

基于海藻糖的生物节水抗逆农业研究进展

王楠¹,高静²,张岁岐³,王根轩⁴

(1.陕西中医药大学陕西省中药资源产业化协同创新中心,陕西 咸阳 712083;

2.陕西中医药大学药学院,陕西 咸阳 712046; 3.西北农林科技大学水土保持研究所,陕西 杨凌 712100;

4.浙江大学生命科学院,浙江 杭州 310058)

摘要:生物节水农业主要包括新品种选育、外源有益物质和激素的添加及高效节水栽培措施的建立三个方向。海藻糖是国际上开发的主要低聚糖之一,常被作为外源有益物质应用于农业生产。在综合国内外相关研究文献的基础上,对海藻糖的性质及其提高植物抗逆性的机理、海藻糖与气孔免疫的关系等方面进行分析,发现外源性的海藻糖具有良好的非特异性保护作用,它能有效提高植物的抗逆性以及抗病虫害的能力。其次,海藻糖能通过调节气孔发育和气孔运动进一步增强农作物的抗旱性。本文认为海藻糖在生物节水农业方面有广阔的应用前景,是提高农作物水分利用效率的重要途径。

关键词:海藻糖;活性氧;气孔运动;抗逆性;抗蒸腾

中图分类号: S154.1 **文献标志码:** A

Biological water saving and stress resistance in agriculture through trehalose

WANG Nan¹, GAO Jing², ZHANG Sui-qi³, WANG Gen-xuan⁴

(1. Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization,

Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712083, China;

2. College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712046, China;

3. Institute of Soil and Water Conservation, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

4. College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310058, China)

Abstract: Biological water-saving agriculture mainly includes breeding of new cultivars, addition of exogenous beneficial substance and hormone, and establishment of efficient water-saving cultivation method. Trehalose, which is an oligosaccharide, is used as an exogenous beneficial substance in agricultural production. On the basis of comprehensive domestic and foreign related research literature, the properties of trehalose as well as their mechanism of improving plant resistance and the relationships between trehalose and stomatal immunity were analyzed. It is found that exogenous trehalose has nonspecific protective effect, which can effectively improve plant resistance and the ability to resist diseases and pests. In addition, trehalose can further enhance the drought resistance of crops by regulating stomatal development and stomatal movement. Thus, it is considered that trehalose has broad application prospects in biological water-saving agriculture, and it is an important way to improve the water use efficiency of crops.

Keywords: trehalose; reactive oxygen species; stomatal movement; stress resistance; antitranspirant

水资源紧缺是我国经济社会发展的重要制约因素,未来全球干旱事件的频率和影响面积会持续增加。我国水资源分布时空不均,农业用水量、浪费严重且效率低下,加剧了水资源短缺。如何提高水资源利用效率对农业经济发展具有重要

意义。植物通过根部吸收的水分约有90%由气孔蒸腾作用散失到大气中,因此,通过生物技术降低蒸腾作用散失的水分,提高农作物水分利用效率是可持续农业的战略措施之一,也是发展节水农业的重要方向。

气孔不仅是植物进行蒸腾作用的重要器官,也是阻挡病原微生物入侵的第一道门户,在植物免疫应答中起到不可替代的作用^[1-2]。气孔的开闭与许多因素有关,例如:外界温度、CO₂ 浓度、空气湿度、光照强度、植物激素和 Ca²⁺ 等各类信号物质^[1,3-4]。很多糖类信号(如几丁质、壳聚糖、脂多糖等)都是已知的能引起气孔关闭的物质^[3,5]。海藻糖是广泛存在于植物、细菌、真菌和无脊椎动物体内的一种多糖^[6],因其独特的理化特性,越来越受到科学家的关注,在食品工业、医药行业、化妆品及农业上已经成为开发的热点。Dittrich 和 Mayer^[7]很早就发现海藻糖能明显抑制气孔关闭,然而海藻糖诱发气孔免疫机理方面的研究仍然滞后。本文通过综述海藻糖在植物抗逆性中的作用,旨在为生物节水农业提供新的技术选择。

1 生物节水农业

1.1 生物节水农业的生物学基础

生物节水是通过调控作物水分生理,充分挖掘作物自身用水潜力,以作物高效用水为目标而开发出的一种农业节水新技术^[8]。由于农作物种类不同,其抗旱节水机制也不同。植物适应干旱的机制分为3类:避旱(drought escape)、御旱(drought avoidance)和耐旱(drought tolerance)。其中,避旱是指植物能够在严重的干旱来临之前完成全部的生活史周期^[9];御旱主要是通过形态结构的调整来增加根系吸水面积、调节气孔运动来维持体内组织的水分;耐旱的主要机制是通过脱落酸等植物激素和脯氨酸等渗透调节物质对水通道蛋白、气孔开闭等进行调控,提高植物忍耐干旱造成的暂时性伤害的能力^[10]。在高等植物的御旱和耐旱机制中,其叶片保卫细胞能对外界环境迅速响应,通过信号物质传导调节气孔运动,使气孔关闭,降低蒸腾失水。由此可见,合理调节气孔开闭就能使作物在缺水条件下保持较高的产量。

1.2 生物节水农业的研究方向

生物节水技术的一个重要方向就是通过基因工程研发抗旱新品种。通过基因的转移和重组,对农作物一系列与抗旱相关的基因进行调控,开发高效节水抗旱的优质农作物新品种。与气孔发育和运动有关的基因是生物基因工程研发抗旱品种的研究方向之一。拟南芥中的 *ERECTA* 基因能影响叶片气孔密度和叶片结构,进而调控植株的蒸腾效率,在改良作物的抗旱性及水分利用效率方面具有良好应用前景^[10]。将气孔特异性启动子-*KST1* 转

