DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.03039

氮响应转录因子 ZmNLP5 影响玉米根系生长的功能研究

葛 敏 王元琮 宁丽华 胡梦梅 石 习 赵 涵*

江苏省农业科学院种质资源与生物技术研究所 / 江苏省农业生物学重点实验室, 江苏南京 210014

摘 要: 研究作物氮高效机制并挖掘利用其中重要的调控基因, 对我国农业绿色发展具有重要意义。前期我们发现氮响应转录因子 ZmNLP5 调控亚硝酸还原酶基因的表达, 对玉米氮素吸收利用具有促进作用, 但其调控机制尚未明确。基于此, 本研究以 ZmNLP5 基因突变体(*zmnlp5*)和野生型(WT)植株为研究材料, 深入解析 ZmNLP5 影响玉米氮素吸收利用的生理机制。足氮(sufficient nitrogen, SN)和低氮(deficient nitrogen, DN)条件下研究材料表型分析发现, DN 条件下相对于 WT 植株, *zmnlp5* 植株根长显著降低。根部不同区域 ZmNLP5 表达量分析发现, ZmNLP5 主要在根尖区域表达。不同亚硝酸盐浓度处理下, 研究材料的根长和根尖区域亚硝酸盐含量分析发现, 当亚硝酸盐的浓度高于 2 mmol L⁻¹ 时, *zmnlp5* 突变体根长相对于 WT 显著降低, *zmnlp5* 植株根尖区域亚硝酸盐积累量显著高于 WT。SN 和 DN 条件下研究材料根部亚硝酸盐含量检测发现, DN 条件 *zmnlp5* 植株根尖区域所积累的亚硝酸盐也显著高于 WT。综上所述, 转录因子 ZmNLP5 在玉米植株响应低氮环境根部伸长生长中发挥重要功能, 该结果为玉米氮高效育种提供了一定的理论基础。

关键词: 玉米; 氮素; 转录因子; 氮响应; 根长

Function analysis of nitrogen-responsive transcription factor ZmNLP5 affecting root growth in maize

GE Min, WANG Yuan-Cong, NING Li-Hua, HU Meng-Mei, SHI Xi, and ZHAO Han*

Institute of Crop Germplasm and Biotechnology / Provincial Key Laboratory of Agrobiolgy, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, Jiangsu, China

Abstract: Improving nitrogen (N) use efficiency of crops is crucial for minimizing N loss and reducing environmental pollution, which is a requirement for the sustainable agriculture. Our previous study found that the transcription factor ZmNLP5 directly regulated the expression of *ZmNIR1.1* and promoted nitrogen uptake and assimilation in maize, however, its underlying regulation mechanism is unclear. Here, we performed further phenotype analysis of *zmnlp5* and wild type (W22) plants in hydroponic culture on sufficient nitrogen (SN) solution and deficient nitrogen (DN) solution. Compared with WT plants, the root length of *zmnlp5* mutant plants was significantly decreased under DN condition. Compared with upper and middle regions of roots, ZmNLP5 was predominantly expressed in root tip regions. Then, we examined the relationship between root length and nitrite content in root tips under a series of nitrite concentrations. The results showed that there was no significant differences in root length between WT and *zmnlp5* until the nitrite concentration reached 2 mmol L⁻¹ and higher; however, when the concentration of nitrite was higher than 2 mmol L⁻¹, the root length of *zmnlp5* was significantly shorter than WT, and the accumulation of nitrite in the root tips of *zmnlp5* was significantly higher than WT. Interestingly, *zmnlp5* plants also accumulated significantly more nitrite in the root tips than WT under DN condition. The study showed that the transcription factor ZmNLP5 played an important role in the root growth of maize in response to deficient nitrogen condition, and provided the candidate genes for breeding of maize nitrogen use efficiency in the future.

本研究由国家自然科学基金项目(32001564), 江苏省重点研发计划项目(BE207365)和江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(18)1001)资助。

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32001564), the China Key Research and Development Program of Jiangsu Province (BE207365), and the Jiangsu Agriculture Science and Technology Innovation Fund (CX(18)1001).

