

· 专题论坛 ·

植物NAD(P)⁺的生物合成及其生物学功能研究进展

胡海涛^{*}, 武越, 杨玲^{*}

浙江师范大学生命科学学院, 金华 321004

摘要 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP⁺)是植物核心能量代谢、生长发育以及胁迫应答的整合者, 可直接或间接影响多种关键的细胞功能。作为细胞代谢的基石, 胞内NAD(P)⁺稳态对于维持植物正常能量代谢、生长发育和胁迫应答至关重要。NAD(P)⁺的合成受损或缺乏将引发植物细胞代谢紊乱和一系列缺陷表型, 严重时甚至导致植物死亡。目前, 植物中NAD(P)⁺的合成途径及其关键酶已比较明确, 但其在植物体内的稳态调控以及协调植物生长与胁迫应答的机制尚不清楚。因此, 研究植物细胞内NAD(P)⁺稳态的调节机制及其平衡植物生长与胁迫应答的分子机理具有重要意义。该文综述了植物NAD(P)⁺的生物合成代谢途径, 重点阐述了NAD(P)⁺参与调节植物生长发育和胁迫应答过程, 并展望了植物NAD(P)⁺的研究前景。

关键词 NAD⁺, NADP⁺, 生物合成, 生物学功能

胡海涛, 武越, 杨玲 (2025). 植物NAD(P)⁺的生物合成及其生物学功能研究进展. 植物学报 **60**, 114–131.

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)是一种吡啶核苷酸类辅酶, 是所有生命体必需的基础生命分子之一。NAD⁺于1个世纪前被发现, 并被认为是维持生物体正常代谢的基石, 在调控细胞核心能量代谢中发挥至关重要的作用(Gakière et al., 2018)。NAD⁺由烟酰胺单核苷酸(nicotinamide mononucleotide, NMN)和单磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP)经焦磷酸连接而成, 其分子式为C₂₁H₂₇N₇O₁₄P₂。NAD⁺分子结构(图1)中的NMN基团是其生化功能的主要承担者, 在氧化还原反应中发挥传递电子和氢离子的作用, AMP则负责NAD⁺与酶活性中心的结合。NADH为NAD⁺的还原态, NAD⁺与NADH之间的相互转化主要通过NAD⁺依赖的脱氢酶参与细胞内的分解代谢反应。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP⁺)是NAD⁺的磷酸化衍生物, 其还原态NADPH是氢离子和电子的重要供体, 主要用于需要还原力的生物合成和氧化应激反应。调节植物细胞内NAD(H)与NADP(H)的平衡对于细胞代谢稳态和植物正常生长至关重要, NAD(H)与NADP(H)的转换

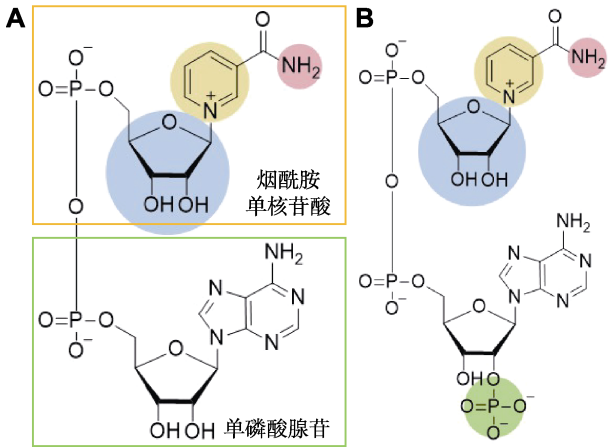


图1 NAD(P)⁺的分子结构
(A) NAD⁺; (B) NADP⁺

Figure 1 Molecular structure of NAD(P)⁺
(A) NAD⁺; (B) NADP⁺

使得植物能够根据生长发育的需求灵活地调节能量产生和物质合成(Gakière et al., 2018)。

近年来, NAD(P)⁺消耗酶及其非氧化还原功能的重要性被解析, 重新激发了人们对NAD(P)⁺代谢途径的研究兴趣。作为一些非氧化还原酶的底物, NAD⁺

收稿日期: 2024-09-19; 接受日期: 2024-10-30

基金项目: 浙江省自然科学基金(No.LY19C130003)

^{*} 通讯作者。E-mail: haitao-hu@zjnu.cn; yangling@zjnu.cn

参与Toll/白细胞介素-1受体(toll/interleukin-1 receptor, TIR)结构域蛋白介导的免疫反应、沉默信息调节因子(silent information regulator, SIRT)介导的蛋白脱乙酰化反应、聚ADP核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)介导的DNA修复以及RNA 5'端NAD⁺-加帽修饰等, 这赋予NAD⁺参与表观调控、细胞信号转导和基因表达调控的新角色, 并将NAD(P)⁺与植物生长发育和胁迫响应等重要生物学过程联系起来(Briggs and Bent, 2011; Wu et al., 2016; Wan et al., 2019; Wang et al., 2019b)。NAD(P)⁺基于其在植物细胞内含量的稳态维持行使功能。虽然NAD(P)⁺在氧化还原反应中作为电子载体通常不会导致其降解, 但体内NAD⁺消耗酶的活动需要NAD⁺分子的持续产生, 其稳态的改变严重影响植物的生长发育及胁迫应答(Hashida et al., 2009)。植物细胞通过严密调节合成与代谢来维持胞内NAD(P)⁺的稳态。目前, 有关植物中NAD(P)⁺的合成途径及功能研究主要集中在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*), 重点研究了NAD(P)⁺的合成途径及其生物学功能, 而其在细胞内转运和代谢的调控机制及调控植物生长发育和防御响应的分子机制尚不十分清晰。本文综述了NAD⁺的生物合成途径及其生物学功能, 重点阐述NAD⁺在维持细胞氧化还原稳态、调控植物生长发育和胁迫响应等生物学过程中的作用, 并对植物NAD⁺研究存在的问题进行了思考和展望。

1 植物中NAD(P)⁺的合成途径

NAD⁺是控制细胞代谢稳态的中枢分子, 但胞内NAD⁺消耗酶使得NAD⁺不断被消耗。为维持细胞内NAD⁺含量的稳态, 生物体进化出从头合成和补救合成2条NAD⁺合成途径(图2)。根据起始底物的不同, NAD⁺从头合成途径分为天冬氨酸途径和犬尿戊酸途径。哺乳动物和真菌采用起始于色氨酸的犬尿戊酸途径(图2, 蓝色箭头), 经5步酶促反应和1步非酶促反应生成喹啉酸(quinolinate, QA); 植物和大多数细菌则通过天冬氨酸途径合成NAD⁺ (图2, 红色箭头)。拟南芥NAD⁺从头合成途径的前3步在质体中进行, 分别由天冬氨酸氧化酶(aspartate oxidase, AO)、喹啉酸合酶(quinolinate synthase, QS)和喹啉酸磷酸核糖转移酶(quinolinate phosphoribosyltransferase, QPT)催化,

后2步反应在细胞质中由烟酸单核苷酸腺苷酸转移酶(nicotinate mononucleotide adenylyltransferase, NaMAT)和NAD⁺合成酶(NAD⁺ synthetase, NADS)催化完成。首先, 质体中的天冬氨酸在AO和QS催化下生成QA, QA在QPT催化下生成烟酸单核苷酸(nicotinate mononucleotide, NaMN), NaMN转移至细胞质后经NaMAT催化生成烟酸腺嘌呤二核苷酸(adenine dinucleotide, NaAD), 最后NaAD经NADS催化形成NAD⁺ (图2)。拟南芥的AO、QS、QPT和NaMAT均为单基因编码的蛋白酶, 它们的T-DNA插入突变会严重影响NAD⁺的合成, 导致植株发育缺陷或胚胎致死表型(Katoh et al., 2006; Hashida et al., 2007)。AO是拟南芥NAD⁺从头合成途径的限速酶, 过表达AO转基因植株NAD⁺含量增加(Hao et al., 2018), 而过表达QPT仅在提供QA时才能提高植株NAD⁺含量(Pétiacq et al., 2012)。由于AO、QS和QPT在质体中发挥作用, 而NMNAT (nicotinate/nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase)在细胞质中发挥作用, 因此推测NAD⁺的生物合成速率在质体中调节, 而在细胞质中合成的NAD⁺则被运输到各种亚细胞器行使功能(Feitosa-Araujo et al., 2020)。NADP⁺由NAD⁺激酶(NAD kinase, NADK)经催化NAD⁺与ATP合成, NADK是目前已知植物细胞内催化合成NADP⁺的唯一酶, 而NADP⁺又可被NADP⁺磷酸酶逆转去磷酸化形成NAD⁺, 它们共同调控植物细胞内NAD⁺与NADP⁺的平衡(Li et al., 2014)。拟南芥中有3个NADK编码基因, NADP⁺的合成由各组织特异表达的AtNADKs根据需求执行功能, AtNADKs功能受损将影响植物细胞氧化还原平衡、生物和非生物胁迫响应以及生长发育(Li et al., 2014)。

由于NAD⁺在细胞代谢中的核心作用, 植物还可利用补救途径维持胞内NAD⁺水平, 该途径通过回收利用NAD⁺的代谢产物烟酰胺(nicotinamide, NAM)重新合成NAD⁺。植物NAD⁺补救合成途径由4步酶催化反应组成。首先NAM在尼克酰胺脱氨酶(nicotinamidase, NIC)的催化下生成尼克酸(nicotinate, NA), 然后尼克酸磷酸核糖转移酶(nicotinate phosphoribosyltransferase, NaPRT)催化NA生成NaMN, 重新进入从头合成途径, 随后NaMN经NaMAT和NADS催化生成NAD⁺。NAD⁺的补救合成途径在维持植物细胞NAD⁺稳态中发挥不可或缺的作用, 尤其是代谢旺盛的植物