入烟草体内,可以增加烟草脱落酸的含量,提高其抗旱性^[11]。高表达 *miR396* 的转基因烟草气孔密度和气孔指数比野生型低,提高了其水分利用效率^[12]。通过调控 *ZmSDD1* 基因从而减少气孔密度,降低了由蒸腾作用导致的水分散失,提高了拟南芥的水分利用效率^[13]。

其次,通过施加外源有益物质和植物激素协助植物抵御水分胁迫的相关理论和技术也在近些年实现再一次突破。硫脲作为一种含巯基的生物活性物质能显著提高植物的水分利用效率^[14]。硅元素能在作物遭受到水分和营养胁迫时保持植株进行正常的水分生理过程而钾离子则能调控电解质渗出,改变分解代谢过程,辅助遭受水分胁迫时植株的自我适应和自我修复^[15-16]。水杨酸和赤霉素等激素则能通过调控气孔运动、营养吸收、叶绿素与蛋白合成、阻止乙烯生成及促进一些与生长发育相关的生理过程来帮助植物抵御水分胁迫^[17]。

此外,还可将作物水分生理调控机制与作物高效用水技术紧密结合,利用作物不同时期需水量不同开发出诸如调亏灌溉、分根区交替灌溉等作物生理节水技术,可明显地提高作物水分利用效率。其中,分根区交替灌溉是利用作物在一定生育阶段,适当的水分亏缺可以提高水分利用效率和产量的原理,控制部分根系区域湿润,而其余根区进行干旱胁迫,使不同区域的根系交替经受一定程度的水分胁迫锻炼,刺激根系产生脱落酸等根源信号向上传输至叶片,调节气孔开度,在不牺牲光合产物积累的前提下,减少蒸腾失水^[18-19]。由此可见,气孔在农业灌溉技术中发挥着重要调节作用,调节作物气孔形态和运动是农业节水的重要手段。

2 海藻糖的性质

2.1 海藻糖的理化特性

早在1832年,Wiggers 就从一种黑麦的麦角菌中发现了海藻糖,而到了1858年,Berthelot 从昆虫幼体中分离出一种二糖,并把它叫做“trehalamanna”,随后命名为海藻糖(trehalose)^[20]。Koch 在1925年从酵母的提取物中得到一种玻璃样的物质,后来证明也是海藻糖^[6,21]。海藻糖又称酵母糖,是一种由两个葡萄糖分子以 $\alpha, \alpha, 1, 1$ -糖苷键构成的非还原性二糖,分子式为 C₁₂H₂₂O₁₁,分子量 378.3,它甜度低、耐热、耐酸、不褐变以及具有较高的玻璃化相变温度^[21],广泛存在于植物、细菌、真菌和无脊椎动物体内,特别是在酵母、霉菌等真菌中含量较多^[6]。海藻糖的物理化学性质使其成为一种特殊

的糖,其结构非常稳定,只被特定的海藻糖酶所分解^[21]。由于海藻糖是非还原性糖,所以它不能与 Fehling's 和 Benedict's 试剂发生反应,也不能引起食物褐色反应,使得海藻糖在工业上的应用尤其广泛^[21]。

2.2 海藻糖的形成途径

海藻糖在植物体内的合成需要两步完成。首先是海藻糖-6-磷酸合成酶(TPS)将 UDP-葡萄糖和 6-磷酸葡萄糖催化合成 6-磷酸海藻糖(T6P)。其次是 T6P-磷酸酯酶(TPP)将 T6P 转化为海藻糖和磷酸^[22]。海藻糖能被海藻糖酶裂解为葡萄糖^[21]。在大多数植物的提取物中海藻糖和 T6P 的含量很低,几乎接近可检测的极限,且 T6P 只能在亚细胞水平运输,因此限制了对它们功能的研究^[23]。

3 海藻糖在提高植物抗逆性中的作用

海藻糖已经成为国际上开发的主要低聚糖之一,它能有效地保护细胞膜和蛋白质的结构,使生物体在脱水、干旱、高温、冷冻、高渗透压以及有毒试剂等逆境胁迫下,保持正常的生命活动。新的研究表明,外源性的海藻糖具有良好的非特异性保护作用,有人把海藻糖称为“生命之糖”^[24]。通过将微生物海藻糖生物合成基因转入烟草、水稻、西红柿、马铃薯和拟南芥等植物体内,发现海藻糖是一种渗透保护剂和细胞膜及蛋白质保护剂^[25]。但是,在这些转基因植物中,随着耐受水平的增加,海藻糖在其体内的水平仍然很低,两者相关性不大,表明海藻糖除了直接保护植物以外可能还发挥了其它作用。

3.1 海藻糖的生物学保护作用及其机制

海藻糖对生物及一些大分子物质具有非特异性的良好保护作用。(1) 保护酶活性:海藻糖可以稳定蛋白质(酶)的结构和功能,使其保持活性。海藻糖可被用来存储耐热的酶,例如脱氧核糖核酸聚合酶、限制性内切酶和 DNA 连接酶等^[21,26]。(2) 稳定和保护复杂的分子:在海藻糖存在的情况下,对保存条件要求苛刻的病毒类疫苗、抗体可在室温或 37℃ 下保持其活性储存几个月之久^[27]。(3) 作为细胞、组织和器官的保护剂:无论是在干燥或冷冻条件下,海藻糖都能用于保护植物细胞、血细胞、肝脏细胞、胰岛细胞、小鼠胚胎组织和器官的活性^[21,27-28]。在胰岛细胞冷冻过程中加入二甲基亚砜(DMSO)和海藻糖,使得成熟胰岛细胞的恢复率达到 92%,比单独使用 DMSO 高出 34%,且功能与

