

高等植物氨基酸吸收与转运及生物学功能的研究进展

宋奇超¹, 曹凤秋², 巩元勇¹, 程晓园¹, 毕昕媛¹, 刘来华^{1*}

(1 教育部植物与土壤互作重点实验室, 中国农业大学资源、环境及粮食安全中心, 北京 100193;

2 中国科学院上海生命科学研究院植物生理及生态研究所, 上海 200032)

摘要: 氨基酸不仅是细胞中蛋白质生物合成的必需底物, 而且也参与植物体内的氮代谢途径以及碳氮平衡的调节。近年来, 氨基酸的转运与吸收机制及其生物学功能已成为植物分子生物学特别关注和研究的热点之一。最近, 学术界亦发现某些氨基酸可能作为信号分子对植物生长发育具有特殊的生物学意义。本文就氨基酸吸收与转运的分子生理机理及其在植物生长发育中的重要功能(如调控生长、适应各种环境胁迫等)的研究进展进行了较详细地综述。

关键词: 氨基酸; 吸收和转运; 氮素营养; 信号分子; 胁迫响应

中图分类号: Q945.18; Q945.15

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2012)06-1507-11

Current research progresses of amino acids uptake, transport and their biological roles in higher plants

SONG Qi-chao¹, CAO Feng-qiu², GONG Yuan-yong¹, CHENG Xiao-yuan¹, BI Xin-yuan¹, LIU Lai-hua^{1*}

(1 Key Laboratory of Plant-Soil Interactions, Ministry of Education/Center for Resources, Environment and Food Security, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2 Institute of Plant Physiology & Ecology, Shanghai Institute for Biological Sciences, CAS, Shanghai 200032, China)

Abstract: Amino acids represent not only essential substrates for protein biosynthesis but also participate in nitrogen-metabolic pathways as well as regulatory processes of carbon-nitrogen balance in plants. In the past years, understanding of mechanisms of uptake/transport of the amino acids and their biological roles has been paid a particularly increasing attention and thus become one of the most interested research areas in plant biology. More recently, certain publications have indicated that some amino acids could also act as signal molecules playing vital roles in plant growth. In this article, we have intensively reviewed and summarized recent progresses on molecular and physiological mechanisms of the uptake and transport of the amino acids as well as their crucial functions in plant growth and development (e. g. growth regulation, adaptive response to some abiotic stresses). Hopefully, our review will provide overall, updated and valuable information to researchers interested in plant amino acid biology, favoring deeper exploration and appreciation of potential biological roles of amino acid-nutrition in higher plants.

Key words: amino acid; uptake and transport; nitrogen nutrition; signal molecule; stress response

蛋白质是生物体内最重要、功能最复杂的生物大分子, 参与了几乎所有的生命活动及过程。氨基酸作为蛋白质的基本组成单位, 其结构组成、生物

化学性质等都将决定着最终所合成的蛋白质的特性和重要功能。蛋白质氨基酸有 L 和 D 型两种光学异构体, 而自然界的氨基酸主要以 L 型存在。

收稿日期: 2012-02-19

接受日期: 2012-08-11

基金项目: 国家自然科学基金(31070223, 31270881); 自然科学基金创新群体基金(31121062)资助。

作者简介: 宋奇超(1982—), 男, 天津人, 博士研究生, 主要从事植物氨基酸营养生理与分子机制和谷氨酸受体的分子生物学研究。

E-mail: qcsong@cau.edu.cn. * 通讯作者 E-mail: LL1025@cau.edu.cn

氨基酸存在于植物的内外环境中,通常在土壤表层,是主要的有机含氮化合物。传统的氮循环模式认为,土壤有机氮只有经过微生物作用转化为无机氮(NH_4^+ 和 NO_3^-) 后才能为植物所利用,虽然根系不能直接从土壤中获取有机氮,但许多研究发现多种植物具有从土壤中直接获取低分子量有机物质的能力,特别是氨基酸,这对传统的氮循环模式形成了挑战^[1]。氨基酸作为植物体内重要的组分之一,其正常的生理代谢和运输转化等行为是植物体完成生命周期活动的必要保证。近年来,关于氨基酸影响植物发育及调控各种代谢途径的报道逐渐增加,本文将从植物必需氨基酸的吸收、转运、生理功能等方面详细综述主要氨基酸在植物生长发育中的作用,旨在为今后通过合理的生物学手段,改善植物氨基酸营养提供理论和技术依据。

1 土壤环境中的氨基酸

土壤是植物赖以生存的主要营养库,其中的养分形态可分为无机态和有机态,无机态养分主要为矿质元素离子,而有机养分比较复杂,包括氨基酸、氨基糖、多肽以及核酸等小分子化合物。在土壤表层中,氨基酸是主要的有机含氮化合物,占土壤全氮的 15%~60%,其主要来源于微生物和动植物的代谢产物及土壤有机质降解等,而土壤有机质分解是氨基酸的直接来源,土壤中游离态氨基酸含量很低,一般仅为 1~2 mg/kg,但根际土壤中含量可超过非根际土壤的 7 倍^[2]。在植物、土壤和微生物组成的复杂系统中,氨基酸的组成、产生和降解是一个动态变化的过程,这个过程除了受植物和土壤的直接影响外,还与土壤微生物、土壤酶系和温度变化等因素有关^[3]。土壤中氨基酸主要以自由态和吸附态存在,前者主要存在于土壤溶液中,可直接为植物和土壤微生物利用,而后者常以多肽的形式被矿质颗粒或腐殖质胶体所吸附,只有在被解吸附后方可成为植物和土壤微生物利用的氮源^[4]。土壤中的氨基酸含量依赖于生态系统类型,其含量随着群落的演替进程而增加,研究表明由于生态环境不同,土壤中的氨基酸浓度可相差两个数量级,范围在 0.04~24 $\mu\text{g/g}$,自然土壤溶液或土壤提取液中的氨基酸以天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸为主,赖氨酸、精氨酸、丙氨酸、丝氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、亮氨酸等为辅^[5]。

游离态氨基酸多以 L 型为主,但也存在很少一部分 D 型异构体的形式,有研究表明 D 型氨基酸在

不同植物组织中的含量比例约为其对应 L 型氨基酸的 0.2%~8%^[6]。业已证实,D 型氨基酸在细菌、真菌和动物界均具有十分必要的生理功能,然而其在植物体内的代谢过程和功能仍不确定。关于 D 型氨基酸的来源目前认为有两个,一是存在于土壤根际区域,一是在植物体内转化合成。存在于根际的 D 型氨基酸主要是由土壤微生物残体降解而来,这也是自然界 D 型氨基酸的主要来源,某些氨基酸如 D-Ala 和 D-Asp 的含量可达每千克土数十毫克^[7-8]。长期以来,植物根系能否吸收运输 D 型氨基酸一直有争论,直到最近研究发现氨基酸转运蛋白 AtLHT1 能够负责根系吸收外源 D 型氨基酸^[9-10]。植物体内 D 型氨基酸的合成来源于其对应的 L 型氨基酸,该过程是在氨基酸消旋酶催化下完成的。总之,氨基酸、多肽和蛋白质是土壤可溶性有机氮的主要来源,土壤中氨基酸、多肽浓度存在着时空特异性变化,受环境影响较大。目前,人们已认识到外源氨基酸等有机态氮也能为植物生长提供重要的营养,有些植物甚至更偏好有机态氮源,植物的氨基酸营养正逐渐为许多研究者所关注,从某种意义上说,氨基酸等有机态养分对传统的氮循环模式给予了合理补充,丰富了植物有机营养的范围。

