

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2022.10115

刘利, 韩真, 杨阳, 李勃. 植物中钙信号介导的硝酸盐信号途径的研究进展[J]. 植物科学学报, 2022, 40(1): 115~123

Liu L, Han Z, Yang Y, Li B. Advances in the study of calcium signaling-mediated nitrate signaling in plants[J]. *Plant Science Journal*, 2022, 40(1): 115~123

# 植物中钙信号介导的硝酸盐信号途径的研究进展

刘利, 韩真, 杨阳\*, 李勃\*

(山东省农业科学院, 山东省葡萄研究院, 济南 250100)

**摘要:** 硝酸盐不仅是植物的主要氮源, 而且是植物极为重要的信号分子, 参与众多生理生化反应、代谢过程, 调控植物的生长和发育。研究发现钙信号参与初级硝酸盐响应过程, 然而关于钙信号如何参与硝酸盐信号的感知和硝酸盐信号的传递过程尚未清楚。本文综述了具有钙离子通道活性的环核苷酸门控通道与硝酸盐转运体复合体(Cyclic nucleotide-gated channel 15-nitrate transceptor 1.1, CNGC15-NRT1.1)、钙调磷酸酶B类蛋白(Calcineurin B-like protein, CBL)、CBL互作蛋白激酶(CBL-interacting protein kinases, CIPKs)、钙依赖蛋白激酶(Calcium-dependent protein kinases, CPKs)和磷脂酶C(Phospholipase C, PLC)如何从细胞膜到细胞核参与植物的硝酸盐信号过程, 从而形成相对完整的硝酸盐信号网络。并对未来钙信号如何连接上游硝酸盐传感器复合体与下游硝酸盐信号通路的多个传感器, 从而完成营养生长调控网络的研究方向进行了展望。

**关键词:** 钙信号; 硝酸盐信号; CNGC15-NRT1.1; CPK; 初级硝酸盐响应

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2022)01-0115-09

## Advances in the study of calcium signaling-mediated nitrate signaling in plants

Liu Li, Han Zhen, Yang Yang\*, Li Bo\*

(Shandong Academy of Grape, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100)

**Abstract:** Nitrate is not only the main nitrogen source in plants, but also an extremely important signaling molecule. Nitrate signaling integrates and coordinates the expression of a wide range of genes, metabolic pathways, and ultimately, plant growth and development. Calcium signaling is involved in the primary nitrate response pathway. However, how calcium signaling mediates nitrate sensing and signaling from the extracellular space to the cytoplasm and nucleus is much less understood. In this review, we describe how cyclic nucleotide-gated channel 15-nitrate transceptor 1.1 (CNGC15-NRT1.1), calcineurin B-like protein (CBL), CBL-interacting protein kinases (CIPKs), calcium-dependent protein kinases (CPKs), and phospholipase C (PLC) act as key players and the potential backbone of the nitrate-signaling pathway, from the plasma membrane to the nucleus. We also discuss future directions for studying how calcium signaling interconnects the upstream nitrate sensor complex with downstream multiple sensors of the nitrate-signaling pathway to complete nutrient-growth regulatory networks.

收稿日期: 2021-07-16, 修回日期: 2021-08-30。

基金项目: 山东省自然科学基金(ZR201807090168, ZR2021QC165); 国家自然科学基金(31801930)。

This work was supported by grants from the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR201807090168, ZR2021QC165) and National Natural Science Foundation of China (31801930).

作者简介: 刘利(1989-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向为植物矿质营养与信号(E-mail: 15153871569@163.com)。

\* 通讯作者(Authors for correspondence. E-mail: feixiang0507@126.com; sdtalibo@163.com)。

**Key words:** Calcium signaling; Nitrate signaling; CNGC15-NRT1.1; CPK; Primary nitrate response

硝酸盐 (Nitrate,  $\text{NO}_3^-$ ) 不仅是植物的重要营养物质, 而且作为关键的信号物质调控植物的生长发育<sup>[1]</sup>, 如调控根系和地上部的生长发育、种子萌发、开花以及自身的转运和同化<sup>[2-5]</sup>。植物感知到土壤中硝酸根浓度的变化时, 会迅速调控一系列基因的表达来调节体内的生长与发育, 这被定义为初级硝酸盐响应 (Primary nitrate response, PNR)。尽管 PNR 这一分子现象在 30 年前就已经被发现, 但是直到 2008 年研究者才揭示控制 PNR 的第一个调控因子——硝酸根的“感应器”NRT1.1, NRT1.1 的活性由激酶和磷酸酶组成的复杂网络调节完成。NRT1.1 感知硝酸盐后, 引发下游第二信使的一系列生理生化反应, 从而调控基因的表达。在这个通路网络中一个至关重要的第二信使就是钙离子 ( $\text{Ca}^{2+}$ )<sup>[6]</sup>。

$\text{Ca}^{2+}$  作为植物的第二信使, 参与植物逆境胁迫响应、植物器官的形成与发育调节过程<sup>[7-9]</sup>。Ca 依赖型蛋白激酶 (Calcium dependent protein kinase, CDPK) 能够和  $\text{Ca}^{2+}$  特异性结合, 并进行信号转导<sup>[10]</sup>。尽管在玉米 (*Zea mays* L.) 和大麦 (*Hordeum vulgare* L.) 的离体叶片以及拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) 的根系中已经发现  $\text{Ca}^{2+}$  信号在硝酸盐诱导的(或相关的)基因调节过程中发挥重要作用<sup>[11-13]</sup>, 但是植物  $\text{Ca}^{2+}$  参与硝酸盐营养生长调控网络中的许多问题至今尚未解决:  $\text{Ca}^{2+}$  参与 C/N 营养信号过程中不同的特点是否与细胞特异性有关,  $\text{Ca}^{2+}$  动态的特异形式, 细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  感受器的确定,  $\text{Ca}^{2+}$  信号的下游靶基因, 果树中  $\text{NO}_3^-$  如何影响  $\text{Ca}^{2+}$  信号, 以及 CDPK 如何介导硝酸盐信号进而影响硝酸盐的吸收利用等, 到目前为止尚未进行系统研究。

## 1 钙信号在硝酸盐信号转导中的作用

$\text{Ca}^{2+}$  是细胞信号网络中研究最多的第二信使之一, 游离的  $\text{Ca}^{2+}$  在植物体内扮演重要角色, 参与植物一系列的生长发育过程<sup>[9]</sup>。

### 1.1 植物中 $\text{Ca}^{2+}$ 和硝酸盐的关系

$\text{Ca}^{2+}$  和硝酸盐之间的关系最先在玉米和大麦的离体叶片中建立<sup>[12, 13]</sup>。Sakakibara 等<sup>[13]</sup> 研究

