植物水通道蛋白 Nodulin 26-like Intrinsic Proteins 的 生物学功能研究与进展

刘 兰, 方贝贝, 徐芳森*

(华中农业大学资源与环境学院/微量元素研究中心,湖北武汉 430070)

摘要:水通道蛋白 (AQPs) 是植物体内水分跨膜运输的主要通道,有关 AQPs 维持水稳态的研究近年来已被广泛 报道。在 AQPs 的 7 个亚家族中,类 NOD26 膜内在蛋白 (Nodulin 26-like Intrinsic Proteins, NIPs) 是植物所特有的 一个亚族,它在植物中转运水的能力相对较弱,但在类金属的运输上发挥了重要功能。NIPs 蛋白结构高度保 守,具有 2 个结构域:NPA 基序和 ar/R 选择性过滤器,它们对底物选择性至关重要。NIPs 作为典型的类金属 跨膜通道蛋白,根据 ar/R 区的氨基酸组成可分为 3 个亚类,包括 NIP I、NIP II 和 NIP III,不同亚类在底物运输 上存在着特异性和冗余性。NIP I 介导砷和锑的转运,NIP II 参与硼、砷和锗的运输,NIP III 运输硅、硒、硼、 砷、锑和锗。NIPs 在植物体内对必需和有益类金属 (硼、硅和硒)的调节,增强了植物抵御逆境胁迫的能力;对 有害类金属 (砷和锑)的调节,一方面通过减少其向种子的分配进而保障食品安全和人体健康,另一方面通过在 植物体内超富集以达到环境修复的目的。此外,NIPs 作为一种多功能通道蛋白,还能够运输过氧化氢、甘油、 乳酸、尿素和氨气等,在植物信号转导和多种生理代谢活动中起作用。随着全球变暖,极端天气频发,植物在 生长发育过程中将面临更大的挑战。因此,基于 NIPs 对多种底物的选择性和功能多样性,可考虑将其作为培育 高抗逆性作物的靶基因。NIPs 在植物中的表达具有器官、组织和细胞特异性,其表达丰度及蛋白活性在转录水 平和蛋白水平上被严格调控。明确 NIPs 的调控机制对于进一步解析其在植物中的生物学功能是非常必要的。综 上,本文在介绍 NIPs 结构和分类基础上,重点阐述了 NIPs 底物运输及其相关的生物学功能和调控机制,以期 为通过基因工程技术来增强作物抗逆性并提高作物产量和品质提供关键候选基因。

关键词:水通道蛋白; NIPs 基因; 底物; 准金属; 生物学功能; 调控机制

Research and progress on the biological function of plant aquaporin Nodulin 26-like Intrinsic Proteins

LIU Lan, FANG Bei-bei, XU Fang-sen*

(College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University / Microelement Research Center, Wuhan, Hubei 430070, China)

Abstract: Aquaporins (AQPs) are the main channel for water transport across membranes in plants, and studies on maintaining water homeostasis by AQPs have been widely reported in recent years. Among the seven subfamilies of AQPs, Nodulin 26-like intrinsic proteins (NIPs), a plant-specific subfamily, have relatively weak roles in water transport in plants, but play an important function in metalloid transport. The protein structure of NIPs is highly conserved with two structural domains: the NPA motif and the ar/R selectivity filter, which are critical for substrate selectivity. NIPs, as typical metalloid transmembrane channel proteins, can be classified into three subclasses based on the amino acid composition of the ar/R region, including NIP I, NIP II, and NIP III, and the different subclasses have specificity and redundancy in substrate transport. The NIP I subfamily mediates the transport of arsenic and antimony, the NIP II subfamily is involved in the transport of boron, arsenic and germanium, and the NIP III subfamily transports silicon, selenium, boron, arsenic, antimony and germanium.

基金项目:国家农业重大科技项目 (NK2022180805);国家自然科学基金项目 (32372805)。

联系方式: 刘兰 E-mail: LanLiu@webmail.hzau.edu.cn; * 通信作者 徐芳森 E-mail: fangsenxu@mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2024-09-12 接受日期: 2024-12-03

NIPs enhance plant resistance to adversity stress by regulating essential and beneficial metals (boron, silicon and selenium). NIPs regulate harmful metalloids (arsenic and antimony) to ensure food safety and human health by reducing their distribution to seeds on the one hand, and to achieve environmental remediation by hyperenrichment in plants on the other hand. In addition, as a multifunctional channel protein, NIPs can transport hydrogen peroxide, glycerol, lactate, urea, and ammonia, which play a role in plant signal transduction and various physiological and metabolic activities. With global warming and frequent occurrence of extreme weather, plants will face greater challenges during growth and development. Therefore, NIPs can be considered as target genes for breeding highly resistant crops based on their multiple substrate selectivity and functional diversity. The expression of NIPs in plants is organ-, tissue- and cell-specific, and the abundance of their expression and protein activity are tightly regulated at the transcriptional and protein levels. To further understand the biological functions of NIPs in plants, it is necessary to clarify their regulatory mechanisms. In summary, based on the introduction of the structure and classification of NIPs, this paper focuses on their substrate transport and related biological functions and regulatory mechanisms. It aims to provide key candidate genes for enhancing crop resistance and improving crop yield and quality through genetic engineering techniques.

Key words: aquaporins; NIPs gene; substrate; metalloid; biological function; regulatory mechanism

植物生长发育离不开水分。水通道蛋白 (Aquaporins, AQPs) 作为主要内在蛋白 (Major intrinsic proteins, MIPs) 超家族成员,在植物体内的水分跨细胞途径运输中 发挥着重要功能^{III}。1988年,首个水通道蛋白 CHIP28 (AQP1) 在人体血红细胞膜上被分离纯化^[2], Preston 等¹³通过卵母细胞异源表达系统证实 CHIP28 具有水 转运活性。定位在拟南芥液泡膜上的 γ-TIP 是植物中 第一个报道的具有水渗透性的通道蛋白4%。随着基因 组测序技术的发展, AQPs 已经在多种植物中被鉴 定。根据氨基酸序列的同源性, AQPs 可被分成7个 亚家族:质膜内在蛋白 (Plasma membrane intrinsic proteins, PIPs)、液泡膜内在蛋白 (Tonoplast intrinsic proteins, TIPs)、类 NOD26 膜内在蛋白 (Nodulin 26like intrinsic proteins, NIPs)、小分子碱性膜内在蛋白 (Small basic intrinsic proteins, SIPs)、类 GlpF 膜内在 蛋白 (GlpF-like intrinsic proteins, GIPs)、杂合内在蛋 白 (Hybrid intrinsic proteins, HIPs) 和 X 类内在蛋白 (X intrinsic proteins, XIPs)。在植物的不断进化过程中, PIPs、TIPs、NIPs 和 SIPs 广泛分布在各种陆生植物 中,但单子叶植物缺失了 XIPs, GIPs 和 HIPs 被发 现仅存在于苔藓类植物中,并在高等植物中发生了 丢失事件^[5]。AQPs 作为一种多功能跨膜通道蛋白, 不仅可以转运水,还可以转运甘油、尿素、类金属、 NH,和CO,等,在调节植物生长发育及抵御逆境 胁迫等方面发挥重要作用^[6]。类 NOD26 膜内在蛋 白 (NIPs) 是植物所特有的一个亚家族,因其与大豆 NOD26 序列相似性高而得此名^[7]。细菌 AqpN 是 NIPs 进化的起源,陆生植物对营养的需求迫使 NIPs 进行 功能分化^[8]。与具有高效水转运活性的 PIPs 和 TIPs 不同,NIPs 运水能力相对较低。NIPs 在植物中定位 于质膜或内质网上^[9-10],大量研究表明其最主要特征 是转运类金属。本文主要综述植物水通道蛋白 NIPs 的结构、分类、底物运输、生物学功能和调控机 制,为深入研究 NIPs 功能提供参考。

