

高等植物氮素吸收分子机理研究进展

赵首萍^{1, 2}, 赵学强^{1, 2}, 施卫明^{1*}

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室 (中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: N 是植物生长必需的营养元素之一, 对其吸收机理的进一步研究可以为合理施用 N 肥以及通过分子生物学途径改良品种、提高 N 肥利用效率提供理论依据。随着近年来多学科的交叉发展, 人们开始将分子生物学技术应用于植物营养的研究中, 对 N 素吸收的分子机理的研究就是其中一项重要的内容。 NH_4^+ 和 NO_3^- 是高等植物吸收的两种主要形态的 N 素, 本文对近年来国内外关于 NH_4^+ 吸收基因 AMT 以及 NO_3^- 吸收基因 NRT 的鉴定、克隆及表达规律的研究进行了概述。

关键词: 氮素; 吸收; 分子机理

中图分类号: S501

氮 (N) 素是作物从土壤中吸收量最多的元素, 是作物必需的营养元素之一, 其对作物的生命活动和产量形成具有重要意义。但是 N 肥施用过多或过少都会对作物的产量和品质造成不良的影响。尤其近年来, 由于不合理施肥导致的环境污染问题越发严重^[1-4], 改善施肥措施、改良品种、提高 N 素利用效率、减轻施肥对环境造成的压力是目前迫切需要解决的问题^[5]。因此植物吸 N 机制一直是植物营养界高度重视的研究内容^[6-9]。 NH_4^+ 和 NO_3^- 是 N 素吸收的主要形态, 随着近年来多学科交叉发展, 分子生物学技术在植物营养领域中的应用也越来越多, 对 N 素吸收的分子机理研究就是其中一项重要的内容, 同时明确这一机理也有助于从分子生物学途径改良品种, 提高 N 素利用率, 减轻环境污染。

1 高等植物 NH_4^+ 吸收的分子机理研究

早期 NH_4^+ 吸收动力学表明, NH_4^+ 的吸收有两个明显的动力学吸收特性: 低亲和的非饱和吸收和高亲和的饱和吸收^[10-11], 高亲和力系统在低浓度下 ($\mu\text{mol/L}$) 起作用, 低亲和力系统在高浓度 (mmol/L) 下起作用^[12]。研究表明高等植物 NH_4^+ 的吸收是一个由 NH_4^+ 转运蛋白基因 (AMT) 参与的过程, 并且在植物、酵母、细菌和哺乳动物中都发现 AMT 基因的存在^[13]。这些 NH_4^+ 转运蛋白基因组成了 70% 的根表, 并且在 N 素吸收中起到重要的作用^[14]。 NH_4^+ 转运蛋白基因首先在根毛中表达的现象^[15]支持了这一基因在 NH_4^+ 营养中起到一定作用这一观点。很多证据说明

AMT1 基因家族编码的蛋白在植物中具有 NH_4^+ 转运蛋白的功能^[12]。首先, AMT1 基因属于真核和原核 NH_4^+ 转运蛋白基因家族 MEP/AMT1 中的成员, 番茄和拟南芥的高亲和 NH_4^+ 转运蛋白基因 AMT1.1 已经通过酵母突变体得到功能鉴定^[15-16]; 其次, 在酵母中 AMT 转运蛋白的生化特性如能量来源、最佳 pH 值以及受 K^+ 抑制的程度^[16]都反应了完整植株根系中的 NH_4^+ 吸收特性^[11, 17]; 最后, 番茄中的 AMT1.1 首先在根毛中表达, 这一点足以说明 AMT 基因在植物从生长介质中吸收 NH_4^+ 这一过程中所起的作用^[15]。

1.1 AMT 的分离和鉴定

过去在植物中已经鉴定并部分定性了两类 NH_4^+ 转运蛋白: AMT1 和 AMT2 家族^[18]。通过酵母突变体的功能互补, 第一个 NH_4^+ 通道蛋白基因 AtAMT 从拟南芥中分离出来并得到功能鉴定^[16, 19]。进一步研究发现拟南芥中有 6 个 AtAMT 基因^[13]; 水稻有 10 个 OsAMT 基因^[20]; 番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 有 3 个 LeAMT 基因^[15, 21-22]; 白菜 (*Brassicinapus*) 有 2 个 BnAMT 基因^[23]。

用酵母突变体鉴定过的 AtAMT1.1 为探针, 从拟南芥的 cDNA 文库中找到两个同源的 cDNA 克隆^[12, 16], 命名为 AtAMT1.2 和 AtAMT1.3, 并成功用酵母突变体鉴定了 AtAMT1.2 和 AtAMT1.3 的功能, 同时指出 AtAMT1.2 和 AtAMT1.3 开放读码框分别编码 54.9 KD 和 55.7 KD 的多肽, 分别包含 512 和 520 个氨基酸残基; 在氨基酸水平上, AtAMT 1.3 与 AtAMT 1.1 的同源性达到 79.4%; AtMT1.2 与 AtAMT1.1 为 71.5% 同

* 通讯作者 (wmshi@issas.ac.cn)

作者简介: 赵首萍 (1976—), 女, 黑龙江鸡西人, 博士研究生, 主要从事植物营养研究。E-mail: zhaoshouping760320@yahoo.com.cn

