水稻营养吸收和转运的分子机制研究进展

王威^①, 张联合^②, 李华^①, 张志华^①, 胡斌^①, 储成才^{①*}

① 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101;

② 河南科技大学农学院, 洛阳 471003

* 联系人, E-mail: ccchu@genetics.ac.cn

收稿日期: 2015-03-05; 接受日期: 2015-04-09; 网络版发表日期: 2015-05-28

国家重点基础研究发展计划(批准号: 2015CB755700)和中国科学院战略性科技先导专项(A类)(批准号: XDA08000000)资助

doi: 10.1360/N052015-00077

摘要 氮、磷、钾、铁和锌是植物必需的营养元素, 在植物生长发育过程中行使重要的生理功能, 在农业生产实际中, 氮、磷、钾肥的大量施用是实现作物高产的重要措施之一. 然而, 由于长期大量施用化肥, 土壤中未被利用的氮磷余肥也带来严重的环境污染问题. 同时, 磷肥和钾肥主要来源于不可再生的矿石资源, 每年的大量使用, 也逐渐加深资源短缺问题. 铁、锌对植物产量和耐逆性能有重要影响, 铁、锌、硒是人和动物易于缺乏的必需微量元素. 因此, 解析植物氮、磷、钾、铁、锌和硒的吸收、转运和储藏分子机制一直是植物营养学研究的热点, 对这些元素的高效吸收分子机制的理解对提高植物养分利用效率、减轻对环境的破坏、降低农业成本和促进人体健康等都具有重要意义. 本文概述了植物氮、磷、钾、铁、锌和硒等元素的吸收、转运及其调节机制的最新研究进展.

关键词

水稻
营养元素
吸收
转运
信号途径

除了碳、氢和氧外, 植物必需的其他 14 种营养元素主要来自于土壤, 因此又称为矿质元素. 依据植物需求量, 矿质元素分为大量元素和微量元素. 大量元素包括氮(N)、钾(K)、钙(Ca)、镁(Mg)、磷(P)和硫(S), 微量元素包括氯(Cl)、铜(Cu)、锰(Mn)、铁(Fe)、锌(Zn)、钴(Co)、钼(Mo)和镍(Ni)等. 矿质元素是植物重要的组成成分, 同时也参与调节一些重要的生理生化反应, 在维持植物正常的生理活动中发挥重要作用^[1]. 土壤中, 绝大多数矿质元素主要以难溶形式存在, 不能被植物吸收利用, 而只有可溶性的无机离子才能被植物根系直接吸收利用. 植物主要通过根表皮细胞膜上的转运蛋白吸收离子. 不同的转运蛋白对离子的亲和特性不同, 分别在不同浓度下调控

对离子的吸收^[2]. 一般而言, 带负电荷的大量元素(如 NO_3^- , PO_4^{3-} 和 SO_4^{2-} 等)的吸收往往与 H^+ 偶联, 并需要消耗能量. 在大多情况下, 微量元素吸收也存在类似机制, 需要与 H^+ 偶联进行同向(或逆向)转运. 与带负电荷的元素不同的是, 带正电荷的大量元素(如 K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} 和 NH_4^+)主要通过被动扩散的方式(如离子通道)进入植物根系^[2]. 无机离子进入植物体后参与正常的生理活动, 而多余的离子(如 K^+ , Ca^{2+} , NO_3^- , PO_4^{3-} 和 SO_4^{2-})则暂时储存在液泡中(尤其是成熟组织的中央大液泡中)以维持植物细胞内的离子平衡^[2]. 正常情况下, 土壤中可溶性无机离子含量较低, 且易受土壤酸碱度、氧化还原电位和其他离子等多种因素影响. 因此, 植物在长期进化过程中形成了复杂而又

引用格式: 王威, 张联合, 李华, 等. 水稻营养吸收和转运的分子机制研究进展. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 569–590

Wang W, Zhang L H, Li H, et al. Recent progress in molecular dissection of nutrient uptake and translocation in rice. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 569–590, doi: 10.1360/N052015-00077

精细的调控机制以应对土壤溶液中离子含量的变化。目前,人们在植物营养元素的吸收、转运、分配和再利用以及调控的分子遗传机制上已取得了很多进展,尤其是在水稻(*Oryza sativa*)基因组测序完成以后,越来越多参与营养元素吸收利用及调控的基因被克隆和鉴定,对这些基因的功能解析有助于深入了解水稻营养元素的吸收利用机制。

目前,我国农业生产上普遍存在严重的高肥低效问题。从 20 世纪 90 年代开始,化肥施用量的增加对粮食增产的效果已不显著,肥料利用率更是逐年降低(图 1)。至 2013 年我国年化肥施用量接近 6000 万吨,约为 1990 年化肥施用量的 2.4 倍;然而,在耕地总面积基本持平的情况下,2013 年的粮食总产为 60193 万吨,仅为 1990 年的 1.3 倍,化肥投入所带来的粮食增产效应已非常有限。美国等发达国家化肥利用效率为 50%~60%,欧盟等国家为 70%~80%,而我国的化肥利用效率只有 30%~40%,严重低于发达国家的化肥利用水平。可见,单纯依靠化肥的投入来提高粮食产量已不是一条有效途径。与此同时,大量化肥的施用导致土壤化肥残留和酸化,残留化肥流入河流、湖泊和海洋,造成严重的环境污染^[3]。为了应对农业生产和资源环境矛盾的激化,我国科学家提出“绿色超级稻”的育种理念,即少打药、少施肥、节水抗旱、优质高产^[4]。因此,对涉及营养吸收利用相关基因的解析将为营养高效的分子设计育种提供很好的技术支撑。本文针对氮、磷、钾 3 种大量元素

和铁、锌、硒 3 种重要微量元素的分子遗传机制的最新进展做一概述,并对未来水稻氮、磷、钾、铁、锌、硒等营养高效吸收、转运及储藏等机制研究和水稻营养高效的分子设计育种等研究提出一些前瞻性的思考。

1 氮吸收及信号转导途径

氮是地球大气中含量最高,也是植物需要量最大的矿质元素。但土壤中可利用的氮源却非常有限,除部分植物可通过根部菌落的共生关系利用大气中的氮源固氮以外,其他植物需通过吸收土壤中的硝酸盐、铵盐和氨基酸等含氮物质来维持植物体基本生命活动。在大多数土壤中,硝态氮(NO_3^-)和铵态氮(NH_4^+)是作物吸收氮素的主要形式^[5]。

稻田土壤由于长期淹水条件,土壤微生物的硝化作用受到抑制,导致铵态氮浓度较高,此外硝态氮在水田中更易流失,因此铵态氮一直被认为是水稻吸收利用氮素的主要形式^[6-8]。然而研究发现,水稻根系释放出的 O_2 可以促进根际微生物的硝化作用,实际栽培生产中间歇性排水晒田也产生一定浓度的硝态氮^[6]。同时供给铵态氮和硝态氮的水稻在生长状态和产量上都要优于单一供给铵态氮的水稻^[9-11]。有趣的是,水稻籼和粳亚种间在硝态氮的吸收利用上存在显著差异,籼稻通常表现出更强的硝态氮利用能力^[12,13]。

图 1 我国历年农作物总播种面积、产量和化肥施用量间的关系

数据来源于中华人民共和国国家统计局, 1952~1989 年部分农作物播种面积数据缺失

高等植物对铵态氮的吸收主要通过铵转运蛋白(ammonium transporters, AMTs). 在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中, 铵转运蛋白分为 AMT1 和 AMT2 两类, 分别包括 5 个和 1 个成员. *AtAMT1;1* 在根中和地上部分均有表达, K_m 值小于 $0.5 \mu\text{mol/L}$, 而 *AtAMT1;2* 和 *AtAMT1;3* 主要在根中表达, K_m 值均接近 $40 \mu\text{mol/L}$ [14,15]. AMT2 与原核细胞和酵母中的铵转运蛋白具有更高的相似性, *AtAMT2* 主要在根、叶和花的维管组织中表达 [14], 其在叶中表达量与根部相当. 因为植物地上部分光呼吸作用也可产生铵离子, 其在地上部分的表达可能与光呼吸产生铵离子的再利用有关. *amt1;1* 和 *amt1;3* 单突变体在低 NH_4^+ 条件下, 对 NH_4^+ 吸收均下降 30%, *amt1;1amt1;3* 双突变体相对于野生型 NH_4^+ 吸收下降 70% 左右 [16], *amt1;2* 突变体 NH_4^+ 吸收能力下降 18%~26%, *amt1;1amt1;2amt1;3amt2;1* 四突变体(*qko*) 在 NH_4^+ 培养条件下表现出生长抑制, 且其在低 NH_4^+ 条件下只有野生型吸收 NH_4^+ 能力的 5%~10%. *qko* 在正常培养和缺氮培养条件下, *AtAMT1;4* 的表达量均很低, 所以在四突背景下可能是 *AtAMT1;5* 参与 NH_4^+ 的吸收. 比较 *qko* 四突和 *qko+AMT2;1* 三突背景下 ^{15}N 的吸收, 发现 *AtAMT2;1* 对氮吸收和地上部分生物量方面没有贡献 [17]. *AtAMT1;4* 主要在花粉粒和花粉管中表达, 可能和花粉发育中的氮营养供给有关 [18].

水稻的铵转运蛋白有 5 个亚家族, *OsAMT1*~*OsAMT5*. *OsAMT1*, *OsAMT2*, *OsAMT3* 分别含有 3 个成员, *OsAMT4* 只有 1 个成员, *OsAMT5* 包含 2 个成员. *OsAMT1;1*, *OsAMT1;2* 与 *OsAMT1;3* 具有较高的序列同源性, 聚类上与其他亚家族成员较远. 通过酵母突变体的互补实验发现 *OsAMT1;1*, *OsAMT1;2*, *OsAMT2;1* 和 *OsAMT5;1* 均具有转运铵能力 [19,20]. 而 *OsAMT5;2* 只有 8 个跨膜结构域, 缺失了后面 3 个跨膜结构. 水稻中的 *OsAMT1;1*, *OsAMT1;2*, *OsAMT1;3* 与拟南芥 *AtAMT1;1* 及番茄 (*Lycopersicon esculentum*) *LeAMT1;1* 在蛋白序列上分别具有 74.2%, 73.7%, 70.4% 和 74.4%, 75.4%, 70.9% 序列相似性. 相较于利用硝酸盐的作物, 水稻的 AMT 在氮利用效率上可能具有更为重要的作用. 基因表达分析发现, 水稻中的 AMTs 存在氨依赖的调节方式, 这与番茄和拟南芥中的同源基因明显不同. *OsAMT1;1* 在根中和地上部分均有表达, 且受铵的诱导表达. 而 *OsAMT1;2* 转录产物只能在根中检测到, 铵处理显著诱导其表

达, 硝酸盐处理也可微弱诱导其表达. 原位 mRNA 检测揭示 *OsAMT1;2* 在根尖的中柱和表层表达, 暗示其可能在铵盐长距离运输中起作用 [21]. 转录因子 IDD10(indeterminate domain 10) 可以结合 *OsAMT1;2* 的启动子区从而调节水稻对铵的吸收, *idd10* 突变体的主根在铵盐培养下表现出对铵的超敏感 [22]. 在水稻品种台北 309 和 Jarrah 中过表达 *OsAMT1;1* 植物根表现出较强的铵吸收能力, 但在苗期和营养生长早期均表现出地上和地下部分生物量下降, 且在 2 mmol/L 高浓度铵处理下更明显. 与台北 309 不同的是, Jarrah 在营养生长中期可以恢复到正常水平 [23]. 在 $300 \mu\text{mol/L}$ 铵浓度下, 水稻品种 Kaybonnet 中过表达 *OsAMT1;1* 与野生型在根形态上无显著差异, 而在缺铵条件下, 过表达植株表现出生长优势; 过表达植株在高铵培养条件下表现出铵毒害性症状和更弱的生长状态. 在缺铵和正常供给铵的条件下, *OsAMT1;1* 过表达植株中的叶绿体、淀粉、糖含量及产量均显著高于野生型 [24]. 铵对 *OsAMT1;1* 的调节作用可以被谷氨酰胺的合成抑制剂蛋氨酸亚砷亚胺(methionine sulfoximine)抑制. *OsAMT1;1* 和 *OsAMT1;2* 的表达量与根部谷氨酰胺的含量成正比, *OsAMT1;3* 则恰好相反, *OsAMT1;3* 的表达还因外界硝酸盐施加而受到抑制 [25]. *OsAMT2;1* 在不同氮源下均组成型表达, 而与其同源性最高的 *OsAMT3;1* 表达量则几乎难以检测到. *OsAMT2;1* 在外界 1 mmol/L 铵浓度下, 不能互补铵缺陷酵母表型, 只有当浓度达到 5 mmol/L 时才能发挥作用, 与之不同的是, 拟南芥中的 *OsAMT2* 在外界铵浓度为 0.5 mmol/L 时即可互补酵母缺陷表型 [19]. 用不同铵浓度培养高氮需求品种 Pusa Basmati 1(PB1) 和低氮需求品种 Kalanamak 3119(KN3119) 时发现不同的氮浓度下, *OsAMT3* 家族成员、*OsAMT1;1* 和 *OsAMT2;3* 的表达均表现出差异, 且在 2 个不同氮需求品种中呈现不同的表达趋势 [26,27]. 与苗期相比, 分蘖期大多数 *OsAMT* 基因表达量均急剧上升, 仅 *OsAM3;2* 在老叶中和 *OsAMT1;3* 在根部表达下调. 总体而言, *OsAMT1;1*, *1;2*, *1;3*, *3;3* 表达量最高, *OsAMT2;1* 和 *2;3* 次之, *OsAMT2;2*, *3;1* 和 *3;2* 表达量最低. 在氮饥饿时, *OsAMT1;1*, *OsAMT1;2*, *OsAMT3* 表达均上升, 只有 *OsAMT1;3* 表达下调, 且在重新供给氮源时表达量上升, 其他基因在重新供给氮源时对不同氮源产生应答, 如 *OsAMT1;1* 仅在硝酸盐补给时下调, *OsAMT3;3* 在补铵时下调 [28].

研究还发现, *OsAMT1;1* 从野生稻(*O. rufipogon*)向栽培稻进化过程中基因或附近区域核苷酸多态性显著降低, 仅为野生稻的 2.3%, 表明 *OsAMT1;1* 受到较强的人工选择. 该基因在栽培稻中只有一个基因型, 暗示只能通过寻找该基因在其他野生稻祖先中新的等位变异来辅助提高水稻铵利用效率^[29].

