

保卫细胞的光合作用在光调节的气孔运动中的功能

王书伟, 王巍, 李海侠, 李颖, 李建华, 陈玉玲*

河北师范大学生命科学院, 石家庄 050016

Function of Guard Cell Photosynthesis in Light Regulation of Stomatal Movements

WANG Shu-Wei, WANG Wei, LI Hai-Xia, LI Ying, LI Jian-Hua, CHEN Yu-Ling*

College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China

摘要: 本文介绍植物叶片上保卫细胞中叶绿体在光诱导气孔开放过程中的作用等研究进展, 并对叶肉细胞中的光合作用与气孔运动之间的关系也作简要分析和讨论。

关键词: 保卫细胞叶绿体; 光信号; 叶肉细胞光合作用; 气孔运动

气孔由一对保卫细胞组成, 其开关调控着植物与外界环境之间气体和水分的交换, 从而调节水分和光合作用 2 个生理代谢过程。气孔开放时, 保卫细胞中常有渗透物质积累, 以致保卫细胞水势下降而吸收水分, 于是气孔张开。相反, 保卫细胞内渗透物质的排出或消耗, 会导致保卫细胞水分外流, 气孔关闭。气孔开关受内部生理因素和外界环境因子的调节, 总体来说, 光合作用的有效波长、低浓度 CO_2 和适宜的湿度均能促进气孔开放; 而黑暗、低湿度、高温、高浓度 CO_2 以及植物激素 ABA 等则促进气孔关闭。

1 光对气孔运动的调控

作为光合作用的有效波长, 蓝光和红光均能诱导气孔开放, 但其机制不同。(1)低通量的蓝光通过一系列信号传递, 活化质膜上的 H^+ -ATP酶, 可促使质外体的酸化, 质膜也同时超极化, 于是阳离子(如 K^+)受到驱动并通过膜上的电压门控式内向 K^+ 通道进入保卫细胞, 导致气孔快速开放。蓝光还会促进苹果酸根的合成, 以平衡进入保卫细胞的阳离子 (Shimazaki 等 2007)。(2)保卫细胞和叶肉细胞中的叶绿素能吸收高通量的红光, 导致气孔开放, 此过程可受光系统 II (PS II) 的抑制剂敌草隆 [3-(3,4-二氯苯)-1,1-二甲基脲, 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea, DCMU] 抑制。红光条件下的叶肉细胞其光合作用消耗 CO_2 , 胞间 CO_2 浓度 (C_i) 降低, 从而促进气孔开放 (Roelfsema 等 2006)。

每个保卫细胞中的叶绿体数目因植物种类的不同而有差异, 从几个至 100 个不等, 以含 10~15

个的居多。与叶肉细胞相比, 保卫细胞中的叶绿体和基粒数目少, 且基粒发育不全。保卫细胞中叶绿体的另一个特征是: 黑暗条件下气孔关闭时, 淀粉增多; 光照条件下气孔开放时, 淀粉含量减少, 降解为蔗糖。

保卫细胞渗透调节机制随着一天内时间、物种或生长条件的不同而发生变化: K^+ 、 Cl^- 以及淀粉降解产生的苹果酸根均参与上午的气孔开放和蓝光反应过程, 淀粉降解产生的蔗糖在气孔的蓝光反应中也起一定的作用。因此, 上午气孔的快速开放主要是依赖于保卫细胞内 K^+ 的积累。保卫细胞的光合碳还原产生的蔗糖也参与气孔的渗透调节过程。下午保卫细胞膨压的维持主要依赖于蔗糖 (Talbot 和 Zeiger 1996; 1998)。至于保卫细胞的蔗糖是来自光合作用碳还原还是由叶肉细胞输入, 迄今还存在争议。

2 保卫细胞中的叶绿体在气孔运动中的作用

保卫细胞的叶绿体和叶肉细胞相似, 具有有功能的光系统 I (PS I) 和光系统 II (PS II)。不进行 CO_2 固定时, 光合电子传递链能提供足够的 ATP 用于驱动气孔开放过程中离子交换 (Shimazaki 和 Zeiger 1985)。Taylor 和 Assmann (2001) 在红光下分别用寡霉素 (氧化磷酸化抑制剂) 和 DCMU (PS II 抑制剂)

