

نقش نشاسته انتقالی در سوخت و ساز C3، CAM، و C4 و فرصت ها برای

مهندسی تجمع نشاسته برگ

چکیده

اساساً تمام گیاهان، نشاسته را در برگ های خود در طول روز ذخیره می کنند و آن را در شب تجزیه می کنند. این تجمع نشاسته انتقالی به عنوان یک مکانیزم سرریز عمل می کند، هنگامی که ظرفیت سنتز ساکارز محدود کننده است، و نشاسته انتقالی نیز به عنوان یک ذخیره کربن برای ارائه قند در شب عمل می کند. تجزیه نشاسته انتقالی می تواند از دو مسیر رخ دهد؛ پیشرفت های چشمگیری در درک این مسیر در گیاهان C3 صورت گرفته است. به نظر می رسد مسیر تولید مالتوز هیدرولیتیک (آمیلولیتیک)، منبع اصلی قند صادراتی از کلروپلاست ها C3 در شب است، در حالی که مسیر فسفورولیتیک، کربن را برای واکنش های کلروپلاست، به ویژه در نور تامین می کند. در گیاهان متابولیسم اسید کراسولاسن (CAM)، مسیر هیدرولیتیک هنگامی غالب است که گیاهان در حالت C3 عمل می کنند، اما مسیر فسفورولیتیک زمانی غالب است که آنها در حالت CAM عمل می کنند. اطلاعات مربوط به سوخت و ساز نشاسته انتقالی در گیاهان C4 در حال حاضر به عنوان یک نتیجه از مطالعات ترکیبی میکروسکوپ و پروتئوم در دسترس قرار گرفته است. نشاسته در تمام انواع سلول در بافت برگ ذرت نابالغ تجمع می یابد، اما در بافت های برگ بالغ، تجمع نشاسته در سلول های مزوفیل متوقف می شود، به جز زمانی که صادرات شکر از برگ مسدود می شود. تنظیم مناسب مقدار کربن که به نشاسته می رود، مسیر تجزیه نشاسته، و محل تجمع نشاسته می تواند اطمینان حاصل کند که مهندسی سوخت و ساز C4 با واکنش های پایین دست مورد نیاز برای فتوسنتز کارآمد هماهنگ می شود.

واژه های کلیدی: CAM، C4، مالتوز، فتوسنتز، نشاسته.

تکامل C3 در سوخت و ساز C4 به تغییر کنترل سوخت و ساز کربن از نظر فضایی و از نظر سرعت نیاز داشت. در حالی که بسیاری از تغییرات مورد نیاز شناخته شده اند، معلوم نیست که چه تغییرات ممکن است در سوخت و ساز نشاسته برای بهینه سازی سوخت و ساز C4 مورد نیاز و یا مطلوب باشند. ممکن است اصلاح سنتز نشاسته انتقالی و الگوهای انباشت در گیاهان C4 به منظور بهبود کاربرد آن مفید باشد. نشاسته برگ توسط یک لایه پروتئین به صورت نشاسته دانه احاطه نمی شود و از این رو قابل دسترس بیشتر برای هضم غذاست. بنابراین، محتوای بیشتر نشاسته به احتمال زیاد موجب بهبود کیفیت علوفه می شود (Allen و همکاران، 2003). سوخت و ساز اصلاح شده نشاسته برگ نیز می تواند گیاهان C4 رابه عنوان منابع سوخت های زیستی بهبود بخشد، اگر یک سینک کربن بزرگتر ارائه شود. نشاسته راحت تر از ماده دیواره سلولی در برگ قطعه قطعه می شود و به دلیل موقعیت آن در برگ ها که بخشی از رژیم غذایی انسان هستند، بر خلاف نشاسته دانه، به طور مستقیم با تولید مواد غذایی رقابت نمی کنند که موجب می شود که افزایش سطوح نشاسته برگ، بازده دانه را کاهش دهد.

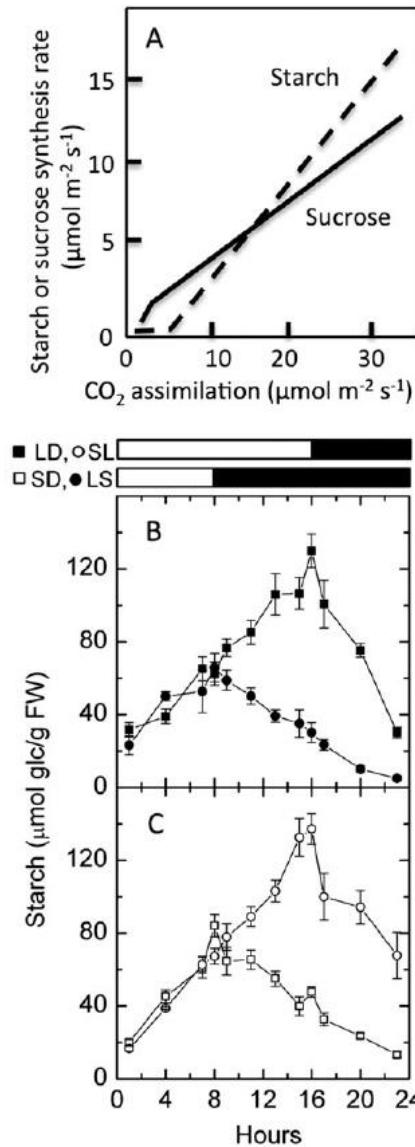
در پرتوی سوالات اساسی از نشاسته انتقالی در سوخت و ساز C4 و فرصت های مهندسی ممکن برای دستکاری تجمع نشاسته در گیاهان C4، وضعیت فعلی دانش در مورد نشاسته انتقالی در گیاهان C4 و گیاهان سوخت و ساز اسید کراسولاسان (CAM) در اینجا مرور می شود. از آنجا که اکثر اطلاعات در مورد نشاسته انتقالی از مطالعات با استفاده از گیاهان C3 شناخته شده است، چیزی که در گیاهان C3 شناخته شده است، در ابتدا توصیف می شود و پس از آن، آن اطلاعات در منظر گیاهان C4 و CAM قرار می گیرند. درک سوخت و ساز نشاسته انتقالی در گیاهان C3 به طور قابل توجهی در دهه گذشته افزایش یافته است و این موضوع چند بررسی بسیار عالی (Tetlow et al., 2004; Lu and Sharkey, 2006; Zeeman et al., 2007; Koottting et al., 2010) بوده است.

نشاسته انتقالی چیست؟

نشاسته انتقالی در کلروپلاست ها در طول روز به عنوان یک نتیجه فتوسنتز تشکیل می شود و در شب تجزیه می شود. نشاسته انتقالی به برگ ها و دیگر بافت های فتوسنتز از گیاه محدود می شود. در حالی که گیاهان می توانند

