

植物对硅的吸收转运机制研究进展*

张玉秀¹⁾ 刘金光¹⁾ 柴团耀^{2)**} 金玲¹⁾

⁽¹⁾ 中国矿业大学(北京)化学与环境工程学院, 北京 100083; ⁽²⁾ 中国科学院研究生院生命科学学院, 北京 100049)

摘要 硅(Si)能缓解生物与非生物胁迫对植物的毒害作用, Si的吸收转运是由 Si 转运蛋白介导的. 最近, 多个 Si 转运蛋白(Lsi)基因相继在水稻、大麦和玉米中被克隆出来, 并在 Si 的吸收转运机制方面取得了很大进展. 水稻 OsLsi 在根组织中呈极性分布, OsLsi1 定位在根外皮层和内皮层凯氏带细胞外侧质膜, 负责将外部溶液中的单硅酸转运到皮层细胞内. OsLsi2 定位在凯氏带细胞内侧质膜, 在外皮层中负责将 Si 输出到通气组织质外体中, 在内皮层与 OsLsi1 协同作用将 Si 转运到中柱中. 导管中的 Si 通过蒸腾流转运到地上部, 再由定位在叶鞘和叶片木质部薄壁细胞靠近导管一侧的 OsLsi6 负责木质部 Si 的卸载和分配. 在大麦和玉米中, ZmLsi1/HvLsi1 定位在根表皮和皮层细胞外侧质膜负责 Si 的吸收, 然后 Si 通过共质体途径被转运到内皮层凯氏带细胞中, 再由 ZmLsi2/HvLsi2 输出转运到中柱中. ZmLsi6 在细胞中的定位和活性与 OsLsi6 相似, 推测其可能具有类似的功能, 但大麦 Lsi6 至今未见报道. 所以, Si 转运机制仍需要进一步研究.

关键词 硅, 转运蛋白, 机制

学科分类号 Q5, Q94

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00528

硅(Si)在地壳中的含量仅次于氧, 二氧化硅约占土壤的 50%~70%^[1]. 土壤中 Si 的存在形态主要有 3 种: 不溶解的固态 Si(氧化硅和硅酸盐)、可溶性 Si 以及土壤颗粒(特别是 Fe 和 Al 的氧化物/氢氧化物)上的吸附 Si^[2]. 植物吸收 Si 的主要形式是单硅酸[Si(OH)₄], 其在土壤溶液中的浓度为 0.1~0.6 mmol/L, 与 K、Ca 等营养元素浓度相近, 远超过 P 的浓度^[3]. 植物中 Si 累积量因物种的不同而不同, 可占植物干重的 0.1%~10%, 禾本科植物 Si 的累积量远高于双子叶植物, 这种差异可能归因于不同植物根对 Si 的吸收和转运能力的不同^[4]. Si 可促进植物的生长, 并能缓解重金属、盐、病虫害、干旱和紫外线等逆境对植株生长的抑制作用^[5-7]. 田间实验结果表明, 野生型和 Si 吸收缺陷型水稻对 N、P 和 K 等营养元素的吸收没有差别, 然而, 野生型水稻地上部 Si 的累积量(4.14%)显著高于缺陷型(0.22%), 而缺陷型水稻产量降低了 79%~98%^[8]. 目前, 为了提高作物的产量和品质, 硅肥在日本已广泛用于水稻和甘蔗等多种作物的种植^[9]. 我们的研究表明, Si(1 mmol/L)可以提高烟草和龙葵的 Cd 耐性(待发表). Savvas 等^[10]发现, 1 mmol/L

Si 能够缓解 0.8 mmol/L 和 35 mmol/L NaCl 对无土栽培西葫芦净光合作用的抑制, 抗白粉病能力增强, 产量提高.

植物如何吸收转运 Si 呢? Si 转运蛋白的基因家族最早是在硅藻中发现的, 水稻基因组中没有找到与之同源的基因, 将硅藻 Si 转运蛋白基因转入烟草中未能提高其 Si 的吸收量, 说明高等植物中可能存在着与硅藻不同的 Si 转运蛋白系统^[9, 11]. 近年来, 利用基因敲除和转基因技术, 先后在水稻、大麦和玉米等禾本科植物中鉴定了多个 Si 转运蛋白基因, 初步揭示了 Si 的吸收和转运机制. 以下综述了植物 Si 转运蛋白的功能鉴定以及 Si 吸收和转运分子机制的研究进展.

* 国家转基因生物新品种培育重大专项资助项目(2009ZX08009-130B)和中央高校基本科研业务费专项基金(2010YH05).

