

水稻 NH_4^+ 转运蛋白基因 OsAMT1.1~1.3, OsAMT3.1 和 OsAMT4.1 表达部位及表达特性初析^①

赵首萍^{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: 以水稻为材料, 对水稻 NH_4^+ 离子转运蛋白基因 OsAMT1.1、OsAMT1.2、OsAMT1.3、OsAMT3.1 和 OsAMT4.1 的表达部位进行了初步的定性研究, 并首次将荧光定量 PCR 技术应用于植物营养研究中, 检测了水稻根中 OsAMT1.1、OsAMT1.2、OsAMT1.3 和 OsAMT4.1 在 N 饥饿 48 h 以后, 又转移到 1 mmol/L NH_4^+ 或 1 mmol/L NO_3^- 中 2 h 后的表达量变化。结果表明, 在当时的实验条件下, OsAMT3.1 主要在地上部表达, 因此推测可能对于根系吸收 NH_4^+ 没有多大作用; OsAMT1.1、OsAMT1.2、OsAMT1.3 和 OsAMT4.1 在植株根部和地上部都有表达; 经过 48 h 的 N 饥饿处理以后, 在检测的 4 个基因当中, 根中表达量最高的是 OsAMT1.1, 显著高于 OsAMT1.2、OsAMT1.3 和 OsAMT4.1, 由此认为, 对根中 NH_4^+ 吸收的贡献也是 OsAMT1.1 最大; OsAMT1.2、OsAMT1.3 和 OsAMT4.1 表达量在 N 饥饿 48 h 以后, 不论是 NH_4^+ 或 NO_3^- 的加入都显著抑制这 3 个基因的表达。荧光定量 PCR 方法的应用可以精确检测到基因表达量的微小变化, 尽管没有显著的变化, 但从表达量上来讲, OsAMT1.1 表达量在加 N 后有下降的迹象, 而且 OsAMT1.1、OsAMT1.2 和 OsAMT4.1 受 NH_4^+ 的抑制效果稍强于 NO_3^- ; 而 OsAMT1.3 受 NO_3^- 的抑制作用稍强一点, 这些都是半定量 PCR 和 Northern 杂交所检测不到的。

关键词: 水稻; OsAMT; 荧光定量 PCR

中图分类号: S501

水稻是东南亚地区主要的粮食作物。N 素是植物从土壤中吸收利用最多的元素之一, 但是水稻对 N 素的利用效率并不高, 而且损失的 N 素又带来严重的环境问题^[1-5]。大田生产中 N 肥利用率可能在 30%~35% 之间, 而损失率可能亦为 30%~50%, 其中水稻田 > 玉米地 > 小麦地, 均值约为 40%^[6-7]。长期以来, 对 N 素吸收利用的分子机理的研究一直是植物营养界研究的热点领域^[8-11]。水稻主要以吸收 NH_4^+ -N 为主, 并且 NH_4^+ 的吸收主要是通过 OsAMT 基因来完成的^[12]。虽然已经有报道表明水稻中有 10 个 NH_4^+ 离子转运蛋白基因 OsAMT, 并且根据同源性的不同分为 4 个系列, OsAMT1 3 个, OsAMT2 3 个, OsAMT3 3 个以及 1 个 OsAMT4.1^[13], 但是目前对水稻 OsAMT 的研究并不多, 大部分研究还是集中 OsAMT1 家族的 3 个基因的表达上^[14-15], 而且结论也存在争议。在研究手段上, 以往的研究大部分都用定性或半定量的方法进行研究, 这无疑限制了对 OsAMT 表达规律更精确的研究。

实时荧光定量 PCR 技术 (real time fluorescent quantitative PCR, FQ PCR) 于 1996 年由美国 Applied

