

海藻糖在植物对逆境胁迫响应与适应中的作用

龙正龄¹, 马文广², 崔明昆¹, 龚明^{1*} (1. 云南师范大学生命科学学院, 生物能源持续开发利用教育部工程研究中心, 云南省生物能与环境生物技术重点实验室, 云南昆明 650500; 2. 云南省烟草农业科学研究院, 云南昆明 650021)

摘要 海藻糖是一种天然存在的非还原性二糖。已有证据表明, 海藻糖参与植物对逆境胁迫的响应与适应过程。基于国内外的研究进展, 综述了海藻糖在植物中对生物胁迫和非生物胁迫响应与适应过程的变化、作用及其可能的作用机制, 并且展望了未来研究中值得关注的方向。

关键词 海藻糖; 植物; 逆境应答; 生物胁迫; 非生物胁迫

中图分类号 S432.2⁴ **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)16-04956-04

Role of Trehalose in Response and Adaptation of Plants to Environmental Stresses

LONG Zheng-ling, GONG Ming et al (Engineering Research Center of Sustainable Development and Utilization of Biomass Energy, Ministry of Education, Key Laboratory of Biomass Energy and Environmental Biotechnology of Yunnan Province, School of Life Sciences, Yunnan Normal University, Kunming, Yunnan 650500)

Abstract Trehalose is a naturally occurring non-reducing disaccharide. There are evidences indicating the involvement of trehalose in response and adaptation of plants to environmental stresses. Based on research progress at home and abroad, this paper reviewed the change, roles and possible action mechanism of trehalose in response and adaptation of plants to biotic and abiotic stresses, and forecasted some research topics in the future trehalose study.

Key words Trehalose; Plants; Stress response; Biotic stress; Abiotic stress

海藻糖(Trehalose)是由2个葡萄糖分子以 $\alpha, \alpha, 1, 1$ -糖苷键构成的非还原性糖, 是一种具有特殊性质的二糖, 广泛存在于细菌、酵母、真菌、低等和高等植物中, 在昆虫和其他无脊椎动物中也有发现。海藻糖在高温溶液或酸性条件下有抗酸性水解和维持稳定的能力^[1]。此外, 水替换和玻璃态的2个机制也表明, 海藻糖是生物膜和生物大分子的稳定剂; 在水替换机制中, 当脱水或冷冻时, 海藻糖能替代水与生物膜或生物大分子形成氢键^[2]; 在玻璃态的形成机制中, 当完全脱水时, 海藻糖不仅可以结晶化, 而且可以凝固成玻璃态, 是唯一能维持玻璃态的糖。玻璃态海藻糖可防止生物分子脱水变性, 抵抗相分离和结晶的能力, 从而使其功能活性得到保留^[1-2]。

多年来, 海藻糖被认为仅限于更苏植物中, 如香灌木属(*Myrothamnus flabellifolius*)或鳞叶卷柏(*Selaginella lepidophylla*), 在这些植物中易检测到海藻糖^[3]。后来, 利用有效霉素A抑制海藻糖酶在模式植物拟南芥中的应答, 也能检测到内源海藻糖的产生^[4]。在其他植物中也有发现, 在极端干旱的条件下, 叶片中的海藻糖含量可达20%, 其作用可能是为了维持细胞结构和组分免于变性^[5]。最近报道表明, 在转基因水稻的叶片中检测到海藻糖的浓度比非转基因的叶片高出3~10倍^[6]。此外, 在转基因的烟草中也检测到海藻糖^[7]。研究表明, 海藻糖在细胞内的积累常与植物抗逆性形成与提高相关。