2 植物体对氨基酸的吸收和转运

2.1 植物对氨基酸的吸收

上世纪初期,学术界开始了对植物氨基酸营养的研究。20 世纪 90 年代后,对植物有机氮营养研究逐渐增多,特别是在植物吸收氨基酸态氮营养方面取得了较大进展。研究表明,许多植物都能直接吸收利用生长介质中的氨基酸,但其吸收能力因植物种类而异,且不同氨基酸对植物的生物学效应存在显著差异。氨基酸进入植物体后既可通过转氨基作用、脱氨基作用及其它过程加以同化形成各种氨基酸,同时还能通过三羧酸循环、糖酵解和其它代谢途径形成有机酸、糖类,最后转化为蛋白质等植物的组成部分^[11]。

早在 1908 年,Lutz 首次完成了世界上第一个氨基酸吸收的无菌试验,随后人们利用兰花胚作为材料研究了氨基酸的作用,随着同位素示踪技术以及显微放射自显影技术的应用,植物氨基酸的精确研究开始取得较大进展。用¹⁴C 标记甘氨酸在无菌条件下培养水稻进行研究,发现水稻根表面不存在谷草转氨酶、氨基分解酶和脱碳酸酶,据此研究者认为水稻根系不会分解氨基酸,氨基酸则是以分子状

态进入水稻体内的,并且在该研究中发现五分钟后甘氨酸开始渗入水稻体内,一个小时后秧苗已有大量的吸收,48 小时后趋于平衡达到吸收高峰^[12]。另有研究表明,在无菌培养条件下用¹⁵N 标记甘氨酸和亮氨酸,发现在处理 15 天后,已经有 70% ¹⁵N 从营养液中转移到植物体内,证明了氨基酸分子可直接进入植株体内^[13]。此外,作物在田间条件下也能吸收氨基酸态氮,研究以梯牧草、杂种车轴草、红车轴草等作物为试验材料,用注射方法供给¹³C¹⁵N 双标记的甘氨酸,21 小时后测定根中的¹³C 和¹⁵N 含量,发现这几种作物在田间均能吸收分子态甘氨酸^[14],这暗示了氨基酸态有机氮也可能是农业上大田作物的重要氮源。另外,国外许多研究都进一步证实了植物能够吸收完整的氨基酸分子进入体内^[15-17]。在细胞生物学水平上,研究表明植物对氨基酸的吸收是一个主动吸收过程,受载体调节、能量状况、介质中 pH 和温度的影响,吸收动力学符合米氏方程^[18]。

由于土壤环境中存在着各种氨基酸,作为一种有机氮源,植物的长期进化很可能具备了某种获取土壤中氨基酸的分子遗传学机制。近年来学术界也相继分离和克隆了多种氨基酸通透酶或转运蛋白基因(amino acid permeases or transporters),有关这方面的详细内容见下一部分论述。

2.2 植物转运氨基酸的分子机理

氨基酸在植物体内主要是通过木质部和韧皮部在不同器官间运输的,它们在细胞内、细胞间甚至组织间长距离的移动时必须跨越各种不同的生物膜,而在这些过程中氨基酸跨膜进出植物细胞要依赖于质膜上的特异性载体蛋白,通过载体蛋白在植物细胞间实现氨基酸的装载和卸载。基于底物的专一性和亲和力以及在植物体内表达方式的不同,各种氨基酸转运载体蛋白具有不同的功能。

目前利用酵母功能互补系统,人们已筛选到大量的植物氨基酸转运蛋白,大多数都集中在模式植物拟南芥上^[19-22]。根据基因序列的相似性,可将其分为: ATF(amino acid transporter family)家族、APC(amino acid, polyamine and choline transporters)家族、MCF(mitochondrial carrier family)家族、OEP16 或 PRAT(plastid outer envelope protein of 16kDa or preprotein and amino acid transporter)家族和 DASS(divalent anion; Na⁺ symporter)家族。拟南芥中已鉴定的氨基酸转运蛋白家族及其家族成员、底物的

专一性、亲和力和蛋白的亚细胞定位等见表 1^[22]。

ATF 和 APC 两个家族的研究报道较多,其中 ATF 家族(又称 AAAP 家族)最大,共有 46 个成员,由 6 个亚家族构成: AtAAPs(amino acid permeases)、AtLHTs(lysine histidine transporters)、AtProTs(proline transporters)、AtGATs(γ -aminobutyric acid transporters)、AtANTs(aromatic and neutral amino acid transporters)以及 AtAUXs(auxin transporters)。这些成员的表达定位于植物不同部位及发育时期,有关拟南芥 ATF 家族氨基酸转运蛋白组织表达定位研究,Liu 和 Bush^[23]进行了详细的描述: AtAAP1 在拟南芥地上部和地下部均有表达,且均受硝态氮、铵态氮及谷氨酰胺诱导^[24-25]; AtAAP3 主要在拟南芥根中表达,通过 T-DNA 插入敲除基因 AtAAP3 发现,与野生型相比转基因植株没有明显表型差异^[26],而 AtAAP2、AtAAP5、AtAAP6 均在根中表达且转运氨基酸的类型与 AtAAP3 相似,并且 AtAAP5 与 AtAAP1 有相类似的表达模式,推测其它成员可能在突变体中能够互补 AtAAP3 或 AtAAP5 的功能,导致突变体未产生明显的表型; AtAAP6 在库叶中也有表达,组织表达定位研究表明其精细定位于木质部薄壁组织,暗示其可能负责吸收木质部中的氨基酸; AtAAP8 则在幼嫩的果荚及种子中表达,其可能在种子吸收氨基酸过程中具有重要作用^[27]。另外,AtAAP1 主要负责转运带负电荷和中性的氨基酸,AtAAP2 和 AtAAP4 主要运输脯氨酸、苯丙氨酸和缬氨酸,AtAAP3 和 AtAAP5 主要运输精氨酸、赖氨酸等^[28]; Boorer 和 Fisher 将 AtAAP5 克隆到爪蟾卵母细胞内表达,发现其能够转运中性、酸性和碱性等多种氨基酸,但转运氨基酸时均以固定的 H⁺: 氨基酸 = 1:1 方式进行^[29]。Chen 和 Bush^[30]发现拟南芥细胞质膜上存在转运赖氨酸和组氨酸的专一性转运子 LHT1, AtLHT1 表达定位于根表皮和叶肉细胞,负责植物吸收土壤中的氨基酸^[9,10,30,31]; 而 Foster 等^[32]研究报道,在拟南芥花发育过程中, LHT2、LHT4、LHT5、LHT6 在花药和雄配子体中表达,亚细胞定位发现它们均位于细胞质膜上,表明 LHT 亚家族成员转运氨基酸同时也参与着植物花粉发育和花粉雌蕊的协调互作。