Biosystems 公司推出, 该技术不仅实现了对低峰度 mRNA 的快速准确的定量, 而且具有灵敏度高、特异性和可靠性更强、自动化程度高、无污染性、具实时性和准确性等特点, 目前这项技术已经广泛应用于 mRNA 的检测中, 并且已经成为分子生物学及医学基础领域研究的重要手段^[16]。但是, 实时定量 PCR 这一最新分析技术之一在农业基础研究中的应用实例还不多, 尤其在植物营养遗传基础研究中更是少见报道。针对定量 PCR 可以精确定量少量基因的表达, 而水稻的 N 素吸收基因表达量又都很低这一特点, 我们应用美国 MJ 公司的 Opticon2 实时荧光定量 PCR 仪, 以水稻桂单 4 号为材料, 首次应用定量 PCR 技术, 对水稻 OsAMT 家族的 5 个基因的表达进行了初步的探讨, 为进一步的 N 素吸收利用分子机理研究奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验以水稻桂单 4 号为材料。

1.2 方法

①基金项目: 国家自然科学基金重大项目 (批准号 30390080) 资助。

* 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

1.2.1 预培养 水稻种子用 1% NaClO 浸泡表面消毒 30 min, 37℃ 黑暗浸种 24 h, 发芽的种子转移到预先放在托盘内的纱网上, 托盘内放 1/2 木村 B 培养液 (N 水平为 0.5 mmol/L NH_4NO_3 , 其他元素不变) 进行预培养。

1.2.2 培养条件及管理 植株生长室温度: 25℃ ± 2℃, 相对湿度: 75%, 光照: 300 Ue/(m²·s²)。昼夜循环: 光照 14 h / 黑暗 10 h。苗龄 15 天时, 选取长势一致的幼苗转移到容积为 18 L 的大托盘上培养, 大托盘内营养液是 N 水平为 0.5 mmol/L NH_4NO_3 的木村 B 培

养液, 除 N 水平外, 其他元素同木村 B 培养液一致。每个大托盘为 18 L 营养液/24 个孔。培养液中加入硝化抑制剂二氰胺 5.89 mg/L。管理: 每天早晚各调 1 次 pH 值到 5.5, 每天每个大托盘内加入新培养液 1 L, 每隔 3 天换 1 次培养液。

1.2.3 处理 苗龄 28 天时, 选取长势一致的水稻幼苗, 进行 N 饥饿处理 (N 水平为 0, 其他元素同木村 B 培养液一致), 48 h 后, 放入表 1 所示的两个不同处理的营养液中 (NH_4^+ : (NH_4)₂ SO₄, NO₃⁻: KNO₃) 培养, 每个处理 3 个重复。

表 1 不同处理培养液养分含量 (除 N 外, 其他元素含量同木村 B 培养液一致)

Table 1 Concentrations of nutrient elements of hydroponic solutions in different treatments (the same as the kimura solution except for N)

处理	NH_4^+ 、 NO_3^- 浓度	其他元素 (mg/L)		标准含量 (mg/L)	
T1	1 mmol/L NH_4^+	MgSO ₄ = 65.9	CaCl ₂ = 40.18	P = 5.6	K = 21.4
		NaH ₂ PO ₄ = 21.88	KCl = 40.61	Ca = 14.6	Mg = 13.3
		Fe-EDTA	C ₂ H ₂ N ₄ = 5.89	S = 17.58	Fe = 1.12
		微量元素 (A-Z 溶液)			
T2	1mmol/L NO ₃ ⁻	pH = 5			

1.2.4 取样和 cDNA 模板合成 不同硝铵处理后, 分别在 0 h 和 2 h 各取样 1 次, 根、叶分开, 样品经液氮冷冻后 -80℃ 保存备用。用异硫氰酸胍法提取 RNA, 用 powerscript™ 逆转录酶逆转录为 cDNA。以该 cDNA 为模板分析基因表达量的变化。

1.2.5 测定项目 设计特异引物, 分析不同处理植株根部和地上部 OsAMT1.1、OsAMT1.2、OsAMT1.3、OsAMT3.1 和 OsAMT4.1 的表达。

