

唐伟杰, 陈海元, 张所兵, 等. 水稻氮素利用相关基因遗传研究进展[J]. 江苏农业学报, 2024, 40( 3 ): 570-576.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.03.020

## 水稻氮素利用相关基因遗传研究进展

唐伟杰<sup>1</sup>, 陈海元<sup>1</sup>, 张所兵<sup>1</sup>, 唐 骏<sup>1</sup>, 林 静<sup>1</sup>, 方先文<sup>1</sup>, 张云辉<sup>1,2</sup>

(1.江苏省农业生物学重点实验室, 江苏省农业科学院种质资源与生物技术研究所, 江苏 南京 210014; 2.江苏省粮食作物现代生产技术协同创新中心, 江苏 扬州 225009)

**摘要:** 水稻氮素利用效率的高低直接影响水稻产量以及生态环境。在水稻氮素利用相关基因的研究中, 研究人员通过连锁作图和关联作图等方法克隆基因, 并解析水稻的氮素利用机理, 为水稻氮素高效利用育种提供了基因资源。本文从水稻氮素利用 QTL 定位及基因克隆, 基于全基因组关联分析的水稻氮素利用相关基因克隆, 利用突变体克隆水稻氮素利用相关基因, 利用反向遗传学克隆水稻氮素利用相关基因等方面总结了近年水稻氮素利用相关基因的研究进展。同时对该领域的未来研究进行了展望。本文为水稻氮素高效利用基因的研究和氮素高效利用育种提供了参考。

**关键词:** 水稻; 氮素利用效率; 基因变异

**中图分类号:** S511 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)03-0570-07

## Progress in genetic research on genes related to nitrogen utilization in rice

TANG Wei-jie<sup>1</sup>, CHEN Hai-yuan<sup>1</sup>, ZHANG Suo-bing<sup>1</sup>, TANG Jun<sup>1</sup>, LIN Jing<sup>1</sup>, FANG Xian-wen<sup>1</sup>, ZHANG Yun-hui<sup>1,2</sup>

(1. Provincial Key Laboratory of Agrobiolgy, Institute of Germplasm Resources and Biotechnology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Jiangsu Co-Innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops, Yangzhou 225009, China)

**Abstract:** Nitrogen use efficiency (Nue) of rice directly affects rice yield and ecological environment. In the research of rice nitrogen use-related genes, researchers cloned the genes by means of linkage mapping and association mapping, and analyzed the mechanism of rice nitrogen utilization, which provided genetic resources for rice nitrogen efficient utilization breeding. This article summarized the research progress of rice nitrogen utilization related genes in recent years, including QTL mapping and gene cloning of rice nitrogen utilization, cloning of rice nitrogen utilization related genes based on whole genome association analysis, cloning of rice nitrogen utilization related genes using mutants, and cloning of rice nitrogen utilization related genes using reverse genetics. At the same time, the future research in this field was prospected.

This paper provides a reference for the research of nitrogen efficient utilization genes and nitrogen efficient utilization breeding in rice.

**Key words:** rice; nitrogen utilization efficiency; gene variations

收稿日期: 2024-02-25

**基金项目:** 国家自然科学基金青年科学基金项目(32302672); 江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20210153); 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(22)3140]; 江苏省种业创新“揭榜挂帅”项目[JBGs(2021)012]

**作者简介:** 唐伟杰(1989-), 男, 汉族, 山东莱阳人, 博士, 助理研究员, 主要从事水稻氮高效利用遗传研究。(E-mail) weiji-et08@126.com

**通讯作者:** 张云辉, (E-mail) zyhrice@163.com

水稻作为全球最重要的粮食作物之一, 为保障世界粮食安全和满足日益增长的人口对粮食的需求起到了至关重要的作用<sup>[1]</sup>。氮肥是水稻种植过程

中用量最大的肥料,对水稻产量的提高至关重要。然而,随着农田氮肥的过度施用,氮肥对环境的污染问题日益严重<sup>[2-3]</sup>,提高水稻氮素利用效率(Nitrogen use efficiency, NUE)已成为实现农业可持续发展和环境保护的重要途径之一<sup>[4-5]</sup>。因此,开展水稻的氮营养与遗传交叉研究,发掘水稻氮素利用相关基因,鉴定基因的优异单倍型,对于提升粮食产量和保护生态环境,实现农业可持续发展具有重要意义。