** 通讯联系人.

Tel/Fax: 010-88256343, E-mail: tychai@gucas.ac.cn

收稿日期: 2010-10-13, 接受日期: 2010-12-08

1 Si 在植物体内的分布

不同植物中 Si 累积水平差异很大, 根据植株中 SiO_2 的含量将栽培植物分为 3 类^[12]: 一类是水稻等水生禾本科作物, 其茎叶 SiO_2 含量占干物质的 15%~20%; 二类是旱地禾本科植物(燕麦、大麦和小麦), SiO_2 含量为 2%~4%; 三类是以豆科植物为代表的双子叶植物, SiO_2 含量不足第二类植物的 1/10. 同一植物不同组织部位的 Si 积累量也存在差异, 如水稻不同组织中 Si 含量大小依次为: 精米(0.5 g/kg) < 米糠(50 g/kg) < 稻秆(130 g/kg) < 稻壳(230 g/kg) < 稻节(350 g/kg)^[13]. Si 的分布与植物的生长发育有关, 大麦老叶叶尖 Si 的浓度

(1.63 mmol/g) 大于新叶(0.47 mmol/g)^[14]. Si 在植物体内沉积可形成某些特殊结构, 如水稻叶片中的 Si 沉积在紧邻角质层下面形成约为 2.5 μm 的薄层, 称为“角质 - 双硅层”(cuticle-Si double layer, 图 1)^[9], 该结构可作为一种物理屏障在抵抗多种生物和非生物胁迫中发挥重要作用. 在细胞水平上, Si 主要沉积在细胞壁和细胞间隙中^[3]. 透射电镜观察表明, 在结缕草和高羊茅叶片中, Si 均以细胞壁和细胞膜为模板沉积在细胞间隙, 其中, $\text{Si}(\text{OH})_4$ 分子与模板亲水羟基作用, 聚合成二聚体和环式聚合物, 形成无定形 SiO_2 颗粒, 初期 SiO_2 颗粒大小约 20 nm, 其表面进一步生长形成有序排列的柱状结构体^[15].

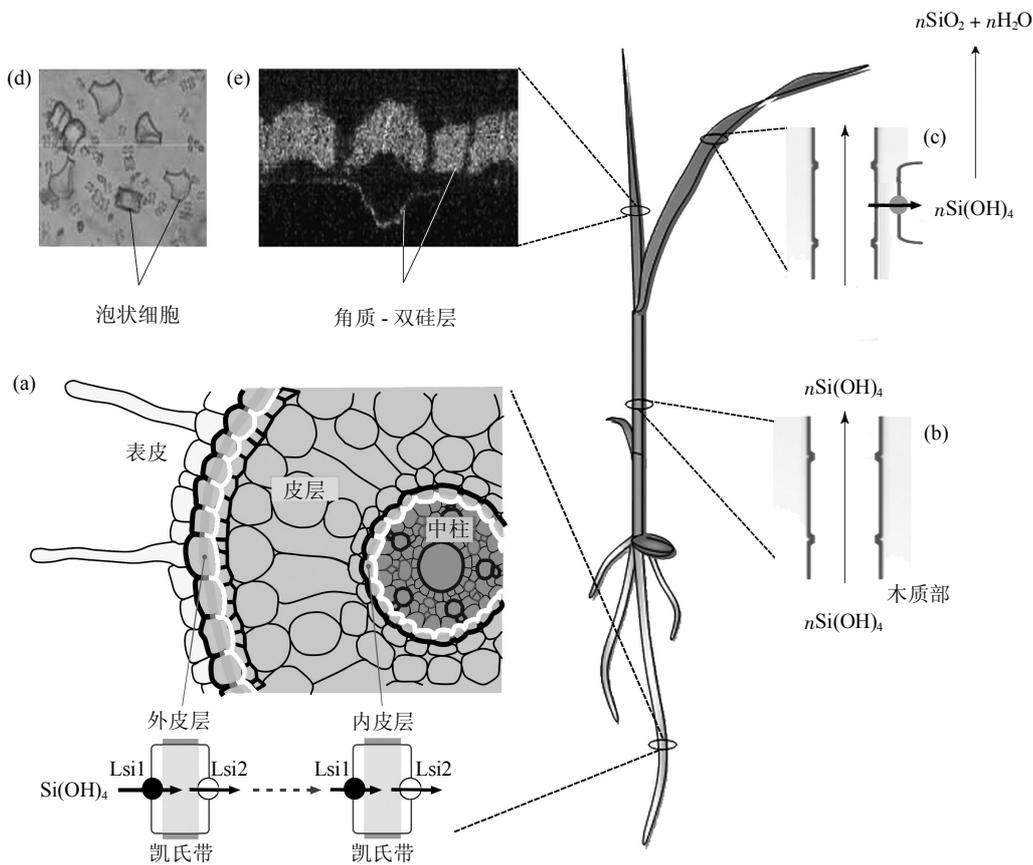


Fig. 1 Uptake, distribution and accumulation of silicon in rice^[9, 16]

图 1 Si 在水稻中的吸收、分布和累积^[9, 16]

水稻吸收和转运 Si 的形式均是单硅酸(a, b); 在地上部(c), 蒸腾作用下失水聚合形成硅胶($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), 在泡状细胞(silica body, SB) (d)及角质层下沉形成角质 - 双硅层(e). Si 的检测采用软 X 射线和扫描电子显微镜(SEM).

2 植物对 Si 的吸收

根毛区对 N、P 和 K 等矿质元素以及水分的吸收发挥重要作用, 是否具有 Si 吸收作用? 水稻根

毛缺陷型 RH2 和侧根缺陷型 RM109 两种突变型与野生型在低 Si(0.15 mmol/L)和高 Si(1.5 mmol/L) 2 种营养液中生长 26 天后, Si 含量分析显示 RH2 和野生型的 Si 积累量没有差别, 而 RM109 的 Si

累积量分别为野生型的 45%和 70%^[17], 表明侧根是水稻吸收 Si 的关键部位.

