

## O vlogi trehaloze v rastlinah

Tjaša GORJANC<sup>1</sup>, Dominik VODNIK<sup>2</sup>

Received September 13, 2017; accepted January 19, 2018.

Delo je prispelo 13. septembra 2017, sprejeto 19. januarja 2018.

### IZVLEČEK

Trehaloza je disaharid, pomemben pri obrambi pred stresom pri mnogih organizmih, vključno z zelenimi algami in nižjimi rastlinami. Dolgo je veljalo prepričanje, da je vloga trehaloze v višjih rastlinah marginalna in da je tu njene funkcije v evoluciji prevzela saharoza. Pred nekaj leti so odkrili, da ima trehaloza pomembne fiziološke funkcije tudi v presnovi višjih rastlin. Je pomemben signalni metabolit, ki uravnava raven in razpoložljivost saharoze, sintezo in razgradnjo škroba ter sintezo organskih kislin. Povezava trehaloze in saharoze je dokazano pomembna pri interakciji rastline s patogenimi organizmi in rastlinojedimi insekti. Trehaloza je udeležena tudi pri obrambi rastline pred abiotičnimi stresorji kot so suša, mraz, slanost in hipoksija. V interakciji z abscizinsko kislino sodeluje pri regulaciji stomatalne prevodnosti. Glede na potrjene funkcije je trehaloza primarni metabolit, ki močno pripomore k rasti in razvoju rastline. Takšna primera sta njen vpliv na indukcijo cvetenja in stimulacijo fotosinteze.

**Ključne besede:** trehaloza; presnova sladkorjev; saharoza; škrob; stres

### ABSTRACT

#### ABOUT THE ROLE OF TREHALOSE IN PLANTS

Trehalose is an important disaccharide which takes a major role of a stress protector in many organisms, including green algae and lower plants. It has long been thought that trehalose functions in higher plants are marginal and that they have been overtaken by sucrose. In the last years it has been discovered that trehalose takes on a lot of important physiological roles in vascular plants metabolism. It is an important signal metabolite of sucrose availability and maintains sucrose concentrations within an appropriate range. It also contributes to starch synthesis and degradation and to synthesis of organic acids. Trehalose-sucrose nexus was found to be very important in plant interactions with pathogenic organisms and herbivorous insects. Furthermore, trehalose is involved in response of plant to abiotic stressors such as drought, cold, salinity and hypoxia. It contributes in regulation of stomatal conductivity where it interacts with abscisic acid. All this makes trehalose an important primary metabolite which significantly influences plant growth and development such as induction of flowering and stimulation of photosynthesis.

**Key words:** trehalose; sugar metabolism; sucrose; starch; stress

Okrajšave:

TPS - trehaloze-fosfat sintaza

TPP – trehaloze-fosfat fosfataza

TS – trehaloze sintaza

T6P – trehaloze-6-fosfat

ROS – reaktivne kisikove zvrsti

ABA – abscizinska kislina

SnRK1 - nefermentirajoča s saharozo povezana kinaza 1

AtTPPG – gen za trehaloze-fosfat fosfatazo v navadnem repnjakovcu (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.)

AtTPS1 – gen za trehaloze-fosfat sintazo v vrsti *Arabidopsis thaliana*

AtTRE1 – gen za trehaloze v vrsti *Arabidopsis thaliana*

TPS – kompleks genov za sintezo trehaloze

Tps1 – sintaza (del TPS kompleksa)

Tps2 – trehaloze-P-fosfataza (del TPS kompleksa)

Tps3 in Tps4 – proteina z regulatorno in stabilizacijsko funkcijo (del TPS kompleksa)

<sup>1</sup> Izletniška ulica 1, 1231 Ljubljana - Črnuče

<sup>2</sup> University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Agronomy Department, Jamnikarjeva ulica 101, SI-1111 Ljubljana, Slovenia

## 1 UVOD

Kljub obširnemu znanju o sladkorjih v rastlinah, še vedno spoznavamo nova dejstva o njih. Čeprav je od prvega članka, ki beleži odkritje trehaloze v rastlinah minilo že več kot 100 let (Anselmino in Gilg, 1913), je bilo o njeni vlogi v rastlinah do pred približno 20 leti znano bolj malo. Trehalozo so dobro poznali že pred tem odkritjem, vendar le v nižje razvitih organizmih (arhejah, mikobakterijah, kvasovkah in drugih glivah) ter v živalih (npr. nematodah, morskih rakih...) (Elbein in sod., 2003). Na začetku raziskav so na osnovi majhnih količin trehaloze v rastlinah skleпали, da je ta trehaloza glivnega ali mikrobnega izvora, njena presnova v rastlinah pa nepomembna oziroma celo odsotna. Te domneve so bile ovržene z odkritjem genov, ki v navadnem repnjakovcu (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) kodirajo dva encima, pomembna za metabolizem trehaloze, trehaloze fosfat sintazo (TPS) in

trehaloze fosfat fosfatazo (TPP) (Blázquez in sod., 1998; Vogel in sod., 1998; Leyman et al., 2001). To je spodbudilo nadaljnje raziskave in vodilo v mnoga zanimiva odkritja. Ugotovili so, da trehaloza v rastlinah sodeluje pri regulaciji več procesov, kot so uravnavanje količine saharoze in primarnega škroba (Yadav in sod., 2014) ter uravnavanje prevodnosti listnih rež (Gomez in sod., 2014). Je signalni metabolit pri interakciji rastline s patogenimi in simbiotskimi organizmi; npr. pri vzpostavitvi mikorize pripomore tudi k bolj učinkoviti vezavi dušika (Garg in Singla, 2016). Vključena pa je tudi pri odzivu na napad rastlinojedcev (Tayeh in sod., 2014) in abiotične stresne dejavnike (Farrant in sod., 2015; Tapia in sod., 2015; Farooq in sod. 2017; Mostofa in sod., 2015; Krasensky in sod.; 2014, Shahbaz in sod., 2017; Garg in sod., 2016; Kretyschmar in sod., 2015; Chen in Hoehenwarter, 2015).

