

植物生长和发育所必需的矿质元素中,氮素(N)是需求量最大并起着制约植物生长作用的重要元素<sup>[1]</sup>。氮是合成蛋白质、核苷酸、细胞结构物质、植物激素、生物碱等的必需元素,在植物细胞的生长、分化和代谢过程中起着重要的作用<sup>[2]</sup>。氮在土壤中以铵、硝酸盐、氨基酸、寡肽、不溶性氮复合物等多种形式存在。植物主要是通过根部以无机盐的形式吸收土壤中的氮营养。有机氮丰富的土壤中,氨基酸、寡肽也是氮的重要来源<sup>[3]</sup>。有些植物甚至可以通过肉食作用来获得所需的氮营养<sup>[4]</sup>,最近的研究还表明植物能利用蛋白质作为生长发育的氮源<sup>[5]</sup>。

无机氮化合物主要是通过木质部运输到叶片,而有机氮主要通过韧皮部、以氨基酸或者寡肽的形式完成从叶片到其他需氮器官的再分配,再分配对于不能进行氮素同化作用的器官至关重要<sup>[6]</sup>。当根部在进行氮素同化作用时,氨基酸会随蒸腾流通过木质部运输到成熟叶片,其中的大部分氨基酸进入韧皮部再运输到其他的生长点,通过这一过程实现氮素的循环。当叶片在进行氮素同化作用时,主要通过氨基酸的循环作用满足根部等对氮素的需求<sup>[7]</sup>。根部多余的氨基酸从韧皮部进入木质部,完成氮素的再循环<sup>[8]</sup>。氮还可以通过其他的形式,例如寡肽、嘌呤、嘧啶及其衍生物等,穿过细胞质膜完成氮素在细胞间的运输<sup>[9]</sup>。本文对有关植物硝酸根运输和寡肽运输基因家族的研究进展作简要综述,为研究植物对有机与无机氮素的吸收与运输提供参考。

## 1 植物中的硝酸根和寡肽运输基因

植物有一个复杂的运输体系来完成含氮物质的吸收及在体内的再分配,包括硝酸根、铵根、寡肽、氨基酸等运输体。这些运输体在底物特异性、亲和力和运输能力上各不相同,使植物在不同的外部环境下能正常生长和发育。硝酸根运输基因分为低亲和力硝酸根运输基因家族(Low-affinity nitrate transporter family, *NRT1*)与高亲和力硝酸根运输基因家族(High-affinity nitrate transporter family, *NRT2*)两类。植物寡肽运输基因分为:运输含 2~3 个氨基酸的寡肽的 *PTR* 运输基因家族(peptide transporter family, *PTR*)和运输 4~5 个氨基酸的寡肽的 *OPT* 运输基因家族(oligopeptide transporter family, *OPT*)。其中 *NRT1* 与 *PTR* 在序列同源性上

归属于同一基因家族,又称作 *NRT1/PTR* 家族。

目前鉴定出来的 *NRT1/PTR*、*NRT2* 和 *OPT* 基因家族成员绝大多数来自拟南芥(*Arabidopsis thaliana*),其中 7 个 *NRT2* 基因,53 个 *NRT1/PTR* 基因和 9 个 *OPT* 基因。水稻(*Oryza sativa*)中只有硝酸根运输蛋白基因 *OsNRT1* 和谷胱甘肽运输基因 *OsGT1*<sup>[10]</sup>。基于测序完成的全基因组分析,推测拟南芥中有 53 个、水稻中有 80 个 *NRT1/PTR* 同源基因<sup>[11]</sup>。

