

## 蔗糖在气孔运动调节中的功能研究进展

张玉斌, 薛仁, 王依杰, 李青, 石武良\*

吉林大学植物科学学院吉林省植物遗传改良工程实验室, 长春130062

**摘要:** 保卫细胞中渗透调节物质浓度的可逆变化调控着植物叶片表面气孔张开与关闭。虽然长期以来蔗糖被认为是保卫细胞中的一种渗透调节物质, 但最近的研究表明蔗糖在保卫细胞中除了有渗透调节物质的功能外, 还有一些其他方面的作用。本文围绕保卫细胞中蔗糖的合成、积累、降解以及蔗糖作为叶肉细胞和保卫细胞代谢之间的连接, 主要介绍了蔗糖在保卫细胞中的各种调节作用。总结了保卫细胞一些与代谢有关高表达的基因, 包括编码蔗糖和己糖转运体基因、糖异生化作用途径相关基因、蔗糖和海藻糖代谢基因以及一些C<sub>4</sub>代谢标记的基因。通过讨论分析保卫细胞中这些相关基因的可能功能以及蔗糖在气孔关闭中的作用, 为进一步阐明保卫细胞碳代谢以及蔗糖在气孔运动中的调控作用提供基础。

**关键词:** 气孔运动; 保卫细胞; 碳代谢; 蔗糖

叶表面的气孔是由2个保卫细胞组成的孔状结构, 是植物体内部与外界进行水分、信息和气体交换的通道。气孔孔径的变化是由组成气孔的1对保卫细胞内水势的变化来控制的, 并受内源信号和外源环境信号的影响。众所周知, 光合作用和呼吸作用都可以直接影响气孔孔径的变化, 但是气孔周围的叶肉细胞和环境条件如何影响气孔运动的调控还所知甚少, 如何提高植物生长发育过程水分利用率是科学家们所面临的主要挑战(Lawson等2014)。利用现代遗传操作技术对保卫细胞的有关基因进行控制, 在作物的抗旱调控方面展现出巨大应用潜力(Antunes等2012; Kelly等2013; 陆雯芸等2016)。以前很多的研究兴趣大多集中于K<sup>+</sup>在气孔张开中的作用以及保卫细胞中ABA信号的感知和转导(王俊斌等2016)。但是对于保卫细胞代谢方面的一些问题也值得深入的探索。最近的研究表明保卫细胞中蔗糖、淀粉和三酰甘油的降解在气孔运动的调控中起着重要作用(Daloso等2015; Horrer等2016; McLachlan等2016), 而且质外体中蔗糖的积累在气孔关闭过程起着重要的作用(Kang等2007a)。到目前为止, 对于气孔运动的调控方面还有许多问题有待进一步证实, 比如: 周围的叶肉细胞是如何影响保卫细胞的? 为什么保卫细胞和叶肉细胞中的代谢不同? 光合电子流各组分在保卫细胞代谢中是如何分布的? 保卫细胞代谢和C<sub>4</sub>/景天酸(crassykacean acid metabolism, CAM)细胞代谢之间有何联系? 由叶肉细胞产生的蔗糖, 保卫细胞卡尔文循环产生的蔗糖或者由糖异生作用产生的蔗糖对保卫细胞积累的蔗糖相对贡献如何? 本文主要针对这些问题最

新的发现以及保卫细胞蔗糖代谢方面的研究进展进行了综述。

### 1 蔗糖作为保卫细胞的一种渗透调节物质: 一个古老而永恒的故事

K<sup>+</sup>作为一种渗透调节物质在保卫细胞中积累已经被认可。在光诱导气孔张开的过程中, 由于糖作为渗透调节物质的良好特性而成为重点关注的目标(Outlaw和Manchester 1979)。Zeiger及其同事把K<sup>+</sup>和蔗糖在保卫细胞积累进行渗透调节分为两个阶段(Talbott和Zeiger 1996): 第一阶段(早上阶段)早上开始光照时, 保卫细胞K<sup>+</sup>浓度迅速上升, 光照3 h之后, 保卫细胞K<sup>+</sup>浓度达到高点, 之后会迅速降低, 随着K<sup>+</sup>浓度的下降, 蔗糖的含量在保卫细胞中增加; 第二阶段(下午阶段)的特征是保卫细胞中蔗糖的积累高于K<sup>+</sup>。他们认为光照引起气孔开放依赖于K<sup>+</sup>的增加, K<sup>+</sup>的吸收和积累是气孔快速开放的主要调节因子, 但保卫细胞不能长期保持高浓度的K<sup>+</sup>, 随着K<sup>+</sup>的下降, 蔗糖逐渐积累以维持保卫细胞渗透势, 进而参与气孔关闭的调控。然而也有证据表明, 光照时, K<sup>+</sup>增加所提供的渗透势或许不足以满足保卫细胞渗透势变化的需求(张蜀秋等2000)。因为用内向K<sup>+</sup>通道抑制剂CsCl<sub>2</sub>阻断内向K<sup>+</sup>通道的活性或内向K<sup>+</sup>通道基因沉默*kinless*突变体都不能阻止白光和蓝光诱导气孔张开的反应(Ichida等1997; Lebaudy等2008)。目前还不知道是

