

研究通讯 Research Letter

海藻糖在植物遗传转化中的应用

喻时周^{1,2}, 张树珍², 施宗强³, 蔡文伟², 罗遵喜², 杨本鹏^{2,*}¹海南大学农学院, 海口 570228; ²中国热带农业科学院热带生物技术研究所农业部热带作物生物技术重点开放实验室, 海口 571101; ³漳州市热带作物气象试验站, 福建漳州 363001

Applications of Trehalose in Plant Genetic Transformation

YU Shi-Zhou^{1,2}, ZHANG Shu-Zhen², SHI Zong-Qiang³, CAI Wen-Wei², LUO Zun-Xi², YANG Ben-Peng^{2,*}¹College of Agronomy, Hainan University, Haikou 570228, China; ²Key Laboratory of Tropical Crop Biotechnology, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; ³Tropical Crop Meteorological Station of Zhangzhou City, Zhangzhou, Fujian 363001, China**提要:** 文章介绍海藻糖的性质、生理生化功能和海藻糖合酶基因在植物遗传转化中的应用。**关键词:** 海藻糖; 生物技术; 应用

海藻糖(trehalose)是由两分子葡萄糖通过 α , α -1,1糖苷键连接而成的非还原性双糖,最早由Wiggers在1832年研究黑麦的麦角菌时首次发现的,之后Mitscherlich在1858年又从蘑菇中分离出来,命名为“蘑菇糖”(Richards等2002; Elbein等2003)。它广泛分布于细菌、藻类、酵母、低等植物、昆虫和其它无脊椎动物中。在胁迫条件下,它能稳定蛋白质和细胞膜,特别是在干旱和热胁迫条件下防止蛋白质变性和细胞膜融合(Wingler 2002)。它不仅是代谢的应激物,还是迄今研究得最多的渗透调节剂之一(Penna 2003),其理化性质、生理功能、作用机制和代谢途径等都有了较为深入的研究。因此,采用海藻糖代谢调控提高非生物胁迫耐受性是最近几年的研究热点。本文介绍海藻糖在植物生理生化中的功能和海藻糖代谢相关的酶基因在植物遗传转化中的应用,以供这一领域的研究者作参考。

1 海藻糖的性质和生物合成

1.1 海藻糖的性质 海藻糖为白色晶体,含有两分子的结晶水,熔点为96.5~97.5℃,比旋光度为+178.3℃(20℃, 7%于水中),它理论上存在3种异构体,分别为: α , β -1,1-海藻糖(新海藻糖, neotrehalose)、 β , β -1,1-海藻糖(异海藻糖, isotrehalose)、 α -1,1海藻糖(蘑菇糖, mycose),但自然界中唯有 α , α -1,1海藻糖以游离态存在(Elbein等2003)。其甜味较弱,能溶于水和热醇中,不溶于乙醚,不能还原斐林试

剂,也不被 α -糖苷酶水解,与氨基酸、蛋白质共存时,即使加热也不会产生褐变,但在强酸条件下能被分解为两分子葡萄糖。它对生物分子的保护机制主要有3种学说,即“水替代”假说(Clegg等1982)、“玻璃态”假说(Hottiger等1987)和“优先排阻”假说(Timasheff 1993)。

1.2 海藻糖的生物合成 海藻糖的生物合成主要有3种不同的途径,海藻糖代谢过程中涉及到2个关键酶,即海藻糖-6-磷酸合成酶(trehalose-6-phosphate synthase, TPS)和海藻糖-6-磷酸酶(trehalose-6-phosphate phosphatase, TPP)(De Smet等2000)。植物中海藻糖的代谢途径如图1所示,TPS催化UDP-葡萄糖(UDP-glucose)和6-磷酸葡萄糖中的葡萄糖反应生成6-磷酸海藻糖(trehalose-6-phosphate, Tre6P)和UDP,6-磷酸海藻糖在TPP作用下生成游离海藻糖和磷酸,合成的海藻糖在海藻糖酶作用下降解生成两分子的葡萄糖(Elbein等2003)。