表 1 拟南芥中主要氨基酸转运蛋白家族^[22]Table 1 The main amino acid transporters families in *Arabidopsis*

基因家族 Gene family	亚家族 Subfamily	成员个数 No. of genes	专一性 Selectivity	亲和力 Affinity	亚细胞定位 Subcellular localization
ATF(or AAP) (amino acid transporter family)	AAP	8	neutral amino acids (aa), Glutamate	moderate (AtAAP1-5,8) high (AtAAP6)	PM (AtAAP1, GFP) PM/EM (AtAAP3, GFP, c-Myc)
	LHT	10	neutral aa acidic aa	high (AtLHT1, AtLHT2)	PM (AtLHT1, proteome) PM (AtLHT4, proteome) PM (Atlg48640, proteome)
	ProT	3	proline, quaternary ammonium compounds	moderate/low (all AtProTs)	PM (AtProT1,2,3, GFP)
	GAT	2	γ -aminobutyric acid, and related compounds	high (AtGAT1)	PM (AtGAT1, GFP) PM (AtGAT2, proteome, GFP)
	ANT	19	neutral aa aromatic aa	moderate (AtANT1)	TP (At3g30390, proteome) Cpl (At5g02180, proteome)
	AUX	4	auxin	high (AtAUX1)	PM (AUX1, HA-tag, proteome) PM (AtLAX1, proteome)
APC (amino acid, polyamine, choline)	CAT	9	neutral aa	moderate (AtCAT6) high (AtCAT1, AtCAT5)	PM (AtCAT5, GFP) PM/EM (AtCAT6,8, GFP) TP (AtCAT2, GFP) TP (AtCAT4, proteome)
	LAT	5	—	—	—
MCF (mitochondrial carrier family)	BAC (basic amino acid carrier)	2	Arg, Lys, Orn, His	moderate(exchange AtmBAC1, AtmBAC2)	Mitochondria
OEP16 or PRAT	OEP16 plastid outer envelope protein of 16kDa	3	aa, amines	—	Cpl, outer envelope
DASS (divalent anion; Na ⁺ symporter)	DiT2-homologs dicarboxylate transport	2	exchange glutamate/malate	—	Cpl, inner envelope Cpl (DiT2.1, proteome)

注 (Note): 转运蛋白的底物选择性及亲和力鉴定主要基于酵母或蛙卵细胞表达系统完成; 高亲和力指 $K_{0.5} < 50 \mu\text{mol/L}$, 中等亲和力 $K_{0.5} = 50 - 500 \mu\text{mol/L}$, 低亲和力 $K_{0.5} > 500 \mu\text{mol/L}$. The substrates selectivity and affinity of amino acids transporters were identified in yeast or *Xenopus oocytes*. High affinity, $K_{0.5} < 50 \mu\text{mol/L}$; Moderate affinity, $K_{0.5} = 50 - 500 \mu\text{mol/L}$; Low affinity, $K_{0.5} > 500 \mu\text{mol/L}$. AAP—Amino acid permease; LHT—Lysine histidine transporter; ProT—Proline transporter; GAT— γ -aminobutyric acid transporter; ANT—Aromatic and neutral amino acid transporter; AUX—Auxin transporter; CAT—Cationic amino acid transporters; LAT—L-type amino acid transporters; PM—Plasma membrane; EM—Endomembranes (endoplasmic reticulum, Golgi apparatus or small vesicles); TP—Tonoplast; Cpl—Chloroplast/plastids.

APC 家族根据功能可分为两个亚家族: AtCATs (cationic amino acid transporters) 和 AtLATs (L-type amino acid transporters), 共有 14 个成员。其中 AtCATs 亚家族有 9 个成员, 对其氨基酸序列进行蛋白跨膜结构预测表明它们具有 14 个蛋白跨膜区, 而 AtLATs 亚家族的成员蛋白跨膜结构预测发现其有 12 个跨膜区^[21]。APC 家族的成员几乎在所有生物体中都能检测到, 这表明该家族代表了氨基酸转运载体的进化发展过程, 但是其两个亚家族成员在结构和功能上表现出明显不同, 目前这方面的研究还不是很清楚^[33]。在 APC 家族中, AtCAT1 是第一个被鉴定出的高亲和力和转运蛋白, 其表达定位于叶脉、花及果荚中, 可能负责韧皮部氨基酸的卸载^[34]; AtCAT2、AtCAT4 表达定位于液泡膜上, AtCAT5 在子叶和叶片边缘中有强烈表达, AtCAT8 则主要在幼嫩根尖及茎尖分生区处于高速分裂状态的细胞中表达, AtCAT5、AtCAT6、AtCAT8 均定位于细胞质膜上, 研究发现 AtCAT5 属于高亲和力和碱性氨基酸转运载体, 而 AtCAT3、AtCAT6 和 AtCAT8 则更偏好于转运中性或酸性氨基酸^[21]。AtLATs 亚家族中共有 5 个成员, 但是目前关于该家族的研究报道仍然空缺, 今后需要进一步探索。

虽然对氨基酸转运蛋白的研究目前主要集中在拟南芥中, 但其它一些植物(如蓖麻、豌豆、番茄、马铃薯等)的氨基酸转运载体基因也有报道^[35-41], 并且某些基因的分子功能也正不断地被科学家们所证实。例如, Li 和 Bush 研究发现在甜菜叶质膜上有 4 种氨基酸转运蛋白: 一种是酸性氨基酸转运蛋白, 一种是碱性氨基酸转运蛋白, 另两种则是中性氨基酸转运蛋白, 研究表明尽管某一类转运蛋白对某组氨基酸的转运具有专一性, 但每一转运蛋白也能对另一组氨基酸表现出交换专一性^[42-44]。有关更多高等植物转运氨基酸的可能性蛋白或基因, 可参见受学术界关注较多的植物生物学网页(如 <http://aramemnon.botanik.uni-koeln.de>)。

3 氨基酸对植物生长发育的作用

氨基酸不仅是蛋白质合成的必要底物, 而且在植物初级和次级代谢中也发挥着重要功能, 一些氨基酸作用于氮源的同化和源库转换, 另一些则是次生代谢产物(如激素、植物防御相关物质等)合成的前体。近年来的相关研究表明氨基酸在植物营养、生长发育调控及在应对某些非生物胁迫等方面都具有其不可或缺的作用。