提取的新鲜胰岛细胞无差别^[28]。(4) 植物和食物保鲜剂:海藻糖能避免切割后的郁金香和唐菖蒲过度蒸发,增加鲜花的保鲜期^[21]。由于海藻糖对植物细胞良好的保护作用,海藻糖处理后的脱水蔬菜和干燥水果仍可保留原有的风味^[26]。除此之外,海藻糖还被广泛用于农业植物育种、饲料添加剂和化妆品添加剂等^[29]。

目前,有三种观点可以解释海藻糖如何起到保护作用:水替代,玻璃态形成和化学稳定性。这些机制并不是相互独立的,可能协同作用于海藻糖的保护作用。水替代理论认为所有的生物大分子周围通常与水形成氢键(水化层)而较稳定,海藻糖在脱水或冷冻过程中会取代水分子中的水化层以保护生物结构。这种机制有助于稳定生物分子并抑制其不可逆的变性^[21]。玻璃态理论认为,海藻糖中连接两个 D-葡萄糖残基的糖苷键与其它二糖相比有很大的灵活性。这个属性可以让海藻糖与其它不同大分子的不规则极性基团相互作用^[28]。在脱水的情况下,细胞内积累的非还原性糖类和高亲水的蛋白分子会形成一种玻璃态,从而固定细胞膜及大分子物质免受损伤^[30]。化学稳定性假说认为,海藻糖是唯一可以形成无定形、不吸湿的结晶,并在高温下依然稳定的糖类。在极端的温度下与其它糖类相比,这个特性使得海藻糖能形成玻璃态的时间更长。该生物分子可以在玻璃态保持数月甚至数年,使它们能够在复水后恢复到它们的原始结构^[21]。

3.2 海藻糖与盐胁迫

海藻糖与植物抗逆性密切相关,当拟南芥遇到非生物胁迫时,与海藻糖合成相关的基因其转录物水平会显著增加,这种变化尤其是在寒冷、渗透压和盐胁迫下更加明显^[31]。Fougere 等^[32]发现在盐胁迫下,虽然苜蓿的根和类菌体中海藻糖的含量显著上升,但是对于海藻糖能够发挥渗透保护剂作用的浓度而言,这个剂量水平偏低。这说明海藻糖可能通过其它方式改善了植物在盐胁迫下的生长发育。Garcia 等^[33]发现盐胁迫 3d 后海藻糖在水稻根部有少量增加。虽然盐胁迫能阻碍植物的正常生长发育,但是外源实施低剂量的海藻糖(1~10 mM)能减少 Na⁺ 的积累和缓解其对生长的抑制作用。有实验证明较高浓度的海藻糖能防止叶绿素的流失,维持根部功能完整性,抑制盐胁迫导致的不正常细胞分裂^[25]。低浓度的海藻糖(2 g · L⁻¹)就能缓解盐胁迫对种子萌发造成的伤害,提高盐胁迫下种子的发芽率和发芽势,施加一定的外源海藻糖可以提

高盐胁迫下幼苗的鲜重,促进其生长,使幼苗更加适应盐胁迫的环境^[34]。徐婷等^[35]以薄皮甜瓜为研究对象证明了在盐胁迫下叶面喷施0.4%浓度的海藻糖可显著降低其超氧根阴离子的产生速率,增加超氧化物歧化酶和过氧化物酶的活性,说明海藻糖可以减轻活性氧对细胞膜系统的伤害,有效缓解盐胁迫对甜瓜的伤害。海藻糖可能是通过保护离子泵协助植物抵御盐胁迫,然而,海藻糖并没有阻止盐在植物细胞中的积累,因此,海藻糖作为一种激发子其保护特性可能主要作用于保持脂双层结构的完整性和酶活性^[36]。闫道良和郑炳松^[37]发现施用 $2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的海藻糖溶液可显著提高盐胁迫下杨麦19的脯氨酸含量,增强对钾离子的吸收,以便快速适应胁迫环境。此外,对于豆科植物而言,外源施加的海藻糖不但能促进植株本身的抗盐能力,而且还能提高共生固氮菌的抗盐能力^[38],而施加柚苷配基(naringenin, $4\text{ }\mu\text{M}$)能促进丛植菌根在根瘤结节中大量合成海藻糖从而抵御盐胁迫^[39]。

3.3 海藻糖与干旱胁迫

当植物缺水时,大量海藻糖累积在组织中能通过保护细胞膜而协助其抵御干旱^[40],例如在干旱条件下水稻中海藻糖的含量是正常生长条件下的两倍^[41]。高等植物体中已证明海藻糖代谢的存在,在一些复苏植物如卷柏、密罗木中就发现含有高浓度的海藻糖^[42]。但在绝大多数维管植物中其含量相当低,所以可以利用外源的海藻糖来改善植物在逆境条件下的生长发育^[43]。Alam等^[44]发现海藻糖能通过增加还原型谷胱甘肽的含量,提高抗坏血酸过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶、过氧化氢酶的活性改善芸薹属植物在干旱逆境下的生长发育。经过海藻糖处理的绿豆幼苗,在干燥和冷冻条件下,其质膜上的 Mg^{2+} 、 K^{+} -ATPase活性显著提高^[45]。Ilhan等^[42]发现干旱胁迫提高了刺山柑中海藻糖的含量以及海藻糖合成途径中的组分TPS、TPP的酶活性和基因表达量,这种海藻糖酶活性和基因表达量提高的现象进一步在烟草干旱胁迫实验上得到证实^[46]。在干旱胁迫下,根瘤中大量积累海藻糖的大豆,其叶片相对含水量较高且耐旱性也强^[47],而恶臭假单胞菌KT2440则能在番茄和辣椒根际大量表达ostAB基因用于海藻糖的生物合成从而帮助植株抵御干旱胁迫^[48]。荷兰植物生物技术公司研究人员将大肠杆菌的海藻糖合成酶基因导入甜菜、马铃薯中,他们在获得大量海藻糖的同时,也增强了其抗旱性和耐寒性^[26]。而含有海藻糖合成酶的转基因甘蔗在干旱复水后恢复的比非转基因植株