水稻氮素利用包括氮吸收、转运、同化和再利用等过程,涉及到多个基因、多个途径的参与和调控<sup>[6]</sup>。氮肥在土壤中以硝态氮和铵态氮形式存在,水稻根系通过 $\text{NO}_3^-$ 转运子和 $\text{NH}_4^+$ 转运蛋白等调控硝态氮和铵态氮的吸收、转运,通过硝酸还原酶、亚硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶和谷氨酸合成酶实现氮同化<sup>[7-12]</sup>。在植株地上部分,氮素的运输和分配受到氮素转运蛋白、氨基酸转运蛋白等的调控<sup>[7,13]</sup>。此外,水稻对氮素的同化和再利用还受到天冬氨酸合成酶和相关转录因子的调控<sup>[6,14]</sup>。这些氮素利用相关基因的克隆、功能分析等揭示了水稻氮素利用的调控机制,为培育氮高效利用水稻品种,提高水稻氮肥利用效率提供了科学依据和基因资源。

QTL(数量性状基因座)定位是基因克隆、功能验证的重要手段,且推动了品种的改良<sup>[15-16]</sup>。同时,基因组学和高密度遗传图谱等高通量技术也为基因遗传研究提供了新的思路和方法<sup>[17-18]</sup>。在水稻氮素高效利用的研究中,通过研究氮素利用相关基因在不同品种中的变异情况,筛选出能够高效利用氮素的优异单倍型,为水稻育种提供种质和基因资源。

综上所述,本文从水稻氮素利用 QTL 定位及基因克隆,基于全基因组关联分析的水稻氮素利用相关基因克隆,利用突变体克隆水稻氮素利用相关基因,利用反向遗传学克隆水稻氮素利用基因等方面总结近年水稻氮素利用相关基因的研究进展,讨论了该领域存在的问题并对未来的研究方向进行展望,以期为人们快速深入了解水稻氮素利用相关研究,对于推动水稻氮素高效利用育种有积极作用。

## 1 水稻氮素利用 QTL 定位及基因克隆

水稻种植历史悠久,分布广泛,形成了多种多样的遗传资源,具有丰富的遗传多样性<sup>[19]</sup>。Zhang

等<sup>[20]</sup>利用籼稻资源特青与普通野生稻(*Oryza rufipogon*)杂交后代群体,通过调查 0.24 mmol/L 硝酸铵和 1.44 mmol/L 硝酸铵处理 21 d 的水稻植株相对干质量,进行 QTL 检测,克隆到 *TONDI* 基因,该基因优势单倍型主要在籼稻品种中存在。通过基因内关联分析,发现该基因和启动子上的 5 个 SNP(单核苷酸多态性)可能是导致优势单倍型的原因,在减氮条件下,该基因过表达后可有效提高水稻产量。

Yang 等<sup>[21]</sup>以广西普通野生稻 Y11 和籼型恢复系 GH998 杂交构建后代群体,测定不同施氮处理的水稻体内氮浓度,以氮素利用效率作为定位指标,采用 QTL-seq 技术定位到 1 个位于 6 号染色体的影响氮素利用效率的 QTL 位点,进一步精细定位得到 *OsNPF3.1*,功能分析发现该基因影响株高、抽穗期和千粒质量。在 *OsNPF3.1* 蛋白结构域内存在 1 个氨基酸变异,由苏氨酸变为丙氨酸,导致了野生稻和栽培稻不同的氮素利用效率表型。进一步分析栽培稻中的变异,发现有 2 个自然变异位点 *OsNPF3.1*<sup>Chr6\_8741040</sup> 和 *OsNPF3.1*<sup>Chr6\_8742153</sup> 与氮素利用效率相关,且 *OsNPF3.1*<sup>Chr6\_8742153</sup> 位点具有明显的籼粳分化<sup>[22]</sup>。

