

# 植物铝胁迫响应基因的研究进展

陈 奇<sup>1</sup>, 陈丽梅<sup>1</sup>, 武孔焕<sup>1</sup>, 李昆志<sup>1</sup>, 王永雄<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>昆明理工大学生命科学与技术学院生物工程技术研究中心, 昆明 650500; <sup>2</sup>西南大学动物科学与技术学院, 重庆 400715)

**摘要:** 铝毒是酸性土壤中植物生长和作物生产的主要限制因子。近年来的很多研究应用差异显示 PCR、抑制差减 cDNA 文库和 DNA 微正列等技术, 在一些铝耐受型和敏感型植物中鉴定了很多铝胁迫响应基因。本研究通过参阅国内外有关报道和结合本实验室的研究成果, 从铝诱导的通道蛋白、代谢相关、胁迫和细胞死亡以及信号转导相关基因 4 个方面的研究进展进行了综述。

**关键词:** 铝毒; 铝胁迫响应基因; 植物

## Research Progresses in Plant Aluminum-responsive Genes

CHEN Qi<sup>1</sup>, CHEN Li-mei<sup>1</sup>, WU Kong-huan<sup>1</sup>, LI Kun-zhi<sup>1</sup>, YU Yong-xiong<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Biotechnology Research Center, Faculty of Life Science and Biotechnology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500; <sup>2</sup>College of Zoological Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400715)

**Abstract:** Aluminum (Al) toxicity is a major limiting factor for plant growth and crop production in acid soils. Recently, differential display reverse transcription-polymerase chain reaction (DDRT-PCR), cDNA-amplified fragment length polymorphisms (cDNA-AFLP), suppression subtractive hybridization (SSH), and DNA microarray have been used widely to analyse plant Al responsive genes. This paper reviewed the recent progresses on plant Al-responsive genes related to transporter, metabolism, stress, cell death, and signal transduction.

**Key words:** Al toxicity; Al-responsive gene; Plant

铝毒是酸性土壤中植物生长和作物产量的主要限制因素<sup>[1]</sup>。酸性土壤占世界可耕种土壤的 40%, 其主要分布在南非、中亚和东南亚等对粮食需求量最大的发展中国家<sup>[2]</sup>。我国的酸性土壤主要分布在长江以南的热带、亚热带地区及云贵川等地, 面积达 204 万 hm<sup>2</sup>, 大部分土壤的 pH 值小于 5.5, 其中多数小于 5.0<sup>[3]</sup>。农业上通常靠在酸性土壤中施加生石灰来缓解铝毒, 然而这种方法只能改良表层土壤, 并不能改变深层土壤的 pH 值, 且耗费大量的财力和人力<sup>[4]</sup>。因此, 在降低土壤酸度的同时, 挖掘植物自身的抗铝潜力, 获得耐铝能力强的植物品种, 对耐铝品种的开发和利用无疑是更有效的解决酸性土壤问题的途径。植物抗铝能力的提高是受铝诱导的过程, 因此, 利用基因工程手段在植物中过量表达

抗铝基因是解决酸性土壤中铝毒害和农业生产可持续发展的有效策略。近 10 年来, 虽然通过基因工程手段已经获得了很多具有抗铝能力的植物, 但是通常所使用的基因资源也十分有限。植物对铝毒胁迫的响应是由多基因共同控制的复杂性状, 因此, 挖掘更多的植物抗铝基因不仅能更加深刻地认识植物抗铝的机理, 还可以为植物基因工程提供更多的基因资源。

### 1 铝对植物的毒害和植物缓解铝毒的概述

在一般情况下, 土壤中的铝以对植物没有毒害作用的硅酸盐、磷酸盐、氧化物和硫化物等形式存在。然而随着自然条件的改变或人类活动的加剧,

收稿日期: 2011-10-21      修回日期: 2011-12-30

基金项目: 国家“973”项目中国西部牧草、乡土草遗传及选育的基础研究 (2007CB108901); 昆明理工大学优秀博士培育基金项目 (41118010)

作者简介: 陈奇, 博士研究生, 主要从事植物抗铝基因工程研究。E-mail: chenq0321@163.com

通讯作者: 陈丽梅, 教授, 博士生导师。E-mail: chenlimeikm@126.com

有些土壤的 pH 值逐渐降低,进而成为酸性土壤<sup>[5]</sup>。在酸性土壤环境中,不溶性的铝化物就转变为溶解状态的铝( $Al^{3+}$ ),铝进入土壤对植物产生毒害作用。铝首先抑制植物根的正常生长和发育,影响植物根系对水分和养分的吸收,最终影响植物的生长和作物产量。在细胞水平上,铝还可能与细胞膜上的膜脂和膜蛋白结合,破坏质膜的完整性。此外,铝还可能与细胞核内的核酸结合,造成 DNA 链的破坏,最终引起植物根细胞的死亡。然而许多植物在进化过程中形成了两种抗铝机制,即外部排斥机制和内部耐受机制<sup>[1,6]</sup>。外部排斥机制主要指的是细胞壁多糖对铝的排斥作用和根尖分泌的有机酸(如柠檬酸、苹果酸和草酸等)对胞外铝的螯合等<sup>[1,7]</sup>。而内部耐受机制包括:胞质中有机酸对铝的螯合、蛋白质及其他有机配体对铝的螯合和液泡的区室化等。通过外部排斥机制使大量的铝被拒于根表外免遭其毒害,而通过内部耐受机制能使植物根系将已吸收的铝转化为无毒性或毒性很小的结合形态,最终被运输到其他器官,从而缓解体内铝毒害作用<sup>[6]</sup>。

