłowej a , p — ciśnienie wewnątrz komórki a (dokładniej różnica ciśnień między wnętrzem komórki a i ośrodkiem, Π — ciśnienie osmotyczne wewnątrz komórki a (dokładniej — różnica ciśnień osmotycznych), c — stężenie molowe cząsteczek decydujących o wielkości ciśnienia osmotycznego w komórce a , t — czas liczony od chwili przecięcia komórki b , k — współczynnik przepuszczalności wody przez błonę komórkową, S — powierzchnia komórki międzywęzłowej a , ε — moduł sprężystości ścianki komórkowej, R — stała gazowa, T — temperatura absolutna.

Przeanalizujmy sens fizyczny poszczególnych równań.

Równanie (1) jest równoważne stwierdzeniu, że strumień wody wpływającej do komórki jest wprost proporcjonalny do różnicy między ciśnieniem osmotycznym roztworu wypełniającego komórkę a ciśnieniem hydrostatycznym wewnątrz komórki. Współczynnik przepuszczalności k , jak wynika z pracy T a z a w y i K i y o s a w y [25], nie zależy od ciśnienia, nie zależy również od tego, czy przepływ wody następuje pod wpływem różnicy ciśnień osmotycznych, czy hydrostatycznych. Na temat zależności współczynnika k od kierunku przepływu wody zdania są podzielone [2, 11, 24, 25]. Jednak w rozważanym tutaj przypadku nie ma to znaczenia, gdyż przepływ wody następuje tylko w jednym kierunku — do wnętrza komórki. Wartość współczynnika k wynosi, zgodnie z danymi zawartymi w piśmiennictwie: około $1,089 \cdot 10^{-11}$ cm²/s/g, [2, 11], $1,347 \cdot 10^{-11}$ cm²/s/g [25], $2,11 \cdot 10^{-11}$ cm²/s/g [24].

Równanie (2) wyraża proporcjonalność prędkości przepływu cytoplazmy poprzez plazmodesmy do różnicy ciśnień na węźle. Jest ona konsekwencją założenia newtonowskiego charakteru wypływu. W pracach K a m i y i i K u r o d y [10] oraz D o n a l d s o n a [8] stwierdzono, że cytoplazma w komórce międzywęzłowej jest cieczą nienewtonowską i jej przepływ można opisać modelem potęgowym Ostwalda — de Waele'a (7) lub modelem pseudoplastyku Bingham'a (8)

$$\tau = -a \left(\frac{du}{dy} \right)^{1/3} \quad (7)$$

$$\tau = \tau_0 - \eta \frac{du}{dy}; \quad \tau > \tau_0 \quad (8)$$

gdzie τ — strumień pędu (siła tarcia wewnętrznego działająca na powierzchnię jednostkową), u — prędkość, y — współrzędna prostopadła do prędkości.

Do obliczeń bardziej przydatny jest model potęgowy (7), jednak wartość parametru a w tym modelu nie jest jednoznacznie określona, wg Donaldsona jest ona 12 razy większa niż według Kamiyi (parametr a wchodzi do wzoru na prędkość wypływu w trzeciej potęgę, tzn. prędkość wypływu przy zastosowaniu tego modelu byłaby określona z dokładnością do trzech rzędów wielkości). Poza tym model potęgowy jest — podobnie jak i inne modele nienewtonowskie — modelem empirycznym i stosuje się tylko w warunkach, w których zostały dopasowane parametry. Warunki przepływu cytoplazmy przez plazmodesmy są jednak zupełnie różne od warunków ruchu rotacyjnego wewnątrz międzywęzła, do których dopasowano model. W tej sytuacji zdecydowałem się na przyjęcie założenia, że cytoplazma w plazmodesmach zachowuje się jak ciecz newtonowska.

Przy powyższym założeniu stała A wyraża się wzorem (9)

$$A = N \frac{\pi r^4}{8 \eta L} \quad (9)$$

gdzie: N — liczba plazmodesm, r — średni promień plazmodesmy, η — współczynnik lepkości cytoplazmy, L — długość plazmodesmy. Wzór (9) jest bezpośrednią konsekwencją prawa Hagena-Poiseuille'a. Wartość stałej A oszacowano na podstawie danych mikroskopowych [22, 23], współczynnik lepkości cytoplazmy $\eta = 0,05 \text{ g/cm} \cdot \text{s}$ wzięto z pracy Pełkarska [17]. Przyjęty współczynnik lepkości jest charakterystyczny dla ciekłej fazy cytoplazmy (bez inkluzji). Zatem jest to praktycznie dolna granica dla wartości współczynnika lepkości. Należy więc liczyć się z możliwością, że obliczona w oparciu o taką wartość współczynnika lepkości stała A jest zawyżona. Również traktowanie plazmodesm jako walcowatych otworów prowadzi do zawyżenia stałej A . Wpływ obliczony na podstawie równań (1—6) będzie więc najprawdopodobniej większy od rzeczywistego. Wartość stałej A oszacowano na $1,12 \cdot 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s} \cdot \text{g}$.

Równanie (2) opisuje przepływ stacjonarny. Pominięcie procesów przejściowych nie wnosi praktycznie żadnego błędu do wyniku analiz, ponieważ charakterystyczny czas tych procesów ze względu na małe rozmiary plazmodesm jest rzędu 10^{-10} sek. [3]. Równania (3 i 4) nie wymagają objaśnień.