* 通信作者(Corresponding author): 赵涵, E-mail: zhaohan@jaas.ac.cn

第一作者联系方式: E-mail: gemin8614@163.com

Received (收稿日期): 2020-06-20; Accepted (接受日期): 2020-11-13; Published online (网络出版日期): 2020-12-15.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20201214.1749.006.html>

Keywords: maize; nitrogen; transcription factor; nitrogen response; root length

氮素(nitrogen, N)是植物生长发育需求量最大的矿质营养元素,也是促进作物增产的最关键因素之一^[1-2]。玉米是我国重要的粮食、饲料和生物能源作物,对我国的粮食安全具有举足轻重的战略作用。玉米的产量对氮肥施用量依赖度极高,农户往往通过大量施加氮肥以保障玉米产量^[3]。然而,氮肥过度施加,不仅增加生产成本,造成资源浪费,还引发水体富营养化和土壤酸化等环境问题^[4]。因此,为了农业的绿色发展,研究玉米氮素高效利用机制并挖掘其中重要的调控基因,具有重要的经济和社会现实意义,有助于在保障作物高产的同时降低肥料的施用^[5]。

玉米主要通过根部吸取土壤中以硝态氮(NO_3^-)为主的氮素, NO_3^- 也可作为信号分子协同调控植物氮代谢途径中关键基因的表达,影响植株氮响应和生长发育过程^[6-7]。 NO_3^- 进入根部细胞后由硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)转化为亚硝酸盐(NO_2^-),再由亚硝酸还原酶(nitrite reductase, NIR)将 NO_2^- 快速转化成铵态氮(NH_4^+)。 NH_4^+ 结合谷氨酸通过GS/GOGAT循环同化形成谷氨酰胺,谷氨酰胺作为活跃的氨基供体参与到氮素的多种代谢过程^[8]。

应对不同氮素环境,植物拥有多层感应和适应机制以响应氮营养元素的利用,上述适应性的反应即为“氮响应”,其包括植物形态和生理上的反应。例如:低氮环境下,植株主根伸长生长,以促进植株寻找更多氮源;高氮环境下,植株激发侧根组织的萌发^[9-10]。玉米根尖过渡区(root apex transition zone)的转录组和蛋白组学分析数据显示,氮响应与植物激素的生物合成和信号传导有关,并表明玉米氮响应的过程中伴随着细胞骨架活化和细胞壁修饰^[11]。

调控氮响应的转录因子在拟南芥中已有报道,例如CCA1、LBD37/38/39、NLP7等^[12-14],上述转录因子通过调控氮吸收和同化过程中的关键基因的表达来调控氮代谢过程。近期,Ge等^[15]发现编码玉米氮响应转录因子ZmNLP5基因,该基因Mu插入突变体(*zmnlp5*)相对野生型植株(WT)氮响应程度显著下降,同化产物的积累也显著降低。并且ZmNLP5转录因子直接与亚硝酸还原酶基因(*ZmNIR1.1*)的启动子区域氮响应元件(NRE)^[16]结合并激活*ZmNIR1.1*的表达^[17]。据研究报道,亚硝酸盐(NO_2^-)对根尖快速生长的细胞具有细胞毒性^[18],ZmNIR1.1是将 NO_2^- 转化为 NH_4^+ 的关键酶。ZmNLP5转录因子是否参与

调控玉米根部响应不同氮素环境下的形态反应,进而影响地上部分氮素同化积累尚未明确,鉴于此,本研究选取ZmNLP5基因的突变体和野生型为研究材料,探究氮响应转录因子ZmNLP5对玉米根系生长的影响及其生理机制,为玉米氮高效育种有效利用ZmNLP5基因奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料与处理方法