收稿 2016-12-20 修定 2017-04-24

资助 国家重点研发项目(2016YFD0300301-03)和大学生创新创业实验项目(2015821242和2015821269)。

\* 通讯作者(E-mail: wlshi@jlu.edu.cn)。

哪种分子可以作为渗透调节物质在气孔张开的过程中与 $K^+$ 共同积累,因此在*kinless*突变体中,寻找光反应下帮助气孔张开的其他渗透调节物质有助于揭示保卫细胞调节新机制。另外,也有研究发现蔗糖调节保卫细胞的功能很大程度上不依赖于蔗糖渗透调节的特性(Daloso等2016b; Kelly等2013)。通过改变保卫细胞蔗糖的浓度可能是认识蔗糖在保卫细胞代谢调节中的精确作用的关键。大规模质谱数据处理平台技术的发展,可以运用到保卫细胞中,分析有关的信息,很可能为我们了解保卫细胞代谢以及气孔运动的调控提供非常重要的信息。

## 2 保卫细胞中的蔗糖和己糖转运体

在大多数植物中,蔗糖作为主要的代谢物被运输到植物体的各个部分。叶肉细胞由光合作用产生的蔗糖经韧皮部运输到库组织以及通过蒸腾流运输到保卫细胞(Lu等1997)。因为成熟的保卫细胞没有胞间连丝(Wille和Lucas 1984),所以质外体空间的蔗糖进入保卫细胞只能通过保卫细胞膜上的蔗糖- $H^+$ 协同转运体或者由细胞壁转化酶(invertase)把蔗糖裂解为己糖,再由己糖- $H^+$ 协同转运体转运到保卫细胞中。当然也不能排除通过 $H^+$ -反向转运体或者蔗糖转运蛋白运输到保卫细胞中。因此建立蔗糖进入保卫细胞膜动力学特征对认识蔗糖进入保卫细胞的机制至关重要。

通过对拟南芥保卫细胞和叶肉细胞的转录组学比较分析发现,一些编码蔗糖和己糖的转运体

基因在保卫细胞中高度表达(表1):蔗糖- $H^+$ 协同转运体2基因(*Sucrose- $H^+$  symporter 2, SUC2*) (Bauer等2013),抑制G蛋白 $\beta$ 亚基的4个单糖- $H^+$ 协同转运体基因(*suppressor of G protein beta 1, SGB1*) (Bates等2012),糖转运体1基因(*sugar transporter 1, STP1*) (Leonhardt等2004),糖转运体4基因(*sugar transporter 4, STP4*),糖转运体13基因(*sugar transporter 13, MSS1*),葡萄糖-6-磷酸- $H^+$ 反向跨膜转运体基因(*glucose-6-phosphate- $H^+$  antiporter transmembrane transporter, GPT1*)和4个假定的糖或己糖转运蛋白(*At1g67300*、*At1g05030*、*At2g48020*和*At1g08900*) (Leonhardt等2004)。而且*STP1*和*STP4*与己糖转运体基因(*At1g67300*)受ABA的调节,在ABA处理下,*STP1*和*STP4*基因的表达下调,而已糖转运体基因(*At1g67300*)表达上调(Wang等2011)。*AtSTP1*不仅受ABA的调节,而且不同时间表达也有差异,在黑暗中保卫细胞中*AtSTP1*的表达丰度最高,但是在中午时其表达也瞬时发生增加(Stadler等2003),这个时期保卫细胞中蔗糖会发生积累(Talbott和Zeiger 1996)。这些实验表明,*STP1*对保卫细胞中己糖的运输虽然在白天起着重要作用,但它的主要功能集中在黑暗阶段。由于保卫细胞在黑暗中淀粉降解的速率很低(Horrer等2016),在黑暗下,*STP1*高活性很可能会有助于碳水化合物进入保卫细胞。以后可以通过转基因,使*STP1*基因在保卫细胞中专一性表达,来研究*STP1*在保卫细胞中对己糖和蔗糖积累的作用。

表1 保卫细胞中高度表达的糖转运体

Table 1 Highly expressed guard cell sugar transporters

基因编号	蛋白名称	功能	ABA反应	参考文献
At1g11260	糖转运体1 (STP1)	糖的跨膜 $H^+$ 协同转运体	↓	Leonhardt等2004; Wang等2011; Bates等2012; Bauer等2013
At3g19930	糖转运体4 (STP4)	糖的跨膜 $H^+$ 协同转运体	↓	Leonhardt等2004; Wang等2011; Bates等2012
At1g67300	假定的己糖转运体	转运己糖蛋白	↑	Wang等2011; Bates等2012; Bauer等2013
At1g79820	G蛋白 $\beta$ 1抑制因子(SGB1)	碳水化合物跨膜 $H^+$ 协同转运体	-	Bates等2012; Bauer等2013
At5g54800	葡萄糖-6-磷酸转运体(GPT1)	跨膜的葡萄糖-6-磷酸反向转运体	-	Bates等2012; Bauer等2013
At1g22710	蔗糖- $H^+$ 协同转运体2 (SUC2)	蔗糖- $H^+$ 协同转运体	-	Bauer等2013
At1g05030	假定的糖/己糖转运体	转运糖或己糖	-	Leonhardt等2004
At2g48020	假定的糖转运体	转运糖	-	Leonhardt等2004
At1g08900	假定的糖转运体	转运糖	-	Leonhardt等2004
At5g26340	糖转运蛋白13 (MSS1)	高亲和性质子葡萄糖协同转运体	-	Leonhardt等2004