Równanie (5) jest „równaniem stanu” ścianki komórkowej i stwierdza, że zmiana ciśnienia w komórce jest proporcjonalna do względnej zmiany objętości. Liniowość tej zależności jest w badanym przypadku dobrym przybliżeniem, gdyż chodzi tu o małe zmiany objętości (maksy-

num 1%). Wartość modułu sprężystości waha się, według różnych autorów [2, 24], w granicach 10^8 — 10^9 dyn/cm². Ostatnie równanie (6) opisuje zachodzącą podczas wypływu objętościowego zmianę stężenia roztworu wewnątrzkomórkowego. Postać matematyczna tego równania nie jest tak oczywista jak poprzednich (1—5), dlatego też niżej podane jest jego wyprowadzenie. Zmianę stężenia w ciągu skończonego dostatecznie małego czasu Δt można wyrazić następująco:

$$\Delta c = \frac{cV - c\Delta V_2}{V + \Delta V_1 - \Delta V_2} - c$$

czyli

$$\Delta c = - \frac{c\Delta V_1}{V + \Delta V_1 - \Delta V_2}$$

stąd

$$\frac{\Delta c}{\Delta t} = - \frac{c}{V + \Delta V_1 - \Delta V_2} \frac{\Delta V_1}{\Delta t}$$

Przechodząc w ostatnim wzorze do granicy przy $\Delta t \rightarrow 0$ otrzymujemy

$$\frac{dc}{dt} = - \frac{c}{V} \frac{dV_1}{dt} \quad (6)$$

ROZWIĄZANIE UKŁADU RÓWNAŃ (1—6)

1. Rozwiązanie numeryczne

Układ równań (1—6) po przekształceniach sprowadza się do równania drugiego rzędu dla jednej zmiennej — ciśnienia (patrz przypis):

$$(p + \delta) \frac{d^2 p}{dt^2} + (\psi p + \varphi \delta) \frac{dp}{dt} + \left(\frac{dp}{dt} \right)^2 + \beta p^2 = 0 \quad (10)$$

$$\psi = \frac{\varepsilon}{V_0} (3A + 2kS)$$

$$\varphi = \frac{\varepsilon}{V_0} (A + kS)$$

$$\beta = \left(\frac{\varepsilon}{V_0} \right)^2 A(A + kS)$$

$$\delta = \varepsilon - p_0$$

V_0 , p_0 — objętość komórki a i ciśnienie wewnątrz komórki a przed przecięciem komórki b (ryc. 1). Dla V_0 i p_0 przyjęto wartości:

$$V_0 = 9,815 \cdot 10^{-3} \text{cm}^3$$

$$p_0 = 6 \cdot 10^6 \text{dyn/cm}^2$$

Mamy więc

$$p|_{t=0} = p_0 \quad (11)$$

Poza tym należy zbadać wartość $\frac{dp}{dt}$ dla chwili $t=0$. Z równania (5) wynika, że

$$\frac{dp}{dt} = \frac{\varepsilon}{V_0} \frac{dV}{dt} \quad (12)$$

Wstawiając (3) do (12) otrzymamy:

$$\frac{dp}{dt} = \frac{\varepsilon}{V_0} \left(\frac{dV_1}{dt} - \frac{dV_2}{dt} \right) \quad (13)$$

i wykorzystując równania (1) i (2)

$$\frac{dp}{dt} = \frac{\varepsilon}{V_0} [kS(\Pi - p) - Ap] \quad (14)$$

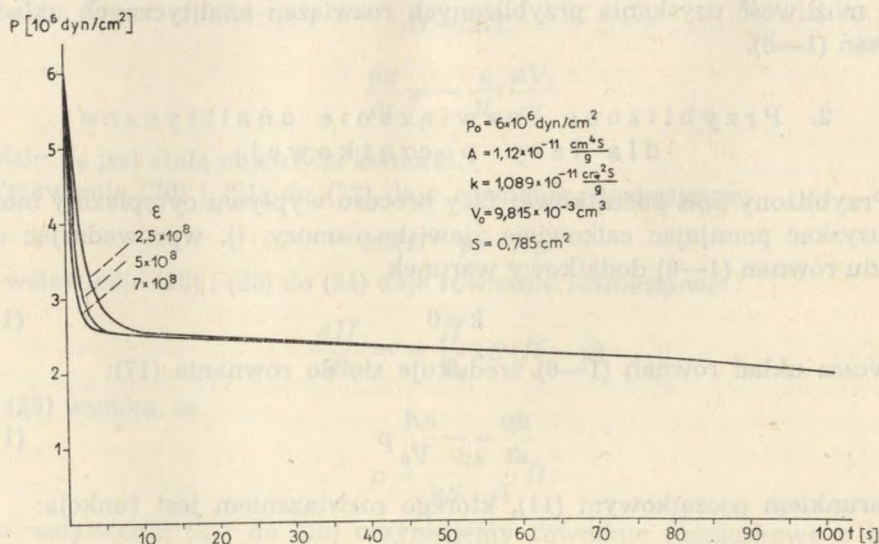
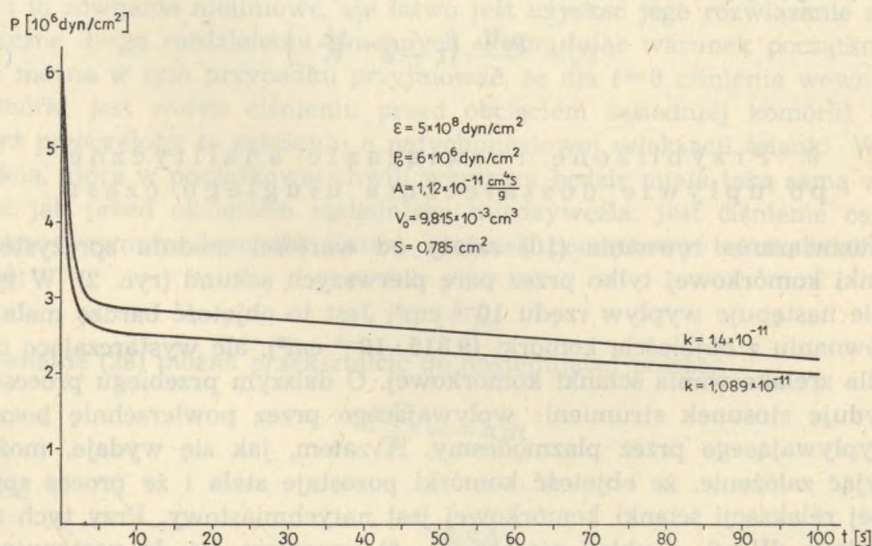
Dla chwili $t=0$ zachodzi $\Pi = p = p_0$, zatem

