

## ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЗОТА: ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ РЕШЕНИЯ. СООБЩЕНИЕ 2. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ

© 2022 г. В. Н. Башкин<sup>1,\*</sup>, Р. А. Галиулина<sup>2,\*\*</sup>

<sup>1</sup>Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН  
142290 Пущино, Московская обл., ул. Институтская, 2, Россия

<sup>2</sup>Институт фундаментальных проблем биологии РАН  
142290 Пущино, Московская обл., ул. Институтская, 2, Россия

\*E-mail: bashkin@issp.serpukhov.su

\*\*E-mail: rosa\_g@rambler.ru

Поступила в редакцию 01.03.2022 г.

После доработки 06.04.2022 г.

Принята к публикации 10.06.2022 г.

Биологические приемы повышения эффективности использования азота могут рассматриваться как улучшенные методы ведения сельского хозяйства, которые синхронизируют потребность в азоте сельско-хозяйственных культур с доступностью его в почве. Показано, что они являются наиболее достижимыми путями решения данной проблемы. Селекция сельскохозяйственных культур, нацеленная на физиологические процессы в корнях и побегах, вероятно, увеличит поглощение азота и использование его почвенных форм, в то время как селекция, направленная на увеличение эффективности биологической фиксации азота бобовыми культурами, повысит общую эффективность системы. Показано, что разработка новых N-фиксирующих симбиозов в не бобовых культурах может снизить потребность в химических удобрениях в агроэкосистемах, но является гораздо более долгосрочной целью.

*Ключевые слова:* эффективность использования азота, биологическая азотфиксация, селекция, микробиом, корни, здоровье почвы.

DOI: 10.31857/S0002188122090034

### ВВЕДЕНИЕ

Роль биологического азота известна давно, и природа азотфиксации относительно хорошо изучена. Еще в начале XX века Д.Н. Прянишников указывал на значимость этого источника азота и на соотношение минерального и биологического азота в различных системах земледелия [1]. Хотя растения не могут использовать атмосферный  $N_2$  напрямую, уже более столетия известно, что разнообразные бактерии и археи, известные как diaзотрофы, могут преобразовывать атмосферный  $N_2$  в  $NH_3$  с помощью биологической фиксации азота (БФА), и что полученный  $NH_3$  может быть использован растениями прямо или косвенно для роста [2–4]. Diazотрофы можно найти в любой почве, в ризосфере растений, физически связанных с корнями растений и другими органами, и даже в растениях, внутри специализированных, фиксирующих N органов, называемых узелками. Скорость БФА свободноживущими diaзотрофами в почве как пра-

вило, низка (между 1 и 20 кг N/га в год [5]), хотя ассоциативная микробная азотфиксация в ризосфере или на поверхности растений может в значительной степени способствовать росту растения в системах с низким поступлением других источников азота [6, 7]. Напротив, БФА в клубеньках является высокоэффективной и в условиях высокой урожайности может превышать 300 кг/га в год [8–10], поскольку обмен питательными веществами между растениями и их внутриклеточными бактериальными эндосимбионтами является целенаправленным [11], что позволяет избежать потерь растительного C и бактериального аммония в почву и связанный с ней микробиом. Однако БФА в клубеньках в основном ограничивается бобовыми и несколькими не бобовыми семействами растений [12], в то время как большинство видов сельскохозяйственных культур, включая злаки, не могут получить доступ к атмосферному  $N_2$  таким образом.

Обостряющаяся глобальная проблема N вызвала новый интерес к БФА как частичному ре-

шению, которое может быть реализовано посредством: разработки и использования бобовых и ризобий (их естественных симбионтов) с повышенным потенциалом БФА; разработки более эффективной ассоциативной фиксации N в не бобовых культурах, особенно в основных злаках; и возможно за счет создания симбиозов клубеньков или даже растений, способных фиксировать N [6, 13, 14]. БФА в зернобобовых культурах остается важным источником азота во многих системах земледелия, что способствует повышению эффективности использования азота (ЭИА), хотя относительный вклад бобовых в сельское хозяйство сократился с увеличением использования азотных удобрений. Отчасти это было связано с производством зерновых в рамках “зеленой революции”, которая заменила традиционные зернобобовые севообороты в таких странах, как Индия, что привело к дефициту зерновых бобовых и даже их импорту из Африки [15].

Таким образом, существуют огромные возможности для увеличения вклада БФА бобовых в сельское хозяйство с помощью системной агрономии и подходов к селекции растений [16, 17], а также путем улучшения эффективности и устойчивости штаммов ризобий, используемых в качестве инокулянтов [18–20].

#### БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФИКСАЦИЯ N И ИНКОРПОРАЦИЯ БОБОВЫХ КУЛЬТУР

Выращивание бобовых культур повышает урожайность последующих культур, а также снижает потребность в минеральных азотных удобрениях. Во многих сообщениях отмечено повышение урожайности зерновых при выращивании после бобовых, чем после не бобовых или после пара [16, 21, 22]. В частности, установлено, что агрофитоценоз многолетних бобово-злаковых трав функционировал в более устойчивом состоянии по сравнению с зерновыми культурами, это достигалось за счет дополнительного использования биологического азота, большей его иммобилизации и меньших потерь элемента [23–25]. Раскрыты особенности использования растениями азота удобрений  $^{15}\text{N}$  при инокуляции семян биопрепаратами, показаны источники азота (удобрение, почва, биологический и “экстра” азот) в формировании урожая, выявлено влияние инокулянтов на потоки азота в системе удобрения—почва—растения—атмосфера, формировании устойчивости агросистемы при использовании различных источников питания растений [26]. Биологически активный препарат азоризин не влиял на урожайность покровного ячменя, но

смягчал отрицательное воздействие азота удобрений на азотфиксацию, повышая коэффициент азотфиксации бобовой травосмеси, особенно в 1-й, бобово-злаковой — в 3-й год жизни [27, 28]. Бактериальные препараты и микроэлементные удобрения оказали существенное влияние на формирование фотосинтетической деятельности агроценозов клевера паннонского [29]. При этом внесение биомассы хлореллы повышало уровень азотфиксации, но не снижало урожайность и не ослабляло действие ростстимулирующих биопрепаратов на основе ризобий и цианобактерий [30]. Изучена эффективность применения препаратов корневых diaзотрофов в посевах яровой пшеницы при минимальной обработке почвы [31].

Бобовые часто используют в краткосрочных севооборотах, такие как кукуруза—бобовые, или при многолетнем выращивании кукурузы с бобовыми зимними покровными культурами. Во многих развивающихся регионах мира бобовые широко используют для удовлетворения потребностей в белке. Тем не менее, в последние десятилетия широкая доступность минеральных азотных удобрений и низкие урожаи бобовых по сравнению с зерновыми культурами привели либо к застою, либо к сокращению площадей для выращивания бобовых в разных регионах [32]. Существует ряд экологических (например, температура и избыток осадков) и экономических (например, недостаточная покупательная способность фермеров приобретать семена) ограничений, снижающих урожайность и прибыльность бобовых [30], что может быть причиной сокращения их производства. В недавних обзорах [31, 33] утверждается, что, хотя был достигнут значительный прогресс в развитии агрономии зернобобовых, понимании взаимоотношения между бобовыми растениями и популяциями ризобий, а также выгоды БФА для фермерского хозяйства, тем не менее, пространственная и временная интеграция бобовых в этих системах все еще недостаточно развита, существуют значительные пробелы в знаниях и системах практических рекомендаций. Преодоление этих трудностей позволит еще больше повысить вклад бобовых культур в системах земледелия, в частности, в Африке к югу от Сахары [33]. Авторы рекомендуют интегрировать БФА в программы селекции и улучшить общую агрономию, чтобы максимизировать потенциал симбиоза за счет устранения различных почвенных и других экологических ограничений.