植物对硝态氮吸收和转运主要通过硝酸盐转运蛋白(nitrate transporters, NRTs)和氯离子通道(chloride channel, CLC)来完成. 在拟南芥中对硝酸盐吸收及转运机制已有较清楚的认识. NRTs 可分为 NRT1 和 NRT2 两个家族: NRT1 主要由低亲和力硝酸盐转运蛋白(low-affinity transport system, LATS)构成, 属于 PTR(peptide transporters)家族, 所以有人提出 NRT1/PTR 家族应该命名为 NPF(NRT1/PTR family), 根据各成员进化关系 NRT1s 可分为 8 个亚家族(NPF1-8)^[30]. 拟南芥中已克隆鉴定 12 个 NRT1 成员(*AtNRT1.1*~*1.12*, 此处仍沿用原来的名称). NRT2 主要由高亲和硝酸盐转运蛋白(high-affinity transport system, HATS)构成, 拟南芥中有 7 个成员(*AtNRT2.1*~*2.7*), 其中 4 个成员已证明与硝酸盐转运相关. *AtNRT1.1*, *AtNRT1.2*, *AtNRT2.1* 以及 *AtNRT2.2* 主要负责根部硝酸盐吸收. *AtNRT1.1*(CHL1)是从一个氯酸盐抗性突变体中鉴定到的硝酸盐转运蛋白, 它同时表现出与不同浓度 NO_3^- 的低亲和与高亲和的结合能力^[31,32]. *AtNRT1.2* 主要参与了高浓度条件下硝酸盐吸收过程^[33], *AtNRT2.1* 以及 *AtNRT2.2* 则参与了低硝酸盐浓度下的吸收过程, 而且 *AtNRT2.1* 的转运活性还需要 *AtNAR2.1*(*AtNRT3.1*)的协助^[34-38]. *AtNRT1.5* 和 *AtNRT1.8* 参与了根部至地上部硝酸盐的转运过程, *AtNRT1.5* 负责将根吸收的硝酸盐装载至木质部^[39], 而 *AtNRT1.8* 则负责硝酸盐从木质部的运出^[40]. *AtNRT1.9* 参与硝酸盐在根韧皮部装载及硝酸盐从地上部到根部的逆向转运, 并与 *AtNRT1.5* 和 *AtNRT1.8* 一起参与调控植物体从根部到地上部的硝酸盐转运过程^[41]. 有趣的是, 在重金属镉存在的情况下, *AtNRT1.5* 和 *AtNRT1.8* 可能都参与了硝酸盐向根部的逆向重转运, 促使硝酸盐在根部富集, 进而增强植物对重金属的耐受性^[40,42]. 然而硝酸盐的重分配与植物对重金属耐受性间相关的机制却仍不明朗. *AtNRT1.4* 主要在叶柄表达, 在调控叶片中硝酸盐平衡和叶片发育中起关键作用^[43]. 在植物衰老过程中, 硝酸盐将由衰老组织向新生组织转运,

韧皮部特异表达的 *AtNRT1.7* 主要参与了这一转运过程^[44]. 另外 2 个韧皮部表达的硝酸盐转运蛋白 *AtNRT1.11* 和 *AtNRT1.12* 则参与了韧皮部与木质部之间的硝酸盐运输, 负责向新生叶片重新分配^[45]. *AtNRT2.4* 在侧根表皮和地上部韧皮部表达, 参与低浓度下根部硝酸盐吸收和地上部硝酸盐向韧皮部的装载^[46]. *AtNRT1.6* 仅在种子中表达, 参与硝酸盐向发育早期胚的运输^[47]. *AtNRT2.7* 在植物生殖器官中特异表达, 且定位在液泡膜, 主要控制种子中硝酸盐贮藏^[48]. 除了硝酸盐转运蛋白以外, 氯离子通道也参与了植物体内硝酸盐转运, 其中定位于液泡膜的 CLCa 和 CLCb 参与调控硝酸盐向液泡内转运^[49-52].

水稻中硝酸盐转运蛋白功能研究还不多, 通过与 *AtNRT1.1* 序列相似性分离到 *OsNRT1*, 但 *OsNRT1* 在水稻中的功能尚不清楚^[53]. 最近研究发现 *OsPTR* 家族中 *OsPTR6* 具有转运二肽和三肽的能力^[54]; *OsPTR9* 受到外界氮源和昼夜节律调控, 过表达 *OsPTR9* 转基因水稻表现出了更高的氮利用率和产量^[55], 但仍没有证据表明其具有转运硝酸盐的能力. 目前已鉴定出 5 个水稻 NRT2 成员^[56-58]. *OsNRT2.1* 和 *OsNRT2.2* 具有相同的编码区, 只是 5'和 3'非翻译区(untranslated regions, UTR)不同, 且与其他单子叶植物 NRT2 基因具有高度相似性; *OsNRT2.3* 和 *OsNRT2.4* 与拟南芥 NRT2 基因更相近. 进一步研究发现, *OsNRT2.3* mRNA 具有 2 种不同的剪接形式, *OsNRT2.3a* 和 *OsNRT2.3b*. *OsNRT2.3a* 主要在根部表达且受硝酸盐诱导, 而 *OsNRT2.3b* 则主要在地上部表达^[58,59]. *OsNAR1* 通过与 *OsNRT2.1*, *OsNRT2.2* 及 *OsNRT2.3a* 互作参与硝酸盐的吸收^[59]. 进一步研究证明 *OsNRT2.3a* 在根中柱特异性表达, 其参与硝酸盐由根部至地上部的转运^[60].

硝酸盐不仅是植物重要的氮源, 同时也是重要的信号分子, 高等植物通过感受外界 NO_3^- 浓度的变化调节自身生长发育^[61,62], 而其中 NO_3^- 信号对侧根形成以及根系分支的影响最为显著^[63,64]. 研究发现, 拟南芥中 CHL1(*AtNRT1.1*)在响应外界硝酸盐浓度变化的信号机制中起关键作用, 作为硝酸盐的感受器参与初级硝酸盐应答反应(primary nitrate response)的调节^[65,66]. 在初级硝酸盐应答反应中, 许多硝酸盐相关基因, 包括硝酸盐转运蛋白基因(*NRT1.1* 和 *NRT2.1*), 硝酸还原酶基因 *NIA1*(nitrate reductase 1)和 *NIA2* 及亚硝酸还原酶基因 *NIR*(nitrite reductase), 在

硝酸盐处理 10 min 内就受到诱导. 进一步研究发现, CHL1 感受硝酸盐的功能不需要其硝酸盐转运功能的参与, 而是通过改变第 101 位苏氨酸位点的磷酸化状态来感应不同浓度硝酸盐, 从而改变低亲/高亲活性以及硝酸盐初级响应水平. 在低浓度硝酸盐环境下, CHL1 的 T101 被 CIPK23 磷酸化, 导致其硝酸盐应答水平降低^[65]. 与 CIPK23 在高亲相下作为 CHL1 负调控因子的角色相反, CIPK8 则是在低亲相下作为 CHL1 的正调控因子起作用, 它能调节 CHL1 在高浓度硝酸盐环境下的表达. 同时, CIPK8 还参与了硝酸盐介导的主根发育过程和对液泡中苹果酸盐转运蛋白的表达调控^[67]. 研究还发现, CHL1 还可作为生长素转运体来调控侧根发育. 在低浓度硝酸盐的环境下, CHL1 促进生长素向基性运输, 抑制侧根伸长; 而在高浓度硝酸盐环境下, 依赖于 CHL1 的生长素向基性运输则会被抑制, 生长素在侧根根尖积累, 进而促进侧根伸长^[68]. 最近, 两个研究组同时报道了对 CHL1 晶体结构的解析, 发现 Thr101 的磷酸化对改变 CHL1 的活性以及体外的二聚化是至关重要的^[69-71]. 此外, 研究者还发现, His356 是结合硝酸盐的一个重要位点, 它与 Glu476 和 Tyr388 共同决定与硝酸根离子的结合. 将 His356 突变为 Ala356 后, CHL1 的硝酸盐转运活性完全消失, 然而 His356 在拟南芥 NRT1 家族中并不是保守的, 说明该家族其他成员可能采用不同的位点与硝酸根离子结合^[69-71].

在硝酸盐信号通路中, 陆续鉴定出许多转录因子. 研究发现拟南芥中的一个 MADS-box 基因 *ANR1*, 能够促进侧根向富含硝酸盐的土壤生长^[72-74]. *LBD* (lateral organ boundary domain) 基因家族中 *LBD37*, *LBD38* 和 *LBD39* 等 3 个成员都能受硝酸盐、铵盐和谷氨酰胺等氮源的诱导, 且抑制多个参与硝酸盐吸收和同化过程的基因, 表明 *LBD37* 及其 2 个同源基因是硝酸盐信号的负调控因子, 主要参与硝酸盐相关基因的反馈调节^[75]. 最近研究发现, NLPs (NIN-LIKE proteins) 在正调控氮信号转导过程中具有重要作用. *AtNLP7* 的 T-DNA 插入突变体表现出氮饥饿表型, 而且硝酸盐转运蛋白和硝酸还原酶 (NIA) 的表达水平也都发生下调, 说明 NLP7 很可能是一个氮信号的正调控因子^[76]. 染色质免疫共沉淀-芯片偶联 (chromatin immunoprecipitation-chip, ChIP-chip) 分析结果显示, NLP7 能结合 851 个硝酸盐应答基因启动子区域, 包括 *ANR1*, *LBD37/38*, *CIPK8* 和

CHL1 等^[77], 表明 NLP7 可能处在氮信号上游的核心位置. 通过对一个 43 bp 的硝酸盐应答元件 (nitrate-responsive *cis*-element, NRE) 的酵母单杂交筛选发现, 9 个 NLPs 都能与该元件结合, 暗示 NLPs 可能都参与了氮信号的调控, 然而各自具体功能却仍然未知^[78].

除此之外, 人们也发现很多其他类型基因也会影响植物体的氮代谢过程. 如 *DEP1* (dense and erect panicles 1) 是一个控制水稻株型的关键基因, 该基因功能获得型突变 *dep1* 可以促进细胞分裂, 使得穗枝梗数增加变密, 每穗籽粒数增多, 从而促进水稻增产^[79]. 后续研究发现, 该基因能导致增产的一个原因是 *DEP1* 基因的不同等位变异对氮的响应 (包括植株高度和分蘖数等) 不同, 携带有 *dep1-1* 等位变异的水稻植株氮吸收和同化能力增强, 从而收获指数和产量得到了提高^[80]. 本研究组^[81]最近克隆了一个编码 NAC (NAM (no apical meristem), ATAF (*Arabidopsis* transcription activation factor), CUC (cup-shaped cotyledon)) 类转录激活因子基因 *OsNAP* (*Oryza sativa* NAC-like, activated by apetala3/pistillata), 发现其是水稻中一个控制衰老的关键基因, 通过直接靶向与叶绿素 II 降解、营养转运相关基因 (如 *OsPOT*, *OsPTR2* 和 *OsPTR3* 等) 以及其他一些与衰老相关的基因正向调控了叶片衰老. 本研究组还发现, *OsNAP* 的过表达可以显著提高水稻籽粒的总氮含量, 而其 RNA 干涉植株则可促进水稻叶片衰老延迟以及灌浆期延长, 并使水稻产量提高^[81]. 这些结果表明, 植物的衰老和氮代谢间存在必然联系, 而对 *OsNAP* 的有效微调可能使得衰老时期和籽粒的营养元素含量达到最优平衡, 实现育种高产优质的目标.

2 磷吸收及信号转导途径

磷是植物生长必需的大量营养元素, 广泛参与了能量代谢、有机质合成与分解、细胞信号转导和基因表达调控等生物学过程^[82]. 磷缺乏会影响到多种代谢过程, 进而影响到植物的生长发育和作物产量. 以水稻为例, 缺磷植株表现出植株矮化僵立, 分蘖减少及生长缓慢等症状, 最终导致水稻减产^[83]. 植物主要吸收以磷酸盐和偏磷酸盐形式的无机磷, 土壤中总磷含量较高, 但大部分被土壤固定而不能被植物吸收, 能被吸收利用的无机磷酸盐 (有效磷) 含量较低,

不能满足生产所需。

面对土壤低磷胁迫, 植物也进化出一系列磷饥饿应答反应机制增强磷的吸收和利用^[84]。在水稻中, 最为显著的反应就是种子根和不定根的伸长, 以及磷转运蛋白基因的表达上调。此外, 在低磷条件下, 水稻根系还会分泌大量酸性磷酸酶、核糖核酸酶以及有机酸到周围土壤中, 将土壤中有有机磷转化成无机磷, 进而被根系吸收利用。对植物自身而言, 磷饥饿还会导致细胞膜组分的改变, 糖酵解加速, 氮同化受到抑制以及金属元素吸收的增强^[85]。综上所述, 低磷条件能诱导植物产生多种磷饥饿反应, 从而促进植物更加有效地利用土壤中难溶性磷。

拟南芥磷饥饿信号途径已经得到较为细致的解析。整个信号通路包括 *SIZ1*, *PHR1*, *miR399* 以及 *PHO2* 等重要调控元件^[86,87]。*PHR1* 是一个 MYB 类转录因子, 是调控低磷应答反应的一个关键调节因子。凝胶迁移或电泳迁移率实验(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)表明, *PHR1* 能结合到一些磷饥饿诱导基因(phosphate starvation-induced genes, *PSI*)上游的回文序列 GNATATNC, 这一序列称之为 *PHR1* 结合序列(*PHR1* binding sequences, *P1BS*)^[88]。过表达 *PHR1* 导致植物地上部分磷含量上升, 并组成型激活一些 *PSI* 基因的表达^[89]。*SIZ1* 是一个 SUMO(small ubiquitin-like modifier) E3 连接酶, 在磷饥饿条件下通过将 *PHR1* 进行 SUMO 化修饰从而激活 *PHR1* 功能。而 *PHR1* 的这种翻译后修饰也恰好解释了在磷饥饿条件下其 mRNA 表达水平没有显著变化^[90]。在 *PHR1* 下游参与磷饥饿信号应答的 2 个组分是 *miR399* 和 *PHO2*, 其中 *miR399* 是 *PHR1* 的直接靶基因之一^[86]。另一组分 *PHO2* 编码一个泛素交联酶 E2(ubiquitin conjugating enzyme, UBC), *miR399* 能靶向切割 *PHO2* 的转录产物从而对其进行负调控^[91]。在过表达 *miR399* 以及 *PHO2* 基因功能丧失的情况下, 均引起植物地上部无机磷含量的累积^[92]。后来的研究发现, *PHO2* 主要定位在内质网和高尔基体, 通过降解 *PHT1s*, *PHF1* 和 *PHO1* 调控磷吸收和转运^[93,94]。最近, 两个研究组发现, *NLA*(nitrogen limitation adaption)可以作为泛素连接酶 E3 和 *PHO2* 共同参与了 *PT2*(phosphate transporter 2)蛋白降解, 从而阐明了在翻译后水平上对磷转运蛋白调控的机制^[95,96]。然而, 在对 *NLA-PHO2* 是否也涉及 *PHT1s* 其他成员的蛋白降解仍存在争议^[96]。许多转录因子如 *ZAT6*^[97],

bHLH32^[98], *MYB62*^[99], *WRKY6*^[100]和 *WRKY75*^[101]等在转录水平上参与磷饥饿信号途径。其中, *WRKY6* 是磷饥饿应答途径中一个关键的负调控因子, 它能结合到 *PHO1* 启动子区域的 2 个 W-box 元件上, 并抑制 *PHO1* 的表达。在低磷条件下, *WRKY6* 通过 26S 蛋白酶复合体途径被降解后, *PHO1* 的转录抑制被解除, 从而激活 *PHO1* 的表达^[100]。