↓: 下降; ↑: 升高; -: 没有变化。

### 3 保卫细胞中蔗糖的来源

#### 3.1 保卫细胞光合作用和糖异生作用产生蔗糖

虽然保卫细胞含有完整的光合作用的装置以及产生蔗糖所必需的酶类(Lawson 2009), 但是保卫细胞在红光下CO<sub>2</sub>的同化率相当的低(Gotow等1988)。因此, 保卫细胞通过核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco)来固定二氧化碳的能力, 是否能产生足够多的蔗糖去满足自身能量的需求一直是科学家们关注的问题。因为与叶肉细胞相比, 保卫细胞中含有更少更小的叶绿体, 并且Rubisco的浓度也很低(Vavasseur和Raghavendra 2005)。最近的研究证明, 保卫细胞能通过Rubisco和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenol-pyruvate carboxylase, PEPC)两条途径固定二氧化碳(Daloso等2015)。同时也有证据表明降低保卫细胞中叶绿素的含量会导致叶片气孔导度的降低(Azoulay-Shemer等2015)。这些结果表明通过叶绿体膜上的电子传递链产生的ATP/NADPH对于保卫细胞的功能是非常重要的。事实上, 除了糖水解和线粒体呼吸作用产生ATP能量外(Shimazaki和Zeiger 1985), 叶绿体的电子传递链是也保卫细胞获得ATP的另一个能量来源(Vavasseur和Raghavendra 2005), 并且该途径产生的ATP在蓝光诱导的气孔张开途径中是必需的(Suetsugu等2014)。因此, 进一步证实光合

作用的各个途径在保卫细胞代谢中的功能至关重要。尽管保卫细胞能通过Rubisco和PEPC两条途径来固定二氧化碳, 但是哪条途径产生的蔗糖贡献程度大还不清楚; 而且保卫细胞产生的蔗糖与叶肉细胞产生的蔗糖输入到保卫细胞二者之间的比例也不清楚。利用转基因的方法通过改变叶肉细胞和保卫细胞产生蔗糖含量或许能为蔗糖的来源以及其在气孔运动中的作用提供新的认识。

糖异生作用相关基因如PEPC、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(phosphoenol-pyruvate carboxylase)基因PCK、胞质苹果酸脱氢酶(cytosolic malate dehydrogenase)基因MDHI等在保卫细胞中表达量都较高(表2), 因此, 保卫细胞中的蔗糖也可能通过糖异生作用产生。但是这条途径产生的蔗糖对保卫细胞中积累的总蔗糖的贡献尚不清楚, 仍需实验证明。最近发现植物可通过丙酮酸磷酸二激酶(pyruvate orthophosphate dikinase, PPDK)发生糖异生作用, PPDK是否也参与调节保卫细胞蔗糖的含量还不清楚(Eastmond等2015)。通过转录基因组学分析, 发现PPDK也存在于保卫细胞中, 并且随着蔗糖的处理表达呈下调的趋势(Bates等2012; Wang等2011)。但是与叶肉细胞相比, PPDK在保卫细胞中的表达相当低, 因此推测保卫细胞可能主要通过利用PCK作为主要的糖异生作用途径。

表2 保卫细胞中的C<sub>4</sub>标记基因和糖异生作用相关基因

Table 2 C<sub>4</sub> marker and gluconeogenesis-related genes in guard cells

基因编号	酶	功能	反应	GC中的表达	文献
At3g14940、 At2g42600	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)	通过磷酸烯醇式丙酮酸的酸化固定CO <sub>2</sub> , 形成草酰乙酸、	PEP+HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> → OAA+Pi	GC中高表达	Bauer等2013; Leonhardt等2004
At4g37870	磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(PCK1)	催化草酰乙酸形成磷酸烯醇式丙酮酸	OAA→PEP+CO <sub>2</sub>	GC中高表达 ABA处理下调	Leonhardt等2004; Wang等2011; Bates等 2012; Bauer等2013
At4g15530	丙酮酸磷酸二激酶(PPDK)	使丙酮酸转变为磷酸烯醇式丙酮酸	Pyr→PEP	蔗糖和ABA处理 下调	Wang等2011; Bates等 2012
At5g43330	胞质苹果酸脱氢酶(cMDH)	在胞质中使苹果酸转变为草酰乙酸	Mal↔OAA	GC中高表达	Bates等2012
At1g53240	线粒体苹果酸脱氢酶(mMDH)	在线粒体中使苹果酸转变为草酰乙酸	Mal↔OAA	GC中高表达 ABA处理下调	Leonhardt等2004; Wang等2011
At3g52720、 At2g28210、 At1g70410	碳酸酐酶(CA)	催化CO <sub>2</sub> 和HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 之间的相互转化	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ↔CO <sub>2</sub>	GC中高表达	Leonhardt等2004



### 3.2 保卫细胞淀粉降解产生的蔗糖

保卫细胞叶绿体中淀粉的降解可形成多种中间产物, 这些产物可作为蔗糖合成的替代碳源。与叶肉细胞相比, 保卫细胞中淀粉在光照1 h之内能迅速发生降解, 推测降解积累的糖可作为渗透物质影响保卫细胞的水势进而调节气孔的张开(Horrer等2016)。蓝光条件下, 淀粉的降解主要与苹果酸的合成相关, 已证明苹果酸作为钾离子的拮抗离子在气孔运动中起着重要调控作用(Ogawa等1978)。葡萄糖磷酸变位酶突变体 $pgm$  (*phosphoglucomutase*)严重损害蓝光诱导的气孔张开, 而 $pgm$ 突变体保卫细胞叶绿体中淀粉积累量很低(Caspar等1985)。有趣的是, 与WT相比, 在介质中加入Cl<sup>-</sup>能恢复蓝光诱导 $pgm$ 突变体气孔的张开现象, 表明保卫细胞中淀粉的降解可能主要是提供碳源, 比如说苹果酸, 作为气孔张开时钾离子积累的平衡离子(Lascève等2010)。最近, Horrer等(2016)也认为, 在蓝光诱导气孔张开过程中, 保卫细胞中部分淀粉的降解就足够提供碳源, 用于苹果酸的迅速合成, 而其他剩余的淀粉可能用来合成蔗糖和其他的糖类。