Бобовые также являются привлекательным вариантом для систем смешанных культур. Но, несмотря на преимущества этих агросистем, имеющих большую эффективность использования ре-

сурсов, включая ЭИА, смешанные культуры все еще остаются “на окраинах современного интенсивного сельского хозяйства” [34]. Согласно недавним оценкам, глобальное увеличение ЭИА при использовании таких агросистем (зерновые и бобовые) снижает потребности в минеральных азотных удобрениях примерно на 26% [35]. Однако для этих агросистем нужно решать вопросы механизации посева культур, борьбы с сорняками и сбора урожая.

### РАЗРАБОТКА ПРИЕМОМ УВЕЛИЧЕНИЯ БФА: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АССОЦИАЦИИ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

В настоящее время наблюдается рост интереса к разработке эффективной ассоциативной фиксации N для зерновых культур, особенно кукурузы, риса и пшеницы [36–38], а также для многолетних кормовых и биоэнергетических трав [39, 40]. Эти разработки варьируются от простого выделения, тестирования и внедрения наиболее эффективных природных диазотрофов, связанных с растениями, целевых видов растений, основанных в первую очередь на стимулировании роста растений [41], до попыток отредактировать геномы таких бактерий, чтобы удалить генетический контроль, который предотвращает фиксацию N и высвобождение  $\text{NH}_3$  в сельскохозяйственных почвах, содержащих потенциально высокие запасы минерального и органического азота [42, 43]. Десятилетия генетических, геномных и биохимических исследований и разработок технологий обеспечивают основу для возможного редактирования или генной инженерии диазотрофов для оптимальной ассоциации с не бобовыми видами [43]. Однако инструментально трудно оценить небольшие объемы БФА в полевых условиях, и не исключено, что заявления о значительной фиксации азота злаковыми культурами является результатом неправильно применения методов измерения [44].

Необходимы дальнейшие исследования для понимания и минимизации результирующих процессов между фиксацией N и улетучиванием  $\text{NH}_3$ , и как это связано с ростом диазотрофов. После этого возможно представление, что нужно сделать для понимания, управления и оптимизации симбиотических взаимодействий, а также и обмена питательными веществами между диазотрофами и растениями. Это может дать ключ для понимания взаимодействия между диазотрофами и микробиомом в целом.

Например, арбускулярные микоризные грибы могут способствовать переносу  $\text{NH}_3$  между диазотрофами и растением [45–49]. Параллели между

азотфиксирующими симбиозами бобовых и симбиозами арбускулярной микоризы (АМ), которые имеются у большинства видов растений, включая общие сигнальные системы/гены, участвующие в создании различных полезных симбиозов, подстегнули усилия генных инженеров для создания микориз и БФА в форме симбиоза растений, включая основные зерновые культуры [50, 51]. В настоящее время усилия сосредоточены на привлечении сигнальных компонентов арбускулярных микоризных грибов злаков для распознавания ризобийных сигналов и преобразования этих сигналов в измененную экспрессию генов, способствующую делению клеток растений и образованию клубеньков, что может позволить бактериям проникать в ткани растений [52]. Эти процессы сложны, и известно, что для создания и поддержания эффективной БФА в бобовых культурах требуется более 200 генов [53]. Однако последние данные свидетельствуют о том, что эволюции одного или нескольких генов было достаточно, чтобы предки современных бобовых перешли к эффективной БФА [54], поэтому есть надежда, что одни и те же ключевые гены могут заложить основу для разработки эффективной БФА в злаках [50, 51]. Дальнейшие инвестиции в это направление стратегических и прикладных исследований, по крайней мере, позволят проверить нынешнее понимание разработки и поддержания процессов БФА, в то время как дальнейшие фундаментальные исследования в области генетики, клеточной биологии и биохимии БФА бобовых будут способствовать расширению знаний и продолжат интенсифицировать усилия по разработке БФА в не бобовых культурах.

Наиболее смелым подходом к решению двусторонней проблемы N является непосредственная его фиксация в растениях путем переноса генов, ответственных за БФА, в геномы растений и экспрессии активных ферментов нитрогеназы в соответствующем растительном компартменте [55, 56]. Существует множество особенностей нитрогеназы, которые делают этот процесс весьма затруднительным, включая координацию экспрессии многочисленных генов, участвующих в сборке уникальных металлических кофакторов, а также чрезвычайную чувствительность к кислороду и высокую потребность в энергии для активации ферментного комплекса [55–57]. Приведенные особенности могут объяснить, почему этот процесс никогда не был кооптирован микробами во время эволюции растений. Тем не менее, в достижении данной цели уже отмечен определенный прогресс [55, 57–60], и такие исследования будут расширять понимание БФА.

Управление микробами, ответственными за круговорот азота в почве, может стать плодотворной целью для будущих исследований. Только сейчас начинается изучение функциональной значимости множества растительно-микробных ассоциаций, которые формируют микробиом растения, и новые доказательства того, что растения могут стимулировать в ризосфере микробы, ответственные за окисление углерода в почве [61]. Предполагают, что могут быть также выведены и/или разработаны биоинженерными способами растения, в ризосфере которых будет развиваться микробиом для мобилизации азота из почвенного органического вещества. Или как вариант, микробиом может быть целевым образом сформирован таким образом, чтобы включать микробы, способные минерализовать органический азот почвы, когда это вызвано потребностью растений в азоте. Кроме того, могут быть созданы удобрения с медленным высвобождением N или даже покровные культуры с повышенной способностью высвобождать органический N при запуске самих растений.

Учитывая современное состояние знаний и технологий, наибольшим препятствием для решения основных проблем сельского хозяйства посредством азотфиксации может оказаться возможность общественного понимания и признания таких технологических решений, а не способность ученых их предлагать. На данном этапе, однако, описанные технологии все еще остаются в категории с высоким риском и высокой прибылью.

### СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ЭИА

Сравнение между сортами сельскохозяйственных культур, представляющими исторические и современные материалы, часто показывает сопутствующее увеличение массы урожая, но не величины выноса N [62]. Это указывает на то, что увеличение ЭИА на основе урожайности зерна — не то же самое, что увеличение этой величины на основе выноса азота. Однако отбор, основанный на урожайности, может иметь проблемы с эффективным преодолением возможных препятствий для улучшения селекции на основе признаков [63]. Следовательно, селекция идеотипов [64], сосредоточенная на выявлении и отборе признаков, влияющих на ЭИА, может стать возможностью для выявления важности процессов, а не на рассмотрении их как черного ящика, как это делается при отборе на основе урожайности. Эта возможность особенно привлекательна сейчас, потому что развитие геномики и дешевого секвенирования ДНК, функциональной феноменологии и высокопроизводи-

тельного фенотипирования позволяет одновременно идентифицировать фенотипические вариации, генетическое картирование и идентификацию маркеров, а также понимание основных физиологических процессов [65, 66].

Естественную изменчивость для величин ЭИА наблюдали среди и внутри многих видов сельскохозяйственных культур, включая кукурузу, рис, пшеницу и соевые бобы. Эта вариация подразумевает, что программы выведения могут быть способны отбирать те признаки, что отвечают за увеличение эффективности использования азота, хотя такие признаки могут быть многочисленными, и все они находятся под сложным генетическим контролем. Для соответствия селекции сельскохозяйственных культур в работе [67] предложили использовать оценку эффективности поглощения N (nitrogen uptake efficiency,  $NU_pE$ ), как долю азота, поглощенного созревшей биомассой растения, к его внесенному количеству, а также оценку величины массы зерна на единицу поглощенного азота (nitrogen utilization efficiency  $NU_eE$ ). Признаки, что определяют величины ЭИА растениями, ранжируются от поглощения N, ассимиляции, процессов разделения и временного хранения до ремобилизации и утилизации азота в органах источника и поглотителя [68–70].

Можно предложить синергетические селекционные исследования для улучшения основных признаков в функциональной иерархии ЭИА. Величина  $NU_pE$  может быть разделена на корневые и побеговые процессы, в то время как величины  $NU_eE$  должны быть связаны с процессами в стеблях и с процессами, регулируемыми формирование зерна. Хотя эти меры эффективности использования азота особенно актуальны для зерновых культур, другие могут быть более актуальными для кормовых культур, где можно ожидать высоких величин ЭИА из-за большей синхронизации роста урожая и доступности N.

