

# 野生型和 *ospk1* 突变体水稻幼苗根对外源糖分的吸收和响应

张艳<sup>1,2</sup>, 吴家和<sup>3</sup>, 何朝族<sup>2,4</sup>

1 清华大学生命科学学院, 北京 100084

2 清华大学深圳研究生院, 广东 深圳 518055

3 中国科学院微生物研究所 植物基因组国家重点实验室, 北京 100101

4 海南大学 海南省热带生物资源可持续利用重点实验室, 海南 海口 570228

张艳, 吴家和, 何朝族. 野生型和 *ospk1* 突变体水稻幼苗根对外源糖分的吸收和响应. 生物工程学报, 2012, 28(7): 847-854.  
Zhang Y, Wu JH, He CZ. Uptake of exogenous sugars and responses by rice root of young wild-type and *ospk1* mutant seedlings. Chin J Biotech, 2012, 28(7): 847-854.

**摘 要:** 植物根系如何响应环境因子变化是植物发育和营养吸收研究的重要科学问题。丙酮酸激酶 *OsPK1* 在根部的表达主要在根尖成熟区和根毛区, 其表达水平变化有可能影响水稻对外源糖分的吸收。采用日本晴和水稻突变体 *ospk1*, 通过改变 1/2 MS 培养基中蔗糖含量, 探索水稻幼苗对外源糖分的吸收和响应。通过 GC-MS 的方法检测了水稻幼苗叶片、叶鞘和根中蔗糖、葡萄糖、果糖和半乳糖的含量。发现根与培养基中糖分接触能明显提高幼苗中的糖含量。并且这些幼苗的根系长度大于那些不加蔗糖的培养基培养的幼苗, 表明外源糖分被吸收后能促进根的伸长。*OsPK1* 表达下调影响了糖代谢和外源糖分的吸收。半定量 RT-PCR 结果显示, 幼苗根与糖分的直接接触明显上调根中 *OsPIP2;4*, *OsPIP2;5* 和 *OsTIP2;1* 三个水孔蛋白基因的表达。

**关键词:** 糖吸收, 根伸长, 水孔蛋白, 水稻

**Received:** December 11, 2011; **Accepted:** December 23, 2011

**Supported by:** Natural Science Foundation of Hainan Province (No. 30204).

**Corresponding author:** Chaozu He. Fax: +86-10-64858245; E-mail: hecz@im.ac.cn

海南省自然科学基金 (No. 30204) 资助。

# Uptake of exogenous sugars and responses by rice root of young wild-type and *ospk1* mutant seedlings

Yan Zhang<sup>1,2</sup>, Jiahe Wu<sup>3</sup>, and Chaozu He<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China

<sup>2</sup> Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, Guangdong, China

<sup>3</sup> State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

<sup>4</sup> Hainan Key Laboratory for Sustainable Utilization of Tropical Bioresource, Hainan University, Haikou 570228, Hainan, China

**Abstract:** How root system responds to various environmental factors has not yet been fully elucidated. In root, the expression of *OsPK1* is mainly in the maturation zone and the root-hair zone of root tip. It is unknown whether the uptake of exogenous sugars by rice seedlings is affected by downregulation of *OsPK1*. In this study, we used wild-type (WT) and *ospk1* rice mutant plants to investigate the uptake of exogenous sugars and the responses of rice seedlings by adding sucrose to 1/2 MS medium or not. The contents of sucrose, glucose, fructose and galactose in leaf blades, sheathes and roots of rice seedlings were measured by GC-MS analysis. The result revealed that direct contact between root and exogenous sugars greatly elevates sugar levels of rice seedlings. And the root length of these seedlings is much longer than that of the seedlings grown in medium omitting exogenous sugars, suggesting that uptake of exogenous sugars by root promotes root elongation. Downregulation of *OsPK1* has effects on sugar metabolism and the uptake of exogenous sugars. Semi-quantitative RT-PCR result showed that the expressions of *OsPIP2;4*, *OsPIP2;5* and *OsTIP2;1* (three aquaporin genes) in root were greatly upregulated by the direct contact between root and exogenous sugars.

