

徐宇,肖化云,郑能建,等. 植物组织中游离氨基酸在盐胁迫下响应的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2016, 39(7): 40-47. Xu Yu, Xiao Huayun, Zheng Nengjian, et al. Progress on responding of free amino acid in plants to salt stress[J]. Environmental Science & Technology, 2016, 39(7): 40-47.

植物组织中游离氨基酸在盐胁迫下响应的研究进展

徐宇¹, 肖化云^{1*}, 郑能建^{1,2}, 张忠义^{1,2}, 瞿玲露^{1,2}

(1.中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550081; 2.中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要: 氨基酸作为生物功能大分子蛋白质的基本组成单位和植物体中重要的氮代谢物, 对植株的氮代谢以及压力胁迫下植株的抗性都具有重要的作用。由于土地盐碱化的加剧, 近年来对盐胁迫下植物组织游离氨基酸的响应研究日益增多, 但是研究盐胁迫对植物组织游离氨基酸的影响主要都在强调中性盐的作用, 而很少有人关注碱性盐胁迫下的响应情况。文章将主要关注盐胁迫下植物中游离氨基酸所扮演的角色, 综述了当前植物中游离氨基酸在盐胁迫下响应研究概况和最新进展, 主要内容包括盐胁迫下植物中游离脯氨酸(Pro)、 γ -氨基丁酸(GABA)的响应机制以及植物中其它游离氨基酸的响应情况, 并且阐述了今后的研究应关注复合环境压力胁迫下植物组织游离氨基酸以及相应代谢物组的响应研究, 提出了施加氨基酸肥料以增强作物在逆境胁迫下抗性的新思路。

关键词: 游离氨基酸; 脯氨酸; γ -氨基丁酸; 盐胁迫; 响应; 抗性

中图分类号: X173 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1003-6504.2016.07.008 文章编号: 1003-6504(2016)07-0040-08

Progress on Responding of Free Amino Acid in Plants to Salt Stress

XU Yu¹, XIAO Huayun^{1*}, ZHENG Nengjian^{1,2}, ZHANG Zhongyi^{1,2}, QU Linglu^{1,2}

(1.State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, China; 2.University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Amino acid is the basic component of the protein macromolecules in biological function units, and also an important nitrogen metabolites in plants. Very little attention has been paid towards the response of free amino acid in plants to the stress of alkaline salts compared to neutral salts. Not only the review will consider the central role of amino acid in salt stress, but the mechanism of free amino acid (Pro, GABA) responding to salt stress in different plants. This paper reviews recent progress on studies of amino acid to response to salt stress. Response of free amino acid in plants and the corresponding metabolites to composite environmental stress should be focused in future research and new ideals for applying amino acid fertilizer to increasing the resistance of crops under adversity stress were proposed as well.

Key words: free amino acid; Pro; GABA; salt stress; response; resistance

盐碱土是一种广泛分布的土壤类型^[1], 盐碱胁迫是人类面临的生态危机之一, 尤其是在干旱和半干旱地区, 盐碱胁迫使作物的产量急剧减少^[2], 这可能是与组织细胞肿胀, 净 CO₂ 同化率减少, 有毒离子的过多积累, 以及矿物营养紊乱有关^[3-4]。盐碱胁迫影响了植物中氮的代谢, 可以降低作物对氮素的吸收和同化, 造成氮素营养相对亏缺, 抑制植物的生长发育, 对禾本科植物叶的影响更是尤为突出^[5], 如 50~200 mmol/L 的 NaCl 就能严重限制豆科植物的产量, 因为此时过高

的盐浓度会对根瘤细菌与豆科植物根部的共生关系造成不利影响, 最终影响植株的固氮能力^[6]。总言之, 盐胁迫成为了影响作物生长和产量的重要因素并且给农业造成了巨大的经济损失。

植物组织中游离氨基酸能直接或是间接对环境中生物的或是非生物的压力做出响应^[7]。如: 盐分、重金属、温度、大气污染、水压力、病虫害、营养供给的不平衡等环境压力都会使植物组织中游离氨基酸浓度发生改变, 许多植物在面对环境压力的时候便会增加

《环境科学与技术》编辑部 (网址) <http://fjks.chinajournal.net.cn> (电话) 027-87643502 (电子信箱) hjkxyjs@vip.126.com

收稿日期 2015-08-15 修回 2015-11-11

基金项目 国家重大科学研究计划(2013CB956703)

作者简介 徐宇(1990-), 男, 博士研究生, 主要研究方向为环境地球化学 (电子信箱) dhsxuyu@163.com * 通讯作者 (电子信箱) xiaohuayun@vip.skleg.cn

某些氨基酸的浓度以调控植物中氮的代谢^[8]。在盐胁迫下,植物能积累一些小分子含氮有机物(如游离氨基酸、甜菜碱、 NH_4^+ 、尿素等)来进行代谢或渗透调节,从而在一定程度上缓解盐胁迫给植物带来的不利影响^[2],其中游离氨基酸浓度的响应尤为灵敏,其作用不容忽视。

然而,目前研究盐胁迫对植物的影响主要都在强调 NaCl 或 Na_2SO_4 的作用,对碱性盐胁迫(如 NaHCO_3 和 Na_2CO_3)下植物组织中游离氨基酸的响应研究相对较少^[9],而且强调的多是单一环境压力胁迫,忽视了实际环境中存在盐胁迫的同时还可能存在着高氮沉降、重金属等环境压力的作用,同时对与氨基酸有关的代谢物组研究甚少^[10-11],因此研究在盐胁迫下植物组织中游离氨基酸的代谢规律及响应情况,能帮助理解植物组织游离氨基酸在环境胁迫下所发挥的重要作用,为进一步探寻其在农业上的应用价值提供理论指导。

