

## 酵母*TPSI*基因促进干旱胁迫下玉米的根系生长

项阳<sup>1,\*</sup>, 刘延波<sup>1,2,\*</sup>, 秦利军<sup>1,2</sup>, 赵德刚<sup>1,2,\*\*</sup>

贵州大学<sup>1</sup>生命科学学院/农业生物工程研究院, 山地植物资源保护与种质创新省部共建教育部重点实验室; <sup>2</sup>绿色农药与农业生物工程国家重点实验室培育基地, 贵阳550025

**摘要:** 本文对干旱胁迫下转酵母*TPSI*基因玉米的根系生长进行了研究。结果显示, 经干旱胁迫后, 转基因玉米的根系较野生型相比, 根长和直径分别增加了79.3%和13.3%, 一级、二级侧根数、根系的总吸收面积、活跃吸收面积、比表面积和根系活力较野生型也极显著增加。对根系组织观察发现, 转*TPSI*基因玉米植株的根系细胞较大, 细胞纵向和横向显著增长。转基因玉米根系的生长素含量较野生型的高, 而其细胞分裂素含量则低。进一步对玉米根系生长相关基因的表达水平分析发现, 与生长素有关的根系生长正调控基因*PLT1*、*PINI*、*AUX/IAA*、*CRL1*表达较野生型上调, 其中*PLT1*、*AUX/IAA*、*CRL1*的表达量比野生型的高2倍以上, 而与细胞分裂素有关的根系生长负调控基因*WOX11*、*ARR2*、*ARR1*表达较野生型下调, 比野生型的下降50%以上。

**关键词:** 玉米; *TPSI*基因; 根系生长; 生长素; 细胞分裂素; 抗旱性

## Trehalose-6-Phosphate Synthase Gene *TPSI* from *Saccharomyces cerevisiae* Improve Root Growth in Transgenic Maize Under Drought Stress

XIANG Yang<sup>1,\*</sup>, LIU Yan-Bo<sup>1,2,\*</sup>, QIN Li-Jun<sup>1,2</sup>, ZHAO De-Gang<sup>1,2,\*\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region, Ministry of Education, Institute of Agro-Bioengineering and College of Life Sciences; <sup>2</sup>The State Key Lab Breeding Base of Green Pesticide and Agricultural Biological Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China

**Abstract:** In this paper, we studied root growth in transgenic maize plants after drought stress. Compared with wild-type maize, root length and diameter of transgenic maize contained trehalose-6-phosphate synthase (*TPSI*) gene increased 79.3% and 13.3%, respectively. The number of first- and second-order lateral roots, the total of root absorption area, active absorption area, specific surface area, root activity in genetically modified maize significantly increased than wild-type. We found that root cells elongated vertically and horizontally in root tissue slices as well. The determination of auxin and cytokinin content indicated auxin content increased compared with wild type, but that of cytokinin decreased. Further, gene expression analysis showed that genes associated with auxin (*PLT1*, *AUX/IAA*, *PINI* and *CRL1*) up-regulated and expression level of *PLT1*, *AUX/IAA* and *CRL1* was about 2 folds of wild type, while expression level of genes associated with cytokinin (*WOX11*, *ARR2* and *ARR1*) dropped by more than 50% than wild-type.

**Key words:** maize; *TPSI* gene; root growth; auxin; cytokinin; drought tolerance

玉米不仅是人类消耗最大的粮食作物, 而且也是生产饲料的主要原料(Khoury等2014)。胡瑞法等(2004)认为干旱是限制中国玉米生产发展和产量提高的第一要素, 干旱对玉米产量影响达20%~50%, 培育高产抗旱品种是抵御干旱胁迫的最经济方法之一。

海藻糖是一种非还原二糖, 存在于一些植物、真菌等抗脱水生物体中(Elbein等2003; Paul等2008), 能够提高植物在干旱等胁迫中的抗性(Paul等2008)。Yeo等(2000)将酵母*TPSI*基因导入马铃薯, 提高了马铃薯的抗旱性。Suárez等(2008)在刀