收稿 2010-01-12 修定 2010-03-15

资助 国家自然科学基金(30970226, 30971506)。

* 通讯作者 (E-mail: yulingchen@mail.hebtu.edu.cn; Tel: 0311-86268229)。

处理蚕豆表皮条。结果表明,红光条件下,保卫细胞中叶绿体产生ATP,并运输到细胞质中,为质膜H⁺-ATP酶利用后,将H⁺泵到保卫细胞外,促进气孔开放。另一方面,保卫细胞中固定CO₂产生的或是胞质中吸收的草酰乙酸(oxaloacetic acid, OAA)或是3-磷酸甘油酸(3-phosphoglyceric acid, 3-PGA),3-PGA被电子传递链上产生的ATP和NADPH还原,其代谢产物通过磷酸丙糖途径运到胞质中(Ritte和Raschke 2003)。在DCMU处理或低照度光的条件下,蓝光仍能诱导气孔开放,尽管已有证据表明,保卫细胞中叶绿体也可产生能量供气孔运动,但大多数人认为蓝光诱导气孔开放所需要的能量是来自线粒体的呼吸作用;红光下保卫细胞产生的NADPH和ATP运输到胞质中,用于蓝光下苹果酸根的合成(Shimazaki等2007)。

总之,保卫细胞的光合电子传递产物能直接参与气孔的运动,尤其是在气孔的红光反应中起主要作用,同时也间接参与气孔的蓝光反应。光合电子传递链产生的ATP和还原力用于CO₂固定、碳水化合物从叶绿体的输出以及离子的吸收。

3 保卫细胞中的叶绿体在气孔的蓝光信号转导中的作用

Shimazaki等(2007)分析蓝光调节气孔运动的实验表明,在蚕豆和拟南芥中,蓝光通过激活质膜H⁺-ATP酶,将H⁺泵到保卫细胞之外,并致使质膜超极化,质膜上的电压门控式内向K⁺通道受到激活,并伴随着苹果酸根的合成以及Cl⁻的吸收以平衡电荷,最终导致气孔快速开放。氰化钾(KCN)可抑制蓝光诱导的气孔开放,这表明H⁺泵出所需要能量大部分来源于线粒体。DCMU也能部分抑制蓝光诱导的气孔开放,表明保卫细胞光合电子传递产生的ATP也可作为能量来源(Mawson 1993)。Lascève等(1997)报道拟南芥的淀粉合成缺失突变体,其气孔不能对蓝光反应,这表明蓝光反应中的保卫细胞内苹果酸根离子大部分来源于淀粉的降解。但也有证据表明,蚕豆气孔中淀粉降解所产生的蔗糖可作为另外一种渗透物质参与蓝光诱导的气孔开放。

玉米黄质和phototropin (PHOT)是公认的蓝光受体(Kinoshita等2001)。玉米黄质缺失的拟南芥突变体 $npq1$ 的气孔不能对蓝光作出反应,但此结果并不能在 $npq1$ 突变体的保卫细胞原生质体得到重

复(Frechilla等1999)。1997年Briggs研究组首次证实Phot是蓝光受体(Huala等1997),蓝光照射拟南芥表皮条后, $phot1 phot2$ 双重突变体的气孔并不作出反应,且保卫细胞不能将H⁺泵出(Kinoshita等2001)。

淀粉降解后可以经过PEP羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)产生OAA,进而转变成苹果酸。Outlaw和Manchester(1979)已经证实,苹果酸根的积累与淀粉的降解之间有定量关系;光照下PEPC活性增加,同时依赖于NADP或是NAD的苹果酸脱氢酶活性也升高,它催化OAA还原成苹果酸根。保卫细胞内的苹果酸根含量与气孔开度呈正相关性(Vavasseur和Raghavendra 2005)。与叶肉细胞相比,保卫细胞内的淀粉含量多,PEPC活性高。Asai等(2000)采用PEPC抑制剂3,3-二氯-2-(二羟磷甲基)-丙烯酯(3,3-dichloro-dihydroxyphosphinoyl-methyl-2-propenoate, DCDP)证实,在光诱导的气孔开放过程中有苹果酸根的积累。Cousins等(2007)报道C₄苋属植物*Amaranthus edulis*的PEPC活性缺失突变体,其气孔的开放速率和气孔导度都比野生型的低,说明PEPC活性在气孔开放过程中也很重要。

