

李文静,王创.植物耐受铵离子毒性机制的研究进展[J].华中农业大学学报,2022,41(6):152-159.  
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.06.017

# 植物耐受铵离子毒性机制的研究进展

李文静<sup>1,2</sup>,王创<sup>2</sup>

1. 武汉市农业技术推广中心,武汉 430012; 2. 华中农业大学资源与环境学院/微量元素研究中心,武汉 430070

**摘要** 为探究植物耐受铵离子毒性的机制,从植物内铵态氮的来源、产生铵离子毒性的原因以及耐受铵离子的生理及分子机制三方面综述近年来研究进展,指出铵离子吸收和同化引起的根际和质外体酸化是造成铵毒的一个主要原因,植物可通过自身的机制以及外源添加其他养分等缓解铵离子毒性,同时对未来研究耐受铵离子毒性机制的前景进行展望,以期作为作物耐受铵离子毒性和高效利用氮素的分子设计育种提供理论指导。

**关键词** 铵态氮; 根际酸化; 质外体酸化; 铵离子耐受; 铵毒

**中图分类号** S158.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)06-0152-08

氮素是植物需求量最大的矿质元素,也是植物生长发育的主要限制因子之一,对提高作物产量起着至关重要的作用。为满足日益增长的粮食需求,农业生产过程中往往施用大量氮肥来提高作物产量<sup>[1]</sup>。然而作物对氮肥的利用效率比较低,研究指出作物只能利用30%~50%所施用的氮肥,这种高肥低效现象会使大量的氮肥流失到环境中引起一系列环境问题,如土壤酸化和水体富营养化以及温室效应加剧等,同时也会增加农业生产成本,不利于农业可持续发展<sup>[1-3]</sup>。我国是世界最大的氮肥生产和使用国<sup>[4]</sup>,面对日益增加的粮食需求和氮素肥料过量施用造成的严重环境问题,如何能够在降低氮素肥料施用的同时保证农作物产量,是推动我国发展绿色农业和农业可持续发展过程中的重要命题,其中提高作物本身的氮素利用效率是关键途径<sup>[5]</sup>。

植物对氮素的利用包括吸收、转运、同化和再利用等过程。植物吸收和利用的氮素分为有机氮和无机氮,其中无机氮是主要吸收形式,包括硝态氮和铵态氮<sup>[6]</sup>。植物吸收无机氮后,需要进行同化合成氨基酸供各项生命活动所用,其中硝态氮通过硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)和亚硝酸还原酶(nitrite reductase, NiR)还原成铵态氮,铵态氮再进一步通过谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)和谷氨酸合成酶(glutamate synthase, GOGAT)构成的GS/GO-

GAT途径来合成谷氨酰胺和谷氨酸,进而再合成其他含氮化合物(图1)。由此可见,铵态氮在植物氮素利用过程中发挥着十分重要的作用<sup>[7]</sup>。然而植物需要精细地维持其细胞内铵态氮的浓度,当铵态氮过量存在时会对植物产生毒性,使其生长受阻甚至死亡<sup>[8-9]</sup>。本文总结了近年来植物耐受铵离子毒性机制的研究进展,以期为提高植物耐受铵离子毒性和氮素利用效率提供理论基础。

## 1 植物细胞内铵态氮的主要来源

### 1.1 根系从土壤中吸收铵态氮

植物根系从土壤中吸收的铵态氮来源主要包括微生物固氮生产的铵(如根瘤菌固氮)、土壤有机氮矿化产生的铵和农田施用铵态氮肥等<sup>[10-11]</sup>。依植物种类和生长习性不同,植物表现出不同的铵离子偏好性和耐受能力。在酸性、通气性较差和低温的土壤中,氨化作用强于硝化作用,土壤中无机氮以铵态氮为主,如长期淹水的稻田。适应这种环境生长的作物,也往往是偏好吸收铵态氮的作物,能耐受较高浓度铵离子<sup>[12-13]</sup>,相反,通气性良好的旱地土壤中,硝化作用较强,土壤中无机氮以硝态氮为主,适应旱地生长的作物如马铃薯和甜菜等,往往对铵离子较敏感,在高铵条件下容易产生铵毒害<sup>[8-9]</sup>。植物根系对铵离子的吸收包括高亲和和低亲和两种转运系

收稿日期: 2022-04-16

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31772378)

