

## 特约综述 Invited Review

## 植物硝酸根信号感受与传导途径

李建勇, 龚继明\*

中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 植物分子遗传国家重点实验室, 上海 200032

**摘要:** 硝酸根不仅是植物的主要氮源, 而且作为重要的信号分子, 在植物的生长发育及逆境响应过程中发挥了重要作用。本文重点介绍了硝酸根作为信号分子在基因表达, 根系、叶片发育, 种子休眠以及逆境响应调控中作用机理的最新研究进展。

**关键词:** 硝酸根; 信号感受; 信号转导; 根系发育; 叶发育; 种子休眠; 逆境响应

## Nitrate Signal Sensing and Transduction in Higher Plants

LI Jian-Yong, GONG Ji-Ming\*

*National Key Laboratory of Plant Molecular Genetics, Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China*

**Abstract:** Nitrate is the major nitrogen source from soil for higher plants, also serves as an important signal molecule that regulates plant growth, development and stress responses. This review focuses on the physiological and molecular mechanisms of nitrate signal to induction gene expression, regulate root architecture and leaf expansion, relieve seed dormancy, and regulate stress response.

**Key words:** nitrate; signal sensing; signal transduction; root architecture; leaf expansion; seed dormancy; stress response

氮是维持植物生长发育必需的营养元素。硝酸根作为土壤中主要的氮源, 在土壤中的浓度随环境条件的改变呈宽幅波动(Crawford 1995)。因此, 植物进化出一系列的机制来主动调节其代谢及形态发育, 以应对土壤中硝酸根浓度的剧烈变化(Stitt 1999)。早在上世纪50年代, 生理学证据业已表明硝酸根可以作为信号分子强烈诱导并增强硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)的活性(Tang和Wu 1957)。在随后的研究中, 人们逐渐发现硝酸根作为信号分子, 不仅诱导NR的表达, 而且可以调控硝酸根转运蛋白以及碳氮代谢等途径中许多相关下游基因的mRNA水平(Coruzzi和Bush 2001)。利用硝酸根代谢缺陷突变体及使用硝酸根替代氮源(铵根、谷氨酰胺)的研究更区分出了硝酸根的营养功能和信号功能对植物生长发育所起的区别化作用(Scheible等1997; Walch-Liu等2000; Wang等2004; Alboresi等2005)。但对于植物如何感知硝酸根信号, 以及感受后的信号如何进一步调控植物体内的基因表达以及代谢等生理过程, 来调节植物与环境的相互作用的分子机理研究, 直到最近

几年才取得了较大的突破, 下面分别就以上提到的几个方面进展进行阐述。

## 1 硝酸根调控的基因表达

当植物感受到土壤中的硝酸根浓度变化时, 会迅速调整一系列基因的表达来调节体内的代谢及生长发育(Vidal和Gutierrez 2008)。这些基因最显著的表达调控特征是迅速受到硝酸根的诱导, 而且不依赖于蛋白质的从头(*de novo*)合成, 因此被称为硝酸根初级响应基因, 主要包括调控硝酸根吸收、还原以及磷酸戊糖途径和糖酵解途径相关的基因(Wang等2000)。NR基因是第一个被发现的硝酸根初级响应基因(Tang和Wu 1957), 使用10~50 mmol·L<sup>-1</sup>的硝酸根处理植物时, 其体内的mRNA含量在几分钟内即发生显著增加(Melzer等1989; Cheng等1991; Gowri等1992; Aslam等1993)。而且, 在添加蛋白质合成抑制剂后, 硝酸根仍然能够迅速诱导NR的表达, 表明硝酸根诱导NR的表达是独

收稿 2010-12-30 修定 2011-01-05

\* 通讯作者(E-mail: jmgong@sibs.ac.cn; Tel: 021-54924036)。

立于蛋白质从头合成的(Gowri 等 1992)。除NR外,硝酸根转运蛋白基因(NRT)也是非常重要的硝酸根初级响应基因,其典型代表是NRT2.1和NRT2.2。当植物受到硝酸根饥饿时,NRT2.1和NRT2.2的表达量会显著降低到不可检测的水平,但是一旦将植物转移至含硝酸根的培养基时,几分钟内即可诱导其表达(Forde 2000)。相对于硝酸根诱导的代谢变化等次级效应,硝酸根初级响应现象具有高度的稳定性,因此该过程中一些标志基因已经被广泛应用于研究硝酸根信号转导。

除了上述的初级响应基因,Wang等(2003)通过系统分析经过硝酸根饥饿和短时间低浓度( $250 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{NO}_3^-/20 \text{min}$ )诱导处理的拟南芥转录组,发现拟南芥近10%基因的表达受到了硝酸根的影响。在根中1 176个基因出现显著上调或下调,在茎中也有183个基因的表达发生显著的改变。除去之前发现的初级硝酸根响应基因外,还包括许多新的参与物质代谢或调控的基因,例如参与糖酵解途径的葡萄糖-6-磷酸异构酶以及磷酸甘油酸变位酶基因等,参与铁(Fe)转运和代谢基因(烟酰胺合成酶)、以及硫(S)元素吸收和还原的基因。这些结果表明矿物质硝酸根在植物基因表达中所能起到的核心调控作用(Wang等2003)。