3.1 氨基酸对植物发育及营养生长的作用

现有的研究已证实, 植物能够吸收分子态的氨基酸, 氨基酸含有碳、氮等元素, 它们不仅可以为植物提供氮素养分, 还能作为碳骨架参与体内的能量代谢, 因此, 充足的氨基酸供应对植物生长发育及提高作物产量和品质都具有重要的促进作用。

目前, 关于这方面的研究报道多见于国内, 例如吴良欢等研究表明, 在无菌水培条件下, 等量的有机、无机态氮对水稻的营养效果依次为甘氨酸 > 谷氨酸 > 铵态氮, 且差异达到极显著水平, 反映了氨基酸对水稻干物质积累有较大的促进作用^[45]。氨基酸能够整合微量营养元素, 螯合态的微量营养可更容易被植物吸收运输, 刘德辉等研究发现, 氨基酸螯合态微肥能显著提高小麦蛋白质及淀粉含量^[46]。霍光华等也发现氨基酸微量元素络合物能明显提高水稻根系活力、促进植株生长、改善库源关系、增加千粒重, 从而有效提高产量^[47]。不仅如此, 氨基酸营养还能够提高植物代谢的生理活性, 研究发现施用氨基酸液肥能增加甜玉米叶绿素含量, 提高光合速率, 有利于同化物的积累; 促进根系生长发育, 提高根系活力, 增加茎粗, 为产量增加提供了物质基础, 同时还可促进过氧化物酶活性, 清除细胞内的过氧化氢和氧自由基, 降低丙二醛含量, 延缓叶片衰老^[48]。另外研究发现, 与对照相比, 赖氨酸和亮氨酸处理培养的黄瓜植株体内的根谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)活性显著升高, 亮氨酸培养的黄瓜茎中的 GOT 和 GPT 活性也显著升高, 这表明氨基酸能够促进植物体内转氨酶和脱氢酶的活性^[49]。

某些氨基酸也可以促进植物对养分的吸收, 增加植物中养分的含量。例如 Zahir 等发现一定浓度的色氨酸能够显著提高马铃薯对氮素的吸收和块茎中氮、磷、钾的浓度^[50]; 陈振德等利用土施色氨酸对甘蓝产量和养分吸收进行研究, 结果发现色氨酸处理能明显提高甘蓝产量和干物质积累, 促进甘蓝植株对氮、磷、钾的吸收, 提高氮、磷在叶中分配, 降低钾在叶中积累^[51]。此外, 氨基酸转运蛋白对氨基酸吸收运输、植物发育和营养调节也具有重要功能。例如, AAP1 参与调控多种植物氨基酸的吸收过程, 对种子储存蛋白合成和籽粒重量有重要意义, 研究发现突变体 *aap1* 种子中的总氨基酸含量显著增加, 进一步分析表明氨基酸只积累在种子的胚乳部分, 致使种子中氮库分布和转运异常。另外, 突变体 *aap1* 植株根系吸收氨基酸的能力下降, 使得根细

胞内大量必需氨基酸含量显著降低,说明 AAP1 对植物种子(胚)发育和氨基酸分配具有必要的调节作用^[52-53]。

总之,氨基酸能够促进植物的生长发育及养分吸收,原因很可能是由于:1)氨基酸可以增加植物体内激素的合成,进而促进植物吸收养分,增强能量代谢活性;2)氨基酸还能作为养料促进植物根系等器官的生长,有利于提高吸收运输养分的能力;3)诱导某些植物氨基酸转运蛋白表达量的增加,使之更易吸收利用养分以利植物生长发育。

3.2 氨基酸在植物适应外界胁迫环境中的作用

植物在生长发育过程中不可避免地会受到其生存环境中各种胁迫逆境的影响,通常植物所受到的外界胁迫分为两大类:生物胁迫和非生物胁迫。氨基酸能够提高植物对外界非生物胁迫的适应性,当植物遇到外界胁迫条件时,氨基酸主要通过参与改变植物体内某些生理代谢,或调节相关基因表达和关键酶活性等方式来增强植物对各种逆境的适应性反应。目前文献中报道的关于氨基酸参与植物胁迫适应的研究主要包括降低重金属毒害、提高干旱、盐胁迫抵抗力、调节膨压渗透势和阳离子膜运输、解除活性氧自由基氧化伤害等^[54-57]。

研究表明,氨基酸能够提高植物对盐胁迫的响应和适应能力,当植物处于高盐环境时,某些氨基酸(如脯氨酸)会被诱导合成,其结果增加了体内相关氨基酸的含量、增强或稳定解毒酶的活性以及刺激胁迫响应蛋白的积累等,进而提高植物的耐盐能力^[58-59]。El-Samad 等研究发现,外源施加脯氨酸或苯丙氨酸能够明显改善玉米和蚕豆体内由盐害而引起的干重、含水量、光和色素、可溶性糖蛋白等下降的效应,并且限制 Na^+ 的吸收,增加 K^+ 吸收和提高 K^+/Na^{+} ^[57]; Cuin 和 Shabala 的研究也得到相似的结论,同时他们认为,许多生理浓度的自由氨基酸很可能对植物盐胁迫适应都具有重要意义,但这种机制还需进一步探索^[60]。

重金属元素(Cd、Zn、Cu 等)能够诱导多种植物体内脯氨酸大量积累,研究者认为这是由于重金属元素提高了脯氨酸合成酶(如 Δ^1 -吡咯啉-5-羧酸合成酶或鸟苷酸氨基转移酶)的活性或是抑制了脯氨酸的氧化分解,进而增强植物抵御外界重金属毒害的能力^[61-65]。同时,脯氨酸具有细胞渗透调节的功能,可以通过控制气孔开闭提高植物细胞的

保水性,以利于植物在干旱胁迫条件下的正常生长。另外,研究也发现,脯氨酸参与植物体内活性氧自由基(ROS)的解毒机制,能够降低质膜过氧化伤害,减少细胞内阳离子外流等,在此过程中脯氨酸很可能是依靠增加体内的还原型谷胱甘肽(GSH)水平和植物螯合肽(phytochelatin)合成量来提高植物对氧化胁迫的适应性^[66]。还有一些报道表明,当植物生长在含镍的介质中,植物体内的组氨酸含量会显著升高,并能够提高植物对重金属镍的忍耐力,说明组氨酸也很可能与植物抵抗重金属胁迫有一定的关联^[67-68];而天冬酰胺具有螯合 Cd、Pb 和 Zn 的能力,进而降低了这些重金属元素的毒性^[69]。半胱氨酸是甲硫氨酸、谷胱甘肽和植物螯合肽的合成前体,因此增加体内半胱氨酸的含量将会有助于提高植物抗氧化胁迫和抗重金属毒害的能力,研究证实经诱导后的拟南芥植株和转基因 *GmOAST1A* 后的烟草体内半胱氨酸合成量显著增多,从而增加了相应植物耐 Cd 胁迫生长的能力^[70-71]。此外,最新研究表明,植物体内的半胱氨酸含量平衡对于植物抵抗外界病原菌侵入和植物免疫具有重要意义^[72]。