源; AtMT1.2 与 AtAMT 1.3 的同源性为 67.8%。同时发现 AtAMT1.2 序列 N 末端有很长的丝氨酸区域。不同的研究方法都预测这 3 个 AMT 蛋白可能有螺旋状的 11 个跨膜区域^[24-26]。这一预测同番茄、水稻和酵母的 AMT1/MEP 聚合肽的预测相同^[15, 27-28]。研究发现同 AtAMT 1.1 同源的基因还有另外 3 个^[12], 随后就有报道拟南芥中发现 6 个 AtAMT 基因。根据同源性的不同, 拟南芥的 6 个 AtAMT 基因被分为两个系列: AtAMT1 系列 5 个, 外加 1 个 AtAMT2^[13]。虽然已经发现了 6 个 AtAMT 基因, 但目前主要的研究对象还是 AtAMT1.1、AtAMT1.2 和 AtAMT1.3 这 3 个基因。水稻中共有 10 个 OsAMT 基因, 同样根据同源性的不同分为 4 个系列: 3 个 OsAMT1, 3 个 OsAMT2, 3 个 OsAMT3 以及 1 个 OsAMT4^[20]。目前的研究还仅限于 OsAMT1 系列的 3 个基因上, 通过酵母突变体鉴定了这 3 个 OsAMT 1 基因都是有效的 NH_4^+ 转运蛋白基因^[29]。Kumar 等^[30]报道水稻基因组序列分析表明 OsAMT1 系列可能有 5 个同源体存在^[30], 但现在的研究中只命名并研究了 OsAMT 1.1、OsAMT 1.2 和 OsAMT 1.3, 这 3 个基因分别编码 56.8KD、53.4KD 和 52.5KD 的多肽, 分别包含 532、497 和 495 个氨基酸。OsAMT1.1 和 OsAMT1.3 的氨基酸水平上的同源性为 83%, OsAMT1.1 与 OsAMT1.2 的同源性为 73%; 而 OsAMT1.2 和 OsAMT1.3 的同源性为 68%。这 3 个基因都含有 9 ~ 11 个螺旋结构的跨膜区域。这同早期关于番茄、酵母和拟南芥的报道一致^[12, 15, 27]。

1.2 AMT 的表达规律研究

在拟南芥的 6 个 AtAMT 基因中, AtAMT 1.1 是对 NH_4^+ 亲和力最高的, 当 N 水平变化时, NH_4^+ 向根系的流入量与 AtAMT1.1 的表达量高度相关^[13]。在亲和力上, AtAMT1.1 对甲胺的亲性最高, $K_m = 8 \mu\text{mol/L}$; 其次是 AtAMT1.3, $K_m = 11 \mu\text{mol/L}$; 最后是 AtAMT1.2, $K_m = 24 \mu\text{mol/L}$ ^[12], 因为对甲胺的亲性不能完全代表对 NH_4^+ 的亲性^[31], 因此又研究了这 3 个 AtAMT1 基因对 NH_4^+ 的亲性^[12], 发现 AtAMT1.1 的 K_m $0.5 \mu\text{mol/L}$, 在 nmol 级; AtAMT1.2 和 AtAMT1.3 的 K_m 在 $25 \sim 40 \mu\text{mol/L}$ 之间。虽然对 NH_4^+ 的 K_m 值还会因环境的不同而发生变化, 但是由 K_m 所指示的这 3 个 AtAMT 基因起作用的最佳浓度正好包括了典型土壤中所测定的 NH_4^+ 浓度范围^[14]。在表达部位上, 所有这 3 个 AtAMT1 基因的表达是器官依赖型的^[12], 但是 AtAMT1.1、AtAMT1.2 和 AtAMT1.3 的表达部位不同, 这 3 个基因都在根中大量表达, 但是只有 AtAMT1.1 和 AtAMT1.2 在地上有表达, 尤其

是在成熟叶片中表达量最高。在表达规律上, AtAMT1.1 主要受缺 N 诱导, 在无 N 诱导 72 h 后, AtAMT1.1 表达量增加了 5 倍, 并且只有在无 N 诱导后才有表达, 同时根中 NH_4^+ 的流入量也大大增加。因此推测 AtAMT1.1 主要负责缺 N 条件下的 NH_4^+ 吸收^[12], 因为它对 NH_4^+ 的亲力最高; AtAMT1.2 组成型表达; AtAMT1.3 在无 N 诱导 72 h 后增加了 2 倍, AtAMT1.3 主要受光照的诱导, 在一天的昼夜循环中光照末期, AtAMT1.3 的表达量增加了 3 倍, 这一点同 NH_4^+ 吸收所必需的水化合物的规律一致, 因此推测 AMT1.3 可能是 C、N 代谢之间的联系。这 3 个基因的表达都不受 N 形态的影响, 所以认为短时间的 NO_3^- 促 NH_4^+ 吸收的现象可能是发生在后转录水平, 也可能是发生在转运蛋白本身的变化上, 而不是基因本身的变化^[12]。对拟南芥 AtAMT1.1 进行基因敲除后发现^[13], 在充足 N 条件下, 突变体和野生型的高亲和 NH_4^+ 流入没有差异, 当无 N 处理以增加 AtAMT1.1 的表达后发现突变体高亲和 NH_4^+ 流入比野生型降低 30%, 而低亲和 NH_4^+ 的流入 ($250 \mu\text{mol/L} \sim 10 \text{mmol/L} \text{NH}_4^+$) 超过野生型。缺 N 条件下, 突变体根部 AtAMT1.3 和 AtAMT2.1 的 mRNA 表达量明显高于野生型。突变体中 AMT 家族其他基因的过量表达可能是对 AtAMT1.1 缺失的一种补偿。拟南芥 AMT1 系列的另外两个基因 AtAMT1.4 和 AtAMT1.5 已经从拟南芥基因组中得到全长序列, 但是否它们也参与 NH_4^+ 的吸收还有待于研究^[21]。

对水稻 OsAMT1 系列 3 个基因表达规律的研究有着不同的结果。Kumar 等^[30]在研究不同 N 水平对根中 OsAMT1 表达量的影响时, 将 $10 \mu\text{mol/L} \text{NH}_4^+$ 培养了 3 周的水稻苗转移到 $10 \text{mmol/L} \text{NH}_4^+$ 中时, 发现在 72 h 内 OsAMT1.1 表达量以及高亲和 NH_4^+ 的流入量降低了 6 倍左右, 同时 OsAMT1.2 和 OsAMT1.3 的表达量分别降低了 3.6 和 1.6 倍。同样, 当从 $10 \text{mmol/L} \text{NH}_4^+$ 转移到 $10 \mu\text{mol/L} \text{NH}_4^+$ 时, 72 h 后, 根中 OsAMT1.1 表达量增加了 6.2 倍, NH_4^+ 流入量也增加了 6.7 倍左右, 同时 OsAMT1.2 和 OsAMT1.3 分别增加了 3.3 和 1.8 倍, 这同早期对拟南芥的研究结果相似^[12]。OsAMT1.2 的变化幅度大约是 OsAMT1.1 的 50% 左右, OsAMT1.3 变化最小。Kumar 等^[30]同时发现, 象拟南芥的 AtAMT1.3 一样, OsAMT1.3 主要受光照的诱导, 昼夜 24 h 的循环中, 光照末期 OsAMT1.3 的表达可以比初期增加 3 倍左右, 并且在黑暗开始时很快降低, 而 OsAMT1.1 和 OsAMT1.2 的变化只有 1.3 倍和 1.4 倍左右, 并且这时只有 OsAMT1.3 的变化与 NH_4^+ 的