2 海藻糖在植物生理生化中的功能

2.1 促进植物的生长发育 Goddijn和Smeekens(1998)认为海藻糖在大多数植物中的含量较低或检测不到,但在自然条件下,低含量的海藻糖仍然对植物的逆境反应起作用,同时,海藻糖和TPS对植

收稿 2008-12-08 修定 2009-02-06

资助 国家“863”重点项目(2008AA10Z114)和中央级公益性科研院所基本科研业务费资助项目。

* 通讯作者(E-mail: y-bp@163.com; Tel: 0898-66986392)。

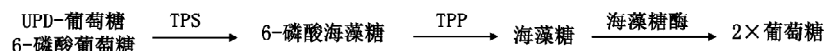


图1 植物的海藻糖代谢途径(Almeida等2007a)

TPS: 海藻糖-6-磷酸合成酶; TPP: 海藻糖-6-磷酸酶。

物的生长发育起调控作用(Paul等2008)。Schluepmann等(2004)认为在转基因的拟南芥植株中有6-磷酸海藻糖积累,研究表明,海藻糖对植物体中的糖代谢起调控作用,还对植物生长发育过程起调节作用。当抑制拟南芥 *AtTPS1* 基因表达时,即出现胚致死表型(拟南芥 *TPS1* 突变体),说明 *AtTPS1* 基因在促进胚成熟、根和茎的生长发育和开花诱导中起作用(Van Dijken等2004; Gómez等2005)。Avonce等(2005)认为 *ATPS1* 基因对野生型植物在葡萄糖和脱落酸中的营养生长起作用。Sato-Nagasawa等(2006)研究表明,玉米中的海藻糖能促进玉米花序结构形成。Chary等(2008)认为 *AtTPS6* 基因在调控植物细胞形态发生和促进植物花序形成有关。

2.2 提高植物的光合作用 越来越多的证据表明碳代谢对光合作用起调控作用,海藻糖不仅在植物代谢中起生理作用,同时,植物体内的海藻糖积累能提高植物抵御干旱能力,还可以提高植物的光合作用(Pellny等2004)。转入大肠杆菌 *otsA* 基因的烟草中,虽然6-磷酸海藻糖含量到达微摩尔水平,株型矮小、叶暗绿色,但其单位叶面积的光合能力增加(Pellny等2004)。Pellny等(2004)通过融合技术将大肠杆菌的 *otsA* 和 *otsB* 基因转入烟草,其单位叶面积内的光合速率提高,从而会改变光合碳代谢的途径,此过程中积累的是6-磷酸海藻糖,而不是海藻糖。

2.3 调节糖代谢 Müller等(1995)认为在大豆根和结节中有海藻糖积累,积累的海藻糖对大豆的碳水化合物积累有促进作用,同时,大豆根系吸收的海藻糖对大豆的蔗糖代谢也有促进作用。Müller等(2001)认为大麦叶中果聚糖的生物合成受海藻糖的制约。拟南芥幼苗子叶和叶中的海藻糖会影响淀粉的生物合成(Fritzius等2001)。一般认为海藻糖积累是通过海藻糖酶抑制淀粉和蔗糖的含量而实现的(Müller等2001),这表明海藻糖在碳分配中起作用(Rolland等2002)。Wingler等(2002)认为高碳水化合物和高光合速率与海藻糖积累有关,这说明海藻糖在糖代谢和碳水化合物代谢中起作用。Garg

等(2002)将编码大肠杆菌和酵母菌的海藻糖合成酶基因转入水稻中,转基因水稻的抗旱性和抗盐性提高,而转基因水稻的糖代谢发生改变,生长和发育不良,这可能是由于海藻糖干扰了碳水化合物的运输和分配,也有可能是干扰了正常的植物代谢过程所致。Paul等(2008)认为6-磷酸海藻糖不仅对植物体中的糖代谢起调控作用,还对植物的生长发育起调节作用。Chary等(2008)认为 *AtTPS1~AtTPS4* 突变体性能促进淀粉的生成, *AtTPS5~AtTPS11* 编码的酶具有海藻糖合酶和磷酸酶活性。