1 植物组织中游离 Pro 在盐胁迫下的响应机制

目前研究得最多,同时认为盐胁迫下植株组织中普遍会积累的 2 种物质是甜菜碱和 Pro^[12-13]。有研究认为 Pro 在许多植物中似乎是一种优质的渗透压调节剂^[3],但是也有人持相反意见,认为 Pro 是一种无效的渗透压调节剂^[14],实际上由于植物品种不同,情况可能会发生变化,所以对 Pro 在渗透压调节中的作用有所争议。但在盐胁迫下很多植物的组织中游离子氨基酸含量,尤其是 Pro 的含量会显著升高,而且根据 Ashraf 等的研究,盐胁迫下许多单子叶植物的组织中 Pro 的积累已经成了一个普遍的特征^[7]。

在高等植物中,Pro 主要从谷氨酸(Glu)合成而来,但是也可以从鸟氨酸(Orn)合成而来^[15]。当在无盐胁迫时,磷脂酶 D(PLD)作为 Pro 积累的负调节因子^[16],然而当在有盐胁迫时 Ca^{2+} 和磷脂酶 C(PLC)就会引起 P5CS 基因的转录以及 Pro 的积累^[17],此时 PLD 是作为负调节因子,PLC 则作为正调节因子,如盐胁迫下,拟南芥(*A. thaliana*)中 Pro 的积累,PLD 就作为负调节因子,PLC 则作为正调节因子^[18]。同时在盐胁迫下,植物组织中 Pro 的生物合成受到 2 个 P5CS 基因调控(P5CS1 和 P5CS2)^[19],绿色荧光蛋白(GFP)标记实验证实 P5CS1 会在叶绿体中积累,导致 Pro 在质体中合成,而 P5CS2 基因则会在细胞质基质中积累^[20],所以根据环境条件的不同,Pro 可以经细胞中不同的器官合成。盐胁迫下 Ca^{2+} 可以被钙调蛋白(CaM)传输,经 MYB2 转录因子以及 P5CS1 基因转录,最终调控 Pro 的合成^[21]。同时,也有研究认为,盐胁迫能抑制谷氨

酰胺合成酶(GS)和谷氨酸合成酶(GOGAT)活性,从而影响氨基酸的合成,Kumar 等就认为酶活性能影响 Pro 以及其他氨基酸的合成^[22],但也有相反的报道^[23]。

虽然仍有很多研究者认为 Pro 对渗透压的调节作用非常小甚至是无关^[24-25],但是,盐胁迫下植物中 Pro 的浓度通常都会有较大幅度的增加。如 140 mmol/L NaCl 胁迫下非耐盐性西红柿(*Lycopersicon esculentum* Mill)根和叶中 Pro 含量的最高增幅在 20 倍左右,最高浓度都能达到 5 mmol/L,耐盐性西红柿(*L. pennellii*)根和叶中 Pro 含量的最高增幅也能达到 10 倍左右,最高浓度分别为 1 mmol/L 和 3.2 mmol/L^[26]。Poustini 等测定了人为添加 NaCl 盐 20 d 后 30 种小麦品种叶中 Pro 的含量,结果表明品种 Ghods 叶中 Pro 的含量相比于对照组增加了 27.4 倍,浓度达到了 4.66 mg/g(湿重),其它 19 种耐盐品种叶中 Pro 的平均增幅也在 5.2 倍左右^[27]。Lacerda 等研究了 2 种基因型的高粱(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)幼苗中 Pro 在 NaCl 盐胁迫下的响应,结果发现耐盐品种老叶中 Pro 浓度增加了 6 倍,达到了 15.1 mmol/kg(干重),盐敏感品种老叶中 Pro 浓度增加了近 20 倍,达到了 62.8 mmol/kg(干重)^[28]。在盐胁迫下大豆中 Pro 的响应也出现了这种情况^[29]。

以上这些说明了 2 个问题:其一,盐胁迫下一些植物的组织(如叶)Pro 的响应能反映植株受盐胁迫的相对程度,即在盐浓度未达到损伤植物生长的前提下,盐浓度越高植物组织 Pro 含量相应的也越高,又由于新叶要依赖老叶的光合作用为其生长提供养分,因此同样也能说明通过成熟叶中 Pro 的含量也许能更好的去判断植株受盐胁迫的相对程度,De Lacerda 等的研究也进一步说明了这一点^[30];其二,盐胁迫下同种植物耐盐性的植株叶组织中 Pro 含量增幅较盐敏感型植株要小得多,而有观点认为可以将植物组织 Pro 含量变化作为判断是否是耐盐植株的标准,上述结果则对该结论提出了质疑。

2 植物组织中游离 GABA 在盐胁迫下的响应机制及与 Pro 响应的差异性

GABA 是一个有 4 个碳的非蛋白质氨基酸,是游离氨基酸库的重要组成。每一种植物的各个部分均存在 GABA,甚至在豆科植物的根瘤及植物组织的木质部和韧皮部汁液中都检测到 GABA,且正常生长条件下,植物组织中的 GABA 含量是比较低的,在 0.03~2.00 $\mu\text{mol/g}$ (鲜重)之间^[6],但是在环境压力胁迫下 GABA 的浓度便会增加数倍甚至是数十倍,这些环境压力包括盐胁迫、温度刺激、机械刺激、低氧胁迫、植

物激素胁迫等。例如, Xing 等研究了大豆根 GABA 在不同浓度 NaCl 浓度下的变化规律, 当 NaCl 浓度在 50 mmol/L 时, 根中 GABA 增加了近 16 倍多, 浓度达到了约 8 $\mu\text{mol/g}$ (鲜重), NaCl 浓度升到在 100 mmol/L 时, 根中 GABA 增加了 20 多倍, 浓度达到了约 11 $\mu\text{mol/g}$ (鲜重), 再升高 NaCl 浓度, 根中 GABA 浓度便不会在明显增加^[31]。