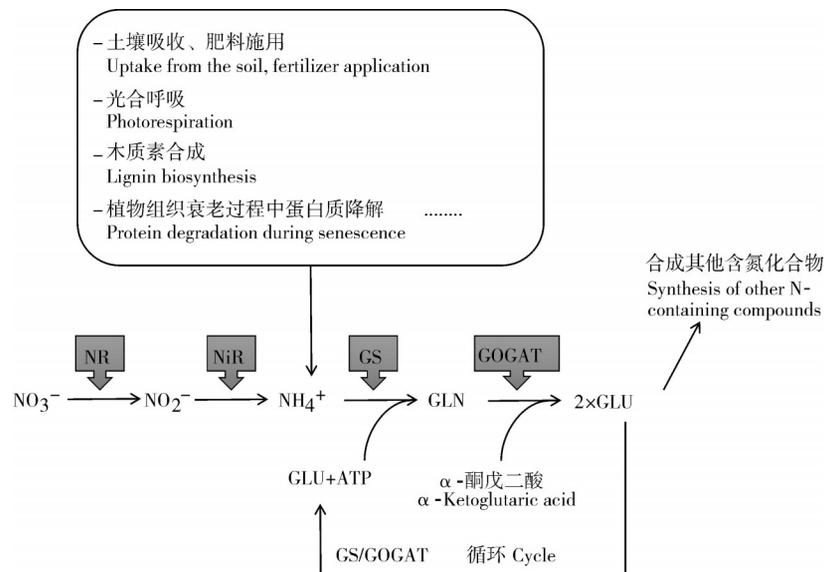
李文静, E-mail: liwenjing1011@126.com

统,分别在铵离子浓度较低和较高时发挥作用,包括细胞质膜定位的铵离子转运蛋白、部分水孔蛋白以及钾离子通道等<sup>[14-18]</sup>。以模式植物拟南芥为例,定位于细胞膜上的铵离子转运蛋白AMT(ammonium transporter, AMT)家族组成其高亲和铵离子转运系统。拟南芥中共有6个AMT家族成员(*AtAMT1;1*~*1;5*和*AtAMT2;1*),它们在铵离子的吸收转运上发挥着不同的作用<sup>[18]</sup>。如定位于根毛和根表皮的*AtAMT1;1*和*AtAMT1;3*蛋白,对铵离子亲和能力强,可直接吸收土壤中的铵离子,而定位于植物根系皮层和内皮层的*AtAMT1;2*蛋白,可进一步将质外体内的铵离子进行回收<sup>[18]</sup>。相比根系,植物地上部分对铵离子的耐受能力往往较差,因此,通过根系吸收进来的铵离子大部分会通过GS/GOGAT途径进行同化,很少运输到地上部分。然而当外界铵离子

浓度较高时,也会有少部分铵离子通过木质部运输到植物的地上部分,研究指出定位于根系中柱鞘的*AtAMT2;1*参与此过程<sup>[19-20]</sup>。目前,参与植物地上部铵态氮分配和再转运的转运体蛋白鲜有报道<sup>[21]</sup>。

## 1.2 植物内部代谢产生的铵态氮

1)植物通过硝态氮还原产生铵态氮。依据植物种类不同,吸收的硝态氮可在根中或者地上部分进行同化<sup>[22]</sup>。硝态氮的同化首先需要通过位于细胞质中的硝酸还原酶(NR)还原成亚硝酸根。植物中硝酸还原酶包括2种类型,最常见的是NADH特异型,在植物叶片和根系中都有发现。另一种为NAD(P)H双特异型,在植物根系中发挥重要作用<sup>[23-24]</sup>。亚硝酸根转运至叶绿体或者质体中,再通过亚硝酸还原酶(NiR)还原成铵态氮<sup>[22]</sup>(图1)。



NR:硝酸还原酶 Nitrate reductase; NiR:亚硝酸还原酶 Nitrite reductase; GS:谷氨酰胺合成酶 Glutamine synthetase; GOGAT:谷氨酸合成酶 Glutamate synthase; GLN:谷氨酰胺 Glutamine; GLU:谷氨酸 Glutamic acid.

图1 植物体内氮素同化途径示意图

Fig. 1 Schematic diagram of nitrogen assimilation pathways in plants

2)植物通过光合呼吸产生铵态氮。光合呼吸是植物细胞内代谢产生铵态氮的重要来源。据统计,C3植物光合呼吸产生的铵态氮至少是硝态氮还原产生铵态氮的10倍<sup>[25]</sup>。光合呼吸包括在叶绿体、过氧化物酶体和线粒体中进行的一系列反应,在叶绿体中产生2-磷酸乙醇酸,然后进入过氧化物酶体中形成甘氨酸,甘氨酸最终进入线粒体中,在转变为丝氨酸过程中释放出 $\text{NH}_3$ 和 $\text{CO}_2$ <sup>[26]</sup>。

3)植物木质素合成过程中产生铵态氮。除光合呼吸外,木质素合成途径也是生成铵态氮的重要来

源之一。在木质素合成途径中的第一步,苯丙氨酸会在苯丙氨酸解氨酶(PAL)作用下脱氨基形成肉桂酸,同时释放游离的铵离子<sup>[27]</sup>。

4)植物衰老过程中氮素活化以及再利用产生铵态氮。植物进入生殖生长时期,根系活力减弱,从土壤中直接吸收的氮素有限。此时,氮素从衰老组织的再转运成为氮素的主要来源。氮素的再转运需要先将衰老组织内的蛋白质进行降解,此过程会释放出大量氮素包括铵态氮,这些生成的铵态氮需要受到严格调控以避免对细胞造成毒害<sup>[21,28]</sup>。