بدون نشاسته انتقالی زندگی کنند، نداشتن آن، یک نقطه ضعف است (کاسپر و همکاران، 1985). نشاسته موقت عمدتاً یکی از ویژگی های حفظ شده در تمام بخش های گیاهان زمین است. نشاسته موقت در خدمت دو وظیفه در گیاهان قرار می گیرد: (i) با سرریز کربن، میسر شدن فتوسنتز برای ادامه سریع تر از سنتز ساکارز رخ می دهد؛ و (ii) به عنوان یک منبع مداوم کربن در شب زمانی که CO₂ را نمی توان توسط فتوسنتز تثبیت نمود (Caspar et al., 1998). سوخت و ساز نشاسته انتقالی کاملاً تنظیم شده است. هر دو سنتز ساکارز و نشاسته زمانی رخ می دهند که تثبیت کربن توسط نور یا CO₂ محدود می شود (Sharkey et al., 1985; Lin et al., 1988; Neuhaus, 1989; Kruckeberg, 1989; Stitt and Quick, 1989; Ludewig, 1985; Schulze et al., 1991; Huber et al., 1985). و سنتز هر دو با افزایش سرعت فتوسنتز افزایش می یابد. هنگامی که در برابر سرعت جذب CO₂ ترسیم شود، میزان سنتز نشاسته نسبت به سنتز ساکارز به تعویق می افتد، اما بعد از آن با سرعت بیش از نرخ سنتز ساکارز افزایش می یابد (شکل A1). بنابراین، سنتز نشاسته در نرخ بالا فتوسنتز مورد علاقه است، در حالی که در نرخ های پایین، سنتز ساکارز مورد علاقه است. این موجب حمایت از هر دو نقش برای سنتز نشاسته می شود: از یک طرف یک مکانیزم سرریز در نرخ فتوسنتز بالا و از سوی دیگر یک مکانیزم ذخیره سازی حتی در سرعت های پایین تر از فتوسنتز به طوری که گیاه در شب از گرسنگی نمیرد. نرخ سنتز و تخریب نشاسته دقیقاً با طول روز تطبیق داده می شود و در صورتی که طول روز تغییر کند، فرآیندهای نظارتی متعدد به اصلاح نرخ های سنتز و تخریب نشاسته در یک چرخه روز / شب برای مطابقت با طول روز جدید منجر خواهد شد (شکل B1، C) (Gibon et al., 2004; Lu et al., 2005; Graf et al., 2010). این کنترل دقیق سوخت و ساز نشاسته انتقالی اجازه می دهد تا سنتز و صادرات ساکارز به طور مساوی بر 24 ساعت پخش شود. این نه تنها موجب تضمین یک منبع مداوم از کربن می شود، بلکه بافت لیفی را در شب فعال نگه می دارد، که موجب فراهم آوردن مواد مغذی و سیگنال های- حمل و نقل شده- بافت لیفی در سراسر کل گیاه می شود (Dinant and Lemoine, 2010).

هنگامی که سوخت و ساز نشاسته انتقالی از طریق جهش زایی مسدود می شود، اثرات بر گیاه به جایی که مسدود شدن رخ می دهد بستگی دارد. مسدود شدن کامل سنتز نشاسته، به عنوان توسط با غیرفعال سازی ژنتیکی فسفوگلاکمو تاز پلاستیدیک یا پروفوسفیلوراز ADP-گلوز، منجر به گل دهی و تاخیر یافته و کوتاه قدی شدید می شود، زمانی که گیاهان در نور بالا و دوره نوری 12 ساعت رشد می کنند. با این حال، تحت نور مداوم کم، این جهش کننده ها، غیر قابل تشخیص از نوع وحشی هستند (Lin et al., 1985; Caspar et al., 1988). اگر تخریب نشاسته به طور کامل در ابتدای مسیر مسدود شود، همانند مورد جهش یافته تهی برای رمزگذاری SEX1 پلاستیدیک یک گلوکان دیکیناز آب (GWD)، رشد متوقف می شود، و گلدهی کاهش می یابد و تحت شرایط رشد متناوب نور تاریک تاخیر می یابد (نگاه کنید به Supplementary Movie S1 موجود در JXB آنلاین). با این حال، تخریب نشاسته مسدودکننده جزئی در آغاز مسیر منجر به یک فنوتیپ می شود که بسیار کمتر شدید است. این مورد در گیاهان sex4 از دست دهنده فسفاتاز فسفوگلوکان وجود دارد؛ این گیاهان 50٪ نشاسته گیاهان sex1 را تجمع می نمایند و سنتز روزانه و تخریب نشاسته هنوز هم مشاهده می شود (Zeeman و همکاران، 1998). این گیاهان sex4 یک فنوتیپ تقریباً غیر قابل تشخیص دارند که از نوع وحشی است (نگاه کنید به مکمل فیلم S1). فنوتیپ دیگر جهش کننده های نشاسته انباشته شده مانند mex1، که فاقد حمل و نقل مالتوز در پاکت درونی دیسه و dpe2 هستند، که فاقد cytosolicamylomaltase هستند، شبیه به یا شدید تر از sex1 می باشند (Lu and Sharkey, 2004; Nittyla" et al., 2004). این جهش ها، نشاسته های کمتر از sex1 یا sex4 را تجمع می نمایند، اما پروتئین های مسدودشده در پایین دست در مسیر تخریب نشاسته GWD یا فسفاتاز فسفوگلوکان هستند. این، ساخت مالتوز و گلوکز را میسر می سازد که هر دوی آنها کاهش دهنده قند هستند و هر دو ممکن است توسط پروتئین های علامت دهی احساس شوند (Rolland و همکاران، 2006). فنوتیپ کوتوله این جهش های پایین دست می توانند بیشتر یک نتیجه از سنجش مالتوز و / یا گلوکز یا سمیت (Stettler و همکاران، 2009) و کمتر به عنوان یک نتیجه از گرسنگی کربن مطلق از توانایی مختل شده برای تنزل نشاسته باشند.



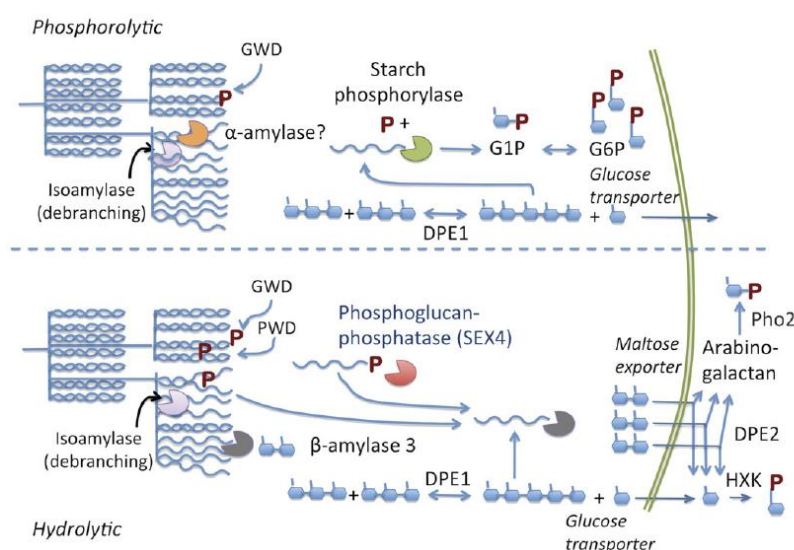
شکل 1. اثر سرعت فتوسنتز (A) و طول روز (B، C) روی سرعت های سنتز نشاسته. فتوسنتز با تغییر نور، CO_2 و مقدار رادیواکتیویته تغذیه به برگ ها تغییر یافت که در کسرهای محلول غیر یونی (ساکارز) و یا غیر قابل حل (نشاسته) مشخص شد [دوباره ترسیم شده از Sharkey et al., 1985 (Copyright American Society of Plant Biologists, www.plantphysiol.org)]. نشاسته به طور خطی انباشته شده در گیاهان آرابیدوپسیس رشدیافته در (b) 16 ساعت یا 8 ساعت (c) روز (علامت های مربع). گیاهان جابجا شده از روز طول به کوتاه یا کوتاه به طول (دوایر) اقتباس شده با طول شب جدید در شب اول. اطلاعات تجدید چاپ شده از

Copyright American Society of Plant) (Sharkey et al., 1985 Lu et al. (2005) Biologists, www.plantphysiol.or

