

植物液泡中硝酸盐行为的研究概况*

沈其荣¹ 汤利² 徐阳春¹

(1 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

(2 云南农业大学资源与环境科学学院, 昆明 650201)

摘要 化学氮肥利用率低和损失严重而造成的环境污染问题是农业生态系统中氮素管理首当其冲要研究和解决的问题, 这方面的研究工作在国内外报道浩如烟海, 但突破性进展不多。另一方面, 植物体内的硝酸盐含量高又严重影响农产品有关的品质性状, 特别是我国加入 WTO 后蔬菜和果实中高含量的硝酸盐是影响这些产品出口的主要限制因子之一。因此, 从植物体本身着手研究植物氮素高效利用的机理与途径, 这是近几年来植物氮素营养研究的热点之一。植物液泡占据了成熟植物细胞体积的 90% 左右, 而液泡和细胞质中硝酸盐的浓度通常分别在 $30\sim 50\text{ mol m}^{-3}$ 和 $3\sim 5\text{ mol m}^{-3}$, 因此, 如何调动植物液泡中的硝酸盐使之得到更高层次的再利用, 这是提高植物氮素利用效率和降低植物体内硝酸盐含量的途径之一。本文综述了国内外有关液泡中硝酸盐行为的研究状况, 在此基础上作者首次提出植物液泡中硝酸盐的内外流与植物氮素高效利用之间可能存在着密切的关系, 旨在拓始这方面的工作能尽快开展, 为植物氮素高效利用的分子生物学研究开辟新的研究领域。

关键词 液泡, 硝酸盐, 氮素利用效率

中图分类号 Q 945.12

1 提高氮肥利用率和降低植株体内硝酸盐含量是绿色食品生产的关键问题之一

氮素对作物的增产作用已为人熟知, 农业生产中氮肥施用量的增加一发不可扼制, 施用量远远超过作物的需要量。这不仅成为农业生产投入的主要因子, 而且大量氮素的损失已经或正在严重威胁着环境水体和大气质量。

我国年氮肥消耗量为 2 500 万 t (纯氮), 为世界之首, 但氮肥报酬递减率越来越严重, 许多地方出现了氮肥增加、产量减少的现象, 而氮肥增加使作物体内硝酸盐含量猛增已成为制约我国农产品出口创汇的主要因子之一。因此, 减少氮肥用量、提高作物对氮素的利用率已是国内外二十多年来研究的重点领域之一。

提高氮肥利用率可以从土壤—植物系统的生态角度出发, 如减少氮肥用量、改变肥料性质、改善施肥方法等, 这方面的研究报道浩如烟海, 也取得了一定的进展。提高氮肥利用率的另一途径就是从植物本身出发, 挖掘植物高效利用氮素养分的潜力, 这方面的研究虽然还处于起步阶段, 但已显示出很好的发展势头, 正在形成一个植物氮素营养分子生物学的新兴学科方向或领域。

2 植株体内硝酸盐的分布及其利用

植物液泡由于其具有多方面的功效(细胞物质的再循环、细胞的膨压调节、异生物物质的解毒以及许多有用物质的积累与储存)^[1], 因此, 植物液泡一直受到广大研究者的关注。

除了水稻等一些湿地作物以外, 大部分作物生长在好气土壤条件下, 作物体内硝酸盐的累积与利用是作物氮素营养的重要组成部分, 因为这是关系到作物体内硝酸盐含量的高低(绿色食品生产中的主要指标之一)和作物对液泡中累积的硝酸盐利用效率的问题(氮素营养效率基因型差异的主要指标之一——作者首次提出液泡中硝酸盐的利用与氮素营养效率的关系)。作物体内的硝酸盐主要储存在液泡内, 如 Martinoia 等^[2]和 Gransted 等^[3]均报道大麦叶片液泡中硝酸盐的数量占叶片原生质硝酸盐总量的

