

ZNACZENIE APARATÓW SZPARKOWYCH DLA WSPÓŁDZIAŁANIA WODY I ŚWIATŁA W METABOLIZMIE ROŚLIN¹

The role of stomata in joint-action of water and light in plant metabolism

Stanisław MALESZEWSKI, Bożena KOZŁOWSKA-SZERENOS i Anna JURGA

Summary. We discuss the recent findings on the regulation of stomata by the main endogenous and environmental factors including the specific effect of blue light. The review also presents the phenomenon of heterogeneity in the stomata behaviour.

Key words: guard cells, stomata, blue irradiation, conductance, heterogeneity in the behaviour

Prof. dr hab. Stanisław Maleszewski, dr Bożena Kozłowska-Szerenos, Anna Jurga, Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku, ul. Świerkowa 20B, 15–950 Białystok, e-mail: stanmale@uwb.edu.pl

WSTĘP

Wykształcenie aparatów szparkowych w epidermie, okrytej izolującą warstwą kutykuli związane było z adaptacją roślin, przed przeszło 400 milionami lat, do warunków lądowych. Otwarte aparaty szparkowe umożliwiają dostęp dwutlenku węgla, jako substratu fotosyntezy, do przestrzeni międzykomórkowych i do dużej wewnętrznej powierzchni asymilacyjnej liścia. Modułacje stopnia ich otwarcia (apertury) dostosowują natężenie transpiracji do aktualnych możliwości pobierania wody z gleby oraz transportu wody w roślinie. W skali globalnej przez mikroskopijne pory aparatów szparkowych przemieszcza się w ciągu roku 122 Gt węgla, tj. prawie 20% jego zasobów atmosferycznych, a przepływ wody, w postaci pary, jest większy niż przez wszystkie rzeki Ziemi [88].

FUNKCJE APARATÓW SZPARKOWYCH

Asymilacja dwutlenku węgla i transpiracja są nierozłącznie związane, jednakże stosunek ich szybkości może się zmieniać w szerokich granicach, zależnie od warunków środowiskowych [75]. Podstawową funkcją aparatów szparkowych jest utrzymywanie szybkości obu procesów na poziomie umożliwiającym przeżycie rośliny w środowisku lądowym o niskiej wilgotności [70]. Aparaty szparkowe wpływają na doraźne natężenie transpiracji i asymilacji CO₂ oraz na ich długoterminowy bilans. Zapobiegają wysuszeniu gleby, przerywaniu kolumn wody w ksylemie (embolizmowi ksylemu) oraz przegrzewaniu się napromienionych liści [32]. Funkcje te mogą być realizowane odmiennie u roślin rosnących pojedynczo i w zespołach [86, 87, 88].

¹ Referat wygłoszony 8 czerwca 2002 r. podczas uroczystej sesji naukowej Oddziału Warszawskiego Polskiego Towarzystwa Botanicznego „Woda i światło w życiu rośliny”, dedykowanej prof. dr hab. Piotrowi Strebeyko, w 95 rocznicę urodzin.

Natężenie transpiracji w bardzo szerokim zakresie zależy od stanu aparatów szparkowych. Przy ich pełnym otwarciu transpiracja liścia może być bowiem zbliżona do parowania lustra wody [73], a ich całkowite zamknięcie ogranicza potencjalne natężenie tego procesu o ponad 95% [14, 69]. Natomiast zmiany natężenia fotosyntetycznej asymilacji dwutlenku węgla, bezpośrednio zależne od apertury aparatów szparkowych, nie przekraczają zwykle kilku procent [60].

BUDOWA I MECHANIZM DZIAŁANIA

Głównym elementem aparatów szparkowych (ang. stomata) jest para komórek szparkowych, lub zamykających (ang. guard cells), które różnią się od typowych komórek epidermy charakterystycznym kształtem, zgrubieniami wewnętrznych ścian i występowaniem chloroplastów. Pomiędzy nimi znajduje się szczelina o zmiennej wielkości, nazywana szparką (ang. stoma). Nazwa ta jest też stosowana w odniesieniu do całego aparatu szparkowego.

W protoplastach komórek szparkowych odbywa się aktywna, tj. związana z metabolizmem regulacja stężenia związków osmotycznych, co przy współdziałaniu z innymi czynnikami wewnętrznymi i zewnętrznymi prowadzi do dynamicznych zmian ich objętości, turgoru i kształtu. Gdy turgor wzrasta – aparat szparkowy się otwiera; spadek turgoru powoduje jego zamykanie się [47]. Specyficzna elastyczność komórek szparkowych zależy od radialnego, względem poru, ułożenia celulozowych mikrofibrilli w ich ścianach [28].

Otwieranie się aparatu szparkowego w wyniku absorpcji promieniowania fotosyntetycznie aktywnego (ang. photosynthetically active radiation, PAR), tj. z zakresu długości fal 400–700 nm, rozpoczyna się wpływem protonów z komórek szparkowych i wzrostem gradientu potencjału elektrochemicznego pomiędzy powierzchniami ich plazmolemy, wewnętrzną ujemną i zewnętrzną dodatnią. Hiperpolaryzacja błony umożliwia przemieszczanie się do komórek szparkowych kationów K^+ przez specyficzne kanały wprowadzające (ang. inward rectifying K^+ channel). Towarzyszy temu pobieranie anio-

nów Cl^- , na drodze symportu Cl^-/H^+ lub antyportu Cl^-/OH^- , oraz wytwarzanie anionów jabłczanowych. Gromadzące się w wakuolach jony obniżają potencjał wody w komórkach szparkowych. Efektem tego jest osmotyczne pobieranie przez nie wody, wzrost ich turgoru i zmiana kształtu, czego końcowym efektem jest otwieranie się aparatu szparkowego [47].

Wpływ H^+ i hiperpolaryzacja błon komórek szparkowych są powodowane przez pompy protonowe (H^+ -ATPazy). Dostarczający energii dla pracy pomp ATP może być produktem fotosyntezy [83] lub fosforylacji oksydacyjnej, przebiegających, odpowiednio, w chloroplastach i w mitochondriach komórek szparkowych. W wytwarzaniu polaryzacji błon może także uczestniczyć łańcuch oksydoredukcyjny, umiejscowiony w plazmolemie, zużywający zredukowane przenośniki elektronów (wodoru): mitochondrialny NADH lub chloroplastowy NADPH. Substratem dla wytwarzania jonów jabłczanowych, jak też ATP w mitochondriach jest skrobia, która gromadzi się w chloroplastach komórek szparkowych podczas nocy [47, 77, 78].

Wzrost potencjału osmotycznego, warunkujący otwieranie się aparatów szparkowych, nie zawsze zależy od jonów K^+ . Zwłaszcza w środku okresu świetlnego głównym metabolitem osmotycznie czynnym może być sacharoza, wytwarzana w komórkach mezofilu lub będąca produktem asymilacji CO_2 w chloroplastach komórek szparkowych [17, 65, 69, 77, 78].

Ostatnio uzyskano dane wskazujące, że w przekazywaniu sygnału powodującego uruchomienie niezbędnego dla otwierania się aparatów szparkowych przepływu jonów, uczestniczą mikrotubule cytoszkieletu komórek szparkowych [50].

Zamykanie się aparatów szparkowych w ciemności inicjuje zahamowanie pomp protonowych (H^+ -ATPaz). Zanika potencjał błonowy, zamykają się kanały wprowadzające a otwierają się kanały wyprowadzające K^+ (ang. outward-specific K^+ channels). Na skutek wpływu jonów K^+ i Cl^- oraz przemian organicznych związków osmotycznie czynnych wzrasta potencjał wody w komórkach szparkowych. Pro-

wadzi to do utraty przez nie części wody, obniżenia ich turgoru, zmiany kształtu i do zamykania się aparatu szparkowego [47].