ZmNLP5基因突变体材料*zmnlp5*(编号为UFMu-01175, <http://www.maizegdb.org/uniformmu>)和野生型材料玉米自交系W22由美国玉米遗传资源联合存储中心-UniformMu转座子资源库(Maize Genetics Cooperation Stock Center UniformMu Transposon Resource)提供。

足氮(sufficient N, SN)和低氮(deficient N, DN)营养液处理:将*zmnlp5*突变体和野生型材料水培培养于江苏省农业科学院设施大棚(江苏南京)。根据Schlüter等^[19]研究结果设置SN和DN两种氮素浓度处理,其中基础营养液为改良Hoagland营养液(5 mmol L⁻¹ CaCl₂, 2 mmol L⁻¹ MgSO₄, 0.05 mmol L⁻¹ EDTA-Fe-Na Salt, 0.5 mmol L⁻¹ KH₂PO₄, 50 μmol L⁻¹ H₃BO₄, 10 μmol L⁻¹ MnCl₂, 1 μmol L⁻¹ ZnSO₄, 0.3 μmol L⁻¹ CuSO₄, 0.5 μmol L⁻¹ Na₂MoO₄), SN和DN营养液是分别在基础营养液中分别添加15 mmol L⁻¹和0.15 mmol L⁻¹ KNO₃ (KCl补齐钾离子浓度),营养液2 d更换1次,常规管理。

不同浓度亚硝酸盐处理:利用低氮营养液对*zmnlp5*突变体和野生型材料水培培养7 d,然后分别用含有0、0.5、1、2和5 mmol L⁻¹ KNO₂的低氮营养液对上述材料处理7 d,培养条件与足氮和低氮营养液处理相同。

1.2 基因 mRNA 表达量分析

将野生型材料于足氮营养液水培培养21 d后,对其根部组织进行分段取样:根尖区域(根尖0~4 cm)、中部区域(4~10 cm)和上部区域(余下部分)。样品液氮研碎后利用RNA Isolation System (Promega)试剂盒提取总RNA,利用反转录试剂盒Prime Script RT Reagent Kit (TaKaRa)进行反转录。以得到的cDNA为模板,利用实时荧光定量PCR技术(qPCR)对ZmNLP5基因在玉米根部不同部位中的mRNA表达量进行分析。玉米持家基因ZmUPF1 (GRMZM2G163444)为内参基因^[20],每个样品3个生物学重复。

1.3 蛋白含量检测

利用蛋白质免疫印记技术(Western blot, WB), 对野生型材料根部根尖区域、中部区域和上部区域组织中ZmNLP5蛋白含量进行检测。样品液氮研碎后利用Plant Nuclei Isolation/Extraction Kit (Sigma) 试剂盒提取总蛋白, 蛋白浓度利用BCA Protein Assay Kit (Beyotime)试剂盒进行定量分析。以野生型根部不同区域总蛋白为样品, 利用SDS-PAGE对总蛋白进行分离, 分离后的蛋白转移至PVDF膜上(0.2 μ m, Millipore, USA)。然后对附着分离蛋白的PVDF膜进行封闭, 及初级抗体和次级抗体的孵育。最后利用BeyoECL Plus (Beyotime)对化学发光进行检测。ZmNLP5特异性的抗体(上海英基生物科技有限公司 ABClonal technology 制备, 兔源为实验级日本大耳白兔)的稀释比例为1:1000, 标签抗体UDPGP (Agrisera)的稀释比例为1:2000, 次级抗体(羊抗兔)的稀释比例为1:3000。

1.4 亚硝酸盐含量测定

将研究材料不同组织部位的样品进行取样后, 利用亚硝酸盐测定试剂盒(苏州科铭生物技术有限公司)对样品中的亚硝酸含量进行检测, 每个样品3个生物学重复。

2 结果与分析

2.1 足氮和低氮环境下 *zmnlp5* 突变体根长分析

为了探究氮响应转录因子ZmNLP5在不同氮素环境下对玉米根长的影响, 我们对足氮(SN)和低氮(DN)水培营养液中生长21 d的野生型(WT)和ZmNLP5基因突变体(*zmnlp5*)幼苗的根长进行测定。结果显示, SN条件下, WT和*zmnlp5*突变体材料的根长分别为(142.333 $\pm$ 2.517) mm和(145.000 $\pm$ 3.606) mm (图1-A, B), 经单因素方差分析SN条件下WT和

