

水孔蛋白与植物的水分运输

雷 琴, 夏敦岭, 任小林

(西北农林科技大学园艺学院, 陕西 杨陵 712100)

摘 要: 水孔蛋白是水专一性通道蛋白, 属于膜内在主体蛋白, 普遍存在于动、植物及微生物中。其种类繁多、分布广泛, 与植物体内水分的快速、高效运输密切相关。就水孔蛋白的发现、结构、类型、分布、生化特性、调节和功能与植物的水分运输进行简单综述。

关键词: 植物水分运输; 水孔蛋白; 生化特性; 调节; 功能

中图分类号: S601

文献标识码: A

文章编号: 1005-3409(2005)03-0081-05

Aquaporin and Water Transport in Plant

LEIQ in, XIA Dun-ling, REN Xiao-lin

(Department of Horticulture, Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Aquaporins are integral membrane proteins, belong to major integral proteins (MIP), occurring in mammals, plants and micro-organisms, which serve as channels that facilitate water transport across biomembranes. Higher plants contain abundant aquaporins. They have closely relations with quick and efficient water transport in plants. The finding, structure, style, distribution, characteristic, regulation and function of aquaporins that relate with water transport in plants are discussed.

Key words: plant water transport; aquaporin; biochemistry characteristic; adjustment; function

1 水孔蛋白的发现

植物生存离不开水, 水分出入细胞和组织更是植物生理代谢的基本过程。长期以来人们普遍认为植物体中的水分是以自由扩散的方式跨越脂质双层膜, 但是人们在研究人的内脏细胞过滤水、植物种子萌发及花粉管伸长等问题的过程中, 发现存在着水分的大量快速的进出细胞。还有人发现生物膜的水通透系数 P_f 远大于扩散水通透系数 P_d , 这些现象是用水分自由扩散跨膜所不能解释的^[1]。因此人们猜测水分跨膜应不仅只有自由扩散这一种方式, 可能还有介导水分运输的孔道蛋白存在。

1988 年 Dreyer 等^[2]从人的红细胞膜中分离到一种分子量为 28kDa 的含亲水性氨基酸的未知蛋白, 即为细胞膜水通道。氨基酸测序得知它和眼晶状体主体内在蛋白 MIP26 是同系物。最早将其定名为 CHIP28, 1997 年基因组命名委员会正式将其定名为 AQP1。后来越来越多已知序列的相关蛋白被确定, 就根据 MIP26 将这一大类蛋白命名为 MIP 家族。1992 年 Agre 研究小组在爪蟾卵母细胞表达系统中对得

到的蛋白进行了功能鉴定, 证明其参与了膜上的水分运转^[3]。从此揭开了人们研究水孔蛋白的序幕。在植物中第一个水孔蛋白 γ -TIP 是由 Maurel 等人于 1993 年^[4]从拟南芥中分离得到的, 它位于液泡膜上。其 cDNA 在爪蟾卵母细胞中异源表达, 证明它具有水分运输特性。1994 年 Kommerloher 等^[5]用拟南芥根质膜内在总蛋白产生的多克隆抗血清来免疫筛选拟南芥 cDNA 文库得到几个阳性克隆。经鉴定为植物质膜内在蛋白。一时间出现了水孔蛋白的研究高潮。

由于绝大多数植物水孔蛋白都为水专一性选择通道, 因此, 对水孔蛋白与植物水分运输之间关系的研究也更深入了。

2 水孔蛋白的结构

植物水孔蛋白属于跨膜蛋白 MIP 超家族^[1]。这些膜蛋白由 6 个跨膜结构域(通过五个亲水环 A、B、C、D、E 相连)和两端短的 N、C 端组成。其中 B、D 环位于膜细胞质一侧, A、C、E 环位于膜另一侧。其一级结构呈内部同源性, 即它的

收稿日期: 2005-01-10

基金项目: 国家“十五”科技攻关(2001BA606A-04)资助项目

作者简介: 雷琴(1979-), 女(汉), 陕西绥德人, 在读硕士, 主要从事果实采后生理研究; 通讯作者: 任小林, 博士, 副教授, 从事果树生理及采后处理研究工作。