## 2 植物铝胁迫响应基因的鉴定

过去的数 10 年来,人们对植物抵御铝毒害的生理机制进行的研究很活跃,并已有相关综述<sup>[8-9]</sup>。然而,近几年,随着基因组学、蛋白质组学及生物信息学的迅猛发展,极大地推动了植物耐铝机制的研究向分子水平的方向深入,分子生物学技术已经被广泛应用于解释植物耐铝毒的分子机制,越来越多的研究者致力于耐铝基因的克隆及其编码蛋白的功能鉴定。差异显示 PCR(DDRT-PCR)、抑制差减 cDNA 文库(SSS)、DNA 微正列和蛋白质组学等技术的应用,为研究者们提供了有效可行的方法分析鉴定铝胁迫下植物的差异表达基因。通过以上方法,很多铝响应基因在拟南芥<sup>[10]</sup>、大豆<sup>[11]</sup>、水稻<sup>[12]</sup>、玉米<sup>[13]</sup>、柱花草<sup>[14]</sup>、苜蓿<sup>[5,15]</sup>等铝耐受型和敏感型植物的根中被鉴定。然而,虽然很多文章综述了铝对植物的毒害和植物解铝毒的机理,但有关植物在铝胁迫下的响应基因还未见总结。本研究通过参阅国内外近期发表的文章结合实际研究结果,进行了综述。这些铝胁迫相应基因一方面加深了对植物抗铝毒分子机制的认识和了解,另一方面也为提高植物耐铝毒能力的遗传操作提供新策略和基因资源。

### 2.1 通道蛋白基因

**2.1.1 铝诱导的苹果酸转运蛋白** 在很多抗铝植物中,铝刺激根尖有机酸(如苹果酸、柠檬酸和草酸

等)的分泌被认为是植物耐铝的一个重要机制,研究结果发现,苹果酸和柠檬酸的分泌由苹果酸通道蛋白(ALMT1, aluminum-activated malate transporter1)和柠檬酸通道蛋白(MATE, multi-drug and toxin extrusion)控制。目前已从多种耐铝植物克隆得到了 ALMT1 和 MATE<sup>[16]</sup>。ALMT(aluminum-activated malate transporter)蛋白类是一类含有 UPF0005 结构域的蛋白并且大部分都具有 5~7 个跨膜结构域<sup>[16]</sup>。TaALMT1 是从耐铝小麦 ET8(*Triticum aestivum*)中克隆得到的第 1 个植物耐铝基因,它在烟草悬浮细胞中的异源表达都赋予了其铝诱导的苹果酸的分泌。在拟南芥中,铝诱导的苹果酸和柠檬酸的分泌分别由 AtALMT1 和 AtMATE 控制<sup>[17-18]</sup>。Furukawa 等<sup>[19]</sup>在黑麦(*Secale cereale*)抗铝和铝敏感品种中分离得到了 ScALMT1 的等位基因,且在抗性品种中 ScALMT1 的表达量要高于铝敏感性品种的。本研究组最近的研究发现,在紫花苜蓿 YM1 中也发现有 1 个 ALMT1 类蛋白家族基因 MsALMT1 被铝诱导上调表达,且 YM1 具有铝诱导的苹果酸分泌特性<sup>[5]</sup>。可见,MsALMT1 可能参与苹果酸的分泌过程。

**2.1.2 铝诱导的柠檬酸转运蛋白** 多药及毒性复合物的排出转运蛋白(MATE)是普遍存在于微生物、植物和哺乳动物细胞内的一类蛋白家族。最近的研究发现,和植物耐铝能力相关的柠檬酸转运蛋白也属于 MATE 家族。属于 MATE 家族的耐铝基因编码的蛋白和属于 ALMT 家族的耐铝基因一样,以相同的方式参与植物耐铝过程,它们编码的有机酸转运蛋白也是定位于质膜的阴离子通道。Magalhaes 等<sup>[20]</sup>通过高分辨率图谱鉴定了 1 个位于高粱铝抗性遗传基因座 *Alt<sub>SB</sub>* 中的基因 *SbMATE1*,这是从植物中克隆得到的响应铝毒胁迫的第 2 个抗铝基因。随后,Maron 等<sup>[21]</sup>发现了位于该基因座的第 2 个抗铝基因 *SbMATE2*。*SbMATE1* 和 *SbMATE2* 均编码质膜蛋白,在爪蟾卵母细胞中表达均介导 1 个显著的阴离子流出。*SbMATE1* 在高粱中的表达主要集中在根部,在抗铝品种中较铝敏感性品种中具有显著性高水平表达,和铝诱导的柠檬酸分泌有关;而 *SbMATE2* 的表达并不局限于某个特定的组织且不能被铝诱导表达。可见,*SbMATE1* 在高粱中主要负责铝诱导柠檬酸分泌的控制,而 *SbMATE2* 可能与高粱的抗铝性有关,但是并不编码铝诱导的柠檬酸分泌通道蛋白。Furukawa 等<sup>[19]</sup>通过使用精细定位结合基因芯片分析鉴定了控制大麦铝诱导柠檬酸的通道蛋白基因 *HvAACT1*,该基因主要在铝抗性品种