*zmnlp5*材料根长没有显著差异。然而, 低氮条件下*zmnlp5*植株根长显著短于野生型材料[*zmnlp5*为(166.667 $\pm$ 8.622) mm, WT为(218.333 $\pm$ 7.095) mm, $P=0.01$, 图1-A, B], 降低了23.66%。以上结果表明, 低氮环境下, *zmnlp5*突变体植株响应低氮环境根部伸长生长受到抑制。氮响应转录因子ZmNLP5对玉米根部的伸长生长有影响。

图1 足氮和低氮条件下野生型和 *zmnlp5* 突变体材料根长分析
Fig. 1 Root length analysis of WT and *zmnlp5* mutants on SN and DN solution in hydroponic culture

A: 表型鉴定(SN: 足氮; DN: 低氮; 标尺为20 mm); B: 根长分析(** $P \leq 0.01$, t 测验, $n=3$)。

A: phenotype analysis (SN: sufficient nitrogen; DN: deficient nitrogen; Bar = 20 mm); B: root length analysis. **: $P \leq 0.01$ by Student's t -test ($n=3$).

2.2 ZmNLP5 在玉米根部不同区域的表达量分析

为了探究ZmNLP5在根部作用部位, 我们对野生型根部组织进行分段取样, 分为上部区域(Upper)、中部区域(Middle)和根尖区域(Tip)。利用实时荧光定量PCR技术(qPCR)和蛋白质免疫印记技术(Western blot, WB)对ZmNLP5基因的mRNA表达量和蛋白含量进行分析。结果表明: ZmNLP5基因mRNA在根尖区域积累量最高, 显著高于根的中部和上部区域($P=0.05$, 图2-A), ZmNLP5蛋白也主要在

图2 根部不同区域 ZmNLP5 表达量分析

Fig. 2 Relative expression of ZmNLP5 in different root regions

A: mRNA 表达量分析, 内参基因为 *ZmUPF1*, 显著差异用不同字母表示($P \leq 0.05$); B: WB 检测根部不同区域中 ZmNLP5 蛋白的表达量, UDPGP 为内参蛋白。

A: mRNA relative expression levels were measured by qPCR and normalized to *ZmUPF1*. Different letters marked above the bars indicate significant differences at $P \leq 0.05$; B: protein expression levels were measured by immunoblot assay using anti-UDPGP as a sample loading control.

根尖区域检测到,根中部和上部区域未检测到可见的ZmNLP5蛋白信号(图2-B)。上述结果表明,ZmNLP5主要在根部组织的根尖区域表达,表达部位可能与该基因的功能相关。

2.3 不同浓度的亚硝酸盐处理下 *zmnlp5* 突变体根长变化分析

上述结果表明:ZmNLP5主要在根尖区域表达,前期研究证明ZmNLP5能激活亚硝酸还原酶ZmNIR1.1基因的表达^[17]。由于氮素同化过程中ZmNIR1.1是将亚硝酸盐(NO_2^-)还原为铵盐(NH_4^+)的关键酶,并且亚硝酸盐对根尖区域快速生长的细胞具有一定的细胞毒性^[18]。因此,推测低氮环境下*zmnlp5*突变体根部伸长生长受到抑制可能是由于,