豆中过表达*TPSI*基因也提高了其抗旱性。另外, Ge等(2008)发现过表达*TPSI*基因不仅提高了水稻的抗旱性, 还提高了水稻的抗盐性和抗寒性。van

收稿 2014-10-22 修定 2015-01-21

资助 国家转基因生物新品种培育科技重大专项子课题任务(2014ZX0801008B-002)、国家转基因生物新品种培育科技重大专项子课题任务(2013ZX08010-003和2014ZX08010-003)和贵州省科技厅转基因专项(黔科合2004NZ004)。

\* 共同第一作者。

\*\* 通讯作者(E-mail: dgzhao@gzu.edu.cn; Tel: 0851-83863615)。

Van Dijken等(2004)发现拟南芥*tps1*突变体与野生型相比,根长缩短;突变体在地塞米松(dexamethasone, DEX)诱导海藻糖产生后,叶和根都能有显著增长。Rodríguez-Salazar等(2009)研究表明,在玉米上接种能产生高含量的海藻糖的巴西固氮螺菌(*Azospirillum brasilense*)后,叶、根有显著增长,推测*TPSI*基因可能参与了根系生长调控,而根系的发达程度对于植物的生长发育、抵御干旱也至关重要(弋良朋等2006)。Yu等(2008)研究拟南芥高抗旱性突变体*hdg11*时发现,该突变体的根长及侧根数均显著增加,且脱落酸(ABA)、脯氨酸、超氧化物歧化酶(SOD)含量也较野生型高。早期,陈立松和刘星辉(1997)也报道了根系生理指标,如根长、侧根数和根系活力等均可作为植物抗旱性的选择指标。刘桂红等(2013)研究谷子抗旱性时也认为根长和侧根数可作为萌芽期抗旱性鉴定指标。

前人研究表明*TPSI*基因提高植物抗旱性有两种可能的原因。一种认为是在干旱等胁迫条件下,*TPSI*基因表达的海藻糖可以阻止蛋白失活和细胞膜变性(Elbein等2003);还有一种认为*TPSI*基因减少了气孔开闭程度(van Houtte等2013),从而减少水分的蒸发。之前我们研究发现,转酵母*TPSI*玉米中,*TPSI*基因可通过促进气孔发育的负调控基因*SDD1*的表达来减少气孔的数目,减少了水分蒸发,从而提高玉米的抗旱性(Liu等2014)。本文研究干旱胁迫下转酵母*TPSI*基因玉米的根系生长,探索转酵母*TPSI*基因玉米其他可能抗旱的原因,以便为抗旱育种和种质创新提供理论依据和技术指导。

## 材料与方 法

### 1 实验材料

转酵母*TPSI*基因玉米(*Zea mays* L.)由贵州大学农业生物工程研究院创制并保存,其种子已由之前研究获得(Liu等2014)。野生型玉米品种为‘交51’。质粒pGM626-Ubi-BG-rd29a-TPS1为贵州大学农业生物工程研究院构建并保存,含Ubi-*Bar::GUS*-*NOS*和rd29A-*TPSI*-*NOS*表达元件(图1)。MultiScribe™ Reverse Transcriptase Kit和Power SYBR® Green PCR Master Mix均购于ABI公司;Plant RNA Kit购于OMEGA公司;RT-PCR相关引物均由Invitrogen公司合成;植物生长素和植物细胞



图1 T-DNA区域结构

Fig. 1 Schematic illustration of the T-DNA region

分裂素酶联免疫检测试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

## 2 实验方法

### 2.1 干旱处理

参照王一等(2011)和吴妍等(2010)的方法,挑选子粒饱满的野生型与转基因玉米种子,播在装有珍珠岩的塑料盘中,置于(25±2) °C培养箱中培养。白天光照500~700  $\mu\text{m}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,光暗周期10 h(光)/14 h(暗),空气相对湿度(RH) 60%~70%。在幼苗第3片叶子完全展开时,选取60株生长一致的植株移至1/2Hoagland营养液中,给其中30株玉米的培养液加入PEG 6000,使其在营养液中的浓度为10%,干旱胁迫7 d后分别取样进行以下项目测定。其余30株玉米正常浇水。所有实验均重复3次,数据分析用SPSS 22.0和Excel进行处理。