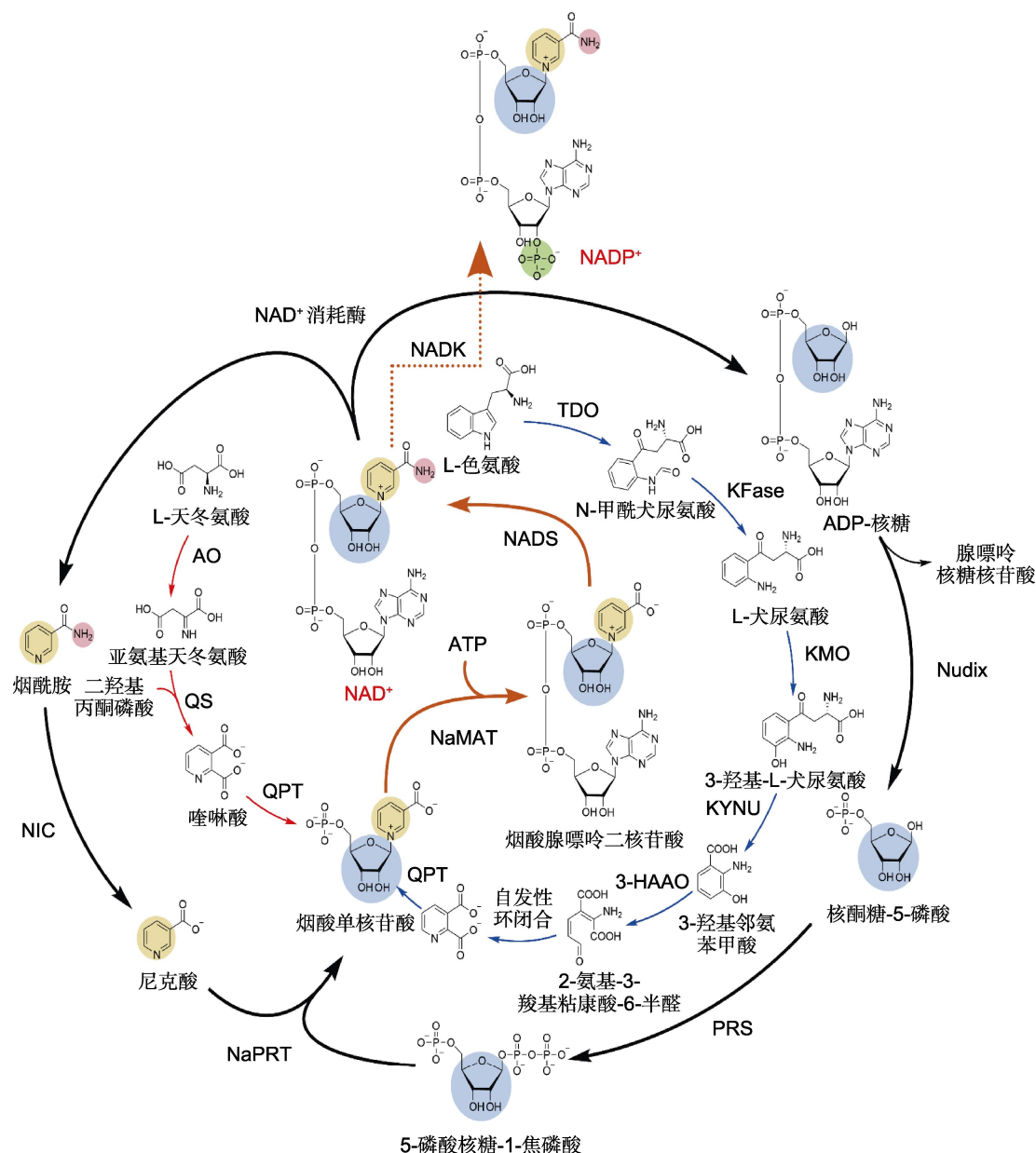


图2 植物NAD(P)⁺生物合成途径

植物及细菌中NAD(P)⁺的从头合成途径(红色箭头)、补救途径(黑色箭头)及这两种合成途径共有步骤(橘黄色箭头)。AO: 天冬氨酸氧化酶; QS: 喹啉酸合成酶; QPT: 喹啉酸磷酸核糖转移酶; NaMAT: 烟酸单核苷酸腺苷酸转移酶; NADS: NAD⁺合成酶; NADK: NAD⁺激酶; NIC: 尼克酰胺脱氢酶; NaPRT: 尼克酸磷酸核糖转移酶; Nudix: 核甘二磷酸衍生物水解酶; PRS: 5-磷酸核糖-1-焦磷酸合成酶。哺乳动物和真菌中NAD(P)⁺的从头合成途径(蓝色箭头)。TDO: 色氨酸-2,3-双加氧酶; KFase: 犬尿氨酸甲酰胺酶; KMO: 犬尿氨酸-3-单加氧酶; KYNU: 犬尿氨酸酶; 3-HAAO: 3-羟基邻氨基苯甲酸3,4-双加氧酶

Figure 2 NAD(P)⁺ biosynthesis pathways in plants

The *de novo* biosynthesis pathway (red arrows) and the salvage pathway (black arrows) of NAD(P)⁺ in plants and bacteria, and steps that are shared by these two synthesis pathways (orange arrows). AO: Aspartate oxidase; QS: Quinolinate synthase; QPT: Quinolinate phosphoribosyltransferase; NaMAT: Nicotinate mononucleotide adenyltransferase; NADS: NAD⁺ synthetase; NADK: NAD⁺ kinase; NIC: Nicotinamide dehydrogenase; NaPRT: Nicotinate phosphoribosyltransferase; Nudix: Nudix hydrolase; PRS: 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate synthetase. The *de novo* biosynthesis pathway of NAD(P)⁺ in mammals and fungi (blue arrows). TDO: Tryptophan-2,3-dioxygenase; KFase: Kynurenine formamidase; KMO: Kynurenine-3-monooxygenase; KYNU: Kynureninase; 3-HAAO: 3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase

组织以及响应胁迫时, 编码该途径的关键酶基因突变导致植物体内NAD⁺水平显著降低及发育异常, 并降低胁迫耐受性(Wu et al., 2016; Ahmad et al., 2021)。此外, 由于以NA为底物的NaPRT是NAD⁺补救合成途径的限速酶, 导致植物细胞内积累一定浓度的NA, 而NA的高积累对植物细胞产生毒害。植物主要通过NA的氮位、羧基位的甲基化和糖基化修饰来解除NA的毒性, 并参与调控胁迫下NAD⁺的补救合成(Li et al., 2015, 2017; Wu et al., 2018)。另外, NAD(P)H可自发或通过酶促反应形成无活性的NAD(P)HX水合物, 这些水合物的积累将抑制多种依赖NAD(P)H的脱氢酶的活性。植物利用胞内NAD(P)HX脱水酶和NAD(P)HX差向异构酶将NAD(P)HX重新转化为有活性的NAD(P)H (Colinas et al., 2014)。

2 NAD(P)⁺的亚细胞分布与运输

NAD(P)⁺根据细胞代谢需求在特定的细胞器或区室内富集, 其功能与NAD(P)⁺池的亚细胞分布密切相关。明确NAD(P)⁺在植物亚细胞结构中的分布是阐明NAD(P)⁺的生物学功能及其生物合成与代谢调控机制的先决条件。植物细胞器内的NAD(P)⁺浓度各不相同, 并受NAD⁺转运体(NAD⁺ transporter, NDT)和NADK调节。NAD⁺是极性很强的分子, 无法自由穿过细胞器膜, 需要借助NDT进行转运。拟南芥NAD⁺转运蛋白AtNDT1和AtNDT2定位于线粒体, 它们具有相似的底物特异性, 可运输NAD⁺进入线粒体, 但不能运输NADH, 而定位于过氧化物酶体的AtPXN转运体具有多种转运功能(Palmieri et al., 2009; de Souza Chaves et al., 2019)。对AtNDT1、AtNDT2和AtPXN转基因突变体的研究表明, NAD⁺转运受阻会改变胞内NAD(P)⁺平衡(Palmieri et al., 2009; de Souza Chaves et al., 2019)。拟南芥NADP⁺的合成是根据每个细胞器的需求进行独立调节, 细胞质和叶绿体中的NADP⁺分别由AtNADK1和AtNADK2催化NAD⁺产生; AtNADK3负责催化过氧化物酶体中NADH合成NADPH。NAD(P)H的主要作用是在叶绿体中充当光合电子传递链的最终电子受体, AtNADK2突变导致叶绿体内NADP⁺水平显著降低, 进而影响光合电子传递(Chai et al., 2005)。植物通过平衡NAD⁺磷酸化与NADP⁺去磷酸化调节细胞内NADP⁺池的大小。另外, NAD(P)⁺池的

大小及其还原氧化形式的比例随环境而变化。有研究发现, 叶绿体NADP⁺池的大小对光照存在动态响应, 光照通过激活NADK磷酸化NAD⁺来增大叶绿体中的NADP⁺池, 而黑暗则通过激活NADP⁺磷酸酶减小叶绿体NADP⁺池(Fukuda et al., 2023)。

NAD(P)(H)的浓度以及NAD(P)H/NAD(P)⁺在不同组织细胞和亚细胞区室内存在很大差异, 对植物体细胞各区室内NAD(P)(H)的量化检测是阐明其调控机制的关键。目前, 检测植物细胞内NAD(P)⁺水平及NAD(P)H/NAD(P)⁺在技术上具有挑战性。通常情况下, 通过全细胞提取物的生化分析来确定胞内NAD(P)(H)水平及氧化还原状态, 这种检测技术无法量化特定细胞区室内NAD(P)(H)水平及NAD(P)H/NAD(P)⁺(Smith et al., 2021)。利用NAD(P)H的自发荧光可对NADH和NADPH进行检测, 但无法排除细胞内其它成分自发荧光的干扰。即使在可测量NAD(P)H自发荧光的系统中, 线粒体中的NAD(P)H也会主导细胞信号, 从而阻碍评估其它细胞区室内NAD(P)H的动态水平, 因此限制了该方法的应用(Steinbeck et al., 2020)。近年来, 几种基于遗传编码荧光探针的检测方法为植物细胞内NAD(P)⁺的动态检测提供了比较理想的解决方案。这些方法可以实时且非破坏性地测量特定代谢物的动态变化, 与其它方法相比, 时间和空间分离度更高(Steinbeck et al., 2020; Smith et al., 2021)。但这些方法也存在每次只能测量1个参数且需要基因转化等缺点。

3 NAD⁺消耗

除作为辅酶行使功能外, NAD⁺还作为PARPs、SRTs和TIR结构域蛋白等NAD⁺消耗酶的底物参与调控细胞生命活动, 这些酶在植物细胞代谢中发挥关键作用。

3.1 TIR受体结构域蛋白引起的NAD⁺消耗

TIR受体结构域蛋白在生命体中普遍存在, 其主要生物学功能是介导免疫反应和细胞死亡。作为组装先天性免疫信号蛋白复合物的支架, 含TIR结构域的蛋白具有水解切割NAD⁺的酶催化活性, 可切割NAD⁺或NADP⁺形成ADP-核糖(ADP-ribose, ADPR)、环化ADP-核糖(cyclic ADP-ribose, cADPR)和NAM (Wan et al., 2019; Jia et al., 2023)。植物中TIR蛋白通常作

为其特异性免疫受体NLR (nucleotide-binding leucine-rich repeats receptor)的一个结构域存在, N端具有TIR结构域的NLR免疫受体感知病原体效应物后, 利用TIR的NAD⁺酶活性裂解NAD⁺产生的信号分子, 用于免疫信号传递。典型的植物TIR-NLR受体蛋白识别病原菌效应因子后, 发生寡聚化形成一个NAD⁺水解全酶, 水解NAD⁺产生ADPR、cADPR以及cADPR异构体(variant of cyclic ADP-ribose, v-cADPR)等核苷类免疫信号分子活性, 进而激活植物抗性反应(Song et al., 2024)。近年来, 对TIR受体结构域蛋白的研究明确了NAD⁺代谢物在植物免疫信号转导中的核心作用(Wan et al., 2019; Jia et al., 2023; Song et al., 2024)。

3.2 PARPs引起的NAD⁺消耗

蛋白的ADP-核糖化修饰广泛存在于生物体, 是一种以NAD⁺为底物、将NAD⁺裂解产生的ADP-核糖基团共价转移到受体蛋白翻译后的可逆修饰方式, 该修饰过程在调节植物生长发育和胁迫应答中发挥重要作用(Briggs and Bent, 2011; Spechenkova et al., 2023)。蛋白的聚ADP-核糖化修饰由NAD⁺依赖的PARPs催化; 同时被修饰蛋白上的ADP-核糖链可被聚ADP-核糖水解酶(poly ADP-ribose glycohydrolases, PARGs)移除。聚ADP-核糖化修饰是最早被阐明与DNA损伤修复和染色质重塑相关的蛋白质翻译后修饰(Briggs and Bent, 2011)。当DNA受损时, PARP1会迅速结合到受损部位, 通过打开其NAD⁺结合口袋激活酶反应; 然后PARP1利用NAD⁺在DNA断裂附近的蛋白质上进行ADP-核糖基化, 从而启动修复DNA的信号级联反应。由于PARPs过度激活会导致NAD⁺大量消耗, 影响糖酵解、三羧酸循环以及氧化还原平衡等代谢过程, 严重时导致细胞死亡, 因此植物体内的蛋白聚ADP-核糖基化修饰水平受到严格控制(Munk et al., 2023)。拟南芥基因组中有3个典型的PARPs编码基因, 即*AtPARP1*、*AtPARP2*和*AtPARP3*。体外实验以及拟南芥原生质体表达实验均证明, *AtPARP1*和*AtPARP2*具有多聚ADP-核糖化修饰活性; 而植物中的*AtPARP3*已失去聚ADP-核糖聚合酶活性, 可能行使与*AtPARP1*和*AtPARP2*不同的生物学功能(Gu et al., 2019)。此外, 在高等植物中还鉴定出一种特有的含非典型PARP类似结构域的蛋白家族, 称为SROs蛋白。Kong等(2021)发现植物中

SRO2能够直接单ADP-核糖化修饰锌指结构域蛋白SZF1/SZF2以对抗多聚泛素化修饰, 从而维持蛋白的体内稳态。与动物PARPs相比, 目前对植物PARPs的认识还十分有限, PARPs如何利用NAD⁺参与调控植物生长发育和胁迫应答的分子机制还不清楚。