## 2 TREHALOZA – OPIS MOLEKULE IN SINTEZA

Trehaloza je disaharid, sestavljen iz dveh molekul glukoze, ki sta povezani z 1,1-glikozidno vezjo. Trehaloza je dobro topna v vodi, a zaradi svoje nereducirajoče narave kemijsko nereaktivna, zato se lahko v celici nahaja tudi v velikih koncentracijah (Lunn in sod., 2014). Obstajajo vsaj tri različne poti biološke sinteze trehaloze. Najbolj poznana in v rastlinah edina prisotna pot sinteze poteka preko intermediata trehaloze-6-P (T6P) in vsebuje dve encimatski stopnji. Trehaloze-fosfat sintaza (TPS) katalizira prenos glukoze iz UDP-glukoze na glukozo-6-P, s čimer nastane T6P. V

naslednjem koraku encim trehaloze-fosfat fosfataza (TPP) pretvori trehalozo-fosfat v trehalozo. To reakcijo so prvič opisali na primeru kvasovk in je dokazano prisotna tudi v rastlinah in drugih organizmih (Elbein in sod., 2003). Odkrili so, da so za sintezo trehaloze zaslužni štirje homologni geni, katerih produkti tvorijo kompleks (TPS) sestavljen iz štirih podenot – sintaze (Tps1), trehaloze-P fosfataze (Tps2), ter dveh podenot, ki imata regulatorno in stabilizacijsko funkcijo (Tps3 in Tsl1) (Svanström in sod., 2014).

## 3 TREHALOZA V RASTLINAH

Za razkrivanje vloge trehaloze v rastlinah je bil ključen razvoj zadosti občutljivih analitskih metod (Lunn in sod., 2014), saj rastlinska tkiva vsebujejo približno stokrat manj trehaloze-6-P kot celice kvasovk, za katere so bile metode razvite. Različne študije so pokazale, da 1) je trehaloza vključena v regulacijo koncentracije saharoze in primarnega škroba v rastlinskih tkivih, 2) trehaloza sodeluje pri odzivu rastlin na abiotični stres, 3) je trehaloza signalni metabolit pri okužbi rastline ali napadu rastlinojedcev ter 4) regulira stomatalno prevodnost.

### 3.1 Regulacija koncentracije saharoze in primarnega škroba

S fotosintezo asimilirani ogljik se tekom dneva pretvarja v saharozo in transportira v ponore, presežek ogljika pa se akumulira v kloroplastih v obliki primarnega škroba.

Ta se porablja v obdobjih, ko rastlina ne more vršiti zadostne fotosinteze ali pa ta sploh ne poteka, npr. ponoči. Sinteza saharoze in primarnega škroba sta soodvisna procesa (Vodnik, 2012), v regulaciji katerih je udeležena tudi trehaloza. Lunn in sod. (2014) so ugotovili, da je vsebnost T6P v rastlinah navadnega repnjakovca (*A. thaliana*), ki jim primanjkuje ogljika, zelo majhna, z dodajanjem saharoze pa se hitro povečuje. Močno povezavo med T6P in saharozo so odkrili tudi v rozetah, semenih in brstih repnjakovca, v krompirjevih gomoljih in pšeničnih zrnih. Raziskava, v kateri so rastline navadnega repnjakovca oskrbovali s širokim spektrom rastlinskih sladkorjev, njihovih analogov ter z mineralnimi hranili ( $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  in  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), je pokazala, da ima največji vpliv na vsebnost T6P prav saharoza. Ostali sladkorji ter mineralna hranila imajo manjši vpliv na T6P ali pa nanjo delujejo posredno preko saharoze (Yadav in sod.,

2014). V poskusih s transgenimi rastlinami z zmanjšano ali povečano vsebnostjo T6P so ugotovili, da se ob genetsko inducirani spremembi v vsebnosti T6P spremeni tudi koncentracija saharoze. T6P kontrolira nivo saharoze v rastlinskih celicah in preprečuje, da bi se preveč zvišal ali znižal - podobno kot inzulin nadzoruje vsebnost glukoze v krvi živali. T6P naj bi bil tudi del regulativne mreže, ki ureja tok saharoze iz virov in porabo saharoze v ponorih (Figueroa in Lunn, 2016). Mehanizem delovanja T6P lahko vključuje encim SnRK1 (nefermentirajoča s saharozo povezana kinaza 1). SnRK1 vpliva na ekspresijo genov, ki se izrazijo ob stresu ter vplivajo na transport saharoze po rastlini, katabolne procese, zavirajo rast rastline in energijo usmerjajo v obrambo. T6P inhibira delovanje SnRK1, kar povzroči skladiščenje ogljikovih hidratov, pospeši anabolne procese, rast in razmnoževanje (Griffiths in sod., 2016). Transgene rastline s povečano vsebnostjo T6P so imele v poskusih znatno zmanjšano vsebnost saharoze, manjšopost-translacijsko aktivacijo nitrat reduktaze in fosfoenolpiruvat karboksilaze in povečano vsebnost organskih kislin in aminokislin, kar kaže na to, da je metabolizem trehaloze povezan tudi s sintezo spojin, ki vsebujejo dušik (Figueroa in sod., 2016). V eni nedavnih raziskav so proučevali vpliv T6P na tvorbo lateksa v brazilskem kavčukovcu (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg.). Tvorbo lateksa omogoča sprejem saharoze in njen metabolizem v celicah, ki proizvajajo lateks, zato predpostavljajo, da vpliv T6P na nivo saharoze posredno vpliva tudi na tvorbo lateksa (Zhou in sod., 2017). Trehaloza pa ne vpliva samo na vsebnost saharoze, ampak sodeluje tudi pri regulaciji sinteze in razgradnje primarnega škroba. Ni še do konca potrjena možnost, da naj bi v tem primeru T6P deloval preko redoks regulacije aktivnosti encima ADP-glukoze pirofosfataza (Kolbe in sod., 2005; Martins in sod., 2013). Regulacija razgradnje škroba s T6P je povezana s cirkadiano ritmiko (Martins in sod., 2013). Notranja ura rastline uravnava največjo možno porabo škroba preko noči, spremenljiva količina T6P pa regulira njegovo razgradnjo glede na potrebe po saharozi. Če so te velike, se vsebnost saharoze zmanjša, zaradi česar se zmanjša tudi koncentracija T6P. Zmanjšanje T6P omogoča pospešeno razgradnjo škroba, vendar le do stopnje, ki jo glede na zaloge dovoljuje notranja ura. Če je zalog več kot je potrebn po saharozi, se nivo T6P in saharoze poveča, kar upočasni razgradnjo škroba (Martins in sod., 2013). Mehanizem, s katerim T6P ureja razgradnjo škroba, še ni znan, predvidevajo pa, da ni omejen na kloroplast (Lunn in sod., 2014).