1 植物 NIPs 结构和分类

水通道蛋白结构高度保守,在生物膜上通常以 四聚体形式存在,每个单体都可以作为功能通道起 作用^[11]。如图1所示,单体蛋白是由5个环 (loop Aloop E) 连接 6 个 α-螺旋 (TM1-TM6) 组成的"沙漏" 型跨膜结构。其中, loop B 和 loop D 以及氨基末端 (-NH₂) 和羧基末端 (-COOH) 位于细胞内, loop A、 loop C 和 loop E 则位于细胞外; B 环和 E 环形成两 个短的 α-螺旋结构 (HB 和 HE),并有部分嵌入膜 中,其顶端处各含有一个高度保守的 NPA 基序,由 天门冬酰胺 (Asn)、脯氨酸 (Pro) 和丙氨酸 (Ala) 组 成,两个 NPA 基序构成 NPA 区,参与孔通道的形 成[12]。在 NPA 区上方 0.8 nm 处是芳香族/精氨酸区 (ar/R), ar/R 是通道最窄的部分, 由位于螺旋 TM2 (H2)、TM5 (H5) 和环 loopE (LE1 和 LE2) 上 4 个分散 的氨基酸残基组成,可以作为底物过滤器起作用[13]。 NPA 和 ar/R 结构对 NIPs 的底物选择性具有重要意 义。NIPs 家族基因根据 ar/R 区的差异可分成三个亚 族: NIP I (W、V/I、A、R)、NIP II (A、I/V、A/G、 R) 和 NIP III (G、S、G 和 R)^[7, 14]。



图 1 NIPs 单体蛋白结构示意图 Fig. 1 Schematic diagram of structure of NIPs monomer protein

注: A 和 B 分别代表 AtNIP3;1 (At1g31885) 蛋白的二级结构和三级结构。蛋白的三级结构由 Phyre2 (http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/ html/page.cgi?id=idex) 网站预测,并通过 PyMOL 3.0 软件进行美化。

Note: A and B represent the secondary and tertiary structures of the AtNIP3;1 (At1g31885) protein, respectively. The tertiary structure of the protein is predicted by the Phyre2 website (http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index) and beautified by PyMOL 3.0 software.

2 植物 NIPs 的运输底物与功能

2.1 水

水是植物生命活动的重要因子,对于植物生长 发育至关重要。水分(H₂O)被植物根系吸收后,在植 物体内存在以下3种运输途径:质外体途径、共质 体途径和跨细胞途径凹。水通道蛋白以跨膜运水的能 力而闻名,在跨细胞途径中负责水分的运输。果实 的生长发育及成熟过程与水分密切相关,并受水通 道蛋白基因表达的严格调控。CmNIP2;2和CmNIP5:1 是两个水高效运输基因,在有裂纹的甜瓜中被诱导 表达,参与甜瓜体内水分运输[15]。FaNIP1;1 在草莓 果实中特异性表达, 受缺水胁迫显著上调表达, 在 维持果实膨胀中起作用[16]。CsNIP5;1具有水转运活 性, 超表达 CsNIP5:1 降低了柑橘愈伤组织透水性, 增加了果实抵御水分流失的能力[17]。水稻 OsNIP1;1、 OsNIP2;1 和 OsNIP3;3^[17],大麦 HvNIP1s 和 HvNIP2s^[18], 拟南芥 AtNIP4; 1、AtNIP4; 2^[19]和 AtNIP5:1¹⁰¹在异源表达系统中对水也具有渗透性,但 是缺少植物中相关功能研究,参与何种生理过程仍 不是很清楚。

2.2 类金属

类金属 (metalliods) 又叫做准金属或半金属,在 元素周期表中位于金属和非金属的过渡区域。准金 属包括硼 (B)、硅 (Si)、锗 (Ge)、砷 (As)、锑 (Sb)、 蹄 (Te) 和钋 (Po),有时砹 (At)、硒 (Se) 和铝 (Al) 也 被认为是准金属。在常见的准金属中, B 是植物必需的微量营养元素, Si 和 Se 是植物有益元素, 在植物的生长发育及抵御生物和非生物胁迫等方面发挥功能; As、Sb、Ge、Al 等对植物有毒, 易于被作物吸收, 并通过食物链进入人体危害健康。为调节类金属在植物中的吸收、转运、分布及外排, 植物进化出了高效的膜转运系统。在各类转运蛋白中, 水通道蛋白 NIPs 亚家族在类金属运输中起主要作用。

硼的主要生物学功能是可以与细胞壁果胶中两 个鼠李糖半乳糖醛酸 II(RG-II) 进行交联,形成一种 稳定且更具有延伸性的二聚化复合物,对维持细胞 壁结构和功能具有重要作用[20]。硼在土壤中主要以硼 酸分子(H₁BO₁)形态存在,这也是植物根系吸收硼的 形式。BORs 和 NIPs 是调控植物硼稳态的两类重 要转运蛋白,其中 BORs 为外向型硼转运蛋白,而 NIPs 是内向型硼转运蛋白[21]。AtNIP5;1 是 Takano 等 人¹⁰¹在拟南芥中鉴定到的首个植物硼酸通道蛋白, 主要在根的分生区和伸长区表达,极性定位在侧根 冠细胞和表皮细胞靠近土壤一侧的质膜上,介导 根从土壤中吸收硼[22]。AtNIP6;1在地上部的节点处 表达,参与木质部和韧皮部间硼的转运,在维持 地上部生长中起作用[23]。甘蓝型油菜是我国油菜的 主要栽培品种,对低硼胁迫极其敏感且需硼较多。 BnaA03.NIP5:1 是利用图位克隆获得的甘蓝型油菜 硼高效基因, 它极性定位在根尖分生区侧根冠细胞 靠土壤侧的质膜上,负责根尖硼的吸收以维持根系

生长发育^[24, 25, 26]。BnaA02.NIP5;1 是 BnaA03.NIP5;1 的 同源基因,在根分生区和伸长区的外皮层细胞中表 达,参与从土壤中吸收硼并将硼向地上部运输[27]。 OsNIP3:1 是水稻质膜定位的硼酸通道蛋白,缺硼时 负责优先将硼分配到发育中的组织^[28]。HvNIP2:1 是 大麦高浓度硼适应性的重要因子,在高硼土壤中, HvNIP2:1 通过降低表达量以减少根系对硼的吸收^[29]。 植物生殖生长对硼的需求远高于营养生长,在花 器官中高度表达的基因对于花发育及植株育性具有 决定性作用。AtNIP7:1 在花药绒毡层表达,充当门 控硼酸通道,参与花粉发育过程^[30]。AtNIP4:1和 AtNIP4:2 是花粉特异性水通道蛋白, 在缺硼时, 其双敲低株系的花粉萌发率和花粉管长度显著低 于野生型^[19]。ZmNIP3:1在玉米穗丝中表达量最高, 促进硼向地上部顶端运输,介导花序发育过程[31]。 BnaA02.NIP6;1a 参与硼向地上部转运,可以恢复拟 南芥 nip6:1 苗期缺硼敏感表型,同时还参与调节油 菜花器官的发育[32]。

硅是植物生长发育的有益元素,主要以硅酸的 形式 (H₄SiO₄) 被植物根系吸收,具有提高植物逆境 胁迫适应性的作用^[33]。水稻是典型的硅积累植物,是 目前硅转运系统研究最清楚的。Ma 等^[34]在水稻中首 次鉴定到硅内流转运基因 OsNIP2;1 (Lsi1),参与根 从外部吸收硅, 其突变体硅含量显著降低, 使植株 易于发生虫害,最终导致严重减产。OsNIP2;2(Lsi6) 是 OsNIP2:1 同源基因,负责从木质部卸载硅^[35],并 参与维管束间硅的转运¹⁶。Yamaji 等¹³⁷通过构建硅分 布的数学模型,发现 OsNIP2;2 及硅外排转运基因 OsLsi2和 OsLsi3 位于水稻节点处表达,共同调节 硅向发育组织优先分配,这种机制使得籽粒中硅含 量增加,进而减少有毒有害物质积累。随后,硅转 运基因在玉米 (ZmNIP2;1 和 ZmNIP2;2)^[38]、大麦 (HvNIP2;1 和 HvNIP2;2)^[39-40]和小麦 (TaNIP2;1)^[41]等单 子叶植物中被相继报道。不同植物种类硅含量存在 极显著差异,相较于单子叶植物而言,双子叶植物 体内积累更少的硅。研究发现,在水稻硅吸收缺陷 突变体 lsil 中异源表达黄瓜水通道基因 CsNIP2:1, 以及在黄瓜中超表达 CsNIP2;1,均显著增加了植株 体内硅浓度,这说明 CsNIP2;1 参与黄瓜根部硅吸 收^[42]。番茄硅转运蛋白 SINIP2:1 参与硅的吸收,但 是番茄并非喜硅植物, Sun 等[43]猜测番茄低硅积累特 征与硅外排转运基因 SILsi2 活性丧失有关。马铃薯 StNIP2;1几乎不转运硅,但是施加硅肥后增加了根 和叶片中 StNIP2;1 表达水平,这表明 StNIP2;1 可能 在应对非生物胁迫中发挥功能^[44]。拟南芥中不存在 Lsi1 同源基因, Montpetit^[41]等首次在拟南芥中组成型 表达小麦 TaNIP2;1 和水稻 OsNIP2;1, 显著增加了拟 南芥中硅积累, 但过多的硅对植物产生了毒害。然 而, 在拟南芥中采用 AtNIP5;1 根特异性启动子驱动 TaNIP2;1 表达后, 植株硅含量增加, 且长势正常^[41]。 这些研究表明硅转运蛋白基因在根中高表达时, 增 强了低硅积累植物根部的硅吸收能力, 使植株积 累更多的硅, 进而提高植株抵御外界各种胁迫的 能力。