$$\left. \frac{dp}{dt} \right|_{t=0} = - \frac{\varepsilon A p_0}{V_0} \quad (15)$$

Równanie (10) wraz z warunkami początkowymi (11) i (15) jednoznacznie określa funkcję $p(t)$. Niestety jest ono równaniem nieliniowym i jego rozwiązanie nie można otrzymać w postaci analitycznej. Dlatego też po uprzednim sprowadzeniu tego równania do układu dwóch równań pierwszego rzędu, zostało ono rozwiązane numerycznie.

Przy określonych wartościach pozostałych parametrów (ryc. 2) ciśnienie wewnątrz komórki po obcięciu sąsiedniego międzywęźla spada w ciągu 5—10 sek do wartości $2,5 \cdot 10^6 \text{dyn/cm}^2$, co stanowi około 40% wartości początkowej i maleje dalej bardzo wolno. Od wartości ε zależy tylko szybko malejąca część rozwiązania. Wartość modułu sprężystości określa więc czas relaksacji ścianki komórkowej. Czas ten jest stosunkowo krótki i procesy zachodzące po upływie 10 sek. nie zależą od własności sprężystych ścianki komórkowej.

Zależność rozwiązania $p(t)$ od wartości współczynnika przepuszczalności k ma nieco inny charakter (ryc. 3) i jest ono niemal jednakowe dla obu wartości k w ciągu pierwszych sekund. O zmianach ciśnienia w komórce w ciągu pierwszych kilku sekund po obcięciu sąsiedniej komórki, decydują tu własności sprężyste ścianki (ryc. 2), natomiast wpływ zjawisk osmotycznych w tej fazie jest znikomy (ryc. 3). Z drugiej


Ryc. 2. Zależność funkcji $p(t)$ od wartości parametru ε

Ryc. 3. Zależność funkcji $p(t)$ od wartości parametru k

strony po upływie dostatecznie długiego czasu wartość ciśnienia wewnątrz komórki przestaje zależeć od modułu sprężystości ścianki (ryc. 2), ale wyraźnie zależy od prędkości osmotycznego ssania wody (ryc. 3). Fakt ten

daje możliwość uzyskania przybliżonych rozwiązań analitycznych układu równań (1—6).

2. Przybliżone rozwiązanie analityczne dla fazy początkowej

Przybliżony opis początkowej fazy procesu wypływu cytoplazmy można uzyskać pomijając całkowicie zjawisko osmozy, tj. wprowadzając do układu równań (1—6) dodatkowy warunek

$$k=0 \quad (16)$$

Wówczas układ równań (1—6) zredukuje się do równania (17):

$$\frac{dp}{dt} = -\frac{\varepsilon A}{V_0} p \quad (17)$$

z warunkiem początkowym (11), którego rozwiązaniem jest funkcja:

$$p = p_0 e^{-\frac{\varepsilon A}{V_0} t} \quad (18)$$

Z (18) w oparciu o równanie (2) można wyznaczyć objętość cytoplazmy wypływającej przez plazmodesmy:

$$V_2 = \frac{p_0 V_0}{\varepsilon} \left(1 - e^{-\frac{\varepsilon A}{V_0} t} \right) \quad (19)$$

3. Przybliżone rozwiązanie analityczne po upływie dostatecznie długiego czasu

Rozwiązanie równania (10) zależy od wartości modułu sprężystości ścianki komórkowej tylko przez parę pierwszych sekund (ryc. 2). W tym czasie następuje wypływ rzędu 10^{-5} cm³. Jest to objętość bardzo mała w porównaniu z objętością komórki ($9,815 \cdot 10^{-3}$ cm³), ale wystarczająco duża dla zrelaksowania ścianki komórkowej. O dalszym przebiegu procesów decyduje stosunek strumieni: wpływającego przez powierzchnię boczną i wypływającego przez plazmodesmy. A zatem, jak się wydaje, można przyjąć założenie, że objętość komórki pozostaje stała i że proces sprężystej relaksacji ścianki komórkowej jest natychmiastowy. Przy tych założeniach $dV=0$, a układ równań (1—6) upraszcza się do następującej postaci:

$$dV_1 = kS(\Pi - p)dt \quad (20)$$

$$dV_2 = A p dt \quad (21)$$

$$dV_1 = dV_2 \quad (22)$$

$$\Pi = cRT \quad (23)$$

$$\frac{dc}{dt} = -\frac{c}{V_0} \frac{dV_1}{dt} \quad (24)$$

gdzie V_0 jest stałą objętością komórki.

