植物营养与肥料学报 2015,21(3):752-762 doi: 10.11674/zwyf.2015.0323
Journal of Plant Nutrition and Fertilizer http://www.plantnutrifert.org

植物体对硝态氮的吸收转运机制研究进展

张 鹏,张然然,都韶婷*
(浙江工商大学环境科学与工程学院,浙江杭州 310018)

摘要: 硝态氮是高等植物重要的氮素营养,直接影响植物的生长。植物根系吸收硝态氮并向地上部转运的机制一直是研究者十分关注的问题。近几年的深入研究使得新的现象与结论被揭示,推动了我们对植物体吸收转运硝态氮生理与分子机制的认识。本文综述了近年来国内外关于植物硝态氮吸收转运的生理及分子机制的相关研究结果。通过整理归类植物硝酸盐吸收相关的生理学数据,介绍了影响植物吸收硝态氮的各种因素。基于膜转运体在植物硝态氮吸收转运过程中发挥的重要作用,本文还重点介绍参与该过程的四大基因家族的成员及功能,即硝酸盐转运体1(NRT1)、硝酸盐转运体2(NRT2)、氯离子通道(CLC)和s型阴离子通道(SLAC),以期为后续研究者提供一个较为全面的理论依据。

关键词: 硝态氮;亲和力转运系统;吸收;再分配;转运蛋白
中图分类号: Q945.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-505X(2015)03-0752-11

Research advances in nitrate uptake and transport in plants

ZHANG Peng, ZHANG Ran-ran, DU Shao-ting*
(*College of Environmental Science and Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China*)

Abstract: Nitrate is one of the major nitrogen sources for higher plants, which most frequently limits the growth of plants. Recently, the mechanisms of nitrate uptake and transport to the aboveground parts in plants have received widespread attention. New phenomenons and conclusions have been revealed and thereby give us a new sight into the physiological and molecular mechanisms of nitrate uptake and transport in plants. In this review, the current worldwide research conducted on nitrate uptake and transport in plants was summarized in the physiological and molecular levels. Besides, the influence factors responsible for nitrate uptake in plants were also discussed by integrating the large amount of physiological data. Membrane bound transporters are required for nitrate uptake, allocation and storage inside the plants. Therefore, we also summarized the members and the functions of four gene families that encode the nitrate transporters, including nitrate transporter 1(NRT1), nitrate transporter 2(NRT2), chloride channel(CLC) and slow anion channel-associated(SLAC). We hope that the recent advances in molecular biology of nitrate uptake and transport can provide a more comprehensive theoretical basis for further research.

Key words: nitrate; affinity transport system; uptake; remobilize; transporter

氮(N)是植物生长中需求量最大的矿质元素之一,也是重要的生长限制因子。作物体内许多重要有机化合物的组分,如蛋白质、核酸、叶绿素、酶、维生素和生物碱等,都离不开氮的参与[1]。在农业生产中,作物因缺氮将导致光合作用、根系生长及繁殖器官形成受阻,其产量和品质均将显著下降[2]。土壤作为植物的主要生长介质,存在各种形态氮源,如无机氮(NO_3^-、NH_4^+ 和 N_2O_4 等)和有机氮(尿素和氨基酸等)。其中,硝态氮是最易被植物吸收的氮素营养[3],其吸收与转化过程是植物生长过程中最

收稿日期: 2014-06-05 **接受日期:** 2014-10-13
基金项目: 浙江省自然科学基金项目(LY14C130001,R13C130001);浙江省教育厅项目(Y201432146)资助。
作者简介: 张鹏(1989—),男,湖北黄石人,硕士研究生,主要从事污染环境的生理生态方面的研究。E-mail: zp2231989@163.com
* 通信作者 Tel: 0571-28008209, E-mail: dushaoting@zjgsu.edu.cn

为基础的生理学过程,它直接影响了光合电子传递、糖类运输、蛋白质表达及二级代谢物等合成[4]。因此,阐明植物硝态氮吸收转运的生理及分子机制,对促进农作物的氮肥吸收利用效率,实现优质高产具有重要的理论和现实指导意义。本文综述了近年来国内外关于植物硝态氮的吸收转运过程的相关研究结果,以期为今后的氮素吸收利用基础研究及氮肥优化管理提供必备的基础信息。

1　生理机制

1.1　硝态氮的吸收转运

硝酸根离子进入植物根系的表皮和皮层细胞过程,是植物获取硝态氮(即硝酸盐)并利用的第一步。研究表明,植物吸收硝酸盐是一个主动的耗能过程。例如,当外界硝酸盐浓度为 10 mmol/L,细胞质硝酸盐浓度为 5 mmol/L,质膜间的电势差为 -150 mV,20℃下需要消耗能量约 13 kJ/mol[5]。已有研究指出,根细胞逆电化学梯度吸收硝酸盐,可产生 -100 至 -250 mV 的电势。当细胞接触到硝酸根离子时,细胞质膜能在 1 ~ 2 min 内快速去极化,膜间正电势可增加 60 mV。随后,细胞膜上的专一性硝酸盐载体,能借助 H^+ 浓度梯度或质膜 ATP 酶水解 ATP 所形成的质子驱动力,以质子:硝酸盐为 2:1 的比例把硝酸盐共运入膜内[6](见图 1 根细胞部分)。

根系吸收的硝酸盐,大部分都会经木质部运输到地上部,是植物获取硝酸盐并利用的第二步。木质部硝态氮浓度普遍很高,一般为 10 ~ 30 mmol/L。而且,木质部硝酸盐含量变化具昼夜规律[7],与呼吸速率非常一致。目前,研究者对木质部硝酸盐的上运机理提出了两种假说,一是阴离子通道参与的被动过程[8],二是木质部薄壁组织细胞的质子泵作用[9]。至今,研究已发现多种硝酸盐运输阴离子通道,例如在大麦根系中发现的具有快速响应功能的阴离子通道,通过该通道流入木质部的硝酸盐浓度能维持在较高水平[10]。在玉米的薄壁组织细胞中也发现了快速响应的阴离子通道,如添加脱落酸能抑制该通道的活性,从而引起木质部硝态氮含量的变化[11]。

由根系吸收的硝态氮在导管中随蒸腾流分别向茎、叶和贮存器官的细胞中迁移,分布于细胞的液泡和原生质中。有学者把植物细胞中的硝酸盐库分成代谢库(细胞质中的硝酸盐)和储存库(液泡中的硝