3.3 SRTs引起的NAD⁺消耗

SRTs是一类NAD⁺依赖的蛋白去乙酰化酶, 其去乙酰化机制在基因表达、DNA损伤修复、信号转导、细胞代谢和胁迫应答中发挥重要调控作用。植物中有2种蛋白去乙酰基酶, 即定位于细胞核的SRT1和定位于线粒体的SRT2 (Zheng, 2020)。作为SRTs的底物, 胞内NAD⁺水平对SRTs酶活性影响显著。水稻(*Oryza sativa*) NAD⁺补救合成途径的关键酶基因*OsNaPRT1*突变引发NAD⁺水平降低, 导致*OsSRT1*介导的去乙酰化修饰受到抑制(Wu et al., 2016)。研究表明, 植物SRTs去乙酰化机制影响基因转录、酶活性以及蛋白稳定性(Zheng, 2020; 苏鲁方等, 2023)。AtSRT1通过直接结合开花整合子基因*FT*和*SOC1*的转录起始位点介导组蛋白去乙酰化, 并通过调节下游基因*LFY*的表达负调控其表达(Wang et al., 2024a)。拟南芥AtMBP1在AtSRT1的催化作用下, 其乙酰化修饰水平下降, 稳定性增强(Liu et al., 2017)。OsSRT1对OsGAPDH赖氨酸位点上乙酰基的去除导致OsGAPDH酶活性增强(Zhang et al., 2017)。目前, 对拟南芥和水稻等植物的SRTs结构、分类、去乙酰化机制和生物学功能研究得较为清楚。大量研究表明, SRTs参与调控植物的种子淀粉形成、叶片衰老、幼叶发育及果实生长和成熟等过程(苏鲁方等, 2023), 但SRTs调控植物生长发育和胁迫响应的作用机制, 特别是其下游靶标基因的互作机理尚不十分清楚。

3.4 RNA 5'端NAD⁺帽子修饰

近年来, 在原核和真核生物中发现了一种新的RNA 5'端修饰方式, 即NAD⁺帽子修饰(NAD⁺-capped RNA, NAD-RNA)。越来越多的证据表明, NAD-RNA在生物体内广泛存在, 是一种非常保守的RNA修饰方式(Wang et al., 2019b; Dong et al., 2022)。Wang等(2019b)证实植物细胞中存在NAD-RNA修饰, 他们利用高通量测序阐明了拟南芥细胞中NAD-RNA的种类、丰度及其参与的生物学过程。通过对NAD-RNA

转录基因进行GO功能注释,发现NAD-RNA编码的蛋白主要涉及信号转导、转录、蛋白质翻译及非生物胁迫响应等生物学过程,暗示NAD-RNA可能参与调控植物细胞对外界环境的感应以及细胞内氧化还原状态和能量代谢过程(Wang et al., 2019b)。Dong等(2022)揭示了NAD-RNA广泛存在于水稻中,并在发育过程中呈现时空调节特性,这表明NAD-RNA可能与水稻生长发育和环境适应性有关。目前,NAD-RNA的生物学功能研究仍处于起始阶段,对植物的研究仅限于拟南芥和水稻,有关植物中NAD-RNA的产生机

制、稳定性以及生物学功能还有待进一步探究。最近,Wang等(2024b)发现TIR结构域蛋白具有NAD-RNA脱帽活性,暗示它们在生物体内可能参与NAD-RNA的动态调控。

4 NAD(P)⁺的生物学功能

作为植物细胞内重要的辅酶与核心代谢物,NAD(P)⁺不仅广泛参与细胞的能量代谢,还直接调控TIR-NLRs、PARPs和SRTs等重要酶的限制性底物,影响表观遗传修饰、基因组完整性与信号转导过程(图3),

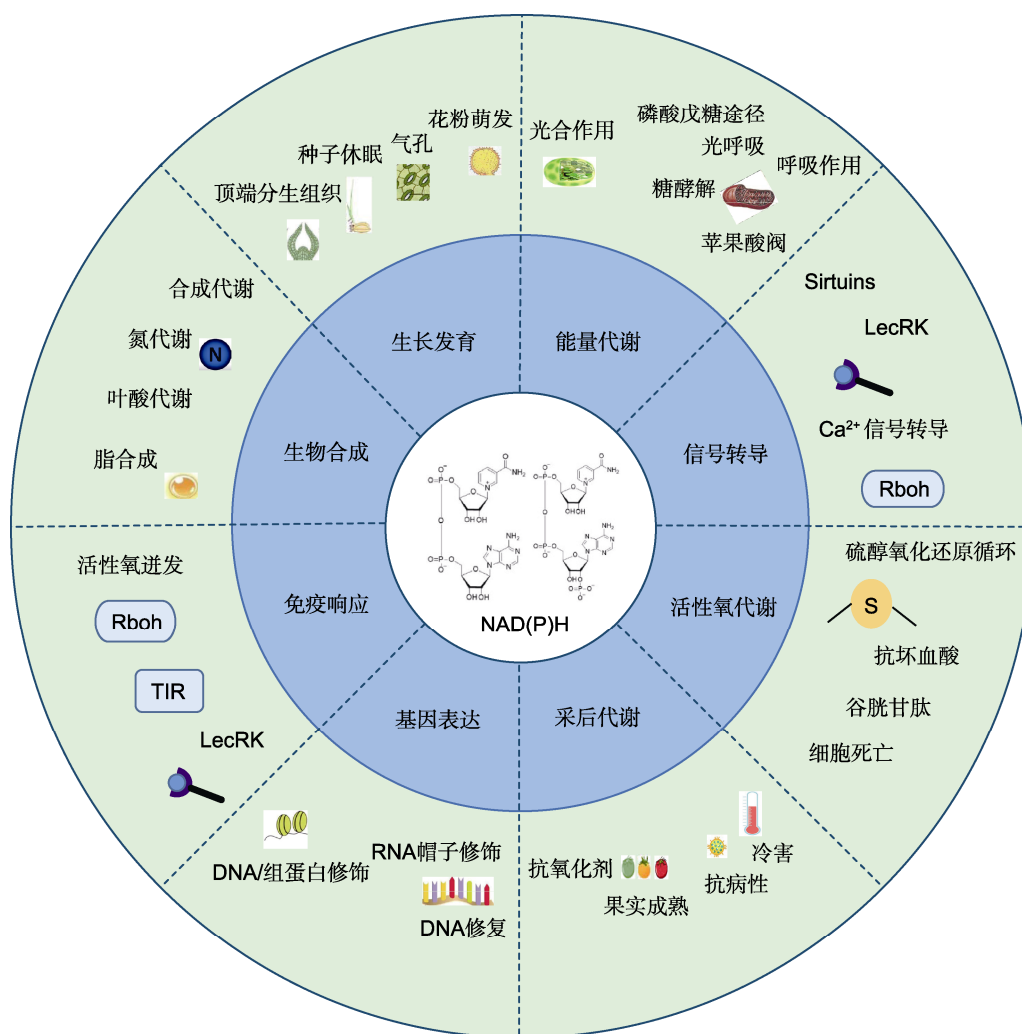


图3 植物中NAD(P)⁺的生物学功能(Smith et al., 2021)

NAD(P)⁺参与调节植物中各种生物学过程,包括生长发育、能量代谢、信号转导、活性氧代谢、采后代谢、基因表达、免疫反应与生物合成等。LecRK: 凝集素受体激酶; TIR: Toll/白细胞介素-1受体; Rboh: 呼吸爆发氧化酶同源物

Figure 3 Biological functions of NAD(P)⁺ in plants (Smith et al., 2021)

NAD(P)⁺ are involved in many aspects of plant biological processes, including growth and development, energy metabolism, signal transduction, reactive oxygen species metabolism, post-harvest metabolism, gene expression, immune response and biosynthesis. LecRK: Lectin receptor kinase; TIR: Toll/interleukin-1 receptor; Rboh: Respiratory burst oxidase homologue

其稳态对于植物的细胞代谢、生长发育、胁迫响应以及采后生理代谢至关重要(Aghdam et al., 2020; Smith et al., 2021)。

4.1 调控植物细胞代谢稳态

植物细胞中的NADP⁺大多分布在叶绿体, 主要作为光合电子传递链的最终电子受体发挥作用, 叶绿体NADP⁺池的扰动或NADP⁺/NADPH失衡通常会影响细胞代谢稳态。植物利用光系统I (photosystem I, PSI)和光系统II (photosystem II, PSII)将电子沿线性电子传递链(linear electron transfer, LET)转移到NADP⁺生成NADPH, 同时形成跨膜质子梯度驱动ATP合成, 生成的NADPH和ATP用于碳固定等过程。但LET及其耦合的光合磷酸化所产生的ATP/NADPH无法满足植物不同发育阶段以及动态环境下对ATP的需求, 这些额外的ATP则通过围绕PSI的环式电子传递链(cyclic electron transfer, CET)途径产生。植物中存在NADH脱氢酶(NAD(P)H dehydrogenase, NDH)复合体介导的CET (NDH-CET)和质子梯度调节蛋白PGR5/PGRL1介导的CET (PGR5/PGRL1-CET)途径。其中NDH-CET通过调节NADPH和ATP通量直接影响C₄植物细胞内的碳流转(Zhang et al., 2024), 而PGR5/PGRL1-CET则通过调节ATP水平以及ATP/NADPH维持细胞代谢平衡(Ma et al., 2021)。NAD⁺与NADP⁺之间的相互转换呈现pH偏好性, 植物通过光调节基质的pH值以平衡NAD⁺磷酸化和NADP⁺去磷酸化, 进而调节叶绿体内的NAD⁺/NADP⁺。黑暗条件下, 叶绿体定位的NADK2处于非活性状态, 且基质呈微酸性, 不利于NADK2的激活, 叶绿体内的NADP⁺池处于基础水平。光照条件下, CET途径快速形成跨膜质子梯度, 提高了基质的pH值, 激活NADK2后催化NAD⁺磷酸化生成NADP⁺, 增大叶绿体内的NADP⁺池。当基质电子池耗尽导致CET途径停止时, 基质pH值降低并激活NADP⁺磷酸酶活性, 催化NADP⁺转化为NAD⁺, 从而减小叶绿体内的NADP⁺池(Fukuda et al., 2023)。AtNADK2敲除导致拟南芥叶绿体中NAD(P)H水平下降, 从而影响碳和氮的代谢(Chai et al., 2005)。此外, AtNADK2通过影响NADP⁺库的大小间接影响叶绿体内PSI复合物的生成。根据叶绿体内NADP⁺库的大小, 植物利用特殊的反馈机制影响psaA和psaB的合成速率, 从而调节PSI复合物的