## 2 植物产生铵离子毒性的原因

虽然铵态氮是植物生长所需的主要无机氮源之一,但是当其过量存在时会严重影响植物的正常生长发育。植物在高铵胁迫下,会表现出生长受阻,根冠比降低,主根变短而侧根增加,地上部叶片失绿和枯萎等症状<sup>[8,9,29-30]</sup>。随着农业生产过程中持续性的施用氮素肥料,土壤中铵态氮也随之累积,加上大气中铵态氮的沉积,容易使作物,特别是对铵离子不耐受的作物产生毒性,造成减产甚至死亡<sup>[31]</sup>。目前学术界对铵离子毒害机制有多种解释,其中铵离子吸收和同化引起的酸化是造成铵毒的主要原因之一。植物根系细胞吸收和同化铵离子的过程会不断产生并释放氢离子,引起根际酸化,影响根系对其他养分的吸收,最终影响植物内部生理代谢过程,造成生长胁迫<sup>[8,32-34]</sup>。当植物在铵态氮作为唯一氮源的条件培养时,其外界生长环境会迅速酸化<sup>[35]</sup>。研究表明,将水稻幼苗培养在氯化铵作为唯一氮源并且没有pH缓冲剂的营养液中,处理2 d后营养液pH即从原始的4.5降至3.5<sup>[36]</sup>。对于不耐受铵离子的植物,这种外界环境的酸化会使植物生长受到严重胁迫。如模式植物拟南芥,属于铵态氮敏感的植物。在高浓度铵离子处理条件下,拟南芥幼苗根系生长明显受阻,地上部叶片变黄,生物量显著降低,而当铵离子浓度下降或培养基pH升高时,幼苗的生长得到显著恢复,表明外界生长环境酸化造成的胁迫是产生铵离子毒性的主要原因<sup>[37-38]</sup>。铵离子吸收和同化产生的氢离子除了通过根系释放至外界环境外,还会释放至质外体中引起质外体酸化。在高铵条件下,植物根系构型会发生变化,表现为主根生长受阻,侧根数目增加,而这些与高铵引起的质外体酸化有着密切的关系<sup>[30,39]</sup>。植物除了通过表皮细胞将氢离子直接排至环境中,根系吸收铵态氮时还可能将氢离子分泌至内皮层和中柱细胞的质外体中,质外体pH的降低进而刺激生长素的径向扩散,诱发侧根的生长<sup>[30]</sup>。同时,这种质外体酸化效应将溶解根系细胞壁中固定的铁元素,提高细胞壁中铁元素的有效性,铁元素在细胞壁中的氧化还原反应诱导活性氧在根尖分生区过量产生。活性氧积累会诱导胼胝质在根系韧皮部合成,进而抑制了韧皮部蔗糖的运输与卸载,最终抑制了根系的生长<sup>[29,39]</sup>。

除根系生长受到铵离子胁迫外,高铵条件下植物地上部也会表现出失绿枯黄等生长胁迫现象。通常情况下植物吸收的铵离子会在根系中同化,而当

外界铵离子浓度较高时,会有少部分从根系转运至地上部<sup>[19]</sup>,而地上部耐受铵离子较根系差,地上部铵离子浓度的增加也被认为是产生铵离子毒性的原因<sup>[40-41]</sup>。也有研究指出,植物地上部产生铵离子毒性的原因并非是铵离子本身的过多积累,而与铵离子同化引起的酸化有关<sup>[42]</sup>。拟南芥GLN2(谷氨酰胺合成酶2)负责在植物地上部将铵态氮同化为谷氨酰胺,研究发现,*gln2*突变体对铵离子耐受能力增加,在10 mmol/L铵离子作为氮源生长时,长势优于野生型<sup>[42]</sup>。为进一步探究突变体耐铵原因,研究者检测植株地上部铵离子浓度,发现*gln2*突变体耐铵能力增加并不是因为其地上部铵离子浓度降低,相反其地上部铵离子可积累至100  $\mu\text{mol/g}$ ,是野生型的近10倍,而突变体耐受铵离子的真正原因是在于其地上部氢离子浓度相比于野生型显著降低<sup>[42]</sup>。研究者指出在高铵条件下,GLN2将铵离子同化成谷氨酰胺的过程中会在细胞质中产生大量氢离子并外排至质外体,而地上部质外体因空间较小无法承受过量氢离子,最终导致细胞内外酸化,扰乱细胞内生理生化代谢过程,通过添加碱性铵溶液降低了野生型植株地上部酸度,使植物铵毒胁迫得到有效缓解<sup>[42]</sup>。此外,有研究发现对酸性敏感的拟南芥突变体植株对铵离子也表现出强烈的敏感性<sup>[42]</sup>。这些都进一步表明引起植物地上部铵离子毒性的主要原因是铵离子的过多同化释放大量氢离子引起地上部酸化造成胁迫。综上所述,酸化是引起植物铵离子胁迫的主要原因之一,其不仅发生在根系,在植物地上部也同样存在。与以上理论一致,自然界中对铵离子耐受的植物常常对酸胁迫也较为耐受,如长期生长在淹水环境的水稻和偏好酸性土壤的园艺作物蓝莓,这些现象进一步说明铵毒害与其引起酸化过程密切相关<sup>[8,34,43-44]</sup>。

除铵离子吸收和同化过程中造成的酸化外,也有学者指出高铵条件下,植物为维持细胞内铵离子稳态,会将过多铵离子泵出至细胞外,形成无效的运输循环且消耗大量能量,该过程不利于植物生长,是造成植物铵毒的主要原因<sup>[45]</sup>。该理论的主要依据是,在高铵条件下,对铵毒敏感的大麦会将80%吸收的铵离子泵出至细胞外,此过程伴随着根系呼吸提升40%,耗费大量能量<sup>[45]</sup>。但是随后相同的研究组指出细胞内外进行无效循环的铵态氮不是铵离子而是氨气分子,而其运输过程不消耗能量,这使得铵离子无效循环引起的能量损耗的说法需要进一步考

证<sup>[46]</sup>。除此之外,在高铵胁迫下植物体内的活性氧会积累,进而诱导一些编码抗氧化酶的基因上调<sup>[35,39,47]</sup>,还有一些研究指出高铵处理会打破植物内部激素稳态等<sup>[9]</sup>,而这些可能是高铵胁迫下的下游反应,并不是造成铵离子毒性的主要原因。

### 3 植物耐受铵离子的生理及分子机制

近年来,学者们通过筛选铵毒敏感或耐受的突变体以及全基因组关联分析等研究,克隆了植物中多个参与铵毒耐受性的关键基因,在分子机制层面上对铵毒机制进行了深入研究。植物可通过一些自身的机制来维持对铵离子的耐受性(图2)。面对高铵胁迫条件,植物进化出对应的保护措施,如高铵浓度下拟南芥主要的铵离子转运蛋白AMT1;1会被磷酸化,进而失去功能<sup>[48]</sup>;同时AMT1;3在高铵条件下