N 端蛋白与 C 端蛋白具同源性, 以一种对称形式存在, 这被推测为是基因内部扩增而成。蛋白的每半部分各包含一个由三个氨基酸组成的结构域 NPA 盒。NPA 盒高度保守, 已知序列的 MIP 基因中几乎所有基因均具有该结构域^[6]。第一个 NPA 盒位于第一个胞质环 B 中, 第二个 NPA 盒位于第三个胞外环 (PIPs) 或第三个液泡膜内环 (TIPs) E 中, 且不同类型水孔蛋白有特定的 NPA 盒氨基酸序列。

为探讨水孔蛋白的运水机理, 人们提出了几种关于水孔蛋白的二级拓扑模型的假设, 但至今被普遍接受的是 Jung 等提出的“水漏模型”^[7]。在此模型中含 NPA 结构域的两环均折向质膜或液泡膜, 同时水孔蛋白对称的两半部分相对角度为 180°, 这样两个 NPA 盒在脂双层中间形成一个可双向运输水分的孔道。孔道直径约为 0.3 nm, 大小为一个水分子, 其他小分子如尿素等不能通过。由它介导的水跨膜运输不伴有膜电导性的增加, 表明水孔蛋白也不允许质子或离子通过, 形成了水专一性通道。天然 AQP1 单体分子第 73 个氨基酸丙氨酸, 第 189 个氨基酸半光氨酸在每个环上均位于 NPA 序列前两个氨基酸处, 若用其他氨基酸代替它们, 将导致水转运的障碍。这就应证了一级结构中高度保守的 NPA 盒在水孔蛋白运水功能上的重要作用, 也暗示了其运水专一性的分子基础。

每个单体在功能上都可作为一独立的水通道, 对称性结构使 AQP 可双向运动。但水孔蛋白四级结构多呈四聚体, 少数以二聚体或单体存在。四级结构在变性去污剂处理后, 4 可历数月也极稳定^[1]。所以四聚体结构可能对于蛋白质的折叠稳定性和/或其在膜上的定位很重要。

虽然植物水孔蛋白大多具有运水专一性, 但也有例外。如大豆与细菌共生膜上的水通道 NOD26 除转运水外, 对甘油、甲酰胺、尿素也具有一定的通透性。

3 植物水孔蛋白的类型和分布

植物水孔蛋白依据其在细胞膜中的定位可分为三大类: 质膜内在蛋白 PIPs (Plasma membrane intrinsic proteins) 位于质膜上, 分为 PIP1、2、3 三类; 液泡膜内在蛋白 TIPs (Tonoplast intrinsic proteins) 处于液泡膜上, 分为 α 、 β 、 γ 、 δ TIP 四类; NLM 蛋白 NIPs (Nodulin 26-like intrinsic proteins) 位于根瘤菌共生体膜上, 包含 NOD26、LIP2。除 NIPs 外, 其余两类植物水孔蛋白均为水专一性通道蛋白。

到目前为止, 在拟南芥、烟草、玉米、豌豆、水稻、马铃薯、桃、郁金香等多种植物中都发现了水孔蛋白, 另外从蛋白质数据库中发现了大量水孔蛋白的同源物, 广泛存在于单双子叶植物中, 据氨基酸序列分析, 它们可能也是水孔蛋白^[8]。

从表 1 可以看出植物水孔蛋白的各类均在不同的植物、不同的器官中有分布, 而同一种植物的同一器官组织中有时也可能同时分布着多种不同类的水孔蛋白, 暗示水孔蛋白在植物水分运转过程中起着广泛的作用。越来越多的研究表明水孔蛋白同源物在植物中含量丰富。菜豆子叶中含丰富的 α

- TIP 同源物, 约占细胞可抽提总蛋白的 2%; 在拟南芥中, 至少含有 20 个以上的 AQP 同源物, 其中 PIP1 蛋白占叶与根质膜蛋白的 1% 以上; 菠菜叶肉细胞含丰富质膜水孔蛋白, 占质膜总蛋白的 20%。由于水孔蛋白运水效率很高, 不难推测植物水孔蛋白在有些植物的水分动转中起主要的作用。