Корни растений отвечают за поглощение азота из почвы. Эффективность поглощения корневой системы была определена в терминах количества N, полученного на единицу поглощения углерода в корневую систему [71]. Архитектура корневой системы определяет пространственное расположение корней даже при заданном поглощении углерода. Архитектурные особенности, которые увеличивают поглощение из верхнего слоя почвы, могут быть полезными в начале вегетационного сезона, когда применяют N, в то время как предполагается, что глубокое укоренение полезно для улавливания N до его вымывания [62]. Повышение эффективности поглощения может быть за счет оценки функций корня, которые снижают метаболическую на-

грузку на отдельные сегменты корня или на всю корневую систему [65, 72].

Например, распределение между классами корней может быть оптимизировано за счет увеличения количества боковых корней, которые тоньше и требуют меньше затрат на их формирование, чем осевые корни. Исследования кукурузы показали, что увеличение бокового по отношению к осевому укоренения может улучшить усвоение азота и рост побегов в почвах с его дефицитом [73, 74]. Помимо затрат на формирование, необходимо также учитывать затраты на жизнедеятельность, такие как дыхание. Анатомические особенности, включая увеличенную аэренхиму или уменьшенную площадь кортикальных клеток, уменьшают дыхание и, как было показано, улучшают усвоение N, а в некоторых случаях обеспечивают ремобилизацию N из стареющей корневой ткани [75, 76]. В последнее время N-чувствительные различия в прорастании, дыхании и созревании растений риса были связаны с величинами ЭИА [77]. Удельная скорость поглощения может быть определена как мгновенная потенциальная скорость поглощения N отдельным корневым сегментом, но редко рассматривалась как селекционный признак корня [78]. Однако различия между сортами кукурузы [79] и классами корней кукурузы [80] по показателям поглощения нитратов указывают на то, что может существовать генетическая основа, которую можно использовать для селекции растений. Недавние разработки в области высокопроизводительного фенотипирования множественного поглощения питательных веществ корнями кукурузы подчеркивают эту возможность [81]. Молекулярные биологи выявили множество генов, участвующих в архитектуре корневой системы или транспорте различных типов соединений N, и нацелили некоторые из них на генетические манипуляции для улучшения  $NU_pE$ , хотя и с переменным успехом [65, 68]. Существует множество подходов для повышения эффективности поглощения корневой системой, которые могут быть включены в программы предварительной селекции при скрининге на генетическую изменчивость.

Итак, если N поглощается растением, физиологические процессы в исходных органах, которые ассимилируют азот и углерод, а также в органах, что аккумулируют и запасают ассимиляты, будет определять функция, насколько хорошо растение можно развиваться и поглощать дополнительный азот. Фотосинтез отвечает за поглощение углерода из воздуха и уже разработано, хотя бы на уровне рабочих гипотез, как можно уменьшить потребности этого процесса в азоте.

В частности, архитектура побегов определяет общее расположение листьев, что оказывает существенное влияние на эффективность поглощения света [82]. На поверхности листа эффективность использования фотосинтетического азота может быть связана с размером хлоропласта [83] и энергией ранних проростков [84]. Недавняя работа продемонстрировала важность снижения фотодыхания [85] и ускорения индукции фотосинтеза после изменения освещенности [86] для повышения общей эффективности фотосинтеза. Этапы, связанные с усвоением N, включая восстановление нитратов до нитрита, затем до аммония с его усвоением в аминокислоты, могут быть направлены на увеличение показателя  $NU_tE$ . Учитывая зависимость метаболизма растений от ферментов, состоящих из N-содержащих аминокислот, можно было бы провести существенную работу по общей физиологической эффективности N-анаболизма и катаболизма. Однако было высказано предположение, что такие стратегии могут быть успешными только в том случае, если процессы метаболизма и переноса азота, включая количественное фракционирование при переходе от источника к поглотителю, координируются или модифицируются, чтобы избежать ингибирования конечного продукта или ограничения субстрата [87].

В течение многих лет селекционеры фокусировались на повышении индекса урожая сельскохозяйственных культур ( $HI$ ), который отражает отношение собранного зерна к общему сухому веществу [88]. Однако увеличение  $HI$  на массовой основе может не обязательно увеличивать  $NU_tE$  (т.е. выход N зерна относительно общего содержания N), на что указывает соотношение между массой зерна и концентрацией азота [89]. Величина  $HI$  также может достигать теоретического максимума, потому что остальная часть растения, включая листья, необходима для поддержки производства зерна [90]. Однако было показано, что изменение ремобилизации и транслокации N из органов вегетативных побегов в зерно влияет на  $NU_tE$  [68, 91, 92]. Замедленное старение листьев может быть важным для продления наполнения зерна, а также поглощения азота из почвы, но это также может препятствовать транслокации ремобилизованного азота из листьев в семена [93]. Необходимы дополнительные исследования о сроках и взаимосвязи этих различных особенностей и о том, как они могут быть совместно оптимизированы для увеличения показателя  $NU_tE$ .

Взаимодействия между растениями и микробами, влияющие на биологическую фиксацию

азота, минерализацию азота в почве и нитрификацию, также могут быть целями селекции растений. В наибольшей степени бобовые культуры образуют клубеньки с симбиотическими бактериями-ризобиями, которые фиксируют N, чтобы делиться с растением в обмен на C-соединения. Более эффективная фиксация (т.е. больше N фиксируется на поставляемый C) может существенно улучшить общую величину ЭИА. Бобовые обладают способностью “авторегулировать” образование клубеньков и БФА, уменьшая их при наличии большого количества азота в почве, что предотвращает излишнюю фиксацию. Выбор или селекция сортов бобовых, которые продолжают фиксировать N, несмотря на его присутствие в почве, потенциально может привести к усиленному высвобождению биологически закрепленного N в сельскохозяйственные почвы, тем самым увеличивая доступные запасы N в почве для последующих культур [94]. Взаимодействие между растениями и микробами, которое определяет фиксацию N, мобилизацию органического азота, его вымывание и газообразные потери в атмосферу, является еще одной возможностью улучшить азотное питание растений. Такие знания о взаимодействии генотипа культуры и микробов приобретают все большее значение в селекции растений, например, там, где полезные бактериальные сообщества связаны с определенным генотипом культуры и азотными процессами [95]. Следовательно, целесообразно выбирать растения, способствующие ассоциативной фиксации N в ризосфере. Другой привлекательной, хотя пока и неосуществимой альтернативой, является выделение ингибиторов нитрификации культур непосредственно из корней [96, 97].

За последние 70 лет селекция сельскохозяйственных культур в основном была направлена на выращивание растений при высоком содержании азота, что может привести к ограниченному увеличению ЭИА. В некоторых случаях ЭИА современных генотипов выше как на почвах с высоким, так и низким содержанием N [98]. Однако множество признаков влияют на величины ЭИА, что, скорее всего, приведет к значительным различиям в величинах ЭИА между генотипами. Можно рассматривать программы селекции, которые отбирают генотипы при неоптимальном обеспечении N как способ увеличения ЭИА в этих условиях и существенного снижения потерь N в окружающую среду [99]. Генетические достижения могут быть ускорены при селекции с помощью маркеров, геномной селекции и технологий редактирования генов [65, 69].

Также необходимо будет внедрить новые технологии фенотипирования, чтобы увеличить количество оцениваемых линий и повысить точность измерений для максимального давления отбора. Перспективным методом в контексте N было бы использование беспилотных летательных аппаратов (квадрокоптеров, БЛА), которые могут оценивать биомассу, высоту, содержание хлорофилла и урожайность в течение всего сезона вегетации. Использование высокопроизводительного фенотипирования с помощью БЛА для отбора как по статусу, так и по массе растений в значительно расширенных популяциях, размножаемых с низкими затратами, имеет существенные перспективы для быстрого получения прибыли.