نشاسته انتقالی در C3

مراحل اصلی مسیر بیوسنتز نشاسته به خوبی درک می شوند، اما درک درستی از مسیر که به واسطه آن نشاسته انتقالی تجزیه می شوند و در شب به ساکارز تبدیل می شود، فقط به تازگی در گیاهان C3 روشن شد. در گیاهان C3، دو راه برای تخریب نشاسته، هیدرولیتیک و یک مسیر فسفوروولیتیک (شکل 2) وجود دارند (Weise و همکاران، 2006). کربن آزاد شده از نشاسته توسط مسیر هیدرولیتیک از کلروپلاست صادر می شود و تبدیل به ساکارز می شود. در مقابل، محصولات مسیر فسفوروولیتیک برای سوخت و ساز کلروپلاست داخلی استفاده می شوند. در نشاسته برگ Arabidopsis، 1 در هر 2000 مولکول گلوکز دارای یک گروه فسفات متصل است (Zeeman و همکاران، 2007). در مسیر هیدرولیتیک، یکی از اولین گام ها در تخریب نشاسته، اضافه نمودن پراکنده استرهای فسفات به گرانول نشاسته GWD (Ritte و همکاران، 2002) است. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده اند که تجزیه نشاسته در صورتی به 2 برابر افزایش می یابد که نشاسته به طور همزمان توسط GWD فسفوریل شود (Edner و همکاران، 2007). اگر GWD از دست برود، تخریب نشاسته لغو می شود و نشاسته تا 50٪ از وزن خشک (Messerli و همکاران، 2007) تجمع می یابد. اعتقاد بر این بود که حمله اولیه روی گرانول نشاسته توسط A-آمیلاز بود. با این حال، حذف هر سه α -آمیلاز در Arabidopsis هیچ تاثیری بر روی سوخت و ساز نشاسته ندارد (Yu و همکاران، 2005). حمله اولیه در حال حاضر توسط b-آمیلاز و آنزیم های شاخه زدا تصور می شود (Scheidig و همکاران، 2002؛ Kaplan و Guy، 2005؛ Delatte و همکاران، 2006). سپس بخش های گلوکز توسط یک فسفاتاز فسفوگلوکان دفسفریل می شوند (KO tting و همکاران، 2009). مالتو دکسترین می تواند با عمل بیشتر از B-آمیلاز متابولیزه شد، و مالتوز اضافی آزاد کند. از آنجا که B-آمیلاز نمی تواند در مالتوتریوز کار می کنند، یک آنزیم تناسبی (DPE1) مورد نیاز است که می تواند دو مولکول مالتوتریوز را و یکی مالتوپنتائوز به علاوه گلوکز اتخاذ نماید (Critchley و همکاران، 2001) (شکل 2). مالتوز و گلوکز در خارج از کلروپلاست حمل و نقل

می شوند (Weise و همکاران، 2004). در سیتوزول، مالتوز در اثر یک آمیلومالتاز عمل می کند و گلوکز به یک آرابینوگالاکتان اضافه می شود (متشکل از گلوکز، آرابینوز و گالاکتوز) (Lu and Sharkey، 2004) در حالی که گلوکز دیگر منتشر می شود. گلوکز اضافه شده به آرابینوگالاکتان از آرابینوگالاکتان توسط یک فسفوریلاز α -گلوکان برای تشکیل گلوکز-1-فسفات منتشر می شود که در سنتز ساکارز استفاده می شود (LU و همکاران، 2006) (شکل 2). مسیر از مالتوز به ساکارز از طریق یک آرابینوگالاکتان باعث حفظ انرژی در پیوند گلوکز-گلوکز می شود و از استفاده ATP هگزوکیناز در شب (Weise و همکاران، 2005) جلوگیری می کند.



شکل 2. مسیرهای فسفورولیتیک (بالا) و هیدرولیتیک (پایین) تجزیه نشاسته. فرض بر این است که دیکیناز آب گلوکان (GWD) برای هر دو مسیر مورد نیاز هستند، اما دخالت دیکیناز فسفوگلوکان آب (PWD) و فسفاتاز گلوکان (SEX4) در تخریب نشاسته فسفورولیتیک هیچ پشتیبانی تجربی ندارد. دخالت آمیلاز در تجزیه فسفورولیتیک نشاسته، پر حدس و گمان است. هر دو مسیر مقداری گلوکز تولید می کنند که صادر می شود، اما بدون هیچ GPT بیان شده در بافت سبز، G6P تولید یافته در داخل کلروپلاست باقی می ماند. در این شکل تصریح شده است که B-آمیلاز به هر دوی گرانول نشاسته فسفریله و مالتودکسترین آزاد شده از گرانول نشاسته حمله می کند. مالتوز صادر شده توسط بر هم زدن تناسبی آنزیم 2 (DPE2) آزادکننده قند و انتقال دیگری به آرابینوگالاکتان متابولیزه میشود. گلوکز در آرابینوگالاکتان، از نظر فسفورولیتیک برای ایجاد G1P شکاف پیدا می کند، در حالی که گلوکز آزاد به

G6P توسط هگزوکیناز (HXK) فسفریله می شوند. هر شش گوشه نشان دهنده یک گلوکز مانده است (با شش کربن نشان داده شده به صورت یک خط).

حداقل نیمی از گلوکز که در نهایت در شب به ساکارز می شوند، باید فسفریله شوند، که احتمالاً توسط هگزوکیناز عامل در سیتوزول رخ می دهد (Weise و همکاران، 1999). از آنجا که سیگنالینگ هگزوکیناز، بسیاری از فرآیندها در گیاهان را تحت تاثیر قرار می دهد (Moore و همکاران، 2003؛ Rolan و همکاران، 2006؛ Smeekens و همکاران، 2010)، تبدیل کربن از نشاسته به ساکارز در شب، نشانه ای از وضعیت قند از گیاه فراهم می کند که می تواند سوخت و ساز کربن را با فیزیولوژی گیاهی (Sahrkey و همکاران، 2004) مرتبط نماید.

در حالی که تصور می شود که اکثریت کربن در نشاسته در مسیر هیدرولیتیک استفاده می شود، مسیر فسفورولیتیک ممکن است به خصوص در طول دوره نور (شکل 2) مهم باشد. در گیاهان C3، محصولات تجزیه نشاسته فسفورولیتیک از کلروپلاست صادر نمی شوند، چرا که حمل و نقل کننده های پوش گلوکز-6-فسفات (GPTs) در بافت فتوسنتزی بالغ بیان نمی شوند. دو GPT در Arabidopsis وجود دارند، اما بیان اینها به طور معمول به بافت هتروتروف محصور می شود (Kammere و همکاران، 1998؛ Niewiadomski و همکاران، 2005). جهش پوچ آرابیدوپسیس در فسفوریلاز نشاسته در رشد گیاه اثر نمی گذارد و تقریباً هیچ تاثیری بر تخریب نشاسته مشاهده نمی شود (Zeeman و همکاران، 2004). تصور می شود که تخریب نشاسته فسفورولیتیک در گیاهان C3 برای سوخت و ساز کلروپلاست داخلی مانند فسفات اکسیداتیو پنتوز، اسید شیکمیک، و یا مسیر متیل لیریتیتول استفاده می شود (Stitt و Rees, 1979; Weise et al., 2006). با این وجود، فقدان یک فنوتیپ آشکار در پلاستیدیک جهش نشاسته فسفوریلاز باعث درک سخت اهمیت این مسیر، حداقل در شرایط رشد استاندارد آزمایشگاهی می شود.

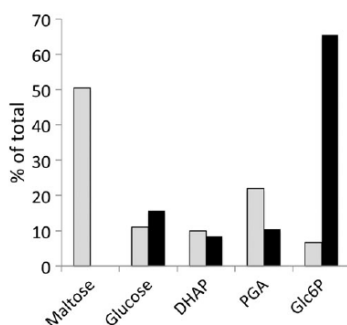
سوخت و ساز نشاسته انتقالی در CAM

گیاهان انجام دهنده CAM، CO₂ را در شب می گیرند آن را برای اسید مالیک تثبیت می نمایند. در طول روز که گرم است و شیب برگ به هوا برای از دست دادن بخار آب بالاتر است، گیاهان CAM، روزنه خود را بسته نگه می

دارد و CO₂ و پیرووات توسط دکربوکسیلاسیون اسید مالیک توسط NADP + آنزیم مالیک تولید می شوند. سپس این CO₂ توسط روبیسکو در چرخه بنسون-کالوین تثبیت می شود.

