

液泡膜阳离子转运蛋白在植物抗逆过程中的功能研究进展

高天歌, 马翠敏, 王锁民*

(兰州大学草地农业科技学院, 草业科学国家级实验教学示范中心, 兰州大学农业农村部草牧业创新重点实验室, 甘肃兰州 730000)

摘要 液泡是细胞内一种可以储存多种营养物质以及代谢产物的细胞器。为了抵御高盐、干旱和重金属毒害等非生物胁迫, 植物可以通过将细胞质中过量积累的 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 和其他金属阳离子区域化至液泡中, 以此来维持正常的细胞膨压并提高植物的抗逆性。液泡膜阳离子转运蛋白种类丰富, 能够调控细胞中不同无机离子的转运和区域化。鉴于此, 对定位于液泡膜的不同阳离子转运蛋白在植物响应逆境胁迫中的作用进行了简要概述。

关键词 液泡膜转运蛋白; 阳离子; 抗逆性; 功能

中图分类号 Q945 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)21-0001-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.21.001

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Research Progress of the Roles of Tonoplast Cation Transporters in Stress Tolerance of Plants

GAO Tian-ge, MA Cui-min, WANG Suo-min (College of Pastoral Agriculture Science and Technology, National Demonstration Center for Experimental Grassland Science Education, Key Laboratory of Grassland Livestock Industry Innovation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000)

Abstract Vacuole is a kind of organelles that can store a variety of nutrients and metabolites in cells. In order to resist the harsh environments such as salinization, drought and heavy metal pollution, plants can change the turgor and improve its stress resistance by compartmentalizing the excess ions, such as Na^+ , K^+ , Ca^{2+} and other metal cations, in the cytoplasm into vacuoles. There are many tonoplast cation transporters regulated the transport and compartmentalization of different ions. In view of this, we mainly summarized the roles of different tonoplast cation transporters in plants responding to stresses in this review.

Key words Tonoplast transporters; Cation; Stress tolerance; Function

逆境胁迫是对植物生长发育造成不利影响的各种环境因素的总称, 可分为生物胁迫和非生物胁迫^[1]。其中, 非生物胁迫是限制农作物产量和野生植物物种分布的主要因素, 包括干旱、土壤盐渍化、低温、高温以及重金属毒害等^[2]。在长期的进化过程中, 植物形成了各种响应机制来抵御非生物胁迫, 其中一种有效的应对策略是植物细胞通过将细胞质中过量的离子区域化至液泡中来维持其正常的膨压, 从而提高植物的抗逆性^[3-4]。在此过程中, 定位于液泡膜上的负责调控胞内物质特异性识别和运输的转运蛋白发挥了重要的作用^[5-6]。根据结构与作用机制的不同, 大致将其分为3类: 质子泵、通道蛋白以及共转运蛋白^[7]。近年来, 有关定位于液泡膜的各类阳离子共转运蛋白的结构和功能的研究受到了众多学者的广泛关注, 且研究多集中于调控 Na^+ 、 K^+ 区域化的液泡膜 Na^+ /H⁺ 逆向转运蛋白 (tonoplast Na^+ /H⁺ antiporter, NHX)、调控 Ca^{2+} 区域化的液泡膜 Ca^{2+} /H⁺ 反向转运蛋白 (Ca^{2+} /H⁺ exchanger, CAX) 以及部分负责转运 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Fe^{2+} 等金属阳离子的转运蛋白。鉴于此, 笔者重点对上述几类液泡膜阳离子转运蛋白的结构及其在植物抗逆过程中的作用进行概述, 以期为进一步研究植物的抗逆机理以及提高农作物和优良牧草的抗逆性提供借鉴。

1 植物液泡膜 Na^+ /H⁺ 逆向转运蛋白 (NHX)

钠(Na)是地壳中含量排名第六的元素, 约占其总量的

2.8%, 同时也是海水中含量仅次于氯(Cl)的第二大元素^[8]。Na在植物的生命活动过程中起到了重要作用, 作为一种有益元素, 其主要以 Na^+ 形式被吸收^[9]。对于大多数植物而言, 低浓度的 Na^+ 可以促进其生长, 减轻植物由于营养不良而产生的症状, 甚至适量的 Na^+ 还可以改善作物的品质与口感^[10-11]。然而, 在高盐条件下, 土壤中过量的 Na^+ 则会导致大多数陆生植物的生命活动受到抑制, 表现出中度甚至重度的 Na^+ 毒害症状^[12]。而 NHX 作为一种重要的耐盐决定因子, 可以介导细胞质中过多的 Na^+ 、 K^+ 区域化至液泡作为廉价的渗透调节物质, 同时减少过量的 Na^+ 对细胞质中的代谢活动产生毒害作用^[13], 从而在调节细胞渗透势与维持膨压, 促进植株吸水以及提高植物耐盐、抗旱性等方面发挥十分重要的作用^[14]。

1.1 NHX 的结构 在高等植物中, 最早是在红甜菜 (*Beta vulgaris*) 贮藏组织的液泡膜上检测到了 Na^+ /H⁺ 转运活性^[15]。之后, Gaxiola 等^[16] 首次从拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中克隆出了液泡膜 Na^+ /H⁺ 逆向转运蛋白基因 *AtNHX1*。自此, 人们对于高等植物 NHXs 的研究也逐渐展开。目前, 研究者分别从小麦 (*Triticum aestivum*)、玉米 (*Zea mays*)、冰叶日中花 (*Mesembryanthemum crystallinum*)、盐地碱蓬 (*Suaeda salsa*) 和霸王 (*Zygophyllum xanthoxylum*) 等植物中克隆得到 NHX 基因^[17-21]。

