

氮响应转录因子 *ZmNLP5* 影响玉米 氨基酸代谢的研究

葛 敏, 王元琮, 宁丽华, 周 玲, 梁帅强, 邬义波, 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, 南京 210014)

摘 要: 前期利用遗传和生理生化实验发现, 氮响应转录因子 *ZmNLP5* 对玉米氮素吸收利用具有促进作用, 但其调控机制尚未解明。基于此, 以 *ZmNLP5* 基因突变体(*zmnlp5*)和野生型(WT)植株为研究材料, 测定充足氮(SN)和低氮(DN)供给下供试材料地上和地下部 20 种游离氨基酸的含量, 从而进一步解析 *ZmNLP5* 影响玉米氮代谢的生理机制。结果表明, SN 和 DN 条件下, 相对于 WT 植株, *zmnlp5* 植株地上和地下组织中多种氨基酸(40%~70%)含量显著降低, 下降范围为 6.08%~77.70%; 氨基酸总量也显著降低, 下降范围为 17.91%~45.82%。此外, 发现 *ZmNLP5* 对地下组织氨基酸代谢的影响比对地上组织的大, 并且 *ZmNLP5* 基因的功能在低氮环境下更加显著。

关键词: 玉米; 氮素; 转录因子; 氮响应; 氨基酸

中图分类号: S513.035.3

文献标识码: A

Analysis of Nitrogen-Responsive Transcription Factor *ZmNLP5* Affecting Amino Acid Metabolism in Maize

GE Min, WANG Yuan-cong, NING Li-hua, ZHOU Ling, LIANG Shuai-qiang, WU Yi-bo, ZHAO Han

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

Abstract: Previous genetic and physiological experiments have demonstrated that the transcription factor *ZmNLP5* can improve nitrogen uptake and assimilation in maize, however, the underlying regulation mechanism is unclear. In this study, twenty free amino acid contents were measured in the shoots and roots of *zmnlp5* and wild type (W22) plants under hydroponic culture on sufficient nitrogen(SN) solution and deficient nitrogen(DN) solution. When compared with WT plants, a majority of amino acids(40%~70%) in the *zmnlp5* mutant shoots and roots were significantly decreased under SN and DN condition, with approximately 6.08% and 77.70% decreases. The total amino acid content also significantly decreased, with reductions ranging from 17.91% to 45.82%. In addition, *zmnlp5* plants exhibited stronger mutant phenotype in root tissues, especially under deficient nitrogen conditions.

Key words: Maize; Nitrogen; Transcription factor; Nitrogen response; Amino acid

氮素(Nitrogen, N)是植物的生长发育所必需的大量营养元素,也是促进其增产的关键的因素之一^[1-2]。玉米是我国重要的粮食作物,其产量对氮肥施用量依赖度极高^[3]。氮肥的过度施加不仅造成资源浪费,还引发诸多环境问题^[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,有助于保障作物高产的同时降低肥料的施用^[5],具有重要的经济和社会现实意义。

旱地作物主要吸收以硝态氮为主的氮素^[6]。硝态氮进入根部细胞后经同化快速转化成铵态氮,铵态氮结合谷氨酸形成谷氨酰胺,谷氨酰胺作为活跃的氨基供体参与到多种代谢过程^[7-8]。因此,氨基酸(amino acids)是植物氮代谢过程中重要的代谢产物^[9]。氨基酸在植物体内是以游离态、多肽和蛋白质形式存在。游离氨基酸不仅是植物重要的氮源,同时也可以维持植物代谢的平衡,其正常的生理代谢和运输转化是植物体完成生命周期活动的必要保

录用日期: 2024-01-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(32001564)、江苏省种业振兴揭榜挂帅项目(JBGS[2021]012)

作者简介: 葛 敏(1986-),女,湖北当阳人,副研究员,硕士,从事玉米遗传育种研究。Tel: 18205182142

E-mail: gemin8614@163.com

赵 涵为本文通信作者。E-mail: zhaohan@jaas.ac.cn

证^[10-11]。依据氨基酸合成途径的不同,可将氨基酸分为谷氨酸型氨基酸(Glu、Gln、Pro和Arg)、天冬氨酸型氨基酸(Asp、Asn、Lys、Thr和Met)、丙酮酸衍生型氨基酸(Ala、Val、Leu和Ile)、丝氨酸型氨基酸(Ser、Cys和Gly)、磷酸烯醇式丙酮酸衍生型氨基酸(Trp、Tyr和Phe)和5-磷酸核糖衍生型氨基酸(His)。