### 2.2 根系形态学指标及生理指标测定

植株的根长及根直径测量参照慕自新等(2005)的方法使用直尺、游标卡尺进行测量。根系总吸收面积和活跃吸收面积、根系活力的测定是参照高俊凤(2006)的方法,分别采用甲烯蓝吸附法和氯化三苯基四氮唑(TTC)法进行测定。

参照李和平(2006)的方法,分别取转基因和野生型植株的离根尖约5 cm处制备石蜡切片,光学显微镜观察并拍照。

分别取转基因和野生型玉米植株的相同部位的根,参照植物生长素和植物细胞分裂素酶联免疫检测试剂盒说明书(南京建成生物工程研究所)测定植物生长素与细胞分裂素的含量。

### 2.3 根系生长相关基因的表达分析

根据NCBI数据库中报道的玉米根系生长相关基因*PLETHORA 1 (PLT1)*、*PINFORMED 1 (PIN1)*、*WUSHEL-Related Homeobox 11 (WOX11)*、*type-A RESPONSE REGULATOR 2 (ARR2)*、*type-A RESPONSE REGULATOR 1 (ARR1)*、*AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID (AUX/IAA)*和*Crown Root Less 1 (CRL1)*的基因序列,设计各基因的扩增引物,以玉米*Actin*基因作为内参,定量分析各基因的相

对表达量。引物设计序列见表1。

分别取转基因和野生型玉米植株相同部位的根0.1 g, 提取总RNA, 参照ABI公司说明反转录为cDNA。以玉米*Actin*作为内参基因, 利用SYBR Green 实时定量PCR染料法分别对相关基因的表达进行分析。参照ABI公司的仪器使用说明, 按照

$\Delta\Delta C_T$ 法计算和分析各基因的表达水平。Real-time PCR的反应体系为20  $\mu$ L, 含Power SYBR Green PCR Master Mix (2 $\times$ ) 10  $\mu$ L、引物各1.0  $\mu$ L、cDNA 4  $\mu$ L和ddH<sub>2</sub>O 4.0  $\mu$ L。扩增条件为: 95  $^{\circ}$ C 10 min; 95  $^{\circ}$ C 15 s; 60  $^{\circ}$ C 1 min, 40个循环。每个样品取样3次, 每次设置3个重复。

表1 根系生长相关基因的real-time PCR引物序列

Table 1 Primers sequence of root growth-related genes for real-time PCR

基因	GenBank登录号	引物名称	引物序列(5'→3')
<i>PLT1</i>	NM_001154063.1	上游引物	TCGGGCAAAGGACCTCTAT
		下游引物	GCCCTTCCCTTCTACAACACTATTATC
<i>PIN1</i>	DQ836240.1	上游引物	TCTGCTTCAGGTCCGTA
		下游引物	CCGTACCGCTACTCTACT
<i>WOX11</i>	BT087786.1	上游引物	TACTGATCCTCGAGTCCATCTT
		下游引物	GGTCTGGAACCAGTAGAAGAC
<i>ARR2</i>	AB060130.1	上游引物	GTGGCGATCCTTCTACATCAA
		下游引物	TGGAACAGCTTTGTCTATCCC
<i>ARR1</i>	EU975545.1	上游引物	CATGAACCGCAGCTCAAATG
		下游引物	GTCTTGAGCTAACTCCCATAGC
<i>AUX/IAA</i>	XM_008656920.1	上游引物	CATGGTGTGCCCTTACTTATC
		下游引物	AAGCAGAAGCACAAGAGGAG
<i>CRL1</i>	NM_001112563.1	上游引物	TCTTCGCGCCCTACTTCT
		下游引物	CAGCTTGGACACGTTGCT
<i>Actin</i>	J01238.1	上游引物	GTATGTTGCTATCGAGGCTGTTC
		下游引物	TCATTAGGTGGTCGGTGAGGTC