Wstawienie (20) i (21) do (22) daje równanie algebraiczne:

$$kS(\Pi - p) = Ap \quad (25)$$

a wstawienie (20) i (23) do (24) daje równanie różniczkowe:

$$\frac{d\Pi}{dt} = -\frac{\Pi}{V_0} kS(\Pi - p) \quad (26)$$

Z (25) wynika, że

$$p = \frac{kS}{kS + A} \Pi \quad (27)$$

Po wstawieniu (27) do (26) otrzymujemy równanie różniczkowe z jedną zmienną:

$$\frac{d\Pi}{dt} = -\frac{\Pi^2}{V_0} \frac{kSA}{kS + A} \quad (28)$$

Jest to równanie nieliniowe, ale łatwo jest uzyskać jego rozwiązanie analityczne drogą rozdzielania zmiennych. Formułując warunek początkowy, nie można w tym przypadku przyjmować, że dla $t=0$ ciśnienie wewnątrz komórki jest równe ciśnieniu przed obcięciem sąsiedniej komórki (p_0), gdyż przeczyłoby to założeniu o natychmiastowej relaksacji ścianki. Wielkością, która w początkowej chwili wpływu będzie miała taką samą wartość jak przed obcięciem sąsiedniego międzywęzła, jest ciśnienie osmotyczne wewnątrz komórki. Zatem warunek początkowy będzie miał postać:

$$\Pi|_{t=0} = p_0 \quad (29)$$

Równanie (28) można przekształcić do następującej postaci:

$$\frac{d\Pi}{\Pi^2} = -a dt \quad (30)$$

gdzie

$$a = \frac{kSA}{V_0(kS + A)}$$

Scalkowanie (30) daje zależność:

$$-\frac{1}{\Pi} = -at + B \quad (31)$$

gdzie B jest stałą całkowania.

Wstawienie warunku początkowego (29) do (31) daje

$$B = -\frac{1}{p_0}$$

Zatem

$$\Pi = \frac{p_0}{p_0 \alpha t + 1} \quad (32)$$

Zależność $p(t)$ można otrzymać wstawiając (32) do (27)

$$p = \frac{kS}{kS + A} \frac{p_0}{p_0 \alpha t + 1} \quad (33)$$

Objętość cieczy wypływającej przez plazmodesmy (V_2) otrzymać można wstawiając wartość p (33) do wzoru (34), który jest konsekwencją równania (21):

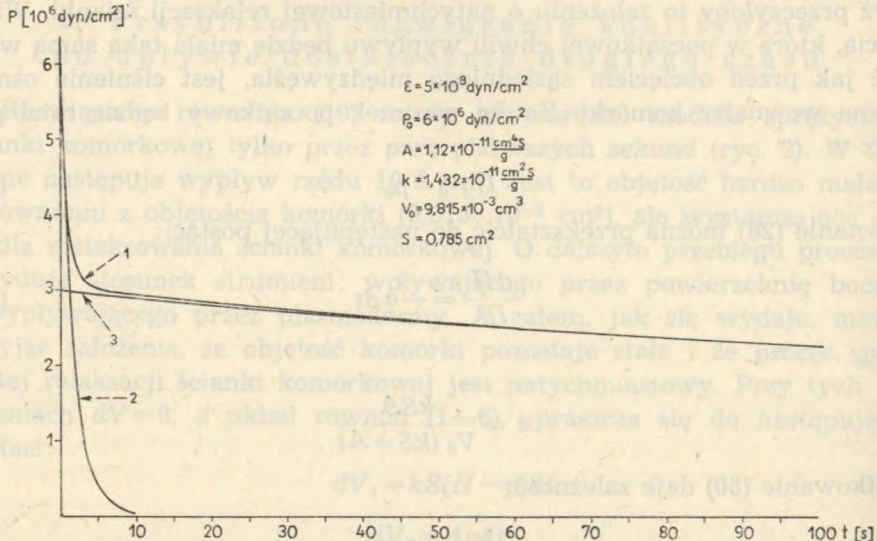
$$V_2 = A \int_0^t p(\tau) d\tau \quad (34)$$

Z przekształceń tych otrzymujemy:

$$V_2 = V_0 \ln(1 + p_0 \alpha t) \quad (35)$$

Wzory (32), (33) i (35) stanowią uproszczone rozwiązanie modelu.

Z porównania wynika, że funkcja (18) jest dobrym przybliżeniem rozwiązania dla $t < 0,5$ s, natomiast funkcja (33) jest dobrym przybliżeniem rozwiązania dla $t > 6$ s (ryc. 4).



Ryc. 4. Rozwiązanie układu równań (1—6): 1 — numeryczne, 2 — przybliżone dla fazy początkowej, 3 — przybliżone dla dostatecznie dużych czasów

DYSKUSJA

1. Kryterium czasu

Jeżeli lepkość cytoplazmy miałaby zabezpieczyć komórkę *a* (ryc. 1) przed wypływem objętościowym po odcięciu komórki *b*, to bardzo ważne jest określenie czasu, w jakim ma trwać to zabezpieczenie. Zarówno z natury ruchu cieczy lepkiej, jak i z obu rozwiązań modelu matematycznego wynika, że przy otwartych plazmodesmach wypływ objętościowy może być dowolnie duży, jeżeli będzie trwał dostatecznie długo.