植物体中有 2 条合成和转化 GABA 的途径: 一条是谷氨酸脱羧酶(GAD)催化谷氨酸脱羧合成, 另一条由多胺降解的中间产物转化而来, 其过程为: 腐胺经二胺氧化酶催化, 可以形成吡咯琳、 H_2O_2 和氨; 亚精胺和精胺在多胺氧化酶的作用下, 分别氧化成吡咯琳、1-(3-丙氨酸)2-吡咯琳以及二氨基丙烷和 H_2O_2 , 二氨基丙烷可转化为 β -丙氨酸, 吡咯琳又在吡咯琳脱氢酶催化下形成 GABA^[32]。

使 GABA 积累的可能途径有 2 条: 一是使谷氨酸脱羧酶(GAD)的活性增加, GABA 合成加速; 二是 GABA 转氨酶(GABA-T)和琥珀酸半醛脱氢酶(SSADH)活性减弱, GABA 降解转化速率减慢。但影响 GABA 代谢的主要因素是 GAD, 因为 GAD 是一系列酶促反应的第 1 个关键酶, 对 GABA 代谢的调控起着决定性的作用。但 GAD 存在于细胞浆中, GABA-T 和 SSADH 则主要在线粒体中, 因此谷氨酸脱羧形成的 GABA 必需经过跨膜运输才能进入线粒体中, 然后再经转氨、脱氢、氧化形成的琥珀酸进入 TCA 循环^[33]。

GAD 是一种极易溶于水的蛋白质, 拥有 Ca^{2+} /CaM (钙调蛋白) 结合区域, 现已发现在所有植物组织的发育期间, GAD 水平是通过转录及转录后的过程来调控的^[33]。推测环境胁迫可以升高胞内 Ca^{2+} 和 H^+ 水平, 激活 GAD, 引起 GABA 积累, 然后 GABA 与其受体结合从而调控植物的生长发育, 但是对植物中是否存在 GABA 受体这个问题仍然不明确。

实验证明在盐胁迫下细胞中的 Ca^{2+} 会显著增加, 增加的 Ca^{2+} 在 Ca^{2+} /CaM 结合区域通过谷氨酸脱羧酶(GAD)作用, 从而导致 GABA 的合成, 而且一般在植株受盐胁迫的 4~5 d 后, GABA 浓度就能达到较高的值^[34]。

有趣的是, GABA 和 Pro 在盐胁迫下的响应有一定的差异性。首先增加的量不用, 如盐胁迫下在栽培的西红柿 (*Lycopersicon esculentum* Mill) 组织中 GABA 的含量就要比 Pro 和溶解性糖的含量增幅大很多^[26]; 其次, 很多研究结果发现盐胁迫下 Pro 的浓度是在几天之后或者是说一段时间后才开始显著增长, 如浓度为 0.5%、1.0% 和 1.5% NaCl 胁迫下耐盐性桑树叶中的 Pro 均是在 4 d 以后才显著增长, 12 d 后达到

浓度最大值分别为约 60、110、160 $\mu\text{g/mg}$ (鲜重), 但是 GABA 的浓度是在盐胁迫一开始就开始增加^[22]。还有在 140 mmol/L NaCl 的胁迫下, 西红柿 (*Lycopersicon esculentum* Mill) 根中的 GABA 浓度一开始就开始增长, 在第 4 天就增加了 2 倍多, 达到近 1.7 mmol/L, 叶中的增加了 3 倍多, 达到了近 3.5 mmol/L, 而 Pro 开始增加的时间要比 GABA 晚, 且 GABA 的增加量较 Pro 的要多^[26]。De Lacerda 等的研究也说明了 Pro 的增长是在盐胁迫几天之后才开始的^[30]。最后, 当盐浓度到达一定程度后, GABA 与 Pro 的响应也有所差别, 当 NaCl 浓度从 100 mmol/L 增加到 150 mmol/L 的时候, 紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 根部 GABA 的浓度没有增高, 似乎还有减少的趋势, Pro 则没有这种情况^[6], GABA 的这种变化规律与 Xing 等的研究一致^[31]。

近年来, 研究人员对 GABA 在植物体中的生理作用越来越感兴趣, 这方面的研究也日益增多, 但是各种逆境胁迫中引起 GABA 积累的确切生理意义是什么以及它具体是通过什么机制在植物抗逆性中发挥作用的, 对这些问题的研究虽然取得了一定的进展, 但还不是十分清楚。但不否认的是, 相当多的植物在盐胁迫等逆境条件下, 能显著地提高一些组织中 GABA 含量。

3 植物组织中其它游离氨基酸在盐胁迫下的响应

虽然对于盐胁迫下植物组织中游离氨基酸的响应研究, 关注较多的还是 Pro 和 GABA 的响应机制, 但是植物组织中其它的游离氨基酸同样能对盐胁迫产生响应。

Fougère 等的研究表明用 100 mmol/L 的 NaCl 处理 2 周就能使紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 根部的总游离氨基酸增加 1.6 倍, 当用 150 mmol/L 的 NaCl 处理时根部总游离氨基酸量又增加了 11.3 倍, Pro 的增加比例仍然是最大的, 但紧接着就是天冬酰胺 (Asn), 从约 300 nmol/g (鲜重) 增加到 900 nmol/g (鲜重), 谷氨酸 (Glu)、丙氨酸 (Ala)、谷氨酰胺 (Gln) 的浓度也都有不同程度的增加。用 170 mmol/L 的 NaCl 处理 20 d 后, 菠菜 (*Spinacia oleracea*) 叶甘氨酸 (Gly)、丝氨酸 (Ser)、脯氨酸 (Pro) 含量大量增加 (分别增加了 16.5、30 倍), 占了总游离氨基酸浓度的 85%; 到了 27 d 后总游离氨基酸量相比于控制组减少 180%, Pro 含量继续增加, Ser 含量开始减少, Glu、Asp 量继续减少; 到 43 d 后总游离氨基酸量相比于控制组减少 200%, 这时候 Gly、Ser 含量降到了与控制组相当的水平, Pro 含量虽然也会相对减少, 但仍比控制组高出 10 倍左右, Glu、Gln、Asp、Asn 的含量比控制组还要低, 亮氨酸