## 实验结果

### 1 干旱胁迫下转酵母*TPS1*基因玉米的根系生长

前期研究发现非胁迫条件下不能启动*TPS1*表达(Liu等2014), 这是由于启动子为逆境诱导型启动子*rd29A* (朱丽萍等2010)。本文结果显示, 干旱胁迫前转酵母*TPS1*基因玉米与野生型玉米植株及其根系未有显著差异(图2-A和B), 干旱胁迫后的转酵母*TPS1*基因玉米较野生型根长增加了79.3%, 根直径增加了13.3% (图2-C和D)。主根数差异不显著, 但是转酵母*TPS1*基因玉米的一级侧根数比野生型玉米增加了3.4倍; 野生型玉米没有二级侧根, 而转酵母*TPS1*基因玉米具有明显的二级侧根, 其平均值为1.5根(表2)。另外, 转酵母*TPS1*基因玉米根系总吸收面积增加了51.2%, 活跃吸收面积增加了50.8%, 比表面积增加了15.7%, 根系活力也增加了18.6% (表2)。以上研究结果表明在干旱胁迫下转基因玉米的根系更为发达, 具有抗性优势。

### 2 干旱胁迫下转酵母*TPS1*基因玉米根系细胞的变化

通过对干旱胁迫后的转基因和野生型玉米根系组织切片观察发现, 转基因玉米根系细胞纵向长度(图3-A和B)和横向长度(图3-C和D)均增加。与野生型相比, 转酵母*TPS1*基因玉米的根系细胞纵向长度和横向长度分别增加了43.1% (图4-A)和44.0% (图4-B)。这表明干旱胁迫下转酵母*TPS1*基因玉米的根系细胞较野生型显著增大。

### 3 干旱胁迫下转酵母*TPS1*基因玉米的根系生长素和细胞分裂素的含量

通过测定干旱胁迫下转基因与野生型玉米根系的生长素、细胞分裂素含量发现, 转基因玉米根系的生长素含量为2.03  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 较野生型提高了35.7% (图5-A); 而转基因玉米根系的细胞分裂素含量为26.95  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 较野生型下降了26.5% (图5-B)。

### 4 干旱胁迫下转酵母*TPS1*基因玉米的根系生长相关基因的表达分析

对转基因与野生型玉米进行基因表达分析



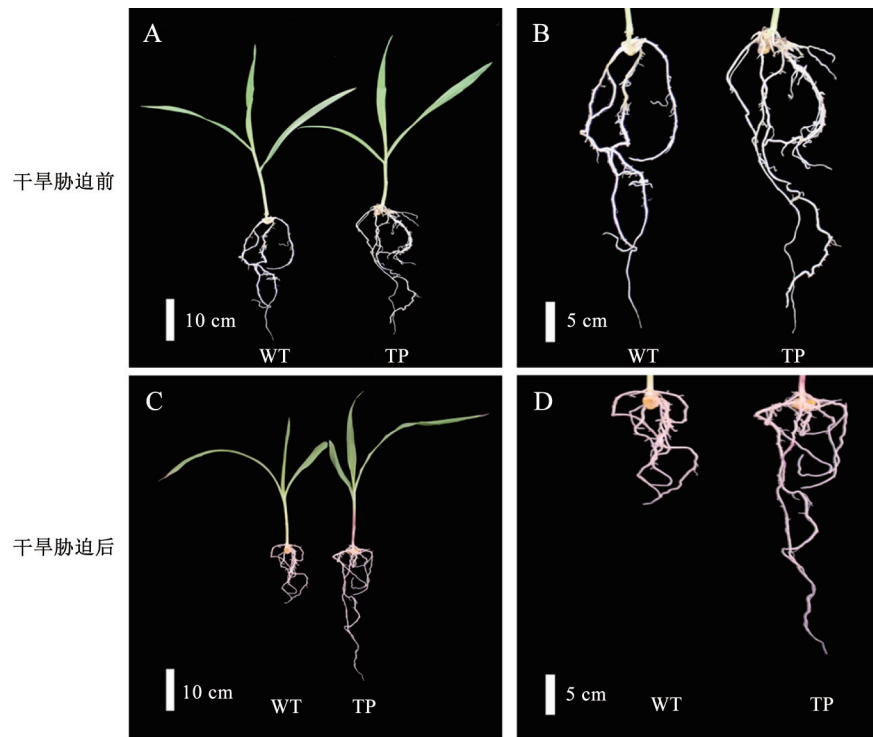


图2 干旱胁迫前后野生型与转基因玉米植株及其根系的比较

Fig.2 Comparison of roots and plantlets in wild-type and transgenic maize before and after drought stress