水稻中的籼稻和粳稻亚群具有不同的氮素利用效率,因此研究者利用籼稻和粳稻杂交构建后代群体,通过调查与氮素利用效率相关的性状,发掘与氮素利用效率相关的等位基因,解释籼粳间的差异,进而提高粳稻的氮素利用效率。Sun 等<sup>[23]</sup>利用氮素敏感籼稻品种南京 6 号和氮不敏感粳稻品种千重浪 2 号杂交构建后代群体,调查不同氮素处理下的株高,采用 QTL 作图,发现 1 个氮敏感基因 *DEP1*,已有报道称该基因为 1 个控制穗型基因,*DEP1* 控制穗型直立,*dep1* 为其等位基因<sup>[24]</sup>,其中 *dep1* 缺失了长度为 625 bp 的片段,导致翻译提前终止。在体内,DEP1 蛋白与  $\text{G}\alpha$  (RGA1) 和  $\text{G}\beta$  (RGB1) 亚基互作,降低 RGA1 活性或增强 RGB1 活性均会导致植物对氮不敏感。携带 *dep1-1* 等位基因的植株在营养生长期对氮素不敏感,从而可以提高中等氮肥水平下的水稻产量和收获指数。

$\text{NO}_3^-$  是重要的氮素来源,且具有信号功能。学者用氯酸盐代替  $\text{NO}_3^-$ ,检测不同水稻品种对硝酸盐的吸收和同化能力,发现籼稻和粳稻对  $\text{NO}_3^-$  的吸收存在差异<sup>[25]</sup>。Hu 等<sup>[25]</sup>利用氯酸盐敏感籼稻品种 IR24 和氯酸盐钝感粳稻品种日本晴杂交构建  $\text{BC}_2\text{F}_5$

家系,进行 QTL 检测,发现了 1 个在籼粳稻间分化的编码 $\text{NO}_3^-$ 转运子的基因 *NRT1.1B*,该基因编码的蛋白在氨基酸序列中第 327 位氨基酸的变异导致籼粳稻间 $\text{NO}_3^-$ 吸收的差异。籼稻中的变异有效提高 $\text{NO}_3^-$ 吸收和 $\text{NO}_3^-$ 响应相关基因的表达上调,导入到粳稻中可有效提高粳稻氮素利用效率,从而提高粳稻产量。Guo 等<sup>[26]</sup>同样利用氯酸盐抗性不同的籼稻品种 9311 和粳稻品种日本晴杂交构建后代群体,进行 QTL 定位,在 2 号染色体上检测到与目标性状相关的位点,经过图位克隆得到基因 *OsNR2*,该基因编码 NAD(P)H-依赖性硝酸还原酶,NAD(P)H-依赖性硝酸还原酶氨基酸序列中第 738 位精氨酸是决定 $\text{NO}_3^-$ 还原能力的关键位点,当该位点的精氨酸变为色氨酸时, $\text{NO}_3^-$ 还原能力下降。进一步调查产量,发现籼稻 9311 水稻产量较高,这是由于 9311 中存在 *OsNR2* 基因的优势单倍型,*OsNR2* 基因的不同单倍型导致 *NRT1.1B* 的不同表达。且 *NRT1.1B* 和 *OsNR2* 的克隆充分阐明了籼稻中 $\text{NO}_3^-$ 吸收和同化效率高于粳稻的机制,为粳稻提高氮素利用效率,特别是 $\text{NO}_3^-$ 吸收同化提供了优异基因资源。