(Leu)、异亮氨酸(Ile)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)却又显著增加了,但之前都没有什么显著变化^[35]。

虽然研究表明在盐胁迫下植物组织中的很多游离氨基酸都会有一定程度的响应,但很多情况下除Pro以及GABA外其它的游离氨基酸的浓度变化却很难有什么规律可循,也就是说环境情况稍稍改变,它们的浓度就会发生变化。

4 盐胁迫下植物组织中游离氨基酸的指示作用

有研究者认为游离氨基酸在植物叶中的积累可以作为一种植物耐盐的指示物从而反映植物的耐盐性^[22, 36]。在不严重影响植株生长的NaCl浓度(不超过400 mmol/L)下,2~3周后红树科植物*Bruguiera parviflora*对盐的耐性显著增强,Parida等认为正是由于Pro及多酚类的积累才使得该水培的*Bruguiera parviflora*对盐产生耐性^[37]。Yan等对在盐胁迫下柠条锦鸡儿(*Caragana korshinskii* Kom)叶中的游离氨基酸分析后发现,其叶中游离氨基酸的积累在盐浓度高于一个临界值后便迅速增加^[38],这与Hartzendorf等对芦苇(*Phragmites australis*)的研究结果一致^[39],Pro仍然是所有游离氨基酸中积累得最多的氨基酸。还有Lutts等的研究也认为Pro能作为耐盐植株的指示物^[12]。有研究者甚至将细菌中的某些特定基因转接到植物中,使得植物组织中的Pro大量产生,使得植株对盐胁迫产生抗性^[40],如上所述,在多数情况下,植株组织中Pro的积累量与植株的耐盐能力呈正相关关系^[41],所以他们认为这些现象这可以说明植物中这种Pro含量的增加能够提高植株在盐胁迫下的耐性,可以作为植物品种耐盐的指示物。

关于盐胁迫下植物中游离Pro或者是其它游离氨基酸的积累是否是植物产生耐盐性的原因仍缺少让人信服的实验证据,且盐胁迫下还有很多其它的化合物(如多酚类以及甜菜碱等)也会显著增加,不能排除是不是它们的作用而导致植株产生耐性,在目前这种对植株耐盐机制还不是很清楚时^[42],并且对植物中游离Pro或者其它游离氨基酸在盐胁迫下起到的具体作用仍不明了时^[18],所以有部分研究者并不认为植物组织中某种游离氨基酸的积累能作为判断该植株耐盐的表征。他们认为植物组织Pro的积累只是一种植物在盐胁迫下的适应性^[43-44]。有报道,盐敏感型植株组织中积累的Pro的量显著高于耐盐型植株组织中Pro的量^[12],Jain等的研究也有类似发现^[45]。而且有研究者并没有发现植株组织中游离Pro含量在盐胁迫下有十分显著的增加,如西红柿嫩枝组织切片在人为添加NaCl的情况下进行培养,结果是并没有引起其

组织内Pro含量的显著增加^[46]。有研究者的进一步实验证实,盐胁迫下植物组织中游离Pro的增加仅仅是植物对环境压力的响应而并不是使植株对盐胁迫产生耐性的关键性原因^[29]。另外,Garcia等也发现,盐胁迫下水稻叶中游离Pro的积累似乎是植物受到损伤的征兆,而不能作为水稻植株耐盐的指示物^[47]。

5 硝酸盐胁迫下植物组织中游离氨基酸的响应

我国是世界上氮肥生产、进口和消耗量最大的国家,过量施用氮肥,不论是单独施用无机肥、有机肥还是有机、无机混施都能造成硝酸盐在土体中大量积累,因此农业区域的土壤通常都有着较高浓度的硝酸盐。在环境压力胁迫下,氨基酸的积累并不是因为环境压力影响了氮的摄取,而是因为环境压力影响了氮的代谢,当植物吸收了过多的氮而导致的氮摄取与氮同化之间的不平衡就可能造成有毒的 NH_4^+ 在细胞中积累,这时候植物往往就会将这些有毒的 NH_4^+ 合成氨基酸以及相应的化合物,以减少 NH_4^+ 的毒性而增加植物的抗性^[48-49]。

硝酸盐含氮,硝酸根可以作为氮源被植物利用,在硝酸盐胁迫下植物体内游离氨基酸的合成机制跟在NaCl等不含氮素盐的胁迫下就有可能不同。Bohnert等研究了8种不同品种的水稻幼苗对盐分的耐受能力以及测得了盐胁迫下其嫩枝中的一些含氮化合物(如游离氨基酸、 NH_4^+ 等)的含量,结果表明嫩枝中积累的游离 NH_4^+ 与 Na^+ 的积累量呈正相关,同时也与积累的游离氨基酸的量呈正相关,说明盐胁迫下产生的 NH_4^+ 的再同化作用可能是造成植株嫩枝中游离氨基酸增加的重要原因^[50],而在存在较多硝酸盐时,植物根吸收的硝酸根在植物体内可以最终转化为 NH_4^+ ,接着可以利用 NH_4^+ 合成氨基酸等有机质,这可能是氨基酸合成的主要途径。总的来说,游离氨基酸可能是植物细胞质中重要的渗透压调节物质,也许正是由于盐胁迫下植物中积累的有毒性的 NH_4^+ 转变成的游离氨基酸的增加,才有可能增加某些植株在盐胁迫下的耐性。