A和B: 干旱胁迫前野生型与转基因玉米的植株和根系; C和D: 干旱胁迫后野生型与转基因玉米的植株和根系。WT: 野生型玉米; TP: 转酵母TPSI基因玉米。

表2 干旱胁迫下野生型与转基因玉米的根系指标

Table 2 Root indexes of wild-type and transgenic maize under drought stress

玉米	平均根长/ cm	根直径/ mm	主根数/ 个	一级侧根 数/条	二级侧根 数/个	总吸收 面积/m <sup>2</sup>	活跃吸收 面积/m <sup>2</sup>	比表面积/ m <sup>2</sup> ·cm <sup>-3</sup>	根系活力/ mg·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>
野生型	5.8±1.07	0.90±0.06	9.8±1.03	5.9±1.49	0	1.27±0.004	0.63±0.002	1.27±0.004	0.059±0.001
转基因	10.4±1.45**	1.02±0.06**	11.1±1.73	20.1±4.88**	1.5±0.53**	1.92±0.010**	0.95±0.004**	1.47±0.291**	0.070±0.001**

\*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ 。下图同此。

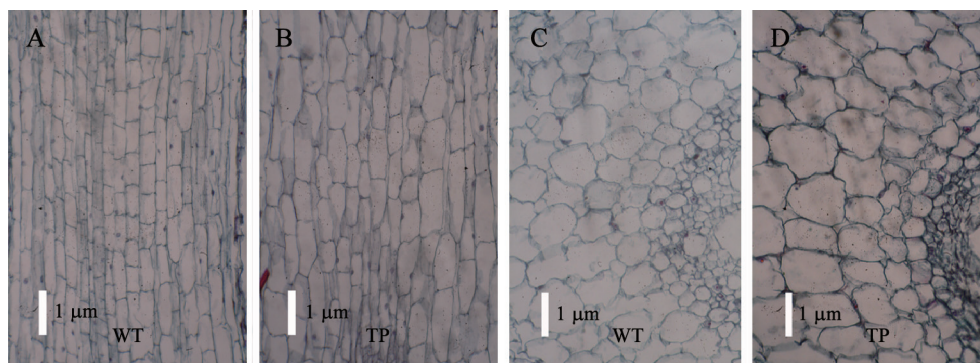


图3 干旱胁迫下野生型与转基因玉米的根系组织切片

Fig.3 Root tissue slices of wild-type and transgenic maize under drought stress

A和B: 根系细胞纵向切片; C和D: 根系细胞横向切片。WT: 野生型玉米; TP: 转酵母TPSI基因玉米。

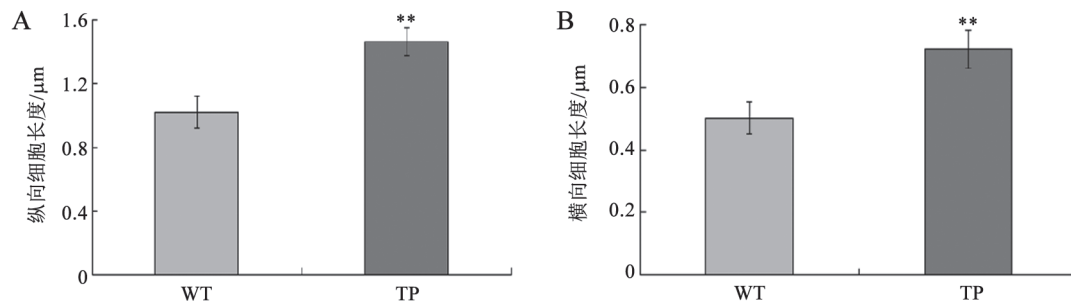


图4 干旱胁迫下野生型与转基因玉米的根系细胞长度

Fig.4 Root cell length of wild-type and transgenic maize under drought stress

WT: 野生型玉米; TP: 转酵母*TPS1*基因玉米。下图同此。

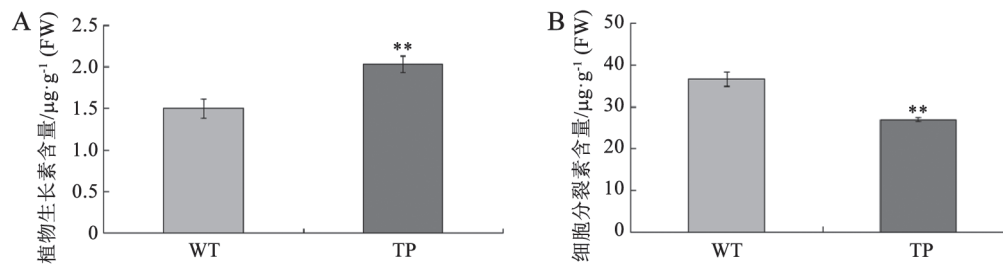


图5 干旱胁迫下野生型与转基因玉米的根系生长素和细胞分裂素的含量

Fig.5 Contents of auxin and cytokinin of wild-type and transgenic maize roots under drought stress