但是,硝酸根作为一个氮代谢的原初底物分子,它在同化为有机氮的过程中被还原为亚硝酸根、铵根以及其他含氮的中间代谢产物,而这些代谢产物也可以作为信号分子调控基因的表达(Walch-Liu等2006; Wang等2007; Gutierrez等2008)。因此最初并不能确定硝酸根初级响应过程到底是由硝酸根自身直接引发,还是下游代谢产物造成,多个实验室利用来自不同物种的NR活力缺失突变体对这个问题进行了研究。Scheible等(1997)基于低NR活性烟草突变体进行的研究揭示,即使硝酸根不能被有效还原,也能调节烟草体内的碳氮代谢平衡过程,支持硝酸根作为信号分子起作用的假设。更为精细的分子证据来自对拟南芥的研究,Wang等(2004)获得了NR酶活缺失的拟南芥双突变体*nia1nia2*,该突变体在以硝酸根为唯一氮源的培养基上无法正常生长。当该突变体和野生型同时接受硝酸根诱导处理时,有595个硝酸根初级响应基因在*nia1nia2*突变体和野生型中的

表达都发生了显著变化。这些基因涉及到能量、代谢、糖酵解和糖异生等重要的生理过程。通过这些工作,硝酸根的信号分子功能得以从其营养功能以及下游代谢产物的信号功能中严格区分出来,为硝酸根信号转导研究奠定了坚实的基础。

## 2 植物对硝酸根信号的感受

外界的硝酸根信号如何被植物所感知这个问题一直是研究的难点。Redinbaugh和Campbell(1991)提出了一个模型,认为在植物中存在一个组成型表达的硝酸根响应途径,该途径包括一个硝酸根受体和硝酸根初级响应基因转录激活的调控蛋白。关于该模型的研究进展较为缓慢,尤其是在硝酸根初级响应基因转录激活调控蛋白上,相关进展较少。

在硝酸根受体研究方面,则在最近取得了突破性进展,支持了Redinbaugh提出的模型。最早人们推测硝酸根受体位于细胞膜外侧,主要证据就是小麦根系周围的硝酸根浓度变化可以显著调控硝酸根还原酶NR的表达,而根系组织和细胞质中的硝酸根浓度却保持在一个相对稳定的水平(Sueyoshi等1995)。在细菌中,硝酸根的信号转导主要通过His-to-Asp的磷酸化系统来实现。它们通过一对跨膜的组氨酸激酶(NarQ和NarX)来感受外界环境中的硝酸根变化(Stewart 1994)。植物中虽然也存在类似的His-to-Asp磷酸化系统,但该系统主要是在植物的细胞分裂素和乙烯信号转导中发挥作用(Sueyoshi等1995; Mok和Mok 2001)。在酵母中存在一类特殊基因,它们既是转运蛋白,同时也可以感受到培养基中的主要营养元素浓度变化。例如酵母中的铵根透性酶(ammonium permease) *Mep2p*基因编码一个高亲和力铵根转运蛋白,同时它也是一个铵根受体,可以感受到培养基中铵根浓度的变化,以此调控酵母假菌丝分化的初始过程(Lorenz和Heitman 1998)。受此启发,人们也猜测硝酸根受体是否可能就是某一个或几个硝酸根转运蛋白。其中CHL1 (NRT1.1)和NRT2.1的可能性最大,因为正向和反向遗传学研究证据皆表明它们的功能缺失突变体存在一些不同于野生型的硝酸根信号转导特征,例如硝酸根调控的根系发育和基因表达都发生了显著变化(Cerezo等2001; Little等2005; Remans等2006)。基于这些确凿的证

据, Tsay实验室通过精密的实验设计和详实的数据, 证明了CHL1确实是一个硝酸根受体(Liu等1999)。在研究中, 他们筛选到一个特殊的CHL1等位突变体 $chl1-9$ , 该突变体蛋白丧失了转运硝酸根的能力, 但却保留了正常的硝酸根应答反应, 证明了CHL1转运硝酸根的功能和其作为硝酸根受体的功能是相互独立的(Ho等2009)。当植物处于较低的硝酸根浓度环境中时(硝酸根浓度小于 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 图1-A), CHL1可以激活类钙调磷酸酶B蛋白CBL9, 激活后的CBL9通过某种未知机制和类钙调磷酸酶B互作蛋白激酶CIPK23结合在一起形成蛋白复合体, 并磷酸化CHL1蛋白第101位上的苏氨酸(threonine 101, T101)。一旦CHL1被磷酸化, 它就会转变为高亲和力的硝酸根转运蛋白, 从而促进植物在不利的条件下吸收更多的硝酸根。磷酸化后的CHL1同时使植物在低浓度硝酸根下保持较低水平的硝酸根初级反应。当外部环境中的硝酸根浓度大于 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时(图1-B), CHL1不能被CBL9-CIPK23复合体磷酸化, 保持低亲和力的硝酸根转运能力, 并激活而且增强植物在较高硝酸根浓度下的硝酸根初级反应。该过程需要另外一个类钙调磷酸酶B互作蛋白激酶CIPK8的协助。CIPK8被一个未知的CBL蛋白激活, 并可能在一个不同于T101的位点磷酸化CHL1 (Liu等1999; Liu和Tsay 2003; Ho等2009; Vert和Chory 2009)。