1.2.6 PCR 扩增引物 按照 NCBI/GenBank 编号 OsAMT1.1 (AF289477); OsAMT1.2 (AF289478); OsAMT1.3 (AF289479)、OsAMT3.1 (AB083582)、OsAMT4.1(AC091811)、OsActin (XM469569), 根据各基因的 cDNA 序列进行引物设计 (表 2), 引物由上海博亚生物技术有限公司合成, 纯度 > 99%; Taq™、MgCl₂ 和 dNTP 由宝生物工程 (大连) 有限公司提供; SYBR Green I 由 Cambrex Bioscience Rockland. Inc 提供。

表 2 扩增各基因所用的引物序列

Table 2 Gene specific primers used for RT-PCR analysis

基因名称	引物序列	cDNA 扩增位置	产物长度 (bp)
OsAMT1.1	forward: 5'- tctctctacgggctcaagaagc-3'	1295 ~ 1595	304
	reverse: 5'-caaatttatgacgtgacgatcgaga-3'		
OsAMT1.2	forward: 5'- gatctacggcgagtcgggcacgat-3'	785 ~ 1347	562
	reverse: 5'-ttccatctctgtcgggtcgagacg-3'		
OsAMT1.3	forward: 5'- tcaatcctacggcccgcccgtag-3'	776 ~ 1170	395
	reverse: 5'-gcccgaagatctgtccacgtactcctt-3'		
OsAMT4.1	forward:5'-cgacagcttcgtcttcggcc-3'	329 ~ 882	553
	reverse: 5'-gtcggctttgacgccacgg-3'		
OsAMT3.1	forward:5'- tactccgccaacatcgactcc- 3'	789 ~ 1462	673
	reverse:5'-tggtgtgtgtgtgtgtgtgtgc-3'		
OsActin	forward: 5'-cttcataggaatggaagctcgcggtta-3'	801 ~ 997	196
	reverse: 5'-cgaccacctgatcttcatgctgcta-3'		

2 结果与分析

2.1 OsAMT 的表达部位分析

从定性结果来看 (图 1), OsAMT1 系列的 3 个基

因以及 OsAMT4.1 在植株根中和地上部都有表达, 而 OsAMT3.1 只在地上部表达。根据 OsAMT3.1 的表达部位来看, 我们推测 OsAMT3.1 可能参与植株地上部

叶片光呼吸过程中 NH_4^+ 的再利用过程，而对根系 NH_4^+ 吸收的意义不大。关于 OsAMT3.1 和 OsAMT4.1 的研究，目前国内外未见报道，我们的研究首次发现 OsAMT4.1 在植株各部位表达，而 OsAMT3.1 只在地上部表达。OsAMT1 系列 3 个基因的表达部位，目前只有 Sonoda 等^[14]的研究指出 OsAMT1.1 在水稻根、叶中都有表达，这同我们的结果一致。关于 OsAMT1.2 和 OsAMT1.3 的表达部位，我们的结果与 Sonoda 等^[14]

不同。Sonoda 等^[14]指出，OsAMT1.2 和 OsAMT1.3 只在根中特异性表达，而在我们的结果中 OsAMT1.2 和 OsAMT1.3 在植株根中和地上部都有表达。在 Sonoda 等^[14]的实验中所使用的水稻品种为 Nipponbare，我们实验的品种为日本品种粳稻南光，而且，材料的 N 处理方式也不同，这些都极大地影响 OsAMT 基因表达的。OsAMT1.2 和 OsAMT1.3 不同的表达部位可能是受了材料以及处理方式的影响。