*zmnlp5*突变体中ZmNLP5功能丧失导致ZmNIR1.1表达量降低,根尖 NO_2^- 未能快速还原为铵盐 NH_4^+ ,而积累在根尖区域。

为了验证这一假设,我们首先对不同亚硝酸盐浓度(0、0.5、1、2和5 mmol L^{-1} KNO_2)处理下,突变体和野生型植株根长进行分析。结果表明:在亚硝酸盐浓度达到2 mmol L^{-1} 之前,WT和*zmnlp5*之间的根长没有显著差异;但当亚硝酸盐的浓度高于2 mmol L^{-1} 时,*zmnlp5*突变体植株根长相对野生型材料显著降低($P < 0.05$,图3-A, B),亚硝酸盐的浓度为2 mmol L^{-1} 和5 mmol L^{-1} 时,根长分别降低18.46%和18.48%(图3-B)。上述结果说明当亚硝酸盐浓度达到一定程度时,对*zmnlp5*突变体的根部的伸长生长将产生抑制作用。

图3 亚硝酸盐处理下野生型和 *zmnlp5* 突变体材料根长分析

Fig. 3 Root length analysis of WT and *zmnlp5* mutants under nitrite treatment in hydroponic culture

A: 表型鉴定(标尺=20 mm); B: 根长分析(* $P \leq 0.05$, t 测验, $n = 3$)。

A: phenotypes of WT and *zmnlp5* plants grown in hydroponic culture for seven days on DN solution with 0, 0.5, 1, 2, and 5 mmol L^{-1} KNO_2 for seven days. Bar = 20 mm; B: root length of WT and *zmnlp5* plants grown in hydroponic culture for seven days on DN solution with 0, 0.5, 1, 2, and 5 mmol L^{-1} KNO_2 for seven days. * $P \leq 0.05$ by Student's t -test ($n = 3$).

2.4 不同浓度的亚硝酸盐处理下 *zmnlp5* 突变体根尖区域亚硝酸盐含量分析

为了研究*zmnlp5*突变体根部伸长生长受到抑制是否与根尖区域亚硝酸盐积累相关,我们对不同亚硝酸盐浓度(0、0.5、1、2和5 mmol L^{-1} KNO_2)处理下,突变体和野生型植株根尖区域的亚硝酸盐含量进行了分析。结果表明,当亚硝酸盐的浓度高于2 mmol L^{-1} 时,*zmnlp5*突变体植株根尖比WT中积累更多的亚硝酸盐($P < 0.01$)。当亚硝酸盐的浓度为2 mmol L^{-1} 和5 mmol L^{-1} 时,相对野生型材料,*zmnlp5*突变体植株根尖亚硝酸盐积累量分别增加52.30%和79.03%(图4)。上述结果一定程度验证了我们的假设,亚硝酸盐在*zmnlp5*突变体根尖区域积累,当积累到达一定浓度对根尖细胞产生毒性,根部的伸长生长受到抑制。

图4 亚硝酸盐处理下野生型和 *zmnlp5* 突变体材料根尖亚硝酸盐含量

Fig. 4 Nitrite content in root tips of WT and *zmnlp5* mutants under nitrite treatments

** $P \leq 0.01$, t 测验, $n = 3$ 。 ** $P \leq 0.01$ by Student's t -test ($n = 3$).

2.5 2种氮环境下玉米根部不同区域亚硝酸盐含量分析

为了进一步研究不同的氮素环境下,植株根长

和根尖亚硝酸盐含量之间的关系,我们对足氮(SN)和低氮(DN)条件下,野生型(WT)和 *zmnlp5* 突变体材料根部不同区域的亚硝酸盐含量进行了检测。结果表明: SN 条件下,野生型和 *zmnlp5* 突变体材料根上部(Upper)和中部(Middle)区域亚硝酸盐含量无显著差异, *zmnlp5* 突变体根尖区域(Tip)亚硝酸盐含量显著高

于 WT, 增加了 9.24% ($P = 0.05$)。DN 条件下, *zmnlp5* 突变体材料根中部区域亚硝酸盐含量显著低于野生型材料($P = 0.05$), 降低了 73.08%; 根尖区域亚硝酸盐含量显著高于野生型材料($P = 0.05$), 增加了 28.50%。上述结果说明, 2 种氮环境下, *zmnlp5* 突变体较野生型材料在植株根尖区域均积累了更多的亚硝酸盐。

图5 2种氮环境下野生型和 *zmnlp5* 突变体材料根部不同区域亚硝酸盐含量

Fig. 5 Nitrite content in different regions of the roots of WT and *zmnlp5* mutants on SN solution and DN solution in hydroponic culture

SN: sufficient nitrogen; DN: deficient nitrogen. * $P \leq 0.05$ by Student's *t*-test ($n = 3$).