4 保卫细胞中Calvin循环产生的蔗糖在气孔运动中的作用

迄今为止,关于保卫细胞中叶绿体的光合碳还原能力及其在气孔运动中的作用一直存在争议。Madhavan和Smith(1982)采用免疫荧光技术测定41种植物保卫细胞中的Rubisco含量的结果显示,Rubisco含量在C₃、C₄植物的保卫细胞中可忽略不计,但存在于近1/3景天酸科(CAM)植物的保卫细胞中。光不影响保卫细胞内的3-PGA含量,表明光合碳还原途径(photosynthetic carbon reduction pathway, PCR)并没有参与气孔运动。此外,Zemel和Gepstein(1985)采用免疫细胞化学定位的方法确定蚕豆保卫细胞内Rubisco含量为叶肉细胞的40%~50%。Shimazaki等(1989)指出,保卫细胞CO₂固定与O₂释放的比值低,说明大部分ATP和还原力用于气孔的红光反应而不是光合CO₂固定。与已有的报道结果相反,Gotow等(1988)证实,在红光照射下,放射性同位素标记的CO₂出现在蚕豆保卫细胞的RuBP、3-PGA、果糖-1,6-二磷酸(fructose-

1,6-bisphosphate, FBP)和景天庚酮糖-1,7-二磷酸(sedoheptulose-1,7-bisphosphate, SBP)中。使原生质体所处的缓冲液碱化,结果表明,保卫细胞的原生质体可在红光和白光(全色光)的照射下吸收CO₂并放出O₂。红光照射下用DCMU处理蚕豆的表皮条后,其保卫细胞内依赖光合作用的蔗糖累积会受抑制,CO₂浓度降低会促进K⁺吸收,却不影响蔗糖的吸收(Olsen等2002)。

Calvin循环的酶类存在于保卫细胞的叶绿体,但它们的活性、功能及在气孔运动中的作用存在很大争议。虽然在保卫细胞存在光合碳还原过程,但关于这一过程在气孔开放过程中渗透调节中的贡献,不同报道却有很大差异,从2%到40%不等(Reckmann等1990)。有报道显示,如果施加PEPC抑制剂DCDP,Calvin循环的活性就会升高。这表明PEPC活性受到抑制时的Calvin循环会变得更重要(Parvathi和Raghavendra1997)。

5 保卫细胞的光合效率

Lawson等(2002)同时测定保卫细胞与叶肉细胞PS II光合效率(F_q'/F_m')的结果表明,保卫细胞的光合效率相当于叶肉细胞的70%~80%。但由于2种类型细胞中叶绿体的准确光吸收和PS I的贡献不能确定,所以也就无法估计2种类型细胞的电子传递速率。同时,Lawson等(2003)观察不同浓度CO₂/O₂下的紫露草(*Tradescantia albiflora*)和鸭跖草(*Commelina communis*)的完整绿色叶片中保卫细胞的 F_q'/F_m' 值的结果表明,Rubisco是光合电子传递产物的主要接收者,说明光合电子传递产物主要进入Calvin循环,这一结果与Ueno(2001)用免疫金技术得到的结果一致。事实证明,保卫细胞和叶肉细胞具有相同的CO₂/O₂反应,表明电子传递的大部分终产物可为Rubisco和Calvin循环利用。叶肉细胞中叶绿素含量是保卫细胞的20~50倍。因此,可以推断,虽然两者具有相似的光合速率,但以细胞为基础计算的话,保卫细胞的光合作用比叶肉细胞低很多。但保卫细胞的体积只相当于叶肉细胞的1/10,而CO₂同化速率则是叶肉细胞的1/10~1/3,因此可以认为,保卫细胞的叶绿体可能是保卫细胞能量的重要来源。