保卫细胞中淀粉降解发生的时间和程度主要取决于光照的时间、光的质量及输入的比率、糖的合成和消耗。另一方面, 海藻糖相关的基因在保卫细胞中的表达丰度也较高(表3), 海藻糖和海藻糖-6-磷酸在ABA诱导气孔关闭信号途径中起调节作用(Van Houtte等2013), 但是, 这些代谢产物是

否参与调节保卫细胞中淀粉降解还不得而知。因此利用海藻糖代谢相关的突变体或许能为气孔运动的调控和植物水分利用率方面提供新的观点。

一个有趣的现象是保卫细胞中的液泡随着昼夜的变化而变化, 白天, 保卫细胞液泡呈现一个或几个大的液泡, 而到晚上, 保卫细胞液泡会变成多个小的液泡(Gao等2005; Li等2013)。我们知道, 植物体内的液泡和动物细胞体内的溶酶体功能类似, 参与细胞自噬信号过程。有研究证明碳水化合物代谢和细胞自噬之间存在着密切的联系(Cho等2011; Stettler等2009)。最近, Wang和Liu (2013)研究发现细胞自噬参与叶片淀粉降解的过程。那么, 保卫细胞中叶绿体中的淀粉是否也可通过细胞自噬途径在液泡中发生降解而产生蔗糖尚没有资料的报道, 需进一步设计实验来进行这方面的探索。

### 3.3 叶肉细胞蔗糖输入保卫细胞

由于气孔作为光合作用前体物质CO<sub>2</sub>进入植物的第一道屏障, 因此, 气孔运动与光合作用之间必然存在紧密的联系。蔗糖作为保卫细胞和叶肉细胞之间的一个连接因子有很多实验证据, 利用同位素<sup>14</sup>C<sub>2</sub>供给叶肉细胞, 能在保卫细胞的质外体空间中检测到带放射性的蔗糖存在(Lu等1997)。而蔗糖在保卫细胞质外体中的积累(Lu等1995), 或者在保卫细胞中发生异化作用(Kelly等2013; Lugassi等2015)可诱导在高光合速率下气孔的关闭。这些结果表明, 质外体中蔗糖的运输到

表3 保卫细胞中高度表达的蔗糖和海藻糖代谢相关基因

Table 3 Highly expressed genes of sucrose and trehalose metabolism in guard cells

基因编号	酶	功能	ABA反应	参考文献
蔗糖代谢				
At4g02280	蔗糖合成酶3 (SUS3)	负责蔗糖的合成和降解	↑	Wang等2011; Bates等2012; Bauer等2013
At3g17130	转化酶(INV)	催化蔗糖转变为葡萄糖和果糖	-	Leonhardt等2004; Wang等2011; Bates等2012;
At3g62820		的反应	-	Bauer等2013
At4g25260			↓	
At3g05820			↑	
At5g11110	蔗糖磷酸合成酶2F (SPS2F)	参与蔗糖的合成	↑	Wang等2011; Bates等2012; Bauer等2013
海藻糖代谢				
At1g78580	海藻糖磷酸合成酶(TPS1)	以UDP-葡萄糖和葡萄糖-6-磷酸为底物催化产生海藻糖-6-磷酸	-	Bates等2012; Bauer等2013; Leonhardt等2004
At4g22590	海藻糖磷酸化磷酸酶G (TPPG)	使海藻糖-6-磷酸转变为海藻糖	-	Bates等2012; Bauer等2013
At4g12430	海藻糖磷酸化磷酸酶F (TPPF)	使海藻糖-6-磷酸转变为海藻糖	↓	Bates等2012; Bauer等2013
At4g24040	海藻糖酶1 (TRE1)	使海藻糖转变为葡萄糖	-	Bates等2012; Bauer等2013; Leonhardt等2004

↓: 下降; ↑: 升高; -: 没有变化。

保卫细胞即使不是全部,也是大部分来源于保卫细胞周围的叶肉细胞。据此,来源于叶肉细胞在保卫细胞质外体过量积累的淀粉对诱导气孔的关闭是一个长期的效应。因此,内源碳水化合物的浓度( $C_i$ )、苹果酸和蔗糖等可能作为信号物质在不同类型细胞之间起到连接的作用。叶肉细胞来源的代谢物质的积累可能改变保卫细胞一些离子转运体的活性,从而诱导一些离子(如:苹果酸离子、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{K}^+$ )的外流,进一步导致气孔关闭。但是,现在还没有证据表明是否像苹果酸一样,叶肉细胞来源的蔗糖在诱导气孔关闭过程中也有离子的外流(Hedrich和Marten 1993)。