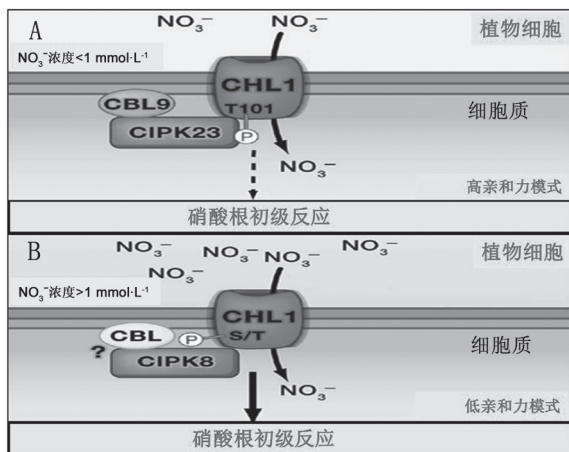


图1 植物对环境硝酸根浓度的感受过程 (修改自Vert和Chory 2009)

Fig.1 The process of nitrate sensing in plant cells (modified from Vert and Chory 2009)

### 3 硝酸根信号调控的重要生理过程

#### 3.1 硝酸根信号与根系发育

硝酸根作为植物的主要氮源和重要的信号分子, 对根系的发育起着重要的调控作用。增加拟南芥根系局部区域的硝酸根浓度, 可以显著促进该区域侧根的生长, 尤其是侧根的伸长(Zhang和Forde 1998), 而替代氮源如铵( $\text{NH}_4^+$ )、谷氨酰胺(Gln)则没有类似的作用(Zhang和Forde 1998)。谷类作物中硝酸根促进侧根伸长的表型更为明显, 其侧根的产生数量和长度都有显著的增加(Granato和Raper 1989)。

硝酸根作为信号促进侧根伸长的分子调控机理研究的主要成就在于ANRI基因的克隆。该基因属于MADS box家族基因之一, 受硝酸根诱导表达, 编码一个转录因子蛋白。其突变体S10在局部硝酸根浓度高的地方没有出现类似促进侧根发育的表型(图2) (Zhang和Forde 1998)。由于硝酸根具有营养和信号分子的双重功能, 为了鉴定到底是硝酸根的哪种功能在促进侧根发育中发挥了主要作用, 鉴定了硝酸根还原酶双突变体 $nia1nia2$ 在局部高硝酸根浓度刺激下的侧根发育表型, 结果发现其表型与野生型基本一致(Zhang和Forde 1998)。揭

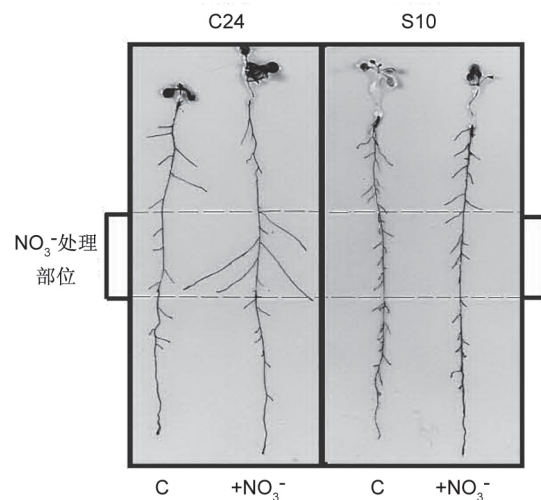


图2 ANRI调控局部高浓度硝酸根地区侧根的伸长 (摘自Zhang 和 Forde 1998)

Fig.2 ANRI gene was involved in the lateral root's elongation within nitrate rich zone (from Zhang and Forde 1998)

C24: 对照株; S10: ANRI突变株; C: 无 $\text{NO}_3^-$ 处理; + $\text{NO}_3^-$ : 局部 $\text{NO}_3^-$ 处理。



示硝酸根刺激侧根发育的效应来自于其信号功能,但*ANRI*调控的直接下游蛋白迄今尚未找到。Remans等(2006)的研究表明,*CHLI*可能是*ANRI*的上游调控因子,因为*chli*突变体在局部高浓度硝酸根区域没有出现侧根伸长的表型,与之相对应的是根尖中*ANRI*的表达也显著下调。因此一个可能的模型是*CHLI*在感受到局部高浓度的硝酸根信号后,然后把信号传导给*ANRI*,促进*ANRI*的表达,*ANRI*然后调控未知的下游基因,促进侧根的伸长。