PRZEWODNOŚĆ SZPARKOWA

Stan aparatów szparkowych, wpływający bezpośrednio na asymilację dwutlenku węgla i transpirację, wyraża parametr nazywany przewodnością szparkową liścia (ang. stomatal conductance) liścia, oznaczany zwykle symbolem g_s . Przewodność szparkowa, określona przy użyciu porometru dyfuzyjnego, mierzącego szybkość dyfuzji pary wodnej z liścia [45], jest wyrażana w $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Oznaczona za pomocą porometru przepływowego [30, 45, 72, 74], mierzącego liniową szybkość wymuszonego przepływu powietrza przez liść, ma wymiar $\mu\text{m s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$. Wartość bezwzględna g_s zależy od zagęszczenia, apertury oraz od długości kanałów aparatów szparkowych [85], a przy stosowaniu porometru przepływowego zależy także od oporu mezofilu [74]. Rejestrowane porometrycznie szybkie zmiany g_s charakteryzują jednak zawsze głównie modulacje apertury aparatów szparkowych.

Stosunek szybkości dyfuzji przez aparaty szparkowe dwutlenku węgla w kierunku wnętrza liścia (A, asymilacji) do szybkości dyfuzji cząsteczek wody w kierunku przeciwnym (T, transpiracji) stanowi wskaźnik efektywności wykorzystania wody (ang. water-use efficiency) w fotosyntezie (A/T, mmol mol^{-1}). Czynniki mające nadrzędne znaczenie dla wielkości tego wskaźnika uwzględnia wzór [14, 76]:

$$\frac{A}{T} = \frac{C_a - C_i}{e_i - e_a} \cdot \frac{g_{\text{CO}_2}}{g_{\text{H}_2\text{O}}}$$

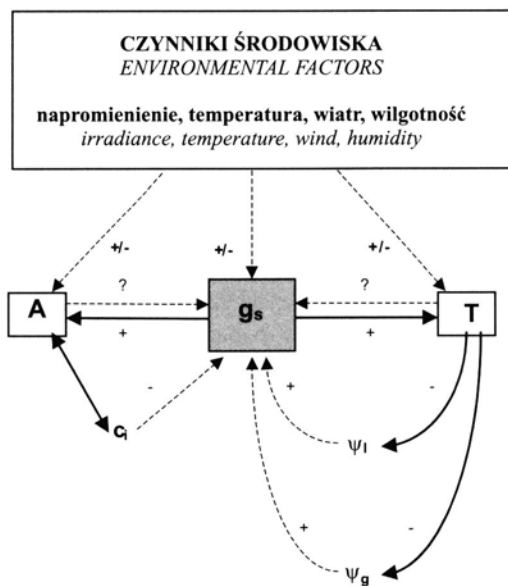
gdzie: C_a , e_a oraz C_i , e_i są parcjalnymi ciśnieniami CO_2 i pary wodnej, odpowiednio, w otaczającej atmosferze i w przestrzeniach międzykomórkowych liścia, a g_{CO_2} i $g_{\text{H}_2\text{O}}$ wyrażają przewodności dla dwutlenku węgla i dla pary wodnej cienkiej warstwy granicznej powietrza (ang. boundary layer), przylegającej do powierzchni liścia. Stosunek $g_{\text{CO}_2}/g_{\text{H}_2\text{O}}$ jest równy ilorazowi współczynników dyfuzji obu gazów $D^{\text{CO}_2}/D^{\text{H}_2\text{O}}$ i w powietrzu nieruchomym wynosi

około 0,6, a przy wietrze jest bardziej zbliżony do jedności [14].

W warunkach odpowiadających występującym w naturalnym środowisku, szybkość transpiracji jest wielokrotnie większa od szybkości asymilacji. Przy czym u roślin typu C_4 , które dysponują fotosyntetycznym mechanizmem wiązania węgla o większym powinowactwie do CO_2 i przez to utrzymują w przestrzeniach międzykomórkowych liści niższe stężenia dwutlenku węgla (szczegóły podane dalej), stosunek A/T jest istotnie wyższy niż u roślin typu C_3 . Np. oznaczany u soi (roślina C_3) i u trzciny cukrowej (roślina C_4), w takich samych warunkach napromienienia i temperatury, wykazywał średnią wartość, odpowiednio, 5,8 i 13,1 mmol mol^{-1} [25]. Bardziej korzystny dla fotosyntezy stosunek A/T daje roślinom C_4 przewagę w konkurencji z roślinami C_3 , zwłaszcza w rejonach suchych i o wysokim napromienieniu. Brany jest też pod uwagę przy wyborze roślin do upraw na obszarach wymagających sztucznego nawadniania [25].

Przewodność szparkowa liści jest jednak regulowana nie tylko przez gradienty stężeń dwutlenku węgla i pary wodnej, lecz przez powiązane działanie wielu innych czynników środowiskowych i wewnętrznych. Może ona zależeć od gatunku rośliny, jej stanu fizjologicznego, lokalnej specyfiki oraz dobowych i sezonowych zmian w działaniu czynników środowiska. Aparaty szparkowe powstawały w warunkach innych niż obecne, stąd też niektóre ich reakcje mogą być trudnymi dla zrozumienia „reliktami przeszłości”.

Udział aparatów szparkowych w kontroli wymiany gazowej komplikują oddziaływania zwrotne (ang. feedback loops) pomiędzy ich ruchami i efektami, które te ruchy powodują (Ryc.1). Modyfikacje natężenia asymilacji (A) i transpiracji (T), zależne od zmiany apertury mogą oddziaływać na przewodność szparkową liścia (g_s), prawdopodobnie bezpośrednio, jak i za pośrednictwem zmian stężenia dwutlenku węgla w przestrzeniach międzykomórkowych (C_i) oraz potencjałów wody (ψ) liścia i gleby. Ponadto, inne czynniki środowiskowe (np. natężenie i jakość napromienienia, temperatura) i wewnętrz-



Ryc. 1. Współdziałanie głównych czynników regulujących przewodność szparkową: A – asymilacja CO₂; C_i – stężenie CO₂ w przestrzeniach międzykomórkowych; g_s – przewodność szparkowa liści; T – transpiracja; ψ_l, ψ_g – potencjał wody liścia lub gleby, odpowiednio (wg [32], zmienione).

Fig. 1. Interactions of the main factors involved in control of stomatal conductance: A – assimilation rate of CO₂; C_i – intracellular CO₂ concentrations; g_s – leaf stomatal conductance; T – transpiration rate; ψ_l, ψ_g – water potential of leaf or soil, respectively (after [32], modified).

ne (np. opory na drodze przewodzenia wody) mogą wpływać na przewodność szparkową, asymilację i transpirację zarówno bezpośrednio jak i pośrednio, a także modulując efektywność wiążących je oddziaływań zwrotnych [32].

CZYNNIKI REGULACJI PRZEWODNOŚCI SZPARKOWEJ

Podstawowymi czynnikami wpływającymi na przewodność szparkową liści są: a) zawartość wody w tkankach, wilgotność powietrza, dostępność wody glebowej oraz opory związane z jej pobieraniem i transportem w roślinie, b) natężenie i jakość napromienienia oraz funkcjonowanie świetlnych reakcji fotosyntezy, c) stężenie CO₂ oraz jego fotosyntetyczna asymilacja. Wpływ tych czynników jest realizowany za po-

średnictwem endogennych regulatorów, uczestniczących w przewodzeniu sygnałów.

ZAWARTOŚĆ WODY W POWIETRZU, TKANKACH I GLEBIE

Przewodność szparkowa jest regulowana aktywnie poprzez, omówione wcześniej, mechanizmy modulacji potencjału wody i turgoru komórek szparkowych. Zależy też od oporów związanych z pobieraniem wody z gleby i jej transportem w roślinie oraz od turgoru komórek epidermy otaczających aparaty szparkowe.

Raptowne obniżenie wilgotności powietrza, otaczającego napromienione liście, może powodować przejściowe zwiększenie stopnia otwarcia aparatów szparkowych, po czym ich apertura ustala się na odpowiednio niższym poziomie (Ryc. 2). Przejściowa reakcja aparatów szparkowych jest powodowana szybkim obniżeniem turgoru otaczających je komórek epidermy, które mają „mechaniczną przewagę” nad komórkami szparkowymi. Podczas ustabilizowanej transpiracji przewaga ta jest przewyższana wyższym potencjałem turgorowym (ψ_p) komórek zamykających, co po raptownym zwiększeniu transpiracji wyraża się przejściowym zwiększeniem apertury aparatów szparkowych [33, 34, 39, 46].