Границы селекции растений для ЭИА будут включать многолетние севообороты, смешанные культуры и многолетние виды растений. Многолетнее выращивание зерновых культур с промежуточными подсевами пырея (известная как *Kernza*<sup>R</sup>), как было показано, существенно снижает выщелачивание N по сравнению с кукурузой [100], потому что корни уже развиты, когда при прогреве почвы весной начинается минерализация N.

Интрогрессия признаков дикой многолетности может быть возможна за счет создания межвидовых гибридов, таких как сорго [101]. Посев летних однолетних растений, например, кукурузы, в многолетние покровы может иметь аналогичные эффекты, но при этом агрономическое управление затруднено. Синхронизация спроса на урожай с наличием азота в почве (обсуждали выше) может быть частично достигнута за счет фенологии растений, такой как сохранение зелени, а также увеличения энергии раннего роста даже в жарких или холодных условиях посева (посадки). Следовательно, достижения в селекции многолетних культур или поликультур однолетних культур в многолетних системах могут оказать существенное влияние на эффективность систем земледелия.

#### ИНТЕГРАЦИЯ ЗНАНИЙ С МОДЕЛЯМИ ВЫРАЩИВАНИЯ КУЛЬТУР

Вычислительные платформы следующего поколения могут изучать сложные взаимодействия N в системах сельскохозяйственных культур для информирования руководства, определения приоритетов исследований и улучшения понимания сложности. Эти вычислительные структуры включают статистические модели, модели механистического моделирования на основе процессов и их гибриды [102, 103]. Такие инструменты

поддержки принятия решений исследуют все аспекты N в интерфейсе почва—культура — от экспрессии генов, физиологии сельскохозяйственных культур и фенологии до процессов в почве и прогнозирования поведения. Например, в рамках такого моделирования (модели APSIM, DSSAT и пр.) рассматривают критическую концентрацию азота для роста сельскохозяйственных культур в контексте генетических, экологических и управленческих факторов ( $G \times E \times M$ ), которые контролируют взаимодействие между доступностью азота в почве, фенологией сельскохозяйственных культур, распределением азота и урожайностью [104], включая БФА [105]. Модели систем земледелия представляют собой интегрированные сборки моделей отдельных компонентов, которые учитывают конкретные биофизические компоненты (например, водный баланс, рост сельскохозяйственных культур и минерализацию органического вещества почвы). Они могут использоваться для разработки гипотез, их проверки и создания инструментов поддержки принятия решений, ориентированных на управление, которые повышают производительность, прибыльность и качество окружающей среды. Хотя статистические модели относительно просты в использовании и хорошо подходят для инструментов поддержки принятия решений, в отличие от моделей, основанных на процессах, они не могут экстраполироваться за пределы контекста ( $G \times E \times M$ ), в котором они были разработаны. Следовательно, они не могут предсказать изменение величин ЭИА в зависимости от незапрограммированных комбинаций ( $G \times E \times M$ ). Тем не менее, их потенциал может быть существенным по двум причинам. Во-первых, одних экспериментов недостаточно для решения многих потенциальных комбинаций ( $G \times E \times M$ ), возникающих в результате взаимодействия решений фермеров и погоды. В данном поле и в данном году результаты систем земледелия являются результатом миллиардов потенциальных комбинаций сотен переменных. Некоторые из них выбираются фермером (например, сорт, дата посадки, использование почвы и удобрений), в то время как другие зависят от погодных условий и климата. Во-вторых, в теории могут быть рассмотрены новые стратегии управления системами удобрения и посевов для повышения эффективности полевых экспериментов и определения приоритетов исследований на основе анализа чувствительности, который выявляет сценарии с серьезными последствиями. Одновременно полевые эксперименты позволяют выявить и восполнить пробелы в знаниях моделей.

## ЗНАЧИМЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исторически сложилось так, что величины ЭИА в сельскохозяйственных системах трансформировались от высоких показателей в системах с низким уровнем затрат и низкой производительностью через низкие показатели в системах с высоким уровнем затрат и высокой производительностью до умеренных показателей в системах с умеренным уровнем затрат и высокой производительностью [106].

Фактически, некоторые существующие системы с низким уровнем затрат и низкой производительностью, например, в Бенине, демонстрируют ЭИА  $> 1$ , что означает чистое использование почвенного азота и снижение плодородия почвы [107]. Хотя во многих странах наблюдается резкое снижение величин ЭИА в сельском хозяйстве по мере внедрения и чрезмерного использования N-удобрений (например, ЭИА в Китае упал  $< 0.3$ ), считается, что это не является неизбежным, и что страны, испытывающие тенденцию к снижению рассматриваемых величин, могли бы поучиться у тех, кто смог “согнуть” свои кривые изменения показателей ЭИА в сторону более высоких ( $> 0.6$  в США и Франции) благодаря государственной политике, образованию, тщательному управлению и т.п. [106].

Как показывает историческая траектория, простого увеличения ЭИА само по себе будет недостаточно, если это приведет к системам с низким уровнем производства и отсутствию продовольственной безопасности среди растущего населения мира. Таким образом, мы сталкиваемся со сложной, многоцелевой проблемой, которая еще более усложняется динамичными экономическими и экологическими факторами. Рентабельность может быть относительно нечувствительной к дозам N-удобрений. Например, на Среднем Западе США при выращивании кукурузы бюджеты расходов, показывающие рентабельность инвестиций в азотные удобрения (например, соотношение стоимости азотных удобрений и рентабельности зерна) показывают, что экономически оптимальные дозы азота изменятся на целых 50 кг N/га, основываясь только на реальных различиях соотношения “азотные удобрения : цены на зерно” (например, 0.05–0.20) [108]. Доза 50 кг N/га составляет  $\approx 30\%$  от средней экономической оптимальной дозы N для этих систем. Следовательно, при наличии экономических стимулов для оптимизации дозы внесения азота сильно зависят от рынков зерна и удобрений.

В совокупности эти проблемы требуют надежного междисциплинарного подхода к повышению ЭИА с использованием многоцелевой опти-



**Рис. 1.** Схема возможностей увеличения сельскохозяйственной эффективности использования азота за счет исследований и разработок технологий в различных областях.

мизации, учитывающей социальные и биофизические науки. Многоцелевая оптимизация – это вычислительная структура, которая ищет оптимальные решения и учитывает компромиссы между потенциально конфликтующими целями, такими как минимизация данных по поступлению N при максимизации данных по выходу с урожаем. Такие компромиссы улавливаются моделированием сельскохозяйственных систем, которые являются мощными интеграторами для использования методов многоцелевой оптимизации. В то время как моделирование может быть использовано только для максимизации коэффициента ЭИА, вместо этого можно максимизировать доходность и экономичность и одновременно минимизировать потери N. Многоцелевые методы использовали для оптимизации параметров моделирования системы выращивания кукурузы в соответствии с эмпирическими результатами [109], но также они могут быть применены для оптимизации целей, направленных на показатели ЭИА. В региональном масштабе эти методы оптимизации использовали для распределения богарных и орошаемых площадей с целью максимального повышения урожайности и минимизации воздействия на окружающую среду [110], поэтому аналогичные концепции можно было бы использовать для максимизации ЭИА в разных регионах или по всему миру. Компромиссы в целях также были выявлены в селекции сельскохозяйственных культур, например, между общим

урожаем зерна и концентрацией N в зерне, но недавняя работа с геномной селекцией по нескольким признакам открывает значимые перспективы [111]. Поэтому можно предложить, что четкое рассмотрение множества целей в рамках оптимизации будет иметь решающее значение для будущего прогресса в увеличении ЭИА при одновременном достижении продовольственной безопасности и оптимизации экономических показателей [112].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, улучшенные варианты управления для сельскохозяйственных производителей помогут быстрее изменить кривую величин эффективности использования азота (ЭИА) по направлению к более высоким ее показателям, имея целью ответственное использование N в сельском хозяйстве. Показаны возможности увеличения сельскохозяйственной ЭИА за счет исследований и разработок в нескольких областях: агрономии, селекции растений, биологической фиксации азота и круговорота азота в почве. Исследования и разработки с максимальной отдачей, скорее всего, будут связаны с достижениями во всех этих областях, хотя можно ожидать, что в краткосрочном плане (в течение 5–10 лет) оптимальные результаты будут достигнуты в агрономии, с применением инструментов поддержки принятия решений и более широкого использования существующих сор-



тов бобовых; в среднесрочной перспективе (10–20 лет) за ними последуют улучшенные сорта зерновых и других культур, отобранные специально для высоких показателей ЭИА и более эффективных микробов; и в долгосрочной перспективе (>20 лет) с помощью совершенно новых N-фиксирующих симбиозов в растениях или растений, сконструированных для фиксации N без бактериальных партнеров (рис. 1).