(图6)发现, 生长素调控的促进根系生长的相关基因*PLT1*、*PIN1*、*AUX/IAA*和*CRL1*表达量较野生型均显著升高, 其中*PLT1*基因表达量是野生型的2.8倍, *PIN1*基因表达量是野生型的1.5倍, *AUX/IAA*基因表达量是野生型的4.4倍, *CRL1*基因表达量是野

生型的2.0倍。而细胞分裂素调控的抑制根系生长的相关基因*WOX11*、*ARR2*和*ARR1*表达量较野生型均显著降低, 其中*WOX11*基因表达量比野生型下降了20.8%, *ARR2*基因表达量比野生型下降了59.7%, *ARR1*基因表达量比野生型下降了90.3% (图6)。

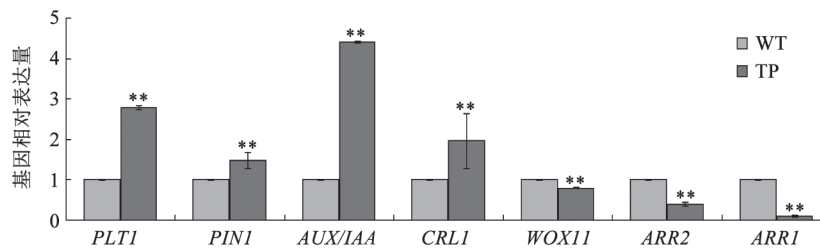


图6 干旱胁迫下转基因玉米的根系生长相关基因表达

Fig.6 Expression of root growth-related genes of transgenic maize under drought stress

## 讨 论

培育高产抗旱品种通常需要寻找植物抗旱性的指标与鉴定方法来指导高产抗旱品种的培育(韩金龙等2010), 有研究报道, 根长、侧根数和根系活力均可作为植物抗旱性的生理指标(陈立松和刘星

辉1997)。此外, 李德顺等(2010)在研究玉米根系抗旱性后得出了总吸收面积、活跃吸收面积和根系活力可以作为抗旱性鉴定的参考指标的结论。之前研究表明由于启动子为逆境诱导型启动子*rd29A*, 在非胁迫条件下不表达, 干旱条件下驱动

*TPSI*基因表达,在干旱前未能检测到*TPSI*表达和海藻糖含量(Liu等2014),因此需要在干旱胁迫处理后进行实验。本文结果发现干旱胁迫前,转基因玉米与野生型玉米的植株及其根系表型未有显著差异。在干旱胁迫后,转基因玉米的根长和直径较野生型玉米极显著增加。转基因玉米的一级侧根数比野生型玉米的增加了3倍多,转基因玉米的二级侧根数也是极显著高于野生型玉米。另外转基因玉米的总吸收面积、活跃吸收面积、比表面积和根系活力极显著增加,因此可促进根系向下扎以寻求水源,减轻干旱胁迫对地上部生长的抑制程度,并可促进干旱胁迫复水后的补偿生长(齐健等2006)。同时对根系组织切片观察发现转酵母*TPSI*基因玉米植株的根系细胞较大,细胞纵向和横向显著拉长。根系细胞的增大有利于增大其表面积,能够扩大与水分的接触面积,有利于水分的吸收。综合以上研究表明,转基因玉米比野生型抗旱的可能原因之一是转酵母*TPSI*基因玉米的根系比野生型更具有抗旱优势。在干旱胁迫后,转酵母*TPSI*基因的玉米抵御干旱胁迫能力更强。

