

## 提高小麦氮素利用效率的可行性分析

赵德勇<sup>1,2</sup>, 张波<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001; <sup>2</sup>中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 为了进一步给氮素高效利用小麦品种选育提供理论依据, 对以往国内外小麦氮素利用方面的研究工作进行梳理。结果表明, 通过常规育种或基因工程选育氮素高效利用小麦品种在实践上具有可行性。阐明氮素代谢途径关键调控基因对最终氮素利用的贡献率有利于今后通过基因工程或分子标记育种途径提高小麦氮素利用效率。中国大规模、多年多点筛选鉴定氮素高效利用小麦种质资源的研究亟待开展。

**关键词:** 育种; 遗传改良; 氮肥; 利用效率

中图分类号: S330 文献标志码: A 论文编号: 2014-1858

### Improving Nitrogen Utilization Efficiency of Wheat: the Analysis of Feasibility

Zhao Deyong<sup>1,2</sup>, Zhang Bo<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001;

<sup>2</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

**Abstract:** In order to breed wheat varieties with high efficient nitrogen utilization, several guidelines were teased out from previous works both at home and abroad. The paper indicates that breeding efficient nitrogen utilization wheat is feasible by traditional breeding approach or genetic modification. Clarifying the contribution of key regulating genes involved in nitrogen metabolism to final nitrogen utilization can facilitate further improvement of nitrogen utilization by genetic modification or molecular marker assisted breeding. Widely, year to year and multiple sites screening of wheat germplasm resources with efficient nitrogen utilization is highly required in China.

**Key words:** breeding; genetic modification; nitrogen fertiliser; utilisation efficiency

### 0 引言

氮是维持作物高产稳产需求量最大的元素, 在农业生产中的地位举足轻重。然而研究表明农作物氮元素利用效率较低<sup>[1-2]</sup>。较低的氮元素利用效率常常伴随硝态氮淋溶入地下水, 可能会导致地下水污染、河流湖泊的富营养化<sup>[3-5]</sup>。另有文献报道<sup>[6-8]</sup>, 硝态氮可以转化为氨气排到空气中, 也可经土壤微生物作用产生包括温室气体一氧化二氮(N<sub>2</sub>O)在内的氮氧化合物。同时生产氮素肥料过程中化学燃料的使用也产生大量温室气体。因此, 提高氮元素利用效率是农业生产中的一

个重要目标。

提高氮素利用效率可通过合理的农田管理措施来实现<sup>[9]</sup>。Raun等<sup>[10]</sup>的研究表明当前世界范围内农田系统中小麦的氮素利用率平均在30%~50%。而Foulkes等<sup>[11]</sup>的报道显示英国冬小麦氮素利用率可达50%~60%。导致氮素利用效率低的管理措施原因有<sup>[12-14]</sup>: (1)氮素施用与作物吸收利用不同步; (2)对土壤肥力不均的田地采用了统一的氮肥施用量; (3)基于不变的“氮素利用效率”常数来计算预测合理氮素施用量; (4)忽略了氮素利用效率在年度之间的变化。恰当的

**基金项目:** 国家自然科学基金青年基金(31101140); 青海省科技计划(2011-Z-716); 国家留学基金委公派研究生项目(CSC201204910329)。

**第一作者简介:** 赵德勇, 男, 1984年出生, 山东省乐陵市人, 博士, 研究方向为作物遗传育种。Tel: 0971-15297197196, E-mail: zdy1984@126.com。

**通讯作者:** 张波, 男, 1980年出生, 甘肃天水人, 副研究员, 博士, 研究方向为小麦遗传育种。通信地址: 810001 青海省西宁市西关大街59号 中国科学院西北高原生物研究所, Tel: 0971-15349705386, E-mail: zhangbo@nwipb.cas.cn。