3 海藻糖合酶基因在植物遗传转化中的应用

在不同生物体中,编码TPS和TPP的基因已得到分离,在酿酒酵母中,分别命名为 *ScTPS* 和 *ScTPP*;大肠杆菌中,分别命名为 *otsA* 和 *otsB*;而在其他物种中,通常指的是 *TPS* 和 *TPP*。1893年在黑曲霉(*Aspergillus niger*)中最早发现海藻糖酶;2年后,酿酒酵母中也发现海藻糖酶的存在;后来,在甘蔗中也有报道(Glasziou和Gayler1969)。到目前为止,海藻糖合酶基因的分离、克隆和在植物遗传转化中的应用已取得一定进展(表1)。

3.1 海藻糖-6-磷酸合成酶基因的应用 TPS是海藻糖生物合成和胁迫耐受响应的关键酶,海藻糖的积累由于存在内源性磷酸酶,此酶促使高浓度的6-磷酸海藻糖形成海藻糖(Romero等1997)。Holmström等(1996)采用农杆菌介导法将酿酒酵母的 *TPS* 基因在拟南芥 *ats1A* 基因启动子驱动下导入烟草后,转基因的烟草抗旱性增强,据此,他们认为在渗透调节和干旱胁迫下,少量海藻糖的积累是为了保护细胞结构和保持大分子的平衡。这理论后来受到质疑,Gaff(1996)认为,转基因的烟草离体叶片抵御干旱是早期叶气孔细胞关闭引起的,这说明 *TPS* 基因与植物水分胁迫的耐受性相关。Serrano等(1999)在CaMV35S启动子驱动下,烟草中过量表达酵母的 *TPS* 基因(*TPS1*)后,转基因的烟草中有海藻糖的积累,表型发生变化,每克鲜重中含有较低浓度的葡萄糖和蔗糖,这说明 *TPS1* 基因的表达可以改变植物的糖代谢,同时,转基因的烟草具有一定的水分胁迫耐受性。Yeo等(2000)在CaMV35S

表1 海藻糖合酶基因的分离克隆和在植物遗传转化中的应用

基因	来源	启动子	植物	主要功能	参考文献
<i>otsA</i> <i>otsB</i>	大肠杆菌	CaMV35S	烟草	转基因的烟草叶片中有海藻糖积累。 转基因的烟草叶片较大, 茎较短。 转基因的烟草光合作用发生改变, 在干旱胁迫条件下生长较快。	Goddijn 等 1997 Pilon 等 1998 Pellny 等 2004
<i>otsA</i> <i>otsB</i>	大肠杆菌	CaMV35S Rsu, Abai	马铃薯 水稻	转基因的马铃薯植株矮化小, 耐旱性增强。 转基因的水稻中有海藻糖积累, 在胁迫条件下, 能正常生长, 光氧化损伤较少; 在非生物胁迫条件下, 有利于矿质平衡, 抗逆性增强。	Goddijn 等 1997 Garg 等 2002
		Ubi1	水稻	转基因的水稻中有海藻糖的积累, 表型发生缺失变化, 耐干旱、盐害和冷害。	Jang 等 2003
<i>otsA</i>	大肠杆菌	CaMV35S	烟草	转基因的烟草发育不良, 离体叶片水分损失较少。转基因的烟草中有海藻糖的积累, 耐盐和抗旱性增强。	戴秀玉等 2001
		Prd29A	芦荟 小麦	转基因的芦荟中有海藻糖积累。 转基因的小麦中有海藻糖积累, 抗旱耐盐性可能增强, 有待进一步鉴定。	陈杰等 2007 康旭升等 2007
<i>TPS1</i>	酵母	CaMV35S	烟草 马铃薯 番茄	转基因的烟草中有海藻糖的积累, 生长缓慢, 表型发生改变, 抗旱性增强。 转基因的马铃薯植株矮化小, 抗旱性增强。 转基因的番茄植株矮小, 有少量海藻糖的积累, 耐干旱、盐害和氧化胁迫。	Romero 等 1997 Yeo 等 2000 Cortina 和 Culiáñez-Macià 2005
	拟南芥		烟草	转基因的烟草植株型矮小, 渗透胁迫耐受性增强。	Almeida 等 2005
<i>AtTPS1</i>	拟南芥	CaMV35S	拟南芥	转基因的烟草在含有葡萄糖的培养基中生长正常。 转基因的拟南芥植株中有海藻糖的积累, 其脱水耐受性增强。	Leyman 等 2006 Avonce 等 2005
	酿酒酵母	<i>mwcs120</i>	玉米	转基因的玉米植株耐旱性可能会提高, 待进一步鉴定。	牟禹等 2007
<i>TPS</i>	酵母	Rsu	烟草	转基因的烟草中有海藻糖积累; 离体叶片水分损失少。	Holmström 等 1996
	酿酒酵母	Prd29A	烟草	转基因的烟草形态改变, 抗旱性增强。	赵恢武等 2000
		Ubi	黑麦草	转基因的黑麦草在干旱胁迫下的保水能力增强, 抗旱性增强。	贾炜琰等 2007
	拟南芥	CaMV35S	烟草	转基因的烟草中有海藻糖积累, 抗逆性增强。	郭蓓等 2008
<i>TSase</i>	担子菌灰树花	CaMV35S	烟草	转基因的烟草叶片中有海藻糖的积累, 耐干旱和耐盐性增强。	Zhang 等 2005
			甘蔗	转基因的甘蔗抗旱性增强。转基因植株根叶畸形、株型异常、生长缓慢。	Zhang 等 2006
<i>TRE (AS)</i>	紫花苜蓿	CaMV35S, Prd29A	烟草	转基因的烟草中海藻糖酶活性降低。	Gómez-Escobedo 等 2004
<i>TP</i>	凤尾菇	CaMV35S	烟草	转基因的烟草中有海藻糖的积累, 表型正常, 水分胁迫耐受性增强。	Han 等 2005