* 国家自然科学基金项目(编号 30270790)资助

收稿日期: 2002-02-25; 收到修改稿日期: 2002-10-30

58%~99%; Martinoia 等^[2]报道大麦叶片原生质中几乎所有的硝酸盐都集中在液泡中,他们同时指出揭示控制硝酸盐通过液泡膜的转运机制就可以阐明硝酸盐储存库和调节硝酸还原酶活力的关系; Hewitt^[4]报道作物某些组织的液泡中硝酸盐浓度可高达 300 mol m^{-3} ; Zhen 等^[5]和 Miller 等^[6]报道大麦和玉米根表皮细胞质中硝酸盐的浓度分别为 4.9 mol m^{-3} 和 3.1 mol m^{-3} ,而液泡中硝酸盐的浓度则分别为 39 mol m^{-3} 和 26 mol m^{-3} ,由于成熟细胞液泡所占的体积是细胞体积的 90%左右,因此,植物体内的硝酸盐主要分布在液泡内,不仅如此,在外部硝酸盐浓度在 $0.1 \sim 10 \text{ mol m}^{-3}$ 范围内细胞质中硝酸盐的浓度基本稳定在几个 mol m^{-3} ,变化幅度很小,因此植株体内硝酸盐含量的变化主要取决于液泡中硝酸盐浓度的变化。

由于硝酸盐的还原发生在细胞质中,而亚硝酸盐的还原在叶绿体中进行,通常情况下用于硝酸盐还原的同化力在叶片中是比较充足的,因此,硝酸盐从液泡向细胞质的外流和从细胞质向液泡的内流在很大程度上决定着植物对硝酸盐的利用。对于某些植物而言,当外界环境中氮素不够时,液泡中储存的硝酸盐会很快进入细胞质而被同化,以后可在液泡中维持很低的硝酸盐水平,直至外界环境的氮素供应恢复正常后液泡中的硝酸盐含量又有显著提高而维持在较高的平衡水平上,这些植物往往都是耐低氮基因型或氮素利用高效基因型。但是相当多的植物在环境氮素供应缺乏或不足时液泡中的硝酸盐仍然维持较高水平,而细胞质中的硝酸盐含量则已微乎其微而发生植物缺氮现象,这些植物往往是低氮敏感基因型或氮素利用低效型^[7-10]。因此,有人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(液泡中的硝酸盐),前者量少但强烈影响着硝酸还原酶的活性,而后者量很大但与硝酸还原酶活性关系不大^[3]。另有一种情况,就是在大水大肥(设施栽培作物)条件下,如何使植物液泡中的硝酸盐始终维持在一个较低的平衡水平而使植物体内硝酸盐含量降低,从而生产出符合标准的绿色食品甚至有机食品。所有这些案例都提出了一个共同问题,就是发生在液泡膜上的硝酸盐转运系统是如何进行的,搞清了这个问题就有望为控制植物体内硝酸盐含量、提高植物本身对氮素利用效率提出技术措施。

3 测定细胞和液泡中硝酸盐浓度的方法

测定细胞质和液泡中硝酸盐的浓度是研究硝酸盐在细胞器间转运的先决条件,目前测定高等植物细胞质和液泡中硝酸盐的含量主要有以下几种方法:(1)嫌气硝酸还原法(Anaerobic NR assay):这种方法用于估计代谢性硝酸盐库,其原理是在外部没有硝酸盐供应的条件下,抑制住亚硝酸盐的还原(加阻抑剂和黑暗),然后测定亚硝酸盐含量^[11];(2)分室示踪外流法(Compartmental tracer efflux):将细胞组织放在一个具有示踪元素的稳定分室溶液中平衡一段时间,然后拿出来放在一个非示踪元素但溶液组成完全与前一个溶液相同的稳定分室溶液中,定期取出外流溶液测定其示踪元素含量,细胞质膜和液泡膜具有示踪元素外流的不同能力,因而可以用来比较细胞或各细胞器硝酸盐流动的状况^[12];(3)核磁共振法(Nuclear magnetic resonance):将¹⁵N NMR法测得的细胞内部硝酸盐浓度与整个组织提取的硝酸盐浓度很相似,此方法的优点是快速、原位,但缺点是所测的浓度要求比较高而限制了该方法的应用性^[13];(4)细胞分级法(Cell fractionation):Martinoia 等^[2]首次提出了从大麦叶片原生质中分离液泡的方法步骤,相继有不少报道采用该方法测定细胞质和液泡中硝酸盐的含量^[14-18],该方法的主要缺点在于从原生质中分离液泡需要的时间很长,导致在分离过程中会使溶质重新分布,从而使所测结果与实际状况有一定偏差;(5)硝酸盐选择性微电极法(Nitrate-selective microelectrodes):该方法的优点在于可直接测定细胞器中硝酸盐的活度(热力学上很重要的一个参数),同时,微电极还能测出膜内外电位差,知道了活度和电位差就可以研究其在膜上的运输机理,而且测定过程中随时可以知道膜是否具有活性,Zhen 等^[5]和 Miller 等^[6]用双阻硝酸盐选择性电极(Double-barrelled nitrate-selective microelectrodes)测定了大麦根表皮细胞质和液泡中硝酸盐的含量,值得指出的是用该电极测定细胞组织所在的外部溶液硝酸盐的浓度要求较高($> 10 \text{ mol m}^{-3}$),后来 Walker 等^[19]提出了如果植物是生长在一个外部溶液硝酸盐浓度较低,即更贴近实际土壤情况($< 0.1 \text{ mol m}^{-3}$),此时细胞和液泡中硝酸盐活度较低,则用三阻微电极(即增加一个 pH 敏感器以区分液泡和细胞质)就能成功地测定硝酸盐在细胞质和液泡中的浓度。