6 植物组织中游离氨基酸在碱性盐胁迫下的响应

在中国东北部,有超过70%的土地是碱性的,而且规模还正在扩大,其土壤pH值大于10,只有很少的耐碱性物质可以存活^[9]。目前研究盐碱胁迫对植物的影响主要都在强调NaCl或 Na_2SO_4 的作用,而很少有人关注碱性盐胁迫(如 NaHCO_3 和 Na_2CO_3)下植物组织游离氨基酸的响应情况,而植物在中性盐胁迫下和碱性盐胁迫下的代谢规律是显著不同的,因为相对于偏碱性的土壤环境植物更适合生长在微酸性的

土壤条件下,且在碱性盐胁迫下对植物生长的影响要比在中性盐胁迫下对植物生长的影响大得多也复杂得多^[8,51]。而植物同样可以通过调节组织的氨基酸代谢来缓解碱性盐胁迫下带来的植株根部损伤以及矿物营养和离子平衡紊乱等一系列问题^[8]。

Wu 等研究了碱性条件下($\text{NaHCO}_3:\text{Na}_2\text{CO}_3=9:1$; pH 8.9)生长 30 d 的水稻幼苗游离氨基酸的变化情况,结果表明在碱性盐胁迫下,水稻的氨基酸代谢受到了很大的影响,而这比在中性盐胁迫下水稻中的氨基酸代谢变化更加复杂,它对不同的氨基酸有着不同的影响,如会减少酪氨酸(Tyr)和苯丙氨酸(Phe)的含量同时又会增加天冬氨酸(Asp)和谷氨酸(Glu)的含量^[52]。Yang 等对碱地肤(*Kochia sieversiana*)在不同浓度中性盐($\text{NaCl}:\text{Na}_2\text{SO}_4=1:1$)和碱性盐($\text{NaHCO}_3:\text{Na}_2\text{CO}_3=1:1$)胁迫下嫩枝中 Pro 含量变化的研究表明,当盐浓度低于 240 mmol/L 时,无论是在中性盐还是碱性盐条件下组织 Pro 的浓度变化都不显著,但是一旦盐浓度超过 240 mmol/L,Pro 的浓度都急剧上升,在中性盐和碱性盐条件下分别比对照组高出 12.87 和 17 倍,当盐浓度到了 400 mmol/L,在碱性盐条件下的 Pro 浓度比中性盐条件下的 Pro 的浓度还要高^[53],在盐碱胁迫下碱地肤(*Kochia sieversiana*)嫩枝中积累 Pro 的这种性质相比于别的植物非常独特^[54]。

总结前人研究成果发现,在碱性盐胁迫下植物组织游离氨基酸浓度的显著变化都是出现在盐浓度达到一个阈值(即 pH 达到一定值)且植株经过一段时间适应之后。Zhang 的研究进一步证实了这一点,在 pH 达到 10.3 的碱性生长条件下,7 d 后早熟禾(*Poa pratensis*)嫩枝 Asp、Arg、Glu、Ser、His(组氨酸)、Ala、Met(蛋氨酸)、Ile、Leu、Lys(赖氨酸)和总氨基酸浓度才都显著增加,尤其对于 Asp、Glu 和 His 这 3 种游离氨基酸,含量分别增加了 6.2、2.9、6.4 倍^[8]。因此,碱性盐胁迫相比中性盐胁迫会给植物生长带来更大的影响,其主要原因可能是较高的 pH 造成的。

7 结语与展望

植物如果对盐有耐性,就应该有调节渗透压以及缓解某些离子毒性的能力。盐诱导的渗透胁迫会破坏植物体的一些关键生理过程,造成植物中的游离氨基酸代谢发生变化,植物便会通过游离氨基酸来调控细胞内 pH 和离子转运,调节气孔导度,维持蛋白质以及膜的完整性等^[20,55],进而缓解盐胁迫带来的生长压力,增加植株的逆境适应性。并没有确切的证据能说游离氨基酸的积累就是耐盐植株的象征,所以将来的研究应该更系统更全面,去探寻盐胁迫下尤其是碱性盐胁迫

下耐盐植物和非耐盐植物组织中各种游离氨基酸含量上存在差异的原因以及该压力胁迫下各种游离氨基酸起到的具体作用。

很多研究都仅停留在盐胁迫下植物组织中游游离氨基酸浓度变化的层面上,相比之下很少人研究盐胁迫下植物组织中代谢物组的响应情况以及其更深层次的代谢机制和生理意义^[10-11],因为盐胁迫下不仅是氨基酸的代谢发生改变,氨基酸与其它代谢物之间可能也会存在交互作用,正可能是这种交互作用使得盐胁迫下植株耐性显著不同,因此将来的研究应改变这种现状,多关注氨基酸与其它代谢物的交互作用。

结合现有的科研成果发现,通过调控技术改善盐胁迫下的氮代谢对提高作物抗盐能力至关重要。较早的研究就发现了施加外源氨基酸能直接使植物对 NO_3^- 、 NH_4^+ 的摄取量减少^[56],且用适当浓度的外源氨基酸、 Ca^{2+} 、肌醇和甜菜碱处理可以明显改善植物的生理特性从而显著提高植物的耐盐性^[57],最新的研究发现施加 Phe 能大大增加葡萄中游离氨基酸的浓度,提高酒的质量^[58],添加 GABA 能使拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的耐盐性显著增强,而这可能是与施加 GABA 后增加了脱落酸(ABA)的含量导致某些压力基因的表达以及气孔的关闭有关^[59],类似的发现也体现在 Breitkreuz 等的研究中^[60]。这都说明或许我们可以利用添加氨基酸的肥料来增加植株的抗环境胁迫的能力和提高了作物的营养水平,而不用借助于转基因技术。在植物氨基酸营养研究领域,对氨基酸运输载体的研究已经进展到分子水平,借此,未来可以进一步研究向土壤中添加氨基酸致使植物生长促进或抑制的生理机制,以便在当前中国存在较多不科学施肥的情况下,开发新型氨基酸复合肥料,对农业做出贡献。