研究表明, NHX 是一种分子量为 35 000~70 000 kDa 的蛋白, 一般其 C 末端由 300 多个氨基酸组成, 且含有多个蛋白激酶作用位点, 而 N 端则是由 550 多个氨基酸构成的 10~12 个跨膜区域 (transmembrane domain, TM)^[22]。通过分析 *AtNHX1* 的拓扑学结构, 研究者发现 *AtNHX1* 共包含有 12 个

基金项目 国家自然科学基金项目 (31971405); 兰州大学中央高校基本科研业务费专项资金 (lzujbky-2018-k01)。

作者简介 高天歌 (1995—), 女, 甘肃兰州人, 硕士研究生, 研究方向: 植物逆境生理与分子生物学。* 通信作者, 教授, 博士生导师, 从事植物逆境生理与分子生物学、牧草营养生理与基因工程等方面的研究。

收稿日期 2020-04-21

跨膜域以及 1 个具有亲水性的 C 末端,且基本上都位于液泡腔中;而 N 末端则朝向胞质,同时在其第 3 个跨膜域上包含一个高度保守的氨氯吡嗪脒(amiloride)结合位点^[23]。根据序列类型,NHX 可分为两类,即 Class-I NHX 与 Class-II NHX;Class-II NHX 是在裸子、被子 and 苔藓植物中发现的,经证实其位于核内体上;而 Class-I NHX 则普遍存在于陆生植物的液泡膜上并具有特定的功能,拟南芥 AtNHX1-AtNHX4 就属于该亚型^[24]。

1.2 NHX 在植物抗逆过程中的作用 与野生型相比,过表达拟南芥 AtNHX1 的转基因番茄(*Solanum lycopersicum*)^[25]和转基因油菜(*Brassica napus*)^[26]的生长均未受到 200 mmol/L NaCl 处理的明显抑制。Zeng 等^[27]研究显示在水稻中过表达菊芋(*Helianthus tuberosus*)HtNHX1 和 HtNHX2 能够提高转基因植株的抗盐能力。在盐处理下,与野生型相比,共表达霸王 ZxNHX 和 ZxVP1-1(液泡膜 H⁺-焦磷酸酶编码基因)的转基因紫花苜蓿(*Medicago sativa*)能够在叶片中积累更多的 Na⁺、K⁺和 Ca²⁺,以此来缓解盐胁迫对植物产生的不利影响^[28]。以上研究表明,NHX1 在植物响应盐胁迫的过程中起到了不可替代的作用,过表达 NHX1 可以在一定程度上提高植物的耐盐性^[28-30]。除 NHX1 外,定位于液泡膜上的 NHX2 在植物抗逆过程中也发挥了关键的作用。在 200 mmol/L NaCl 的盐胁迫下,过表达小麦 TaNHX2 的转基因茄子(*Solanum melongena*)叶片的生长明显优于野生型,且其 Na⁺、K⁺含量均较野生型显著增加,表明 TaNHX2 在转基因茄子耐盐性的响应过程中起着重要的调控作用,因此 TaNHX2 也可以作为改善作物耐盐性的候选基因之一^[30]。杜梨(*Pyrus betulaefolia*)PbrNHX2 的表达水平受盐胁迫和脱水的诱导,但不受冷害的影响;在烟草(*Nicotiana tabacum*)中过表达 PbrNHX2,发现其可通过调节活性氧(reactive oxygen species,ROS)水平来增强转基因烟草抵御盐胁迫的能力^[31]。此外,在正常条件下,定位于液泡膜的 NHX3 和 NHX4 对植物生长发育的影响虽然较 NHX1 和 NHX2 小,但是二者在离子转运方面仍具有自身的独特性,如 AtNHX4 对 Na⁺、K⁺都具有转运能力且更偏向于转运 K⁺,而 AtNHX3 则只转运 Na⁺、不参与转运 K⁺^[32]。

除盐胁迫外,干旱也是严重影响植物生长发育的非生物胁迫之一^[33]。霸王主要分布于我国西北荒漠地区,具有超强的抗旱性^[34]。在干旱胁迫下,ZxNHX 能够将细胞质中的 Na⁺区域化至液泡,以降低细胞渗透势,从而使植物适应干旱环境^[20]。研究表明,干旱处理下,共转化 ZxNHX 和 ZxVP1-1 的转基因紫花苜蓿的株高、根长和干重分别较野生型显著增加 28.7%、67.7%和 47.5%,且其叶片中的 Na⁺、K⁺和 Ca²⁺含量分别较野生型上升 130.8%、81.7%和 100.0%,表明共转化 ZxNHX 和 ZxVP1-1 可以显著提高植物的抗旱性^[35]。在甜菜中过表达 ZxNHX 和 ZxVP1-1 可以使转基因植株地上部的 Na⁺含量增加 1.2~1.5 倍,贮藏根中的蔗糖含量增加 6%~16%,从而增加转基因甜菜对干旱的抵御能力^[36]。除霸王外,有研究表明,在大麦(*Hordeum vulgare*)中过表达盐生草