吸收相关性最好。但在 Sonoda 等^[29]的研究中, OsAMT1.1 在水稻根、茎中组成型表达, OsAMT1.2 是根特异性, 并且受 NH_4^+ 诱导; OsAMT1.3 也是根特异性表达, 受 N 的诱导。

1.3 AMT2 的研究

AMT2 家族的生理功能不十分清楚, 目前还没有这些基因在细胞和组织中定位的详细信息, 这些蛋白在细胞内的定位也是研究所有 AMT 家族成员生理功能的限制因子。AtAMT2 是同其他 5 个 AtAMT 基因同源性最低的一个 AMT 基因^[33]。应用放射性元素 ^{13}N 发现 AtAMT2 在酵母菌中的表达是一个高亲和转运蛋白, 对 NH_4^+ 的 K_m 值大约为 $20 \mu\text{mol/L}$, AtAMT2 在拟南芥的所有器官中表达, 并且受 N 水平的影响, 至少在根中表达受高浓度硝酸铵的抑制以及外源缺 N 的诱导。虽然 AtAMT2 在茎中的表达与根系 N 水平的变化相关较小, 但在叶中的转录水平在高 CO_2 条件下有所下降。利用拟南芥 AtAMT1.2 绿色荧光蛋白在叶表达细胞的瞬时表达体系发现 AtAMT2 蛋白定位于质膜, 并可能在植物细胞的共质体和质外体之间 NH_4^+ 的转运过程中起到非常重要的作用, dsRNA 的干预使 AtAMT2 的转录水平大大降低, 但对植物生长发育没有影响^[32]。

Suenaga 等^[20]用酵母突变体鉴定了 OsAMT2.1 是具有 NH_4^+ 转运蛋白功能的基因, 同时指出 OsAMT2.1 在水稻根、茎中组成型表达, 与介质无机 N 供应无关, 而 OsAMT3.1 表达相对较弱, 因此, 推测在水稻 NH_4^+ 吸收中, OsAMT1 家族起主要作用, 而 OsAMT2 和 OsAMT4 形成一个小家族, 其行为更类似于原核生物的 AMT 和酵母的 MEP。

除了水稻和拟南芥这两种模式植物以外, 从豆科植物日本莲中克隆了第一个 AMT2 家族成员 LjAMT2.1, 并且通过对酵母 NH_4^+ 吸收突变体的补偿作用证明, LjAMT2.1 是有效的 NH_4^+ 转运蛋白, 同拟南芥 AtAMT2 相同, 不同于其他几个物种 AMT1 的是 LjAMT2.1 不能转运甲胺^[18]。LjAMT2.1 在莲中组成型表达, RNA 杂交证明它在根瘤的大多数组织中表达, 植物细胞中 LjAMT2.1-GFP 融和蛋白的瞬时表达证明这个转运蛋白定位于质膜上, 因为根瘤从内部获得 NH_4^+ , 而不是从土壤获得 NH_4^+ , LjAMT2.1 在吸收由根瘤细胞流失的 NH_4^+ 中起重要作用, 在其他器官中可能也有同样的作用, 尤其是叶片, 在正常代谢中可以释放 NH_4^+ ^[18]。

1.4 AMT 的信号功能

NH_4^+ 转运蛋白除了吸收 NH_4^+ 的作用以外, 在酵

母中它还起到 NH_4^+ 传感器的作用, 因为 $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ 不仅是 N 吸收或再吸收的最初形态, 也是细胞间交流的一种信号^[33]。除了在营养吸收中的关键作用以外, AMT 蛋白也可能作为根系生长的一个营养信号^[12], 例如酵母中的与 NH_4^+ 转运蛋白有关的 MEP2p 基因就是产生假菌丝体的一种信号^[34]。因此 MEP2 的表达受 N 调节的规律是受基因表达的控制, 明显不同与其他 2 个 NH_4^+ 转运蛋白基因 MEP1 和 MEP3^[27]。是否其他植物中也存在具有感应器功能的 NH_4^+ 转运蛋白基因还有待于进一步研究。而且, 酵母和植物的 NH_4^+ 转运蛋白基因同细菌和动物都有同源性^[35, 27]。因为 MEP2p 同 AtAMT1/MEP 相比没有表现出结构上的独特性^[34], 所以不能确定是否 NH_4^+ 感应器这项功能可以从结构上进行鉴定。酵母中虽然只有两个 MEP 编码 NH_4^+ 转运蛋白, 但是 MEP3p 亲和力和非常低, $K_m \geq 1.4 \text{ mmol/L}$ ^[27]。从理论上讲, NH_4^+ 的吸收也可以通过一些非专一性的阳离子通道如 K^+ 通道或 K^+ 转运蛋白来实现^[37], 另外, 在高 pH 下, 可通过 NH_3 的扩散进入细胞^[12]。

2 高等植物 NO_3^- 吸收的分子机理研究

硝酸盐是植物生长所必须的, 既是作为 N 吸收的基本营养, 同时也是植物发育的重要信号。高等植物的硝酸盐吸收中有高亲和吸收系统 (HATS) 与低亲和吸收系统 (LATS) 2 种^[38]。因物种不同, HATS K_m 为 $5 \sim 100 \mu\text{mol/L}$, 而 LATS 表现出线性的动力学特性或 K_m 在 mmol/L 范围内^[38-39]。通常, LATS 比 HATS 容量大。拟南芥在 10 mmol/L NO_3^- 中 LATS 吸收速率 ($\approx 24 \mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{h}\cdot\text{g 鲜重})$) 比 HATS ($\approx 1 \mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{h}\cdot\text{g 鲜重})$) 的 V_{max} 高 24 倍^[40], 因此, 虽然 HATS 在外源硝酸根浓度很低时对 N 的获得有重要作用, 但 LATS 对于大量硝酸盐的获得还是必要的, 而且后者可能对于植物的生长更重要, 因为 NO_3^- 很难残留, 且在耕地土壤中变化明显。根据对 NO_3^- 诱导的反应, HATS 可以进一步分为两部分, 一个是诱导型 (iHATS), 另一个为组成型 (cHATS), cHATS 可以解释无 NO_3^- 存在时的高亲和 NO_3^- 吸收行为; 然而, 当暴露在 NO_3^- 环境中时, iHATS 仅在几小时就可以诱导出来^[39-40]。近年来, 高等植物的 NO_3^- 转运蛋白基因的分子克隆方面有很多报道^[41-42], 基本上定义了两个序列特性的 NO_3^- 转运蛋白家族称为 NRT1 和 NRT2, 对它们的表达和功能, 早期的研究已经明确 NRT1 是低亲和 (mmol/L) 而 NRT2 是高亲和 ($\mu\text{mol/L}$) 转运蛋白。

