

植物氮素吸收与转运的研究进展

钟开新², 王亚琴^{1,2*}

(1. 华南师范大学 生命科学院, 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广州 510631; 2. 华南理工大学 生物科学与工程学院, 广州 510006)

摘要: 氮素是植物生长发育所必须的基本营养元素, 在植物生长发育和形态建成中起着重要作用。土壤中植物所利用的主要氮素形式是铵态氮和硝态氮, 在进化过程中植物形成不同的吸收和转运铵态氮和硝态氮的分子机制。该文对植物吸收与转运氮素的生理学特征、分子机制及涉及的相关基因等研究进行概括性综述, 为研究水稻中氮素吸收、转运相关基因提供理论基础。

关键词: 氮素转运; 硝态氮; 铵态氮; 分子机制

中图分类号: Q945.32 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)03-0414-04

Progress on nitrogen uptake and transport in plant

ZHONG Kai-Xin², WANG Ya-Qin^{1,2*}

(1. *Guangdong Key Lab of Biotechnology for Plant Development, College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; 2. School of Bioscience & Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China*)

Abstract: Nitrogen is a major nutrient element which plays a key role in plant growth and development. Nitrogen is available to plants both in the forms of nitrate and ammonium. A different molecular mechanism of nitrogen in their uptakes and transports is formed in plant evolution. In this paper, the physiological characteristics, molecular mechanism and relevant genes of nitrogen uptake and transport in plant are summarized, which may provide theoretical principles for the genes related to the nitrogen uptake and transport in rice.

Key words: nitrogen transport; nitrate; ammonium; molecular mechanism

植物能够吸收利用的氮素形态有硝态氮、铵态氮、亚硝态氮、单质态氮以及一些可溶性有机含氮化合物(An & Shangguan, 2006; 门中华等, 2010)。在植物体内, 吸收的氮素转变成氨基酸类物质, 参与蛋白质和核酸合成代谢, 因此, 氮素是植物需求量最大的矿质元素, 也是植物正常生长发育所必需的营养元素之一。植物从外界环境获取氮素主要通过 3 条途径: (1) 直接吸收土壤中的铵或有机氮; (2) 通过硝酸还原酶还原无机氮转化为植物可直接利用的有机

氮; (3) 通过固氮菌对 N₂ 的固氮作用(许振柱等, 2004)。对植物吸收转运氮素的生理过程及其分子遗传机制的研究, 有助于为培育高效利用氮肥的作物品种提供理论基础。

目前, 与氮素吸收和转运相关的基因在模式植物拟南芥中有较详细的研究, 而在水稻氮素吸收和转运相关的基因方面研究还较少, 拟南芥相关氮素转运研究对揭示水稻吸收和转运氮素的分子机制有巨大的借鉴意义。

收稿日期: 2010-09-22 修回日期: 2011-03-08

基金项目: 国家“863”项目(024-D90661); 广东省国际合作项目(2004B50201021); 广东省科技计划项目(2005B20101002, 2007A020100001); 广东省自然科学基金(07006553)[Supported by State“863”Project(024-D90661); International Cooperation Project of Guangdong Province(2004B50201021); Science and Technology Planning Project of Guangdong Province(2005B20101002, 2007A020100001); Natural Science Fund of Guangdong Province(07006553)]

作者简介: 钟开新(1984-), 男(畚), 福建龙岩人, 硕士研究生, 主要从事植物分子生物学的研究, (E-mail) zhongkai xin888@sina.com.

* 通讯作者: 王亚琴(1972-), 女, 博士, 主要从事植物分子生物学和基因工程的研究, (E-mail) yqwang@scut.edu.cn.

1 植物吸收转运氮素的生理学特征

植物根系对氮素吸收与对其它矿质离子吸收相似,氮素从土壤溶液进入植株根部表现自由空间,其后透过质膜进入细胞内部。可吸收利用的氮源主要是 NO_3^- 和 NH_4^+ 两种。根据吸收系统对 NO_3^- 亲和力的差异,可分为高亲和转运系统(HATS)和低亲和转运系统(LATS)。HATS 又分为组成型(cHATS)和诱导型(iHATS),LATS 只有组成型(cLATS)。此后,对转运系统进一步研究,认为 NRT1 家族蛋白主要参与 LATS,而 HATS 主要由 NRT2 家族蛋白参与进行(Anthony 等,2007)。与 NO_3^- 的转运类似,植物对 NH_4^+ 的吸收也有 HATS 和 LATS 之分。当外界 NH_4^+ 浓度较低时,HATS 起主导作用;当外界 NH_4^+ 浓度较高时,则 LATS 起主导作用(Kronzucker 等,1996)。铵态氮转运主要由 NH_4^+ 特异转运蛋白 AMT(ammonium transporter)完成,少量 NH_4^+ / NH_3 可以通过一些非铵转运蛋白/通道进行非特异性转运(Gassmann 等,1994)。

