

## 植物耐铝分子机理研究进展

王生银, 袁世力, 谢建平, 刘丹阳, 苏连泰, 吕爱敏, 安渊\*

上海交通大学农业与生物学院, 上海200240

**摘要:** 酸性土壤是世界范围内降低植物产量的非生物因素之一, 其中限制植物生长的主要因素是可溶性的 $Al^{3+}$ , 其在微摩尔浓度下就可抑制植物生长。植物主要通过外部排斥和内部耐受机制来抵御 $Al^{3+}$ 毒害。本综述主要从这两个方面介绍了目前已经报道的一些耐铝基因的研究进展和这些基因的转录调控以及影响这些基因表达的因素。

**关键词:** 酸性土壤; 耐铝基因; 有机酸; 通道蛋白

酸性土壤是pH小于5.5的土壤类型, 占世界范围内土壤总面积的30%, 可耕性土壤面积的50%, 是限制农作物产量的主要非生物因素之一(Kochian等2004)。铝(Al)是地壳中含量约为7% (重量)轻金属, 其化合物在自然界中分布极广, 通常以硅酸盐或其他沉淀物的形式存在, 对植物无毒性。然而, 在酸性条件下(pH<5), 土壤中铝的溶解度会大大增加, 产生对植物有毒害作用的离子态 $Al^{3+}$ , 其在微摩尔浓度下就可抑制植物生长, 进而降低农作物产量(Ma 2007; Yang和Horst 2015; 吴道铭等2014)。因此, 研究植物对铝的耐性并且培育具有耐酸铝性的作物显得尤为重要。

植物的耐铝性主要表现为外部排斥机制和内部耐受机制。外部排斥是通过阻止 $Al^{3+}$ 的吸收从而减少铝与细胞壁或者细胞膜等敏感位点的结合, 减轻铝毒害, 其机制主要有以下四个方面(Kochian等2004, 2005): (1)分泌一些粘性物质, 对根尖结构形成保护鞘; (2)分泌有机酸、磷酸盐、酚类物质来螯合 $Al^{3+}$ ; (3)诱导产生根际pH屏障, 降低 $Al^{3+}$ 的活性; (4)减少细胞壁 $Al^{3+}$ 结合位点。内部耐受机制主要是指植物对进入细胞的 $Al^{3+}$ 的耐性, 机制包括以下几个方面: (1)通过细胞质中配体的螯合作用降低 $Al^{3+}$ 的毒性; (2)将 $Al^{3+}$ 区隔化到液泡等细胞器中; (3)快速修复 $Al^{3+}$ 引起的伤害等。不同植物的耐铝性能不同, 比如高粱和玉米等主要通过外排机制耐铝, 而茶树和荞麦等则主要通过将 $Al^{3+}$ 区域化到液泡中耐铝(Ryan等2011; 鲍学敏等2015)。

### 1 有机酸合成和分泌相关的基因

迄今为止, 有机酸的分泌被认为是植物耐铝最重要的一个机理, 很多植物通过分泌有机酸螯合根际周围和质外体空间的 $Al^{3+}$ 来减轻其毒害。 $Al^{3+}$ 胁迫下植物分泌的有机酸主要有苹果酸、柠檬

酸和草酸。通常认为, 有两种方法可以增加植物有机酸的分泌, 增加内源的合成和增强质膜的转运。

#### 1.1 有机酸合成酶基因的研究

Fuente等(1997)第一个将绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)柠檬酸合成酶基因在烟草(*Nicotiana tabacum*)中超表达, 他们发现转基因植株柠檬酸分泌量增加, 耐铝性能增强。遗憾的是, Delhaize等(2001)验证了同样的转基因株系, 甚至将绿脓杆菌柠檬酸合成酶基因在更高的水平表达, 并没有得到上述的结果。因此, 他们推测超表达绿脓杆菌柠檬酸合成酶基因来增强柠檬酸的分泌可能受环境因素的影响。随后, 将其它增强有机酸合成的基因(柠檬酸合成酶、苹果酸脱氢酶、丙酮酸磷酸激酶)在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、烟草和苜蓿(*Medicago sativa*)等植物中进行了超表达, 结果显示其中一部分转基因植株增强了植物的耐铝性, 由此可见, 超表达内源有机酸合成酶基因在一定程度上可以增强植物的耐铝性(Ryan等2011)。也有研究者认为有机酸在膜上的转运才是限制有机酸分泌的主要因素, 因为有机酸在植物体内的合成过程是严格控制的(Ryan等2001, 2011)。虽然植物细胞中存在着很多种类的有机酸, 但是植物处于 $Al^{3+}$ 胁迫时, 只有一种或两种的有机酸被释放出来, 而且不同的植物分泌有机酸的种类不同, 说明细胞膜上存在着特异的有机酸运输通道或载体(Ma等2001)。它们可能是限制有机酸分泌的最主要因素。同时, 有研究者发现耐铝品种和铝敏感品种有机酸合成酶的活性变化并不大(Ryan等2011)。