发现硝酸盐能够诱导玉米叶片 *NR*、*NiR*、*GS2* 和 *GOGAT* 基因的表达, 然而离体玉米叶片用  $\text{Ca}^{2+}$  融合剂乙二醇二乙醚二胺四乙酸 (Ethylene glycol tetraacetic acid, EGTA) 或者  $\text{Ca}$  通道阻滞剂氯化镧 (Lanthanum chloride,  $\text{LaCl}_3$ ) 处理后, 这些基因的 mRNA 水平却没有被同等程度的诱导。大麦叶片的离体实验也得到了类似的结果, 当用  $\text{LaCl}_3$  处理后, 响应硝酸盐的基因 *NR* 和 *NiR* 被显著抑制<sup>[12]</sup>。这些研究推测硝酸盐和  $\text{Ca}^{2+}$  信号通路之间存在相互关系。Riveras 等<sup>[11]</sup> 研究发现, 拟南芥中转入感知  $\text{Ca}^{2+}$  的水母发光蛋白 (Aequorin) 后, 硝酸盐处理使得该转基因植物的  $\text{Ca}^{2+}$  瞬时浓度增加, 当用  $\text{LaCl}_3$  提前处理 1 h 后再用硝酸盐处理, 发现该转基因植物未出现硝酸盐诱导的  $\text{Ca}^{2+}$  瞬时浓度增加。这说明硝酸盐可以引起植物细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的增加。这项研究拓展了 NPF6.3 (CHL1/NRT1.1) 通过硝酸盐提升细胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的功能研究, 在野生型拟南芥中发现硝酸盐诱导细胞内  $\text{Ca}$  水平在 10 s 左右达到最高峰, 而这一现象在 CHL1/NRT1.1/NPF6.3 的两个突变体 *chl1-5* 和 *chl1-9* 中却没有出现。另外, 利用磷脂酶 C (Phospholipase C, PLC) 抑制剂 U73122 和三磷酸肌醇 (Inositol 1,4,5-trisphosphate, IP3) 的浓度检测证明了 PLC 位于 NPF6.3 的下游, 位于  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化的上游。Riveras 等<sup>[11]</sup> 建立了一个硝态氮信号通路的初步模型: 当外界的硝酸盐被 NPF6.3 (CHL1/NRT1.1) 感知后, 激发了 PLC 的活性, 从而增加了细胞质内的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度。Ca 信号对于参与 PNR 的一些基因 (如 *NRT2.1* 和 *TGA1*) 的变化是必不可少的。然而, 并不是所有响应硝酸盐的基因都依赖于这条通路, 如生长素受体 *AFB3* 的上调表达需要 NRT1.1, 但是不依赖 PLC 和  $\text{Ca}^{2+}$  的存在。以上结果表明 CHL1/NRT1.1/NPF6.3 下游存在  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性和  $\text{Ca}^{2+}$  非依赖性途径。

在水稻 (*Oryza sativa* L.) 中, *OsNRT1.1B*/*OsNPF6.5* 是拟南芥 *AtNRT1.1* 的同源基因<sup>[14]</sup>, 也介导硝酸盐信号转导过程, 然后通过  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性或  $\text{Ca}^{2+}$  非依赖性途径将硝酸盐信号传导到下游的硝酸盐反应。水稻中硝酸盐信号通路取得了重要研

究进展, 揭示了 NRT1.1B 介导的硝酸盐信号向细胞内的传递机制, OsNLP3 (Nin-like protein 3) 是硝酸盐信号传导的核心转录因子, 受 SPX4 (Phosphate signaling repressor 4) 调控。在高浓度的硝酸盐条件下, 硝酸盐促进 NRT1.1B-SPX4-NBIP1 (NRT1.1B interacting protein 1) 复合体的形成, 并在泛素连接酶 NBIP1 作用下促进 SPX4 发生泛素化及蛋白降解, 进而释放 NLP3 及 PHR2 (Phosphate starvation response 2) 进入细胞核, 激活氮磷应答基因的表达, 实现氮磷营养平衡, 促进养分高效利用。在低浓度的硝酸盐条件下, SPX4 与 NLP3/PHR2 形成复合体, 阻止 NLP3 及 PHR2 进入细胞核, 进而抑制氮磷应答基因的表达, 使植物处于营养利用的抑制状态<sup>[15]</sup>。由此可见, 水稻中打通了氮磷营养从信号感知 (NRT1.1B)-信号转导 (NRT1.1B-NBIP1-SPX4-PHR2/NLP3-信号响应 (氮磷响应基因表达) 的完整通路, 也建立了氮磷两大营养元素在植物体内维持平衡的分子机制。OsNRT1.1B 可以感知外界的硝酸盐信号从而激发细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  信号, 类似上述氮磷营养信号通路的机制还有待进一步研究。