2 植物对氮素吸收转运的分子机制

植物为了能够适应土壤中 NO_3^- 浓度梯度差异环境,进化出 NO_3^- 高、低亲和吸收转运系统。为了能够适应在低氮土壤环境中正常生长,进化出 NH_4^+ 吸收转运系统,充分吸收铵态氮作为充足氮素来源。

2.1 NO_3^- 的吸收转运系统及功能基因

拟南芥中参与氮素吸收和转运的家族 At-NRT1 和 AtNRT2 家族,AtNRT1 有 53 个家族成员,AtNRT2 家族有 7 个成员(Yi 等,2007)。At-NRT1.1 具有双亲和吸收特性,既参与高浓度下 NO_3^- 的吸收,又在低浓度 NO_3^- 环境中具有较高的基因表达(Cheng 等,2009)。徐海荣等(2008)研究发现 OsNRT2.1 在亲和吸收 NO_3^- 能力上也表现出双亲和特性。AtNRT1.1、AtNRT1.2、AtNRT2.1、AtNRT2.2 通过质子浓度梯度吸收 NO_3^- ;At-NRT1.6 参与胚胎发育过程的 NO_3^- 转运基因(Anabel 等,2008)。AtNRT2.1 参与侧根的高亲和和吸收系统,与绿色荧光蛋白融合显示其分布于细胞膜上(Franck 等,2007; Mathilde 等,2007)。At-NRT1.7 通过韧皮部转运调节根部细胞吸收氮素

(Shu 等,2009)。除了参与 NO_3^- 的吸收转运,一些 NRT1 还与 NO_3^- 的距离运输以及贮藏有关,如 At-NRT1.4 与硝态氮的贮藏,调节叶组织的 NO_3^- 同化功能(Chiu 等,2004);AtNRT2.7 在种子中起 NO_3^- 贮藏作用(Chopin 等,2007);AtNRT1.5 参与 NO_3^- 的长距离运输(Lin 等,2008)。OsNRT2.1、OsNRT2.2、OsNRT2.3、OsNRT2.4 都是主要参与根部 NO_3^- 的高亲和和吸收系统,其转运能力受环境 pH 的影响(Chao 等,2008)。

2.2 NH_4^+ 的吸收转运系统及功能相关基因

有关植物铵转运系统的研究主要集中于高亲和转运系统相关蛋白,影响根细胞对铵离子的吸收能力。拟南芥基因组中有 6 个 AMT 基因:AtAMT1.1-AtAMT1.5 和 AtAMT2.1。AtAMT1.2 具有双亲和吸收特性,而其余 AMT1 和 AMT2 成员都属于 HATS 成员(Shelden 等,2001; Neuhauser 等,2007)。AtAMT1.1 对 NH_4^+ 有较强的亲和力,是拟南芥根系高亲和和铵转运系统的重要组分(Shelden 等,2001);AtAMT1.2(Neuhauser 等,2007; Yuan 等,2007)、AtAMT1.3(Gazzarrini 等,1999)、AtAMT2 在组织表达特征上也主要表现为根系特异表达,其 NH_4^+ 的转运能力与氮素供应数量、氮素形态、植株年龄及植株体内的碳、氮状况相关。水稻基因组中有 10 个 AMT 基因(OsAMT1.1-OsAMT1.3,OsAMT2.1-OsAMT2.3,OsAMT3.1-OsAMT3.3,OsAMT4),是发现铵转运蛋白最多的植物种属。其中 OsAMT1.1、OsAMT1.2 和 OsAMT1.3 主要在根中表达(赵首萍等,2006),OsAMT3.1 在植物组织内表达微弱(Suenaga 等,2003)。

3 氮素转运蛋白基因的表达调控机制

植物对硝态氮的吸收不仅受外界环境影响,还与植物体内硝态氮转运蛋白基因的表达有关。转运蛋白表达增加,对氮素的吸收能力也随之提高。高亲和转运蛋白表达高于低亲和转运蛋白表达时,以高亲和转运蛋白为主进行氮素吸收。硝态氮转运蛋白表达受内外环境,转运蛋白结构及自身代谢的影响,如土壤中硝态氮含量的影响,植物营养状况、氮同化产物、植物激素、转运蛋白自身构象等。铵态氮转运蛋白基因家族中各个蛋白成员间不仅在基因结构、基因转录水平、蛋白质组成等存在差异,在转运氮素能力和受外界环境因素影响强度上也不同,表