会通过内吞作用从细胞膜上被移除<sup>[49]</sup>,通过抑制AtAMT1;1和AtAMT1;3的功能,可显著降低拟南芥对于铵离子的吸收。然而高铵条件下,铵态氮仍可以通过一些水孔蛋白、钾离子通道和非选择性阳离子通道以自由扩散的方式进入细胞内<sup>[14]</sup>。

综合各种理论,Marino等<sup>[50]</sup>提出植物维持细胞质铵离子稳态的3个核心策略:(1)将铵态氮存储在液泡内;(2)将铵态氮排出细胞外;(3)将铵态氮进行同化。植物往往联合以上3种策略来共同维持细胞质中的铵离子稳态。植物主要通过GS同化来消耗铵离子,如光合呼吸产生的铵态氮会被GS2同化,木质素合成产生的铵态氮会被GS1同化<sup>[51]</sup>,此外,在高铵条件下,编码GDH酶的基因也会上调,以消耗铵离子<sup>[35]</sup>。虽然液泡膜上响应细胞质铵态氮水平的受体激酶CAP1被克隆<sup>[52]</sup>,但铵离子存储和外排的转运体蛋白至今未见报道<sup>[21,40,53]</sup>。

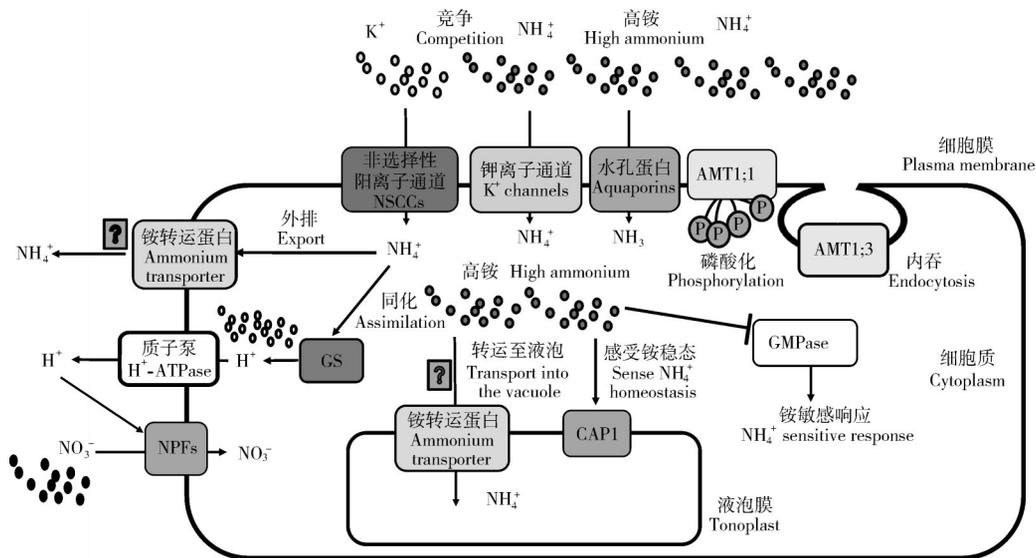


图2 植物耐受铵离子的分子机制示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the molecular mechanisms of ammonium tolerance for plants

蛋白质的糖基化是蛋白质翻译后一种常见的修饰,对于蛋白质的正确折叠、转运和相互作用等十分重要,研究指出蛋白质糖基化缺陷可能是植物受到铵离子胁迫的重要下游反应<sup>[54]</sup>。GDP-甘露糖焦磷酸化酶(GMPase)是参与合成蛋白质糖基化过程的重要代谢酶,其突变会导致糖基供体GDP-甘露糖合成受阻,进而影响蛋白质糖基化。研究者通过分离编码GMPase基因的拟南芥突变体,发现突变体对于铵离子毒性十分敏感,此外铵离子可抑制GMPase活性,GMPase活性水平控制着植物对铵离子毒性的敏感程度<sup>[54]</sup>。Tanaka等<sup>[55]</sup>进一步研究发现AtNUDX9

是一个编码GDP-甘露糖焦磷酸化酶的基因,参与调控铵离子胁迫下拟南芥的根系生长。转录因子AtWRKY46对铵离子响应十分敏感,尤其在根尖中表达受铵离子强烈诱导,其可直接与AtNUDX9基因的启动子结合并负调控该基因的转录,最终增加蛋白质的糖基化并控制根系伸长区的铵离子外流,从而正调控高铵条件下的主根生长<sup>[56]</sup>。

水稻作为喜铵作物,其耐受铵离子的分子机制也得到了学者们的关注。通过研究水稻根系质子泵,研究者发现在低pH条件下水稻根系多个编码H<sup>+</sup>-ATPase酶的基因会上调表达,通过外排H<sup>+</sup>来维

持细胞质的pH<sup>[13,44]</sup>。由于在高浓度铵离子供应条件下根际会发生酸化,质外体H<sup>+</sup>浓度也会升高,一部分H<sup>+</sup>会通过扩散作用进入细胞内造成细胞质酸化,水稻通过增强质子泵活性以增强对铵离子的耐受性<sup>[13,44]</sup>。此外,近期研究表明,超表达水稻一个编码质子泵的基因*OSA1*,不仅可以提升水稻对铵离子的吸收和同化,而且可以增加叶片气孔开度,提升叶片光合效率,最终使水稻产量提升33%,氮素利用效率提升46%,使水稻的碳氮利用效率都得以大幅提升<sup>[57]</sup>。水稻质子泵的研究或许可以借鉴到其他作物,通过导入铵耐受植物的优势基因,也许能够提升其他作物对于高铵环境的耐受能力,对提高产量具有重要意义。