表 1 植物水孔蛋白类型和分布一览表

| 水孔蛋白基因类型 | | 植物分布 | 组织、器官分布 |
|----------|-------------------------|-------|-------------------------------------|
| PIP | PIP1a | | 根、叶 |
| | PIP1c | 拟南芥 | 根、叶 |
| | PIP1 δ | | 根、叶、茎 |
| | ZmPIP1-5b | 玉米 | 根 ^[9] |
| | AthPIP1a | 豆科植物 | 根 ^[10] |
| | PM28A | 菠菜 | 叶片 ^[11] |
| | PIP1、1b、1c、2c、2、2b | 小萝卜 | 果皮、子叶、主根叶子、种子、雄蕊、花瓣 ^[12] |
| | rw c3 | 大米 | 幼叶 ^[13] |
| | ScPIP2a | 野生马铃薯 | 发育的果实、子房、花 ^[14] |
| | PM-AQP | 郁金香 | 花瓣 ^[15] |
| TIP | PIP2a | 大米 | 受害的种子、根 ^[16] |
| | TIP δ 、 γ | | |
| | VM23 | 小萝卜 | 除果皮外 ^[12] |
| | M cTIP1; 2 | 冰草 | 叶 ^[17] |
| | LMP1 | 豆科根瘤 | 根瘤、根 ^[18] |
| | BobTIPs | 绿菜花 | 菜花头 ^[19] |
| | TaTIP2; 1 | 小麦 | 植株 ^[20] |
| NIPs | α -TIP | 马铃薯 | 种子 |
| | LeAqp2 | 西红柿 | 染病组织 ^[21] |
| | LMP2 | 根瘤 | 成熟固氮根瘤 ^[22] |

4 植物水孔蛋白的生化特性

与脂双层扩散相比, 水通道蛋白具有活化能低 < 20.9 kJ/mol, 水通透系数高 > 0.02 cm/s, 无温度依赖性, 对汞敏感, 相对专一性选择转运水分子等特性, 使它具有大量快速跨膜转运水分子的优势。也不同于许多离子通道需要大量耗能主动运输, 水孔蛋白是在水势梯度的驱动下进行被动水分跨膜运输的^[1], 因此它耗能少、效率高。这样才使得植物能在短期大量转运水分来达到水分平衡, 适应多变的外界环境或是完成某些特殊的生理生化过程。

5 水孔蛋白的调节

5.1 外部环境对水孔蛋白的调节

用压力探针技术对完整细胞进行实验, 发现水通道蛋白像离子通道一样, 有张开、关闭两种状态。外界环境如干旱^[23, 27, 28]、高盐^[26]、脱落酸^[24]、赤霉素^[25]、光质^[25]、低温^[28]、营养亏缺等都能影响水孔蛋白的开关。

拟南芥中水孔蛋白基因 AthH2 受光质和激素调节, 蓝光 (400~550 nm)、白光、GA、ABA 可使水孔蛋白基因表达受到激活, 而红光、IAA 对 AthH2 基因的表达无激活作

用^[25]; 油菜素内酯在拟南芥中通过调控下胚轴细胞质的渗透势控制植物跨细胞的水通路, 来调节水孔蛋白的活性^[28]; 大米 (*Oryza sativa* cv. Josaeng tongil) *ncldDNA* 渗透胁迫开始 6 h 后从根中消失, 且翻译水平在 24 h 内保持着低水平, 之后才又恢复, 冷害及复温情况下, 大米叶片水孔蛋白的翻译水平是通过渗透胁迫与恢复来实现的^[29]; Ca^{2+} 振荡直接引起水孔蛋白活性的振荡^[30]; 除水孔蛋白基因 *PIP2; 5* 在冷处理时被激活外, 大多数 *PIP* 基因受到冷胁迫时被抑制; 干旱胁迫对 *PIP* 表达也有上调和下调的控制; 盐胁迫对水孔蛋白基因的调节不显著; 水孔蛋白基因对 ABA 的反应依个体不同而不同, 有人认为水孔蛋白的表达调控涉及 ABA 依赖型及 ABA 不依赖型两种信号途径^[31]; 在玉米根中特异表达的 *ZmTIP2-3* 水孔蛋白基因在盐胁迫和水胁迫时其转录水平上升, ABA 对其转录无影响, 同时观察到其表达的白天——夜晚振荡循环。^[32]

