

植物氮代谢与氮素利用遗传基础研究进展

胡书婷¹, 王青^{1,2}

(1. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101; 2. 崖州湾国家实验室, 海南 三亚 572024)

摘要: 植物养分高效利用的分子调控机理是植物科学中重大的基础科学问题, 同时也是保障国家粮食安全和生态安全的重要基础。氮元素作为植物生长发育所必需的一类大量营养元素, 是影响作物生长和产量的关键因素。工业革命后, 伴随氮肥在农业生产中的规模化使用, 全球粮食产量逐年稳步提升, 但同时造成土壤酸化板结、水体富营养化、空气污染等系列生态安全问题。近些年, 聚焦植物氮素利用效率调控机制或氮高效育种的理论研究与应用研究逐渐成为国内外科学家的研究热点。植物氮素利用效率是受多种遗传和环境因素互作调控的复杂性状, 涉及到氮素的吸收、转运、同化、再利用等多个代谢过程。文章综述了调控植物氮素吸收与转运、氮素同化、氮素再分配或再利用的关键因子及其分子网络, 重点总结近些年我国植物科学家在解析作物氮素利用效率遗传基础上取得的重要进展, 探讨植物氮素利用效率调控基因在水稻、小麦、玉米等主粮作物氮高效与高产协同育种中的应用潜力。最后, 展望了未来作物高产高效育种设计策略, 强调遗传资源在氮素利用效率改良中的必要性。

关键词: 氮; 氮代谢; 氮素利用效率; 遗传基础; 产量; 作物

中图分类号: Q945.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-2481(2024)06-0001-11

Research Progress on Nitrogen Metabolism and Genetic Basis of Nitrogen Utilization in Plant

HU Shuting¹, WANG Qing^{1,2}

(1. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

2. Yazhouwan National Laboratory, Sanya 572024, China)

Abstract: Molecular regulatory mechanism underlying efficient nutrient utilization in plants is an important subject for theoretical research in plant science, and is also an important foundation to ensure national food security and ecological security. Nitrogen, acting as an essential macronutrient for plant growth and development, is a key factor determining crop growth and production. Along with occurrence of the first Industrial Revolution, a large-scale application of nitrogen fertilizer in agricultural activities led to a gradually and steadily increase of crop yield on a global scale, while posed a serious threat to ecosystem security, such as soil acidification and compaction, anthropogenic eutrophication, and air pollution, etc. Recently, both the theoretical research and applied research focusing on the molecular mechanism of plant nitrogen use efficiency (NUE) or crop NUE improvement during breeding program become hot research topics for scientists around the world. Plant NUE is a complex trait modulated by interactions of various genetic and environmental factors, involving in multiple metabolic processes including uptake, transport, assimilation, and reutilization or remobilization of nitrogen. In this review, the key components and the molecular networks controlling nitrogen uptake and transport, nitrogen assimilation, nitrogen remobilization or reutilization were introduced, recent progresses in elucidating the genetic basis of crop NUE mainly made by Chinese scientists were summarized, and furthermore, the application potential of NUE genes in the program of high-NUE and high-yield synergistic improvement in staple food of rice, wheat, and maize was explored. Finally, strategies for breeding high-yield and high-efficiency cultivars in future were proposed, and the necessity of genetic resources in crop NUE improvement was emphasized.

Key words: nitrogen; nitrogen metabolism; nitrogen use efficiency (NUE); genetic basis; yield; crop

现代农业生产的可持续发展与作物养分利用效率的改良紧密相关。氮元素是植物生长发育所必需的大量营养元素之一, 也是影响作物产量的关

键因素。工业革命之后, 伴随种质资源的创新、栽培管理的优化, 尤其是氮肥在农业生产上的大面积使用, 全球粮食产量得到了稳步提升。然而, 在全

收稿日期: 2024-06-15

基金项目: 国家自然科学基金(32372130); 国家自然科学基金青年基金(32401858)

作者简介: 胡书婷(1992-), 女, 河南商丘人, 助理研究员, 博士, 主要从事大豆氮营养调控机制研究工作。

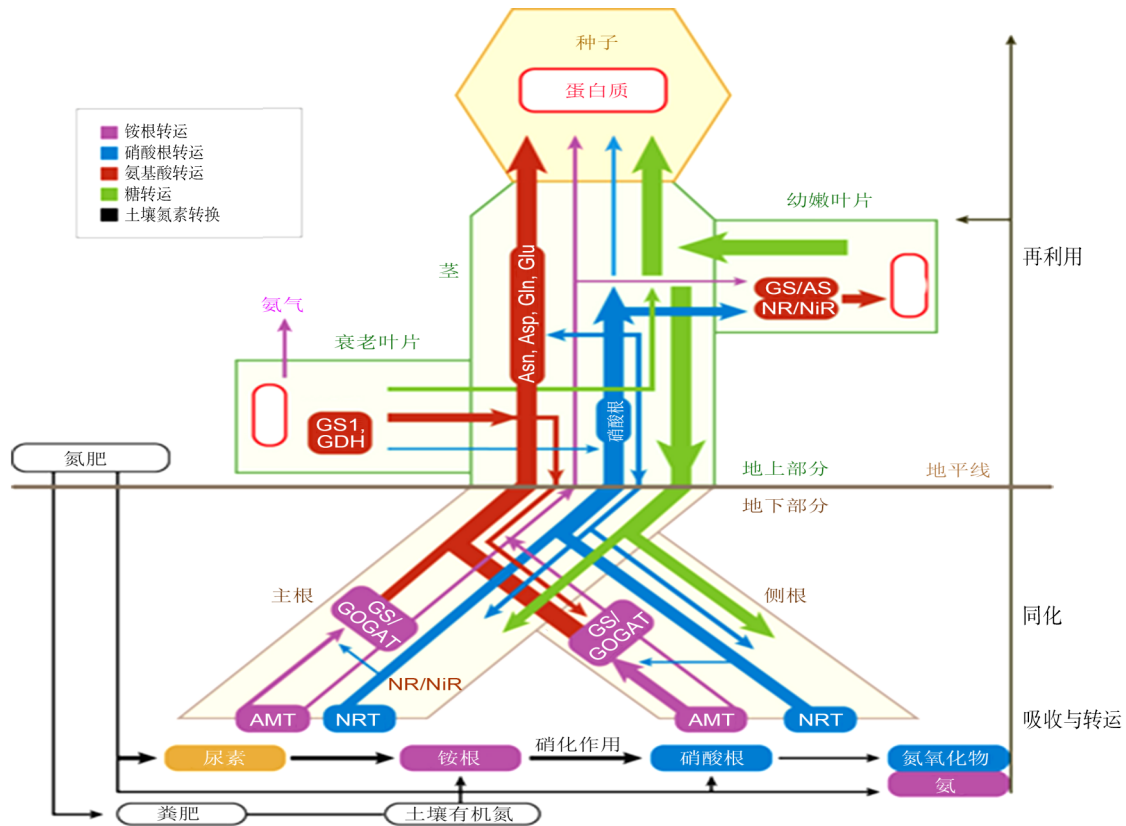
通信作者: 王青(1986-), 男, 山东荣成人, 副研究员, 博士, 主要从事水稻氮营养调控机制与高产高效设计育种研究工作。

球极端天气变化、农业耕地质量退化等背景下,现代作物品种过度依赖氮肥带来的增产、稳产效应,将会面临愈加严峻的挑战,培育氮高效品种是应对此系列问题的根本策略。因此,由国际水稻、小麦、玉米研究中心等组成的国际农业研究磋商组织提出了通过改良养分利用效率以提高作物产量为目标的第二次绿色革命^[1]。现阶段,我国耕地普遍存在土壤氮沉积量偏高的问题,过量使用化肥造成的负面效应日益突出,如何依靠科技力量推动农业生产减肥增效、挖掘氮素利用效率(Nitrogen use efficiency, NUE)调控网络并培育氮高效品种,是我国农业可持续发展亟待解决的一个科学问题。因此,本文将综述植物氮代谢与氮素利用遗传基础的最新研究进展,以期为推动我国农业可持续发展提