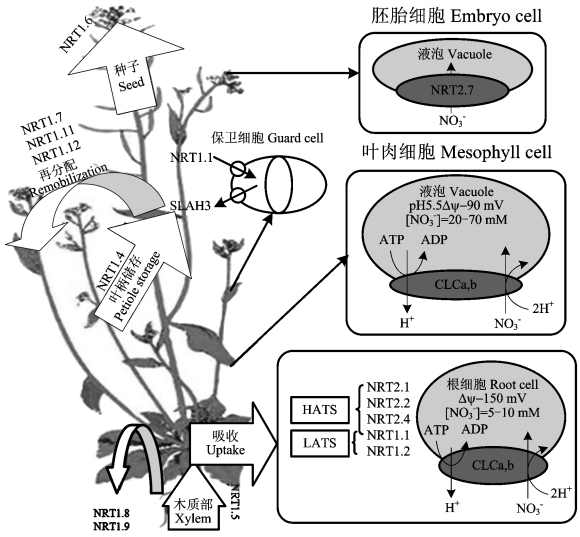

图 1　拟南芥中部分硝酸盐转运蛋白的功能[3,15,48]

Fig. 1　Function of nitrate transporters in *Arabidopsis thaliana*

[注(Note):HATS—高亲和吸收系 High-affinity transport systems; LATS—低亲和吸收系统 Low-affinity transport systems.]

酸盐),前者量少浓度低(3 ~ 5 mmol/L),能显著影响硝酸还原酶的活性,后者量大浓度高(30 ~ 50 mmol/L),但与硝酸还原酶活性相关性较小[12]。但是,只有陆生植物的液泡具备储存硝酸盐的功能,水生植物已逐渐丧失或甚至不存在此现象[13]。关于液泡的储存功能的差异与根系吸收转运硝酸盐的生理能力之间是否存在密切关联还有待进一步研究。

运输到植株地上部的氮素除了参与代谢过程外,一部分又以氨基酸的形态通过韧皮部向根部转运,甚至外泌[14]。由韧皮部向下运输到根部的总氮量远远超过根系的生长需要,大部分又进入木质部同新吸收的氮素一起向上运输至地上部[15]。与此同时,硝态氮也能从老叶运输到新叶中,进行再分配[16]。再分配是所有作物提高氮素利用效率的主要因素,也是植物对硝态氮吸收转运的重要过程之一。

1.2　硝态氮吸收的影响因素

与其他矿质养分类似,植物对硝态氮的吸收也受到许多外界因素的影响。鉴于弄清植物吸收硝态氮的影响因素对于农业氮素利用有着重要意义,因而笔者从环境条件、养分元素和信号物质等对吸收过程影响较大的几个方面介绍它们对植物硝态氮吸收的影响(表 1)。

表1 硝态氮吸收的影响因素

Table 1 Influence factors on nitrate uptake

影响因素 Factors	植物种类 Plants	实验现象 Phenomenons	结论 Conclusions	参考文献 References
光照 Light	水稻 Rice	黑暗条件下硝态氮的吸收量减少14%～18%	促进 Increase	[17]
	大豆 Soybean	光照条件下硝态氮的吸收增加110%		[18]
	烟草 Tobacco	黑暗条件下硝态氮的吸收量约为光照条件的50%		[19]
温度 Temperature	水稻 Rice	25℃时硝态氮吸收量比30℃减少20%,15℃和5℃时几乎不吸收	促进 Increase	[17]
二氧化碳 Carbon dioxide	烟草 Tabacco	提高 CO_2 浓度,促进植物对硝态氮的吸收	促进 Increase	[21]
	小白菜 Chinese cabbage	CO_2 浓度升高能降低根、茎、叶各部位硝态氮含量,促进植物对硝态氮的吸收		[22]
硝态氮 Nitrate	大麦 Barley	添加硝态氮,组成型硝态氮高亲和力转运系统的活性可增加近3倍	促进 Increase	[23]
铵态氮 Ammonium	水稻 Rice	当硝态氮为唯一氮源时,硝态氮和铵态氮的吸收动力学相同;当氮源为硝态氮和铵态氮时,硝态氮的吸收受抑制	抑制 Decrease	[25]
氨基酸 Amino acid	大麦 Barley	在0.1 mmol/L硝酸盐中分别添加1 mmol/L的谷氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺和天冬酰胺,硝酸盐的吸收受抑制	抑制 Decrease	[27]
	玉米 Maize	玉米对氨基酸的吸收优于硝酸盐,在1 mmol/L硝酸盐中分别添加2 mmol/L谷氨酸、甘氨酸、天冬氨酸和精氨酸抑制硝酸盐的吸收		[28]
磷 Phosphorus	烟草 Tabacco	低磷条件下,3 d后根部硝态氮吸收降低到70%,6 d后降低至30%	促进 Increase	[29]
钾 Potassium	玉米 Maize	钾离子浓度从0.2增加到5 mmol/L,硝态氮的吸收增加	促进 Increase	[30]
	小麦 Wheat	用1 mmol/L的 KNO_3 和 $NaNO_3$ 分别处理幼苗,在 KNO_3 处理下吸收的硝态氮比 $NaNO_3$ 多		[31]
硼、锌 Boron, zinc	烟草 Tabacco	在缺硼营养液中培养3～5 d后,硝态氮的吸收减少了30%～35%	促进 Increase	[32]
	荞麦 Buckwheat	添加锌,20 h后植物根部吸收的硝态氮增加200%		[33]
钼 Molybdenum	烟草 Tabacco	钼离子浓度从0增加到200 μmol/L,硝态氮的吸收逐渐降低	抑制 Decrease	[34]
土壤腐殖质 Humic substances	玉米 Maize	促进玉米对硝态氮的吸收	促进 Increase	[35]
	大麦 Barley	提高大麦对硝态氮的吸收		[36]
	大麦 Barley	添加腐殖酸,培养时间超过4 h硝态氮的吸收逐渐增加,16 h后达到吸收平衡		[37]
有机酸 Organic acid	大豆 Soybean	给大豆根表或是韧皮部注入苹果酸可促进根系对硝态氮的吸收	促进 Increase	[39]
钙 Calcium	大麦 Barley	在150 mmol/L NaCl处理下提高钙离子浓度促进硝态氮的吸收	促进 Increase	[40]
	大麦 Barley	随着钙离子浓度增加,硝态氮的吸收增加		[38]
糖 Sugar	水稻 Rice	加入蔗糖后水稻对硝态氮的吸收有显著的促进作用,与加入蔗糖前相比,硝态氮净吸收率上升298%	促进 Increase	[42]
	大豆 Soybean	光照初期添加10 mmol/L葡萄糖硝态氮吸收增加16%		[18]
生长素 Auxin	拟南芥 *Arabidopsis thaliana*	添加外源IAA及生长素极性运输抑制剂TIBA,突变体 *yuc1-D* 株系的 NO_3^- 吸收速率比野生型增加,而突变体 *axr1-12* 株系的 NO_3^- 吸收速率相比野生型降低;在拟南芥野生型Col-0株系中施加外源IAA对 NO_3^- 吸收速率有明显促进作用	促进 Increase	[43]