2.1 NO_3^- 吸收中的双亲和特性基因

不同于 HATS, LATS 很久以来一直被认为只是组成型表达^[43], 然而, AtNRT1 (最初被命名为 CHL1) 的功能特性表明它是具有高亲和和低亲和两种特性的 NO₃⁻ 转运蛋白基因^[44-45]。近期许多研究也指出高等植物的 NRT1 低亲和 NO₃⁻ 转运蛋白家族包括组成型和 NO₃⁻ 诱导型的两种低亲和和 NO₃⁻ 转运系统^[39, 46]。CHL1 突变体同时缺少低亲和和高亲和硝酸盐吸收^[44-45], 在 NH₄⁺ 中生长的植株, CHL1 mRNA 表达量很低, 加入 NO₃⁻ 后 4 h, CHL1 mRNA 达到最高值, 之后下降; 相反, AtNRT1.2 在 NH₄⁺ 中生长时, 植株中 mRNA 表达水平很高, 加入硝酸盐后, 其含量仍保持恒定; 硝酸盐诱导后 1 h, AtNRT1.2 mRNA 略有下降, 然而 CHL1 大量增加。同时, 在另外一个硝酸盐诱导的独立试验中, CHL1 mRNA 在硝酸盐诱导后 2 h 达到高峰, 而 AtNRT1.2 mRNA 也是下降较早, 为 0.5 h; 虽然 NO₃⁻ 诱导同时出现 AtNRT1.2 的瞬时抑制现象和 CHL1 mRNA 表达量的增加, 但 AtNRT1.2 的抑制并不是由于 CHL1 mRNA 增加的直接结果, 因为在 CHL1 缺失突变体株系 chl1-5 中也发现 AtNRT1.2 mRNA 的瞬时抑制现象。因此, Huang 等^[46]提出了类似于适合 iHATS 和 cHATS 的 LATS 两类化合物模型, 在这个模型中, iLATS 由 AtNRT1 调节, 而 cLATS 由一个先前没有得到鉴定的独特基因调节。双亲和转运蛋白的存在可能是植物养分吸收的一个普遍现象, 除了 CHL1, AtKUP1 也被证明是双亲和的 K 转运蛋白。以 CHL1 为例, 在蛙卵细胞中表达试验证明双亲和特性行为之间主要由苏氨酸残基 101 的磷酸化作用来调节, 当磷酸化以后, CHL1 就编码低亲和 NO₃⁻ 转运蛋白, 这一调节方式在活体研究中也得到验证。活体磷酸化分析和应用磷酸化专一抗体进行 western 杂交分析证明, CHL1 的磷酸化受外源 N 的调节。这一新的调节机制使植物可以迅速在高亲和和低亲和 NO₃⁻ 吸收行为之间转换, 这对于植物竞争有限的 N 营养是非常关键的^[47]。

2.2 NRT 的表达规律及功能分析

拟南芥中已经鉴定出 4 个低亲和 (NRT1) 与 7 个高亲和 (NRT2) NO₃⁻ 转运蛋白基因^[48], 并应用 RT-PCR 技术, 检测了在供应 1 mmol/L NO₃⁻ 时这 11 个基因在根茎组织中的表达水平, 以这个为标准, 基因被分为 NO₃⁻ 诱导型、NO₃⁻ 抑制型和 NO₃⁻ 组成型。AtNRT1.1、AtNRT2.1 和 AtNRT2.2 受 NO₃⁻ 的强烈诱导^[48], 在 3~12 小时达最高值, 之后下降; 相反, AtNRT2.4 在根茎中的表达受 NO₃⁻ 的诱导程度很小, AtNRT2.5 是受 NO₃⁻ 抑制的基因, 它在根、茎的表达受 NO₃⁻ 的强烈抑制; 最后是组成型表达的部分, 包括 AtNRT1.2、

AtNRT1.4、AtNRT2.3、AtNRT2.6 和 AtNRT2.7。NO₃⁻ 在 100 μmol/L ~ 50 mmol/L 之间时, 基因表达与 NO₃⁻ 吸收量的相关系数说明高亲和和低亲和的转运系统中主要是 AtNRT2.1 和 AtNRT1.1 在起作用^[48], 这两个家族中其他成员的功能现在还不清楚。