**Keywords:** uptake of exogenous sugars, root elongation, aquaporin, rice (*Oryza sativa* L.)

根系的形态建成是高度可塑的, 环境条件可以对其产生不同程度的影响。但是根系如何响应各种环境因素 (例如营养供给), 尚没有阐释清楚。植物的根对外源糖分的吸收和利用是其中一个重要研究内容, 目前已有一些进展。已有报道红甜菜 *Beta vulgaris* L. 在毛状根生长期间对蔗糖进行吸收利用, 发现在最初的 3 d 里, 随着毛状根的生长, 培养基中蔗糖的浓度逐渐降低, 表明外源蔗糖可被根部细胞吸收<sup>[1]</sup>。拟南芥苗的地上组织与生长培养基中蔗糖的直接接触, 对促进侧根原基的发育具有重要影响<sup>[2]</sup>。根感应到轻度的渗透胁迫后, 减少了对外源蔗糖的吸收, 从而导致侧根形成的抑制<sup>[2]</sup>。水稻根对外源糖分的吸收和响应尚未见报道。

不同生物 (包括植物) 利用水孔蛋白这一类膜蛋白协助水分跨膜运输<sup>[3]</sup>。植物水孔蛋白形成一个大的蛋白家族, 主要包括质膜内在蛋白 (PIP) 类和液泡膜内在蛋白 (TIP) 类<sup>[4]</sup>。已有报道 PIP 类水孔蛋白参与了葡萄根水分传输, 能够响应昼夜和干旱胁迫<sup>[5]</sup>。当处于盐胁迫时, 大麦根中由 PIP 类水孔蛋白介导的水分运输通过磷酸化作用被调控<sup>[6]</sup>。*OsPIP2;4* 和 *OsPIP2;5* 是水稻中的 2 个水孔蛋白基因, 在根中的转录水平都呈现出明显的昼夜波动, 光照 3 h 后出现一个峰值, 黑暗 3 h 后出现一个最低值<sup>[4]</sup>。此外, 冷处理后 *OsPIP2;4* 和 *OsPIP2;5* 在根中的表达均显著降低, 当温度回升后表达水平又恢复, 呈现出温度波动<sup>[4]</sup>。这些结果指出当根部水分吸收随昼夜和

温度变化, *OsPIP2;4* 和 *OsPIP2;5* 的转录水平也随之变化。根吸收外源糖分后会导致一定程度的渗透胁迫。这是否会影响水稻根中水孔蛋白基因的转录水平是本研究内容之一。

我们以前鉴定了一个水稻突变体 *ospk1*, 主要表型有矮化、鞘包穗和结实率下降<sup>[7]</sup>。单拷贝的 T-DNA 片段插入到 *OsPK1* 的转录调控区域, 导致突变体中 *OsPK1* 的转录水平下降了 90%, 从而引起上述突变表型。*OsPK1* 编码一个在胞质表达的丙酮酸激酶, 对水稻生长发育和农艺性状的影响是非常显著的。丙酮酸激酶是糖酵解途径中的 3 个关键调控酶之一, 催化糖酵解的最后一步: 磷酸烯醇式丙酮酸将磷酸基团转移给 ADP 生成 ATP, 同时生成丙酮酸。植物中的丙酮酸激酶存在胞质 (Cytosolic) 和质体 (Plastid) 的同工酶: PK<sub>c</sub> 和 PK<sub>p</sub><sup>[8]</sup>, 并且呈组织特异性表达。在根部, *OsPK1* 的表达主要限定在根尖的成熟区和根毛区。这两个区域是执行吸收功能的主要区域。本研究利用粳稻品种日本晴野生型 (Wild type, WT) 和突变体 *ospk1* 两个材料, 分析 *OsPK1* 在突变体中表达显著下降是否影响水稻幼苗对外源糖分的吸收。目前, 丙酮酸激酶对水稻生长发育的生理作用还知之甚少, 因此本研究有助于更好了解丙酮酸激酶 *OsPK1* 的功能。