硒是人类和动物必需微量营养元素之一,具有 增强免疫力并降低癌症风险的功能^[45]。硒在植物生 长中表现出双重作用,低浓度硒可以作为植物的有 益元素起作用,但硒浓度过高则对植株有毒^[46]。硒 酸盐和亚硒酸盐是植物吸收硒的主要形式,硒酸盐 通过硫酸盐转运蛋白运输,而亚硒酸盐通过磷酸盐 转运蛋白或水通道蛋白运输^[45]。Zhao等^[47]研究发现 *OsNIP2;1* 对亚硒酸具有渗透性,其突变体根中亚硒 酸盐浓度显著降低,说明 *OsNIP2;1* 参与亚硒酸吸 收。茶树具有较强的富硒能力, Ren 等^[48]通过转录组 和蛋白组分析发现,在亚硒酸盐处理下 *CsNIP2;1* 上 调表达,表明茶树 *CsNIP2;1* 基因在亚硒酸吸收方面 具有潜在功能。

砷是一种具有毒性和致癌性的类金属元素,可 以被植物吸收的砷包括砷酸盐 (As (V))、亚砷酸盐 (As (III)) 和甲基化砷 (MMA 和 DMA)3 种形式[49]。研 究发现,磷酸盐转运蛋白 (PHT) 介导植物吸收 As (V), 水通道蛋白参与亚砷酸 (H₃AsO₃) 和甲基化砷 的吸收和转运[50]。拟南芥9个NIPs成员中有6个 被证明能转运亚砷酸。AtNIP3;1^[51]及硼通道蛋白 AtNIP5;1、AtNIP6;1 和 AtNIP7;1 在酵母中[52-53]可以 双向运输亚砷酸, AtNIP1;1 和 AtNIP1;2 在爪蟾卵母 系统中^[53]具有亚砷酸转运活性。Kamiya 等^[54]研究表 明, AtNIP1;1参与根部亚砷酸吸收, nip1;1突变 体在亚砷酸盐处理下具有强耐受性,其根长是野生 型的3倍以上。Xu等[51]研究发现,在亚砷酸盐胁 迫下, nip3:1 突变体地上部长势显著优于其野生型。 nip1;1nip3;1 双突变体与其相对应的单突和野生型相 比,极大提高了植株对亚砷酸盐抵抗能力,表现出 更长的根系和长势更好的地上部[51]。AtNIP7:1 是亚 砷酸盐中等耐受基因,参与拟南芥根部亚砷酸吸 收[53]。As 和 Si 结构相似,因此硅酸转运蛋白亦可 运输亚砷酸。小麦 TaNIP2;1 在拟南芥中异源表达 后增加了植株对亚砷酸盐敏感性[55]。水稻根系通过

OsNIP2;1 吸收硅的同时也会导致亚砷酸流入根细胞,从而使籽粒砷污染水平增加^[56]。同时,OsNIP2;1 也介导亚砷酸的外排,但是仅占总砷外排的20%左 右^[57]。土壤中存在少量甲基化砷,OsNIP2;1 对于未 解离的甲基化砷也有吸收功能^[58]。水稻其它 NIPs 成 员,OsNIP1;1、OsNIP2;2、OsNIP3;1、OsNIP3;2和 OsNIP3;3 同样具有亚砷酸转运活性^[56,59-60]。敲除硼酸 通道 OsNIP3;1 不影响硼的累积及产量形成,但能减 少地上部砷含量^[61],这说明OsNIP3;1 是适合作物品 种改良并实现食品安全的潜在靶基因。

锑过量对植物有毒害作用,并对人体具有慢性 毒性和致癌性^[62]。锑(Sb)在土壤中有 Sb(III)和 Sb(V)两种无机形式,在中性条件下,Sb(III)主要 以H₃SbO₃分子形式存在,其结构和化学性质类似于 H₃AsO₃^[63]。因此,锑可以通过亚砷酸转运蛋白进入 植物体内。Kamiya等^[64]发现As转运基因*AtNIP1;1* 能运输锑,但*AtNIP1;2*和*AtNIP5;1*不转运锑,说明 NIPs基因在底物选择性上存在差异。Huang等^[65]研 究表明*OsNIP2;1*具有锑转运活性,参与根部锑吸 收,但是由于水稻体内缺少锑酸盐外排转运蛋白, 因此进入植物体内的Sb大部分被积累在根部外皮层 细胞中,向地上部转运过程被限制。

锗在自然界中是一种稀散的元素,难以形成单独矿床,通常需要依附在其它矿物中^[66]。Ge 作为 Si 的类似物,可用于鉴定硅吸收缺陷突变体^[67],锗的 同位素 (⁶⁸Ge) 和氧化锗 (GeO₂) 也可以用做硅的示踪剂^[68]。据报道,硅转运蛋白 OsNIP2;1 和 HvNIP2;1 及亚砷酸转运蛋白 OsNIP3;3 在异源表达系统中可以 介导锗的运输^[29,60]。锗在植物中的研究多数集中在生 理生化层面,而关于锗在植物中运输的分子机制尚 不明确,仍需深入研究。

铝在酸性 (pH < 5.5) 土壤上以有毒的 Al³⁺ 形式存 在,是作物生长的主要限制因子。铝毒使植物根系 严重受损,进而抑制水分和营养物质运输,为应对 铝胁迫,植物进化出了铝外排和内部铝耐受两种解 毒机制^[69]。水通道蛋白可以运输不带电的小分子物 质,而金属离子被螯合后也能被水通道蛋白家族基 因转运。AtNIP1;2 是定位在质膜上的铝双向通道蛋 白,特异性运输苹果酸-铝 (Al-Mal),介导根部 Al-Mal 吸收和木质部 Al-Mal 装载,在拟南芥内部解铝 毒机制中发挥功能^[70]。Wang 等^[71]研究发现,AtALMT1 在遗传途径上位于 AtNIP1;2 的上游,在铝胁迫条件 下,由 AtALMT1 介导的铝外排机制优先被激活,随 后由 AtNIP1;2 介导的内部铝耐受机制启动,两种机 制的协同作用极大地提高了植物铝毒抗性。最新研究表明,AtNIP1;1也可以运输Al-Mal,AtNIP1;1和 AtNIP1;2在铝毒条件下介导苹果酸的再利用,从而 节省植物体内碳源^[72]。OsNIP1;2编码的蛋白运输半 胱氨酸-铝(Al-Cys),是实现水稻内部铝毒抗性的关 键基因,其突变体根细胞壁积累大量铝,铝向地上 部的运输被阻断,降低了水稻对铝耐受性^[73]。Wang 等^[73]认为,OsNIP1;2是AtNIP1;2</sub>的同源基因,二者 含有相同的 ar/R 保守序列 (WVAR),但是 NPA 区存 在差异 (NPA/NPA; NPA/NPG),这可能是两个基因 在底物选择上存在偏好性的原因之一。