### 3.2 Pomen trehaloze pri odzivu rastline na abiotični stres

V zadnjih letih vedno več raziskav poroča o pomenu trehaloze pri odzivu rastlin na abiotične stresne dejavnike npr. na sušo (Farrant in sod., 2015; Tapia in

sod., 2015), nizke temperature (Farooq in sod. 2017), slanost (Mostofa in sod., 2015; Krasensky in sod., 2014; Shahbaz in sod., 2017; Garg in sod., 2016), hipoksijo (Kretzschmar in sod., 2015) in oksidativni stres (Chen in Hoehenwarter, 2015).

Izpostavitve ekstremnim temperaturam vodi v kompleksne fiziološke in biokemične odzive v rastlinah, vključno s spremembami v koncentraciji presnovkov (sladkorjev, maščob in sekundarnih presnovkov). Pri rastlinah, ki so bile izpostavljene mrazu ali vročini, so odkrili spremembe v ekspresiji genov za TPS in TPP. Neposredni vpliv trehaloze se kaže v interakciji TPS v navadnem repnjakovcu z multiproteinskim vezavnim faktorjem 1c, ki je glavni regulator tolerance rastlin na neugodne temperature (Suzuki in sod., 2008; Lunn in sod., 2014). Ob večjih spremembah temperature se v rastlini spreminja tudi koncentracija saharoze, zato moramo razlikovati med neposrednim in posrednim vplivom trehaloze na termotoleranco rastlin (Lunn in sod., 2014). Pri nizkih temperaturah pa se v rižu, vinski trti in navadnem repnjakovcu, skladno s količino saharoze poveča vsebnost TPP (Premanik in Imai, 2005; Fernandez in sod., 2012; Iordachesu in Imai, 2008; Lunn in sod., 2014).

Koncentracija T6P se poveča tudi ob pomanjkanju kisika. Ni znano ali se spremembe T6P v navadnem repnjakovcu zgodijo zaradi porasta koncentracije saharoze ob hipoksiji, ali pa T6P dejansko igra kakšno vlogo pri prilagajanju presnove in rasti ter s tem preprečuje, da bi rastlina ostala popolnoma brez kisika (Thiel in sod., 2011).

Trehaloza prav tako pripomore k več procesom, ki omogočajo preživetje rastlinam v času slanostnega stresa. Majhne koncentracije eksogene trehaloze zmanjšujejo kopičenje Na<sup>+</sup> ionov v rastlini in prispevajo k ohranjanju absorpcijske vloge korenin, velike koncentracije pa preprečujejo razgradnjo klorofila v listih zaradi delovanja natrijevega klorida (Garcia in sod., 1997). Povečanje vsebnosti trehaloze ob slanostnem stresu avtorji povezujejo s spremembo v aktivnosti encimov sinteze in razgradnje trehaloze. Trehaloza naj bi se akumulirala zaradi povečane aktivnosti TPS (El-Bashiti in sod., 2005). Druga možnost je, da se trehaloza kopiči zaradi počasnejše razgradnje. V trnati meteljki (*Medicago truncatula* Gaertn.), izpostavljeni slanosti, so namreč zaznali manjše izražanje encima trehalaza. Nakopičena trehaloza bi lahko kot osmotik prispevala k večji toleranci rastline na slanostni stres (Muller in sod., 2001; Aeschbacher in sod., 1999).

Nekatere resurekcijske rastline, kot npr. *Selaginella lepidophylla* (Hook. in Grev.) Spring., ob izsuševanju akumulirajo velike količine trehaloze, ki v času

dormance – ta lahko traja tudi več let – skupaj s saharozo stabilizira celične membrane, proteine in druge celične komponente (Iturriaga in sod., 2006). Nivo trehaloze je znatno nižji v kulturnih rastlinah. Rahel dvig koncentracije trehaloze pa je bil zaznan v pšenici in bombažu, ki sta tolerantna na sušo. Koncentracija trehaloze se je najverjetneje povečala zaradi večje ekspresije TPS (El-Bashiti in sod., 2005), medtem ko lahko pri nekaterih sortah pšenice povečanje njene koncentracije pripišemo zmanjšanju vsebnosti trehalaze. Še vedno je neznano, ali so te manjše spremembe in majhna absolutna vsebnost trehaloze sploh pomembne pri obrambi pred sušnim stresom. Pri transgenem krompirju, odpornem na sušo, z vstavljenim genom za TPS, se je namreč v primerjavi z divjim tipom krompirja povečala le vsebnost prolina, inozitola in rafinoze (Kondrák in sod., 2012).