Zamykanie się częściowe aparatów szparkowych na napromienionych liściach w atmosferze o obniżonym potencjale wody (Ryc. 2) może być początkowo wyrazem zwrotnego negatywnego oddziaływania zwiększonej transpiracji (patrz Ryc. 1). Głównie jest jednak efektem działania mechanizmu aktywnej regulacji przewodnictwa szparkowego liści, reagującego na zwiększone ubytki wody w tkankach oraz opory związane z jej pobieraniem i transportem.

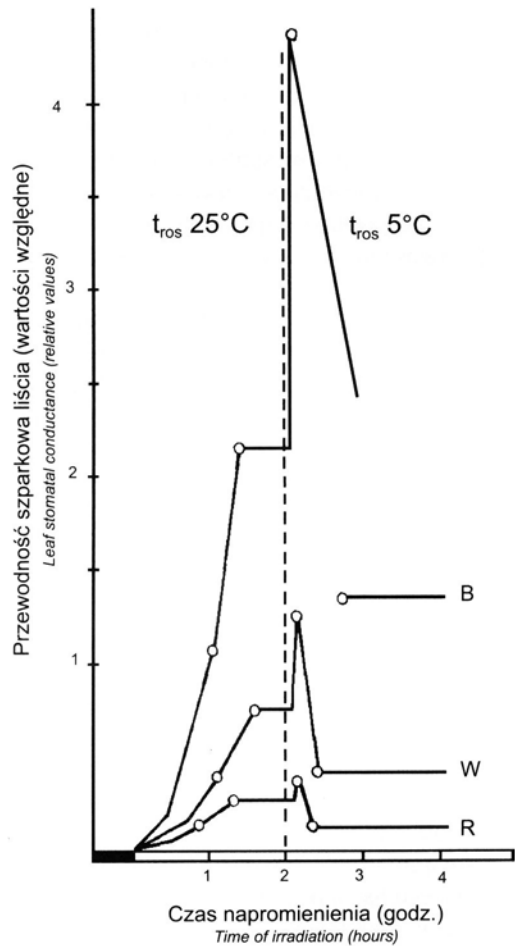
Regulacja przewodności szparkowej, zależna od zawartości wody w glebie oraz oporów związanych z pobieraniem wody i jej transportem w tkankach rośliny, przebiega z udziałem hormonów. Uzyskano dane wskazujące, że w otwieraniu się aparatów szparkowych w odpowiedzi na sprzyjające temu warunki wodne uczestniczą kwas indolilo-3-octowy (IAA) [24] oraz cytokininy [28]. Proces ten stymulowała też syntetyczna cytokinina, kinetyna [63].

Otwieranie się aparatów szparkowych wzmaga napromienienie niebieskie (patrz dalej). Wymienione czynniki mogą wpływać na funkcjonowanie pomp protonowych, hiperpolaryzację plazmolemy i zlokalizowane w niej mechanizmy transportu jonów [69]. W procesie zamykania się aparatów szparkowych, w warunkach prowadzących do stresu wodnego, główne znaczenie ma natomiast hormon kwas absycynowy (ABA), wytwarzany w liściach lub dostarczany z prądem transpiracyjnym. Wykazano, że ABA reagując ze specyficznymi receptorami zewnątrz- lub wewnątrzkomórkowymi, za pośrednictwem uwalnianych do cytosolu jonów Ca^{2+} oraz innych przekazników sygnału, hamuje błonowe pompy protonowe. Depolaryzacja zamyka dopływ i otwiera odpływ elektrolitów przez plazmolemę komórek szparkowych [12, 28, 51, 58, 68, 79, 80, 84]. Uzyskano także dane świadczące, że w komórkowym systemie transdukcji sygnału [6] z udziałem ABA, prowadzącym do zamykania się aparatów szparkowych, uczestniczy fosfolipaza C [69]. Efektywność ABA może być modulowana przez hormony omawiane wcześniej, zależnie od pH soku ksylemu i cytosolu komórek szparkowych, stężenia jonów azotanowych i fosforanowych [24, 80, 84], a także od wpływu czynników przedstawianych dalej.

Zamykanie się aparatów szparkowych u *Commelina communis* L., zarówno w ciemności jak i poddanych działaniu egzogennej ABA na światło, poprzedza dezintegracja charakterystycznego, radialnego układu filamentów aktyny w ich cytosolu. Nie zmienia się natomiast układ mikrotubul. Wyniki te są uznawane za dowód udziału filamentów aktynowych w przekazywaniu sygnału, regulującego kanały jonowe komórek szparkowych [20, 69].

NAPROMIENIENIE PAR I ŚWIETLNA FAZA FOTOSYNTETY

Napromienienie z zakresu PAR jest niezbędne dla otwierania się aparatów szparkowych u roślin C_3 i C_4 . Występuje też wyraźna prosta zależność pomiędzy aperturą szparek a natężeniem napromienienia. Chloroplasty komórek szparkowych wykazują typową absorpcję PAR. Zawierają zestaw barwników fotosyntetycznych



Ryc. 2. Wpływ szybkiej zmiany wilgotności powietrza (linia przerywana) na przewodność szparkową liścia fasoli, przy napromienieniu $150 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, „białym” (W), czerwonym (R) i niebieskim (B). Wilgotność powietrza określona punktem rosy (t_{ros}) (wg [46]).

Fig. 2. Responses of bean leaf stomatal conductance to the decrease of air humidity (dotted line) at irradiance $150 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, „white” (W), red (R) and blue (B). Air humidity are expressed as dew points (t_{ros}) (according to [46]).

o pełnym składzie i aktywne fotosystemy I i II. Pochłaniana przez nie energia jest wykorzystywana do wytwarzania produktów świetlnej fazy fotosyntezy (ATP i NADPH), zużywanych podczas otwierania się aparatów szparkowych, głównie przez pompy protonowe, uruchamiające mechanizmy transportu jonów [83, 93]. Nie-

wątpliwie zahamowanie tych funkcji jest pierwotną przyczyną zamykania się aparatów szparkowych w ciemności u roślin C_3 i C_4 .

Widmo czynnościowe otwierania się aparatów szparkowych różni się jednakże od widma czynnościowego fotosyntezy. Wskazuje bowiem na wzmogoną wrażliwość reakcji komórek szparkowych na napromienienie niebieskie. Właściwość ta jest szczegółowo przedstawiona dalej.

Napromienienie fotosyntetycznie aktywne jest też czynnikiem określającym zagęszczenie aparatów szparkowych na powierzchni liści. Wykazano występowanie prostej zależności pomiędzy natężeniem napromienienia liści w pełni już dojrzałych i fotosyntetyzujących, a zagęszczeniem szparek, wytwarzanych na liściach dopiero się rozwijających [42, 81].

STĘŻENIE DWUTLENKU WĘGLA I CIEMNA FAZA FOTOSYNTEZY

Przy odpowiednim uwodnieniu tkanek przewodność szparkowa (g_s) jest odwrotnie skorelowana ze stężeniem dwutlenku węgla. Na zmiany CO_2 aparaty szparkowe odpowiadają na światło i w ciemności, co dowodzi, że dla tej ich reakcji fotosynteza nie jest konieczna [28].

Aparaty szparkowe napromienionego i asymilującego liścia reagują na stężenie dwutlenku węgla w przestrzeniach międzykomórkowych liścia (C_i), a nie przy jego zewnętrznej powierzchni (C_a) lub w kanale szparki [2, 55]. Modulując odpowiednio aperturę, współdziałają w utrzymaniu C_i na prawie stałym poziomie: u roślin C_3 220–260 ppm, co stanowi około 70 % C_a ; u roślin typu C_4 tylko około 100 ppm; a u sukulentów z fotosyntetycznym metabolizmem CAM, u których szparki pozostają w dzień zamknięte, aż ponad 400 ppm. Umiarkowane podwyższenie C_a , powodujące przymknięcie się aparatów szparkowych, może wpływać na wartość C_i i na natężenie fotosyntezy [31].