2.3 其他底物

水通道蛋白是一个具有底物多样性的转运蛋白,除了上述提到的水和类金属外,还可以运输过氧化氢、有机小分子化合物(尿素、甲酰胺、甘油和乳酸)及气体(NH₃)等,在植物的信号转导、营养物质吸收和生理代谢中发挥功能。

植物在遭受逆境胁迫时会产生过氧化氢 (H₂O₂) 等活性氧 (ROS),对植物生长具有正负两种效应,在 低浓度时可以作为信号分子起作用,但随着浓度的增 高会对细胞造成损伤甚至死亡^[74]。Sadhukhan 等^[75] 以相对根长为指标进行拟南芥全基因组关联分析 (GWAS),鉴定到一个 H₂O₂ 敏感基因 *AtNIP1;1*,其 突变体对 H₂O₂具有耐受性。草莓 FaNIP1;1 蛋白能够 运输 H₂O₂,在草莓成熟过程中参与果实的氧化应 激^[16]。研究报道,AtNIP4;1、AtNIP4;2、OsNIP3;2 和 OsNIP3;3 在酵母中均能转运 H₂O₂,它们可能在应 对植物氧化胁迫方面起作用^[18-19]。

尿素 (CH₄N₂O) 是广泛使用的酰胺态氮肥,也是 植物的氮代谢产物。土壤中的尿素分子可以直接被 植物根系吸收,也可以水解为铵或进一步硝化为硝 酸盐后进入植物体内^[76]。尿素的主动运输由高亲和尿 素转运蛋白 DUR3 介导,而 AQPs 参与尿素被动运 输过程^[76]。有研究表明,尿素与硼酸分子大小相近^[77], 因而很可能通过硼酸通道转运尿素。AtNIP5;1、 AtNIP6;1 和 AtNIP7;1 在卵母细胞中已被证明具有尿 素转运活性^[78, 79, 80]。甲酰胺 (CH₃NO) 和尿素结构相 似,AtNIP6;1 在卵母中也可以渗透甲酰胺^[79]。 AtNIP5;1 是缺硼条件下植物的主要尿素通道,参与 根部吸收尿素^[78]。然而,*AtNIP6;1* 基因在尿素处理 的幼苗转录组中显著下调表达,这说明*AtNIP6;1* 可 能在植物中对尿素的转运和分配贡献低^[78]。黄瓜 *CsNIP2;1* 促进尿素吸收,在根中受尿素诱导上调表 达^[81]。ZmNIP2;1 和 ZmNIP2;4 在酵母中运输尿素, 但其在玉米根部的表达量不受氮缺乏影响^[82]。此外, AtNIP4;1 和 OsNIP2;1 和在酵母中也具有尿素运输能 力,AtNIP4;1 还可以运输 NH₃,表明可能在植物氮 运输和代谢方面起作用^[19,14]。

甘油 (C₃H₈O₃) 具有渗透调节功能,也可以作为 植物的碳源起作用^[83-84]。AtNIP6;1、AtNIP7;1、 AtNIP4;1 和 AtNIP4;2 分别在卵母^[79]、脂质体^[30]和 酵母中^[19]被证明转运甘油。Zou 等^[85]研究发现光叶 百脉根 (*Lotus japonicus*) 与丛枝菌根真菌 (AMF) 相互 作用后,共生根中 *LjNIP1;5* 被显著上调表达,推测 LjNIP1;5 可能通过运输甘油为真菌提供碳源来促进 丛枝菌根的生长,同时真菌给寄主植物提供水分和 养分,增加植物抵抗逆境胁迫的能力。

随着洪涝灾害频繁发生,淹水胁迫成为制约植

物生长和存活的重要环境因素,其实质是水分过多导致氧气减少,使植物细胞的有氧呼吸被抑制,无 氧呼吸加强,进而产生乙醇、乙醛、乳酸等物质^[86]。 研究发现,AtNIP2;1可以运输不带电的质子化形式 乳酸(C₃H₆O₃),在转录水平上受涝水或缺氧胁迫显 著诱导^[87]。随后,Beamer等人^[88]证实,AtNIP2;1 是一个乳酸外排通道蛋白,在厌氧胁迫下,通过将 细胞质中的乳酸转运到质外体,最终排出到根际, 以使植物免受乳酸毒害,增强了植物在逆境下的存 活率。

综上所述,NIPs 作为植物水通道蛋白家族成员,并非狭义上仅能运输水的一类蛋白,其底物运输广泛,还可以转运类金属、过氧化氢、甘油、乳酸等物质,在调节植物生长发育及抵御逆境胁迫等方面发挥重要功能(表1)。

NIP亚族	蛋白名称	底物	功能	参考文献
NIP subfamily	Protein name	Substrate	Function	Reference
Ι	AtNIP1;1	H ₃ AsO ₃ ; H ₃ SbO ₃ ;	吸收; 响应氧化应激	[54, 64, 72, 75]
		H ₂ O ₂ ; Al-Mal	Uptake; Response to oxidative stress	
Ι	AtNIP1;2	Al-Mal; H ₃ AsO ₃	提高铝毒耐受性	[54, 70]
			Improve aluminum toxicity tolerance	
Ι	AtNIP2;1	$C_3H_6O_3$	介导乳酸外排	[87-88]
			Mediate lactic acid efflux	
Ι	AtNIP3;1	H ₃ AsO ₃	参与砷吸收和向地上部转运	[51]
			Involve in arsenite uptake and transport to shoot	
Ι	AtNIP4;1	H ₂ O; H ₂ O ₂ ; H ₃ BO ₃ ;	参与花粉发育和授粉过程	[19]
		CH ₄ N ₂ O; C ₃ H ₈ O ₃ ; NH ₃	Involve in pollen development and pollination	
Ι	AtNIP4;2	H ₂ O; H ₂ O ₂ ; C ₃ H ₈ O ₃	参与花粉管生长过程	[19]
			Involve in pollen tube growth	
Ι	OsNIP1;1	H ₃ AsO ₃ ; H ₂ O	抑制木质部装载砷	[18, 60]
			Inhibit xylem loading of arsenite	
Ι	OsNIP1;2	Al-Cys	介导内部解铝毒	[73]
			Mediate internal detoxification of aluminum	
Ι	FaNIP1;1	H ₂ O; H ₂ O ₂ ; H ₃ BO ₃	维持果实膨胀;响应氧化应激	[16]
			Maintain fruit expansion; Response to oxidative stress	
Ι	LjNIP1;5	$C_3H_8O_3$	响应干旱胁迫 Response to drought stress	[85]
Ι	CsNIP5;1	H_2O	调节柑橘水分平衡	[17]
			Regulate the water balance of <i>citrus</i>	
II	AtNIP5;1	H ₃ BO ₃ ; H ₃ AsO ₃ ; H ₂ O; CH ₄ N ₂ O	缺硼条件下参与硼和尿素吸收	[10, 52, 78]
			Participate in boron and urea absorption under	
			boron deficiency conditions	
II	AtNIP6;1	H_3BO_3 ; H_3AsO_3 ; CH_4N_2O ;	负责地上部硼转运和分配	[23, 52, 79]
		$C_3H_8O_3$; CH_3NO	Responsible for shoot boron transport and distribute	
11	AtNIP7;1	H_3BO_3 ; H_3AsO_3 ;	麥与化粉外壁友育	[30, 53, 80]
		$U_{14}N_2U$; $U_3H_8U_3$	Involve in polien outer wall development	500 (12
	OsNIP3;1	H_3BO_3 ; H_3AsO_3	转运和分配 Transport and distribute	[28, 61]

表 1 植物 NIPs 家族蛋白的运输底物和功能 Table 1 Substrate transport and function of NIPs family genes in plants