好^[49]。近期也有研究发现经过海藻糖预浸种处理的萝卜,其通过提高叶绿素a含量、光合速率、水分利用效率、可溶性糖含量、脯氨酸含量和超氧化物歧化酶的活性来抵御干旱胁迫^[50]。

3.4 海藻糖与其它非生物胁迫

海藻糖除了应用于抵抗盐胁迫和干旱胁迫外,也被应用于植物抵御其它逆境胁迫^[25],例如低温寒害^[51]。利用0.1%的海藻糖溶液浸泡水稻种子后进行低温处理,水稻幼苗的细胞电解质渗出率显著降低,淀粉酶的活性及幼苗可溶性糖含量明显提高,对寒害的修复能力也得到提高,而且处理温度越低,海藻糖的相对效应就越明显^[52]。谢冬微等^[53]在低温胁迫下将小麦用海藻糖处理后,可以降低丙二醛含量,提高脯氨酸和可溶性糖含量,提高冬小麦的抗寒性。海藻糖可以改善种子组分构成,提高其抗氧化的能力^[40]。AtTPS5与转录辅激活物MBF1c互作则能提高拟南芥的耐热性^[54]。海藻糖除了能在生理过程上起到抵御非生物胁迫的作用,也能在形态调控上帮助植物度过胁迫时期。西红柿导入酵母TPS1基因后,能通过增加叶片厚度、强化分支、促进根部生长来抵御逆境^[55]。综上所述,海藻糖是植物体中重要的抗逆物质,是开发植物抗逆生长调节剂的良好选择。

3.5 海藻糖与生物胁迫

近年来,海藻糖的工业生产技术及其应用研究颇为活跃,其相关酶的生物工程研究也较多。对昆虫和真菌而言,海藻糖相关酶对其生命过程具有重要的影响^[56],通过抑制海藻糖相关酶的活性,就能达到杀死害虫和防治病害的目的。

除了直接杀死害虫外,外源实施海藻糖也能调节植物自身对生物胁迫的响应。比如,外源喷施海藻糖后可以诱导小麦对白粉病的抗性。海藻糖并没有直接影响病原真菌的生长,而是诱导植物产生一些特殊反应来有效地抑制真菌的侵入和生长^[57]。海藻糖喷施于小麦叶片虽然能有效抑制白粉病的侵染,但是海藻糖并没有抑制病原真菌分生孢子的萌发和附着胞的分化,这表明海藻糖对植物的保护作用诱导了其防御反应^[57-58]。海藻糖可以诱发几丁质酶(chi, chi1和chi4前体)和脂肪氧化酶(lox)的基因表达来抵御白粉病^[57]。Singh等^[58]表明TPS11基因通过PAD4(phytoalexin-deficient 4)基因的表达介导了拟南芥抵御绿桃蚜。与对照相比,在TPS11缺失的突变体中海藻糖的含量没有增加且植株也没有针对绿桃蚜的抗性。外源实施海藻糖后,植株重新恢复对绿桃蚜的抗性,而且海藻糖

超积累突变体对绿桃蚜的抗性更高,这表明海藻糖在植物防御系统中是个重要的信号物质^[58]。Hofmann 等^[59]通过代谢分析和基因靶向表达分析,证明海藻糖的积累可以帮助拟南芥抵御线虫感染。拟南芥 *TPS11* 基因的表达在感染烟草花叶病毒后增加^[60],说明海藻糖参与了抗性过程。尽管海藻糖在植物抵御病虫害过程中发挥了重要作用,但是海藻糖介导的生物应激反应还没有被充分认识,目前蛋白质组学分析证明在这些应激反应中海藻糖可以诱导一些关键组分的表达,如在海藻糖处理后的幼苗能诱导 *AIG2*, *EDS1*, *EDS5*, *PAD4*, *WAK1* 和 *WAK2* 的表达^[61]。研究者同时认为在植物中海藻糖的积累量不足以发挥其保护剂的作用。相反,海藻糖和 T6P 在营养和逆境代谢中发挥着重要的信号转导作用^[61]。糖类信号有助于植物对病原菌的免疫反应,并且可能作为启动子介导了病原相关分子模式 (PAMP) 和效应子诱发的免疫^[57]。

4 海藻糖与气孔免疫

4.1 气孔免疫的概念

植物的叶面作为一个独立的微环境域,常常被真菌、细菌、酵母菌等微生物栖息,人们把微生物群落附着的叶面微环境域称作“叶际”,生存在其上并可以定居和繁殖的微生物群体为“叶际微生物”^[62]。叶际微生物可以通过植物表面的孔口进入植物体内,如排水器、蜜腺、皮孔和气孔等。气孔是在植物表面控制光合作用气体交换和蒸腾作用水分散失的重要通道,它在叶面上分布广泛,也是微生物入侵植物的一条重要途径。研究表明气孔并不是被动的作为微生物进入植物体内的通道,当植物感应到叶际微生物的存在时,气孔发生主动关闭的现象称为气孔免疫^[1]。真菌的激发子半乳糖醛酸、几丁质和壳聚糖都是已知的能引起气孔关闭的物质。因此,气孔在植物固有免疫反应中发挥着重要的作用^[3]。