## 2 寡肽运输基因

### 2.1 寡肽运输基因的普遍性

高等植物根据机体和生长环境的营养状况产生一系列的反应。土壤中的氮不仅有无机的硝酸根、铵盐形式,同时还有不同形态的有机氮,如氨基酸、寡肽、蛋白质等。植物不仅能利用土壤中的无机氮,也能利用有机氮提供所需的氮<sup>[12]</sup>。寡肽运输蛋白就参与了从土壤中吸收有机氮素的过程。同时植物在成熟或种子萌发过程中,能重新动员贮藏的、或成熟器官中的含氮化合物,如蛋白质等,将蛋白质降解成小肽或氨基酸进行重新分配。水稻幼穗中约 80% 的氮是从其它衰老器官通过韧皮部运输而来<sup>[13]</sup>。植物的形态发生和发展依赖于一个稳定表达、可调控的运输基因表达系统的作用,以完成植物细胞、组织、器官之间的物质传递<sup>[14]</sup>。尽管寡肽运输基因在植物中有非常重要的作用,但目前的研究主要集中在细菌、真菌、酵母和哺乳动物中,对高等植物的研究报道很少。拟南芥中的寡肽运输基因是其它已完成测序的模式生物的 10 倍<sup>[15]</sup>,其他植物中可能有更多的寡肽运输基因,可见这类基因可能具有非常重要的作用。

### 2.2 寡肽运输基因的作用与特点

寡肽运输在真核生物和原核生物中常见,当细胞依赖能量时,寡肽能跨膜运输,细胞内的寡肽在肽水解酶作用下被水解为氨基酸,用于蛋白质的合成或作为一种碳、氮的来源<sup>[16]</sup>。最早从植物中鉴定的寡肽运输基因是拟南芥中的 *AtPTR2*,它能互补酵母 *PTR2* 基因的突变<sup>[17]</sup>。大麦(*Hordeum vulgare*)种子萌发过程中营养物质以寡肽形式转运,得到生物化学和分子水平证实。在谷类种子萌发过程中,胚乳中的蛋白质在蛋白酶和肽酶作用下水解为寡肽和氨基酸,寡肽和氨基酸穿过盾片运输到胚。寡肽是胚乳蛋白水解时最初的产物,为种子萌发后幼

苗的生长提供营养<sup>[18]</sup>,其在种子萌发中起着至关重要的作用。寡肽运输是种子萌发过程中为胚乳提供有机氮营养的唯一方式,而氨基酸在萌发后才起作用。萌发的大麦种子中寡肽含量可达 2 ~ 4 mmol/L<sup>[19]</sup>。已经从大麦中克隆得到的寡肽运输基因 *HvPTR1*,在爪蟾(*Xenopus laevis*)卵母细胞的表达证明 *HvPTR1* 是 PTR 家族的寡肽运输蛋白<sup>[20]</sup>。

寡肽运输与氨基酸运输是两个独立的过程。寡肽运输对  $\alpha$ -肽键和 L-氨基酸残基有很高的立体选择性,而对侧链氨基酸残基的选择性很低<sup>[21]</sup>。寡肽运输是一个质子偶联的过程,主要是对含 2 ~ 5 个氨基酸残基的寡肽进行运输,也可吸收中性、带正电荷或负电荷的氨基酸。寡肽运输要求低 pH 值,最佳 pH 为 3.8 ~ 4.0,这与大麦萌发时的 pH 值相似<sup>[22]</sup>。*OsGT1* 基因已从水稻中克隆并在酵母中表达,证实它具有运输特殊三肽谷胱甘肽及其结合物的能力<sup>[10]</sup>。

### 2.3 寡肽运输蛋白的类型

寡肽的运输动力主要来源于质子原动力(PMF)。根据底物和作用特点的不同,寡肽运输基因可分为两类:PTR 家族和 OPT 家族。

第一类是 PTR 家族,在真核生物和原核生物中都发现 PTR 运输基因,其成员可运输含氮化合物,包括氨基酸、寡肽和硝酸根等。PTR 家族蛋白利用质子梯度产生的能量介导底物的运输<sup>[23]</sup>。对 PTR 家族蛋白的疏水性分析表明它们有 12 个跨膜结构域,且第 4 或第 5 跨膜结构域有 1 个独特的 FING 保守区(FYxxINxGSL)<sup>[24]</sup>。PTR 基因家族中 *hPepT1* 保守区中的酪氨酸(Y167)发生突变时,*hPepT1* 蛋白即丧失了运输寡肽的能力,表明这个保守区对此基因家族是至关重要的<sup>[25]</sup>。另外,第 1 和第 10 跨膜结构域分别存在 ExCERFxYYG 和 WQIPQY 保守区<sup>[26]</sup>。经数据库比对分析,表明有 173 个基因序列与 *AtPTR2* 基因有高度的相似性,其中 111 个基因来自植物或酵母,如大豆 EST 数据库中有 33 个 PTR 运输基因;拟南芥中有 51 个 PTR 基因。但大量数据分析表明,上述保守区并不存在于所有的 PTR 基因中,因此不能以是否包含上述保守区来分析 PTR 家族基因。*OsGT1* 基因具有运输三肽化合物谷胱甘肽的能力,这是从水稻基因组中鉴定的第 1 个 PTR 基因。另一个通过图位克隆从水稻中获得的 *SPI* 基因推测是 PTR 成员,它的