同时也有许多证据表明离体的保卫细胞能够对外界刺激如光强、光的质量、 $\text{CO}_2$ 和 $\text{O}_2$ 浓度等产生响应(Zeiger和Hepler 1977)。通过转基因技术改变植株叶肉细胞的光合能力对气孔运动方式没有太大影响(Easlson等2015),表明从叶肉细胞到保卫细胞的信息不依赖于叶肉细胞的光合活性。同样,改变卡尔文循环途径,对气孔运动也没有影响。然而,改变叶肉细胞某些其他途径比如蔗糖和苹果酸的代谢对气孔运动有很大的影响。

#### 4 叶肉细胞来源的蔗糖在气孔关闭过程中的作用

蔗糖的浓度似乎是连接光合作用和蒸腾作用的重要环节。Lu等(1995)证明当气孔开度达到最大时,保卫细胞质外体中积累的蔗糖刚好达到最高峰。虽然蔗糖浓度的变化引起气孔关闭的机理还不清楚,但众所周知,蔗糖浓度的改变是一个连接蒸腾作用并依赖于光合作用的过程(Kang等2007a)。叶肉细胞产生的蔗糖可通过韧皮部装载系统运输到保卫细胞质外体空间,作为一种渗透调节物质进而调节气孔的运动(Kang等2007b)。叶肉细胞来源的蔗糖进入保卫细胞调节气孔关闭涉及到ABA信号途径,并且依赖于己糖激酶(hexokinase, HXK)的活性(Kelly等2013)。

证据表明,  $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的蔗糖诱导气孔关闭涉及到HXK的活性和ABA信号途径成分一氧化氮(nitric oxide, NO)在保卫细胞的积累。内向钾离子通道(KST1)基因的启动子是一个在保卫细胞专一性表达的启动子,将HXK1基因置于该启动子控制下,转入拟南芥、番茄和甜橙的保卫细胞,获得转基因株系比对应的野生型更容易受到糖和ABA诱

导的气孔关闭(Kelly等2013; Lugassi等2015)。这些数据表明蔗糖和HXK活性可能代表一种在高光合速率下诱导气孔关闭作用机制(Kelly等2013)。Outlaw及其同事也推测在高光合作用下,蔗糖的积累可能作为一个降低气孔导度信号分子(Kang等2007a)。他们推测当叶肉细胞产生的蔗糖浓度很高并且蒸腾速率也高时,叶肉细胞产生的蔗糖在进入韧皮部细胞之前能随蒸腾流最终运输到保卫细胞质外体空间(Kang等2007a)。于是,蔗糖在质外体积累,或者直接运入保卫细胞,或者被细胞壁转化酶所降解。这一机制能在碳源不受限制时降低水分损失,是一种光合作用和气孔运动紧密偶联的增加水分利用效率的反馈调节机制。

到目前为止尚不清楚蔗糖在什么浓度下诱导气孔关闭。不同的生长条件下,在保卫细胞的胞质中积累蔗糖的浓度范围在 $40\sim 110 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,在质外体会更高( $\geq 150 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (Lu等1997)。根据这些信息,计算蔗糖浓度是非常重要的,而由Outlaw及其同事对于蔗糖浓度的计算可能评价过高,达到2倍以上(Kang等2007a)。而且蔗糖进入保卫细胞主要通过糖转运体,而这类转运体在蔗糖浓度达到 $40 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时可能达到饱和。因此,蔗糖进入保卫细胞的动力学特征仍需在其他物种进行证明,但是在质外体空间中积累的高浓度蔗糖( $\geq 150 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )进入保卫细胞胞质进而诱导气孔关闭是不可能的。作为一个替代的假说,蔗糖或许作为气孔关闭的一种信号分子,在质外体空间通过刺激保卫细胞离子外流,就像苹果酸的方式一样,以及在保卫细胞内诱导ABA信号转导过程。

另一个假说涉及到海藻糖代谢。该假说有两个方面的证据:(1)与叶肉细胞相比,保卫细胞中表达海藻糖相关基因的丰度较高;(2)在拟南芥海藻糖酶突变体*tre1*中,不能把海藻糖降解为葡萄糖,干旱和ABA也不能诱导该突变体气孔的关闭(Van Houtte等2013)。由此可见,不仅蔗糖,己糖以及由HXK介导的磷酸化作用都在气孔运动方面起着重要的作用,以后的工作是进一步研究所有观察到的现象之间精确的机制。鉴于蔗糖、海藻糖和淀粉代谢之间紧密的联系(Martins等2013),这些代谢物质在保卫细胞积累的详细的动力学特征将会为气孔运动的调控提供重要的观点。

## 5 蔗糖裂解是光诱导气孔张开中的一个重要作用机制

如果蔗糖对于气孔开闭的作用仅仅被认为是一种渗透调节物质,那么植物在保卫细胞中积累少量的蔗糖将能使气孔孔径收缩以及降低气孔导度。相反,在保卫细胞中表达蔗糖专一性裂解酶则表现出高的气孔导度,但与蔗糖裂解产物葡萄糖和果糖高积累不一致(Daloso等2016a),马铃薯蔗糖合成酶3沉默植株呈现低的气孔导度(Antunes等2012)。这些结果表明蔗糖在保卫细胞光诱导气孔张开中的作用主要是作为能量而不是渗透调节物质,这与在保卫细胞中蔗糖合成酶3和转化酶的高度表达相一致。然而,在保卫细胞中蔗糖的积累或降解的功能还不清楚,因为在体内还没有找到一个合适的方法来分析保卫细胞中的代谢,这是阻碍进一步研究的一个原因。