最近的研究则揭示硝酸根信号与*miR393*以及生长素受体*AFB3*协同作用调控植物根的发育。植物感受硝酸根信号后,*AFB3*的表达增强,使植物对生长素的敏感性提高,随后一些对生长素敏感的基因的表达水平发生变化,导致植物主根伸长受抑制并诱导侧根的生长。但同时,硝酸根被根系吸收后代谢成为铵根、谷氨酸或者其他氮代谢产物。这些下游的代谢产物可以诱导*miR393*的表达上调,上调后的*miR393*则抑制*AFB3*的表达,使其表达水平回调(图3)(Vidal等2010)。该研究拓展了我们对硝酸根信号参与植物根系发育的认识,但*CHLI*以及*ANRI*是介入该表观调控途径,还是独立于该途径之外,仍有待于进一步研究证据的获得。

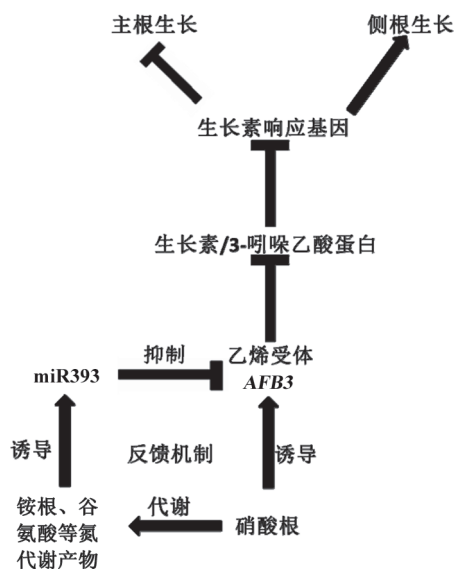


图3 *miR393/AFB3*在硝酸根调控下调节植物根系发育(修改自Vidal等2010)

Fig.3 Working model for *miR393/AFB3* in nitrate regulated root architecture (modified from Vidal et al 2010)

### 3.2 硝酸根信号与叶片发育

硝酸根信号调控的另外一个重要生理过程是叶片的发育。当营养缺乏的时候,植物会调整营养元素在地上部分和地下部分中的分配,以增加其在根中的比例,降低营养缺乏对根系发育的影响(Ericsson 1995),因此叶片的发育对于硝酸根营养状况较敏感。绿豆和烟草在硝酸根缺乏的土壤中生长时,叶片细胞的分裂速度和细胞大小都显著降低,叶片的面积也比其正常生长条件下小(Roggatz等1999; Walch-Liu等2000)。重新加入硝酸根可以使叶片的发育趋于正常;但替代氮源如铵根的加入则不能恢复叶片的正常发育(McDonald等1996; Walch-Liu等2000)。先前的研究表明,植物在使用铵根时,木质部伤流液中的细胞分裂素浓度与使用硝酸根相比显著降低(Sattelmacher和Marschner 1978; Samuelson和Larsson 1993)。揭示硝酸根很可能作为信号分子影响了细胞分裂素在根部的合成,并最终影响叶片的发育(图4)。细胞分裂素可以迅速诱导很多基因的表达,这些基因主要属于Type-A家族(Urao等2000)。在这些被诱导的基因中,有部分也受硝酸根的强烈诱导(Taniguchi等1998),其中的*ARR5*基因主要在地上部的顶端分生组织表达,有可能通过整合硝酸根和细胞分裂素信号来调控叶片的发育(D'Agostino等2000)。

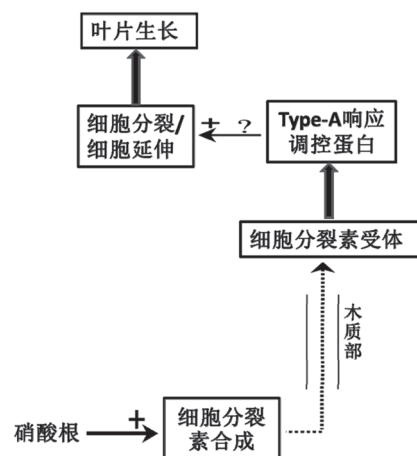


图4 硝酸根长距离信号转导参与调控叶片发育的可能作用机理(修改自Forde 2002)

Fig.4 The nitrate long-range signaling pathway regulates leaf expansion (modified from Forde 2002)

### 3.3 硝酸根信号与种子休眠

种子休眠是植物在长期系统进化过程中获得的一种环境适应性特性。这种特性能够确保物种在恶劣的环境中存活,防止种子在不适宜的季节萌发。脱落酸(ABA)和赤霉素(GAs)是影响植物种子萌发和休眠的两个最主要因素(Finkelstein等2008)。除此外,研究还发现使用外源硝酸根处理植物种子,可以打破休眠,促进种子萌发,而且这种硝酸根促进萌发的现象不依赖于硝酸根还原酶NR的活性(Hilhorst和Karszen 1988; Derkx和Karszen 1993),预示硝酸根可能作为信号分子来参与调控种子萌发。