突变造成水稻穗的缩短<sup>[27]</sup>。

第二类为 OPT 家族,主要运输含 4 ~ 5 个氨基酸残基的寡肽。与 PTR 家族蛋白相同,OPT 家族蛋白也是利用质子梯度产生的能量来介导底物的运输。疏水性分析表明,OPT 家族蛋白具有 12 ~ 14 个跨膜结构域,具有 SPYxEVRxxV、NPGPFxxKEH 和 GLNxxTEIxGY 等 3 个保守区<sup>[26]</sup>。拟南芥与水稻基因组中都存在至少 9 个 OPT 家族成员<sup>[28-29]</sup>,部分成员具有四肽、五肽长距离运输功能。有研究表明有些 OPT 成员能运输金属离子<sup>[28,30]</sup>,说明这一基因家族的运输底物的多样性,拟南芥 OPT6 的底物有 GSH 和五肽等,但对它们的亲和力不同<sup>[31]</sup>。

### 2.4 寡肽运输蛋白的主要生理功能

PTR 基因家族的主要生理功能目前研究并不多。通过生理与突变体分析,1 个与水稻 PTR 同源的基因 *SPI*,它的突变会影响穗的伸长,其是否运输寡肽还有待于鉴定<sup>[32]</sup>。与植物抗病性相关的 *AtPTR3* 的突变能增强拟南芥对病菌的敏感性,表明 *AtPTR3* 可能参与了植物的抗病反应<sup>[33]</sup>,*AtPTR3* 也可能与植物抗逆反应有关,如盐胁迫<sup>[34]</sup>。对种子萌发时寡肽运输基因的作用研究得较多,如 *HvPTR1*<sup>[35]</sup>。

## 3 硝酸根运输基因

### 3.1 高等植物中的硝酸根运输基因

根据运输蛋白在运输时外部环境中硝酸根浓度不同,植物体中存在 2 种硝酸根吸收体系,一种是低亲和力的硝酸根运输基因(Low affinity nitrate transporters, *NTR1*,也叫 *LATs*);另一种是高亲和力的硝酸根运输基因(High affinity nitrate transporters, *NTR2*,又叫 *HATs*)<sup>[36-37]</sup>。其中 *NTR2* 又分为底物诱导型和组成表达型两种。

从植物中克隆的第 1 个硝酸根运输基因是 *AtNRT1.1*(也叫 *CHL1*),*CHL1* 为氯酸盐抗性突变型。氯酸盐是一种硝酸根类似物,植物体吸收氯酸盐后,在硝酸根还原酶作用下还原为对植物有毒害作用的亚氯酸盐。硝酸根吸收功能或硝酸根还原酶功能的缺失使植株对氯酸盐产生抗性。低亲和力硝酸根运输基因 *chl1* 是 1978 年分离鉴定出来的<sup>[38]</sup>,而 *CHL1*(*AtNRT1.1*)是 1993 年从 T-DNA 标签突变型植物中克隆得到<sup>[39]</sup>。通过爪蟾卵母细胞表达体系的研究表明,*CHL1* 是一个质子偶联的硝酸根运输蛋白<sup>[40]</sup>。*CHL1* 是研究得较详细的硝酸根