3.3 氨基酸对植物生长发育的抑制作用

氨基酸对植物生长具有重要作用,然而,氨基酸除了作为营养物质能够促进植物生长发育以外,它们也可以抑制植物生长。关于氨基酸抑制植物生长的现象很早之前曾有报道,而事实上,大部分蛋白质氨基酸的生物合成代谢途径都存在反馈抑制。因此,氨基酸的这种反馈调节参与植物的发育过程很可能也是某种重要的调控方式,在植物形态学、生理学和代谢等过程中发挥着特殊的作用,但是,氨基酸抑制植物生长的详细分子生理机制目前尚未确定。

较早的研究表明,在 20 种氨基酸中除了 L-谷氨酰胺以外,其余 19 种氨基酸都能对烟草悬浮培养细胞产生抑制效应,通过电子显微镜观察发现细胞发生收缩,并最终导致细胞组织结构紊乱,在细胞质膜处存在大量浓缩的沉积物,研究者据此推测这个过程可能与细胞程序性死亡相关^[73-74]。氨基酸负向调控植物生长典型的例证是其能够抑制植物根系的发育,例如拟南芥根系可以响应体外低微摩尔级的 L-谷氨酸刺激,形成主根短而分枝侧根多的形态^[75]。近年来,谷氨酸可能作为“信号分子”参与植物体内代谢与发育等调控过程的报道不断增加,

表明谷氨酸作为一种必需氨基酸不仅是其它氨基酸和蛋白质合成的重要底物,而且也影响或调节着植物体内某些重要的分子生理过程。目前,虽然植物根系对体外 L-谷氨酸的形态学响应机制还不清楚,但研究者们认为这很可能涉及到植物谷氨酸受体蛋白(Glutamate Receptors, GluRs)的分子功能,因为进一步研究表明谷氨酸抑制根生长伴随着快速的细胞学变化,如皮层微管的解聚作用和质膜去极化,利用动物谷氨酸受体的拮抗剂 AP25 能抑制这些细胞学变化,说明谷氨酸受体的活性是 L-谷氨酸诱导的细胞学变化所必需的^[76-77],但目前还没有更直接的实验证据将 GluRs 与根系对谷氨酸的形态学响应联系起来。另外,高浓度的芳香族氨基酸(如苯丙氨酸、色氨酸、酪氨酸)能够抑制拟南芥种子萌发和萌发后的幼苗生长,而苯丙氨酸不敏感突变体 *pig1* 则提高了对 3 种芳香族氨基酸的抗性,同时突变体幼苗体内的游离氨基酸含量较之于野生型植株增加了 1.4 ~ 2.3 倍,但可溶性蛋白含量并未增加,这表明植物体内可能存在着单独氨基酸代谢调控的机制,但到目前仍然欠缺这方面的深入报道^[78]。

此外,宋世威等在水培条件下研究相同浓度的无机态氮(NO_3^- 、 NH_4^+)和氨基酸态氮(Gly)对甜瓜幼苗生长的影响,结果也表明氨基酸态氮处理能够显著抑制甜瓜幼苗根系和地上部的生长^[79]。与此类似,水培条件下氨基酸组合处理的番茄植株,其根系和整株植物的鲜重都显著低于对照,且植株的绝对和相对生长率也有所降低^[80]。杨靖等在氨基酸对离体植物生长胁迫研究中发现,八种必需氨基酸和两种条件必需氨基酸在小麦离体胚幼苗生长中都存在着反馈抑制现象,某些氨基酸对植物生长的抑制作用不是 L 型,而是表现在 D 型异构体上^[81]。虽然 D 型氨基酸不是土壤介质中主要的氨基酸形态,但某些 D 型氨基酸(如 D-Ala、D-Glu、D-Asp、D-Ser 等)可以占据总量的 10% 以上,因此这类 D 型氨基酸也很可能被植物根系吸收^[8,10]。然而,D 型氨基酸不能被植物作为直接氮源利用,目前对于 D 型氨基酸抑制植物生长的毒害效应机制还不清楚,但之前有学者认为可能是由于植物体内存在的这些 D 型氨基酸能够降低氨基酸转移酶的活性所致,因为研究表明转基因植株在表达某些 D 型氨基酸代谢酶(如 D-Ser 脱氢酶、D-氨基酸氧化酶)后能够有

效地利用 D-Ser 和 D-Ala 供自身生长,而对应的野生型植株则受到强烈抑制^[82-83]。最近,研究者又首次在烟草和拟南芥中发现,D-Ser 能够作为配体介导由谷氨酸受体参与的 Ca^{2+} 跨质膜内流过程,并调节花粉管顶端细胞内的 Ca^{2+} 梯度,最终影响花粉管的生长及其形态建成。同时,该研究还发现,在丝氨酸消旋酶基因被敲除的拟南芥突变体 *sr1* 中,野生型植物的花粉管在 *sr1* 雌蕊中的生长发生缺陷并伴随谷氨酸受体(AtGLR1.2 和 AtGLR3.7)调控的钙离子通道活性降低,该研究结果表明 D-Ser 也能够作为一种生物信号在植物花粉管发育、雄配子体与雌蕊组织间相互识别等过程中发挥特殊作用^[84]。

另外,有研究者认为外源氨基酸胁迫植物的途径多数是通过反馈抑制产生的,在细胞中这是一个精细的调节过程。若某氨基酸具有反馈抑制特性,则当细胞内该氨基酸产物过剩时便会抑制合成途径中的某些关键酶使之合成减缓,若终产物被消耗,反馈抑制作用解除,如若氨基酸或其终产物在体内持续处于高浓度,那么与该氨基酸代谢有关的途径则将长时间处于抑制状态,此时植物体就会受到不同程度的生长抑制,这很可能是氨基酸抑制植株生长的一个重要机制^[85]。

4 结语与展望

氨基酸不仅是所有生物蛋白质的结构组分,而且在植物体内还具有其它必要的生物学功能。例如,氨基酸能够作为植物激素合成的前体、对氮进行源库转运、参与外界非生物胁迫抵抗、调控根系形态建成及花粉管发育等。因此,了解植物体内氨基酸吸收与转运的分子生理机制将具有重要意义,同时,这也有利于我们进一步明确氨基酸对植物生长发育的某些特殊作用。

研究证实,植物能够吸收和利用氨基酸态氮,许多植物的氨基酸转运蛋白基因已被克隆和鉴定,某些缺失氨基酸转运蛋白的突变体也已被发现,这些成果对我们开展相关领域的研究工作提供了有益的指导,为深入研究氨基酸在植物生长发育过程中的潜在功能带来了便利。同时,植物的氨基酸营养研究正在引起许多学者们的重视,目前人们已开发并应用了一些氨基酸复合肥,如氨基酸螯合微肥,它能够提高植物对养分的吸收和生理代谢活性,促进作物增产和改善作物品质,然而,关于氨基酸促进植物