在光和钾离子诱导气孔张开的过程中,蔗糖或许是作为糖酵解和呼吸作用的底物。利用 $^{13}\text{C}$ 同位素标记试验证明 $\text{HCO}_3^-$ 的同化与琥珀酸的合成和降解相关,特别是与植物体内蔗糖的降解能力相关(Daloso等2016a)。除此之外,蔗糖的降解也可能为有机酸的合成提供碳骨架(Daloso等2015)。在含 $\text{K}^+$ 的介质中,蔗糖降解后在苹果酸中观察到更多 $^{13}\text{C}$ 放射活度(Daloso等2015),表明 $\text{K}^+$ 处理或者增加ATP的需求,或者增加苹果酸的积累,而苹果酸可以储藏在液泡中作为 $\text{K}^+$ 的拮抗离子(Hedrich和Marten 1993),或者作为一个信号分子激活液泡膜上的 $\text{Cl}^-$ 转运体(aluminium-activated malate transporter 9, *ALMT9*) (De Angeli等2013),或者二者兼有。总之,这些发现表明蔗糖的降解会刺激线粒体代谢。虽然这个假说能够解释气孔张开过程中保卫细胞中能量的需要和碳的需求,但是要进一步在体内通过 $^{13}\text{C}$ 标记的蔗糖来证实。

保卫细胞蔗糖的裂解在诱导气孔张开(Daloso等2015)和气孔关闭(Kelly等2013)中都可作为一种重要的调节机制。最近的结果表明,植物保卫细胞中过表达*HXK*在低光强和高光强下依次表现出高的和低的蒸腾速率(Lugassi等2015)。这些结果与蔗糖的裂解诱导气孔张开和关闭的假说相一致(Daloso等2016b; Kelly等2013)。推测*HXK*可能是保卫细胞蔗糖浓度和气孔运动之间一个关键的调

节点,影响叶片的光合速率和保卫细胞蔗糖含量的环境刺激通过*HXK*来调节气孔的张开或关闭。

## 6 总结

虽然气孔代谢方面的知识随着遗传资源和质谱分析数据的增加而清晰,但是,一些基础的问题如保卫细胞中淀粉的降解以及保卫细胞在对环境反应中的代谢如何调节尚不清楚。保卫细胞中蔗糖代谢是一个相当复杂的问题,最近的研究证明蔗糖在保卫细胞中有许多其他的非渗透调节方面的功能。然而,目前尚不能对蔗糖积累在保卫细胞渗透调节方面形成一个有效结论。利用钾离子通道突变体、影响蔗糖合成或降解的突变体进行系统的分析,仅会为我们对蔗糖和钾离子在保卫细胞中渗透调节作用提供新的认识,而且通过对气孔运动的调控,提高植物的水分利用率,为农业生产抗旱和节水提供服务。

## 参考文献

- Antunes WC, Provart NJ, Williams TCR, Loureiro ME (2012). Changes in stomatal function and water use efficiency in potato plants with altered sucrolytic activity. *Plant Cell Environ*, 35 (4): 747–759
- Azoulay-Shemer T, Palomares A, Bagheri A, Israelsson-Nordstrom M, Engineer CB, Bargmann BOR, Stephan AB, Schroeder JI (2015). Guard cell photosynthesis is critical for stomatal turgor production, yet does not directly mediate  $\text{CO}_2^-$  and ABA-induced stomatal closing. *Plant J*, 83 (4): 567–581
- Bates GW, Rosenthal DM, Sun J, Chattopadhyay M, Peffer E, Yang J, Ort DR, Jones AM (2012). A comparative study of the *Arabidopsis thaliana* guard-cell transcriptome and its modulation by sucrose. *PLoS One*, 7 (11): e49641
- Bauer H, Ache P, Lautner S, Fromm J, Hartung W, Al-Rasheid KAS, Sonnewald S, Sonnewald U, Kneitz S, Lachmann N, et al (2013). The stomatal response to reduced relative humidity requires guard cell-autonomous ABA synthesis. *Curr Biol*, 23 (1): 53–57
- Caspar T, Huber SC, Somerville C (1985). Alterations in growth, photosynthesis, and respiration in a starchless mutant of *Arabidopsis thaliana* deficient in chloroplast phosphoglucomutase activity. *Plant Physiol*, 79 (1): 11–17
- Cho MH, Lim H, Shin DH, Jeon JS, Bhoo SH, Park YI, Hahn TR (2011). Role of the plastidic glucose translocator in the export of starch degradation products from the chloroplasts in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 190 (1): 101–112
- Daloso DM, Antunes WC, Pinheiro DP, Waquim JP, Araujo WL, Loureiro ME, Fernie AR, Williams TCR (2015). Tobacco guard cells fix  $\text{CO}_2$  by both rubisco and PEPcase while sucrose acts as a substrate during light-induced stomatal opening. *Plant Cell Environ*, 38 (11): 2353–2371
- Daloso DM, dos Anjos L, Fernie AR (2016a). Roles of sucrose in