续表1 Table 1 continued

			天衣 1	ruble i continued
NIP亚族 NIP subfamily	蛋白名称 Protein name	底物 Substrate	功能 Function	参考文献 Reference
II	OsNIP3;2	H ₃ AsO ₃ ; H ₂ O ₂	参与侧根吸收砷 Participate in the absorption of a rsenite by lateral roots	[18, 59]
II	OsNIP3;3	$H_3AsO_3; H_2GeO_3; H_2O ; H_2O_2$	抑制木质部装载砷 Inhibit xylem loading of arsenite	[18, 60]
II	ZmNIP3;1	H ₃ BO ₃	调节花序发育 Regulate inflorescence development	[31]
Π	BnaA3.NIP5;1	H ₃ BO ₃	负责根尖硼吸收以促进根系伸长 Responsible for root tip uptake boron to promote root elongation	[26-27]
II	BnaA2.NIP5;1	H ₃ BO ₃	参与硼吸收和向地上部转运 Involve in boron uptake and transport to the shoot	[27]
II	BnaA2.NIP6;1a	H ₃ BO ₃	调节花器官发育 Regulate the development of flower organs	[32]
П	CmNIP5;1	H ₂ O	参与甜瓜开裂过程的水分运输 Involve in water transport during the cracking process of <i>Cucumis melo</i>	[15]
III	OsNIP2;1	H ₄ SiO ₄ ; H ₂ SeO ₃ ; H ₃ AsO ₃ ; H ₃ SbO ₃ ; H ₂ GeO ₃ ; H ₂ O; CH ₄ N ₂ O; MMA; DMA	吸收和外排 Uptake and efflux	[14, 18, 29, 34, 47, 56, 57, 58, 65]
III	OsNIP2;2	H ₄ SiO ₄ ; H ₃ AsO ₃	转运和分配 Transport and distribute	[35, 37, 56]
III	ZmNIP2;1	H ₄ SiO ₄ ; CH ₄ N ₂ O	吸收和转运 Uptake and transport	[38, 82]
III	ZmNIP2;2	H ₄ SiO ₄	木质部卸载硅 Unloading silicon from the xylem	[38]
III	ZmNIP2;4	CH ₄ N ₂ O	吸收和转运 Uptake and transport	[82]
III	HvNIP2;1	H ₄ SiO ₄ ; H ₃ BO ₃ ; H ₃ AsO ₃ ; H ₂ GeO ₃ ; H ₂ O	增强硼毒适应性; 介导硅吸收 Enhance boron toxicity adaptability; Mediate silicon uptake	[18, 29, 39]
III	HvNIP2;2	H ₄ SiO ₄ ; H ₂ O	参与硅吸收和转运 Involve in silicon uptake and transport	[18, 40]
III	TaNIP2;1	H ₄ SiO ₄ ; H ₃ AsO ₃	吸收和转运 Uptake and transport	[41, 55]
III	CsNIP2;1	H ₄ SiO ₄ ; CH ₄ N ₂ O	吸收 Uptake	[42, 81]
III	SINIP2;1	H ₄ SiO ₄	介导硅吸收 Mediate silicon absorption	[43]
III	StNIP2;1	H_4SiO_4	响应非生物胁迫信号 Response to abiotic stress signals	[44]
III	CmNIP2;2	H ₂ O	参与甜瓜开裂过程的水分运输 Involve in water transport during the cracking process of <i>Cucumis melo</i>	[15]
III	CsNIP2;1	H ₂ SeO ₃	介导茶树吸收硒 Mediate the uptake of selenium in Camellia sinensis	[48]

注: At---拟南芥; Os--水稻; Zm--玉米; Hv--大麦; Ta--小麦; Bna--甘蓝型油菜; Fa--草莓; Cm--甜瓜; Cs--柑橘、黄瓜、茶树; Sl--番茄; St--马铃薯; Lj--光叶百脉根。

Note: At— Arabidopsis thaliana; Zm—Zea mays; Hv—Hordeum vulgare; Ta—Triticum aestivum; Bna—Brassica napus; Fa—Fragaria ananassa; Cm—Cucumis melo; Cs—Citrus, Cucumis sativus, Camellia sinensis; Sl—Solanum lycopersicum; St—Solanum tuberosum; Lj—Lotus japonicus.

3 植物 NIPs 调控机制

NIPs 蛋白在植物中丰度和活性受多种机制严格

调节,主要包括转录调控、翻译后修饰、蛋白质寡 聚化和门控机制等。明确 NIPs 调控机制,对于理解 NIPs 基因在植物中特异性表达及发挥的功能具有重 要意义。

3.1 转录调控

转录调控是基因表达的关键步骤,但调节速度 相对缓慢。NIPs 基因在转录水平上的调控与逆境 胁迫、植物器官和发育阶段紧密相关,已被大量文 献报道。转录因子作为一种重要的调控因子,可以 与 NIPs 启动子区结合以激活或抑制基因表达。在 缺硼条件下,NGAL1转录因子正向调控硼运输基因 AtNIP5;1、AtNIP6;1、AtNIP7;1 和 AtBOR1 表达上 调,而在高硼条件下 AtBOR4 被诱导表达,这表明 NGAL1 在调节植物体内硼稳态方面发挥作用^[89]。 BnaA9.WRKY47 转录因子可以与 BnaA03.NIP5;1 的启 动子直接结合并激活其表达,正向调控甘蓝型油菜 对低硼胁迫的适应性^[90]。CsWRKY4 激活 CsNIP5:1 表达, CsWRKY28 则抑制 CsNIP5:1 表达, 可能在 柑橘采后贮藏期间的水分平衡和衰老过程起作用啊。 OsARM1 是 R2R3 型 MYB 转录因子,通过负调控 As 转运基因 OsNIP2:1、OsNIP2:2 和 OsLsi2 表达来 调节水稻 As 的吸收和转运^[92]。DNA 甲基化属于表观 遗传学调控机制,通常会抑制基因的转录^[93]。AtVIM1 作为 DNA 甲基化调节因子,通过增强 AtNIP3;1 启 动子中 CpG 位点的甲基化水平来降低其表达量,以 减少根部亚砷酸吸收和向地上部的转运,提高植株 对亚砷酸抗性[94]。

3.2 翻译后修饰

蛋白质翻译后修饰包括磷酸化、甲基化、泛素 化和糖基化等过程^[95]。磷酸化是 NIPs 蛋白最常见的 一种修饰,研究发现,在 NIPs 氨基末端或羧基末端 上存在保守的磷酸化位点,可以被蛋白激酶磷酸化 来调节其活性^[12]。AtNIP7;1、AtNIP4;1 和 AtNIP4;2 的 C 末端在体外分别被 AtMPK4 和 AtCPK34 磷酸 化^[12,19]。Wang 等^[96]研究揭示 AtNIP5;1 在质膜上的极 性定位依赖于 N 末端三个 TPG (Thr-Pro-Gly) 序列中 Thr 残基的磷酸化,并且这种极性定位的稳定性需要 由网格蛋白所介导的内吞作用来维持。

3.3 蛋白质寡聚化

蛋白质很少单独起作用,通常与其它蛋白质相 互结合形成多亚基复合物来行使生物学功能。据报 道,水通道蛋白多以同源四聚体形式存在,有时也 形成异源四聚体,与蛋白的亚细胞定位和底物运输 活性相关。例如,水通道蛋白亚族 PIP1s 单独表达时 无活性,与 PIP2s 相互作用可以使其亚细胞定位发生 变化,以调控蛋白功能^[97]。Zhang 等^[17]研究发现, CsNIP5;1 与 PIPs 互作后使其从质膜定位改变为"甜 甜圈"状结构,增强了柑橘抵御渗透压和抗水分流 失的能力。此外,NIPs 还可以与其它蛋白质进行 物理相互作用。AtNIP1;1 在酵母中定位在质膜和内 质网上^[72]。研究揭示,AtCPK31 与 AtNIP1;1 在细 胞质膜上互作,正向调节拟南芥根系亚砷酸吸收^[98]。 AtSYP51 与定位在内质网上的 AtNIP1;1 相互作用, 影响了植株体内亚砷酸积累^[99]。

3.4 门控机制

门控机制受 pH 值、磷酸化、蛋白质间相互作用 等因子调节,是一种快速调控方式,可以直接操控 植物水通道蛋白孔道的开和关,调节底物跨膜运输 过程。Li等研究发现^[80],AtNIP7;1的硼酸转运活性 受 H2 上保守酪氨酸残基 (Tyr81)调节,Tyr81 与 Arg220 互作使孔道闭合,当用 Cys 取代 Tyr81 后, 孔道则打开,在花粉发育过程中充当门控硼酸通道。