4.2 气孔免疫信号通路

保卫细胞能整合环境和内源信号从而调节气孔运动。跨膜离子的流动 (K^+ 、 Cl^- 和苹果酸盐等)、细胞骨架的再组织、中间代谢物的产生、蛋白质翻译后修饰以及基因表达的调节都能决定气孔开度^[2,63]。大量的实验证明许多植物激素也参与气孔开度的调节,如脱落酸 (abscisic acid, ABA)、植物生长素 (auxin, IAA)、乙烯 (ethylene, ET)、细胞分裂素 (cytokinin, CTK)、茉莉酸 (jasmonic acid, JA)、水杨酸 (salicylic acid, SA)、茉莉酮酸酯 (jasmonate)、油

菜素内酯 (brassinosteroid) 等^[64]。其中 ABA 信号传导途径是研究最多的,最近几年也取得了很大的进展。在生物或非生物胁迫下,植物均可以通过 ABA 促使气孔关闭,抑制气孔开张来减少植物的水分蒸腾散失或抵御病原菌入侵,这一过程包括许多细胞生化反应:G 蛋白和 S 型阴离子通道 (SLAC1) 的活化、活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、一氧化氮 (nitric oxide, NO) 和过氧化氢 (hydrogen peroxide, H_2O_2) 的产生、细胞质 pH 的升高、细胞内 Ca^{2+} 的振荡、蛋白质的磷酸化和去磷酸化以及细胞骨架的再组织^[65,66]。其它的植物激素 SA、Jasmonate 和 Brassinosteroid 也已经被证实能促使气孔关闭,ABA 和 SA 相互作用使气孔关闭可以使植物抵御微生物入侵,基因分析显示 ABA 和 Jasmonate 在调节气孔开张的信号传导途径上有相似性^[64]。

除植物激素外,ROS 类物质如 H_2O_2 、NO 及 Ca^{2+} 也都参与气孔运动的信号调节。ROS 的功能是作为 ABA 的第二信使。 H_2O_2 可以作用于 K^+ 通道、 Ca^{2+} 通道以及 MAPK 信号通路等介导 ABA 诱导的气孔关闭^[67]。 H_2O_2 能诱导保卫细胞内 NO 的生成,且 Ca^{2+} 也参与其中。黑暗和 UV-B 诱导的气孔关闭中 NO 的生成都要依赖于 H_2O_2 ^[68]。NO 诱导的气孔关闭需要 MAPKs, cGMP 和 Ca^{2+} 。NO 通过 MAPKs 激活抗氧化基因和酶活性。MAPKs 在 ABA 诱导的气孔关闭中是 NO 和 H_2O_2 信号的一个收敛点^[5]。细胞质 Ca^{2+} 作为信号物质在 ABA 诱导的气孔关闭中同样发挥了重要作用^[69]。实验证明 Ca^{2+} 和 H_2O_2 是相互依存的。 H_2O_2 能调节 Ca^{2+} 流动, Ca^{2+} 参与 H_2O_2 的代谢^[67]。在 ABA 诱导的气孔关闭中, H_2O_2 能增加细胞质 Ca^{2+} 从而促使气孔关闭^[70]。而 H_2O_2 合成酶要靠 Ca^{2+} 激活。 Ca^{2+} 还能通过蛋白激酶调节水通道蛋白的功能,进而调节气孔运动^[71]。

4.3 海藻糖诱发气孔免疫可能的信号途径

糖类之前仅仅被认为是一种基本的代谢物质,但随着研究的深入,人们发现糖类也是一种重要的信号分子。它在植物受到生物和非生物逆境胁迫时起到重要的作用。糖类能激发一系列信号传导反应,使细胞做出响应。如前所述,表达海藻糖合成基因的转基因植物体内含有高水平海藻糖,并且它们抵御胁迫的能力也因此提高^[72]。在高等植物中海藻糖或者海藻糖代谢衍生物都是植物基因表达的重要调节者,但是海藻糖增强植物抗性的机理还不是很清楚,有研究推测气孔作为一个重要因

素发挥了作用,如海藻糖可以改变气孔发育,将 *TPSI* 基因转入玉米体内,*TPSI* 基因通过增加 *SDD1* (*stomata density and distribution 1*) 基因表达使玉米气孔密度下降,进而玉米抗旱性增加^[73]。除了对植物气孔形态方面的调节外,海藻糖也能调节气孔运动。Gao 等^[74]研究表明 ROS 参与了海藻糖诱导的气孔关闭。Schluepmann 等^[31]发现海藻糖能通过 ABA 调节气孔。而且,海藻糖诱导的基因与 JA/ET 依赖的信号转导途径有关,被外源海藻糖处理后转录物水平的表达与 ET、茉莉酸甲酯信号通路有关^[23]。在逆境条件下 JA、ET 和 ROS 之间有着复杂的联系^[64]。与 ABA 一样,JA 和 ET 也参与了对气孔运动的调节。JA 在干旱条件下能促进气孔关闭^[75]。用 JA 前体 12-OPDA 处理拟南芥会诱导气孔关闭。提高 12-OPDA 的浓度会增强拟南芥的抗旱性^[76-77]。依赖 ABA 和不依赖 ABA 的信号途径都对 JA 有响应^[76]。与 JA 不同的是,ET 调节气孔开度方面会因环境和植物物种的不同体现出双重作用^[64]。一方面,ET 抑制 ABA 诱导的气孔关闭。另一方面,ET 会通过促进 NADPH 氧化酶介导产生的 ROS 促进气孔关闭^[78]。ROS 是 ABA 诱导的气孔关闭中的第二信使,ROS 同样也能影响气孔开度^[70]。因此,海藻糖诱发气孔关闭的信号传导途径与 ABA、JA、ET 的信号途径有联系,Ca²⁺、NO 等信号物质也参与其中^[74]。