收稿 2016-10-14 修定 2016-11-16

资助 国家自然科学基金(31572451)。

\* 通讯作者(E-mail: anyuan@sjtu.edu.cn)。

然而, 由于没有膜转运蛋白的发现, 早期的一些研究主要通过改变有机酸的合成来试着增强有机酸的分泌。

## 1.2 ALMT和MATE家族介导有机酸的运输

Sasaki等于(2004)年用差减杂交技术首次从耐铝性能不同的小麦(*Triticum aestivum*)中分离得到苹果酸转运蛋白*TaALMT1* (aluminium-activated malate transporter)基因。并将其定位于染色体4DL末端的基因座*Alt<sub>BH</sub>*中(Riede和Anderson 1996)。该蛋白编码根尖上促进苹果酸分泌的阴离子通道(Yamaguchi等2005)。序列分析发现, *TaALMT1*的2个等位基因在核苷酸序列上仅有6个不同, 预测编码的氨基酸有2个序列不同(Sasaki等2004)。将耐铝品种和铝敏感品种*TaALMT1*编码区上游序列、内含子和下游序列比较发现: 内含子和下游序列的多态性与植物的耐铝性并不相关, 而上游启动子区的简单串联重复序列与*TaALMT1*的表达及小麦的耐铝性密切相关(Sasaki等2006)。与铝敏感品种相比,  $Al^{3+}$ 胁迫下, 耐铝品种*TaALMT1*表达量更高并且其启动子区含有多个串联重复序列, 因此, 他们推测耐铝品种*TaALMT1*高的表达量可能受启动子区串联重复序列调控(Raman等2008; Sasaki等2006)。将小麦*TaALMT1*在大麦(*Hordeum vulgare*)、拟南芥和小麦中超表达后发现, 转基因植株的相对根生长分别增加了20、8和4倍, 转基因植株的苹果酸分泌增加, 耐铝性增强, 转基因大麦的耐铝表型甚至与小麦有些相似(Delhaize等2004; Pereira等2010; Sasaki等2004; Zhang等2008)。这是目前为止转基因植株在植物耐铝性方面取得最大的进展, 也从另外一个方面说明了质膜上有机酸的运输载体是限制有机酸分泌的重要因素(Ryan等2011)。

随后, Hoekenga等(2006)在模式植物拟南芥中克隆到*TaALMT1*的同源基因*AtALMT1* (At1g08430)。Ligaba等(2006)从油菜(*Brassica napus*)中克隆得到2个基因*BnALMT1*和*BnALMT2*。Fontecha等(2007)从耐铝性能不同的黑麦(*Secale cereale*)中分离出一对等位基因*ScALMT1*。将*AtALMT1*突变掉之后, 拟南芥*amt1*突变体对 $Al^{3+}$ 敏感, 并且丧失了 $Al^{3+}$ 胁迫下分泌的苹果酸功能。将油菜*BnALMTs*在烟草悬浮细胞和爪蟾卵母(*Xenopus oocytes*)细胞中过量表达后, 2个基因*BnALMT1*和*BnALMT2*都能增强铝诱导的苹果酸分泌, 并且转基因烟草的耐铝性也得到

了增强。*TaALMT1*在小麦根尖的表达是组成型的, 其表达水平与不同基因型小麦的耐铝性成显著正相关。与小麦不同的是, 上述其它几个*ALMTs*的表达需要 $Al^{3+}$ 诱导。有趣的是,  $Al^{3+}$ 胁迫下, 相对于铝敏感品种而言, 耐铝品种*ALMTs*的表达量更高(Raman等2008), 并且分泌更多的苹果酸(Eticha等2010; Hoekenga等2006)。

对不同植物的*ALMTs*进一步研究发现, *ALMTs*是植物特有的一类蛋白, N末端包含比较保守的5~7个跨膜区(Delhaize等2007)和19个完全保守的氨基酸序列(DKWTEGNGRGFYTRGPWGHP), 是负责转运的区域, C末端是占有一半序列尾巴(Delhaize等2007)。近来, 通过将*TaALMT1*的结构改变后进行结构功能分析发现, 其C和N末端共同参与*TaALMT1*介导植物的耐铝性(Ligaba等2013)。虽然*ALMTs*在不同的植物中被鉴定, 但该基因中只有一部分与植物耐铝性相关, 并且这些基因所编码的蛋白都需要 $Al^{3+}$ 激活(Delhaize等2012)。另外一部分*ALMTs*同样编码阴离子通道, 但是他们在底物特异性和膜位置上有所差异, 执行其他不同的功能, 包括苹果酸的平衡、渗透调节和保卫细胞的功能等(Delhaize等2012; Kochian等2015; Sasaki等2016)。例如, 玉米*ZmALMT1*基因编码的跨膜通道蛋白主要选择性运输根中矿质营养相关的阴离子, 如硫酸根离子和硝酸根离子, 维持植物体内离子的动态平衡, 但该蛋白并不调控铝诱导的柠檬酸分泌(Sharma等2016)。大麦*HvALMT1*基因与小麦*TaALMT1*基因同源性最高, 它们编码的蛋白序列也非常的相似, 但是*HvALMT1*蛋白几乎不受铝激活, 其功能与铝无关。*HvALMT1*蛋白定位于质膜和细胞质中活动的小囊泡上, 在气孔保卫细胞和根组织扩增细胞中表达量较高, 通过运输有机酸调节气孔功能和根部细胞的膨大(Xu等2015)。