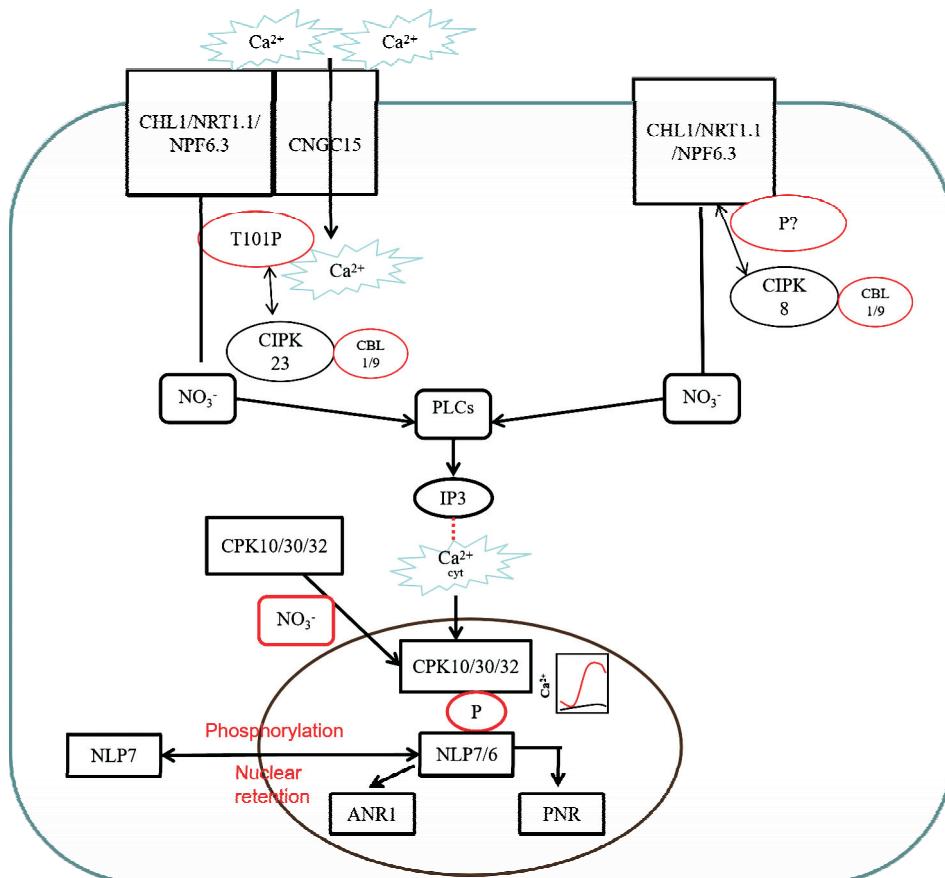
## 1.2 CNGC15-NRT1.1 在硝酸盐信号中的作用

植物中高浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  可以与磷酸根离子结合形成沉淀, 因此植物细胞中大部分  $\text{Ca}^{2+}$  都被储存在细胞外以及细胞内的各种细胞器中。细胞内的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度受到严格监管, 一般是微摩尔水平, 相反, 细胞外和细胞器 (如液泡和内质网) 中的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度较高, 一般是毫摩尔水平。这种巨大的浓度差可以产生强电化学势, 为  $\text{Ca}^{2+}$  作为第二信使传递信号提供了可能<sup>[16]</sup>。 $\text{Ca}^{2+}$  通过  $\text{Ca}^{2+}$  通道进入到细胞质内,  $\text{Ca}^{2+}$  通道位于细胞膜和细胞器 (如液泡和内质网) 中。动物中存在 3 种类型的  $\text{Ca}^{2+}$  通道, 即压敏电阻器钙通道 (Voltage-dependent calcium channels, VDCCs), 受体控制性钙通道 (Receptor operated calcium channels, ROCCs) 和 Mechanical-stimulation-gated 通道<sup>[17, 18]</sup>。研究发现, 植物中也存在 VDCCs 和 ROCCs。电生理学和遗传学方法证实, 机械敏感的  $\text{Ca}^{2+}$  通道也存在于植物中<sup>[17]</sup>。环核苷酸门控离子通道 (Cyclic nucleotide-gated channels, CNGCs) 是一类非选择性阳离子

通道, 对一价和二价阳离子均具有通透性, 介导植物体内  $\text{Ca}^{2+}$  参与信号转导过程。在拟南芥中, CNGC2、CNGC4 和钙调蛋白组成的 Ca 通道复合物参与了病原微生物侵染植物过程中钙信号的编码; 而在水稻中, OsCNGC9 起关键作用<sup>[19]</sup>; 霸王 (*Zygophyllum xanthoxylum* (Bunge) Maxim.) 中的 *ZxCNGC5* 在根中的表达受外界  $\text{Ca}^{2+}$  的短期诱导<sup>[20]</sup>。

最近, Wang 等<sup>[21]</sup> 的研究揭示了拟南芥硝酸盐营养触发的钙信号编码分子开关 (Ca 通道与硝酸盐转运体互作组成分子开关)。拟南芥经过硝酸盐处理后具有  $\text{Ca}^{2+}$  通道活性的环核苷酸门控通道 CNGC15 与硝酸盐转运体互作形成分子开关, 编码硝酸盐营养触发的钙信号及其信号转导过程 (图 1)。随后发现 *cngc15* 突变体中硝酸盐所触发的特征性  $\text{Ca}^{2+}$  信号缺失, 与 NRT1.1 缺失突变体 *chl1-5* 类似。通过硝酸盐诱导 NLP7 (Nin-like protein 7) 转录因子质核穿梭及硝酸盐标志基因的表达分析发现, CNGC15 功能缺失会阻碍硝酸盐诱导的 NLP7 入核, 使硝酸盐标志基因表达受到抑制。与之相应, 在高浓度硝酸盐条件下, *cngc15* 与 *chl1-5* 突变体均表现出主根和侧根生长受到抑制, 且 *cngc15* 与 *chl1-5* 双突变体与二者表型一致, 证明 CNGC15 与 NRT1.1 共同控制硝酸盐信号通路及根系生长。

体内外实验结果表明, CNGC15 与 NRT1.1 在细胞质膜上形成钙通道与硝酸盐转运体复合体, 但该复合体  $\text{Ca}^{2+}$  通道活性被抑制。然而, 当在外界添加硝酸盐后, CNGC15-NRT1.1 间互作强度减弱, CNGC15-NRT1.1 复合体恢复了  $\text{Ca}^{2+}$  通道活性, 由此形成可被硝酸盐动态门控的 CNGC15-NRT1.1 复合体。这一研究揭示 CNGC15-NRT1.1 形成被硝酸盐浓度调控的受体-通道分子开关, 通过感应外界硝酸盐浓度变化, 激活或关闭  $\text{Ca}^{2+}$  通道, 并产生硝酸盐诱导的  $\text{Ca}^{2+}$  特异电流或者特征性钙信号, 传递硝酸盐浓度变化信号, 并调控激酶活性及相关转录过程。这种全新的营养小分子门控 “transceptor-channel” 或 “转运体-钙通道” 作用方式, 进一步完善了植物硝酸盐营养信号传导通路以及硝酸盐触发的钙信号传导途径。



CNGC15-NRT1.1 感应外界硝酸盐浓度变化, 激活或关闭  $\text{Ca}^{2+}$  通道, 并产生硝酸盐诱导的  $\text{Ca}^{2+}$  特异电流或者特征性  $\text{Ca}$  信号, 传递硝酸盐浓度变化信号。CIPK8 参与低亲和硝酸盐运输(硝酸盐浓度  $> 1 \text{ mmol/L}$ )反应, CIPK23 参与高亲和硝酸盐运输(硝酸盐浓度  $< 1 \text{ mmol/L}$ )反应。NRT1.1 和 PLC 共同调控细胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的变化。NLP7 和 CPKs 在细胞核发生蛋白质磷酸化作用, 调控下游的初级硝酸盐反应。

ANR1: MADS box 家族转录因子成员; CHL1/NRT1.1/NPF6.3: 硝酸盐双亲和转运蛋白和硝酸盐感应器; CIPK8: 与钙调磷酸酶 B 类蛋白(CBL)互作蛋白激酶 8; CIPK23: 与钙调磷酸酶 B 类蛋白(CBL)互作蛋白激酶 23; CNGC15-NRT1.1: 环核苷酸门控通道与硝酸盐转运体复合体; CPKs: 钙依赖蛋白激酶。CNGC15-NRT1.1 感应  $\text{NO}_3^-$  状态并调节 CNGC15 活力, 通过形成或解离 NRT1.1-CNGC15 复合物, 生成  $\text{NO}_3^-$  诱导的  $\text{Ca}^{2+}$  特异信号。CIPK8 参与低亲和响应 ( $\text{NO}_3^- > 1 \text{ mmol/L}$ )。CIPK23 参与高亲和响应 ( $\text{NO}_3^- < 1 \text{ mmol/L}$ )。NRT1.1 和 PLC 共同调节胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度。CPKs 促进 NLP7 在核内磷酸化, 激活初级硝酸盐响应。ANR1: MADS box 家族转录因子成员; CHL1/NRT1.1/NPF6.3: 双亲 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 转运器和感应器; CIPK8: CBL 互作蛋白激酶 8; CIPK23: CBL 互作蛋白激酶 23; CNGC15-NRT1.1: 环核苷酸门控通道与硝酸盐转运体复合体; CPKs: 钙依赖蛋白激酶。