Receptory reagujące na stężenie dwutlenku węgla w przestrzeniach międzykomórkowych liścia, przyjmujące i przekazujące sygnał prowadzący do otwierania i zamykania się aparatów szparkowych, nie są znane [53, 54]. Sugerowano [21, 31], że g_s napromienionego liścia mo-

że być odwrotnie skorelowane z wielkością puli jakiegoś metabolitu uczestniczącego w wiązaniu dwutlenku węgla. W mechanizmie takim mogłyby uczestniczyć sąsiednie komórki mezofilu. W komórkach szparkowych nie wykazano bowiem, ilościowo znaczącej, fotosyntezy [5, 61]. W regulacji apertury aparatów szparkowych może uczestniczyć karboksylaza fosfoenolopirogronianu [40]. Brak jednak dowodów na to, żeby enzym ten inicjował reakcję na stężenie CO_2 . Stwierdzenie, że wysokie stężenie tlenu całkowicie hamuje otwieranie się na świetle szparek u fasoli [52], uzasadnia hipotezę, że w recepcji sygnału C_i może uczestniczyć pula RuBP, metabolitu reagującego zarówno z dwutlenkiem węgla jak i z tlenem.

Ostatnio wykazano [7, 13], że CO_2 , tak jak i inne bodźce inicjujące procesy prowadzące do ograniczania apertury aparatów szparkowych, powoduje depolaryzację plazmalemy komórek zamykających. Niewątpliwie więc CO_2 moduluje aktywność kanałów jonowych w plazmolemie. Hipotezy tłumaczące mechanizm tego działania nie są jednak jeszcze dostatecznie zweryfikowane [69].

Stężenie dwutlenku węgla w atmosferze wpływa także na zagęszczenie aparatów szparkowych w epidermie organów asymilacyjnych. Zależność ilościowa jest jednak odwrotna niż w przypadku napromienienia; przy wysokim stężeniu CO_2 zagęszczenie aparatów szparkowych ulega bowiem zmniejszeniu. Wykazano, że u *Arabidopsis* [42] receptory przyjmujące sygnał stężenia CO_2 znajdują się w liściach w pełni dojrzałych, a następnie informacja jest przekazywana do merystemu. Wyizolowano mutantą *Arabidopsis*, u którego taki mechanizm nie funkcjonuje, co ma być spowodowane zakłóceniem w przekazywaniu sygnału lub w przemieszczaniu się hipotetycznego morfogenu, negatywnie regulującego zagęszczenie aparatów szparkowych. U *Arabidopsis* zidentyfikowano również gen *HIC*, kodujący negatywny regulator rozwoju szparek [26, 27].

Odwrotną korelację zagęszczenia aparatów szparkowych ze stężeniem dwutlenku węgla w atmosferze potwierdzają badania paleobotaniczne. Tak np. porowatość epidermy *Ginkgo* i ro-

ślin pokrewnych w późnym permie (przed 275–290 milionami lat) i w pleistocenie, tj. starszym czwartorzędzie (przed 1–8 milionami lat), gdy stężenie CO₂ było niskie, była wyraźnie większa niż w kredzie, charakteryzującej się podwyższonym stężeniem CO₂ w atmosferze. Udało się też wykazać, że następujący w okresie ostatnich 200 lat ciągły wzrost stężenia dwutlenku węgla w atmosferze, powodowany czynnikami antropogenicznymi, doprowadził już do dostatecznego zmniejszenia zagęszczenia aparatów szparkowych [41, 64]. Efekt taki potwierdzają również wyniki oznaczeń zagęszczenia aparatów szparkowych u roślin z obszarów o zróżnicowanej przemysłowej emisji tego gazu [86]. Zagęszczenie aparatów szparkowych na skamielialnych liściach *Ginkgo* jest nawet wykorzystywane jako wskaźnik stężenia CO₂ w atmosferze minionych epok, pozwalający na weryfikację danych uzyskanych innymi metodami [41, 64].

Stężenie dwutlenku węgla i napromienienie współdziałają więc w regulacji zagęszczenia aparatów szparkowych w epidermie organów asymilujących. Zwłaszcza w zwartych zespołach roślinnych służy to osiągnięciu optymalnej sprawności fotosyntetycznej [42, 87, 88]. Niewątpliwie, zależności te zasługują na lepsze poznanie. Bodźcem dla podejmowania prac nad wielostronnym wpływem dwutlenku węgla na aparaty szparkowe jest też stały wzrost stężenia tego gazu w atmosferze.

Badania prowadzone różnymi metodami dostarczają niewątpliwych dowodów ograniczonej zdolności komórek szparkowych do asymilacji dwutlenku węgla i fotooddychania [93]. W ich chloroplastach asymilacja CO₂ i fotosyntetyczne przemiany węgla przebiegają też pod wieloma względami odmiennie niż w chloroplastach mezofilu. Skrobia gromadzi się w ciemności, a rozkładana jest na świetle. Chloroplasty komórek szparkowych wykazują mniejszą aktywność karboksylazy/oksygenazy RuBP (rubisco), a zwiększoną aktywność innych enzymów cyklu Calvina-Bensona. Na podstawie wyników doświadczeń z *Vicia faba* zaproponowano [71], że główną funkcją zredukowanych produktów ich własnej asymilacji CO₂ jest pośredniczenie w

przekazywaniu energii (ATP) i równoważników redukcyjnych (NADPH) z chloroplastów do cytoplazmy, przebiegającym przy udziale translokatora aldehyd 3-fosfoglicerynowy/kwas 3-fosfoglicerynowy, zlokalizowanego w otocze chloroplastów [47]. W doświadczeniach ze skrawkami epidermy liści *Commelina benghalensis* uzyskano także dane świadczące, że zwiększone aktywności rubisco i karboksylazy PEP mają korzystny wpływ na funkcjonowanie aparatów szparkowych [62].

ZNACZENIE ŚWIATŁA NIEBIESKIEGO I PROBLEM FOTORECEPTORA

Wzmózona wrażliwość aparatów szparkowych na krótkofalowy, wysokoenergetyczny składnik PAR, to jest napromienienie niebieskie z zakresu 425–475 nm, stanowi przedmiot intensywnych badań od 25 lat [10, 25, 92, 93]. Absorbując tylko to napromienienie (Ryc. 2) lub jako uzupełniające do wysycającego napromienienia czerwonego, liście osiągają wyraźnie większą przewodność szparkową (g_s) niż tylko na świetle czerwonym lub na pełnym białym o takiej samej gęstości strumienia kwantów [46, 48].

Zjawisko to budzi zainteresowanie, gdyż jest prawdopodobnie przejawem przebiegającej na różnych poziomach organizacyjnych rośliny, złożonej reakcji umożliwiającej osiągnięcie, w aktualnych warunkach, optymalnej aktywności fotosyntetycznej. Innymi jej przejawami są, zależne od kierunku padania promieniowania, ruchy całych pędów, liści oraz migracje chloroplastów [82]. Bodźcem wywołującym wszystkie wymienione reakcje jest składnik niebieski PAR. Jego względny udział jest zwiększony w rozproszonym świetle rano i wieczorem oraz w niższych warstwach stanowisk roślinnych, w sytuacjach kiedy wysoka wilgotność powietrza ogranicza transpirację i pozwala na, korzystne dla asymilacji, szersze otwarcie aparatów szparkowych [1, 90].

Poznano bliżej niektóre efekty metaboliczne związane ze wzmószonym otwieraniem się aparatów szparkowych pod wpływem napromienienia niebieskiego oraz ich biochemiczne mechanizmy. Światło niebieskie aktywuje H⁺-ATPazy

[4], stymulując fosforylację ich C-terminalnej domeny, przy udziale białka z rodziny 14-3-3 [16], jako pozytywnego regulatora [38, 69]. Może aktywować, zlokalizowany w plazmolemie, łańcuch oksydoredukcyjny [23] oraz zwiększać aktywność karboksylazy fosfoenolopirogronianowej [3] i wytwarzanie jabłczanu.

Mimo licznych badań nie udało się natomiast zidentyfikować receptora komórkowego, bezpośrednio uczestniczącego w specyficznym, niezależnym od fotosyntecznego, działaniu napromienienia niebieskiego na aparaty szparkowe.

Stwierdzenie stymulacji przez światło niebieskie u storczyka z rodzaju *Paphiopedilum* otwierania się aparatów szparkowych, nie zawierających chloroplastów wskazywało, że w zjawisku tym nie uczestniczy chlorofil [91]. Z kolei, badania mutantu *Arabidopsis thaliana hy4-cry1*, nie wykazującego reakcji fototropicznej, wykluczyły grupę flawin [44, 94].