5 海藻糖在农业上的应用前景及展望

5.1 节水减排

利用海藻糖可以调节气孔运动的特性,有效诱导气孔关闭,对增强植物抗逆性,减少蒸腾水分散失,提高农作物水分利用效率有重要意义。气候变化对生态环境和社会经济的负面影响日渐凸现,迫切需要采取应对措施,减少温室气体排放。CH₄ 是仅次于 CO₂ 的重要温室气体,中国水稻种植面积占世界水稻总面积的 22%,稻田 CH₄ 排放是全球大气 CH₄ 重要排放源^[79]。中国科学院南京土壤研究所的蔡祖聪等^[80]通过分析大量实地观测数据,发现冬季土壤水分是控制稻田水稻生长期 CH₄ 排放量最为关键的因素,冬季淹水稻田(冬灌田)水稻生长季 CH₄ 排放量要远高于当地冬季排水稻田。因此,淹水灌溉易造成水稻根系的厌氧发酵,产生较多的 CH₄。因此,有效控制气孔的过度蒸腾作用,是避免温室气体过度排放的重要方法。用海藻糖作为节水剂,可以减少稻田的淹水灌溉,从而减少 CH₄ 的排放。另外,在遇到旱情时,也可以通过调节气孔

开闭来提高水分利用效率,达到节水减排的效果。

5.2 优化农业抗蒸腾剂的研发

在过去半个世纪中,人们已经研发了多种通过改变植物叶片气孔运动进而减少蒸腾作用的抗蒸腾剂。这些抗蒸腾剂已经大量应用于生产实践,但同时也暴露出了一系列问题,如毒性过大,对环境污染严重,造价昂贵,水溶性差,黏附力低,影响光合作用等。因此,迫切需要研制生态安全,造价低廉,适用性广和效果明显的新型抗蒸腾剂。未来可以利用气孔免疫原理研发出相关抗蒸腾剂,其在理论上利用细菌、真菌、酵母中所含有的激发子物质,完全可以开发出生物气孔调控剂,达到节水增产的目的。基于这个研究思路,可以用海藻糖为原料,制作安全环保的抗蒸腾节水剂。对于啤酒产生过程中出现的废酵母,很多啤酒厂会将其烘干,然后加工为各种牲畜、鱼类的饲料。这种产品不仅浪费资源,而且附加值非常低。将酵母中的海藻糖加以利用,生产高附加值的抗蒸腾节水剂制品,对于发展节水农业,提高农林和生态环境建设中植物水分利用效率,增加生物固碳,实现人类可持续发展具有重要的意义。

尽管对生物节水农业的研究已有很多,但是其调控技术不够完善。海藻糖是国际上开发研究的热点糖类之一,其在植物体内含量并不高,却能在调控基因表达、调节植物生理变化、提高植物抗逆性上发挥重要作用,它在气孔运动调节中的作用也日益受到重视,如果将海藻糖与气孔运动相互联系,将其在农作物栽培和育种上进行更细致的研究,达到既能有效节水又能抗虫防病,对节水农业、全球变暖等问题具有重要科学意义。

参考文献:

- [1] Melotto M, Underwood W, Koczan J, et al. Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion[J]. *Cell*, 2006, 126(5): 969-980.
- [2] 刘婧,王宝山,谢先芝.植物气孔发育及其调控研究[J]. *遗传*, 2011, 33(2): 131-137.
- [3] Lee S, Choi H, Suh S, et al. Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*[J]. *Plant Physiology*, 1999, 121(1): 147-152.
- [4] 高春娟,夏晓剑,师恺,等.植物气孔对全球环境变化的响应及其调控防御机制[J]. *植物生理学报*, 2012, 48(1): 19-28.
- [5] Desikan R, Cheung M-K, Clarke A, et al. Hydrogen peroxide is a common signal for darkness- and ABA-induced stomatal closure in *Pisum sativum*[J]. *Functional Plant Biology*, 2004, 31(9): 913-920.
- [6] Elbein A D, Pan Y, Pastuszak I, et al. New insights on trehalose: a

multifunctional molecule[J]. *Glycobiology*, 2003,13(4):17R-27R.

[7] Dittrich P, Mayer M. Inhibition of stomatal opening during uptake of carbohydrates by guard cells in isolated epidermal tissues[J]. *Planta*, 1978,139(2):167-170.

[8] 山 仑,邓西平,张岁岐.生物节水研究现状及展望[J].中国科学基金,2006,2(2):66-70.

[9] Turner N C. Adaptation to water deficits: a changing perspective[J]. *Functional Plant Biology*, 1986,13(1):175-190.

[10] 陈兆波.生物节水研究进展及发展方向[J].中国农业科学,2007,40(7):1456-1462.

[11] 徐春英.应用气孔特异性启动子-KST1 改良植物抗旱性的初步探讨[D].北京:中国农业大学,2004.

[12] 杨凤玺,余迪求.高表达拟南芥 miR396 提高烟草抗旱性[J].云南植物研究,2009,31(5):421-426.

[13] 刘延波,项 阳,秦利军,等.转玉米 *ZmSDDI* 基因烟草降低气孔密度提高抗旱性[J].植物生理学报,2014,50(12):1889-1898.

[14] Bhunia S, Verna I, Sahu M, et al. Effect of drip irrigation and bio-regulators on yield, economics and water use of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) [J]. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 2015,24(2):102-105.

[15] Chen D, Cao B, Wang S, et al. Silicon moderated the K deficiency by improving the plant-water status in sorghum [J]. *Scientific Reports*, 2016,6:22882.

[16] Demidchik V, Straltsova D, Medvedev S S, et al. Stress-induced electrolyte leakage: the role of K^{+} - permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014,65(5):1259-1270.

[17] Wakchaure G, Minhas P, Ratnakumar P, et al. Optimising supplemental irrigation for wheat (*Triticum aestivum* L.) and the impact of plant bio-regulators in a semi-arid region of Deccan Plateau in India [J]. *Agricultural Water Management*, 2016,172:9-17.