运输基因,土壤中的硝酸根浓度可以相差 4 个数量级,植物为了应对环境中硝酸根浓度的变化在进化过程中形成两种硝酸根吸收体系,一种是高亲和力的,另一种是低亲和力的。*chl1* 突变型植株表现出低亲和力的硝酸根吸收能力的缺失,而高亲和力的硝酸根吸收能力是正常的<sup>[38]</sup>。另外,爪蟾卵母细胞转入带 *CHL1* 的表达载体,测定的米氏常数(*K<sub>m</sub>*)约为 5 mmol/L,为低亲和力<sup>[41]</sup>。很长一段时间内,植物低亲和力和高亲和力的硝酸根吸收体系在遗传进化上被认为是截然不同的,认为 *CHL1* 只是 1 个低亲和力的硝酸根运输蛋白。然而,后来的研究表明,*chl1* 突变型植株同样有高亲和力的硝酸根吸收能力<sup>[42]</sup>。爪蟾卵母细胞表达体系研究表明,*CHL1* 既有高亲和力的吸收硝酸根的能力(*K<sub>m</sub>* 约为 50 μmol/L),也有低亲和力的吸收硝酸根的能力(*K<sub>m</sub>* 约为 4 mmol/L),即 *CHL1* 是一个双亲和力的硝酸根运输蛋白<sup>[43]</sup>。*NRT1.7* 参与了植物韧皮部中硝酸根的移动并影响硝酸根在源和库中的流动<sup>[44]</sup>。另外,研究发现 *NRT1.6* 能将成熟组织中的硝酸根向发育中的胚运输,*nrt1.6* 突变体使得胚的发育停留在 1~2 个细胞分裂的早期,表明这种运输作用对于早期胚的发育非常重要<sup>[32]</sup>。其它硝酸根运输基因也有较多的研究报道<sup>[2,11,45]</sup>。

### 3.2 硝酸根运输基因的调控

*NRT2* 家族的硝酸根诱导作用已经在很多植物中得到证实,植物在硝酸根处理几小时之后的吸收速率达到最大,随后逐步降低。硝酸根浓度高或低都能诱导 *iHATs* 的表达<sup>[36,46]</sup>。大麦根部 4 个紧密相关的 *HvNRT2* 基因在硝酸根饥饿时不表达,而有硝酸根和亚硝酸根时表达水平大幅度提高,硝酸根的吸收量也随之增加;硝酸根处理 6~12 h,有 3 个基因的转录水平下降,只有 *HvNRT2.4* 仍维持较高的表达水平;而当硝酸根浓度为 50~500 μmol/L,随着硝酸根浓度的增加,表达水平反而降低<sup>[47]</sup>。植物对硝酸根高亲和力的吸收作用与 *NRT2* 基因表达量增加之间的紧密联系为 *NRT2* 功能研究提供了间接的依据。通常认为,植物在硝酸根长时间处理使 *iHATs* 表达水平降低是由硝酸的堆积和硝酸根同化作用过程中的下游产物产生的反馈抑制作用引起的,如氨基酸等的积累。直接或通过化学或基因工程等方法增加这些产物在植物中的含量,使 *NRT2* 的表达下降。有研究表明谷氨酸是对 *HvNRT2* 产生负调控作用的主要物质<sup>[48]</sup>。

虽然叶子、花、叶柄、种子中都有 *NRT2* 的表达,但它在根部比在其它器官的表达水平高<sup>[49]</sup>。*NpNRT2* 在烟草(*Nicotiana plumbaginifolia*)幼根和成熟根的表皮细胞和根原基中的表达水平比其它组织高<sup>[50]</sup>。*AtNRT2.1* 在拟南芥中的表达受发育阶段和昼夜交替的调节,萌发 10 d 幼苗的表达水平高于 15 d 的,光照下的表达水平也相对较高<sup>[51]</sup>。从 *NRT1* 和 *NRT2* 基因的昼夜表达图谱可见,它们在拟南芥和西红柿(*Solanum lycopersicum*)中的表达模式相似,除了转录水平存在昼夜变化之外,还有一些更细微的变化,说明这些基因的调控是多因素的,如光敏色素、氮代谢产物、碳的供应量等<sup>[12,44,50]</sup>。