- guard cell regulation. *New Phytol*, 211 (3): 809–818
- Daloso DM, Williams TCR, Antunes WC, Pinheiro DP, Muller C, Loureiro ME, Fernie AR (2016b). Guard cell-specific upregulation of sucrose synthase 3 reveals that the role of sucrose in stomatal function is primarily energetic. *New Phytol*, 209 (4): 1470–1483
- De Angeli A, Zhang JB, Meyer S, Martinoia E (2013). AtALMT9 is a malate-activated vacuolar chloride channel required for stomatal opening in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 4 (2): 1804
- Easlon HM, Carlisle E, McKay JK, Bloom AJ (2015). Does low stomatal conductance or photosynthetic capacity enhance growth at elevated CO<sub>2</sub> in *Arabidopsis*? *Plant Physiol*, 167 (3): 793–799
- Eastmond PJ, Astley HM, Parsley K, Aubry S, Williams BP, Menard GN, Craddock CP, Nunes-Nesi A, Fernie AR, Hibberd JM (2015). *Arabidopsis* uses two gluconeogenic gateways for organic acids to fuel seedling establishment. *Nat Commun*, 6 (6659): 7659
- Gao XQ, Li CG, Wei PC, Zhang XY, Chen J, Wang XC (2005). The dynamic changes of tonoplasts in guard cells are important for stomatal movement in *Vicia faba*. *Plant Physiol*, 139 (2): 1207–1216
- Gotow K, Taylor S, Zeiger E (1988). Photosynthetic carbon fixation in guard cell protoplasts of *Vicia faba* L.: evidence from radiolabel experiments. *Plant Physiol*, 86 (3): 700–705
- Hedrich R, Marten I (1993). Malate-induced feedback regulation of plasma membrane anion channels could provide a CO<sub>2</sub> sensor to guard cells. *EMBO J*, 12 (3): 897–901
- Horrer D, Flutsch S, Pazmino D, Matthews JS, Thalmann M, Nigro A, Leonhardt N, Lawson T, Santelia D (2016). Blue light induces a distinct starch degradation pathway in guard cells for stomatal opening. *Curr Biol*, 26 (3): 362–370
- Ichida AM, Pei ZM, Baizabal-Aguirre VM, Turner KJ, Schroeder JI (1997). Expression of a Cs<sup>+</sup>-resistant guard cell K<sup>+</sup> channel confers Cs<sup>+</sup>-resistant, light-induced stomatal opening in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 9 (10): 1843–1857
- Kang Y, Outlaw Jr WH, Andersen PC, Fiore GB (2007a). Guard-cell apoplastic sucrose concentration - a link between leaf photosynthesis and stomatal aperture size in the apoplastic phloem loader *Vicia faba* L. *Plant Cell Environ*, 30 (5): 551–558
- Kang Y, Outlaw Jr WH, Fiore GB, Riddle KA (2007b). Guard cell apoplastic photosynthate accumulation corresponds to a phloem-loading mechanism. *J Exp Bot*, 58 (15): 4061–4070
- Kelly G, Moshelion M, David-Schwartz R, Halperin O, Wallach R, Attia Z, Belausov E, Granot D (2013). Hexokinase mediates stomatal closure. *Plant J*, 75 (6): 977–988
- Lawson T (2009). Guard cell photosynthesis and stomatal function. *New Phytol*, 181 (1): 13–34
- Lawson T, Simkin AJ, Kelly G, Granot D (2014). Mesophyll photosynthesis and guard cell metabolism impacts on stomatal behaviour. *New Phytol*, 203 (4): 1064–1081
- Lascève G, Leymarie J, Vavasseur A (2010). Alterations in light-induced stomatal opening in a starch-deficient mutant of *Arabidopsis thaliana* L. deficient in chloroplast phosphoglucomutase activity. *Plant Cell Environ*, 20 (3): 350–358
- Lebaudy A, Vavasseur A, Hosy E, Dreyer I, Leonhardt N, Thibaud JB, Very AA, Simonneau T, Sentenac H (2008). Plant adaptation to fluctuating environment and biomass production are strongly dependent on guard cell potassium channels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105 (13): 5271–5276
- Leonhardt N, Kwak JM, Robert N, Waner D, Leonhardt G, Schroeder JI (2004). Microarray expression analyses of *Arabidopsis* guard cells and isolation of a recessive abscisic acid hypersensitive protein phosphatase 2C mutant. *Plant Cell*, 16 (3): 596–615
- Li LJ, Ren F, Gao XQ, Wei PC, Wang XC (2013). The reorganization of actin filaments is required for vacuolar fusion of guard cells during stomatal opening in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 36 (2): 484–497
- Lu P, Outlaw Jr WH, Smith BG, Freed GA (1997). A new mechanism for the regulation of stomatal aperture size in intact leaves (accumulation of mesophyll-derived sucrose in the guard-cell wall of *Vicia faba*). *Plant Physiol*, 114 (1): 109–118
- Lu P, Zhang SQ, Outlaw Jr WH, Riddle KA (1995). Sucrose: a solute that accumulates in the guard-cell apoplast and guard-cell symplast of open stomata. *FEBS Lett*, 362 (2): 180–184
- Lu WY, Fang K, Bian HW, Zhu MY (2016). Advances in stomatal development and its regulation factors. *Plant Physiol J*, 52 (6): 782–788 (in Chinese with English abstract) [陆雯芸, 房克, 边红武, 朱睦元(2016). 气孔发育及其调控因素的研究进展. *植物生理学报*, 52 (6): 782–788]
- Lugassi N, Kelly G, Fidel L, Yaniv Y, Attia Z, Levi A, Alchanatis V, Moshelion M, Raveh E, Carmi N, et al (2015). Expression of *Arabidopsis* hexokinase in citrus guard cells controls stomatal aperture and reduces transpiration. *Front Plant Sci*, 6 (e49641): 1114
- Martins MC, Hejazi M, Fettke J, Steup M, Feil R, Krause U, Arrivault S, Vosloh D, Figueroa CM, Ivakov A, et al (2013). Feedback inhibition of starch degradation in *Arabidopsis* leaves mediated by trehalose 6-phosphate. *Plant Physiol*, 163 (3): 1142–1163
- McLachlan DH, Lan J, Geilfus CM, Dodd AN, Larson T, Baker A, Horak H, Kollist H, He ZS, Graham I, et al (2016). The breakdown of stored triacylglycerols is required during light-induced stomatal opening. *Curr Biol*, 26 (5): 707–712
- Ogawa T, Ishikawa H, Shimada K, Shibata K (1978). Synergistic action of red and blue light and action spectra for malate formation in guard cells of *Vicia faba* L. *Planta*, 142 (1): 61–65
- Outlaw Jr WH, Manchester J (1979). Guard cell starch concentration quantitatively related to stomatal aperture. *Plant Physiol*, 64 (1): 79–82
- Shimazaki K, Zeiger E (1985). Cyclic and noncyclic photophosphorylation in isolated guard cell chloroplasts from *Vicia faba* L. *Plant Physiol*, 78 (2): 211–214
- Stadler R, Buttner M, Ache P, Hedrich R, Ivashikina N, Melzer M, Shearson SM, Smith SM, Sauer N (2003). Diurnal and light-regulated expression of *ASTP1* in guard cells of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 133 (2): 528–537
- Stettler M, Eicke S, Mettler T, Messerli G, Hortensteiner S, Zeeman SC (2009). Blocking the metabolism of starch breakdown products in *Arabidopsis* leaves triggers chloroplast degradation. *Mol*