[18] 山 仑,张岁岐.节水农业及其生物学基础[J].水土保持研究,1999,6(1):2-6.

[19] 袁永慧,邓西平,黄明丽,等.生物节水中的补偿效应与根系调控研究[J].中国农业科技导报,2003,5(6):24-28.

[20] Singer M A, Lindquist S. Thermotolerance in *Saccharomyces cerevisiae*: the Yin and Yang of trehalose [J]. *Trends in Biotechnology*, 1998,16(11):460-468.

[21] Iturriaga G, Suárez R, Nova-Franco B. Trehalose metabolism: from osmoprotection to signaling [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2009,10(9):3793-3810.

[22] 张 雯,王宇斐,郭延平.高等植物 6-磷酸海藻糖信号调控研究进展[J].植物生理学报,2016,52(4):394-400.

[23] Bae H, Herman E, Bailey B, et al. Exogenous trehalose alters *Arabidopsis* transcripts involved in cell wall modification, abiotic stress, nitrogen metabolism, and plant defense [J]. *Physiologia Plantarum*, 2005,125(1):114-126.

[24] 朱 明.新型食品添加剂海藻糖的功能及在食品工业中的应用[J].中国食品添加剂,2003(5):74-76.

[25] Iordachescu M, Imai R. Trehalose biosynthesis in response to abiotic stresses [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2008,50(10):1223-1229.

[26] 谢桂英,吴少英.海藻糖在农业上的应用[J].农技服务,2008,25(2):122-123.

[27] 吴 兵,王 辉.海藻糖及其在微生物领域中的应用[J].微生物学免疫学进展,1999,27(2):93-95.

[28] 胡 珙.海藻糖的特性及其应用研究进展[J].齐鲁药事,2009,28(6):350-352.

[29] 黄 平.奇妙的双糖——海藻糖[J].生命的化学,1995,15(4):26-28.

[30] 张兰馨,张部昌.海藻糖分子的细胞保护作用研究进展[J].中国医药生物技术,2008,3(6):465-467.

[31] Schluepmann H, van Dijken A, Aghdasi M, et al. Trehalose mediated growth inhibition of *Arabidopsis* seedlings is due to trehalose-6-phosphate accumulation [J]. *Plant Physiology*, 2004,135(2):879-890.

[32] Fougere F, Le Rudulier D, Streeter J G. Effects of salt stress on amino acid, organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Plant Physiology*, 1991,96(4):1228-1236.

[33] Garcia A B, Engler J, Iyer S, et al. Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice [J]. *Plant Physiology*, 1997,115(1):159-169.

[34] 杨巧玲,杨晓梅,闫道良,等.外源海藻糖对盐胁迫下海滨锦葵种子萌发的影响[J].江西林业科技,2014,42(2):1-4.

[35] 徐 婷,周传余,周 超,等.海藻糖对盐胁迫下薄皮甜瓜幼苗抗氧化系统的影响[J].北方园艺,2014(19):28-30.

[36] Delorge I, Janiak M, Carpentier S, et al. Fine tuning of trehalose biosynthesis and hydrolysis as novel tools for the generation of abiotic stress tolerant plants [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014,5:147.

[37] 闫道良,郑炳松.海藻糖浸种对盐胁迫下扬麦 19 生理特性的影响[J].浙江农业学报,2016,28(8):1271-1276.

[38] Moussaid S, Domínguez-Ferreras A, Muñoz S, et al. Increased trehalose biosynthesis improves *Mesorhizobium ciceri* growth and symbiosis establishment in saline conditions [J]. *Symbiosis*, 2015,67(1):103-111.

[39] Garg N, Singla P. Stimulation of nitrogen fixation and trehalose biosynthesis by naringenin (Nar) and arbuscular mycorrhiza (AM) in chickpea under salinity stress [J]. *Plant Growth Regulation*, 2016,80(1):5-22.

[40] Ali Q, Ashraf M, Anwar F, et al. Trehalose-induced changes in seed oil composition and antioxidant potential of maize grown under drought stress [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2012,89(8):1485-1493.

[41] 陈 静,万 佳,高晓玲,等.水稻抗旱生理及抗旱相关基因的研究进展[J].中国农学通报,2006,22(2):56-60.

[42] İlhan S, Özdemir F, Bor M. Contribution of trehalose biosynthetic pathway to drought stress tolerance of *Capparis ovata* Desf [J]. *Plant Biology*, 2015,17(2):402-407.

[43] Penna S. Building stress tolerance through over-producing trehalose in transgenic plants [J]. *Trends in Plant Science*, 2003,8(8):355-357.

[44] Alam M M, Nahar K, Hasanuzzaman M, et al. Trehalose-induced drought stress tolerance: A comparative study among different *Brassica* species [J]. *Plant Omics*, 2014,7(4):271-283.

[45] 裴 炎.海藻糖对冷冻和干燥后绿豆幼苗 Mg^{2+} , K^{+} -ATPase 活性和 TTC 还原的影响[J].植物学报,1994,36(增):211-214.