(Murasakimochi) 根中呈组成型表达。在爪蟾卵母细胞中的异源表达结果表明, *HvAACT1* 控制柠檬酸的流出, 而非苹果酸的流出。最近, Liu 等<sup>[18]</sup> 在拟南芥中鉴定了 1 个属于 MATE 家族的耐铝基因 *AtMATE*, 它是近期在高粱和大麦中发现的铝抗性基因 (*SbMATE* 和 *HvAACT1*) 的同源基因, *AtMATE* 基因编码铝诱导的柠檬酸分泌转运蛋白。Eticha 等<sup>[22]</sup> 发现, *MATE* 在菜豆中被铝诱导表达, 且在柠檬酸分泌多的抗铝品种中比柠檬酸分泌少的敏感性品种中要高得多。可见, 菜豆中的 *MATE* 可能是编码了柠檬酸通道蛋白的基因。奇怪的是在铝敏感的截型苜蓿 A17 中, 铝诱导了 *MtMATE* 的表达, 但这个基因并没有赋予 A17 耐铝性, 这可能是因为 *MtMATE* 不是一个柠檬酸特异性的通道蛋白或柠檬酸的分泌受到了抑制<sup>[15]</sup>。可见, 在铝敏感型植物品种里也存在抗铝植物中发现的抗性基因如 *ALMT1* 和 *MATE* 的表达。这些抗铝基因的表达量很低, 可能就是这些品种对铝敏感的主要原因。

**2.1.3 ATP 结合盒 (ABC) 转运蛋白** ABC 转运蛋白是目前已知最大、功能最广泛的蛋白家族, 大多数 ABC 转运蛋白都能利用水解 ATP 释放的能量直接转运底物。ABC 转运体在植物铝耐受性方面也有重要作用, 如编码 ABC 转运体的两种基因 *STAR1* (对 Al 毒敏感 1) 和 *STAR2* (对 Al 毒敏感 2) 与水稻铝耐受性有关<sup>[23]</sup>。 *STAR1* 编码核苷酸结合域, 而 *STAR2* 编码跨膜区。任何一个基因的破坏都导致水稻对铝毒具有超敏感性。 *STAR1* 和 *STAR2* 形成一个联合体, 这是水稻解铝毒所必需的。 *STAR1-STAR2* 定位于膜上, 可负责从细胞质运输 UDP-葡萄糖进入囊泡, 随后形成的磷酸葡萄糖或由磷酸葡萄糖衍生而来的糖苷可能通过胞外分泌作用由囊泡释放到质外体, 用来修饰细胞壁以掩盖铝结合位点, 造成水稻对铝的耐性。类似 *STAR1* 和 *STAR2* 的基因存在于其他物种如玉米、拟南芥、葡萄及模式苔藓植物中。这表明 *STAR1/2* 可能是一种保存在陆生植物中的普遍铝耐受基因<sup>[23]</sup>。

#### 2.1.4 $Mg^{2+}$ 通道蛋白基因和质膜 $H^{+}$ -ATPase 基因

因 镁是活细胞中最丰富的二价阳离子, 铝通过抑制与镁有关的通道蛋白的活性而减少酵母、拟南芥等对镁的吸收。在酵母中过表达酵母的两个镁离子通道蛋白 ALR1 和 ALR2, 可以增加酵母对铝的耐受性<sup>[24]</sup>。Deng 等<sup>[25]</sup> 的研究结果表明, 过量表达拟南芥镁离子通道蛋白 *AtMGT1* 的烟草增加了它对铝的抗性。在大豆和水稻中, 镁通过增加根

对柠檬酸的分泌和提高质膜  $H^{+}$ -ATPase 的活性而缓解铝毒<sup>[26]</sup>。质膜  $H^{+}$ -ATPase 是细胞膜中最丰富的蛋白并参与到多种胁迫的应答过程中, 最近的研究结果显示, 在铝和缺磷胁迫下, 植物根尖质膜  $H^{+}$ -ATPase 的活性增加与根系有机酸的分泌速率有关。如生长在磷酸铝培养基上的胡萝卜突变体柠檬酸的分泌量和质膜  $H^{+}$ -ATPase 活性的增加有关, 质膜  $H^{+}$ -ATPase 可能通过一个柠檬酸-质子转运体系参与到柠檬酸的分泌过程中<sup>[27]</sup>。大豆对铝毒的抗性与根尖柠檬酸的分泌, 质膜  $H^{+}$ -ATPase 基因的上调表达, 翻译后调节和活性的提高有关, 使用质膜  $H^{+}$ -ATPase 的有效抑制剂钆酸盐可以明显降低大豆质膜  $H^{+}$ -ATPase 的活性和根尖柠檬酸的分泌量<sup>[28-29]</sup>。在拟南芥中过量表达大豆的质膜  $H^{+}$ -ATPase 基因可以明显地增加转基因植物质膜  $H^{+}$ -ATPase 的活性及与之相关的柠檬酸分泌<sup>[28]</sup>。本课题组最近的研究结果发现, 蚕豆根尖质膜  $H^{+}$ -ATPase 的活性与其抗铝能力和柠檬酸分泌呈正相关, 且 *vha2* 的表达水平随着铝处理时间的增加而增加。可见, 植物根尖质膜  $H^{+}$ -ATPase 在植物抗铝和铝诱导的柠檬酸的分泌中起到了重要作用。因此, 质膜  $H^{+}$ -ATPase 基因可能是提高植物抗铝能力的潜在靶基因。