另一个基因*MATE* (multidrug and toxic compound extrusion), 属于多药及毒性复合物排出转运蛋白家族, 控制 $Al^{3+}$ 激活柠檬酸的释放, 是一个大蛋白家族。广泛存在于原核和真核细胞内, 最初被定义为细菌药物转运家族(bacterial drug transporter family)。其中的一些成员可以通过药物/阳离子逆转运的方式将毒性物质和次级代谢物运出到细胞外或者区域化到液泡中(Omote等2006; Takanashi等2014)。第一个耐铝相关的*MATE*基因

首次在大麦(*Alp*)中被精细定位, 由于其控制 $\text{Al}^{3+}$ 激活柠檬酸的分泌, 被命名为*HvAACT1* (aluminium-activated citratetransporter 1) (Tang等2000)。随后, 高粱(*Sorghum bicolor*) (*SbMATE*) (*Alt<sub>sb</sub>*)也被发现, 在拟南芥中异源表达高粱*SbMATE*, 在爪蟾卵母细胞和烟草中表达*HvAACT1*后, 它们都能够编码促进柠檬酸分泌的蛋白(Fontecha等2007)。后来的研究证明*MATE*与小麦(Ryan等2009)、玉米(Maron等2010)、黑麦(Yokosho等2010)、拟南芥(Liu等2009)、水稻(*Oryza sativa*) (Yokosho等2011)、水稻豆(*Vigna umbellata*) (Yang等2011b)和普通豆(*Phaseolus vulgaris*) (Eticha等2010)的耐铝性都相关。

与*ALMTs*相似, *MATEs*主要是通过对比同一植物不同品种间耐铝性能的差异被发现的。同一植物不同品种的耐铝性与*MATE*的表达量密切相关(Delhaize等2012; Ryan等2011; Yokosho等2014)。*MATEs*中有一些基因属于组成型表达,  $\text{Al}^{3+}$ 只需激活其转运活性, 如大麦中的*HvAACT1*; 而另一部分基因,  $\text{Al}^{3+}$ 需要先诱导其表达, 然后才激活其转运活性, 如高粱中的*SbMATE*和水稻中的*OsFRDL4* (ferric reductase defective3-like 4)。然而无论基因的表达是否被 $\text{Al}^{3+}$ 诱导, 相对于 $\text{Al}^{3+}$ 敏感品种而言, 耐性品种具有较高的基因表达量(Delhaize等2012)。这种表达差异的探究如下。

大麦组成型表达基因*HvAACT1*在耐铝型大麦中的高表达量是因为其5'端UTR中有一个1 023 bp的插件, 在编码区的4.6 kb上游, 这个插件起着增强*HvAACT1*表达的作用(Fujii等2012)。这个插件除了增强整体的转录水平外, 还可以改变*HvAACT1*的表达位置。在没有插件的基因中, *HvAACT1*在维管束中表达较高而在皮层和根尖中表达较低, 可能介导柠檬酸在木质部的装载从而控制 $\text{Fe}^{3+}$ 的长距离运输。而在插件存在的植株中, *HvAACT1*在根尖的表达量较高, 这样就可以控制柠檬酸在根尖的分泌, 从而保护根尖不受 $\text{Al}^{3+}$ 的伤害(Fujii等2012)。近年来研究发现, 一个Sukkula型的转录因子在*TaMATE*表达量很高的巴西小麦中表达, 将一个11.1 kb的转座子插入在ATG起始密码子上游25 bp处, 该转座子被认为促进了*TaMATE*的表达(Delhaize等2012)。同样, 高粱*SbMATE*也有类似的转座子插入表达规律, 但是具体的作用机理还需要进一步验证。

目前发现的转运蛋白主要是苹果酸和柠檬酸转运蛋白, 属于*ALMT*和*MATE*家族, 草酸的转运蛋白还没有发现。 $\text{Al}^{3+}$ 如何诱导*ALMT*和*MATE*蛋白的功能还不清楚, 但是这两种蛋白的结构不同, 具有不同的转运机理, 同样的配体可以激活它们。*ALMTs*是一种阴离子通道, 其可以运输苹果酸; 而*MATEs*则是一种citrate/ $\text{H}^+$  (或者是 $\text{Na}^+$ )的逆向转运蛋白, 分泌柠檬酸的同时, 伴随着 $\text{H}^+$ 或 $\text{Na}^+$ 的流入。 $\text{Al}^{3+}$ 可能直接与这两种蛋白相互作用并激活其转运活性, 也可能会有些激酶参与, 具体机理还需要进一步研究。

## 2 转录因子调控植物的耐铝性

### 2.1 STOP1调节的耐 $\text{Al}^{3+}$ 毒和耐低pH

植物的耐铝性是由多基因控制的, 同一植物不同品种间的耐铝性有很大的差异, 一些耐铝基因是通过这些差异发现的, 如上面所述的*ALMTs*和*MATEs*基因, 另一些耐铝基因则是通过筛选 $\text{Al}^{3+}$ 敏感突变体得到的。例如, 拟南芥根际氢离子敏感基因*AtSTOP1* (sensitive to proton rhizotoxicity 1)和水稻铝耐性转录因子*OsART1* ( $\text{Al}^{3+}$  resistance transcription factor 1), 都是通过诱导突变体的途径发现的, 是重要的耐 $\text{Al}^{3+}$ 和耐低pH的基因(Kochian等2015; Tokizawa等2015)。*STOP1*和*ART1*作为转录因子, 其序列有一定的相似性, 它们都增强了一系列 $\text{Al}^{3+}$ 诱导基因的表达。