目前研究者多数都是关注只在盐胁迫下植物组织中游游离氨基酸的响应情况,而且基本上都是停留在实验室模拟研究阶段,但实际情形是,自然界中的环境情况要比实验室环境条件复杂得多,此时植物往往会同时遭受多种环境压力,而这种综合作用的结果与单一压力作用的结果有着显著差异^[11]。因为在国内很多地区植物在面对盐胁迫的同时还可能面对重金属、温度、高氮沉降的影响,然而,我们却不知道复合环境压力下,植物游离氨基酸的代谢规律以及其在植株生长过程中的发挥的作用,所以,今后的研究不能仅停留在盐胁迫的情形下,应该结合实际的环境情况,将研究扩展到盐和其它环境压力复合下的植物体中游游离氨基酸响应机制并且探究它在生态学中的作用。

[参考文献]

- [1] Baltruschat H , Fodor J , Harrach B D , et al. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants [J]. *New Phytologist* , 2008 , 180(2) : 501–510.
- [2] Munns R. Comparative physiology of salt and water stress [J]. *Plant , Cell & Environment* , 2002 , 25(2) : 239–250.
- [3] Ghoulam C , Foursy A , Fares K. Effects of salt stress on growth , inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars [J]. *Environmental and Experimental Botany* , 2002 , 47(1) : 39–50.
- [4] Hu L , Zhang P , Jiang Y , et al. Metabolomic analysis revealed differential adaptation to salinity and alkalinity stress in Kentucky bluegrass (*Poa pratensis*) [J]. *Plant Molecular Biology Reporter* , 2015 , 33(1) : 56–68.
- [5] Flowers T J. Improving crop salt tolerance [J]. *Journal of Experimental Botany* , 2004 , 55(396) : 307–319.
- [6] Fougère F , Le Rudulier D , Streeter J G. Effects of salt stress on amino acid , organic acid and carbohydrate composition of roots , bacteroids and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Plant Physiology* , 1991 , 96(4) : 1228–1236.
- [7] Ashraf M , Harris P J C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants [J]. *Plant Science* , 2004 , 166(1) : 3–16.
- [8] Zhang P , Fu J , Hu L. Effects of alkali stress on growth , free amino acids and carbohydrates metabolism in Kentucky bluegrass (*Poa pratensis*) [J]. *Ecotoxicology* , 2012 , 21(7) : 1911–1918.
- [9] Wang X , Chen W , Zhou Y , et al. Comparison of adaptive strategies of alfalfa (*Medicago sativa* L.) to salt and alkali stresses [J]. *Australian Journal of Crop Science* , 2012 , 6(2) : 309–314.
- [10] Cook D , Fowler S , Fiehn O , et al. A prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low-temperature metabolome of *Arabidopsis* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 2004 , 101(42) : 15243–15248.
- [11] Rizhsky L , Liang H , Shuman J , et al. When defense pathways collide. The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress [J]. *Plant Physiology* , 2004 , 134(4) : 1683–1696.
- [12] Lutts S , Majerus V , Kinet J M. NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings [J]. *Physiologia Plantarum* , 1999 , 105(3) : 450–458.
- [13] Thu Hoai N , Shim I , Kobayashi K , et al. Accumulation of some nitrogen compounds in response to salt stress and their relationships with salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings [J]. *Plant Growth Regulation* , 2003 , 41(2) : 159–164.
- [14] Kishor P K , Sangam S , Amrutha R , et al. Regulation of proline biosynthesis , degradation , uptake and transport in higher plants its implications in plant growth and abiotic stress tolerance [J]. *Curr Sci* , 2005 , 88(3) : 424–438.
- [15] Delauney A J , Verma D P S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants [J]. *The Plant Journal* , 1993 , 4(2) : 215–223.
- [16] Thiery L , Leprince A S , Lefebvre D , et al. Phospholipase D is a negative regulator of proline biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Biological Chemistry* , 2004 , 279(15) : 14812–14818.
- [17] Parre E , Ghars M A , Leprince A S , et al. Calcium signaling via phospholipase C is essential for proline accumulation upon ionic but not nonionic hyperosmotic stresses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology* , 2007 , 144(1) : 503–512.
- [18] Ghars M A , Parre E , Leprince A S , et al. Opposite lipid signaling pathways tightly control proline accumulation in *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophila* [J]. *Biosaline Agriculture and High Salinity Tolerance* , 2008 : 317–324.
- [19] Strizhov N , Abraham E , Ökrész L , et al. Differential expression of two P5CS genes controlling proline accumulation during salt-stress requires ABA and is regulated by ABA1 , ABI1 and AXR2 in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal* , 1997 , 12(3) : 557–569.
- [20] Szabados L , Savaouré A. Proline a multifunctional amino acid [J]. *Trends in Plant Science* , 2010 , 15(2) : 89–97.
- [21] Yoo J H , Park C Y , Kim J C , et al. Direct interaction of a divergent CaM isoform and the transcription factor , MYB2 , enhances salt tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Biological Chemistry* , 2005 , 280(5) : 3697–3706.
- [22] Kumar S G , Reddy A M , Sudhakar C. NaCl effects on proline metabolism in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) with contrasting salt tolerance [J]. *Plant Science* , 2003 , 165(6) : 1245–1251.
- [23] Veeranagamallaiah G , Chandraoulreddy P , Jyothsnakumari G , et al. Glutamine synthetase expression and pyrroline-5-carboxylate reductase activity influence proline accumulation in two cultivars of foxtail millet (*Setaria italica* L.) with differential salt sensitivity [J]. *Environmental and Experimental Botany* , 2007 , 60(2) : 239–244.
- [24] Colmer T D , Epstein E , Dvorak J. Differential solute regulation in leaf blades of various ages in salt-sensitive wheat and a salt-tolerant wheat x *Lophopyrum elongatum* (Host) A. Love amphiploid [J]. *Plant Physiology* , 1995 , 108(4) : 1715–1724.
- [25] Lutts S , Kinet J , Bouharmont J. Effects of salt stress on growth , mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.)