调控氮代谢的关键因子在拟南芥和水稻中已有报道,如*AtANR1*、*AtNLP7*、*OsNLP4*和*OsDEP1*等^[12-15],上述基因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。Ge等发现,编码玉米氮响应转录因子*ZmNLP5*基因^[16],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(NO_2^- 和 NH_4^+)的积累也显著降低。*ZmNLP5*转录因子是否参与调控玉米地上、地下组织的氨基酸代谢过程尚未明确。本研究选取*ZmNLP5*基因的突变体和野生型材料为研究材料,探究氮响应转录因子*ZmNLP5*对玉米氨基酸代谢的影响,为玉米氮高效育种中有效利用*ZmNLP5*基因奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料与处理方法

试验材料为*ZmNLP5*基因突变体*zmnlp5*(编号:UFMu-01175)和野生型(WT:玉米自交系W22),上述材料获得于美国玉米遗传资源联合存储中心-UniformMu转座子资源库(<http://www.maizegdb.org/uniformmu>)。

充足氮和低氮营养液处理: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(南京)。基础营养液为改良Hoagland营养液,足氮(Sufficient N, SN)和低氮(Deficient N, DN)营养液分别在基础营养液中分别添加15 mmol/L KNO_3 和0.15 mmol/L KNO_3 ^[17],营养液2 d更换1次,常规管理。*zmnlp5*突变体和野生型材料于SN和DN营养液水培培养21 d后,分别对材料的地上部和地下部组织进行取样,烘干至恒重待用。

1.2 主要试剂

氨基酸标准品(购自源叶生物)和色谱级甲醇(购自Tedia公司)。氢氧化钠、氯化钠、磺基水杨酸等试剂均为国产分析纯。

1.3 主要仪器设备

赛卡姆氨基酸全自动分析仪,台式高速离心机(德国SORVAL公司),AR5120电子天平(美国AHOMS公司),便携式超声波清洗仪(深圳杰拓科技)。

1.4 氨基酸测定方法

植物样品在液氮环境下研磨粉碎,准确称量至0.5 g。在样品中加入50%乙醇5 mL(含0.01 mmol/mL的HCl),然后低温水浴超声30 min。样品超声后,12 000 r/min离心5 min,取1 mL提取液过0.22 μm 滤膜,最后进入氨基酸全自动分析仪进行检测。

1.5 数据分析

采用SAS 9.2软件对数据进行分析,组间差异采用单因素方差分析程序, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 充足氮供给下转录因子*ZmNLP5*对玉米地下组织氨基酸代谢的影响

为了探究氮响应转录因子*ZmNLP5*在充足氮环境下对玉米地下组织氨基酸代谢的影响,对充足氮(SN)水培营养液中生长21 d的野生型(WT)和*ZmNLP5*基因突变体(*zmnlp5*)幼苗地下组织的20种游离氨基酸进行测定,并根据氨基酸自身的合成途径对氨基酸进行分组列表(表1)。结果显示,充足氮环境下野生型植株地下组织含量最为丰富的氨基酸为Asn、Gln和Glu,突变体植株中为Gln、Asn和Ala。充足氮条件下相较于野生型材料,20种氨基酸其中有8种氨基酸在突变体材料地下组织中显著下降,分别为Glu、Pro、Asn、Thr、Leu、Ile、Trp和His,下降范围为6.08%~75.86%。野生型材料地下组织中氨基酸总量为1278.75 $\mu\text{g/g}$,突变体材料中氨基酸总量仅为692.85 $\mu\text{g/g}$,显著下降45.82%。