Trehaloza deluje tudi kot zaščita pred reaktivnimi kisikovimi zvrstmi (ROS), ki se pojavijo kot sekundarni stresorji zaradi delovanja drugih stresnih dejavnikov. ROS imajo pozitivno in negativno vlogo v rastlini. Delujejo kot signalne molekule ob napadu patogenov in sodelujejo pri programirani celični smrti (Grant in Loake, 2000; Dangl in Jones, 2001). Problem nastane, ker se ROS nakopičijo do toksičnih koncentracij, zato jih je potrebno odstraniti iz celice, saj lahko povzročijo oksidativne poškodbe. Za ta namen so rastline opremljene z različnimi obrambnimi mehanizmi, eden takšnih je tudi akumulacija sladkorjev. Obstajajo *in vivo* in *in vitro* dokazi, da trehaloza ščiti pred hidrosilnimi radikali (Couee in sod., 2006). Prekomerno izražanje TPS v tobaku in paradižniku je povečalo toleranco na oksidativni stres povzročen z metil-viologenom. Milimolarne koncentracije trehaloze namreč prispevajo k zaščiti encimov, ki odstranjujejo proste radikale, pred toplotno deaktivacijo. Na ta način trehaloza ohranja aktivnost askorbat katalaze in askorbat peroksidaze, le v manjši meri pa tudi delovanje encima superoksid dismutaza (Luo in sod., 2008). Lunn in sod. (2014) navajajo, da naj bi trehaloza - po sedaj še nepojasnjemem mehanizmu – proste radikale iz celic odstranjevala tudi direktno.

### 3.3 Trehaloza kot signalni metabolit pri biotičnem stresu

Ob napadu patogenih organizmov se rastlina brani tudi s tvorbo različnih kemičnih snovi, med katere spadajo tudi sladkorji. Da je med njimi tudi trehaloza, kažejo povečanja njene koncentracije in spremembe ekspresije genov za TPS in TPP ob okužbi (Golem in Culver, 2003; Shing in sod., 2011; Zhang in sod., 2016) ter odzivnost obrambnih mehanizmov na dodatke eksogene trehaloze (Tayeh in sod., 2014). Brodmann in sod. (2002) so vlogo trehaloze v obrambi proučevali pri navadnem repnjakovcu, okuženim z glivo

*Plasmodiophora brassicae* Woronin, 1877. 38 dni po infekciji so imele okužene rastline v primerjavi z zdravimi močno povečano vsebnost trehaloze, ki je bila eden od dominantnih sladkorjev v koreninah in hipokotilu. Trehaloze ni bilo zaznati 14 - 23 dni po okužbi, kar pomeni, da se sintetizira v poznejših fazah razvoja bolezni. V koreninah in hipokotilu okuženih rastlin se je za 14- do 45-krat povečala tudi koncentracija škroba, za kar je prav tako zaslužna trehaloza. Ker tudi mikroorganizmi lahko sintetizirajo trehalozo, pa bi lahko k veliki koncentraciji trehaloze prispevala tudi gliva *P. brassicae* (Brodmann in sod., 2002). V raziskavi o primarnem vplivu trehaloze na odziv rastlin ob okužbi z žitno pepelovko (*Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f. sp. *tritici* Em. Marchal.) so odkrili, da je okužba s trehalozo tretirane pšenice (*Triticum aestivum* L.) manjša kot pri netretirani kontroli. Trehaloza je inducirala aktivnost hitinaz in lipooksigenaz, širjenje okužbe pa se je v večini s trehalozo tretiranih rastlin ustavilo v stadiju razvoja apesorija. To nakazuje, da trehaloza sodeluje pri omejevanju infekcije patogena (Tayeh in sod., 2014). Raziskave ekspresije genov prav tako dokazujejo vlogo trehaloze kot signalnega metabolita pri odzivu na biotični stres. Rastline navadnega repnjakovca okužene s tobakovim mozaičnim virusom kažejo povečano izražanje gena za TPS (Golem in Culver, 2003), Zhang in sod. (2016) pa poročajo o spremenjeni ekspresiji genov za TPS in TPP po okužbi paradižnika z glivo *Botrytis cinerea* Pers. oz. bakterijo *Pseudomonas syringae* Van Hall, 1904. Tudi raziskava odziva navadnega repnjakovca ob napadu sive breskove uši (*Myzus persicae* (Sulzer, 1776)) je pokazala, da so obrambni mehanizmi povezani z geni, ki uravnavajo raven trehaloze (Singh in sod., 2011).

### 3.4 Regulacija stomatalne prevodnosti

Presnova trehaloze igra pomembno vlogo pri uravnavanju prevodnosti listnih rež in učinkovitosti izrabe vode. Raziskave so pokazale, da je ekspresija AtTPPG, AtTPS1 in AtTRE1 bolj izrazita v celicah zapiralkah v listih, kakor v drugih celicah in tkivih, kar nakazuje na vlogo trehaloze v regulaciji stomatalne prevodnosti. Listne reže na listih mutantov navadnega repnjakovca z zmanjšano aktivnostjo TPS so imele manjšo prevodnost listnih rež kot divji tipi (Gomez in sod., 2010).

Med sušnim stresom rastline priprejo oz. zaprejo listne reže, da zmanjšajo izgubo vode. Ta odziv med drugim sproža abscizinska kislina (ABA). Gensko spremenjene rastline navadnega repnjakovca z zmanjšano ekspresijo trehalaze, in s tem večjo vsebnostjo trehaloze, niso mogle zapreti listnih rež, ko jim je bila dodana ABA. Na drugi strani pa so bile rastline s povečano vsebnostjo trehalaze preveč občutljive na dodatek ABA in imele

tudi zmanjšano stomatalno prevodnost v primerjavi z divjimi tipi v nesušnih razmerah. To kaže na to, da je delovanje ABA močno povezano s trehalazo. Povezava med ABA in presnovo trehaloze je bila dokazana z odkritjem, da ABA inducira ekspresijo trehalaze (Van Houtte in sod., 2013). Čeprav signalni mehanizmi še niso definirani, obstajajo dokazi za več interakcij: ABA deluje na ekspresijo trehalaze, TPP in trehalaza pa delujeta na ABA pri zapiranju listnih rež (Figueroa in Lunn, 2016).