动力学研究表明, 水稻、黄瓜和番茄根对 Si 的吸收速度随 Si 浓度的升高而升高, 在 1.5~2 mmol/L 较高浓度 Si 时达到最大速度. 3 种植物的 K_m 值约为 0.16 mmol/L, 而 V_{max} 值差异很大, 分别为 34.5、26.9 和 13.3 ng(root•8 h), 表明不同植物 Si 转运蛋白的密度不同. 在含 0.5 mmol/L Si 营养液中生长 6 h, 水稻、黄瓜和番茄等根质外体中 Si 浓度几乎与营养液持平, 而共质体 Si 浓度分别是营养液的 5 倍、2 倍和 1.5 倍. 用代谢抑制剂 2, 4-二硝基苯酚(2, 4-DNP)或低温处理后, 根共质体 Si 浓度降低, 与质外体和营养液 Si 水平相近, 表明植物对 Si 的吸收是由转运蛋白和被动扩散共同介导的^[18-19], 其中, Si 转运蛋白涉及在 Si 的吸收、转运和分配过程中.

3 Si 的吸收和转运机制

OsLsi1 是利用 Si 吸收缺陷型水稻(*lsi1*)克隆出的首个高等植物 Si 转运蛋白. 最近, 多个 Si 转运蛋白基因又相继在水稻、大麦和玉米中被鉴定. 水稻^[4, 20-21]和玉米^[22-23]中分别鉴定了 3 个 Si 转运蛋白(Lsi1、Lsi2 和 Lsi6), 大麦^[1, 23]中鉴定了 2 个 Si 转运蛋白(Lsi1 和 Lsi2). 水稻的内、外皮层均存在凯氏带, 可阻止溶质自由进入中柱, 同时, 也有一特征性结构——通气组织. 水稻 OsLsi1 主要定位在根外皮层和内皮层凯氏带细胞外侧质膜, 具有 Si 输入转运活性, OsLsi2 主要定位在凯氏带细胞内侧质膜, 具有 Si 输出转运活性(图 1)^[20]. 研究表明水稻 Si 的吸收和转运过程包括 4 个步骤(图 1), a. 由外皮层中的 OsLsi1 将外部溶液中的 Si 转运到细胞中, OsLsi2 将 Si 释放到通气组织质外体中; b. 由内皮层中的 OsLsi1 将质外体溶液中的 Si 转运到内皮层细胞中, OsLsi2 将 Si 输出转运到中柱中; c. 中柱中的 Si 以非聚合态单硅酸形式通过木质部导管随蒸腾流转运至地上部^[24]; d. 在叶鞘和叶片靠近导管一侧木质部薄壁细胞中定位的 OsLsi6 负责木质部 Si 的卸载和分配, 并在蒸腾作用下失水聚合形成硅胶($SiO_2 \cdot nH_2O$), 沉积在地上部不同组织器官的细胞壁和细胞间隙中, 水稻中 90%以上的 Si 以硅胶的形式存在^[9].

大麦和玉米根的组织结构与水稻不同, 只有内皮层细胞存在凯氏带, 尽管如此, 二者的 Si 转运蛋白转运活性和机制与水稻相似. 大麦 HvLsi1 定

位在胚根表皮细胞和皮层细胞及侧根下皮细胞的外侧质膜^[1]. 玉米 ZmLsi1 定位在胚根和冠根表皮细胞和下皮细胞(皮层细胞的最外层)以及侧根表皮细胞和皮层细胞的外侧质膜^[22]. HvLsi1/ZmLsi1 负责吸收土壤溶液中的 Si, 并通过共质体途径转运到内皮层, 再由定位在内皮层凯氏带细胞质膜的 HvLsi2/ZmLsi2 将 Si 输出到中柱中(图 2)^[23]. ZmLsi6 与 OsLsi6 作用相似, 可能参与地上部木质部 Si 的卸载与分配^[22]. 然而, 大麦中未鉴定出类似的 Lsi6 基因.

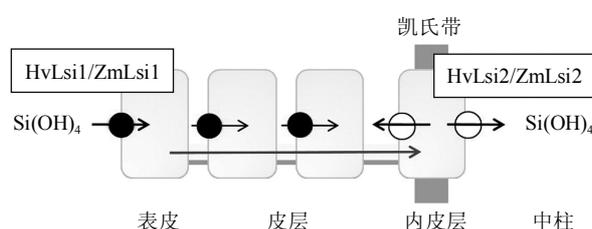


Fig. 2 Schematic model of the Si transport system in maize and barley^[23]

图 2 玉米和大麦的 Si 吸收系统示意图^[23]