W nienaruszonej roślinie cytoplazma nie kontaktuje się ze środowiskiem bezpośrednio, lecz jest od niego oddzielona plazmalemą i ścianką komórkową. Dla zabezpieczenia przed wypływem objętościowym bardziej istotną strukturą jest ścianka komórkowa, której sprężystość równoważy panujące wewnątrz komórki ciśnienie. Zachodzące po uszkodzeniu rośliny (przecięciu międzywęzła) procesy reparacyjne powinny prowadzić do przywrócenia naturalnej sytuacji, w której protoplast jest oddzielony od środowiska ścianką komórkową, tj. do zabudowania światła plazmodesm substancją ścianki. Substancją decydującą o dużej wytrzymałości mechanicznej ścianki jest celuloza. Włókna celulozy wytrzymują napięcia do 110 kG/mm^2 [18]. Na podstawie tej wartości i rozmiarów plazmodesm można obliczyć, że dla zrównoważenia panującego w komórce ciśnienia wystarczy warstwa celulozy o grubości kilku Å, a zatem wystarczająca jest jedna warstwa celulozy krystalicznej. Opierając się na rozmiarach elementarnej komórki celulozy krystalicznej ($10,3 \times 7,9 \times 8,35 \text{ Å}$) [18] można obliczyć, że dla przesłonięcia światła plazmodesmy jedną warstwą celulozy krystalicznej (najgęściej upakowanej) powinny być spolimeryzowane łańcuchy celulozy o łącznej długości 10^5 Å ($2 \cdot 10^4$ cząsteczek glukozy).

Jednak literatura dotycząca ścian komórkowych nie zawiera bliższych informacji o syntezie celulozy [4, 15, 19]. Informacją, którą można wykorzystać do oszacowania czasu zasklepienia plazmodesm celulozową ścianką, są wyniki badań Millmana i Colvina [14], dotyczące syntezy celulozy na powierzchni agaru przez *Acetobacter xylinum*. W pracy tej stwierdzono między innymi, że mikrofibryle celulozy wydłużają się z prędkością 420 Å/s . Jeżeli przyjąć, że na każdą plazmodesmę przypada jedna aktywna cząsteczka enzymu, to zasklepianie plazmodesmy powinno trwać 4–5 min. Czas ten może być w rzeczywistości nieco krótszy, jeżeli stężenie enzymu jest większe. Może jednak być o wiele dłuższy, gdyż nie jest wykluczone, że w tym przypadku o szybkości reakcji decyduje dy-

fuzja, a nie aktywność enzymu. Tym niemniej powyższe oszacowanie daje orientację co do rzędu wielkości czasu.

Innym możliwym procesem reparacyjnym jest odkształcenie ścianki na skutek zmniejszenia się — po odcięciu międzywęzła — ciśnienia hydrostatycznego w plazmodesmach kontaktujących się ze środowiskiem. Gdyby odkształcenie ścianki było dostatecznie duże, mogłoby ono prowadzić do zamykania plazmodesm. Jednak natychmiastowe (sprężyste) deformacje ścianki u *Nitelli* nie przekraczają 5% [5, 12]. Jest to odkształcenie zbyt małe. Natomiast dalsze odkształcenie, powodowane zmianą ciśnienia, nie jest procesem czysto fizycznym, lecz płynięciem wiskoelastycznym, któremu towarzyszą reakcje chemiczne (tzw. *chemical creep*) [5]. Ścianka komórkowa wykazuje zmianę własności mechanicznych pod wpływem bodźców chemicznych po upływie czasu od kilku do kilkunastu minut [5, 18] od chwili zadziałania bodźca.

Obserwacje zmian oporu elektrycznego węzła po uszkodzeniu rośliny [21] pozwalają przypuszczać, że plazmodesmy zostają przesłonięte błoną po 10—25 min. od obcięcia międzywęzła. Wydaje się więc, że w ciągu tego czasu procesy reparacyjne doprowadzają do całkowitego zatrzymania wypływu objętościowego cytoplazmy, co daje możliwość wytworzenia na powierzchni cytoplazmy błony selektywnej.

W dalszych rozważaniach nad wynikami modelu matematycznego zakłada się, że komórka jest zabezpieczona przed wypływem objętościowym, jeżeli w ciągu 10 min. od obcięcia sąsiedniej komórki zmiany powodowane wypływem objętościowym są dostatecznie małe.

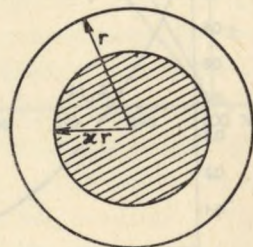
2. Plazmodesmy jako otwarte kanały

Załóżmy, że plazmodesmy są otwartymi kanałami o wymiarach otrzymanych w badaniach mikroskopowych [22, 23]. Przyjmijmy, że komórka *a* na ryc. 1 ma długość 5 cm i średnicę 0,5 mm. Komórka o takich wymiarach ma powierzchnię $s=0,785 \text{ cm}^2$ i objętość $V_0=9,815 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3$. Inne parametry zostały omówione wyżej. Ich wartości są równe: współczynnik przepuszczalności błony komórkowej dla wody $k=1,432 \cdot 10^{-11} \text{ cm}^2 \text{ s/g}$, ciśnienie wewnątrz nienaruszonej komórki $p_0=6 \cdot 10^6 \text{ dyn/cm}^2$, stała charakteryzująca prędkość wypływu przez plazmodesmy $A=1,12 \cdot 10^{-11} \text{ cm}^4 \text{ s/g}$. Przy tych wartościach parametrów współczynnik α , występujący we wzorach (32), (33) i (35) jest równy $5,717 \cdot 10^{-10} \text{ cm s/g}$, $p_0\alpha=3,43 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ i dla czasu $t=10 \text{ min}=600 \text{ s}$, $p_0\alpha t=2,058$. Ze wzorów (32, 33, 35) wynika, że w ciągu 10 min. ciśnienie osmotyczne wnętrza komórki spadałoby do 1/3 początkowej wartości, ciśnienie hydrostatyczne do 16,5% wartości początkowej, a przez plazmodesmy wypłynęłaby objętość równa 112% objętości międzywęzła.