- Plant, 2 (6): 1233–1246
- Suetsugu N, Takami T, Ebisu Y, Watanabe H, Iiboshi C, Doi M, Shimazaki K (2014). Guard cell chloroplasts are essential for blue light-dependent stomatal opening in Arabidopsis. *PLoS One*, 9 (9): e108374
- Talbott LD, Zeiger E (1996). Central roles for potassium and sucrose in guard-cell osmoregulation. *Plant Physiol*, 111 (4): 1051–1057
- Van Houtte H, Vandesteene L, Lopez-Galvis L, Lemmens L, Kissel E, Carpentier S, Feil R, Avonce N, Beeckman T, Lunn JE, et al (2013). Overexpression of the trehalase gene *AtTRE1* leads to increased drought stress tolerance in Arabidopsis and is involved in abscisic acid-induced stomatal closure. *Plant Physiol*, 161 (3): 1158–1171
- Vavasseur A, Raghavendra AS (2005). Guard cell metabolism and CO<sub>2</sub> sensing. *New Phytol*, 165 (3): 665–682
- Wang JB, Ding B, Li X, Wu TW, Chen XQ, Xie XD (2013). Roles of phospholipase D in ABA-regulated stomatal movement. *Plant Physiol J*, 52 (6): 861–867 (in Chinese with English abstract) [王俊斌, 丁博, 李欣, 吴天文, 陈小强, 谢晓东(2016). 磷脂酶D在ABA调控气孔运动中的作用. *植物生理学报*, 52 (6): 861–867]
- Wang RS, Pandey S, Li S, Gookin TE, Zhao ZX, Albert R, Assmann SM (2011). Common and unique elements of the ABA-regulated transcriptome of Arabidopsis guard cells. *BMC Genomics*, 12 (1): 216–239
- Wang Y, Liu Y (2013). Autophagic degradation of leaf starch in plants. *Autophagy*, 9 (8): 1247–1248
- Wille AC, Lucas WJ (1984). Ultrastructural and histochemical studies on guard cells. *Planta*, 160 (2): 129–142
- Zeiger E, Hepler PK (1977). Light and stomatal function: blue light stimulates swelling of guard cell protoplasts. *Science*, 196 (4292): 887–889
- Zhang SQ, Liu X, Lou CH (2000). Regulation of carbon metabolism in guard cells in the stomatal movement. *Chin Bull Bot*, 17 (4): 345–351 (in Chinese with English abstract) [张蜀秋, 刘新, 娄成后(2000). 保卫细胞碳代谢与气孔运动. *植物学通报*, 17 (4): 345–351]

## Recent advances on the functions of sucrose in stomatal movement regulation

ZHANG Yu-Bin, XUE Ren, WANG Yi-Jie, LI Qing, SHI Wu-Liang\*

*Jilin Province Engineering Laboratory of Plant Genetic Improvement, Plant Science Academy, Jilin University, Changchun 130062, China*

**Abstract:** Regulation of stomatal movement involves reversible changes in the concentration of osmolytes in guard cells. It is well known that sucrose has an osmolytic role in guard cells. However, except for osmolytic role, recent studies indicate that sucrose may possess other roles in guard cells. Here, we emphasized the various roles of sucrose in guard cell regulation, including the synthesis, accumulation, and degradation of sucrose, and summarized some genes encoding sucrose and hexose transporters and genes involved in sucrose and trehalose metabolism in guard cells. We analyzed the possible roles of these genes between guard cell function and stomatal movement, and provided further understanding of both guard cell metabolism and stomatal movement regulation.

**Key words:** stomatal movement; guard cell; carbon metabolism; sucrose

Received 2016-12-20 Accepted 2017-04-24

This work was supported by the National Key Research Projects (Grant No. 2016YFD0300301-03) and College Students' Innovative Experimental Project (Grant Nos. 2015821242 and 2015821269).

\*Corresponding author (E-mail: wlshi@jlu.edu.cn).