2.2 充足氮供给下转录因子*ZmNLP5*对玉米地上组织氨基酸代谢的影响

为了探究氮响应转录因子*ZmNLP5*在充足氮环境下对玉米地上组织氨基酸代谢的影响,对充足氮(SN)水培营养液中生长21 d的野生型(WT)和*ZmNLP5*基因突变体(*zmnlp5*)幼苗地上组织的20种游离氨基酸进行测定,并根据氨基酸自身的合成途径对氨基酸进行分组列表(表2)。结果显示,充足氮环境下野生型和突变植株地上组织含量最为丰富的氨基酸均为Asn、Ala和Gln。充足氮条件下相较于野生型材料,20种氨基酸中有12种氨基酸在突变体材料地上组织中显著下降,分别为Gln、Thr、Met、Ala、Val、Leu、Ile、Ser、Gly、Trp、Tyr和His,下降范围为18.38%~77.70%。此外结果显示,充足氮环境下突变体地上组织中Glu含量显著增加,与野生型材料相比增加了57.99%。野生型材料根部总氮含量为3 410.79 $\mu\text{g/g}$,*ZmNLP5*基因突变体材料仅为2 799.95 $\mu\text{g/g}$,显著下降17.91%。

表1 充足氮条件下 *zmnlp5* 突变体和野生型植株地下组织中游离氨基酸含量分析

Table 1 Analysis of free amino acid contents in the roots of the WT and <i>zmnlp5</i> seedlings under sufficient nitrogen conditions					μg/g
氨基酸 Amino acid	野生型 Wild type	<i>zmnlp5</i> 突变体 <i>zmnlp5</i> mutant	变化(%) Change	<i>P</i> 值 <i>P</i> value	
谷氨酸(Glu)	142.26±16.47	74.07±0.67	-47.93	0.028 01*	
谷氨酰胺(Gln)	246.33±24.82	215.61±8.89	-12.47	0.241 09	
脯氨酸(Pro)	0.38±0.01	0.36±0.01	-6.08	0.017 34*	
精氨酸(Arg)	12.69±2.79	8.24±1.66	-35.04	0.076 80	
天冬氨酸(Asp)	76.52±1.11	63.78±15.45	-16.64	0.227 58	
天冬酰胺(Asn)	452.28±14.42	109.20±29.30	-75.86	0.000 66**	
赖氨酸(Lys)	8.00±2.13	4.32±1.21	-45.99	0.060 07	
苏氨酸(Thr)	18.78±2.84	11.38±3.00	-39.39	0.036 12*	
蛋氨酸(Met)	2.01±0.69	1.54±0.06	-23.12	0.308 38	
丙氨酸(Ala)	133.98±15.36	96.22±4.07	-28.19	0.078 29	
缬氨酸(Val)	24.34±5.43	13.20±1.78	-50.33	0.078 37	
亮氨酸(Leu)	17.37±2.33	9.63±2.05	-44.53	0.012 48*	
异亮氨酸(Ile)	12.45±3.04	6.49±1.00	-47.85	0.032 10*	
丝氨酸(Ser)	77.45±18.82	46.66±10.61	-39.75	0.069 14	
胱氨酸(Cys)	0.23±0.07	0.15±0.02	-36.04	0.104 74	
甘氨酸(Gly)	9.34±2.68	4.04±0.58	-56.78	0.078 43	
色氨酸(Trp)	2.27±0.02	1.86±0.08	-18.03	0.001 02*	
酪氨酸(Tyr)	21.22±2.53	15.86±3.68	-25.27	0.105 99	
苯丙氨酸(Phe)	5.63±1.62	3.19±0.05	-43.39	0.064 34	
组氨酸(His)	12.97±3.45	7.02±0.91	-45.82	0.044 84*	
氨基酸总量(Sum)	1 278.75±118.90	692.85±112.44	-45.82	0.029 53*	