5.2 时空特异性表达对水孔蛋白的调节

玉米根 *cDNA* 文库中发现的 *InPIP1-5* 的表达有一个白天——夜晚的振荡循环, 显示这种调节有组织特异性^[10]; 小萝卜的 *PAQ₂* 蛋白水平在绿色子叶或叶子中很高, 但在萌发下胚轴中却很低。 *PAQ1; 2 VM23* 在绿色果皮中很高, 但在未成熟种子里无分布^[12]; 从野生马铃薯 (*Solanum chacoense* Bitto) 生育器官中分离出一个受精诱导的水孔蛋白 *ScPIP2a*, 它的合成是受发育阶段调控的, 其 *mRNA* 在花瓣近成熟时逐渐减少, 在花器中, 伸长的花柱、雄蕊、受精后的子房均有 *ScPIP2a* 的强烈表达。花柱中的最大表达与花柱快速伸长及表皮组织的形成相关, 其 *mRNA* 也在生长果实中有强烈表达, 持续在成熟发育细胞的膨胀中起作用^[14]; 有显示水孔蛋白有一个运输通路使得它能从被生成地运至目的地膜上——在核内体间转移, 这在水孔蛋白调节上起着重要作用^[17]。

5.3 通过调节水孔蛋白的活性来调节其功能

菠菜叶片质膜内在蛋白 *PM28A* 受到磷酸化/去磷酸化的调节, C 端 *Ser274* 及第一个胞质环的 *Ser15* 是调节 *PM28A* 活性的位点^[11]; 郁金香花瓣中分离出的 31kDa 的 *PM-AQP* 的活性受到磷酸化调节^[15]; 天然 α -*TIP* 胞质侧含有 3 个磷酸化位点 (*Ser7*, *Ser23*, *Ser99*), 每个磷酸化位点可独立调节 α -*TIP* 转运活性, 但不同位点对蛋白激酶及蛋白磷酸酶的敏感性不同。其中 *Ser7*, *Ser99* 在 α -*TIP* 活性调节中更为重要, 这可能由于它们更易被蛋白激酶及蛋白磷酸酶接近的缘故。 α -*TIP* 通过磷酸化/脱磷酸化调节着水孔蛋白的开和关, 进而缓解了种子吸水时胞质渗透势的变化并控制液泡体积; 菠菜叶片质膜上的水孔蛋白的同源物的活性也受磷酸化的调节, 且 *PM28A* 在体外的磷酸化需要 mmol 级 Ca^{2+} 参与; 磷酸化的发生受质外体的水势影响, 当质外体的水势增加时, *PM28A* 在 *Ser274* 的磷酸化程度也增加, 在高的质外体水势情况下, 有 50% 以上的 *PM28A* 在该位点被磷酸化, 这种现象解释了在水分亏缺时植物对水分的调节机

制, 即当环境水分亏缺时质外体水势降低, *PM28A* 的磷酸化程度降低, 活性减弱或水孔关闭, 减少细胞的水分外流, 从而让植物有时间来合成积累渗透物质, 以适应胁迫; 当环境水势高时, *PM28A* 再度磷酸化, 水孔被开放。

6 水孔蛋白的功能

6.1 水孔蛋白促进植物体内水分运输的功能

许多植物不同部位都分布有水通道蛋白, 流经根中的水有 70% ~ 90% 通过水通道蛋白来传输, 该途径是水进出细胞的主要途径^[11]。水分在植物体内的大量运输是通过维管系统长距离运输实现的。根吸收的水分经过凯氏带进入导管, 茎、叶又从导管中获取水分, 这些生理过程都有水孔蛋白的参与。拟南芥中发现的水通道蛋白 δ -*TIP* 主要存在于茎的维管束中, 作用是在幼嫩的维管束细胞中产生水的流动, 而在成熟的维管束组织中保持水的透性^[19]。水孔蛋白的主要功能是通过增加渗透势或水力学导度来增加跨膜水流速率^[26]。 *PIP* 及 *TIP* 共同协调细胞质渗透势来维持植物正常的代谢过程, 体内蛋白抑制及反义突变研究表明, 水孔蛋白对植物体内水分的大量流动很重要。从海洋植物中分离出两种水孔蛋白编码基因 *PoPIP1; 1* 和 *PoTIP1; 1*, 通过在爪蟾卵母细胞中表达说明它们具有水分运输的功能^[33]; 不同品种的植物从遮荫处移至日光下, 其根系水导度下降。究其原因可知, 此反应对 HgCl_2 很敏感, 且与水孔蛋白密切相关的细胞——细胞运水路径受到阻碍, 反面证明了水孔蛋白的运水功能^[34]; 将 6 个 *R s PIPs* 和 2 个 *R s T I P s* 基因转入缺少内源水孔蛋白基因的 *Saccharomyces cerevisiae* BT5458 中, 通过阻流层析对其酵母转化体中的膜水通透性进行了检测, 得出处理比对照分别高出 10 倍和 5 倍 (*R s P I P s*, *R s T I P s*), 说明水孔蛋白增加了膜水通透性, 具有促进水运转的功能^[35]。