含量和活性, 避免PSI发生光抑制(Ji et al., 2022)。

植物线粒体的氧化还原状态是调节细胞新陈代谢的关键因素, 线粒体内NAD(P)⁺水平及氧化还原状态在调节细胞氧化还原和能量代谢平衡中扮演重要角色。植物细胞中多种酶系统参与NAD(P)H池稳态的维持, 这些酶的失调将导致细胞代谢紊乱。NAD⁺通过促进甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)催化的酶促反应来促进糖酵解, 随着3-磷酸甘油醛被GAPDH脱氢形成3-磷酸甘油酸, NAD⁺被还原为NADH。糖酵解产生的丙酮酸经丙酮酸脱氢酶复合体(pyruvate dehydrogenase complex, PDC)脱羧生成乙酰辅酶A, 同时将NAD⁺还原为NADH, 然后乙酰辅酶A进入三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)。NAD⁺依赖的 α -酮戊二酸脱氢酶(α -ketoglutarate dehydrogenase, KGDH)、异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)和苹果酸脱氢酶(malate dehydrogenase, MDH)是TCA循环的3个限速酶, 过量的NADH会抑制TCA循环中PDC、KGDH和IDH的活性, 进而调节TCA循环代谢通量(Le et al., 2021)。此外, NADH是线粒体电子传递链(mitochondrion electron transfer chain, mETC)的电子供体, 但NADH积累会使线粒体呼吸链产生电子压力, 造成电子泄漏与氧结合, 产生大量的ROS, 导致整个呼吸过程终止。因此, 线粒体内NAD⁺/NADH的平衡尤为重要。植物线粒体在调节底物氧化与ATP合成的耦合方面表现出电子传递路径的灵活性极高, 可通过不同能量效率的替代电子传递途径实现NAD(P)H的周转。除经典的mETC, 线粒体内膜两侧还分布着II型NAD(P)H脱氢酶(type II NAD(P)H dehydrogenases, NDs)和交替氧化酶构成的交替电子传递链, 其催化的非磷酸化呼吸途径主要以热能形式耗散化学能, 进而减少mETC的过度还原, 从而维持mETC的氧化还原平衡。当mETC功能受损时, 该途径ROS的生成减少。NDs对NADH的亲合力远低于NAD(P)H脱氢酶复合体I, 线粒体基质中仅在NADH浓度过高引发复合体I负荷过大时, 这条支路才起作用。大量研究表明, NDs介导的交替电子传递链参与植物胁迫响应(Barreto et al., 2022)。拟南芥有7个NDs, 分为3个进化支: NDA、NDB和NDC。NDA1、NDA2和NDC位于线粒体内膜的内表面, 用于氧化调节基质中的NADH; 4种NDB蛋白(NDB1–4)位于内膜的外

表面,用于氧化调节膜间隙中的NAD(P)H,后者可与胞质NAD(P)H池进行快速交换。拟南芥NDs功能受损导致胞内NAD(P)H稳态失衡,进而使植物对胁迫的耐受能力降低(Wallström et al., 2014; Sweetman et al., 2019; Jethva et al., 2023)。除糖酵解和TCA循环外,植物还利用磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)产生NADPH,其主要功能是维持胞内氧化还原稳态和促进生物合成。NADP⁺依赖的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PDH)和6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6-phosphogluconate dehydrogenase, 6PGDH)是PPP途径的2个限速酶。PPP途径受胞内NADPH水平调节,当NADPH/NADP⁺过高时,G6PDH和6PGDH的活性受到抑制(Aghdam et al., 2020)。

植物细胞代谢会根据外部环境和内在需求呈现动态变化。例如,线粒体TCA循环根据细胞类型、NAD(P)H/ATP和碳骨架的需求以循环或非循环模式进行代谢重编程以满足代谢需求。传统观点认为,糖酵解衍生的丙酮酸脱羧是碳素进入TCA循环的主要入口点,但当前的观点认为苹果酸是TCA循环的主要底物。此外,苹果酸还作为还原当量载体将不同细胞器的相关代谢活动联系起来。Zhao等(2020)指出,苹果酸可能是细胞感知叶绿体氧化还原状态的指示器,并提出植物通过苹果酸循环进行还原当量的再分配对于细胞内能量稳态调节至关重要。作为苹果酸循环的一部分,MDH通过苹果酸和草酰乙酸的转换调节叶绿体、线粒体和细胞质的还原当量。在强光下,叶绿体光反应生成的NADPH数量远超卡尔文循环所需还原力,多余的NADPH以苹果酸的形式从叶绿体输出到细胞质,经胞质NAD-MDH催化苹果酸转化为草酰乙酸,再经线粒体苹果酸-草酰乙酸转运体输入到线粒体产生NADH,NADH为线粒体中ATP的合成提供了还原力,从而避免电子受体失衡或缺乏导致氧化应激。Zhao等(2018)证实拟南芥利用叶绿体NAD-MDH以苹果酸形式将叶绿体内过多的NADPH转移到线粒体中,通过叶绿体与线粒体之间的苹果酸-草酰乙酸穿梭来维持细胞的氧化还原和能量平衡。拟南芥线粒体定位的*mMDH1*和*mMDH2*双基因敲除突变导致细胞器之间NADPH穿梭的氧化还原失衡,使CO₂净同化率和生长速率降低(Lindén et al., 2016)。NAD(P)⁺依赖的苹果酸酶(malic enzyme, ME)是调节苹果酸代

谢的另一个关键酶,其催化苹果酸发生可逆的氧化脱羧反应,产生丙酮酸、CO₂和NADPH。根据辅酶的不同,ME分为依赖NAD⁺的苹果酸酶(NAD-ME)和依赖NADP⁺的苹果酸酶(NADP-ME)。2种ME都含有多个成员,分布在细胞内不同的细胞器中,并行使各自的功能。NAD-ME在线粒体中催化苹果酸脱羧产生丙酮酸,控制线粒体中碳代谢产物的交换,维持正常的TCA循环(Sun et al., 2019)。根据其不同的生理作用NADP-ME可分为光合型和非光合型。光合型NADP-ME为C₄植物叶绿体和CAM植物胞质中的碳固定提供CO₂;非光合型NADP-ME存在于所有植物的叶绿体或胞质溶液中,参与生物合成、胞质溶液pH调节和胁迫响应。此外,NAD(P)⁺依赖的IDH也是维持细胞代谢稳态所必需的酶,负责催化异柠檬酸氧化脱羧形成α-酮戊二酸(2-oxoglutarate, 2-OG),并将NADP⁺转化为NADPH。IDH催化产生的2-OG为氮素的吸收和同化提供碳骨架,而NADPH可维系细胞内的氧化还原平衡,有助于植物抵御氧化胁迫。植物氮素吸收代谢高度依赖NAD(P)⁺,氮素代谢的起点是由NAD(P)⁺依赖的硝酸盐还原酶介导的硝酸盐同化,叶绿体和线粒体提供的NAD(P)H能够显著影响硝酸盐的同化速率。NAD⁺从头合成的关键酶基因AO是受硝酸盐激活的转录因子NLP2直接调控的靶基因。NLP2介导的硝酸盐信号诱导AO表达,在维持代谢平衡和生长对氮素的响应中起关键作用,该通路缺失明显影响TCA循环和尿素循环相关代谢物的含量(Saito et al., 2022; Durand et al., 2023)。

植物细胞代谢过程中会不断产生氧化物和抗氧化物,二者失衡将导致细胞氧化胁迫。NAD(P)H是控制细胞氧化还原稳态的枢纽,通过不同的代谢途径触发或阻碍亚细胞区室中ROS的生成。NADPH是植物细胞抗坏血酸-谷胱甘肽循环(ascorbate-glutathione cycle, AsA-GSH)和硫氧还蛋白系统(thioredoxin system, Trxs)的还原力来源。谷胱甘肽还原酶利用NADPH将氧化型谷胱甘肽GSSG还原生成GSH,这是AsA-GSH途径的重要组分,其催化的反应有利于维持细胞中GSH和AsA的含量,保持较高的GSH/GSSG和AsA/DHA。Trx还原酶利用NADPH维持Trx的还原型,而还原型Trx在细胞氧化还原调节和抗氧化防御中具有重要作用。胞内NADPH/NADP⁺失衡将抑制AsA-GSH和Trxs抗氧化系统的正常功能,NAD-

PH过度消耗引发GSH和Trx衰竭,进而导致细胞死亡。此外,环境胁迫导致植物细胞内产生过量的有毒醛类物质,植物可利用NAD(P)⁺依赖的醛糖/醛还原酶、醛酮还原酶和GSH依赖的乙二醛酶系统完成脱毒,提高自身的胁迫耐受性。NADPH还作为供氢体参与细胞色素P450单加氧酶解毒系统对外源性物质(除草剂、杀虫剂 and 环境污染物等)的解毒。

4.2 调控植物生长发育

NAD(P)⁺在植物根、茎、叶和花等器官的细胞中含量及氧化还原比率差异较大,这表明NAD(P)⁺不仅参与基础代谢,还具有独特的细胞功能(Hashida et al., 2016)。作为细胞代谢的基石,维持胞内NAD(P)⁺稳态是植物正常生长所必需,细胞内NAD(P)⁺代谢速率加快将导致植株寿命缩短(Hashida et al., 2016)。植物贮藏器官中NAD⁺含量非常高,而NADP(H)含量以及NADP⁺/NAD⁺则较低;相反,在生长旺盛的组织中NADP(H)含量以及NADP⁺/NAD⁺较高(Gakière et al., 2018)。顶端分生组织的细胞增殖受NADPH依赖的氧化酶介导产生的ROS调节,幼苗中丰富的NADPH有助于生长(Schippers et al., 2016)。植物通过调节胞内NAD(P)⁺水平的动态平衡维持正常的生理功能,细胞内NAD(P)⁺合成、降解或转运异常导致植物生长发育受阻。拟南芥NAD⁺合成途径的关键酶基因AO、QS、QPRT和NaMNAT的T-DNA插入突变体均表现出发育缺陷或胚胎致死表型(Katoh et al., 2006; Hashida et al., 2007)。AtNMNAT突变会阻碍拟南芥花粉管伸长,导致突变体结实率降低(Hashida et al., 2007)。水稻NAD⁺补救合成途径的限速酶基因OsNaPRT1突变导致植株早衰和减产(Wu et al., 2016)。敲除QPRT的烟草(*Nicotiana tabacum*)叶绿素含量减少、光合作用受抑制,生长发育延迟(Khan et al., 2017)。AtNADK2可通过调节叶绿体内NADP⁺的含量间接调控叶绿素的生物合成,其敲除突变体呈现莲座叶和叶片黄化表型(Ji et al., 2022)。AtNDT1突变影响拟南芥从营养生长向生殖生长的转换,其突变体呈现出花粉活力降低和种子败育率升高的表型(de Souza Chaves et al., 2019)。抑制NAD⁺从细胞质向线粒体和过氧化物酶体的转运会影响气孔的生物发生和功能(Feitosa-Araujo et al., 2020)。

种子休眠是植物为适应生长环境长期进化形成

的生物学性状,该性状对物种的繁衍具有重要作用。种子休眠与胞内NAD⁺水平密切相关,非休眠性种子与休眠性种子的NADP(H)/NAD(H)存在显著差异(Gakière et al., 2018)。Hunt和Gray (2009)比较了低、中、高3个休眠生态型拟南芥种子的萌发势,发现种子萌发势与种子内NAD⁺含量呈正相关。NAD(P)⁺与ABA之间存在密切的交互作用,基质NADH和胞质NADPH分别是ABA生物合成酶ABA1和ABA2的电子供体,胞内NAD(P)H水平变化影响ABA合成,进而影响种子休眠(Feitosa-Araujo et al., 2022)。NADH焦磷酸水解酶AtNUDT7对于调节拟南芥种子中NAD⁺/NADH非常重要,其功能受损导致突变体种子萌发率显著降低(Zeng et al., 2014)。此外,NAD(P)⁺在调控种子耐脱水性方面也发挥关键作用。挪威槭(*Acer platanoides*)和欧亚槭(*A. pseudoplatanus*)为同属植物,但它们的种子表现出截然不同的生理特性。挪威槭种子为正常型种子,可干燥储存;而欧亚槭种子为顽拗型种子,对干燥非常敏感。Alipour等(2020)发现在成熟干燥过程中,挪威槭种子NAD⁺积累多、NADPH含量高以及NADPH依赖的酶活性高;而欧亚槭种子NAD⁺积累少、NADPH含量低且NADPH依赖的酶活性低,导致其抗氧化能力低,对干燥敏感。他们推测种子内NAD(P)⁺的积累水平及氧化还原状态可能会影响细胞氧化还原信号、新陈代谢和抗氧化系统,从而导致种子出现正常型和顽拗型分化。

花粉萌发是植物传粉和有性生殖的重要过程。研究表明,花粉的休眠和萌发取决于花粉中的NAD⁺水平,NAD⁺高积累使花粉处于休眠状态,而NAD⁺减少则对花粉萌发至关重要(Hashida et al., 2013a, 2013b)。拟南芥花药成熟过程中选择性地积累NAD⁺,竞争性地抑制花粉萌发所必需的产能反应,从而使花粉处于休眠状态;相反,NAD⁺低水平对花粉萌发至关重要,过量NAD⁺积累影响正常的花粉管伸长,拟南芥通过调节花粉中NAD⁺水平调控花粉萌发时间(Hashida et al., 2013a)。AtNMNAT突变导致拟南芥雄配子体中NAD⁺积累降低,最终使花粉管在花药内提前萌发(Hashida et al., 2007)。此外,NAD⁺的氧化还原平衡在花粉的环境适应性调控中发挥关键作用。裸子植物和大部分被子植物花粉发育都经历程序性干燥过程,由此产生的低水分和低代谢花粉被称为正常型花粉。正常型花粉成熟后积累大量的NAD⁺,从而