供新思路。

1 植物氮代谢调控网络

植物、动物和人类体内氮素的最初来源,几乎全部来自于土壤。植物从土壤中获取氮素主要包括3个过程,即氮素吸收与转运、氮素同化以及氮素再分配或再利用(图1)^[2-3]。相应地,植物氮素利用效率主要包括氮素吸收效率(Nitrogen uptake efficiency, NUpE)、氮素同化效率(Nitrogen assimilation efficiency, NAE)、氮素再利用效率(Nitrogen remobilization efficiency, NRE)等,受多种遗传因子、环境因素及其互作的调控。其中, NUpE 和 NAE 是影响农作物 NUE 的 2 个主要因素。



植物从土壤中获取氮素的途径主要包括:硝态氮或铵态氮的吸收、氮素的转运和同化以及氮素的再分配或再利用。箭头粗细指示植物体内氮素或糖的相对含量。缩略词:AMT,铵根转运蛋白;AS,天冬酰胺合成酶;Asn,天冬酰胺;Asp,天冬氨酸;GDH,谷氨酸脱氢酶;Gln,谷氨酰胺;Glu,谷氨酸;GOGAT,谷氨酸合酶;GS,谷氨酰胺合成酶;NiR,亚硝酸根还原酶;NR,硝酸根还原酶;NRT,硝酸根转运蛋白

Schematic routes of nitrogen uptake from soil for plants included absorption of ammonium and nitrate nitrogen, transportation, assimilation, and remobilization or reutilization of nitrogen. The thicknesses of the arrows schematically represented the relative amounts of nitrogen or sugar inside the plant. Abbreviations: AMT, ammonium transporter; AS, asparagine synthetase; Asn, asparagine; Asp, aspartate; GDH, glutamate dehydrogenase; Gln, glutamine; Glu, glutamate; GOGAT, glutamine-2-oxoglutarate aminotransferase; GS, glutamine synthetase; NiR, nitrite reductase; NR, nitrate reductase; NRT, nitrate transporter

图1 植物氮代谢分子调控网络
Fig.1 Molecular regulatory network of plant nitrogen metabolism

1.1 氮素吸收与转运

植物吸收与转运无机氮源的主要形式是硝酸

根离子和铵根离子^[4]。一般认为,富氧型土壤中无机氮源的主要形式是硝酸根离子,而水田、湿地或

酸性土壤中无机氮的主要形式是铵根离子。因此,生长在氧化态土壤(如旱田等富氧环境)中的植物偏好吸收硝酸根离子,而生长在还原态土壤(如沼泽或水田缺氧环境)中的植物偏好吸收铵根离子或氨基酸^[5]。根系周围的无机氮源除具有上述异质性特征外,还呈现波动性特征(根系周围的氮浓度通常为 100 $\mu\text{mol/L}$ ~10 mmol/L),植物因此演化出亲和性不同的氮素转运系统,即高亲和性转运系统和低亲和性转运系统^[6]。植物吸收土壤无机氮主要通过根中定位于细胞膜上的铵根转运蛋白(Ammonium transporter, AMT)和硝酸根转运蛋白(Nitrate transporter, NRT)协同完成^[7]。水稻吸收转运的无机氮源主要是铵根离子。此外,水稻根部通气组织能够向根系周围释放氧气,促使根表面铵根离子发生硝化作用而生成硝酸根离子。因此,硝酸根离子也是水稻吸收无机氮源的一种重要形式。

1.1.1 铵根吸收和转运 铵根离子的吸收转运主要由定位在细胞膜上的 AMT 家族成员完成。利用酵母突变菌株功能异源互补等方法,高等植物中编码 AMT 蛋白的基因相继被克隆。模式植物拟南芥基因组包含 6 个 *AtAMTs*^[8], *AtAMT1;1* 主要在根表皮、皮层、中柱鞘及地上部分表达,其表达受低氮强烈诱导; *AtAMT1;2* 主要在根内皮层细胞和地上部分组成性表达; *AtAMT1;3* 在根表皮和皮层细胞特异表达,其表达受低氮轻微诱导; *AtAMT1;4* 在花粉粒中特异表达; *AtAMT1;5* 和 *AtAMT2;1* 主要在根维管束、皮层细胞、根尖和地上部分表达,其在根中的表达受低氮诱导。研究表明,拟南芥 *AtAMTs* 家族成员的基因表达量普遍受氮源、光合作用产物及昼夜节律等环境因素调控。

水稻 AMT 家族包括至少 12 个成员,构成 4 个亚家族,分别为 *OsAMT1*、*OsAMT2*、*OsAMT3* 和 *OsAMT4*。 *OsAMT1* 亚家族基因编码高亲和性铵根转运蛋白,而其他 3 个亚家族基因编码低亲和性铵根转运蛋白。 *OsAMT* 家族部分成员的生化功能已被详细阐明。 *OsAMT1* 亚家族包含 3 个基因序列与其他物种高度保守的成员: *OsAMT1;1*、*OsAMT1;2* 和 *OsAMT1;3*^[9]。 *OsAMT1;1* 在地上部分组成性表达且在根中受铵根离子诱导表达,其转录丰度相对较高; *OsAMT1;2* 在根中特异表达且其表达量受铵根离子诱导; *OsAMT1;3* 在根中特异表达但其表达量受铵根离子抑制,目前认为其可能协同 *OsAMT1;1* 调控低氮生长条件下铵根离子的吸收与转运。此外, *OsAMT2* 在根和地上部(如叶子、

叶鞘等)表达且其表达量不受外界氮源调控,而 *OsAMT3* 的表达水平相对较低。有研究发现,在野生稻驯化到栽培稻的过程中, *OsAMT1;1* 的核苷酸多态性指数显著降低,暗示 *OsAMT1;1* 在水稻驯化过程中经历过一定程度的人工选择^[10]。 AMT 家族蛋白通常以同源或异源多聚体的形式发挥生物学功能。外源高浓度铵根引起 AMT 蛋白发生磷酸化修饰和构象变化,植物根据 AMT 蛋白的构象变化调控铵根的吸收速率。目前认为, AMT 家族成员的转运活性对水稻氮素吸收效率的高低起着直接决定作用。

1.1.2 硝酸根吸收和转运 高等植物吸收、转运和分配硝酸根离子主要由定位在细胞膜上的 NRT 和离子通道蛋白介导完成,其中包括硝酸根/多肽转运蛋白(Nitrate transporter1/Peptide transporter, NRT1/PTR)、硝酸根转运蛋白 NRT2、氯离子通道(Chloride channels, CLCs)和阴离子通道(Slow type anion channels, SLAC/SLAHs)四个蛋白家族^[11-12]。植物 NRT1/PTR 家族转运底物的特异性较差,近期被统一命名为 NPF 家族。拟南芥 NPF 家族包含 53 个成员(水稻包含至少 80 个成员),主要发挥转运硝酸根或多肽的生物学功能。除了 NRT1.1/CHL1 和 NRT1.3 属双亲和性硝酸根转运蛋白,大多数 NPF 蛋白家族成员属低亲和性硝酸根转运蛋白^[8]。 Chlorate resistant 1(CHL1)是植物中第一个被鉴定到的 NPF 蛋白家族成员,其在细菌、真菌和动物中的同源蛋白均具有转运多肽的生物学功能。拟南芥 NRT2 家族包含 7 个成员(水稻包含至少 5 个成员),且以硝酸根作为唯一转运底物^[13]。其中, NRT2.1、NRT2.2 和 NRT2.4 属高亲和性硝酸根转运蛋白。除 NRT2.7 外,其他 NRT2 家族成员均需要伴侣蛋白 NRT3.1/NAR2 辅助其发挥硝酸根转运功能。 CLC 蛋白家族成员主要以 SLAC1/SLAH 或阴离子质子交换器的形式发挥硝酸根转运功能。拟南芥 CLC 蛋白家族含有 7 个成员,其中 CLCa 和 CLCb 蛋白定位于液泡膜上,具有比转运氯离子更高的硝酸根转运活性,调控硝酸根由细胞质向液泡内的定向转运^[14]。 SLAC1/SLAH 蛋白家族主要以阴离子通道的形式发挥生物学功能,其在拟南芥中含有 5 个成员,其中, SLAC1 和 SLAH3 具有硝酸根转运活性^[15-16]。已有研究表明,转录调控对硝酸根转运蛋白的转运活性影响较大, *NRT1.1/CHL1* 和 *NRT2.1* 的转录丰度受外源硝酸根或铵根浓度、氮饥饿处理、昼夜节律等环境因素调控。硝