**收稿日期:** 2014-07-04, **修回日期:** 2014-09-06。

氮肥施用及田间管理有利于氮素利用效率提高,例如 Powlson<sup>[15]</sup>和 Cassman<sup>[16]</sup>的报道称适当提高有机质含量有助于提高肥料利用效率。此外,根据不同基因型小麦对氮肥吸收利用的特点来确定合理的基肥追肥比例和施肥时期也有利于减少肥料投入来获得高产。例如河南农业大学姜丽娜等<sup>[17]</sup>的研究表明:干物质积累量及日积累量在拔节期以前随底施氮肥比例的增加而增加,药隔期追施氮肥可以改善产量性状进而提高产量。山东农业大学于振文课题组<sup>[18]</sup>的研究结果表明,四分体形成期和雌雄蕊原基形成期施氮可使旗叶衰老初期可溶性蛋白质含量和衰老后期的光合作用速率提高、籽粒线性增重阶段持续时间延长、粒重和籽粒产量显著提高。

通过筛选培育氮元素高效利用作物品种是提高氮素利用效率的另一重要途径,其优点是充分利用小麦自身潜力达到少用氮肥的目的。例如中国科学院遗传与发育生物学研究所李振声院士课题组开展过相关研究<sup>[19]</sup>。具体实践上可使用氮素高效利用的小麦种质材料做亲本通过常规育种手段选育氮高效小麦品种,或者通过基因工程途径定向调控氮素代谢途径关键基因(因子)的表达来改良氮素利用效率。氮素代谢途径关键调节基因对最终氮素利用效率的贡献率尚罕见报道,同时国内因为片面追求高产氮素高效利用育种在实践上尚未引起足够重视。为此,笔者重点讨论通过传统育种和遗传改良手段来提高作物氮素利用效率的可行性。以期为氮素高效利用小麦品种选育实践提供理论依据与技术路线。

### 1 作物生产中的产量与氮素等式

籽粒产量=单位面积植株数目×单株穗数×穗粒数×单粒重;

氮素吸收效率=氮素总吸收量/(土壤可获取氮素量+施用量)=(籽粒产量×籽粒氮素浓度+茎秆产量×茎秆氮素浓度)/(土壤可获取氮素量+施用量);

氮素利用效率=籽粒中氮素总含量/总吸收量=籽粒产量×籽粒氮素浓度/(籽粒产量×籽粒氮素浓度+茎秆产量×茎秆氮素浓度)。

### 2 小麦氮元素利用效率基因型差异

前人对墨西哥、芬兰、法国和英国小麦品种的研究表明在土壤低氮水平下当代品种比以前品种产量高<sup>[2,13,20]</sup>,这表明筛选培育氮素高效利用效率的作物品种是可行的。通过遗传育种途径来培育氮高效新品种,首先要确定不同基因型之间在“氮元素利用效率”这一性状的遗传差异。而通过基因工程途径来提高氮肥利用效率则需要阐明某一个或某些基因(或控制因子)对氮素利

用效率的贡献率,然后通过基因工程途径调控目的基因的表达从而提高作物的氮素利用效率。

Barraclough 等<sup>[21]</sup>研究表明在不同氮肥水平下不同参试小麦品种氮利用效率存在显著差异。由于氮利用效率可进一步分解为吸收效率和转运效率两部分,对氮利用效率的遗传性差异有必要进一步细化,以便筛选出氮利用方式不同的种质材料用于育种实践。在墨西哥和法国进行的两项研究表明在低氮肥水平比在高氮肥水平下,氮吸收效率对氮利用效率变异贡献更大<sup>[20,22]</sup>;而在美国加利福尼亚州的研究表明无论在高氮水平还是在低氮水平,氮吸收效率都对氮利用效率变异贡献最大<sup>[23]</sup>。同时研究显示墨西哥、芬兰春小麦氮素利用效率的提高主要得益于氮吸收效率的改良<sup>[20,24]</sup>,这些数据表明小麦根系从土壤中吸收氮素这一过程对于最终氮利用效率至关重要。然而在英国和法国的研究表明氮素利用效率的改良主要归因于转运效率的改良<sup>[25-26]</sup>,说明氮素在小麦植株体内的同化转运对最终的氮利用效率同样十分重要。在高氮供应水平下,几项世界范围内的研究表明小麦育种提高了利用效率和收获指数,然而吸收效率并没有出现一致性的改良<sup>[27-29]</sup>。