外界光、温和气等环境的改变,会显著影响植物对硝酸盐的吸收。如有研究发现黑暗条件下水稻吸收硝态氮的量可减少 14%～18%[17]。增强光照,能促进大豆对硝态氮的吸收[18]。Lillo[19]对烟草的研究发现,黑暗条件下硝态氮的吸收量约为光照条件下的 50%。温度的改变也会影响植物对硝态氮的吸收。有研究表明,随着玉米培养时间的增加,与 3℃相比,30℃时硝态氮的吸收显著增强[20]。CO_2 浓度的变化,同样会影响植物对硝态氮的吸收。有研究表明提高 CO_2 浓度能促进植物对硝态氮的吸收[21]。笔者的研究[22]也发现 CO_2 浓度升高能降低根、茎叶各部位硝态氮含量,促进植物对硝酸盐的吸收。这可能是因为环境因素改变了植物地上部的需求状态,植物体内还原态氮循环随即发生一定改变,从而实现了环境因素对根系吸收硝态氮能力的调控。因此,目前全球气候变暖及大气 CO_2 逐年攀升,从植物对硝态氮的吸收角度而言可能是有利的。

就供氮条件的变化而言,它也会极大地影响植物对硝态氮的吸收。例如,外源硝酸盐能显著促进高亲和力转运系统的转运能力。以大麦作为研究材料,在培养液中添加硝酸盐后,组成型高亲和力转运系统的活性可以增加 3 倍左右[23]。甚至,诱导型高亲和力转运系统具有更强的硝酸盐诱导效应[24]。介质中的铵态氮同样也会影响植物对硝态氮的吸收能力[25]。研究结果显示,铵离子浓度超过 1×10^{-5} mol/L 会抑制硝酸盐的吸收[26]。氨基酸也能直接影响植物对硝态氮的吸收,如分别给大麦和玉米幼苗供应谷氨酸和天冬氨酸等均抑制了硝酸盐的吸收[27-28]。综上所述,在实际农田使用氮肥的过程中,所选用的氮肥形态也会极大地影响植物对硝态氮的吸收效率。

其他营养元素如磷、钾肥也会影响植物对硝态氮的吸收。如,低磷条件下,3 d 后根部硝态氮吸收降低至 70%,6 d 后降低至 30%[29]。又如,当培养液中钾离子浓度从 0.2 mmol/L 增加至 5 mmol/L,玉米根部硝酸盐的吸收增加[30]。另有研究表明,小麦幼苗在 1 mmol/L KNO_3 处理下吸收的硝态氮比 1 mmol/L $NaNO_3$ 处理下多[31]。因而,在农业中适当增施钾肥,对植物吸收硝态氮而言是有利的。微量元素在植物吸收硝态氮的过程也占有很重要的位置。例如,当植物缺硼时,硝态氮的吸收减少了 30%～35%[32]。添加锌培养,20 h 后植物根部吸收的硝态氮可增加 200%[33]。当钼离子浓度从 0 增加至 200 μmol/L 时,硝态氮的吸收逐渐降低[34]。这些均说明微量元素能影响植物对硝态氮的吸收。

为了改善植物对硝态氮的吸收,减少土壤矿物质的流失,土壤腐殖质作为一种土壤改良剂已被前人广泛研究。研究发现土壤腐殖质能促进植物对硝态氮的吸收[35-37]。植物细胞 pH 的变化也是影响植物对硝态氮吸收的另一因素。随着 pH 的增加,硝酸盐的吸收减少[38]。有学者认为,由于根系对硝酸盐的吸收需要与 H^+ 共运实现[6],这一理论解释了为何碱化介质会抑制硝酸盐的吸收。在 NO_3^- 还原过程中会形成许多碱性离子,但是植物无法将之全部排出胞外。为了维持体内 pH 平衡,植物会合成强的有机酸。有研究指出,给大豆根部或是韧皮部注入苹果酸也可促进根系对 NO_3^- 的吸收[39]。由此可见,细胞 pH 能直接改变植物对 NO_3^- 的吸收能力。

信号物质也会影响植物对硝态氮的吸收。例如,有研究发现随着钙离子浓度增加,硝态氮的吸收增加[40],当 Ca^{2+} 为 5 mmol/L 时吸收达最大值[38]。另外,糖代谢的改变也能对植物吸收硝态氮产生影响。如把茎环割时,阻止糖分向根系运输后,光促进 NO_3^- 吸收现象就会被抑制。给根系供应糖后,抑制作用可立即被解除[41]。另有研究发现,加入蔗糖后水稻对硝酸盐的吸收有显著的促进作用,与加入蔗糖前相比,硝态氮净吸收率上升近 3 倍[42]。除上述 2 种信号物质之外,植物生长素(IAA)作为信号物质也对硝态氮的吸收有影响。如,外源 IAA 及生长素极性运输抑制剂(TIBA)处理下的 NO_3^- 流速存在较大差异。生长素过表达突变体 *yuc1-D* 株系的 NO_3^- 吸收速率比野生型均有大幅增加,而生长素通路缺失突变体 *axr1-12* 株系的 NO_3^- 吸收速率相比野生型显著降低;对拟南芥野生型外源施加 IAA 可显著促进 NO_3^- 吸收速率,而施加 TIBA 的效果相反,说明生长素对硝酸盐吸收有增强效应[43]。

2　分子机制

目前,研究者一致认为植物体内存在 3 种硝酸盐吸收转运系统:1)外界硝酸盐浓度较高时(高于 250 μmol/L),低亲和力吸收系统(LATS)发挥作用,即使外界硝酸盐浓度高达 50 mmol/L,该系统仍然具有很强的吸收能力;2)组成型高亲和力吸收系统(CHATS),Km(6～20 μmol/L)和 Vmax[0.3～0.82 μmol/L/(g·h)]均较低,在不存在硝酸盐的情况下也可以表达;3)诱导型高亲和力吸收系统(IHATS),亲和力常数(Km)和最大吸收速率