生长发育的机理研究还较少。另外,一个不可忽视的问题是氨基酸过量使用也可能抑制植物的正常生长发育,故需要在实际运用中要掌握好“量”。因此,在氨基酸调控植物生长方面,氨基酸吸收和转运的分子机制、体内的生理代谢途径等仍是今后研究的重点范围,具体如:1)有关D型氨基酸的合成及其特殊生物学功能的研究;2)某些氨基酸作为可能的“信号分子”调控植物器官发育的机制;3)在氨基酸吸收和转运的生物学过程中相关物质如养分、激素、糖以及其它氨基酸等的代谢动态变化;4)植物谷氨酸受体(GluRs)在响应外源氨基酸过程中所发挥的生物学功能。

参考文献:

- [1] 徐兴良,白洁冰,欧阳华. 植物吸收土壤有机氮的研究进展[J]. 自然资源学报, 2011, 26(4): 715-724.
Xu X L, Bai J B, Ouyang H. Advances in studies on organic nitrogen uptake by terrestrial plants[J]. J. Nat. Resour., 2011, 26(4): 715-724.
- [2] 马林. 植物对氨基酸的吸收和利用[J]. 西南科技大学学报, 2004, 19(1): 102-107.
Ma L. Absorption and utilization of amino acids by plant[J]. J. Southwest Univ. Sci. Technol., 2004, 19(1): 102-107.
- [3] Vinolas L C, Vallejo V R, Jones D L. Control of amino acid mineralization and microbial metabolism by temperature[J]. Soil Biol. Biochem., 2001, 33(7): 1137-1140.
- [4] Werdin P F, Kielland K, Boone R D. Soil amino acid composition across a boreal forest successional sequence [J]. Soil Biol. Biochem., 2009, 41: 1210-1220.
- [5] Yu Z, Zhang Q, Kraus T E C *et al.* Contribution of compounds to dissolved organic nitrogen in forest soils [J]. Biogeochemistry, 2002, 61: 173-198.
- [6] Bruckner H, Westhauser T. Chromatographic determination of L and D - amino acids in plants[J]. Amino Acids, 2003, 24: 43-55.
- [7] Amelung W. Nitrogen biomarkers and their fate in soil [J]. J. Plant Nutr. Soil Sci., 2003, 166: 677-686.
- [8] Amelung W, Zhang X. Determination of amino acid enantiomers in soils [J]. Soil Biol. Biochem., 2001, 22: 553-562.
- [9] Svennerstam H, Ganeteg U, Bellini C, Nasholm T. Comprehensive screening of *Arabidopsis* mutants suggests the lysine histidine transporter 1 to be involved in plant uptake of amino acids [J]. Plant Physiol., 2007, 143: 1853-1860.
- [10] Forsum O, Svennerstam H, Ganeteg U *et al.* Capacities and constraints of amino acid utilization in *Arabidopsis* [J]. New Phytol., 2008, 179: 1058-1069.
- [11] 王莹,史振声,王志斌,李凤海. 植物对氨基酸的吸收利用及氨基酸在农业中的应用[J]. 中国土壤与肥料, 2008, 1: 6-11.
Wang Y, Shi Z S, Wang Z B, Li F H. Absorption and utilization of amino acids by plant and application of amino acids on agriculture [J]. China Soils Fert., 2008, 1: 6-11.
- [12] 张夫道,孙羲. 氨基酸对水稻营养作用的研究[J]. 中国农业科学, 1984, 17(5): 61-66.
Zhang F D, Sun X. The study of effect of amino acids on rice nutrient [J]. Sci. Agric. Sci., 1984, 17(5): 61-66.
- [13] 许玉兰,刘庆城. 用¹⁵N示踪方法研究氨基酸的肥效作用[J]. 氨基酸和生物资源, 1998, 20(2): 20-23.
Xu Y L, Liu Q C. Study on fertilizer efficiency of amino acids with ¹⁵N traces [J]. Amino Acids Biotic Resour., 1998, 20(2): 20-23.
- [14] Nasholm T, Huss-Danell K, Hogberg P. Uptake of organic nitrogen in the field by four agriculturally important plant species [J]. Ecology, 2000, 81(4): 1155-1161.
- [15] Chapin F S, Moilanen L, Kielland K. Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-mycorrhizal arctic sedge [J]. Nature, 1993, 361(1): 150-153.
- [16] Nasholm T, Ekblad A, Nordin A *et al.* Boreal forest plants take up organic nitrogen [J]. Nature, 1998, 392: 914-916.
- [17] Thornton B. Uptake of glycine by non-mycorrhizal *Lolium perenne* [J]. J. Exp. Bot., 2001, 52: 1315-1322.
- [18] 袁伟,董元华,王辉. 植物对氨基酸态氮吸收和利用的研究进展[J]. 中国土壤与肥料, 2009, (4): 4-9.
Yuan W, Dong Y H, Wang H. Uptake and utilization of amino acid nitrogen by plants [J]. China Soils Fert., 2009, (4): 4-9.
- [19] Fischer W N, Andre B, Rentsch D *et al.* Amino acid transport in plants [J]. Trends Plant Sci., 1998, 3(5): 188-195.
- [20] Ortiz L A, Chang H C, Bush D R. Amino acid transporters in plants [J]. Biochim. Biophys. Acta., 2000, 1465: 275-280.
- [21] Su Y H, Frommer W B, Ludwig U. Molecular and functional characterization of a family of amino acid transporters from *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol., 2004, 136: 3104-3113.
- [22] Rentscha D, Schmidt S, Tegeder M. Transporters for uptake and allocation of organic nitrogen compounds in plants [J]. FEBS Lett., 2007, 581: 2281-2289.
- [23] Liu X, Bush D R. Expression and transcriptional regulation of amino acid transporters in plants [J]. Amino Acids, 2006, 30: 113-120.
- [24] Frommer W B, Hummel S, Riesmeier J W. Expression cloning in yeast of a cDNA encoding a broad specificity amino acid permease from *Arabidopsis thaliana* [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, 90: 5944-5948.
- [25] Guo M G. Molecular and genomic analysis of nitrogen regulation of amino acid permease I (AAP1) in *Arabidopsis* [D]. Urbana, IL, USA: PhD dissertation, University of Illinois at Urbana-Champaign, 2004.