CaMV35S: 花椰菜花叶病毒 35s 启动子; Rsu: Rubisco 小亚基; Abai: 脱落酸诱导型; Ubi1: 玉米 Ubi-1 启动子; Prd29A: 渗透胁迫诱导启动子; *mwcs120*: 单子叶植物逆境诱导启动子; *TRE (AS)*: 紫花苜蓿反义海藻糖酶基因。

启动子驱动下, 将酵母的 *TPS1* 基因导入马铃薯, 转基因的马铃薯水分胁迫耐受性提高。赵恢武等 (2000) 在 Prd29A 启动子驱动下, 将酿酒酵母的 *TPS* 基因导入烟草后, 转基因的烟草抗旱性明显增强。Zhang 等 (2005) 将担子菌灰树花的海藻糖合酶基因 (*TSase*) 采用农杆菌介导法导入烟草后, 转基因的烟草叶片中有海藻糖的积累, 同时, 转基因的烟草耐旱性和耐盐性增强。Zhang 等 (2006) 将 *TSase* 基因

导入甘蔗后, 转基因的甘蔗耐旱性增强。Avonce 等 (2005) 在 CaMV35S 启动子的驱动下将 *AtTPS1* 基因导入拟南芥后, 转基因的拟南芥植株中有海藻糖的积累, 其脱水耐受性增强, 形态正常, 转基因的拟南芥幼苗在含有葡萄糖和脱落酸的培养基中生长正常。Almeida 等 (2005) 在 CaMV35S 启动子驱动下, 将拟南芥的 *AtTPS1* 基因和双丙氨膦 (Bialaphos, 除草剂) 抗性基因插入二元质粒载体 pGreen0229 中,

采用农杆菌介导法导入烟草中,转基因烟草在渗透和温度胁迫条件下的萌发率较高,这说明拟南芥的 *TPS1* 基因能提高植物的非生物胁迫耐受性,同时,转基因的烟草中有 6-磷酸海藻糖的积累(Almeida 等 2007b)。贾炜珑等(2007)在 *ubi* 启动子驱动下,将酿酒酵母的 *TPS* 基因导入黑麦草中,转基因的黑麦草在干旱胁迫下的保水能力增强,电解质渗出率明显低于非转基因植株,耐旱性提高。孟宪平等(2007)采用农杆菌介导法将酿酒酵母的 *TPS* 基因导入野大麦愈伤组织中,转基因的大麦抗旱性提高。郭蓓等(2008)将拟南芥的 *TPS* 基因导入烟草中,转基因的烟草中有海藻糖的积累,抗逆性增强。