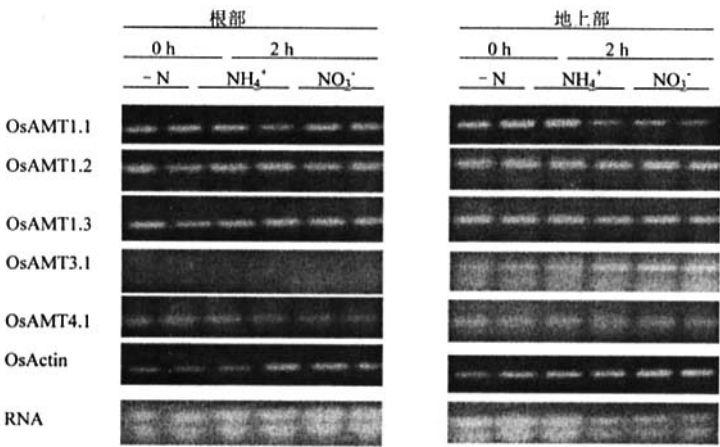


图 1 OsAMT 表达部位的定性 PCR 结果电泳鉴定

Fig. 1 Electrophoresis analysis of qualitative RT-PCR of OsAMT expression

2.2 OsAMT 的表达量分析

定量检测中，我们只对植株根中的 OsAMT1.1、OsAMT1.2、OsAMT1.3 和 OsAMT4.1 的表达量进行了检测。结果表明（表 3），在经过 48 h 的 N 饥饿以后，在测定的 4 个基因中，根中表达量最高的是 OsAMT1.1，在我们实验的 3 个不同处理中，OsAMT1.1 的表达量都是显著高于其他 3 个基因的表达。因此，我们推测，在水稻根的 NH_4^+ 吸收过程中，我们测定的 4 个基因中，起主要作用的是 OsAMT1.1，接下来是 OsAMT1.2、OsAMT1.3 和 OsAMT4.1，并且后 3 个基因对水稻根 NH_4^+ 吸收的贡献没有显著差异。

2.3 不同 N 处理下 OsAMT 的表达量变化规律

从表 3 可以看出，水稻幼苗饥饿 48 h 后，再转入 1 mmol/L NH_4^+ 或 NO_3^- 中 2 h 以后，OsAMT1.1 表达量没有显著变化，说明我们的处理方式没有对 OsAMT1.1 的表达带来显著的影响。前人关于 OsAMT1.1 的研究中，Kumar 等^[15]报道 OsAMT1.1 表现出了受高 N 抑制的特性，将在 10 $\mu\text{mol/L}$ NH_4^+ 中生长的水稻植株转移到 10 mmol/L NH_4^+ 中 72 h 后，发现 OsAMT1.1 的表达量降低了 60% 左右。Gazzarrini 等^[17]对拟南芥的

表 3 不同处理 OsAMT 基因的表达量 (amol/μg 总 RNA)

	Table 3 Expression levels of OsAMT under different nitrogen treatments		
	0 h	2 h	
		1 mmol/L NH_4^+	1 mmol/L NO_3^-
OsAMT1.1	32.62 a A	16.51 a A	22.42 a A
OsAMT1.2	0.73 a B	0.14 b B	0.20 b B
OsAMT1.3	1.16 a B	0.43 b B	0.27 b B
OsAMT4.1	0.45 a B	0.08 b B	0.23 b B

注：表中数据为 3 个重复的平均值，不同小写字母表示同行不同处理差异显著性 ($P<0.05$)，大写字母表示同列相同处理不同基因的表达量差异 ($P<0.01$)。

AtAMT1.1 研究结果与其一致。我们的实验中，水稻植株由 N 饥饿转移到 1 mmol/L NH_4^+ 或 NO_3^- 中 2 h 以后，OsAMT1.1 表达量没有显著差异，可能是由于我们处理的时间不够长，也可能是 N 水平不够高所致。但是在 Sonoda 等^[14]的研究中发现 OsAMT1.1 是组成型表达的，在我们实验中，定量 PCR 结果显示 OsAMT1.1 表达量在加 N 后，稍有下降的迹象（表 3）。

关于 OsAMT1.2 的表达规律，Sonoda 等^[14]指出

OsAMT1.2 在根中受 NH_4^+ 诱导表达, 而 Kumar 等^[15] 的研究中 OsAMT1.2 同 OsAMT1.1 一样受高 N 的抑制, 只是抑制程度只有 OsAMT1.1 的一半左右。在我们的研究中, OsAMT1.2 在加 N 后, 表达量迅速降低, 在 2 h 内就达到显著差异, 说明 OsAMT1.2 的表达在 N 饥饿 48 h 以后, 受加 N 的抑制, 而且加 NH_4^+ 和加 NO_3^- 都抑制 OsAMT1.2 的表达 (表 3)。