**2.1.5  $Al^{3+}$  通道蛋白** 在植物中, Nramp 蛋白家族在金属离子蛋白家族运输金属离子和维持金属离子平衡中起到了重要作用<sup>[30]</sup>。有关研究表明, 很多金属离子如  $Fe^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Co^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  等的转运是通过 Nramp 蛋白家族完成<sup>[30]</sup>。微量的铝可以对几乎所有的细胞产生毒害作用, 那么铝是如何进入细胞的机理, 直到最近 Xia 等<sup>[31]</sup> 发现了 1 个定位于细胞膜上的铝离子通道蛋白基因 *Nrat1* (Nramp aluminum transporter 1) 才被揭晓。当 *Nrat* 基因在酵母中表达时, *Nrat* 转运的是三价的  $Al^{3+}$ , 而非二价的  $Mg^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  和  $Al^{3+}$ -柠檬酸复合物。水稻的 *Nrat* 敲除突变体表现了铝吸收的增加, 细胞壁对铝吸附的增加和水稻对铝的敏感性<sup>[31]</sup>。可见, *Nrat* 在植物表现铝毒中起到了重要的作用。在铝胁迫下玉米基因芯片和铝敏感型紫花苜蓿的 SSH 文库中, 可以看到 Nramp 家族蛋白基因的诱导表达, 如玉米中的 *MZ00052211* 在 2h、6h 和 24h 被铝诱导表达, *MZ00012188* 在 6h 后被铝诱导表达; 在铝敏感型紫花苜蓿 YM1 中, 该蛋白家族中的两个基因 *GW342531* 和 *GW342532* 被铝诱导表达<sup>[5,13]</sup>。然而, 这些基因是否在其他物种中也参与到铝离子的吸收和运输还需要进一步的验证。



## 2.2 铝诱导的代谢相关基因

**2.2.1 细胞膜结构相关基因** 所有的细胞膜由极性的磷脂双分子层以及与之相连的蛋白质和多糖等组成。当植物处于温度、盐、臭氧和金属等非生物胁迫的时候,膜脂中不饱和脂肪酸含量会发生变化。由于三价铝是很活泼的离子,它更容易强烈地与质膜上的磷脂组分和与之相连的蛋白结合,这可以导致质膜的僵硬化并改变其组分。在柱花草的 cDNA 全长文库中,Ryan 等<sup>[32]</sup>筛选到 1 个编码 data8 鞘脂脱饱和酶的基因,这个基因的过量表达不仅可以增加酵母对铝的耐受能力,而且该基因在拟南芥中的过量表达提高膜脂中的不饱和脂肪酸的含量并增加了拟南芥对铝的抗性。可见,植物细胞膜鞘脂类组成的变化可以保护植物免受铝胁迫造成的氧化损伤<sup>[32]</sup>。

**2.2.2 细胞壁的修饰** 细胞壁主要由果胶、纤维素和半纤维素等多糖组成,在植物的正常生长和发育中起到了重要的作用。由于铝首先与细胞壁结合,因此细胞壁被认为是铝的主要结合位点和铝毒的主要作用靶点,影响了植物根的正常生长。如在大麦(*Hordeum vulgare*)中,85%~90%的铝结合在细胞壁上<sup>[33]</sup>,而 99.9%的铝可以结合在轮藻细胞壁中<sup>[34]</sup>。最近 Yang 等<sup>[7]</sup>发现,水稻根尖细胞壁果胶的甲酯化程度与抗铝能力有关。在铝抗性品种 Nipponbare 中具有较高水平的果胶甲酯化水平,而在铝敏感性水稻 Zhifu802 中的果胶却存在较多的非甲酯化、以果胶酸形式存在的果胶。在铝胁迫下,果胶甲酯酶的活性在两个品种中均被铝诱导,然而 Nipponbare 比 Zhifu802 具有较低的果胶甲酯甲酯酶(PME)活性。可见,果胶的甲酯化程度与水稻的抗铝能力呈正相关。在玉米中铝胁迫 DNA 微正列数据中,Maron 等<sup>[13]</sup>发现与细胞壁果胶修饰有关的果胶甲酯酶 PME 的基因在抗铝和铝敏感品种中均被铝诱导表达,然而在铝敏感性品种 L53 中,PME 的表达较抗性品种的表达量高很多。可见,果胶甲酯化程度在植物抗铝过程中起到了重要作用,且铝胁迫处理均能够提高 PME 的活性和诱导 PME 的表达。然而,在抗性植物中,PME 的活性和 PME 的表达水平均低于铝敏感性的品种。因此,在植物中通过 RNAi 技术干扰 PME 基因的表达可能是增加植物铝胁迫抗性的又一个新途径。

**2.2.3 植物次生代谢产物** 具有多种生物功能的花青素是植物中普遍存在的次生代谢产物。以前的研究结果表明,花青素参与植物对很多胁迫如紫外

线(UV)、活性氧、病原和损伤等的抵御过程<sup>[35]</sup>。不能合成花青素和其他酚类物质的拟南芥突变体比野生型更易受到 UV-B 的伤害<sup>[36]</sup>。一些与花青素合成途径有关的基因在盐敏感型的水稻 IR29 中被诱导表达,然而并没有在盐耐受品种 FL478 中被诱导<sup>[37]</sup>。本研究组在铝敏感性紫花苜蓿中也发现了一些编码花青素代谢途径中重要的酶如查尔酮合成酶、查尔酮异构酶和查尔酮还原酶等基因在 Al 敏感型紫花苜蓿中被诱导表达<sup>[5]</sup>。花青素对各种胁迫的缓解作用可能与其具有抗氧化活性有关,然而,很少有人关注到铝胁迫是否能够诱导花青素合成途径关键酶基因的表达以及与之相关的花青素含量的变化,这也许是由于大部分研究者使用的是铝胁迫耐受型的植物材料,因而这类基因没有被诱导表达所致。