植物面临的胁迫通常被分为非生物胁迫和生物胁迫。非生物胁迫是通过物理的或化学的环境因素引起的, 如冷、热、盐、干旱、风、化学品、氧化或辐射。生物胁迫是由生物带

来的介质引起的, 如细菌、真菌、昆虫或动物。虽然胁迫不一定会威胁到植物的生存, 但可以在不同程度上破坏植物的生理生化过程, 使得植物中至关重要的功能被中断, 甚至使得完整的组织崩溃^[8-9]。为了抵消这种伤害, 植物都配备了多套防御机制。当不同的胁迫产生时, 其中有些防御信号被激活, 在胁迫发生时级联反应包括: ①积累兼容性的代谢产物, 如糖、脯氨酸^[10]或抗微生物的分子; ②动员信号转导途径^[11]; ③合成特殊的蛋白质, 如胁迫响应蛋白和病理相关蛋白(PR)蛋白等^[12]; ④诱导一系列下游基因的表达^[13]。根据海藻糖特有的化学性质和物理性质以及它在酵母、真菌和细菌的作用^[14-15], 深入研究海藻糖及其前体海藻糖-6-磷酸(T6P)是否及如何参与植物胁迫反应对进一步弄清植物对逆境胁迫的适应有着重要的意义^[6]。海藻糖在生物体内主要有3种合成途径, 分别是以葡萄糖、麦芽糖、淀粉为底物, 通过与海藻糖合成有关的酶的作用转化成海藻糖^[16]。拟南芥突变体*sweetie*中糖、淀粉和乙烯等产生异常的积累。该突变体具有较高的参与非生物胁迫应答的组成型基因表达水平^[17]。目前已有研究表明, 海藻糖在细胞内的产生和积累可以抵御脱水、干旱、盐渍、高温、低温和热胁迫的伤害, 但海藻糖在植物体中的作用还存在部分质疑, 对其在生物胁迫和非生物胁迫逆境中的响应情况及可能作用机制的了解还比较模糊。为此, 笔者针对该领域的国内外研究进展, 对海藻糖在植物对逆境胁迫响应与适应中的作用进行了简要的综述, 并且展望未来该研究领域值得关注和进一步研究的方向。

1 海藻糖在植物对生物胁迫响应中的作用

最近研究表明, 激素信号途径可以被水杨酸、脱落酸、茉莉酸和乙烯等活性物质调控。活性氧(ROS)途径也一样。它们在生物胁迫和非生物胁迫之间扮演重要的角色, 并且生物胁迫与非生物胁迫有着共同的调节机制^[18], 因此推测植

基金项目 国家自然科学基金(31260064)和中国烟草总公司云南省公司科技计划项目(2011YN10)。

作者简介 龙正龄(1987-), 女, 贵州凯里人, 硕士研究生, 研究方向: 植物生理生化。*通讯作者, 教授, 博士, 博士生导师, 从事植物逆境生物学方面的研究。

收稿日期 2014-05-14

物中海藻糖对生物相互作用的应答也应起预期的作用。然而,现有的研究表明海藻糖可能扮演着矛盾的角色。

一般来讲,植物-微生物的共生有利于宿主。在豆科植物上的根瘤菌或菌根的形成常常能增加寄主的生物量或提高抗胁迫能力。Mithofer^[19]研究表明,根瘤菌多糖在诱导防御中起负调控的作用。有研究报道,在共生器官如根瘤菌中海藻糖扮演了可适当调节碳水化合物代谢的微妙角色^[20-21]。另外,在干旱胁迫下,在几种豆科植物中也检测到海藻糖^[22]。此外,当根瘤菌中氧浓度较低时也会刺激海藻糖的积累^[23]。海藻糖在这些相互作用中涉及2个层面。首先,根瘤菌中的海藻糖可以提高寄主对胁迫的耐受性,干旱胁迫下根瘤菌的海藻糖合成增加^[22]。进一步研究表明,接种了根瘤菌属 *ReOtsA* 的菜豆能比野生型寄主植物产生更多的根瘤菌(27%),固氮酶活性更大(38%),生物量增加(25%)。而接种根瘤菌属 *TPS KO* 突变体的菜豆则表现出相反表型,根瘤数降低了26%,固氮酶活性降低了45%,生物量降低了40%。此外,接种 *ReOtsA* 的植物能在干旱胁迫21 d后完全恢复,而野生系或接种根瘤菌属 *TPS KO* 突变体的植物则不能^[24]。