(*Halogeton glomeratus*)HgNHX1,不仅可以显著提高转基因大麦的耐盐性,还可以使其维持较高的水分代谢能力,具有更强的抗旱性^[37]。

2 植物液泡膜 Ca²⁺/H⁺反向转运蛋白(CAX)

钙(Ca)是维持植物生长发育所必需的大量元素之一,在植物生命进程中具有不可或缺的作用^[38]。Ca²⁺不仅是细胞结构的组成成分和多种酶的辅助因子,而且还是细胞内重要的第二信使^[39]。Ca²⁺可参与调控植物的生长发育,在其抗病和适应逆境的过程中具有重要作用,不仅如此,Ca²⁺还可以与钙调素(calmodulin,CaM)结合形成活化的 Ca²⁺-CaM 复合体,参与细胞内的信号转导^[40-42]。植物体内的 Ca²⁺通常处于动态平衡状态,Ca²⁺缺乏会导致叶片坏死,甚至引起植株的死亡;而 Ca²⁺浓度过高则会造成离子毒害^[43]。植物能够通过 Ca²⁺转运系统调节其体内 Ca²⁺的稳态平衡,其中液泡膜 Ca²⁺/H⁺反向转运蛋白(CAX)能够将胞质中的 Ca²⁺区域化至液泡内,从而对细胞内的 Ca²⁺浓度起到调控作用^[44]。

2.1 CAX 的结构 CAX 是由 11 个跨膜域组成的跨膜蛋白,其 N 末端位于胞质内,C 末端则位于液泡中,并且 N 末端的亲水性区域可能会与激酶等信号蛋白相互作用以调节 CAX 发挥功能^[44-45]。CAX 的 11 个跨膜域可分为 TM1、TM2-6 和 TM7-11 共 3 个部分,其中 TM1 与阳离子的转运相关^[46]。CAX 具有 4 个功能域,分别为参与调控 Ca²⁺/H⁺反向转运活性的 N-末端自抑制区域(N-terminal regulatory region,NRR)^[47-49]、决定 Ca²⁺转运能力的 Ca 功能域(Ca²⁺ domain,CaD)^[50]、与 Mn²⁺的专一性相关的 C 功能域^[51]、与细胞质 pH 调节相关的 D 功能域^[52]。研究发现,拟南芥 AtCAX1~AtCAX4 均定位于细胞的液泡膜上^[39]。

2.2 CAX 在植物抗逆过程中的作用 许多研究表明,CAX 在植物抵御非生物胁迫特别是盐胁迫的过程中发挥了重要的作用,CAX 活性的改变会影响植物中由盐胁迫诱导的 Ca²⁺信号的变化,进而影响植物对盐胁迫的耐受能力^[53]。盐胁迫对 CAX3 的表达具有很强的诱导作用,但对 CAX1 表达的诱导则很微弱^[39]。Zhao 等^[54]将拟南芥 *cax1* 和 *cax3* 单突株系以及 *cax1/cax3* 双突株系分别在含有 50 和 100 mmol/L NaCl 的介质中进行培养,发现 *cax3* 和 *cax1/cax3* 对盐具有较强的敏感性,而 *cax1* 则对盐的敏感性不明显;进一步的生化分析显示,*cax3* 对盐的敏感性与盐胁迫下液泡膜 Ca²⁺/H⁺转运活性以及质膜 H⁺-ATPase 活性密切相关,表明 CAX3 在植物响应盐胁迫的过程中发挥了重要的作用。此外,AtCAX1 和 AtCAX3 可以协同发挥作用,二者的共表达能够显著提高 Ca²⁺敏感型酵母 K667 的耐盐性^[55]。除了 AtCAXs,盐地碱蓬等其他植物的 CAXs 对于抵御盐胁迫也具有一定的作用,例如在拟南芥中超表达盐地碱蓬 *SsCAX1* 同样能够增强转基因植株对盐胁迫的耐受性^[56]。此外,拟南芥 AtCAX2、AtCAX4 以及一些其他植物的 CAXs 还能参与调控除 Ca²⁺外的其他金属阳离子的转运。

CAX 在植物响应冷胁迫的过程中也发挥了重要的作用。*cax1-1*、*cax1-2*、*cax1-3* 和 *cax1-4* 分别是 4 个 AtCAX1 的

T-DNA 插入突变株系,其中 *cax1-3* 和 *cax1-4* 在经过低温驯化后,其不同低温处理下的存活率均显著高于野生型,表明 AtCAX1 能够参与调控拟南芥对低温的响应^[57]。

3 其他阳离子液泡膜转运蛋白

锰(Mn)、锌(Zn)、铁(Fe)是植物生长发育所必需的3种微量元素,然而当细胞内这些金属离子的含量超过一定范围后也会对植物造成不可避免的伤害^[58]。另外,镉(Cd)作为最常见的重金属之一,具有易被植物吸收的特点,并且过高的 Cd^{2+} 会对植物的生长发育造成损伤^[59]。有研究表明,液泡膜上存在多种能够参与金属离子转运和区域化的转运蛋白,均可以起到缓解上述金属离子毒害以及维持植物生长发育的作用^[60],主要包括 CAX 家族转运蛋白、阳离子扩散辅助蛋白(cation diffusion facilitator, CDF)、自然抵抗相关巨噬细胞蛋白(natural resistance-associated macrophage protein, NRAMP)以及植物锌铁转运蛋白(zinc-regulated transporters, iron regulated transporter-like proteins, ZIP)等^[61-62]。