最近的研究表明 *NpNRT2.1* 是烟草 *iHATs* 基因家族中起限制性作用的基因,它的表达受植物体内还原性氮含量水平所调控<sup>[50]</sup>。用铵处理 *NpNRT2.1* 组成型表达的转基因植株,植株的<sup>15</sup>NO<sub>3</sub>吸收量减少,表明基因转录后抑制了<sup>15</sup>NO<sub>3</sub>的吸收<sup>[50]</sup>。在 *NRT1* 和 *NRT2* 中均有蛋白激酶识别的保守区域,可能通过磷酸化作用和去磷酸化作用调节这两个基因的活性。*NRT1.1* 被认为是 1 个对硝酸根感知与调节的基因,它的磷酸化可以使植物根感知土壤中硝酸根浓度的变化<sup>[52]</sup>。

## 4 研究展望

植物中有众多的硝酸根与寡肽运输基因,这使得植物能通过调节对不同氮素的吸收与分配,来满足生长发育所需的氮。这一复杂的运输系统是建立在不同的结构基因与调节基因的基础之上。然而要更好地理解这一复杂系统,还需要弄清楚以下问题:各基因的功能与作用是什么?它们怎样协调进行调控?什么是它们的信号分子与如何感知这些信号分子?哪些基因参与了这些通路的调节?硝酸根与寡肽的空间结构差异较大,为什么运输它们的 *NTR1* 与 *PTR* 序列具有同源性?这些问题均有待于进一步研究。

### 参考文献

- [1] Holzschuh M J, Bohnen H, Anghinoni I, et al. Rice growth as affected by combined ammonium and nitrate supply [J]. Rev Brasil De Cienc Do Solo, 2009, 33(5): 1323-1331.
- [2] Glass A D M, Britto D T, Kaiser B N, et al. The regulation of nitrate and ammonium transport systems in plants [J]. J Exp Bot, 2002, 53(370): 855-864.
- [3] Nasholm T, Kielland K, Ganeteg U. Uptake of organic nitrogen by plants [J]. New Phytol, 2009, 182(1): 31-48.