另外,在病原体攻击方面,在甘蓝根肿菌(*Plasmiodiophora brassicae*)感染拟南芥的过程中,在受感染的根和下胚轴中海藻糖积累的浓度高达10 mg/g^[25]。在被奥氏蜜环菌(*Armillaria ostoyae*)感染的欧洲赤松(*Pinus sylvestris* L.)的根中也发现海藻糖的大量积累^[26]。但是,这种二糖在植物和病原体中都存在,在感染中海藻糖既是植物胁迫的保护剂又是真菌的多功能糖^[27],所以很难确定海藻糖积累在受感染器官中的作用。

在拟南芥-甘蓝根肿菌病害系统中对宿主和病原体的海藻糖代谢基因的研究表明,海藻糖是病原菌的毒性套件工具的一个元件^[25]。研究表明,在病原体中与海藻糖合成相关基因 *PbTPS* 在感染点是上调的,导致海藻糖积累。同时,在感染组织中海藻糖积累之前,*AtTRE* 被上调,说明海藻糖酶可能是植物防御系统中抵消海藻糖积累的一部分。在这个例子中,海藻糖对植物组织的生存是一个重要威胁。因此,在特定的位置和特定的浓度时,海藻糖可能对特定的植物组织或细胞造成负面的影响。

2 海藻糖在植物对非生物胁迫响应中的作用

在非生物胁迫中,海藻糖的作用最初是在更苏植物中被发现的,如香灌木属或鳞叶卷柏。这些耐旱的植物能承受几乎完全的脱水、再水合,并且恢复完整的活力^[28]。在这几种植物中,海藻糖是主要的可溶性糖,叶片的海藻糖含量在香灌木属达到3 mg/g,在鳞叶卷柏中达到12 mg/g。在脱水过程中,海藻糖的作用是蛋白质和生物膜的保护剂^[3]。在非生物胁迫条件下海藻糖的积累并不仅限于更苏植物中。据报道,在拟南芥中,经过4 h的热胁迫(40 °C)和4 d(4 °C)冷暴露后,海藻糖水平翻了一番^[29]。进一步的研究表明,胁迫过程中海藻糖积累与海藻糖生物合成基因的转录被激活相关。例如,在水稻幼苗的根和芽中,2个 *TPP* 基因(*OsTPP1* 和 *Os-*

TPP2)能被低温胁迫(40 °C)、干旱和外源脱落酸(ABA)瞬间诱导^[30]。正如预期的那样,在冷胁迫后水稻根中 *TPP* 活性和海藻糖含量增加^[7,30]。

外源海藻糖处理还能减少干旱胁迫下小麦幼苗的净光合速率,并在复水后,小麦的叶片含水量和干物质量均有少量的增加。外源海藻糖通过增加 *NPQ*、 β -胡萝卜素含量和 *DEPS*,可以部分提高小麦在逆境胁迫后的恢复^[31]。此外,适宜浓度的海藻糖还能显著促进渗透胁迫下油菜种子的萌发和幼苗的生长,并且能促进脯氨酸的积累^[32-33]。这些研究表明海藻糖或 *T6P* 参与非生物胁迫的响应。

3 海藻糖参加植物逆境胁迫适应过程中可能的作用

3.1 海藻糖可作为细胞相容性溶质

相容性溶质分子是无毒分子,可以在细胞质中高浓度积累。它们参与维持细胞膨压或保护大分子结构以应对不利环境的影响。海藻糖就是其中的一种^[34-35]。在许多生物体中,海藻糖具有比其他糖类更能保护膜和生物分子的稳定性、兼容性^[1]和渗透调节性^[36]。

在植物中,海藻糖作为相容性溶质是有争议的,需要进一步研究。在更苏植物中,海藻糖浓度达到的水平与理论的相容性溶质一致,而在其他植物中海藻糖浓度较低^[37],如渗透胁迫时在亚麻籽中的含量仅为31.49 nmol/g^[38]。另有研究报道,在含100 mmol/L的海藻糖溶液中生长的拟南芥幼苗中 *T6P* 的快速积累会抑制幼苗的生长,表明海藻糖可能不是相容性溶质^[39]。此外,海藻糖的转基因虽然可提高烟草对干旱的耐受性,但会引起形态学的改变,影响碳水化合物的代谢,高浓度的海藻糖还可能导致毒性,表明海藻糖是一种非相容性溶质^[40]。然而,许多植物在胁迫时会在特殊的器官中积累海藻糖^[41]。此外,在叶绿体中表达海藻糖合成相关的基因 *ScTPS1*,拟南芥变得耐旱,并且没有引起发育失常^[7]。这些结果表明,在特定器官的细胞或细胞器中海藻糖可以作为相容性溶质。