6.2 水孔蛋白在种子萌发、开花生理等生理活动的功能

郁金香花瓣中分离出的 *PM-AQP* 受到磷酸化的调节, 使花瓣在低温时 (5) 关闭, 高温时 (20) 开放, 调节植物的开花生理^[15]。硼的吸收与液体的被动扩散及水通道介导的水分跨膜转运极相关, 水孔蛋白的开张有利于硼的吸收^[36, 37]。 α -*TIP* 在种子成熟晚期积累, 在种子萌发及幼苗初期消失, 取代它的是另外一种水孔蛋白 γ -*TIP*。 α -*TIP* 的存在及其磷酸化/去磷酸化可以调节液泡的膨压及其融合, 而 γ -*TIP* 则与幼苗初期生长细胞的伸长有关, 它们共同在种子成熟与萌发过程中精细地调控着细胞的渗透行为^[38]。在拟南芥中发现的 *AtH2* 基因主要存在于分化细胞中及幼嫩组织或器官中, 而它在子叶及幼叶气孔的保卫细胞及其表皮细胞中有很高的表达活性, 说明 *AtH2* 蛋白可能也参与气孔运动^[39]。从烟草基因文库中筛选出 15 个与其有性生殖有关的基因, 体外表达证明其中两个为水孔蛋白编码基因, 而 *N t PIP2; 1* 是那个有效的水孔蛋白编码基因。显示其对花粉粒附着在子房上的水合作用很重要, 因为它促进了水分在细胞间或组织间的运动^[40]; 从菜花中获得的 *BoB TIP26-1*

广泛存在于伸展细胞中,虽然功能检测时其活性远不及在爪蟾卵母细胞异源表达体系中高,但确知其编码的蛋白以植物伸展细胞的液泡为作用对象,它不影响细胞的生长速率,但可以扩大细胞的体积,猜测细胞体积的变大可能是由液泡体积的扩大触发的^[41];与野生型大米相比,转入大麦水孔蛋白基因 HvPIP2-1 的转基因大米,由于转入基因的过量表达使得叶片 CO₂ 的导度增加了 40%,并伴随 CO₂ 的吸收增加了 14%,气孔导度增加了 27%^[42]。

6.3 水孔蛋白在逆境调节中的功能

根系细胞中的水孔蛋白的活性在干旱时消失,水孔蛋白的关闭能限制水分流失到干旱的土壤中,从而增加了植物对干旱的耐受能力^[27]。冷害情况下大米叶片水孔蛋白的表达受到了抑制,说明水孔蛋白基因表达的变化对耐冷反应很重要^[29]。冻害处理时,耐冷玉米 Z7 的水孔蛋白对根系的水导贡献率很大,维持了体内的水分运输,使得植物不至于结冻受到冷害^[43]。植物受到盐胁迫时,其光合作用类型会从 C3 转变为 CAM,此时水

孔蛋白的含量也有所变化。叶细胞膜中水孔蛋白的含量下降,根中基本保持不变。这一差异直接反映了逆境下叶中水孔蛋白含量的变化与光合作用类型的变化相关^[44]。

7 小 结

植物水孔蛋白的发现无疑使人们对水分在植物体内的快速跨膜运输有了全新的认识,也为生物学及其相关领域开辟了一条崭新的道路。目前,随着越来越多的植物水孔蛋白的发现,其结构与功能也进一步明确了。但是仍然存在许多问题,对水孔蛋白在植物体中的功能研究还只停留在体外研究——爪蟾卵母细胞异源表达系统,它是否能反映水孔蛋白在植物体内的真实功能呢?另外水孔蛋白的许多功能都是间接推测的,没有直接的证据,怎样实现这一跨越呢?水孔蛋白的合成途径是什么?它的调控涉及多个大的方面,但真实的精细调控是怎样实现的?水孔蛋白是一个大家族,对它还需深入而细致的研究。

参考文献:

- [1] 于秋菊,林忠平,李景富.植物水孔蛋白研究进展[J].北京大学学报(自然科学版),2002,38(6):854-854
- [2] 李学军,于和鸣.水通道的分子生物学研究[J].生理学进展,1996,27(1):19-24
- [3] Prestor G M,Carroll T P,Guggino W B,et al Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing real cell CHIP28 protein[J]. Science,1992,28:385-387
- [4] Maurel C,Reizer J,Schroeder J I,et al The vacuolar membrane protein γ -TIP creates water specific channels in *Xenopus* Oocytes[J]. EMBOJ,1993,12(6):2241-2247
- [5] kammerloher W,Fischer V,Piechotta G P,et al Water channels in the plant plasma membrane cloned by immunoselection from an expression system[J]. Plant J,1994,6:187-199
- [6] Heymann Js,Engel A. Aquaporins: phylogery, structure and physiology of water channels[J]. New s Physiol Sci,1999,14:187-193
- [7] Jung JS,Presten GM,Smith BL,et al Molecular structure of the water channel though aquaporin CHIP[J]. J. Biol Chem,1994,269(20):14648-14654
- [8] 曹志方,赵南明,刘强.植物膜水通道蛋白[J].生命的化学,2000,20(1):29-31
- [9] Marilia Gaspar,Agnes Bousser,Igor Sissoeff,et al Cloning and Characterization of ZmPIPI-5b, an aquaporin transporting water and urea[J]. Plant Science,2003,165:21-31
- [10] Tobias Henzler,Rosemary N Waterhouse,et al Diurnal variations in hydraulic conductivity and root pressure can be correlated with the expression of putative aquaporins in the roots of *lotus japonicus*[J]. Planta,1999,210:50-60
- [11] Maria Karlsson,Dimitrios Fotiadis,et al Reconstitution of water channel function of an aquaporin over-expressed and purified from *Pichia Pastoris*[J]. FEB.,2003,537:68-72
- [12] Shinobu Suga,Shino Imagawa,Masyashi Maeshima. Specificity of the accumulation of RNA and proteins of the plasma membrane and tonoplast aquaporins in radish organs[J]. Plantea,2001,212:294-304
- [13] Hong-Li Lian,Xin Yu,et al The role of aquaporin RWCS in drought avoidance in rice[J]. Plant Cell Physiol,2004,45(4):481-489
- [14] Martin D Brin,Charles Bertrand,Daniel P Matton. Characterization of a fertilization-induced and developmentally regulated plasma-membrane aquaporin expressed in reproductive tissues, in the wild potato *Solanum Chaconense* Bitt [J]. Planta,2002,215:485-493
- [15] Abul Ralam Azad,Yoshihiro Sawa,et al Phosphorylation of plasma membrane aquaporin regulates temperature dependent opening of Tulip Petals[J]. Plant Cell Physiol,2004,45(5):608-617
- [16] Ling Yang,Bingsong Zheng,et al cDNA AFLP analysis of inducible gene expression in rice seminal root tips under a water deficit[J]. Gene,2003,314:141-148
- [17] Peter V,Minorsky. Cyclic AMP and Aquaporin Trafficking[J]. Plant physiology,2004,135(4):2039
- [18] James F,Guenter,Daniel M Roberts. Water-selective and multifunctional aquaporins from *Lotus japonicus* nodules [J]. Planta,2000,210:741-748