### 3.5 Nadzor rasti in razvoja rastline s trehalozo-6-fosfat

Rast heterotrofnih tkiv, kot so meristemska tkiva, korenine, cvetovi in razvijajoča se semena, je odvisna od zaloge fotoasimilatov ali remobilizacije škroba in drugih energetskih rezerv. Ogljik se najpogosteje po rastlini prenaša po floemu, povečini v obliki saharoze. Ko prispe do ponorov, izstopi iz floema in se s pomočjo encimov različnih celičnih organelov razcepi. Nastale heksoze nato vstopajo v primarno presnovo in se porabijo za izgradnjo celičnih komponent. Rast in razvoj rastlinskih tkiv sta zato zelo odvisna od razpoložljivosti saharoze (Figueroa in Lunn, 2016). Kot smo že omenili, pa je vsebnost saharoze močno odvisna od vsebnosti T6P. V družini rožnic (Rosaceae), kjer je glavni transportni sladkor sorbitol, so dokazali tudi njuno soodvisnost. V rožnicah pa so poleg sorbitola zastopani tudi drugi sladkorji, med drugim tudi saharoza. Zanimivo je, da so pri poskusu na sorti

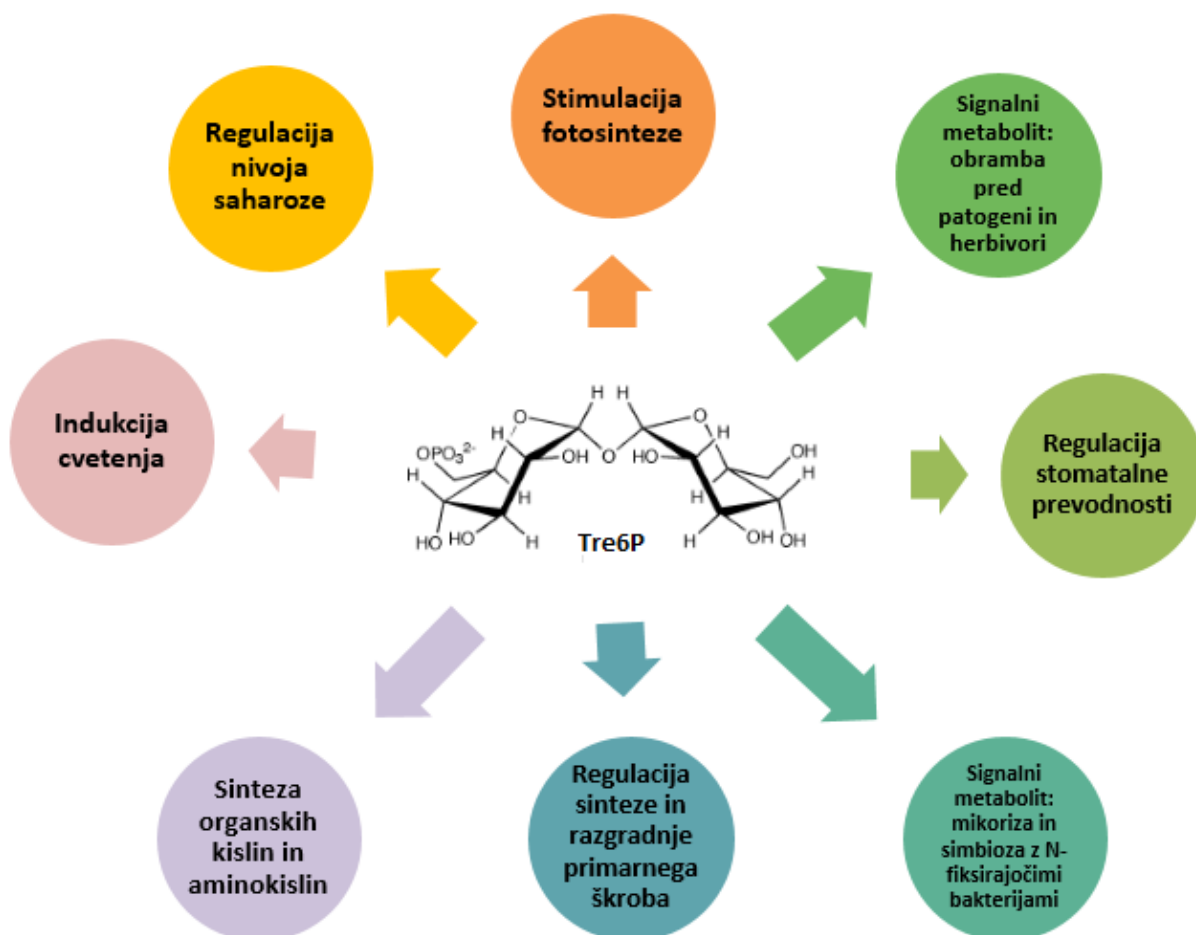
jablane (*Malus domestica* 'Gala') odkrili, da ima T6P večji vpliv na sorbitol kakor na saharozo, kar še dodatno nakazuje na povezanost T6P z nadzorom rasti in razvoja rastline (Zhang in sod., 2017). Ugotovili so, da so imeli mutanti navadnega repnjakovca z večjo vsebnostjo T6P med rastjo večjo količino antocianov in škroba ter manj saharoze, glukoze-1-P in glukoze-6-P kakor divji tipi. Rastline imajo manjše liste, kar je večinoma posledica spremenjene zgradbe listov (npr. večja debelina lista), manjše listne površine in manjše vsebnosti suhe snovi (Yadav in sod., 2014; Lunn in sod., 2014). Obstaja več dokazov, da T6P uravnava razvojne programe rastline. Pri navadnem repnjakovcu povečanje T6P vodi v hitrejše cvetenje, medtem ko ob zmanjšanju koncentracije T6P dosežemo nasproten učinek. Po indukciji cvetenja rastline navadnega repnjakovca z dodatkom T6P kažejo povečano razrast, tvorijo pa manj semen. Pri rastlinah navadnega repnjakovca z manjšo vsebnostjo T6P pa poročajo o zapozneli senescenci. V rastlinah krompirja T6P zakasni brstenje, kar bi lahko bilo povezano tudi z zmanjšanim katabolizmom ABA. Zapoznelo cvetenje pa lahko povežemo tudi z vplivom trehaloze na razgradnjo škroba, kjer bi trehaloza lahko igrala vlogo signalne molekule, ki preprečuje začetek cvetenja ob premajhni vsebnosti škroba v rastlini, v transgenih rastlinah pa so v različnih raziskavah zaznali tudi stimulacijo fotosinteze. Povečanje fotosinteze naj bi bila posledica spremenjene morfologije listov, predvsem njihove večje debeline, s čimer se fotosinteza na površino lista poveča (Lunn in sod., 2014).