与拟南芥相比, 水稻磷饥饿信号转导研究相对滞后。大部分已鉴定磷饥饿信号转导基因与拟南芥中相关基因在功能上具有很高的相似性, 说明磷饥饿信号转导过程在水稻与拟南芥中高度保守。*OsPHR2* 是 *PHR1* 的同源基因, 在水稻磷饥饿信号转导中同样发挥重要作用^[102]。过表达 *OsPHR2* 会导致无机磷在地上部分的高积累以及磷饥饿应答基因(*OsIPS1*, *OsIPS2*, *OsSQD2*, *OsPAP10*, *OsmiR399* 以及 *OsPT2*, 6, 8)的上调, *OsPHR2* 还参与了磷饥饿诱导的根系发育调控^[102]。进一步研究表明, 磷转运蛋白基因 *OsPT2* 的激活是造成 *OX-OsPHR2* 过表达植株中无机磷高累积的主要原因^[103]。*OsSPX*(*SYG/PHO81/XPR1*)s 是一类包含有 *SPX* 结构域的蛋白, 可能参与了水稻中磷饥饿信号转导的调控。水稻基因组中存在有 6 个 *OsSPX* 基因(*OsSPX1-6*), 除 *OsSPX4* 外, 其他 *OsSPXs* 均受磷饥饿诱导。一般认为, *OsSPX1* 可能是位于 *OsPHR2* 上游的一个负调控因子, 通过抑制 *OsPHR2* 功能从而调控磷饥饿应答基因的表达^[103]。有意思的是, 在 *OsPHR2* 过表达的转基因植物中 *OsSPX1* 被上调^[104], 暗示 *OsSPX1* 与 *OsPHR2* 之间可能存在某种反馈调控来调节水稻中无机磷含量。后来研究则证明, *OsSPX1*, 2 和 4 均能与 *OsPHR2* 相互作用, 并阻止其结合 *PSI* 基因 *P1BS* 序列, 从而实现对磷饥饿应答反应的负调控^[105,106]。与拟南芥中的 *miR399* 相似, 水稻的 *OsmiR399* 同样受 *OsPHR2* 的正调控, 并且受磷饥饿的诱导^[102]。研究发现, 过表达 *OsmiR399* 的转基因植株以及 *LTN1*(leaf tip necrosis 1)功能丧失突变体无机磷含量都升高, 并且在 *Ox-OsmiR399* 的转基因植株中都检测到 *LTN1* 基因表达水平的下调。这些结果证明 *LTN1* 是 *OsmiR399* 下游靶基因^[107]。此外, 在对 *Ox-OsmiR399* 转基因植株的芯片分析中发现, 参与铁、钾、钠和钙离子吸收的基因的表达水平也显著上调, *OsmiR399* 过表达植株中相应元素含量也显著增加, 表明 *OsmiR399* 还参与了对其他元素饥饿应答反应的调

节^[108]. *LTN1* 正是拟南芥中 *PHO2* 同源基因, 该基因功能丧失导致包括无机磷转运蛋白、酸性磷酸酶以及核糖核酸酶等许多磷饥饿应答基因的组成性激活^[107]. *ltn1* 突变体无机磷积累的表型与磷饥饿应答基因的高表达水平相一致说明, *LTN1* 可能是在转录水平上对磷饥饿应答基因进行调控^[107]. *LTN1* 编码一个假定的泛素交联酶 E2, 而泛素交联酶 E2 通常参与了依赖于 26S 蛋白酶体的蛋白降解途径, 这就暗示 *LTN1* 可能通过降解相关靶蛋白来调控磷饥饿信号转导. 综上所述, *LTN1* 是磷饥饿信号转导途径中非常重要的核心组分, 可能在转录和翻译后 2 个水平上对磷饥饿应答基因起调控作用, 同时也增加了该信号转导途径调控的复杂性. 然而, 目前还没有水稻 *LTN1* 互作的靶蛋白以及其作为 E2 酶活性的报道, 无法了解其对下游组分的调节机制. 在 *ltn1* 突变体内 *OsSPX1* 的表达水平也显著上调^[103], 表明 *OsSPX1* 可能也参与 *LTN1* 下游磷饥饿信号转导. 综合 *OsPHR2* 与 *OsSPX1* 的关系, 不难看出 *OsSPX1* 是磷饥饿信号转导中参与反馈调节的重要组分. 此外, 还有 2 个转录因子 *OsPTF1* 和 *OsMYB2P-1* 也被证明参与了磷饥饿的应答反应. *OsPTF1* 和 *OsMYB2P-1* 均受到磷饥饿诱导, 并且它们过表达的转基因植株均表现出对低磷胁迫耐受性增强^[109,110]. 最近研究发现, 一个来源于 *Kasalath*(an *aus*-type variety) 的基因 *PSTOL1* 能通过改变根系形态而提升在低磷条件下的耐受性. 该基因编码 Pup1 特异的蛋白激酶, 体外实验也证明其具有磷酸激酶的活性, 然而在低磷条件下其具体的调控机制仍然未知^[111].

磷转运蛋白(PT)是最直接参与磷吸收和转运的一类具有 12 个跨膜结构域的膜蛋白, 目前已克隆的 13 个水稻磷转运蛋白大多属于 PHT1 家族, 而该家族又属于一类更大的溶质转运蛋白超家族(major facilitator superfamily, MFS)^[112]. PHT1 家族基因基本都在启动子区域具有 P1BS/P1BS-like 的顺式元件, 且在根部优势表达, 主要负责对无机磷的吸收转运^[113]. *OsPT1* 是一个组成型表达的磷酸盐转运蛋白, 过表达 *OsPT1* 能加快无机磷从地下到地上的转运, 并导致无机磷在新生叶中的高累积^[114]. 此外, 在 *ltn1(ospho2)* 突变体中 *OsPT1* 的表达水平强烈上调, 而在 *osphr2* 突变体中 *OsPT1* 的表达水平却没有明显

改变, 表明 *OsPT1* 在正常磷肥条件下是一个参与无机磷吸收转运的关键基因, 且可能参与了 *LTN1* 调节的磷转运信号途径^[114]. *OsPT2* 是一个低亲和力的磷酸盐转运蛋白, 主要在种子根和侧根中柱表达, 暗示其可能负责磷的转运^[115]. 在过表达 *OsPHR2* 的转基因植株中, *OsPT2* 的表达水平和转基因植株地上部分的磷含量呈现正相关, 说明 *OsPHR2* 可能正调控 *OsPT2*. *OsPT6* 则主要在种子根和侧根表皮和皮层表达, 其磷酸盐吸收的表观动力学常数为 97 $\mu\text{mol/L}$, *OsPT6* 干涉植株中表现出磷含量降低和地下到地上磷转运的缺陷^[115], *OsPT6* 的这种表达模式和动力学常数都与拟南芥 *AtPht1;1* 和 *AtPht1;4* 非常相似^[116,117], 表明 *OsPT6* 广泛参与了植物体内磷酸盐吸收、转运及重转运过程. *OsPT8* 是一个高亲磷酸盐转运蛋白, 主要参与植物体内磷酸盐的重转运和磷稳态的维持^[118]. *OsPHF1* 是拟南芥中 *PHF1* 的同源基因, 其编码磷酸盐转运蛋白的转运辅助因子^[119-121]. 从内质网中新生的 *OsPT2* 和 *OsPT8* 蛋白常需要 *OsPHF1* 的帮助才能正确定位到细胞膜上^[120]. 在拟南芥中, 过表达 *PHF1* 不能显著提升在低磷条件下植物对磷酸盐的吸收能力^[119]. 令人意外的是, 在低磷条件下, 过表达 *OsPHF1* 的转基因水稻却能显著提升磷酸盐的吸收以及对低磷胁迫的耐受性. 田间实验证明, *OsPHF1* 的过表达植株在低磷环境中能显著提升产量^[113]. 这些实验都表明, *PHF1* 基因在对磷酸盐吸收的调控功能在单双子叶植物中存在一定的功能异化. 而这种功能异化的产生可能是由于拟南芥和水稻的生长环境不同, 或在单、双子叶植物中磷酸盐吸收的生理机制存在不同. 在磷缺乏情况下, *OsPHR2* 过表达植株中的 *OsPT2*, 6, 8 均有表达水平的上调^[114,115]. 这种调控机制与 *OsPT1* 是不同的, 说明由 *LTN1* 和 *OsPHR2* 调节的磷信号途径是不同的, 两者之间的相互作用机理仍需要进一步研究来阐明. *OsPT11* 是共生菌相关的磷酸盐转运蛋白, 其表达与土壤中的磷酸盐含量高低无关. 只有在丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)在水稻根系表面产生丛枝菌根网络时, *OsPT11* 才会受到诱导表达^[112]. 到目前为止, 对水稻中磷酸盐转运蛋白的了解还非常有限, 深入细致解析相关转运蛋白的生理机制以及它们与磷饥饿信号相关基因的调控网络还需做大量的研究工作.

3 钾吸收及信号转导途径

钾是植物生长发育所必需的重要矿质营养元素之一,也是植物体内含量最丰富的一价阳离子,约占植物总干重的 2%~10%^[122]。钾离子广泛参与植物生长发育中诸多重要的生理生化过程,如调节细胞渗透压、维持细胞电荷平衡、促进各种酶活性以及参与蛋白质合成等^[122]。植物体内的钾主要储存在液泡中,在钾肥供应条件下,液泡中钾离子含量可达 10~200 mmol/L^[122,123]。与植物细胞高浓度钾含量相反,植物根系表面钾离子浓度非常低,只有 0.1~1 mmol/L^[1]。因此,植物必须逆着浓度梯度从土壤中吸收大量钾,而完成这一重要的生理过程就必须依靠钾离子吸收系统来完成。

植物体内钾离子吸收系统主要包括钾离子转运蛋白和钾离子通道 2 大类。钾离子转运蛋白来源于多个基因家族,如 KUP/HAK/KT, HKT, NHX 和 CHX 等^[124]。KUP/HAK/KT 家族主要是编码一类与细菌 KUP 和真菌 HAK1 的同源基因,其中 *AtKUP1*^[125,126], *AtKUP2*^[127], *AtTRH1*^[128], *AtHAK5*^[129], *HvHAK1*^[130] 和 *OsHAK1*^[131] 等已被证实参与了钾离子吸收和转运。NHX 和 CHX 家族不是主要负责钾离子吸收的,只有少数几个基因参与了钾离子/氢离子的逆向转运^[132~137]。令人意外的是,虽然 HKT 基因家族编码的是真菌中 Trk 钾离子转运蛋白和细菌中 KtrB 钾离子转运蛋白的同源基因,但在植物体内它们中的大多数成员都参与了钠离子转运,仅有少数几个参与了钠钾离子共转运^[124]。相较于钾离子转运蛋白功能的多样性,钾离子通道则表现出很强的功能专一性。钾离子通道主要包括 Shaker 通道、TPK(tandem-pore K⁺) 通道和 Kir(K⁺ inward rectifier)-like 通道 3 类蛋白^[138~140]。其中,Shaker 通道被认为是植物体内参与钾离子营养吸收、转运和调节胞内钾离子稳态最为重要的通道蛋白。每个 Shaker 亚基都具有 6 个跨膜结构域和 1 个孔环,这样的 4 个亚基则构成一个完整的 Shaker 通道^[138]。TPK 通道和 Kir-like 通道早先都归属于 KCO 通道,后来基于它们不同的通道结构把它们分成了 2 类^[140],TPK 蛋白通常具有 4 个串联的跨膜结构域和 2 个孔环结构,而 Kir-like 通道则只有 2 个跨膜结构域和 1 个孔环结构。TPK 和 Kir-like 家族的少数成员还具有 C 端的 EF-hand 结构域,暗示它们可能受 Ca²⁺ 的调控^[140]。水稻中钾离子转运体的研究较为

滞后。基因组预测表明,水稻中有 27 个 *OsHAK* 基因成员^[141]。聚类分析可以把 *OsHAKs* 分为 Cluster I ~ IV 4 个大类,且不同类型 *OsHAKs* 的组织亚细胞定位也不尽相同,说明这些基因可能在参与钾离子吸收转运及植物生长发育过程中执行不同的功能^[131,141]。*OsAKT1* 是水稻中最先被克隆的钾离子通道基因,与拟南芥的 *AKT1* 高度同源,属于 Shaker 类钾离子通道。体外实验证明,*OsAKT1* 是电压依赖的内向整流型钾离子通道,并受到外源 Ca²⁺ 和 H⁺ 的调节^[142,143]。*OsTPKa* 和 *OsTPKb* 是水稻中 2 个与 *AtTPK1* 同源的基因(序列一致性为 57%),分别定位于裂解型液泡(lytic vacuole, LV)和蛋白储存型液泡(protein storage vacuole, PSV),暗示它们可能参与了不同组织钾离子稳态的维持^[144]。

目前,钾离子信号转导的研究主要集中低钾胁迫下在对钾离子通道的分子调控上。研究发现,植物中类钙调磷酸酶 B 蛋白(calcineurin B-like protein, CBL)和丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(CBL-interacting protein kinase, CIPK)是参与钾离子通道分子调控的 2 个非常重要的组分。在低钾胁迫时,CBL1 或 CBL9 能募集细胞质中的 CIPK23 到细胞膜上,CIPK23 磷酸化并激活定位在细胞膜上的 Shaker 类内向钾离子通道 AKT1,导致胞外钾离子向细胞内流^[145]。同样,对 AKT2 调控也存在类似的机制。CBL4-CIPK6 蛋白复合体能将 AKT2 从内质网导向细胞膜,从而激活其钾离子通道活性。与 AKT1 调控所不同的是,AKT2 被 CIPK6 激活是物理性蛋白互作依赖的,而非受其磷酸酶活性影响^[146]。在液泡膜上,CBL3(或者 CBL2)能够通过与 CIPK9 互作激活某个未知的钾离子通道蛋白(或者钾离子转运蛋白),从而释放液泡中储存的钾离子进入胞质^[147]。钾离子通道蛋白在受到正调控的同时,也受到多种蛋白的负调控,例如,AIP1(AKT1-interacting PP2C)^[148],AtKC1^[149]和 CBL10^[150]等均能负调 AKT1 的活性。其中 CBL10 通过与 CIPK23 竞争来和 AKT1 相互作用,从而抑制 AKT1 的通道活性^[150]。此外,钙依赖蛋白激酶(Ca²⁺-dependent protein kinase, CPK)CPK11 和 CPK24 还可以通过级联作用调控在花粉管伸长过程中 SPIK(AKT6)通道介导的钾离子内流^[151]。CBL9-CIPK23 蛋白复合体除了参与对钾离子通道的调控外,还参与了对硝酸盐转运蛋白 CHL1(NRT1.1)的调控,暗示了 CBL9-CIPK23 是调控植物体内氮和钾平衡的一个信

号节点, CBL 与 CIPK 的不同组合调控了不同元素的转运蛋白(或通道蛋白)的活性, 也提示研究者需要去进一步挖掘它们对调控其他元素的潜在功能, 乃至它们可能参与逆境反应的调控机制, 进而揭示一个完整清晰的 CBL-CIPK 调控网络, 这些都需要深入研究.