(Vmax)相对较高,分别为20～100 μmol/L和3～8 μmol/L/(g·h),需要硝酸盐诱导后才能表达[3]。这3种途径保证了植物可有效利用广浓度范围的硝酸盐,从而避免因硝酸盐过量或缺乏造成的不良生理影响。此处,Km的倒数表征了根系吸收位点对离子亲和力的大小,而Vmax表征离子吸收结合位点的量[44]。这两个动力学参数,被广泛用于研究鉴别不同植物品种或基因型间的氮素营养差异,或是作为不同基因型对土壤营养条件适应水平的指标。例如,有人对热带雨林9种苔藓的氮素吸收动力学开展了研究,他们通过测定硝酸盐、铵盐和甘氨酸等供氮条件下的Vmax和Km,以此来推断该类植物对不同氮素的喜好及净吸收速率[45]。又如笔者曾利用Vmax和Km与植物各部位硝酸盐含量进行了相关性分析,从而来推断影响植物不同部位硝酸盐含量的主导因素[46]。对于上述3种亲和力吸收系统科学家也开展了相关的编码基因的研究。

早在30年前,研究者就利用拟南芥这一模式植物开展了硝酸盐转运体编码基因的相关研究。目前,已经克隆了4类硝酸盐转运蛋白基因家族,主要包括NRT1、NRT2、CLC和SLAC[15]。它们均编码了受硝酸盐诱导的共运体,但差异较大,基因序列无相似性[47]。我们将上述拟南芥的硝酸盐转运体基因家族的概况作如下介绍,其命名及功能[48]见图1和表2。

2.1 NRT1转运蛋白

研究表明,拟南芥中已发现53种NRT1转运蛋白[49]。NRT1.1(CHL1)是第一个被发现的NRT1转运蛋白,它是一个典型的双亲和转运蛋白。如图1所示,该转运体蛋白可在保卫细胞中表达,在气孔开放时起作用。另有研究还发现它能在根的外细胞层表达[50]。将仅在铵态氮培养的植株转移至25 mmol/L的硝酸盐溶液中,*CHL*1 mRNA水平在30 min内急剧上升,并于1～2 h内达到高峰,8 h内保持稳定水平[51],说明CHL1表达可受到硝酸盐诱导。与NRT1.1不同的是,NRT1.2是一种低亲和转运蛋白,除了可转运硝酸盐之余,还参与了ABA转运[52]。目前关于NRT1.3和NRT1.4的研究较少。仅有少量信息表明,低氮可诱导NRT1.3在茎中表达[53]。另有研究证实NRT1.4是一种双向转运蛋白,在叶柄中表达[54]。NRT1.5是一种低亲和双向转运蛋白,它位于质膜中,在靠近木质部的中柱鞘细胞中表达[55]。降低或抑制NRT1.5的表达会减少硝酸盐从根部到茎部的运输,这表明NRT1.5参与了根木质部中硝酸盐的运输[55]。与NRT1.5类似,NRT1.6是一种低亲和转运蛋白,它在种子胚胎早期发育过程中起着很大的作用,主要在生殖器官中表达,而且在授粉后表达增大,参与了硝酸盐从组织到胚胎的运输[56]。与NRT1.6不同的是,NRT1.7虽是一种低亲和转运蛋白,但它在叶小静脉的韧皮部表达。研究发现在*nrt*1.7突变体中,老叶积累更多的硝酸盐。通过同位素示踪进一步发现少量的$^{15}NO_3^-$会重新活化进入到需要氮素的组织中,从而使少量的硝酸盐从老叶的木质部中溢出。这些结果均说明NRT1.7控制着韧皮部硝酸盐的运输,调控硝酸盐从老叶进入新叶的过程[16]。那么,土壤中的硝态氮被植物根系吸收后,运输至植物的各组织部位的过程中,又是哪些转运体蛋白发挥了作用呢?众所周知,硝酸盐的长距离运输是一个连续的过程,其中木质部对硝酸盐的运输十分关键。研究表明,NRT1.8主要在木质部薄壁细胞的筛管中表达,参与了硝酸盐在木质部中的运输过程,属低亲和转运蛋白[57]。不仅如此,Li等[58]的研究还表明,当培养液中Cd^{2+}浓度增加,与突变体相比,该野生型体内的硝酸盐大幅增加。该结果说明在根部运输硝酸盐的过程中,NRT1.8受Cd^{2+}的正向调控。NRT1.9是一种低亲和转运蛋白,在根韧皮部表达。研究发现在硝酸盐浓度较高的情况下,突变体能提高硝酸盐从根部到茎部的运输,而且会促进植物的生长,说明NRT1.9在韧皮部运输硝酸盐中起着重要作用[59]。NRT1.10是一种可以转运硫糖配体的硝酸盐转运蛋白[60]。NRT1.11和NRT1.12均是低亲和转运蛋白,在叶片筛管韧皮部的质膜上表达,对硝酸盐的再分配起作用[61]。目前有关NRT1.13、NRT1.14、NRT1.15和NRT1.16的功能及表达部位的研究极少。我们仅了解到台湾大学某课题组对NRT1.13开展了初步研究。他们发现NRT1.13主要在叶柄、果荚着生处及茎远端部位的细胞膜上表达。并且,*nrt*1.13突变体的种子休眠程度较野生型高,但此休眠现象可由外加的硝酸盐去除。研究者认为*nrt*1.13的种子含硝酸盐的量较野生型低,NRT1.13对于植物发育的调节以及硝酸根离子在生殖细胞内的分布有重要的影响[62]。NRT1.14、NRT1.15和NRT1.16目前仅公布了它们的基因序列,具体研究尚未见报道[63]。