Chopin等(2007)发现拟南芥*NRT2.7*基因在种子中特异高表达,主要负责从种子细胞的细胞质向液泡中运输硝酸根。该基因突变后,突变体种子中硝酸根的含量会显著降低,种子的休眠程度也增强。尽管突变体种子中的硝酸根含量显著降低,但是硝酸根在植物种子中占总氮的比例非常低,因此种子中的硝酸根通过营养功效调节种子休眠的效应应该非常微弱,更有可能是作为信号分子或者是渗透调节物质来参与调控种子的休眠。与该假设一致的是,使用硝酸根的下游代谢产物如谷氨酰胺(Gln),并不能减缓种子的休眠程度(Alboresi等2005),这些证据表明硝酸根主要作为信号分子参与调控种子休眠。

关于硝酸根调控种子休眠和萌发的机理目前还不太清楚,但有一种较有影响力的推论,即外源或内源硝酸根信号很有可能是通过影响种子中ABA、GAs合成或代谢途径,从而可以调控种子的休眠状况。支持该推论的证据包括硝酸根在种子中的积累可以增加种子中GAs的合成,或者降低种子萌发过程中对GAs的需求等(Hilhorst和Karszen 1988; Alboresi等2005);此外,硝酸根处理拟南芥休眠生态型Cvi的种子,可以增强种子中ABA的氧化代谢,抑制ABA的重新合成,使ABA的含量迅速降低,从而打破种子的休眠,促进萌发(Ali-Rachedi等2004)。另外的研究则发现,外源添加硝酸根可以降低植物萌发过程中对光敏色素A的依赖,促进拟南芥Ler生态型种子的萌发(Batak等2002)。

植物在生长过程中,经常会遇到土壤中氮素缺乏的情况。当植物感受到氮素缺乏状态后,会

把这种信号传递给种子并减少种子中硝酸根的积累,以此来增加种子的休眠作用,避免种子在不适宜的情况下萌发。当土壤的氮素营养适宜的时候,又会通过与其他信号途径如ABA和GAs的相互作用来解除休眠,刺激种子萌发。因此硝酸根信号调控的种子休眠可能是植物在长期进化过程中形成的一种自我保护机制(Alboresi等2005)。

### 3.4 硝酸根信号与逆境响应

逆境会影响植物吸收同化硝酸根的能力(Singh等1988),但反过来硝酸根作为一种信号分子能否调节植物对逆境的响应?从逻辑上讲这种调节应该是存在的,但是相关的机理研究则少见报道。最早有关硝酸根调控植物抗逆的分子机理研究与*CHL1*有关,研究发现*CHL1*功能缺失后,突变体对干旱的抗性增强,主要是由于突变体保卫细胞在开放过程中硝酸根含量降低,所以不能产生硝酸根诱导的去极化,导致突变体的气孔开放度低于野生型,因此其失水速度降低,抗旱性增强(Guo等2003)。但该研究提供的证据不足以支持硝酸根作为信号分子来参与调控植物抗旱的推论,而硝酸根更可能是作为一种渗透调节物质来调控气孔的开度。

最近,Li等(2010)的研究则为硝酸根信号可能介入逆境响应调控提供了直接的分子证据。以前研究表明,重金属胁迫将极大抑制硝酸根吸收代谢途径的酶活力(Hernandez等1997; Chaffei等2004),但Li等(2010)在分析镉胁迫条件下的拟南芥基因转录组时,发现*NRT1.8*受镉诱导,是氮吸收代谢途径中唯一受镉强烈诱导表达的基因。进一步的分析表明该基因编码一个pH依赖的低亲和力硝酸根吸收蛋白,其基本作用在于将木质部伤流液中的硝酸根跨膜转运到木质部薄壁细胞内,从而调控硝酸根从根到茎的长途转运。在镉胁迫条件下,*NRT1.8*在根部诱导表达,导致更多的硝酸根分配到根中,并提高植物对镉的抗性(Li等2010)。与之相对应的是,负责硝酸根木质部装载的*NRT1.5*基因(Lin等2008)在镉胁迫时表达量降低,而且*nrt1.5*突变体表现出与*nrt1.8*突变体相反的表型(Li等2010),揭示*NRT1.8*与*NRT1.5*协同作用将硝酸根留在根中从而调控植物对镉的抗性。不仅如此,这2个基因在多种逆境下表现出与镉胁迫类似的

表达特征, 预示这2个基因协同调控的硝酸根向根部的再分配是植物逆境胁迫响应中一种比较普遍的机制(未发表的数据)。鉴于参与再分配的硝酸根只占总氮的很小比例, 作者推测其作为营养成分起作用的可能性不大, 支持该推论的证据来自 *NRT1.8* 过表达植株体内多种硝酸根吸收代谢基因的组成型表达(Li等2010)。更为直接的实验验证可能包括利用NR活力缺失突变体来进一步研究硝酸根再分配信号对基因表达的影响, 尤其是对一些初级响应基因的影响, 以及基于对 *NRT1.8* 基因更深入的作用机理解析。