یکی از مشخص های CAM, تغییر روزانه بزرگ در نشاسته انتقالی و اسید مالیک است (Pucher et al., 1947; Black and Osmond, 2003). همچنین گیاهان CAM وجود دارند که نشاندهنده تغییر کوچک در محتوای نشاسته است، چرا که آنها کربوهیدرات های کاهش یافته را در واکوئل در قالب هگزوز، علاوه بر نشاسته ذخیره می کنند (Kenyon et al., 1985; Christopher and Holtum, 1998; Borland et al., 2009). هر دوی نشاسته و هگزوز واکوئلی به فسفونوفیرووات (PEP) در شب (Holtum و Christopher, 1996) تبدیل می شوند. بنابراین نشاسته انتقالی در گیاهان CAM دارای نقش افزوده ارائه PEP مولکول سه کربنی پذیرنده CO₂ (از طریق گلیکولیز) است، علاوه بر نقش ها در گیاهان C₃ سرریز کربن و عرضه کربن در شب (Stitt و AP Rees, 1979, 1982, Fondy and Geiger, 1982). در شب، PEP (توسط کربوکسیلاز PEP) با استفاده از بی کربنات وارد شده به صورت CO₂ از طریق روزنه باز کربوکسیله می شود، که اگزالواستات چهار کربن را تشکیل می دهد. اگزالواستات به مالات کاهش می یابد، و اسید مالیک در واکوئل ذخیره می شود. در طول روز، مالات دوباره سیار می شود و تبدیل به پیرووات می شود که CO₂ را آزاد می کند. پیرووات برای بازسازی نشاسته استفاده می شود. این گیاه یخ *Mesembryanthemum crystallinum*, یک گیاه CAM گوناگون تغییر یافته از C₃ به CAM تنش خشکی و یا تنش شوری است. در حالت CAM, نوسان در سطح نشاسته بین روز و شب 20٪ بیشتر از حالت C₃ است (Dodd و همکاران, 2003). از آنجا که نشاسته انتقالی برای CAM در کارخانه یخ حیاتی است، غیر فعال سازی سنتز نشاسته توسط جهش در نتایج phosphoglucomutase کلروپلاستی به عدم توانایی در کار در حالت CAM منجر می شود (Cushman و همکاران, 2008). تغذیه گلوکز به این جهش ها، اسیدی شدن شبانه را دوباره بازسازی نمود. این آزمایش ها ثابت می کنند که نشاسته، بستری را برای سنتز اسید مالیک فراهم می کند. به طور جالب توجهی، مسیر سوخت و ساز تخریب نشاسته زمانی تغییر می کند که گیاه یخ از C₃ به CAM تعویض می شود. زمانی که تحت سوخت و ساز C₃ قرار می گیرد، نشاسته برگ به مالتوز تخریب می شود و از کلروپلاست با

هگزوز فسفات کم صادر می شود. با این حال، پس از به CAM، صادرات از مالتوز به گلوکز-6-فسفات تعویض می شود که نشان دهنده القای مسیر فسفوروپلیتیک (شکل 3) (Neuhaus and Schulte, 1996) است. رونوشتها برای هر دو فسفوریلاز نشاسته و حمل و نقل هگزوز فسفات، 14- و 71 برابر، به ترتیب افزایش می یابند، زمانی که گیاهان یخ از C3 به CAM تبدیل می شوند (Cushman و همکاران، 2008b). علاوه بر افزایش رونوشت های B-آمیلاز، یک افزایش 8 برابر در یک آمیلاز متنی وجود دارد، زمانی که گیاه یخ در حالت CAM است (Cushman و همکاران، 2008b). مشخص شده است که α -Amylase در صورت وجود، نقش مهمی در تخریب نشاسته انتقالی در گیاهان C3 آرابیدوپسیس دارد (یو و همکاران، 2005). با این حال، در گیاهان CAM، A-آمیلاز می تواند برای افزایش نرخ کلی تخریب نشاسته به کار گرفته شود یا ممکن است لایه های زنجیره ای گلوکان دیگر را فراهم کند که بیشتر متمایل به تخریب توسط فسفوریلاز نشاسته پلاستیدیک هستند (Shimomura و همکاران، 1982). کار با گیاه یخ نشان دهنده یک تعویض از سوخت و ساز نشاسته انتقالی هیدرولیتیک به فسفوروپلیتیک و بیان GPT هاست (شکل 4). این تعویض، از هیچ ژن منحصر به فرد برای گیاهان CAM استفاده نمی کند، بلکه تغییر در سطح بیان، زمانبندی و محل ژن ها در پروتئین های مورد نیاز برای تخریب نشاسته که قبلاً در گیاهان C3 وجود داشته باشند، وجود دارد. تعویض به صادرات فسفات هگزوز در شب دارای مزیت روی صادرات مالتوز یا قند است که در آن هزینه ATP با تبدیل نشاسته به PEP کاهش می یابد که موجب تبدیل نشاسته به مالات می شود که یک منبع خالص یک ATP در هر دو مولکول مالات (شکل 5) است.



شکل 3. نسبت کربن بیرون آمده از کلروپلاست *crystalinum Mesembryanthemum* جدا شده از گیاهان عامل در حالت C3 (میله خاکستری روشن) و یا در حالت CAM (میله های سیاه) آینده. DHAP، دیهیدروکسی

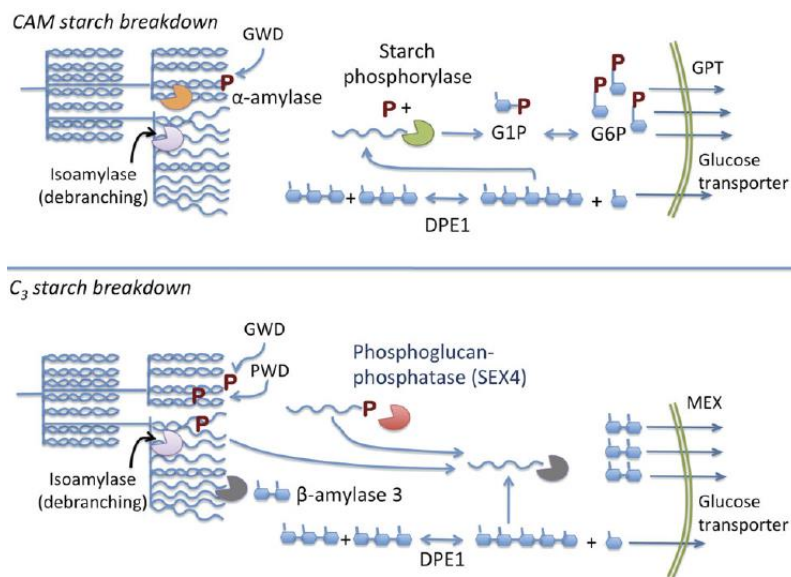
استون فسفات؛ 3-phosphoglycerate, PGA. داده های دوباره از Neuhaus and Schulte (1996). ترسیم شده اند.

صادرات فسفات هگزوز از کلروپلاست گیاه یخ با CAM مرتبط است که نیازمند سوخت و ساز نشاسته موقتی است. معلوم نیست که چرا صادرات فسفات هگزوز از کلروپلاست در شب در گیاهان C3 دیده نمی شود. احتمالاً برخی از هزینه ها برای صادرات فسفات هگزوز وجود دارد، شاید از نظر کنترل سوخت و ساز، اما هزینه صادرات هگزوز فسفات ناشناخته است. می توان حدس زد که کنترل نظارتی چرخه بنسون-کالوین در صورتی به خطر بیافتد که فسفات های هگزوز، کلروپلاست را در طول روز ترک می کنند. شاید میزان کلی پایین تر فتوسنتز مشاهده شده در بسیاری از گیاهان CAM (Osmond و همکاران، 1982) همراه با فشارهای انتخابی زیست محیطی می تواند چنین مسائلی تنظیمی را جبران کند.