表 2　拟南芥中硝酸盐转运蛋白的命名及功能

Table 2　Name and function of nitrate transporters in *Arabidopsis thaliana*

常用名 Common name	别名 Other name	基因序列[79] Agi code	功能 Function	硝酸盐响应/表达位置 Nitrate response/ Expression location	参考文献 Reference
NRT1. 1	ATNPF6. 3	AT1G12110	双亲和吸收系统 Dual-affinity transport system	诱导型/根、保卫细胞 Induction/Root, guard cell	[50][51]
NRT1. 2	ATNPF4. 6	AT1G69850	低亲和吸收系统 Low-affinity transport system	组成型/根 Constitutive/Root	[52][53]
NRT1. 3	ATNPF6. 4	AT3G21670	低亲和吸收系统 Low-affinity transport system	诱导型/茎 Induction/Stem	[53][66]
NRT1. 4	ATNPF6. 2	AT2G26690	低亲和吸收系统 Low-affinity transport system	组成型/叶柄 Constitutive/Petiole	[53][54]
NRT1. 5	ATNPF7. 3	AT1G32450	低亲和吸收系统 Low-affinity transport system	诱导型/中柱鞘细胞 Induction/Pericycle cell	[55][66]
NRT1. 6	ATNPF2. 12	AT1G27080	低亲和吸收系统 Low-affinity transport systems	胚胎细胞 Embryo cell	[56]
NRT1. 7	ATNPF2. 13	AT1G69870	低亲和吸收系统 Low-affinity transport system	韧皮部 Phloem	[16][60]
NRT1. 8	ATNPF7. 2	AT4G21680	低亲和吸收系统 Low-affinity transport system	诱导型/木质部 Induction/Xylem	[58]
NRT1. 9	ATNPF2. 9	AT1G18880	低亲和吸收系统 Low-affinity transport system	组成型/韧皮部 Constitutive/Phloem	[59][60]
NRT1. 10	ATNPF2. 11	AT5G62680	高亲和吸收系统 High-affinity transport system	茎 Stem	[60]
NRT1. 11	ATNPF1. 2	AT1G52190	低亲和吸收系统 Low-affinity transport system	韧皮部 Phloem	[59]
NRT1. 12	–	AT3G16180	低亲和吸收系统 Low-affinity transport system	韧皮部 Phloem	[61]
NRT1. 13	ATNPF4. 4	AT1G33440	影响硝酸盐分布 Distribution of nitrate	叶柄、果荚着生处 Petiole, pod	[62]
NRT1. 14	ATNPF4. 3	AT1G59740	–	–	[63]
NRT1. 15	ATNPF5. 14	AT1G72120	–	–	[63]
NRT1. 16	ATNPF5. 13	AT1G72125	–	–	[63]
NRT2. 1	ATNRT2. 1	AT1G08090	高亲和吸收系统 High-affinity transport system	诱导型/根 Induction/Root	[64][66][67]
NRT2. 2	ATNRT2. 2	AT1G08100	高亲和吸收系统 High-affinity transport system	诱导型/根 Induction/Root	[64][65]
NRT2. 3	ATNRT2. 3	AT5G60780	高亲和吸收系统 High-affinity transport system	根、茎 Root, stem	[64]
NRT2. 4	ATNRT2. 4	AT5G60770	高亲和吸收系统 High-affinity transport system	抑制型/根、茎 Repression/Root, stem	[68]

续表 2 Table 2 continuous

常用名 Common name	别名 Other name	基因序列[79] Agi code	功能 Function	硝酸盐响应/表达位置 Nitrate response/ Expression location	参考文献 Reference
NRT2.5	ATNRT2.5	AT1G12940	高亲和吸收系统 High-affinity transport system	茎 Stem	[70]
NRT2.6	ATNRT2.6	AT3G45060	高亲和吸收系统 High-affinity transport system	根、茎 Root, stem	[53]
NRT2.7	ATNRT2.7	AT5G14570	硝态氮储存 Nitrate storage	组成型/液泡膜 Constitutive/Tonoplast	[69]
CLCa	–	AT5G40890	参与硝酸盐动态平衡 Involved in nitrate homeostasis	液泡膜 Tonoplast	
CLCb	–	AT3G27170		液泡膜 Tonoplast	
CLCc	–	AT5G49890		液泡膜 Tonoplast	
CLCd	–	AT5G26240		高尔基体 Dictyosome	
CLCe	–	AT4G35440		叶绿体 Chloroplast	
CLCf	–	AT1G55620		高尔基体 Dictyosome	
CLCg	–	AT5G33280		液泡膜 Tonoplast	
SLAC1	–	AT1G12480	阴离子通道 Anion channel	质膜 Plasma membrane	[78]
SLAH1	–	AT1G62280	–		[15][76]
SLAH2	–	AT4G27970	–		[15][76]
SLAH3	–	AT5G24030	–		[78]
SLAH4	–	AT1G62262	–		[15][76]

注(Note):“–”表示未知 Unkown.

2.2 NRT2 转运蛋白

目前,在拟南芥中已报道发现 7 种 NRT2 转运蛋白,该家族中大部分成员均能在根内表达,并且都是高亲和转运蛋白。其中,NRT2.1 和 NRT2.2 主要通过在根中表达后促使植物根部从土壤中吸收硝酸盐[64]。更有反向遗传学的研究表明,NRT2.2 只有在 NRT2.1 缺失的情况下才显著表达[65]。因此,一般认为相较于 NRT2.2,NRT2.1 调控植物根系吸收硝酸盐的过程更为重要。此外,研究还发现硝酸盐浓度较低时,它们的表达量都明显减少[66]。甚至,其他氮源(铵盐和谷氨酸盐)供应不足,也会导致 NRT2.1 的表达量受到抑制[67]。NRT2.1 的表达量还受光合作用产物的影响[66]。除了上述两个转运蛋白,NRT2.4 也是备受研究者关注的对象。它是一种高亲和转运蛋白,在侧根的表皮部分和茎的韧皮部表达,在氮素(硝酸盐)缺乏的情况下,*nrt*2.4 突变体对硝酸盐的吸收及其根韧皮部硝酸盐的外泌均减少,表明 NRT2.4 在低氮情况下对硝酸盐的运输起着很大的作用[68]。与 NRT2.1、NRT2.2 和 NRT2.4 不同,NRT2.7 在种子细胞的液泡膜上表达,负责将硝酸盐运输到种子的液泡内储存,其表达量在种子成熟后达到一个最高峰[69]。目前为止,关

于 NRT2 家族的其他成员如 NRT2.3、NRT2.5 和 NRT2.6 的功能研究仅有少量报道。如 NRT2.5 在没有外源氮素(硝酸盐和铵盐)供应的情况下,其表达量增加,当供氮恢复时表达受到抑制[53,70]。不同的是,研究发现 NRT2.3 和 NRT2.6 在根和茎中的表达,并且不受供氮浓度的影响[53]。

2.3 CLC 和 SLAC 转运蛋白

在拟南芥中已发现 7 种 CLC 转运蛋白,均参与了硝酸盐在液泡膜内外的转运[71],改变其中的任一位成员都将影响硝酸盐在叶片中的积累[72]。其中,在液泡膜上表达的 CLCa 是硝酸盐进入液泡的专一性反向传递体,行使 $2H^+/NO_3^-$ 质子泵功能[71,73]。它也是第一个被发现的 H^+/NO_3^- 反向共运载体蛋白[74],对硝酸盐的选择性高于氯酸盐[15]。除了 CLCa 在液泡膜表达外,该家族的 CLCb、CLCc 和 CLCg 均在液泡膜上表达。而 CLCe 位于叶绿体,CLCd 和 CLCf 位于高尔基体。目前关于它们的功能研究较少,但相关研究均表明它们是氯离子通道[75]。