3.1 转运其他金属离子的 CAX CAX 不仅在植物 Ca^{2+} 的转运中发挥重要作用,而且对植物抵御 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Ba^{2+} 等金属离子毒害来说也是必不可少的。Shigaki 等^[52] 研究发现拟南芥 CAX1 的一种突变体 *CAXcd*,其可以将 Cd^{2+} 区域化在酵母液泡内。Wu 等^[63] 将 *CAXcd* 在矮牵牛(*Petunia hybrida*)中进行超表达,在 50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ CdCl_2 处理 36 d 后,表达 *CAXcd* 的矮牵牛植株的长势明显好于野生型,且其能够在体内积累更多的 Cd^{2+} ;同时研究还发现过表达 *CAXcd* 的矮牵牛植株从开花到种子成熟,植株的形态和生长发育并未受到其体内大量积累的 Cd^{2+} 的明显影响。而在烟草(*Nicotiana tabacum*)中超表达 AtCAX2 还可以增加 Mn^{2+} 在液泡中的积累^[64]。Koren'kov 等^[65-66] 研究发现 AtCAX2 和 AtCAX4 均可以将转基因烟草细胞质中的 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Mn^{2+} 区域化到液泡中,以缓解上述金属离子对植物造成的毒害。此外,研究发现 CAX 还可以参与细胞质中 Ni^{2+} 和 Ba^{2+} 的转运。庭荠属植物 *Alyssum lesbiacum* 的 ALCAX 定位于液泡膜上,可参与 Ni^{2+} 的转运与区域化,进而改变 *A. lesbiacum* 对 Ni^{2+} 的耐受性^[67]。而 Liu 等^[68] 将小花碱茅(*Puccinellia tenuiflora*)的 Put-CAX1 在 Ca^{2+} 敏感型酵母 K667 中进行超表达,可使酵母对 Ba^{2+} 有一定的耐受能力。

3.2 CDF 家族转运蛋白 CDF 转运蛋白主要负责调控金属阳离子从胞质到胞外或细胞器的转运^[62],该家族蛋白按照系统进化关系可以分为3类,即 Zn-CDFs、Fe/Zn-CDFs 和 Mn-CDFs 转运蛋白^[6]。目前,研究者已鉴定出许多 CDF 家族蛋白,通过生物信息学分析发现,该家族蛋白普遍具有6个跨膜域,在N端的第1和第2个跨膜域之间存在一个高度保守的特征序列,在C末端则存在一个特殊的阳离子外排结构域^[69]。金属耐受性蛋白(metal tolerance proteins, MTP)是 CDFs 家族成员之一,研究表明,拟南芥 AtMTP 定位于液泡膜上,主要调控胞质中的 Zn^{2+} 向液泡的区域化^[70-71]。此外,水稻的 OsMTP8.1 和 OsMTP8.2 都是定位于液泡膜的阳离子转运蛋白,在高 Mn^{2+} 条件下,OsMTP8.1 缺失会导致水稻叶绿

素含量下降,生长受限,证明 OsMTP8.1 是 Mn^{2+} 特异性转运蛋白;而且 OsMTP8.1 还可以与 OsMTP8.2 协同发挥作用,将过量 Mn^{2+} 区域化在水稻根系和幼苗的液泡中,以减少高 Mn^{2+} 胁迫对水稻产生的毒害^[72-73]。

3.3 NRAMP 家族转运蛋白 NRAMP 同样是一类重要的金属离子转运蛋白,能够参与多种二价金属离子的吸收和转运^[6]。生物信息学分析显示, NRAMP 蛋白普遍由12个跨膜结构域组成,其中第1~10个跨膜域具有疏水性,并且在第8和第9个跨膜域上还存在一个高度保守的“共有转运标签”序列基元,推测这段高度保守的序列可能与 NRAMP 蛋白的功能密切相关^[74]。目前已在拟南芥和东南景天(*Sedum alfredii*)等植物中鉴定出了 NRAMP 转运蛋白,研究发现 SaNRAMP3 定位于液泡膜上,对 Cd^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 等都具有转运功能^[75]。在拟南芥中,AtNRAMP3 和 AtNRAMP4 同样定位于液泡膜,主要调控 Mn^{2+} 和 Fe^{2+} 的转运;AtNRAMP3 和 AtNRAMP4 可以将液泡中的 Mn^{2+} 运输至叶肉细胞的叶绿体中,且二者之间存在功能冗余^[76];此外,AtNramp3 AtNramp4 缺失突变株系还会因 Fe^{2+} 缺乏而表现出白化以及种子不能萌发等现象^[77]。