Jakkolwiek nie ma ilościowego kryterium śmierci komórki i trudno jest przesądzać, czy powyższe zmiany spowodowały śmierć komórki, pewne jest jednak, że takie zmiany nie zachodzą w rzeczywistości, bowiem komórki międzywęzłowe ramienic po odizolowaniu od pozostałej części rośliny zachowują turgor i wykazują normalny ruch cytoplazmy. Potraktowanie plazmodesm jako otwartych kanałów prowadzi zatem do sprzeczności z doświadczeniem. Podobna sprzeczność występuje — przy założeniu otwartych kanałów plazmodesm — między wartością oporu elektrycznego węzła otrzymaną doświadczalnie a wartością teoretyczną (patrz niżej).

3. Hipoteza o zablokowaniu częściowym plazmodesm

Założmy, że przekrój plazmodesmy wygląda w sposób przedstawiony na ryc. 5, tzn. centralną część plazmodesmy zajmuje nieruchoma struktura, cytoplazma zaś wypełnia pozostającą, wolną część plazmodesmy. Niech R_1 oznacza opór elektryczny plazmodesmy całkowicie wypełnionej cytoplazmą, a R_2 opór plazmodesmy przedstawionej na ryc. 5.



Ryc. 5. Przekrój częściowo zablokowanej plazmodesmy: r — promień plazmodesmy, xr — promień umieszczonej centralnie struktury blokującej; $0 \leq x \leq 1$

Wtedy

$$\frac{R_1}{R_2} = 1 - x^2 \quad (36)$$

Jeżeli oznaczymy przez Q_1 objętość cieczy wypływającej w ciągu 1 sek. przez plazmodesmę otwartą, a przez Q_2 — plazmodesmę częściowo zablokowaną, to:

$$\frac{Q_2}{Q_1} = (1 - x^4) - \frac{(1 - x^2)}{\ln \frac{1}{x}} \quad [3] \quad (37)$$

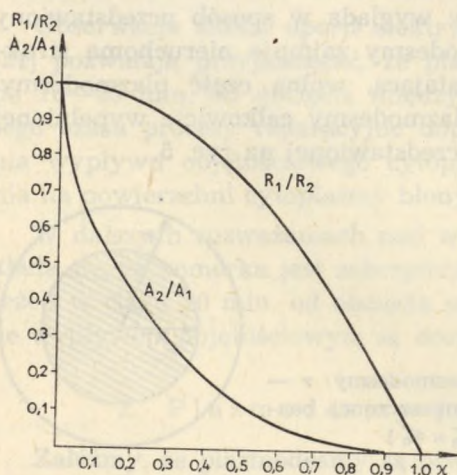
Ponieważ

$$\frac{Q_2}{Q_1} = \frac{A_2}{A_1}$$

gdzie: A_1 — stała A (2) charakteryzująca wypływ przez węzeł, którego plazmodesmy są otwarte, A_2 — analogiczna stała dla węzła, którego plazmodesmy są częściowo zablokowane, to otrzymamy:

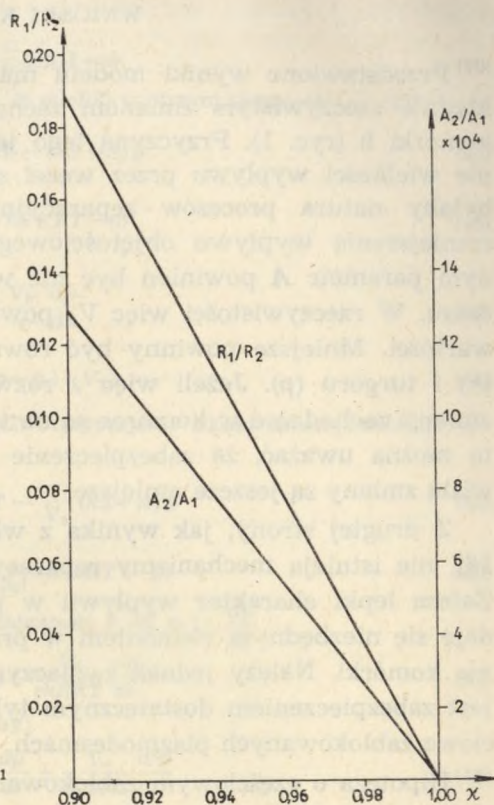
$$\frac{A_2}{A_1} = (1 - \kappa^4) - \frac{(1 - \kappa^2)}{\ln \frac{1}{\kappa}} \quad (38)$$

Zależność stosunków R_1/R_2 i A_2/A_1 od κ jest przedstawiona na ryc. 6. W związku z tym, że dla $\kappa > 0,9$ stosunek A_2/A_1 jest już rzędu błędu popełnianego przy obliczeniach z pomocą tablic czterocyfrowych, na ryc. 7 przedstawiono interpolację liniową obu funkcji między $\kappa=0,9$ i $\kappa=1$. Dla $\kappa=0,9$, $R_1/R_2=0,19$, $A_2/A_1=0,0013$. Dla $\kappa=1$ obie funkcje mają wartość 0.