本研究通过改变 1/2 MS 培养基中蔗糖的含量, 分析水稻幼苗, 特别是根对外源糖分的吸收和响应。发现含外源糖分的 1/2 MS 培养基培养的水稻幼苗中的糖含量水平显著高于那些不含外源糖分的培养基培养的幼苗。同时, 外源糖分被水稻幼苗根吸收后能够促进根的伸长, 上调根中水孔蛋白基因的表达。我们还发现 *OsPK1* 在突变体中表达下调影响了糖代谢和外源糖分的

吸收。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和试剂

水稻 *Oryza sativa* 粳稻栽培种日本晴 (Nipponbare) 用作野生型植物材料。突变体 *ospk1* 的背景是日本晴<sup>[7]</sup>。生长 10 d 的野生型和 *ospk1* 的幼苗用 1/2 MS 培养基培养 (添加或不加蔗糖), 在光照培养箱里培养 (14 h 光照, 30 °C; 10 h 黑暗, 26 °C)。

1/2 MS 培养基所用试剂均采用进口或国产分析纯。Taq 酶购自 TaKaRa 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 糖含量的测定

测定生长 10 d 的野生型和突变体幼苗叶片、叶鞘和根中的糖含量。参照以前文献中描述的方法<sup>[9]</sup>, 葡萄糖、果糖、半乳糖和蔗糖用 80% 甲醇提取, 通过 GC-MS 的方法进行含量测定。实验做 2 次生物学重复。每次重复平行进样 3 次进行分析。

#### 1.2.2 半定量 RT-PCR

总 RNA 用 TRIzol 试剂 (Invitrogen 公司) 提取。琼脂糖凝胶电泳和分光光度计 (ND-1000, NanoDrop 公司) 确定 RNA 的质量与浓度后, DNase I (Invitrogen 公司) 消化 1 h。采用 SuperScript III First-Strand Synthesis System (Invitrogen) 试剂盒, 按照操作手册, 以大约 5 µg 总 RNA 和 Oligo (dT)<sub>20</sub> 引物反转录合成 cDNA 第一链。每个基因做 2 次生物学重复, 选择代表性的结果。1 个 cDNA 模板做 3 次独立的 PCR。

水稻 *Actin* 作为参照基因。对 3 个水孔蛋白基因和 *OsPK1* 进行半定量 RT-PCR 分析, 所用引

物均由上海生工生物工程有限公司合成, 序列见表 1。

表 1 RT-PCR 分析所用引物

Table 1 RT-PCR primers used in this study

Primer name	Primer sequence (5'-3')	Size (bp)
<i>Actin</i> -F	TGGCGCCCGAGGAGCACC	18
<i>Actin</i> -R	GTAACCCCTCTCAGTCAG	18
<i>OsPIP2</i> ;4-F	GAGCTCGTCTGGTGATATCC	20
<i>OsPIP2</i> ;4-R	CATGAAGACAACAGAGGGACAG	22
<i>OsPIP2</i> ;5-F	GCTTAAGCCGCAATCAAATGTGC	23
<i>OsPIP2</i> ;5-R	CGATCGAACAATGTCACACTTGC	23
<i>OsTIP2</i> ;1-F	CCGTGTCAGTTTGCATGCATC	21
<i>OsTIP2</i> ;1-R	CAGAAAAGGGACATGGCTTCC	21
<i>OsPK1</i> -F <sup>[7]</sup>	TGCCTCGATTGATTGATT	18
<i>OsPK1</i> -R <sup>[7]</sup>	CAGGAGGAGATGGTGTCG	18

### 1.2.3 统计学分析

分析野生型和突变体材料中糖含量数据以及 MS(+)组和 MS(-)组幼苗根系长度是否有显著性差异, 采用 *t* 检验, 如果  $P < 0.05$ , 则视为显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 水稻根能够吸收外源糖分