图 1 钙信号介导的硝酸盐信号通路

Fig. 1 Calcium signaling networks mediating nitrate signaling pathway

### 1.3 CIPKs、CPKs 和 $\text{Ca}^{2+}$ -CPKs-*Arabidopsis* nitrate regulated 1 (ANR1) 通路在硝酸盐信号中的作用

钙调磷酸酶 B 类蛋白(Calcineurin B-like protein, CBL)是近年来从植物中分离和鉴定的一类  $\text{Ca}^{2+}$  信号受体蛋白, CBL 家族代表了一组独特的  $\text{Ca}$  传感器, 通过与靶蛋白丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(CBL-interacting protein kinases, CIPKs)家族的

相互作用和相互调节来解密钙信号。两个 CBL-CIPKs (CIPK23-CBL1/9 和 CIPK8-CBL1/9) 和 NRT1.1 相互作用, 不同程度地参与调节植物体内的硝酸盐信号(图 1)。在高浓度的硝酸盐条件下, 作为一个正向调节蛋白, CIPK8 参与植物低亲和硝酸盐运输(硝酸盐浓度  $> 1 \text{ mmol/L}$ )反应<sup>[22]</sup>。Hu 等<sup>[22]</sup>研究发现硝酸盐可以诱导 CIPK8 的表达, 由此引发了钙信号和硝酸盐信号之间关联性的研究,

利用 *cipk8* 突变体验证了 CIPK8 调控 PNR 通路中响应硝酸盐的标志基因, 调控主根的生长。而 CIPK23 在低浓度硝酸盐的条件下通过磷酸化 NRT1.1 的 Thr101 位点参与高亲和硝酸盐运输反应(表 1)。NRT1.1 的亲和性根据 T101 的磷酸化状态而改变<sup>[22, 23]</sup>。在低浓度的硝酸盐条件下, CIPK23 通过磷酸化 T101 把 NRT1.1 变成一个高亲和(硝酸盐浓度 <1 mmol/L)的硝酸根转运蛋白。这一反应也引发了高亲和硝酸根转运蛋白 *NRT2.1* 表达上调<sup>[23]</sup>。尽管 CIPK8 在感知硝酸盐信号方面的作用已经确定, 但是有些科学问题亟待阐明, 如硝酸盐能否激发  $\text{Ca}^{2+}$ -CIPK 信号, AtCIPK8 如何感知细胞质内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的变化, CIPK8 下游的靶基因靶蛋白有哪些?

Ca 依赖性蛋白激酶(Calcium-dependent protein kinase, CPK)是一类重要的  $\text{Ca}^{2+}$  信号感受器, 在植物钙信号转导中起重要作用。Liu 等<sup>[24]</sup>揭示了植物营养生长调节网络中枢的硝酸盐偶联  $\text{Ca}^{2+}$  信号传导机制。研究者开发了一种整合种子和以细胞为基础的分析方法, 以及通用的单细胞分析系统, 由此报道了一种由硝酸盐启动的  $\text{Ca}^{2+}$  信号, 从而

初步确定了硝酸盐信号传导的机制。研究者又利用超敏感的  $\text{Ca}^{2+}$  生物传感器, 致敏和靶向功能基因组筛选证明了 CPKs 作为主要调节因子参与硝酸盐的应答, 并利用化学方法成功回避了 CPK 基因双突变体导致胚胎致死而无法研究表型的问题。植物感受到硝酸盐信号后, 通过钙依赖性蛋白激酶 CPK10、CPK30 和 CPK32 传递到下游。此发现表明硝酸盐不仅可以诱导  $\text{Ca}^{2+}$  在细胞核的积累, 而且还可以快速引发 CPKs 在细胞核内的移动。CPK10、CPK30 和 CPK32 可以和调控 PNR 的核心转录因子 NLP7 在细胞核内发生蛋白质磷酸化作用(图 1)。磷酸化蛋白质组学分析表明磷酸化位点是 Ser205, NLP7 的去磷酸化 Ser205A 突变体不存在于细胞核, 且不能回补突变体 *nlp7* 的根系表型, 表明  $\text{Ca}^{2+}$  作为第二信使响应体内硝酸盐浓度的变化, 然后调节 CPK 活性以控制 NLP7 入核, 与细胞核内的 NLP7 发生互作。由此确定了 CPK 第 3 亚家族中的 CPK10、CPK30 以及 CPK32 作为 PNR 的关键因子, 协调硝酸盐诱导细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  与靶蛋白之间的磷酸化作用, 在整个 PNR 过程起调控作用。

表 1 参与钙信号介导的硝酸盐信号相关基因  
Table 1 Genes involved in calcium-mediated nitrate signaling