## 2.3 受铝调控的胁迫和细胞死亡相关基因

**2.3.1 抗氧化胁迫相关基因** 铝毒胁迫产生过多的活性氧(ROS)可能对膜脂和 DNA 链产生氧化破坏,然而这些破坏可以得到一些抗氧化酶如 GST(谷胱甘肽 S 转移酶)、SOD(超氧化物歧化酶)和 POD(过氧化物酶)等的保护。抗氧化相关基因在拟南芥<sup>[10]</sup>、小麦<sup>[38]</sup>、紫花苜蓿(*Medicago sativa*)<sup>[5]</sup>和截型苜蓿(*Medicago truncatula*)<sup>[15]</sup>等的根中均被铝诱导表达。Darkó 等<sup>[38]</sup>报道 GST 在抗铝的小麦品种中有很高的表达水平,在拟南芥中过量表达烟草中的 GST,拟南芥的 SOD 等铝诱导基因,不仅增加转基因拟南芥对氧化胁迫的抗性,还增加了其对铝的耐受性,因此这两个基因在耐铝植物抗氧化胁迫方面具有很重要的作用。GLP(germin-like protein)是一类植物中广泛存在的蛋白质,大部分 GLP 与 Mn/Zn/Cu 结合后具有抗氧化酶的活性,与生物胁迫和非生物胁迫有关<sup>[39]</sup>。可见,抗氧化酶基因的铝诱导表达或活性的提高参与到植物应对铝胁迫的内部耐受机制中。

**2.3.2 细胞程序性死亡相关基因** 铝诱导小麦、大麦和截形苜蓿根尖细胞和酵母细胞的程序性死亡(PCD),铝诱导细胞死亡是通过 ROS 激活 PCD 进行的<sup>[40-41]</sup>。过表达 PCD 相关的 Ced-9、Bcl-2 和 Pp-BI-1 负调节因子的酵母在铝胁迫下通过抗凋亡组分减少钙信号的传导而缓解了与铝毒有关的细胞程序性死亡(PCD)<sup>[42]</sup>。因此,通过调节 PCD 负调控过程可能是增加植物铝抗能力的一个新机理。在生物和非生物胁迫条件下,丝氨酸蛋白酶在植物细胞中参与多种过程,包括降解储存蛋白、PCD 和周转

蛋白等。植物细胞通过 PCD,更新一些已经衰老的细胞,这可能是生物体抵抗胁迫的普遍机制。过量表达铝诱导的 *AtBCB* (蓝铜结合蛋白) 和 *NtGDI* (GDP 解离抑制剂) 可增加拟南芥和酵母对铝胁迫的耐受性<sup>[43]</sup>。Ezaki 等<sup>[44-45]</sup>认为在转基因拟南芥和酵母中,*AtBCB* 可能通过抑制铝的吸收缓解铝毒,而 *NtGDI* 可能通过促进根尖对铝的释放而增加植物对铝的耐受性,因此这可能是不同于有机酸分泌的一种耐铝毒机制。

## 2.4 受铝调控的转录和信号转导相关基因

### 2.4.1 细胞壁受体蛋白激酶基因

许多生物和非生物胁迫信号首先被植物感知,并通过一系列信号分子的转导最终影响到胁迫响应基因的表达<sup>[46]</sup>。信号转导中一个主要的机制是依赖于通过蛋白激酶和蛋白磷酸酶介导的蛋白质磷酸化进行的,由此调节许多生命活动过程。细胞壁相关的受体激酶是一类把细胞外信号转导入细胞内的跨膜蛋白,WAK 突变体的研究表明,它们对于植物发育和抵御病原胁迫过程中起到了重要作用。在拟南芥中,WAK 主要在细胞膜上积累,过量表达 *WAK1* 增加拟南芥对铝的抗性<sup>[47]</sup>。

### 2.4.2 钙依赖的蛋白激酶和丝裂原激活蛋白激酶基因

钙依赖的蛋白激酶(CDPK)是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。在植物中,CDPK 和 MAPK(丝裂原激活蛋白激酶)诱导的蛋白激酶已经被报道参与到多种环境胁迫的应答<sup>[48]</sup>。Ludwig 等<sup>[48]</sup>认为胁迫诱导的 CDPK 参与到胁迫前期的信号转导过程,乙烯可以促进 CDPK 和 MAPK 信号之间的交联作用。丝裂原激活蛋白(MAP)激酶级联信号通路是真核生物中普遍存在的信号转导模式,与 CDPK 相似的是它也参与到多种生物和非生物的胁迫如病原胁迫、干旱胁迫、盐胁迫和损伤胁迫等应答过程<sup>[49]</sup>。Zhang 等<sup>[50]</sup>认为 ABA 诱导  $H_2O_2$  的产生激活了 MAPK,并由此而引发了下游抗氧化酶基因的表达。在酵母中,MAP 蛋白激酶的信号转导在其感知和响应铝胁迫过程中起到了重要作用<sup>[51]</sup>。Yeh 等<sup>[52]</sup>报道,在水稻中 Cd 和 Cu 通过一个特异的信号通路激活 MAP 激酶,这个酶的活性在 Cd 抗性品种中比在 Cd 敏感型品种中高。Osawa 等<sup>[53]</sup>的试验结果显示,在抗铝的水稻根中,在苹果酸分泌之前铝诱导了 1 个 48-kD MAP 类激酶的表达,这表明 MAP 类激酶在 Al 的信号转导过程中可能起到重要作用,以协调一些 Al 响应基因的表达。通过仔细比较最近获得的研究数据和其他已发表的研究结果发现,