国外学者对小麦栽培种和分离群体材料的研究表明籽粒产量和籽粒含氮量成负相关<sup>[30-31]</sup>,根据等式:籽粒产量=地上物质总氮量×收获指数/籽粒氮含量,假定氮收获指数(籽粒含氮量占地上物质总氮量比值; Nitrogen Harvest Index, NHI)为一定值,则产量和地上物质总氮量成正比,且/或与籽粒氮含量成反比。多项研究证明了这一点:无论在低氮还是高氮水平,产量都和地上物质氮总量成正相关<sup>[20,25-26]</sup>。收获指数与产量在低氮水平成正相关,而在高氮水平下,有的研究显示两者为正相关<sup>[20,26]</sup>,也有研究显示两者无相关性<sup>[25]</sup>。籽粒含氮量与产量在低氮水平成负相关<sup>[20,26]</sup>,而在高氮水平成负相关或无相关性<sup>[25]</sup>。

中国科学家对不同小麦品种资源氮素利用效率进行过评价筛选研究:李艳等<sup>[32-33]</sup>在 133 份河南小麦小麦亲本材料中筛选到‘豫农 86’等 7 个品种具有较高氮素利用效率;杜建军等<sup>[34]</sup>对西北地区 15 个小麦品种氮素利用效率进行研究筛选到‘丰产 3 号’等 3 个在低氮和高氮条件下均高产的品种;何文寿等<sup>[35]</sup>从 100 个宁夏小麦品种(系)中筛选到‘宁春 26’等 10 个品种氮素利用效率较高。但此类研究多以盆栽或大田条件下单一试验点、单一年份、单一氮使用量见诸报道。包含大量小麦种质材料的大规模系统的多年多点的对小麦氮素利用效率的研究尚未见报道。

### 3 控制氮素利用效率相关性状的基因或因子

传统的作物遗传育种就是筛选具有优良性状的作物杂交后代的过程。从遗传学角度,作物表现型是基因型与环境互作的产物。很显然,氮素利用效率这一“表现型”是一个非常复杂的性状,因为氮素的吸收同化转运过程有着复杂的分子调控机制(内在基因型);同时,不同年际间、不同生长地点的外部环境差异也会导致表现型的变化(环境作用)。因此,辨认出氮元素利用效率相关性状并对其进行研究有助于了解控制和调节氮素利用效率的分子机理。Habash等<sup>[39]</sup>对21个氮元素利用相关性状进行了QTL数量性状位点定位研究,结果显示旗叶谷氨酰胺合成酶(Glutamine synthetase)活性、可溶性蛋白、提取色素与鲜重的数量性状位点在相似区域;且旗叶性状与开花期成负相关,表明代谢与发育之间存在复杂相互作用。

小麦籽粒氮元素含量主要受到3个过程的影响。第一过程为氮元素从土壤进入植物体内,该过程有硝酸根转运子和铵转运子介导。植物根系对硝酸根的吸收通过低亲和性和高亲和性2个系统来完成,分别由NRT1(low-affinity nitrate transporter)和NRT2(high-affinity nitrate transporter)2种类型的硝酸根转运子介导,在模式植物拟南芥中有53个基因属于NRT1家族,其中NRT1.1、NRT1.2、NRT1.4、NRT1.5和NRT1.6的功能和表达特征比较清楚<sup>[37-38]</sup>,Buchner<sup>[39]</sup>对16个小麦NRT1转运子先后在水培与大田环境下基因表达分析显示NRT1转运子表达受氮素水平、植株自身发育进程等多因素调节。同时也有人多个NRT2家族基因<sup>[40-42]</sup>及铵转运子<sup>[43]</sup>的功能和表达特征进行了研究。第二过程为氮元素同化过程,硝酸根经过硝酸还原酶和亚硝酸还原酶还原为铵根,之后被谷氨酰胺合成酶同化生成谷氨酰胺,形成的谷氨酰胺随后与2-酮戊二酸(2-oxoglutarate)形成两分子谷氨酰胺,该反应由谷氨酰胺2-酮戊二酸转氨酶(glutamine 2-oxoglutarate amino transferase, GOGAT)催化,该同化过程被成为GS/GOGAT循环<sup>[44]</sup>。第三过程为开花后储存在营养器官的含氮化合物向籽粒中的转运,这一转运过程伴随着植物营养器官的衰老<sup>[45-47]</sup>。