综上所述,目前用于测定植株细胞硝酸盐浓度的方法中,硝酸盐选择性微电极法受到普遍采用。尽管如此,国内外有关对不同作物细胞和液泡中硝酸盐浓度的变化及利用研究的材料还是十分有限,迄今

所能查到的仅局限于大麦和少量的玉米、大豆和菠菜等一些作物上,而且大多集中在根部细胞,而对叶片细胞研究较少,急需有一种比较完善的方法可以用来测定不同作物器官,尤其是叶片细胞中的硝酸盐浓度,从而使该领域研究有所突破。

4 硝酸盐在液泡膜上的运输机制

养分离子通过细胞膜或液泡膜的过程研究是研究植物营养基因型差异的重要方面之一,也是进一步研究养分离子在膜上运输的分子生物学特征的前提与基础。广义地讲,膜上离子的运输主要是通过膜上的运输蛋白(Transporter)来完成的,这种运输蛋白可以是离子载体(Carrier),可以是离子通道(Ion channel),也可以是受控制的各种门(道)(Ports)。

就目前国内外的研究状况而言,对植物细胞膜上的硝酸盐运输蛋白研究远比对液泡膜上的运输蛋白研究来得深入而广泛^[20]。对硝酸盐吸收的动力学研究表明,在植物根系细胞膜上至少存在着两类硝酸盐的吸收系统,一类对硝酸盐具有高亲和力,另一类对硝酸盐则具有低亲和力。在高亲和力的系统中又可分成硝酸盐诱导性高亲和力运输系统(*i*HATS)和硝酸盐结构性高亲和力运输系统(*s*HATS),*i*HATS和*s*HATS的 K_m 值分别为13~79和6~20 μmol ,而前者的 V_{max} 则高出后者的25倍(就大麦而言)。对硝酸盐具有低亲和力的运输系统(LATS)也属于硝酸盐结构性运输系统,其在外部硝酸盐浓度大于1 mmol L^{-1} 时对硝酸盐的吸收起重要作用。但是对细胞膜上硝酸盐运输蛋白的分子生物学研究表明,硝酸盐的吸收运输系统远比目前从生理层面上的认识复杂得多。细胞膜上的硝酸盐运输蛋白分别属于两个不同的属即Nitrate-nitrite porter(NNP family)和Peptide transporter(PTP family),对这些蛋白在细胞膜上的生理行为及其分子生物学的研究已较为深入和清楚^[20]。

与植物细胞质膜一样,植物液泡膜上也存在着大量与物质运输有关的蛋白质,其中有活跃的离子泵、载体、离子通道以及受体蛋白。在过去的几十年间对液泡膜上的三个蛋白研究较为深入,即液泡膜ATP酶(V-ATPase)、液泡膜焦磷酸酶(V-PPase)和液泡膜水通道蛋白(Aquaporins)^[1]。在液泡膜上也能检测到 Ca^{2+} /ATP酶、 Ca^{2+} / H^+ 逆向运输蛋白和 Na^+ / H^+ 逆向运输蛋白等活性,但这些蛋白不仅存在于植物液泡膜上,也存在于植物细胞质膜和内质网上,对它们的同功酶在细胞器上的分布还很不清楚。