3.4 ZIP 家族转运蛋白 ZIP 是一类多次跨膜转运蛋白,能够吸收和运输二价金属离子,在维持植物体内 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 平衡的过程中起重要作用^[78]。ZIP 家族转运蛋白由 326~425 个氨基酸组成,普遍含有 6~9 个跨膜域;其中 N 末端位于细胞内侧,包含 3~4 个跨膜域,而 C 末端则位于细胞外侧,包含 3~5 个跨膜域;此外,在第3和第4个跨膜域之间还存在一个富含组氨酸残基的可变区,推测该区域可能与其能够参与调控金属离子的转运有关^[79]。ZIP 蛋白具有较多的疏水基团,有利于其与膜的结合,而这些结合在膜上的蛋白可以参与调控 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 的跨膜转运^[80]。有研究发现,拟南芥 AtZIP1 定位于液泡膜,主要负责调控液泡 Zn^{2+} 的外排,也可能参与根中 Zn^{2+} 从液泡释放到细胞质的再活化过程^[81]。在木薯(*Manihot esculenta*)中共表达拟南芥 AtMTP1 和 AtZIP1 能够显著提高贮藏根可食用部分的 Zn^{2+} 含量,但是 Zn^{2+} 的过量积累也会导致转基因植株矮小和叶片失绿等不良表型^[82]。

4 总结与展望

干旱、土壤盐渍化以及金属离子毒害等非生物胁迫严重影响了我国农牧业的发展和生态环境的恢复。植物细胞中定位于液泡膜上的阳离子转运蛋白可以将细胞质中过量的 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 和一些其他金属阳离子区域化至液泡中,一方面能够调节细胞的渗透势、促进水分的吸收,维持植物的正常生长;另一方面还可以缓解植物受外界环境影响所产生的离子毒害。因此,阐明液泡膜阳离子转运蛋白在植物抗逆中的作用,挖掘更多可利用的关键基因,对培育耐盐、抗旱作物新品种以及生态环境的恢复治理都具有十分重要的意义。目前,关于液泡膜阳离子转运蛋白的研究多集中于能够区域化 Na^+ 、 K^+ 的 NHXs 以及转运 Ca^{2+} 的 CAXs,并且对二者响应逆境胁迫的机制也有了一定的进展。但是,对定位于液泡膜上的其他阳离子转运蛋白功能的研究相对还不够深入。基

于以上现状,今后的研究可从以下 3 个方面入手:①除一些常见的 Na^+/H^+ 和 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ 逆向转运蛋白外,有关转运 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Fe^{2+} 等金属阳离子的液泡膜转运蛋白的挖掘及其作用机制的研究还需进一步完善;②加强对各类阳离子转运蛋白之间协同作用的研究,以期建立相对完善的细胞质阳离子转运体系;③可以通过比较不同物种间的某个特定液泡膜阳离子转运蛋白与其抗逆性的关系,筛选可能导致这种差异的天然变异位点,为今后农作物及牧草的改良提供优异基因资源。