提高3个转运过程的氮元素转运效率会提高小麦籽粒氮元素含量,如果碳元素的同化转运保持恒定,其结果则会提高小麦产量,从而使氮元素利用效率得到提高。进一步阐明控制小麦吸收同化氮素及开花后氮素向籽粒转运过程的分子机制有助于通过分子标记筛选或基因工程手段来提高小麦的氮素利用效率,例如Uauy等<sup>[48]</sup>发现一个NAC转录因子调节叶片衰老并

可提高籽粒蛋白含量。

### 4 讨论

#### 4.1 高氮素利用效率种质资源的筛选鉴定

在中国农业生产中,不合理及过量施肥现象加剧了环境污染或恶化<sup>[49]</sup>,培育并推广使用氮素高效利用的作物品种有助于缓解环境压力。在小麦育种实践中,选用氮素利用效率高的小麦种质资源作为育种亲本会增加从后代材料筛选到高利用效率品种的几率。虽然前人对中国部分小麦品种或种质资源氮元素利用效率遗传差异进行过鉴定研究,但这些研究由不同地区不同研究机构在不同年份完成,大规模系统的多年多点的研究尚未见报道;并且中国适宜小麦栽培的地区跨度广、环境气候条件差异大,同一基因型小麦在不同地区种植,氮素利用效率很可能不一致。因此,有必要对中国小麦品种及种质资源进行大规模系统性鉴定筛选,明确氮素利用效率的差异并筛选出氮高效利用的小麦种质材料。由于自然界中土壤养分含量存在空间异质性,因此小麦育种实践中试验田土壤肥力要尽可能均一,确定育种父母亲本的氮素遗传差异要进行多年多点(环境)试验从而筛选出稳定性强适应性广的材料。育种早代材料要同时或者交替种植在低氮肥田和高氮肥田,以期筛选到预期的小麦品种(系)。小麦产量依赖于合理植株群体的构建,因此有必要对具有不同分蘖能力的小麦在不同氮素水平下的分蘖动态及分蘖成穗等群体构建过程进行研究,以便为筛选育种材料后代及高产稳产栽培提供理论指导。

#### 4.2 作物氮素利用的内在机理

对氮利用相关性状与最终氮素利用效率的关系应该继续深入研究,以便确定合适的育种选择指标来指导育种实践。例如有些小麦品种冠层叶片衰老减慢从而延长了有效光合时间<sup>[50]</sup>,如果其他因素保持不变,具有该表现型的小麦可能会获得较高的产量;早期活力高的小麦基因型在生长早期能吸收利用更多的氮<sup>[51]</sup>。同时,在分子水平上进一步阐明氮素代谢途径及调控过程的分子机理,有助于今后通过分子标记育种手段辅助选择育种材料,也有利于通过转基因途径来改良小麦氮素利用效率。目前比较流行的技术手段是通过构建作图群体进行QTL(Quantitative Trait Loci)数量性状定位然后对主要位点图位克隆以期获得控制目标性状的基因,然而小麦氮素利用效率的调控机制比较复杂,因此要精确其分子机制还要结合比较转录组学和/或蛋白质组学手段对具有不同氮利用方式的小麦基因型进行比较分析来发现鉴定控制氮素利用的新基因和/或调控因子。

### 4.3 通过转基因途径改良氮素利用效率

合理选择氮素利用代谢过程的关键调控基因,通过转基因途径操纵特定基因的表达从而改良氮素利用效率。选择的基因应主要在氮素代谢过程中起作用,如果转入的基因也调控其他生物过程,有可能影响植株形态、生长发育与农艺性状从而影响氮素利用效率的提高。