戴秀玉等(2001)将大肠杆菌的 *otsA* 基因导入烟草后,转基因烟草中有海藻糖的积累,同时,转基因烟草的耐盐性、抗旱性和水分亏缺耐受性都得到了提高,转基因的烟草能够在含 2% NaCl 的培养基中生长,摘取叶片进行干燥失重试验表明,它比非转基因的烟草失水慢。近年来,在小麦(康旭升等 2007)和芦荟(陈杰等 2007)中已获得转大肠杆菌的 *otsA* 基因的转化植株,在转基因的植株中均有海藻糖积累。

3.2 融合海藻糖合酶基因的应用 基因融合技术是将不同的基因连接起来从而表达具有复合功能的融合蛋白,融合蛋白的活性高于衍生因子的相加活性。由于海藻糖的合成取决于 *TPP* 和 *TPS* 活性的高低,因此,采用融合技术把多个海藻糖合酶基因融合起来进行转化植物效果更好,它不仅能提高植物海藻糖的含量,而且对提高植物抗逆性也有意义。Garg 等(2002)在组织特异性和应力相关启动子驱动下,采用融合大肠杆菌的 *otsA* 和 *otsB* 基因导入水稻,转基因的水稻中海藻糖合成的净催化速率增加,在弱光、盐害、干旱和低温等胁迫下,获得一些能持续稳定的生长转基因植株,转基因的水稻中海藻糖积累提高 3~10 倍。Jang 等(2003)在 *Ubi1* 启动子驱动下,将大肠杆菌的 *otsA* 和 *otsB* 基因类似地融合并导入水稻中,在其叶和种子提取物中的海藻糖含量显著提高。Godijn 等(1997)在 *CaMV35S* 启动子的驱动下,将大肠杆菌的 *otsA* 和 *otsB* 基因导入烟草和马铃薯后,转基因的烟草中发现较低含量的海藻糖,然而,在转基因的马铃薯中则没有发现有海藻糖的存在,为了提高海藻糖的积累,在转基因的烟草和马铃薯培养基中添加海藻糖

酶抑制剂,结果这两种转基因植株中都有较高的海藻糖积累,分析认为:在高等植物中,海藻糖的积累与海藻糖酶活性有关,干旱胁迫下,这两个转基因株系干叶产量比非转基因植株高 28% 和 39%,但这两个转基因株系在良好的灌溉条件下生长没有差异,这说明,在胁迫条件下转基因植物有较高的光合能力,转基因植株在幼苗期良好浇水条件下,体内有较高含量的海藻糖积累。

3.3 海藻糖酶抑制剂的应用 Wang 等(2005)认为添加外源海藻糖或反义 RNA 技术促使海藻糖合酶基因过量表达或抑制分解海藻糖的海藻糖酶基因的表达,能提高植物的抗逆性。Gómez-Escobedo 等(2004)在 *Prd29A* 或 *CaMV35S* 启动子的驱动下,将反义 *TRE* 基因(紫花苜蓿的海藻糖酶基因)导入烟草,转基因烟草在不含蔗糖的培养基中生长时,没有发现海藻糖的积累和非生物抗逆性的提高。此外,丁顺华等(2005)认为外源海藻糖可缓解盐胁迫对小麦幼苗生长的抑制作用。外源海藻糖也能提高黄瓜抗旱性(胡慧芳和马有会 2008)。