获得脱水耐受性,使其能够适应多变的环境(Hashida et al., 2013a)。正常型花粉可使植物避免无效的能量循环,从而在自然界空气干燥条件下存活,直到花粉从柱头获得水分后立即萌发。相比之下,一些被子植物花粉发育成熟并不经历程序性干燥过程,而是保持相对较高的含水量和新陈代谢,这种花粉被称为顽拗型花粉。顽拗型花粉从花药中散落出来,其新陈代谢仍然活跃,对脱水干燥较为敏感(Hashida et al., 2013a)。花粉长期储存对于在空间或时间上隔离的雌性亲本的受精具有重要意义,而NAD⁺对于改善花粉耐脱水性的作用是作物改良的一种新策略。

除作为调节细胞氧化还原平衡的抗氧化辅助因子, NAD(P)H还是诱导氧化还原应激的促氧化剂。NADPH作为植物细胞内呼吸爆发氧化酶同源物(respiratory burst oxidase homologues, Rboh)的燃料,调节ROS的产生速度或数量。NADPH通过调节Rboh介导的ROS信号感应和传递影响细胞分裂和分化及细胞命运,进而调控植物生长发育。拟南芥Rboh家族有10个成员(*AtRbohA–AtRbohJ*),部分*AtRboh*的功能已被解析(Kaya et al., 2019)。*AtRbohB*参与种子的后熟过程(Müller et al., 2009); *AtRbohC*参与根毛顶端的极性生长,是根尖生长的必需酶(Carol et al., 2005); *AtRbohH*和*AtRbohJ*则参与花粉管伸长和生殖过程,对于花粉管顶端的正常生长至关重要, *atrbohhl*双突变体呈现花粉管提前破裂、育性降低、果荚变短及种子变少等表型(Kaya et al., 2014)。

4.3 参与植物非生物胁迫应答

NAD⁺合成途径中关键酶功能的受损会导致植物无法有效应对胁迫,这突显了NAD⁺在植物胁迫应答中的重要性(Hashida et al., 2010; Hong et al., 2020; Wei et al., 2020)。拟南芥NAD⁺合成途径的关键酶基因QS缺失突变体+合成不足,显著抑制了ABA和脯氨酸的合成,诱导ROS大量积累,最终表现对盐胁迫超敏感(Wei et al., 2020)。NAD(P)⁺代谢途径与ABA信号通路在调节植物生长和非生物胁迫应答中存在交叉互作,胞内NAD⁺稳态参与ABA信号通路对非生物胁迫应答的调节,而ABA信号可通过下游转录因子ABI4特异结合QS启动子上的CE1元件,抑制其在外源ABA诱导下的转录水平,从而形成ABA信号对NAD(P)⁺合成途径的反馈调节(Hong et al., 2020)。

*AtNaMNAT*表达下调或突变造成拟南芥保卫细胞内ROS水平过低,使气孔不能正常关闭,最终导致突变体对干旱胁迫敏感(Hashida et al., 2010)。拟南芥NAD⁺补救途径的关键酶基因*AtNIC1*的表达受ABA诱导,其突变体对ABA以及盐胁迫超敏感(Wang and Pichersky, 2007)。过表达*AtNIC3*可提高拟南芥植株对干旱胁迫的耐受性(Ahmad et al., 2021)。

NAD(P)⁺水平对于协调细胞代谢稳态以及各种复杂的细胞信号转导途径至关重要。Nudix是一类能够催化各种核苷二磷酸衍生物水解的酶,已证实其家族部分成员对NADH和ADP-核糖水平的调节有助于维持植物细胞氧化还原代谢平衡和胁迫防御反应。过表达*AtNUDX2*可维持拟南芥体内正常的NAD⁺和ATP水平,增强植株对氧化胁迫的耐受性(Ogawa et al., 2009)。*AtNUDX7*通过从细胞内游离的ADP-核糖中回收核苷酸来提供ATP,从而参与调节NAD⁺水平。敲除*AtNUDX7*可降低拟南芥植株的抗氧化胁迫能力,而过表达*AtNUDX7*则会增强植株对氧化胁迫的耐受性(Ishikawa et al., 2009; Ogawa et al., 2016)。*AtNUDX19*通过调节NADPH水平参与植物对光氧化胁迫和激素的响应(Maruta et al., 2016)。*PpNUDX8*为桃树(*Prunus persica*)干旱胁迫响应的负调控因子,过表达*PpNUDX8*可打破烟草中的NAD⁺/NADH平衡,导致内源ABA水平降低,进而降低其干旱胁迫耐受性(He et al., 2022)。此外,细胞内NADP(H)/NAD(H)对于维持植物的环境适应性至关重要。当植物遭受胁迫时,细胞内NADP(H)/NAD(H)升高(Smith et al., 2021)。作为催化NAD(H)合成NADP(H)的唯一酶, NADK在植物细胞内NAD(P)⁺氧化还原稳态和细胞代谢中扮演重要角色。维持NADP(H)的稳态离不开NADK,下调*NADK*的表达会显著降低胞内NADP(H)水平,导致细胞对ROS的敏感性增强(Li et al., 2018)。拟南芥*AtNADK1*的表达受甲基紫精、盐和干旱等多种非生物胁迫诱导,其突变体对氧化胁迫超敏感(Berrin et al., 2005)。过表达*OsNADK1*能提高水稻植株对干旱胁迫的耐受性,而*OsNADK1*突变则导致植株对干旱胁迫非常敏感(Wang et al., 2020)。拟南芥*AtNADK2*突变体细胞中NADPH水平显著低于野生型,且对紫外线、干旱、热激以及盐等胁迫超敏感(Chai et al., 2005)。拟南芥*AtNADK3*主要在过氧化物酶体中表达,介导NADH磷酸化为NADPH,其敲除突变体对氧化胁迫、

渗透胁迫和ABA非常敏感,这表明NADH转化为NADPH是植物逆境响应所必需(Suzuki et al., 2023)。此外,NADK还通过维持胞内NADPH水平为NADPH氧化酶Rboh提供还原力,从而参与调控胞内ROS水平。胞内NAD(P)⁺浓度改变会引发物质和能量代谢失衡,导致ROS积累或合成不足,进而对植物造成氧化损伤或影响ROS介导的信号转导(Gakière et al., 2018)。另外,NADPH是AsA-GSH循环及Trxs等抗氧化系统的重要还原力来源,利用上述系统可清除多余的ROS并赋予植物更强的胁迫耐受力。

除在胁迫下促进NAD(P)⁺的合成以维持细胞内氧化还原平衡和能量供应外,NAD⁺还作为PARP及SRT等酶的底物参与蛋白翻译后修饰,介导植物胁迫响应。植物体内PARP的激活有利于DNA损伤修复和基因组的完整性,但过度激活则导致NAD⁺消耗和细胞死亡。研究表明,拟南芥AtPARP1和AtPARP2可调控基因毒性和胁迫响应,二者突变导致突变体对干旱、强光和高温的耐受性增强(Gu et al., 2019)。NAD⁺依赖的乙酰化酶SRT1正调控ABA应答基因的表达和植物胁迫响应。拟南芥AtSRT1敲除突变体及其RNAi沉默株系对ABA和胁迫的敏感性降低,而AtSRT1过表达导致种子萌发对ABA超敏感,推测AtSRT1将锌指类转录因子STZ及ZAT10相关位置的组蛋白H3K9进行去乙酰化修饰,而这类转录因子活性降低抑制了下游RD29A和RD29B等抗逆基因的表达(Liu et al., 2017)。水稻OsSRT1表达水平降低导致ROS爆发和细胞死亡,过表达该基因可增强水稻植株对氧化胁迫的抗性(Huang et al., 2007)。进一步解析发现,OsSRT1通过介导糖酵解中关键酶GAPDH的去乙酰化抑制水稻糖酵解代谢途径,从而影响水稻能量代谢的表观调控和胁迫响应(Zhang et al., 2017)。此外,植物还利用NADP⁺依赖的酶参与多种胁迫响应,它们在植物抵御干旱、盐和低温等胁迫以及果蔬采后的冷害、衰老和病害等生理代谢方面发挥重要作用(Aghdam et al., 2020)。

4.4 参与植物免疫防御反应

大量研究表明,NAD(P)⁺是植物免疫防御系统多层次的调节器,在抵抗病原体侵染的免疫反应中扮演重要角色(Pétiacq et al., 2016)。Ca²⁺流入和ROS产生是植物细胞应对病原体侵染的基本反应,免疫应答过程

中ROS主要由质膜上的RbohD催化产生。NAD(P)⁺稳态对于RbohD介导的ROS产生至关重要。拟南芥NAD⁺从头合成的关键酶基因AO敲除突变体fin4-3和fin4-4中NAD⁺、NADPH以及ROS水平显著低于野生型(Wu et al., 2022)。RbohD的活性依赖Ca²⁺与其EF-手型结构域的结合,并受Ca²⁺依赖性蛋白激酶磷酸化激活(Dubiella et al., 2013)。植物通过质膜受体PRRs识别病原体相关分子模式,磷酸化类受体激酶BIK1,然后激活的BIK1再磷酸化RbohD,进而正调控ROS迸发,抑制病原体生长(Kadota et al., 2014)。NADK通过调节NAD(H)/NADP(H)的平衡影响ROS产生。Ca²⁺/CaM依赖性NADK参与CaM信号途径介导的植物氧化猝灭和超敏反应。小麦(*Triticum aestivum*)TaCaM3-2B与TaNADK2互作并激活其生物活性,TaCaM3-2B过表达小麦中病菌侵染诱导的ROS积累显著增加,并表现出对条锈菌的抗性显著增强;而沉默TaNADK2导致小麦对条锈菌的抗性减弱(Wang et al., 2024c)。激活拟南芥胞质定位的NADP-ME2可维持RbohD的NADPH供应,参与调节RbohD介导的植物免疫反应中的ROS产生,其功能受损导致NADPH含量下降和ROS积累显著减少(Wu et al., 2022)。Nudix水解酶对NADH水平的调节也在植物免疫中发挥积极作用。拟南芥AtNUDX6和AtNUDX7分别是水杨酸诱导的基因表达的正、负调控因子,通过调节细胞内NADH水平影响植物对病原体侵染的免疫反应(Ishikawa et al., 2009, 2010)。

越来越多的研究显示,胞外NAD(P)⁺ (extracellular NAD(P)⁺, eNAD(P)⁺)是植物细胞中一种新型免疫信号分子,具有激活植物免疫反应的功能,并参与调节植物对病原体侵染的系统获得性抗性(systemic acquired resistance, SAR) (Mou, 2017)。Zhang和Mou (2009)发现,拟南芥eNAD(P)⁺引发的转录和代谢变化与病原体侵染诱导的变化相似,病原体感染导致胞内NAD(P)⁺泄漏到胞外且其浓度足以激活免疫,积累的eNAD(P)⁺通过Ca²⁺和ROS防御信号转导途径诱导抗病相关基因的表达,进而诱导拟南芥获得对病原体的抗性。后续研究发现,eNAD(P)⁺同样可以诱导甜橙(*Citrus sinensis*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)和菜豆(*Phaseolus vulgaris*)等植物的抗病性(Alferez et al., 2018; Regmi et al., 2021; Huang et al., 2023),这表明eNAD(P)⁺介导的免疫信号途径在