Do niedawna przyjmowano, że receptorem promieniowania niebieskiego w komórkach szparkowych jest chloroplastowy ksantofil zeaksantyna. Powstaje w szlaku biosyntezy karotenoidów z mewalonianu i, jako składnik cyklu ksantofilowego (Ryc. 3), pełni w aparacie fotosyntetycznym również funkcję ochronną [29, 66, 89].

Za hipotezę, zakładającą pełnienie przez zeaksantynę także roli grupy chromoforowej receptora światła niebieskiego, miało świadczyć pokrywanie się jej widma absorpcyjnego z widmem czynnościowym (działania) wzmoczonego otwierania się aparatów szparkowych, prosta zależność pomiędzy wielkością tego efektu a zawartością barwnika w komórkach oraz równoczesne hamowanie przez ditiotreitrol (DTT) syntezy zeaksantyny i znoszenie efektu światła niebieskiego [93, 94]. Wydawało się, że hipoteza ta została ostatecznie udowodniona gdy stwierdzono, że aparaty szparkowe w preparatach epidermy mutantu *Arabidopsis npq1*, wykazującego defekt deepoksydazy wiołaksantyny (Ryc. 3), uniemożliwiający wytwarzanie i gromadzenie zeaksantyny [59], nie wykazują specyficznej odpowiedzi na światło niebieskie [22].

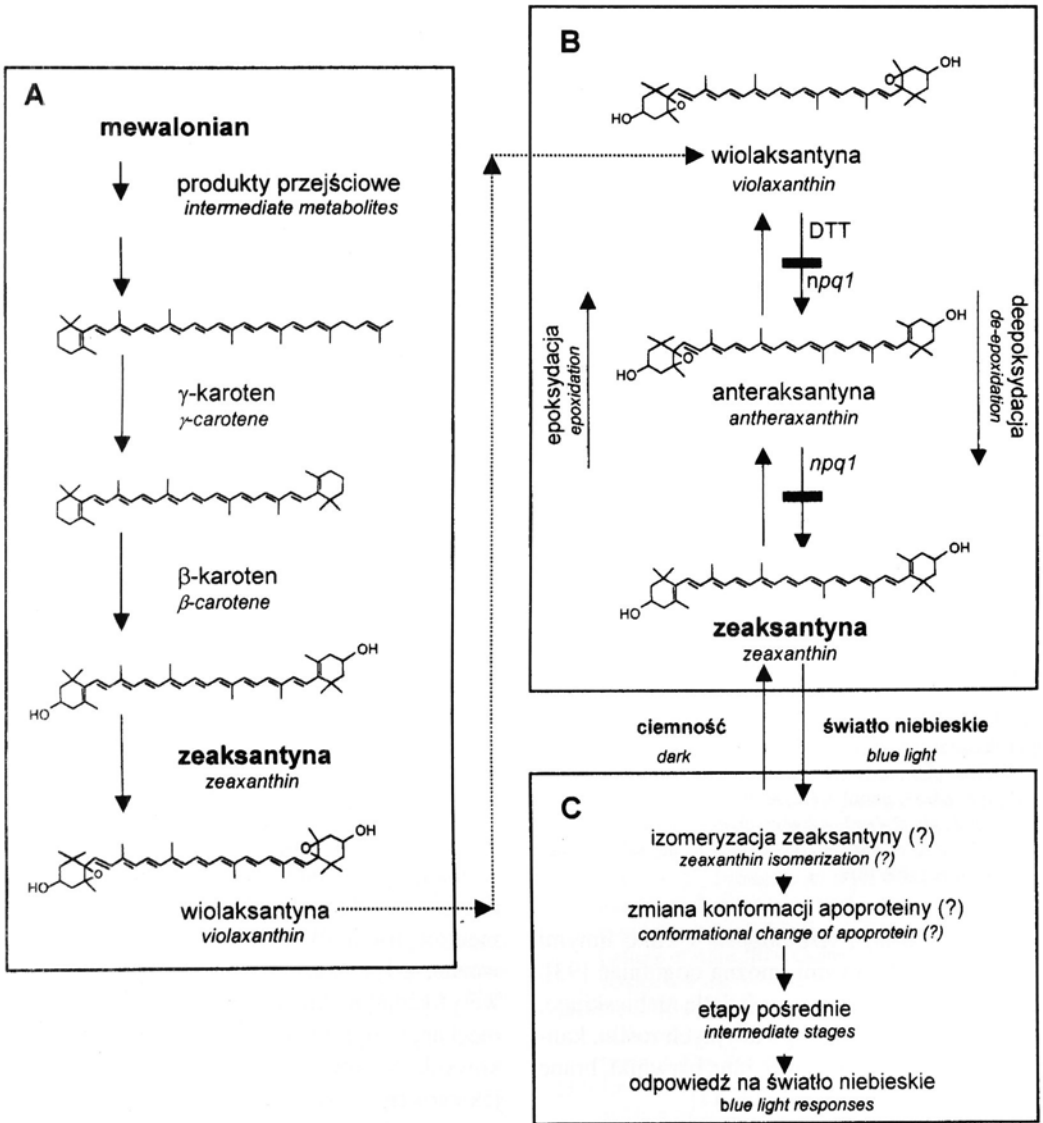
Hipoteza zeaksantynowa była jednak sprzeczna z wcześniejszymi faktami [36], z których

wynikało, że aparaty szparkowe poddane działaniu norflurazonu, inhibitora syntezy karotenoidów, wykazują jednak normalną odpowiedź na napromienienie niebieskie. Okazało się też, że wyników uzyskanych z preparatami epidermy mutantu *npq1* nie można potwierdzić w doświadczeniach z całymi liśćmi [18, 37].

Powrót do wcześniejszej hipotezy, dotyczącej natury fotoreceptora światła niebieskiego, zapowiadają badania nad mutantami *Arabidopsis phot1* i *phot2*. Stwierdzono, że aparaty szparkowe podwójnego mutantu *phot1phot2* nie reagują na napromienienie niebieskie, natomiast pojedyncze mutanty, *phot1* oraz *phot2*, są fenotypowo niezmienione. Autorzy badań sugerują, że białko *phot1* i jego homolog *phot2*, którym nadali nazwy fototropina 1 i 2 (ang. phototropin 1, 2) są łącznie apoproteiną poszukiwanego fotoreceptora [37]. Udział polipeptydu *phot1*, jako białkowej kinazy serynowo-treoninowej [37], w otwieraniu się aparatów szparkowych na świetle niebieskim był wykazany wcześniej [38]. Autorzy wyrażają też pogląd, że chromoforem (częścią bezpośrednio pochłaniającą światło) fotoreceptora jest mononukleotyd flawinowy, którego widmo absorpcyjne pokrywa się z widmem działania światła niebieskiego na szparki [19, 35].

Aktualnie przyjmuje się [8], że apoproteiną fotoreceptora światła niebieskiego komórek szparkowych jest heterodimer *phot1-phot2*. Pod wpływem napromienienia niebieskiego oba jego elementy wiążą, za pośrednictwem atomów siarki cysteiny, jako grupę chromoforową cząsteczki mononukleotydu flawinowego (FMN), które przechodzą do trypletowego stanu wzbudzenia. Następuje zmiana kształtu FMN [67], co prawdopodobnie prowadzi do konformacyjnych zmian białka fotoreceptora, modyfikacji jego aktywności kinazowej i inicjuje wysłanie sygnału do kanałów jonowych.