4 结语

虽然植物体中的海藻糖含量较低,但其在植物细胞代谢和非生物胁迫中都起作用。近年来,人们已从细菌和酵母中克隆得到海藻糖合成酶相关基因,并成功地导入模式植物中,以便提高转基因植物中海藻糖的积累。拟南芥中的海藻糖生物合成相关酶基因已成功地用于植物遗传转化的研究中,转基因的拟南芥胁迫耐受性增强。海藻糖酶抑制剂是提高海藻糖的积累另一种策略,可以采用外源海藻糖或反义 RNA 技术促使海藻糖合酶基因过量表达或抑制海藻糖酶基因的表达,相关文献报道较少,该领域有待进一步研究。Aeschbacher 等(1999)从大豆中已克隆得到海藻糖酶基因,相信今后将会有更多的转基因研究成果。

参考文献

- 陈杰, 张佳星, 叶兴国, 何聪芬, 董银卯, 赵华, 秦允荣(2007). 农杆菌介导法将海藻糖合成酶基因转入芦荟的研究. 作物学报, 33 (6): 968~972
- 戴秀玉, 王忆琴, 杨波, 周坚(2001). 大肠杆菌海藻糖合成酶基因对提高烟草抗逆性能的研究. 微生物学报, 41 (4): 427~431
- 丁顺华, 李艳艳, 王宝山(2005). 外源海藻糖对小麦幼苗耐盐性的影响. 西北植物学报, 25 (3): 513~518
- 郭蓓, 胡磊, 何欣, 陈雪梅, 蒋湘宁(2008). 海藻糖-6-磷酸合成酶转基因烟草提高耐盐性的研究. 植物学通报, 25 (1): 41~49
- 胡慧芳, 马有会(2008). 外源海藻糖提高黄瓜抗旱性研究初探. 沈