植物中可能保守。eNAD(P)⁺的积累为激活植物免疫反应所必要, 植物细胞内NAD(P)⁺水平影响SAR反应。拟南芥*fin4-3*突变体中的SAR反应几乎完全消失, 且SAR引发的对病原体抗性以及免疫相关基因的转录上调严重受抑制(Li et al., 2023)。过表达人源NAD(P)⁺水解酶CD38基因会降低拟南芥叶片的eNAD(P)⁺浓度, 从而影响SAR诱导(Zhang and Mou, 2012)。凝集素受体激酶LecRK-VI.2和LecRK-I.8是eNAD(P)⁺的受体, LecRK-I.8主要在基础免疫中发挥作用, LecRK-VI.2则在SAR诱导中发挥作用(Wang et al., 2019a)。在拟南芥SAR诱导过程中, 未受病原体侵染的叶片在胞外积累NAD(P)⁺, NAD(P)⁺直接被膜受体LecRK-VI.2识别并激活SAR反应。N-羟基胡椒酸是一种SAR诱导剂, 其通过调节Rboh产生ROS诱导eNAD(P)⁺在未受病原体侵染的远端叶片中积累, 进而触发SAR(Li et al., 2023)。此外, EDS1复合物也参与eNAD(P)⁺介导的免疫防御反应, 其中EDS1-PAD4通路在eNAD(P)⁺介导的免疫系统中不可或缺(Wang et al., 2019a)。NAD⁺合成前体物NMN也可能是一种植物免疫诱导剂, 外源施加NMN能够显著提升拟南芥和大麦(*Hordeum vulgare*)对禾谷镰孢菌(*Fusarium graminearum*)的抗性(Miwa et al., 2017)。最近, Hong等(2024)还发现拟南芥NAD⁺合成缺陷会激活单线态氧的产生和茉莉酸的合成, 增强了植株的抗虫性。

NLRs是植物先天免疫系统中特异性细胞的免疫受体, 病原体侵染时, NLRs会快速触发免疫反应, 启动转录重编程, 阻止病原体生长。典型的植物NLRs包含核苷酸结合位点(NBS)、富含亮氨酸重复序列(LRR)结构域以及N端TIR结构域或卷曲螺旋(CC)结构域。植物中含TIR结构域的NLRs (TIR domain-containing NLRs, TNLs)通过感知病原体, 触发TIR结构域蛋白水解NAD⁺产生cADPR, cADPR诱导增强了Ca²⁺通道的转导, 进而促进Ca²⁺流入细胞质, 导致ROS爆发和超敏反应(Wan et al., 2019; Jia et al., 2023)。TNLs抗病信号的传递需要EDS1、PAD4、ADR1、SAG101和NRG1组成的免疫通路TNL-EDS1-PAD4-ADR1以及TNL-EDS1-SAG101-NRG1介导的植物抗病反应, 从而限制病原体生长(Tian et al., 2021)。最近, TIR结构域蛋白被效应因子激活, 形成抗病小体介导的效应因子触发免疫反应的分子机制得到全面解析。TIR类抗病蛋白识别病原效应因子

后, 其表达上调或受病原体诱导表达上调, 然后在细胞内源NAD⁺/ATP分子诱导下形成凝聚体, 激活其NAD⁺水解酶活性, 裂解NAD⁺产生免疫信号分子, 从而激活植物免疫反应和细胞死亡(Song et al., 2024)。此外, NAD⁺还通过影响NAD⁺消耗酶介导的ADP-核糖修饰和去乙酰化修饰在植物免疫基因表达调节和病原菌防御中发挥关键作用(Wang et al., 2010; Feng et al., 2015)。AtPARPs正调控拟南芥免疫反应, *at-parp1/2*突变体免疫基因激活受损, 对病原体易感性增强(Feng et al., 2015)。NAD⁺依赖的ADP-核糖转移酶SRO2能够单ADP-核糖化修饰拟南芥免疫关键调控因子SZF1/SZF2, 抑制其多聚泛素化, 稳定SZF1/SZF2蛋白以使植物维持正常的免疫反应(Kong et al., 2021)。AtSRT2是拟南芥防御反应的负调控基因, 该基因突变显著增强拟南芥对丁香假单胞菌(*Pst* DC3000)的抗性; 而过表达AtSRT2则导致拟南芥对*Pst* DC3000的敏感性增强(Wang et al., 2010)。综上所述, NAD(P)⁺在植物生物胁迫响应中发挥关键作用, 深入揭示NAD(P)⁺调控植物免疫反应的分子机制对于提高作物的抗病性和产量具有重要意义。

5 问题与展望

NAD⁺及其磷酸化形式NADP⁺作为辅酶和核心代谢物在植物细胞核心能量代谢、信号转导和基因表达调控中发挥重要作用。NAD(P)⁺的合成缺陷导致植物发育异常, 并影响胁迫响应能力, 凸显了NAD(P)⁺在植物生长发育和胁迫应答中的重要性。目前, 对植物体内NAD(P)⁺的合成途径、生物学功能以及作用机制已有一定了解, 但仍存在尚未解决的问题。(1) 植物细胞内NAD(P)⁺的合成、代谢以及胞内稳态的调控机制尚不清楚, 进一步挖掘NAD(P)⁺受损突变体对解析植物NAD(P)⁺合成代谢的分子调控机制以及NAD(P)⁺对植物生长发育的作用机理具有重要意义。(2) 需要进一步探究NAD(P)⁺作为信号分子如何参与植物胁迫响应, 如何通过调节NAD(P)⁺信号通路来增强植物的抗逆性, 以及NAD(P)⁺与植物细胞内其它信号网络的交互作用。今后可利用基因组、转录组和代谢组等多组学手段全面解析NAD(P)⁺及其水解产物在植物体内的信号转导网络, 揭示其在植物生长发育和胁迫应答过程中的新功能, 并探索通过调节NAD(P)⁺水平培育

具有更强抗性的作物新种质。(3) 探究通过调节NAD(P)⁺水平优化作物的能量代谢和生长发育过程,以提升作物产量和品质的可行性,挖掘其在作物育种中的应用潜力。(4) NAD(P)⁺潜在的医药和保健价值也不容忽视。NAD(P)⁺具有抗衰老和增强免疫力等多种功效,NAD(P)H为多种天然药物的合成提供还原力,在萜类、生物碱及黄酮类等天然产物的合成中发挥重要作用,NAD(P)⁺及其还原态参与这些药物合成关键步骤的催化反应。未来可深入挖掘植物NAD(P)⁺在医药和健康领域的应用潜力。

作者贡献声明

胡海涛: 构思论文选题及撰写论文; 杨玲: 指导论文撰写并修改论文; 武越: 绘图和整理文献。

参考文献

- Aghdam MS, Palma JM, Corpas FJ (2020). NADPH as a quality footprinting in horticultural crops marketability. *Trends Food Sci Technol* **103**, 152–161.
- Ahmad Z, Bashir K, Matsui A, Tanaka M, Sasaki R, Oikawa A, Hirai MY, Chaomurilige, Zu YH, Kawai-Yamada M, Rashid B, Husnain T, Seki M (2021). Overexpression of *nicotinamidase 3 (NIC3)* gene and the exogenous application of nicotinic acid (NA) enhance drought tolerance and increase biomass in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol* **107**, 63–84.
- Alferez FM, Gerberich KM, Li JL, Zhang YP, Graham JH, Mou ZL (2018). Exogenous nicotinamide adenine dinucleotide induces resistance to citrus canker in citrus. *Front Plant Sci* **9**, 1472.
- Alipour S, Wojciechowska N, Stolarska E, Biliska K, Kalemba EM (2020). NAD(P)-driven redox status contributes to desiccation tolerance in *Acer* seeds. *Plant Cell Physiol* **61**, 1158–1167.
- Barreto P, Koltun A, Nonato J, Yassitepe J, de Godoy Maia I, Arruda P (2022). Metabolism and signaling of plant mitochondria in adaptation to environmental stresses. *Int J Mol Sci* **23**, 11176.
- Berrin JG, Pierrugues O, Brutescio C, Alonso B, Montillet JL, Roby D, Kazmaier M (2005). Stress induces the expression of *AtNADK-1*, a gene encoding a NAD(H) kinase in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Genet Genomics* **273**, 10–19.
- Briggs AG, Bent AF (2011). Poly(ADP-ribosyl)ation in plants. *Trends Plant Sci* **16**, 372–380.
- Carol RJ, Takeda S, Linstead P, Durrant MC, Kakesova H, Derbyshire P, Drea S, Zarsky V, Dolan L (2005). A RhoGDP dissociation inhibitor spatially regulates growth in root hair cells. *Nature* **438**, 1013–1016.
- Chai MF, Chen QJ, An R, Chen YM, Chen J, Wang XC (2005). NADK2, an *Arabidopsis* chloroplastic NAD kinase, plays a vital role in both chlorophyll synthesis and chloroplast protection. *Plant Mol Biol* **59**, 553–564.
- Colinas M, Shaw HV, Loubéry S, Kaufmann M, Moulin M, Fitzpatrick TB (2014). A pathway for repair of NAD(P)H in plants. *J Biol Chem* **289**, 14692–14706.
- de Souza Chaves I, Feitosa-Araújo E, Florian A, Medeiros DB, da Fonseca-Pereira P, Charton L, Heyneke E, Apfata JAC, Pires MV, Mettler-Altmann T, Araújo WL, Neuhaus HE, Palmieri F, Obata T, Weber APM, Linka N, Fernie AR, Nunes-Nesi A (2019). The mitochondrial NAD⁺ transporter (NDT1) plays important roles in cellular NAD⁺ homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* **100**, 487–504.
- Dong HJ, Wang XF, Tan C, Gao L, Cui J, Liu L, Mo BX, Xing YZ, Yu Y, Chen XM (2022). NAD⁺-capped RNAs are widespread in rice (*Oryza sativa*) and spatiotemporally modulated during development. *Sci China Life Sci* **65**, 2121–2124.
- Dubiella U, Seybold H, Durian G, Komander E, Lassig R, Witte CP, Schulze WX, Romeis T (2013). Calcium-dependent protein kinase/NADPH oxidase activation circuit is required for rapid defense signal propagation. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**, 8744–8749.
- Durand M, Brehaut V, Clement G, Kelemen Z, Macé J, Feil R, Duville G, Launay-Avon A, Roux CPL, Lunn JE, Roudier F, Krapp A (2023). The *Arabidopsis* transcription factor NLP2 regulates early nitrate responses and integrates nitrate assimilation with energy and carbon skeleton supply. *Plant Cell* **35**, 1429–1454.
- Feitosa-Araújo E, da Fonseca-Pereira P, Knorr LS, Schwarzländer M, Nunes-Nesi A (2022). NAD meets ABA: connecting cellular metabolism and hormone signaling. *Trends Plant Sci* **27**, 16–28.
- Feitosa-Araújo E, da Fonseca-Pereira P, Pena MM, Medeiros DB, Perez de Souza L, Yoshida T, Weber APM, Araújo WL, Fernie AR, Schwarzländer M, Nunes-Nesi A (2020). Changes in intracellular NAD status affect stomatal development in an abscisic acid-dependent manner. *Plant J* **104**, 1149–1168.
- Feng BM, Liu CL, de Oliveira MVV, Intorne AC, Li B, Babilonia K, de Souza Filho GA, Shan LB, He P (2015).