假如用三电极测得的液泡膜转运电势差为10~20 mV,利用Nernst方程可计算出通过被动运输进入液泡膜的硝酸盐平衡浓度可达6~9 mol m^{-3} 。但是,实际上液泡中的硝酸盐浓度要高得多,因此硝酸盐从细胞质中进入液泡的机制主要靠主动运输。Schumaker等^[21]提出其主动运输机制为发生在液泡膜上的 H^+ / NO_3^- 反运门运输过程,Miller等^[6]计算了这一系统中硝酸盐运输的热力学过程,进一步验证了硝酸根离子从细胞质进入液泡的同时 H^+ 从液泡中出来而进入细胞质的过程。

越来越多的研究结果表明,与作物细胞膜上的硝酸盐蛋白不同,植物液泡膜上的硝酸盐运输蛋白主要是硝酸盐诱导性运输蛋白,McClure等^[22]和Ni等^[23]在玉米根的液泡膜和内质网上分离到了硝酸盐诱导蛋白,如2.5 mmol L^{-1} $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 和5 mmol L^{-1} KNO_3 均能诱导液泡膜上5种多肽(49, 48, 35, 33, 32 kDa)和细胞膜上4种多肽(49, 50, 38, 33 kDa)的合成,将玉米根放在无氮营养中培养4天后,液泡膜上的2个多肽(49和32 kDa)就消失了,6天后液泡膜上的1个多肽(35 kDa)和细胞膜上的1个多肽(50 kDa)均消失,进一步的研究表明这种诱导蛋白很可能是液泡膜上硝酸根离子与其它阴离子共运的运输蛋白。Pope等^[24]发现所分离得到的液泡膜囊体有一个很大的阴离子传导率,说明液泡膜上存在着活跃的硝酸盐运输系统,这个运输系统可能就是与储存在液泡中的硝酸根离子活化有关的阴离子通道,利用膜片钳技术也测到了分离的液泡膜上离子通道的活性^[25]。

先前的一些研究结果表明,在液泡膜上存在着两种功能和物理特性完全不同的质子泵,即 H^+ -ATPase和 H^+ -PPase,这两个质子泵分别以 $\text{Mg}\cdot\text{ATP}$ 和 $\text{Mg}\cdot\text{PPi}$ 为底物,水解得到的 H^+ 被泵进液泡中,从而造成细胞质与液泡之间的 H^+ 电化学梯度,而后者在很大程度上决定着硝酸盐从液泡中外流至细胞质中的过程,硝酸盐从细胞质进入液泡主要靠液泡膜上的 H^+ / NO_3^- 反运门(Antiport)来完成的,而液泡膜上硝酸盐与其它阴离子构成的共运门(Symport)则有利于液泡中的硝酸盐向细胞质转移^[21, 26, 27]。但是,后来的工作又表明在研究硝酸盐对膜囊体内外pH梯度的影响时,由于采用了丫啶橙染料可能会产生人工物质而影响结果^[28]。Martinoia等^[15]发现使用能与蛋白巯基结合反应的转运蛋白抑制剂(*p*-chlor

tomercuribenzene sulfonate, *p*CMBS)能显著刺激大麦叶片细胞液泡中硝酸盐的外流,同时也发现在液泡分离过程中阴离子损失很少,但是分离后在室温下时间越长,阴离子尤其是硝酸盐损失较多,这种损失很可能是由于离体液泡缺乏能量所致,其外流的途径可能是阴离子外流通道。因此,要研究液泡中实际的硝酸盐外流与内流过程,必须采用原位细胞液泡内外的电化学梯度,Zhen等^[2]和Miller等^[29]等采用硝酸盐选择性微电极分别测定了液泡膜内外的二个组分或组群(Populations)中的硝酸盐浓度,同时用酶法测定整个单细胞的硝酸盐浓度,进一步证实了用硝酸盐选择性微电极测定液泡膜内外的硝酸盐浓度方法的可行性,这为研究硝酸盐在作物液泡膜上的运输提供了可行的方法与途径。