拟南芥中有 5 种 SLAC 转运蛋白:SLAC1、SLAH1、SLAH2、SLAH3 和 SLAH4,其中 SLAH1、SLAH2、SLAH3 和 SLAH4 都是 SLAC1 的同系物。SLAC1 是第一个被发现的 s-型阴离子通道上的转运蛋白位于质膜[76]。其后,也有学者报道了有关 SLAC1 的调控机制[77]。与 SLAC1 一样,它的同系物 SLAHs 也都位于质膜。研究发现当 SLAC1 主导气孔关闭时 SLAH1 和 SLAH3 会表现出与 SLAC1 相似的功能[76]。但是,SLAH2 是否与 SLAC1 家族中其它转运蛋白功能类似尚未明确。近期一项研究通过 GUS 染色法在保卫细胞中仅观察到了 SLAH3 以及少量的 SLAH2,SLAH1 和 SLAH4 则未观察到[78]。虽然,有关 SLAC 转运蛋白的研究仍处起步阶段,但我们相信识别这类阴离子通道转运蛋白有助于弄清楚气孔关闭过程,并对干旱、信号传导和硝酸盐代谢有着深刻影响。

3 展望

植物对硝态氮的吸收是植物生理过程中极为关键的一个部分。近六七十年来的关于植物吸收硝态氮的生理机制很好地帮助并解决了较多硝态氮施用的农业问题。随着近一二十年的分子机制的研究,更推进了我们对植物吸收硝态氮过程的理解。尤其是负责硝酸盐吸收的转运蛋白,它们被认为在这个过程中发挥了重要的作用。蔡宜芳教授曾评价说这些转运蛋白既是硝态氮的搬运工,也是负责探测土壤硝态氮含量的守门员,它们将土壤中硝态氮含量这一信息传递到细胞的指挥中心。因此,有关硝态氮转运蛋白的研究仍应给予极大的重视。此外,除了本文介绍的拟南芥中发现的转运蛋白外,也有很多关于各种植物硝态氮转运蛋白的报道,如水稻的 OsNTR1.1、大豆的 GmNRT2、番茄的 LeNRT1、大麦的 HvNRT2A、烟草的 NpNRT2.1 及苜蓿的 MtNRT1.3[3,69,80-81]。不同物种硝态氮转运蛋白之间的差异也值得我们探究。我们相信,虽然硝态氮转运体的功能及特点尚未完全弄清,但是随着人们对植物体硝酸盐吸收途径认识的日益加深,以及分子生物学技术的发展,必将取得研究上的突破。

参 考 文 献:

[1] Novoa R, Loomis R S. Nitrogen and plant production[J]. Plant and Soil, 1981, 58: 177-204.

[2] Li D D, Tian M Y, Cai J *et al*. Effects of low nitrogen supply on relationships between photosynthesis and nitrogen status at different leaf position in wheat seedlings[J]. Plant Growth Regulation, 2013, 70: 257-263.

[3] Crawford N M, Glass A D M. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants[J]. Trends in Plant Science, 1998, 3(10): 389-395.

[4] Stitt M. Nitrate regulation of metabolism and growth[J]. Current Opinion in Plant Biology, 1999, 2(3): 178-186.

[5] Miller A J, Smith S J. Nitrate transport and compartmentation in cereal root cells[J]. Journal of Experimental Botany, 1996, 47: 843-854.

[6] McClure P R, Kochian L V, Spanswick R M, Shatf J E. Evidence for cotransport of nitrate and protons in maize roots. I. Effects of nitrate on the membrane potential[J]. Plant Physiology, 1990, 93: 281-289.

[7] Siebrecht S, Herdel K, Schurr U, Tischner R. Nutrient translocation in the xylem of poplar: diurnal variations and spatial distribution along the shoot axis[J]. Planta, 2003, 217: 783-793.

[8] Wegner L H, Raschke K. Ion channels in the xylem parenchyma of barley roots. A procedure to isolate protoplasts from this tissue and a patch-clamp exploration of salt passageways into xylem vessels[J]. Plant Physiology, 1994, 105: 799-813.

[9] Clarkson D T. Roots and the delivery of solutes to the xylem[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society London B, 1993, 341: 5-17.

[10] Kohler B, Wegner L H, Osipov V, Raschke K. Loading of nitrate into the xylem: apoplastic nitrate controls the voltage dependence of X-QUAC, the main anion conductance in xylem-parenchyma cells of barley roots[J]. The Plant Journal, 2002, 30: 133-142.

[11] Gilliham M, Tester M. The regulation of anion loading to the maize root xylem[J]. Plant Physiology, 2005, 137: 819-828.

[12] Chen B M, Wang Z H, Li S X *et al*. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables[J]. Plant Science, 2004, 167(3): 635-643.

[13] Miller A J, Fan X R, Orsel M *et al*. Nitrate transport and signalling[J]. Journal of Experimental Botany, 2007, 58(9): 2297-2306.

[14] Pearson C J, Volk R J, Jackson W A. Daily changes in nitrate influx, efflux and metabolism in maize and pearl millet[J]. Planta, 1981, 152: 319-324.

[15] Wang Y Y, Hsu P K, Tsay Y F. Uptake, allocation and signaling of nitrate[J]. Trend in Plant Science, 2012, 17(8): 458-467.

[16] Fan S C, Lin C S, Hsu P K *et al*. The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.7, expressed in phloem, is responsible for source-to-sink remobilization of nitrate[J]. The Plant Cell, 2009, 21: 2750-2761.

[17] Sasakawa H, Yamamoto Y. Comparison of the uptake of nitrate and ammonium by rice seedlings[J]. Plant Physiology, 1978, 62: 665-669.

[18] Delhon P, Gojon A, Tillard P, Passama L. Diurnal regulation of NO_3^- uptake in soybean plants IV. Dependence on current photosynthesis and sugar availability to the roots[J]. Journal of Experimental Botany, 1996, 47(7): 893-900.

[19] Lillo C. Signalling cascades integrating light-enhanced nitrate metabolism[J]. Biochemical Journal, 2008, 415: 11-19.

[20] Jackson W A, Flesher D, Hageman R H. Nitrate uptake by dark-grown corn seedlings[J]. Plant Physiology, 1973, 51: 120-127.

[21] Matt P, Geiger M, Walch-Liu P *et al*. Elevated carbon dioxide increases nitrate uptake and nitrate reductase activity when tobacco is growing on nitrate, but increases ammonium uptake and inhibits nitrate reductase activity when tobacco is growing on ammonium nitrate[J]. Plant Cell and Environment, 2001, 24(11): 1119-1137.