研究报道 AtNRT1.2 (最初命名为 NTL1 或 NRT3), 是组成型表达的转运蛋白, 并且表现出低亲和的吸收行为^[45-46]。Huang 等^[46]的研究表明, 象 CHL1 一样, AtNRT1.2 主要在幼嫩组织 (根尖) 以及成熟根的根毛和表皮上表达; 在反义 AtNRT1.2 的植株中是低亲和而不是高亲和硝酸盐的吸收行为被减少了, 说明 AtNRT1.2 编码组成型的低亲和 NO₃⁻ 转运蛋白 (只是在 CHL1 mRNA 明显快速增加时, 受短时间的抑制), Km=5.9 mmol/L, AtNRT1.2 的氨基酸顺序同 CHL1 有 36% 同源性。为了调查 AtNRT1.2 的功能, Huang 等^[46]将干扰 AtNRT1.2 的基因转入野生型和突变体株系 chl1-5 中, 并对这些植株进行硝酸盐吸收和氯酸盐抗性测试。氯酸盐是硝酸盐的类似物, 并且可以被硝酸盐转运蛋白吸收, 然后被 NR 还原为亚氯酸盐 (有毒), 因此, 缺少硝酸盐吸收的突变体对氯酸盐具有更强的抗性。利用这一原理, Huang 等^[46]发现 2 个独立的转基因植株包括干扰 AtNRT1.2 的突变体 chl1-5 背景株系 AS1 和 AS2, 都表现为比 chl1-5 突变体具有更强的氯酸盐抗性, 2 个 CHL1 突变体 chl1-1 和 chl1-5 都抗 2 mmol/L 氯酸盐, 但对 7 mmol/L 氯酸盐敏感, AS1 和 AS2 可以抗 7 mmol/L 氯酸盐。这个结论进一步说明 AtNRT1.2 参与 NO₃⁻ 的吸收, 是一个有功能的 NO₃⁻ 转运蛋白。最近, Wang 等^[44]和 Liu 等^[45]分别发现, 在吸收试验中, 与 CHL1 相反, AtNRT1.2 只参与低亲和而不参与高亲和硝酸盐的吸收。同以前报道的 CHL1 的特性^[47, 39]相比, 对 NO₃⁻ 诱导的反应, AtNRT1.2 的表现不同于 CHL1, CHL1 是 NO₃⁻ 诱导型基因^[47], AtNRT1.2 的表达水平在 NO₃⁻ 诱导的整个期间内是相对恒定的。AtNRT1.2 mRNA 和 CHL1 在根组织中的空间分布也不同, CHL1 的表达由顶部向基部发展, 在幼根 (根尖) 的皮层细胞和成熟根的内胚层及中柱细胞中表达最高^[39]; 而 AtNRT1.2 主要在根表皮 (表皮和根毛) 中表达, 并且在根细胞发育过程中都没有变化, 这可能说明对成熟拟南芥根中的低亲和和 NO₃⁻ 转运蛋白而言, 有 2 个不同的基因分别在根表皮和内部区域 (中柱和内胚层) 调节吸收, 即 CHL1 在中柱和内胚层编码 iLATS, 而 AtNRT1.2 在根表皮编码 cLATS 参与拟南芥 NO₃⁻ 吸收^[46]。类似于 iHATS 和 cHATS, 这 2 个低亲和转运蛋白有不同的 NO₃⁻ 亲和性及容量

[43], 就容量而言, CHL1 和 AtNRT1.2 对 LATS 的贡献会因生长环境而有所改变[39]。在 Huang 等[46]研究中, 由于干扰 AtNRT1.2 植株中的 AtNRT1.2 基因并没有完全消失, 而使得无法判断二者的各自贡献。同其他已经证明或待证明的 CHL1 同源体相比, AtNRT1.2 和 CHL1 的同源性非常低 (36%, 仅为 CHL1 同其他物种同源基因同源性的一半), AtNRT1.2 和 CHL1 之间这样低的同源性很大程度上归因于连接第六和第七个跨膜区域的长环, 从 DNA 凝胶电泳进行分析, 查找 EST 数据库以及除 AtNRT1.2 外的 CHL1 同源体的氨基酸序列, 发现在拟南芥中没有基因与 CHL1 的同源性 > 55%。AtNRT1.2 和 CHL1 之间最大的区别在于 CHL1 是双亲和 NO₃⁻ 转运蛋白包括低亲和和高亲和和 NO₃⁻ 的吸收[44-45]。AtNRT1.2 是低亲和和 NO₃⁻ 转运蛋白, 没有高亲和和 NO₃⁻ 吸收行为。从 NO₃⁻ 亲和性、NO₃⁻ 调节作用以及 mRNA 在根细胞中的空间分布来讲, AtNRT1.2 都同 CHL1 有明显区别, 由于与 CHL1 的低同源性, AtNRT1.2 可以作为探针寻找其他物种中的同源体[47]。

虽然高等植物都包括高亲和及低亲和的 NO₃⁻ 转运蛋白 (由 NRT1、NRT2 和其他没有被鉴定的基因编码), 但水稻 NO₃⁻ 吸收的生理学研究仍基本上集中于应用 μmol/L 水平的 NO₃⁻ 的高亲和和吸收阶段[49-59], 对水稻中低亲和 NO₃⁻ 吸收动力学研究比较少。Lin 等[52]报道, 目前, 水稻 EST 数据库中有许多基因与 CHL1 同源性高于与 RICR2778 的同源性 (从 OsNRT1 得到的克隆), 其中一些基因可能编码与 CHL1 具有同样特性的蛋白; 另一方面, 水稻根系的结构明显不同于拟南芥, 水稻根包含一个外皮层恰好在硬质细胞外层, 而且水稻根系成熟后, 皮层细胞发育成通气组织, 这样的 3 层结构: 外皮层、硬质、通气组织, 拟南芥根中完全没有, 并且它们会限制离子的质外体扩散[52], 根结构的明显不同可能说明同样的 NO₃⁻ 转运蛋白基因在不同物种中, 可能表现出不同的生理功能。因此, 找出是否类似 CHL1 的水稻基因 (如果存在的话) 同样在成熟根内层细胞 (内胚层) 是非常有意义的。Lin 等[51]第一次从水稻中克隆了 NO₃⁻ 转运蛋白基因 OsNRT1。Northern 杂交和原位杂交分析说明, OsNRT1 在根的最外层表皮和根毛中组成型表达, OsNRT1 属于 PTR 家族中的一员, PTR 家族也包括质子相伴的寡肽转运蛋白[53-54]。因为 NO₃⁻、多肽及组氨酸已经被鉴定为 PTR 家族中不同成员的底物, 而 PTR 家族的底物特异性又不能从序列上进行推断, 因此需进一步研究这些转运蛋白家族序列结构与底物特异性之间的内在联系, 所以关键的问题是弄清 OsNRT1 的底物。注入 OsNRT1