- 阳农业大学学报, 39 (1): 83~85
- 贾炜琰, 胡鸢雷, 张彦芹, 杨丽莉, 林忠平, 吴琦(2007). 海藻糖合酶基因转化黑麦草及耐旱性研究. 分子植物育种, 5 (1): 27~31
- 康旭升, 刘立科, 刘根齐, 侯宁, 戴秀玉, 刘春光(2007). 小麦中 Prd29A 启动子的诱导表达活性及大肠杆菌海藻糖合成酶基因的转化. 农业生物技术学报, 15 (3): 434~438
- 孟宪平(2007). 海藻糖合成酶基因克隆及转基因野大麦的抗旱性研究[硕士论文]. 长春: 吉林大学
- 牟禹, 何晶, 付凤玲, 李晚忱(2007). 转酿酒酵母海藻糖合成酶基因(*TPS1*)玉米植株的获得. 核农学报, 21 (5): 430~435
- 赵恢武, 陈杨坚, 胡鸢雷, 高音, 林忠平(2000). 干旱诱导性启动子驱动的海藻糖-6-磷酸合酶基因载体的构建及转基因烟草的耐旱性. 植物学报, 42 (6): 616~619
- Aeschbacher RA, Müller J, Boller T, Wiemken A (1999). Purification of the trehalase GMTRE1 from soybean nodules and cloning of its cDNA. GMTRE is expressed at low levels in multiple tissues. *Plant Physiol*, 119 (2): 489~496
- Almeida AM, Cardoso LA, Santos D, Tomé JM, Feveireiro PS (2007a). Trehalose and its applications in plant biotechnology. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 43: 167~177
- Almeida AM, Villalobos E, Araújo SS, Leyman B, van Dijck P, Alfaro-Cardoso L, Feveireiro PS, Torné JM, Santos DM (2005). Transformation of tobacco with an *Arabidopsis thaliana* gene involved in trehalose biosynthesis increases tolerance to several abiotic stresses. *Euphytica*, 146: 165~176
- Almeida AM, Silva AB, Araújo SS, Cardoso LA, Santos D, Torné JM, Silva JM, Paul MJ, Feveireiro PS (2007b). Responses to water withdrawal of tobacco plants genetically engineered with the *AtTPS1* gene: a special reference to photosynthetic parameters. *Euphytica*, 154: 113~126
- Avonce N, Leyman B, Thevelein J, Iturriaga G (2005). Trehalose metabolism and glucose sensing in plants. *Biochem Soc Transac*, 33: 276~279
- Chary SN, Hicks GR, Choi YG, Carter D, Raikhel NV (2008). Trehalose-6-phosphate synthase/phosphatase regulates cell shape and plant architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 146 (1): 97~107
- Clegg JS, Seitz P, Seitz W, Hazlewood CF (1982). Cellular responses to extreme water loss: the water-replacement hypothesis. *Cryobiology*, 19: 306~316
- Cortina C, Culiñez-Macià FA (2005). Tomato abiotic stress enhanced tolerance by trehalose biosynthesis. *Plant Sci*, 169: 75~82
- De Smet KAL, Weston A, Brown IN, Young DB, Robertson BD (2000). Three pathways for trehalose biosynthesis in mycobacteria. *Microbiology*, 146: 199~208
- Elbein AD, Pan YT, Pastuszek I, Carrol D (2003). New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiology*, 13: 17R~27R
- Fritzius T, Aeschbacher R, Wiemken A, Wingler A (2001). Induction of *ApL3* expression by trehalose complements the starch deficient *Arabidopsis* mutant *adg2-1* lacking ApL1, the large subunit of ADP-Glucose pyrophosphorilase. *Plant Physiol*, 126: 883~889
- Gaff D (1996). Tobacco-plant desiccation tolerance. *Nature*, 382: 502
- Garg AK, Kim JK, Owens TG, Ranwala AP, Choi YD, Kochian LV, Wu RJ (2002). Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 15898~15903
- Glasziou KT, Gayler KR (1969). Sugar transport: occurrence of trehalase activity in sugarcane. *Planta*, 85: 299~302
- Goddijn O, Smeekens S (1998). Sensing trehalose biosynthesis in plants. *Plant J*, 14: 143~146
- Goddijn OJM, Verwoerd TC, Voogd E, Krutwagen RWHH, de Graaf PTHM, Poels J, van Dun K, Ponstein AS, Damm B, Pen J (1997). Inhibition of trehalase activity enhances trehalose accumulation in transgenic plants. *Plant Physiol*, 113: 181~190
- Gómez LD, Baud S, Graham IA (2005). The role of trehalose-6-phosphate synthase in *Arabidopsis* embryo development. *Biochem Soc Trans*, 33: 280~282
- Gómez-Escobedo IA, Cabrera-Ponce JL, Herrera-Estrella LR, Hernández-Luna C, Montes de Oca-Luna R (2004). Mejora del crecimiento de plantas de tabaco mediante la inhibición del gen de la trehalasa. *Ciencia UANL VII*, (4): 483~489
- Han SE, Park SR, Kwon HB, Yi BY, Lee GB, Byun MO (2005). Genetic engineering of drought resistant tobacco plants by introducing the trehalose phosphorylase (TP) gene from *Pleurotus sajor-caju*. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 82: 151~158
- Holmström KO, Mäntylä E, Wellin B, Mandal A, Palva ET, Tunnela D, Londesborough J (1996). Drought tolerance in tobacco. *Nature*, 379: 683~684
- Hottiger T, Schmutz P, Wiemken A (1987). Heat-induced accumulation and futile cycling of trehalose in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Bacteriol*, 169: 5518~5522
- Jang IC, Oh SJ, Seo JS, Choi WB, Song SY, Kim CH, Kim YS, Seo HS, Choi YD, Nahm BH et al (2003). Expression of a bifunctional fusion of the *Escherichia coli* genes for trehalose-6-phosphate synthase and trehalose-6-phosphate phosphatase in transgenic rice plants increases trehalose accumulation and abiotic stress tolerance without stunting growth. *Plant Physiol*, 131: 516~524
- Leyman B, Avonce N, Ramon M, Van Dijck P, Iturriaga G, Thevelein JM (2006). Trehalose-6-phosphate synthase as an intrinsic selection marker for plant transformation. *J Biotechnol*, 121: 309~317
- Müller J, Aeschbacher RA, Wingler A, Boller T, Wiemken A (2001). Trehalose and trehalase in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 125: 1086~1093
- Müller J, Boller T, Wiemken A (1995). Effects of validamycin A, a potent trehalose inhibitor, and phytohormones on trehalose metabolism in roots and root nodules of soybean and cowpea. *Planta*, 197: 362~368
- Paul MJ, Primavesi LF, Jhurrea D, Zhang Y (2008). Trehalose metabolism and signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 417~441
- Pellny TK, Ghannoum O, Conroy JP, Schlupeppman H, Smeekens S, Androljic J, Krause KP, Goddijn O, Paul MJ (2004). Genetic modification of photosynthesis with *E. coli* genes for treha-