3.1 Si 转运蛋白 Lsi1

3.1.1 OsLsi1.

Si 与 Ge 化学性质相似, 所以植物也能吸收 Ge, 但是 Ge 对植物具有毒害作用, 导致叶片出现褐色斑点. 根据这一特性, Ma 等^[4]将诱变处理的种子在 Ge 溶液中培养, 筛选出一株 Si 吸收缺陷型水稻突变体 *lsi1* (low silicon rice 1). *lsi1* 的 Si 累积量远低于野生型, 且易受病虫害侵染, 稻米产量仅为野生型的 10%. 采用图位克隆法克隆出 Si 转运蛋白 *OsLsi1* 基因. *OsLsi1* 定位于水稻第 2 条染色体上, 含有 4 个内含子和 5 个外显子, 其 cDNA 全长 1 409 bp, 推导的编码蛋白有 298 个氨基酸. BLAST 和 Clustal W 分析表明, *OsLsi1* 属于 NOD26-like 主要内在蛋白(Nod26-like major intrinsic protein, NIP), 其氨基酸序列中包含水通道蛋白中典型的高度保守的 6 个跨膜区域和 2 个 Asn-Pro-Ala(NPA)模体(图 3). 将注射 *OsLsi1* cRNA 的爪蟾卵母细胞在硅酸溶液中孵化 30 min, 表达 *OsLsi1* 的卵母细胞 Si 的吸收速率是对照(注水)的 2.4 倍, 表明 *OsLsi1* 具有 Si 输入功能^[4]. 进一步研究发现, *OsLsi1* 还具有 Si 输出功能, 但在根部只表现出输入功能. 在等摩尔尿酸与硼酸存在下, *OsLsi1* 的

Si 转运活性不受影响或影响很小, 表明 *OsLsi1* 对 Si 的吸收和转运具有高度专一性^[25]. 水通道蛋白转运的底物专一性主要由芳香 / 精氨酸(ar/R)选择性过滤器控制. *OsLsi1* 的 ar/R 选择性过滤器位于水孔外膜入口的最窄区域, 由 4 个残基构成, ar/R 残基分别来自螺旋 2(H2)和螺旋 5(H5), 另外 2 个氨基酸残基来源于 LE1 和 LE2 环^[25]. 根据水通道蛋白 ar/R 区域的特征将 NIP 分为 3 类: 拟南芥 NIP I 转运水、甘油和乳酸. 与 NIP I 相比, NIP II 能透过较大的溶质, 如尿素、甲酰胺和硼酸. NIP III 选择性过滤器由 Gly、Ser、Gly 和 Arg 组成, 这些较小残基形成一个较大的收缩域, 可能参与较大硅酸分子(4.38Å)的转运. 水通道蛋白的活性受磷酸化调控, *OsLsi1* 属于 NIP III, 然而, 蛋白磷酸酶和蛋白激酶的抑制剂 K252a 和冈田酸均不影响表达 *OsLsi1* 卵母细胞的单硅酸转运活性, 表明磷酸化作用不能调控 *OsLsi1* 的表达^[16,25].

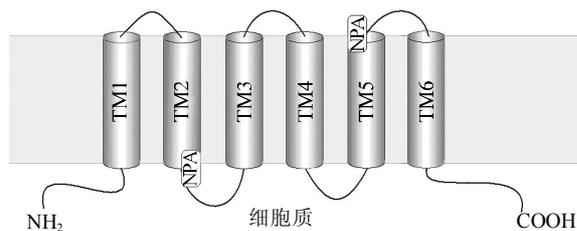


Fig. 3 Topological model of *OsLsi1*^[16]

图 3 水稻 *OsLsi1* 结构模型^[16]

水稻侧根是吸收 Si 的主要部位^[17], RNA 印迹分析表明 *OsLsi1* 在根中属于组成型表达, 然而, 连续 3 天供 Si, *OsLsi1* 的表达量降低了 75%, 脱水胁迫和 ABA(abscisic acid)处理也可下调其表达. 由 *OsLsi1* 启动子驱动 *OsLsi1* 与 *GFP* 融合表达, 转基因水稻主根和侧根中均有绿色荧光出现, 而根毛中没有, 表明 *OsLsi1* 主要在主根和侧根中表达^[9]. 采用兔抗 *Lsi1* 多克隆抗体和二抗(Alexa Fluor 555 goat anti-rabbit IgG)对水稻根切片进行免疫显色, 分析表明 *Lsi1* 定位于根外皮层和内皮层凯氏带细胞外侧质膜^[9]. 目前, 在 *OsLsi1* 启动子区域发现了 ABA 响应元件, 但是 ABA 如何调控还不清楚^[16].

3.1.2 *HvLsi1/ZmLsi1*.

大麦和水稻同属禾本科 Si 积累植物, 利用大麦 EST 克隆得到 Si 转运蛋白 *HvLsi1* 部分序列, 其编码的氨基酸序列与 *OsLsi1* 相似性高达 81.8%.

用 cDNA 末端快速扩增法(RACE), 从大麦根总 RNA 中分离到全长为 1 344 bp 的 *Hvlsil* cDNA, 编码 295 个氨基酸. *HvLsi1* 在水稻 Si 吸收缺陷型 *lsi1* 中表达, Si 的吸收大大提高, 说明 *HvLsi1* 与 *OsLsi1* 功能一致, 具有 Si 输入活性. 将 *GFP-HvLsi1* 融合基因转到洋葱表皮细胞中, 1 mol/L 甘露醇诱导细胞质壁分离后, 结果唯有细胞膜出现绿色荧光, 表明 *HvLsi1* 是一种细胞膜定位蛋白^[1]. 玉米 *ZmLsi1* 是基于玉米基因组和基因数据库研究获得的. Mitani 等^[22]通过 PCR 技术从玉米根 cDNA 中分离出全长 *ZmLsi1*, 推导的编码蛋白有 295 个氨基酸. *ZmLsi1* 与 *OsLsi1* 相似性为 83%, 含有 2 个保守的 NPA 以及与 *OsLsi1* 相同的 ar/R 选择性过滤器.