除植物自身的调节机制外,通过外源措施也能缓解植物铵离子毒性,其中,调节植物生长环境的pH能够有效缓解植物的铵离子毒性,例如硝态氮的吸收伴随氢离子同向内流,且硝态氮还原的过程中可以消耗细胞质内的氢离子,因此,硝态氮的添加能够有效缓解铵态氮带来的酸化<sup>[42,58]</sup>。此外钾离子的添加也是缓解铵离子毒性的有效途径。研究指出,钾离子和铵离子有竞争关系,钾离子的添加可以减少铵离子的吸收<sup>[14]</sup>。此外,钾离子还可以提高参与同化铵离子酶的活性,促进铵离子的同化<sup>[9,59]</sup>。还有研究指出增加根系碳源供应<sup>[60]</sup>和光照强度等也可缓解铵离子毒性<sup>[61-62]</sup>。研究还发现,添加维生素B<sub>6</sub>也可以缓解铵毒条件下根系的生长抑制<sup>[39]</sup>。

## 4 问题与展望

在全球气候变暖的环境背景下,二氧化碳的升高会使硝态氮的还原效率降低,因而未来铵态氮在农业中的作用越来越重要<sup>[63-64]</sup>。这种趋势下,解析植物铵离子耐受机制,挖掘铵离子耐受的优异等位基因,培育耐受高铵胁迫的作物尤为重要。虽然目前对植物耐受铵离子毒性的机制有了一定的认识,但是其分子机理和遗传资源的挖掘还不足,有待进一步的研究。

### 4.1 铵离子的区域化分配和组织器官间分配

铵态氮在细胞内以及各个组织器官间的分配是维持铵态氮稳态的重要机制,与铵离子耐受机制相比,学术界对于维持植物内部铵离子稳态的转运平衡机制认识还不清楚。植物将吸收的离子积累在液泡中,通过区域化分配可减少干扰细胞质中的生化代谢过程<sup>[65]</sup>,将过多吸收的铵态氮存贮至液泡内也

是缓解铵离子毒性的重要策略<sup>[50]</sup>。当前报道指出气态氨分子可通过TIP家族蛋白扩散至液泡内<sup>[66]</sup>,同时CAPP1也被鉴定为定位于液泡上感应细胞质铵态氮水平的激酶<sup>[52]</sup>,但是定位于液泡膜上能够转运铵离子的转运蛋白尚未被鉴定<sup>[21,53]</sup>。鉴于细胞质的pH为7.0~7.5,细胞质中只有1%的铵态氮是以气态分子形式存在,大部分是离子态<sup>[40]</sup>,因此,鉴定液泡膜上的铵离子转运蛋白十分必要。此外,当前植物内铵态氮分配机制的研究也不够深入,相关蛋白鲜有报道<sup>[21]</sup>,后续研究应对植物地下部和地上部参与铵态氮分配的机制进行解析,特别是克隆参与铵态氮分配和再转运的关键基因,在此基础上解析这些基因的生理功能和作用机制,可更加清晰地了解铵态氮在植物亚细胞水平以及组织水平的转运和分配。

### 4.2 铵代谢相关酶功能调控

铵态氮同化为谷氨酰胺的过程是消耗铵态氮的重要过程,但同时也是产生氢离子的重要途径<sup>[42,67]</sup>,后续研究可对GS1和GS2基因和蛋白在根系和地上部的时空表达和蛋白活性的调控进行研究,以达到对铵态氮的合理利用同时避免过多氢离子的产生。此外,GDH酶也是参与铵态氮稳态的重要酶<sup>[68]</sup>,可进一步对GDH酶的功能进行挖掘。

### 4.3 铵毒与耐酸机制

虽然对于铵离子毒性机制的解释还不统一,但铵态氮吸收和利用过程中造成的细胞内外的酸化是产生铵离子毒性的重要原因。后续对于植物耐受铵离子机制的解析可以针对植物的耐酸机制进行研究。例如质子泵是维持细胞内外pH的重要机制,可对植物中位于细胞膜和液泡膜上的质子泵系统进行分子鉴定和功能挖掘,同时可进一步在作物中筛选耐受铵离子以及耐酸的遗传材料,通过全基因组关联分析等定位优势基因,通过转基因和基因编辑等技术培育耐受铵离子的作物品种。

## 参考文献References

- [1] 杨德生,黄冠军,李勇,等.水稻氮高效栽培技术、品种改良和生理机制研究进展[J].华中农业大学学报,2022,41(1):62-75. YANG D S, HUANG G J, LI Y, et al. Progress on cultivation technologies, variety improvements and physiological mechanisms of rice with high nitrogen utilization efficiency [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2022, 41(1): 62-75 (in Chinese with English abstract).
- [2] 颜晓元,夏龙龙,逯超普.面向作物产量和环境双赢的氮肥施用策略[J].中国科学院院刊,2018,33(2):177-183. YAN X Y,