干旱胁迫后,转酵母*TPSI*基因玉米根系生长素含量较野生型增加,而细胞分裂素含量则较野生型减少。与野生型玉米相比,转酵母*TPSI*基因玉米的植物生长素的含量比野生型提高了35.7%,这与植物生长素含量提高能够增强植物抗旱性的结果相一致(Pustovoitova等2004)。同时,转酵母*TPSI*基因玉米的植物细胞分裂素含量比野生型下降了26.5%。Werner等(2010)在拟南芥和烟草中研究发现根系中细胞分裂素的减少能够促进根系生长、提高植物抗旱性,因此根系生长和抗旱性提高可能也是由于细胞分裂素含量的减少所引起的。

在对根系生长相关基因进行基因相对表达分析发现,生长素调控的促进根系生长的基因*PLT1*、*PIN1*、*AUX/IAA*、*CRL1*较野生型表达上调,而细胞分裂素调控的抑制根系生长的基因*WOX11*、*ARR2*、*ARR1*较野生型表达下调。这表明含量增加的生长素促进根系生长,而含量减少的细胞分裂素也促进了根系生长,这些基因的表达水平与Coudert等(2010)的研究相一致。*TPSI*基因可能通过抑制糖酵解途径来促进糖的生成(Eastmond等2003);而生成的糖则可以通过依赖色氨酸

的生长素合成途径(LeClere等2010)来影响生长素的合成,同时,也可以通过细胞分裂素从头合成途径(Albacete等2014)来影响细胞分裂素的合成,对此还有待于深入研究。因此,*TPSI*基因可能影响了生长素和细胞分裂素的含量,含量增加的生长素促进了正控根系生长基因的表达,含量降低的细胞分裂素抑制了负控根系生长基因的表达,这些基因的表达促进了玉米根系生长。综合表明干旱胁迫下转酵母*TPSI*基因玉米发达的根系可能是其抵御干旱的原因之一。

### 参考文献

- 陈立松,刘星辉(1997). 作物抗旱鉴定指标的种类及其综合评价. 福建农业大学学报, 26 (1): 48~55
- 高俊凤(2006). 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 57~61
- 韩金龙,王同燕,徐子利,徐立华,徐相波,邢燕菊,阴卫军(2010). 玉米抗旱机理及抗旱性鉴定指标研究进展. 中国农学通报, 26 (21): 142~146
- 胡瑞法, Meng Erika CH, 张世煌, 石晓华(2004). 采用参与式方法评估中国玉米研究的优先序. 中国农业科学, 37 (6): 781~787
- 李德顺,刘芳,马永光(2010). 玉米根系与抗旱性关系研究. 杂粮作物, 30 (3): 195~197
- 李和平(2006). 植物显微技术. 北京: 农业出版社, 9~24
- 刘桂红,王珏,杜金哲,管延安(2013). 谷子萌芽期抗旱性鉴定研究. 中国农学通报, 29 (3): 86~91
- 慕自新,张岁岐,郝文芳,梁爱华,梁宗锁(2005). 玉米根系形态性状和空间分布对水分利用效率的调控. 生态学报, 25 (11): 2895~2900
- 齐健,宋凤斌,刘胜群(2006). 苗期玉米根叶对干旱胁迫的生理响应. 生态环境, 15 (6): 1264~1268
- 王一,曹敏建,李春红,王德权,张立楠(2011). 模拟干旱对不同耐性玉米自交系幼苗根系和水分利用效率的影响. 作物杂志, 6: 50~52
- 吴妍,张岁岐,刘小芳,山仑(2010). 水分胁迫及复水条件下外源 $Ca^{2+}$ 对玉米幼苗根系水力导度及生长的影响. 作物学报, 36 (6): 1044~1049
- 弋良朋,马健,李彦(2006). 盐胁迫对3种荒漠盐生植物苗期根系特征及活力的影响. 中国科学D辑: 地球科学, 36 (增刊II): 86~94
- 朱丽萍,于壮,邹翠霞,李秋莉(2010). 植物逆境相关启动子及功能. 遗传, 32 (3): 229~234
- Albacete AA, Martínez-Andújar C, Pérez-Alfocea F (2014). Hormonal and metabolic regulation of source-sink relations under salinity and drought: from plant survival to crop yield stability. Biotechnol Adv, 32 (1): 12~30
- Coudert Y, Périn C, Courtois B, Khong NG, Gantet P (2010). Genetic control of root development in rice, the model cereal. Cell, 4 (15): 219~226
- Eastmond PJ, Li Y, Graham IA (2003). Is trehalose-6-phosphate a regulator of sugar metabolism in plants. J Exp Bot, 54 (382): 533~537