3.2 海藻糖与细胞的程序性死亡的关系

海藻糖的抗凋亡作用在动物中已经得到了广泛的报道。海藻糖的保护作用能提高在冻结时干细胞和血小板的相关抗凋亡作用^[42]。在植物中,细胞程序性死亡(PCD)也被认为是参与胁迫的防御、应答的基本细胞程序^[43]。有报道表明,海藻糖对剑兰花瓣有延迟萎蔫和降低PCD的作用^[44]。这表明在植物中可能需要海藻糖来引发PCD过程。

在病原体攻击的情况下,这种抗凋亡性能可能会出现矛盾。在众多的植物病原菌侵染过程中,植物细胞会发生类似PCD的现象,称为过敏反应(HR)。当寄主植物识别病原菌时,会触发HR反应^[45]。HR在感染点诱导细胞死亡,限制病原体的扩展。在感染点的海藻糖积累能干预HR。可以推测,一些病原体产生海藻糖可能帮助克服植物PCD的发生。

3.3 海藻糖在逆境胁迫中扮演信号分子的作用

糖如蔗糖、葡萄糖在植物中可作为有效的信号分子^[46]。在酵母和植物中,海藻糖也可以作为信号分子直接或间接调控代谢途径,甚至还会对其生长造成影响^[1]。然而,海藻糖在信号传

导中的作用仍有争议。海藻糖和 T6P 具有潜在的反作用。已有证据表明,海藻糖作为一个信号分子的作用,即与脂质和蛋白质产生相互作用。这可能代表信号转导级联反应的一部分^[47]。在拟南芥中,海藻糖酶是一个质膜连结蛋白,可能通过预先的 N 端锚定在膜上,形成结构域,与所在的原生质膜的质外体有活跃的水解区域,在那里它可能参与糖信号的感应^[48]。另一方面,海藻糖有调节生物合成的功能,因为它们可以修饰蛋白激酶,与 14-3-3 蛋白相互作用,从而参与它们的信号分子功能^[49]。此外,有证据表明 T6P 在植物生长和发育中被作为一个重要的信号分子^[39,50]。

3.4 海藻糖参与抗氧化酶的应答 ROS 是生物和非生物胁迫下一种重要的信号转导分子^[51]。在逆境胁迫下,过剩的活性氧能氧化植物细胞膜和大分子,从而引起抗氧化反应。海藻糖的合成也可能是其中的一部分^[52]。

研究表明,外源海藻糖能减轻失水对小麦愈伤组织的伤害,包括减少 MDA 和 ROS 的产生,从而提高细胞活力和生物量。另外,失水也可以诱导抗氧化酶的产生,同时 ASA 含量会有所增加,而 GSH 含量则有相反的影响。与单独的失水相比,失水 + 海藻糖处理的抗氧化酶(SOD、GR)活性升高,非酶类的抗氧化剂(ASA、GSH)也有所升高。在恢复的过程中,失水 + 海藻糖的小麦愈伤组织的处理 ROS 有较多地减少,外源海藻糖清除 ROS 主要通过非酶类的抗氧化剂如 ASA-GSH 循环^[53]。此外,外源海藻糖还可以提高 NaHCO₃ 胁迫下南蛇藤叶细胞的保护功能,提高抗氧化酶活性,减少叶中活性氧的积累,抑制脂质的过氧化^[54]。此外,浓度 10% 海藻糖处理后酵母细胞变得更耐 H₂O₂ 胁迫^[55]。这些结果表明,海藻糖的积累可能会减少 ROS 的积累,影响后续的植物胁迫反应。