的蛙卵细胞只表现出低亲和 NO₃⁻ 吸收而没有高亲和和吸收[51], 对不同的二肽和组氨酸也没有吸收行为, 动力学测试其 Km 值约 9 mmol/L。OsNRT1 是一个质子依赖型的致电机理的 NO₃⁻ 转运蛋白, 直接参与 NO₃⁻ 吸收[52]。对 OsNRT1 的功能进行分析, 连同其他的 NRT1 基因: CHL1[39, 47] 和 AtNRT1.2[46] 及 BnNRT1.2[55] 一致说明, 尽管 OSNRT1 在序列上更同源于一肽转运蛋白而不是 NO₃⁻ 转运蛋白, NRT1 蛋白基本上行使 NO₃⁻ 转运蛋白的功能[52]。Lin 等[52]用不同的水稻品种进行 NO₃⁻ 诱导试验, 包括 2 个粳稻 (japonica) 品种和 2 个籼稻 (indica) 品种, 在所有品种中, OsNRT1 都是组成型表达的。一些研究已经证明, 水稻 NO₃⁻ 的吸收行为受营养液中 NH₄⁺ 的限制[50, 56]。但 Lin 等[51]的数据并没有表现出营养液中 NH₄⁺ 的存在抑制 OsNRT1 mRNA 表达的现象, 可能 NH₄⁺ 对 OsNRT1 吸收的抑制作用不发生在转录水平, 也可能观察到的 NO₃⁻ 吸收受 NH₄⁺ 的抑制作用可能是抑制了其他的 NO₃⁻ 转运蛋白基因。AtNRT1.2 和 OsNRT1 的相似性可以扩展到它们的组织特异性表达方式上, 二者都是主要在根毛和外胚层表达, 并且这一表达方式不随根年龄而改变, 而大部分 CHL1 在内层表达, 首先是中柱, 然后是内胚层[46]。

在番茄中也发现两个 CHL1 同源体: 一个组成型 (LeNRT1.1) 和一个硝酸盐诱导型 (LeNRT1.2) [15]。LeNRT1.1 和 LeNRT1.2 与 CHL1 在氨基酸序列上同源性分别为 67% 和 88%, 因此, 可以认为 LeNRT1.1 和 LeNRT1.2 是 CHL1 在番茄中的复制[46]。更复杂的是 LeNRT1.1 和 LeNRT1.2 的 NO₃⁻ 诱导特性及 mRNA 定位与 AtNRT1.2 和 CHL1 相反, LeNRT1.1 是组成型的, 并且在根毛和其他根部位表达, 而 LeNRT1.2 是 NO₃⁻ 诱导型的, 且主要在根毛表达[15]。与拟南芥正好相反, CHL1 是 NO₃⁻ 诱导型的, 主要在成熟根内层表达 (中柱和内胚层), 而 AtNRT1.2 是组成型的, 主要在根毛和表皮表达[47]。

最近的报道指出 NO₃⁻ 转运蛋白家族 NRT2 不同于 NRT1 (包括 AtNRT1 和它的同源体), NRT2 家族通过 iHATS 参与 NO₃⁻ 的吸收[57-59]。Filleur 等[61]分离出一个 AtNRT2.1 的 cDNA 克隆, 推测其编码高亲和 NO₃⁻ 转运蛋白, 并发现 2 个与 AtNRT2.1 同源的基因序列定位于拟南芥基因组第一条染色体的同一段上, 对低亲和和高亲和 NO₃⁻ 转运蛋白的研究发现, AtNRT1.1 (CHL1) 和 AtNRT2.1 在不同 N 处理下起作用, 并且这两个基因都受非常低水平的 NO₃⁻ 诱导, 然而, 对 AtNRT2.1 的诱导作用大于 NRT1.1, 由 N 充足水平转

到无 N 时, AtNRT1.1 mRNA 量降低, 而 AtNRT2.1 mRNA 量增加, 这可能反应了 N 饥饿对高亲和转运系统的激活作用。

2.3 NO₃⁻ 的信号功能

很多研究都表明 NO₃⁻ 作为信号存在, Wang 等^[61] 为了鉴定水稻根系中的 NO₃⁻ 诱导基因, 应用抑制杂交差减法 (SSH) 和分根试验建立了根系中受 NO₃⁻ 诱导的基因库, 发现 37 个已知基因和 55 个新基因在供 NO₃⁻ 的部分根中表达增加, 这些已知的基因包括 N 吸收基因、糖运转和有机酸代谢基因、信号转导基因、蛋白质合成和降解基因、植物抗性基因、激素代谢基因和细胞分化基因等。并且发现这些基因中的大部分在供 NO₃⁻ 的根中表达量远远高于不供 NO₃⁻ 的根中, 这说明这些基因的表达受 NO₃⁻ 的诱导^[61]。

3 问题与展望

N 素在植物生长发育以及农业生产中都是不可替代的元素, 对于其吸收机理的研究虽然取得了一定的成就, 但仍处于起步阶段, 对水稻中的 10 个 OsAMT 基因, 还有 6 个是未知的, 而拟南芥的 6 个 AtAMT 基因中也只有 AtAMT1 系列的 3 个基因研究得较多^[12], 对 NRT 的研究也不深入。对 N 素吸收分子机理的深入研究还需要对这些基因的表达调控及功能做更深一步的研究。

现代植物营养学的发展充分体现出多学科的交叉发展趋势, 分子生物学技术与传统植物生理技术的结合使植物营养学的发展进入新的更深入的阶段, 而正是由于这些学科间的交叉, 使得我们可以进一步明确 N 素吸收的分子机理, 并在此基础上依赖于生物技术改良作物品种、提高 N 素利用效率。

参考文献:

- [1] Zhu ZL. Efficient management of nitrogen fertilizer for flooded rice in relation to nitrogen transformations in flooded soils. *Pedosphere*, 1992, 2 (2): 97-114
- [2] Zhang SL, Cai GX, Wang XZ, Xu YH, Zhu ZL, Freney JR. Losses of urea-nitrogen applied to maize grown on a calcareous fluvo-aquic soil in North China Plain. *Pedosphere*, 1992, 2 (2):171-178
- [3] 司友斌, 王慎强, 陈怀满. 农田氮、磷的流入与水体富营养化. *土壤*, 2000, 32 (4): 188-193
- [4] 张国梁, 章申. 农田氮素淋失研究进展. *土壤*, 1998, 30 (6): 291-297
- [5] Fang P, Yu XM, Zhu RQ, Wu P. QTLs for rice leaf chlorophyll content under low N stress. *Pedosphere*, 2004, 14 (2): 145-150
- [6] 钱晓晴, 沈其荣, 徐国华. 配合施用 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 对旱作水稻生长与水分利用效率的影响. *土壤学报*, 2003, 40 (6): 895-900
- [7] 张亚丽, 董园园, 沈其荣, 段英华. 不同水稻品种对铵态氮和硝态氮吸收特性的研究. *土壤学报*, 2004, 41(6): 918-923
- [8] 段英华, 张亚丽, 沈其荣. 水稻根际的硝化作用与水稻的硝态氮营养. *土壤学报*, 2004, 41(5): 803-809
- [9] 金雪霞, 范晓晖, 蔡贵信, 贺发云, 李辉信, 黄耀. 菜地土壤氮素矿化和硝化作用的特征. *土壤*, 2004, 36(4): 382-386
- [10] Ullrich WR, Larsson M, Larsson CM, Lesch S, Novacky A. Ammonium uptake in Lemna gibba G1, related membrane potential changes, and inhibition of anion uptake. *Plant Physiol.*, 1984, 61:369-376
- [11] Wang MY, Siddiqi MY, Ruth TJ, Glass ADM. Ammonium uptake by rice roots. II. Kinetics of ¹³NH₄⁺ influx across the plasmalemma. *Plant Physiol.*, 1993, 103:1259-1267
- [12] Gazzarrini S, Lejay L, Gojon A, Ninnemann O, Frommer WB, Wiron NV. Three functional transporters for constitutive, diurnally regulated, and starvation-induced uptake of ammonium into Arabidopsis roots. *The Plant Cell*, 1999, 11:937-947
- [13] Kaiser BN, Rawat SR, Siddiqi MY, Masle J, Glass ADM. Functional analysis of an Arabidopsis T-DNA "knockout" of the high-affinity NH₄⁺ transporter AtAMT1:1. *Plant Physiol.*, 2002, 130:1263-1275
- [14] Marschner H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. London: Academic Press, 1995
- [15] Lauter FR, Ninnemann O, Bucher M, Riesmeier JW, Frommer WB. Preferential expression of an ammonium transporter and of two putative nitrate transporters in root hairs of tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93: 8139-8144
- [16] Ninnemann O, Jauniaux JC, Frommer WB. Identification of a high-affinity ammonium transporter from plants. *The EMBO Journal*, 1994, 13: 3464-3471
- [17] Wang MY, Siddiqi MY, Glass ADM. Interactions between K⁺ and NH₄⁺: Effects on ion uptake by rice roots. *Plant Cell Environ.*, 1996, 19: 1037-1046
- [18] Ulrike SR, Craig W, Michael KU. Molecular and cellular characterization of LjAMT2.1, an ammonium transporter from the model legume Lotus Japonicus. *Plant Mol. Biol.*, 2003, 51: 99-108
- [19] Marini AM, Vissers S, Urrestarazu A, André B. Cloning and expression of the MEP1 gene encoding an ammonium transporter in *Saccharomyces cerevisiae*. *The EMBO Journal*, 1994, 13:

- 3456-3463
- [20] Suenaga A, Moriya K, Sonoda Y, Ikeda A, Von Wirén N, Hayakawa T, Yamaguchi J, Yamaya T. Constitutive expression of a novel-type ammonium transporter OsAMT2 in rice plants. *Plant Cell Physiol.*, 2003, 44 (2):206-211
- [21] Von Wirén N, Gazzarini S, Gojon A, Frommer WB. The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000, 3: 254-261
- [22] Becker TW, Perrot-Rechenmann C, Suzuki A, Hirel B. Subcellular and immunocytochemical localization of the enzymes involved in ammonia assimilation in mesophyll and bundle-sheath cells of maize leaves. *Planta*, 1993, 191: 129-136
- [23] Pearson J, Stewart GR. The deposition of atmospheric ammonia and its effects on plants. *New Phytol.*, 1993, 125: 283-305
- [24] Kyte J, Doolittle RF. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J. Mol. Biol.*, 1982, 157: 105-132
- [25] Hofmann K, Stoffel W. TMBASE-A database of membrane-spanning protein segments. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 1993, 374-166
- [26] Sonnhammer ELL, von Heijne G, Krogh A. A hidden Markov model for predicting transmembrane helices in protein sequences //Glasgow J, Littlejohn T, Major F, Lathrop R, Sankoff D, Sensen C. Eds. *Proceedings of the Sixth International Conference on Intelligence Systems for Molecular Biology*. Menlo Park, CA: AAAI Press, 1998: 175-182
- [27] Marini AM, Soussi-Boudekou S, Vissers S, André B. A family of ammonium transporters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell Biol.*, 1997, 17: 4282-4293
- [28] Von Wirén N, Bergfeld A, Ninnemann O, Frommer WB. OsAMT1-1: A high-affinity ammonium transporter from rice (*Oryza sativa* cv. Nipponbare). *Plant Mol. Biol.*, 1997, 55 (3): 681-688
- [29] Sonoda Y, Ikeda A, Saiki S, Wirén NV, Yamaya T, Yamaguchi J. Distinct Expression and Function of Three Ammonium transporter genes (OSAMT1; 1-1; 3) in rice. *Plant Cell Physiol.*, 2003, 44 (7): 726-734
- [30] Kumar A, Silim SN, Okamoto M, Siddiqi MY, Glass ADM. Differential expression of three members of the AMT1 gene family encoding putative high-affinity NH_4^+ transporters in roots of *Oryza sativa* subspecies indica. *Plant Cell Environ.*, 2003, 26: 907-914
- [31] Venegoni A, Moroni A, Gazzarini S, Marrè MT. Ammonium and methylammonium transport in *Egeria densa* leaves in conditions of different H1 pump activity. *Bot. Acta*, 1997, 110: 369-377
- [32] Sohlenkamp C, Craig C, Wood G, Roeb W, Michael KU. Characterization of *Arabidopsis AtAMT2*, a high-affinity ammonium transporter of the plasma membrane. *Plant Physiol.*, 2002, 130: 1788-1796
- [33] Palkova Z, Janderova B, Gabriel J, Zikanova B, Pospisek M, Forstova J. Ammonia mediates communication between yeast colonies. *Nature*, 1997, 390: 532-536
- [34] Lorenz MC, Heitman J. The MEP2 ammonium permease regulates pseudohyphal differentiation in *Saccharomyces cerevisiae*. *The EMBO Journal*, 1998, 17: 1236-1247
- [35] Siewe RM, Weil B, Burkovski A, Eikmanns BJ, Eikmanns M, Krämer R. Functional and genetic characterization of the (methyl) ammonium uptake carrier of *Corynebacterium glutamicum*. *J. Biol. Chem.*, 1996, 271: 5398-5403
- [36] Schachtman DP, Schroeder JI. Structure and transport mechanism of a high-affinity potassium uptake transporter from higher plants. *Nature*, 1994, 370: 655-658
- [37] Huang NC, Chiang CS, Crawford NM, Tsay YF. CHL1 encodes a component of the low-affinity nitrate uptake system in *Arabidopsis* and shows cell type-specific expression in roots. *The Plant Cell*, 1996, 8: 2183-2191
- [38] Lee RB, Clarkson DT. Nitrogen-13 studies of nitrate fluxes in barley roots. I. Compartmental analysis from measurements of ^{15}N efflux. *The EMBO Journal*, 1986, 5: 1753-1767
- [39] Siddiqi MY, Glass ADM, Ruth TJ, Ruffy JTW. Studies of the uptake of nitrate in barley. *Plant Physiol.*, 1990, 93: 1426-1432
- [40] Touraine B, Glass ADM. NO_3^- and ClO_3^- fluxes in the chl1-5 mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.*, 1997, 114: 137-144
- [41] Von Wirén N, Gazzarini S, Frommer WB. Regulation of mineral nitrogen uptake in plants. *Plant Soil*, 1997, 196: 191-199
- [42] Crawford NM, Glass ADM. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends Plant Sci.*, 1998, 3: 389-395
- [43] Glass ADM, Siddiqi MY. Nitrogen absorption in higher plants// Srivastava HS, Singh RP. Eds. *Nitrogen Nutrition in Higher Plants*. New Delhi, India: Associated Publishing, 1995: 21-55
- [44] Wang R, Liu D, Crawford NM. The *Arabidopsis* CHL1 protein plays a major role in high-affinity nitrate uptake. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95: 15134-15139
- [45] Liu KH, Huang CY, Tsay YF. CHL1 is a dualaffinity nitrate transporter of *Arabidopsis* involved in multiple phases of nitrate uptake. *The Plant Cell*, 1999, 11: 865-874