- cultivars differing in salinity resistance[J]. *Plant Growth Regulation*, 1996, 19(3) 207–218.
- [26] Bolarín M C, Santa Cruz A, Cayuela E, et al. Short-term solute changes in leaves and roots of cultivated and wild tomato seedlings under salinity[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1995, 147(3/4) 463–468.
- [27] Poustini K, Siosemardeh A, Ranjbar M. Proline accumulation as a response to salt stress in 30 wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance[J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2007, 54(5) 925–934.
- [28] Lacerda C F, Cambraia J, Cano M A O, et al. Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes, under NaCl stress[J]. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 2001, 13 270–284.
- [29] Moftah A E, Michel B E. The effect of sodium chloride on solute potential and proline accumulation in soybean leaves[J]. *Plant physiology*, 1987, 83(2) 238–240.
- [30] De Lacerda C F, Cambraia J, Oliva M A, et al. Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2003, 49(2) 107–120.
- [31] Xing S G, Jun Y B, Hau Z W, et al. Higher accumulation of γ -aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. roots[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2007, 45(8) 560–566.
- [32] Bhatnagar P, Glasheen B M, Bains S K, et al. Transgenic manipulation of the metabolism of polyamines in poplar cells[J]. *Plant Physiology*, 2001, 125(4) 2139–2153.
- [33] Bouché N, Lacombe B T, Fromm H. GABA signaling a conserved and ubiquitous mechanism[J]. *Trends in Cell Biology*, 2003, 13(12) 607–610.
- [34] Kinnersley A M, Turano F J. Gamma aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2000, 19(6) 479–509.
- [35] Di Martino C, Delfine S, Pizzuto R, et al. Free amino acids and glycine betaine in leaf osmoregulation of spinach responding to increasing salt stress[J]. *New Phytologist*, 2003, 158(3) 455–463.
- [36] Salah I B, Slatni T, Gruber M, et al. Relationship between symbiotic nitrogen fixation, sucrose synthesis and anti-oxidant activities in source leaves of two *Medicago ciliaris* lines cultivated under salt stress[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2011, 70(2/3) 166–173.
- [37] Parida A, Das A, Das P. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures[J]. *Journal of Plant Biology*, 2002, 45(1) 28–36.
- [38] Yan H, Hu X, Li F. Leaf photosynthesis, chlorophyll fluorescence, ion content and free amino acids in *Caragana korshinskii* Kom exposed to NaCl stress[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2012, 34(6) 2285–2295.
- [39] Hartzendorf T, Rolletschek H. Effects of NaCl-salinity on amino acid and carbohydrate contents of *Phragmites australis* [J]. *Aquatic Botany*, 2001, 69(2/3/4) 195–208.
- [40] Kishor P K, Hong Z, Miao G H, et al. Overexpression of [δ]-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants[J]. *Plant Physiology*, 1995, 108(4) 1387–1394.
- [41] Ramanjulu S, Sudhakar C. Alleviation of NaCl salinity stress by calcium is partly related to the increased proline accumulation in mulberry (*Morus alba* L.) callus[J]. *Journal of Plant Biology*, 2001, 28(2) 203–206.
- [42] Hasegawa P M, Bressan R A, Zhu J K, et al. Plant cellular and molecular responses to high salinity[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2000, 51(1) 463–499.
- [43] Kumar S G, Madhusudhan K, Sreenivasulu N, et al. Stress responses in two genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity[J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2000, 38 192–195.
- [44] Ramanjulu S, Sudhakar C. Proline metabolism during dehydration in two mulberry genotypes with contrasting drought tolerance[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2000, 157(1) 81–85.
- [45] Jain R, Dhawan R, Sharma D, et al. Salt-tolerance and proline accumulation a comparative study in salt-tolerant and wild type cultured cells of eggplant[J]. *Plant Cell Reports*, 1987, 6(5) 382–384.
- [46] Aziz A, Martin Tanguy J, Larher F. Salt stress-induced proline accumulation and changes in tyramine and polyamine levels are linked to ionic adjustment in tomato leaf discs[J]. *Plant Science*, 1999, 145(2) 83–91.
- [47] Garcia A B, Engler J, Iyer S, et al. Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice[J]. *Plant Physiology*, 1997, 115(1) 159–169.
- [48] Wang X L, Yu W J, Zhou Q, et al. Metabolic response of pakchoi leaves to amino acid nitrogen[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2014, 13(4) 778–788.
- [49] Limpens J, Berendse F. Growth reduction of *Sphagnum magellanicum* subjected to high nitrogen deposition the role of amino acid nitrogen concentration[J]. *Oecologia*, 2003, 135(3) 339–345.
- [50] Bohnert H J, Jensen R G. Metabolic engineering for increased salt tolerance—the next step[J]. *Functional Plant Biology*, 1996, 23(5) 661–667.
- [51] Wang H, Wu Z, Chen Y, et al. Effects of salt and alkali stresses on growth and ion balance in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant Soil Environ*, 2011, 57(6) 286–294.
- [52] Wu Z H, Yang C W, Yang M Y. Photosynthesis, photosystem efficiency, amino acid metabolism and ion