4 铁锌硒吸收及转运的分子机制

4.1 铁锌硒吸收的分子机制

铁和锌是植物必需的微量元素. 在植物体内铁参与光合和呼吸过程中的电子传递以及无机氮的同化与固氮等生理活动. 锌是植物体内多种酶组分或活化剂, 参与光合作用、生长素和蛋白质代谢等多个生物学过程. 此外, 铁、锌和硒 3 种元素又是人和动物必需的微量元素, 对人和动物健康起重要作用. 例如, 硒具有抗氧化、提高免疫力和预防癌症等多种重要生理功能. 此外, 硒在延缓衰老、维持甲状腺功能和男性生育功能等方面也具有重要作用. 因此, 提高植物对铁、锌和硒的吸收和转运能力, 并进一步提高在植物可食部分的累积显得非常重要. 土壤中, 铁易受 pH、磷酸根离子和氧化还原反应等多种因素影响, 常以稳定的不溶性 Fe^{3+} 氧化物形式存在, 不利于植物吸收. 锌主要以难溶形式存在, 其生物有效性受土壤物理、化学特性等多种因素影响. 硒主要以元素硒、硒化物、亚硒酸盐、硒酸盐和有机态硒 5 种形态存在, 其中硒酸盐和亚硒酸盐可以直接被植物根系吸收利用^[152].

为了适应土壤中的铁胁迫, 植物体进化出不同的机制以获取土壤中的铁. 依据吸收利用铁元素的方式不同, 被子植物可划分为 2 类, 即机制 I 植物和机制 II 植物^[153,154]. 机制 I 植物主要包括双子叶植物和禾本科以外的单子叶植物, 机制 II 植物主要指禾本科植物. 在机制 I 和机制 II 转运系统外, 植物还存在 NRAMP(natural resistance associated macrophage protein)转运系统. 在单子叶或双子叶植物中, 均存在高度同源的 NRAMP 基因, 主要参与维持细胞内的金属离子平衡^[155]. 植物吸收铁机制 I 和机制 II 的划分并非绝对, 水稻不仅具有机制 II 植物特有的铁吸收系统, 也有机制 I 植物吸收铁的特征, 如利用 Fe^{2+} 转运蛋白 OsIRT1 和 OsIRT2 吸收 Fe^{2+} ^[156,157]. 正常条件下, 机制 I 植物通过 Fe^{3+} 还原酶将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} , 然后通过质膜低亲和转运蛋白吸收^[153]. 机制 I 植物

主要利用 ZIP(ZRT/IRT-related protein)家族中的 IRT 转运蛋白吸收土壤中的铁^[158,159]. AtIRT1 和 AtIRT2 为高亲和铁转运蛋白, 缺铁能诱导 AtIRT1 和 AtIRT2 在根中表达^[158,160]. AtIRT3 编码定位细胞膜的锌铁转运蛋白, 过表达该基因能提高铁在根中的累积^[161]. 植物在缺铁条件下能诱导根质膜 Fe^{3+} 还原酶的表达, 将 Fe^{3+} 还原为易于溶解的 Fe^{2+} , 然后被根系吸收^[162]. 拟南芥 AtFRO2(ferric reduction oxidase 2)基因编码低铁诱导的根表皮细胞膜 Fe^{3+} 还原酶. 与野生型相比, 在缺铁条件下过表达该基因的株系生长良好, 表明 Fe^{3+} 还原酶是限制铁吸收的关键酶^[162]. 具有机制 II 的禾本科植物主要通过根系分泌铁载体(phytosiderophores, PS)螯合根际中的 Fe^{3+} , 然后在 YSL(YSL-like protein)家族转运蛋白作用下将 Fe^{3+} -PS 转运到植物体内^[163]. 机制 II 植物根系能分泌大量铁载体如麦根酸(mugineic acids, MAs)到根际中^[164]. MAs 由 L-蛋氨酸和尼克酰胺(nicotianamine)合成, 尼克酰胺氨基转移酶(nicotianamine aminotransferase, NAAT)是合成麦根酸的关键酶, 在水稻中过表达大麦(*Hordeum vulgare* L.)尼克酰胺氨基转移酶基因 HvNAAT-A 和 HvNAAT-B, 能提高水稻根系麦根酸的分泌量和低铁条件下土壤中铁的有效性^[165]. OsNAAT1 是水稻中克隆到的尼克酰胺氨基转移酶基因, 铁胁迫时根和茎叶中 OsNAAT1 的表达量升高, 在根伴胞和中柱鞘细胞中尤为明显^[166]. 水稻尼克酰胺合成酶基因 NAS(nicotianamine synthase)属于多基因家族, 在缺铁条件下, OsNAS1 和 OsNAS2 在水稻根和茎叶中表达水平升高, 而 OsNAS3 仅在根中表达量升高, 在叶片中表达却受到抑制. OsNAS1, OsNAS2 和 OsNAS3 都涉及到铁在水稻中的长距离转运^[167]. 最近一项转基因试验表明, 在水稻中以水稻胚乳特异的启动子驱动表达大麦尼克酰胺合成酶基因(HvNAS1), 2 个氨基酸转移酶基因(HvNAAT-A 和 HvNAAT-B)和麦根酸合成酶基因(IDS3)显著增加了根际麦根酸的合成, 并降低对铁胁迫的敏感性, 从而提高了水稻种子铁含量^[168]. 单子叶植物主要通过 YSL 转运蛋白吸收土壤中的铁. 玉米(*Zea mays*)YS1 是最早发现的 YSL 类膜转运蛋白, 负责吸收土壤中的 Fe -PS 复合物^[163]. 水稻 OsYSL15 主要在根表皮细胞中表达, 缺铁条件下该基因表达上调, 负责从土壤中获取铁^[163].

植物吸收锌主要依赖 ZIP 家族转运蛋白系统. 拟

南芥中有 16 个家族成员, 其中 AtZIP1, AtZIP2, AtZIP3 和 AtZIP4 蛋白能从功能上互补酵母锌吸收缺陷型突变体^[169]. 在缺锌条件下, AtZIP1, AtZIP3 和 AtZIP4 在拟南芥根和茎叶中的转录水平升高, 其中 AtZIP1 和 AtZIP3 在根中特异性表达, 而 AtZIP4 在根和茎叶中均有表达^[170]. 在水稻中, 缺锌提高 OsZIP4, OsZIP5 和 OsZIP8 在根中的表达水平, 提高锌在根中的累积^[171~173]. 植物还可以通过其他转运蛋白吸收锌, 如 AtIRT1 和 AtIRT3. 虽然 AtIRT1 是拟南芥根系吸收 Fe^{2+} 的主要转运蛋白, 缺铁提高其在根中转录水平和蛋白表达水平, 但同时也促进了锌在根中的累积, 并且高水平锌降低其表达水平和蛋白稳定性^[174]. AtIRT3 能互补酵母锌吸收缺陷型突变体, 过表达 AtIRT3 提高锌在拟南芥茎叶中累积^[161]. 此外, 禾本科植物根系分泌的 PS 能螯合难溶性锌, 并通过根表皮细胞膜上的 YSL 转运蛋白吸收锌^[175]. 根系从土壤中吸收的锌主要储存在根细胞的细胞质和液泡中. 有趣的是, 植物中存在一类受锌特异性诱导的金属硫蛋白, 其在细胞质中与锌结合, 保持细胞中锌的稳态, 发挥锌在植物体内的各种生理调节功能, 过表达金属硫蛋白基因 OsMT1a 能提高锌在根中的积累^[176]. AtMTP1(Arabidopsis metal tolerance protein 1) 和 AtMTP3 是定位于液泡膜上锌转运蛋白, 负责将细胞质中游离的锌转运到液泡中. AtMTP3 的拟南芥干涉植株能显著提高茎叶中的锌含量, 可见 AtMTP3 是限制锌从根向茎叶转运的主要蛋白^[177]. 拟南芥 ZIF1 编码 MFS(major facilitator superfamily)超家族的一个成员. zif1 突变体的茎叶中累积了较多的锌, 而没有发现其他金属离子的累积. 因此 ZIF1 可能涉及锌在细胞内储存以及在植物体内的分配^[178].

植物通过根细胞膜上的硫转运蛋白吸收硒酸盐. 在拟南芥中过表达硫转运蛋白基因, 能促进硒酸盐的积累^[179]. 通过筛选拟南芥耐硒酸盐突变体, 鉴定出了高亲和硫转运蛋白 Sultr1;2, 表明 Sultr1;2 除转运硫酸盐外, 还可转运硒酸盐, 揭示了植物吸收硒酸盐的分子机制^[180,181]. 研究发现, 亚硒酸盐不能通过硫转运蛋白进入根内^[182], 而呼吸抑制剂和低温也只能部分抑制亚硒酸盐吸收^[183~185], 所以, 一般认为植物可能通过被动方式吸收亚硒酸盐^[179]. 进一步研究发现, 在亚硒酸盐溶液中实际上存在 H_2SeO_3 , SeO_3^{2-} 和 HSeO_3^- 等不同硒形式, 不同硒形式的浓度随溶液 pH 改变而发生很大变化^[182]. 植物根系主要通过水通道

吸收 H_2SeO_3 , 通过主动方式吸收 HSeO_3^- , 而通过被动方式吸收 SeO_3^{2-} ^[182,186]. 进一步研究发现, 水通道家族中的硅内流转运蛋白 Lsi1 能透过 H_2SeO_3 ^[187]. 人们推测小麦(*Triticum aestivum* L.)主动吸收 HSeO_3^- 可能受磷转运蛋白调控^[188]. 本研究组证实, 水稻能通过磷转运蛋白 OsPT2 吸收亚硒酸盐, 从而提供了植物主动吸收亚硒酸盐的分子证据^[189].

4.2 铁锌硒转运的分子机制

植物体内铁从吸收部位转运到地上部分的过程中, 有机酸和尼克酰胺发挥关键作用. 尼克酰胺或柠檬酸与铁络合, 提高了铁的有效性, 阻止铁在植物体内的沉积. OsFRDL1 是定位在水稻根中柱鞘细胞中的柠檬酸转运蛋白, 敲除 OsFRDL1 基因导致铁在中柱中沉积和水稻叶片黄化, 表明柠檬酸是铁从根向茎叶转运所必需的^[190]. 铁从根表皮到木质部的径向运输主要通过共质体途径转运到中柱, 然后通过木质部薄壁细胞或转移细胞释放到木质部导管, 而这个径向运输则是制约铁向茎叶运输的瓶颈. 在机制 II 植物中, 尼克酰胺不仅是合成 MAs 的重要中间产物, 也是促进铁转运的重要络合剂^[191]. 尼克酰胺可能是共质体中铁的络合剂, 它与 Fe^{3+} 能以不同方式结合^[191]. 铁进入木质部导管后以 Fe^{3+} -柠檬酸或 Fe^{3+} -尼克酰胺形式(Fe^{3+} -NA)转运. Fe^{3+} 与柠檬酸或尼克酰胺结合受 pH 影响. 在 pH 6.5 时, Fe^{3+} 与尼克酰胺具有较强的亲合力, 其络合物最为稳定. 在 pH 5.5~6.0 条件下, 铁容易与柠檬酸络合, 说明柠檬酸可能是植物体内的主要络合剂^[192]. 尼克酰胺参与了韧皮部铁的转运和在细胞质中的分配. 尼克酰胺缺乏时, 降低铁的有效性和流动性, 从而导致铁在叶绿体或韧皮部伤流液中沉淀. 例如, 番茄 *chloronerva* 突变体中 NAS 基因一单碱基改变导致幼叶严重黄化的表型, 原因就是植物缺少尼克酰胺而导致铁长距离转运受阻^[193], 可见尼克酰胺在植物体内铁平衡中起关键作用. YSL 是一类在铁转运和分配中起作用的转运蛋白. 水稻已有 18 个 YSLs 基因被克隆和鉴定, YSLs 在根和茎叶中均有表达. 在正常和缺铁条件下, OsYSL5-7, OsYSL14 和 OsYSL17 主要在根表皮、皮层和中柱细胞中表达. OsYSL2, -15 和 -18 能转运 Fe^{3+} -NA, 涉及铁在植株中的分配^[163]. 其中, OsYSL2 能转运 Fe^{2+} -NA 复合物, 负责铁的长距离转运^[194,195]. 在双子叶植物中, YSL 也起转运铁和尼克酰胺复合物的作用^[196].