- [4] Schulze W, Frommer W B, Ward J M. Transporters for ammonium, amino acids and peptides are expressed in pitchers of the carnivorous plant *Nepenthes* [J]. *Plant J*, 1999, 17(6): 637–646.
- [5] Paungfoo-Lonhienne C, Lonhienne T G A, Rentsch D, et al. Plants can use protein as a nitrogen source without assistance from other organisms [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(11): 4524–4529.
- [6] Andrews M, Lea P J, Raven J A, et al. Nitrogen use efficiency. 3. Nitrogen fixation: Genes and costs [J]. *Ann Appl Biol*, 2009, 155(1): 1–13.
- [7] Marschner H, Kirkby E A, Engels C. Importance of cycling and recycling of mineral nutrients within plants for growth and development [J]. *Bot Acta (Dtsch)*, 1997, 110(4): 265–274.
- [8] Larsson C M, Larsson M, Purves J V, et al. Translocation and cycling through roots of recently absorbed nitrogen and sulfur in wheat (*Triticum aestivum*) during vegetative and generative growth [J]. *Physiol Plant*, 1991, 82(3): 345–352.
- [9] Gillissen B, Brökle L, Andr B, et al. A new family of high affinity transporters for adenine, cytosine and purine derivatives in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2000, 12(2): 291–300.
- [10] Zhang M Y, Bourbouloux A, Cagna O, et al. A novel family of transporters mediating the transport of glutathione derivatives in plants [J]. *Plant Physiol*, 2004, 134(1): 482–491.
- [11] Tsay Y F, Chiu C C, Tsay C B. Nitrate transporters and peptide transporters [J]. *FEBS Letters*, 2007, 581(12): 2290–2300.
- [12] Paungfoo-Lonhienne C, Schenk P M, Lonhienne T G A, et al. Nitrogen affects cluster root formation and expression of putative peptide transporters [J]. *J Exp Bot*, 2009, 60(9): 2665–2676.
- [13] Mae T, Ohira K. The remobilization of nitrogen related to leaf growth and senescence in rice plants (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant Cell Physiol*, 1981, 22(6): 1067–1074.
- [14] Delrot S, Atanassova R, Maurousset L. Regulation of sugar, amino acid and peptide plant membrane transporters [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1465(1/2): 281–306.
- [15] Arabidopsis Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature*, 2000, 408(6814): 796–815.
- [16] Song W, Steiner H Y, Zhang L, et al. Cloning of a second *Arabidopsis* peptide transport gene [J]. *Plant Physiol*, 1996, 110(1): 171–178.
- [17] Song W, Koh S, Czako M, et al. Antisense expression of the peptide transport gene *AtPTR2-B* delays flowering and arrests seed development in transgenic *Arabidopsis* plants [J]. *Plant Physiol*, 1997, 114(3): 927–935.
- [18] Higgins C F, Payne J W. Peptide transport by germinating barley embryos: Uptake of physiological di- and oligopeptides [J]. *Planta*, 1978, 138(3): 211–215.
- [19] Higgins C F, Payne J W. The peptide pools of germinating barley grains: Relation to hydrolysis and transport of storage proteins [J]. *Plant Physiol*, 1981, 67(4): 785–792.
- [20] West C E, Waterworth W M, Stephens S M, et al. Cloning and functional characterisation of a peptide transporter expressed in the scutellum of barley grain during the early stages of germination [J]. *Plant J*, 1998, 15(2): 221–229.
- [21] Waterworth W M, West C E, Bray C M. The barley scutellar peptide transporter: biochemical characterization and localization to the plasma membrane [J]. *J Exp Bot*, 2000, 51(348): 1201–1209.
- [22] Higgins C F, Payne J W. Stereospecificity of peptide transport by germinating barley embryos [J]. *Planta*, 1978, 142(3): 299–305.
- [23] Paulsen I T, Skurray R A. The POT family of transport proteins [J]. *Trend Biochem Sci*, 1994, 19(10): 404.
- [24] Steiner H Y, Song W, Zhang L, et al. An *Arabidopsis* peptide transporter is a member of a new class of membrane transport proteins [J]. *Plant Cell*, 1994, 6(9): 1289–1299.
- [25] Yeung A K, Basu S K, Wu S K, et al. Molecular identification of a role for tyrosine 167 in the function of the human intestinal proton-coupled dipeptides transporter (hPEPT1) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 250(1): 103–107.
- [26] Hauser M, Narita V, Donhardt A M, et al. Multiplicity and regulation of genes encoding peptide transporters in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Memb Biol*, 2001, 18(1): 105–112.
- [27] Li S, Qian Q, Fu Z, et al. Short panicle1 encodes a putative PTR family transporter and determines rice panicle size [J]. *Plant J*, 2009, 58(4): 592–605.
- [28] Vasconcelos M W L G, Lubkowitz M A, et al. Characterization of the PT clade of oligopeptide transporters in rice [J]. *Plant Genome*, 2008, 1(1): 77–88.
- [29] Koh S, Wiles A M, Sharp J S, et al. An oligopeptide transporter gene family in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2002, 128(1): 21–29.
- [30] Stacey M G, Patel A, McClain W E, et al. The *Arabidopsis* AtOPT3 protein functions in metal homeostasis and movement of iron to developing seeds [J]. *Plant Physiol*, 2008, 146(2): 589–601.
- [31] Pike S, Patel A, Stacey G, et al. *Arabidopsis* OPT6 is an oligopeptide transporter with exceptionally broad substrate specificity [J]. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50(11): 1923–1932.
- [32] 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]. *Plant Cell*, 2008, 20(12): 3289–3299.
- [33] Karim S, Holmstrom K, Mandal A, et al. AtPTR3, a wound-induced peptide transporter needed for defence against virulent bacterial pathogens in *Arabidopsis* [J]. *Planta*, 2007, 225(6): 1431–1445.
- [34] Karim S, Lundh D, Holmstrom K O, et al. Structural and functional characterization of AtPTR3, a stress-induced peptide transporter of *Arabidopsis* [J]. *J Mol Mod*, 2005, 11(3): 226–236.
- [35] Waterworth W M, Ashley M K, West C E, et al. A role for phosphorylation in the regulation of the barley scutellar peptide transporter HvPTR1 by amino acids [J]. *J Exp Bot*, 2005, 56(416): 1545–1552.
- [36] 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 (*Hordeum vulgare* L.) seedlings [J]. *Plant Physiol*, 1992, 99(3): 1124–1133.
- [37] Skerrett M, Tyerman S D. A channel that allows inwardly directed