- [26] Okumoto S, Koch W, Tegeder M *et al.* Root phloem specific expression of the plasma membrane amino acid proton co-transporter AAP3 [J]. *J. Exp. Bot.*, 2004, 55: 2155–2168.
- [27] Okumoto S, Schmidt R, Tegeder M *et al.* High affinity amino acid transporters specifically expressed in xylem parenchyma and developing seeds of *Arabidopsis* [J]. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277: 45338–45346.
- [28] Fischer W N, Loo D D F, Koch W *et al.* Low and high affinity amino acid H⁺ – cotransporters for cellular import of neutral and charged amino acids [J]. *Plant J.*, 2002, 29: 717–731.
- [29] Boorer K J, Fischer W N. Specificity and stoichiometry of the *Arabidopsis* H⁺/amino acid transporter AAP1 [J]. *J. Biol. Chem.*, 1997, 272: 13040–13046.
- [30] Chen L, Bush D R. LHT1, a lysine and histidine-specific amino acid transporter in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol.*, 1997, 115: 1127–1134.
- [31] Hirner A, Ladwig F, Stransky H *et al.* *Arabidopsis* LHT1 is a high-affinity transporter for cellular amino acid uptake in both root epidermis and leaf mesophyll [J]. *Plant Cell*, 2006, 18: 1931–1946.
- [32] Foster J, Lee Y H, Tegeder M. Distinct expression of members of the LHT amino acid transporter family in flowers indicates specific roles in plant reproduction [J]. *Sex Plant Reprod.*, 2008, 21: 143–152.
- [33] Wipf D, Ludewig U, Tegeder M *et al.* Conservation of amino acid transporters in fungi, plants and animals [J]. *Trends Biochem. Sci.*, 2002, 27: 139–147.
- [34] Frommer W B, Hummel S, Unseld M *et al.* Seed and vascular expression of a high-affinity transporter for cationic amino acids in *Arabidopsis* [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92: 12036–12040.
- [35] Bick J A, Neelam J L, Williams H L E. Amino acid carriers of *Ricinus communis* expressed during seedling development: molecular cloning and expression analysis of two putative amino acid transporters, RcAPP1 and RcAAP2 [J]. *Plant Mol. Biol.*, 1998, 36(3): 377–385.
- [36] Neelam A, Marrier A C, Hall J L *et al.* Functional characterization and expression analysis of amino acid permease RcAAP3 from castor bean [J]. *Plant Physiol.*, 1999, 120(4): 1049–1056.
- [37] Montamat F, Maurousset L, Tegeder M *et al.* Cloning and expression of amino acid transporters from broad bean [J]. *Plant Mol. Biol.*, 1999, 41: 259–268.
- [38] Miranda M, Borisjuk L, Tewes A *et al.* Amino acid permeases in developing seeds of *Vicia faba* L.: expression precedes storage protein synthesis and is regulated by amino acid supply [J]. *Plant J.*, 2001, 28: 61–71.
- [39] Tegeder M, Offler C, Frommer W B *et al.* Amino acid transporters are localized to transfer cells of developing pea seeds [J]. *Plant Physiol.*, 2000, 122: 319–325.
- [40] Schwacke R, Grallath S, Breitzkreuz K E *et al.* LeProT1, a transporter for proline, glycine betaine, and gamma-amino butyric acid in tomato pollen [J]. *Plant Cell*, 1999, 11: 377–391.
- [41] Koch W, Kwart M, Laubner M *et al.* Reduced amino acid content in transgenic potato tubers due to antisense inhibition of the leaf H⁺/amino acid symporter STAAP1 [J]. *Plant J.*, 2003, 33: 211–220.
- [42] Li Z C, Bush D R. A pH – dependent amino acid transport into plasma membrane vesicles isolated from sugar beet (*Beta vulgaris* L.) leaves I. Evidence for carrier-mediated, electrogenic flux through multiple transport systems [J]. *Plant Physiol.*, 1990, 94: 268–277.
- [43] Li Z C, Bush D R. A pH – dependent amino acid transport into plasma membrane vesicles isolated from sugar beet (*Beta vulgaris* L.) leaves II. Evidence for multiple aliphatic, neutral amino acid symporters [J]. *Plant Physiol.*, 1991, 96: 1338–1344.
- [44] Li Z C, Bush D R. Structural determinants in substrate recognition by proton-amino acid symports in plasma membrane vesicles isolated from sugar beet leaves [J]. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1992, 294(2): 519–526.
- [45] 吴良欢, 陶勤南. 植物有机营养无菌培养试验方法的研究与应用 [J]. *土壤学报*, 1999, 36(4): 551–558.
- Wu L H, Tao Q N. The plant sterile culture method and its application in the study of plant organic nutrition [J]. *Acta. Pedol. Sin.*, 1999, 36(4): 551–558.
- [46] 刘德辉, 田蕾, 邵建华, 等. 氨基酸螯合微量元素肥料在小麦和后作水稻上的效果 [J]. *土壤通报*, 2005, 36(6): 917–920.
- Liu D H, Tian L, Shao J H *et al.* Effect of amino acid chelated microelement fertilizer on wheat and rice [J]. *Chin. J. Soil Sci.*, 2005, 36(6): 917–920.
- [47] 霍光华, 郭成志, 郭晶东. 氨基酸微素络合物对水稻的生物效应初探 [J]. *氨基酸和生物资源*, 1998, 20(3): 40–43.
- Huo G H, Guo C Z, Guo J D. The preliminary research on biological effect of amino acid-trace element complex on the paddy [J]. *Amino Acids Biotic Resour.*, 1998, 20(3): 40–43.
- [48] 吴玉群, 史振声, 李荣华, 等. 植物氨基酸液肥对甜玉米产量及生理指标的影响 [J]. *玉米科学*, 2006, 14(5): 130–133.
- Wu Y Q, Shi Z S, Li R H *et al.* Effect of plant amino acid liquid fertilizer on the physiological index and yield of sweet corn [J]. *J. Maize Sci.*, 2006, 14(5): 130–133.
- [49] 张政. 氨基酸态氮对黄瓜的营养效应 [D]. 重庆: 西南农业大学硕士学位论文, 2005.
- Zhang Z. Nutritional effect of amino acids on cucumber [D]. Chongqing: MS thesis, Southeast Agriculture University, 2005.
- [50] Zahir Z A, Arshad M, Azam M *et al.* Effect of an auxin