4 展望

目前一些例子已证明海藻糖有可能参与植物胁迫适应的某些过程,如更苏植物的抗旱表型,产生海藻糖的转基因植物或突变体,能提高根瘤菌共生能力。然而,海藻糖参与植物对逆境胁迫响应与适应的确切机制。海藻糖在植物细胞逆境适应中的积极和消极影响还存在矛盾。根据目前该领域的研究进展,以下问题需要进一步的研究。首先,虽然海藻糖与一些非生物胁迫的耐受性存在很强的相关性,但高浓度海藻糖在植物(突变体或转基因植株)中往往会导致发育异常,表明海藻糖是一个双面分子,但还并不清楚高浓度海藻糖干扰细胞的代谢过程;第二,需要进一步调查逆境胁迫下海藻糖的合成积累途径和机制;第三,需要进一步研究海藻糖参与抵抗病原体的作用。目前,唯一可以假设的是,在某些情况下,植物-病原体相互作用能刺激海藻糖的合成。海藻糖的抗凋亡似乎是植物的防御策略。然而,海藻糖作为结构糖存在于大多数病原菌中,使得这种相互作用的调查变得困难。外源海藻糖有可能诱导防御机制,但不清楚在自然情况下海藻糖是否参与植物对病菌的防御,所以仍需要进一步研究海藻糖在植物对病原菌防御中的具体作用。通过近年来分子生物学和各种组学技术(如功能基因组学、蛋

白质组学、代谢组学等),从基因互作网络和代谢网络的角度来完整阐明海藻糖在植物逆境胁迫适应中的作用是极为必要的,而利用影响海藻糖生物合成或降解的拟南芥突变体可能一定意义上帮助人们更好地理解海藻糖在生物和非生物胁迫适应中的确切作用。