- fluxes of anions in protoplasts derived from wheat roots [J]. *Planta*, 1994, 192(3): 295–305.
- [38] Doddema H, Hofstra J J, Feenstra W J. Uptake of nitrate by mutants of *Arabidopsis thaliana*, disturbed in uptake or reduction of nitrate I. Effect of nitrogen source during growth on uptake of nitrate and chlorate [J]. *Physiol Plant*, 1978, 43(4): 343–350.
- [39] Ho C H, Lin S H, Hu H C, et al. CHL1 functions as a nitrate sensor in plants [J]. *Cell*, 2009, 138(6): 1184–1194.
- [40] Tsay Y F, Schroeder J I, Feldmann K A, et al. The herbicide sensitivity gene *CHL1* of *Arabidopsis* encodes a nitrate-inducible nitrate transporter [J]. *Cell*, 1993, 72(5): 705–713.
- [41] Huang N C, Chiang C S, Crawford N M, et al. *CHL1* encodes a component of the low-affinity nitrate uptake system in *Arabidopsis* and shows cell type-specific expression in roots [J]. *Plant Cell*, 1996, 8(12): 2183–2191.
- [42] Wang R, Liu D, Crawford N M. The *Arabidopsis* CHL1 protein plays a major role in high-affinity nitrate uptake [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(25): 15134–15139.
- [43] Liu K H, Huang C Y, Tsay Y F. CHL1 is a dual-affinity nitrate transporter of *Arabidopsis* involved in multiple phases of nitrate uptake [J]. *Plant Cell*, 1999, 11(5): 865–874.
- [44] Fan S C, Lin C S, Hsu P, et al. The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.7, expressed in phloem, is responsible for source-to-sink remobilization of nitrate [J]. *Plant Cell*, 2009, 21(9): 2750–27761.
- [45] Orsel M, Filleur S, Fraiser V, et al. Nitrate transport in plants: Which gene and which control [J] *J Exp Bot*, 2002, 53(370): 825–833.
- [46] Nakamura Y, Umemiya Y, Masuda K, et al. Molecular cloning and expression analysis of cDNAs encoding a putative Nrt2 nitrate transporter from peach [J]. *Tree Physiol*, 2007, 27(4): 503–510.
- [47] Vidmar J J, Zhuo D, Siddiqi M Y, et al. Regulation of high-affinity nitrate transporter genes and high-affinity nitrate influx by nitrogen pools in roots of barley [J]. *Plant Physiol*, 2000, 123(1): 307–318.
- [48] Tong Y, Zhou J J, Li Z, et al. A two-component high-affinity nitrate uptake system in barley [J]. *Plant J*, 2005, 41(3): 442–450.
- [49] Zhou S, Gao X, Wang C, et al. Identification of sugar signals controlling the nitrate uptake by rice roots using a noninvasive technique [J]. *Z Naturforsch C*, 2009, 64(9/10): 697–703.
- [50] Orsel M, Chopin F, Leleu O, et al. Characterization of a two-component high-affinity nitrate uptake system in *Arabidopsis*. Physiology and protein-protein interaction [J]. *Plant Physiol*, 2006, 142(3): 1304–1317.
- [51] Chopin F, Wirth J, Dorbe M F, et al. The *Arabidopsis* nitrate transporter AtNRT2.1 is targeted to the root plasma membrane [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2007, 45(8): 630–635.
- [52] Wang R, Xing X, Wang Y, et al. A genetic screen for nitrate regulatory mutants captures the nitrate transporter gene *NRT1.1* [J]. *Plant Physiol*, 2009, 151(1): 472–478.