植物根系吸收的锌转运过程涉及 2 个关键步骤: (i) 在根中锌离子从木质部薄壁细胞装载到木质部, 薄壁细胞内膜负电势是锌离子外运强有力的屏障. 拟南芥和大麦木质部薄壁细胞质膜含有质子泵, 负责锌离子向外转运^[174]. 拟南芥根木质部薄壁细胞膜上存在重金属离子 ATP 酶(heavy metal ATPase, HMA), 这类转运蛋白能把锌从薄壁细胞中转运到木质部, 然后至茎叶^[197]. *hma2hma4* 双突变体导致锌向茎叶转运减少, 茎叶生长受阻, 叶片黄化, 相反, 提高了根中锌含量^[198]. 说明 HMA 对于锌运出木质部薄壁细胞是必需的; (ii) 在叶片中锌离子从木质部导管卸载到韧皮部, 金属离子在根或叶细胞间流动需要络合剂, 尼克酰胺和铁载体可能是锌离子在根细胞间流动所必需的. YSL 蛋白具有转运金属离子和尼克酰胺复合物的作用, 在铁转运中研究较多. 利用 *ysl1ysl3* 双突变体所做的研究表明, YSL 转运蛋白也是锌从叶片向籽粒转运所必需的^[199]. 研究表明, 锌从根中向茎叶转运并不能有效地提高水稻籽粒锌含量, 而其主要瓶颈就在于如何将锌从水稻的茎有效地转运到籽粒中. 锌离子进入种子需要通过韧皮部维管系统, 而韧皮部卸载可能是锌向种子转运的关键步骤^[200]. 锌在糊粉层、胚特别是盾片中含量最高, 胚乳中最低^[201]. 在种子中, 锌与植酸(phytate)结合, 储存在膜包被的球状体(globoids)中^[174].

亚硒酸盐被植物吸收后仅有小部分被转运到茎叶, 而大部分留在根中. 供应亚硒酸盐时, 植物茎硒/根硒比小于 0.5, 而供应硒酸盐时, 茎硒/根硒比可达 1.4~17.2^[202]. 研究证明, 用硒酸盐处理大豆根系, 所吸收的硒在 3 h 内有 50% 被转运到茎叶, 而用亚硒酸盐处理时仅有小部分被转运至茎叶, 大部分留在根部^[184]. 亚硒酸盐被植物吸收后在根内发生代谢由无机硒转化为硒代氨基酸等有机硒, 然后再转运至茎叶^[202]. 亚硒酸盐首先在非酶物质和一系列酶作用下形成硒代半胱氨酸, 并进一步在胱硫醚- γ -合酶和胱硫醚- β -裂解酶作用下形成硒代胱硫醚, 最后在蛋氨酸合酶参与下形成硒代蛋氨酸^[179]. 胱硫醚- γ -合酶是蛋氨酸合成的限速步骤^[203], 控制着硒从根向茎叶的转运. 在硒超累积植物二沟黄芩(*Astragalus bisulcatus*)中, 亚硒酸盐在根中转化为硒代半胱氨酸后, 并未在胱硫醚- γ -合酶作用下形成硒代胱硫醚, 而

是甲基化形成甲基-硒代半胱氨酸(MeSeCys)^[204,205]. 由于这种形式的有机硒易于向茎叶转运, 因而大大提高了硒的转运效率. 在拟南芥和印度芥菜(*Brassica juncea*)中过表达二沟黄芩的硒代半胱氨酸甲基转移酶基因 *SMT*, 根中硒代半胱氨酸被转化为甲基-硒代半胱氨酸, 同时促进了硒向茎叶中转运^[204,205]. 因此, 植物亚硒酸盐转运效率低与其在根中易于形成硒代蛋氨酸等有机硒有关.

铁、锌和亚硒酸盐被植物吸收后易于在根中积累, 因此提高铁、锌和硒向茎叶转运是今后的研究重点. 在根细胞中, 一部分铁和锌与细胞质中尼克酰胺等络合剂结合, 另一部分被转运到液泡中暂时储存, 这样在很大程度上限制了铁和锌向地上部转运. 因此, 提高铁和锌在根细胞中的流动性是促进其向地上部转运的前提. 研究发现, 液泡膜上的转运蛋白能与金属离子络合剂相互作用, 调节液泡的吸收能力, 从而调控金属离子的长距离运输^[206]. 此外, 铁和锌转运蛋白特异性低, 鉴定特异性转运蛋白对于降低重金属镉等在植物中的累积具有重要意义. 亚硒酸盐在根细胞中转化为硒代蛋氨酸形式的有机硒, 这部分硒在根细胞中的分配以及如何向地上部转运并不清楚. 因此, 鉴定硒代蛋氨酸等的转运蛋白是今后的研究重点.

5 总结与展望

目前, 人们在水稻氮磷钾及铁锌硒等微量元素吸收、转运(表 1)及调控研究上积累了大量知识, 然而距全面了解水稻营养吸收的调控网络还有很长一段距离. 尽管数量性状基因座(quantitative trait locus, QTL)分析发现了多个与氮^[221~226]、磷^[227~230]和钾^[231~233]相关的 QTL 位点(图 2), 也在部分染色体区域发现多种元素相关的 QTL 聚集区域(如第 8 号染色体), 但多数 QTL 都表现为在不同遗传背景下不能重复, 定位到的 QTL 加性效应小, 解释表型变异小. 以氮相关 QTL 为例, 目前定位到 26 个主效 QTL, 主要集中在 1, 2, 3, 8, 9 和 10 号染色体, 其中在不同遗传背景下能定位到相同(或相近)区间的仅有 2 个(分布在第 2 和 10 号染色体上). 产生这一问题的原因主要在于 QTL 分析中田间表型鉴定给营养元素 QTL 定位准确性带来很大影响. 因为田间营养表型鉴定有很

表 1 水稻中已鉴定的氮、磷、钾及铁、锌、硒的转运蛋白(或通道蛋白)基因

基因名称	基因号	功能注释	参考文献
<i>OsAMT1;1</i>	Os04g0509600	铵转运蛋白	[25]
<i>OsAMT1;2</i>	Os02g0620600	铵转运蛋白	[25]
<i>OsAMT1;3</i>	Os02g0620500	铵转运蛋白	[25]
<i>OsAMT2;1</i>	Os05g0468700	铵转运蛋白	[19,26]
<i>OsAMT2;3</i>	Os01g0831900	铵转运蛋白	[19,26]
<i>OsNRT2.1</i>	Os02g0112100	高亲和性硝酸盐转运蛋白	[58,59]
<i>OsNRT2.2</i>	Os02g0112600	高亲和性硝酸盐转运蛋白	[58,59]
<i>OsNRT2.3</i>	Os01g0704100	高亲和性硝酸盐转运蛋白	[58~60]
<i>OsPTR9</i>	Os06g0706400	肽转运蛋白	[55]
<i>OsPT1</i>	Os03g0150600	磷酸盐转运蛋白	[114]
<i>OsPT2</i>	Os03g0150800	磷酸盐转运蛋白	[103,115,189]
<i>OsPT6</i>	Os08g0564000	磷酸盐转运蛋白	[115]
<i>OsPT8</i>	Os10g0444700	磷酸盐转运蛋白	[118]
<i>OsPT11</i>	Os01g0657100	磷酸盐转运蛋白	[112]
<i>OsHKT1;5</i>	Os01g0307500	钠离子转运蛋白	[207]
<i>OsHKT2;1</i>	Os06g0701700	钠离子转运蛋白	[208]
<i>OsHKT2;4</i>	Os06g0701600	高亲和性钾离子转运蛋白	[209]
<i>OsHAK1</i>	Os04g0401700	高亲和性 HAK 类钾离子转运蛋白	[131]
<i>OsAKT1</i>	Os01g0648000	Shaker 类钾离子通道	[142,143]
<i>OsTPKa</i>	Os03g0752300	双孔钾离子通道	[144]
<i>OsTPKb</i>	Os07g0108800	双孔钾离子通道	[144]
<i>OsIRT1</i>	Os03g0667500	亚铁离子转运蛋白	[156,157]
<i>OsIRT2</i>	Os03g0667300	亚铁离子转运蛋白	[156,157]
<i>OsYSL2</i>	Os02g0649900	金属-尼克酰胺转运蛋白	[194,195]
<i>OsYSL15</i>	Os02g0650300	铁离子-脱氧麦根酸转运蛋白	[210,211]
<i>OsYSL18</i>	Os01g0829900	铁离子-脱氧麦根酸转运蛋白	[212]
<i>OsZIP4</i>	Os08g0207500	锌离子转运蛋白	[171,213]
<i>OsZIP8</i>	Os07g0232800	锌离子转运蛋白	[173]
<i>OsVIT1</i>	Os04g0463400	液泡铁离子转运蛋白	[214]
<i>OsVIT2</i>	Os09g0396900	液泡铁离子转运蛋白	[214]
<i>OsHMA2</i>	Os06g0700700	重金属 ATP 酶	[215~217]
<i>OsHMA3</i>	Os07g0232900	重金属 ATP 酶	[218,219]
<i>OsHMA9</i>	Os06g0665800	重金属 ATP 酶	[220]
<i>LSH(OsNIP2;1)</i>	Os02g0745100	硅内流转运蛋白(亚硒酸盐通道)	[187]

多不可控制因素, 如土壤肥力、肥料溶解效率和养分流失等, 使不同实验室定位到的基因(或 QTL)存在偏差或难以重复. 此外, 农作物是如何协调氮磷钾及微量元素间的平衡的? 不同营养元素代谢网络间是不是存在一些关键节点? 人们有无可能实现作物氮磷钾的协同改良? 这些问题都亟待回答.

水稻已具有近万年的栽培驯化史, 丰富的种质资源中包含大量优异等位变异. 随着第二代测序技术的发展和鉴定技术的进步, 全基因组关联分析

(genome-wide association study, GWAS)将成为发掘水稻遗传变异位点的有效方法^[235~237]. 可以预见, 未来几年由于大量水稻遗传资源基因型-表型的鉴定, 加上 GWAS 方法的成熟, 获取与营养相关的关键位点将成为可能, 也为系统全面的认知不同营养信号通路奠定了基础.

此外, 水稻还是一种重要的粮食作物, 世界上水稻种植总面积大约为 161178 万公顷, 而其中 90% 以上的水稻种植区域分布在亚洲^[238]. 亚洲稻又分为籼

图2 目前水稻中定位的氮、磷和钾主效 QTL 位点

Chr: 水稻的染色体; CEN: 着丝粒; RM: 水稻的 SSR 标记(<http://www.gramene.org>). 各染色体左侧的数字代表遗传距离(cM). 相邻或相近位置出现的同种元素相关的 QTL 位点代表不同研究组利用不同群体定位到的 QTL. 图中的水稻遗传连锁图谱修改自 Huang 等人^[234]

稻和粳稻 2 种类型, 其中粳稻因其有耐低温, 米质优等而在中国、日本和韩国广为种植, 东亚 3 国粳稻种植面积占到水稻种植总面积的 39%. 然而粳稻的氮肥利用效率要远低于籼稻, 因此, 如何改良粳稻的氮肥利用效率也是生物科学家和育种家主要关注且亟待解决的问题. 围绕我国农业生产中的重大战略需求, 中国科学院刚刚启动了战略性先导专项“分子模块设计育种创新体系”, 利用各种水稻种质资源和高通量组学技术, 以现有的优良粳稻品种为改良对象, 解析产量、品质、抗病、耐逆、养分高效吸收利用等复杂农艺性状的可遗传操作的单元(分子模块), 将全基因组选择技术和传统育种技术有机结合, 实现对多个分子模块进行优化组装, 培育高产、稳产、优质、高效新品种(图 3). 其中植物高效营养吸收模块的解析、组装和利用是其中的重要研究内容, 我们相信, 通过努力, 将会很快找到打开绿色超级稻之门的钥匙.

图3 高效分子模块设计育种路线图

参考文献

- 1 Maathuis F J M. Physiological functions of mineral macronutrients. *Curr Opin Plant Biol*, 2009, 12: 250–258
- 2 Maathuis F J, Diatloff E. Roles and functions of plant mineral nutrients. *Methods Mol Biol*, 2013, 953: 1–21
- 3 Guo J H, Liu X J, Zhang Y, et al. Significant acidification in major Chinese croplands. *Science*, 2010, 327: 1008–1010
- 4 Zhang Q. Strategies for developing Green Super Rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 16402–16409
- 5 Xu G, Fan X, Miller A J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annu Rev Plant Biol*, 2012, 63: 153–182
- 6 Arth I, Frenzel P, Conrad R. Denitrification coupled to nitrification in the rhizosphere of rice. *Soil Biol Biochem*, 1998, 30: 509–515
- 7 Wang M Y, Siddiqi M Y, Ruth T J, et al. Ammonium uptake by rice roots: I. Fluxes and subcellular distribution of $^{15}\text{NH}_4^+$. *Plant Physiol*, 1993, 103: 1249–1258
- 8 Kronzucker H J, Kirk G J D, Siddiqi M Y, et al. Effects of hypoxia on $^{15}\text{NH}_4^+$ fluxes in rice roots: kinetics and compartmental analysis. *Plant Physiol*, 1998, 116: 581–587
- 9 Kronzucker H J, Siddiqi M Y, Glass A D M, et al. Nitrate-ammonium synergism in rice: a subcellular flux analysis. *Plant Physiol*, 1999, 119: 1041–1045
- 10 Kirk G J, Kronzucker H J. The potential for nitrification and nitrate uptake in the rhizosphere of wetland plants: a modelling study. *Ann Bot*, 2005, 96: 639–646
- 11 Li Y L, Fan X R, Shen Q R. The relationship between rhizosphere nitrification and nitrogen-use efficiency in rice plants. *Plant Cell Environ*, 2008, 31: 73–85
- 12 Ta T C, Tsutsumi M, Kurihara K. Comparative study on the response of Indica and Japonica rice plants to ammonium and nitrate nitrogen. *Soil Sci Plant Nutr*, 1981, 27: 83–92
- 13 Ta T C, Ohira K. Effects of various environmental and medium conditions on the response of Indica and Japonica rice plants to ammonium and nitrate nitrogen. *Soil Sci Plant Nutr*, 1981, 27: 347–355
- 14 Sohlenkamp C, Wood C C, Roeb G W, et al. Characterization of *Arabidopsis* AtAMT2, a high-affinity ammonium transporter of the plasma membrane. *Plant Physiol*, 2002, 130: 1788–1796
- 15 Sohlenkamp C, Shelden M, Howitt S, et al. Characterization of *Arabidopsis* AtAMT2, a novel ammonium transporter in plants. *FEBS Lett*, 2000, 467: 273–278
- 16 Loque D, Yuan L, Kojima S, et al. Additive contribution of AMT1;1 and AMT1;3 to high-affinity ammonium uptake across the plasma membrane of nitrogen-deficient *Arabidopsis* roots. *Plant J*, 2006, 48: 522–534
- 17 Yuan L, Loque D, Kojima S, et al. The organization of high-affinity ammonium uptake in *Arabidopsis* roots depends on the spatial arrangement and biochemical properties of AMT1-type transporters. *Plant Cell*, 2007, 19: 2636–2652
- 18 Yuan L, Graff L, Loque D, et al. AtAMT1;4, a pollen-specific high-affinity ammonium transporter of the plasma membrane in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50: 13–25
- 19 Suenaga A, Moriya K, Sonoda Y, et al. Constitutive expression of a novel-type ammonium transporter *OsAMT2* in rice plants. *Plant Cell Physiol*, 2003, 44: 206–211
- 20 Bu Y Y, Takano T, Nemoto K, et al. Research progress of ammonium transporter in rice plants. *Genomics Appl Biol*, 2009, 28: 19–23
- 21 Sonoda Y, Ikeda A, Saiki S, et al. Distinct expression and function of three ammonium transporter genes (*OsAMT1;1-1;3*) in rice. *Plant Cell Physiol*, 2003, 44: 726–734
- 22 Xuan Y H, Priatama R A, Huang J, et al. Indeterminate domain 10 regulates ammonium-mediated gene expression in rice roots. *New Phytol*, 2013, 197: 791–804
- 23 Hoque M S, Masle J, Udvardi M K, et al. Over-expression of the rice *OsAMT1-1* gene increases ammonium uptake and content, but impairs growth and development of plants under high ammonium nutrition. *Funct Plant Biol*, 2006, 33: 153–163
- 24 Ranathunge K, El-Kereamy A, Gidda S, et al. *OsAMT1;1* transgenic rice plants with enhanced NH_4^+ permeability show superior growth and higher yield under optimal and suboptimal NH_4^+ conditions. *J Exp Bot*, 2014, 65: 965–979
- 25 Sonoda Y, Ikeda A, Yamaya T, et al. Feedback regulation of the ammonium transporter gene family *AMT1* by glutamine in rice. *Plant Cell Physiol*, 2003, 44: 1396–1402
- 26 Gaur V S, Singh U S, Gupta A K, et al. Influence of different nitrogen inputs on the members of ammonium transporter and glutamine synthetase genes in two rice genotypes having differential responsiveness to nitrogen. *Mol Biol Rep*, 2012, 39: 8035–8044
- 27 Gaur V S, Singh U S, Gupta A K, et al. Understanding the differential nitrogen sensing mechanism in rice genotypes through expression analysis of high and low affinity ammonium transporter genes. *Mol Biol Rep*, 2012, 39: 2233–2241
- 28 Li S M, Li B Z, Shi W M. Expression patterns of nine ammonium transporters in rice in response to N status. *Pedosphere*, 2012, 22: 860–869
- 29 Ding Z, Wang C, Chen S, et al. Diversity and selective sweep in the *OsAMT1;1* genomic region of rice. *BMC Evol Biol*, 2011, 11: 61