| 基因名称<br>Gene name | 基因编号<br>Gene ID | 染色体<br>Chromosome | 定位<br>Location | 功能<br>Function                       | 是否被硝酸盐<br>诱导表达<br>Transcriptional<br>regulation<br>by $\text{NO}_3^-$ or not | 参考文献<br>Reference |
|-------------------|-----------------|-------------------|----------------|--------------------------------------|--|-------------------|
| <i>AtNRT1.1</i>   | AT1G12110       | 1                 | NC_003070.9    | 硝酸盐吸收与感知, 抗旱, 种子休眠, 生长素累积            | 硝酸盐诱导  | [25]              |
| <i>AtCIPK8</i>    | AT4G24400       | 4                 | NP_001078442   | 正向调控初级硝酸盐反应基因的表达                     | 硝酸盐诱导  | [22]              |
| <i>AtCIPK23</i>   | AT1G30270       | 1                 | NC_003070.9    | 反向调控初级硝酸盐反应基因的表达                     | 硝酸盐瞬间诱导  | [23]              |
| <i>AtCPK10</i>    | AT1G18890       | 1                 | NC_003070.9    | 形成 Nitrate-CPK-NLP 网络                | 硝酸盐诱导  | [24]              |
| <i>AtCPK30</i>    | AT1G74740       | 1                 | NC_003070.9    | 形成 Nitrate-CPK-NLP 网络                | 硝酸盐诱导  | [24]              |
| <i>AtCPK32</i>    | AT3G57530       | 3                 | NC_003074.8    | 形成 Nitrate-CPK-NLP 网络                | 硝酸盐诱导  | [24]              |
| <i>AtNLP6</i>     | AT1G64530       | 1                 | NC_003070.9    | 形成 Nitrate-CPK-NLP 网络                | 硝酸盐诱导  | [24]              |
| <i>AtNLP7</i>     | AT4G24020       | 4                 | NC_003075.7    | 形成 Nitrate-CPK-NLP 网络                | 硝酸盐诱导  | [24]              |
| <i>AtANR1</i>     | AT2G14210       | 2                 | NC_003071.7    | 形成 Nitrate-CPK-NLP 网络                | 硝酸盐诱导  | [26]              |
| <i>AtCBL1</i>     | AT4G17615       | 4                 | NC_003075.7    | 与 CIPK23 和 CIPK8 互作; 调控硝酸盐转运、感知和信号途径 | 未发现  | [27]              |
| <i>AtCBL7</i>     | AT4G26560       | 4                 | NC_003075.7    | 调控低浓度的硝酸盐响应过程                        | 硝酸盐饥饿诱导  | [28]              |
| <i>OsNRT1.1B</i>  | LOC_Os10g40600  | 10                | NC_029265.1    | 双亲和硝酸盐转运蛋白, 参与水稻中硝酸盐的吸收以及根茎间硝酸盐的转运。  | 硝酸盐诱导  | [14]              |
| <i>OsNLP3</i>     | LOC_Os1g13540   | 1                 | NC_029256.1    | 硝酸盐信号传导的核心转录因子                       | 硝酸盐诱导  | [15]              |
| <i>OsCBL1</i>     | LOC_Os10g41510  | 10                | NC_029265.1    | 通过调控硝酸盐信号进而影响水稻生长                    | 未被硝酸盐诱导  | [29]              |

ANR1 (*Arabidopsis* nitrate regulated 1) 作为植物 MIKC 型 MADS box 家族转录因子 (MADS-box transcription factor, ANR) 的一员, 首次在连接外部硝酸盐与侧根 (Lateral root, LR) 发育过程中被发现<sup>[30]</sup>。Gan 等<sup>[31]</sup>指出, 在拟南芥中, ANR1 与硝酸盐共同正向调控 LR 的发育和幼苗的早期生长。Zhang 等<sup>[26]</sup>揭示  $\text{Ca}^{2+}$ -CPK-ANR1 信号通路与生长素共同调控侧根的生长发育, 这一过程受 NRT1.1 磷酸化形式的调控。NRT1.1<sup>T101A</sup> 非磷酸化突变体在高硝酸盐 (High nitrate, HN) 和低硝酸盐 (Low nitrate, LN) 条件下都表现出细胞质中  $\text{Ca}^{2+}$  信号的增强, 而 NRT1.1<sup>T101D</sup> 磷酸化突变体则表现出相反的趋势。此外, 在 HN 条件下, T101A 系的 ANR1 表达高于 T101D 系。因此, NRT1.1 的非磷酸化状态可激活  $\text{Ca}^{2+}$ -CPKs-NLPs 信号通路, 并上调 ANR1 的表达。然而在 LN 条件下 NRT1.1<sup>T101</sup> 的磷酸化和去磷酸化如何通过 ANR1 影响  $\text{Ca}^{2+}$  信号通路值得进一步研究。探索 ANR1 如何将细胞质  $\text{Ca}^{2+}$  与细胞核 PNR 连接的详细机制, 可以更好地理解钙信号如何将上游硝酸盐传感器复合物与下游硝酸盐信号通路的多个传感器相互连接, 对整个钙信号网络的建立具有重大意义。

#### 1.4 钙调磷酸酶 B 类蛋白在硝酸盐信号中的作用

植物 CBL 家族是一类独特的用来传递信号的  $\text{Ca}^{2+}$  感受器。研究发现, 拟南芥中 CBL7 调控低浓度硝酸盐响应过程, 该基因主要在幼苗根部表达并被硝酸盐饥饿诱导。无硝酸盐时 CBL7 的缺失导致根部生长受到抑制, NRT2.4/2.5 的表达水平下降<sup>[28]</sup>。随后又发现 CBL1 和蛋白磷酸酶 2C 家族成员 ABI2 调控硝酸盐转运、感知和信号途径 (表 1)<sup>[27]</sup>。Yang 等<sup>[29]</sup>在水稻中发现 *OsCBL1* 通过调控硝酸盐信号进而影响水稻幼苗的生长 (表 1)。*OsCBL1* 突变体植株在缺 N 的条件下表现生长迟缓, 根系和地上部发育不良。添加硝酸盐后, *OsCBL1* 突变体植株的表型可部分恢复, 然而和野生型相比, *OsCBL1* 突变体的硝酸盐吸收能力并未出现差异。无论是长时间还是短时间硝酸盐处理, *OsCBL1* 的表达均未受到诱导, 然而 *OsCBL1* 突变体中 PNR 的标志基因 *OsNRT2.1* 和 *OsNRT2.2* 都会受到影响, 这表明 *OsCBL1* 可能通过硝酸盐信号来调控水稻的生长。*OsCBL1* 可能作为一个转换器, 接受不同浓度硝酸盐诱导的  $\text{Ca}^{2+}$  信号, 从

而激活下游的 OsCIPKs 并调控下游基因的表达来传递  $\text{Ca}^{2+}$  信号。

## 2 PLCs、IP3 在硝酸盐信号和钙信号中的作用

PLCs 是一类膜类酶, 能够打破磷脂质, 引起脂膜重构, 产生多种第二信使<sup>[32]</sup>。在植物中根据底物特异性的不同分为两类 PLCs, 磷酸肌醇特异性磷脂酶 C (Phosphatidylinositol-PLC, PI-PLC) 和非特异性磷脂酶 C (NPC)。植物中的 NPC 和细菌中的 NPC 同源。NPC 优先选择乙酰胆碱 (PC-PLC)、磷脂酰乙醇胺 (PE-PLC) 或磷脂酰丝氨酸 (PS-PLC)。PI-PLC 是目前研究最为广泛的一类 PLCs, 它们把细胞膜上的磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 (PIP2) 水解成 IP3 和二酰基甘油 (Diacylglycerol, DAG)<sup>[33, 34]</sup>。IP3 可以促使内质网中储存的  $\text{Ca}^{2+}$  释放出来, 被认为是促使  $\text{Ca}^{2+}$  释放的第二信使。IP3/ $\text{Ca}^{2+}$  信号系统可以参与调控细胞的诸多生理过程, 可以直接产生  $\text{Ca}^{2+}$ , 或通过其它信号系统来产生  $\text{Ca}^{2+}$ <sup>[9, 33]</sup>。