酸根转运蛋白家族不同成员对植物硝酸根吸收效率的贡献,与植物所处生长发育阶段及植物内源氮素水平紧密相关。

1.1.3 硝酸根分配 驱动植物氮代谢通路的还原力主要来自地上部分光合器官,因此,根吸收而来的硝酸根往往被转运到地上部分后同化为有机氮。根中硝酸根在木质部转运是植物体内硝酸根分配的关键环节,拟南芥硝酸根转运蛋白 NRT1.5、NRT1.8 和 NRT1.9 协同调控该过程。NRT1.5 定位于中柱鞘细胞的细胞膜上,转运中柱鞘细胞中的硝酸根至木质部内,发挥木质部硝酸根装载的生物学功能^[17]。NRT1.8 定位于木质部薄壁细胞的细胞膜上,转运木质部硝酸根至中柱鞘细胞内,发挥木质部硝酸根卸载的生物学功能^[18]。NRT1.9 定位于韧皮部伴胞的细胞膜上,调控韧皮部硝酸根向下转运,抑制硝酸根被过量转运至地上部分^[19]。

植物叶片中由根转运而来的硝酸根,在细胞质和叶绿体中同化为有机氮或储存在液泡中。叶柄是植物储存硝酸根的主要器官,叶柄硝酸根含量往往被作为一些农作物氮肥需求的一个指标。拟南芥 NRT1.4 定位于叶柄中,调控同一叶片中硝酸根的分配^[20]。NRT1.7 定位于叶片小维管束韧皮部,参与调控衰老叶片维管束硝酸根的装载和幼嫩叶片维管束硝酸根的再分配^[21]。此外,NRT2.4 定位于叶片韧皮部薄壁细胞中,协同调控低氮生长条件下衰老叶片中的硝酸根转运^[22]。目前认为,由蒸腾作用驱动的木质部硝酸根转运介导硝酸根的长距离分配,而由离子渗透压驱动的韧皮部硝酸根转运介导硝酸根的局部分配。

1.2 氮素同化

直接由 AMT 吸收而来或间接由硝酸根/亚硝酸根还原酶(Nitrate/nitrite reductase, NR/NiR)还原而来的铵根离子经过谷氨酰胺合成酶/谷氨酸合酶(Glutamine synthetase/Glutamine-2-oxoglutarate aminotransferase, GS/GOGAT)循环被同化为谷氨酰胺和谷氨酸(图 1),是植物体内无机氮的主要储存形式和氨基酸的最初来源。研究表明,GS/GOGAT 循环催化 1 分子铵根离子最终合成 1 分子谷氨酸,是植物氮素同化过程的关键环节^[23]。植物中的 GS 主要包括 2 类同工酶:定位于细胞质中的 GS1 和定位于质体中的 GS2。与其他物种类似,水稻中编码 GS1 的一个小基因家族已被鉴定,包括 *OsGS1;1*、*OsGS1;2* 和 *OsGS1;3*。*GS1;1* 主要定位于成熟叶片的维管束中,*OsGS1;1* 在各个器官组成性

表达,叶片中的表达量相对较高。*GS1;2* 在根中含量和活性最高,*OsGS1;2* 是公认的根中同化无机氮的关键基因。*OsGS1;3* 在小穗中特异表达。*OsGS1;2* 和 *OsGS1;3* 不能互补 *OsGS1;1* 功能缺失型突变体的表型,表明 *OsGS1* 家族成员具有不同的生物学功能。*GS2* 主要协同依赖还原态铁氧还蛋白(Ferredoxin, Fd)提供还原力的 Fd-GOGAT 同化叶片中经光呼吸途径释放的氨。植物中的 GOGAT 主要以 2 种类型存在:一类是 Fd-GOGAT,另一类是依赖还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(Nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)提供还原力的 NADH-GOGAT。Fd-GOGAT 定位于叶绿体基质中,主要在绿色组织中特异表达。通过对 *AtFd-GOGAT* 功能缺失型突变体的研究,科学家们发现 Fd-GOGAT 主要参与同化光呼吸途径损失的氨气。NADH-GOGAT 定位于细胞质或根等非光合器官的质体中,水稻中该酶由功能分化的 2 个基因 *OsNADH-GOGAT1* 和 *OsNADH-GOGAT2* 编码。*OsNADH-GOGAT1* 主要在发育旺盛的根尖、新叶或幼穗等器官中表达,且其根中表达量受外源谷氨酰胺诱导,表明 NADH-GOGAT1 主要参与水稻根中以及衰老器官转运至幼嫩器官中的氮素同化过程。与 *NADH-GOGAT1* 相对应,*NADH-GOGAT2* 主要在水稻成熟叶片和叶鞘中表达,对其功能研究的报道相对较少。目前认为,植物体内 GS/GOGAT 循环同化无机氮的主要参与成员分别是叶片中定位于质体中的 GS2 和 Fd-GOGAT 以及根中定位于细胞质的 GS1 和 NADH-GOGAT1。

除 GS/GOGAT 循环外,天冬酰胺合成酶(Asparagine synthetase, AS)、依赖 NADH 提供还原力的谷氨酸脱氢酶(Glutamate dehydrogenase, GDH)以及氨甲酰基磷酸合成酶(Carbamoyl-phosphate synthase, CPSase)协同参与催化植物体内氨的同化过程。细胞质定位的 AS 能够催化谷氨酰胺的氨基转移至天冬氨酸上,合成天冬酰胺和谷氨酸。高氮碳比的天冬酰胺是植物体内无机氮储存和长距离运输的重要形式(图 1)。线粒体定位的 NADH-GDH 通常催化谷氨酸进行脱氨基作用。但当植物处于逆境生长条件下,NADH-GDH 能够选择性地催化氨固定到 α -酮戊二酸上,生成谷氨酸^[24]。高等植物体内同化的天冬氨酸,能够在天冬氨酸氨基转移酶(Aspartate aminotransferase, AspAT)的作用下发生转氨基作用生成谷氨酸,不同植物 AspAT

同工酶具有不同的组织和亚细胞定位。此外,定位于质体中的CPSase能够催化重碳酸盐和氨发生反应,生成瓜氨酸和精氨酸的前体氨甲酰磷酸。拟南芥基因组包含5个 $AtAspAT$ 基因,其分别编码线粒体、叶绿体、过氧化物酶体以及细胞质定位的AspAT酶^[25]。已有研究表明,细胞质和线粒体定位的AspAT的表达受氮源诱导,而叶绿体定位的AspAT表达不受其诱导。

1.3 氮素再利用

植物生长发育期间,新陈代谢活动往往会损失体内已同化的部分氮素。例如,当植物由营养生长进入生殖生长阶段,叶片等衰老器官进行蛋白质降解或氨基酸脱氨基作用,以及体内的甲硫氨酸、异亮氨酸、木质素等生物合成途径,这些生物学过程往往会释放出大量 NH_3 (图1)。此外,当植物处于高光、高氧或低 CO_2 等胁迫生长条件下,1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶的氧化活性升高,植物进行光呼吸并释放大量 CO_2 和 NH_3 ^[26]。据报道, C_3 植物光呼吸途径释放的 NH_3 量相当于其初级氮代谢同化氨的近10倍^[27]。因此,为了高效地利用由土壤吸收而来的氮,植物能够将上述生命活动释放的 NH_3 再次同化为谷氨酰胺和谷氨酸,这一现象被称为氮素的再利用。通常来说,谷氨酰胺和天冬酰胺是植物氮素再利用过程中氮素长距离运输的主要形式。氮素再利用过程伴随植物的整个生长发育周期,包括2个关键时期:一是幼苗期,种子子叶或胚乳中的储存蛋白分解后,根中AS、GS1和NADH-GOGAT等酶催化合成谷氨酰胺或天冬酰胺并转