- distribution in rice (*Oryza sativa* L.) in response to alkaline stress[J]. *Photosynthetica* ,2014 ,52(1) :157–160.
- [53] Yang C ,Chong J ,Li C , et al. Osmotic adjustment and ion balance traits of an alkali resistant halophyte *Kochia sieversiana* during adaptation to salt and alkali conditions[J]. *Plant and Soil* ,2007 ,294(1/2) :263–276.
- [54] Shi D ,Sheng Y. Effect of various salt–alkaline mixed stress conditions on sunflower seedlings and analysis of their stress factors[J]. *Environmental and Experimental Botany* ,2005 ,54(1) :8–21.
- [55] Keutgen A J ,Pawelzik E. Contribution of amino acids to strawberry fruit quality and their relevance as stress indicators under NaCl salinity[J]. *Food Chemistry* ,2008 ,111(3) :642–647.
- [56] Causin H ,Barneix A. The effect of glutamine and asparagine on net NH_4^+ uptake in young wheat plants[J]. *Plant and Soil* ,1994 ,161(2) :257–265.
- [57] Demiral T ,Turkan I. Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress[J]. *Environmental and Experimental Botany* ,2006 ,56(1) :72–79.
- [58] Garde Cerdán T ,López R ,Portu J , et al. Study of the effects of proline , phenylalanine , and urea foliar application to *Tempranillo* vineyards on grape amino acid content. Comparison with commercial nitrogen fertilisers [J]. *Food Chemistry* ,2014 ,163(0) :136–141.
- [59] Jakab G ,Ton J ,Flors V , et al. Enhancing Arabidopsis salt and drought stress tolerance by chemical priming for its abscisic acid responses[J]. *Plant Physiology* ,2005 ,139(1) :267–274.
- [60] Breikreuz K E ,Shelp B J ,Fischer W N , et al. Identification and characterization of GABA , proline and quaternary ammonium compound transporters from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Febs Letters* ,1999 ,450(3) :280–284.

~~~~~

(上接第9页)

- [5] Förstner U. Metal Pollution Assessment from Sediment Analysis. in *Metal Pollution in the Aquatic Environment* [M]. Springer Berlin Heidelberg ,1981 :110–196.
- [6] Davidson C M ,Duncan A L ,Littlejohn D , et al. A critical evaluation of the three–stage BCR sequential extraction procedure to assess the potential mobility and toxicity of heavy metals in industrially–contaminated land[J]. *Analytica Chimica Acta* ,1998 ,363(1) :45–55.
- [7] Wang D ,Wen F ,Xu C , et al. The uptake of Cs and Sr from soil to radish (*Raphanus sativus* L.)–potential for phytoextraction and remediation of contaminated soils[J]. *Journal of Environmental Radioactivity* ,2012 ,110 :78–83.
- [8] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京 :中国农业科技出版社 ,2000.
- Lu Rukun. Method for Soil Agricultural Chemistry Analysis [M]. Beijing :Chinese Agricultural Science and Technology Press ,2000.(in Chinese)
- [9] USEPA. USEPA–3050B Acid Digestion of Sediments Sludge and Soils[R]. Washington DC :US Environmental Protection Agency ,1996.
- [10] Fuhrmann M ,Lasat M M ,Ebbs S D , et al. Uptake of cesium–137 and strontium–90 from contaminated soil by three plant species :application to phytoremediation[J]. *Journal of Environmental Quality* ,2002 ,31(3) :904–909.
- [11] Bunzl K ,Albers B P ,Schimmack W , et al. Examination of a relationship between  $^{137}\text{Cs}$  concentrations in soils and plants from alpine pastures[J]. *Journal of Environmental Radioactivity* ,2000 ,48(2) :145–158.
- [12] 邝炎华 ,刘琼英. 放射性核素从环境向农作物转移的研究[J]. *核农学通报* ,1989(5) :235–241.
- Kuang Yanhua ,Liu Qiongying. Study on the transfer of radionuclides from environment to crops[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Science* ,1989(5) :235–241.(in Chinese)
- [13] Eapen S ,Singh S ,Thorat V , et al. Phytoremediation of radiocesium ( $^{137}\text{Cs}$ ) and radiocesium ( $^{137}\text{Cs}$ ) using giant milky weed (*Calotropis gigantea* R.Br.) plants[J]. *Chemosphere* ,2006 ,65(11) :2071–2073.
- [14] Tsukada H ,Takeda A ,Takahashi T , et al. Uptake and distribution of  $^{90}\text{Sr}$  and stable Sr in rice plants[J]. *Journal of Environmental Radioactivity* ,2005 ,81(2/3) :221–231.
- [15] Singh S ,Eapen S ,Thorat V , et al. Phytoremediation of  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{90}\text{Sr}$  from solutions and low–level nuclear waste by *Vetiveria zizanoides*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety* ,2008 ,69(2) :306–311.
- [16] IAEA. Quantification of Radionuclide Transfer in Terrestrial and Freshwater Environments for Radiological Assessments [R]. Vienna :IAEA–TECDOC–1616 ,2009.
- [17] Forsberg S ,Rosén K ,Bréchnignac F. Chemical availability of  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{90}\text{Sr}$  in undisturbed lysimeter soils maintained under controlled and close–to–real conditions[J]. *Journal of Environmental Radioactivity* ,2001 ,54(2) :253–265.
- [18] Krouglov S V ,Kurinov A D ,Alexakhin R M. Chemical fractionation of  $^{90}\text{Sr}$  , $^{106}\text{Ru}$  , $^{137}\text{Cs}$  and  $^{144}\text{Ce}$  in Chernobyl–contaminated soils :an evolution in the course of time[J]. *Journal of Environmental Radioactivity* ,1998 ,38(1) :59–76.
- [19] Forsberg S ,Strandmark M. Migration and chemical availability of  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{90}\text{Sr}$  in Swedish long–term experimental pastures[J]. *Water , Air & Soil Pollution* ,2001 ,127(1) :157–171.