Białka *phot1* i *phot2* mogą być fotoreceptorami nie tylko w otwieraniu się aparatów szparkowych, ale również w fototropizmie i w fototaksjach chloroplastów, także stymulowanych przez światło niebieskie [8]. Wszystkie te reakcje (Ryc. 4) prowadzą do podwyższenia sprawności fotosyntetycznej. Ponadto, wzmoczo-



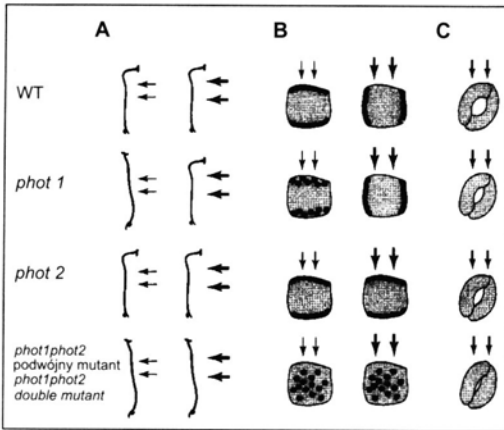
Ryc. 3. Zeaksantyna jako receptor światła niebieskiego: A – szlak biosyntezy, B – udział w cyklu ksantofilowym, C – hipotetyczne etapy przewodzenia sygnału, indukowane recepcją światła niebieskiego. DTT – ditiotreitol; *npq1* – mutant *Arabidopsis* z defektem deepoksydazy wiolaksantyny (wg [94], zmienione).

Fig. 3. Zeaxanthin as a receptor of blue light: A – biosynthetic pathway, B – contribution to xanthophyll cycle, C – hypothetical steps associated with blue light signal transduction. DTT – dithiothreitol; *npq1* – zeaxanthin – less mutant of *Arabidopsis* (after [94], modified).

ne otwierania się aparatów szparkowych, zwiększając dostępność CO_2 dla asymilacji i stymulując w ten sposób odtwarzanie NADP i ADP w cyklu Calvina-Bensona, może także zapobiegać

powstawaniu toksycznych form tlenu w reakcjach świetlnej fazy fotosyntezy [9].

Potrzebne są jednak dalsze prace aby odpowiedzieć na pytanie, czy wyniki uzyskane w ba-



Ryc. 4. Hipotetyczny udział fototropiny w reakcjach zależnych od światła niebieskiego: A – w fototropizmie, B – w fototaksjach chloroplastów, C – w ruchach aparatów szparkowych. WT – typ dziki; *phot1*, *phot2* – pojedyncze mutanty pozbawione fototropiny 1 lub 2, odpowiednio; *phot1phot2* – podwójny mutant z deficytem fototropiny 1 i 2. Wielkość strzałek określa względną intensywność światła niebieskiego (wg [8]).

Fig. 4. Hypothetical participation of phototropin in blue light dependent reactions: A – phototropic responses, B – chloroplast phototaxies, C – stomatal movements. WT – wild-type; *phot1*, *phot2* – single phototropin-deficient mutants 1 or 2; *phot1phot2* – double phototropin-deficient mutant – The size of arrows corresponds to the relative blue light intensity (after [8]).

daniach głównie z *Arabidopsis* i kilku innymi roślinami modelowymi, można uogólnić [93]. Aktualnie do roli receptora światła niebieskiego, w różnych procesach regulacyjnych roślin, kandydują bowiem nadal także inne barwniki, brane pod uwagę wcześniej [10, 11, 44].

ZRÓŻNICOWANIE STANU APARATÓW SZPARKOWYCH I MOZAIKOWOŚĆ DYFUZYJNA LIŚCI

W ostatniej dekadzie zwrócono uwagę na zjawisko, stwierdzone już przeszło sto lat temu przez Franciszka Darwina [15], obecnie określane jako zróżnicowanie (ang. heterogeneity) stanu aparatów szparkowych i mozaikowość dyfuzyjna (ang. patchiness) liści. Zjawiska tego nie można wytłumaczyć niejednorodnością warunków zewnętrznych. Termin „zróżnicowanie”

odnosi się do apertury, wielkości, zagęszczenia oraz innych parametrów aparatów szparkowych. Np. w skrajnym przypadku z dwu sąsiednich szparek jedna może być całkowicie zamknięta a druga w pełni otwarta. Pojęcie „mozaikowość” oznacza natomiast zróżnicowanie średniego parametru określającego stan aparatów szparkowych na wyodrębniających się w ten sposób fragmentach liścia. Zmiany te mogą wykazywać ciągłą tendencję, np. wzrost średniej wartości parametru od brzegu do środka liścia lub wykazywać cechę dosłownej mozaiki, gdy sąsiadujące ze sobą obszary są skrajnie różne. Zróżnicowanie jest badane na poziomie grup aparatów szparkowych, liścia, rośliny, korony drzewa, baldachimu koron i zespołów roślinnych. Niektóre parametry aparatów szparkowych, np. przewodność, ulegają dynamicznym zmianom w skali przestrzennej i czasowej. Mogą też być odmienne na obu powierzchniach amfistomatycznego liścia [43, 49, 56, 57, 85].

Nie wiemy, jakie są bezpośrednie przyczyny zróżnicowanego stanu aparatów szparkowych i mozaikowości dyfuzyjnej liści. Zjawiska te nie były bowiem wcześniej szczegółowo badane. Można przypuszczać, że są one efektem oddziaływań określanych jako hydrauliczne, tj. wynikających z odmiennych oporów na drodze doprowadzania wody do poszczególnych fragmentów liścia. Wyjaśnienie ich przyczyn jest ważne, gdyż może spowodować konieczność weryfikacji niektórych hipotez, dotyczących mechanizmu funkcjonowania aparatów szparkowych. Nie uwzględniają one prawdopodobnie jakiegoś istotnego czynnika, który powoduje, że dwa sąsiadujące ze sobą aparaty szparkowe, do których docierają takie same bodźce zewnętrzne, mogą różnie na nie reagować. Uzasadniony wydaje się pogląd [57], że znajomość mechanizmu działania pojedynczego aparatu szparkowego nie wystarcza dla zrozumienia funkcjonowania populacji aparatów szparkowych, nawet na poziomie tylko całego liścia.

LITERATURA

- [1] ASSMANN S. M. 1988. Enhancement of the stomatal response to blue light by red light, reduced intercellu-