在黑麦<sup>[54]</sup>、截型苜蓿<sup>[15]</sup>和铝敏感型紫花苜蓿<sup>[5]</sup>等植物中,这些基因均被铝诱导表达。可见,胁迫有关的信号转导过程可能具有许多相似和交联的部分,这些基因可能也参与到铝胁迫的信号转导过程中,以启动一系列铝胁迫响应基因的表达。然而,目前对铝信号的传导机制还知之甚少。因此,这方面可能是今后研究的热点。

### 2.4.3 锌指蛋白转录因子基因

在拟南芥中,C2H2 锌指蛋白转录因子 STOP1 直接或间接的通过一个信号通路控制了一些有机酸通道蛋白 *AtALMT1* 和 *AtMATE* 基因的表达,STOP1 的正常表达使拟南芥具有低 pH 值和铝的抗性<sup>[18,55]</sup>。在 STOP1-KO 的拟南芥突变体中,铝诱导的苹果酸和柠檬酸的分泌受到抑制<sup>[18,55]</sup>,在 STOP1 插入突变体中,控制有机酸分泌的通道蛋白基因 *AtALMT1*、*AtMATE* 和 *ALS3* (ALUMINUM-SENSITIVE3) 的表达均被抑制,与耐酸有关基因的表达也被下调。可见,STOP1 通过调节耐酸和铝基因的表达而赋予拟南芥对酸和铝的抗性<sup>[18,55]</sup>。对铝敏感植物紫花苜蓿在铝胁迫下的正向 SSH 文库 EST 序列分析发现,信号传导和转录相关基因中有抗  $H^+$  和  $Al^{3+}$  毒所必须的 C2H2 型锌指蛋白转录因子基因 STOP1,它可能参与铝胁迫对紫花苜蓿分泌苹果酸过程的调控<sup>[5]</sup>。随后 Yamaji 等<sup>[56]</sup>在水稻也发现了与 STOP1 类似的一个锌指蛋白 ART1(铝抗性转录因子 1)。然而,与 STOP1 不同的是,ART1 的表达在水稻中是不受铝调节且呈组成型表达的模式。研究发现,ART1 在水稻中调节铝诱导的 30 多个基因的表达,其中包括已鉴定的水稻抗铝基因,如  $Mg^{2+}$  通道蛋白基因,STAR1 和 STAR2 (ABC 转运蛋白),MATE(柠檬酸通道蛋白)等。此外,ART1 还调节了水稻中的一个  $Al^{3+}$  转运蛋白 *Nrat1* (Nramp  $Al^{3+}$  通道蛋白) 的表达<sup>[57-58]</sup>。可见,该基因在水稻抗铝性能中有很关键的作用。

## 3 展望

综上所述,植物对铝毒胁迫的适应机制是一个由多基因控制的复杂性状。不同植物除了具有普遍的应对铝毒机制外,还有各自一些特异的抗铝毒机制。虽然很多的铝胁迫响应基因均通过一系列方法被鉴定,然而关于它们的功能和作用方面的信息仍然很少;质膜  $H^+$ -ATPase 参与到植物铝胁迫下有机酸的分泌过程中,然而铝胁迫下质膜  $H^+$ -ATPase 活性变化的调控机制还未见报道;水稻中铝离子通道蛋白基因(*Nrat1*)的鉴定使我们更清楚的认识到了铝

进入细胞的途径。因此,随后可能会在很多的物种中鉴定出编码铝离子通道蛋白的基因;植物响应铝毒的信号转导途径还知之甚少,且参与到铝毒信号途径中的基因克隆与分析几乎仍是空白;植物抗铝毒的分子机理是由多基因共同控制的结果,目前虽然知道了某些基因在植物的抗铝过程中起到关键作用,但是它们之间的关联性仍很欠缺,需要进一步的挖掘和探索。以上这些都可能是今后对植物抗铝分子机制研究的重点领域。