Конечно, риски, связанные с некоторыми из описанных выше долгосрочных возможностей в области НИОКР, относительно высоки, как и потенциальная отдача. Эта исследовательская дорожная карта для улучшения ЭИА вместе с матрицей “риск–вознаграждение” будут полезны директивным органам при принятии решения о том, как решать эти насущные глобальные проблемы для устранения барьеров на пути ответственного использования азота в сельском хозяйстве.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Прянишников Д.Н.* Агрохимия. М.: Сельхозиздат, 1940, 664 с.
2. *Мишустин Е.Н., Емцев В.Т.* Почвенные азотфиксирующие бактерии рода *Clostridium*. М.: Наука, 1974. 251 с.
3. *Мишустин Е.Н., Кудяров В.Н., Башкин В.Н.* Круговорот азота на территории СССР // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1983. № 2. С. 165–178.
4. *Bottomley P.J., Myrold D.D.* Biological N inputs. Boston: Academic Press, 2015. 453 p.
5. *Vadakattu G., Paterson J.* Free-living bacteria lift soil nitrogen supply // Farm. Ahead. 2006. V. 169. P. 40.
6. *Ladha J.K., Reddy P.M.* Nitrogen fixation in rice systems: state of knowledge and future prospects // Plant Soil. 2003. V. 252. P. 151–167. <https://doi.org/10.1023/A:1024175307238>
7. *Martins D.S., Reis V.M., Schultz N., Alves B.J.R., Urquiaga S., Pereira W.* Both the contribution of soil nitrogen and of biological N<sub>2</sub> fixation to sugarcane can increase with the inoculation of diazotrophic bacteria // Plant Soil. 2020. V. 35. P. 1–15. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04621-1>
8. *Giller K.E., Chalk P., Dobermann A., Hammond L., Hefner P., Ladha J.K.* Emerging technologies to increase the efficiency of use of fertilizer nitrogen // Agriculture and the Nitrogen Cycle / Eds/ A.R. Mosier, J.K. Syers, and J.R. Freney. Washington, DC: Island Press, 2004. P. 35–51.
9. *Peoples M.B., Brockwell J., Herridge D.F., Rochester I.J., Alves B.J.R., Urquiaga S.* The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems // Symbiosis. 2009. V. 48. P. 1–17. <https://doi.org/10.1007/BF03179980>
10. *Cafaro La Menza N., Monzon J.P., Lindquist J.L., Arkebauer T.J., Knops J.M., Unkovich M.* Insufficient nitrogen supply from symbiotic fixation reduces seasonal crop growth and nitrogen mobilization to seed in highly productive soybean crops // Plant Cell Environ. 2020. V. 43. P. 1958–1972. <https://doi.org/10.1111/pce.13804>
11. *Udvardi M., Poole P.S.* Transport and metabolism in legume-rhizobia symbioses // Annu. Rev. Plant Biol. 2013. V. 64. P. 781–805. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120235>
12. *Santi C., Bogusz D., Franche C.* Biological nitrogen fixation in non-legume plants // Ann. Bot. 2013. V. 111. P. 743–767. <https://doi.org/10.1093/aob/mct048>
13. *Beatty P.H., Good A.G.* Future prospects for cereals that fix nitrogen // Science/ 2011. V. 333. P. 416–417. <https://doi.org/10.1126/science.1209467>
14. *Rogers C., Oldroyd G.E.D.* Synthetic biology approaches to engineering the nitrogen symbiosis in cereals // J. Exp. Bot. 2014. V. 65. P. 1939–1946. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru098>
15. *Raghuram N.* Zeroing in on farm budgets or zero budget natural farming? A perspective from India // Perspectives 37. Nairobi: UN Environment Programme, 2020.
16. *Franke A.C., van den Brand G.J., Vanlauwe B., Giller K.E.* Sustainable intensification through rotations with grain legumes in sub-Saharan Africa: A review // Agric. Ecosyst. Environ. 2018. V. 261. P. 172–185. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.09.029>
17. *Liu J., Yu X., Qin Q., Dinkins R.D., Zhu H.* The impacts of domestication and breeding on nitrogen fixation symbiosis in legumes // Front. Genet. 2020. V. 11. P. 973. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00973>
18. *Meghvansi M.K., Prasad K., Mahna S.K.* Symbiotic potential, competitiveness and compatibility of indigenous *Bradyrhizobium japonicum* isolates to three soybean genotypes of two distinct agro-climatic regions of Rajasthan, India // Saudi J. Biol. Sci. 2010. V. 17. P. 303–310. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.06.002>
19. *Koskey G., Mburu S.W., Njeru E.M., Kimiti J.M., Ombori O., Maingi J.M.* Potential of native rhizobia in enhancing nitrogen fixation and yields of climbing beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in contrasting environments of Eastern Kenya // Front. Plant Sci. 2017. V. 8. P. 443. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00443>
20. *Santos M.S., Nogueira M.A., Hungria M.* Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture // AMB Express. 2019. V. 9. P. 205. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0>
21. *Giller K.E.* Nitrogen fixation in tropical cropping systems. Wallingford: CABI Publishing, 2001. 245 p.
22. *Завалин А.А., Соколов О.А., Шмырева Н.Я.* Экология азотфиксации. М.: РАН, 2019. 252 с.
23. *Алферов А.А., Чернова Л.С.* Потоки азота и изменение режима функционирования агроэкосистемы в посевах яровой пшеницы // Плодородие. 2021. № 6. С. 69–71. <https://doi.org/10.25680/s19948603.2021.123.19>
24. *Завалин А.А., Шмырева Н.Я., Соколов О.А.* Потоки <sup>15</sup>N, почвенного и симбиотического азота в дерново-подзолистой эродированной почве // Агрохи-