*STOP1*属于Cys<sub>2</sub>His<sub>2</sub>型锌指转录因子家族, 主要集中在细胞核上, 拟南芥*Atstop1*突变体在幼苗期对低pH非常敏感, 对 $\text{Al}^{3+}$ 也同样敏感, 但对其它金属离子不敏感(Iuchi等2007)。最初的研究认为这种敏感性是由于*stop1*突变体无法上调 $\text{Al}^{3+}$ 胁迫下*AtALMT1*的表达而引起的。随后的研究发现, 其它两个 $\text{Al}^{3+}$ 诱导的耐铝基因*AtMATE1*和*ALS3* (aluminium sensitive 3)都受*STOP1*调控(Sawaki等2009), *ALS3*是半个ABC家族的成员, 被认为参与 $\text{Al}^{3+}$ 在植物体内再分配, 从而使 $\text{Al}^{3+}$ 远离 $\text{Al}^{3+}$ 敏感组织(Sjogren等2015)。敲除*AtMATE1*和*ALS3*后, 与对照相比, 突变体植物对 $\text{Al}^{3+}$ 极度敏感, 这表明了*STOP1*其对植物耐铝性的贡献。

其它一系列基因的表达同样受*STOP1*的调控。其中一些与耐 $\text{H}^+$ 有关, 但是具体功能还不清楚(Sawaki等2009), 除此之外, *STOP1*感知 $\text{Al}^{3+}$ 并且被 $\text{Al}^{3+}$ 激活的机理还需要进一步研究。*STOP1*的

表达并不受 $Al^{3+}$ 的诱导。因此STOP1后转录的激活可能与信号传导通路有关。蛋白激酶和磷酸酶抑制剂可能参与拟南芥根尖苹果酸的分泌(Tokizawa等2015)。有模型提出 $Al^{3+}$ 处理下会使STOP1蛋白激酶化,使其转化为一个活跃的形式,激活的STOP1会促进耐铝基因以及其他耐 $H^+$ 和 $Al^{3+}$ 响应基因的转录(Iuchi等2007),由于 $Al^{3+}$ 诱导的基因与 $H^+$ 诱导的基因不同,推测两种不同胁迫的信号传导受体都能够作用于STOP1,诱导一系列不同基因的表达。

## 2.2 ART1调节的水稻中多个耐铝基因的表达

水稻是耐铝的谷类植物之一,有48个耐铝位点(Famoso等2011),ART1的发现证明了水稻的耐铝性是由多基因共同调控的。ART1和STOP1类似,属于Cys<sub>2</sub>His<sub>2</sub>型锌指转录因子家族,该基因在根中不受 $Al^{3+}$ 的诱导,属于组成型表达;与STOP1不同的是,它只与植物的耐铝性相关。敲除该基因后突变体对铝敏感。ART1至少调节31个基因的表达,其中的一些基因参与内部和外部解毒机理,这包括介导柠檬酸分泌的MATE通道OsFRDL4、介导细胞壁修复的OsSTAR1 (sensitive to Al rhizotoxicity 1)和OsSTAR2基因。ART1与31个基因中29个基因的启动子区的顺式作用元件[GGN(T/g/a/C)V(C/A/g)S(C/G)]相互作用而进行调控(Tsutsui等2011)。

迄今为止,STOP1和ART1调控的基因只有极少数被鉴定。其中一些与耐铝性相关,但是具体功能还不知道。

## 3 细胞壁相关基因

除了增强有机酸的分泌,减少细胞壁中 $Al^{3+}$ 的积累也是植物耐铝的一个方向。细胞壁是 $Al^{3+}$ 结合的最初位点。据报道,在大部分植物中,细胞壁结合的 $Al^{3+}$ 占植物体内总 $Al^{3+}$ 的80%~90%。初级细胞壁主要由纤维素、半纤维素、果胶和一些结构蛋白组成, $Al^{3+}$ 可以通过静电作用与果胶基质中带负电荷羧酸结合,也可以通过吸附作用与不带电的半纤维素聚合物结合。减少细胞壁的 $Al^{3+}$ 含量主要是通过改变和修饰一些酶的作用减少果胶和半纤维素对Al的结合(Yang等2013)。对不同品种的玉米、荞麦和水稻的研究发现,果胶甲基酶对细胞壁的甲基化程度与植物的耐铝性相关。 $Al^{3+}$ 胁迫下,与铝敏感品种相比,耐铝品种果胶甲基酶