## 参考文献

- [1] Ma J F, Furukawa J. Recent progress in the research of external Al detoxification in higher plants; aminireview [J]. J Inorg Biochem, 2003, 97: 46-51
- [2] Sasaki T, Yamamoto Y, Ezaki B, et al. A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter [J]. Plant J, 2004, 37: 645-653
- [3] 易杰祥. 土壤酸化和酸性土壤改良研究[J]. 华南热带农业大学学报, 2006, 12(1): 23-28
- [4] 肖厚军, 王正银. 酸性土壤铝毒与植物营养研究进展[J]. 西南农学报, 2006, 19(6): 1180-1188
- [5] Chen Q, Zhang X D, Wang S S, et al. Transcriptional and physiological changes of alfalfa in response to aluminium stress [J]. Agric Sci, 2011, 149(6): 737-752
- [6] Ma J F. Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants [J]. Plant Cell Physiol, 2000, 41: 383-390
- [7] Yang J L, Li Y Y, Zhang Y J, et al. Cell wall polysaccharides are specifically involved in the exclusion of aluminum from the rice root apex [J]. Plant Physiol, 2008, 146: 602-611
- [8] 杨建立, 何云峰, 郑绍健. 植物耐铝机理研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(6): 836-845
- [9] 黄邦全, 白景华, 薛小乔. 植物铝毒害及遗传育种研究进展[J]. 植物学通报, 2001, 18(4): 385-395
- [10] Kumari M, Taylor G J, Deyholos M K. Transcriptomic responses to aluminum stress in roots of *Arabidopsis thaliana* [J]. Mol Genet Genomic, 2008, 279: 339-357
- [11] Ermolayev V, Weschke W, Manteuffel R. Comparison of Al-induced gene expression in sensitive and tolerant soybean cultivars [J]. J Exp Bot, 2003, 54: 2745-2756
- [12] Mao C Z, Yi K K, Yang L, et al. Identification of aluminium-regulated genes by cDNA-AFLP in rice (*Oryza sativa* L.); aluminium-regulated genes for the metabolism of cell wall components [J]. J Exp Bot, 2004, 55: 137-143
- [13] Maron L G, Kirst M, Mao C, et al. Transcriptional profiling of aluminum toxicity and tolerance responses in maize roots [J]. New Phytol, 2008, 179: 116-128
- [14] 王奇峰, 易琼, 李昆志, 等. 铝胁迫下柱花草 SSH 文库构建及表达序列标签分析[J]. 植物学报, 2010, 45(6): 679-688
- [15] Chandran D, Sharopova N, VandenBosch K A, et al. Physiological and molecular characterization of aluminum resistance in *Medicago truncatula* [J]. BMC Plant Biol, 2008, 8: 89
- [16] Delhaize E, Gruber B D, Ryan P R. The roles of organic anion permeases in aluminium resistance and mineral nutrition [J]. FEBS Letters, 2007, 581: 2255-2262
- [17] Hoekenga O A, Maron L G, Pineros M A, et al. *AtALMT1*, which encodes a malate transporter, is identified as one of several genes critical for aluminum tolerance in *Arabidopsis* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103: 9738-9743
- [18] Liu J, Magalhaes J V, Shaff J, et al. Aluminum-activated citrate and malate transporters from the *MATE* and *ALMT* families function independently to confer *Arabidopsis aluminum* tolerance [J]. Plant J, 2009, 57: 389-399
- [19] Furukawa J, Yamaji N, Wang H, et al. An aluminum-activated citrate transporter in barley [J]. Plant Cell Physiol, 2007, 48: 1081-1091
- [20] Magalhaes J V, Liu J, Guimaraes C T, et al. A gene in the multi-drug and toxic compound extrusion (*MATE*) family confers aluminum tolerance in sorghum [J]. Nat Genet, 2007, 39: 1156-1161
- [21] Maron L G, Pineros M A, Guimaraes C T, et al. Two functionally distinct members of the *MATE* (multi-drug and toxic compound extrusion) family of transporters potentially underlie two major aluminum tolerance QTLs in maize [J]. Plant J, 2010, 61: 728-740
- [22] Eticha D, Zahn M, Bremer M, et al. Transcriptomic analysis reveals differential gene expression in response to aluminium in common bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes [J]. Ann Bot, 2010, 105: 1119-1128
- [23] Huang C F, Yamaji N, Mitani N, et al. A bacterial-type ABC transporter is involved in aluminum tolerance in rice [J]. Plant Cell, 2009, 21: 655-667
- [24] MacDiarmid C W, Gardner R C. Overexpression of the Saccharomyces cerevisiae magnesium transport system confers resistance to aluminum ion [J]. J Biol Chem, 1998, 273: 1727-1732
- [25] Deng W, Luo K, Li D, et al. Overexpression of an *Arabidopsis* magnesium transport gene, *AtMG1*, in *Nicotiana benthamiana* confers Al tolerance [J]. J Exp Bot, 2006, 57: 4235-4243
- [26] Silva I R, Smyth T J, Israel D W, et al. Magnesium ameliorates aluminum rhizotoxicity in soybean by increasing citric acid production and exudation by roots [J]. Plant Cell Physiol, 2001, 42: 546-554
- [27] Ohno T, Koyama H, Hara T. Characterization of citrate transport through the plasma membrane in a carrot mutant cell line with enhanced citrate excretion [J]. Plant Cell Physiol, 2003, 44: 156-162
- [28] Shen H, He L F, Sasaki T, et al. Citrate secretion coupled with the modulation of soybean root tip under aluminum stress. Up-regulation of transcription, translation, and threonine-oriented phosphorylation of plasma membrane  $H^+$ -ATPase [J]. Plant Physiol, 2005, 188: 287-296
- [29] Kim Y S, Park W, Nian H, et al. Aluminum tolerance associated with enhancement of plasma membrane  $H^+$ -ATPase in the root apex of soybean [J]. Soil Sci Plant Nutr, 2010, 56: 140-149
- [30] Nevo Y, Nelson N. The NRAMP family of metal-ion transporters [J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1763: 609-620
- [31] Xia J, Yamaji N, Kasai T, et al. Plasma membrane-localized transporter for aluminum in rice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107: 18381-18385
- [32] Ryan P R, Liu Q, Sperling P, et al. A higher plant delta8 sphingolipid desaturase with a preference for (Z)-isomer formation confers aluminum tolerance to yeast and plants [J]. Plant Physiol, 2007, 144: 1968-1977
- [33] Clarkson D T. Interactions between aluminum and phosphorus on root surfaces and cell wall material [J]. Plant Soil, 1967, 27: 347-356
- [34] Taylor G J, McDonald-Stephens J L, Hunter D B, et al. Direct measurement of aluminum uptake and distribution in single cells of *Chara corallina* [J]. Plant Physiol, 2000, 123: 987-996
- [35] Maher P, Hanneken A. Flavonoids protect retinal ganglion cells from oxidative stress-induced death [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, 46: 4796-4803
- [36] Li J, Ou-Lee T M, Raba R, et al. *Arabidopsis* flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation [J]. Plant Cell, 1993, 5: 171-179
- [37] Walia H, Wilson C, Condamine P, et al. Comparative transcriptional profiling of two contrasting rice genotypes under salinity stress during the vegetative growth stage [J]. Plant Physiol,