- lose synthesis. *Plant Biotechnol J*, 2: 71~82
- Penna S (2003). Building stress tolerance through over-producing trehalose in transgenic plants. *Trends Plant Sci*, 8: 355~357
- Pilon SEAH, Terry N, Sears T, Kim H, Zayed A, Hwang S, Van Dun K, Voogd E, Verwoerd TC, Krutwagen RH et al (1998). Trehalose-producing transgenic tobacco plants show improved growth performance under drought stress. *J Plant Physiol*, 152: 525~532
- Richards AB, Krakowka S, Dexter LB, Schmid H, Wolterbeek AP, Waalkens-Berendsen DH, Shigoyuki A, Kurimoto M (2002). Trehalose: a review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies. *Food Chem Toxicol*, 40: 871~898
- Rolland F, Moore B, Sheen J (2002). Sugar sensing and signaling in plants. *Plant Cell*, S185~S205
- Romero C, Bellés JM, Vayá JL, Serrano R, Culiáñez-Macià FA (1997). Expression of the yeast *trehalose-6-phosphate synthase* gene in transgenic tobacco plants: pleiotropic phenotypes include drought tolerance. *Planta*, 201: 293~297
- Satoh-Nagasawa N, Nagasawa N, Malcomber S, Sakai H, Jackson D (2006). A trehalose metabolic enzyme controls inflorescence architecture in maize. *Nature*, 441: 227~230
- Serrano R, Culiáñez-Macià FA, Moreno V (1999). Genetic engineering of salt and drought tolerance with yeast regulatory genes. *Sci Horticul*, 78: 261~269
- Schluepmann H, Van Dijken A, Aghdasi M, Wobbes B, Paul M, Smeekens S (2004). Trehalose mediated growth inhibition of *Arabidopsis* seedlings is due to trehalose-6-phosphate accumulation. *Plant Physiol*, 135: 879~890
- Timasheff SN (1993). The control of protein stability and association by weak interactions with water: how do solvents affect these processes? *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 22: 67~97
- Van Dijken AJH, Schluepmann H, Smeekens SCM (2004). *Arabidopsis* trehalose-6-phosphate synthase 1 is essential for normal vegetative growth and transition to flowering. *Plant Physiol*, 135: 969~977
- Wang YJ, Hao YJ, Zhang ZG, Tao C, Zhang JS, Chen SY (2005). Isolation of *trehalose-6-phosphate phosphatase* gene from tobacco and its functional analysis in yeast cells. *J Plant Physiol*, 162: 215~223
- Wingler A (2002). The function of trehalose biosynthesis in plants. *Phytochemistry*, 60: 437~44
- Yeo ET, Kwon HB, Han SE, Lee JT, Ryu JC, Byun MO (2000). Genetic engineering of drought resistant potato plants by introduction of the trehalose-6-phosphate synthase (TPS1) gene from *Sacharomyces cerevisiae*. *Mol Cell*, 10: 263~268
- Zhang SZ, Yang BP, Feng CL, Chen RK, Luo JP, Cai WW, Liu FH (2006). Expression of the *Grifola frondosa* trehalose synthase gene and improvement of drought-tolerance in Sugarcane (*Saccharum officinarum* L). *Plant Bio*, 48 (4): 453~459
- Zhang SZ, Yang BP, Feng CL, Tang HL (2005). Genetic transformation of tobacco with the trehalose synthase gene from *Grifola frondosa* Fr. enhances the resistance to drought and salt in tobacco. *J Intergrat Plant Bio*, 47 (5): 579~587