Ryc. 6. Zależność oporu plazmodesmy i prędkości przepływu od promienia struktury blokującej

Jak wynika z badań innych autorów [22, 23] oraz z pomiarów przeprowadzonych w naszej pracowni [20], rzeczywisty opór plazmodesm jest od kilkudziesięciu do kilkuset razy większy od obliczonego na podstawie danych mikroskopowych. Nie będzie więc przesadą założenie, że $R_1/R_2=0,1$. Wtedy, jak wynika z ryc. 7, $A_2/A_1=0,00069$, czyli $A_2=A_1 \cdot 6,9 \cdot 10^{-4}$. Załóżmy, że częściowe zablokowanie plazmodesm zwiększa ich opór 10 razy, oznacza, że wypływ objętościowy powinien być o trzy rzędy wielkości mniejszy, a stała A powinna być równa $7,728 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^4 \text{ s/g}$. Przy tych samych wartościach pozostałych parametrów co poprzednio współczynnik $\alpha=7,866 \cdot 10^{-13}$, $p_0\alpha=4,72 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$. Dla czasu $t=10 \text{ min} = 600 \text{ s}$, $p_0\alpha t=2,83 \cdot 10^{-3}$. Wstawiając tę wartość do wzorów (32, 33, 35) otrzymamy:



Ryc. 7. Interpolacje liniowe R_1/R_2 i A_2/A_1 w przedziale $0,9 \leq x \leq 1$

$$\frac{\Pi}{p_0} = \frac{1}{1 + p_0 at} = 0,997$$

$$\frac{p}{p_0} = \frac{kS}{kS + A} \frac{1}{1 + p_0 at} = 0,996$$

$$\frac{V_2}{V_0} = \ln(1 + p_0 at) = 0,003$$

Powyższe wartości oznaczają, że w ciągu 10 min. zachodzi zmniejszenie ciśnienia osmotycznego o 0,3% w stosunku do wartości początkowej i zmniejszenie ciśnienia hydrostatycznego o 0,4% oraz wypływ poprzez plazmodesmy objętości równej 0,3% objętości komórki międzywęzłowej. Powyższe zmiany zachodzące w międzywęźlu po obcięciu sąsiedniego międzywęźla są bardzo małe. O tym, że nie stanowią one zagrożenia dla życia komórki świadczy fakt, że tego samego rzędu zmiana ciśnienia i wypływ objętościowy towarzyszą każdemu potencjałowi czynnościowemu, generowanemu przez komórkę [1, 2].

WNIOSKI KOŃCOWE

Przedstawione wyniki modelu matematycznego nie odpowiadają do-
kładnie rzeczywistym zmianom zachodzącym w komórce *a* po odcięciu
komórki *b* (ryc. 1). Przyczyną tego jest między innymi charakteryzowa-
nie wielkości wypływu przez węzeł stałym parametrem *A*. Jakakolwiek
byłaby natura procesów reparacyjnych, powinny one prowadzić do
zmniejszenia wypływu objętościowego. Zatem w modelu matematycz-
nym parametr *A* powinien być nie wielkością stałą, a malejącą funkcją
czasu. W rzeczywistości więc V_2 powinno być mniejsze od otrzymanych
wartości. Mniejsze powinny być również spadki ciśnienia osmotycznego
(π) i turgoru (*p*). Jeżeli więc z rozwiązania równań (1—6) wynika, że
zmiany zachodzące w komórce są na tyle małe, że nie zagrażają jej życiu,
to można uważać, że zabezpieczenie jest dostateczne, ponieważ rzeczy-
wiste zmiany są jeszcze mniejsze.

Z drugiej strony, jak wynika z własności ścianki komórkowej [5, 13,
16], nie istnieją mechanizmy reparacyjne o natychmiastowym działaniu.
Zatem lepki charakter wypływu w połączeniu ze strukturą węzła wy-
daje się niezbędnym elementem w procesach prowadzących do zachowa-
nia komórki. Należy jednak zaznaczyć, że mechanizm wypływu lepkiego
jest zabezpieczeniem dostatecznym tylko przy przyjęciu hipotezy o czę-
ściowo zablokowanych plazmodesmach.

Hipoteza o częściowym zablokowaniu plazmodesm opiera się w głów-
nej mierze na wynikach pomiarów oporu elektrycznego węzła. Ani po-
miary elektryczne, ani przeprowadzone rozważania nie przesądzają jed-
nak o tym, w jaki sposób plazmodesmy są zablokowane. Możliwe, że
plazmodesmy są blokowane w inny sposób aniżeli przedstawiono to na
ryc. 5 (np. przez organelle komórkowe lub inne stosunkowo sztywne in-
kluzje cytoplazmy). Bez względu jednak na sposób blokowania przyjęcie
hipotezy o częściowym zablokowaniu wyjaśnia rozbieżności między wy-
nikami pomiarów elektrycznych i mikroskopowych obserwacji i jedno-
cześnie pozwala zrozumieć działanie mechanizmu zabezpieczającego ko-
mórkę przed wypływem objętościowym.