5 今后应该研究的问题

5.1 测定方法有待完善

虽然测定液泡中硝酸盐浓度的方法已有较多的报道,但可比性较差,国内外还没有一个报道将同一方法对不同植物的测定结果进行比较,方法的不完善是制约全世界植物液泡研究发展不快的主要限制因子,而在中国还没有有关植物液泡中硝酸盐研究的报道,很大程度上也是苦于方法没有得到普及,至于植物液泡对重金属离子、盐分离子、铝离子以及可能发生的有机污染物等的消毒作用均受限于测定液泡内涵物的方法不完善而无人问津。

5.2 硝酸盐在植物体内分布研究不够深入而典型植物细胞质与液泡中硝酸盐的动态研究甚少

出于生产实践的需要,人们对作物(如蔬菜)地上部或可食部分硝酸盐含量的测定与研究较为关注和深入,但是关于为什么不同作物或同一作物不同品种间硝酸盐在地上部和地下部含量相差悬殊却顾问不多,这使提出从作物本身着手降低作物硝酸盐含量的措施悬而无念。正如前述,由于缺乏一个标准而准确的方法来测定不同植物间细胞质和液泡中的硝酸盐浓度,至今,还没有发现一些典型的植物,能够作为研究细胞质和液泡中的硝酸盐浓度差异显著及其变化规律的典型植物,这方面的研究工作在国内外空白较多。

5.3 液泡膜硝酸盐转运机制的假设多于实验证实

国外对液泡膜上硝酸盐的转运机制已有一定研究(见前述),但到目前为止,还没有一种转运机制得到普遍的公认,无论是两个质子泵的定量化,还是与质子泵活动结果有关联的硝酸盐离子通道和各种硝酸盐运输门(道)的分离、提纯以及功能的发挥,均处于研究的初级阶段,需要进行大量实验与观察来证实。

在我国对液泡膜的研究报道也不少,但所有这些报道均是研究作物遭受盐、酸、碱、低温等胁迫条件下液泡膜上酶的活性变化^[30],也有个别报道^[31]有关液泡膜 H^+ -ATPase蛋白的纯化和重组,但没有一篇报道将液泡膜ATPase的活性与离子运输结合起来研究,主要问题在于国内还缺乏能够测定液泡和细胞质中有关离子活度的条件和成熟的方法步骤。

5.4 没有把液泡中硝酸盐的利用与作物氮素利用效率联系起来研究

如果液泡中的硝酸盐是作为植物的一种无机渗透压物质存在于液泡中,那么从氮素高效这个角度去考虑,就是大材小用了, Cl^- 能否在一定范围内替代 NO_3^- 作为液泡中的无机渗透压物质?如果是这样,含氯化肥的施用能提高作物氮素的利用效率就有了理论根据,事实上,在盐土上化肥氮的利用率高于非盐土(扣除盐土上pH高引起的氨挥发损失)(沈其荣未发表资料),可能与部分 Cl^- 替代 NO_3^- 作为无机渗透压物质有关。然而,迄今为止,还没有一篇报道试图将液泡中硝酸盐的再利用速度和强度与作物氮素利用效率联系起来研究,这方面的工作兼具宏观和微观之意义。

5.5 液泡膜硝酸盐运输蛋白的分子生物学研究在国内还没有启动

在研究前面所述的生理生化的基础上,进一步研究植物液泡膜上硝酸盐运输蛋白的分子生物学以及这些运输蛋白的基因克隆、基因转移和功能表达更是一项十分有意义而艰巨的工作。目前国外在这方面的主要还集中在拟南芥^[32-34]和大麦^[35]等少数植物上。在中国进行植物液泡在植物营养生理过程中的作用研究的基础上,借鉴国外的研究基础与经验,迅速开展植物液泡膜上硝酸盐内流、外流特征与植物氮素利用效率的关系及其有关分子生物学的研究实乃国家亟需解决的科学问题。