的活性更低,甲基化果胶的含量更大。这使得细胞壁负电荷的水平降低,进而减少了细胞壁与 $Al^{3+}$ 的结合。在马铃薯根部和水稻中过量表达果胶甲基酶基因后,细胞壁中 $Al^{3+}$ 含量增加,植株对 $Al^{3+}$ 更加敏感(Kochian等2015)。Yang等(2011)研究表明,在拟南芥中,半纤维素结合 $Al^{3+}$ 的能力与果胶一样重要,其也可能参与植物的耐铝作用。随后,Zhu等(2012)发现,铝胁迫抑制细胞壁木葡聚糖内反转糖基酶(xyloglucan endotransglucosylase, XET)的活性,在细胞扩增的时候,这种酶负责切割和再加入半纤维素木葡聚糖复合物,XTH31 (xyloglucan endotransglucosylase-hydrolase)是XET/XEH (Xyloglucan endohydrolase)酶的编码基因,xth31突变体的耐铝性能增加,由此推断铝胁迫可能参与细胞壁中木葡聚糖的代谢,减少木葡聚糖的切割和再加入从而提高植物的耐铝性。

OsSTAR1是通过突变体手段在水稻中鉴定的一个 $Al^{3+}$ 敏感基因。STAR1编码一个细菌性ABC转运载体的核苷酸结合域(nucleotide-binding domains, NBDs),与STAR2编码的ABC转运载体的跨膜结合域相互作用(Huang等2012)。STAR2是拟南芥ALS3的同源基因,敲除掉STAR2以后,突变体对 $Al^{3+}$ 敏感。STAR1和STAR2最初都在根中表达并且都受 $Al^{3+}$ 的诱导,这两个蛋白集中在胞质内膜上的囊泡中,但是STAR1-STAR2复合体具体如何作用还不清楚,当它们在爪蟾卵母细胞中表达后,STAR1-STAR2能够促进UDP-葡萄糖的分泌,有人认为这种分泌作用可以修复细胞壁,阻止 $Al^{3+}$ 在细胞壁的积累以减少以伤害(Delhaize等2012)。STAR1和STAR2同样存在于其它植物中,在拟南芥中也具有耐铝的功能(Huang等2012)。

## 4 Nrat1介导的 $Al^{3+}$ 在根细胞质膜的运输

上面所介绍的分子机理主要属于外部排斥机制,而对于内部耐受机制而言,植物需要将 $Al^{3+}$ 运输到细胞内,水稻OsNrat1 (Nramp aluminum transporter 1)主要介导质膜上 $Al^{3+}$ 的运输,属于天然抗性相关巨噬蛋白(natural resistance-associated macrophage protein)基因家族,与其它Nramp家族成员的同源性很低(Xia等2010)。OsNrat1定位于质膜上,在除了表皮细胞外其它所有的根细胞中表达,其表达受 $Al^{3+}$ 的诱导,但并不受 $H^+$ 或其它金属离子的诱导。nrat1突变体降低了植株对 $Al^{3+}$ 的吸收,增

加了 $\text{Al}^{3+}$ 与细胞壁的结合, *OsNr1*特异运输 $\text{Al}^{3+}$ , 不运输 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 和 $\text{Cd}^{2+}$ 等金属离子, 而这些金属离子可以被Nramp家族的其它成员运输。*OsNr1*在编码区和调控区DNA序列的差异与其表达和Nr1蛋白转运 $\text{Al}^{3+}$ 的能力有关, 耐铝型植株中*Nr1*等位基因比铝敏感性植株中*Nr1*的表达量高, 并且转运更多的 $\text{Al}^{3+}$ 。将这两个等位基因*Nr1*同时转入拟南芥中发现, 它们都能提高拟南芥的耐铝性, 但是转耐铝性品种的*Nr1*基因对耐铝性的贡献更多(Li等2014)。 $\text{Al}^{3+}$ 的吸收通常被认为是有害于细胞的, 水稻与其他植物如高粱、小麦和大麦等不同, 其耐铝的方式并不依赖于分泌有机酸等外部排斥的方式, 而是将质外体的 $\text{Al}^{3+}$ 运输到细胞中并安全储存在液泡或者其它次级细胞器中使其无毒害, 从而减轻 $\text{Al}^{3+}$ 对细胞壁的毒害(Xia等2010)。转*OsNr1*增强拟南芥的耐铝性表明, Nr1及其同源基因也有可能提高其它植物的耐铝性能。

### 5 液泡膜 $\text{Al}^{3+}$ 转运基因

水稻OsALS1编码半个ABC转运载体, 定位于根细胞的液泡膜上, 表达受 $\text{Al}^{3+}$ 诱导, 它可以将通过Nr1或者其他途径将进入细胞中的 $\text{Al}^{3+}$ 运输到液泡中(Delhaize等2012; Huang等2012), 降低 $\text{Al}^{3+}$ 的毒害作用, 由于细胞质pH呈中性, 并且含有各种螯合 $\text{Al}^{3+}$ 的配体,  $\text{Al}^{3+}$ 在细胞质中浓度非常低, OsALS1运输 $\text{Al}^{3+}$ 的化学形式还不知道。水稻*als1*突变体对 $\text{Al}^{3+}$ 非常敏感, 其根细胞质和细胞核中都会积累 $\text{Al}^{3+}$ 。