表2 充足氮条件下 *zmnlp5* 突变体和野生型植株地上组织中游离氨基酸含量分析

Table 2 Analysis of free amino acid contents in the shoots of the WT and <i>zmnlp5</i> seedlings under sufficient nitrogen conditions					μg/g
氨基酸 Amino acid	野生型 Wild type	<i>zmnlp5</i> 突变体 <i>zmnlp5</i> mutant	变化(%) Change	<i>P</i> 值 <i>P</i> value	
谷氨酸(Glu)	93.58±7.99	147.85±15.17	57.99	0.005 39**	
谷氨酰胺(Gln)	399.83±3.25	226.08±34.37	-43.46	0.019 17*	
脯氨酸(Pro)	0.75±0.01	0.72±0.01	-4.16	0.006 81	
精氨酸(Arg)	34.84±10.30	30.70±10.37	-11.86	0.650 00	
天冬氨酸(Asp)	55.24±7.61	46.36±3.09	-16.06	0.229 49	
天冬酰胺(Asn)	1 699.29±241.95	1 641.21±373.28	-3.42	0.870 53	
赖氨酸(Lys)	12.02±5.36	7.85±2.84	-34.72	0.299 21	
苏氨酸(Thr)	48.04±5.03	29.26±6.01	-39.10	0.036 45*	
蛋氨酸(Met)	1.55±0.12	0.35±0.04	-77.70	0.000 07***	
丙氨酸(Ala)	521.50±19.02	322.09±46.66	-38.24	0.030 48*	
缬氨酸(Val)	21.50±4.22	12.03±2.42	-44.05	0.028 05*	
亮氨酸(Leu)	12.83±0.20	6.21±0.10	-51.56	0.000 59***	
异亮氨酸(Ile)	9.34±0.35	5.12±0.34	-45.18	0.006 70**	
丝氨酸(Ser)	291.02±39.40	170.23±39.13	-41.50	0.043 29*	
胱氨酸(Cys)	0.19±0.05	0.13±0.02	-31.24	0.133 34	
甘氨酸(Gly)	163.50±6.72	125.75±10.14	-23.09	0.048 20*	
色氨酸(Trp)	1.77±0.44	0.86±0.14	-51.61	0.026 22*	
酪氨酸(Tyr)	24.34±3.09	12.88±0.34	-47.07	0.034 97*	
苯丙氨酸(Phe)	5.00±1.78	2.30±0.23	-54.04	0.059 46	
组氨酸(His)	14.67±6.09	11.97±5.26	-18.38	0.592 67*	
氨基酸总量(Sum)	3 410.79±25.57	2 799.95±73.17	-17.91	0.005 98**	

2.3 低氮供给下转录因子 *ZmNLP5*对玉米地下组织氨基酸代谢的影响

为了探究氮响应转录因子 *ZmNLP5*在低氮环境下对玉米地下组织氨基酸代谢的影响,对低氮(DN)水培营养液中生长 21 d 的野生型(WT)和 *ZmNLP5* 基因突变体(*zmnlp5*)幼苗地下组织的 20 种游离氨基酸进行测定,并根据氨基酸自身的合成途径对氨基酸进行分组列表(表 3)。结果显示,低氮环境下野生型

和突变体植株地下组织含量最为丰富的氨基酸均为 Gln、Ala 和 Glu。低氮条件下相较于野生型材料,20 种氨基酸其中 14 种氨基酸在突变体材料根部显著下降,分别为 Glu、Gln、Pro、Asp、Asn、Thr、Ala、Val、Leu、Ile、Ser、Gly、Trp 和 His,下降范围为 11.69% ~ 69.72%。野生型材料根部总氨基含量为 406.12 $\mu\text{g/g}$, *ZmNLP5* 基因突变体材料仅为 228.69 $\mu\text{g/g}$,显著下降 43.69%。