总之,通过对上述问题的研究,在宏观上能为生产低硝酸盐含量的蔬菜作物提供理论基础,在微观

上能为植物氮素高效营养生理, 尤其能为植物氮素营养的分子生物学研究提供先决条件, 从而在更深层面上丰富植物氮素营养的内涵。

参考文献

1. Maeshima M. Tonoplast transporters: Organization and function. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 2001, 52: 469~ 497
2. Martinoia E, Heck U, Wiemken A. Vascoles as storage compartments for nitrate in barley leaves. *Nature*, 1981, 289: 292~ 293
3. Granstedt R C, Huffaker R C. Identification of the leaf vacuole as a major nitrate storage pool. *Plant Physiol.*, 1982, 70: 410~ 413
4. Hewitt E J. Regulation of nitrate assimilation in plants. *In: Hewitt E J, et al. eds. Nitrogen Assimilation of Plants*. London: Academic Press, 1979. 255~ 287
5. Zhen R G, Koyro H W, Leigh R A, et al. Compartmental nitrate concentrations in barley root cells measured with nitrate-selective microelectrodes and by single-cell sap sampling. *Planta*, 1991, 185: 356~ 361
6. Müller A J, Smith S J. The mechanism of nitrate transport across the tonoplast of barley root cells. *Planta*, 1992, 187: 554~ 557
7. Aslam M, Travis R L, Rains D W. Evidence for substrate induction of a nitrate efflux system in barley roots. *Plant Physiol.*, 1996, 112: 1167~ 1175
8. Ruffy T W, Jr, Volk R J, et al. Relative content of nitrate and reduced nitrogen in xylem exudates as an indication of root reduction of concurrently absorbed $^{15}\text{NO}_3^-$. *Plant Physiol.*, 1982, 69: 166~ 170
9. Morgan M A, Jackson W A, Volk R J. Uptake and assimilation of nitrate by corn roots during and after induction of the nitrate uptake system. *J Exp. Bot.*, 1985, 167: 859~ 869
10. Oscarson P, Larsson C M. Relations between uptake and utilization of nitrate in *Pisum* growing exponentially under nitrate limitation. *Physiologia Plantarum*, 1986, 67: 109~ 117
11. Ferrari T E, Yoder O C, Filner P. Anaerobic nitrite production by plant cells and tissues. Evidence for two nitrate pools. *Plant Physiol.*, 1973, 51: 423~ 431
12. MacRobbie E A C. Fluxes and compartmentation in plant cells. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1971, 22: 75~ 96
13. Belton O S, Lee R B, Ratcliffe R G. A ^{14}N nuclear magnetic resonance study of inorganic nitrogen metabolism in barley, maize and pea roots. *J Exp. Bot.*, 1985, 36: 190~ 210
14. Gerhardt R, Heldt H W. Measurement of subcellular metabolite levels in leaves by fraction of freeze-stopped material in non-aqueous media. *Plant Physiol.*, 1984, 75: 542~ 547
15. Martinoia E, Schramm M J, Kaiser G, et al. Transport of anions in isolated barley vacuoles. I. Permeability to anions and evidence for a Cl^- uptake system. *Plant Physiol.*, 1986, 80: 895~ 901
16. Martinoia E, Schramm M J, Flugge U I, et al. Intracellular distribution of organic and inorganic anions in mesophyll cells: transport mechanisms in the tonoplast. *In: Martin B. ed. Plant Vacuoles—their Importance in Solute Compartmentation in Cells and Their Applications in Plant Biotechnology*. New York: Plenum Press, 1987. 407~ 416
17. Winter H, Robinson D G, Heldt H W. Subcellular volumes and metabolite concentrations in barley leaves. *Planta*, 1993, 191: 180~ 190
18. Winter H, Robinson D G, Heldt H W. Subcellular volumes and metabolite concentrations in spinach leaves. *Planta*, 1994, 193: 530~ 535
19. Walker D J, Smith S J, Miller A J. Simultaneous measurement of intracellular pH and K^+ or NO_3^- in barley root cells using triple-barrelled, ion-selective microelectrodes. *Plant Physiol.*, 1995, 108: 743~ 751
20. Forde B G. Nitrate transporters in plants: Structure, function and regulation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, 1465: 219~ 235
21. Schumaker K S, Sze H. Decrease of pH gradients in tonoplast vesicles by NO_3^- and Cl^- : Evidence for a H^+ -coupled anion transport. *Plant Physiol.*, 1987, 83: 490~ 496
22. McClure P R, Omholt T E, Pace G M, et al. Nitrate-induced changes in protein synthesis and translation of RNA in maize roots. *Plant Physiol.*, 1987, 84: 52~ 57