- 30 Leran S, Varala K, Boyer J C, et al. A unified nomenclature of NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family members in plants. *Trends Plant Sci*, 2014, 19: 5–9
- 31 Tsay Y F, Schroeder J I, Feldmann K A, et al. The herbicide sensitivity gene *CHL1* of *Arabidopsis* encodes a nitrate-inducible nitrate transporter. *Cell*, 1993, 72: 705–713
- 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. *Plant Cell*, 1999, 11: 865–874
- 33 Huang N C, Liu K H, Lo H J, et al. Cloning and functional characterization of an *Arabidopsis* nitrate transporter gene that encodes a constitutive component of low-affinity uptake. *Plant Cell*, 1999, 11: 1381–1392
- 34 Cerezo M, Tillard P, Filleul S, et al. Major alterations of the regulation of root NO_3^- uptake are associated with the mutation of *NRT2.1* and *NRT2.2* genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2001, 127: 262–271
- 35 Little D Y, Rao H, Oliva S, et al. The putative high-affinity nitrate transporter *NRT2.1* represses lateral root initiation in response to nutritional cues. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 13693–13698
- 36 Li W, Wang Y, Okamoto M, et al. Dissection of the *AtNRT2.1:AtNRT2.2* inducible high-affinity nitrate transporter gene cluster. *Plant Physiol*, 2007, 143: 425–433
- 37 Okamoto M, Kumar A, Li W, et al. High-affinity nitrate transport in roots of *Arabidopsis* depends on expression of the *NAR2*-like gene, *AtNRT3.1*. *Plant Physiol*, 2006, 140: 1036–1046
- 38 Orsel M, Chopin F, Leleu O, et al. Characterization of a two-component high-affinity nitrate uptake system in *Arabidopsis*. Physiology and protein-protein interaction. *Plant Physiol*, 2006, 142: 1304–1317
- 39 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. *Plant Cell*, 2008, 20: 2514–2528
- 40 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. *Plant Cell*, 2010, 22: 1633–1646
- 41 Wang Y Y, Tsay Y F. *Arabidopsis* nitrate transporter *NRT1.9* is important in phloem nitrate transport. *Plant Cell*, 2011, 23: 1945–1957
- 42 Chen C Z, Lv X F, Li J Y, et al. *Arabidopsis NRT1.5* is another essential component in the regulation of nitrate reallocation and stress tolerance. *Plant Physiol*, 2012, 159: 1582–1590
- 43 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. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45: 1139–1148
- 44 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. *Plant Cell*, 2009, 21: 2750–2761
- 45 Hsu P K, Tsay Y F. Two phloem nitrate transporters, *NRT1.11* and *NRT1.12*, are important for redistributing xylem-borne nitrate to enhance plant growth. *Plant Physiol*, 2013, 163: 844–856
- 46 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. *Plant Cell*, 2012, 24: 245–258
- 47 Almagro A, Lin S H, Tsay Y F. Characterization of the *Arabidopsis* nitrate transporter *NRT1.6* reveals a role of nitrate in early embryo development. *Plant Cell*, 2008, 20: 3289–3299
- 48 Chopin F, Orsel M, Dorbe M F, et al. The *Arabidopsis* *ATNRT2.7* nitrate transporter controls nitrate content in seeds. *Plant Cell*, 2007, 19: 1590–1602
- 49 Bergsdorf E Y, Zdebek A A, Jentsch T J. Residues important for nitrate/proton coupling in plant and mammalian CLC transporters. *J Biol Chem*, 2009, 284: 11184–11193
- 50 De Angeli A, Monachello D, Ephritikhine G, et al. The nitrate/proton antiporter *AtCLCa* mediates nitrate accumulation in plant vacuoles. *Nature*, 2006, 442: 939–942
- 51 Geelen D, Lurin C, Bouchez D, et al. Disruption of putative anion channel gene *AtCLC-a* in *Arabidopsis* suggests a role in the regulation of nitrate content. *Plant J*, 2000, 21: 259–267
- 52 von der Fecht-Bartenbach J, Bogner M, Dynowski M, et al. CLC-b-mediated NO_3^-/H^+ exchange across the tonoplast of *Arabidopsis* vacuoles. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51: 960–968
- 53 Lin C M, Koh S, Stacey G, et al. Cloning and functional characterization of a constitutively expressed nitrate transporter gene, *OsNRT1*, from rice. *Plant Physiol*, 2000, 122: 379–388
- 54 Ouyang J, Cai Z, Xia K, et al. Identification and analysis of eight peptide transporter homologs in rice. *Plant Sci*, 2010, 179: 374–382
- 55 Fang Z, Xia K, Yang X, et al. Altered expression of the *PTR/NRT1* homologue *OsPTR9* affects nitrogen utilization efficiency, growth and grain yield in rice. *Plant Biotechnol J*, 2013, 11: 446–458
- 56 Araki R, Hasegawa H. Expression of rice (*Oryza sativa* L.) genes involved in high-affinity nitrate transport during the period of nitrate

- induction. *Breed Sci*, 2006, 56: 295–302
- 57 Cai C, Wang J Y, Zhu Y G, et al. Gene structure and expression of the high-affinity nitrate transport system in rice roots. *J Integr Plant Biol*, 2008, 50: 443–451
- 58 Feng H M, Yan M, Fan X R, et al. Spatial expression and regulation of rice high-affinity nitrate transporters by nitrogen and carbon status. *J Exp Bot*, 2011, 62: 2319–2332
- 59 Yan M, Fan X, Feng H, et al. Rice OsNAR2.1 interacts with OsNRT2.1, OsNRT2.2 and OsNRT2.3a nitrate transporters to provide uptake over high and low concentration ranges. *Plant Cell Environ*, 2011, 34: 1360–1372
- 60 Tang Z, Fan X, Li Q, et al. Knockdown of a rice stelar nitrate transporter alters long-distance translocation but not root influx. *Plant Physiol*, 2012, 160: 2052–2063
- 61 Crawford N M. Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *Plant Cell*, 1995, 7: 859–868
- 62 Stitt M. Nitrate regulation of metabolism and growth. *Curr Opin Plant Biol*, 1999, 2: 178–186
- 63 Forde B G. Local and long-range signaling pathways regulating plant responses to nitrate. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, 53: 203–224
- 64 Malamy J E. Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. *Plant Cell Environ*, 2005, 28: 67–77
- 65 Ho C H, Lin S H, Hu H C, et al. CHL1 functions as a nitrate sensor in plants. *Cell*, 2009, 138: 1184–1194
- 66 Wang R, Xing X, Wang Y, et al. A genetic screen for nitrate regulatory mutants captures the nitrate transporter gene *NRT1.1*. *Plant Physiol*, 2009, 151: 472–478
- 67 Hu H C, Wang Y Y, Tsay Y F. AtCIPK8, a CBL-interacting protein kinase, regulates the low-affinity phase of the primary nitrate response. *Plant J*, 2009, 57: 264–278
- 68 Krouk G, Lacombe B, Bielach A, et al. Nitrate-regulated auxin transport by NRT1.1 defines a mechanism for nutrient sensing in plants. *Dev Cell*, 2010, 18: 927–937
- 69 Parker J L, Newstead S. Molecular basis of nitrate uptake by the plant nitrate transporter NRT1.1. *Nature*, 2014, 507: 68–72
- 70 Sun J, Bankston J R, Payandeh J, et al. Crystal structure of the plant dual-affinity nitrate transporter NRT1.1. *Nature*, 2014, 507: 73–77
- 71 Tsay Y F. Plant science: how to switch affinity. *Nature*, 2014, 507: 44–45
- 72 Zhang H, Forde B G. An *Arabidopsis* MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture. *Science*, 1998, 279: 407–409
- 73 Remans T, Nacry P, Pervent M, et al. The *Arabidopsis* NRT1.1 transporter participates in the signaling pathway triggering root colonization of nitrate-rich patches. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 19206–19211
- 74 Gan Y, Bernreiter A, Filleur S, et al. Overexpressing the *ANR1* MADS-box gene in transgenic plants provides new insights into its role in the nitrate regulation of root development. *Plant Cell Physiol*, 2012, 53: 1003–1016
- 75 Rubin G, Tohge T, Matsuda F, et al. Members of the LBD family of transcription factors repress anthocyanin synthesis and affect additional nitrogen responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2009, 21: 3567–3584
- 76 Castaings L, Camargo A, Pocholle D, et al. The nodule inception-like protein 7 modulates nitrate sensing and metabolism in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2009, 57: 426–435
- 77 Marchive C, Roudier F, Castaings L, et al. Nuclear retention of the transcription factor NLP7 orchestrates the early response to nitrate in plants. *Nat Commun*, 2013, 4: 1713
- 78 Konishi M, Yanagisawa S. *Arabidopsis* NIN-like transcription factors have a central role in nitrate signalling. *Nat Commun*, 2013, 4: 1617
- 79 Huang X Z, Qian Q, Liu Z B, et al. Natural variation at the DEP1 locus enhances grain yield in rice. *Nat Genet*, 2009, 41: 494–497
- 80 Sun H Y, Qian Q, Wu K, et al. Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice. *Nat Genet*, 2014, 46: 652–656
- 81 Liang C Z, Wang Y Q, Zhu Y N, et al. OsNAP connects abscisic acid and leaf senescence by fine-tuning abscisic acid biosynthesis and directly targeting senescence-associated genes in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 10013–10018
- 82 Raghothama K G. Phosphate acquisition. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999, 50: 665–693
- 83 Secco D, Jabnourne M, Walker H, et al. Spatio-temporal transcript profiling of rice roots and shoots in response to phosphate starvation and recovery. *Plant Cell*, 2013, 25: 4285–4304
- 84 Franco-Zorrilla J M, Gonzalez E, Bustos R, et al. The transcriptional control of plant responses to phosphate limitation. *J Exp Bot*, 2004, 55: 285–293
- 85 Hu B, Chu C. Phosphate starvation signaling in rice. *Plant Signal Behav*, 2011, 6: 927–929
- 86 Bari R. PHO2, MicroRNA399, and PHR1 define a phosphate-signaling pathway in plants. *Plant Physiol*, 2006, 141: 988–999
- 87 Schachtman D P, Shin R. Nutrient sensing and signaling: NPKS. *Annu Rev Plant Biol*, 2007, 58: 47–69
- 88 Rubio V. A conserved MYB transcription factor involved in phosphate starvation signaling both in vascular plants and in unicellular algae. *Genes Dev*, 2001, 15: 2122–2133