- 2005,139:822-835
- [38] Darkó É, Ambrusa H, Stefanovits-Bányai É, et al. Aluminium toxicity, Al tolerance and oxidative stress in an Al-sensitive wheat genotype and in Al-tolerant lines developed by in vitro microspore selection [J]. *Plant Sci*, 2004, 166:583-591
- [39] Gucciardo S, Wisniewski J P, Brewin N J, et al. A germin-like protein with superoxide dismutase activity in pea nodules with high protein sequence identity to a putative rhicadhesin receptor [J]. *J Exp Bot*, 2007, 58:1161-1171
- [40] Tamas L, Budikova S, Huttova J, et al. Aluminum-induced cell death of barley-root border cells is correlated with peroxidase- and oxalate oxidase-mediated hydrogen peroxide production [J]. *Plant Cell Rep*, 2005, 24:189-194
- [41] Pan J, Zhu M, Chen H. Aluminum-induced cell death in root-tip cells of barley [J]. *Environ Exp Bot*, 2001, 46:71-79
- [42] Zheng K, Pan J W, Ye L, et al. Programmed cell death-involved aluminum toxicity in yeast alleviated by antiapoptotic members with decreased calcium signals [J]. *Plant Physiol*, 2007, 143:38-49
- [43] Ezaki B, Katsuhara M, Kawamura M, et al. Different mechanisms of four aluminum(Al)-resistant transgenes for Al toxicity in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2001, 127:918-927
- [44] Ezaki B, Gardner R C, Ezaki Y, et al. Expression of aluminum-induced genes in transgenic arabidopsis plants can ameliorate aluminum stress and/or oxidative stress [J]. *Plant Physiol*, 2000, 122:657-665
- [45] Ezaki B, Sasaki K, Matsumoto H, et al. Functions of two genes in aluminium(Al) stress resistance: repression of oxidative damage by the *AtBCB* gene and promotion of efflux of Al ions by the *NtG-DII* gene [J]. *J Exp Bot*, 2005, 56:2661-2671
- [46] Mukhopadhyay S, Munshi H G, Kambhampati S, et al. Calcium-induced matrix metalloproteinase 9 gene expression is differentially regulated by ERK1/2 and p38 MAPK in oral keratinocytes and oral squamous cell carcinoma [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279:33139-33146
- [47] Sivaguru M, Ezaki B, He Z H, et al. Aluminum-induced gene expression and protein localization of a cell wall-associated receptor kinase in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2003, 132:2256-2266
- [48] Ludwig A A, Saitoh H, Felix G, et al. Ethylene-mediated cross-talk between calcium-dependent protein kinase and MAPK signalling controls stress responses in plants [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102:10736-10741
- [49] Cardinale F, Meskiene I, Ouaked F, et al. Convergence and divergence of stress-induced mitogen-activated protein kinase signaling pathways at the level of two distinct mitogen-activated protein kinase kinases [J]. *Plant Cell*, 2002, 14:703-711
- [50] Zhang A, Jiang M, Zhang J, et al. Mitogen-activated protein kinase is involved in abscisic acid-induced antioxidant defense and acts downstream of reactive oxygen species production in leaves of maize plants [J]. *Plant Physiol*, 2006, 141:475-487
- [51] Schott E J, Gardner R C. Aluminum-sensitive mutants of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Gen Genet*, 1997, 254:63-72
- [52] Yeh C M, Chien P S, Huang H J. Distinct signalling pathways for induction of MAP kinase activities by cadmium and copper in rice roots [J]. *J Exp Bot*, 2007, 58:659-671
- [53] Osawa H, Matsumoto H. Possible involvement of protein phosphorylation in aluminum-responsive malate efflux from wheat root apex [J]. *Plant Physiol*, 2001, 126:411-420
- [54] Milla M A, Butler E, Huete A R, et al. Expressed sequence tag-based gene expression analysis under aluminum stress in rye [J]. *Plant Physiol*, 2002, 130:1706-1716
- [55] Iuchi S, Koyama H, Iuchi A, et al. Zinc finger protein STOP1 is critical for proton tolerance in *Arabidopsis* and coregulates a key gene in aluminum tolerance [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104:9900-9905
- [56] Yamaji N, Huang C F, Nagao S, et al. A zinc finger transcription factor ART1 regulates multiple genes implicated in aluminum tolerance in rice [J]. *Plant Cell*, 2009, 21:3339-3349
- [57] Xia J, Yamaji N, Ma J F. Further characterization of an aluminum influx transporter in rice [J]. *Plant Signal Behav*, 2010, 6:160-163
- [58] Xia J, Yamaji N, Kasai T. Plasma membrane-localized transporter for aluminum in rice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 107:18381-18385

## 欢迎订阅 2013 年《玉米科学》

《玉米科学》1992 创刊,由吉林省农业科学院主办。玉米科学是我国唯一的玉米专业学术期刊,在国内外玉米界具有较大影响。2004-2012 年连续 3 次入选全国中文核心期刊。

《玉米科学》主要报道:遗传育种、品种资源、耕作栽培、生理生化、生物工程、土壤肥料、专家论坛、国内外玉米科研动态、新品种信息等方面的内容。适合科研、教学、生产及管理方面的人员参考。

双月刊,双月 15 日出版。大 16 开本,152 页,每期定价 15 元,全年 90 元。国内外公开发行人,邮发代号:12-137,全国各地邮局(所)均可订阅,漏订者可直接向本刊编辑部补订。

《玉米科学》刊登广告,广告经营许可证号:2200005000005。有意者请与本刊编辑部联系

地址:吉林省长春市彩宇大街 1363 号,邮编:130033

电话:0431-87063137 手机:13944003137

E-mail:ymkx@cjaas.com