HvLsi1 和 *ZmLsi1* 在结构和功能上与 *OsLsi1* 相似, 但由于玉米和大麦根只有内皮层有凯氏带细胞, 与水稻的组织结构不同, 如其在根部定位和表达模式存在明显差异. *OsLsi1* 定位于胚根、侧根和冠根等外皮层和内皮层凯氏带细胞的外侧, *HvLsi1* 定位于胚根的表皮和皮层细胞以及侧根的下皮细胞外侧, *ZmLsi1* 定位于胚根和冠根的表皮和下皮细胞及侧根的表皮和皮层细胞外侧. 水稻连续 3 天施 Si, *OsLsi1* 表达水平降低到 25%, 而当大麦和玉米连续 7 天施 Si 后, *HvLsi1/ZmLsi1* 的表达水平无明显降低, 表明启动子区域具有不同的调控元件. 再者, *HvLsi1/ZmLsi1* 的表达水平与植株 Si 的吸收量(μg 每克根干重)相关性很小, 而水稻 *OsLsi1* 与植株 Si 的吸收量高度相关, 表明 *HvLsi1/ZmLsi1* 二者可能不是主要的 Si 吸收转运蛋白^[1,22].

3.2 Si 转运蛋白 *Lsi2*

3.2.1 *OsLsi2*.

Lsi1 是 Si 输入转运蛋白, 能将 Si 从外部溶液转运到根细胞内. 那么, Si 如何在皮层中转运并进入中柱? 为鉴定细胞 Si 输出转运蛋白, Ma 等^[20]利用 N-甲基-N-亚硝基脲诱变 *M₃* 水稻种子(cv. Taichung-65), 筛选获得一株耐 Ge 突变体 *lsi2*(low silicon rice 2), 其 Si 吸收水平远低于野生型水稻. 缺 Si 环境下 *lsi2* 幼苗期与野生型植株在形态和生长方面没有差别. 然而转到田间, 两者对 P 和 K 等营养元素的吸收没有差异, 但 *lsi2* 谷物产量仅为野生型的 40%. 采用与克隆 *OsLsi1* 相似的方法得到水稻 *OsLsi2* 基因, *OsLsi2* 定位于第 3 条染色体上, 含有 2 外显子和 1 内含子. 推测编码的蛋白质有 472 个氨基酸, 含有 11 个跨膜域. BLAST 搜索

和 ClustalW 分析表明, *OsLsi2* 是一个假定的阴离子转运蛋白, 与 *OsLsi1* 不具任何相似性. 免疫荧光显色表明, *OsLsi2* 主要定位于水稻根内皮层与外皮层凯氏带细胞内侧质膜, 这意味着 *OsLsi2* 可能具有不同的 Si 转运功能. 注射爪蟾卵母细胞实验表明, *OsLsi2* 是一个具有 Si 输出功能的转运蛋白, 且 Si 的输出活性随介质 pH 的降低而升高, 其中 *OsLsi2* 在 pH 6.8 时的 Si 输出活性约是 pH8.8 时的 4 倍. 当采用低温和 2, 4-二硝基苯酚(DNP)、氰化羧基-3-氯苯腈(CCCP)和三氟甲氧基苯腈羰基氰化物(FCCP)等质子载体处理时, Si 的输出活性被抑制, 说明 *OsLsi2* 介导的 Si 的转运是一个由质子梯度驱动的耗能过程. *OsLsi2* 在根中的表达与 *OsLsi1* 相似, 其转录水平在距根尖 0~10 mm 非常低, 而在根的成熟区较高^[20, 26], 且表达受 Si 和 ABA 处理下调. 另外, *OsLsi1/OsLsi2* 在抽穗期的表达水平暂时性升高, 而从圆锥花序开始到抽穗期植株 Si 吸收量占整个生育期总量 67%, 表明 *OsLsi1/OsLsi2* 的表达与生殖发育期对 Si 的高吸收量相一致^[4, 16]. *OsLsi1* 与 *OsLsi2* 的启动子序列比对分析表明, 二者具有相同转录因子的调控元件, 如与 *rd22* 基因启动子的 MYB2 和 MYC 作用元件. 基于 *OsLsi1* 和 *OsLsi2* 在根细胞中的定位及其转运特性不同, 其中任一基因缺失都会导致水稻 Si 吸收量急剧下降^[4, 20], 因此二者在水稻吸收转运 Si 过程中具有协同作用. *OsLsi1* 负责将土壤溶液中的 $\text{Si}(\text{OH})_4$ 输入到根的外皮层细胞中, *OsLsi2* 将 $\text{Si}(\text{OH})_4$ 释放到质外体轮辐状结构中. 接着 *OsLsi1* 将 $\text{Si}(\text{OH})_4$ 转运到内皮层细胞, *OsLsi2* 再将 $\text{Si}(\text{OH})_4$ 释放到中柱中^[16]. Si 转运蛋白的这种协同作用可能是水稻 Si 累积量显著高于其他禾本科植物的一个重要原因.

3.2.2 *HvLsi2/ZmLsi2*.