- Elbein AD, Pan YT, Pastuszek I, Carroll D (2003). New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiology*, 13 (4): 17R~27R
- Ge LF, Chao DY, Shi M, Zhu MZ, Gao JP, Lin HX (2008). Overexpression of the trehalose-6-phosphate phosphatase gene *OsTPPI* confers stress tolerance in rice and results in the activation of stress responsive genes. *Planta*, 228 (1): 191~201
- Khoury CK, Bjorkman AD, Dempewolf H, Julian RV, Luigi G, Andy J, Loren HR, Paul CS (2014). Increasing homogeneity in global food supplies and the implications for food security. *Proc Nat Acad Sci USA*, 111 (11): 4001~4006
- LeClere S, Schmelz EA, Chourey PS (2010). Sugar levels regulate tryptophan-dependent auxin biosynthesis in developing maize kernels. *Plant Physiol*, 153 (1): 306~318
- Liu YB, Han LZ, Qin LJ, Zhao DG (2014). *Saccharomyces cerevisiae* gene *TPS1* improves drought tolerance in *Zea mays* L. by increasing the expression of *SDD1* and reducing stomatal density. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 119 (1): 1~11
- Paul MJ, Primavesi LF, Jhurrea D, Zhang Y (2008). Trehalose metabolism and signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 417~441
- Pustovoitova TN, Zhdanova NE, Zholkevich VN (2004). Changes in the levels of IAA and ABA in cucumber leaves under progressive soil drought. *Russ J Plant Physiol*, 51 (4): 513~517
- Rodríguez-Salazar J, Suárez R, Caballero-Mellado J, Iturriaga G (2009). Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize. *FEMS Microbiol Lett*, 296 (1): 52~59
- Suárez R, Wong A, Ramírez M, Barraza A, Orozco MDC, Cevallos MA, Lara M, Hernández G, Iturriaga G (2008). Improvement of drought tolerance and grain yield in common bean by overexpressing trehalose-6-phosphate synthase in rhizobia. *Mol Plant Microbe In*, 21 (7): 958~966
- van Dijken AJ, Schlupepmann H, Smeekens SC (2004). *Arabidopsis* trehalose-6-phosphate synthase1 is essential for normal vegetative growth and transition to flowering. *Plant Physiol*, 135 (2): 969~977
- van Houtte H, Vandesteene L, López-Galvis L, Lemmens L, Kissel E, Carpentier S, Feil R, Avonce N, Beeckman T, Lunn JE et al (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 Physiol*, 161 (3): 1158~1171
- Werner T, Nehnevajova E, Köllmer I, Novák O, Strnad M, Krämer U, Schmölling T (2010). Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and tobacco. *Plant Cell*, 22 (12): 3905~3920
- Yeo ET, Kwon HB, Han SE, Lee JT, Ryu JC, Byu MO (2000). Genetic engineering of drought resistant potato plants by introduction of the trehalose-6-phosphate synthase (*TPS1*) gene from *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cells*, 10 (3): 263~268
- Yu H, Chen X, Hong YY, Wang Y, Xu P, Ke SD, Liu HY, Zhu JK, David JO, Xiang CB (2008). Activated expression of an *Arabidopsis* HD-START protein confers drought tolerance with improved root system and reduced stomatal density. *Plant Cell*, 20: 1134~1151