为了阐明水稻根对外源糖分的吸收和利用, 分别用加蔗糖和不加蔗糖的 1/2 MS 固体培养基培养野生型和 *ospk1* 水稻幼苗。幼苗长到 10 d 后, 通过 GC-MS 分析测定其糖含量 (表 2)。将常规的配方中含 30 g/L 蔗糖的 1/2 MS 培养基命名为 MS(+), 不加蔗糖的为 MS(-)。结果显示生长在 MS(+)上的野生型幼苗中的蔗糖、葡萄糖、果糖和半乳糖水平明显高于 MS(-)上生长的幼苗。例如 MS(+)上生长的野生型幼苗根中蔗糖含量为

表 2 添加蔗糖培养基 MS(+)与不加蔗糖 MS(-)培养的野生型和突变体 *ospk1* 幼苗中的糖含量\*

Table 2 Sugar levels in young seedlings of WT and *ospk1* grown in MS(+) (medium adding sucrose) and MS(-) (no sucrose added)

		Glucose (μg/g FW)	Fructose (μg/g FW)	Galactose (μg/g FW)	Sucrose (μg/g FW)
MS(+)	WT-Blade	<b>8 811±290</b>	<b>3 104±318</b>	540.0±20.3	<b>6 371±1 175</b>
	<i>ospk1</i> -Blade	<b>6 259±257</b>	<b>1 822±76</b>	576±42	<b>1 059±176</b>
MS(-)	WT-Blade	<b>140.0±5.4</b>	97.6±10.7	24.1±1.4	<b>1 276±11.1</b>
	<i>ospk1</i> -Blade	<b>94.7±0.3</b>	98.1±14.8	14.8±2.9	<b>1 730±106.8</b>
MS(+)	WT-Sheath	478±8.2	605±20.7	46.1±0.1	10 525±684
	<i>ospk1</i> -Sheath	419±89	528±79.8	47.1±11.5	16 435±2 143
MS(-)	WT-Sheath	<b>143±0.5</b>	<b>106±5.4</b>	23.8±7.3	<b>476±118.4</b>
	<i>ospk1</i> -Sheath	<b>181±7.6</b>	<b>237±24.8</b>	14.5±2.6	<b>920±174.7</b>
MS(+)	WT-root	26 267±1872	9 280±580	2 392±449	<b>1 691±116</b>
	<i>ospk1</i> -root	22 049±847	7 707±725	1 863±376	<b>810±139</b>
MS(-)	WT-root	142±12.3	147±12.7	21.9±0.6	26.8±1.9
	<i>ospk1</i> -root	129±22	166±2.1	21.2±2.1	29.5±2.7

\*Significant differences between WT and *ospk1* are shown in bold ( $P < 0.05$ ).

(1 691±116) μg/g FW, 而 MS(-)上生长植株则为 (26.8±1.9) μg/g FW。表 2 结果指出水稻根能够吸收和利用外源糖分, 使根和地上组织中的糖含量显著增加。

## 2.2 *OsPK1* 表达下调影响了糖代谢和外源糖分的吸收

MS(-)上生长的野生型日本晴和 *ospk1* 突变体幼苗叶中糖含量存在差异 (表 2)。突变体幼苗叶片中葡萄糖含量低于野生型幼苗, 而蔗糖含量较高。突变体幼苗叶鞘中葡萄糖、果糖和蔗糖含量均高于野生型幼苗。而根中糖含量没有差异。我们以前报道了 *ospk1* 突变体中糖酵解/糖异生途径部分酶的表达发生改变<sup>[7]</sup>。推测丙酮酸激酶 *OsPK1* 作为糖酵解途径中的关键调控酶, 其表达下调影响了糖酵解/糖异生途径, 进而影响糖代谢。*ospk1* 突变体中糖酵解途径可能受到抑制, 导致幼苗叶片中蔗糖的积累, 叶鞘中葡萄糖、果糖和蔗糖储藏量的增加。已指出 *OsPK1* 表达下调也影响了糖的运输<sup>[7]</sup>。因此, MS(-)上生长的野生