运至地上部分再次利用;一是成熟期,衰老叶片中的蛋白质分解后,叶片中GS2、Fd-GOGAT、GDH等酶催化合成谷氨酰胺或天冬酰胺并转运至新叶或种子中再次利用(图1)。研究表明,玉米等单子叶植物灌浆期间,旗叶的衰老速率与种子含氮量的高低呈正相关,是影响氮素再利用效率的重要因素。植物成熟期谷氨酰胺的生物合成效率是影响氮素再利用的重要环节,其包括2条空间相对独立的途径:一条是线粒体GDH和细胞质GS1催化的老叶合成途径(图1);另一条是质体GS2/Fd-GOGAT和细胞质GS1/NADH-GOGAT催化的新叶合成途径。氮素再利用过程促进植物体内营养元素转移至种子,是影响农作物产量和品质建成的生物学过程。

2 植物氮素利用效率

工业革命之后,随着商品化肥的大规模生产和使用,全球粮食产量显著增长。据估计,在未来40 a,农业化肥施用量需增加近3倍才能满足持续增长的人口和消费需求^[28]。提高农作物NUE是降低农业生产成本和解决消费需求的根本策略,培育氮高效作物的首要前提是建立明确的氮素利用效率测定方法。针对不同作物或研究目的,科学家建立了评价植物NUE的多种方法和计算公式,包括氮素利用指数(Nitrogen usage index, NUI)、 NU_{pE} 、NAE、农学利用率(Agronomic efficiency, AE)、表观利用率(Apparent nitrogen recovery, AR)和生理效率(Physiological efficiency, PE)等(表1)。

表1 植物氮素利用效率的定义与计算公式
Tab.1 Definitions and formulae used to describe nitrogen use efficiency in plants

名称 Term	公式 Formula	注释 Definition	参考文献 References
氮素利用效率 Nitrogen use efficiency	$NUE = Sw/N$	不考虑生物量的增加	[29]
氮素利用指数 Nitrogen usage index	$NUI = Sw \times (Sw/N)$	考虑生物量的增加	[30]
氮素利用效率(产量) Nitrogen use efficiency (yield)	$NUE = Gw/Ns$	反映氮肥的增产效应	[31]
氮素吸收效率 Nitrogen uptake efficiency	$NU_{pE} = Nt/Ns$	反映根系吸收环境氮素的效率	[31]
氮素同化效率 Nitrogen assimilation efficiency	$NAE = Gw/Nt$	反映植物总氮转化至种子氮的比例	[31]
农学利用率 Agronomic efficiency	$AE = (Gw_F - Gw_C)/N_F$	反映施氮量转化为产量的效率	[32]
表观利用率 Apparent nitrogen recovery	$AR = (N_{FU} - N_{CU})/N_F \times 100$	反映植物捕获土壤中氮的效率	[32]
生理效率 Physiological efficiency	$PE = (Gw_F - Gw_C)/(N_{FU} - N_{CU})$	反映植物总氮转化为产量的效率	[32]

注:AE,农学利用率;AR,表观利用率;Gw,产量;Gw_C,产量(不施肥,对照);Gw_F,产量(施肥);N,地上部总氮量;N_{CU},植物总氮量(不施肥,对照);N_F,氮肥施用量;N_{FU},植物总氮量(施肥);Ns,施氮量(g/株);Nt,植株总氮量;NUE,氮素利用效率;NUI,氮素利用指数;NU_{pE},氮素吸收效率;NAE,氮素同化效率;PE,生理效率;Sw,地上部生物量。

Note: AE, agronomic efficiency; AR, apparent nitrogen recovery; Gw, grain weight; Gw_C, grain weight of unfertilized control; Gw_F, grain weight with fertilizer; N, nitrogen in shoots; N_{CU}, plant total nitrogen (no fertilizer, control); N_F, nitrogen fertilizer applied; N_{FU}, plant total nitrogen (fertilizer); Ns, nitrogen supply (g per plant); Nt, total nitrogen in plant; NUE, nitrogen use efficiency; NUI, nitrogen usage index; NU_{pE}, nitrogen uptake efficiency; NAE, nitrogen assimilation efficiency; PE, physiological efficiency; Sw, shoot weight.

其中, NUE 主要由 NUpE 和 NAE 共同决定。如何选择利用这些公式评估作物利用氮素的能力, 主要取决于作物种类、收获性状、研究目的(如某个特定的生理过程)等。例如, NUE(产量)反映了外源氮肥对作物增产的贡献, 由产量与施氮量的比值计算而来; NUpE 反映了根系从土壤中捕获氮素的能力, 由植物总氮含量与外源施氮量的比值计算而来; NAE 反映了植物获取外源氮素并转化为产量的能力, 由产量与植物总氮含量的比值计算而来。值得指出的是, 由于施加到土壤中的氮肥受土壤微生物活动、土壤类型以及土壤和植物损失气态氮等多种因素影响, 现阶段很难精确计算植物可获得的氮肥总量或植物实际吸收的氮肥总量。

2.1 氮素吸收效率

提高作物 NUpE 可有效减少因土壤氮素过度流失造成的环境污染。作物根冠形态结构和氮素转运蛋白活性是影响 NUpE 的 2 个主要因素。研究表明^[33-34], 铵态氮促进侧根起始而硝态氮促进侧根伸长, 暗示通过合理施肥控制作物根冠形态是改良 NUpE 的有效途径之一。研究表明^[35], 生长素信号通路中一个 F-box 蛋白编码基因 *AFB3* 的表达受硝酸根诱导, 调控根冠形态。NRT1.1/CHL1 通过感知外源硝酸根并激活 MADS-box 类转录因子 ANR1 介导的硝酸根信号通路, 调控硝酸根诱导的侧根伸长^[33]。此外, 铵根转运蛋白 AMT1;3 和 GDP 甘露糖焦磷酸酶 GMPase 在铵态氮诱导的根形态建成过程中发挥重要生物学功能^[34, 36]。通过基因工程修饰上述遗传因子以改良根冠形态结构, 为提高农作物 NUpE 提供了有效的切入点。

植物硝酸根离子的吸收与转运主要由 NRT1、NRT2 和 CLC 蛋白家族完成^[37]。NRT 家族基因表达量由硝酸根、氮代谢物、碳源、昼夜节律、pH 值等环境因素及其上游转录调控因子的活性决定。2 类硝酸根离子诱导型激酶 CIPK8 和 CIPK23, 通过改变 AtNRT1.1 转运活性调控了拟南芥氮素吸收效率。由于 NRT 家族成员的数目和结构在单子叶与双子叶植物间显著不同, 仅仅通过序列比对确定单子叶植物 NRT 家族的功能还有待商榷。例如, 与拟南芥不同, 水稻硝酸根转运伴侣蛋白 OsNAR2.1 同时在转录水平和蛋白水平与 OsNRT2.1、OsNRT2.2 和 OsNRT2.3a 互作。因此, 通过遗传修饰操控 *At-NRT* 或其调控因子在单子叶植物中的同源基因, 不一定能有效改良水稻、小麦、玉米等单子叶主粮作物的氮素吸收效率。相比偏好吸收硝态氮的农

作物, 偏好吸收铵态氮的农作物 NUpE 高低主要由 AMTs 活性决定。AMT 多聚体在细胞膜上的空间构象变化受蛋白质磷酸化修饰调控, 决定了 AMTs 转运土壤铵根离子的效率。当植物处于高浓度铵态氮土壤环境中, AMTs 蛋白 C 端保守的苏氨酸被磷酸化修饰而发生空间构象变化, 关闭三聚体离子通道, 从而避免体内铵态氮的过度积累。OsAMT1;1 的一个等位变异在水稻驯化过程中被栽培稻固定, 暗示挖掘野生稻中 OsAMT1;1 的其他等位变异或许能为改良水稻 NUpE 提供有效的遗传资源。此外, 尿素是农业生产过程中施用氮肥的主要形式, 混合施用尿素酶可有效阻止或降低土壤尿素流失。细胞膜定位的尿素转运蛋白 MIPs 和 DUR3 分别调控了低亲和性和高亲和性尿素转运过程, 暗示通过遗传修饰改变尿素转运活性亦是改良农作物 NUpE 的有效策略之一。