Riveras 等<sup>[11]</sup>研究证明  $\text{Ca}^{2+}$  作为第二信使参与硝酸盐信号通路, 硝酸盐处理使得拟南芥细胞质内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度瞬间上升, 也使细胞质中的 IP3 浓度升高; 然而, PLCs 的药理学抑制剂 U73122 使得硝酸盐处理拟南芥中的 IP3 和  $\text{Ca}^{2+}$  浓度未出现类似的现象, 无效的 PLC 抑制剂类似物 U73343 不能产生和 U73122 一样的生化作用。NRT1.1/NPF6.3 的突变体 (*chl-5* 和 *chl-9*) 中细胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度经硝酸盐处理后并没有上升,  $\text{Ca}^{2+}$  和 PLCs 的抑制剂严重影响了响应硝酸盐基因 (*NRT2.1*、*TGA1*、*AFB3*、*NIR*、*NRT3.1*) 的表达。研究证明  $\text{Ca}^{2+}$  是拟南芥硝酸盐信号通路中的第二信使, NRT1.1/AtNPF6.3 和 PLCs 共同调控响应硝酸盐基因 (*NRT2.1*、*TGA1*、*AFB3*、*NIR*、*NRT3.1*) 的表达<sup>[11]</sup>。

## 3 展望

蛋白激酶 CIPK8 通过参与 PNR 的低亲和反应来调控硝酸盐的感知<sup>[22, 35]</sup>。未来的研究应该阐明 CIPK8 如何参与硝酸盐传感通路以及传感器上下游信号的分子机制, 从而完善硝酸盐传导网络。FIP1 (Factor interacting with poly(A) polymerase 1) 最初在酵母和哺乳动物中发现, Wang 等<sup>[36]</sup>研

究发现 FIP1 是硝酸盐调控基因, 且自身的表达不受硝酸盐的影响, 该基因突变后影响植株对硝酸盐的吸收, 参与 PNR 调控网络。FIP1 和 NRT1.1 共同调控 *CIPK8*、*CIPK23* 的表达, FIP1 和 NRT1.1 可能在两条通路上调控 PNR; CPSF30 (Cleavage and polyadenylation specificity factor) 的第一个锌指结构可以结合钙调素,  $\text{Ca}^{2+}$  信号途径可能会影响 pre-m RNA 3'-末端 poly(A) 位点的选择<sup>[37]</sup>, FIP1 与 CPSF30 发生互作从而共同参与 PNR 调控过程。阐明 FIP1 如何调节  $\text{Ca}^{2+}$  信号与硝酸盐信号的协调对于完善硝酸盐信号通路与 CIPKs 的联系十分必要, 将来研究者可利用生物学和正向/反向遗传学方法对此进行探索。

CPKs 连接由硝酸盐和 NLP7/6 触发的  $\text{Ca}$  波之间的间隙, NLP7/6 被认为是 PNR 的关键转录因子<sup>[24, 38]</sup>。首先, 在双亲和 NRT1.1 存在的情况下感知外部硝酸盐<sup>[2, 23, 39, 40]</sup>。其次, 硝酸盐通过一种尚未确定的磷脂酶的作用诱导  $\text{Ca}$  波<sup>[11]</sup>。第三,  $\text{Ca}^{2+}$  信号通过 CPK10、CPK30、CPK32 向下游传递。最后, CPKs 与 NLP7 和 NLP6 相互作用, 诱导它们触发细胞核内的 PNR<sup>[24]</sup>。这一发现挖掘了一些重要的问题, 如 CPKs 是否也能磷酸化细胞质中的 NLP7 以调节其核输入, NRT1.1 是否也通过 CIPK 或 CBL 受到  $\text{Ca}$  的调控。尽管磷蛋白组学分析显示, NLP7 的 Ser205 在细胞核中存在硝酸盐时被磷酸化<sup>[24]</sup>, 但核内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化的机制有待阐明。未来的研究重点应挖掘出响应硝酸盐复杂  $\text{Ca}^{2+}$  信号的受体蛋白、通道蛋白、其它营养物质、microRNAs、长非编码 RNA、环状 RNA、小肽、激素信号和环境因子等。超灵敏  $\text{Ca}^{2+}$  生物传感器的开发将加速这项研究<sup>[11, 22-24]</sup>, 从而更加全面地完善硝酸盐激发的  $\text{Ca}^{2+}$  信号网络。

尽管在植物中, 钙信号通过 CPKs 向下传递至关重要, 但支撑细胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度 ( $\text{Ca}_{\text{cyt}}^{2+}$ ) 与细胞核  $\text{Ca}^{2+}$  浓度 ( $\text{Ca}_{\text{nuc}}^{2+}$ ) 连接的生化途径仍在很大程度上不为人知, 无论是在时间上还是在空间上, 细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的变化都不是一个同步的过程<sup>[9]</sup>。在不同的条件下, 不同细胞器和其它亚细胞间的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度不同, 这些不同的  $\text{Ca}$  特征参与不同的细胞反应过程。 $\text{Ca}^{2+}$  通过  $\text{Ca}^{2+}$  通道进入到细胞质内,  $\text{Ca}^{2+}$  通道位于细胞膜和细胞器中。研究植物中  $\text{Ca}^{2+}$  通道为  $\text{Ca}^{2+}$  信号的研究提供基础条件, 对于

完善整个钙信号如何介导硝酸盐信号网络具有重要的意义。最新研究发现, 硝酸盐营养触发的钙信号编码分子开关 CNGC15-NRT1.1, 通过感应外界硝酸盐浓度变化, 激活或关闭  $\text{Ca}^{2+}$  通道, 并产生硝酸盐诱导的  $\text{Ca}^{2+}$  特异电流或者特征性钙信号, 传递硝酸盐浓度变化信号<sup>[21]</sup>。这种全新的营养小分子门控开关, 进一步完善了植物硝酸盐营养信号传导通路以及硝酸盐触发的钙信号传导途径, 今后有待进一步挖掘植物中存在的类似的小分子门控开关。NRT1.1 和 PLC 共同调控细胞质的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度以响应硝酸盐反应。在此过程中, PLC 将 PIP2 水解为 IP3 和 DAG, IP3 浓度的增加与细胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的增加呈正相关。IP3 是直接触发了细胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的增加, 还是通过其磷酸化产物 IP6 在硝酸盐-PLC- $\text{Ca}^{2+}$  途径中通过硝酸盐介导的  $\text{Ca}^{2+}$  释放起作用有待进一步研究。此外, DAG 不仅可以激活蛋白激酶 C 信号转导, 也能生成焦磷酸甘油二酯效应分子, 这是一个在磷脂酶 D 作用下的磷脂酸 (Phosphatidic acid, PA) 的底物。然而, 目前需要揭示的是 PA 是否会影响植物细胞质的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度。NPC 为离子和大分子的自由扩散形成了一个大通道。 $\text{Ca}^{2+}$  通过 NPC 向核质内弥散, 核内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度依赖于细胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的变化。因此需要更好地了解细胞质和细胞核中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的变化, 从而完善对植物  $\text{Ca}^{2+}$  信号转导过程的理解。