型和 *ospk1* 幼苗根中糖含量没有差异, 可能是由于突变体中糖从叶鞘到根的传输受到了抑制。

MS(+)上生长的野生型和 *ospk1* 突变体幼苗中糖含量也存在差异 (表 2)。突变体幼苗叶片中葡萄糖、果糖和蔗糖含量均低于野生型幼苗。突变体根中蔗糖含量也明显低于野生型根。推断 *OsPK1* 表达下调影响了外源糖分的吸收。

## 2.3 水稻根对外源糖分的吸收能够促进根的伸长

生长在 MS(+)上的水稻苗的根系明显比 MS(-)上的根系长 (图 1A)。根系长度统计结果显示, MS(+)组幼苗根系长度大于 MS(-)组, 呈显著性差异 (图 1B)。推断来自 MS(-)的根系中较低的糖水平严重抑制了根的伸长。此外, 对生长在 MS(+)上的水稻苗来说, 野生型苗的根系比突变体 *ospk1* 的根系略长, 与野生型幼苗根中糖水平略高一致。同时, 对生长在 MS(-)上的水稻苗来说, 野生型和突变体根系长度没有差异, 与它们根中糖水平没有差异的结果一致。

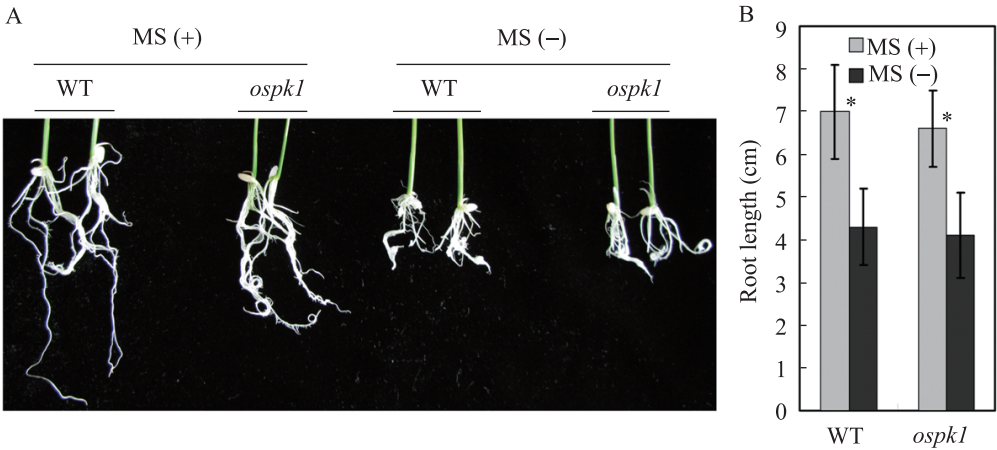


图 1 添加蔗糖培养基 MS(+)与不加蔗糖 MS(-)培养的幼苗根系长度的比较  
Fig.1 Comparison of root length of young seedlings grown in MS(+) (medium adding sucrose) and MS(-) (no sucrose added). (A) The roots of 10-day-old seedlings. (B) The root length of 10-day-old seedlings. Values shown are  $\bar{x} \pm s$  ( $n=20$ ). Asterisks mark the significant differences ( $P<0.05$ ) between MS(+) and MS(-).