2.2 氮素同化效率

植物吸收的硝态氮先后经由细胞质定位的 NR 和质体定位的 NiR 还原为铵态氮(图 1)。NR 编码基因的表达受硝酸根诱导而被氨基酸和碳缺乏抑制, 其酶活性受蛋白质降解及蛋白磷酸化修饰调控^[38]。GS/GOGAT 循环是高等植物体内同化铵态氮的关键步骤, 很多学者致力于阐明该循环的分子调控机制^[39]。GS 催化谷氨酸和氨合成谷氨酰胺, 包括细胞质定位的 GS1 和质体定位的 GS2。增加 GS 活性可显著增加植物对氮素的利用效率, 对植物的生长发育及产量形成具有重要作用。GS1 主要参与同化植物根吸收而来的初级铵态氮, GS2 主要参与同化叶片光呼吸或亚硝酸根还原产生的氨, 其编码基因在水稻和拟南芥基因组中均只有一个拷贝。GOGAT 催化谷氨酰胺和 α -酮戊二酸反应生成谷氨酸, 包括 2 个功能分化的成员 Fd-GOGAT 和 NADH-GOGAT。Fd-GOGAT 同化光呼吸途径释放的氨气, 而 NADH-GOGAT 同化非光合器官中的铵态氮^[40-41]。大量研究表明, 氮代谢过程中催化无机氮同化相关酶活性高低是影响高等植物氮素同化效率的重要因素。例如, 过量表达 *GS1* 显著增加转基因植物 GS1 酶活性、植株鲜质量和干质量、叶片总蛋白含量及单株产量^[42-46], 表明增加 GS1 酶活性是改良氮素同化效率的有效途径。过量表达 *NADH-GOGAT1* 的转基因水稻粒质量增加近 80%^[47], 表明 NADH-GOGAT1 是影响水稻等单子叶植物氮素同化效率与种子灌浆速率的关键组分。GS/GOGAT 循环是影响植物氮素同化效率的关

键步骤,通过遗传修饰其下游基因而改良氮素同化效率亦有报道。例如,过量表达天冬酰胺合成酶基因 *AtASN1* 的拟南芥种子中蛋白含量增加;过量表达 *GDH* 的烟草生物量增加;过量表达天冬酰胺氨基转移酶基因 *AspAT* 的烟草中编码磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (Phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC) 的基因表达量增加^[48-50],表明氮同化下游代谢基因的遗传修饰亦可作为改良作物氮素同化效率的一种潜在方法。

2.3 氮素再利用效率

植物衰老期间,一些编码 *GS1*、*GDH*、*AS* 酶等氮代谢组分的基因被强烈诱导表达,老叶中的蛋白质发生降解并以氨基酸的形式转运至种子,为种子提供95%以上的氮素。水稻 *GS1* 催化老叶中谷氨酰胺的合成,叶片衰老诱导 *OsGS1;1* 上调表达,促进谷氨酰胺大量合成并加载至维管束,最终转运至嫩叶中再利用^[51]。嫩叶氮素的同化和再利用主要发生在叶绿体中,由 *GS2* 和 *Fd-GOGAT* 2 个关键酶催化完成。衰老诱导 *AtASN1* 上调表达,促进衰老叶片中的氮转运至嫩叶中,同时增加种子氨基酸含量。此外,氨基酸渗透酶 (Amino acid permease, AAP) 蛋白家族促进衰老叶片氨基酸加载至韧皮部,参与调控衰老期间氨基酸由源向库的转运。*AtAAP2* 调控木质部氨基酸加载至韧皮部,提高种子氮含量和产量^[52]。*AtAAP6* 主要在木质部薄壁细胞表达, *ataap6* 突变体韧皮部中氨基酸含量显著降低,暗示 *AAP6* 协同调控木质部氨基酸运载至韧皮部的过程^[53]。*AAP1* 主要参与种子氨基酸的转运过程,过量表达 *AAP1* 增加种子蛋白含量和粒质量^[54]。目前的研究表明,氨基酸转运蛋白活性受光照、温度、氮源、病原菌、衰老等环境因素和发育进程调控,且其调控主要基于转录水平,而氨基酸转运蛋白转运氨基酸的分子机制尚不清楚。但是,过量表达拟南芥功能未知基因 *GDU1* 可非选择性促进各种氨基酸外运出细胞,其可能发挥分子伴侣的作用^[55]。据报道,过量表达丙酮酸磷酸双激酶 (Pyruvate orthophosphate dikinase, PPK) 基因可加速叶片氮转运,促进莲座叶生长速率,提高种子含氮量和粒质量,表明 *PPDK* 可能成为改良作物氮素再利用效率的一个靶点^[56]。

3 水稻氮素利用的遗传基础

3.1 水稻亚群间 NUE 分化及其环境适应性的遗传基础

众所周知,与动物相比,植物最大的特点是具

有固着性,无法通过移动及时躲避逆境。为适应复杂多变的生存环境,植物演化出适应不同生存环境的亚群。以水稻为例,野生稻被人类驯化后,逐渐演化出籼稻和粳稻 2 个亚群。通常来说,籼稻的耐贫瘠性强而抗寒性较弱,粳稻的耐贫瘠性弱而抗寒性较强。为阐明调控籼粳稻不同环境适应性的分子机制,植物科学家通过构建籼粳稻染色体片段代换系,发现硝酸盐转运蛋白基因 *NRT1.1B* 的自然变异是介导籼粳稻氮素利用效率分化的分子基础,籼稻型 *NRT1.1B* 等位基因对提高水稻氮素利用具有更好的应用前景^[57]。进一步研究发现,籼稻型 *NRT1.1B* 增强氮代谢相关微生物种群在根系富集,促进局部有机氮转化为无机氮,从而提升水稻 NUE^[58]。采取类似的研究策略,植物科学家发现, *OsNR2* 在籼稻和粳稻间产生分化,籼型 *OsNR2* 比粳型 *OsNR2* 具有更高的硝酸根还原酶活性。*OsNRT1.1B* 和 *OsNR2* 分别编码硝酸根转运蛋白和硝酸根还原酶,它们的籼稻型等位基因通常具有较高的氮素利用效率和增产潜力^[59]。此外, *ABC1 REPRESSOR1 (ARE1)* 编码一个功能未知蛋白,籼稻型 *ARE1* 启动子区的小片段 DNA 插入通过抑制其基因表达而正调控氮素利用效率和水稻产量^[60]。利用全基因组关联分析方法,科研人员发现 *TCP/TB1* 转录因子家族成员基因 *OsTCP19* 是控制水稻适应不同土壤氮素环境的关键基因^[61]。启动子区含有 InDel 缺失突变型 *OsTCP19* 主要在低氮稻区的品种中携带,该突变增强氮响应转录抑制子 *OsLBD* 对 *OsTCP19* 启动子的高效结合,从而解除 *OsTCP19* 对分蘖促进基因 *DLT* 的转录抑制效应,促进氮素介导的分蘖形成过程。上述基因的功能解析,揭示了水稻亚群氮素利用效率分化及其适应土壤氮素环境变化的分子机制,为粳稻氮高效育种提供了重要遗传资源。

3.2 赤霉素信号偶联调控水稻氮素利用

水稻育种先后经历了矮化育种、杂交育种、分子育种、设计育种和智能育种阶段^[62]。其中,矮化育种迅速提升了水稻的抗倒伏能力和产量,被誉为作物的“绿色革命”。水稻矮化育种的实现得益于系列突变型半矮秆基因 *sd1* 的应用, *SD1* 编码一个催化植物激素赤霉素 (Gibberellins, GA) 生物合成的关键酶^[63]。在植物体内,GA 与受体 *GID1* 结合后,促进下游生长抑制因子 *DELLA* 蛋白通过泛素/26S 蛋白酶体途径降解,从而解除 *DELLA* 蛋白对植物生长的抑制作用,促进植物增高。虽然 GA