6 叶肉细胞的光合作用与气孔运动之间的关系

气孔导度与叶肉细胞CO₂的固定密切相关

(Ealson和Richards2009;Mott2009),叶肉细胞光合作用的产物——蔗糖被运到保卫细胞外能减小气孔的孔径(Kang等2007)。叶肉细胞的光合作用可能会引起C_i/C_a(C_i:胞间CO₂浓度,C_a:外部CO₂含量)变化,进而引起气孔导度的变化。保卫细胞的叶绿体或光合作用是否直接调节气孔运动和叶肉细胞固定CO₂之间的关系仍有争议。Roelfsema等(2006)对保卫细胞中叶绿体直接参与红光诱导的气孔开放过程这一看法提出异议,认为用类胡萝卜素合成抑制剂达草灭(norflurazon)处理蚕豆的叶片,会使植物的叶片组织斑化,其在蓝光照射下,不论是植物的白色区域还是正常区域,它们的气孔都能正常开放,但其对红光不起反应,因此他们推测,胞间CO₂是作为一种信号分子参与红光诱导气孔开放过程的。此外,红光诱导的气孔开放仅仅适应于红光照射大面积的植物叶片,而不是照射单个的保卫细胞,从而解释了叶肉细胞中C_i降低这一现象(Roelfsema等2002)。high temperature 1 (HT1)编码一种蛋白激酶,该基因点突变后,这种蛋白激酶活性降低,以致ht1突变体保卫细胞的红光反应和对CO₂的反应都丧失,但是蓝光依旧能诱导气孔开放,这说明红光诱导的气孔开放是通过降低胞间CO₂浓度实现的(Hashimoto等2006)。另外一个C_i驱动气孔开放的证据是以烟草MAP激酶基因(NtMPK4)进行的实验,NtMPK4能激活阴离子通道,该基因突变后,即使细胞外CO₂浓度升高后气孔也不关闭,对红光的反应也减弱(Marten等2008)。

另外一些研究则反对C_i直接参与红光诱导气孔开放过程的想法。例如,红光照射整个叶片时,采用气体交换技术促使胞间CO₂浓度保持恒定状态,红光依然能够诱导气孔的开放(Lawson等2008)。另外,有人认为光对C_i的影响以及C_i对气孔的影响都很小,不能成为光照条件下气孔导度大幅度变化的主要原因。最近,Doi和Shimazaki(2008)在黑暗条件下检测铁线蕨(*Adiantum capillus-veneris*)气孔对CO₂的反应时,发现不论是低浓度CO₂还是高浓度CO₂都不能引起气孔运动,但是红光却能够诱导气孔开放。同时他们还观测到,红光和远红光对气孔的开放有协同效应,当以红光和远红光直接照射叶片下表皮时,气孔的敏感度更强。因此他们推测,光下蕨类植物气孔的开放可能是由

保卫细胞中叶绿体光合电子传递链驱动的。但拟南芥有典型的 C_3 反应,这可能是由于不同的物种有不同的信号调控机制。*SLAC1* 基因编码阴离子通道,敲除 *SLAC1* 基因后,不论是黑暗条件或者光照条件下,高浓度 CO_2 都不能诱导气孔关闭(Negi 等 2008)。这些结果表明,光诱导的气孔运动不仅仅依赖于 C_3 , 阴离子转运机制也参与这一过程。

Messinger 等(2006)提出,由 Rubisco 催化的光合碳还原与电子传递量之间的平衡决定了气孔对光还是 CO_2 有反应。光和 C_3 调节电子传递量与光合碳还原之间的平衡,而这二者之间的平衡还会影响 ATP 和玉米黄质的含量,玉米黄质含量变化后反过来也会影响到气孔对蓝光或 CO_2 的反应(Zeiger 等 2002)。与玉米黄质一样,ATP 含量会随着光照而增加、随着 Calvin 循环能力的增强而降低(伴随着的是 C_3 的降低)。光下胞质增加的 ATP 可被质膜 H^+ -ATP 酶利用,或者被光合碳还原利用,产生的蔗糖作为渗透物质,参与气孔开放过程(Tominaga 等 2001)。这些都暗示,在气孔对 CO_2 反应的过程中,至少包括 2 种机制,一类是依赖于光合作用,一类则不依赖于光合作用(Messinger 等 2006)。