- 89 Nilsson L, Müller R, Nielsen T H. Increased expression of the MYB-related transcription factor, *PHR1*, leads to enhanced phosphate uptake in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ*, 2007, 30: 1499–1512
- 90 Miura K, Rus A, Sharkhuu A, et al. The *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ1 controls phosphate deficiency responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 7760–7765
- 91 Fujii H, Chiou T J, Lin S I, et al. A miRNA involved in phosphate-starvation response in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2005, 15: 2038–2043
- 92 Chiou T J. Regulation of phosphate homeostasis by MicroRNA in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18: 412–421
- 93 Liu T Y, Huang T K, Tseng C Y, et al. PHO2-dependent degradation of PHO1 modulates phosphate homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2012, 24: 2168–2183
- 94 Huang T K, Han C L, Lin S I, et al. Identification of downstream components of ubiquitin-conjugating enzyme PHOSPHATE2 by quantitative membrane proteomics in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell*, 2013, 25: 4044–4060
- 95 Lin W Y, Huang T K, Chiou T J. NITROGEN LIMITATION ADAPTATION, a target of MicroRNA827, mediates degradation of plasma membrane-localized phosphate transporters to maintain phosphate homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2013, 25: 4061–4074
- 96 Park B S, Seo J S, Chua N H. NITROGEN LIMITATION ADAPTATION recruits PHOSPHATE2 to target the phosphate transporter PT2 for degradation during the regulation of *Arabidopsis* phosphate homeostasis. *Plant Cell*, 2014, 26: 454–464
- 97 Devaiah B N, Nagarajan V K, Raghothama K G. Phosphate homeostasis and root development in *Arabidopsis* are synchronized by the zinc finger transcription factor ZAT6. *Plant Physiol*, 2007, 145: 147–159
- 98 Chen Z, Nimmo G, Jenkins G, et al. BHLH32 modulates several biochemical and morphological processes that respond to Pi starvation in *Arabidopsis*. *Biochem J*, 2007, 405: 191–198
- 99 Devaiah B N, Madhuvanthi R, Karthikeyan A S, et al. Phosphate starvation responses and gibberellic acid biosynthesis are regulated by the *MYB62* transcription factor in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2009, 2: 43–58
- 100 Chen Y F, Li L Q, Xu Q, et al. The WRKY6 transcription factor modulates *PHOSPHATE1* expression in response to low Pi stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2009, 21: 3554–3566
- 101 Devaiah B N, Karthikeyan A S, Raghothama K G. WRKY75 transcription factor is a modulator of phosphate acquisition and root development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 143: 1789–1801
- 102 Zhou J, Jiao F, Wu Z, et al. OsPHR2 is involved in phosphate-starvation signaling and excessive phosphate accumulation in shoots of plants. *Plant Physiol*, 2008, 146: 1673–1686
- 103 Liu F, Wang Z, Ren H, et al. OsSPX1 suppresses the function of OsPHR2 in the regulation of expression of *OsPT2* and phosphate homeostasis in shoots of rice. *Plant J*, 2010, 62: 508–517
- 104 Wang C, Ying S, Huang H, et al. Involvement of *OsSPX1* in phosphate homeostasis in rice. *Plant J*, 2009, 57: 895–904
- 105 Wang Z, Ruan W, Shi J, et al. Rice SPX1 and SPX2 inhibit phosphate starvation responses through interacting with PHR2 in a phosphate-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 14953–14958
- 106 Lv Q, Zhong Y, Wang Y, et al. SPX4 negatively regulates phosphate signaling and homeostasis through its interaction with PHR2 in rice. *Plant Cell*, 2014, 26: 1586–1597
- 107 Hu B, Zhu C, Li F, et al. *LEAF TIP NECROSIS1* plays a pivotal role in the regulation of multiple phosphate starvation responses in rice. *Plant Physiol*, 2011, 156: 1101–1115
- 108 Hu B, Wang W, Deng K, et al. MicroRNA399 is involved in multiple nutrients starvation responses in rice. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 188
- 109 Dai X, Wang Y, Yang A, et al. OsMYB2P-1, an R2R3 MYB transcription factor, is involved in the regulation of phosphate-starvation responses and root architecture in rice. *Plant Physiol*, 2012, 159: 169–183
- 110 Yi K, Wu Z, Zhou J, et al. OsPTF1, a novel transcription factor involved in tolerance to phosphate starvation in rice. *Plant Physiol*, 2005, 138: 2087–2096
- 111 Gamuyao R, Chin J H, Pariasca-Tanaka J, et al. The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. *Nature*, 2012, 488: 535–539
- 112 Paszkowski U, Kroken S, Roux C, et al. Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 13324–13329
- 113 Wu P, Shou H, Xu G, et al. Improvement of phosphorus efficiency in rice on the basis of understanding phosphate signaling and homeostasis. *Curr Opin Plant Biol*, 2013, 16: 205–212
- 114 Sun S, Gu M, Cao Y, et al. A constitutive expressed phosphate transporter, OsPht1;1, modulates phosphate uptake and translocation in phosphate-replete rice. *Plant Physiol*, 2012, 159: 1571–1581
- 115 Ai P, Sun S, Zhao J, et al. Two rice phosphate transporters, OsPht1;2 and OsPht1;6, have different functions and kinetic properties in uptake and translocation. *Plant J*, 2009, 57: 798–809
- 116 Shin H, Shin H S, Dewbre G R, et al. Phosphate transport in *Arabidopsis*: Pht1;1 and Pht1;4 play a major role in phosphate acquisition

- from both low- and high-phosphate environments. *Plant J*, 2004, 39: 629–642
- 117 Misson J, Thibaud M C, Bechtold N, et al. Transcriptional regulation and functional properties of *Arabidopsis* Pht1;4, a high affinity transporter contributing greatly to phosphate uptake in phosphate deprived plants. *Plant Mol Biol*, 2004, 55: 727–741
- 118 Jia H, Ren H, Gu M, et al. The phosphate transporter gene *OsPht1;8* is involved in phosphate homeostasis in rice. *Plant Physiol*, 2011, 156: 1164–1175
- 119 Bayle V, Arrighi J F, Creff A, et al. *Arabidopsis thaliana* high-affinity phosphate transporters exhibit multiple levels of posttranslational regulation. *Plant Cell*, 2011, 23: 1523–1535
- 120 Chen J, Liu Y, Ni J, et al. OsPHF1 regulates the plasma membrane localization of low- and high-affinity inorganic phosphate transporters and determines inorganic phosphate uptake and translocation in rice. *Plant Physiol*, 2011, 157: 269–278
- 121 Gonzalez E. PHOSPHATE TRANSPORTER TRAFFIC FACILITATOR1 is a plant-specific SEC12-related protein that enables the endoplasmic reticulum exit of a high-affinity phosphate transporter in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2005, 17: 3500–3512
- 122 Leigh R A, Jones R G W. A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and functions of this ion in the plant cell. *New Phytol*, 1984, 97: 1–13
- 123 Walker D J, Leigh R A, Miller A J. Potassium homeostasis in vacuolate plant cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 10510–10514
- 124 Gierth M, Mäser P. Potassium transporters in plants—involvement in K⁺ acquisition, redistribution and homeostasis. *FEBS Lett*, 2007, 581: 2348–2356
- 125 Fu H H, Luan S. AtKUP1: a dual-affinity K⁺ transporter from *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 1998, 10: 63–73
- 126 Kim E J, Kwak J M, Uozumi N, et al. AtKUP1: an *Arabidopsis* gene encoding high-affinity potassium transport activity. *Plant Cell*, 1998, 10: 639–639
- 127 Elumalai R P, Nagpal P, Reed J W. A mutation in the *Arabidopsis* *KT2/KUP2* potassium transporter gene affects shoot cell expansion. *Plant Cell*, 2002, 14: 119–131
- 128 Rigas S, Debrosses G, Haralampidis K, et al. *TRH1* encodes a potassium transporter required for tip growth in *Arabidopsis* root hairs. *Plant Cell*, 2001, 13: 139–151
- 129 Gierth M. The potassium transporter AtHAK5 functions in K⁺ deprivation-induced high-affinity K⁺ uptake and AKT1 K⁺ channel contribution to K⁺ uptake kinetics in *Arabidopsis* roots. *Plant Physiol*, 2005, 137: 1105–1114
- 130 Santa-Maria G E, Rubio F, Dubcovsky J, et al. The *HAK1* gene of barley is a member of a large gene family and encodes a high-affinity potassium transporter. *Plant Cell*, 1997, 9: 2281–2289
- 131 Banuelos M A. Inventory and functional characterization of the HAK potassium transporters of rice. *Plant Physiol*, 2002, 130: 784–795
- 132 Barragan V, Leidi E O, Andres Z, et al. Ion exchangers NHX1 and NHX2 mediate active potassium uptake into vacuoles to regulate cell turgor and stomatal function in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2012, 24: 1127–1142
- 133 Bassil E, Tajima H, Liang Y C, et al. The *Arabidopsis* Na⁺/H⁺ antiporters NHX1 and NHX2 control vacuolar pH and K⁺ homeostasis to regulate growth, flower development, and reproduction. *Plant Cell*, 2011, 23: 3482–3497
- 134 Cellier F, Conéjéro G, Ricaud L, et al. Characterization of *AtCHX17*, a member of the cation/H⁺ exchangers, CHX family, from *Arabidopsis thaliana* suggests a role in K⁺ homeostasis. *Plant J*, 2004, 39: 834–846
- 135 Padmanaban S, Chanroj S, Kwak J M, et al. Participation of endomembrane cation/H⁺ exchanger AtCHX20 in osmoregulation of guard cells. *Plant Physiol*, 2007, 144: 82–93
- 136 Song C P, Guo Y, Qiu Q, et al. A probable Na⁺(K⁺)/H⁺ exchanger on the chloroplast envelope functions in pH homeostasis and chloroplast development in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 10211–10216
- 137 Zhao J, Cheng N H, Motes C M, et al. AtCHX13 is a plasma membrane K⁺ transporter. *Plant Physiol*, 2008, 148: 796–807
- 138 Gambale F, Uozumi N. Properties of shaker-type potassium channels in higher plants. *J Membr Biol*, 2006, 210: 1–19
- 139 Very A A, Sentenac H. Molecular mechanisms and regulation of K⁺ transport in higher plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54: 575–603
- 140 Wang Y, Wu W H. Potassium transport and signaling in higher plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2013, 64: 451–476
- 141 Gupta M, Qiu X H, Wang L, et al. KT/HAK/KUP potassium transporters gene family and their whole-life cycle expression profile in rice (*Oryza sativa*). *Mol Genet Genomics*, 2008, 280: 437–452
- 142 Fuchs I, Stölzle S, Ivashikina N, et al. Rice K⁺ uptake channel OsAKT1 is sensitive to salt stress. *Planta*, 2004, 221: 212–221
- 143 Li J, Long Y, Qi G N, et al. The Os-AKT1 channel is critical for K⁺ uptake in rice roots and is modulated by the rice CBL1-CIPK23 complex. *Plant cell*, 2014, 26: 3387–3402
- 144 Isayenkova S, Isner J C, Maathuis F J M. Rice two-pore K⁺ channels are expressed in different types of vacuoles. *Plant Cell*, 2011, 23: 756–768
- 145 Xu J, Li H D, Chen L Q, et al. A protein kinase, interacting with two calcineurin B-like proteins, regulates K⁺ transporter AKT1 in *Arabidopsis*. *Cell*, 2006, 125: 1347–1360

- 146 Held K, Pascaud F, Eckert C, et al. Calcium-dependent modulation and plasma membrane targeting of the AKT2 potassium channel by the CBL4/CIPK6 calcium sensor/protein kinase complex. *Cell Res*, 2011, 21: 1116–1130
- 147 Liu L L, Ren H M, Chen L Q, et al. A protein kinase, calcineurin B-like protein-interacting protein kinase 9, interacts with calcium sensor calcineurin B-like protein 3 and regulates potassium homeostasis under low-potassium stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2012, 161: 266–277
- 148 Lee S C, Lan W Z, Kim B G, et al. A protein phosphorylation/dephosphorylation network regulates a plant potassium channel. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 15959–15964
- 149 Wang Y, He L, Li H D, et al. Potassium channel α -subunit AtKC1 negatively regulates AKT1-mediated K^+ uptake in *Arabidopsis* roots under low- K^+ stress. *Cell Res*, 2010, 20: 826–837
- 150 Ren X L, Qi G N, Feng H Q, et al. Calcineurin B-like protein CBL10 directly interacts with AKT1 and modulates K^+ homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2013, 74: 258–266
- 151 Zhao L N, Shen L K, Zhang W Z, et al. Ca^{2+} -dependent protein kinase 11 and 24 modulate the activity of the inward rectifying K^+ channels in *Arabidopsis* pollen tubes. *Plant Cell*, 2013, 25: 649–661
- 152 Sors T G, Ellis D R, Salt D E. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynth Res*, 2005, 86: 373–389
- 153 Curie C, Briat J F. Iron transport and signaling in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54: 183–206
- 154 Fox T C, Mary L G. Molecular biology of cation transport in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, 49: 669–696
- 155 Thomine S W R, Ward J M, Crawford N M, et al. Cadmium and iron transport by members of a plant transporter gene family in *Arabidopsis* with homology to *NRAMP* genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 4991–4996
- 156 Ishimaru Y, Suzuki M, Tsukamoto T, et al. Rice plants take up iron as an Fe^{3+} -phytosiderophore and as Fe^{2+} . *Plant J*, 2006, 45: 335–346
- 157 Ishimaru Y, Kim S, Tsukamoto T, et al. Mutational reconstructed ferric chelate reductase confers enhanced tolerance in rice to iron deficiency in calcareous soil. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 7373–7378
- 158 Vert G. IRT1, an *Arabidopsis* transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. *Plant Cell*, 2002, 14: 1223–1233
- 159 Vert G A, Briat J F, Curie C. Dual regulation of the *Arabidopsis* high-affinity root iron uptake system by local and long-distance signals. *Plant Physiol*, 2003, 132: 796–804
- 160 Vert G, Barberon M, Zelazny E, et al. *Arabidopsis* IRT2 cooperates with the high-affinity iron uptake system to maintain iron homeostasis in root epidermal cells. *Planta*, 2009, 229: 1171–1179
- 161 Lin Y F, Liang H M, Yang S Y, et al. *Arabidopsis* IRT3 is a zinc-regulated and plasma membrane localized zinc/iron transporter. *New Phytol*, 2009, 182: 392–404
- 162 Connolly E L, Campbell N H, Grotz N, et al. Overexpression of the FRO2 ferric chelate reductase confers tolerance to growth on low iron and uncovers posttranscriptional control. *Plant Physiol*, 2003, 133: 1102–1110
- 163 Curie C, Cassin G, Couch D, et al. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. *Ann Bot*, 2009, 103: 1–11
- 164 Bashir K, Ishimaru Y, Nishizawa N K. Iron uptake and loading into rice grains. *Rice*, 2010, 3: 122–130
- 165 Takahashi M N H, Kawasaki S, Nishizawa N K, et al. Enhanced tolerance of rice to low iron availability in alkaline soils using barley nicotianamine aminotransferase genes. *Nat Biotechnol*, 2001, 19: 466–469
- 166 Inoue H, Takahashi M, Kobayashi T, et al. Identification and localisation of the rice nicotianamine aminotransferase gene *OsNAAT1* expression suggests the site of phytosiderophore synthesis in rice. *Plant Mol Biol*, 2008, 66: 193–203
- 167 Inoue H H K, Takahashi M, Nakanishi H, et al. Three rice nicotianamine synthase genes, *OsNAS1*, *OsNAS2*, and *OsNAS3* are expressed in cells involved in long-distance transport of iron and differentially regulated by iron. *Plant J*, 2003, 36: 366–381
- 168 Masuda H, Kobayashi T, Ishimaru Y, et al. Iron-biofortification in rice by the introduction of three barley genes participated in mugineic acid biosynthesis with soybean ferritin gene. *Front Plant Sci*, 2013, 4: 132
- 169 Mäser P, Thomine S, Schroeder J I, et al. Phylogenetic relationships within cation transporter families of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2001, 126: 1646–1667
- 170 Grotz N, Gueriot M L. Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1763: 595–608
- 171 Ishimaru Y, Masuda H, Suzuki M, et al. Overexpression of the OsZIP4 zinc transporter confers disarrangement of zinc distribution in rice plants. *J Exp Bot*, 2007, 58: 2909–2915
- 172 Lee S, Jeong H J, Kim S A, et al. OsZIP5 is a plasma membrane zinc transporter in rice. *Plant Mol Biol*, 2010, 73: 507–517
- 173 Lee S, Kim S A, Lee J, et al. Zinc deficiency-inducible OsZIP8 encodes a plasma membrane-localized zinc transporter in rice. *Mol Cells*, 2010, 29: 551–558
- 174 Palmgren M G, Clemens S, Williams L E, et al. Zinc biofortification of cereals: problems and solutions. *Trends Plant Sci*, 2008, 13:

464–473

- 175 Arnold T, Kirk G J, Wissuwa M, et al. Evidence for the mechanisms of zinc uptake by rice using isotope fractionation. *Plant Cell Environ*, 2010, 33: 370–381
- 176 Yang Z, Wu Y, Li Y, et al. OsMT1a, a type 1 metallothionein, plays the pivotal role in zinc homeostasis and drought tolerance in rice. *Plant Mol Biol*, 2009, 70: 219–229
- 177 Arrivault S, Senger T, Kramer U. The *Arabidopsis* metal tolerance protein AtMTP3 maintains metal homeostasis by mediating Zn exclusion from the shoot under Fe deficiency and Zn oversupply. *Plant J*, 2006, 46: 861–879
- 178 Haydon M J, Cobbett C S. A novel major facilitator superfamily protein at the tonoplast influences zinc tolerance and accumulation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 143: 1705–1719
- 179 Terry N, Zayed A M, De Souza M P, et al. Selenium in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2000, 51: 401–432
- 180 Shibagaki N R A, McDermott J P, Fujiwara T, et al. Selenate-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* identify Sultr1;2, a sulfate transporter required for efficient transport of sulfate into roots. *Plant J*, 2002, 29: 475–486
- 181 El Kassis E, Cathala N, Rouached H, et al. Characterization of a selenate-resistant *Arabidopsis* mutant. Root growth as a potential target for selenate toxicity. *Plant Physiol*, 2007, 143: 1231–1241
- 182 Zhang L, Shi W, Wang X. Difference in selenite absorption between high- and low-selenium rice cultivars and its mechanism. *Plant Soil*, 2006, 282: 183–193
- 183 Arvy M. Some factors influencing the uptake and distribution of selenite in the bean plant (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Soil*, 1989, 117: 129–133
- 184 Arvy M. Selenate and selenite uptake and translocation in bean plants (*Phaseolus vulgaris*). *J Exp Bot*, 1993, 44: 1083–1087
- 185 Ulrich J M S A. Selenium absorption by excised astragalus roots. *Plant Physiol*, 1968, 43: 14–20
- 186 Zhang L, Yu F, Shi W, et al. Physiological characteristics of selenite uptake by maize roots in response to different pH levels. *J Plant Nutr Soil Sci*, 2010, 173: 417–422
- 187 Zhao X Q, Mitani N, Yamaji N, et al. Involvement of silicon influx transporter OsNIP2;1 in selenite uptake in rice. *Plant Physiol*, 2010, 153: 1871–1877
- 188 Li H F, McGrath S P, Zhao F J. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytol*, 2008, 178: 92–102
- 189 Zhang L H, Hu B, Li W, et al. OsPT2, a phosphate transporter, is involved in the active uptake of selenite in rice. *New Phytol*, 2014, 201: 1183–1191
- 190 Yokosho K, Yamaji N, Ueno D, et al. OsFRDL1 is a citrate transporter required for efficient translocation of iron in rice. *Plant Physiol*, 2009, 149: 297–305
- 191 von Wiren N K S, Bansal S, Briat J F, et al. Nicotianamine chelates both Fe^{III} and Fe^{II}: implications for metal transport in plants. *Plant Physiol*, 1999, 119: 1107–1114
- 192 Stephan U W, Schmidke I, Stephan V W, et al. The nicotianamine molecule is made-to-measure for complexation of metal micronutrients in plants. *Biometals*, 1996, 9: 84–90
- 193 Ling H Q, Koch G, Baumlein H, et al. Map-based cloning of chloronerva, a gene involved in iron uptake of higher plants encoding nicotianamine synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 7098–7103
- 194 Koike S, Inoue H, Mizuno D, et al. OsYSL2 is a rice metal-nicotianamine transporter that is regulated by iron and expressed in the phloem. *Plant J*, 2004, 39: 415–424
- 195 Ishimaru Y, Masuda H, Bashir K, et al. Rice metal-nicotianamine transporter, OsYSL2, is required for the long-distance transport of iron and manganese. *Plant J*, 2010, 62: 379–390
- 196 DiDonato R J Jr, Roberts L A, Sanderson T, et al. *Arabidopsis Yellow Stripe-Like2 (YSL2)*: a metal-regulated gene encoding a plasma membrane transporter of nicotianamine-metal complexes. *Plant J*, 2004, 39: 403–414
- 197 Vitart V, Baxter I, Doerner P, et al. Evidence for a role in growth and salt resistance of a plasma membrane H⁺-ATPase in the root endodermis. *Plant J*, 2001, 27: 191–201
- 198 Hussain D, Haydon M J, Wang Y, et al. P-type ATPase heavy metal transporters with roles in essential zinc homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2004, 16: 1327–1339
- 199 Waters B M, Grusak M A. Whole-plant mineral partitioning throughout the life cycle in *Arabidopsis thaliana* ecotypes Columbia, Landsberg erecta, Cape Verde Islands, and the mutant line *ysl1ysl3*. *New Phytol*, 2008, 177: 389–405
- 200 Stomph T J, Jiang W, Van Der Putten P E, et al. Zinc allocation and re-allocation in rice. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 8
- 201 Ozturk L, Yazici M A, Yucel C, et al. Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. *Physiol Plant*, 2006, 128: 144–152

- 202 Zayed A, Lytle C M, Terry N. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Planta*, 1998, 206: 284–292
- 203 Van Huysen T, Abdel-Ghany S, Hale K L, et al. Overexpression of cystathionine-gamma-synthase enhances selenium volatilization in *Brassica juncea*. *Planta*, 2003, 218: 71–78
- 204 LeDuc D L. Overexpression of selenocysteine methyltransferase in *Arabidopsis* and indian mustard increases selenium tolerance and accumulation. *Plant Physiol*, 2004, 135: 377–383
- 205 Ellis D R, Sors T G, Brunk D G, et al. Production of Se-methylselenocysteine in transgenic plants expressing selenocysteine methyltransferase. *BMC Plant Biol*, 2004, 4: 1–11
- 206 Peng J S, Gong J M. Vacuolar sequestration capacity and long-distance metal transport in plants. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 19
- 207 Ren Z H, Gao J P, Li L G, et al. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nat Genet*, 2005, 37: 1141–1146
- 208 Horie T, Costa A, Kim T H, et al. Rice OsHKT2;1 transporter mediates large Na⁺ influx component into K⁺-starved roots for growth. *EMBO J*, 2007, 26: 3003–3014
- 209 Horie T, Brodsky D E, Costa A, et al. K⁺ Transport by the OsHKT2;4 transporter from rice with atypical Na⁺ transport properties and competition in permeation of K⁺ over Mg²⁺ and Ca²⁺ ions. *Plant Physiol*, 2011, 156: 1493–1507
- 210 Lee S, Chiecko J C, Kim S A, et al. Disruption of OsYSL15 leads to iron inefficiency in rice plants. *Plant Physiol*, 2009, 150: 786–800
- 211 Inoue H, Kobayashi T, Nozoye T, et al. Rice OsYSL15 is an iron-regulated iron(III)-deoxymugineic acid transporter expressed in the roots and is essential for iron uptake in early growth of the seedlings. *J Biol Chem*, 2009, 284: 3470–3479
- 212 Aoyama T, Kobayashi T, Takahashi M, et al. OsYSL18 is a rice iron(III)-deoxymugineic acid transporter specifically expressed in reproductive organs and phloem of lamina joints. *Plant Mol Biol*, 2009, 70: 681–692
- 213 Ishimaru Y, Suzuki M, Kobayashi T, et al. OsZIP4, a novel zinc-regulated zinc transporter in rice. *J Exp Bot*, 2005, 56: 3207–3214
- 214 Zhang Y, Xu Y H, Yi H Y, et al. Vacuolar membrane transporters OsVIT1 and OsVIT2 modulate iron translocation between flag leaves and seeds in rice. *Plant J*, 2012, 72: 400–410
- 215 Yamaji N, Xia J, Mitani-Ueno N, et al. Preferential delivery of zinc to developing tissues in rice is mediated by P-type heavy metal ATPase OsHMA2. *Plant Physiol*, 2013, 162: 927–939
- 216 Takahashi R, Ishimaru Y, Shimo H, et al. The OsHMA2 transporter is involved in root-to-shoot translocation of Zn and Cd in rice. *Plant Cell Environ*, 2012, 35: 1948–1957
- 217 Satoh-Nagasawa N, Mori M, Nakazawa N, et al. Mutations in rice (*Oryza sativa*) heavy metal ATPase 2 (OsHMA2) restrict the translocation of zinc and cadmium. *Plant Cell Physiol*, 2012, 53: 213–224
- 218 Sasaki A, Yamaji N, Ma J F. Overexpression of OsHMA3 enhances Cd tolerance and expression of Zn transporter genes in rice. *J Exp Bot*, 2014, 65: 6013–6021
- 219 Miyadate H, Adachi S, Hiraizumi A, et al. OsHMA3, a P1B-type of ATPase affects root-to-shoot cadmium translocation in rice by mediating efflux into vacuoles. *New Phytol*, 2011, 189: 190–199
- 220 Lee S, Kim Y Y, Lee Y, et al. Rice P1B-type heavy-metal ATPase, OsHMA9, is a metal efflux protein. *Plant Physiol*, 2007, 145: 831–842
- 221 Feng Y, Cao L, Wu W, et al. Mapping QTLs for nitrogen-deficiency tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breed*, 2010, 129: 652–656
- 222 Hu S K, Zeng D L, Su Y, et al. QTL analysis of nitrogen content of plant shoot under two nitrogen conditions in rice (*Oryza sativa* L.). *Aust J Crop Sci*, 2012, 6: 1734–1744
- 223 Lian X M, Xing Y Z, Yan H, et al. QTLs for low nitrogen tolerance at seedling stage identified using a recombinant inbred line population derived from an elite rice hybrid. *Theor Appl Genet*, 2005, 112: 85–96
- 224 Teng S, Tian C, Chen M, et al. QTLs and candidate genes for chlorate resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 2006, 152: 141–148
- 225 Wei D, Cui K H, Ye G Y, et al. QTL mapping for nitrogen-use efficiency and nitrogen-deficiency tolerance traits in rice. *Plant Soil*, 2012, 359: 281–295
- 226 Zhao C F, Zhou L H, Zhang Y D, et al. QTL mapping for seedling traits associated with low-nitrogen tolerance using a set of advanced backcross introgression lines of rice. *Plant Breed*, 2013, 133: 189–195
- 227 Wissuwa M, Yano M, Ae N. Mapping of QTLs for phosphorus-deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1998, 97: 777–783
- 228 Shimizu A, Kato K, Komatsu A, et al. Genetic analysis of root elongation induced by phosphorus deficiency in rice (*Oryza sativa* L.): fine QTL mapping and multivariate analysis of related traits. *Theor Appl Genet*, 2008, 117: 987–996
- 229 Li J, Xie Y, Dai A, et al. Root and shoot traits responses to phosphorus deficiency and QTL analysis at seedling stage using introgression lines of rice. *J Genet Genomics*, 2009, 36: 173–183

- 230 Heuer S, Lu X, Chin J H, et al. Comparative sequence analyses of the major quantitative trait locus *phosphorus uptake 1* (*Pup1*) reveal a complex genetic structure. *Plant Biotechnol J*, 2009, 7: 456–471
- 231 Gao J P, Lin H X. QTL analysis and map-based cloning of salt tolerance gene in rice. *Methods Mol Biol*, 2013, 956: 69–82
- 232 Wang Z, Chen Z, Cheng J, et al. QTL analysis of Na⁺ and K⁺ concentrations in roots and shoots under different levels of NaCl stress in rice (*Oryza sativa* L.). *PLoS One*, 2012, 7: e51202
- 233 Wu P, Ni J, Luo A. QTLs underlying rice tolerance to low-potassium stress in rice seedlings. *Crop Sci*, 1998, 38: 1458–1462
- 234 Huang R, Jiang L, Zheng J, et al. Genetic bases of rice grain shape: so many genes, so little known. *Trends Plant Sci*, 2013, 18: 218–226
- 235 Huang X, Kurata N, Wei X, et al. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature*, 2012, 490: 497–501
- 236 Huang X, Zhao Y, Wei X, et al. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm. *Nat Genet*, 2012, 44: 32–39
- 237 Huang X, Wei X, Sang T, et al. Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces. *Nat Genet*, 2010, 42: 961–967
- 238 Haefele S M, Nelson A, Hijmans R J. Soil quality and constraints in global rice production. *Geoderma*, 2014, 235: 250–259

Recent Progress in Molecular Dissection of Nutrient Uptake and Transport in Rice

WANG Wei¹, ZHANG LianHe², LI Hua¹, ZHANG ZhiHua¹, HU Bin¹ & CHU ChengCai¹

1 State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

2 School of Agriculture, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China

Plant requires nitrogen, phosphorus, potassium, iron and zinc, which play important physiological functions in plant growth and development. In agricultural production, application of nitrogen, phosphorus, and potassium is the major driving force for modern agriculture to achieve high grain yield. However, continuous and extensive use of chemical fertilizers leads to serious environmental problem, due to excess nitrogen and phosphorus fertilizers leaching into the soil. On the other hand, phosphorus and potassium are non-renewable mineral resources, excess application leads to severe resource shortages. Besides nitrogen, phosphorus, and potassium, the micronutrients such as iron and zinc not only have significant impact on plant productivity and stress tolerance, they are also essential trace elements for human and animal health. Thus, understanding of the molecular mechanisms of uptake, transport and storage for these nutrients is of great importance for improving the use efficiency of fertilizers, reducing environmental damage and agricultural costs, and also for human health. This review summarized most recent progress in the molecular mechanisms of uptake and transport of all these plant nutrients, including nitrogen, phosphorus, potassium, iron, zinc, and selenium.

rice, mineral nutrients, uptake, transport, signaling pathway

doi: 10.1360/N052015-00077