## 2.4 根对外源糖分的吸收上调水孔蛋白基因的表达

推测生长在 MS(+)上的水稻苗吸收外源糖分从而导致较高水平的糖含量,会影响其渗透势,可能导致参与水分运输的水孔蛋白基因的表达受到影响。预测在水稻基因组中有 33 个水孔蛋白基因,叶片、根和花药中都有水孔蛋白基因表达,且具有组织和细胞特异性定位<sup>[4,10]</sup>。*OsPIP2;4* 和 *OsPIP2;5* 主要在根中表达,其表达产物水孔蛋白具有高的水通道活性<sup>[4,10]</sup>。*OsTIP2;1* 也编码水孔蛋白,在根和花药中表达<sup>[4]</sup>。通过半定量 RT-PCR 检测了根中这三个水孔蛋白基因的转录水平(图 2)。与生长在 MS(-)上的根比较,在 MS(+)生长的根(与外源糖分直接接触)中,*OsPIP2;4*、*OsPIP2;5* 和 *OsTIP2;1* 的表达显著增加,并且野生型植株根中 *OsPIP2;5* 和 *OsTIP2;1* 的表达比突变体要高。而 *OsPK1* 的表达在 MS(+)组和 MS(-)组间的差异不明显,推断水稻根中葡萄糖、果糖、半乳糖和蔗糖水平的高低不同基本不影响 *OsPK1* 转录水平的表达。

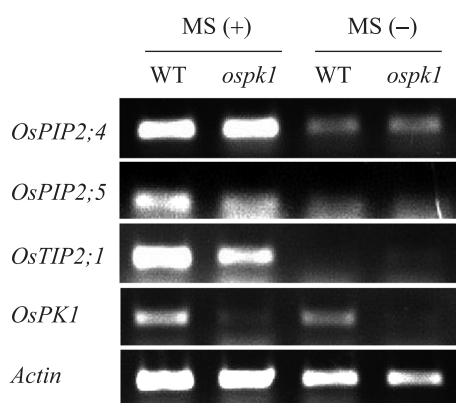


图 2 添加蔗糖培养基 MS(+)与不加蔗糖 MS(-)培养的幼苗根中水孔蛋白基因和 *OsPK1* 的表达

Fig.2 Expression of three aquaporin genes and *OsPK1* in root of young seedlings grown in MS(+) (medium adding sucrose) and MS(-) (no sucrose added).

## 3 讨论

外源糖对植物生理生化特性的影响在烤烟、莧菜幼苗、毛白杨组培芽苗气培生根和白桦叶片已有研究报道<sup>[11-15]</sup>。此外,外源糖能够影响苹果果实山梨醇代谢相关酶(山梨醇脱氢酶和山梨醇氧化酶)的活性<sup>[16]</sup>。还发现外源糖能够调控水稻尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶基因 *Ugp1* 的表达<sup>[17]</sup>。本研究主要目的是揭示水稻根对外源糖分吸收在幼苗糖含量和根系发育两方面的影响,同时探究 *OsPK1* 表达下调是否会影响水稻幼苗对外源糖分的吸收。选用了两种植物材料:野生型日本晴和 *ospk1* 突变体。采用了两组幼苗进行比较,一组用 MS(+) (添加蔗糖) 培养,一组用 MS(-) (不加蔗糖) 培养。已经发现红甜菜毛状根在液体培养 5 d 后,培养基中的蔗糖能被胞外蔗糖酶水解,从而葡萄糖和果糖水平增加<sup>[1]</sup>。本研究 MS(+)培养是常规 1/2 MS 培养基培养,最初添加了 30 g/L 蔗糖,但随着水稻苗的生长,推断培养基中部分蔗糖会被水解为葡萄糖和果糖,因此本研究水稻根吸收的是各种糖分,而不仅仅是蔗糖。

相比对照组 MS(-)培养的苗,MS(+)培养的水稻苗的叶片、叶鞘和根均含有更高水平的葡萄糖、果糖、半乳糖和蔗糖,指出外源糖分能被水稻根吸收,且进一步被地上组织利用,产生一个向上的糖物质的流动。

相比对照组 MS(-)培养的苗,MS(+)组中野生型日本晴和 *ospk1* 突变体两种材料在根对外源糖分的吸收、根系的伸长以及水孔蛋白基因的表达三方面的表现是基本一致的,但存在程度差异。MS(+)上生长的突变体幼苗叶片中葡萄糖、