- XIA L L, TI C P. Win-win nitrogen management practices for improving crop yield and environmental sustainability[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2018, 33(2): 177-183 (in Chinese with English abstract).
- [3] TILMAN D, CASSMAN K G, MATSON P A, et al. Agricultural sustainability and intensive production practices[J]. Nature, 2002, 418(6898): 671-677.
- [4] ZHANG W F, DOU Z X, HE P, et al. New technologies reduce greenhouse gas emissions from nitrogenous fertilizer in China[J]. PNAS, 2013, 110(21): 8375-8380.
- [5] 蒋志敏, 王威, 储成才. 植物氮高效利用研究进展和展望[J]. 生命科学, 2018, 30(10): 34-45. JIANG Z M, WANG W, CHU C C. Towards understanding of nitrogen use efficiency in plants [J]. Chinese bulletin of life science, 2018, 30(10): 34-45 (in Chinese with English abstract).
- [6] XU G, FAN X, MILLER A J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency[J]. Annual review of plant biology, 2012, 63(1): 153-182.
- [7] 徐晓鹏, 傅向东, 廖红. 植物铵态氮同化及其调控机制的研究进展[J]. 植物学报, 2016, 51(2): 152-166. XU X P, FU XD, LIAO H. Advances in study of ammonium assimilation and its regulatory mechanism in plants[J]. Chinese bulletin of botany, 2016, 51(2): 152-166 (in Chinese with English abstract).
- [8] BRITTO D T, KRONZUCKER H J.  $\text{NH}_4^+$  toxicity in higher plants: a critical review[J]. Journal of plant physiology, 2002, 159(6): 567-584.
- [9] ESTEBAN R, ARIZ I, CRUZ C, et al. Review: mechanisms of ammonium toxicity and the quest for tolerance[J]. Plant science, 2016, 248: 92-101.
- [10] HART S C, STARK J M, DAVIDSON E A, et al. Nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification[M]. New York: John Wiley & Sons, Ltd, 2018.
- [11] KUYPERS M M M, MARCHANT H K, KARTAL B. The microbial nitrogen-cycling network [J]. Nature reviews microbiology, 2018, 16(5): 263-276.
- [12] ARTH I, FRENZEL P, CONRAD R. Denitrification coupled to nitrification in the rhizosphere of rice [J]. Soil biology and biochemistry, 1998, 30(4): 509-515.
- [13] 朱毅勇, 曾后清, 狄廷均, 等. 细胞膜质子泵在水稻耐铵机制中的作用机理探讨[J]. 中国水稻科学, 2011, 25(1): 112-118. ZHU Y Y, ZENG H Q, DI T Y, et al. Investigation on the mechanism of adaption of plasma membrane  $\text{H}^+$ -ATPase to ammonium nutrition in rice[J]. Chinese journal of rice science, 2011, 25(1): 112-118 (in Chinese with English abstract).
- [14] HOOPEN F T, CUIN T A, PEDAS P, et al. Competition between uptake of ammonium and potassium in barley and *Arabidopsis* roots: molecular mechanisms and physiological consequences[J]. Journal of experimental botany, 2010, 61(9): 2303-2315.
- [15] JAHN T P, MÖLLER A L, ZEUTHEN T, et al. Aquaporin homologues in plants and mammals transport ammonia[J]. FEBS letters, 2004, 574(1): 31-36.
- [16] SOHLENKAMP C, WOOD C C, ROEB G W, et al. Characterization of *Arabidopsis* AtAMT2, a high-affinity ammonium transporter of the plasma membrane[J]. Plant physiology, 2002, 130(4): 1788-1796.
- [17] WANG M Y, GLASS A D M, SHAFF J E, et al. Ammonium uptake by rice roots (III. electrophysiology)[J]. Plant physiology, 1994, 104(3): 899-906.
- [18] YUAN L, LOQUÉD, 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[J]. The plant cell, 2007, 19(8): 2636-2652.
- [19] SCHJOERRING J K, HUSTED S, MÅCK G, et al. The regulation of ammonium translocation in plants [J]. Journal of experimental botany, 2002, 53(370): 883-890.
- [20] GIEHL R F H, LAGINHA A M, DUAN F, et al. A critical role of AMT2;1 in root-to-shoot translocation of ammonium in *Arabidopsis* [J]. Molecular plant, 2017, 10(11): 1449-1460.
- [21] TEGEDER M, MASCLAUX-DAUBRESSE C. Source and sink mechanisms of nitrogen transport and use[J]. New phytologist, 2018, 217(1): 35-53.
- [22] HELDT H W, PIECHULLA B. Plant biochemistry [M]. Amsterdam: Academic Press, 2005; 275-308.
- [23] LEA P J, MOROT-GAUDRY J F. Plant nitrogen [M]. Berlin: Springer-Verlag Press, 2001.
- [24] OAKS A. Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation[J]. Canadian journal of botany, 1994, 72(6): 739-750.
- [25] LAM H M, COSCHIGANO K, OLIVEIRA I, et al. The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants[J]. Annual review of plant biology, 1996, 47(1): 569-593.
- [26] OSMOND C B, FOYER C H, BOCK G, et al. Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection [J]. Philosophical transactions of the royal society of London series B: biological sciences, 2000, 355(1402): 1517-1529.
- [27] WHETTEN R, SEDEROFF R. Lignin biosynthesis [J]. The plant cell, 1995, 7(7): 1001-1013.
- [28] HAVÉ M, MARMAGNE A, CHARDON F, et al. Nitrogen remobilization during leaf senescence: lessons from *Arabidopsis* to crops [J]. Journal of experimental botany, 2017, 68(10): 2513-2529.
- [29] LIU X X, ZHANG H H, ZHU Q Y, et al. Phloem iron remodels root development in response to ammonium as the major nitrogen source [J/OL]. Nature communications, 2022, 13(1): 561 [2022-04-16]. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28261-4>.
- [30] MEIER M, LIU Y, LAY-PRUITT K S, et al. Auxin-mediated root branching is determined by the form of available nitrogen [J]. Nature plants, 2020, 6(9): 1136-1145.
- [31] ZHOU Y, BAI L, SONG C P. Ammonium homeostasis and signaling in plant cells[J]. Science bulletin, 2015, 60(8): 741-747.
- [32] SCHUBERT S, YAN F. Nitrate and ammonium nutrition of plants: effects on acid/base balance and adaptation of root cell plasmalemma  $\text{H}^+$ -ATPase [J]. Zeitschrift für pflanzenernährung und bodenkunde, 1997, 160(2): 275-281.
- [33] FENG H, FAN X, MILLER A J, et al. Plant nitrogen uptake and assimilation: regulation of cellular pH homeostasis [J]. Journal of experimental botany, 2020, 71(15): 4380-4392.
- [34] WANG F, GAO J, TIAN Z, et al. Adaptation to rhizosphere acidification is a necessary prerequisite for wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling resistance to ammonium stress [J]. Plant physi-