Mitani 等^[23]又分别从大麦和玉米中分离出 2 个与 *OsLsi2* 功能相似的 Si 转运蛋白基因 *HvLsi2* 和 *ZmLsi2*, 二者编码的蛋白质在氨基酸水平与 *OsLsi2* 具有 86% 的相似性. *HvLsi2/ZmLsi2* 均在根中表达, 且基根表达水平高于根尖. 免疫显色实验表明, *HvLsi2/ZmLsi2* 定位于胚根和侧根基部的内皮层细胞, *ZmLsi2* 在玉米特征性结构冠根中没有观察到, 也没有发现其具有与 *OsLsi2* 相似的极性分布. 8 个大麦品种分析表明, *HvLsi2* 的表达水平与 Si 的吸收量呈正相关. 连续 7 天供 Si, *HvLsi2/ZmLsi2* 表

达水平分别降低至 20% 和 50%, 而 *HvLsi1/ZmLsi1* 却不受影响, 表明 *Lsi2* 的表达可能在调控大麦和玉米吸收转运 Si 的过程中起关键作用^[23]. 水稻连续供 Si 时, *OsLsi1* 和 *OsLsi2* 的表达都降低到原来的 25%^[16], 表明水稻与大麦和玉米具有不同的 Si 吸收调节机制.

3.3 Si 转运蛋白 *Lsi6*

研究表明, 植物吸收的 Si 超过 90% 被转运至地上部, 然而, Si 在地上部的转运和分布机制尚不十分清楚. 水稻木质部汁液中 Si 的浓度分别比黄瓜和番茄的高 20 和 100 倍, 由此推测可能有未知的 Si 转运蛋白参与木质部 Si 的上载和卸载^[19]. 目前鉴定的与 Si 在植物地上部分配有关的 Si 转运蛋白有水稻 *OsLsi6* 和玉米 *ZmLsi6*.

3.3.1 *OsLsi6*.

基于 Si 转运蛋白同源性研究, Yamaji 等^[24]在水稻基因组中发现一个 *OsLsi1* 同源基因 *OsNIP2; 2*, 命名为 *OsLsi6*. *OsLsi6* 含有 4 个内含子和 5 个外显子, ORF 长 894 bp, 其编码的蛋白质有 298 个氨基酸, 与 *OsLsi1* 有 77% 的相似性. *OsLsi6* 和 *OsLsi1* 同属 NIP III 水通道蛋白亚族, 具有 Si 输入转运活性. 不同的是 *OsLsi6* 除在根未成熟区 (0~10 mm) 中表达外, 还在叶鞘和叶片中表达. 免疫荧光染色结果表明, *OsLsi6* 主要定位于根未成熟区 (距根尖 5 mm) 所有类型细胞质膜, 且表现出与 *OsLsi1* 相似的极性分布, 而在成熟区 (距根尖 30 mm) 的表达急剧下降. 在地上部 *OsLsi6* 定位在叶片和叶鞘木质部薄壁细胞, 并在靠近导管一侧细胞表现出极性分布特征, 表明 *OsLsi6* 在 Si 的吸收转运中可能扮演着不同于 *OsLsi1* 和 *OsLsi2* 的角色.

由于 *OsLsi6* 在根中主要在根尖表达, 而根尖缺少 Si 输出功能的 *Lsi2*, 所以其对 Si 吸收的贡献甚微, 推测 *OsLsi6* 并不是将吸收的 Si 转运到地上部, 而是留在根尖区以提高根对多种胁迫的抗性, 但 *OsLsi6* 确切作用还有待于研究. 连续 6 天供 Si, *OsLsi6* 在根和叶片中的表达水平降低, 而在叶鞘中的表达基本不受影响. 通过 T-DNA 插入突变、RNAi 基因敲除和 Tos17 插入突变 3 种方法抑制 *OsLsi6* 表达, 结果均显示突变体木质部汁液中 Si 的浓度和野生型基本没有差别, 而吐水中 Si 浓度显著升高, 表明抑制 *OsLsi6* 的表达不影响根对 Si 的吸收, 而是改变了木质部汁液中的 Si 进入叶片

的途径. 同时, 利用扫描电子显微镜 /X- 射线能谱仪(SEM/EDX)观察发现, 在水稻叶片中硅化细胞的分布发生变化. 水稻叶片中有 2 种硅化细胞: 硅质细胞和硅体或硅化运动细胞. 硅质细胞主要位于叶脉的表皮, 呈哑铃状; 硅体, 又称作植物岩、植物蛋白石, 位于叶鞘和叶片中的泡状细胞上. 野生型叶片中, 哑铃状的运动细胞平行于静脉有序排列. 然而, 在 T-DNA 突变体中, 硅化的表皮细胞很多, 野生型中却很少发生, 此外, 哑铃型运动细胞的 Si 信号密度明显弱于野生型, 表明抑制 *OsLsi6* 的表达改变了木质部 Si 向叶片特异细胞的转运, 说明 *OsLsi6* 可能是负责木质部 Si 的卸载和分配^[21]. 在禾本科植物中, 根部吸收的矿质元素并不是直接运输到谷粒中, 而是在植物节点处重新分配, 此过程对矿质元素在圆锥花序中的选择性累积起着关键作用^[27]. 进一步研究发现, 在水稻圆锥花序完全出现时, *OsLsi6* 主要在连接旗叶和圆锥花序的第一个节点大量表达, 而在颖果、花叶轴和总花柄等花序组织中未观察到. *OsLsi6* 定位于第一个节点木质部肥大维管束外边界木质部的传递细胞, 敲除 *OsLsi6* 导致花序中 Si 累积降低, 而旗叶中 Si 累积升高, 说明 *OsLsi6* 是一种维管间运输的 Si 转运蛋白, 参与 Si 由大维管束向连接花序的分散维管束转运的过程. 硅酸在节点的重新分配和向圆锥花序中的转运, 最终到达并积累在稻壳中; 由于 *OsLsi6* 在花序器官中不表达, 因此, Si 在稻壳的分配可能涉及未鉴定的 Si 转运蛋白^[27].