#### 4 总结与展望

硝酸根作为信号分子的研究只有几十年的历史, 但是它在植物生长发育以及逆境反应等生理过程中的重要作用已经开始得到重视。尽管也取得了一些进展(Zhang和Forde 1998; Ho等2009), 但是还有很多基础的问题有待解决。包括我们已经知道CHL1是硝酸根受体, 那植物中是否还存在其他的硝酸根受体呢? 如感受细胞质中硝酸根浓度变化的受体, 或者是位于特定组织部位感受硝酸根在植物地下和地上部位分配比例变化的受体。此外, 已经明确硝酸根信号可以调节许多基因的表达, 这些基因分别参与了植物体内众多重要生理过程, 如硝酸根的吸收和代谢、氨基酸的代谢、光合作用、激素代谢以及信号转导等途径, 并最终调控植物的生长发育(Wang等2000, 2003, 2004; Gutierrez等2007; Vidal等2008)。但是这些基因响应硝酸根信号的分子反应与最终的生长发育改变表型之间, 还存在巨大的空白有待进一步研究和阐明。

硝酸根信号转导研究的另一个挑战是, 植物体内的很多代谢过程和信号转导都不是独立运作的, 而是存在一个及其复杂的互作网络(Forde 2002; Vidal和Gutierrez 2008; Krouk等2009), 如硝酸根代谢就与碳代谢紧密偶联, 相互促进, 相互制约。如何将硝酸根代谢及信号转导和其他代谢途径和信号, 比如激素分子, 碳、硫、磷等营养元素整合起来, 从基因组整体水平上调控基因的表达, 并最终影响植物的生长发育, 很可能是以后研究的一个热点和难点(Taniguchi等1998; Prosser等2001; Palenchar等2004; Sakakibara等2006; Wang等

2007)。通过系统生物学和生物信息学的研究, 虽然也取得了部分进展, 尤其是在碳氮信号相互作用研究上取得了一些成果, 但深入了解和详尽阐释硝酸根信号转导在植物生长发育过程中的具体作用机理还有很多工作要做。随着科学技术的进一步发展, 结合传统的分子生物学、生物化学以及生物信息学等手段, 相信在不久的将来会有更多重大的发现。这对于降低农业的经济和生态成本, 提高农作物抗性以及产量, 保持农业的可持续发展都将起到很好的促进作用。

#### 参考文献

- Alboresi A, Gestin C, Leydecker MT, Bedu M, Meyer C, Truong HN (2005). Nitrate, a signal relieving seed dormancy in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 28: 500~512
- Ali-Rachedi S, Bouinot D, Wagner MH, Bonnet M, Sotta B, Grappin P, Jullien M (2004). Changes in endogenous abscisic acid levels during dormancy release and maintenance of mature seeds: studies with the Cape Verde islands ecotype, the dormant model of *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 219: 479~488
- Aslam M, Travis RL, Huffaker RC (1993). Comparative induction of nitrate and nitrite uptake and reduction systems by ambient nitrate and nitrite in intact roots of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. *Plant Physiol*, 102: 811~819
- Batak I, Devi M, Gibal Z, Grubisic D, Poff KL, Konjevi R (2002). The effects of potassium nitrate and NO-donors on phytochrome A- and phytochrome B-specific induced germination of *Arabidopsis thaliana* seeds. *Seed Sci Res*, 12: 253~259
- Cerezo M, Tillard P, Filleur S, Munos S, Daniel-Vedele F, Gojon A (2001). Major alterations of the regulation of root NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake are associated with the mutation of *Nrt2.1* and *Nrt2.2* genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 127: 262~271
- Chaffei C, Pageau K, Suzuki A, Gouia H, Ghorbel MH, Masclaux-Daubresse C (2004). Cadmium toxicity induced changes in nitrogen management in *Lycopersicon esculentum* leading to a metabolic safeguard through an amino acid storage strategy. *Plant Cell Physiol*, 45: 1681~1693
- Cheng CL, Acedo GN, Dewdney J, Goodman HM, Conkling MA (1991). Differential expression of the two *Arabidopsis* nitrate reductase genes. *Plant Physiol*, 96: 275~279
- Chopin F, Orsel M, Dorbe MF, Chardon F, Truong HN, Miller AJ, Krapp A, Daniel-Vedele F (2007). The *Arabidopsis* ATNRT2.7 nitrate transporter controls nitrate content in seeds. *Plant Cell*, 19: 1590~1602
- Coruzzi G, Bush DR (2001). Nitrogen and carbon nutrient and metabolite signaling in plants. *Plant Physiol*, 125: 61~64
- Crawford NM (1995). Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *Plant Cell*, 7: 859~868
- D'Agostino IB, Deruere J, Kieber JJ (2000). Characterization of the response of the *Arabidopsis* response regulator gene family to