拟南芥*AtALS3*编码一种定位于质膜上ABC转运载体。*AtALS1*主要在维管系统、表皮水分排泄的器官和根尖中表达, 虽然*AtALS3*的NBD域和转运底物还没有被发现, 但是据推测, *AtALS3*可以促进 $\text{Al}^{3+}$ 的转运, 通过韧皮部将 $\text{Al}^{3+}$ 从敏感的部位转移到相对不敏感的部位(Larsen等2005)。除此之外, Huang等(2012)发现*Atstar1*突变体和*Atals*突变体的表型相似, 开花早并且对 $\text{Al}^{3+}$ 非常敏感, 因此*AtSTAR1*可能与*AtALS3*协同发生作用, 但是*AtSTAR1*的转录功能还不清楚。

还有一些其它增强植物耐铝性的方法, 如过量表达一些受 $\text{Al}^{3+}$ 诱导才能表达的基因, 尤其是与氧化胁迫相关的基因。例如, 超表达谷胱甘肽s-转移酶基因、过氧化物酶、GDP分解抑制剂等, 将这些基因转入拟南芥后, 拟南芥耐铝性能增强。

### 6 展望

近10年来, 植物耐铝分子机理的研究取得了突破性的进展。介导植物耐铝性的一些功能基因被发掘和鉴定, 如调控有机酸分泌的*ALMTs*和*MATEs*基因家族, 调控拟南芥和水稻耐铝基因表达的*AtSTOP1*和*OsART1*转录因子, 研究这些基因的功能及其作用机制可以揭示不同植物的耐铝机理, 为培育耐铝植物品种做贡献。除此之外, 认识不同植物中其它的耐铝机理和新的耐铝基因的克隆分析也是以后研究的热点。

### 参考文献

- Bao XM, Zhao XQ, Xiao ZY, Zheng CL, Shen RF (2015). Effects of aluminum on the root growth and nutrient uptake of two rice varieties with different aluminum tolerances. *Plant Physiol J*, 51 (12): 2157–2162 (in Chinese with English abstract) [鲍学敏, 赵学强, 肖作义, 郑春丽, 沈仁芳(2015). 铝对不同耐铝水稻品种根系生长和养分吸收的影响. *植物生理学报*, 51 (12): 2157–2162]
- De la Fuente JM, Ramírez-Rodríguez V, Cabrera-Ponce JL, Herrera-Estrella L (1997). Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. *Science*, 276: 1566–1568
- Delhaize E, Gruber BD, Ryan PR (2007). The roles of organic anion permeases in aluminium resistance and mineral nutrition. *FEBS Lett*, 581: 2255–2262
- Delhaize E, Hebb DM, Ryan PR (2001). Expression of a *Pseudomonas aeruginosa* citrate synthase gene in tobacco is not associated with either enhanced citrate accumulation or efflux. *Plant Physiol*, 125: 2059–2067
- Delhaize E, Ma JF, Ryan PR (2012). Transcriptional regulation of aluminium tolerance genes. *Trends Plant Sci*, 17: 341–348
- Delhaize E, Ryan PR, Hebb DM, Yamamoto Y, Sasaki T, Matsumoto H (2004). Engineering high-level aluminum tolerance in barley with the *ALMT1* gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 15249–15254
- Eticha D, Zahn M, Bremer M, Yang Z, Rangel AF, Rao IM, Horst WJ (2010). Transcriptomic analysis reveals differential gene expression in response to aluminium in common bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes. *Ann Bot*: doi: 10.1093
- Famoso AN, Zhao K, Clark RT, Tung C-W, Wright MH, Bustamante C, Kochian LV, McCouch SR (2011). Genetic architecture of aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa*) determined through genome-wide association analysis and QTL mapping. *PLoS Genet*, 7: e1002221
- Fontecha G, Silva-Navas J, Benito C, Mestres M, Espino F, Hernández-Riquer M, Gallego F (2007). Candidate gene identification of an aluminum-activated organic acid transporter gene at the *Alt4* locus for aluminum tolerance in rye (*Secale cereale* L.). *Theor Appl Genet*, 114: 249–260
- Fujii M, Yokosho K, Yamaji N, Saisho D, Yamane M, Takahashi H, Sato K, Nakazono M, Ma JF (2012). Acquisition of aluminium