3.3.2 ZmLsi6.

ZmLsi6 其 ORF 全长 885 bp, 推导蛋白有 294 个氨基酸, 氨基酸水平上与 *OsLsi6* 具有 89% 的相似性. *ZmLsi6* cRNA 在爪蟾卵母细胞中异源表达, 表明 *ZmLsi6* 具有 Si 输入转运功能. 免疫荧光染色表明 *ZmLsi6* 在胚根中几乎不表达, 而在侧根和冠根中表达, 但表达无极性分布. 在地上部 *ZmLsi6* 主要定位于叶鞘和叶片木质部薄壁细胞上, 并在薄壁细胞靠近导管的一侧表现极性分布. 此外, 连续 7 天供 Si, *ZmLsi6* 在胚根、冠根和叶鞘的表达不受影响. 由于 *ZmLsi6* 不能敲除, 无法直接证明其功能, 从其细胞定位和转运功能推测, *ZmLsi6* 和 *OsLsi6* 功能相似^[22].

4 展 望

目前, 植物 Si 转运蛋白和 Si 吸收方面的研究

还有许多疑点. Si 转运蛋白的研究局限在部分禾本科 Si 富集植物中, 双子叶植物积累 Si 的水平较水稻低得多, 双子叶植物中是否存在 Si 转运蛋白尚不清楚. 不同植物 Si 吸收累积能力不同, 这是由于 Si 转运蛋白亚细胞定位不同、还是由于 Si 转运蛋白的密度或其自身活性的差异? Si 转运蛋白的细胞分布具有极性, 其分布机制还不为人所知^[6]. Si 转运蛋白的表达是如何调控的, 不同转运蛋白之间如何协同作用? 所有这些问题均需要进一步研究. 最近, Li 等^[28]研究发现 *OsLsi1* 参与吸收不游离的甲基砷, Zhao 等^[29]发现 *OsLsi1* 介导水稻对 Se 的吸收. 因此, 深入研究 Si 吸收转运机制, 有利于理解其他矿物质的吸收转运系统及调控, 从而提高有益元素的吸收, 降低有害元素在植物可食部分的积累, 推进提高植物抗逆性的研究.

参 考 文 献

- [1] Chiba Y, Mitani N, Yamaji N, *et al.* HvLsi1 is a silicon influx transporter in barley. *Plant J*, 2009, **57**(5): 810–818
- [2] Sauer D, Saccone L, Conley D J, *et al.* Review of methodologies for extracting plant-available and amorphous Si from soils and aquatic sediments. *Biogeochemistry*, 2006, **80**(1): 89–108
- [3] Epstein E. The anomaly of silicon in plant biology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91**(1): 11–17
- [4] Ma J F, Tamai K, Yamaji N, *et al.* A silicon transporter in rice. *Nature*, 2006, **440**(30): 688–691
- [5] Shi G R, Cai Q S, Liu C F, *et al.* Silicon alleviates cadmium toxicity in peanut plants in relation to cadmium distribution and stimulation of antioxidative enzymes. *Plant Growth Regu*, 2010, **61**(1): 45–52
- [6] Pilon-Smits E A, Quinn C F, Tapken W, *et al.* Physiological functions of beneficial elements. *Curr Opin Plant Biol*, 2009, **12**(3): 267–274
- [7] Cai K, Gao D, Chen J, *et al.* Probing the mechanisms of silicon-mediated pathogen resistance. *Plant Signal Behav*, 2009, **4**(1): 1–3
- [8] Tamai K, Ma J F. Reexamination of silicon effects on rice growth and production under field conditions using a low silicon mutant. *Plant Soil*, 2008, **307**(1–2): 21–27
- [9] Ma JF, Yamaji N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends Plant Sci*, 2006, **11**(8): 392–397
- [10] Savaas D, Giotis D, Chatzieustratiou E, *et al.* Silicon supply in soilless cultivations of zucchini alleviates stress induced by salinity and powdery mildew infections. *Environ Exp Bot*, 2009, **65**: 11–17
- [11] Ma J F, Mitani N, Nagao S, *et al.* Characterization of Si uptake system and molecular mapping of Si transporter gene in rice. *Plant Physiol*, 2004, **136**(2): 3284–3289
- [12] 邹邦基. 植物的硅素营养. *土壤通报*, 1980, (3): 44–45
Zou B J. *Chin J Soil Sci*, 1980, (3): 44–45
- [13] Currie H A, Perry C C. Silica in plants: biological, biochemical and