- cytokinin. *Plant Physiol*, 124: 1706~1717
- Derckx MPM, Karssen CM (1993). Variability in light gibberellin and nitrate requirement of *Arabidopsis thaliana* seeds due to harvest time and conditions of dry storage. *J Plant Physiol*, 141: 574~582
- Ericsson T (1995). Growth and shoot: root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. *Plant Soil*, 168-169: 205~214
- Finkelstein R, Reeves W, Ariizumi T, Steber C (2008). Molecular aspects of seed dormancy. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 387~415
- Forde BG (2000). Nitrate transporters in plants: structure, function and regulation. *Biochim Biophys Acta*, 1465: 219~235
- Forde BG (2002). Local and long-range signaling pathways regulating plant responses to nitrate. *Annu Rev Plant Biol*, 53: 203~224
- Gowri G, Kenis JD, Ingemarsson B, Redinbaugh MG, Campbell WH (1992). Nitrate reductase transcript is expressed in the primary response of maize to environmental nitrate. *Plant Mol Biol*, 18: 55~64
- Granato TC, Raper CD Jr (1989). Proliferation of maize (*Zea mays* L.) roots in response to localized supply of nitrate. *J Exp Bot*, 40: 263~275
- Guo FQ, Young J, Crawford NM (2003). The nitrate transporter AtNRT1.1 (CHL1) functions in stomatal opening and contributes to drought susceptibility in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 15: 107~117
- Gutierrez RA, Lejay LV, Dean A, Chiaromonte F, Shasha DE, Coruzzi GM (2007). Qualitative network models and genome-wide expression data define carbon/nitrogen-responsive molecular machines in *Arabidopsis*. *Genome Biol*, 8: R7
- Gutierrez RA, Stokes TL, Thum K, Xu X, Obertello M, Katari MS, Tanurdzic M, Dean A, Nero DC, McClung CR, et al (2008). Systems approach identifies an organic nitrogen-responsive gene network that is regulated by the master clock control gene *CCA1*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105: 4939~4944
- Hernandez LE, Garate A, CarpenaRuiz R (1997). Effects of cadmium on the uptake, distribution and assimilation of nitrate in *Pisum sativum*. *Plant Soil*, 189: 97~106
- Hilhorst HW, Karssen CM (1988). Dual effect of light on the gibberellin- and nitrate-stimulated seed germination of *Sisymbrium officinale* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 86: 591~597
- Ho CH, Lin SH, Hu HC, Tsay YF (2009). CHL1 functions as a nitrate sensor in plants. *Cell*, 138: 1184~1194
- Krouk G, Tranchina D, Lejay L, Cruikshank AA, Shasha D, Coruzzi GM, Gutierrez RA (2009). A systems approach uncovers restrictions for signal interactions regulating genome-wide responses to nutritional cues in *Arabidopsis*. *PLoS Comput Biol*, 5: e1000326
- Li JY, Fu YL, Pike SM, Bao J, Tian W, Zhang Y, Chen CZ, Zhang Y, Li HM, Huang J, et al (2010). The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.8 functions in nitrate removal from the xylem sap and mediates cadmium tolerance. *Plant Cell*, 22: 1633~1646
- Lin SH, Kuo HF, Canivenc G, Lin CS, Lepetit M, Hsu PK, Tillard P, Lin HL, Wang YY, Tsai CB, et al (2008). Mutation of the *Arabidopsis* NRT1.5 nitrate transporter causes defective root-to-shoot nitrate transport. *Plant Cell*, 20: 2514~2528
- Little DY, Rao H, Oliva S, Daniel-Vedele F, Krapp A, Malamy JE (2005). The putative high-affinity nitrate transporter NRT2.1 represses lateral root initiation in response to nutritional cues. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 13693~13698
- Liu KH, Huang CY, Tsay YF (1999). CHL1 is a dual-affinity nitrate transporter of *Arabidopsis* involved in multiple phases of nitrate uptake. *Plant Cell*, 11: 865~874
- Liu KH, Tsay YF (2003). Switching between the two action modes of the dual-affinity nitrate transporter CHL1 by phosphorylation. *EMBO J*, 22: 1005~1013
- Lorenz MC, Heitman J (1998). The MEP2 ammonium permease regulates pseudohyphal differentiation in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J*, 17: 1236~1247
- McDonald AJS, Davies WJ, Callow JA (1996). Keeping in touch: responses of the whole plant to deficits in water and nitrogen supply. *Adv Bot Res*, 22: 229~300
- Melzer J, Kleinhofs A, Warner R (1989). Nitrate reductase regulation: effects of nitrate and light on nitrate reductase mRNA accumulation. *Mol Gen Genet*, 217: 341~346
- Mok DW, Mok MC (2001). Cytokinin metabolism and action. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 52: 89~118
- Palenchar PM, Kouranov A, Lejay LV, Coruzzi GM (2004). Genome-wide patterns of carbon and nitrogen regulation of gene expression validate the combined carbon and nitrogen (CN)-signaling hypothesis in plants. *Genome Biol*, 5: R91
- Prosser IM, Purves JV, Saker LR, Clarkson DT (2001). Rapid disruption of nitrogen metabolism and nitrate transport in spinach plants deprived of sulphate. *J Exp Bot*, 52: 113~121
- Redinbaugh MG, Campbell WH (1991). Higher plant responses to environmental nitrate. *Physiol Plantarum*, 82: 640~650
- Remans T, Nacry P, Pervent M, Filleur S, Diatloff E, Mounier E, Tillard P, Forde BG, Gojon A (2006). The *Arabidopsis* NRT1.1 transporter participates in the signaling pathway triggering root colonization of nitrate-rich patches. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 19206~19211
- Remans T, Nacry P, Pervent M, Girin T, Tillard P, Lepetit M, Gojon A (2006). A central role for the nitrate transporter NRT2.1 in the integrated morphological and physiological responses of the root system to nitrogen limitation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 140: 909~921
- Roggatz U, McDonald AJS, Stadenberg I, Schurr U (1999). Effects of nitrogen deprivation on cell division and expansion in leaves of *Ricinus communis* L. *Plant Cell Environ*, 22: 81~89
- Sakakibara H, Takei K, Hirose N (2006). Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends Plant Sci*, 11: 440~448
- Samuelson ME, Larsson C (1993). Nitrate regulation of zeatin riboside levels in barley roots: effects of inhibitors of N assimilation and comparison with ammonium. *Plant Sci*, 93: 77~84
- Sattelmacher B, Marschner H (1978). Nitrogen nutrition and cytokinin activity in *Solanum tuberosum*. *Physiol Plantarum*, 42: 185~189
- Scheible WR, Gonzalez-Fontes A, Lauer M, Muller-Rober B, Caboche M, Stitt M (1997). Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco. *Plant Cell*, 9: 783~798
- Singh D, Srivastava H, Singh R (1988). Nitrate assimilation in pea