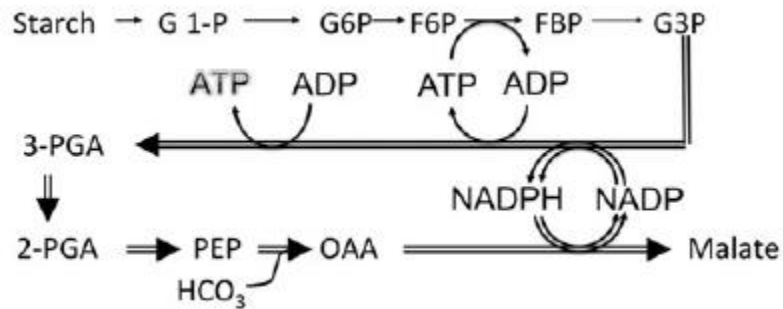
سوخت و ساز نشاسته انتقالی در C4

مسیر سوخت و ساز C4 برای جذب CO2 تقریباً با مسیر سوخت و ساز CAM یکسان است، به جز این که جذب CO2 و ثبات در گونه های C4 در فضا جدا هستند و نه زمان. از آنجا که PEP سه کربنی پذیرنده CO2 در طول روز تولید می شود، تثبیت CO2 به سوخت و ساز نشاسته همانند CAM گره نخورده است. تصور می شود که سوخت و ساز نشاسته انتقالی در گیاهان C4 به شیوه ای مشابه با C3 عمل نماید، اما به دلیل مطالعات بسیار کم آنزیمی، و یا مطالعات ژنتیک که در مورد سوخت و ساز نشاسته C4 انجام شده است، دانش ما از سوخت و ساز نشاسته انتقالی در C4 وجود ندارد. با این حال، تجزیه و تحلیل پروتئوم اخیر کلروپلاست های جدا شده از سلول های غلاف ذرت بسته شده متفاوت و مزوفیل سلول، و همچنین تجزیه و تحلیل پروتئوم برگ و شیب رشد بسته بخش غلاف همراه برگ ذرت، یک دید کلی کمی و کیفی از الگوهای انباشت آنزیم نشاسته سوخت و ساز را ارائه کرده است (Majeran و همکاران، 2005، 2010؛ Friso و همکاران، 2010). علاوه بر این، مطالعات میکروسکوپی الکترون گسترده از توسعه برگ ذرت در آغاز و پایان دوره نور، بینش بیشتری به تجمع گرانول های نشاسته را فراهم کرده است (Majeran و همکاران، 2010). این مطالعات اخیر، همراه با چند مشاهدات قبلی

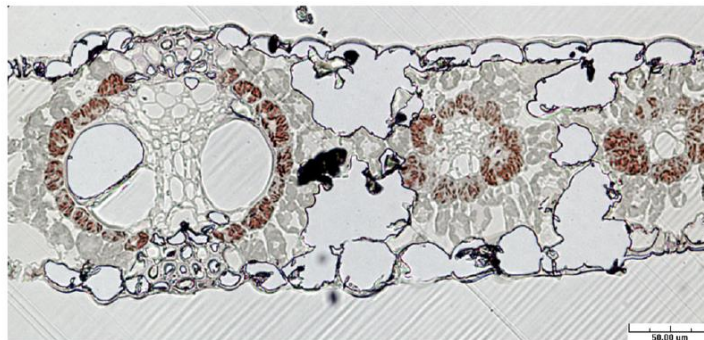
(Voznesenskaya, Preiss و Spilatro, 1987؛ و همکاران، 1999، 2005)، به وضوح نشان می دهند که اکثر آنزیم ها در متابولیسم نشاسته، و همچنین دانه های نشاسته، ترجیحاً در کلروپلاست سلول غلاف در بافت فتوسنتزی بالغ در گیاهان C4 جمع آوری می شوند.



شکل 4. مسیر فرضی تجزیه نشاسته و صادرات کربن از کلروپلاست ها برای گیاهان در حالت CAM (بالا) و یا حالت C3 (پایین). بر اساس ایده در شکل 2 و داده ها در شکل 3، MEX صادر کننده مالتوز است. الگوی تجمع نشاسته در منطقه انتقال منبع - سینک که در آن سلول ها، تمایز C4 و رشد خود را به اتمام رسانده اند متفاوت است. در اینجا نشاسته انتقالی در هر دو سلول مزوفیل، حتی با مصادیر بالاتر نشاسته در کلروپلاست های سلول مزوفیل نسبت به کلروپلاست های سلول بسته غلاف تجمع می یابد (Majeran و همکاران، 2010). ژن SEX1 در آرآبیدوپسیس C3، یک کدگذاری می کند و برای تخریب نشاسته انتقالی لازم است (Kotting و همکاران، 2005). بیان کاهش یافته همولوگ ذرت SEX1 کاهش یافته از طریق تداخل RNA (RNAi) به سطوح نشاسته برگ منجر می شود که چهار برابر بیشتر از سطوح خط کنترل مربوطه هستند؛ نشاسته در سلول های بسته غلاف مشابه برای کنترل گیاهان (شکل 6) واقع شد.



شکل 5. تبدیل نشاسته به فسفونوپیرووات (PEP) در شب و سوخت و ساز پس از آن برای مالات. این مسیر منجر به بهره خالص یک ATP در شب می شود. صادرات G6P اجازه می دهد تا تمام تولید و مصرف ATP و NADPH در سیتوزول رخ می دهد. اگر فسفات های تریوز صادر شوند، ATP در داخل کلروپلاست مورد نیاز است اما در خارج از کلروپلاست تولید می شود.



شکل 6. مقطعی از یک برگ ذرت لکه دار شده با IKI نشاندهنده تجمع نشاسته در سلول های غلاف بسته، فقط در این گیاه که در آن RNAi, GWD را کاهش می دهد. برگ برای تثبیت در ساعت 11:00 AM (SEW و TDS، منتشر نشده) گرفته شد.

سنتز نشاسته در همان سلول به صورت تثبیت CO₂ توسط روبیسکو رخ نمی دهد. در مورد *Aristida* با آناتومی Kranz تغییر یافته حاوی دو لایه از سلول های بسته غلاف، نشاسته تا حد زیادی به سلول های بسته غلاف خارجی محدود می شود در حالی که بیشتر روبیسکو در سلول های بسته غلاف درونی است (*Voznesenskaya* و همکاران، 2005). گزارشات متعددی از تجمع نشاسته برگ ذرت در پاسخ به تغییرات در صادرات کربوهیدرات رخ داده است. نمونه های آن، جهش *sxd1* با پلاسمودسماهای مسدود شده هستند که منجر به حمل و نقل ساکارز

مختل شده می شوند (Russin و همکاران، 1996). در جهش *tdy1*، *TDY1* کدگذار یک پروتئین ناشناخته لازم برای بارگیری بافت لیفی (Ma و همکاران، 2009)، مختل شد و جهش *sut1* فاقد بیان *SUT1* کدگذاری یک حمل و نقل کننده ساکارز لازم برای بارگیری بافت لیفی بود (Slewiniski و همکاران، 2009). هر کدام از این جهش ها دارای یک فنوتیپ کوتوله است و مناطق برگ که در آن انتقال کربوهیدرات تغییرمی کند، کلروتیک هستند یا سطوح بالایی از آنتوسیانین ها را جمع می کنند. یک فنوتیپ تقریباً یکسان می تواند با برگ های نوع وحشی کمربند-سرد تولید شود که حمل و نقل بافت لیفی به خارج از برگ (Slewiniski و همکاران، 2009) را مسدود می کند. در تمام موارد، سطوح نشاسته بالا در هر دو سلول غلاف بسته و سلول های مزوفیل مشاهده می شوند که نشان می دهد که آنزیم های نشاسته سوخت و ساز را می توان در هر دو نوع سلول بیان کرد، اما در گیاهان ذرت "طبیعی" کنترل شده متفاوت است.

یک درک بهتر از بیان سلول نوع-خاص، تجمع، و تنظیم آنزیم های متابولیک نشاسته که در هنگام مهندسی فتوسنتز *C4* در یک گیاه *C3* مانند برنج، برای اطمینان از یک سیستم نشاسته سوخت و ساز *C3* سازگار با سیستم *C4* فتوسنتز مورد نیاز است. دو احتمال می تواند در مورد ارتباط بین فتوسنتز، عملکرد، و نشاسته در هنگام تبدیل یک گیاه *C3* به *C4* پیش بینی شود. از آنجا که بسیاری از گیاهان *C4* دارای نرخ فتوسنتز بالاتر از گیاهان *C3* هستند، نشاسته می تواند یک نقش حیاتی به عنوان یک مکانیسم جریان بیش از حد برای کمک به جلوگیری از محدودیت تریوز فسفات بازی کند که در نتیجه ادامه فتوسنتز را سریع تر از سنتز ساکارز و صادرات آن موجب می شود. بنابراین، مهندسی یک افزایش ظرفیت برای سوخت و ساز نشاسته ممکن است عاقلانه باشد یا پتانسیل کامل فتوسنتز *C4* ممکن است تحقق نیابد. از سوی دیگر، گیاهان *C4* به طور کلی برای صادرات شکر و حمل و نقل، در مقایسه با گیاهان *C3* ظرفیت بالاتری دارند (Leonardos و Grodzinski، 2000). از آن مهمتر، سنتز ساکارز در مزوفیل، به جای غلاف بسته، یک مکانیسم اضافی برای جلوگیری از بازخورد منفی در مراحل بسته غلاف-موضعی چرخه بنسون-کالوین (Majeran و همکاران، 2010) فراهم می کند. بنابراین، نشاسته می تواند یک نقش جزئی بیشتر برای حمایت از تنفس در شب و دیگر فعالیت های مدیریت داخلی متابولیک بازی کنند. در این سناریو، تنظیم

متابولیسم نشاسته و تغییر فعالیت سلول های خاص از سنتز ساکارز در هنگام تعویض از سوخت و ساز C3 به C4 ممکن است لازم باشد.