PRZYPIS

Sprowadzenie układu równań (1—6) do równania z jedną zmienną.
Równania (1) i (2) wstawiamy do (3) i otrzymujemy:

$$\frac{dV}{dt} = kSII - (kS + A)p \quad (39)$$

Z równania (6) i (1) wynika (40):

$$\frac{dc}{dt} = -\frac{c}{V} kS(\Pi - p) \quad (40)$$

Do (39) i (40) wstawiamy zależność $\Pi = cRT$ i otrzymujemy (41) i (42):

$$\frac{dV}{dt} = kScRT - (kS + A)p \quad (41)$$

$$\frac{dc}{dt} = -\frac{c}{V} kS(cRT - p) \quad (42)$$

Z równania (5) wynikają zależności:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{V_0}{\varepsilon} \frac{dp}{dt} \quad (43)$$

$$V = \frac{V_0}{\varepsilon} (p - p_0) + V_0 \quad (44)$$

Po wstawieniu (43) i (44) do (41) i (42) otrzymujemy układ dwóch równań różniczkowych ze zmiennymi p i c

$$\frac{dp}{dt} = \frac{\varepsilon}{V_0} kScRT - \frac{\varepsilon}{V_0} (kS + A)p \quad (45)$$

$$\frac{dc}{dt} = -\frac{\varepsilon c}{V_0(p + \varepsilon - p_0)} kS(cRT - p) \quad (46)$$

Z (45) po rozwikłaniu otrzymujemy zależność c od p i $\frac{dp}{dt}$:

$$c = \frac{kS + A}{kSRT} p + \frac{V_0}{\varepsilon kSRT} \frac{dp}{dt} \quad (47)$$

Skąd po zróżniczkowaniu otrzymujemy:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{kS + A}{kSRT} \frac{dp}{dt} + \frac{V_0}{\varepsilon kSRT} \frac{d^2p}{dt^2} \quad (48)$$

Po wstawieniu (47) i (48) do równania (46) i wykonaniu przekształceń algebraicznych otrzymujemy równanie:

$$(p + \delta) \frac{d^2p}{dt^2} + (\psi p + \varphi \delta) \frac{dp}{dt} + \left(\frac{dp}{dt} \right)^2 + \beta p^2 = 0 \quad (10)$$

gdzie: $\delta = \varepsilon - p_0$

$$\psi = \frac{\varepsilon}{V_0} (3A + 2kS)$$

$$\varphi = \frac{\varepsilon}{V_0} (A + kS)$$

$$\beta = \left(\frac{\varepsilon}{V_0} \right)^2 A (A + kS)$$

PIŚMIENNICTWO

1. Barry P. H.: J. Membrane Biol. **3**, 313 (1970).
2. Barry P. H.: J. Membrane Biol. **3**, 335 (1970).
3. Bird R. B., Stewart W. E., Lightfoot E. N.: Transport Phenomena. John Wiley, New York—London 1969.
4. Bonner J., Varner J. E. (eds): Plant Biochemistry. Academic Press, New York 1965.

5. Cleland R.: Ann. Rev. Plant. Physiol. **22**, 197 (1971).
6. Dainty J.: Ann. Rev. Plant. Physiol. **13**, 379 (1962).
7. Dąbbska I.: *Charophyta* — ramienice. PWN, Warszawa 1964.
8. Donaldson I. G.: Protoplasma **74**, 329 (1972).
9. Green P. B., Stanton F. W.: Science **155**, 1675 (1967).
10. Kamiya N., Kuroda K.: Proceedings of the fourth International Congress of Rheology E. H. Lee, A. L. Copley-eds Pt. 4, 157, John Wiley, New York 1965.
11. Kamiya N., Tazawa M.: Protoplasma **46**, 394 (1956).
12. Kamiya N., Tazawa M., Takata H.: Protoplasma **57**, 501 (1963).
13. Lampport D. T. A.: Ann. Rev. Plant. Physiol. **21**, 235 (1970).
14. Millman B., Colvin J. R.: Canad. J. Microbiol. **7**, 383 (1961).
15. Mühlethaler K.: Ann. Rev. Plant. Physiol. **18**, 1 (1967).
16. Northcote D. H.: Ann. Rev. Plant. Physiol. **23**, 113 (1972).
17. Pekarek J.: Protoplasma **17**, 1 (1933).
18. Robards A. W.: Electron Microscopy and Plant Ultrastructure. Mc Graw-Hill, London 1970.
19. Setterfield G., Bayley S. T.: Ann. Rev. Plant. Physiol. **12**, 35 (1961).
20. Siewiewsiuk J.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio AA **29/30**, 317—321 (1974/1975).
21. Skierczyńska J., Siewiewsiuk J., I. Bosek: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio C **30**, 59 (1975).
22. Spanswick R. M., Costerton J. W. F.: J. Cell Sci. **2**, 451 (1967).
23. Śpiewła E.: Własności elektryczne przegrody międzykomórkowej glonów *Characeae* (praca doktorska. Lublin 1973 (maszynopis).
24. Steudle E., Zimmermann U.: Biochim. Biophys. Acta **332**, 399 (1974).
25. Tazawa M., Kiyosawa K.: Ann. Rep. Biol. Sci. Fac. Sci. Osaka University **18**, 57 (1970).

РЕЗЮМЕ

В работе сформулирована и решена система дифференциальных уравнений, описывающих объёмное вытекание цитоплазмы при локальном повреждении растения *Characeae*. Результаты расчётов указывают на то, что плазмодесмы в узлах водорослей *Characeae* частично блокированы.

SUMMARY

A system of differential equations has been formulated and solved. The system describes the volume outflow of cytoplasm during a local injury of the *Characea* plant. The results of the calculations suggest that plasmodesmata in the nodes of *Characeae* algae are partly blocked up.