表 3 低氮条件下 *zmnlp5*突变体和野生型植株地下组织中游离氨基酸含量分析

Table 3 Analysis of free amino acid contents in the roots of the WT and <i>zmnlp5</i> seedlings under deficient nitrogen conditions				$\mu\text{g/g}$
氨基酸 Amino acid	野生型 Wild type	<i>zmnlp5</i> 突变体 <i>zmnlp5</i> mutant	变化(%) Change	<i>P</i> 值 <i>P</i> value
谷氨酸(Glu)	64.15 $\pm$ 7.85	30.30 $\pm$ 6.48	-52.77	0.012 97*
谷氨酰胺(Gln)	96.34 $\pm$ 10.64	50.60 $\pm$ 5.35	-47.47	0.032 27*
脯氨酸(Pro)	0.67 $\pm$ 0.01	0.56 $\pm$ 0.03	-16.39	0.035 14*
精氨酸(Arg)	14.21 $\pm$ 1.04	9.18 $\pm$ 1.88	-35.39	0.080 49
天冬氨酸(Asp)	23.41 $\pm$ 1.46	14.12 $\pm$ 1.08	-39.67	0.018 63*
天冬酰胺(Asn)	14.65 $\pm$ 2.28	4.43 $\pm$ 1.30	-69.72	0.031 38*
赖氨酸(Lys)	10.47 $\pm$ 0.93	6.14 $\pm$ 2.05	-41.38	0.112 64
苏氨酸(Thr)	11.05 $\pm$ 0.56	7.42 $\pm$ 0.58	-32.89	0.023 81*
蛋氨酸(Met)	1.75 $\pm$ 0.22	1.41 $\pm$ 0.21	-19.75	0.120 00
丙氨酸(Ala)	67.75 $\pm$ 2.01	49.02 $\pm$ 5.35	-27.64	0.043 54*
缬氨酸(Val)	13.63 $\pm$ 0.10	7.76 $\pm$ 1.86	-43.09	0.024 17*
亮氨酸(Leu)	18.77 $\pm$ 3.12	11.94 $\pm$ 1.83	-36.39	0.030 86*
异亮氨酸(Ile)	11.11 $\pm$ 1.99	6.87 $\pm$ 1.30	-38.18	0.036 79*
丝氨酸(Ser)	28.77 $\pm$ 3.27	12.47 $\pm$ 4.11	-56.66	0.048 14*
胱氨酸(Cys)	0.13 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.02	-11.69	0.259 51
甘氨酸(Gly)	4.78 $\pm$ 0.78	1.97 $\pm$ 0.49	-58.76	0.049 47*
色氨酸(Trp)	1.73 $\pm$ 1.16	1.22 $\pm$ 0.11	-29.78	0.009 38*
酪氨酸(Tyr)	12.53 $\pm$ 0.44	8.01 $\pm$ 1.88	-36.10	0.080 59
苯丙氨酸(Phe)	3.81 $\pm$ 0.18	1.68 $\pm$ 0.31	-55.91	0.058 06
组氨酸(His)	6.41 $\pm$ 0.22	3.48 $\pm$ 0.72	-45.66	0.031 21*
氨基酸总量(Sum)	406.12 $\pm$ 27.62	228.69 $\pm$ 47.85	-43.69	0.040 06*

2.4 低氮供给下转录因子 *ZmNLP5*对玉米地上组织氨基酸代谢的影响

为了探究氮响应转录因子 *ZmNLP5*在低氮环境下对玉米地上组织氨基酸代谢的影响,对低氮(DN)水培营养液中生长 21 d 的野生型(WT)和 *ZmNLP5* 基因突变体(*zmnlp5*)幼苗地上组织的 20 种游离氨基酸进行测定,并根据氨基酸自身的合成途径对氨基酸进行分组列表(表 4)。结果显示,低氮环境下野生型植株地上组织含量最为丰富的氨基酸为 Gln、Asn 和 Ala,突变体植株中为 Asn、Gln 和 Ala。低氮条件下相较于野生型材料,20 种氨基酸中有 9 种氨基酸在突变体材料地上组织中显著下降,分别为 Glu、

Gln、Asn、Ala、Val、Leu、Ile、Ser 和 Trp,下降范围为 24.73% ~ 65.58%。此外,突变体材料中 Pro 和 His 含量相较野生型材料有一定程度增加但并不显著。野生型材料根部总氨基含量为 363.62 $\mu\text{g/g}$, *ZmNLP5* 基因突变体材料仅为 220.16 $\mu\text{g/g}$,显著下降 39.45%。

3 结论与讨论

玉米作为重要的粮饲和工业原料作物,其产量的高低对氮肥的依赖性极高。氮肥过度施加不仅造成资源浪费,还会引发环境问题。因此从玉米自身出发提高其氮素利用效率已成为保证农业绿色发展的重要科学问题。前期研究发现,玉米氮响应转录