参考文献

- [1] 赵孟良,任延靖,李莉,等. 菊芋应答非生物逆境胁迫的生长发育及物质代谢研究进展[J]. 分子植物育种,2019,17(5):1711-1716.
- [2] SAIJO Y, LOO E P. Plant immunity in signal integration between biotic and abiotic stress responses[J]. New phytologist, 2020, 225(1): 87-104.
- [3] CLEMENS S, MA J F. Toxic heavy metal and metalloids accumulation in crop plants and foods[J]. Annual review of plant biology, 2016, 67: 489-512.
- [4] ISMAIL A M, HORIE T. Genomics, physiology, and molecular breeding approaches for improving salt tolerance[J]. Annual review of plant biology, 2017, 68: 405-434.
- [5] 孙琦,黄薇,刘芳,等. 小拟南芥转运蛋白基因及 NHX2 基因的克隆与表达[J]. 石河子大学学报(自然科学版),2019,37(2):200-209.
- [6] 赵秋芳,马海洋,贾利强,等. 植物锰转运蛋白研究进展[J]. 热带作物学报,2019,40(6):1245-1252.
- [7] NAGATA T, IIZUMI S, SATOH K, et al. Comparative molecular biological analysis of membrane transport genes in organisms[J]. Plant molecular biology, 2008, 66(6): 565-585.
- [8] KRONZUCKER H J, COSKUN D, SCHULZE L M, et al. Sodium as nutrient and toxicant[J]. Plant and soil, 2013, 369: 1-23.
- [9] 肖瑛,康建军. 营养元素对植物抗旱性作用的研究综述[J]. 甘肃农业科技,2013(1):42-46.
- [10] 王宝增,刘玉杰,王桂香,等. 低浓度 NaCl 对植物有益作用的研究概况[J]. 北方园艺,2008(3):63-65.
- [11] 雷晶,郝艳淑,王典,等. 钠钾替代对不同基因型棉花钾利用效率的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2015,21(4):962-968.
- [12] BAZIHIZINA N, BARRETT-LENNARD E G, COLMER T D. Plant growth and physiology under heterogeneous salinity[J]. Plant and soil, 2012, 354: 1-19.
- [13] BLUMWALD E. Sodium transport and salt tolerance in plants[J]. Current opinion in cell biology, 2000, 12(4): 431-434.
- [14] MUNNS R, TESTER M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annual review of plant biology, 2008, 59: 651-681.
- [15] BLUMWALD E, POOLE R J. Na^+/H^+ antiporter in isolated tonoplast vesicles from storage tissue of *Beta vulgaris* [J]. Plant physiology, 1985, 78: 163-167.
- [16] GAXIOLA R A, RAO R, SHERMAN A, et al. The *Arabidopsis thaliana* proton transporters, AtNhx1 and Atp1 , can function in cation detoxification in yeast[J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 1999, 96(4): 1480-1485.
- [17] BARKLA B J, ZINGARELLI L, BLUMWALD E, et al. Tonoplast Na^+/H^+ antiport activity and its energization by the vacuolar H^+ -ATPase in the halophytic plant *Mesembryanthemum crystallinum* L. [J]. Plant physiology, 1995, 109(2): 549-556.
- [18] BRINI F, GAXIOLA R A, BERKOWITZ G A, et al. Cloning and characterization of a wheat vacuolar cation/proton antiporter and pyrophosphatase proton pump[J]. Plant physiology and biochemistry, 2005, 43(4): 347-354.
- [19] ZÖRB C, NOLL A, KARL S, et al. Molecular characterization of Na^+/H^+ antiporters (ZmNHX) of maize (*Zea mays* L.) and their expression under salt stress[J]. Journal of plant physiology, 2005, 162(1): 55-66.
- [20] WU G Q, XI J J, WANG Q, et al. The ZxNHX gene encoding tonoplast Na^+/H^+ antiporter in the xerophyte *Zygophyllum xanthoxylum* plays important roles in response to salt and drought[J]. Journal of plant physiology, 2011, 168: 758-767.
- [21] HUANG Y, ZHANG X X, LI Y H, et al. Overexpression of the *Suaeda salsa* SsNHX1 gene confers enhanced salt and drought tolerance to transgenic *Zea mays* [J]. Journal of integrative agriculture, 2018, 17(12): 2612-2623.
- [22] 徐璐,郭善利,尹海波. Na^+/H^+ 逆向转运蛋白与植物耐盐性研究[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(11): 2727-2730, 2758.
- [23] YAMAGUCHI T, APSE M P, SHI H Z, et al. Topological analysis of a plant vacuolar Na^+/H^+ antiporter reveals a luminal C terminus that regulates antiporter cation selectivity[J]. Proceedings of the national academy of sciences of USA, 2003, 100(21): 12510-12515.