现出复杂的组织特异性和精细的表达调控特征。

3.1 NO₃⁻ 转运蛋白基因的表达调控

Smith等(1997)研究发现硝态氮本身具有调节信号作用,可诱导NO₃⁻转运蛋白基因的表达,表现出明显的反馈激活效应。对拟南芥的研究发现,氮素明显诱导NRT1.8基因的表达(Jian等,2010),植物经低浓度NO₃⁻胁迫处理后,诱导型NRT2基因的表达迅速增加,根系中NO₃⁻吸收速率也随之增加(Zhuo等,1999),水稻中除OsNRT2.3外,其余几个NRT2基因的表达明显受底物NO₃⁻的诱导(Cai等,2007)。

植物体内营养元素缺乏也会对NO₃⁻转运蛋白基因的表达产生明显影响。植物体内氮素不足时,根细胞中AtNRT1.1的表达量显著降低,而AtNRT2.1的表达量却明显增加,说明植物能通过增加高亲和转运基因的表达提高对氮素的吸收速率,快速补充组织氮素含量(Lejay等,1999)。氮素转运蛋白基因的表达还受植物激素及环境pH的调控,Guo等(2001)的研究表明,外源施加ABA处理后,在4h内可使AtNRT2.1、AtNRT2.2、AtNRT2.3及AtNRT2.1和AtNRT2.2的表达量达到峰值。

NO₃⁻转运蛋白基因的表达受到氮同化产物的反馈抑制调节。植物体内氮素循环提供了整个植株氮素状况的信息,这一信息调节氮同化产物的反馈抑制作用,从而调节根组织细胞中相关基因的表达及对氮素的吸收(Tsujimoto等,2007)。NO₃⁻转运蛋白自身也可通过调节自身蛋白构象的变化来实现亲和系统吸收能力的转换。磷酸化是最常见的蛋白活性调控方式之一,AtNRT1.1蛋白非磷酸化时表现为低亲和吸收性,磷酸化时表现为高亲和吸收性(Cheng等,2009)。对拟南芥PTR家族进行蛋白序列分析发现,其中有36个成员含有同源性可磷酸化的苏氨酸位点,但到目前为止只发现AtNRT1.1具有双亲和转运活性(Tsay等,2007)。

3.2 NH₄⁺ 转运蛋白基因的表达调控

环境中铵态氮含量和植株氮素营养状况是影响NH₄⁺转运蛋白基因表达的主要因素。研究发现,短时间氮饥饿处理AtAMT1.1表达量为对照的5倍(Gazzarrini等,1999;Von等,2000)。经长时间氮饥饿处理AtAMT1.2和AtAMT2.1的表达量明显发生改变,AtAMT1.3表达量升高3倍(Gazzarrini等,1999;Sohlenkamp等,2000),AtAMT1.5只

在缺氮处理时特异表达(Yuan等,2007)。这些研究表明,在氮素缺乏环境中,植物增强特定NH₄⁺转运蛋白基因的表达,是植物适应氮素胁迫环境的重要内在机制之一。

硝态氮也是影响NH₄⁺转运蛋白基因表达因素之一。研究表明,AtAMT1.1表达随环境中硝态氮的浓度变化作快速反馈调节,当土壤中硝态氮含量严重缺乏时,AtAMT1.1的表达明显增加(Ludewig等,2007;Gansel等,2001)。糖类对NH₄⁺转运蛋白基因的转录具有调控作用,植株体内糖分含量是某些NH₄⁺转运蛋白基因表达的重要调控信号(Gazzarrini等,1999;Shelden等,2001)。植物体内NH₄⁺转运蛋白基因之间的表达也会产生相互影响,某一NH₄⁺转运蛋白功能缺失后,植物通过调节其它某些NH₄⁺转运蛋白基因的表达来弥补蛋白功能缺失后对植物造成的不利影响(Kaiser等,2002)。

4 展望

有关植物氮素吸收及转运方面的研究,现已克隆出了一些重要组分的基因,并获得一些其结构、功能及调节的信息。近年来运用基因组学和生物信息技术系统地揭示了氮素转运蛋白家族的大小和成员,例如,利用基因敲除技术或基因过量表达技术发现更多的相关基因及对其进行功能研究。但是氮素转运基因家族成员众多,使得基因筛选和功能鉴定还需要大量的工作。