- ology and biochemistry, 2016, 108: 447-455.
- [35] PATTERSON K, CAKMAK T, COOPER A, et al. Distinct signaling pathways and transcriptome response signatures differentiate ammonium- and nitrate-supplied plants [J]. *Plant, cell & environment*, 2010, 33(9): 1486-1501.
- [36] HU A Y, ZHENG M M, SUN L M, et al. Ammonium alleviates manganese toxicity and accumulation in rice by down-regulating the transporter gene *OsNramp5* through rhizosphere acidification [J/OL]. *Frontiers in plant science*, 2019, 10: 1194 [2022-04-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31632426/>. DOI: 10.3389/fpls.2019.01194.
- [37] SARASKETA A, GONZÁLEZ-MORO M B, GONZÁLEZ-MURUA C, et al. Nitrogen source and external medium pH interaction differentially affects root and shoot metabolism in *Arabidopsis* [J/OL]. *Frontiers in plant science*, 2016, 7: 29 [2022-04-16]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00029>.
- [38] ZHENG X, HE K, KLEIST T, et al. Anion channel SLAH3 functions in nitrate-dependent alleviation of ammonium toxicity in *Arabidopsis* [J]. *Plant, cell & environment*, 2015, 38(3): 474-486.
- [39] LIU Y, MANIERO R A, GIEHL R F H, et al. PDX1.1-dependent biosynthesis of vitamin B<sub>6</sub> protects roots from ammonium-induced oxidative stress [J]. *Molecular plant*, 2022, 15: 1-20.
- [40] BITTSÁNSZKY A, PILINSZKY K, GYULAI G, et al. Overcoming ammonium toxicity [J]. *Plant science*, 2015, 231: 184-190.
- [41] LIANG G, SONG H, XIAO Y, et al. Ammonium accumulation caused by reduced tonoplast V-ATPase activity in *Arabidopsis thaliana* [J/OL]. *International journal of molecular sciences*, 2020, 22(1): 2 [2022-04-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33374906/>. DOI: 10.3390/ijms22010002.
- [42] HACHIYA T, INABA J, WAKAZAKI M, et al. Excessive ammonium assimilation by plastidic glutamine synthetase causes ammonium toxicity in *Arabidopsis thaliana* [J/OL]. *Nature communications*, 2021, 12(1): 4944 [2022-04-16]. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25238-7>.
- [43] IMLER C S, ARZOLA C I, NUNEZ G H. Ammonium uptake is the main driver of rhizosphere pH in southern highbush blueberry [J]. *HortScience*, 2019, 54(5): 955-959.
- [44] ZHU Y, DI T, XU G, et al. Adaptation of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase of rice roots to low pH as related to ammonium nutrition [J]. *Plant, cell & environment*, 2009, 32(10): 1428-1440.
- [45] BRITTO D T, SIDDIQI M Y, GLASS A D, et al. Futile transmembrane NH<sub>4</sub><sup>+</sup> cycling: a cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants [J]. *PNAS*, 2001, 98(7): 4255-4258.
- [46] COSKUN D, BRITTO D T, LI M, et al. Rapid ammonia gas transport accounts for futile transmembrane cycling under NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> toxicity in plant roots [J]. *Plant physiology*, 2013, 163(4): 1859-1867.
- [47] LI G, ZHANG L, WANG M, et al. The *Arabidopsis* AMOT1/EIN3 gene plays an important role in the amelioration of ammonium toxicity [J]. *Journal of experimental botany*, 2019, 70(4): 1375-1388.
- [48] LOQUÉ D, LALONDE S, LOOGER L L, et al. A cytosolic trans-activation domain essential for ammonium uptake [J]. *Nature*, 2007, 446(7132): 195-198.
- [49] WANG Q, ZHAO Y, LUO W, et al. Single-particle analysis reveals shutoff control of the *Arabidopsis* ammonium transporter AMT1; 3 by clustering and internalization [J]. *PNAS*, 2013, 110(32): 13204-13209.
- [50] MARINO D, MORAN J F. Can ammonium stress be positive for plant performance? [J/OL]. *Frontiers in plant science*, 2019, 10: 1103 [2022-04-16]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01103>.
- [51] LOTHIER J, GAUFICHON L, SORMANI R, et al. The cytosolic glutamine synthetase GLN1; 2 plays a role in the control of plant growth and ammonium homeostasis in *Arabidopsis* rosettes when nitrate supply is not limiting [J]. *Journal of experimental botany*, 2011, 62(4): 1375-1390.
- [52] BAI L, MA X, ZHANG G, et al. A receptor-like kinase mediates ammonium homeostasis and is important for the polar growth of root hairs in *Arabidopsis* [J]. *The plant cell*, 2014, 26(4): 1497-1511.
- [53] VON WIRÉN N, GAZZARRINI S, GOJONT A, et al. The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval [J]. *Current opinion in plant biology*, 2000, 3(3): 254-261.
- [54] QIN C, QIAN W, WANG W, et al. GDP-mannose pyrophosphorylase is a genetic determinant of ammonium sensitivity in *Arabidopsis thaliana* [J]. *PNAS*, 2008, 105(47): 18308-18313.
- [55] TANAKA H, MARUTA T, OGAWA T, et al. Identification and characterization of *Arabidopsis* AtNUDX9 as a GDP-D-mannose pyrophosphohydrolase: its involvement in root growth inhibition in response to ammonium [J]. *Journal of experimental botany*, 2015, 66(19): 5797-5808.
- [56] DI D W, SUN L, WANG M, et al. WRKY46 promotes ammonium tolerance in *Arabidopsis* by repressing NUDX9 and indole-3-acetic acid-conjugating genes and by inhibiting ammonium efflux in the root elongation zone [J]. *New phytologist*, 2021, 232(1): 190-207.
- [57] ZHANG M, WANG Y, CHEN X, et al. Plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase overexpression increases rice yield via simultaneous enhancement of nutrient uptake and photosynthesis [J/OL]. *Nature communications*, 2021, 12(1): 735 [2022-04-16]. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-20964-4>.
- [58] SUN D, FANG X, XIAO C, et al. Kinase SnRK1.1 regulates nitrate channel SLAH3 engaged in nitrate-dependent alleviation of ammonium toxicity [J]. *Plant physiology*, 2021, 186(1): 731-749.
- [59] BALKOS K D, BRITTO D T, KRONZUCKER H J. Optimization of ammonium acquisition and metabolism by potassium in rice (*Oryza sativa* L. cv. IR-72) [J]. *Plant, cell & environment*, 2010, 33(1): 23-34.
- [60] ROOSTA H R, SCHJOERRING J K. Root carbon enrichment alleviates ammonium toxicity in cucumber plants [J]. *Journal of plant nutrition*, 2008, 31(5): 941-958.
- [61] ARIZ I, ARTOLA E, ASENSIO A C, et al. High irradiance in-