合成受阻增强了水稻抗倒伏能力和收获指数,但同时降低了矮化品种的氮素利用效率。我国植物科学家对多个转录因子的功能解析,发现了GA信号通路协同调控水稻生长与氮代谢的新机制。其中,水稻转录因子GROWTH-REGULATING FACTOR 4(GRF4)是调控氮碳代谢平衡的关键因子^[64]。GRF4与互作因子GIF1形成复合体后,可激活多个氮碳同化关键基因的转录,而矮化品种中DELLA蛋白的大量积累抑制了GRF4-GIF1复合体的形成,从而降低其NUE(图2)^[65]。此外,水稻中一个含有APETALA2结构域的转录因子NITROGEN-MEDIATED TILLER GROWTH RESPONSE 5(NGR5)是介导氮素调控分蘖形成的关键因子^[66]。NGR5可招募转甲基酶复合物PRC2促进组蛋白H3K27me3甲基化修饰水平,抑制分枝抑制基因的表达;而NGR5蛋白自身是赤霉素受体GID1介导的26S蛋白酶途径的底物之一,DELLA蛋白通过竞争性抑制GID1与NGR5的互作,释放NGR5活性并促进分蘖的发生(图2)。转录因子GRF4和NGR5的功能解析,揭示了赤霉素信号通路偶联调控植物氮碳平衡代谢的新机制,对培育水稻氮高效与高产协同品种具有重要启示。

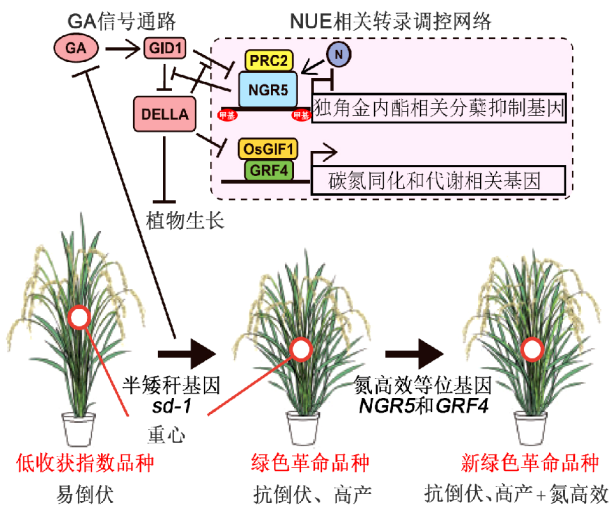


图2 转录因子GRF4和NGR5偶联GA信号调控水稻氮素利用效率

Fig.2 Transcription factors GRF4 and NGR5 modulate rice NUE coupled with GA signaling

此外,我国植物科学家近些年先后鉴定到多个有望协同改良水稻氮素利用效率和产量的基因或分子模块,包括DEP1、GRF4-MYB61、NAC42-OsNPF6.1、Nhd1、DNR1、RNR10等^[67-72],这些基因的优异等位变异实现了低氮生长条件下的增产、稳产,为作物减肥增效的分子设计提供了重要的

遗传资源。

4 小麦氮素利用的遗传基础

小麦中转录因子编码基因TaNAC2-5A可调控氮代谢通路基因的表达,过量表达TaNAC2-5A促进根的生长和硝酸盐吸收速率,提高了小麦产量和氮素利用率^[73]。小麦中转录因子TaWabi5在ABA介导下可转录激活NRT2/NAR2的表达,在低氮生长条件下促进小麦对硝酸盐的吸收^[74]。研究人员利用基因编辑技术对OsARE1在小麦中的同源基因TaARE1进行定点编辑,获得了TaARE1优异变异的系列小麦are1材料,与对照相比,它们均呈现出晚衰表型,在低氮环境下增产3%~8%,表明在亲缘关系相近的作物中靶向编辑NUE同源基因是改良作物NUE和提升产量的有效方法^[75]。研究人员通过QTL定位方法鉴定到了一个包含TREE结构域的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶糖原合酶的候选基因TaSRN-3D,其中,根系更为发达的近等基因系材料可以提高植物对硝酸盐的吸收水平^[76]。此外,研究团队通过基因组学方法,以氮高效小麦品种科农9204为研究材料,系统鉴定了小麦中的氮素吸收与代谢相关基因,发现根系形态建成与营养吸收相关基因的富集表达是科农9204氮高效形成的主要原因,该研究为培育氮高效小麦品种提供了丰富的基因资源^[77]。

5 玉米氮素利用的遗传基础

玉米中的ZmNPF7.9编码一种低亲和力的双向硝酸盐转运蛋白,在玉米籽粒的基底胚乳转移层中特异表达,其通过调节营养物质的运输在种子发育和粒质量建成中发挥作用。与此相吻合,其基因突变导致胚乳发育异常,种子百粒质量降低约60%^[78]。此外,氮响应转录因子ZmNLP5可调控ZmNIR1.1的表达,其编码基因主要在根尖表达,可增加玉米对氮素的吸收利用,具有增加玉米氮素利用和减少土壤氮素流失的应用潜力^[79]。科研人员从玉米祖先大刍草中克隆的控制玉米高蛋白品质形成和氮素高效利用的关键基因Thp9,其编码一个天冬酰胺合成酶。在大刍草优异等位基因Thp9-T导入玉米自交系B73创制的近等基因系材料中,种子蛋白含量增加约35%,根、茎和叶中氮含量分别增加约54%、94%和18%,NUE和植株生物量均显著增加,表明Thp9-T在培育玉米高蛋白品种中具有关键作用^[80]。研究表明,ZmAMT3;1可

在菌根特异表达,通过共生界面将氮素从真菌运输到植物中,增强玉米对环境氮源的获取能力,该研究为提高作物NUE提供了一条新思路^[81]。

6 结语

综上,植物氮代谢通路已被详尽阐明,其调控网络日趋完善。与传统育种策略相比,通过植物基因组编辑技术靶向设计氮代谢通路及其调控网络核心组分的活性,构建超级氮高效作物品种,是快速选育作物氮高效品种的重要策略。此外,现阶段对于植物氮营养调控机制及高产高效协同机制的研究,多数基于减肥增效的研究思想,而在全球土壤氮沉积量日趋积累的背景下,解析植物尤其是作物适应高氮环境的遗传机制与应对策略显得尤为迫切。值得注意的是,全球生态系统呈现逐步退化和资源匮乏的趋势,充分发挥固氮微生物在非豆科植物中的固氮功能,如在水稻、小麦、玉米等主粮作物中构建豆科植物的固氮系统,可能是未来农业可持续发展的研究方向。

参考文献:

- [1] ZEIGLER R S, MOHANTY S. Support for international agricultural research: current status and future challenges[J]. *New Biotechnology*, 2010, 27(5): 565-572.
- [2] XU G H, FAN X R, MILLER A J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2012, 63: 153-182.
- [3] 武姣娜, 魏晓东, 李霞, 等. 植物氮素利用效率的研究进展[J]. *植物生理学报*, 2018, 54(9): 1401-1408.
WU J N, WEI X D, LI X, et al. Research progress in nitrogen use efficiency in plants[J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54(9): 1401-1408.
- [4] 孙婉, 刘素君, 冯健超, 等. 水分和氮源类型对小麦根际土壤酶活性和氮素利用效率的影响[J]. *应用生态学报*, 2020, 31(8): 2583-2592.
SUN W, LIU S J, FENG J C, et al. Effects of water and nitrogen source types on soil enzyme activity and nitrogen utilization efficiency of wheat[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(8): 2583-2592.
- [5] 冯冰聪, 马杰, 刘勇, 等. 氮素在农田土壤中迁移转化的研究进展[J/OL]. *农业资源与环境学报*, 1-15[2024-11-11]. <https://doi.org/10.13254/j.jare.2023.0825>.
FENG B C, MA J, LIU Y, et al. Research progress of nitrogen transport and transformation in farmland soils[J/OL]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 1-15[2024-11-11]. <https://doi.org/10.13254/j.jare.2023.0825>.
- [6] MILLER A J, FAN X R, ORSEL M, et al. Nitrate transport and signalling[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(9): 2297-2306.
- [7] 齐晓丽, 刘磊, 崔克辉. 水稻氮素吸收利用与根系特征相互关系的研究进展[J]. *植物生理学报*, 2024, 60(3): 441-450.
- QI X L, LIU L, CUI K H. Research advance on nitrogen uptake and utilization in rice and its relationships with root characteristics[J]. *Plant Physiology Journal*, 2024, 60(3): 441-450.
- [8] LOQUÉ D, VON WIRÉN N. Regulatory levels for the transport of ammonium in plant roots[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55: 1293-1305.
- [9] SONODA Y, IKEDA A, SAIKI S, et al. Distinct expression and function of three ammonium transporter genes (*OsAMT1;1-3*) in rice[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2003, 44(7): 726-734.
- [10] DING Z H, WANG C R, CHEN S, et al. Diversity and selective sweep in the *OsAMT1;1* genomic region of rice[J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2011, 11: 61.
- [11] KRAPP A, DAVID L C, CHARDIN C, et al. Nitrate transport and signalling in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(3): 789-798.
- [12] 胡春吉, 雷宁, 邹良平, 等. 植物中氮素利用及硝态氮转运蛋白的研究进展[J]. *分子植物育种*, 2016, 14(8): 2188-2196.
HU C J, LEI N, ZOU L P, et al. Research progress on nitrogen utilization and nitrate transport protein in plant[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14(8): 2188-2196.
- [13] TSAY Y F, CHIU C C, TSAI C B, et al. Nitrate transporters and peptide transporters[J]. *FEBS Letters*, 2007, 581(12): 2290-2300.
- [14] DE ANGELI A, MONACHELLO D, EPHRITIKHINE G, et al. The nitrate/proton antiporter AtCLCa mediates nitrate accumulation in plant vacuoles[J]. *Nature*, 2006, 442: 939-942.
- [15] GEIGER D, MAIERHOFER T, AL-RASHEID K A S, et al. Stomatal closure by fast abscisic acid signaling is mediated by the guard cell anion channel SLAH3 and the receptor RCAR1[J]. *Science Signaling*, 2011, 4: ra32.
- [16] VAHISALU T, KOLLIST H, WANG Y F, et al. SLAC1 is required for plant guard cell S-type anion channel function in stomatal signalling[J]. *Nature*, 2008, 452: 487-491.
- [17] LIN S H, KUO H F, CANIVENC G, et al. Mutation of the *Arabidopsis NRT1.5* nitrate transporter causes defective root-to-shoot nitrate transport[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(9): 2514-2528.
- [18] LI J Y, FU Y L, PIKE S M, et al. The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.8 functions in nitrate removal from the xylem sap and mediates cadmium tolerance[J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(5): 1633-1646.
- [19] WANG Y Y, TSAY Y F. *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.9 is important in phloem nitrate transport[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(5): 1945-1957.
- [20] CHIU C C, LIN C S, HSIA A P, et al. Mutation of a nitrate transporter, AtNRT1:4, results in a reduced petiole nitrate content and altered leaf development[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2004, 45(9): 1139-1148.
- [21] FAN S C, LIN C S, HSU P K, et al. The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1.7, expressed in phloem, is responsible for source-to-sink remobilization of nitrate[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(9): 2750-2761.
- [22] KIBA T, FERIA-BOURRELLIER A B, LAFOUGE F, et al. The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT2.4 plays a double role in roots and shoots of nitrogen-starved plants[J]. *The Plant Cell*, 2012, 24(1): 245-258.

- [23] TABUCHI M, ABIKO T, YAMAYA T. Assimilation of ammonium ions and reutilization of nitrogen in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Journal of Experimental Botany, 2007, 58 (9) : 2319-2327.
- [24] MASCLAUX-DAUBRESSE C, REISDORF-CREN M, PAGEAU K, et al. Glutamine synthetase-glutamate synthase pathway and glutamate dehydrogenase play distinct roles in the sink-source nitrogen cycle in tobacco [J]. Plant Physiology, 2006, 140(2) : 444-456.
- [25] SCHULTZ C J, CORUZZI G M. The aspartate aminotransferase gene family of *Arabidopsis* encodes isoenzymes localized to three distinct subcellular compartments [J]. Plant Journal, 1995, 7(1) : 61-75.
- [26] 朱国辉, 张智胜, 彭新湘. 光呼吸演化、调控与遗传改良 [J]. 生命科学, 2024, 36(10) : 1226-1239.
ZHU G H, ZHANG Z S, PENG X X. Photorespiration evolution, regulation, and genetic improvement [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2024, 36(10) : 1226-1239.
- [27] KEYS A J, BIRD I F, CORNELIUS M J, et al. Photorespiratory nitrogen cycle [J]. Nature, 1978, 275: 741-743.
- [28] GOOD A G, SHRAWAT A K, MUENCH D G. Can less yield more? Is reducing nutrient input into the environment compatible with maintaining crop production? [J]. Trends in Plant Science, 2004, 9(12) : 597-605.
- [29] STEENBERG F, JAKOBSEN S T. Plant nutrition and yield curves [J]. Soil Science, 1963, 95(1) : 69-88.
- [30] SIDDIQI M Y, GLASS A D M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants [J]. Journal of Plant Nutrition, 1981, 4(3) : 289-302.
- [31] MOLL R H, KAMPRATH E J, JACKSON W A. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization [J]. Agronomy Journal, 1982, 74(3) : 562-564.
- [32] TINKER P B, LAUCHLI A. Advances in plant nutrition [M]//CRASWELL E, GODWIN D. The efficiency of nitrogen fertilizers applied to cereals in different climates. New York: Praeger Publishers, 1984: 1-55.
- [33] ZHANG H, FORDE B G. An *Arabidopsis* *MADS* box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture [J]. Science, 1998, 279: 407-409.
- [34] LIMA J E, KOJIMA S, TAKAHASHI H, et al. Ammonium triggers lateral root branching in *Arabidopsis* in an AMMONIUM TRANSPORTER1; 3-dependent manner [J]. The Plant Cell, 2010, 22(11) : 3621-3633.
- [35] VIDAL E A, ARAUS V, LU C, et al. Nitrate-responsive *miR393/AFB3* regulatory module controls root system architecture in *Arabidopsis thaliana* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(9) : 4477-4482.
- [36] QIN C, QIAN W Q, WANG W F, et al. GDP-mannose pyrophosphorylase is a genetic determinant of ammonium sensitivity in *Arabidopsis thaliana* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(47) : 18308-18313.
- [37] 刘海光, 罗振, 董合忠. 植物硝态氮吸收和转运的调控研究进展 [J]. 生物技术通报, 2021, 37(6) : 192-201.
- LIU H G, LUO Z, DONG H Z. Research progress on the regulation of NO_3^- uptake and transport in plant [J]. Biotechnology Bulletin, 2021, 37(6) : 192-201.
- [38] LILLO C. Signalling cascades integrating light-enhanced nitrate metabolism [J]. Biochemical Journal, 2008, 415(1) : 11-19.
- [39] 张华珍, 徐恒玉. 植物氮素同化过程中相关酶的研究进展 [J]. 北方园艺, 2011(20) : 180-183.
ZHANG H Z, XU H Y. Research progress on the enzymes during plant nitrogen assimilation [J]. Northern Horticulture, 2011(20) : 180-183.
- [40] KONISHI N, ISHIYAMA K, MATSUOKA K, et al. NADH-dependent glutamate synthase plays a crucial role in assimilating ammonium in the *Arabidopsis* root [J]. Physiologia Plantarum, 2014, 152(1) : 138-151.
- [41] COSCHIGANO K T, MELO-OLIVEIRA R, LIM J, et al. *Arabidopsis* *gls* mutants and distinct Fd-GOGAT genes. Implications for photorespiration and primary nitrogen assimilation [J]. The Plant Cell, 1998, 10(5) : 741-752.
- [42] OLIVEIRA I C, BREARS T, KNIGHT T J, et al. Overexpression of cytosolic glutamine synthetase. Relation to nitrogen, light, and photorespiration [J]. Plant Physiology, 2002, 129(3) : 1170-1180.
- [43] FEI H M, CHAILLOU S, HIREL B, et al. Overexpression of a soybean cytosolic glutamine synthetase gene linked to organ-specific promoters in pea plants grown in different concentrations of nitrate [J]. Planta, 2003, 216(3) : 467-474.
- [44] HABASH D Z, MASSIAH A J, RONG H L, et al. The role of cytosolic glutamine synthetase in wheat [J]. Annals of Applied Biology, 2001, 138(1) : 83-89.
- [45] HIREL B, PHILLIPSON B, MURCHIE E, et al. Manipulating the pathway of ammonia assimilation in transgenic non-legumes and legumes [J]. Zeitschrift Für Pflanzenernährung und Bodenkunde, 1997, 160(2) : 283-290.
- [46] GALLAIS A, HIREL B. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize [J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55: 295-306.
- [47] YAMAYA T, OBARA M, NAKAJIMA H, et al. Genetic manipulation and quantitative-trait loci mapping for nitrogen recycling in rice [J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53: 917-925.
- [48] LAM H M, WONG P, CHAN H K, et al. Overexpression of the *ASN1* gene enhances nitrogen status in seeds of *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2003, 132(2) : 926-935.
- [49] AMEZIANE R, BERNHARD K, LIGHTFOOT D. Expression of the bacterial *gdhA* gene encoding a NADPH glutamate dehydrogenase in tobacco affects plant growth and development [J]. Plant and Soil, 2000, 221(1) : 47-57.
- [50] SENTOKU N, TANIGUCHI M, SUGIYAMA T, et al. Analysis of the transgenic tobacco plants expressing *Panicum miliaceum* aspartate aminotransferase genes [J]. Plant Cell Reports, 2000, 19(6) : 598-603.
- [51] 王嘉文, 吴刚, 徐云敏. 谷氨酰胺合成酶在植物氮同化及再利用中的研究进展 [J]. 分子植物育种, 2019, 17(4) : 1373-1377.
WANG J W, WU G, XU Y M. Research progress of glutamine synthetase in plant nitrogen assimilation and recycling [J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(4) : 1373-1377.