### 4.4 育种后代材料氮素利用效率的科学评价

有些研究称某一植物改良后茎干或籽粒中氮元素浓度提高<sup>[52-53]</sup>,然而应当谨慎对待类似结果的报道。例如 Yanagisawa 等<sup>[52]</sup>发表的文章中称转基因植株氮元素含量(mg/g,单位干物质中含氮量)比对照增高,由于缺少转基因和对照植株的总生物量导致无法比较氮总量。根据元素吸收效率和元素利用效率公式,茎秆或籽粒中氮素浓度提高不能盲目地解释为氮元素吸收效率或利用效率得以提高。只有当植株中总氮量得以提高才可解释为氮元素吸收效率的提高;只有在某一恒定的氮吸收量下植株表现出较高的产量才可解释为氮元素利用效率的提高。

## 5 结论

明确氮素利用效率差异并筛选出氮高效利用的小麦种质材料是通过常规育种提高氮素利用效率的前提。由于自然界中土壤养分含量存在空间异质性,因此小麦育种实践中,试验田土壤肥力要尽可能均一,确定育种父母亲本的氮素遗传差异要进行多年多点(环境)试验,选用稳定性强、适应性广的材料作为亲本以期增加培育出高氮肥利用效率的小麦品种(系)的几率。通过基因工程途径改良小麦氮素利用效率时应考虑转化目的基因对农艺性状的影响,同时对转化植株的氮素利用特性进行科学评价以期获得氮素高效利用小麦株系。

## 参考文献

- [1] Raun W R, Johnson G V. Improving nitrogen use efficiency for cereal production[J]. *Agronomy Journal*,1999,91(3):357-363.
- [2] Vlek P, Byrnes B. The efficacy and loss of fertilizer N in lowland rice[J]. *Fertilizer Research*,1986,9(1-2):131-147.
- [3] London J G. Nitrogen study fertilizes fears of pollution[J]. *Nature*,2005,433(7028):791.
- [4] Beman J M, Arrigo K, Matson P M. Agricultural runoff fuels large phytoplankton blooms in vulnerable areas of the ocean[J]. *Nature*,2005,434(7030):211-214.
- [5] Tilman D. Global environmental impacts of agriculture expansion: the need for sustainable and efficient practices[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences,USA*,1999,96(11):5995-6000.
- [6] Ramos C. Effect of agricultural practices on the nitrogen losses to the environment[J]. *Fertiliser Research*,1996(43):183-189.
- [7] Stulen I, Perez-Soba M, De Kok L J, et al. Impact of gaseous nitrogen deposition on plant functioning[J]. *New Phytologist*,1998,139(1):61-70.
- [8] Foulkes M, Hawkesford M, Barraclough P B, et al. Identifying traits to improve the nitrogen economy of wheat: Recent advances and future prospects[J]. *Field Crops Research*,2009,114(3):329-342.
- [9] Dinnes D L, Karlen D L, Jaynes D B, et al. Nitrogen management strategies to reduce nitrate leaching in tile-drained Midwestern soils [J]. *Agronomy Journal*,2002,94(1):153-171.
- [10] Raun W R, Solie J B, Johnson G V, et al. Improving nitrogen use efficiency in cereal grain production with optical sensing and variable rate application[J]. *Agronomy Journal*,2002,94(4):815-820.
- [11] Foulkes M, Hawkesford M, Barraclough P B, et al. Identifying traits to improve the nitrogen economy of wheat: Recent advances and future prospects [J]. *Field Crops Research*,2009,114(3):329-342.
- [12] Sylvester-Bradley R, Stokes D, Scott R, et al. A physiological analysis of the diminishing responses of winter wheat to applied nitrogen. 2. Evidence[J]. *Aspects of Applied Biology*,1990(25):289-300.
- [13] Hurley T M, Malzer G L, Kilian B, et al. Estimating Site-Specific Nitrogen Crop Response Functions[J]. *Agronomy Journal*,2004,96(5):1331-1343.
- [14] Koch B, Khosla R, Frasier W M, et al. Economic feasibility of variable-rate nitrogen application utilizing site-specific management zones[J]. *Agronomy Journal*,2004,96(6):1572-1580.
- [15] Powlson D. Understanding the soil nitrogen cycle[J]. *Soil Use and Management*,2007,9(3):86-93.
- [16] Cassman K G, Dobermann A, Walters D T. Agroecosystems, nitrogen-use efficiency, and nitrogen management[J]. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*,2002,31(2):132-140.
- [17] 姜丽娜,邵云,金毓翠,等.氮肥施用时期与比例对超高产冬小麦干物质积累及产量的影响[J]. *麦类作物学报*,2002,22(2):70-73.
- [18] 岳寿松,于振文,余松烈,等.不同生育期施氮对冬小麦旗叶衰老和粒重的影响[J]. *中国农业科学*,1997,30(02):42-46.
- [19] Li Z, Li B, Tong Y. The contribution of distant hybridization with decaploid *Agropyron elongatum* to wheat improvement in China[J]. *J. Genet. Genomics*,2008(35):451-456.
- [20] Ortiz-Monasterio R, Sayre K, Rajaram S, et al. Genetic progress in wheat yield and nitrogen use efficiency under four nitrogen rates[J]. *Crop Science*,1997,37(3):898-904.
- [21] Barraclough P B, Howarth J R, Jones J, et al. Nitrogen efficiency of wheat: genotypic and environmental variation and prospects for improvement[J]. *European Journal of Agronomy*,2010,33(1):1-11.
- [22] Le Gouis J, Béghin D, Heumez E, et al. Genetic differences for nitrogen uptake and nitrogen utilisation efficiencies in winter wheat [J]. *European Journal of Agronomy*,2000,12(3):163-173.
- [23] Dhugga K S, Waines J. Analysis of nitrogen accumulation and use in bread and durum wheat[J]. *Crop Science*,1989,29(5):1232-1239.
- [24] Muurinen S, Slafer G A, Peltonen-Sainio P. Breeding effects on nitrogen use efficiency of spring cereals under northern conditions [J]. *Crop Science*,2006,46(2):561-568.