参考文献

- [1] ELBEIN A D, PAN Y T, PASTUSZAK I, et al. New insights on trehalose: a multifunctional molecule[J]. *Glycobiology*, 2003, 13: 17-27.
- [2] CROWE J H. Trehalose as a "chemical chaperone": fact and fantasy[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2007, 594: 143-158.
- [3] GODDIJN O J M, VAN DUN K. Trehalose metabolism in plants[J]. *Trends Plant Sci*, 1999, 4: 315-319.
- [4] MULLER J, AESCHBACHER R A, WINGLER A, et al. Trehalose and trehalase in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, 2001, 125: 1086-1093.
- [5] GODDIJN O, SMEEKENS S. Sensing trehalose biosynthesis in plants[J]. *The Plant Journal*, 1998, 19(2): 143-146.
- [6] GRENNAN A K. The role of trehalose biosynthesis in plants[J]. *Plant Physiol*, 2007, 144: 3-5.
- [7] KARIM S, ARONSSON H, ERICSON H, et al. Improved drought tolerance without undesired side effects in transgenic plants producing trehalose[J]. *Plant Mol Biol*, 2007, 64: 371-386.
- [8] AGRIOS G N. *Plant Pathology*[M]. Elsevier: Academic Press, 2005.
- [9] HIRT H, SHINOZAKI K. *Plant Responses to Abiotic Stress*[M]. Berlin: Springer, 2004.
- [10] MOORE J P, LE N T, BRANT W F, et al. Towards a systems-based understanding of plant desiccation tolerance[J]. *Trends Plant Sci*, 2009, 14: 110-117.
- [11] BARI R, JONES J. Role of plant hormones in plant defence responses[J]. *Plant Mol Biol*, 2009, 69: 473-488.
- [12] VAN LOON L C, REP M, PIETERSE C M J. Significance of inducible defence-related proteins in infected plants[J]. *Annu Rev Phytopathol*, 2006, 44: 135-162.
- [13] CHINNUSAMY V, ZHU J, ZHU J K. Cold stress regulation of gene expression in plants[J]. *Trends Plant Sci*, 2007, 12: 444-451.
- [14] PURVIS J E, YOMANO L P, INGRAM L O. Enhanced trehalose production improves growth of *Escherichia coli* under osmotic stress[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71: 3761-3769.
- [15] NI M, YU J H. A novel regulator couples sporogenesis and trehalose biogenesis in *Aspergillus nidulans*[J]. *PLoS ONE*, 2007, 2: 970.
- [16] 杨平, 李敏惠, 潘克俭, 等. 海藻糖的生物合成与分解途径及其生物学功能[J]. *生命的化学*, 2006(3): 233-235.
- [17] VEYRES N, DANONI A, AONO M, et al. The *Arabidopsis sweetie* mutant is affected in carbohydrate metabolism and defective in the control of growth, development and senescence[J]. *Plant J*, 2008, 55: 665-686.
- [18] FUJITA M, FUJITA Y, NOUTOSHI Y, et al. Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2006, 9: 436-442.
- [19] MITHOFER A. Suppression of plant defence in rhizobia-legume symbiosis[J]. *Trends Plant Sci*, 2002, 7: 440-444.
- [20] MILLER J, BOLLER T, WIEMKEN A. Trehalose and trehalase in plants: recent developments[J]. *Plant Science*, 1995, 112: 1-9.
- [21] MILLER J, BOLLER T, WIEMKEN A. Effects of validamycin A, a potent trehalase inhibitor and phytohormones on trehalose metabolism in roots of soybean and cowpea[J]. *Planta*, 1995, 112: 1-9.
- [22] FARIAS-RODRIGUEZ R, MILLOR R B, ARIS 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]. *Physiol Plant*, 1998, 102(3): 353-359.
- [23] STREETER J G, GOMEZ M L. Three enzymes for trehalose synthesis in Bradyrhizobium cultured bacteria and in bacteroids from soybean nodules[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72: 4250-4255.
- [24] SUÁREZ R, ARNOLDO W, MARIO R, et al. Improvement of drought tolerance and grain yield in common bean by overexpressing trehalose-6-phosphate synthase in rhizobia[J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2008, 21: 958-966.
- [25] BRÖDMANN D, SCHULLER A, JUTTA LUDWIG-MÜLLER, et al. Induction of trehalase in *Arabidopsis* plants infected with the trehalose-producing pathogen *Plasmodiophora brassicae*[J]. *Mol. Plant Microbe Interact*, 2002, 15: 693-700.
- [26] ISIDOROV V, PAWEŁEŁECH, ANNA ZÓLCIAK, et al. Gas chromatographic-mass spectrometric investigation of metabolites from the needles and roots of pine seedlings at early stages of pathogenic fungi *Armillaria ostoyae* attack[J]. *Trees*, 2008, 22: 531-542.