硝酸盐信号与激素信号密切相关, 从而调节植物生长发育以响应养分利用率<sup>[41-43]</sup>。CPK10 和 CPK30 在 20 年前就被证实与脱落酸 (ABA) 信号通路相关<sup>[44]</sup>。此外, NRT1.1 的磷酸化形式 (NRT1.1<sup>T101D</sup>) 在 LN 条件下加速了生长素通量, 而 NRT1.1 的非磷酸化形式 (NRT1.1<sup>T101A</sup>) 抑制生长素的转运, 触发  $\text{Ca}^{2+}$ -CPKs-ANR1 信号通路以调节 LR 的发育。

$\text{Ca}$  和硝酸盐信号通路 (如受体、激酶和转录因子) 的组成元件直到最近 10 年才被确定, 因此硝酸盐在转录和转录后水平触发钙信号是最近的研究方向<sup>[45-53]</sup>。研究者需要发现新的转运蛋白和信号转导分子, 利用基因工程技术改良植物的营养利用效率, 减少农业生产中化肥投入, 实现氮钙营养平衡及确保农业可持续发展具有重要意义。

## 参考文献:

- [ 1 ] 江华波, 王盛峰, 杨峰, 张中华, 邱亭池, 等. 不同浓度硝态氮供应下小麦生长, 硝态氮累积及根系钙信号特征 [J]. 植物科学学报, 2015, 33(3): 362–368.
- Jiang HB, Wang SF, Yang F, Zhang ZH, Qiu HC, et al. Plant growth, nitrate content and Ca signaling in wheat (*Triticum aestivum* L.) roots under different nitrate supply [J]. *Plant Science Journal*, 2015, 33(3): 362–368.
- [ 2 ] O'Brien JA, Vega A, Bouguyon E, Krouk G, Gojon A, et al. Nitrate transport, sensing and responses in plants [J]. *Mol Plant*, 2016, 9(6): 837–856.
- [ 3 ] Yuan S, Zhang ZW, Zheng C, Zhao ZY, Wang Y, et al. *Arabidopsis* cryptochrome 1 functions in nitrogen regulation of flowering [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(27): 7661–7666.
- [ 4 ] Vidal EA, Moyano TC, Canales J, Gutiérrez RA. Nitrogen control of developmental phase transitions in *Arabidopsis thaliana* [J]. *J Exp Bot*, 2014, 65(19): 5611–5618.
- [ 5 ] Castro MI, Loef I, Bartetzko L, Searle I, Coupland G, et al. Nitrate regulates floral induction in *Arabidopsis*, acting independently of light, gibberellin and autonomous pathways [J]. *Planta*, 2011, 233(3): 539–552.
- [ 6 ] Liu L, Gao HH, Li SX, Han Z, Li B. Calcium signaling networks mediate nitrate sensing and responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Signal Behav*, 2021, 16(10): 1938441.
- [ 7 ] Simeunovic A, Mair A, Wurzinger B, Teige M. Know where your clients are: subcellular localization and targets of calcium-dependent protein kinases [J]. *J Exp Bot*, 2016, 67(13): 3855–3872.
- [ 8 ] Ebert DH, Greenberg ME. Activity-dependent neuronal signalling and autism spectrum disorder [J]. *Nature*, 2013, 493(7432): 327–337.
- [ 9 ] Dodd AN, Kudla J, Sanders D. The language of calcium signaling [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61: 593–620.
- [ 10 ] 邹娟子, 胡诗琦, 王碧莹, 景沛, 杨俊, 等. 植物钙结合蛋白与钙离子结合鉴定技术的研究进展 [J]. 植物科学学报, 2014, 32(6): 661–670.
- Zou JZ, Hu SQ, Wang BY, Jing P, Yang J, et al. Recent advances in detection techniques of binding plant calcium-binding proteins to calcium ions [J]. *Plant Science Journal*, 2014, 32(6): 661–670.
- [ 11 ] Riveras E, Alvarez JM, Vidal EA, Oses C, Vega A, et al. The calcium ion is a second messenger in the nitrate signaling pathway of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2015, 169(2): 1397–1404.
- [ 12 ] Sueyoshi K, Mitsuyama T, Sugimoto T, Kleinhofs A, Warner RL, et al. Effects of inhibitors for signaling components on the expression of the genes for nitrate reductase and nitrite reductase in excised barley leaves [J]. *Soil Sci Plant Nutr*, 1999, 45(4): 1015–1019.
- [ 13 ] Sakakibara H, Kobayashi K, Deji A, Sugiyama T. Partial characterization of the signaling pathway for the nitrate-dependent expression of genes for nitrogen-assimilatory enzymes using detached maize leaves [J]. *Plant Cell Physiol*, 1997, 38(7): 837–843.
- [ 14 ] Hu B, Wang W, Ou SJ, Tang JY, Li H, et al. Variation in NRT1.1B contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(7): 834–840.
- [ 15 ] Hu B, Jiang Z, Wei W, Qiu YH, Zhang ZH, et al. Nitrate-NRT1.1B-SPX4 cascade integrates nitrogen and phosphorus signalling networks in plants [J]. *Nat Plants*, 2019, 5(4): 401–413.
- [ 16 ] Hashimoto K, Kudla J. Calcium decoding mechanisms in plants [J]. *Biochimie*, 2011, 93(12): 2054–2059.
- [ 17 ] Hamilton ES, Schlegel AM, Haswell ES. United in diversity: mechanosensitive ion channels in plants [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2015, 66: 113–137.
- [ 18 ] Sukharev S, Sachs F. Molecular force transduction by ion channels: diversity and unifying principles [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(13): 3075–3083.
- [ 19 ] Tang RJ, Wang C, Li KL, Luan S. The CBL-CIPK calcium signaling network: unified paradigm from 20 years of discoveries [J]. *Trends Plant Sci*, 2020, 25(6): 604–617.
- [ 20 ] 刘亚琪, 王文颖, 崔彦农, 郭欢, 李孟湛, 王锁民. 霸王环核苷酸门控通道基因 *ZxCNGC5* 的克隆及表达模式分析 [J]. 植物生理学报, 2018, 54(1): 157–164.
- Liu YQ, Wang WY, Cui YN, Guo H, Li MZ, Wang SM. Cloning and expression analysis of cyclic nucleotide-gated channels gene *ZxCNGC5* from *Zygophyllum xanthoxylum* [J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54(1): 157–164.
- [ 21 ] Wang X, Feng C, Tian L, Hou C, Tian W, et al. A transceptor-channel complex couples nitrate sensing to calcium signaling in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant*, 2021, 14(5): 774–786.
- [ 22 ] Hu HC, Wang YY, Tsay YF. AtCIPK8, a CBL-interacting protein kinase, regulates the low-affinity phase of the primary nitrate response [J]. *Plant J*, 2009, 57(2): 264–278.
- [ 23 ] Ho CH, Lin SH, Hu HC, Tsay YF. CHL1 functions as a nitrate sensor in plants [J]. *Cell*, 2009, 138(6): 1184–1194.
- [ 24 ] Liu KH, Niu Y, Konishi M, Wu Y, Du H, et al. Discovery of nitrate-cpk-nlp signalling in central nutrient-growth networks [J]. *Nature*, 2017, 545(7654): 311–316.
- [ 25 ] Fan X, Naz M, Fan X, Xuan W, Miller AJ, et al. Plant nitrate transporters: from gene function to application [J]. *J Exp Bot*, 2017, 68(10): 2463–2475.
- [ 26 ] Zhang X, Cui Y, Yu M, Su B, Gong W, et al. Phosphorylation-mediated dynamics of nitrate transceptor NRT1.1 regulate auxin flux and nitrate signaling in lateral root growth [J]. *Plant Physiol*, 2019, 181(2): 480–498.