- tolerance by modification of a single gene in barley. *Nat Commun*, 3: 713
- Hoekenga OA, Maron LG, Piñeros MA, Cañado GM, Shaff J, Kobayashi Y, Ryan PR, Dong B, Delhaize E, Sasaki T (2006). *AtALMT1*, which encodes a malate transporter, is identified as one of several genes critical for aluminum tolerance in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 9738–9743
- Huang CF, Yamaji N, Chen Z, Ma JF (2012). A tonoplast-localized half-size ABC transporter is required for internal detoxification of aluminum in rice. *Plant J*, 69: 857–867
- Iuchi S, Koyama H, Iuchi A, Kobayashi Y, Kitabayashi S, Kobayashi Y, Ikka T, Hirayama T, Shinozaki K, Kobayashi M (2007). Zinc finger protein STOP1 is critical for proton tolerance in *Arabidopsis* and coregulates a key gene in aluminum tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 9900–9905
- Kochian LV, Hoekenga OA, Piñeros MA (2004). How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorus efficiency. *Annu Rev Plant Biol*, 55: 459–493
- Kochian LV, Piñeros MA, Liu J, Magalhaes JV (2015). Plant adaptation to acid soils: the molecular basis for crop aluminum resistance. *Annu Rev Plant Biol*, 66: 571–598
- Kochian LV, Piñeros MA, Hoekenga OA (2005). The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity. *Plant Soil*, 274: 175–195
- Larsen PB, Geisler MJ, Jones CA, Williams KM, Cancel JD (2005). ALS3 encodes a phloem-localized ABC transporter-like protein that is required for aluminum tolerance in *Arabidopsis*. *Plant J*, 41: 353–363
- Li J-Y, Liu J, Dong D, Jia X, McCouch SR, Kochian LV (2014). Natural variation underlies alterations in Nramp aluminum transporter (NRAT1) expression and function that play a key role in rice aluminum tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111: 6503–6508
- Ligaba A, Dreyer I, Margaryan A, Schneider DJ, Kochian L, Piñeros M (2013). Functional, structural and phylogenetic analysis of domains underlying the Al sensitivity of the aluminum-activated malate/anion transporter, TaALMT1. *Plant J*, 76: 766–780
- Ligaba A, Katsuhara M, Ryan PR, Shibasaki M, Matsumoto H (2006). The *BnALMT1* and *BnALMT2* genes from rape encode aluminum-activated malate transporters that enhance the aluminum resistance of plant cells. *Plant Physiol*, 142: 1294–1303
- Liu J, Magalhaes JV, Shaff J, Kochian LV (2009). Aluminum-activated citrate and malate transporters from the MATE and ALMT families function independently to confer *Arabidopsis* aluminum tolerance. *Plant J*, 57: 389–399
- Ma JF (2007). Syndrome of aluminum toxicity and diversity of aluminum resistance in higher plants. *Int Rev Cytol*, 264: 225–252
- Ma JF, Ryan PR, Delhaize E (2001). Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends Plant Sci*, 6: 273–278
- Maron LG, Piñeros MA, Guimarães CT, Magalhaes JV, Pleiman JK, Mao C, Shaff J, Belicuas SN, Kochian LV (2010). 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. *Plant J*, 61: 728–740
- Omote H, Hiasa M, Matsumoto T, Otsuka M, Moriyama Y (2006). The MATE proteins as fundamental transporters of metabolic and xenobiotic organic cations. *Trends Pharmacol Sci*, 27: 587–593
- Pereira JF, Zhou G, Delhaize E, Richardson T, Zhou M, Ryan PR (2010). Engineering greater aluminium resistance in wheat by over-expressing *TaALMT1*. *Ann Bot*, 106: 205–214
- Raman H, Ryan PR, Raman R, Stodart BJ, Zhang K, Martin P, Wood R, Sasaki T, Yamamoto Y, Mackay M (2008). Analysis of TaALMT1 traces the transmission of aluminum resistance in cultivated common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 116: 343–354
- Riede C, Anderson J (1996). Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat. *Crop Sci*, 36: 905–909
- Ryan P, Delhaize E, Jones D (2001). Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annu Rev Plant Biol*, 52: 527–560
- Ryan PR, Raman H, Gupta S, Horst WJ, Delhaize E (2009). A second mechanism for aluminum resistance in wheat relies on the constitutive efflux of citrate from roots. *Plant Physiol*, 149: 340–351
- Ryan PR, Tyerman SD, Sasaki T, Furuichi T, Yamamoto Y, Zhang W, Delhaize E (2011). The identification of aluminium-resistance genes provides opportunities for enhancing crop production on acid soils. *J Exp Bot*, 62: 9–20
- Sasaki T, Ryan PR, Delhaize E, Hebb DM, Ogihara Y, Kawaura K, Noda K, Kojima T, Toyoda A, Matsumoto H (2006). Sequence upstream of the wheat (*Triticum aestivum* L.) *ALMT1* gene and its relationship to aluminum resistance. *Plant Cell Physiol*, 47: 1343–1354
- Sasaki T, Tsuchiya Y, Ariyoshi M, Ryan PR, Yamamoto Y (2016). A chimeric protein of aluminum-activated malate transporter generated from wheat and *Arabidopsis* shows enhanced response to trivalent cations. *BBA-Biomembranes*, 1858: 1427–1435
- Sasaki T, Yamamoto Y, Ezaki B, Katsuhara M, Ahn SJ, Ryan PR, Delhaize E, Matsumoto H (2004). A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter. *Plant J*, 37: 645–653
- Sawaki Y, Iuchi S, Kobayashi Y, Kobayashi Y, Ikka T, Sakurai N, Fujita M, Shinozaki K, Shibata D, Kobayashi M (2009). STOP1 regulates multiple genes that protect *Arabidopsis* from proton and aluminum toxicities. *Plant Physiol*, 150: 281–294
- Sharma T, Dreyer I, Kochian L, Piñeros MA (2016). The ALMT Family of organic acid transporters in plants and their involvement in detoxification and nutrient security. *Front Plant Sci*, 7: 1488
- Sjogren CA, Bolaris SC, Larsen PB (2015). Aluminum-dependent terminal differentiation of the *Arabidopsis* root tip is mediated through an ATR-, ALT2-, and SOG1-regulated transcriptional response. *Plant Cell*, 27: 2501–2515
- Takanashi K, Shitan N, Yazaki K (2014). The multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family in plants. *Plant Biotechnol*, 31: 417–430
- Tang Y, Sorrells M, Kochian L, Garvin D (2000). Identification of RFLP markers linked to the barley aluminum tolerance gene. *Crop Sci*, 40: 778–782
- Tokizawa M, Kobayashi Y, Saito T, Kobayashi M, Satoshi I, Nomoto