- [25] Foulkes M, Sylvester-Bradley R, Scott R K. Evidence for differences between winter wheat cultivars in acquisition of soil mineral nitrogen and uptake and utilization of applied fertilizer nitrogen[J]. *The Journal of Agricultural Science*,1998,130(1):29-44.
- [26] Brancourt-Hulmel M, Doussinault G, Lecomte C, et al. Genetic improvement of agronomic traits of winter wheat cultivars released in France from 1946 to 1992[J]. *Crop Science*,2003,43(1):37-45.
- [27] Paccaud F, Fossati A, Cao H. Breeding for yield and quality in winter wheat: Consequences for nitrogen uptake and partitioning efficiency[J]. *Zeitschrift Fur Pflanzenzuchtung*,1985,94(2):89-100.
- [28] Feil B. Breeding progress in small grain cereals—A comparison of old and modern cultivars[J]. *Plant breeding*,1992,108(1):1-11.
- [29] Calderini D F, Torres-León S, Slafer G A. Consequences of wheat breeding on nitrogen and phosphorus yield, grain nitrogen and phosphorus concentration and associated traits[J]. *Annals of Botany*,1995,76(3):315-322.
- [30] Kibite S, Evans L. Causes of negative correlations between grain yield and grain protein concentration in common wheat[J]. *Euphytica*,1984,33(3):801-810.
- [31] Triboni E, Martre P, Girousse C, et al. Unravelling environmental and genetic relationships between grain yield and nitrogen concentration for wheat[J]. *European Journal of Agronomy*,2006,25(2):108-118.
- [32] 李艳,董中东,郝西,等.小麦不同品种的氮素利用效率差异研究[J]. *中国农业科学*,2007,40(3):472-477.
- [33] 李艳,董中东,崔党群,等.133份小麦亲本材料氮磷利用效率的聚类分析[J]. *中国农学通报*,2005,21(1):76-78,87.
- [34] 杜建军,王新爱,闵东红.西北地区不同小麦品种氮营养效率差异及其机理研究[J]. *西北农林科技大学学报:自然科学版*,2005,33(1):34-38.
- [35] 何文寿,陈素生,康建宏.宁夏春小麦氮素利用效率的基因型差异研究[J]. *土壤*,2003,35(6):500-505.
- [36] Habash D Z, Bernard S, Schondelmaier J, et al. The genetics of nitrogen use in hexaploid wheat: N utilisation, development and yield[J]. *Theoretical and Applied Genetics*,2007,114(3):403-419.
- [37] Tsay Y F, Chiu C C, Tsai C B, et al. Nitrate transporters and peptide transporters[J]. *FEBS Letters*,2007(581):2290-2300.
- [38] Masclaux-Daubresse C, Daniel-Vedele F, Dechorgnat J, et al. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture[J]. *Annals of Botany*,2010,105(7):1141-1157.
- [39] Buchner P, Hawkesford J M. Complex phylogeny and gene expression patterns of members of the NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family (NPF) in wheat[J]. *Journal of Experimental Botany*,2014,doi:10.1093/jxb/eru231.
- [40] Kotur Z, Mackenzie N, Ramesh S, et al. Nitrate transport capacity of the *Arabidopsis thaliana* NRT2 family members and their interactions with AtNAR2. 1[J]. *New Phytologist*,2012,194(3):724-731.