مهندسی سوخت و ساز نشاسته برگ

برنج C4

به نظر می رسد سوخت و ساز نشاسته در چمن های C4 از نظر فضایی باید تفکیک شود حتی اگر هر دو سلول غلاف بسته و سلول های مزوفیل قادر به سنتز نشاسته باشند. به حداکثر رساندن بازده برنج، در صورت تبدیل به یک گیاه C4 موفق، احتمالاً نیاز به بهینه سازی سوخت و ساز نشاسته برگ، به خصوص الگوهای بیان غلاف بسته و خاص- مزوفیل نیاز دارد. در حال حاضر تقریباً همه چیز در مورد سوخت و ساز نشاسته برگ در گیاهان C4 توسط قیاس با گیاهان C3 شناخته شده است. شواهدی وجود دارد که گیاهان CAM از مسیرهای سوخت و ساز نشاسته به طور متفاوت از گیاهان C3 استفاده می کنند. یک درک بتر از سوخت و ساز نشاسته برگ در گیاهان C4 می تواند، مفید بودن مهندسی برنج C4 را اثبات نماید.

سوخت های زیستی

دستکاری سوخت و ساز نشاسته، فرصت برای افزایش بالقوه بازده بخش غیر غذایی از گیاه در تولید سوخت زیستی را ارائه می کند. تولید سوخت زیستی از برگ و یا ماده بنیادی که به طور معمول خورده نمی شود، رقابت مواد غذایی در برابر سوخت را کاهش می دهد. این یک ایده است که Smith آن را به امکان رادیکال تر نامید (Smith, 2008)، اما پیشرفت سریع در مهندسی ژنتیک و درک درستی از سوخت و ساز نشاسته، این مورد را به یک امکان کوتاه مدت تبدیل می سازد.

گیاهان، بسیاری از قند و پلی ساکاریدها را می سازند که می توانند به راحتی به اتانول تخمیر شوند، اما در اغلب موارد، تنها دیواره های سلولی در قسمت های این گیاه که برای مواد غذایی در برداشت استفاده نمی شوند، کنار گذاشته می شوند. دیواره های سلولی حاوی سلولز، همی سلولز و لیگنین هستند. تبدیل این ترکیب به سوخت های مایع می تواند مشکل باشد. هر کربن که می تواند ذخیره شود و در برگ به عنوان یک پلی ساکارید به راحتی قابل

هضم حفظ شود، مانند نشاسته، پتانسیل افزایش بازده سوخت های زیستی را دارد. تخمیر نشاسته در حال حاضر کامل تر از تخمیر دیواره سلولی است، حتی اگر کاهش اندکی در زیست توده غیر غذایی رخ داده باشد، تجمع نشاسته در برگ ها ممکن است یک صفت مطلوب باشد. اگر زیست توده برای سوختن همزمان در نیروگاه های توان رایج، با انگیزه فن آوری باتری بهبود یافته و انتشار دی اکسید کربن خالص کمتر صورت گیرد (Ohlrogge و همکاران، 2009)، بنابراین بازده زیست توده کل مهم است.

مسدود کردن تجزیه نشاسته برگ پس از رشد گیاه می تواند تجمع مقادیر قابل توجهی از نشاسته را بدون کاهش بازده کلی میسر سازد. در واقع، افزایش بازده کلی در صورتی ممکن است که نشاسته برگ به عنوان یک سینک اضافی برای فتوسنتز عمل کند. اگر تجزیه نشاسته و سیگنالینگ هگزوکیناز به پیری تسریع یافته کمک کند (Wingler et al., 2006; Pourtau et al., 2006; Sharkey et al., 2004)، آنگاه مسدود کردن تجزیه نشاسته در اواخر رشد گیاه می تواند فصل رشد در گیاهان در حال رشد را در آب و هوای معتدل گسترش دهد. علاوه بر این، پیش بینی می شود که مسدود کردن تجزیه نشاسته در اولین گام ها، از ساخت سطوح سمی گلوکز و مالتوز جلوگیری می کند (Stettler و همکاران، 2009). نتایج اولیه با آراییدوپسیس تایید کرده اند که بیان الگوهای RNAi برای خاموش کردن تخریب نشاسته برگ در گیاهان بالغ ممکن است و اینکه این منجر به تجمع نشاسته با کمی و یا بدون ضرر در بازده می شود (SEW و TDS، منتشر نشده).

پیشنهاد شده است که گیاهان CAM می توانند به خوبی برای بهره برداری اراضی حاشیه در تولید سوخت زیستی (بورلند و همکاران، 2009) مناسب باشند. Fructans منبع بسیاری از کربن در اتانول تولید شده از آگاو هستند. معلوم نیست که چه فرصت هایی برای افزایش بازده با افزایش تجمع نشاسته در برگ وجود دارد.

تولید سوخت زیستی در حال حاضر، و احتمالاً در آینده، به طور عمده شامل گیاهان C4 (به عنوان مثال نیشکر، ذرت، علف، Miscanthus) به دلیل بهره وری بالا و آب و راندمان مصرف نیتروژن می شود. فرضیه این است که مراحل آنزیمی کلی در تخریب نشاسته در C4 شبیه به مراحل C3 می باشد. اگر این مورد برقرار باشد، آنزیم های کلیدی که می توانند برای تولید نشاسته برگ بالا مسدود شوند، در حال حاضر شناخته شده اند. با این حال،

سازگاری خاص آنزیم ها با غلظت های خاص - سلول بسترها، عوامل آلوستریک، و حالات اکسایش-کاهش ممکن است لازم باشد، برای مثال Km، kcat، و Vmax (برای بحث و گفتگو، Sage، 2004. Majeran و همکاران، 2010 را ببینید). مسدود کردن همولوگ ذرت برای ژن SEX1 که موجب تولید گیاهان ذرت با نشاسته برگ بالا بدون یک افت بازده می شود (SEW و TDS، منتشر نشده) ممکن است. با توجه به اینکه سنتز نشاسته در سلول های مزوفیل علاوه بر این سلول های بسته غلاف ممکن است، درک بهتری از تنظیم سنتز نشاسته در مزوفیل می تواند ظرفیت ذخیره سازی اضافی برای نشاسته را نشان دهد. به همین دلایل، C4 یک انتخاب جذاب برای تولید مواد غذایی است، مانند تحمل گرمای بیشتر و الزامات نیتروژن کمتر، و نیز یک انتخاب ایده آل برای یک محصول سوخت زیستی در سطح جهان گرمتر است.