植物体本身就是一个有机整体,为了快速而便利地适应外界环境中氮素状况的不断变化,吸收充足氮素满足自身生长发育的需要,演化和形成了不同的氮素转运系统。目前,尽管有关模式植物拟南芥氮素相关基因的克隆及研究开展了较多的工作,但对水稻氮素转运蛋白基因的鉴定、功能分析以及氮素吸收的分子机制研究还很少,需作进一步完整详细的研究。本实验室和合作单位中国科学院华南植物园鉴定出第一个水稻GSH运输蛋白基因OsGTL(AF393848),并对水稻基因组的序列进行了同源分析,发现水稻基因组中存在10个可能的GSH运输蛋白的同源基因,这一同源基因家族同时也和拟南芥中鉴定的小分子多肽运输蛋白(OPT)基因家族同源。现已对其生理生化功能进行了初步研究(另文发表)。

参考文献:

- An H, Shangguan ZP. 2006. The nitrogen cycling of plants and its physiological mechanism of root-zone environment[J]. *Res Soil Water Conservation*, **13**:83-85
- Anabel A, Shan HL, Yi FT, et al. 2008. Characterization of the *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1. 6, reveals a role of nitrate in early embryo development[J]. *Plant Cell*, **20**:3 289-3 299
- Anthony JM, Xiao RF, Mathilde O, et al. 2007. Nitrate transport and signalling[J]. *J Exp Bot*, **58**(9):2 297-2 306
- Cai C, Wang JY, Zhu YG, et al. 2007. Structure and expression analysis of the components of high-affinity nitrate transporter system in rice roots[J]. *J Int Plant Biol*, **50**(4):443-541
- Chao C, Jun YW, Yong GZ, et al. 2008. Gene structure and expression of the high affinity nitrate transport system in rice roots [J]. *J Int Plant Biol*, **50**(4):443-451
- Chiu CC, Lin CS, Hsia AP, et al. 2004. Mutation of a nitrate transporter, AtNRT1. 4, results in a reduced petiole nitrate content and altered leaf development[J]. *Plant Cell Physiol*, **45**:1 139-1 148
- Cheng HH, Shan HL, Heng CH, et al. 2009. CHL1 functions as a nitrate sensor in plants[J]. *Cell*, **138**:1 184-1 194
- Chopin F, Oresl M, Dorbe MF, et al. 2007. The *Arabidopsis* AtNRT2. 7 nitrate transporter controls nitrate content in seeds[J]. *Plant Cell*, **19**:1 590-1 602
- Franck C, Judith W, Marie FD, et al. 2007. The *Arabidopsis* nitrate transporter AtNRT2. 1 is targeted to the root plasma membrane[J]. *Plant Physiol Biochem*, **45**:630-635
- Gazzarrini S, Lejay L, Gojon A, et al. 1999. Three functional transporters for constitutive, diurnally regulated and starvation induced uptake of ammonium into *Arabidopsis* roots[J]. *Plant Cell*, **11**:937-947
- Gassmann W, Schroeder JI. 1994. Inward-rectifying K⁺ channels in root hairs of wheat(A mechanism for aluminum-sensitive low-affinity K⁺ uptake and membrane potential control)[J]. *Plant Physiol*, **105**:1 399-1 408
- Gansel X, Munos S, Tillard P, et al. 2001. Differential regulation of the NO₃⁻ and NH₄⁺ transporter genes AtNrt2. 1 and AtAmt1. 1 in *Arabidopsis*: Relation with long distance and local controls by N status of the plant[J]. *The Plant J*, **26**:143-155
- Guo FQ, Wang R, Chen M, et al. 2001. The *Arabidopsis* dual-affinity nitrate transporter gene AtNRT1. 1(CHL1) is activated and functions in nascent organ development during vegetative and reproductive growth[J]. *Plant Cell*, **13**:1 761-1 777
- Lin SH, Kuo HF, Canivenc G, et al. 2008. Mutation of the *Arabidopsis* NRT1. 5 nitrate transporter causes defective root to shoot nitrate transport[J]. *Plant Cell*, **20**:2 514-2 528
- Jian YH, Yan LF, Sharon MP, et al. 2010. The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1. 8 functions in nitrate removal from the xylem sap and mediates Cadmium tolerance [J]. *Plant Cell*, **22**:1 633-1 648
- Kaiser BN, Rawat SR, Siddiqi MY, et al. 2002. Functional analysis of an *Arabidopsis* T-DNA "knockout" of the high affinity NH₄⁺ transporter AtAMT1. 1[J]. *Plant Physiology*, **130**:1 263-1 275