- [52] ZHANG L Z, TAN Q M, LEE R, et al. Altered xylem-phloem transfer of amino acids affects metabolism and leads to increased seed yield and oil content in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2010, 22(11):3603-3620.
- [53] HUNT E, GATTOLIN S, NEWBURY H J, et al. A mutation in amino acid permease AAP6 reduces the amino acid content of the *Arabidopsis* sieve elements but leaves aphid herbivores unaffected[J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(1):55-64.
- [54] ROLLETSCHEK H, HOSEIN F, MIRANDA M, et al. Ectopic expression of an amino acid transporter(ViAAP1) in seeds of *Vicia narbonensis* and pea increases storage proteins[J]. Plant Physiology, 2005, 137(4):1236-1249.
- [55] PRATELLI R, VOLL L M, HORST R J, et al. Stimulation of nonselective amino acid export by glutamine dumper proteins [J]. Plant Physiology, 2010, 152(2):762-773.
- [56] TAYLOR L, NUNES-NESE A, PARSLEY K, et al. Cytosolic pyruvate, orthophosphate dikinase functions in nitrogen remobilization during leaf senescence and limits individual seed growth and nitrogen content[J]. Plant Journal, 2010, 62(4):641-652.
- [57] HU B, WANG W, OU S J, et al. Variation in *NRT1.1B* contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies[J]. Nature Genetics, 2015, 47(7):834-838.
- [58] ZHANG J Y, LIU Y X, ZHANG N, et al. *NRT1.1B* is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice[J]. Nature Biotechnology, 2019, 37(6):676-684.
- [59] GAO Z Y, WANG Y F, CHEN G, et al. The *indica* nitrate reductase gene *OsNR2* allele enhances rice yield potential and nitrogen use efficiency[J]. Nature Communications, 2019, 10(1):5207.
- [60] WANG Q, NIAN J Q, XIE X Z, et al. Genetic variations in *ARE1* mediate grain yield by modulating nitrogen utilization in rice[J]. Nature Communications, 2018, 9(1):735.
- [61] LIU Y Q, WANG H R, JIANG Z M, et al. Genomic basis of geographical adaptation to soil nitrogen in rice[J]. Nature, 2021, 590:600-605.
- [62] 李胜男, 刘伟, 胡兴明, 等. 近现代中国水稻育种历程[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(11):20-26.
LI S N, LIU W, HU X M, et al. History of rice breeding in modern and contemporary China[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2023, 51(11):20-26.
- [63] 吴比, 胡伟, 邢永忠. 中国水稻遗传育种历程与展望[J]. 遗传, 2018, 40(10):841-857.
WU B, HU W, XING Y Z. The history and prospect of rice genetic breeding in China[J]. Hereditas, 2018, 40(10):841-857.
- [64] LI S, TIAN Y H, WU K, et al. Modulating plant growth-metabolism coordination for sustainable agriculture[J]. Nature, 2018, 560(7720):595-600.
- [65] WANG F M, YOSHIDA H, MATSUOKA M. Making the 'green revolution' truly green: improving crop nitrogen use efficiency[J]. Plant & Cell Physiology, 2021, 62(6):942-947.
- [66] WU K, WANG S S, SONG W Z, et al. Enhanced sustainable green revolution yield *via* nitrogen-responsive chromatin modulation in rice[J]. Science, 2020, 367:eaaz2046.
- [67] SUN H Y, QIAN Q, WU K, et al. Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice[J]. Nature Genetics, 2014, 46(6):652-656.
- [68] GAO Y H, XU Z P, ZHANG L J, et al. MYB61 is regulated by GRF4 and promotes nitrogen utilization and biomass production in rice[J]. Nature Communications, 2020, 11(1):5219.
- [69] TANG W J, YE J, YAO X M, et al. Genome-wide associated study identifies NAC42-activated nitrate transporter conferring high nitrogen use efficiency in rice[J]. Nature Communications, 2019, 10(1):5279.
- [70] ZHANG S N, ZHANG Y Y, LI K N, et al. Nitrogen mediates flowering time and nitrogen use efficiency *via* floral regulators in rice[J]. Current Biology, 2021, 31(4):671-683.e5.
- [71] HUANG Y Z, JI Z, TAO Y J, et al. Improving rice nitrogen-use efficiency by modulating a novel monouniquitination machinery for optimal root plasticity response to nitrogen[J]. Nature Plants, 2023, 9(11):1902-1914.
- [72] ZHANG S Y, ZHU L M, SHEN C B, et al. Natural allelic variation in a modulator of auxin homeostasis improves grain yield and nitrogen use efficiency in rice[J]. The Plant Cell, 2021, 33(3):566-580.
- [73] HE X, QU B Y, LI W J, et al. The nitrate-inducible NAC transcription factor TaNAC2-5A controls nitrate response and increases wheat yield[J]. Plant Physiology, 2015, 169(3):1991-2005.
- [74] WANG M, ZHANG P L, LIU Q, et al. TaANR1-TaBG1 and TaWabi5-TaNRT2s/NARs link ABA metabolism and nitrate acquisition in wheat roots[J]. Plant Physiology, 2020, 182(3):1440-1453.
- [75] GUO M, WANG Q, ZONG Y, et al. Genetic manipulations of *TaARE1* boost nitrogen utilization and grain yield in wheat[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2021, 48(10):950-953.
- [76] CHEN Z Y, LI X S, HE F, et al. Positional cloning and characterization reveal the role of TaSRN-3D and TaBSR1 in the regulation of seminal root number in wheat[J]. New Phytologist, 2024, 242(6):2510-2523.
- [77] SHI X L, CUI F, HAN X Y, et al. Comparative genomic and transcriptomic analyses uncover the molecular basis of high nitrogen-use efficiency in the wheat cultivar Kenong 9204[J]. Molecular Plant, 2022, 15(9):1440-1456.
- [78] WEI Y M, REN Z J, WANG B H, et al. A nitrate transporter encoded by *ZmNPF7.9* is essential for maize seed development [J]. Plant Science, 2021, 308:110901.
- [79] GE M, WANG Y C, LIU Y H, et al. The NIN-like protein 5 (*ZmNLP5*) transcription factor is involved in modulating the nitrogen response in maize[J]. The Plant Journal, 2020, 102(2):353-368.
- [80] HUANG Y C, WANG H H, ZHU Y D, et al. *THP9* enhances seed protein content and nitrogen-use efficiency in maize[J]. Nature, 2022, 612:292-300.
- [81] HUI J, AN X, LI Z B, et al. The mycorrhiza-specific ammonium transporter *ZmAMT3;1* mediates mycorrhiza-dependent nitrogen uptake in maize roots[J]. The Plant Cell, 2022, 34(10):4066-4087.