- Protein poly(ADP-ribosyl)ation regulates *Arabidopsis* immune gene expression and defense responses. *PLoS Genet* **11**, e1004936.
- Fukuda Y, Ishiyama C, Kawai-Yamada M, Hashida SN** (2023). Adjustment of light-responsive NADP dynamics in chloroplasts by stromal pH. *Nat Commun* **14**, 7148.
- Gakière B, Hao JF, de Bont L, Pétriaccq P, Nunes-Nesi A, Fernie AR** (2018). NAD⁺ biosynthesis and signaling in plants. *Crit Rev Plant Sci* **37**, 259–307.
- Gu ZY, Pan WY, Chen W, Lian QC, Wu Q, Lv ZY, Cheng X, Ge XC** (2019). New perspectives on the plant PARP family: *Arabidopsis* PARP3 is inactive, and PARP1 exhibits predominant poly(ADP-ribose) polymerase activity in response to DNA damage. *BMC Plant Biol* **19**, 364.
- Hao JF, Pétriaccq P, de Bont L, Hodges M, Gakière B** (2018). Characterization of L-aspartate oxidase from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci* **271**, 133–142.
- Hashida SN, Itami T, Takahara K, Hirabayashi T, Uchimiya H, Kawai-Yamada M** (2016). Increased rate of NAD metabolism shortens plant longevity by accelerating developmental senescence in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* **57**, 2427–2439.
- Hashida SN, Itami T, Takahashi H, Takahara K, Nagano M, Kawai-Yamada M, Shoji K, Goto F, Yoshihara T, Uchimiya H** (2010). Nicotinate/nicotinamide mononucleotide adenyltransferase-mediated regulation of NAD biosynthesis protects guard cells from reactive oxygen species in ABA-mediated stomatal movement in *Arabidopsis*. *J Exp Bot* **61**, 3813–3825.
- Hashida SN, Kawai-Yamada M, Uchimiya H** (2013a). NAD⁺ accumulation as a metabolic off switch for orthodox pollen. *Plant Signal Behav* **8**, e23937.
- Hashida SN, Takahashi H, Kawai-Yamada M, Uchimiya H** (2007). *Arabidopsis thaliana* nicotinate/nicotinamide mononucleotide adenyltransferase (AtNMNAT) is required for pollen tube growth. *Plant J* **49**, 694–703.
- Hashida SN, Takahashi H, Takahara K, Kawai-Yamada M, Kitazaki K, Shoji K, Goto F, Yoshihara T, Uchimiya H** (2013b). NAD⁺ accumulation during pollen maturation in *Arabidopsis* regulating onset of germination. *Mol Plant* **6**, 216–225.
- Hashida SN, Takahashi H, Uchimiya H** (2009). The role of NAD biosynthesis in plant development and stress responses. *Ann Bot* **103**, 819–824.
- He HJ, Zhang YZ, Wen BB, Meng XG, Wang N, Sun MY, Zhang R, Zhao XH, Tan QP, Xiao W, Li DM, Fu XL, Chen XD, Li L** (2022). *PpNUDX8*, a peach NUDIX hydrolase, plays a negative regulator in response to drought stress. *Front Plant Sci* **12**, 831883.
- Hong YC, Wang Z, Shi HZ, Yao JJ, Liu X, Wang FX, Zeng L, Xie Z, Zhu JK** (2020). Reciprocal regulation between nicotinamide adenine dinucleotide metabolism and abscisic acid and stress response pathways in *Arabidopsis*. *PLoS Genet* **16**, e1008892.
- Hong YC, Yu ZJ, Zhou Q, Chen CY, Hao YQ, Wang Z, Zhu JK, Guo HW, Huang AC** (2024). NAD⁺ deficiency primes defense metabolism via ¹O₂-escalated jasmonate biosynthesis in plants. *Nat Commun* **15**, 6652.
- Huang LM, Sun QW, Qin FJ, Li C, Zhao Y, Zhou DX** (2007). Down-regulation of a *SILENT INFORMATION REGULATOR2*-related histone deacetylase gene, *OsSRT1*, induces DNA fragmentation and cell death in rice. *Plant Physiol* **144**, 1508–1519.
- Huang Y, Liu QC, Jibrin M, Mou ZL, Dufault N, Li YC, Zhang SA** (2023). Evaluating nicotinamide adenine dinucleotide for its effects on halo blight of snap bean. *Plant Dis* **107**, 675–681.
- Hunt L, Gray JE** (2009). The relationship between pyridine nucleotides and seed dormancy. *New Phytol* **181**, 62–70.
- Ishikawa K, Ogawa T, Hirose E, Nakayama Y, Harada K, Fukusaki E, Yoshimura K, Shigeoka S** (2009). Modulation of the poly(ADP-ribosyl)ation reaction via the *Arabidopsis* ADP-ribose/NADH pyrophosphohydrolase, AtNUDX7, is involved in the response to oxidative stress. *Plant Physiol* **151**, 741–754.
- Ishikawa K, Yoshimura K, Harada K, Fukusaki E, Ogawa T, Tamoi M, Shigeoka S** (2010). AtNUDX6, an ADP-ribose/NADH pyrophosphohydrolase in *Arabidopsis*, positively regulates NPR1-dependent salicylic acid signaling. *Plant Physiol* **152**, 2000–2012.
- Jethva J, Lichtenauer S, Schmidt-Schippers R, Steffen-Heins A, Poschet G, Wirtz M, van Dongen JT, Eirich J, Finkemeier I, Bilger W, Schwarzländer M, Sauter M** (2023). Mitochondrial alternative NADH dehydrogenases NDA1 and NDA2 promote survival of reoxygenation stress in *Arabidopsis* by safeguarding photosynthesis and limiting ROS generation. *New Phytol* **238**, 96–112.
- Ji DL, Li QX, Guo YJ, An WJ, Manavski N, Meurer J, Chi W** (2022). NADP⁺ supply adjusts the synthesis of photosystem I in *Arabidopsis* chloroplasts. *Plant Physiol* **189**, 2128–2143.
- Jia AL, Huang SJ, Ma SC, Chang XY, Han ZF, Chai JJ** (2023). TIR-catalyzed nucleotide signaling molecules in plant defense. *Curr Opin Plant Biol* **73**, 102334.

- Kadota Y, Sklenar J, Derbyshire P, Stransfeld L, Asai S, Ntoukakis V, Jones JDG, Shirasu K, Menke F, Jones A, Zipfel C (2014). Direct regulation of the NADPH oxidase RBOHD by the PRR-associated kinase BIK1 during plant immunity. *Mol Cell* **54**, 43–55.
- Katoh A, Uenohara K, Akita M, Hashimoto T (2006). Early steps in the biosynthesis of NAD in *Arabidopsis* start with aspartate and occur in the plastid. *Plant Physiol* **141**, 851–857.
- Kaya H, Nakajima R, Iwano M, Kanaoka MM, Kimura S, Takeda S, Kawarazaki T, Senzaki E, Hamamura Y, Higashiyama T, Takayama S, Abe M, Kuchitsu K (2014). Ca^{2+} -activated reactive oxygen species production by *Arabidopsis* RbohH and RbohJ is essential for proper pollen tube tip growth. *Plant Cell* **26**, 1069–1080.
- Kaya H, Takeda S, Kobayashi MJ, Kimura S, Iizuka A, Imai A, Hishinuma H, Kawarazaki T, Mori K, Yamamoto Y, Murakami Y, Nakauchi A, Abe M, Kuchitsu K (2019). Comparative analysis of the reactive oxygen species-producing enzymatic activity of *Arabidopsis* NADPH oxidases. *Plant J* **98**, 291–300.
- Khan S, Pandey SS, Jyotshna, Shanker K, Khan F, Rahman LU (2017). Cloning and functional characterization of quinolinic acid phosphoribosyl transferase (*QPT*) gene of *Nicotiana tabacum*. *Physiol Plant* **160**, 253–265.
- Kong L, Feng BM, Yan Y, Zhang C, Kim JH, Xu LH, Rack JGM, Wang Y, Jang JC, Ahel I, Shan LB, He P (2021). Noncanonical mono(ADP-ribosyl)ation of zinc finger SZF proteins counteracts ubiquitination for protein homeostasis in plant immunity. *Mol Cell* **81**, 4591–4604.
- Le XH, Lee CP, Millar AH (2021). The mitochondrial pyruvate carrier (MPC) complex mediates one of three pyruvate-supplying pathways that sustain *Arabidopsis* respiratory metabolism. *Plant Cell* **33**, 2776–2793.
- Li BB, Wang X, Tai L, Ma TT, Shalmani A, Liu WT, Li WQ, Chen KM (2018). NAD kinases: metabolic targets controlling redox co-enzymes and reducing power partitioning in plant stress and development. *Front Plant Sci* **9**, 379.
- Li Q, Zhou MX, Chhajed S, Yu FH, Chen SX, Zhang YP, Mou ZL (2023). N-hydroxypipicolinic acid triggers systemic acquired resistance through extracellular NAD(P). *Nat Commun* **14**, 6848.
- Li W, Zhang FX, Chang YW, Zhao T, Schranz ME, Wang GD (2015). Nicotinate O-glucosylation is an evolutionarily metabolic trait important for seed germination under stress conditions in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* **27**, 1907–1924.
- Li W, Zhang FX, Wu RR, Jia LJ, Li GS, Guo YL, Liu CM, Wang GD (2017). A novel N-methyltransferase in *Arabidopsis* appears to feed a conserved pathway for nicotine detoxification among land plants and is associated with lignin biosynthesis. *Plant Physiol* **174**, 1492–1504.
- Li WY, Wang X, Li R, Li WQ, Chen KM (2014). Genome-wide analysis of the *NADK* gene family in plants. *PLoS One* **9**, e101051.
- Lindén P, Keech O, Stenlund H, Gardeström P, Moritz T (2016). Reduced mitochondrial malate dehydrogenase activity has a strong effect on photorespiratory metabolism as revealed by ^{13}C labeling. *J Exp Bot* **67**, 3123–3135.
- Liu XY, Wei W, Zhu WJ, Su LF, Xiong ZY, Zhou M, Zheng Y, Zhou DX (2017). Histone deacetylase AtSRT1 links metabolic flux and stress response in *Arabidopsis*. *Mol Plant* **10**, 1510–1522.
- Ma MZ, Liu YF, Bai CM, Yong JWH (2021). The significance of chloroplast NAD(P)H dehydrogenase complex and its dependent cyclic electron transport in photosynthesis. *Front Plant Sci* **12**, 661863.
- Maruta T, Ogawa T, Tsujimura M, Ikemoto K, Yoshida T, Takahashi H, Yoshimura K, Shigeoka S (2016). Loss-of-function of an *Arabidopsis* NADPH pyrophosphohydrolase, AtNUDX19, impacts on the pyridine nucleotides status and confers photooxidative stress tolerance. *Sci Rep* **6**, 37432.
- Miwa A, Sawada Y, Tamaoki D, Yokota Hirai M, Kimura M, Sato K, Nishiuchi T (2017). Nicotinamide mononucleotide and related metabolites induce disease resistance against fungal phytopathogens in *Arabidopsis* and barley. *Sci Rep* **7**, 6389.
- Mou ZL (2017). Extracellular pyridine nucleotides as immune elicitors in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav* **12**, e1388977.
- Müller K, Carstens AC, Linkies A, Torres MA, Leubner-Metzger G (2009). The NADPH-oxidase *AtrbohB* plays a role in *Arabidopsis* seed after-ripening. *New Phytol* **184**, 885–897.
- Munk SHN, Merchut-Maya JM, Adelantado Rubio A, Hall A, Pappas G, Milletti G, Lee M, Johnsen LG, Guldborg P, Bartek J, Maya-Mendoza A (2023). NAD^+ regulates nucleotide metabolism and genomic DNA replication. *Nat Cell Biol* **25**, 1774–1786.
- Ogawa T, Ishikawa K, Harada K, Fukusaki E, Yoshimura K, Shigeoka S (2009). Overexpression of an ADP-ribose pyrophosphatase, *AtNUDX2*, confers enhanced tolerance to oxidative stress in *Arabidopsis* plants. *Plant J* **57**,

289–301.