- [41] Dechorgnat J, Patrit O, Krapp A, et al. Characterization of the Nrt2. 6 gene in *Arabidopsis thaliana*: a link with plant response to biotic and abiotic stress[J]. *PLoS one*,2012,7(8):e42491.
- [42] Kechid M, Desbrosses G, Rokhsi W, et al. The NRT2. 5 and NRT2. 6 genes are involved in growth promotion of *Arabidopsis* by the plant growth-promoting rhizobacterium (PGPR) strain *Phyllobacterium brassicacearum* STM196[J]. *New Phytologist*,2013,198(2):514-524.
- [43] Gazzarrini S, Lejay L, Gojon A, et al. Three functional transporters for constitutive, diurnally regulated, and starvation induced uptake of ammonium into *Arabidopsis* roots[J]. *The Plant Cell*,1999(11):937-947.
- [44] Lea P, Mifflin B. Alternative route for nitrogen assimilation in higher plants[J]. *Nature*,1974(251):614-616.
- [45] Malagoli P, Laine P, Rossato L, et al. Dynamics of nitrogen uptake and mobilization in field-grown winter oilseed rape (*Brassic napus*) from stem extension to harvest[J]. *Annals of Botany*,2005(95):853-861.
- [46] Diaz C, Lemaître T, Christ C, et al. Nitrogen recycling and remobilization are differentially controlled by leaf senescence and development stage in *Arabidopsis* under low nitrogen nutrition[J]. *Plant Physiology*,2008(147):1437-1449.
- [47] Lemaître T, Gaufichon L, Boutet-Mercey S, et al. Enzymatic and metabolic diagnostic of nitrogen deficiency in *Arabidopsis thaliana* Wassilewskija accession[J]. *Plant and Cell Physiology*,2008(49):1056-1065.
- [48] Uauy C, Distelfeld A, Fahima T, et al. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat [J]. *Science*,2006,314(5803):1298-1301.
- [49] Ju X T, Xing G X, Chen X P, et al. Reducing environmental risk by improving N management in intensive Chinese agricultural systems [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,2009,106(9):3041-3046.
- [50] Luo P G, Deng K J, Hu X Y, et al. Chloroplast ultrastructure regeneration with protection of photosystem II is responsible for the functional 'stay green' trait in wheat[J]. *Plant, Cell & Environment*,2013,36(3):683-696.
- [51] Pang J, Palta J A, Rebetzke G J, et al. Wheat genotypes with high early vigour accumulate more nitrogen and have higher photosynthetic nitrogen use efficiency during early growth[J]. *Functional Plant Biology*,2013, <http://dx.doi.org/10.1071/FP13143>.
- [52] Yanagisawa S, Akiyama A, Kisaka H, et al. Metabolic engineering with Dof1 transcription factor in plants: improved nitrogen assimilation and growth under low-nitrogen conditions[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,2004,101(20):7833-7838.
- [53] Shrawat A K, Carroll R T, DePauw M, et al. Genetic engineering of improved nitrogen use efficiency in rice by the tissue specific expression of alanine aminotransferase[J]. *Plant biotechnology journal*,2008,6(7):722-732.