- мия. 2020. № 6. С. 22–32.  
<https://doi.org/10.31857/s0002188120060149>
25. Алферов А.А., Завалин А.А., Кожемяков А.П. Влияние удобрения и ризоагрина на урожайность и качество зерна яровой пшеницы, потоки азота в системе удобрение–почва–растение // Достиж. науки и техн. АПК. 2019. Т. 33. № 9. С. 10–15.  
<https://doi.org/0.24411/0235-2451-2019-10902>
  26. Завалин А.А., Алферов А.А., Чернова Л.С. Ассоциативная азотфиксация и практика применения биопрепаратов в посевах сельскохозяйственных культур // Агрехимия. 2019. № 8. С. 83–96.  
<https://doi.org/10.1134/s0002188119080143>
  27. Конончук В.В., Штырхунов В.Д., Благовещенский Г.В., Тимошенко С.М., Назарова Т.О., Соболев С.В. Влияние удобрений и микробного препарата на урожайность современных многолетних мультитравосмесей и их способность к усвоению атмосферного азота в центральном Нечерноземье // Агрехимия. 2019. № 7. С. 35–44.  
<https://doi.org/10.1134/s0002188119070068>
  28. Новиков М.Н. Биологические приемы эффективного использования азота почвы, удобрений, симбиотической азотфиксации в полевых агроценозах // Агрехимия. 2020. № 8. С. 60–69.  
<https://doi.org/10.31857/s0002188120080086>
  29. Кишикаткина А.Н., Аленин П.Г., Галиуллин А.А., Кишикаткин С.А. Биологическая азотфиксация клевера паннонского (*Trifolium pannonicum* Jacq.) в условиях среднего Поволжья // Изв. Самар. НЦ РАН. 2018. Т. 20. № 5 (2). С. 226–232.
  30. Кублановская А.А., Ханчаева С.А., Зотов В.С., Зайцев П.А., Лобакова Е.С., Соловченко А.Е. Влияние суспензии клеток микроводоросли *Chlorella vulgaris* *ipras* *c-1* (Chlorophyceae) на биологическую активность и микробиом почвы при возделывании фасоли // Вестн. МГУ. Сер. 16. Биол. 2019. Т. 74. № 4. С. 284–293.
  31. Курсакова В.С. Эффективность применения препаратов корневых diaзотрофов в посевах яровой пшеницы при минимальной обработке почвы // Вестн. Алтай. ГАУ, 2018. № 10 (168). С. 5–12.
  32. FAO. World fertilizer trends and outlook to 2022. Rome, 2019.
  33. Vanlauwe B., Hungria M., Kanampiu F., Giller K.E. The role of legumes in the sustainable intensification of African smallholder agriculture: lessons learnt and challenges for the future // Agric. Ecosyst. Environ. 2019. V. 284. P. 106583.  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106583>
  34. Brooker R.W., Bennett A.E., Cong W.F., Daniell T.J., George T.S., Hallett P.D. Improving intercropping: a synthesis of research in agronomy, plant physiology and ecology // New Phytol. 2015. V. 206. P. 107–117.  
<https://doi.org/10.1111/nph.13132>
  35. Jensen E.S., Carlsson G., Hauggaard-Nielsen H. Intercropping of grain legumes and cereals improves the use of soil N resources and reduces the requirement for synthetic fertilizer N: a global-scale analysis // Agron. Sustain. Dev. 2020. V. 40. P. 5.  
<https://doi.org/10.1007/s13593-020-0607-x>
  36. Mus F., Crook M.B., Garcia K., Costas A.G., Geddes B.A., Kouri E.D. Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes // Appl. Environ. Microbiol. 2016. V. 82. P. 3698–3710.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.01055-16>
  37. Bloch S.E., Ryu M.H., Ozaydin B., Broglie R. Harnessing atmospheric nitrogen for cereal crop production // Curr. Opin. Biotechnol. 2020. V. 62. P. 181–188.  
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.09.024>
  38. Mahmud K., Makaju S., Ibrahim R., Missaoui A. Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research // Plants. 2020. V. 9. P. 97.  
<https://doi.org/10.3390/plants9010097>
  39. Roley S.S., Xue C., Hamilton S.K., Tiedje J.M., Robertson G.P. Isotopic evidence for episodic nitrogen fixation in switchgrass (*Panicum virgatum* L.) // Soil Biol. Biochem. 2019. V. 129. P. 90–98.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.006>
  40. Bahulikar R.A., Chaluvadi S.R., Torres-Jerez I., Mosali J., Bennetzen J.L., Udvardi M. Nitrogen fertilization reduces nitrogen fixation activity of diverse diazotrophs in switchgrass roots // Phytobio. J. 2020. V. 5.  
<https://doi.org/10.1094/PBIOMES-09-19-0050-FI>
  41. Fox A.R., Soto G., Valverde C., Russo D., Lagares Jr A., Zorreguieta Á. Major cereal crops benefit from biological nitrogen fixation when inoculated with the nitrogen-fixing bacterium *Pseudomonas protegens* Pf-5 X940 // Environ. Microbiol. 2016. V. 18. P. 3522–3534.  
<https://doi.org/10.1111/1462-2920.13376>
  42. Barney B.M., Plunkett M.H., Natarajan V., Mus F., Knutson C.M., Peters J.W. Transcriptional analysis of an ammonium-excreting strain of *Azotobacter vinelandii* deregulated for nitrogen fixation // Appl. Environ. Microbiol. 2017. V. 83 P. 20.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.01534-17>
  43. Bueno Batista M., Dixon R. Manipulating nitrogen regulation in diazotrophic bacteria for agronomic benefit // Biochem. Soc. Trans. 2019. V. 47. P. 603–614.  
<https://doi.org/10.1042/BST20180342>
  44. Unkovich M., Herridge D., James E.K., Giller K.E., Peoples M.B. Reliable quantification of N<sub>2</sub> fixation by non-legumes remains problematic // Nut. Cycl. Agroecosyst. 2020. V. 35. P. 1–3.  
<https://doi.org/10.1007/s10705-020-10083-9>
  45. El-Shanshoury A., Hassan M., Abdel-Ghaffar B. Synergistic effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas and *Azotobacter chroococcum* on the growth and the nutrient contents of tomato plants // Phytol. 1989. V. 29. P. 203–212.
  46. Frey-Klett P., Garbaye J., Tarkka M. The mycorrhiza helper bacteria revisited // New Phytol. 2007. V. 176. P. 22–36. DOI: . 02191.x  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007>
  47. Guether M., Neuhäuser B., Balestrini R., Dynowski M., Ludewig U., Bonfante P. A mycorrhizal-specific ammonium transporter from *Lotus japonicus* acquires nitrogen released by arbuscular mycorrhizal fungi // Plant Physiol. 2009. V. 150. P. 73–83.  
<https://doi.org/10.1104/pp.109.136390>
  48. Meenakshisundaram M., Santhaguru K. Studies on association of arbuscular mycorrhizal fungi with *Glucanacetobacter diazotrophicus* and its effect on improve-