- Ogawa T, Muramoto K, Takada R, Nakagawa S, Shigeoka S, Yoshimura K (2016). Modulation of NADH Levels by *Arabidopsis* nudix hydrolases, AtNUDX6 and 7, and the respective proteins themselves play distinct roles in the regulation of various cellular responses involved in biotic/abiotic stresses. *Plant Cell Physiol* **57**, 1295–1308.
- Palmieri F, Rieder B, Ventrella A, Blanco E, Do PT, Nunes-Nesi A, Trauth AU, Fiermonte G, Tjaden J, Agrimi G, Kirchberger S, Paradies E, Fernie AR, Neuhaus HE (2009). Molecular identification and functional characterization of *Arabidopsis thaliana* mitochondrial and chloroplastic NAD⁺ carrier proteins. *J Biol Chem* **284**, 31249–31259.
- Pétiacq P, de Bont L, Hager J, Didierlaurent L, Mauve C, Guérard F, Noctor G, Pelletier S, Renou JP, Tcherkez G, Gakière B (2012). Inducible NAD overproduction in *Arabidopsis* alters metabolic pools and gene expression correlated with increased salicylate content and resistance to *Pst-AvrRpm1*. *Plant J* **70**, 650–665.
- Pétiacq P, Ton J, Patrit O, Tcherkez G, Gakière B (2016). NAD acts as an integral regulator of multiple defense layers. *Plant Physiol* **172**, 1465–1479.
- Regmi H, Abdelsamad N, DiGennaro P, Desaegeer J (2021). Potential of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) for management of root-knot nematode in tomato. *J Nematol* **53**, 1–11.
- Saito M, Konishi M, Miyagi A, Sakuraba Y, Kawai-Yamada M, Yanagisawa S (2022). *Arabidopsis* nitrate-induced aspartate oxidase gene expression is necessary to maintain metabolic balance under nitrogen nutrient fluctuation. *Commun Biol* **5**, 432.
- Schippers JHM, Foyer CH, van Dongen JT (2016). Redox regulation in shoot growth, SAM maintenance and flowering. *Curr Opin Plant Biol* **29**, 121–128.
- Smith EN, Schwarzländer M, Ratcliffe RG, Kruger NJ (2021). Shining a light on NAD- and NADP-based metabolism in plants. *Trends Plant Sci* **26**, 1072–1086.
- Song W, Liu L, Yu DL, Bernardy H, Jirschitzka J, Huang SJ, Jia AL, Jemielniak W, Acker J, Laessle H, Wang JL, Shen QC, Chen WJ, Li PL, Parker JE, Han ZF, Schulze-Lefert P, Chai JJ (2024). Substrate-induced condensation activates plant TIR domain proteins. *Nature* **627**, 847–853.
- Spechenkova N, Kalinina NO, Zavriev SK, Love AJ, Taliany M (2023). ADP-ribosylation and antiviral resistance in plants. *Viruses* **15**, 241.
- Steinbeck J, Fuchs P, Negroni YL, Elsässer M, Lichtenauer S, Stockdreher Y, Feitosa-Araujo E, Kroll JB, Niemeier JO, Humberg C, Smith EN, Mai M, Nunes-Nesi A, Meyer AJ, Zottini M, Morgan B, Wagner S, Schwarzländer M (2020). *In vivo* NADH/NAD⁺ biosensing reveals the dynamics of cytosolic redox metabolism in plants. *Plant Cell* **32**, 3324–3345.
- Su LF, Wang P, Li S, Cai Y, Guo DD, Liu Q, Liu XY (2023). Research progress in sirtuin protein family in plants. *Chin Bull Bot* **58**, 998–1007. (in Chinese)
- 苏鲁方, 王萍, 李顺, 蔡燕, 郭丹丹, 刘琴, 刘小云 (2023). 植物sirtuin蛋白家族研究进展. 植物学报 **58**, 998–1007.
- Sun X, Han GL, Meng Z, Lin L, Sui N (2019). Roles of malic enzymes in plant development and stress responses. *Plant Signal Behav* **14**, e1644596.
- Suzuki S, Tanaka D, Miyagi A, Takahara K, Kono M, Chaomurilge, Noguchi K, Ishikawa T, Nagano M, Yamaguchi M, Kawai-Yamada M (2023). Loss of peroxisomal NAD kinase 3 (NADK3) affects photorespiration metabolism in *Arabidopsis*. *J Plant Physiol* **283**, 153950.
- Sweetman C, Waterman CD, Rainbird BM, Smith PMC, Jenkins CD, Day DA, Soole KL (2019). AtNDB2 is the main external NADH dehydrogenase in mitochondria and is important for tolerance to environmental stress. *Plant Physiol* **181**, 774–788.
- Tian HN, Wu ZS, Chen SY, Ao K, Huang WJ, Yaghmaiean H, Sun TJ, Xu F, Zhang YJ, Wang SC, Li X, Zhang YL (2021). Activation of TIR signaling boosts pattern-triggered immunity. *Nature* **598**, 500–503.
- Wallström SV, Florez-Sarasa I, Araújo WL, Escobar MA, Geisler DA, Aidemark M, Lager I, Fernie AR, Ribas-Carbó M, Rasmusson AG (2014). Suppression of NDA-type alternative mitochondrial NAD(P)H dehydrogenases in *Arabidopsis thaliana* modifies growth and metabolism, but not high light stimulation of mitochondrial electron transport. *Plant Cell Physiol* **55**, 881–896.
- Wan L, Essuman K, Anderson RG, Sasaki Y, Monteiro F, Chung EH, Nishimura EO, DiAntonio A, Milbrandt J, Dangl JL, Nishimura MT (2019). TIR domains of plant immune receptors are NAD⁺-cleaving enzymes that promote cell death. *Science* **365**, 799–803.
- Wang CG, Huang XE, Li Q, Zhang YP, Li JL, Mou ZL (2019a). Extracellular pyridine nucleotides trigger plant systemic immunity through a lectin receptor kinase/BAK1 complex. *Nat Commun* **10**, 4810.
- Wang CZ, Gao F, Wu JG, Dai JL, Wei CH, Li Y (2010). *Arabidopsis* putative deacetylase AtSRT2 regulates basal defense by suppressing *PAD4*, *EDS5* and *SID2* expres-

- sion. *Plant Cell Physiol* **51**, 1291–1299.
- Wang GD, Pichersky E** (2007). Nicotinamidase participates in the salvage pathway of NAD biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant J* **49**, 1020–1029.
- Wang P, Su LF, Cao L, Hu HB, Wan HP, Wu CH, Zheng Y, Bao C, Liu XY** (2024a). AtSRT1 regulates flowering by regulating flowering integrators and energy signals in *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem* **213**, 108841.
- Wang X, Li BB, Ma TT, Sun LY, Tai L, Hu CH, Liu WT, Li WQ, Chen KM** (2020). The NAD kinase OsNADK1 affects the intracellular redox balance and enhances the tolerance of rice to drought. *BMC Plant Biol* **20**, 11.
- Wang XF, Yu DL, Yu JC, Hu H, Hang RL, Amador Z, Chen Q, Chai JJ, Chen XM** (2024b). Toll/interleukin-1 receptor (TIR) domain-containing proteins have NAD-RNA decapping activity. *Nat Commun* **15**, 2261.
- Wang Y, Li SF, Zhao YH, You CJ, Le B, Gong ZZ, Mo BX, Xia YJ, Chen XM** (2019b). NAD⁺-capped RNAs are widespread in the *Arabidopsis* transcriptome and can probably be translated. *Proc Natl Acad Sci USA* **116**, 12094–12102.
- Wang YF, Liu C, Qin YY, Du YY, Song C, Kang ZS, Guo J, Guo J** (2024c). Stripe rust effector Pst03724 modulates host immunity by inhibiting NAD kinase activation by a calmodulin. *Plant Physiol* **195**, 1624–1641.
- Wei M, Zhuang Y, Li H, Li PH, Huo HQ, Shu D, Huang WZ, Wang SH** (2020). The cloning and characterization of *hypersensitive to salt stress* mutant, affected in quinolinate synthase, highlights the involvement of NAD in stress-induced accumulation of ABA and proline. *Plant J* **102**, 85–98.
- Wu BY, Li P, Hong XF, Xu CH, Wang R, Liang Y** (2022). The receptor-like cytosolic kinase RIPK activates NADP-malic enzyme 2 to generate NADPH for fueling ROS production. *Mol Plant* **15**, 887–903.
- Wu LW, Ren DY, Hu SK, Li GM, Dong GJ, Jiang L, Hu XM, Ye WJ, Cui YT, Zhu L, Hu J, Zhang GH, Gao ZY, Zeng DL, Qian Q, Guo LB** (2016). Down-regulation of a nicotinate phosphoribosyltransferase gene, *OsNaPRT1*, leads to withered leaf tips. *Plant Physiol* **171**, 1085–1098.
- Wu RR, Zhang FX, Liu LY, Li W, Pichersky E, Wang GD** (2018). MeNA, controlled by reversible methylation of nicotinate, is an NAD precursor that undergoes long-distance transport in *Arabidopsis*. *Mol Plant* **11**, 1264–1277.
- Zeng X, Li YF, Mahalingam R** (2014). *Arabidopsis* nudix hydrolase 7 plays a role in seed germination. *Planta* **239**, 1015–1025.
- Zhang H, Zhao Y, Zhou DX** (2017). Rice NAD⁺-dependent histone deacetylase OsSRT1 represses glycolysis and regulates the moonlighting function of GAPDH as a transcriptional activator of glycolytic genes. *Nucleic Acids Res* **45**, 12241–12255.
- Zhang QQ, Tian SL, Chen GY, Tang QM, Zhang YJ, Fleming AJ, Zhu XG, Wang P** (2024). Regulatory NADH dehydrogenase-like complex optimizes C₄ photosynthetic carbon flow and cellular redox in maize. *New Phytol* **241**, 82–101.
- Zhang XD, Mou ZL** (2009). Extracellular pyridine nucleotides induce *PR* gene expression and disease resistance in *Arabidopsis*. *Plant J* **57**, 302–312.
- Zhang XD, Mou ZL** (2012). Expression of the human NAD(P)-metabolizing ectoenzyme CD38 compromises systemic acquired resistance in *Arabidopsis*. *Mol Plant Microbe In* **25**, 1209–1218.
- Zhao YN, Luo LL, Xu JS, Xin PY, Guo HY, Wu J, Bai L, Wang GD, Chu JF, Zuo JR, Yu H, Huang X, Li JY** (2018). Malate transported from chloroplast to mitochondrion triggers production of ROS and PCD in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Res* **28**, 448–461.
- Zhao YN, Yu H, Zhou JM, Smith SM, Li JY** (2020). Malate circulation: linking chloroplast metabolism to mitochondrial ROS. *Trends Plant Sci* **25**, 446–454.
- Zheng WP** (2020). Review: the plant sirtuins. *Plant Sci* **293**, 110434.

Research Progress on the NAD(P)⁺ Biosynthesis and Function in Plants

Haitao Hu^{*}, Yue Wu, Ling Yang^{*}

College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China

Abstract Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP⁺) act as an integral regulator of plant core energy metabolism, growth and development, and stress response, which can directly and indirectly influence many key cellular functions. As the cornerstone of cell metabolism, NAD(P)⁺ homeostasis is crucial for normal plant growth and development, and stress response. Impaired synthesis of NAD(P)⁺ or deficiency can trigger metabolic disorders and a series of defective phenotypes, and may even lead to plant death in severe cases. Currently, NAD(P)⁺ biosynthesis pathway and its key enzymes have been well studied in plants, but its homeostatic regulation in plants and the mechanism of coordinating plant growth and stress response are still unclear. Therefore, isolating NAD(P)⁺ deficiency-related mutants is crucial for exploring the regulatory mechanisms of NAD(P)⁺ homeostasis and its balancing in plant growth and stress response. This review summarizes the biosynthetic metabolic pathways of plant NAD(P)⁺, focuses on the participation of NAD(P)⁺ in plant growth and stress response processes, and looks into the future on the research prospects of NAD(P)⁺ in plants.

Key words NAD⁺, NADP⁺, biosynthesis, biological function

Hu HT, Wu Y, Yang L (2025). Research progress on the NAD(P)⁺ biosynthesis and function in plants. *Chin Bull Bot* **60**, 114–131.

* Authors for correspondence. E-mail: haitao-hu@zjnu.cn; yangling@zjnu.cn

(责任编辑: 白羽红)

通讯作者简介

杨玲, 浙江师范大学教授, 博士生导师。曾任浙江省植物生理与植物分子生物学学会副理事长, 浙江省植物病理学会副理事长, 中国植物生理与植物分子生物学学会理事; 浙江省归国华侨联合会常务委员; 浙江省生物学类与生物工程类教学指导委员会副主任。长期从事植物优异基因挖掘与种质创新研究。先后主持国家自然科学基金及浙江省自然科学基金等科研项目。以第一作者或通讯作者身份发表Sci论文20余篇。