References

- Allen MS, Coors JG, Roth GW.** 2003. *Corn silage*. Madison, WI: American Society of Agronomy, Inc.
- Black C, Osmond C.** 2003. Crassulacean acid metabolism photosynthesis: 'working the night shift'. *Photosynthesis Research* **76**, 329-341.
- Borland AM, Griffiths H, Hartwell J, Smith JAC.** 2009. Exploiting the potential of plants with crassulacean acid metabolism for bioenergy production on marginal lands. *Journal of Experimental Botany* **60**, 2879-2896.
- Caspar T, Huber SC, Somerville C.** 1985. Alterations in growth, photosynthesis, and respiration in a starchless mutant of *Arabidopsis thaliana* (L.) deficient in chloroplast phosphoglucomutase activity. *Plant Physiology* **79**, 11-17.
- Christopher JT, Holtum JAM.** 1996. Patterns of carbon partitioning in leaves of crassulacean acid metabolism species during deacidification. *Plant Physiology* **112**, 393-399.
- Christopher JT, Holtum JAM.** 1998. Carbohydrate partitioning in the leaves of Bromeliaceae performing C-3 photosynthesis or Crassulacean acid metabolism. *Australian Journal of Plant Physiology* **25**, 371-376.
- Critchley JH, Zeeman SC, Takaha T, Smith AM, Smith SM.** 2001. A critical role for disproportionating enzyme in starch breakdown is revealed by a knock-out mutation in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* **26**, 89-100.
- Cushman JC, Agarie S, Albion RL, Elliot SM, Taybi T, Borland AM.** 2008a. Isolation and characterization of mutants of common ice plant deficient in crassulacean acid metabolism. *Plant Physiology* **147**, 228-238.
- Cushman JC, Tillett RL, Wood JA, Branco JM, Schlauch KA.** 2008b. Large-scale mRNA expression profiling in the common ice **Kaplan F, Guy CL.** 2005. RNA interference of *Arabidopsis* β -amylase 8 prevents maltose accumulation upon cold shock and increases sensitivity of PSII photochemical efficiency to freezing stress. *The Plant Journal* **44**, 730-743.
- Kenyon WH, Severson RF, Black Jr. CC.** 1985. Maintenance carbon cycle in Crassulacean Acid Metabolism plant leaves: source and compartmentation of carbon for nocturnal malate synthesis. *Plant Physiology* **77**, 100-109.
- Kötting O, Kossmann J, Zeeman S, Lloyd JR.** 2010. Regulation of starch metabolism: the age of enlightenment? *Current Opinion in Plant Biology* **13**, 321-329.

plant, *Mesembryanthemum crystallinum*, performing C₃ photosynthesis and Crassulacean acid metabolism (CAM). *Journal of Experimental Botany* **59**, 1875–1894.

Delatte T, Umhang M, Trevisan M, Eicke S, Thorneycroft D, Smith SM, Zeeman SC. 2006. Evidence for distinct mechanisms of starch granule breakdown in plants. *Journal of Biological Chemistry* **281**, 12050–12059.

Dinant S, Lemoine R. 2010. The phloem pathway: new issues and old debates. *Comptes Rendus Biologies* **333**, 307–319.

Dodd AN, Griffiths H, Taybi T, Cushman JC, Borland AM. 2003. Integrating diel starch metabolism with the circadian and environmental regulation of Crassulacean acid metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Planta* **216**, 789–797.

Edner C, Jing L, Albrecht M, Mahlow S, Hejazi M, Hussain H, Kaplan F, Guy C, Smith SM, Steup M, Ritte G. 2007. Glucan, water dikinase activity stimulates breakdown of starch granules by plastidial β -amylases. *Plant Physiology* **145**, 17–28.

Fondy BR, Geiger DR. 1982. Diurnal pattern of translocation and carbohydrate metabolism in source leaves of *Beta vulgaris* L. *Plant Physiology* **70**, 671–676.

Friso G, Majeran W, Huang M, Sun Q, van Wijk KJ. 2010. Reconstruction of metabolic pathways, protein expression, and homeostasis machineries across maize bundle sheath and mesophyll chloroplasts: large-scale quantitative proteomics using the first maize genome assembly. *Plant Physiology* **152**, 1219–1250.

Gibon Y, Bläsing OE, Palacios-Rojas N, Pankovic D, Hendriks JHM, Fisahn J, Höhne M, Günther M, Stitt M. 2004. Adjustment of diurnal starch turnover to short days: depletion of sugar during the night leads to a temporary inhibition of carbohydrate utilization, accumulation of sugars and post-translational activation of ADP-glucose pyrophosphorylase in the following light period. *The Plant Journal* **39**, 847–862.

Graf A, Schlereth A, Stitt M, Smith AM. 2010. Circadian control of carbohydrate availability for growth in *Arabidopsis* plants at night. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **107**, 9458–9463.

Huber SC, Hanson KR. 1992. Carbon partitioning and growth of a starchless mutant of *Nicotiana sylvestris*. *Plant Physiology* **99**, 1449–1454.

Kammerer B, Fischer K, Hilpert B, Schubert S, Gutensohn M, Weber A, Flügge UI. 1998. Molecular characterization of a carbon transporter in plastids from heterotrophic tissues: the glucose 6-phosphate phosphate antiporter. *The Plant Cell* **10**, 105–117.

Majeran W, Friso G, Ponnala L, et al. 2010. Structural and metabolic transitions of C₄ leaf development and differentiation defined by microscopy and quantitative proteomics in maize. *The Plant Cell* **22**, 3509–3542.

Messerli G, Nia VP, Trevisan M, Kolbe A, Schauer N, Geigenberger P, Chen J, Davison AC, Fernie AR, Zeeman S. 2007. Rapid classification of phenotypic mutants of *Arabidopsis* via metabolite fingerprinting. *Plant Physiology* **143**, 1484–1492.

Moore B, Zhou L, Rolland F, Hall Q, Cheng WH, Liu YX, Hwang I, Jones T, Sheen J. 2003. Role of the *Arabidopsis* glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling. *Science* **300**, 332–336.

Neuhaus HE, Kruckeberg AL, Feil R, Stitt M. 1989. Reduced-activity mutants of phosphoglucose isomerase in the cytosol and chloroplast of *Clarkia xantiana*. II. Study of the mechanisms which

Kötting O, Pusch K, Tiessen A, Geigenberger P, Steup M, Ritte G. 2005. Identification of a novel enzyme required for starch metabolism in *Arabidopsis* leaves. The phosphoglucan, water dikinase. *Plant Physiology* **137**, 242–252.

Kötting O, Santella D, Edner C, et al. 2009. Starch-Excess4 is a laforin-like phosphoglucan phosphatase required for starch degradation in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* **21**, 334–346.

Kruckeberg AL, Neuhaus HE, Feil R, Gottlieb LD, Stitt M. 1989. Decreased-activity mutants of phosphoglucose isomerase in the cytosol and chloroplast of *Clarkia xantiana*. Impact on mass-action ratios and fluxes to sucrose and starch, and estimation of flux control coefficients and elasticity coefficients. *Biochemical Journal* **261**, 457–467.

Leonardos ED, Grodzinski B. 2000. Photosynthesis, immediate export and carbon partitioning in source leaves of C₃, C₃-C₄ intermediate, and C₄ *Panicum* and *Flaveria* species at ambient and elevated CO₂ levels. *Plant, Cell and Environment* **23**, 839–851.

Lin TP, Caspar T, Somerville C, Preiss J. 1988. Isolation and characterization of a starchless mutant of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh lacking ADP glucose pyrophosphorylase activity. *Plant Physiology* **86**, 1131–1135.

Lu Y, Gehan JP, Sharkey TD. 2005. Daylength and circadian effects on starch degradation and maltose metabolism. *Plant Physiology* **138**, 2280–2291.

Lu Y, Sharkey TD. 2004. The role of amylomaltase in maltose metabolism in the cytosol of photosynthetic cells. *Planta* **218**, 466–473.

Lu Y, Sharkey TD. 2006. The importance of maltose in transitory starch breakdown. *Plant, Cell and Environment* **29**, 353–366.

Lu Y, Steichen JM, Yao J, Sharkey TD. 2006. The role of cytosolic α -glucan phosphorylase in maltose metabolism and the comparison of amylomaltase in *Arabidopsis* and *E. coli*. *Plant Physiology* **142**, 878–889.

Ludewig F, Sonnewald U, Kauder F, Heineke D, Geiger M, Stitt M, Müller-Rober BT, Gillissen B, Kuhn C, Frommer WB. 1998. The role of transient starch in acclimation to elevated atmospheric CO₂. *FEBS Letters* **429**, 147–151.

Ma Y, Siewinski TL, Baker RF, Braun DM. 2009. *Tie-dyed1* encodes a novel, phloem-expressed transmembrane protein that functions in carbohydrate partitioning. *Plant Physiology* **149**, 181–194.