- ment of *Sorghum bicolor* (L.) // Inter. J. Sci. Res. (IJCSR). 2011. V. 1. P. 23–30.
49. *Sabannavar S.J., Lakshman H.* Synergistic interactions among *Azotobacter*, *Pseudomonas*, and arbuscular mycorrhizal fungi on two varieties of *Sesamum indicum* L. // Commun. Soil Sci. Plant Anal. 2011. V. 42. P. 2122–2133. <https://doi.org/10.1080/00103624.2011.596241>
  50. *Rogers C., Oldroyd G.E.D.* Synthetic biology approaches to engineering the nitrogen symbiosis in cereals // J. Exp. Bot. 2014. V. 65. P. 1939–1946. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru098>
  51. *Bailey-Serres J., Parker J.E., Ainsworth E.A., Oldroyd G.E., Schroeder J.I.* Genetic strategies for improving crop yields // Nature. 2019. V. 575. P. 109–118. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1679-0>
  52. *Radhakrishnan G.V., Keller J., Rich M.K., Vernié T., Mbadanga D.L.M., Vigneron N.* An ancestral signalling pathway is conserved in intracellular symbioses-forming plant lineages // Nat. Plants. 2020. V. 6. P. 280–289. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0613-7>
  53. *Roy S., Liu W., Nandety R.S., Crook A., Mysore K.S., Pislariu C.I.* Celebrating 20 years of genetic discoveries in legume nodulation and symbiotic nitrogen fixation // Plant Cell. 2020. V. 32. P. 15–41. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00279>
  54. *van Velzen R., Holmer R., Bu F., Rutten L., van Zeijl A., Liu W.* Comparative genomics of the nonlegume *Parasponia* reveals insights into evolution of nitrogen-fixing rhizobium symbioses // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2018. V. 115. P. E4700–E4709. <https://doi.org/10.1073/pnas.1721395115>
  55. *Burén S., Jiang X., López-Torrejón G., Echavarrri-Erasun C., Rubio, L.M.* Purification and in vitro activity of mitochondria targeted nitrogenase cofactor maturase NifB // Front. Plant Sci. 2017. V. 8. P. 1567. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01567>
  56. *Yang J., Xie X., Xiang N., Tian Z.X., Dixon R., Wang Y.P.* Polyprotein strategy for stoichiometric assembly of nitrogen fixation components for synthetic biology // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2018. V. 115. P. E8509–E8517. <https://doi.org/10.1073/pnas.1804992115>
  57. *Rubio L.M., Ludden P.W.* Biosynthesis of the iron molybdenum cofactor of nitrogenase // Annu. Rev. Microbiol. 2008. V. 62. P. 93–111. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162737>
  58. *Burén S., Rubio L.M.* State of the art in eukaryotic nitrogenase engineering // FEMS Microbiol. Lett. 2018. V. 365. P. 274. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx274>
  59. *Eseverri Á., López-Torrejón G., Jiang X., Burén S., Rubio L.M., Caro E.* Use of synthetic biology tools to optimize the production of active nitrogenase Fe protein in chloroplasts of tobacco leaf cells // Plant Biotechnol. J. 2020. V. 27. P. 1–15. <https://doi.org/10.1111/pbi.13347>
  60. *Xiang N., Guo C., Liu J., Xu H., Dixon R., Yang J.* Using synthetic biology to overcome barriers to stable expression of nitrogenase in eukaryotic organelles // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2020. V. 117. P. 16537–16545. <https://doi.org/10.1073/pnas.2002307117>
  61. *Kumar A., Kuzyakov Y., Pausch J.* Maize rhizosphere priming: field estimates using <sup>13</sup>C natural abundance // Plant Soil. 2016. V. 409. P. 87–97. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2958-2>
  62. *Duvick D.N.* The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.) // Adv. Agron. 2005. V. 86. P. 83–145. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(05\)86002-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(05)86002-X)
  63. *Messina C.D., Podlich D., Dong Z., Samples M., Cooper M.* Yield trait performance landscapes: from theory to application in breeding maize for drought tolerance // J. Exp. Bot. 2011. V. 62. P. 855–868. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq329>
  64. *Donald C.M.* The breeding of crop ideotypes // Euphytica. 1968. V. 17. P. 385–403. <https://doi.org/10.1007/BF00056241>
  65. *Mandal V., Sharma N., Raghuram N.* Molecular targets for improvement of crop nitrogen-use efficiency: current and emerging options // Engineering Nitrogen Utilization in Crop Plants / Eds. A.K. Shrawat, A. Zayed & D.A. Lightfoot. Springer, 2018. P. 77–93. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-92958-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-92958-3_5)
  66. *York L.M.* Functional phenomics: An emerging field integrating high throughput phenotyping, physiology, and bioinformatics // J. Exp. Bot. 2019. V. 70. P. 379–386. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery379>
  67. *Moll R.H., Kamprath E.J., Jackson W.A.* Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization // Agron. J. 1982. V. 74. P. 562–564. <https://doi.org/10.2134/agronj1982.00021962007400030037x>
  68. *Tegeder M., Masclaux-Daubresse C.* Source and sink mechanisms of nitrogen transport and use // New Phytol. 2018. V. 217. P. 5–53. <https://doi.org/10.1111/nph.14876>
  69. *Raghuram N., Sharma N.* Improving crop nitrogen use efficiency // Comprehensive Biotechnology / Ed. M. Moo-Young. Elsevier: Pergamon, 2019. P. 211–220. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64046-8.00222-6>
  70. *The S.V., Snyder R., Tegeder M.* Targeting nitrogen metabolism and transport processes to improve plant nitrogen use efficiency // Front. Plant Sci. 2021. V. 11. P. 628366. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.628366>
  71. *Nielsen K.L., Lynch J.P., Jabllokow A.G., Curtis P.S.* Carbon cost of root systems: an architectural approach // Plant Soil. 1994. V. 165. P. 161–169. <https://doi.org/10.1007/BF00009972>
  72. *Lynch J.P.* Root phenes that reduce the metabolic costs of soil exploration: opportunities for 21st century agriculture // Plant Cell Environ. 2015. V. 38. P. 1775–1784. <https://doi.org/10.1111/pce.12451>
  73. *Zhan A., Lynch J.P.* Reduced frequency of lateral root branching improves N capture from low N soils in maize // J. Exp. Bot. 2015. V. 66. P. 2055–2065. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv007>

74. Guo H., York L.M. Maize with fewer nodal roots allocates mass to more lateral and deep roots that improve nitrogen uptake and shoot growth // *J. Exp. Bot.* 2019. V. 70. P. 5299–5309.  
<https://doi.org/10.1093/jxb/erz258>
75. Chimungu J.G., Brown K.M., Lynch J.P. Reduced root cortical cell file number improves drought tolerance in maize // *Plant Physiol.* 2014. V. 166. P. 1943–1955.  
<https://doi.org/10.1104/pp.114.249037>
76. Saengwilai P., Nord E.A., Chimungu J., Brown K.M., Lynch, J.P. Root cortical aerenchyma enhances nitrogen acquisition from low nitrogen soils in maize (*Zea mays* L.) // *Plant Physiol.* 2014. V. 166. P. 726–735.  
<https://doi.org/10.1104/pp.114.241711>
77. Sharma N., Sinha V.B., Gupta N., Rajpal S., Kuchi S., Sitaramam V. Phenotyping for nitrogen use efficiency: rice genotypes differ in N-responsive germination, oxygen consumption, seed urease activities, root growth, crop duration, and yield at low N // *Front. Plant Sci.* 2018. V. 9. P. 1452.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01452>
78. Griffiths M.G., York L.M. Targeting root uptake kinetics for increasing plant productivity and nutrient use efficiency // *Plant Physiol.* 2020. V. P. 182. P. 1854–1868.  
<https://doi.org/10.1104/pp.19.01496>
79. Pace G.M., McClure P.R. Comparison of nitrate uptake kinetics parameters across maize inbred lines // *J. Plant Nutr.* 1986. V. 9. P. 1095–1112.  
<https://doi.org/10.1080/01904168609363512>
80. York L.M., Silberbush M., Lynch J.P. Spatiotemporal variation of nitrate uptake kinetics within the maize (*Zea mays* L.) root system is associated with greater nitrate uptake and interactions with architectural phenes // *J. Exp. Bot.* 2016. V. 67. P. 3763–3775.  
<https://doi.org/10.1093/jxb/erw133>
81. Griffiths M., Roy S., Guo H., Seethepalli A., Huhman D., Ge Y. A multiple ion-uptake phenotyping platform reveals shared mechanisms affecting nutrient uptake by roots // *Plant Physiol.* 2021. V. 185. P. 781–795  
<https://doi.org/10.1093/plphys/kiab080>
82. Wang B., Smith S.M., Li J. Genetic regulation of shoot architecture // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2018. V. 69. P. 437–468.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040422>
83. Li Y., Ren B., Ding L., Shen Q., Peng S., Guo S. Does chloroplast size influence photosynthetic nitrogen use efficiency? // *PLoS ONE.* 2013. V. 8. e62036.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062036>
84. Pang J., Palta J.A., Rebetzke G.J., Milroy S.P. Wheat genotypes with high early vigour accumulate more nitrogen and have higher photosynthetic nitrogen use efficiency during early growth // *Funct. Plant Biol.* 2014. V. 41. P. 215–222.  
<https://doi.org/10.1071/FP13143>
85. South P.F., Cavanagh A.P., Liu H.W., Ort D.R. Synthetic glycolate metabolism pathways stimulate crop growth and productivity in the field // *Science.* 2019. V. 363. P. 6422.  
<https://doi.org/10.1126/science.aat9077>
86. Acevedo-Siaca L.G., Coe R., Wang Y., Kromdijk J., Quick W.P., Long S.P. Variation in photosynthetic induction between rice accessions and its potential for improving productivity // *New Phytol.* 2020. V. 227. P. 1097–1108.  
<https://doi.org/10.1111/nph.16454>
87. Fernie A.R., Bachem C.W.B., Helariutta Y., Neuhaus H.-E., Pratt S., Ruan Y.-L. Synchronization of developmental, molecular and metabolic aspects of source–sink interactions // *Nat. Plants.* 2020. V. 6. P. 55–66.  
<https://doi.org/10.1038/s41477-020-0590-x>
88. Donald C.M., Hamblin J. The biological yield and harvest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria // *Adv. Agron.* 1976. V. 28. P. 361–405.  
[https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60559-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60559-3)
89. Oury F.X., Godin C. Yield and grain protein concentration in bread wheat: how to use the negative relationship between the two characters to identify favourable genotypes? // *Euphytica.* 2007. V. 157. P. 45–57.  
<https://doi.org/10.1007/s10681-007-9395-5>
90. Hütsch B.W., Schubert S. Harvest index of maize (*Zea mays* L.): Are there possibilities for improvement? // *Adv. Agron.* 2017. V. 146. P. 37–82.  
<https://doi.org/10.1016/bs.agron.2017.07.004>
91. Perchlik M., Tegeder M. Improving plant nitrogen use efficiency through alteration of amino acid transport processes // *Plant Physiol.* 2017. V. 175. P. 235–247.  
<https://doi.org/10.1104/pp.17.00608>
92. Tegeder M., Perchlik M. The importance of organic nitrogen transport processes for plant productivity and nitrogen use efficiency // *Engineering nitrogen utilization in crop plants* / Eds. A.K. Shrawat, A. Zayed, D.A. Lightfoot. N.Y.: Springer, 2018. P. 233–253.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-92958-3\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-92958-3_13)
93. Koskey G., Mburu S.W., Njeru E.M., Kimiti J.M., Omboiri O., Maingi J.M. Potential of native rhizobia in enhancing nitrogen fixation and yields of climbing beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in contrasting environments of Eastern Kenya // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 443.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00443>
94. Santachiara G., Salvagiotti F., Gerde J.A., Rotundo J.L. Does biological nitrogen fixation modify soybean nitrogen dilution curves? // *Field Crops Res.* 2018. V. 223. P. 171–178.  
<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.04.001>
95. Zhang J., Liu Y.X., Zhang N., Hu B., Jin T., Xu H. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice // *Nat. Biotechnol.* 2019. V. 37. P. 676–684.  
<https://doi.org/10.1038/s41587-019-0104-4>
96. Subbarao G.V., Yoshihashi T., Worthington M., Nakahara K., Ando Y., Sahrawat K.L. Suppression of soil nitrification by plants // *Plant Sci.* 2015. V. 233. P. 155–164.  
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.01.012>
97. Sun L., Lu Y., Yu F., Kronzucker H.J., Shi W. Biological nitrification inhibition by rice root exudates and its relationship with nitrogen use efficiency // *New Phytol.* 2016. V. 212. P. 646–656.  
<https://doi.org/10.1111/nph.14057>
98. York L.M., Silberbush M., Lynch J.P. Spatiotemporal variation of nitrate uptake kinetics within the maize (*Zea mays* L.) root system is associated with greater nitrate uptake and interactions with architectural phenes // *J. Exp.*