7 转基因技术和突变体在气孔运动研究中的应用

随着转基因技术的发展和大量可利用的突变体库的出现,人们开始用这些技术和方法研究光合作用与气孔运动的关系,并且得到了一些令人意想不到的结果。几个不同的实验室研究 Rubisco 含量的结果均表明, Rubisco 含量变化对气孔运动影响很小。如 von Caemmerer 等(2004)第一次用高分辨率的叶绿素成像技术,以降低 Rubisco 含量方法促使烟草叶肉细胞的光合效率降低到保卫细胞的光合水平,打破叶绿体的电子传递与光合碳还原之间的平衡,使胞内的 ATP 含量增加,叶黄素转化为玉米黄质。但随着光照强度的逐渐增加,尽管 Rubisco 反义株系光合速率低于野生型,但两者的气孔开放速率和最终气孔导度很相似。因此他们认为,保卫细胞光合作用或叶肉细胞光合作用对气孔开放都不是必需的。

Paul 等(1995)和 Price 等(1998)采用反义 RNA 技术获得磷酸核酮糖激酶活性或 Riese FeS 蛋白表达量降低的转基因烟草,其气孔导度与野生型之间没有什么差异,因而推断气孔导度不依赖于光合电

子传递链。但反义 RNA 技术证明 PEPC 活性和苹果酸根在保卫细胞中是起作用的。Cousin 等(2007)报道苋属植物 *Amaranthus edulis* 缺少 PEPC 活性的突变体气孔的开放速率降低,气孔导度减小。Baroli 等(2008)用反义 RNA 技术促使烟草中 Rubisco 和细胞色素 *b₆f* 复合体的含量降低后,发现在高光强的红光照射下, *b₆f* 反义株系和 Rubisco 反义株系的 CO_2 同化率比野生型的低,蔗糖含量降低,但两者的气孔导度与野生型没有明显差别。研究结论是,气孔的红光反应并不依赖于保卫细胞或者叶肉细胞的光合速率;气孔开放过程中,除蔗糖之外的其它渗透物质也起着重要作用。

Lawson 等(2008)用反义 RNA 技术促使烟草叶肉细胞和保卫细胞中的景天庚酮糖 -1,7- 二磷酸酶 (SBP 酶)活性下降后,其在红光强度逐渐增加时,SBP 酶反义株系的气孔张开速率加快,但在红光/蓝光下没有这种反应。在 SBP 酶反义株系中,Calvin 循环消耗 ATP 减少,这可能导致胞内的 ATP 含量增加。因此他们推测,红光诱导气孔开放速率的加大可能是由于胞内 ATP 含量增加,进而驱动 H^+ 的泵出。但如 Baroli 等(2008)所述,在 *b₆f* 反义烟草株系中,ATP 含量的减少对红光诱导的气孔开放过程影响很小。

8 叶绿体影响气孔运动的其它途径

叶绿体在其它方面也可能影响到气孔运动,保卫细胞叶绿体可能是通过产生 ROS 而参与气孔运动的,如 H_2O_2 可介导 ABA 信号转导过程(Zhang 等 2001)。抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)氧化还原态也可能参与气孔运动。植物体通过增强抗坏血酸还原酶(dehydroascorbate reductase, DHAR)的表达量导致保卫细胞内的 AsA 氧化还原态增加后,植物体内 H_2O_2 含量降低,最终导致气孔导度增加(Chen 和 Gallie 2004)。正如前面提及的,转基因植物和突变体的利用为保卫细胞机制、感受因子、信号转导模式、离子吸收和离子通道的调节等在气孔运动中的作用提供了许多信息(Eckert 和 Kaldenhoff 2000; Baroli 等 2008; Lawson 等 2008; Serna 2008)。

研究保卫细胞在气孔运动中的作用的目的是之一是培育耐旱植物。Masle 等(2005)在拟南芥中分离出一种蒸腾效率基因,即 *ERECTA*, 它可改变叶片的扩散特征和叶肉细胞的光合能力,从而提高水