3 讨论

氮素是作物生长发育所必需的营养元素,研究作物氮素高效利用机制并挖掘利用其中重要的调控基因,对我国农业绿色发展具有重要意义。玉米作为三大粮食作物之一,其产量的高低对氮肥的依赖性极高,但氮肥过度施加,又会引发资源浪费和环境污染等一系列问题。因此,如何提高玉米氮素利用效率已成为亟待解决的重要科学问题^[21]。前期通过遗传和生理生化分析发现,低氮环境下,玉米氮响应转录因子 ZmNLP5 对氮素的吸收利用具有促进作用^[17],但调控机制仍未解明。根系是作物吸收营养元素的主要器官,也是最先感知外界氮素浓度变化的重要器官。不同氮素环境下,为响应氮营养元素的利用,植株根系形态也会发生适应性的改变。例如,根部伸长生长已被定义为植物适应低氮环境的典型形态反应^[9]。

玉米根系吸收以硝态氮(NO_3^-)为主的氮素,亚硝酸盐是硝酸盐还原成铵的中间产物。高浓度的亚硝酸盐对植物细胞的生长有不利影响,尤其在快速生长的细胞中,例如细胞分裂和伸长生长活跃的根尖细胞中^[18]。亚硝酸盐还原为铵是由亚硝酸还原酶(NIR)催化的,模式植物烟草中发现 NIR 活性降低导致高浓度的亚硝酸盐积累并抑制植物生长^[22]。模式植物拟南芥中,已证明根尖中亚硝酸盐的过度积累会导致根部生长发育受阻,根长变短^[18]。本研究, ZmNLP5 优先在根尖区域表达(图 2), *zmnlp5* 突变体

中由于 ZmNLP5 功能丧失导致其根部 *ZmNIR1.1* 表达量显著降低^[17]。根尖 NO_2^- 未能快速还原为 NH_4^+ , 使得 *zmnlp5* 突变植物根尖处亚硝酸盐积累量上调(图 5)。低氮条件下,在 *zmnlp5* 突变体植株根尖处亚硝酸盐过度积累与发育迟缓的根部生长响应同时出现。由于亚硝酸盐对根尖快速生长的细胞具有细胞毒性,因此我们推测低氮条件下 *zmnlp5* 突变体的根部发育迟缓部分原因是由 *zmnlp5* 突变体根尖中亚硝酸盐过量积累引起的。此外,即使 *zmnlp5* 突变体植物在根尖累积了更多的亚硝酸盐,但在低氮条件下,它们在根部中部的累积量却比 WT 少。这可能是由于 *zmnlp5* 突变植株根部伸长生长受到抑制,因此从缩短的根部中部区域获取氮素的效率降低,因为根部吸收和同化营养物质的关键区域为成熟区^[23]。由于根的中间区域主要由成熟细胞组成,因此它们对亚硝酸盐的细胞毒性较不敏感。因此,即使根的中间区域在 WT 中积累更多的亚硝酸盐,它对根生长的抑制作用也比对根的快速分裂和伸长的尖端区域要小得多。

综上所述,我们提出不同氮素环境下 ZmNLP5 参与调控玉米根部生长的工作模型。充足氮(SN)条件下,由于环境中有充足的氮素可以利用,植株不必启动根部的进一步伸长生长,此外,足氮环境下根尖高浓度的亚硝酸盐积累对抑制根部的进一步伸长生长也有贡献。因此, SN 条件下, WT 和 *zmnlp5* 突变体之间根长无显著差异。低氮(DN)条件下,根