表4 低氮条件下 *zmnlp5* 突变体和野生型植株地上组织中游离氨基酸含量分析

Table 4 Analysis of free amino acid contents in the shoots of the WT and <i>zmnlp5</i> seedlings under deficient nitrogen conditions					μg/g
氨基酸 Amino acid	野生型 Wild type	<i>zmnlp5</i> 突变体 <i>zmnlp5</i> mutant	变化(%) Change	<i>P</i> 值 <i>P</i> value	
谷氨酸(Glu)	32.09±4.03	17.71±1.95	-44.81	0.045 11*	
谷氨酰胺(Gln)	73.35±5.83	38.29±5.82	-47.80	0.026 52*	
脯氨酸(Pro)	0.39±0.04	0.47±0.13	20.83	0.489 35	
精氨酸(Arg)	7.03±1.83	5.54±0.96	-21.11	0.282 82	
天冬氨酸(Asp)	25.16±3.75	20.77±3.54	-17.44	0.352 09	
天冬酰胺(Asn)	67.71±4.61	50.96±2.59	-24.73	0.046 37*	
赖氨酸(Lys)	7.27±2.51	3.67±0.90	-49.55	0.196 30	
苏氨酸(Thr)	7.43±3.95	5.76±2.12	-22.38	0.555 85	
蛋氨酸(Met)	0.82±0.13	0.79±0.16	-10.52	0.562 04	
丙氨酸(Ala)	60.93±10.42	27.65±1.51	-54.62	0.046 55*	
缬氨酸(Val)	7.72±0.81	4.77±0.29	-38.18	0.039 71*	
亮氨酸(Leu)	7.47±0.81	3.27±0.34	-56.19	0.021 35*	
异亮氨酸(Ile)	6.71±0.68	2.31±0.58	-65.58	0.020 19*	
丝氨酸(Ser)	33.29±5.72	13.79±2.67	-58.58	0.048 62*	
胱氨酸(Cys)	0.11±0.01	0.09±0.01	-8.22	0.399 12	
甘氨酸(Gly)	1.67±0.23	1.65±0.05	-0.74	0.948 44	
色氨酸(Trp)	1.09±0.19	0.67±0.11	-38.66	0.030 57*	
酪氨酸(Tyr)	11.52±4.45	6.73±2.19	-41.62	0.191 74	
苯丙氨酸(Phe)	3.33±0.23	2.21±0.27	-33.98	0.529 56	
组氨酸(His)	8.53±1.61	13.09±4.52	53.56	0.174 29	
氨基酸总量(Sum)	363.62±20.70	220.16±5.91	-39.45	0.013 36*	

因子 *ZmNLP5* 对氮素的吸收利用具有促进作用,但调控机制仍未解明。氨基酸作为氮素代谢的重要产物,其含量对植物各种代谢均有影响。研究转录因子 *ZmNLP5* 对玉米氨基酸代谢具有影响,将对深入解析该基因在玉米氮代谢中的功能奠定基础。

本研究中发现,不同氮素供给下 *ZmNLP5* 对玉米地上和地下组织的游离氨基酸含量均有影响,该基因的功能缺失导致植株体内多种氨基酸含量显著下降。两种氮供给下,突变体地下组织中氨基酸总量下降幅度均高于地上组织,表明 *ZmNLP5* 对地下组织氨基酸代谢的影响比对地上组织的大。*ZmNLP5* 基因主要在根部表达,其功能作用的部位也主要集中在地下组织。充足氮供给下突变体地上和地下组织中平均下降幅度为 31.87%,低氮供给下平均下降幅度为 41.57%,上述结果表明,*ZmNLP5* 基因的功能在低氮环境下更加显著。

本研究发现,在两种氮供给下,地下组织中含量均显著下降的氨基酸为 Glu、Pro、Asn、Thr、Leu、Ile、Trp 和 His,地上组织中均显著下降的氨基酸为 Gln、Ala、Val、Leu、Ile、Ser 和 Trp,4 种丙酮酸衍生型氨基

酸(Ala、Val、Leu 和 Ile)在地上组织中均显著下降,表明 *ZmNLP5* 在玉米地上组织中对该氨基酸合成途径影响较大。突变体地上和地下组织中含量均显著下降的氨基酸为 Leu、Ile 和 Trp。充足氮供给下,突变体地上和地下组织中含量均显著下降的氨基酸为 Thr、Leu、Ile、Trp 和 His。低氮供给下,突变体地上和地下组织中谷氨酸型氨基酸(Glu 和 Gln)、天冬氨酸型氨基酸(Asn)、丙酮酸衍生型氨基酸(Ala、Val、Leu 和 Ile)、丝氨酸型氨基酸(Ser)和磷酸烯醇式丙酮酸衍生型氨基酸(Trp)含量均显著下降。上述结果表明,低氮环境下 *ZmNLP5* 对玉米植株体内各类型氨基酸合成途径的影响较广。