- lar concentrations of CO₂, and low vapor pressure differences. *Plant Physiol.* **87**: 226–231.
- [2] ASSMANN S. M. 1999. The cellular basis of guard cell sensing of rising CO₂. *Plant Cell Environ.* **22**: 629–637.
- [3] ASSMANN S. M., SHIMAZAKI K. 1999. The multisensory guard cell. Stomatal responses to blue light and abscisic acid. *Plant Physiol.* **119**: 809–816.
- [4] ASSMANN S. M., SIMONCINI L., SCHROEDER J. I. 1985. Blue light activates electrogenic ion pumping in guard cell protoplasts of *Vicia faba*. *Nature* **318**: 285–287.
- [5] BIALCZYK J., LECHOWSKI Z. 1988. Fizjologiczne i biochemiczne aspekty ruchu komórek szparkowych. *Wiad. Bot.* **32**: 137–156
- [6] BIALCZYK J., LECHOWSKI Z. 1990. Rola wapnia w funkcjonowaniu systemów informacyjnych komórki roślinnej. *Wiad. Bot.* **34**: 11–30.
- [7] BREARLEY J., VENIS M. A., BLATT M. R. 1997. The effect of elevated CO₂ concentrations on K⁺ and anion channels of *Vicia faba* L. guard cells. *Planta* **203**: 145–154.
- [8] BRIGGS W., CHRISTIE J. M. 2002. Phototropins I and 2: versatile plant blue-light receptors. *Trends Plant Sci.* **7**: 204–210.
- [9] BRIGGS W. R., HUALA E. 1999. Blue-light photoreceptors in higher plants. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **15**: 33–53.
- [10] BRIGGS W. R., LISCUM E. 1997. Blue light-activated signal transduction in higher plants. W: P. ADUCCI (red.), *Signal Transduction in Plants*. Birkhäuser Verlag Basel Switzerland, s. 107–135.
- [11] BRIGGS W. R., OLNEY M. A. 2001. Photoreceptors in plant photomorphogenesis to date. Five phytochromes, two cryptochromes, one phototropin, and one superchrom. *Plant Physiol.* **125**: 85–88.
- [12] CHASAN R. 1995. New openings into stomata. *Plant Cell* **7**: 1113–1115.
- [13] COUSSON A. 2000. Analysis of the sensing and transducing processes implicated in the stomatal responses to carbon dioxide in *Commelina communis* L. *Plant Cell Environ.* **23**: 487–495.
- [14] COWAN I. R. 1977. Stomatal behaviour and environment. *Adv. Bot. Res.* **4**: 117–228.
- [15] DARWIN F. 1898. Observations on stomata. *Phil. Trans. Royal Soc.* **190**: 531–621.
- [16] DELILLE J. M., SEHNKE P. C., FERL R. J. 2001. The *Arabidopsis* 14–3-3 family of signaling regulators. *Plant Physiol.* **126**: 35–38.
- [17] DIETRICH P., SANDERS D., HEDRICH R. 2001. The role of ion channels in light-dependent stomatal opening. *J. Exp. Bot.* **52**: 1959–1970.
- [18] ECKERT M., KALDENHOFF R. 2000. Light – induced stomatal movement of selected *Arabidopsis thaliana* mutants. *J. Exp. Bot.* **349**: 1435–1442.
- [19] EISINGER W., SWARTZ T. E., BOGOMOLNI R. A., TAI Z. I. 2000. The ultraviolet action spectrum for stomatal opening in broad bean. *Plant Physiol.* **122**: 95–105.
- [20] EUN S.-O., LEE Y. 1997. Actin filaments of guard cells are reorganized in response to light and abscisic acid. *Plant Physiol.* **115**: 1491–1498.
- [21] FARQUHAR G. D., WONG S. C. 1984. An empirical model of stomatal conductance. *Aust. J. Plant Physiol.* **11**: 191–210.
- [22] FRECHILLA S., ZHU J., TALBOTT L. D., ZEIGER E. 1999. Stomata from *npq1*, a zeaxanthin-less *Arabidopsis* mutant, lack a specific response to blue light. *Plant Cell Physiol.* **40**: 949–954.
- [23] GAUTIER H., VAVASSEUR A., LASCEVE G., BOUDET A. M. 1992. Redox processes in blue light response of guard cell protoplasts. *Plant Physiol.* **111**: 433–440.
- [24] GEHRING CH. A., MCCONCHIE R. M., VENIS M. A., PARISH R. W. 1998. Auxin-binding-protein antibodies and peptides influence stomatal opening and alter cytoplasmic pH. *Planta* **205**: 581–586.
- [25] GRANTZ D. A., ASSMAN S. M. 1991. Stomatal response to blue light: water use efficiency in sugarcane and soybean. *Plant Cell Environ.* **14**: 683–690.
- [26] GRAY J. E., HOLROYD G. H., VAN DER LEE F. M., BAHRAMI A. R., SIMONS P. C., WOODWARD F. I., SCHUCH W., HETHERINGTON M. 2000. The *HIC* signaling pathway links CO₂ perception to stomatal development. *Nature* **408**: 713–716.
- [27] GRAY J. E., HOLROYD G. H., WOODWARD I., HETHERINGTON A. M. 2001. The genetic control of stomatal development in response to CO₂. *New Phytol., Conference – Stomata 2001*, Birmingham, 26–28 July 2001.
- [28] HINCKLEY T. M., BRAATNE J. H. 1994. Stomata. W: R. WILKINSON (red.), *Plant-Environment Interaction*. Marcel Dekker Inc., New York, s. 323–355.
- [29] HÖFER M., WALTER G., MEISTER A., HOFFMANN P. 1987. Pigment accumulation and energy flow between carotenoids and chlorophyll during greening of etiolated wheat seedlings under continuous and intermittent irradiation. *Photosynthetica* **21**: 131–140.
- [30] HSIAO T. C., FISHER R. A. 1975. Mass flow porometers. W: E. T. KANEMASU (red.), *Measurement of Stomatal Aperture and Diffusive Resistance*. Bull. 809, College of Agric. Res. Center, Washington State University, s. 5–11.
- [31] JARVIS A. J., DAVIES W. J. 1998. The coupled response of stomatal conductance to photosynthesis and transpiration. *J. Exp. Bot.* **49**: 399–406.
- [32] JONES G. H. 1998. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *J. Exp. Bot.* **49**: 387–398.
- [33] KAPPEN L., ANDRESEN G., LÖSCH R. 1987. In situ observations of stomatal movements. *J. Exp. Bot.* **38**: 126–141.
- [34] KAPPEN L., HAEGER S. 1991. Stomatal responses of *Tradescantia albiflora* to changing air humidity in light and in darkness. *J. Exp. Bot.* **42**: 979–986.
- [35] KARLSSON P. E. 1986. Blue light regulation of stomata in wheat seedlings. II. Action spectrum and search for action dichroism. *Physiol. Plant.* **66**: 207–210.
- [36] KARLSSON E., HÖGLUND H. O., KLOCKARE R. 1983. Blue light induces stomatal transpiration in wheat seedlings with chlorophyll deficiency caused by SAN 9789. *Physiol. Plant.* **57**: 417–421.
- [37] KINOSHITA T., DOI M., SUETSUGU N., KAGAWA T., WADA M., SHIMAZAKI K. 2001. Phot1 and phot2 me-