- creases  $\text{NH}_4^+$  tolerance in *Pisum sativum*: higher carbon and energy availability improve ion balance but not N assimilation [J]. *Journal of plant physiology*, 2011, 168(10): 1009-1015.
- [62] SETIÉN I, FUERTES-MENDIZABAL T, GONZÁLEZ A, et al. High irradiance improves ammonium tolerance in wheat plants by increasing N assimilation [J]. *Journal of plant physiology*, 2013, 170(8): 758-771.
- [63] BLOOM A J, BURGER M, A. KIMBALL B, et al. Nitrate assimilation is inhibited by elevated  $\text{CO}_2$  in field-grown wheat [J]. *Nature climate change*, 2014, 4(6): 477-480.
- [64] RUBIO-ASENSIO J S, BLOOM A J. Inorganic nitrogen form: a major player in wheat and *Arabidopsis* responses to elevated  $\text{CO}_2$  [J]. *Journal of experimental botany*, 2017, 68(10): 2611-2625.
- [65] 崔润丽, 刁现民. 植物耐盐相关基因克隆与转化研究进展 [J]. *中国生物工程杂志*, 2005, 25(8): 25-29. CUI R L, DIAO X M. Advances on cloning and translation of the salt tolerance genes in plant [J]. *China biotechnology*, 2005, 25(8): 25-29 (in Chinese with English abstract).
- [66] LOQUÉ D, LUDEWIG U, YUAN L, et al. Tonoplast intrinsic proteins AtTIP2; 1 and AtTIP2; 3 facilitate  $\text{NH}_3$  transport into the vacuole [J]. *Plant physiology*, 2005, 137(2): 671-680.
- [67] CRUZ C, BIO A F M, DOMÍNGUEZ-VALDIVIA M D, et al. How does glutamine synthetase activity determine plant tolerance to ammonium? [J]. *Planta*, 2006, 223(5): 1068-1080.
- [68] DUBOIS F, TERCÉ-LAFORGUE T, GONZALEZ-MORO M B, et al. Glutamate dehydrogenase in plants: is there a new story for an old enzyme? [J]. *Plant physiology and biochemistry*, 2003, 41(6): 565-576.

## Progress in mechanisms of plant tolerance to ammonium toxicity

LI Wenjing<sup>1,2</sup>, WANG Chuang<sup>2</sup>

1. Wuhan Agricultural Technology Extension Center, Wuhan 430012, China;

2. College of Resources & Environment, Huazhong Agricultural University/  
Microelement Research Center, Wuhan 430070, China

**Abstract** As a major inorganic nitrogen source, ammonium can not only be absorbed by plant roots from the soil, but also generated during a number of biochemical processes inside plants. However, high concentrations of ammonium are toxic to plants resulting in growth inhibition and yield loss, therefore ammonium homeostasis needs to be under fine-tuned modulation in plants. Since currently nitrogen fertilizers are widely and largely used in the agricultural production, plants are facing the challenge of high ammonium presence. It is very important to understand the mechanisms of plant tolerance to ammonium toxicity for improving the use efficiency of nitrogen and the yield of crops. In order to explore the mechanisms of plant tolerance to ammonium toxicity, we reviewed the progress in mechanisms of plant tolerance to ammonium toxicity from three aspects including the source of ammonium nitrogen in plants, the causes of ammonium toxicity, and the physiological and molecular mechanisms of plant tolerance to ammonium. It was pointed out that the acidification of rhizosphere and apoplast caused by the absorption and assimilation of ammonium was a major cause of ammonium toxicity. Plants can alleviate the ammonium toxicity through their own mechanisms and the addition of other nutrients. At the same time, the research on mechanisms of plant tolerance to ammonium toxicity in the future was prospected. It will provide the theoretical reference for the molecular breeding of crops to tolerate ammonium toxicity and utilize nitrogen efficiently.

**Keywords** ammonium nitrogen; rhizosphere acidification; apoplast acidification; ammonium tolerance; ammonium toxicity

(责任编辑:赵琳琳)