- chemical studies. *Ann Bot*, 2007, **100**(7): 1383–1389
- [14] Wiese H, Nikolic M, Römheld V. Silicon in plant nutrition// Sattelmacher B, Horst W J. *The Apoplast of Higher Plants: Compartment of Storage, Transport and Reactions*. Berlin:Springer, 2007: 33–47
- [15] 王荔军, 郭中满, 李铁津, 等. 生物矿化纳米结构材料与植物硅营养. *化学进展*, 1999, **11**(2): 119–128
Wang L J, Guo Z M, Li T J, *et al.* *Prog Chem*, 1999, **11**(2): 119–128
- [16] Ma J F, Yamaji N. Functions and transport of silicon in plants. *Cell Mol Life Sci*, 2008, **65**(19): 3049–3057
- [17] Ma J F, Goto S, Tamai K, *et al.* Role of root hairs and lateral roots in silicon uptake by rice. *Plant Physiol*, 2001, **127**(4): 1773–1780
- [18] Tamai K, Ma J F. Characterization of silicon uptake by rice roots. *New Phytol*, 2003, **158**(3): 431–436
- [19] Mitani, Ma J F. Uptake system of silicon in different plant species. *J Exp Bot*, 2005, **56**(4–14): 1255–1261
- [20] Ma J F, Yamaji N, Mitani N, *et al.* An efflux transporter of silicon in rice. *Nature*, 2007, **448**(7150): 209–212
- [21] Yamaji N, Mitani N, Ma J F. A transporter regulating silicon distribution in rice shoots. *Plant Cell*, 2008, **20**(5): 1381–1389
- [22] Mitani N, Yamaji N, Ma J F. Identification of maize silicon influx transporters. *Plant Cell Physiol*, 2009, **50**(1): 5–12
- [23] Mitani N, Chiba Y, Yamaji N. Identification and characterization of maize and barley Lsi2-like silicon efflux transporters reveals a distinct silicon uptake system from that in rice. *Plant Cell*, 2009, **21**(7): 2133–2142
- [24] Mitani N, Ma J F, Iwashita T. Identification of the silicon form in xylem sap of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol*, 2005, **46**(2): 279–283
- [25] Mitani N, Yamaji N, Ma J F. Characterization of substrate specificity of a rice silicon transporter, Lsi1. *Pflügers Arch*, 2008, **456**(4): 679–686
- [26] Yamaji N, Ma J F. Spatial distribution and temporal variation of the rice silicon transporter Lsi1. *Plant Physiol*, 2007, **143**(3): 1306–1313
- [27] Naoki Yamaji, Jian Feng M a. A transporter at the node responsible for intervascular transfer of silicon in rice. *Plant Cell*, 2009, **21**(9): 2878–2883
- [28] Li R Y, Ago Y, Liu W J, *et al.* The rice aquaporin Lsi1 mediates uptake of methylated arsenic species. *Plant Physiol*, 2009, **150**(4): 2071–2080
- [29] Zhao X Q, Mitani N, Yamaji N, *et al.* Involvement of silicon influx transporter OsNIP2;1 in selenite uptake in rice. *Plant Physiol*, 2010, **153**(4): 1871–1877

Advances in The Uptake and Translocation of Silicon in Plants*

ZHANG Yu-Xiu¹⁾, LIU Jin-Guang¹⁾, CHAI Tuan-Yao^{2)**}, JIN Ling¹⁾

¹⁾ School of Chemical and Environmental Engineering, China University of Mining & Technology (Beijing), Beijing 100083, China;

²⁾ College of Life Science, Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Silicon exerts beneficial effects on plant growth and development by alleviating biotic and abiotic stresses. The uptake and translocation of Si in plants is mediated by Si transporters, recently, several genes encoding Si transporters have been identified from rice, barley and maize. OsLsi shows polar localization in root tissues, OsLsi1 is localized at the plasma membrane of both exodermis and endodermis on the distal side in rice roots, where Casparian strips exist; OsLsi2 is localized on the proximal side of the same cells. Therefore, OsLsi1 is responsible for transport of Si from the external solution to the root cells, whereas OsLsi2 is an efflux transporter responsible for the transport of Si from the exodermal cells to the apoplast of aerenchyma; Si is transported into the stele by OsLsi1 and OsLsi2 coordination and then translocated to the shoot by transpirational flow through the xylem. OsLsi6 was observed in the xylem parenchyma cells that were adjacent to vessels in both leaf sheaths and leaf blades besides roots, which is responsible for the export of Si from the xylem and for the subsequent distribution of Si. In maize and barley, Si is taken up from the external solution by the influx transporter (ZmLsi1/HvLsi1) localized on the distal side of cells in the epidermis and cortex layer, and then transferred to the endodermis through the symplastic pathway. At the endodermis, Si is released by an active Si efflux transporter (ZmLsi2/HvLsi2) to the stele. In addition, ZmLsi6 has the similar the localization and transport activity with OsLsi6 and might have similar functions, however, the Lsi6 in barley is not identified until now. More researches in the mechanism of Si transport in plant are needed further.

Key words silicon, transporter, mechanism

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00528

* This work was supported by grants from National Major Special Project on New Varieties Cultivation for Transgenic Organisms(2009ZX08009-130B) and The Fundamental Research Funds for The Central Universities(2010YH05).

**Corresponding author.

Tel/Fax: 86-10-88256343, E-mail: tychai@gucas.ac.cn

Received: October 13, 2010 Accepted: December 8, 2010