分的利用效率。另外也有研究表明,通过改变或者破坏保卫细胞膜转运体、钙依赖蛋白激酶、水孔蛋白的基因表达及ABA合成途径中基因的表达等,都可以增加植物的耐旱性(Klein等2004; Ma和Wu 2007; Cui等2008; Yang等2005)。此外,在作物中也得到了类似的结果,如Hu等(2006)报道,水稻中超表达胁迫响应基因 *SNAC1* 后其耐旱性可增加。

9 结论与展望

气孔运动过程中保卫细胞的渗透调节及信号转导过程非常复杂,本文介绍了保卫细胞叶绿体的光合作用及Calvin循环在光诱导气孔开放中的作用,这方面的报道存在着很多争议:如用SBP酶的反义植株的研究结果支持保卫细胞的光合作用和碳还原在气孔对红光感应中的作用(Lawson等2008);而用Rubisco和 *b₆f*反义株系的研究结果则反对保卫细胞光合作用、包括ATP生成在红光诱导气孔开放中的作用(Baroli等2008)。在保卫细胞代谢方面,关于光合作用的研究报道较多,但关于氧化磷酸化的研究相对较少;植物种类方面,集中于研究者比较熟悉的种类,但关于CAM植物和C₃植物的还不够;气孔能对多种刺激进行反应,但很多报道只针对一种刺激。因此,关于保卫细胞代谢在气孔运动中的作用还有很多问题没有解决,有很多内容需要研究者继续深入探讨。目前突变体、转基因植物及基因芯片、蛋白质组学等新材料、新技术的使用和发展将为这一领域的研究起重要的推动作用。

参考文献

- Asai N, Nakajima N, Tamaoki M, Kamada H, Kondo N (2000). Role of malate synthesis mediated by phosphoenolpyruvate carboxylase in guard cell in the regulation of stomata movement. *Plant Cell Physiol*, 41: 10~15
- Baroli I, Price D, Badger MR, von Caemmerer S (2008). The contribution of photosynthesis to the red light response of stomatal conductance. *Plant Physiol*, 146: 737~747
- Chen Z, Gallie DR (2004). The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement. *Plant Cell*, 16: 1143~1162
- Cousins AB, Baroli I, Badger MR, Ivakov A, Lea PJ, Leegood RC, von Caemmerer S (2007). The role of phosphoenolpyruvate carboxylase during C₄ photosynthetic isotope exchange and stomatal conductance. *Plant Physiol*, 145: 1006~1017
- Cui XH, Hai FS, Chen H, Chen J, Wang XC (2008). Expression of the *Vicia faba* *VjPI1* gene in *Arabidopsis thaliana* plants improves their drought resistance. *J Plant Res*, 121: 207~214
- Doi M, Shimazaki K-I (2008). The stomata of the fern *Adiantum capillus-veneris* do not respond to CO₂ in dark and open by photosynthesis in guard cells. *Plant Physiol*, 147: 922~930
- Easlon HM, Richards JH (2009). Photosynthesis affects following night leaf conductance in *Vicia faba*. *Plant Cell Environ*, 32: 58~63
- Eckert M, Kaldenhoff R (2000). Light-induced stomatal movement of selected *Arabidopsis thaliana* mutants. *J Exp Bot*, 51: 1435~1442
- Frechilla S, Zhu J, Talbott LD, Zeiger E (1999). Stomata from *npq1*, a zeaxanthin-less *Arabidopsis* mutant, lack a specific response to blue light. *Plant Cell Physiol*, 40: 949~954
- Gotow K, Taylor S, Zeiger E (1988). Photosynthetic carbon fixation in guard cell protoplasts of *Vicia faba* L. *Plant Physiol*, 86: 700~705
- Hashimoto M, Negi J, Young J, Israelsson M, Schroeder JI, Iba K (2006). *Arabidopsis* HT1 kinase controls stomatal movements in response to CO₂. *Nat Cell Biol*, 8: 391~397
- Hu H, Dai M, Yao J, Xiao B, Li X, Zhang Q, Xiong L (2006). Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 12987~12992
- Huala E, Oeller PW, Liscum E, Han IS, Larsen E, Briggs WR (1997). *Arabidopsis* NPH1: a protein kinase with a putative redox-sensing domain. *Science*, 278: 2120~2123
- Kang Y, Outlaw WH Jr, Anderse PC, Fiore GB (2007). 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: 551~558
- Kinoshita T, Doi M, Suetsugu N, Kagawa T, Wada M, Shimazaki K (2001). Phot1 and phot2 mediate blue light regulation of stomatal opening. *Nature*, 414: 656~660
- Klein M, Geiser M, Suh SJ, Kolukisaoglu HU, Azevedo L, Plaza S, Curtis MD, Richter A, Weder B, Schulz B et al (2004). Disruption of *AtMRP4*, a guard cell plasma membrane ABC-type ABC transporter, leads to deregulation of stomatal opening and increased drought susceptibility. *Plant J*, 39: 219~236
- Lascève G, Leymarie J, Vavasseur A (1997). Alterations in light-induced stomatal opening in the starch-deficient mutant of *Arabidopsis thaliana* L. deficient in chloroplast phosphoglucomutase activity. *Plant Cell Environ*, 20: 350~358
- Lawson T, Lefebvre S, Baker NR, Morison JIL, Raines CA (2008). Reductions in mesophyll and guard cell photosynthesis impact on the control of stomatal responses to light and CO₂. *J Exp Bot*, 59: 3609~3619
- Lawson T, Oxborough K, Morison JIL, Baker NR (2002). Responses of photosynthetic electron transport in stomatal guard cells and mesophyll cells in intact leaves to light, CO₂, and humidity. *Plant Physiol*, 128: 52~62
- Lawson T, Oxborough K, Morison JIL, Baker NR (2003). The responses of guard and mesophyll cell photosynthesis to CO₂, O₂, light, and water stress in a range of species are similar. *J Exp Bot*, 54: 1734~1752