OsAMT1.3 的表达在加 N 后受到显著的抑制, 这与 Sonoda 等^[14] 的结果相同, 即 OsAMT1.3 的表达受到 N 的抑制, 而且, 在 Sonoda 等^[14] 的结果中 NO_3^- 对 OsAMT1.3 的抑制作用要比 NH_4^+ 更强一些, 我们的结果中 NH_4^+ 和 NO_3^- 对 OsAMT1.3 表达量的抑制效果没有显著差异, 但是 NO_3^- 的抑制作用稍强于 NH_4^+ 。

OsAMT4.1 的表达是前人没有研究过的, Suenaga 等^[13] 首次报道了水稻中有 OsAMT4.1 的存在, 但是并没有对 OsAMT4.1 的表达进行研究。我们的结果表明 OsAMT4.1 同样受到加 N 的显著抑制, NH_4^+ 和 NO_3^- 对 OsAMT4.1 的抑制作用没有显著差异, 以 NH_4^+ 的抑制稍强一些, 在纯 NO_3^- 培养中, OsAMT4.1 的表达量几乎是纯 NH_4^+ 处理中表达量的 2 倍左右, 但二者没有显著差异。

3 讨论

用定量 PCR 技术来研究 OsAMT 的表达变化规律, 目前在国内外还没有报道, 以往的研究中多数都用半定量的方法进行研究, 定量 PCR 技术的应用无疑使 OsAMT 表达规律的研究手段又向前进了一步, 能够对于基因家族各成员的表达量变化进行精确定量分析。

对各基因表达量的定量分析结果表明, OsAMT1.1 在所有处理中, 都是表达量最高的, 与其他基因的表达量差异显著, 充分证明了 OsAMT1.1 在水稻根系 NH_4^+ 吸收中的主导地位, 这也是定量 PCR 方法的优点之一。在以往研究中由于只能对 OsAMT 的表达进行定性或半定量研究, 所以在 OsAMT 表达量的变化上只能进行粗略的估算, 而且在各个 OsAMT 基因对 NH_4^+ 吸收贡献的大小上一直没有报道, 本研究通过定量 PCR 方法的应用, 成功解决了低拷贝表达的 NH_4^+ 转运蛋白基因的定量问题, 使得各个 OsAMT 基因对 NH_4^+ 吸收的贡献可以精确地定量。

我们首次对 OsAMT3.1 和 OsAMT4.1 的表达进行了研究, 发现 OsAMT4.1 在水稻植株的根和地上部都有表达, 而 OsAMT3.1 只在地上部表达。我们推测只在地上部表达的 OsAMT3.1 可能与光呼吸过程中 NH_4^+

的再利用过程有关, 而对根系吸收 NH_4^+ 过程可能没有实质意义, 因此, 在定量检测中, 我们没有对 OsAMT3.1 的表达进行检测。

对水稻根中 OsAMT 的定量结果说明 OsAMT1.2、OsAMT1.3 和 OsAMT4.1 在 N 饥饿以后, 都受到加 N 的显著抑制, 而且不论是在 NH_4^+ 或 NO_3^- 中都是受抑制的。有很多关于混合 N 源提高产量改善长势的报道^[18-20], 在我们的实验中并没有发现 NO_3^- 或 NH_4^+ 本身对 OsAMT 表达的促进作用。我们的实验中只有纯 NH_4^+ 和纯 NO_3^- 的两个处理, 至于在不同铵硝配比下 OsAMT 的表达是否有明显的促进效果还有待于进一步研究。