- precursor tryptophan and azotobacter inoculation on yield and chemical composition of potato under fertilized conditions[J]. J. Plant Nutr., 1997, 20(6): 745-752.
- [51] 陈振德, 黄俊杰, 何金明, 蔡葵. 土施 L-色氨酸对甘蓝产量和养分吸收的影响[J]. 土壤学报, 1997, 34(2): 200-204.
- Chen Z D, Huang J J, He J M, Cai K. Influence of L-tryptophan applied to soil on yield and nutrient uptake of cabbage[J]. Acta. Pedol. Sin., 1997, 34(2): 200-204.
- [52] Lee Y H, Foster J, Chen J *et al.* AAP1 transports uncharged amino acids into roots of *Arabidopsis* [J]. Plant J., 2007, 50: 305-319.
- [53] Sanders A, Collier R, Trethewy A *et al.* AAP1 regulates import of amino acids into developing *Arabidopsis* embryos [J]. Plant J., 2009, 59: 540-552.
- [54] Sharma S S, Dietz K J. The significance of amino acids and amino acid derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress[J]. J. Exp. Bot., 2006, 57(4): 711-726.
- [55] Rai V K. Role of amino acids in plant responses to stresses [J]. Biol. Planta., 2002, 45(4): 481-487.
- [56] Szabados L, Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid [J]. Trends Plant Sci., 2009, 15(2): 89-97.
- [57] El samad H M A, Shaddad M A K, Barakat N. Improvement of plants salt tolerance by exogenous application of amino acids [J]. J. Med. Plants Resour., 2011, 5(24): 5692-5699.
- [58] Szekely G, Abraham E, Cseplo A *et al.* Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis [J]. Plant J. 2008, 53: 11-28.
- [59] Khedr A H, Abbas M A, Wahid A A A *et al.* Proline induces the expression of salt-stress responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancreaticum maritimum* L. to salt stress[J]. J. Exp. Bot., 2003, 54: 2553-2562.
- [60] Cuin T A, Shabala S. Amino acids regulate salinity-induced potassium efflux in barley root epidermis [J]. Planta, 2007, 225: 753-761.
- [61] Alia, Saradhi P P. Proline accumulation under heavy metal stress [J]. J. Plant Physiol., 1991, 138: 504-508.
- [62] Bassi R, Sharma S S. Changes in proline content accompanying the uptake of zinc and copper by *Lemna minor* [J]. Ann. Bot., 1993a, 72: 151-154.
- [63] Bassi R, Sharma S S. Proline accumulation in wheat seedlings exposed to zinc and copper [J]. Phytochemistry, 1993b, 33: 1339-1342.
- [64] Schat H, Sharma S S, Vooijs R. Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a non-tolerant ecotype of *Silene vulgaris* [J]. Physiol. Plantarum, 1997, 101: 477-482.
- [65] Chen C T, Chen L M, Lin C C *et al.* Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper [J]. Plant Sci., 2001, 160: 283-290.
- [66] Matysik J A, Bhalu B, Mohanty P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants [J]. Curr. Sci., 2002, 82(5): 525-532.
- [67] Kramer U, Cotter-Howells J D, Charnock J M *et al.* Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel [J]. Nature, 1996, 379: 635-638.
- [68] Kerkeb L, Kramer U. The role of free histidine in xylem loading of nickel in *Alyssum lesbiacum* and *Brassica juncea* [J]. Plant Physiol., 2003, 131: 716-724.
- [69] Bottari E, Festa M R. Asparagine as a ligand for cadmium (II), lead (II) and zinc (II) [J]. Chem. Spec. Bioavail., 1996, 8: 75-83.
- [70] Dominguez-Solis J R, Lopez-Martin M C, Ager M C *et al.* Increased cysteine availability is essential for cadmium tolerance and accumulation in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Biotech. J., 2004, 2: 469-476.
- [71] Ning H X, Zhang C H, Yao Y *et al.* Overexpression of a soybean O-acetylserine (thiol) lyase-encoding gene *GmOASTLA* in tobacco increases cysteine levels and enhances tolerance to cadmium stress [J]. Biotechnol. Lett., 2010, 32: 557-564.
- [72] Alvarez C, Bermudez M A, Romero L C *et al.* Cysteine homeostasis plays an essential role in plant immunity [J]. New Phytol., 2012, 193: 165-177.
- [73] Bonner C A, Williams D S, Aldrich H C *et al.* Antagonism by L-glutamine of toxicity and growth inhibition caused by other amino acids in suspension cultures of *Nicotiana glauca* [J]. Plant Sci., 1996, 113: 43-58.
- [74] Bonner C A, Jensen R A. Recognition of specific patterns of amino acid inhibition of growth in higher plants, uncomplicated by glutamine-reversible general amino acid inhibition [J]. Plant Sci., 1997, 130: 133-143.
- [75] Walch-Liu P, Liu L H, Remans T *et al.* Evidence that L-glutamate can act as an exogenous signal to modulate root growth and branching in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Physiol., 2006, 47(8): 1045-1057.
- [76] Sivaguru M, Pike S, Gassmann W *et al.* Aluminum rapidly depolymerizes cortical microtubules and depolarizes the plasma membrane: evidence that these responses are mediated by a glutamate receptor [J]. Plant Cell Physiol., 2003, 44(7): 667-675.
- [77] Filleur S, Walch-Liu P, Gan Y *et al.* Nitrate and glutamate sensing by plant roots [J]. Biochem. Soc. Trans., 2005, 33: 283-286.
- [78] Voll L M, Allaire E E, Fiene G *et al.* The *Arabidopsis* phenylalanine insensitive growth mutant exhibits a deregulated amino acid metabolism [J]. Plant Physiol., 2004, 136: 3058-3069.
- [79] 宋世威, 葛体达, 季凯莉, 黄丹枫. 无机氮和氨基酸态氮对甜瓜幼苗生长和氮素吸收的影响 [J]. 上海交通大学学报

- (农业科学版), 2008, 26(5): 398-402.
- Song S W, Ge T D, Ji K L, Huang D F. Effect of inorganic nitrogen and amino acid nitrogen supply on plant growth and nitrogen accumulation of Muskmelon seedling [J]. J. Shanghai Jiaotong Univ. (Agri. Sci.), 2008, 26(5): 398-402.
- [80] García A L, Franco J A, Nicolás N *et al.* Influence of amino acids in the hydroponic medium on the growth of tomato plants [J]. J. Plant Nutr., 2006, 29(12): 2093-2104.
- [81] 杨靖, 孙海燕, 李友勇. 11 种非必需氨基酸对离体植物生长的胁迫作用[J]. 生物技术, 2008, 18(4): 72-74.
- Yang J, Sun H Y, Li Y Y. Stress on the growth of plants in vitro of non-essential amino acids[J]. Biotechnology, 2008, 18(4): 72-74.
- [82] Erikson O, Hertzberg M, Näsholm T. A conditional marker gene allowing both positive and negative selection in plants[J]. Nature Biotech., 2004, 22: 455-458.
- [83] Erikson O, Hertzberg M, Näsholm T. The *dsdA* gene from *Escherichia coli* provides a novel selectable marker for plant transformation [J]. Plant Mol. Biol., 2005, 57: 425-433.
- [84] Michard E, Lima P T, Borges F *et al.* Glutamate receptor-like genes form Ca^{2+} channels in pollen tubes and are regulated by pistil D-serine[J]. Science, 2011, 332: 434-437.
- [85] 赵大华, 杨靖, 李友勇. D 氨基酸抑制植物生长的现象[J]. 华北农学报, 2007, 22(2): 60-63.
- Zhao D H, Yang J, Li Y Y. The inhibition of D - amino acid on plant growth[J]. Acta. Agric. Boreali-Sin., 2007, 22(2): 60-63.