- [24] FORD B A, ERNEST J R, GENDALL A R. Identification and characterization of orthologs of *AtNHX5* and *AtNHX6* in *Brassica napus* [J]. Frontiers in plant science, 2012, 3: 1-12.
- [25] ZHANG H X, BLUMWALD E. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit[J]. Nature biotechnology, 2001, 19(8): 765-768.
- [26] ZHANG H X, HODSON J N, WILLIAMS J P. Engineering salt-tolerant *Brassica* plants: Characterization of yield and seed oil quality in transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation[J]. Proceedings of the national academy of science USA, 2001, 98(22): 12832-12836.
- [27] ZENG Y, LI Q, WANG H Y, et al. Two NHX -type transporters from *Helianthus tuberosus* improve the tolerance of rice to salinity and nutrient deficiency stress[J]. Plant biotechnology journal, 2018, 16(1): 310-321.
- [28] BAO A K, DU B Q, TOUIL L, et al. Co-expression of tonoplast Cation/ H^+ antiporter and H^+ -pyrophosphatase from xerophyte *Zygophyllum xanthoxylum* improves alfalfa plant growth under salinity, drought, and field conditions[J]. Plant biotechnology journal, 2016, 14: 964-975.
- [29] ZHANG Y M, ZHANG H M, LIU Z H, et al. The wheat NHX antiporter gene *TaNHX2* confers salt tolerance in transgenic alfalfa by increasing the retention capacity of intracellular potassium[J]. Plant molecular biology, 2015, 87(3): 317-327.
- [30] YARRA R, KIRTI P B. Expressing class I wheat NHX (*TaNHX2*) gene in eggplant (*Solanum melongena* L.) improves plant performance under saline condition[J]. Funct integrative genomics, 2019, 19: 541-554.
- [31] DONG H Z, WANG C M, XING C H, et al. Overexpression of *PbrNHX2* gene, a Na^+/H^+ antiporter gene isolated from *Pyrus betulaefolia*, confers enhanced tolerance to salt stress via modulating ROS levels[J]. Plant science, 2019, 285: 14-25.
- [32] BASSIL E, ZHANG S Q, GONG H J, et al. Cation specificity of vacuolar NHX -type cation/ H^+ antiporters [J]. Plant physiology, 2019, 179(2): 616-629.
- [33] 赵建华,李浩霞,周旋,等. 干旱胁迫对宁夏枸杞生长及果实糖分积累的影响[J]. 植物生理学报, 2012, 48(11): 1063-1068.
- [34] YUE L J, LI S X, MA Q, et al. NaCl stimulates growth and alleviates water stress in the xerophyte *Zygophyllum xanthoxylum* [J]. Journal of arid environments, 2012, 87: 153-160.
- [35] KANG P, BAO A K, KUMAR T, et al. Assessment of stress tolerance, productivity, and forage quality in T_1 transgenic alfalfa co-overexpressing ZxNHX and ZxVP1-1 from *Zygophyllum xanthoxylum* [J]. Frontiers in plant science, 2016, 7: 1598-1609.
- [36] 伍国强,冯瑞军,魏金魁,等. 过量表达霸王 ZxNHX 和 ZxVP1-1 基因增强甜菜对渗透胁迫的耐受性[J]. 植物生理学报, 2017, 53(6): 1007-1014.
- [37] 张燕,李葆春,胡有良,等. 盐生草 *HgNHX1* 基因在大麦株系中的功能验证[J]. 麦类作物学报, 2018, 38(8): 929-934.
- [38] 付嵘,孟小暇,柴胜丰. 植物与钙环境关系的研究进展[J]. 北方园艺, 2019(3): 161-166.
- [39] 张玉秀,彭晓静,柴团耀,等. 植物液泡膜阳离子/ H^+ 反向转运蛋白结构和功能研究进展[J]. 生物工程学报, 2011, 27(4): 546-560.
- [40] KUDLA J, BATISTIĆ O, HASHIMOTO K. Calcium signals: The lead currency of plant information processing [J]. Plant cell, 2010, 22(3): 541-563.
- [41] 张哲,宋水山,边子睿,等. 植物细胞中钙离子作用的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(24): 14525-14527.
- [42] 张瑞鑫,高海波,闫素丽,等. 跨膜 Ca^{2+} 和 H^+ 离子流参与里那醇诱导的拟南芥中抗虫防御反应[J]. 植物生理学报, 2014, 50(4): 471-476.
- [43] HOCKING B, TYERMAN S D, BURTON R A, et al. Fruit calcium: Transport and physiology[J]. Frontiers in plant science, 2016, 7: 1-17.
- [44] SHIGAKI T, HIRSCHI K D. Diverse functions and molecular properties emerging for CAX cation/ H^+ exchangers in plants[J]. Plant biology, 2006, 8(4): 419-429.
- [45] MANOHAR M, SHIGAKI T, HIRSCHI K D. Plant cation/ H^+ exchangers (CAXs): Biological functions and genetic manipulations[J]. Plant biol-