- M, Tada Y, Yamamoto YY, Koyama H (2015). STOP1, CAMTA2 and other transcription factors are involved in aluminum-inducible *AtALMT1* expression. *Plant Physiol*, 167: 991–1003
- Tsutsui T, Yamaji N, Ma JF (2011). Identification of a *cis*-acting element of ART1, a C2H2-type zinc-finger transcription factor for aluminum tolerance in rice. *Plant Physiol*, 156: 925–931
- Wu D M, Cao H P, Shen H (2014). Response of auxin and its transporter to aluminum stress in plants. *Plant Physiol J*, 50 (8): 1135–1143 (in Chinese with English abstract) [吴道铭, 曹华苹, 沈宏(2014). 生长素及其运输蛋白对植物铝胁迫的响应. *植物生理学报*, 50 (8): 1135–1143]
- Xia JX, Yamaji N, Kasai T, Ma JAF (2010). Plasma membrane-localized transporter for aluminum in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107: 18381–18385
- Xu M, Gruber BD, Delhaize E, White RG, James RA, You J, Yang Z, Ryan PR (2015). The barley anion channel, HvALMT1, has multiple roles in guard cell physiology and grain metabolism. *Physiol Plant*, 153: 183–193
- Yamaguchi M, Sasaki T, Sivaguru M, Yamamoto Y, Osawa H, Ahn SJ, Matsumoto H (2005). Evidence for the plasma membrane localization of Al-activated malate transporter (ALMT1). *Plant Cell Physiol*, 46: 812–816
- Yang JL, Zhu XF, Peng YX, Zheng C, Li GX, Liu Y, Shi YZ, Zheng SJ (2011a). Cell wall hemicellulose contributes significantly to aluminum adsorption and root growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 155: 1885–1892
- Yang XY, Yang JL, Zhou Y, Pineros MA, Kochian LV, Li GX, Zheng SJ (2011b). A de novo synthesis citrate transporter, *Vigna umbellata* multidrug and toxic compound extrusion, implicates in Al-activated citrate efflux in rice bean (*Vigna umbellata*) root apex. *Plant Cell Environ*, 34: 2138–2148
- Yang XY, Zeng ZH, Yan JY, Fan W, Bian HW, Zhu MY, Yang JL, Zheng SJ (2013). Association of specific pectin methylesterases with Al-induced root elongation inhibition in rice. *Physiol Plant*, 148: 502–511
- Yang Z-B, Horst WJ (2015). Aluminum-induced inhibition of root growth: roles of cell wall assembly, structure, and function. In: Panda SK, Baluška F (eds). *Aluminum Stress Adaptation in Plants*. Springer, 253–274
- Yokosho K, Yamaji N, Ma JF (2010). Isolation and characterisation of two MATE genes in rye. *Funct Plant Biol*, 37: 296–303
- Yokosho K, Yamaji N, Ma JF (2011). An Al-inducible MATE gene is involved in external detoxification of Al in rice. *Plant J*, 68: 1061–1069
- Yokosho K, Yamaji N, Ma JF (2014). Global transcriptome analysis of Al-induced genes in an Al-accumulating species, common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Plant Cell Physiol*, 55: 2077–2091
- Zhang W-H, Ryan PR, Sasaki T, Yamamoto Y, Sullivan W, Tyerman SD (2008). Characterization of the TaALMT1 protein as an Al<sup>3+</sup>-activated anion channel in transformed tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cells. *Plant Cell Physiol*, 49: 1316–1330
- Zhu XF, Shi YZ, Lei GJ, Fry SC, Zhang BC, Zhou YH, Braam J, Jiang T, Xu XY, Mao CZ (2012). *XTH31*, encoding an *in vitro* XEH/XET-active enzyme, regulates aluminum sensitivity by modulating *in vivo* XET action, cell wall xyloglucan content, and aluminum binding capacity in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 24: 4731–4747

## Progress on molecular mechanisms of aluminum tolerance in plants

WANG Sheng-Yin, YUAN Shi-Li, XIE Jian-Ping, LIU Dan-Yang, SU Lian-Tai, LÜ Ai-Min, AN Yuan\*

*School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China*

**Abstract:** Acid soils is a major abiotic factor that restrict plant production around the world. One of the major limitations to plant growth on acid soils is the prevalence of soluble aluminum (Al<sup>3+</sup>) ions which can inhibit root growth at micromolar concentrations. Plants have evolved mechanisms to cope with Al<sup>3+</sup> and these can be broadly divided into external exclusion and internal tolerance. In this review, we describe the genes involving in Al<sup>3+</sup> tolerance in these two mechanisms. We also focus on recent insights into the transcriptional regulation of these and other genes involved in Al<sup>3+</sup> tolerance and discuss the pathways coordinating their expression in plant.

**Key words:** acid soils; Al<sup>3+</sup> tolerance genes; organic acid; transporter protein

Received 2016-10-14 Accepted 2016-11-16

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31572451).

\*Corresponding author (E-mail: anyuan@sjtu.edu.cn).