- Ma SY, Wu WH (2007). AtCPK23 functions in *Arabidopsis* responses to drought and salt stresses. *Plant Mol Biol*, 65: 511~518
- Madahavan S, Smith BN (1982). Localization of ribulose biphosphate carboxylase in the guard cells by an indirect, immunofluorescence technique. *Plant Physiol*, 69: 273~277
- Marten H, Hyun TH, Gomi K, Seo S, Hedrich R, Roelfsema MRG (2008). Silencing of *NtMPK4* impairs CO₂-induced stomatal closure, activation of anion channels and cytosolic Ca²⁺ signals in *Nicotiana tabacum* guard cells. *Plant J*, 55: 698~708
- Masle J, Gilmour SR, Farquhar GD (2005). The *ERECTA* gene regulates plant transpiration efficiency in *Arabidopsis*. *Nature*, 436: 866~870
- Mawson BT (1993). Regulation of blue-light-induced proton pumping by *Vicia faba* L. guard cell protoplasts: energetic contributions by chloroplastic and mitochondrial activities. *Planta*, 191: 293~301
- Messinger SM, Buckley TN, Mott KA (2006). Evidence for involvement of photosynthetic processes in the stomatal response to CO₂. *Plant Physiol*, 140: 771~778
- Mott KA (2009). Opinion: Stomatal responses to light and CO₂ depend on the mesophyll. *Plant Cell Environ*, 32: 1479~1486
- Negi J, Matsuda O, Nagasawa T, Oba Y, Takahashi H, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Hashimoto M, Iba K (2008). CO₂ regulator SLAC1 and its homologues are essential for anion homeostasis in plant cells. *Nature*, 452: 483~488
- Olsen RL, Pratt RB, Gump P, Kemper A, Tallman G (2002). Red light activates a chloroplast-dependent ion uptake mechanism for stomatal opening under reduced CO₂ concentrations in *Vicia* spp. *New Phytol*, 153: 497~508
- Outlaw WH Jr, Manchester J (1979). Guard cell starch concentration quantitatively related to stomatal aperture. *Plant Physiol*, 64: 79~82
- Parvathi K, Raghavendra AS (1997). Both rubisco and phosphoenolpyruvate carboxylase are beneficial for stomatal function in epidermal strips of *Commelina benghalensis*. *Plant Sci*, 124: 153~157
- Paul MJ, Knight JS, Habash D, Parry MAJ, Lawlor DW, Barnes SA, Loynes A, Gray JC (1995). Reduction in phosphoribulokinase activity by antisense RNA in transgenic tobacco – effect on CO₂ assimilation and growth in low irradiance. *Plant J*, 7: 535~542
- Price GD, von Caemmerer S, Evans JR, Siebke K, Anderson JM, Badger MR (1998). Photosynthesis is strongly reduced by antisense suppression of chloroplastic cytochrome *bf* complex in transgenic tobacco. *Aust J Plant Physiol*, 25: 445~452
- Reckmann U, Scheibe R, Raschke K (1990). Rubisco activity in guard cell compared with the solute requirement for stomatal opening. *Plant Physiol*, 92: 246~253
- Ritte G, Raschke K (2003). Metabolite export of isolated guard cell chloroplasts of *Vicia faba*. *New Phytol*, 159: 195~202