系伸长生长是植物响应低氮环境的典型形态反应^[9], WT 植物的根系伸长生长得到增强, 部分原因可能是: 由于氮饥饿时植株同化产生的亚硝酸盐较少, 并且有限的亚硝酸盐通过 *ZmNIR1.1* 进一步转化为铵盐, 使得根尖亚硝酸盐积累量降低、根系生长抑制得到缓解。但是, 在 *zmnlp5* 突变植物中, *ZmNLP5* 功能的丧失导致其根部 *ZmNIR1.1* 表达量显著降低^[17], 使得根尖区域亚硝酸盐积累上调, 根尖区域相对较高的亚硝酸盐含量对其根部伸长生长具有一定的抑制作用。所以 *zmnlp5* 突变体植株中, 根部响应低氮环境伸长生长这一形态学反应受到阻碍。

本研究发现, 玉米氮响应转录因子 *ZmNLP5* 的功能缺失, 将导致低氮环境下玉米根部生长受阻, 亚硝酸盐在根尖区域过量积累可以部分解释这一表型现象, 同时, *ZmNLP5* 也可能通过调控植物激素生物合成途径相关基因影响植株根部发育, 这还需要后期相关实验来证明。前期研究发现低氮环境 *zmnlp5* 突变体氮素同化产物积累量较 WT 显著降低^[17], 可能是由于突变体根系生长受阻导致氮素吸收减少并最终影响氮同化产物积累降低。然而, 过量表达 *ZmNLP5* 是否能提高植株对氮素的吸收和利用仍未知, 后期还需利用转基因技术手段对基因的功能进行更为深入的解析, 以期获得提高玉米氮素利用率的候选基因。

4 结论

本研究发现玉米氮响应转录因子 *ZmNLP5* 主要在细胞分裂和生长活跃的根尖区域表达。亚硝酸盐在根尖过量积累, 对玉米根部生长具有不利影响。低氮条件下 *ZmNLP5* 功能缺失对植株响应低氮环境根部伸长生长有影响, 这也最终会影响植株对氮素的吸收和同化利用能力。