本研究发现,玉米氮响应转录因子 *ZmNLP5* 的功能缺失,导致不同氮环境下玉米地上地下部组织氨基酸合成受阻。前期发现,*ZmNLP5* 对玉米氮响应和氮同化具有调控作用可以部分解释这一表型现象,因为 *ZmNLP5* 的功能缺失,导致氨基酸合成代谢前期储备较少。*ZmNLP5* 是否还对氨基酸合成途径的相关基因也具有调控作用,还需要后期相关的分子和生化实验来解析,以期更加全面地探究该基因

的功能,为氮高效育种提供良好的基因资源。

参考文献:

- [1] GUTIERREZ R A. Systems biology for enhanced plant nitrogen nutrition[J]. *Science*, 2012, 336(6089): 1673–1675.
- [2] LIU Y Q, WANG H R, JIANG Z M, et al. Genomic basis of geographical adaptation to soil nitrogen in rice[J]. *Nature*, 2021: 1–6.
- [3] BI Y M, MEYER A, DOWNS G S, et al. High throughput RNA sequencing of a hybrid maize and its parents shows different mechanisms responsive to nitrogen limitation[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 77.
- [4] SUN H Y, QIAN Q, WU K, et al. Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice[J]. *Nat Genet*, 2014, 46: 652–656.
- [5] LIU Y, CHU C. Improving maize seed protein content and nitrogen-use efficiency by a teosinte asparagine synthetase[J]. *Molecular Plant*, 2022, 16: 1–3.
- [6] CRAWFORD N M, FORDE B G. Molecular and developmental biology of inorganic nitrogen nutrition[J]. *Arabid Book*, 2002, 1: e0011.
- [7] MOOSE S, BELOW F E. Biotechnology approaches to improving maize nitrogen use efficiency[J]. *Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement. Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2009: 65–77.
- [8] XU G, FAN X, MILLER A J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency[J]. *Annu Rev. Plant Biol*, 2012, 63: 153–182.
- [9] 孙文彦,尹红娟,唐继伟,等. 玉米子粒产量及氨基酸含量对氮肥类型和用量的响应[J]. *玉米科学*, 2023, 31(2): 116–124.
SUN W Y, YIN H J, TANG J W, et al. Response of maize grain yield and amino acid content to nitrogen types and rates[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2023, 31(2): 116–124. (in Chinese)
- [10] 徐鑫,毛红艳,韩登旭,等. 新疆不同玉米品种氨基酸营养价值评价[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(6): 244–249.
- XU X, MAO H Y, HAN D X, et al. Nutrition value evaluation of amino acids of different corn cultivars in Xinjiang[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(6): 244–249. (in Chinese)
- [11] 卢柏山,董会,赵久然,等. 不同鲜食玉米品种适采期氨基酸含量分析[J]. *中国农业科技导报*, 2023, 25(11): 132–142.
LU B S, DONG H, ZHAO J R, et al. Amino acid content analysis of different fresh corn varieties at suitable harvest time[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2023, 25(11): 132–142. (in Chinese)
- [12] ZHANG H, FORDE B G. An Arabidopsis MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture[J]. *Science*, 1998, 279: 407–409.
- [13] MARCHIE C, ROUDIER F, CASTAINGS L, et al. Nuclear retention of the transcription factor NLP7 orchestrates the early response to nitrate in plants[J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 1713.
- [14] WU J, ZHANG Z S, XIA J Q, et al. Rice NIN-LIKE PROTEIN 4 plays a pivotal role in nitrogen use efficiency[J]. *Plant Biotechnol J.*, 2020: 1–14.
- [15] HUANG X Z, QIAN Q, LIU Z, et al. Natural variation at the DEP1 locus enhances grain yield in rice[J]. *Nat Genet*, 2009, 41: 494–497.
- [16] 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]. *Plant J.*, 2020, 102(2): 353–368.
- [17] SCHLUTER U, MASCHER M, COLMSEE C, et al. Maize source leaf adaptation to nitrogen deficiency affects not only nitrogen and carbon metabolism but also control of phosphate homeostasis[J]. *Plant Physiology*, 2012, 160(3): 1384–1406.

(责任编辑:朴红梅)