23. Ni M, Beevers L. Nitrate-induced polypeptides in membranes from corn seedling roots. *J Exp. Bot.*, 1994, 45: 355~ 365
24. Pope A J, Leigh R A. Some characteristics of anion transport at the tonoplast of oat roots, determined from the effects of anions on pyrophosphate-dependent proton pumping. *Planta*, 1987, 172: 91~ 100
25. Tyerman S D. Anion channels in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1992, 43: 351~ 373
26. Blumwald E, Poole R J. Nitrate storage and retrieval in *Beta vulgaris*: effects of nitrate and chloride on proton gradients in tonoplast vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985, 82: 3 683~ 3 687
27. Lew R R, Spanswick R M. Characterization of anion effects on the nitrate sensitive ATP-dependent proton pumping activity of soybean seedling root microsomes. *Plant Physiol.*, 1985, 77: 352~ 357
28. Pope A J, Leigh R. Dissipation of pH gradients in tonoplast vesicles and liposomes by mixtures of acridine orange and anions. *Plant Physiol.*, 1988, 86: 1315~ 1322
29. Miller A J, Smith S J. Nitrate transport and compartmentation in cereal root cells. *J Exp. Bot.*, 1996, 47: 843~ 854
30. 赵利辉, 刘友良. 液泡膜 H^+ -PPase 及其对逆境胁迫的反应. *植物生理学通讯*, 1999, 35(6): 441~ 445
31. 王欢, 王延枝, 董彩华, 等. 大豆液泡膜 H^+ -ATPase 的纯化和重组. *中国生物化学与分子生物学报*, 2000, 16(1): 110~ 115
32. 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. *The Plant Cell*, 1999, 11: 865~ 874
33. Frachisse J M, Colcombet J, Guem J, *et al.* Characterization of a nitrate-permeable channel able to mediate sustained anion efflux in hypocotyl cells from *arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 2000, 21(4): 361~ 371
34. Lejay L, Tillard P, Lepetit M, *et al.* Molecular and functional regulation of two NO_3^- uptake systems by N- and G-status of *Arabidopsis* plants. *The Plant Journal*, 1999, 18(5): 509~ 519
35. Vidmar J J, Zhou D, Siddiqi M Y, *et al.* Isolation and characterization of HvNRT2.3 and HvNRT2.4, cDNAs encoding high-affinity nitrate transporters from roots of barley. *Plant Physiol.*, 2000, 122: 783~ 792

A REVIEW ON THE BEHAVIOR OF NITRATE IN VACUOLES OF PLANTS

Shen Qi-rong¹ Tang Li² Xu Yang-chun¹

(1 College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(2 College of Resources and Environmental Sciences, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Summary

There have been many papers reported on low use efficiency of chemical N fertilizer and its loss leading to environmental pollution but very few ones are found to have advanced achievements. High contents of nitrate in some plants, especially in vegetables and fruits, decrease significantly the qualities of these plants, thus becoming one of the limiting factors for the exporting of the products. Studies on the mechanisms and ways to high use efficiency of N in plant itself have become one of the issues in plant N nutrition in the last a few years. Vacuoles occupy about 90% of the total volume in matured cells of plants and the concentrations of nitrate in vacuoles and cytosol are normally $30\sim 50\text{ mol m}^{-3}$ and $3\sim 5\text{ mol m}^{-3}$, respectively. Therefore, it is one of the ways to increase the N use efficiency and decrease the contents of nitrate in plants that the nitrate in vacuoles are remobilized and reutilized. The present paper reviews the main studies on the behavior of nitrate in vacuoles. The author proposes in the first time that there should be some close relationships between the influx and efflux of nitrate through tonoplasts and N use efficiency in plants. The author also on purpose initiates the research work of this field in China by exposing some issues to be considered.

Key words Vacuole, Nitrate, N use efficiency