果糖和蔗糖含量均低于野生型幼苗,根中蔗糖含量也明显低于野生型根。已报道在拟南芥突变体 *pkp1* 种子中质体丙酮酸激酶活性降低导致己糖、蔗糖和淀粉量增加<sup>[18]</sup>。还发现马铃薯球茎转基因系 PKC-6 中,胞质丙酮酸激酶表达降低导致葡萄糖和蔗糖浓度高于野生型<sup>[19]</sup>。本研究看似相反的结果,很可能是由于 *OsPK1* 表达下调影响外源糖分吸收所致。

前面已述及,拟南芥的根感应到轻度的渗透胁迫后,会减少对外源蔗糖的吸收,从而对侧根形成产生抑制<sup>[2]</sup>。有趣的一点是,本研究中水稻根对外源糖分的吸收能够促进根系的伸长,也没有发现侧根形成受到抑制。生长在 MS(+)上的水稻苗对外源糖分的吸收从而导致的高水平的糖含量,会影响其渗透势。因此推测存在一个调控机制来平衡渗透势和解除渗透胁迫。三个水孔蛋白基因 *OsPIP2;4*, *OsPIP2;5* 和 *OsTIP2;1* 在吸收外源糖分的根中的表达显著上调,表明水孔蛋白参与的水分运输增强以维持水平衡和调节渗透势。

在根部大量水孔蛋白在毗邻根尖(离根尖大约 1.5~4 mm)的区域积累<sup>[10]</sup>。PIPs 和 TIPs 是水孔蛋白大家族中主要的两个亚家族,是植物细胞吸收水分的主要通道。它们是否参与外源糖分吸收过程需要进一步研究。

本研究结果揭示了 4 点:1) 培养的水稻苗的根能够吸收和利用外源糖分;2) *OsPK1* 表达下调影响了糖代谢和外源糖分的吸收;3) 水稻根对外源糖分的吸收能够促进根的伸长,这为更好地控制植物根系伸长提供了一个好的线索;4) 水稻根对外源糖分的吸收上调根部水孔蛋白基因

的表达,来增强水分运输以维持组织水分平衡和调节渗透势。

**致谢** 感谢北京林业大学蒋湘宁教授和程小乔在糖含量测定实验中的帮助。

## REFERENCES

- [1] Shin KS, Chakrabarty D, Ko JY, et al. Sucrose utilization and mineral nutrient uptake during hairy root growth on red beet (*Beta vulgaris* L.) in liquid culture. *Plant Growth Regul*, 2003, 39(2): 187–193.
- [2] Macgregor DR, Deak KI, Ingram PA, et al. Root system architecture in *Arabidopsis* grown in culture is regulated by sucrose uptake in the aerial tissues. *Plant Cell*, 2008, 20(10): 2643–2660.
- [3] King LS, Kozono D, Agre P. From structure to disease: the evolving tale of aquaporin biology. *Natl Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(9): 687–698.
- [4] Sakurai J, Ishikawa F, Yamaguchi T, et al. Identification of 33 rice aquaporin genes and analysis of their expression and function. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(9): 1568–1577.
- [5] Vandeleur RK, Mayo G, Shelden MC, et al. The role of plasma membrane intrinsic protein aquaporins in water transport through roots: diurnal and drought stress responses reveal different strategies between isohydric and anisohydric cultivars of grapevine. *Plant Physiol*, 2009, 149(1): 445–460.
- [6] Horie T, Kaneko T, Sugimoto G, et al. Mechanisms of water transport mediated by PIP aquaporins and their regulation via phosphorylation events under salinity stress in barley roots. *Plant Cell Physiol*, 2011, 52(4): 663–675.
- [7] Zhang Y, Xiao WK, Luo LJ, et al. Downregulation of *OsPK1*, a cytosolic pyruvate kinase, by T-DNA insertion causes dwarfism and panicle enclosure in rice. *Planta*, 2011, 235(1): 25–38.
- [8] Plaxton WC. The organization and regulation of plant glycolysis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol*