- Roelfsema MRG, Hanstein S, Felle HH, Hedrich R (2002). CO₂ provides an intermediate link in the red light response of guard cells. *Plant J*, 32: 65~75
- Roelfsema MRG, Konrad KR, Marten H, Psaras GK, Hartung W, Hedrich H (2006). Guard cells in albino leaf patches do not respond to photosynthetically active radiation, but are sensitive to blue light, CO₂ and abscisic acid. *Plant Cell Environ*, 29: 1595~1605
- Serna L (2008). Coming closer to a stoma ion channel. *Nature*, 10: 509~511
- Shimazaki K-I, Doi M, Assmann SM, Kinoshita T (2007). Light regulation of stomatal movement. *Annu Rev Plant Biol*, 58: 219~247
- Shimazaki K-I, Terada J, Tanaka K, Kondo N (1989). Calvin-Benson cycle enzymes in guard-cell protoplasts from *Vicia faba* L. *Plant Physiol*, 90: 1057~1064
- Shimazaki K-I, Zeiger E (1985). Cyclic and noncyclic phosphorylation in isolated guard cell protoplasts from *Vicia faba* L. *Plant Physiol*, 78: 211~214
- Talbott LD, Zeiger E (1996). Central roles for potassium and sucrose in guard-cell osmoregulation. *Plant Physiol*, 111: 1051~1057
- Talbott LD, Zeiger E (1998). The role of sucrose in guard cell osmoregulation. *J Exp Bot*, 49: 329~337
- Taylor AR, Assmann SM (2001). Apparent absence of a redox requirement for blue light activation of pump current in broad bean guard cells. *Plant Physiol*, 125: 329~338
- Tominaga M, Kinoshita T, Shimazaki K-I (2001). Guard-cell chloroplasts provide ATP required for H⁺ pumping in the plasma membrane and stomatal opening. *Plant Cell Physiol*, 42: 795~802
- Ueno O (2001). Ultrastructural localization of photosynthetic and photorespiratory enzymes in epidermal, mesophyll, bundle sheath, and vascular bundle cells of the C₄ dicot *Amaranthus viridis*. *J Exp Bot*, 52: 1003~1013
- Vavasseur A, Raghavendra AS (2005). Guard cell metabolism and CO₂ sensing. *New Phytol*, 165: 665~682
- von Caemmerer S, Lawson T, Oxborough K, Baker NR, Andrews TJ, Raines CA (2004). Stomatal conductance does not correlate with photosynthetic capacity in transgenic tobacco with reduced amounts of Rubisco. *J Exp Bot*, 55: 1157~1166
- Yang CY, Chen YC, Jauh GY, Wang CS (2005). A lily ASR protein involves abscisic acid signaling and confers drought and salt resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 139: 836~846
- Zeiger E, Talbott LD, Frechilla S, Srivastava A, Zhu J (2002). The guard cell chloroplast: a perspective for the twenty-first century. *New Phytol*, 153: 415~424
- Zemel E, Gepstein S (1985). Immunological evidence for the presence of ribulose biphosphate carboxylase in guard cell chloroplasts. *Plant Physiol*, 78: 586~590
- Zhang X, Zhang L, Dong F, Gao J, Galbraith DW, Song CP (2001). Hydrogen peroxide is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *Plant Physiol*, 126: 1438~1448