## 4 ZAKLJUČEK

Trehaloza ima v rastlini mnogo več kot le marginalno funkcijo. S filogenetsko analizo so ugotovili, da je povezava med saharozo in trehalozo zelo starodavna, da obstaja od samega začetka nastanka zelenih rastlin. V prvih rastlinah sta imela najverjetneje oba sladkorja funkcijo osmotika, energetske rezerve in obrambe proti stresu. Te funkcije si pri nižjih rastlinah delita še danes. Med evolucijo je zaradi neznanih razlogov saharoza prevzela vlogo glavnega transportnega sladkorja v višjih rastlinah. Kljub temu trehaloza še zmeraj opravlja nekaj pomembnih funkcij. Trehaloza preprečuje, da bi se vsebnost saharoze v določenih situacijah preveč povečala ali zmanjšala, uravnava pa tudi tok saharoze iz virov in porabo v ponorih. S tem je trehaloza posredno vključena v mnoge pomembne presnovne procese v rastlini; uravnava stomatalno prevodnost ter sintezo in razgradnjo škroba, vpliva tudi na rast in razmnoževanje rastlin. Vzajemno delovanje saharoze in trehaloze je pomembno tudi v obrambi rastlin pred abiotičnim stresom. Mnogi obrambni mehanizmi so namreč

povezani s povečano vsebnostjo sladkorjev, katero regulira ravno trehaloza. Podoben mehanizem poznamo tudi pri obrambi rastlin pred patogeni. Trehaloza pa ne vpliva le na vsebnost sladkorjev, temveč tudi na vsebnost abscizinske kisline. Njen vpliv ni pomemben le pri stomatalni prevodnosti, temveč se lahko ob zmanjšanju njene vsebnosti ABA odraža tudi z zakasnelim brstenjem.

Nova dognanja o pomenu trehaloze v rastlinah so potencialno uporabna za področje agronomije. Rastline s spremenjeno vsebnostjo trehaloze bi lahko bile bolj strpne na stresne dejavnike in s tem tudi bolj produktivne. Vendar transgene rastline, v katere so vstavili bakterijske gene, ki kodirajo encime za sintezo trehaloze, v poskusih niso dale pričakovanih rezultatov v povezavi z odpornostjo na različne stresorje. To kaže, da posegi v kompleksno regulirane presnovne poti primarnega metabolizma niso enostavni.



**Slika 1:** Tre6P je fosforiliziran intermedijat biosinteze trehaloze. Je pokazatelj koncentracije saharoze v rastlinah in vpliva na mnoge metabolne in razvojne procese, prikazane v barvnih krogih. Poleg Tre6P pri stomatalni prevodnosti sodeluje še sama trehaloza.

**Figure 1:** Tre6P is the phosphorylated intermediate of trehalose biosynthesis. It shows the concentration of sucrose in plants and influences many metabolic and developmental processes which are shown in the coloured circles. Both Tre6P and trehalose are involved in regulation of stomatal conductance.

## 5 VIRI

- Aeschbacher R.A., Müller J., Boller T., Wiemken A. (1999). Purification of the trehalase GMTRE 1 from soybean nodules and cloning of its cDNA: GMTRE 1 is expressed at a low level in multiple tissues. *Plant Physiology*, 119, 489–496. doi:10.1104/pp.119.2.489
- Anselmino O., Gilg E. (2013). Über das Vorkommen von Trehalose in *Selaginella lepidophylla*. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 23, 309–320.
- Blázquez M.A., Santos E., Flores C., Martínez-Zapater J.M., Salinas J., Gancedo C. (1998). Isolation and molecular characterization of the *Arabidopsis* TPS1 gene, encoding trehalose-6-phosphate synthase. *Plant Journal*, 13, 685–689. doi:10.1046/j.1365-313X.1998.00063.x
- Brodmann D., Schuller A., Ludwig-Müller J., Aeschbacher R., Wiemken A., Boller T., Winkler A. (2002). Induction of trehalase in *Arabidopsis* plants infected with the trehalose-producing pathogen *Plasmiodiophora brassicae*. *The American Phytopathological Society*, 15, 693–700.
- Chen Y., Hoehenwarter W. (2015). Changes in the phosphoproteome and metabolome link early signaling events to rearrangement of photosynthesis and central metabolism in salinity and oxidative stress response in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 169, 3021–3033. doi:10.1104/pp.15.01486