- Biol, 1996, 47(1): 185–214.
- [9] Tan YP, Li K, Hu L, et al. Fast and simple droplet sampling of sap from plant tissues and capillary microextraction of soluble saccharides for picogram-scale quantitative determination with GC-MS. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(18): 9931–9935.
- [10] Sakurai J, Ahamed A, Murai M, et al. Tissue and cell-specific localization of rice aquaporins and their water transport activities. *Plant Cell Physiol*, 2008, 49(1): 30–39.
- [11] Jie XL, Liu ZJ, Liu F, et al. Effect of different C/N ratio on growth, physiological and biochemical characteristics of flue-cured tobacco. *Chin Agric Sci Bull*, 2006, 22(7): 309–312.  
介晓磊, 刘增俊, 刘芳, 等. 外源糖调节不同 C/N 比对烤烟生长及生理生化特性的影响. *中国农学通报*, 2006, 22(7): 309–312.
- [12] Liu SL, Liu ZJ, Yang QY, et al. Effect of different C/N ratio on physiological and biochemical characteristics and chemical components of flue-cured tobacco. *Acta Agric Boreali-Sin*, 2007, 22(6): 161–164.  
刘世亮, 刘增俊, 杨秋云, 等. 外源糖调节不同碳氮比对烤烟生理生化特性及化学成分的影响. *华北农学报*, 2007, 22(6): 161–164.
- [13] Feng Y, Wang FG, Zhang XS, et al. Effects of different C/N ratio on nitrogen and carbon metabolism of amaranth seedlings. *J Qingdao Agric Univ: Nat Sci*, 2008, 25(4): 272–275.  
冯艳, 王富国, 张相松, 等. 外源糖调节不同 C/N 比对苋菜幼苗碳、氮代谢的影响. *青岛农业大学学报: 自然科学版*, 2008, 25(4): 272–275.
- [14] Feng XZ, Wang YZ, Chen WL. Effects of exogenous sugar on rooting of poplar tube plantlets by air culture method. *Eco-Agric Res*, 1998, 6(3): 47–49.  
冯学赞, 王玉珍, 陈文龙. 外源糖对毛白杨组培芽苗气培生根的影响. *中国生态农业学报*, 1998, 6(3): 47–49.
- [15] Zhou YM, Yang CP, Wang SJ, et al. The effect of exogenous sugar solution and high concentration of CO<sub>2</sub> on the contents of sugar and protein of *Betula platyphylla* leaves. *J Forest Res*, 2003, 14(1): 61–63.
- [16] Ye CR, Liu GS, Wang YZ, et al. Effects of soluble sugars on related enzyme activities of sorbitol metabolism in developing apple fruit. *J Tianjin Agric Sci*, 2011, 17(3): 5–8.  
叶成荣, 刘更森, 王永章, 等. 外源糖对苹果果实山梨醇代谢相关酶活性的影响. *天津农业科学*, 2011, 17(3): 5–8.
- [17] Zhu LL, Zhang CX, Pan YF, et al. Sugar regulation of *Ugp1* gene expression in rice. *Plant Sci J*, 2011, 29(4): 486–492.  
祝莉莉, 张春晓, 潘玉芳, 等. 外源糖对水稻 *Ugp1* 基因表达调控研究. *植物科学学报*, 2011, 29(4): 486–492.
- [18] Andre C, Froehlich JE, Moll MR, et al. A heteromeric plastidic pyruvate kinase complex involved in seed oil biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(6): 2006–2022.
- [19] Oliver SN, Lunn JE, Urbanczyk-Wochniak E, et al. Decreased expression of cytosolic pyruvate kinase in potato tubers leads to a decline in pyruvate resulting in an *in vivo* repression of the alternative oxidase. *Plant Physiol*, 2008, 148(3): 1640–1654.