References

- [1] Gutierrez R A. Systems biology for enhanced plant nitrogen nutrition. *Science*, 2012, 336: 1673–1675.
- [2] Guana P Z, Ripollá J J, Wang R H, Vuong L, Bailey-Steinitz L J, Ye D, Crawford N M. Interacting TCP and NLP transcription factors control plant responses to nitrate availability. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 2419–2424.
- [3] Bi Y M, Meyer A, Downs G S, Shi X, El-Kereamy A, Lukens L, Rothstein S J. High throughput RNA sequencing of a hybrid maize and its parents shows different mechanisms responsive to nitrogen limitation. *BMC Genom*, 2014, 15: 77.
- [4] Humbert S, Subedi S, Cohn J, Zeng B, Bi Y M, Chen X, Zhu T, McNicholas P D, Rothstein S J. Genome-wide expression profiling of maize in response to individual and combined water and nitrogen stresses. *BMC Genom*, 2013, 14: 3.
- [5] Xu G, Fan X, Miller A J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annu Rev Plant Biol*, 2012, 63: 153–182.
- [6] Crawford N M. Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *Plant Cell*, 1995, 7: 859–868.
- [7] Crawford N M, Forde B G. Molecular and developmental biology of inorganic nitrogen nutrition. *Arabid Book*, 2002, 1: e0011.
- [8] Moose S, Below F E. Biotechnology approaches to improving maize nitrogen use efficiency. In: Kriz A, Larkins B, eds. *Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement*. Biotechnology in Agriculture and Forestry, Springer, Berlin, Heidelberg, 2009. pp 65–77.
- [9] Ueda Y, Konishi M, Yanagisawa S. Molecular basis of the nitrogen response in plants. *Soil Sci Plant Nutr*, 2017, 63: 329–341.
- [10] Yu P, Eggert K, von Wirén N, Li C J, Hochholdinger F. Cell type-specific gene expression analyses by RNA sequencing reveal local high nitrate-triggered lateral root initiation in shoot-borne roots of maize by modulating auxin-related cell cycle regulation. *Plant Physiol*, 2015, 169: 690.
- [11] Trevisan S, Manoli A, Ravazzolo L, Botton A, Pivato M, Masi A, Quaggiotti S. Nitrate sensing by the maize root apex transition zone: a merged transcriptomic and proteomic survey. *J Exp Bot*, 2015, 66: 3699–3715.
- [12] Gutierrez R A, Stokes T L, Thum K, Xu X, Obertello M, Katari M S, Tanurdzic M, Dean A, Nero D C, McClung C R, Coruzzi G M. Systems approach identifies an organic nitrogen-responsive gene network that is regulated by the master clock control gene *CCA1*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 4939–4944.
- [13] Rubin G, Tohge T, Matsuda F, Saito K, Scheible W R. Members of the LBD family of transcription factors repress anthocyanin synthesis and affect additional nitrogen responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2009, 21: 3567–3584.
- [14] Marchive C, Roudier F, Castaigns L, Brehaut V, Blondet E, Colot V, Meyer C, Krapp A. Nuclear retention of the transcription factor NLP7 orchestrates the early response to nitrate in plants. *Nat Commun*, 2013, 4: 1713.
- [15] Ge M, Liu Y H, Jiang L, Wang Y C, Lyu Y D, Zhou L, Liang S Q, Bao H B, Zhao H. Genome-wide analysis of maize NLP transcription factor family revealed the roles in nitrogen response. *Plant Growth Regul*, 2018, 84: 95–105.
- [16] Konishi M, Yanagisawa S. Identification of a nitrate-responsive cis-element in the *Arabidopsis* *NIR1* promoter defines the presence of multiple cis-regulatory elements for nitrogen response. *Plant J*, 2010, 63: 269–282.
- [17] Ge M, Wang Y C, Liu Y H, Jiang L, He B, Ning L H, Du H Y, Lyu Y D, Zhou L, Lin F, Zhang T F, Liang S Q, Lu H Y, Zhao H. The NIN-like protein 5 (*ZmNLP5*) transcription factor is involved in modulating the nitrogen response in maize. *Plant J*, 2020, 102: 353–368.
- [18] Hachiya T, Ueda N, Kitagawa M, Hanke G, Suzuki A, Hase T, Sakakibara H. *Arabidopsis* root type ferredoxin: NADP(H) oxidoreductase 2 is involved in detoxification of nitrite in roots. *Plant Cell Physiol*, 2016, 57: 2440–2450.
- [19] Schlüter U, Mascher M, Colmsee C, Scholz U, Bräutigam A,

- Fahnenstich H, Sonnewald U. Maize source leaf adaptation to nitrogen deficiency affects not only nitrogen and carbon metabolism but also control of phosphate homeostasis. *Plant Physiol*, 2012, 160: 1384–1406.
- [20] Lin F, Jiang L, Liu Y, Lv Y, Dai H, Zhao H. Genome-wide identification of housekeeping genes in maize. *Plant Mol Biol*, 2014, 86: 543–554.
- [21] Zanin L, Zamboni A, Monte R, Tomasi N, Varanini Z, Cesco S, Pinton R. Transcriptomic analysis highlights reciprocal interactions of urea and nitrate for nitrogen acquisition by maize roots. *Plant Cell Physiol*, 2015, 56, 532–548.
- [22] Morot-Gaudry-Talarmin Y, Rockel P, Moureaux T, Quilleré I, Leydecker M, Kaiser W, Morot-Gaudry J F. Nitrite accumulation and nitric oxide emission in relation to cellular signaling in nitrite reductase antisense tobacco. *Planta*, 2002, 215: 708–715.
- [23] Kiba T, Krapp A. Plant nitrogen acquisition under low availability: regulation of uptake and root architecture. *Plant Cell Physiol*, 2016, 57: 707–714.