[22] 都韶婷,章永松. 增施 CO_2 降低小白菜硝酸盐积累的机理研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(6): 1509-1514.
Du S T, Zhang Y S. Mechanisms of CO_2 enrichment-induced decrease of nitrate accumulation in Chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.)[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(6): 1509-1514.

[23] Aslam M, Travis R L, Huffaker R C. Comparative kinetics and reciprocal inhibition of nitrate and nitrite uptake in roots of uninduced and induced barley seedlings[J]. Plant Physiology, 1992, 99: 1124-1133.

[24] Siddiqi M Y, Glass A D, Ruth T, Rufty T W. Studies of the uptake of nitrate in barley[J]. Plant Physiology, 1990, 93: 1426-1432.

[25] Youngdahl L J, Pacheco R, Street J J, Vlek P L G. The kinetics of ammonium and nitrate uptake by young rice plant[J]. Plant and Soil, 1982, 69: 225-232.

[26] Ohmori M, Ohmori K, Strotmann H. Inhibition of nitrate uptake by ammonia in a Blue-Green Algae, *Anabaena cylindrica*[J]. Archives of Microbiology, 1977, 114: 225-229.

[27] Aslam M, Travis R. Differential effect of amino acids on nitrate uptake and reduction systems in barley roots[J]. Plant Science, 2001, 160: 219-228.

[28] Padgett P E, Leonard R T. Free amino acid levels and the regulation of nitrate uptake in maize cell suspension cultures[J]. Journal of Experimental Botany, 1996, 47(7): 871-883.

[29] Ruffy T W Jr, MacKown C T, Israel D W. Phosphorus stress effects on assimilation of nitrate[J]. Plant Physiology, 1990, 94: 328-333.

[30] Neyra C A, Hageman R H. Nitrate uptake and induction of nitrate reductase in excised corn roots[J]. Plant Physiology, 1975, 56: 692-695.

[31] Blevins D G, Barnett N M, Frost W B. Role of potassium and malate in nitrate uptake and translocation by wheat seedlings[J]. Plant Physiology, 1978, 62: 784-788.

[32] Camacho-Cristóbal J J, González-Fontes A. Boron deficiency decreases plasmalemma H^+-ATPase expression and nitrate uptake, and promotes ammonium assimilation into asparagine in tobacco roots[J]. Planta, 2007, 226: 443-451.

[33] Cakmak I, Marschner H. Decrease in nitrate uptake and increase in proton release in zinc deficient cotton, sunflower and buckwheat plants[J]. Plant and Soil, 1990, 129: 261-268.

[34] Heimer Y M, Wray J L, Filner P. The effect of tungstate on nitrate assimilation in higher plant tissues[J]. Plant Physiology, 1969, 44: 1197-1199.

[35] Quaggiotti S, Ruperti B, Pizzeghello D *et al*. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.)[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(398): 803-813.

[36] Piccolo A, Nardi S, Concheri G. Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1992, 24(4): 373-380.

[37] Albuzio A, Ferrari G, Nardi S. Effects of humic substances on nitrate uptake and assimilation in barley seedlings[J]. Canadian Journal of Soil Science, 1986, 66: 731-736.

[38] Rao K P, Rains D W. Nitrate absorption by barley[J]. Plant Physiology, 1976, 57: 55-58.

[39] Touraine B, Muller B, Grignon C. Effect of phloem-translocated malate on NO_3^- uptake by roots of intact soybean plants[J]. Plant Physiology, 1992, 99: 1118-1123.

[40] Ward M R, Aslam M, Huffaker R C. Enhancement of nitrate uptake and growth of barley seedlings by calcium under saline conditions[J]. Plant Physiology, 1986, 80: 520-524.

[41] Delhon P, Gojon A, Tillard P, Passama L. Diurnal regulation of NO_3^- uptake in soybean plants I. Changes in NO_3^- influx, efflux, and N utilization in the plant during the day/night cycle[J].

Journal of Experimental Botany, 1995, 46(10): 1585-1594.

[42] 周诗毅,高轩,何光源,Cram W J. 不同糖类对水稻硝酸盐吸收的影响[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2009, 43(1): 124-127.
Zhou S Y, Gao X, He G Y, Cram W J. The effects of different sugars on the nitrate uptake in rice[J]. Journal of Huazhong Normal University(Nat. Sci.), 2009, 43(1): 124-127.

[43] 郑冬超, 夏新莉, 尹伟伦. 生长素促进拟南芥 AtNRT1.1 基因表达增强硝酸盐吸收[J]. 北京林业大学学报, 2013, 35(2): 80-85.
Zheng D C, Xia X L, Yin W L. Auxin promotes nitrate uptake by up-regulating AtNRT1.1 gene transcript level in *Arobidopsis thaliana* [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2013, 35(2): 80-85.

[44] Campbell S J. Uptake of ammonium by four species of macroalgae in Port Phillip Bay, Victoria, Australia [J]. Marine and Freshwater Research, 1999, 50(6): 515-522.

[45] Wanek W, Poertl K. Short-term ^{15}N uptake kinetics and nitrogen nutrition of bryophytes in a lowland rainforest, Costa Rica[J]. Functional Plant Biology, 2008, 35(1): 51-62.

[46] 都韶婷, 李玲玲, 章永松, 林咸永. 不同基因型小白菜硝酸盐积累差异及筛选研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(5): 969-975.
Du S T, Li L L, Zhang Y S, Lin X Y. Nitrate accumulation discrepancies and variety selection in different Chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.) genotypes[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2008, 14(5): 969-975.

[47] Steiner H Y, Naider F, Becker J M. The PTR family: A new group of peptide transporters[J]. Molecular Microbiology, 1995, 16: 825-834.

[48] Krouk G, Crawford N M, Coruzzi G M, Tsay Y F. Nitrate signaling: adaptation to fluctuating environments[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2010, 13: 265-272.

[49] Tsay Y F, Chiu C C, Tsai C B *et al*. Nitrate transporters and peptide transporters [J]. FEBS Letters, 2007, 581: 2290-2300.

[50] Huang N C, Chiang C S, Crawford N M, Tsay Y F. CHL1 encodes a component of the low-affinity nitrate uptake system in *Arabidopsis* and shows cell type-specific expression in roots[J]. The Plant Cell, 1996, 8: 2183-2191.

[51] Tsay Y F, Schroeder J I, Feldmann K A, Crawford N M. The herbicide sensitivity gene CHL1 of *Arabidopsis* encodes a nitrate-inducible nitrate transporter[J]. Cell, 1993, 72: 705-713.

[52] Kanno Y, Hanada A, Chiba Y *et al*. Identification of an abscisic acid transporter by functional screening using the receptor complex as a sensor[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(24): 9653-9658.