- [27] GANCEDO C, FLORES C L. The importance of a functional trehalose biosynthetic pathway for the life of yeasts and fungi[J]. *FEMS Yeast Res*, 2004, 4: 351 – 359.
- [28] LIU M, CHING-TE C, TSAN-PIAO L. Constitutive components and induced gene expression are involved in the desiccation tolerance of *Selaginella tamariscina*[J]. *Plant Cell Physiol*, 2008, 49: 653 – 663.
- [29] KAPLAN F, JOACHIM K, DALE W H, et al. Exploring the temperature-stress metabolome of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2004, 136: 4159 – 4168.
- [30] PRAMANIK M H R, IMAI R. Functional identification of a trehalose 6-phosphate phosphatase gene that is involved in transient induction of trehalose biosynthesis during chilling stress in rice [J]. *Plant Mol Biol*, 2005, 58: 751 – 762.
- [31] LUO Y, GAO Y M, WANG W, et al. Application of trehalose ameliorates heat stress and promotes recovery of winter wheat seedlings [J]. *Biologia Plantarum*, 2014, 58(2): 395 – 398.
- [32] 汤绍虎, 周启贵, 孙敏, 等. 海藻糖在渗透胁迫下对油菜种子萌发和幼苗生理的影响[J]. *中国农学通报*, 2006, 22(6): 206 – 209.
- [33] 周启贵, 汤绍虎, 孙敏, 等. 海藻糖对渗透胁迫下油菜种子萌发和幼苗生长的影响[J]. *西南师范大学学报: 自然科学版*, 2007, 32(1): 39 – 42.
- [34] GIBON Y, BESSIERES M A, LARHER F. Is glycine betaine a non-compatible solute in higher plants that do not accumulate it? [J]. *Plant Cell Environ*, 1997, 20: 329 – 340.
- [35] GAGNEUL D, AÏNOUCHE A, DUHAZEL C, et al. A reassessment of the function of the so-called compatible solutes in the halophytic *Plumbaginaceae Limonium latifolium* [J]. *Plant Physiol*, 2007, 144: 1598 – 1611.
- [36] AVONCE N, ALFREDO M V, MORETT E, et al. Insights on the evolution of trehalose biosynthesis [J]. *BMC Evol Biol*, 2006, 6: 109 – 113.
- [37] AVONCE N, LEYMAN B, MASCORRO-GALLARDOL J O, et al. The *Arabidopsis* trehalose-6-P synthase AtTPS1 gene is a regulator of glucose, abscisic acid, and stress signaling [J]. *Plant Physiol*, 2004, 136: 3649 – 3659.
- [38] ROA A Q, THENCOURT B L B, PILARDC S, et al. Trehalose determination in linseed subjected to osmotic stress. HPAEC-PAD analysis: an inappropriate method [J]. *Physiologia Plantarum*, 2013, 147: 261 – 269.
- [39] 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: 79 – 890.
- [40] ROMERO C, BELLES J M, VAYA J L, et al. Expression of the yeast trehalose-6-phosphate synthase gene in transgenic tobacco plants: pleiotropic phenotypes include drought tolerance [J]. *Planta*, 1997, 201: 293 – 297.
- [41] 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]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99: 15898 – 15903.
- [42] QI L, JIAO S X, WANG T X, et al. Trehalose inhibited the phagocytosis of refrigerated platelets *in vitro* via preventing apoptosis [J]. *Transfusion*, 2009, 49: 2158 – 2166.
- [43] REAPE T J, MCCABE P F. Apoptotic-like programmed cell death in plants [J]. *New Phytol*, 2008, 180: 13 – 26.
- [44] YAMADA T, TAKATSU Y, MANABE T, et al. Suppressive effect of trehalose on apoptotic cell death leading to petal senescence in ethylene-insensitive flowers of *gladiolus* [J]. *Plant Sci*, 2003, 164: 213 – 221.
- [45] JONES J D G, DANGL J L. The plant immune system [J]. *Nature*, 2006, 444: 323 – 329.
- [46] HANSON J, SMEEKENS S. Sugar perception and signaling—an update [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2009, 12: 562 – 567.
- [47] PEREIRA C S, ROBERTO D L, CHANDRASEKHAR I, et al. Interaction of the disaccharide trehalose with a phospholipid bilayer: a molecular dynamics study [J]. *Biophys J*, 2004, 86: 2273 – 2285.
- [48] FRISON M, PARROUB J L, GUILLAUMOT D, et al. The *Arabidopsis thaliana* trehalase is a plasma membrane-bound enzyme with extracellular activity [J]. *FEBS Lett*, 2007, 581: 4010 – 4016.
- [49] HARTHILL J E, MEEK S M, MORRICE N, et al. Phosphorylation and 14-3-3 binding of *Arabidopsis* trehalose-phosphate synthase 5 in response to 2-deoxyglucose [J]. *Plant J*, 2006, 47: 211 – 223.
- [50] SCHLUEPMANN H, PELLNY T, VAN DIJKEN A, et al. Trehalose 6-phosphate is indispensable for carbohydrate utilization and growth in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 6849 – 6854.
- [51] MILLER G, SHULAEV V, MITTLER R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress [J]. *Physiol Plant*, 2008, 33: 481 – 489.
- [52] MITTLER R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance [J]. *Trends Plant Sci*, 2002, 7: 405 – 410.
- [53] MA C, WANG Z Q, KONG B B, et al. Exogenous trehalose differentially modulate antioxidant defense system in wheat callus during water deficit and subsequent recovery [J]. *Plant Growth Regul*, 2013, 70(3): 275 – 285.
- [54] 刘强, 王庆成, 孙晶, 等. NaHCO₃ 胁迫下外源海藻糖对南蛇藤几种与抗逆性有关的生理生化指标变化的影响 [J]. *植物生理学通讯*, 2008, 44(5): 853 – 856.
- [55] NERY D D C M, SILVA C G D, MARIANI D, et al. The role of trehalose and its transporter in protection against reactive oxygen species [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1780: 1408 – 1411.