- [46] Huang NC, Liu KH, Lo HJ, Tsay YF. Cloning and functional characterization of an arabidopsis nitrate transporter gene that encodes a constitutive component of low-affinity uptake. *The Plant Cell*, 1999, 11: 1381–1392
- [47] Tsay YF, Schroeder JI, Feldmann KA, Crawford NM. The herbicide sensitivity gene *CHL1* of *Arabidopsis* codes a nitrate-inducible nitrate transporter. *Cell*, 1993, 72: 705–713
- [48] Okamoto M, John Vidmar J, Glass ADM. Regulation of *NRT1* and *NRT2* gene families of *Arabidopsis thaliana*: Responses to nitrate provision. *Plant Cell Physiol.*, 2003, 44 (3): 304–317
- [49] Raman DR, Spanswick RM, Walker LP. The kinetics of nitrate uptake from flowing solutions by rice: Influence of pretreatment and light. *Bioresource Technol.*, 1995, 53: 125–132
- [50] Kronzucker HJ, Glass ADM, Siddiqi MY. Inhibition of nitrate uptake by ammonium in barley. Analysis of component fluxes. *Plant Physiol*, 1999, 120: 283–291
- [51] Lin CM, Koh S, Stacey G, Yu SM, Lin TY, Tsay Y F. Cloning and functional characterization of a constitutively expressed nitrate transporter gene, *OsNRT1*, from rice. *Plant Physiol.*, 2000, 122: 379–388
- [52] Colmer TD, Bloom AJ. A comparison of NH_4^+ and NO_3^- net fluxes along roots of rice and maize. *Plant Cell Environ.*, 1998, 21: 240–246
- [53] Paulsen IT, Skurray RA. The POT family of transport proteins. *Trends Biochem. Sci.*, 1994, 19: 404–410
- [54] Steiner HK, Naider F, Becker JM. The PTR family: A new group of peptide transporters. *Mol. Microbiol.*, 1995, 16:825–834
- [55] Zhou J, Theodoulou FL, Muldin I, Ingemarsson B, Miller AJ. Cloning and functional characterization of a *Brassica napus* transporter that is able to transport nitrate and histidine. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273:12017–12023
- [56] Youngdahl LJ, Pacheco R, Street JJ, Vlek PLG. The kinetics of ammonium and nitrate uptake by young rice plants. *Plant Soil*, 1982, 69: 225–232
- [57] Trueman LJ, Onyeocha I, Forde BG. Recent advances in the molecular biology of a family of eukaryotic high affinity nitrate transporters. *Plant Physiol. Biochem.*, 1996, 34: 621–627
- [58] Quesada A, Krapp A, Trueman LJ, Daniel-Vedele F, Fernandez E, Forde BG, Caboche M. PCR-identification of a *Nicotiana plumbaginifolia* cDNA homologous to the high-affinity nitrate transporters of the *crnA* family. *Plant Mol. Biol.*, 1997, 34:265–274
- [59] Krapp A, Fraiser V, Scheible WR, Quesada A, Gojon A, Stitt M, Caboche M, Daniel-Vedele F. Expression studies of *Nrt2: 1Np*, a putative high-affinity nitrate transporter: Evidence for its role in nitrate uptake. *Plant J.*, 1998, 14:723–731
- [60] Filleur S, Daniel-Vedele F. Expression analysis of a high-affinity nitrate transporter isolated from *Arabidopsis thaliana* by differential display. *Planta*, 1999, 207(3):461–469
- [61] Wang XB, Wu P, Xia M, Wu ZC, Chen QS, Liu FY. Identification of genes enriched in rice roots of the local nitrate treatment and their expression patterns in split-root treatment. *Gene*, 2002, 297: 93–102

Advance in Research on Molecular Mechanism for Nitrogen Absorption in Higher Plants

ZHAO Shou-ping^{1, 2}, ZHAO Xue-qiang^{1, 2}, SHI Wei-ming¹

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China;

2 Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Nitrogen is a vital element for plant growth and development. The study on mechanism of nitrogen absorption by plants can help optimize nitrogen fertilization and may also serve as a theoretic foundation for breeding new cultivars with higher nitrogen use efficiency. Nowadays, with the recent development of interdisciplinary scientists have begun to study mechanism of N assimilation using the technology of molecular biology. NH_4^+ and NO_3^- are two major N sources for plants. In this article, researches on identification, cloning and expression patterns of *AMT* and *NRT* genes responsible for NH_4^+ and NO_3^- assimilation, respectively, are briefly reviewed.

Key words: Nitrogen, Uptake, Molecular mechanism