[53] Okamoto M, Vidmar J J, Glass A D M. Regulation of NRT1 and NRT2 gene families of *Arabidopsis thaliana* : responses to nitrate provision[J]. Plant and Cell Physiology, 2003, 44(3): 304-317.

[54] Chiu C C, Lin C S, Hsia A P *et al*. Mutation of a nitrate transporter, AtNRT1: 4, results in a reduced petiole nitrate content and altered leaf development [J]. Plant and Cell Physiology, 2004, 45: 1139-1148.

[55] Lin S H, Kuo H F, Canivence G *et al*. Mutation of the *Arabidopsis* NRT1.5 nitrate transporter causes defective root-to-shoot nitrate transport[J]. The Plant Cell, 2008, 20: 2514-2528.

[56] Almagro A, Lin S H, Tsay Y F. Characterization of the *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.6 reveals a role of nitrate in early embryo development[J]. The Plant Cell, 2008, 20: 3289-3299.

[57] Mendoza-Cózatl D G, Jobe T O, Hauser F, Schroeder J I. Long-distance transport, vacuolar sequestration, tolerance, and transcriptional responses induced by cadmium and arsenic[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2011, 14: 554-562.

[58] Li J Y, Fu Y L, Pike S M *et al*. The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.8 functions in nitrate removal from the xylem sap and mediates cadmium tolerance[J]. The Plant Cell, 2010, 22: 1633-1646.

[59] Wang Y Y, Tsay Y F. *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.9 is important in phloem nitrate transport[J]. The Plant Cell, 2011, 23: 1945-1957.

[60] Nour-Eldin H H, Andersen T G, Burow M *et al*. NRT/PTR transporters are essential for translocation of glucosinolate defence compounds to seeds[J]. Nature, 2012, 488: 531-534.

[61] Hsu P K, Tsay Y F. Two phloem nitrate transporters, NRT1.11 and NRT1.12, are important for redistributing xylem-borne nitrate to enhance plant growth[J]. Plant Physiology, 2013, 163: 844-856.

[62] 郑令欣. 阿拉伯芥 AtNRT1.13 功能分析 [D]. 台北:台湾大学博士论文,, 2010.
Zheng L X. Functional study of *Arabidopsis* AtNRT1.13 [D]. Taibei: PhD dissertation, Taiwan University, 2010.

[63] Leran S, Varala K, Boyer J C *et al*. A unified nomenclature of NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family members in plants[J]. Trend in Plant Science, 2014, 19(1): 5-9.

[64] Filleur S, Dorbe M F, Cerezo M *et al*. An *Arabidopsis* T-DNA mutant affected in Nrt2 genes is impaired in nitrate uptake[J]. FEBS Letters, 2001, 489: 220-224.

[65] Li W, Wang Y, Okamoto M *et al*. Dissection of the AtNRT2.1: AtNRT2.2 inducible high-affinity nitrate transporter gene cluster [J]. Plant Physiology, 2007, 143: 425-433.

[66] Lejay L, Wirth J, Pervent M *et al*. Oxidative pentose phosphate pathway-dependent sugar sensing as a mechanism for regulation of root ion transporters by photosynthesis[J]. Plant Physiology, 2008, 146: 2036-2053.

[67] Nazoa P, Vidmar J J, Tranbarger T J *et al*. Regulation of the nitrate transporter gene AtNRT2.1 in *Arabidopsis thaliana* : responses to nitrate, amino acids and developmental stage[J]. Plant Molecular Biology, 2003, 52: 689-703.

[68] Kiba T, Feria-Bourrellier A B, Lafouge F *et al*. The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT2.4 plays a double role in roots and shoots of nitrogen-starved plants[J]. The Plant Cell, 2012, 24: 245-258.

[69] Chopin F, Orsel M, Dorbe M F *et al*. The *Arabidopsis* ATNRT2.7 nitrate transporter controls nitrate content in seeds [J]. The Plant Cell, 2007, 19: 1590-1602.

[70] Dechorgnat J, Patrit O, Krapp A *et al*. Characterization of the Nrt2.6 gene in *Arabidopsis thaliana*: A link with plant response to biotic and abiotic stress[J]. Plos One, 2012, 7(8): 1-11.

[71] De Angeli A, Monachello D, Ephritkhine G *et al*. The nitrate/proton antiporter AtCLCa mediates nitrate accumulation in plant vacuoles[J]. Nature, 2006, 442: 939-942.

[72] Geelen D, Lurin C, Bouchez D *et al*. Disruption of putative anion channel gene AtCLCa in *Arabidopsis* suggests a role in the regulation of nitrate content[J]. The Plant Journal, 2000, 21: 259-267.

[73] Wege S, Jossier M, Filleur S *et al*. The proline 160 in the selectivity filter of the *Arabidopsis* NO_3^-/H^+ exchanger AtCLCa is essential for nitrate accumulation in planta [J]. The Plant Journal, 2010, 63: 861-869.

[74] Von der Fecht-Bartenbach J, Bogner M, Dynowski M, Ludewig U. CLC-b-mediated NO_3^-/H^+ exchange across the tonoplast of *Arabidopsis* vacuoles[J]. Plant and Cell Physiology, 2010, 51(6): 960-968.

[75] Lv Q D, Tang R J, Liu H *et al*. Cloning and molecular analysis of the *Arabidopsis thaliana* chloride channel gene family[J]. Plant Science, 2009, 176: 650-661.

[76] Negi J, Matsuda O, Nagasawa T *et al*. CO_2 regulator SLAC1 and its homologues are essential for anion homeostasis in plant cells [J]. Nature, 2008, 452: 483-486.

[77] Geiger D, Scherzer S, Mumm P *et al*. Activity of guard cell anion channel SLAC1 is controlled by drought-stress signaling kinase-phosphatase pair[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106: 21425-21430.

[78] Geiger D, Maierhofer T, AL-Rasheid K A S *et al*. Stomatal closure by fast abscisic acid signaling is mediated by the guard cell anion channel SLAH3 and the receptor RCAR1[J]. Science Signaling, 2011, 4(173): 1-12.

[79] http://www.arabidopsis.org/

[80] Morère-Le Paven M C, Viau L, Hamon A *et al*. Characterization of a dual-affinity nitrate transporter MtNRT1.3 in the model legume *Medicago truncatula* [J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(15): 5595-5605.

[81] Lin C M, Koh S, Stacey G *et al*. Cloning and functional characterization of a constitutively expressed nitrate transporter gene, *OsNRT1*, from rice[J]. Plant Physiology, 2000, 122(2): 379-388.