4 总结与展望

自 1993 年发现第一个植物水通道蛋白以来,越 来越多的水通道蛋白家族成员在不同植物物种中被 挖掘和鉴定。NIPs 作为水通道蛋白家族一类仅在植 物中存在的亚族,具有广泛的底物选择性和功能 多样性(图 2)。AtNIP4:1、AtNIP4:2、AtNIP7:1、 ZmNIP3;1 和 BnaA2.NIP6;1a 是影响植株育性的关键 基因; FaNIP1;1、CmNIP2;2、CmNIP5;1 和 CsNIP5;1 是维持果实水分稳态的关键基因;单子叶植物 NIP2;1 和 NIP2;2 主要介导硅运输,是提高植株非生物胁迫 适应性的重要基因; AtNIP2;1 是缺氧时增加植物存 活率的关键基因; LjNIP5;1 在与微生物 AMF 建立共 生关系中起作用; AtNIP6;1 和 OsNIP3;1, AtNIP5;1、 BnaA2.NIP5;1 和 BnaA3.NIP5;1 分别是低硼条件下维 持地上部和根系正常生长的重要基因; AtNIP1;2 和 OsNIP1;2 是内部解铝毒的关键基因; AtNIP1;1 和 OsNIP3;2 是亚砷酸吸收的基因, AtNIP3;1、OsNIP1;1、 OsNIP3:1和 OsNIP3:3 是亚砷酸转运的关键基因,在 抑制亚砷酸向地上部运输并减少籽粒亚砷酸积累中 发挥功能。总的来说,植物 NIPs 基因通过吸收、转 运、分配和外排多种物质,以提高植株在复杂生长 环境中的适应性。因此,可将 NIPs 作为培育高抗逆 性作物的潜在功能基因,利用分子生物学技术对候 选基因进行敲除或超表达,能够有效增加必需营养 元素或有益元素的吸收,降低有毒元素在体内积累, 进而保障食品安全和人体健康。关于 NIPs 底物运输





方面,尽管已经在酵母和卵母异源表达体系中明确 一个基因可以运输多个底物,但是所转运的这些底 物在植物中是否都具有功能,参与何种生理过程仍 有很多未知之处,未来需要继续研究并完善其在植 物中的作用。此外,相较于其它水通道蛋白, NIPs 在植物中的表达量较低,并且存在器官、组织和细 胞特异性[12],其表达调控机制复杂,受到转录水平、 翻译后水平、蛋白质与蛋白质相互作用和门控等机 制的严格调节。目前,与 NIPs 表达调控机制有关的 研究偏少,且现有的研究更多集中在转录水平上, 而在蛋白层面上的机制仍需深入挖掘。未来可利用 多种组学联合生物信息学技术进一步探究 NIPs 调控 网络,并通过结构生物学等技术深入解析 NIPs 蛋白 结构和功能位点,这对于系统认识 NIPs 在植物整个 生命周期中所发挥的功能具有重要意义,同时也为 作物育种提供了理论参考和基因资源。

参考文献:

- Maurel C, Boursiac Y, Luu D T, *et al*. Aquaporins in plants[J]. Physiological Reviews, 2015, 95(4): 1321–1358.
- [2] Denker B M, Smith B L, Kuhajda F P, Agre P. Identification,

purification, and partial characterization of a novel Mr 28, 000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules[J]. Journal of Biological Chemistry, 1988, 263(30): 15634–15642.

- [3] Preston G M, Carroll T P, Guggino W B, Agre P. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein[J]. Science, 1992, 256(5055): 385–387.
- [4] Maurel C, Reizer J, Schroeder J I, Chrispeels M J. The vacuolar membrane protein gamma-TIP creates water specific channels in *Xenopus* oocytes[J]. The EMBO Journal, 1993, 12(6): 2241–2247.
- [5] Danielson J Å H, Johanson U. Unexpected complexity of the aquaporin gene family in the moss *Physcomitrella patens*[J]. BMC Plant Biology, 2008, 8: 45.
- [6] Li G W, Santoni V, Maurel C. Plant aquaporins: roles in plant physiology[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2014, 1840(5): 1574–1582.
- [7] Wallace I S, Roberts D M. Homology modeling of representative subfamilies of *Arabidopsis* major intrinsic proteins. Classification based on the aromatic/arginine selectivity filter[J]. Plant Physiology, 2004, 135(2): 1059–1068.
- [8] Pommerrenig B, Diehn T A, Bernhardt N, et al. Functional evolution of nodulin 26-like intrinsic proteins: From bacterial arsenic detoxification to plant nutrient transport[J]. New Phytologist, 2020, 225(3): 1383– 1396.
- [9] Mizutani M, Watanabe S, Nakagawa T, Maeshima M. Aquaporin NIP2;1 is mainly localized to the ER membrane and shows root-

specific accumulation in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant & Cell Physiology, 2006, 47(10): 1420–1426.

- [10] Takano J, Wada M, Ludewig U, et al. The Arabidopsis major intrinsic protein NIP5;1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation[J]. The Plant Cell, 2006, 18(6): 1498–1509.
- [11] Gonen T, Walz T. The structure of aquaporins[J]. Quarterly reviews of biophysics, 2006, 39(4): 361–396.
- [12] Wallace I S, Choi W G, Roberts D M. The structure, function and regulation of the nodulin 26-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporins[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2006, 1758(8): 1165–1175.
- [13] Mitani-Ueno N, Yamaji N, Zhao F J, Ma J F. The aromatic/arginine selectivity filter of NIP aquaporins plays a critical role in substrate selectivity for silicon, boron and arsenic[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(12): 4391–4398.
- [14] Mitani N, Yamaji N, Ma J F. Characterization of substrate specificity of a rice silicon transporter, Lsi1[J]. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology, 2008, 456(4): 679–686.
- [15] Lopez-Zaplana A, Bárzana G, Ding L, et al. Aquaporins involvement in the regulation of melon (*Cucumis melo* L.) fruit cracking under different nutrient (Ca, B and Zn) treatments[J]. Environmental and Experimental Botany, 2022, 201: 104981.
- [16] Molina-Hidalgo F J, Medina-Puche L, Gelis S, *et al*. Functional characterization of FaNIP1;1 gene, a ripening-related and receptaclespecific aquaporin in strawberry fruit[J]. Plant Science, 2015, 238: 198–211.
- [17] Zhang M F, Liu R L, Liu H, *et al.* Citrus NIP5;1 aquaporin regulates cell membrane water permeability and alters PIPs plasma membrane localization[J]. Plant Molecular Biology, 2021, 106(4–5): 449–462.
- [18] Katsuhara M, Sasano S, Horie T, et al. Functional and molecular characteristics of rice and barley NIP aquaporins transporting water, hydrogen peroxide and arsenite[J]. Plant Biotechnology, 2014, 31(3): 213–219.
- [19] Di Giorgio J A, Bienert G P, Ayub N D, et al. Pollen-specific aquaporins NIP4;1 and NIP4;2 are required for pollen development and pollination in *Arabidopsis thaliana*[J]. The Plant Cell, 2016, 28(5): 1053–1077.
- [20] Funakawa H, Miwa K. Synthesis of borate cross-linked rhamnogalacturonan II[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 223.
- [21] 姜哲轩, 徐芳森. 植物硼营养高效的分子调控途径[J]. 华中农业大 学学报, 2023, 42(6): 43-49.
 Jiang Z X, Xu F S. Molecular regulatory pathways for boron efficiency in plants[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2023, 42(6): 43-49.
- [22] Takano J, Tanaka M, Toyoda A, et al. Polar localization and degradation of Arabidopsis boron transporters through distinct trafficking pathways[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(11): 5220–5225.
- [23] Tanaka M, Wallace I S, Takano J, et al. NIP6;1 is a boric acid channel for preferential transport of boron to growing shoot tissues in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2008, 20(10): 2860–2875.