- Couee I., Sulmon C., Gouesbet G., El-Amrani A. (2006). Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 57, 449-459. doi:10.1093/jxb/erj027
- Dangl J.L., Jones J.D.G. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*, 411, 826-833. doi:10.1038/35081161
- De Smet K., Weston A., Brown I., Young D., Robertson D. (2000). Three pathways for trehalose biosynthesis in mycobacteria. *Microbiology*, 146, 199-208. doi:10.1099/00221287-146-1-199
- El-bashiti T., Hamamci H., Oktem H.A., Yucel M. (2005). Biochemical analysis of trehalose and its metabolizing enzymes in wheat under abiotic stress conditions. *Plant Science*, 169, 47-54. doi:10.1016/j.plantsci.2005.02.024
- Elbein A.D., Pan Y.T., Pastuszak I., Carroll D. (2003). New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiology*, 13, 17R-27R. doi:10.1093/glycob/cwg047
- Farooq M., Hussain M., Nawaz A., Lee D.J., Alghamdi S.S., Siddique K.H.M. (2017). Seed priming improves chilling tolerance in chickpea by modulating germination metabolism, trehalose accumulation and carbon assimilation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 111, 274-283. doi:10.1016/j.plaphy.2016.12.012
- Farrant J.M., Cooper K., Hilgart A., Abdalla K.O., Bentley J., Thomson J.A., Dace H.J., Penton N., Mundree S.G., Rafudeen M.S. (2015). A molecular physiological review of vegetative desiccation tolerance in the resurrection plant *Xerophyta viscosa* (Baker). *Planta*, 242, 407-426. doi:10.1007/s00425-015-2320-6
- Fernandez J., Wilson R.A. (2012). Why no feeding frenzy? Mechanisms of nutrient acquisition and utilization during infection by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Molecular Plant-microbe Interactions*, 25, 1286-1293. doi:10.1094/MPMI-12-11-0326
- Figuroa C.M., Feil R., Ishihara H., Wanatabe M., Kolling K., Krause U., Hohne M., Encke B., Plaxton W.C., Zeeman S.C., Li Z., Schulze W.X., Hoefgen R., Stitt M., Lunn J.E. (2016). Trehalose 6-phosphate coordinates organic and amino acid metabolism with carbon availability. *Plant Journal*, 85, 410-423. doi:10.1111/tpj.13114
- Figuroa C.M., Lunn J.E. (2016). A tale of two sugars: trehalose 6-phosphate and sucrose. *Plant Physiology*, 172, 7-27. doi:10.1104/pp.16.00417
- Garg R., Shankar R., Thakkar B., Kudapa H., Krishnamurthy L., Varshney R.K., Bhatia S., Jain M. (2016). Transcriptome analyses reveal genotype- and developmental stage-specific molecular responses to drought and salinity stress in chickpea. *Scientific Reports*, 6: 19228. doi:10.1038/srep19228
- Golem S., Culver J.N. (2003). Tobacco mosaic virus induces alterations in the gene expression profile of *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 16, 681-688. doi:10.1094/MPMI.2003.16.8.681
- Gómez L.D., Gildaz A., Fell R., Lunn, J.E., Graham I.A. (2010). AtTPS mediated trehalose-6-phosphate synthesis is essential for embryogenic and vegetative growth and responsiveness to ABA in germinating seeds and stomatal guard cells. *Plant Journal*, 64, 1-13.
- Grant J.J., Loake G.J. (2000). Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signalling in disease resistance. *Plant Physiology*, 124, 21-29. doi:10.1104/pp.124.1.21
- Griffiths C.A., Paul M.J., Foyer C.H. (2016). Metabolite transport and associated sugar signalling systems underpinning source/sink interactions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1857, 1715-1725. doi:10.1016/j.bbabi.2016.07.007
- Iordachescu M., Imai R. (2008). Trehalose biosynthesis in response to abiotic stresses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50, 1223-1229. doi:10.1111/j.1744-7909.2008.00736.x
- Iturriaga G., Cushman M.A.F., Cushman J.C. (2006). An EST catalogue from the resurrection plant *Selaginella lepidophylla* reveals abiotic stress-adaptive genes. *Plant Science*, 170, 1173-1184. doi:10.1016/j.plantsci.2006.02.004
- Kolbe A., Tiessen A., Schlupepmann H., Paul M., Ulrich S., Geigenberger P. (2005). Trehalose-6-phosphate regulates starch synthesis via posttranslational redox activation of ADP-glucose pyrophosphorylase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 1118-11123. doi:10.1073/pnas.0503410102
- Kondrák M., Marincs F., Antal F., Juhász Z., Bánfalvi Z. (2012). Effects of yeast trehalose-6-phosphate synthase 1 on gene expression and carbohydrate contents of potato leaves under drought stress conditions. *BMC Plant Biology*, 12: e74, doi: 10.1186/1471-2229-12-74: 12 str.
- Krasensky J., Broyart C., Rabanal F.A., Jonak C. (2014). The redox-sensitive chloroplast trehalose-6-phosphate phosphatase AtTPPD regulates salt stress tolerance. *Antioxid Redox Signal*, 21, 1289-1304. doi:10.1089/ars.2013.5693