- [46] 张建波,王莎莎,郝大海,等.干旱和低温胁迫影响烟草幼苗海藻糖代谢的差异比较[J].生物技术通报,2015,31(10):111-118.
- [47] Farías-Rodríguez R, Mellor R B, Arias C, et al. The accumulation of trehalose in nodules of several cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris*) and its correlation with resistance to drought stress[J]. *Physiologia Plantarum*, 1998,102(3):353-359.
- [48] Vilchez J I, García-Fontana C, Román-Naranjo D, et al. Plant drought tolerance enhancement by trehalose production of desiccation-tolerant microorganisms[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016,7:1577.
- [49] Zhang S Z, Yang B P, Feng C L, et al. Expression of the grifola frondosa trehalose synthase gene and improvement of drought-tolerance in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2006,48(4):453-459.
- [50] Akram N A, Waseem M, Ameen R, et al. Trehalose pretreatment induces drought tolerance in radish (*Raphanus sativus* L.) plants: some key physio-biochemical traits [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2016,38(1):1-10.
- [51] Garg A K, Kim J-K, Owens T G, et al. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002,99(25):15898-15903.
- [52] 邓如福,裴炎,王瑜宇,等.海藻糖对水稻幼苗抗寒性研究[J].西南农业大学学报,1991,13(3):347-350.
- [53] 谢冬微,王晓楠,付连双,等.外源海藻糖对冬小麦低温下胚芽长及幼苗抗寒性的影响[J].麦类作物学报,2015,35(2):215-223.
- [54] Suzuki N, Bajad S, Shuman J, et al. The transcriptional co-activator MBF1c is a key regulator of thermotolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008,283(14):9269-9275.
- [55] Cortina C, Culiáñez-Macià F A. Tomato abiotic stress enhanced tolerance by trehalose biosynthesis [J]. *Plant Science*, 2005,169(1):75-82.
- [56] Wyatt G, Kalf G. The chemistry of insect hemolymph II. Trehalose and other carbohydrates [J]. *The Journal of General Physiology*, 1957,40(6):833-847.
- [57] Tayeh C, Randoux B, Vincent D, et al. Exogenous trehalose induces defenses in wheat before and during a biotic stress caused by powdery mildew[J]. *Phytopathology*, 2014,104(3):293-305.
- [58] Singh V, Louis J, Ayre B G, et al. *TREHALOSE PHOSPHATE SYNTHASE11*-dependent trehalose metabolism promotes *Arabidopsis thaliana* defense against the phloem-feeding insect *Myzus persicae* [J]. *The Plant Journal*, 2011,67(1):94-104.
- [59] Hofmann J, El Ashry AEN, Anwar S, et al. Metabolic profiling reveals local and systemic responses of host plants to nematode parasitism[J]. *The Plant Journal*, 2010,62(6):1058-1071.
- [60] Golem S, Culver J N. Tobacco mosaic virus induced alterations in the gene expression profile of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2003,16(8):681-688.
- [61] Schlupmann H, Paul M. Trehalose metabolites in *Arabidopsis-elusive*, active and central[J]. *The Arabidopsis Book*, 2009,7:e0122.
- [62] Beattie G A, Lindow S E. Bacterial colonization of leaves: a spectrum of strategies[J]. *Phytopathology*, 1999,89(5):353-359.
- [63] Jiang K, Sorefan K, Deeks M J, et al. The ARP2/3 complex mediates guard cell actin reorganization and stomatal movement in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2012,24(5):2031-2040.
- [64] Acharya B R, Assmann S M. Hormone interactions in stomatal function[J]. *Plant Molecular Biology*, 2009,69(4):451-462.
- [65] Guzel Deger A, Scherzer S, Nuhkat M, et al. Guard cell SLAC1-type anion channels mediate flagellin-induced stomatal closure [J]. *New Phytologist*, 2015,208(1):162-173.
- [66] Lim C W, Baek W, Jung J, et al. Function of ABA in stomatal defense against biotic and drought stresses[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015,16(7):15251-15270.
- [67] Petrov V D, Van Breusegem F. Hydrogen peroxide: a central hub for information flow in plant cells[J]. *AoB plants*, 2012(1):pls014.
- [68] Neill S, Barros R, Bright J, et al. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008,59(2):165-176.
- [69] McAinsh M R, Brownlee C, Hetherington A M. Calcium ions as second messengers in guard cell signal transduction [J]. *Physiologia Plantarum*, 1997,100(1):16-29.
- [70] Pei Z M, Murata Y, Benning G, et al. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells[J]. *Nature*, 2000,406(6797):731-734.
- [71] Heinen R B, Ye Q, Chaumont F. Role of aquaporins in leaf physiology[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009,60(11):2971-2985.
- [72] Li H W, Zang B S, Deng X W, et al. Overexpression of the trehalose-6-phosphate synthase gene *OsTPS1* enhances abiotic stress tolerance in rice[J]. *Planta*, 2011,234(5):1007-1018.
- [73] Liu Y, Han L, Qin L, et al. *Saccharomyces cerevisiae* gene *TPS1* improves drought tolerance in *Zea mays* L. by increasing the expression of *SDD1* and reducing stomatal density [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2015,120(2):779-789.
- [74] Gao J, Wang N, Xu S S, et al. Exogenous application of trehalose induced H_2O_2 production and stomatal closure in *Vicia faba* [J]. *Biologia Plantarum*, 2013,57(2):380-384.
- [75] Creelman R A, Mullet J E. Biosynthesis and action of jasmonates in plants[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 1997,48(1):355-381.
- [76] Savchenko T, Kolla V A, Wang C Q, et al. Functional convergence of oxylipin and abscisic acid pathways controls stomatal closure in response to drought[J]. *Plant Physiology*, 2014,164(3):1151-1160.
- [77] Kazan K. Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2015,20(4):219-229.
- [78] Desikan R, Last K, Harrett-Williams R, et al. Ethylene-induced stomatal closure in *Arabidopsis* occurs via AtrbohF-mediated hydrogen peroxide synthesis[J]. *The Plant Journal*, 2006,47(6):907-916.
- [79] 张广斌,马静,徐华,等.中国稻田 CH_4 排放量估算研究综述[J].土壤学报,2009,46(5):907-914.
- [80] 蔡祖聪.中国稻田甲烷排放研究进展[J].土壤,1999,31(5):266-269.