- gy, 2011, 13(4):561–569.
- [46] ZHAO J, CONNROTTON J M, GUO Y Q, et al. Functional studies of split *Arabidopsis* $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ exchangers [J]. Journal of biological chemistry, 2009, 284:34075–34083.
 - [47] PITTMAN J K, HIRSCHI K D. Regulation of CAX1, an *Arabidopsis* $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter. Identification of an N-terminal autoinhibitory domain [J]. Plant physiology, 2001, 127(3):1020–1029.
 - [48] PITTMAN J K, SHIGAKI T, CHENG N H, et al. Mechanism of N-terminal autoinhibition in the *Arabidopsis* $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter CAX1 [J]. Journal of biological chemistry, 2002, 277(29):26452–26459.
 - [49] PITTMAN J K, SREEVIDYA C S, SHIGAKI T, et al. Distinct N-terminal regulatory domains of $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporters [J]. Plant physiology, 2002, 130(2):1054–1062.
 - [50] SHIGAKI T, CHENG N H, PITTMAN J K, et al. Structural determinants of Ca^{2+} transport in the *Arabidopsis* $\text{H}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ antiporter CAX1 [J]. Journal of biological chemistry, 2001, 276(46):43152–43159.
 - [51] SHIGAKI T, PITTMAN J K, HIRSCHI K D. Manganese specificity determinants in the *Arabidopsis* metal/ H^{+} antiporter CAX2 [J]. Journal of biological chemistry, 2003, 278(8):6610–6617.
 - [52] SHIGAKI T, BARKLA B J, MIRANDA-VERGARA M C, et al. Identification of a crucial histidine involved in metal transport activity in the *Arabidopsis* cation/ H^{+} exchanger CAX1 [J]. Journal of biological chemistry, 2005, 280(34):30136–30142.
 - [53] BICKERTON P D, PITTMAN J K. Role of cation/proton exchangers in abiotic stress signaling and stress tolerance in plants [M]//PANDEY G K. Elucidation of abiotic stress signaling in plants. New York: Springer, 2015:95–117.
 - [54] ZHAO J, BARKLA B J, MARSHALL J, et al. The *Arabidopsis* *cax3* mutants display altered salt tolerance, pH sensitivity and reduced plasma membrane H^{+} -ATPase activity [J]. Planta, 2008, 227(3):659–669.
 - [55] ZHAO J, SHIGAKI T, MEI H, et al. Interaction between *Arabidopsis* $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ exchangers CAX1 and CAX3 [J]. Journal of biological chemistry, 2009, 284:4605–4615.
 - [56] HAN N, LAN W J, HE X, et al. Expression of a *Suaeda salsa* vacuolar $\text{H}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ transporter gene in *Arabidopsis* contributes to physiological changes in salinity [J]. Plant molecular biology reporter, 2012, 30:470–477.
 - [57] CATALÁ R, SANTOS E, ALONSO J M, et al. Mutations in the $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ transporter CAX1 increase CBF/DREB1 expression and the cold-acclimation response in *Arabidopsis* [J]. The plant cell, 2003, 15:2940–2951.
 - [58] 李素贞, 陈茹梅. ZIP 蛋白在植物中的功能分析 [J]. 生物技术通报, 2018, 34(11):1–7.
 - [59] 史新杰, 李卓, 庄文化, 等. 土壤中水分和镉浓度对油菜生长发育的影响 [J]. 农业资源与环境学报, 2019, 36(1):71–78.
 - [60] VERBRUGGEN N, HERMANS C, SCHAT H. Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants [J]. New phytologist, 2009, 181(4):759–776.
 - [61] 谭万能, 李志安, 邹碧. 植物对重金属耐性的分子生态机理 [J]. 植物生态学报, 2006, 30(4):703–712.
 - [62] 陈迪, 潘伟槐, 周故材, 等. 植物营养元素运输载体的功能及其调控机制研究进展 [J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2018, 44(3):283–293.
 - [63] WU Q Y, SHIGAKI T, WILLIAMS K A, et al. Expression of an *Arabidopsis* $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter CAX1 variant in petunia enhances cadmium tolerance and accumulation [J]. Journal of plant physiology, 2011, 168(2):167–173.
 - [64] SHEN G M, DU Q Z, WANG J X. Involvement of plasma membrane $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter in Cd^{2+} tolerance [J]. Rice science, 2012, 19(2):161–165.
 - [65] KOREN'KOV V, HIRSCHI K, CRUTCHFIELD J D, et al. Enhancing tonoplast Cd/H^{+} antiport activity increases Cd, Zn, and Mn tolerance, and impacts root/shoot Cd partitioning in *Nicotiana tabacum* L. [J]. Planta, 2007, 226:1379–1387.
 - [66] KOREN'KOV V, PARK S, CHENG N H, et al. Enhanced Cd^{2+} -selective-root-tonoplast-transport in tobaccos expressing *Arabidopsis* cation exchangers [J]. Planta, 2007, 225(2):403–411.
 - [67] INGLE R A, FRICKER M D, SMITH J A C. Evidence for nickel/proton antiport activity at the tonoplast of the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum* [J]. Plant biology, 2008, 10(6):746–753.
 - [68] LIU H, ZHANG X X, TAKANO T, et al. Characterization of a *PutCAX1* gene from *Puccinellia tenuiflora* that confers Ca^{2+} and Ba^{2+} tolerance in yeast [J]. Biochemical and biophysical research communications, 2009, 383(4):392–396.
 - [69] 姜巨全, 洪闪, 徐桐, 等. 阳离子扩散促进子(CDF)家族蛋白的研究进展 [J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2014, 31(4):517–528.
 - [70] KOBAE Y, UEMURA T, SATO M H, et al. Zinc transporter of *Arabidopsis thaliana* AtMTP1 is localized to vacuolar membranes and implicated in zinc homeostasis [J]. Plant and cell physiology, 2005, 45(12):1749–1758.
 - [71] TANAKA N, FUJIWARA T, TOMIOKA R, et al. Characterization of the histidine-rich loop of *Arabidopsis* vacuolar membrane zinc transporter AtMTP1 as a sensor of zinc level in the cytosol [J]. Plant and cell physiology, 2015, 56(3):510–519.
 - [72] CHEN Z H, FUJII Y, YAMAJI N, et al. Mn tolerance in rice is mediated by MTP8. 1, a member of the cation diffusion facilitator family [J]. Journal of experimental botany, 2013, 64(14):4375–4387.
 - [73] TAKEMOTO Y, TSUNEMITSU Y, FUJII-KASHINO M, et al. The tonoplast-localized transporter MTP8. 2 contributes to manganese detoxification in the shoots and roots of *Oryza sativa* L. [J]. Plant and cell physiology, 2017, 58(9):1573–1582.
 - [74] 孙彤, 印莉萍. 植物的铁营养与 *Nramp* 基因 [J]. 首都师范大学学报(自然科学版), 2003, 24(2):72–75.
 - [75] 张杰. 超积累植物东南景天 Cd 耐性和积累的分子机制 [D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
 - [76] LANQUAR V, RAMOS M S, LELIÈVRE F, et al. Export of vacuolar manganese by AtNRAMP3 and AtNRAMP4 is required for optimal photosynthesis and growth under manganese deficiency [J]. Plant physiology, 2010, 152(4):1986–1999.
 - [77] BASTOW E L, GARCIA DE LA TORRE V S, MACLEAN A E, et al. Vacuolar iron stores gated by NRAMP3 and NRAMP4 are the primary source of iron in germinating seeds [J]. Plant physiology, 2018, 177(3):1267–1276.
 - [78] 汪洪, 金继运. 植物对锌吸收运输及积累的生理与分子机制 [J]. 植物营养与肥料学报, 2009, 15(1):225–235.
 - [79] 傅明辉, 陈肖丽. 植物锌铁转运蛋白 ZIP 家族的生物信息学分析 [J]. 广东农业科学, 2015, 42(1):124–127.
 - [80] 孟璐, 孙亮, 谭龙涛, 等. 水稻锌铁转运蛋白 ZIP 基因家族研究进展 [J]. 遗传, 2018, 40(1):33–43.
 - [81] MILNER M J, SEAMON J, CRAFT E, et al. Transport properties of members of the ZIP family in plants and their role in Zn and Mn homeostasis [J]. Journal of experimental botany, 2013, 64(1):369–381.
 - [82] GAITÁN-SOLÍS E, TAYLOR N J, SIRITUNGA D, et al. Overexpression of the transporters AtZIP1 and AtMTP1 in cassava changes zinc accumulation and partitioning [J]. Frontiers in plant science, 2015, 6:1–11.