- [19] 徐继忠, 陈海江, 章文才. 外源多胺对富士苹果花和幼果内源多胺与激素的影响[J]. 园艺学报, 2001, 28(3): 206- 210
- [20] Thomas P Jahn, Anders L B Møller. Aquaporin homologues in plants and mammals transport ammonia[J]. FEBS, 2004, 574: 31- 36
- [21] Monika Werner, Norbert Vehlein, et al. Characterization of two tomato aquaporins and expression during the incompatible interaction of tomato with the plant parasite *Cuscuta reflexa*[J]. Planta, 2001, 213: 550- 555
- [22] Ian S Wallace, David M Wills, et al. Functional Selectivity for glycerol of the nodulin 26 subfamily of plant membrane intrinsic proteins[J]. FEBS, 2002, 523: 109- 112
- [23] J Auresia Siemens, Janusz J, Zwiazek. Effects of Water deficit stress and recovery on the root water relations of trembling aspen (*Populus tremuloides*) seedlings[J]. Plant Science, 2003, 165: 113- 120
- [24] Raphael Morillon, Manuella Catterou, et al. Brassinolide may control aquaporin activities in *Arabidopsis thaliana*[J]. Planta, 2001, 212: 199- 201
- [25] R Kaldenhoff, A Kolling G Richte. Regulation of the *Arabidopsis thaliana* aquaporins gene *AtH2 (PIP1b)* [J]. J. Photochem. Photobiol B: Biol, 1996, 36: 351- 354
- [26] A E Hill, B Shachar- Aill, Y, Shachar- Hill. What Are Aquaporins For[J]. J. Membrane Biol, 2004, 197: 1- 32
- [27] G B North, P S Nobel. Heterogeneity in water availability alters cellular Development and Hydraulic Conductivity along Roots of a desert Succulent[J]. Annals of Botany, 2000, 85: 247- 255
- [28] Raphael Morillon, Jean- Paul Lassalles. Water deficit during root development: effects on the growth of roots and osmotic water permeability of isolated root protoplasts[J]. Planta, 2002, 214: 392- 399
- [29] Le gong L i, shi- fang L i, Yan Tao, et al. Molecular Cloning of a novel water channel from rice: its products express in *Xenopus* oocytes and involvement in Chilling tolerance[J]. Plant Science, 2000, 154: 43- 51
- [30] Yan L i, Gen- Xuan Wang, Ming Xin, et al. The Parameters of guard cell calcium oscillation encodes stomatal oscillation and closure in *Vicia faba*[J]. Plant Science, 2004, 116: 415- 421
- [31] J, Young Jang, Dong Go Kim, et al. An expression analysis of a gene family encoding plasma membrane aquaporins in response to abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Molecular Biology, 2004, 54(5): 713- 725
- [32] Felicie Lopez, Agnes Bousser, et al. Characterization in maize of Zn PIP2- 3 a root- specific tonoplast intrinsic protein exhibiting aquaporin activity[J]. J. Exp. Bota, 2004, (55): 539- 541
- [33] Pierluigi Maestrini, Tommaso Giordani, Andrea Lunardi, et al. Isolation and Expression of two Aquaporin Encoding Genes from the Marine Phanerogam *Posidonia Oceanica*[J]. Plant & Cell physiology 2004, 45(15): 1838
- [34] Michiru Shimizu, A tsushi Ishide and Taizo Hogetsu. Root hydraulic conductivity and whole plant water balance in tropical saplings following a shade- to- sun transfer[J]. Oecologia, 2004, 24(12): 1432- 1939
- [35] Shinobu Suga, Masayoshi Maeshima. Water Channel activity of radish plasma membrane Aquaporin heterologously expressed in yeast and their modification by site- directed mutagenesis[J]. Plant & Cell Physiology, 2004, 45(7): 823
- [36] Juan M Ruiz. Aquaporin and its function in Boron uptake[J]. TRENDS in Plant Science, 2001, 6(3): 95
- [37] Dordos C, et al. Permeability and channel- mediated transport of Dric acid across plane membrane vesicles isolated from squash root[J]. Plant Physiol, 2001, 124: 1349- 1362
- [38] Hoh B, Hinz G, Jeong BK, et al. Protein Storage Vacuoles from denovo during pea cotyledon Development[J]. J cell Sci, 1995, 108: 299- 310
- [39] Koldenhoff R, Kolling A, Meyers J, et al. The Blue light responsive *AtH2* gene of *Arabidopsis thaliana* is Primarily Expressed in Expanding as well as in differentiating Cells and Encodes a Putative Channel Protein of the plasma membrane[J]. Plant J, 1995, 7(1): 87- 95
- [40] Mare Bots, Richard Feron, et al. PIP1 and PIP2 aquaporins are differentially expressed during tobacco anther and stigma development[J]. J. Exper Botam 2005, 56(409): 113
- [41] Daniel Reisen, Nathalie Leborgne- Castel, et al. Expression of a cauliflower tonoplast aquaporin tagged with GFP in tobacco suspension cells correlates with an increase in cell size[J]. Plant Molecular Biology, 2003, 52(2): 387- 400
- [42] Yuko T Hanba, Mineo Shibasaki, et al. Over expression of the Barley aquaporin HvPIP2; 1 increase internal CO₂ conductance and CO₂ assimilation in the leaves of transgenic rice plants[J]. Plant & Cell Physiology, 2004, 45(5): 521
- [43] Ricardo Aroca, Franco Tognoni, et al. Different root low temperature response of two maize genotypes differing in chilling sensitivity[J]. Plant Physiol Biochem, 2001, 39: 1067- 1073
- [44] K N Bozhko, IM Zhestkova, et al. Aquaporin content in cell membranes of mesembry anthemum crystallinum as affected by plant transition from C3 to CAM type of Photosynthesis[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2004, 51(6): 798- 805