- diate blue light regulation of stomatal opening. *Nature* **414**: 656–660.
- [38] KINOSHITA T., SHIMAZAKI K. 1999. Blue light activates the plasma membrane H^+ -ATPase by phosphorylation of the C-terminus in stomatal guard cells. *EMBO J.* **18**: 5548–5558.
- [39] KLEIN M., CHENG G., CHUNG M., TALLMAN G., 1996. Effects of turgor potentials of epidermal cells neighbouring guard cells on stomatal opening in detached leaf epidermis and intact leaflets of *Vicia faba* L. (faba bean). *Plant Cell Environ.* **19**: 1399–1407.
- [40] KLOCKENBRING T., MEINHARD M., SCHNABL H. 1998. The stomatal phosphoenolpyruvate carboxylase – a potential target for selective proteolysis during stomatal closure? *J. Plant Physiol.* **152**: 222–229.
- [41] KÜRSCHNER W. M. 2001. Leaf sensor for CO_2 in deep time. *Nature* **411**: 247–248.
- [42] LAKE J. A., QUICK W. P., BEERLING D. J., WOODWARD F. I. 2001. Signals from mature to new leaves. *Nature* **411**: 154.
- [43] LAWSON T., WEYERS J., BROOK R. A., 1998. The nature of heterogeneity in the stomatal behaviour of *Phaseolus vulgaris* L. primary leaves. *J. Exp. Bot.* **49**: 1387–1395.
- [44] LIN CH. 2000. Plant blue-light receptors. *Trends Plant Sci.* **5**: 337–342.
- [45] LUDLOW M. M. 1982. Measurements of stomatal conductance and plant water status. W: J. COOMBS, D. O. HALL (red.), *Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis*. Pergamon Press, Oxford, s. 44–57.
- [46] MALESZEWSKI S., BURCHACKA E., RAKUS M., KOZŁOWSKA-SZERENOS B. 1999. Stomatal responses of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves to changing irradiance, air humidity, and water potential of root medium. *Photosynthetica* **37**: 39–46.
- [47] MALESZEWSKI S., KOZŁOWSKA-SZERENOS B. 1998. Aktualne problemy badań nad aparatami szparkowymi. *Wiad. Bot.* **42**: 21–31.
- [48] MALESZEWSKI S., NIEMIYSKA E., KOZŁOWSKA-SZERENOS B. 2001. Carbon dioxide assimilation, transpiration, and leaf conductance of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under blue and red radiation. *Photosynthetica* **39**: 233–237.
- [49] MANSFIELD T. A., HETHERINGTON A. M., ATKINSON C. J. 1990. Some current aspects of stomatal physiology. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **41**: 55–75.
- [50] MARCUS A. I., MOORE R. C., CYR J. R. 2001. The role of microtubules in guard cell function. *Plant Physiol.* **125**: 387–395.
- [51] MCAINISIH M. R., BROWNLEE C., HETHERINGTON A. M. 1997. Calcium ions as second messengers in guard cell signal transduction. *Physiol. Plant.* **100**: 16–29.
- [52] MIKULSKA M., MALESZEWSKI S. 1990. Oxygen at high concentration reduces the response of *Phaseolus* stomata to light. *Photosynthetica* **24**: 607–612.
- [53] MORISON J. I. L. 1997. Intercellular CO_2 concentration and stomatal response to CO_2 . W: E. ZEIGER, G. D. FARQUHAR, I. R. COWAN (red.), *Stomatal function*. Stanford University Press, Stanford, CA., s. 229–252.
- [54] MORISON J. I. L. 1998. Stomatal responses to increased CO_2 concentration. *J. Exp. Bot.* **49**: 443–452.
- [55] MOTT K. A. 1988. Do stomata respond to CO_2 concentrations other than intercellular? *Plant Physiol.* **86**: 200–203.
- [56] MOTT K. A., BUCKLEY T. N. 1998. Stomatal heterogeneity. *J. Exp. Bot.* **49**: 407–417.
- [57] MOTT K. A., BUCKLEY T. N. 2000. Patchy stomatal conductance: emergent collective behaviour of stomata. *Trends Plant Sci.* **6**: 258–262.
- [58] MÜLLER-RÖBER B., EHRHARDT T., PLESCH G. 1998. Molecular features of stomatal guard cells. *J. Exp. Bot.* **49**: 293–304.
- [59] NIYOGI K. K., GROSSMAN A. R., BJÖRKMANN O. 1998. *Arabidopsis* mutants define a central role for the xanthophyll cycle in the regulation of photosynthetic energy conversion. *Plant Cell* **10**: 1121–1134.
- [60] NOORMETS A., SOBER A., PELL E. J., DICKSON R. E., PODILA G. K., SOBER J. 2001. Stomatal and non-stomatal limitation to photosynthesis in two trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) clones to elevated CO_2 and/or O_3 . *Plant Cell Environ.* **24**: 327–336.
- [61] OUTLAW J. R. W. H. 1989. Critical examination of the quantitative evidence for and against photosynthetic CO_2 fixation by guard cells. *Physiol. Plant.* **77**: 275–281.
- [62] PARVATHI K., RAGHAVENDRA A. S. 1997. Both rubisco and phosphoenolpyruvate carboxylases are beneficial for stomatal function in epidermal strips of *Commelina benghalensis*. *Plant Sci.* **124**: 153–157.
- [63] PHARMAWATI M., BILLINGTON T., GEHRING C. A. 1998. Stomatal guard cell responses to kinetin and natriuretic peptides are cGMP-dependent. *Cell. Mol. Life Sci.* **54**: 272–276.
- [64] RETALLACK G. J. 2001. A 300-million-year record of atmospheric carbon dioxide from fossil plant cuticles. *Nature* **411**: 287–289.
- [65] RITTE G., ROSENFELD J., ROHRING K., RASCHKE K. 1999. Rates of sugar uptake by guard cell protoplasts of *Pisum sativum* L. related to the solute requirement for stomatal opening. *Plant Physiol.* **121**: 674–656.
- [66] RUUSKA S. A., VON CAEMMERER S., BADGER M. R., ANDREWS T. J., PIRCE G. D., ROBINSON S. A. 2000. Xanthophyll cycle, light energy dissipation and electron transport in transgenic tobacco with reduced carbon assimilation capacity. *Aust. J. Plant Physiol.* **27**: 289–300.
- [67] SALOMON M., CHRISTIE J. M., KNIEB E., LEMPERT U., BRIGGS W. R. 2000. Photochemical and mutational analysis of the FMN-binding domains of the plant blue light receptor, phototropin. *Biochemistry* **39**: 9401–9410.
- [68] SCHROEDER J. I. 1995. Anion channels as central mechanisms for signal transduction in guard cells and putative functions in roots for plant-soil interactions. *Plant Mol. Biol.* **28**: 353–361.
- [69] SCHROEDER J. I., ALLEN G. J., HUGOUVIEUX V., KWAK J. M., WANER D. 2001. Guard cell signaling transduction. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **52**: 627–658.

- [70] SERNA L. 2001. Stomatal biology. *Trends Plant Sci.* **6**: 554–555.
- [71] SHIMAZAKI K.-I., OKAYAMA S. 1990. Calvin-Benson cycle enzymes in guard-cell protoplast and their role in stomatal movement. *Biochem. Physiol. Pflanzen* **186**: 327–331.
- [72] SIKORSKA K., KOZŁOWSKA B., CIERESZKO I., MALESZEWSKI S. 1997. Effects of radiation quality on the opening of stomata in intact *Phaseolus vulgaris* L. leaves. *Photosynthetica* **34**: 31–36.
- [73] STREBEYKO P. 1956. Woda i światło w życiu rośliny. PWN, Warszawa.
- [74] STREBEYKO P. 1965. The theory of porometer. *Plant Physiol.* **18**: 725–727.
- [75] STREBEYKO P. 1967. Zarys fizjologii roślin. PWRiL, Warszawa.
- [76] TAIZ L., ZEIGER E. 1991. Plant physiology. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California, s. 257–259.
- [77] TALBOTT L. D., ZEIGER E. 1996. Central roles for potassium and sucrose in guard-cell osmoregulation. *Plant Physiol.* **111**: 1051–1057.
- [78] TALBOTT L. D., ZEIGER E. 1998. The role of sucrose in guard cell osmoregulation. *J. Exp. Bot.* **49**: 329–337.
- [79] TALLMAN G. 1992. The chemiosmotic model of stomatal opening revisited. *Crit. Rev. Plant Sci.* **11**: 35–57.
- [80] THOMPSON D. S., WILKINSON S., BACON M. A., DAVIES W. J. 1997. Multiple signals and mechanisms that regulate leaf growth and stomatal behaviour during water deficit. *Physiol. Plant.* **100**: 303–313
- [81] TÍCHA I. 1982. Photosynthetic characteristics during ontogenesis of leaves. Stomata density and sizes. *Photosynthetica* **16**: 375–471.
- [82] TLÁLKA M., RUNQUIST M., FICKER M. 1999. Light perception and the role of the xanthophyll cycle in blue-light-dependent chloroplast movements in *Lemna trisulca* L. *Plant J.* **20**: 447–449.
- [83] TOMINAGA M., KINOSHITA T., SHIMAZAKI K. 2001. Guard-cell chloroplasts provide ATP required for H⁺ pumping in the plasma membrane and stomatal opening. *Plant Cell Physiol.* **42**: 795–802.
- [84] WARD J. M., PEI Z.-M., SCHROEDER J. I. 1995. Roles of ion channels in initiation of signal transduction in higher plants. *Plant Cell* **7**: 833–844.
- [85] WEYERS J. D. B., LAWSON T. 1997. Heterogeneity in stomatal characteristics. *Adv. Bot. Res.* **26**: 317–351.
- [86] WOODWARD F. I., LAKE J. A. 2001. Scaling stomatal responses from leaf to vegetation. *New Phytol., Conference – Stomata 2001*, Birmingham, 26–28 July 2001.
- [87] WOODWARD F. I., LAKE J. A., QUICK W. P. 2002. Stomatal development and CO₂: ecological consequences. *New Phytol.* **153**: 477–484.
- [88] WULLSCHLEGER S. D., GUNDERSON C. A., HANSON P. J., WILSON K. B., NORBY R. J. 2002. Sensitivity of stomatal and canopy conductance to elevated CO₂ concentration – interacting variables and perspectives of scale. *New Phytol.* **153**: 485–496.
- [89] YOUNG A. J. 1991. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiol. Plant.* **83**: 702–708.
- [90] ZEIGER E., FIELD C., MOONEY H. 1981. Stomatal opening at dawn: possible roles of the blue light responses in nature. W: H. SMITH (red.), *Plant and the Daylight Spectrum*. Academic Press, London, s. 391–407.
- [91] ZEIGER E., GRIVET C., ASSMANN S. M., DEITZER G. F., HANNEGAN M. W. 1985. Stomatal limitation to carbon gain in *Paphiopedilum* sp. (Orchidaceae) and its reversal by blue light. *Plant Physiol.* **77**: 456–460.
- [92] ZEIGER E., HEPLER P. 1977. Light and stomatal function: blue light stimulates swelling of guard cell protoplast. *Science* **196**: 887–889.
- [93] ZEIGER E., TALBOTT L. D., FRECHILLA S., SRIVASTAVA A., ZHU J. 2002. The guard cell chloroplast: a perspective for the twenty-first century. *New Phytol.* **153**: 415–424.
- [94] ZEIGER E., ZHU J. 1998. Role of zeaxanthin in blue light photoreception and the modulation of light-CO₂ interaction in guard cells. *J. Exp. Bot.* **49**: 433–442.