- [24] Zhang D D, Hua Y P, Wang X H, et al. High-density genetic map identifies a novel major QTL for boron efficiency in oilseed rape (*Brassica napus* L.)[J]. PloS One, 2017, 9(11): e112089.
- [25] Hua Y P, Zhang D D, Zhou T, et al. Transcriptomics-assisted quantitative trait locus fine mapping for the rapid identification of a nodulin 26-like intrinsic protein gene regulating boron efficiency in allotetraploid rapeseed [J]. Plant, Cell & Environment, 2016, 39(7): 1601–1618.
- [26] He M L, Wang S L, Zhang C, et al. Genetic variation of BnaA3. NIP5; 1 expressing in the lateral root cap contributes to boron deficiency tolerance in Brassica napus[J]. PloS Genetics, 2021, 17(7): e1009661.
- [27] He M L, Zhang C, Chu L Y, et al. Specific and multiple-target gene silencing reveals function diversity of BnaA2. NIP5;1 and BnaA3. NIP5;1 in Brassica napus[J]. Plant, Cell & Environment, 2021, 44(9): 3184–3194.
- [28] Shao J F, Yamaji N, Liu X W, *et al.* Preferential distribution of boron to developing tissues is mediated by the intrinsic protein OsNIP3[J]. Plant Physiology, 2018, 176(2): 1739–1750.
- [29] Schnurbusch T, Hayes J, Hrmova M, et al. Boron toxicity tolerance in barley through reduced expression of the multifunctional aquaporin HvNIP2;1[J]. Plant Physiology, 2010, 153(4): 1706–1715.
- [30] Routray P, Li T, Yamasaki A, *et al.* Nodulin intrinsic protein 7;1 is a tapetal boric acid channel involved in pollen cell wall formation[J]. Plant Physiology, 2018, 178(3): 1269–1283.
- [31] Leonard A, Holloway B, Guo M, et al. tassel-less1 encodes a boron channel protein required for inflorescence development in maize[J]. Plant & Cell Physiology, 2014, 55(6): 1044–1054.
- [32] Song G, Li X P, Munir R, et al. BnaA02. NIP6;1a encodes a boron transporter required for plant development under boron deficiency in *Brassica napus*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 161: 36–45.
- [33] Debona D, Rodrigues F A, Datnoff L E. Silicon' s role in abiotic and biotic plant stresses[J]. Annual Review of Phytopathology, 2017, 55: 85–107.
- [34] Ma J F, Tamai K, Yamaji N, et al. A silicon transporter in rice[J]. Nature, 2006, 440(7084): 688–691.
- [35] Yamaji N, Mitatni N, Ma J F. A transporter regulating silicon distribution in rice shoots[J]. The Plant Cell, 2008, 20(5): 1381–1389.
- [36] Yamaji N, Ma J F. A transporter at the node responsible for intervascular transfer of silicon in rice[J]. The Plant Cell, 2009, 21(9): 2878–2883.
- [37] Yamaji N, Sakurai G, Mitani-Ueno N, Ma J F. Orchestration of three transporters and distinct vascular structures in node for intervascular transfer of silicon in rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(36): 11401– 11406.
- [38] Mitani N, Yamaji N, Ma J F. Identification of maize silicon influx transporters[J]. Plant & Cell Physiology, 2009, 50(1): 5–12.
- [39] Chiba Y, Mitani N, Yamaji N, Ma J F. HvLsi1 is a silicon influx transporter in barley[J]. The Plant Journal, 2009, 57(5): 810–818.
- [40] Yamaji N, Chiba Y, Mitani-Ueno N, Ma J F. Functional characterization of a silicon transporter gene implicated in silicon

distribution in barley[J]. Plant Physiology, 2012, 160(3): 1491-1497.

- [41] Montpetit J, Vivancos J, Mitani-Ueno N, et al. Cloning, functional characterization and heterologous expression of *TaLsi1*, a wheat silicon transporter gene[J]. Plant Molecular Biology, 2012, 79(1-2): 35–46.
- [42] Sun H, Guo J, Duan Y K, et al. Isolation and functional characterization of CsLsil, a silicon transporter gene in Cucumis sativus[J]. Physiologia Plantarum, 2017, 159(2): 201–214.
- [43] Sun H, Duan Y K, Mitani-Ueno N, et al. Tomato roots have a functional silicon influx transporter but not a functional silicon efflux transporter[J]. Plant, Cell & Environment, 2020, 43(3): 732–744.
- [44] Vulavala V K R, Elbaum R, Yermiyahu U, *et al.* Silicon fertilization of potato: expression of putative transporters and tuber skin quality
 [J]. Planta, 2016, 243(1): 217–229.
- [45] Zhang L H, Chu C C. Selenium uptake, transport, metabolism, reutilization and biofortification in rice[J]. Rice, 2022, 15(1): 30.
- [46] Feng R W, Wei C Y, Tu S X. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses[J]. Environmental and Experimental Botany, 2013, 87: 58–68.
- [47] Zhao X Q, Mitani N, Yamaji N, *et al.* Involvement of silicon influx transporter OsNIP2;1 in selenite uptake in rice[J]. Plant Physiology, 2010, 153(4): 1871–1877.
- [48] Ren H Z, Li X M, Guo L N, *et al.* Integrative transcriptome and proteome analysis reveals the absorption and metabolism of selenium in tea plants[*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze][J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 848349.
- [49] Bali A S, Sidhu G P S. Arsenic acquisition, toxicity and tolerance in plants-from physiology to remediation: A review[J]. Chemosphere, 2021, 283: 131050.
- [50] Li N N, Wang J C, Song W Y. Arsenic uptake and translocation in plants[J]. Plant & Cell Physiology, 2016, 57(1): 4–13.
- [51] Xu W Z, Dai W T, Yan H L, et al. Arabidopsis NIP3;1 plays an important role in arsenic uptake and root-to-shoot translocation under arsenite stress conditions[J]. Molecular Plant, 2015, 8(5): 722–733.
- [52] Bienert G P, Thorsen M, Schüssler MD, et al. A subgroup of plant aquaporins facilitate the bi-directional diffusion of As(OH)₃ and Sb(OH)₃ across membranes[J]. BMC Biology, 2008, 6: 26.
- [53] Isayenkov S V, Maathuis F J M. The Arabidopsis thaliana aquaglyceroporin AtNIP7;1 is a pathway for arsenite uptake[J]. Federation of European Biochemical Societies (FEBS) Letters, 2008, 582(11): 1625–1628.
- [54] Kamiya T, Tanaka M, Mitani N, et al. NIP1;1, an aquaporin homolog, determines the arsenite sensitivity of Arabidopsis thaliana[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(4): 2114–2120.
- [55] Wang C F, Zhang Y F, Liu Y P, et al. Ectopic expression of wheat aquaglyceroporin TaNIP2;1 alters arsenic accumulation and tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 205: 111131.
- [56] Ma J F, Yamaji N, Mitani N, et al. Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(29): 9931–9935.

- [57] Zhao F J, Ago Y, Mitani N, *et al.* The role of the rice aquaporin Lsi1 in arsenite efflux from roots[J]. New Phytologist, 2010, 186(2): 392–399.
- [58] Li R Y, Ago Y, Liu W J, et al. The rice aquaporin Lsi1 mediates uptake of methylated arsenic species[J]. Plant Physiology, 2009, 150(4): 2071–2080.
- [59] Chen Y, Sun S K, Tang Z, et al. The Nodulin 26-like intrinsic membrane protein OsNIP3;2 is involved in arsenite uptake by lateral roots in rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(11): 3007–3016.
- [60] Sun S K, Chen Y, Chen J, et al. Decreasing arsenic accumulation in rice by overexpressing OsNIP1;1 and OsNIP3;3 through disrupting arsenite radial transport in roots[J]. New Phytologist, 2018, 219(2): 641–653.
- [61] Singh P, Kumar A, Singh T, et al. Targeting OsNIP3;1 via CRISPR/Cas9: A strategy for minimizing arsenic accumulation and boosting rice resilience[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 471: 134325.
- [62] 何孟常,万红艳.环境中锑的分布、存在形态及毒性和生物有效性
 [J]. 化学进展, 2004, (1): 131–135.
 He M C, Wan H Y. Distribution, speciation, toxicity and bioavailability of antimony in the environment[J]. Progress in Chemistry, 2004, (1): 131–135.
- [63] Ren J H, Ma L Q, Sun H J, et al. Antimony uptake, translocation and speciation in rice plants exposed to antimonite and antimonate[J]. Science of the Total Environment, 2014, 475: 83–89.
- [64] Kamiya T, Fujiwara T. Arabidopsis NIP1;1 transports antimonite and determines antimonite sensitivity[J]. Plant & Cell Physiology, 2009, 50(11): 1977–1981.
- [65] Huang H L, Yamaji N, Ma J F. Tissue-specific deposition, speciation and transport of antimony in rice[J]. Plant Physiology, 2024, 195(4): 2683–2693.
- [66] Höll R, Kling M, Schroll E. Metallogenesis of germanium-A review[J]. Ore Geology Reviews, 2005, 30(3): 145–180.
- [67] Ma J F, Tamai K, Ichii M, Wu G F. A rice mutant defective in Si uptake[J]. Plant Physiology, 2002, 130(4): 2111–2117.
- [68] Nikolic M, Nikolic N, Liang Y C, et al. Germanium-68 as an adequate tracer for silicon transport in plants. Characterization of silicon uptake in different crop species[J]. Plant Physiology, 2007, 143(1): 495–503.
- [69] Singh S, Tripathi D K, Singh S, et al. Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: A review[J]. Environmental and Experimental Botany, 2017, 137: 177–193.
- [70] Wang Y Q, Li R H, Li D M, et al. NIP1;2 is a plasma membranelocalized transporter mediating aluminum uptake, translocation and tolerance in *Arabidopsis*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2017, 114(19): 5047–5052.
- [71] Wang Y Q, Yu W C, Cao Y, et al. An exclusion mechanism is epistatic to an internal detoxification mechanism in aluminum resistance in Arabidopsis[J]. BMC plant biology, 2020, 20(1): 122.
- [72] Fan N, Li X B, Xie W X, et al. Modulation of external and internal aluminum resistance by ALS3-dependent STAR1-mediated promotion of STOP1 degradation[J]. New Phytologist, 2024, 244(2): 511–527.