Majeran W, Cai Y, Sun Q, van Wijk KJ. 2005. Functional differentiation of bundle sheath and mesophyll maize chloroplasts determined by comparative proteomics. *The Plant Cell* **17**, 3111–3140.

Scheidig A, Fröhlich A, Schulze S, Lloyd JR, Kossmann J. 2002. Downregulation of a chloroplast-targeted β -amylase leads to a starch-excess phenotype in leaves. *The Plant Journal* **30**, 581–591.

Schulze W, Stitt M, Schulze ED, Neuhaus HE, Fichtner K. 1991. A quantification of the significance of assimilatory starch for growth of *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. *Plant Physiology* **95**, 890–895.

Sharkey TD, Berry JA, Raschke K. 1985. Starch and sucrose synthesis in *Phaseolus vulgaris* as affected by light, CO₂ and abscisic acid. *Plant Physiology* **77**, 617–620.

Sharkey TD, Laporte MM, Lu Y, Weise SE, Weber APM. 2004. Engineering plants for elevated CO₂: a relationship between sugar sensing and starch degradation. *Plant Biology* **6**, 280–288.

Shimomura S, Nagai M, Fukui T. 1982. Comparative glucan specificities of two types of spinach leaf phosphorylase. *Journal of Biochemistry* **91**, 703–717.

chloroplast of *Clarkia xantiana*. II. Study of the mechanisms which regulate photosynthate partitioning. *Planta* **178**, 110–122.

Neuhaus HE, Schulte N. 1996. Starch degradation in chloroplasts isolated from C3 or CAM (crassulacean acid metabolism)-induced *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Biochemical Journal* **318**, 945–953.

Niewiadomski P, Knappe S, Geimer S, Fischer K, Schulz B, Unte US, Rosso MG, Ache P, Flügge UI, Schneider A. 2005. The Arabidopsis plastidic glucose 6-phosphate/phosphate translocator GPT1 is essential for pollen maturation and embryo sac development. *The Plant Cell* **17**, 760–775.

Nittylä T, Messerli G, Trevisan M, Chen J, Smith AM, Zeeman SC. 2004. A novel maltose transporter is essential for starch degradation in leaves. *Science* **303**, 87–89.

Ohlrogge J, Allen D, Berguson B, DellaPenna D, Shachar-Hill Y, Szyme S. 2009. Driving on biomass. *Science* **324**, 1019–1020.

Osmond CB, Winter K, Ziegler H. 1982. Functional significance of different pathways of CO₂ fixation in photosynthesis. In: Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H, eds. *Encyclopedia of plant physiology NS vol. 12B Physiological plant ecology II. Water relations and carbon assimilation*. Berlin: Springer-Verlag, 479–547.

Pourtau N, Jennings R, Pelzer E, Pallas J, Wingler A. 2006. Effect of sugar-induced senescence on gene expression and implications for the regulation of senescence in *Arabidopsis*. *Planta* **224**, 556–568.

Pucher GW, Leavenworth CS, Ginter WD, Vickery HB. 1947. Studies in the metabolism of crassulacean plants: the diurnal variation in organic acid and starch content of *Bryophyllum calycinum*. *Plant Physiology* **22**, 360–376.

Ritte G, Lloyd JR, Eckermann N, Rottmann A, Kossmann J, Steup M. 2002. The starch-related R1 protein is an α -glucan, water dikinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **99**, 7166–7171.

Rolland F, Baena-Gonzalez E, Sheen J. 2006. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. *Annual Review of Plant Biology* **57**, 675–709.

Russin WA, Evert RF, Vanderveer PJ, Sharkey TD, Briggs SP. 1996. Modification of a specific class of plasmodesmata and loss of sucrose export ability in the sucrose export defective 1 maize mutant. *The Plant Cell* **8**, 645–658.

Sage RF. 2004. The evolution of C₄ photosynthesis. *New Phytologist* **161**, 341–370.

Welse SE, Sharkey TD, van der Est A, Bruce D. 2005. Energetics of carbon export from the chloroplast at night. *Photosynthesis: Fundamental Aspects to Global Perspectives: Proceedings of the 13th International Congress on Photosynthesis*. Lawrence, KS: International Society of Photosynthesis/Alliance Communications Group, 816–818.

Welse SE, Weber A, Sharkey TD. 2004. Maltose is the major form of carbon exported from the chloroplast at night. *Planta* **218**, 474–482.

Wiese A, Gröner F, Sonnewald U, Depner H, Lerchl J, Hebbeker U, Flügge UI, Weber A. 1999. Spinach hexokinase I is located in the outer envelope membrane of plastids. *FEBS Letters* **461**, 13–18.

Wingler A, Purdy S, MacLean JA, Pourtau N. 2006. The role of sugars in integrating environmental signals during the regulation of leaf senescence. *Journal of Experimental Botany* **57**, 391–399.

Biochemistry **91**, 703–717.

Slewisinski TL, Meeley R, Braun DM. 2009. Sucrose transporter 1 functions in phloem loading in maize leaves. *Journal of Experimental Botany* **60**, 881–892.

Smeekens S, Ma J, Hanson J, Rolland F. 2010. Sugar signals and molecular networks controlling plant growth. *Current Opinion in Plant Biology* **13**, 273–278.

Smith AM. 2008. Prospects for increasing starch and sucrose yields for bioethanol production. *The Plant Journal* **54**, 546–558.

Spillatro SR, Preiss J. 1987. Regulation of starch synthesis in the bundle sheath and mesophyll of *Zea mays* L.: intercellular compartmentalization of enzymes of starch metabolism and the properties of the ADPglucose pyrophosphorylases. *Plant Physiology* **83**, 621–627.

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. *Molecular Plant* **2**, 1233–1246.

Stitt M, ap Rees T. 1979. Capacities of pea chloroplasts to catalyse the oxidative pentose phosphate pathway and glycolysis. *Phytochemistry* **18**, 1905–1911.

Stitt M, Quick WP. 1989. Photosynthetic carbon partitioning: its regulation and possibilities for manipulation. *Physiologia Plantarum* **77**, 633–641.

Tetlow IJ, Morell MK, Emes MJ. 2004. Recent developments in understanding the regulation of starch metabolism in higher plants. *Journal of Experimental Botany* **55**, 2131–2145.

Voznesenskaya EV, Chuong SDX, Koteyeva NK, Edwards GE, Franceschi VR. 2005. Functional compartmentation of C₄ photosynthesis in the triple-layered chlorenchyma of *Aristida* (Poaceae). *Functional Plant Biology* **32**, 67–77.

Voznesenskaya EV, Franceschi VR, Pyankov VI, Edwards GE. 1999. Anatomy, chloroplast structure and compartmentation of enzymes relative to photosynthetic mechanisms in leaves and cotyledons of species in the tribe Salsolaee (Chenopodiaceae). *Journal of Experimental Botany* **50**, 1779–1795.

Welse SE, Schrader SM, Kleinbeck KR, Sharkey TD. 2006. Carbon balance and circadian regulation of hydrolytic and phosphorytic breakdown of transitory starch. *Plant Physiology* **141**, 879–886.

Yu T-S, Zeeman SC, Thorneycroft D, et al. 2005. α -Amylase is not required for breakdown of transitory starch in *Arabidopsis* leaves. *Journal of Biological Chemistry* **280**, 9773–9779.

Zeeman SC, Delatte T, Messerli G, Umhang M, Stettler M, Mettler T, Streb S, Reinhold H, Kötting O. 2007. Starch breakdown: recent discoveries suggest distinct pathways and novel mechanisms. *Functional Plant Biology* **34**, 465–473.

Zeeman SC, Northrop F, Smith AM, ap Rees T. 1998. A starch-accumulating mutant of *Arabidopsis thaliana* deficient in a chloroplastic starch-hydrolyzing enzyme. *The Plant Journal* **15**, 357–385.

Zeeman SC, Thorneycroft D, Schupp N, Chapple A, Weck M, Dunstan H, Haldemann P, Bechtold N, Smith AM, Smith SM. 2004. Plastidial α -glucan phosphorylase is not required for starch degradation in *Arabidopsis* leaves but has a role in the tolerance of abiotic stress. *Plant Physiology* **135**, 849–858.