- Kretzschmar T., Pelayo M.A.F., Trijatmiko K.R., Gabunada L.F.M., Alam R., Jimenez R., Mendorio M.S., Slamet-Loedin I.H., Sreenivaslu N., Bailey-Serres J., Ismail A.M., Mackill D.J., Septiningsih E.M. (2015). A trehalose-6-phosphate phosphatase enhances anaerobic germination tolerance in rice. *Nature Plants*, *1*, 15124. doi:10.1038/nplants.2015.124
- Leyman B., van Dijck P., Thevelein J.M. (2001). An unexpected plethora of trehalose biosynthesis genes in *Arabidopsis thaliana*. *Trends in Plant Science*, *6*, 510-513. doi:10.1016/S1360-1385(01)02125-2
- Lunn J.E., Delorge I., Figueroa M.C., van Dijck P., Stitt M. (2014). Trehalose metabolism in plants. *The Plant Journal*, *79*, 544-567. doi:10.1111/tbj.12509
- Luo Y., Li W.M., Wang W. (2008). Trehalose: protector of antioxidant enzymes or reactive oxygen species scavenger under heat stress? *Environmental and Experimental Botany*, *63*, 378-384. doi:10.1016/j.envexpbot.2007.11.016
- Martins M.C.M., Hejazi M., Fettke J. (2013). Feedback inhibition of starch degradation in *Arabidopsis* leaves mediated by trehalose-6-phosphate. *Plant Physiology*, *163*, 1142-1163. doi:10.1104/pp.113.226787
- Mostofa M.G., Hossain M.A., Fujita M. (2015). Trehalose pretreatment induces salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings: oxidative damage and co-induction of antioxidant defense and glyoxalase systems. *Protoplasma*, *252*, 461-475. doi:10.1007/s00709-014-0691-3
- Müller J., Aeschbacher R.A., Wingler A., Boller T., Wiemken A. (2001). Trehalose and trehalase in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, *125*, 1086-1093. doi:10.1104/pp.125.2.1086
- Pramanik M.H.R. in Imai R. (2005). Functional identification of a trehalose-6-phosphate phosphatase gene that is involved in transient induction of trehalose biosynthesis during chilling stress in rice. *Plant Molecular Biology*, *58*, 751-762. doi:10.1007/s11103-005-7404-4
- Shahbaz M., Abid A., Masood A., Waraich E.A. (2017). Foliar-applied trehalose modulates growth, mineral nutrition, photosynthetic ability, and oxidative defense system of rice (*Oryza sativa* L.) under saline stress. *Journal of Plant Nutrition*, *40*, 584-599. doi:10.1080/01904167.2016.1263319
- Singh V., Louis J., Ayre B.G., Reese J.C., Shah J. (2011). Trehalose phosphate synthase11-dependent trehalose metabolism promotes *Arabidopsis thaliana* defense against the phloem-feeding insect *Myzus persicae*. *Plant Journal*, *67*, 94-104. doi:10.1111/j.1365-313X.2011.04583.x
- Suzuki N., Bajad S., Shuman J., Shulaev V., Mitter R. (2008). The transcriptional co-activator MBF1c is a key regulator of thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. *The Journal of Biological Chemistry*, *283*, 9269-9275. doi:10.1074/jbc.M709187200
- Svanström A., van Leeuwen M.R., Dijksterhuis J., Melin P. (2014). Trehalose synthesis in *Aspergillus niger*: characterization of six homologous genes, all with conserved orthologs in related species. *BMC Microbiology*, *14*, 90-106. doi:10.1186/1471-2180-14-90
- Tapia H., Young L., Fox D., Bertozzi C.R., Koshland D. (2015). Increasing intracellular trehalose is sufficient to confer desiccation tolerance to *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*, 6122-6127. doi:10.1073/pnas.1506415112
- Tayeh C., Randoux B., Vincent D., Bourdon N., Reignault P. (2014). Exogenous trehalose induces defenses in wheat before and during a biotic stress caused by powdery mildew. *Phytopathology*, *104*, 293-305. doi:10.1094/PHYTO-07-13-0191-R
- Thiel J., Rolletschek H., Friedel S., Lunn J.E., Nguyen T.H., Feil R., Tschiersch H., Müller M., Borisjuk L. (2011). Seed-specific elevation of non-symbiotic hemoglobin AtHb1: beneficial effects and underlying molecular networks in *Arabidopsis thaliana*. *BMC plant biology*, *15*, 11, 48. doi:10.1186/1471-2229-11-48
- Van Houtte H., Vandesteene L., López-Galvis L. (2013). Overexpression of the trehalase gene *AtTRE1* leads to increased drought stress tolerance in *Arabidopsis* and is involved in abscisic acid-induced stomatal closure. *Plant Physiology*, *161*, 1158-1171. doi:10.1104/pp.112.211391
- Vodnik D. 2012. Osnove fiziologije rastlin. Oddelek za agronomijo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani: 141 str.
- Vogel G., Aeschbacher R.A., Müller J., Boller T., Wiemken A. (1998). Trehalose-6-phosphate phosphatases from *Arabidopsis thaliana*: identification by functional complementation of the yeast *tps2* mutant. *Plant Journal*, *13*, 673-683. doi:10.1046/j.1365-313X.1998.00064.x
- Yadav P.U., Ivakov A., Feil R., Duan G., Walter D., Giavalisco P., Piques M., Carillo P., Hubberton M., Stitt M., Lunn J.E. (2014). The sucrose-trehalose-6-fosfat (Tre6P) nexus: specificity and mechanisms of sucrose signalling by Tre6P. *Journal of*



- Experimental Botany*, 65, 1051-1068. doi:10.1093/jxb/ert457
- Zhang H., Hong Y., Huang L., Liu S., Tian L., Dai Y., Cao Z., Huang L., Li D., Song F. (2016). Virus-induced gene silencing-based functional analyses revealed the involvement of several putative trehalose-6-phosphate synthase/phosphatase genes in disease resistance against *Botrytis cinerea* and *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 in tomato. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1176. doi:10.3389/fpls.2016.01176
- Zhang W., Lunn J.E., Feil R., Wang Y.F., Zhao J.J., Tao H.X., Guo Y.P., Zhao Z.Y. (2017). Trehalose 6-phosphate signal is closely related to sorbitol in apple (*Malus domestica* Borkh. cv. Gala). *Biology Open*, 6, 260-268. doi:10.1242/bio.022301
- Zhou B., Fang Y., Fan Y., Wang Y., Qi J., Tang C. (2017). Expressional characterization of two class I trehalose-6-phosphate synthase genes in *Hevea brasiliensis* (para rubber tree) suggests a role in rubber production. *New Forests*, 48, 513-526. doi:10.1007/s11056-017-9578-4