- [73] Wang Y Q, Yang S H, Li C N, *et al.* The plasma membrane-localized OsNIP1;2 mediates internal aluminum detoxification in rice[J].
 Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 970270.
- [74] 李格, 孟小庆, 蔡敬, 等. 活性氧在植物非生物胁迫响应中功能的研究进展[J]. 植物生理学报, 2018, 54(6): 951-959.
 Li G, Meng X Q, Cai J, *et al.* Advances in the function of reactive oxygen species in plant responses to abiotic stresses[J]. Plant Physiology Journal, 2018, 54(6): 951-959.
- Sadhukhan A, Kobayashi Y, Nakano Y, et al. Genome-wide association study reveals that the aquaporin NIP1;1 contributes to variation in hydrogen peroxide sensitivity in *Arabidopsis thaliana*[J]. Molecular Plant, 2017, 10(8): 1082–1094.
- [76] Witte C P. Urea metabolism in plants[J]. Plant Science, 2011, 180(3): 431–438.
- [77] Dordas C, Chrispeels M J, Brown P H. Permeability and channelmediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots[J]. Plant Physiology, 2000, 124(3): 1349–1362.
- [78] Yang H Y, Menz J, Häussermann I, et al. High and low affinity urea root uptake: involvement of NIP5;1[J]. Plant & Cell Physiology, 2015, 56(8): 1588–1597.
- [79] Wallace I S, Roberts D M. Distinct transport selectivity of two structural subclasses of the nodulin-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporin channels[J]. Biochemistry, 2005, 44(51): 16826–16834.
- [80] Li T, Choi W G, Wallace I S, et al. Arabidopsis thaliana NIP7;1: an anther-specific boric acid transporter of the aquaporin superfamily regulated by an unusual tyrosine in helix 2 of the transport pore[J]. Biochemistry, 2011, 50(31): 6633–6641.
- [81] Zhang L, Yan J P, Vatamaniuk O K, Du X G. CsNIP2;1 is a plasma membrane transporter from *Cucumis sativus* that facilitates urea uptake when expressed in saccharomyces cerevisiae and *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant & Cell Physiology, 2016, 57(3): 616–629.
- [82] Gu R L, Chen X L, Zhou Y L, Yuan L X. Isolation and characterization of three maize aquaporin genes, ZmNIP2;1, ZmNIP2;4 and ZmTIP4;4 involved in urea transport[J]. BMB Reports, 2012, 45(2): 96–101.
- [83] Hasegawa P M, Bressan R A, Zhu J K, Bohnert H J. Plant cellular and molecular responses to high salinity[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 2000, 51: 463–499.
- [84] Aubert S, Gout E, Bligny R, Douce R. Multiple effects of glycerol on plant cell metabolism. Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance studies[J]. Journal of Biological Chemistry, 1994, 269(34): 21420– 21427.
- [85] Zou R F, Zhou J, Cheng B J, et al. Aquaporin LjNIP1;5 positively modulates drought tolerance by promoting arbuscular mycorrhizal symbiosis in Lotus japonicus[J]. Plant Science, 2024, 342: 112036.
- [86] 赵婷,李琴,潘学军,等. 陆生植物对淹水胁迫的适应机制[J]. 植物 生理学报, 2021, 57(11): 2091-2103.
 Zhao T, Li Q, Pan X J, *et al.* Adaptive mechanism of terrestrial plants to waterlogging stress[J]. Plant Physiology Journal, 2021, 57(11):

2091-2103.

- [87] Choi W G, Roberts D M. Arabidopsis NIP2;1, a major intrinsic protein transporter of lactic acid induced by anoxic stress[J]. Journal of Biological Chemistry, 2007, 282(33): 24209–24218.
- [88] Beamer Z G, Routray P, Choi W G, et al. Aquaporin family lactic acid channel NIP2;1 promotes plant survival under low oxygen stress in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2021, 187(4): 2262–2278.
- [89] Tsednee M, Tanaka M, Giehl R F, et al. Involvement of NGATHA-Like 1 transcription factor in boron transport under low and high boron conditions[J]. Plant & Cell Physiology, 2022, 63(9): 1242– 1252.
- [90] Feng Y N, Cui R, Wang S L, et al. Transcription factor BnaA9. WRKY47 contributes to the adaptation of *Brassica napus* to low boron stress by up-regulating the boric acid channel gene *BnaA3*. *NIP5;1*[J]. Plant Biotechnology Journal, 2020, 18(5): 1241–1254.
- [91] Zhang M F, Zhu Y F, Yang H B, et al. CsNIP5;1 acts as a multifunctional regulator to confer water loss tolerance in citrus fruit[J]. Plant Science, 2022, 316: 111150.
- [92] Wang F Z, Chen M X, Yu L J, et al. OsARM1, an R2R3 MYB transcription factor, is involved in regulation of the response to arsenic stress in rice[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1868.
- [93] 赵云雷, 叶武威, 王俊娟, 等. DNA甲基化与植物抗逆性研究进展
 [J]. 西北植物学报, 2009, 29(7): 1479–1489.
 Zhao Y L, Ye W W, Wang J J, *et al.* Review of DNA methylation and plant stress-tolerance[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2009, 29(7): 1479–1489.
- [94] Bahmani R, Modareszadeh M, Kim D G, Hwang S. Methylcytosinebinding protein VIM1 decreases As(III) accumulation by epigenetic downregulation of the As(III) importer *NIP3;1* in *Arabidopsis*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 441: 129987.
- [95] 刘静, 李亚超, 周梦岩, 等. 植物蛋白质翻译后修饰组学研究进展
 [J]. 生物技术通报, 2021, 37(1): 67-76.
 Liu J, Li Y C, Zhou M Y, *et al.* Advances in the studies of plant protein post-translational modification[J]. Biotechnology Bulletin, 2021, 37(1): 67-76.
- [96] Wang S L, Yoshinari A, Shimada T, et al. Polar localization of the NIP5;1 boric acid channel is maintained by endocytosis and facilitates boron transport in *Arabidopsis* roots[J]. The Plant Cell, 2017, 29(4): 824–842.
- [97] Berny M C, Gilis D, Rooman M, Chaumont F. Single mutations in the transmembrane domains of maize plasma membrane aquaporins affect the activity of monomers within a heterotetramer[J]. Molecular Plant, 2016, 9(7): 986–1003.
- [98] Ji R J, Zhou L M, Liu J L, et al. Calcium-dependent protein kinase CPK31 interacts with arsenic transporter AtNIP1;1 and regulates arsenite uptake in Arabidopsis thaliana[J]. PloS One, 2017, 12(3): e0173681.
- [99] Barozzi F, Papadia P, Stefano G, et al. Variation in membrane trafficking linked to SNARE AtSYP51 interaction with aquaporin NIP1;1[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 9: 1949.