- [27] Léran S, Edel KH, Pervent M, Hashimoto K, Corratgé-Faillie C, et al. Nitrate sensing and uptake in *Arabidopsis* are enhanced by ABI2, a phosphatase inactivated by the stress hormone abscisic acid [J]. *Sci Signal*, 2015, 8(375): ra43.
- [28] Ma Q, Tang RJ, Zheng XJ, Wang SM, Luan S. The calcium sensor CBL7 modulates plant responses to low nitrate in *Arabidopsis* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 468(1-2): 59-65.
- [29] Yang J, Deng X, Wang X, Wang JZ, Du SY, et al. The calcium sensor oscbl1 modulates nitrate signaling to regulate seedling growth in rice [J]. *PLoS One*, 2019, 14(11): e0224962.
- [30] Zhang HM, Forde BG. An *Arabidopsis* MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture [J]. *Science*, 1998, 279(5349): 407-409.
- [31] Gan Y, Bernreiter A, Filleur S, Abram B, Forde BG. Over-expressing the ANR1 MADS-Box gene in transgenic plants provides new insights into its role in the nitrate regulation of root development [J]. *Plant Cell Physiol*, 2012, 53(6): 1003-1016.
- [32] Tuteja N, Sopory SK. Plant signaling in stress: G-protein coupled receptors, heterotrimeric G-proteins and signal coupling via phospholipases [J]. *Plant Signal Behav*, 2008, 3(2): 379-386.
- [33] Singh A, Bhatnagar N, Pandey A, Pandey GK. Plant phospholipase C family: regulation and functional role in lipid signaling [J]. *Cell Calcium*, 2015, 58(2): 139-146.
- [34] Rupwate SD, Rajasekharan R. Plant phosphoinositide-specific phospholipase C: an insight [J]. *Plant Signal Behav*, 2012, 7(10): 1281-1283.
- [35] Vert G, Chory J. A toggle switch in plant nitrate uptake [J]. *Cell*, 138(6): 1064-1066.
- [36] Wang C, Zhang W, Li Z, Zhen L, Bi YJ, et al. Fip1 plays an important role in nitrate signaling and regulates cipk8 and cipk23 expression in *Arabidopsis* [J]. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 593.
- [37] Hunt AG. The *Arabidopsis* polyadenylation factor subunit CPSF30 as conceptual link between mRNA polyadenylation and cellular signaling [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2014, 21: 128-132.
- [38] Krouk G. Nitrate signalling: calcium bridges the nitrate gap [J]. *Nat Plants*, 2017, 3: 17095.
- [39] Wang YY, Cheng YH, Chen KE, Tsay YF. Nitrate transport, signaling, and use efficiency [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2018, 69: 85-122.
- [40] Bouguyon E, Brun F, Meynard D, Kubeš M, Pervent M, et al. Multiple mechanisms of nitrate sensing by *Arabidopsis* nitrate transceptor NRT1.1 [J]. *Nat Plants*, 2015, 1: 15015.
- [41] Edel KH, Kudla J. Integration of calcium and ABA signaling [J]. *Curr Opin in Plant Biol*, 2016, 33: 83-91.
- [42] Ristova D, Carré C, Pervent M, Medici A, Kim GJ, et al. Combinatorial interaction network of transcriptomic and phenotypic responses to nitrogen and hormones in the *Arabidopsis thaliana* root [J]. *Sci Signal*, 2016, 9(451): rs13.
- [43] Efeyan A, Comb WC, Sabatini DM. Nutrient-sensing mechanisms and pathways [J]. *Nature*, 2015, 517(7534): 302-310.
- [44] Sheen J.  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent protein kinases and stress signal transduction in plants [J]. *Science*, 1996, 274(5294): 1900-1902.
- [45] Kudla J, Becker D, Grill E, Hedrich R, Hippler M, et al. Advances and current challenges in calcium signaling [J]. *New Phytol*, 2018, 218(2): 414-431.
- [46] Canales J, Contreras-López O, Álvarez JM, Gutiérrez RA. Nitrate induction of root hair density is mediated by TGA1/TGA4 and CPC transcription factors in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 2017, 92(2): 305-316.
- [47] Guan P, Ripoll JJ, Wang R, Vuong L, Bailey-Steinitz LJ, et al. Interacting TCP and NLP transcription factors control plant responses to nitrate availability [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(9): 2419-2424.
- [48] Bouguyon E, Perrine-Walker F, Pervent M, Rochette J, Cuesta C, et al. Nitrate controls root development through post-transcriptional regulation of the NRT1.1/NPF6.3 transporter/sensor [J]. *Plant Physiol*, 2016, 172(2): 1237-1248.
- [49] Chen X, Yao Q, Gao X, Jiang CF, Harberd NP, et al. Shoot-to-root mobile transcription factor HY5 coordinates plant carbon and nitrogen acquisition [J]. *Curr Biol*, 2016, 26(5): 640-646.
- [50] Vidal EA, Álvarez JM, Moyano TC, Gutiérrez RA. Transcriptional networks in the nitrate response of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2015, 27: 125-132.
- [51] Zhong L, Chen D, Min D, Li W, Xu Z, et al. AtTGA4, a bZIP transcription factor, confers drought resistance by enhancing nitrate transport and assimilation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457(3): 433-439.
- [52] Alvarez JM, Riveras E, Vidal EA, Gras DE, Contreras-López O, et al. Systems approach identifies TGA1 and TGA4 transcription factors as important regulatory components of the nitrate response of *Arabidopsis thaliana* roots [J]. *Plant J*, 2014, 80(1): 1-13.
- [53] Guan P, Wang R, Nacry P, Breton G, Kay SA, et al. Nitrate foraging by *Arabidopsis* roots is mediated by the transcription factor TCP20 through the systemic signaling pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(42): 15267-15272.

(责任编辑: 周媛)