- leaves in the presence of cadmium. *Water Air Soil Poll*, 42: 1~5
- Stewart V (1994). Regulation of nitrate and nitrite reductase synthesis in enterobacteria. *Anton Leeuw Int J G*, 66: 37~45
- Stitt M (1999). Nitrate regulation of metabolism and growth. *Curr Opin Plant Biol*, 2: 178~186
- Sueyoshi K, Kleinhofs A, Warner RL (1995). Expression of NADH-specific and NAD(P)H-bispecific nitrate reductase genes in response to nitrate in barley. *Plant Physiol*, 107: 1303~1311
- Tang P, Wu H (1957). Adaptive formation of nitrate reductase in rice seedlings. *Nature*, 179: 1355~1356
- Taniguchi M, Kiba T, Sakakibara H, Ueguchi C, Mizuno T, Sugiyama T (1998). Expression of *Arabidopsis* response regulator homologs is induced by cytokinins and nitrate. *FEBS Lett*, 429: 259~262
- Urao T, Miyata S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2000). Possible His to Asp phosphorelay signaling in an *Arabidopsis* two-component system. *FEBS Lett*, 478: 227~232
- Vert G, Chory J (2009). A toggle switch in plant nitrate uptake. *Cell*, 138: 1064~1066
- Vidal EA, Arous V, Lu C, Parry G, Green PJ, Coruzzi GM, Gutierrez RA (2010). Nitrate-responsive miR393/AFB3 regulatory module controls root system architecture in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107: 4477~4482
- Vidal EA, Gutierrez RA (2008). A systems view of nitrogen nutrient and metabolite responses in *Arabidopsis*. *Curr Opin Plant Biol*, 11: 521~529
- Walch-Liu P, Liu LH, Remans T, Tester M, Forde BG (2006). Evidence that L-glutamate can act as an exogenous signal to modulate root growth and branching in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 47: 1045~1057
- Walch-Liu P, Neumann G, Bangerth F, Engels C (2000). Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. *J Exp Bot*, 51: 227~237
- Wang R, Guegler K, LaBrie ST, Crawford NM (2000). Genomic analysis of a nutrient response in *Arabidopsis* reveals diverse expression patterns and novel metabolic and potential regulatory genes induced by nitrate. *Plant Cell*, 12: 1491~1509
- Wang R, Okamoto M, Xing X, Crawford NM (2003). Microarray analysis of the nitrate response in *Arabidopsis* roots and shoots reveals over 1000 rapidly responding genes and new linkages to glucose, trehalose-6-phosphate, iron, and sulfate metabolism. *Plant Physiol*, 132: 556~567
- Wang R, Tischner R, Gutierrez RA, Hoffman M, Xing X, Chen M, Coruzzi G, Crawford NM (2004). Genomic analysis of the nitrate response using a nitrate reductase-null mutant of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 136: 2512~2522
- Wang R, Xing X, Crawford N (2007). Nitrate acts as a transcriptome signal at micromolar concentrations in *Arabidopsis* roots. *Plant Physiol*, 145: 1735~1745
- Zhang H, Forde BG (1998). An *Arabidopsis* MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture. *Science*, 279: 407~409
- Zhang H, Jennings A, Barlow PW, Forde BG (1999). Dual pathways for regulation of root branching by nitrate. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 6529~6534