(上接第 4955 页)

CMCCase 酶和 β -葡聚糖苷酶, 酶活分别为 21.71、10.69 U/ml。

3 讨论

通过形态鉴定、生物学分析, 确定该褐腐菌为栗黑拟层孔菌 (*Fomitopsis* sp. CY-2012), 在系统进化树上处于一个单独的分支, 可能是一个新的亚种。该菌株是 64 种腐朽菌中降解木材最高的一种。通过发酵培养, 发现该菌株几乎不产滤纸酶。真菌是 VB₁ 的天然缺陷型。它们以一种辅酶的形式存在, 对真菌的生长很重要。因此, 在发酵培养基中添加 VB₁, 有利于菌株良好的生长^[10]。由于该菌不像木霉一样能够产生大量的孢子, 接种时以菌饼为主, 且选取平皿中最外围新生的菌丝。在优化前, CMCCase 酶活约为 8 U/ml, 优化后为 21.71 U/ml, 提高了 3 倍左右。该菌产 β -葡聚糖苷酶较低, 添加氨基酸后产量明显增加。尿素和 NaCl 都会抑制 CMCCase 酶的产生, 但对 β -葡聚糖苷酶的产生无抑制作用。

近年来, 对木霉发酵产纤维素酶的培养条件的研究很多, 但是有关腐朽菌产纤维素酶的研究较少^[11]。该研究通过对褐腐菌产纤维素酶液体发酵条件进行优化, 为进一步研

究腐朽菌降解纤维素机制提供前期基础。

参考文献

- [1] KUHAD R C, SINGH A, ERIKSSON K E. Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls [J]. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 1997, 57: 46 – 125.
- [2] 田海娇, 吴昊, 杨洪岩. 提高纤维素产生菌产酶能力方法的研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(5): 1280 – 1286, 1290.
- [3] LUTZEN N W, NIELSEN M H, OXENBOEL K M, et al. Cellulases and their application in the conversion of lignocelluloses to fermentable sugars [J]. *Phil Trans R Soc Lond B*, 1983, 300: 283 – 291.
- [4] DESWAL D, KHASA Y P, KUHAD R C. Optimization of cellulose production by a brown rot fungus *Fomitopsis* sp. RCK2010 under solid state fermentation [J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102: 6065 – 6072.
- [5] 池玉杰. 东北林区 64 种木材腐朽菌木材分解能力的研究 [J]. *林业科学*, 2001, 37(5): 107 – 112.
- [6] 王俊丽, 聂国兴, 李素贞, 等. DNS 法测定还原糖含量时最适波长的确定 [J]. *河南农业科学*, 2010(4): 115 – 118.
- [7] 许玉林, 郑月霞, 叶冰莹, 等. 一株纤维素降解真菌的筛选及鉴定 [J]. *微生物学通报*, 2013, 40(2): 220 – 227.
- [8] 孙盈, 田永强, 赵丽坤. 纤维素酶的 CMG 酶活测定条件的研究 [J]. *食品工业科技*, 2013(2): 68 – 71, 74.
- [9] 宋贤冲, 唐健, 邓小军, 等. 产纤维素酶真菌的分离筛选、鉴定及其酶学性质分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2013, 32(3): 372 – 378.
- [10] 马琳, 徐田田, 张铁军. 红缘拟层孔菌液体发酵培养基配方的研究 [J]. *药物评价研究*, 2010, 33(2): 121 – 124.
- [11] 安莉颖, 施思, 谭德勇, 等. 里氏木霉 *RutC-30* 产纤维素酶条件优化研究 [J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(8): 4818 – 4820.