- Kronzucker HJ, Siddiqi MY, Gass ADM. 1996. Kinetics of NH₄⁺ influx in spruce[J]. *Plant Physiology*, **110**:773-779
- Lejay L, Tillard P, Leptit M, et al. 1999. Molecular and functional regulation of two NO₃⁻ uptake systems by N- and C- status of *Arabidopsis* plants[J]. *Plant J*, **18**:5 519
- Ludewig U, Von WN, Frommer WB. 2007. Uniport of NH₄⁺ by the root hair plasma membrane ammonium transporter LeAMT1. 1[J]. *J Biological Chemistry*, **277**:13 548-135 551
- Mathilde O, Franck C, Olivier L, et al. 2007. Nitrate signaling and the two component high affinity uptake system in *Arabidopsis* [J]. *Plant Signaling & behavior*, **2**(4):260-262
- Neuhauser B, Dynowski M, Mayer M, et al. 2007. Regulation of NH₄⁺ transport by essential cross talk between AMT monomers through the carboxyl tails[J]. *Plant Physiol*, **143**(4):1 651-1 659
- Shelden MC, Dong B, de Bruxelles GL, et al. 2001. *Arabidopsis* ammonium transporters, AtAMT1. 1 and AtAMT1. 2, have different biochemical properties and functional roles[J]. *Plant Soil*, **231**:151-160
- Shu CF, Choun SL, Po KH, et al. 2009. The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1. 7, expressed in phloem, is responsible for source to sink remobilization of nitrate[J]. *Plant Cell*, **8**:1-12
- Sohlenkamp C, Shelden M, Howitt S, et al. 2000. Characterization of *Arabidopsis* AtAMT2, a novel ammonium transporter in plants[J]. *FEBS Letters*, **467**:273-278
- Suenaga A, Moriya K, Sonoda Y, et al. 2003. Constitutive expression of a novel type ammonium transporter OsAMT2 in rice plants[J]. *Plant Cell Physiol*, **44**:206-211
- Smith FW, Ealing PM, Dong B, et al. 1997. The cloning of two *Arabidopsis* genes belonging to a phosphate transporter family [J]. *Plant J*, **11**(1):83-92
- Tsay YF, Chiu CC, Tsai CB. 2007. Nitrate transporters and peptide transporters[J]. *FEBS Letters*, **581**:2 290-2 300
- Tsujimoto R, Yamazaki H, Maeda S, et al. 2007. Distinct roles of nitrate and nitrite in regulation of expression of the nitrate transport genes in the moss *Physcomitrella patens*[J]. *Plant Cell Physiol*, **48**:484-497
- Von WN, Gazzarrini S, Gojon A, et al. 2000. The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval[J]. *Current Opinion of Plant Biology*, **3**(3):254-261
- Yi FT, Chi CC, Chyu BT, et al. 2007. Nitrate transporters and peptide transporters[J]. *FEBS Letters*, **581**:229-230
- Yuan L, Loque D, Kojima S, et al. 2007. The organization of high-affinity ammonium uptake in *Arabidopsis* roots depends on the spatial arrangement and biochemical properties of AMT1-type transporters[J]. *Plant Cell*, **19**:2 636-2 652
- Xu HR(徐海荣), Deng RL(邓若磊), Cao YF(曹云飞), et al. 2008. Structure, function, expression and regulation of nitrate transporters in plants(植物 NO₃⁻ 转运蛋白的结构、功能及基因表达调控)[J]. *Acta Pedol Sin(土壤学报)*, **17**(4):159-165
- Xu ZZ(许振柱), Zhou GS(周广胜). 2004. Research advance in nitrogen metabolism of plant and its environment regulation(植物氮代谢及其环境调节研究进展)[J]. *Chin J Appl Ecol(应用生态学报)*, **15**(3):511-516
- Men ZH(门中华), Li SX(李生秀). 2010. Effect of NO₃⁻-N concentration on nitrate nitrogen metabolism of winter wheat seedlings under water culture(水培硝态氮浓度对冬小麦幼苗氮代谢的影响)[J]. *Guihaia(广西植物)*, **30**(4):120-126
- Zhao SP(赵首萍), Zhao XQ(赵学强), Shi WM(施卫明). 2006. Influence of ammonium/nitrate ratio in treatment on expression of nitrogen absorbing and metabolizing genes of rice(不同铵硝比例对水稻铵吸收基因表达的影响)[J]. *Acta Pedol Sin(土壤学报)*, **43**(3):436-442