尽管所有基因在纯 NH_4^+ 和纯 NO_3^- 处理间的表达量没有显著差异, 但是由于定量的 PCR 可以对基因的表达量进行精确的定量, 我们可以看出, 各基因在纯 NH_4^+ 和纯 NO_3^- 处理间的表达量不同, 总的说来, OsAMT1.1、OsAMT1.2 和 OsAMT4.1 受 NH_4^+ 的抑制效果稍强于 NO_3^- ; 而 OsAMT1.3 受 NO_3^- 的抑制作用稍强一点。而且对于 OsAMT1.1 的表达虽然 3 个处理间差异不显著, 但定量 PCR 仍然可以检测到 OsAMT1.1 表达量在加 N 后有下降的迹象。基因表达量上这样微小的差异可以被实时定量 PCR 技术检测得到, 而半定量或其他方法是不能检测出来的。

4 结论

在我们的实验条件下, OsAMT3.1 主要在地上部表达, 因此推测可能对于根中的 NH_4^+ 吸收没有多大意义。OsAMT1.1、OsAMT1.2、OsAMT1.3 和 OsAMT4.1 在植株根部和地上部都有表达。

经过 48 h 的 N 饥饿处理以后, 在检测的 4 个基因当中, 根中表达量最高的是 OsAMT1.1, 显著高于 OsAMT1.2、OsAMT1.3 和 OsAMT4.1, 因此, 推测对根中 NH_4^+ 吸收的贡献也是 OsAMT1.1 最大。

OsAMT1.2、OsAMT1.3 和 OsAMT4.1 表达量在 N 饥饿 48 h 以后, 不论是 NH_4^+ 或 NO_3^- 的加入都显著抑制这 3 个基因的表达。

荧光定量 PCR 方法的应用可以精确检测到基因表达量的微小变化, 尽管没有显著的变化, 但从表达量上来讲, OsAMT1.1 表达量在加 N 后有下降的迹象, 而且 OsAMT1.1、OsAMT1.2 和 OsAMT4.1 受 NH_4^+ 的抑制效果稍强于 NO_3^- ; 而 OsAMT1.3 受 NO_3^- 的抑制作用稍强一点。

参考文献:

- [1] Gao XJ, Hu XF, Wang SP, He BG, Xu SY. Nitrogen losses from flooded rice field. *Pedosphere*, 2002, 12 (2): 151-156
- [2] 张树兰, 同延安, 梁东丽, 吕殿青, Ove Emteryd. 氮肥用量及施用时间对土体中硝态氮移动的影响. *土壤学报*, 2004, 41 (2): 270-277
- [3] 孙传范, 曹卫星, 戴廷波. 土壤-作物系统中氮肥利用率的研究进展. *土壤*, 2001, 33 (2): 64-69
- [4] 宋勇生, 范晓晖, 林德喜, 杨林章, 周健民. 太湖地区稻田氮挥发及影响因素的研究. *土壤学报*, 2004, 41 (2): 265-269
- [5] 张国梁, 章申. 农田氮素淋失研究进展. *土壤*, 1998, 30 (6): 291-297
- [6] 朱兆良. 农田中的氮肥损失与对策. *土壤与环境*, 2000 9 (1): 1-6
- [7] Zhu ZL. Efficient management of nitrogen fertilizer for flooded rice in relation to nitrogen transformations in flooded soils. *Pedosphere*, 1992, 2 (2): 97-114
- [8] 杨肖娥, 孙轸. 不同水稻品种对低氮反应的差异及其机制研究. *土壤学报*, 1992, 29 (1): 73-79
- [9] 张福锁, 米国华, 刘建安. 玉米氮效率遗传改良与应用. *农业生物技术学报*, 1997 (2): 112-117
- [10] 方萍, 陶勤南, 吴平. 水稻吸氮能力与氮利用率的 QTLs 及其基因效应分析. *植物营养与肥料学报*, 2001, 7 (2): 159-165
- [11] Fang P, Yu XM, Zhu RQ, Wu P. QTLs for leaf chlorophyll content under low N stress. *Pedosphere*, 2004, 14 (2): 145-150
- [12] Brent N, Kaiser SR, Rawat M, Siddiqi Y, Masle J, Glass ADM. Functional analysis of an Arabidopsis T-DNA "knockout" of the high-affinity NH_4^+ transporter AtAMT1. *Plant Physiol.*, 2002, 130: 1263-1275
- [13] Suenaga A, Moriya K, Sonoda Y, Ikeda A, Von Wiren N, Hayakawa T, Yamaguchi J and Yamaya T. Constitutive expression of a Novel-Type Ammol/Lonium Transporter OsAMT2 in rice plants. *Plant Cell Physiology*, 2003, 44 (2): 206-211
- [14] Sonoda Y, Ikeda A, Saiki S, Wiren NV, Yamaya T, Yamaguchi J. Distinct Expression and Function of Three Ammonium transporter genes (OSAMT1.1-1.3) in rice. *Plant Cell Physiology*, 2003, 44 (7): 726-734
- [15] Kumar A, Silim SN, Okamoto M, Siddiqi MY, Glass ADM. Differential expression of three members of the OsAMT1 gene family encoding putative high-affinity NH_4^+ transporters in roots of *Oryza sativa* subspecies indica. *Plant, Cell and Environment*, 2003, 26: 907-914
- [16] Bustin SA. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): Trends and problems. *Journal of molecular endocrinology*, 2002, 29: 23-39
- [17] Gazzarrini S, Lejay L, Gojon A, Ninnemann O, Frommer WB, Wiren NV. Three functional transporters for constitutive, diurnally regulated, and starvation-induced uptake of ammonium into Arabidopsis roots. *The Plant Cell*, 1999, 11: 937-947
- [18] Lewis OAM, James DM, Hewitt EJ. Nitrogen assimilation in barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Mazurka) in response to nitrate and ammonium nutrition. *Ann Bot.*, 1982, 49: 39-49
- [19] Findenegg GR. A comparative study of ammonium toxicity at different constant pH of the nutrient solution. *Plant Soil*, 1987, 103: 239-243
- [20] Gill MA, Reisenauer HM. Nature and characterization of ammonium effects on wheat and tomato. *Agron J.*, 1993, 85: 874-879

Expression Patterns of OsAMT (1.1-1.3), OsAMT 3.1 and OsAMT 4.1 in Rice (*Oryza Sativa* L.)

ZHAO Shou-ping^{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: In order to investigate expression patterns of OsAMT in rice, a preliminary qualitative study was carried out on expressions of OsAMT1.1, OsAMT1.2, OsAMT1.3, OsAMT3.1, and OsAMT4.1 in rice shoot and root, and their respective expression levels except for OsAMT 3.1 in rice root in response to 1 mmol/L NH_4^+ or 1 mmol/L NO_3^- supply with the fluorescence RT-PCR technique for the first time. Results showed that expression of OsAMT3.1 was mainly confined to shoot, so it was presumed that OsAMT3.1 was insignificant to root NH_4^+ uptake; expressions of OsAMT1.1, OsAMT1.2, OsAMT1.3 and OsAMT4.1 were found in both root and shoot; among the four genes detected, OsAMT1.1 was significantly higher than OsAMT1.2, OsAMT1.3 and OsAMT4.1 in expression level in all the three N treatments, so it was held that OsAMT1.1 contributed most to NH_4^+ absorption in root; the expression level of OsAMT1.2, OsAMT1.3 and OsAMT4.1 were significantly suppressed after the application of NH_4^+ or NO_3^- ; slight variation of gene expression could be detected with the fluorescence RT-PCR technique; it was found that the expression of OsAMT1.1 decreased slightly after N application, and that the effect of NH_4^+ on down regulation of OsAMT1.1, OsAMT1.2 and OsAMT4.1 was slightly stronger than that of NO_3^- and it was the other way around in the case of OsAMT1.3. These variations could not be detected with the semi-quantitative RT-PCR or blotting method.

Key words: Rice, OsAMT, Fluorescence RT-PCR