- Bot. 2016. V. 67. P. 3763–3775.  
<https://doi.org/10.1093/jxb/erw133>
99. *Perchlik M., Tegeder M.* AAP2 amino acid transporter function in photosynthetic and plant nitrogen use efficiency in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2018. V. 178. P. 174–188.  
<https://doi.org/10.1104/pp.18.00597>
100. *Jungers J.M., DeHaan L.H., Mulla D.J., Sheaffer C.C., Wyse D.L.* Reduced nitrate leaching in a perennial grain crop compared to maize in the Upper Midwest, USA // *Agric. Ecosyst. Environ.* 2019. V. 272. P. 63–73.  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.11.007>
101. *Foster T.L., Baldi H.D., Shen X., Burson B.L., Klein R.R., Murray S.C.* Development of novel perennial *S. bicolor* × *S. propinquum* hybrids // *Crop Sci.* 2020. V. 60. P. 863–872.  
<https://doi.org/10.1002/csc2.20136>
102. *Jones J.W., Antle J.M., Basso B., Boote K.J., Conant R.T., Foster I.* Brief history of agricultural systems modeling // *Agric. Syst.* 2017. V. 155. P. 240–254.  
<https://doi.org/10.1016/j.agry.2016.05.014>
103. *Morris T.F., Murrell T.S., Beegle D.B., Camberato J.J., Ferguson R.B.* Strengths and limitations of nitrogen rate recommendations for corn and opportunities for improvement // *Agron. J.* 2018. V. 110. P. 1–37.  
<https://doi.org/10.2134/agronj2017.02.0112>
104. *Holzworth D.P., Huth N.I., deVoil P.G., Zurcher E.J., Herrmann N.I., McLean G.* APSIM – Evolution towards a new generation of agricultural systems simulation // *Environ. Model Soft.* 2014. V. 62. P. 327–350.  
<https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2014.07.009>
105. *Chen X., Cui Z., Fan M., Vitousek P., Zhao M., Ma W.* Producing more grain with lower environmental costs // *Nature.* 2014. V. 514. P. 486–489.  
<https://doi.org/10.1038/nature13609>
106. *Zhang X., Davidson E.A., Mauzerall D.L., Searchinger T.D., Dumas P., Shen Y.* Managing nitrogen for sustainable development // *Nature.* 2015. V. 528. P. 51–59.  
<https://doi.org/10.1038/nature15743>
107. *Lassaletta L., Billen G., Grizzetti B., Anglade J., Garnier J.* 50 year trends in nitrogen use efficiency of world cropping systems: the relationship between yield and nitrogen input to cropland // *Environ. Res. Lett.* 2014. V. 9. Iss. 105011.  
<https://doi.org/10.1088/1748-9326/9/10/105011>
108. *Camberato J., Nielsen R., Joern B.* Nitrogen management guidelines for corn in Indiana. Purdue nitrogen management update // Available online at: [www.agry.purdue.edu/ext/corn/news/timeless/nitrogenmgmt.pdf](http://www.agry.purdue.edu/ext/corn/news/timeless/nitrogenmgmt.pdf), 2017.
109. *Harrison M.T., Roggero P.P., Zavattaro L.* Simple, efficient and robust techniques for automatic multi-objective function parameterisation: Case studies of local and global optimisation using APSIM // *Environ. Model Soft.* 2019. V. 117. P. 109–133.  
<https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2019.03.010>
110. *Galán-Martín Á., Vaskan P., Antón A., Esteller L.J., Guillén-Gosálbez G.* Multi-objective optimization of rainfed and irrigated agricultural areas considering production and environmental criteria: a case study of wheat production in Spain // *J. Clean. Prod.* 2017. V. 140. P. 816–830.  
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.099>
111. *Moeinizade S., Kusmec A., Hu G., Wang L., Schnable P.S.* Multitrait genomic selection methods for crop improvement // *Genetics* 2020. V. 215. P. 931–945.  
<https://doi.org/10.1534/genetics.120.303305>
112. *Udvardi M., Below F.E., Castellano M.J., Eagle A.J., Giller K.E., Ladha J.K., Liu X., Maaz T.M., Nova-Franco B., Raghuram N., Robertson G.P., Roy S., Saha M., Schmidt S., Tegeder M., York L.M., Peters J.W.* A Research road map for responsible use of agricultural nitrogen // *Front. Sustain. Food Syst.* 2021. V. 5. Iss. 660155.  
<https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.660155>

## Improving the Efficiency of Nitrogen Use: Problems and Solutions. Part 2. Biological Approaches

V. N. Bashkin<sup>a,#</sup> and R. A. Galiulina<sup>b,##</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Physico-Chemical and Biological Problems of Soil Science of the RAS  
 Institutskaya ul. 2, Moscow region, Pushchino 142290, Russia*

<sup>b</sup>*Institute of Basic Biological Problems of the Russian Academy of Sciences  
 Institutskaya ul. 2, Moscow region, Pushchino 142290, Russia*

<sup>#</sup>*E-mail: bashkin@issp.serpukhov.su*

<sup>##</sup>*E-mail: rosa\_g@rambler.ru*

Biological methods of increasing the efficiency of nitrogen use can be considered as improved farming methods that synchronize the need for nitrogen for agricultural crops with its availability in the soil. It is shown that they are the most achievable ways to solve this problem. Crop breeding aimed at the physiological processes of roots and shoots is likely to increase nitrogen uptake and use of its soil forms, while breeding aimed at increasing the efficiency of biological nitrogen fixation by legumes will increase the overall efficiency of the system. The article also demonstrates that the development of new N-fixing symbioses in non-legume crops can reduce the need for chemical fertilizers in agroecosystems, but is a much longer-term goal.

*Key words:* efficiency of nitrogen use, biological nitrogen fixation, breeding, microbiome, roots, soil health.