$\text{NH}_4^+$ 是水稻主要的氮源,通过遗传手段了解 $\text{NH}_4^+$ 吸收相关基因可有效提高水稻对氮肥的利用效率。Li 等<sup>[27]</sup>利用铵态氮吸收速率较高的育种家系 NM73,与铵态氮吸收速率较低的籼稻品种南京 6 号(NJ6)杂交构建后代群体,通过调查水稻对 $^{15}\text{N}$ 标记的 $\text{NH}_4^+$ 吸收速率,检测到 2 个 QTL,经过图位克隆,发现 2 个基因分别是 *sd1* 和 *GRF4*。其中 *GRF4*<sup>ng<sup>2</sup></sup>是一种可以促进铵根吸收的单倍型,跟 NJ6 相比,NM73 的单倍型 *GRF4*<sup>ng<sup>2</sup></sup>在第 3 个外显子上具有 2 个 SNP (1 187 T→A 和 1 188 C→A),在启动子上有 3 个 SNP (-884 T→A, -847 C→T 和 -801 C→T)。*GRF4* 不仅能调节铵根吸收,还能受到氮的调控。经过分子生物学验证,*GRF4* 蛋白不仅是一个正向调控植物碳-氮代谢的因子,可以促进植物氮素代谢、光合作用以及生长发育,而且 *GRF4* 蛋白也参与赤霉素信号传递途径,能与 DELLA 蛋白互作。结果证明,*GRF4* 蛋白与水稻生长抑制因子 DELLA 蛋白相互之间的调节赋予了植物生长与碳-氮代谢之间的稳态。

生长素是植物生长必需激素,氮素利用效率也受生长素相关基因的调控。Zhang 等<sup>[28]</sup>利用籼稻品

种华粳粳 74 和粳稻品种 IRAP9 杂交构建 CSSL(染色体片段置换系)群体,通过调查 $^{15}\text{N}$ 标记的 $\text{NO}_3^-$ 吸收速率,并进行 QTL 定位,发现 *qDNR1* 位点,进一步精细定位发现得到 1 个参与生长素合成基因 *DNR1*。该基因存在明显的籼粳差异,籼稻 *DNR1* 基因的启动子-1 728 到 -1 209 位置上缺失长度为 520 bp 的片段,该片段的缺失导致了 *DNR1* 的表达量下降,从而促进了氮的吸收和同化,在中度氮肥施用情况下,可有效提高水稻产量。*DNR1* 基因通过影响生长素合成,促进 *ARF* 基因表达,调控氮吸收转运。进一步研究发现,利用 RSA (Root system architecture,根系结构)不同和氮敏感性不同的籼稻品种华粳粳 74 和粳稻品种 IRAT261 杂交构建后代群体,通过图位克隆得到 *RNR10* 基因<sup>[29]</sup>。该基因编码的 F-box 蛋白,可以与 *DNR1* 互作,*RNR10* 对 K53 残基进行单泛素化修饰,使 *DNR1* 更加稳定不易降解,从而负调控生长素的积累。同样,该基因具有显著的籼粳差异,籼稻中该基因内含子存在 604 bp 长度的插入片段,启动子上 3 496 bp 长度的片段发生结构变异,使籼稻氮素利用效率提高。*DNR1* 和 *RNR10* 的基因克隆以及相互作用,为生长素参与氮素利用效率提供了基因资源,并为解释籼粳间氮素利用效率差异提供了更多证据。

氮素不仅影响水稻根系生长,还影响叶面积变化和纤维素含量。Gao 等<sup>[30]</sup>以叶面积和纤维素含量为指标,通过日本晴和 9311 杂交构建的 CSSL 群体,检测到 1 个位于 1 号染色体的 QTL,通过图位克隆,发现区间内 *MYB61* 是导致表型变化的基因,该基因编码的转录因子作用于下游的 *GRF4* 基因,调控水稻纤维素合成和氮素利用。遗传分析发现,*MYB61* 具有明显的籼粳分化。籼稻中的单倍型具有更高的转录水平,在减氮的条件下,氮素利用效率更高。

以上研究结果对于解释部分优异材料的氮高效原因起到了关键作用,但双亲本 QTL 定位存在不足,如群体构建时间较长和检测等位基因数量少等,研究人员尝试利用自然变异群体快速克隆水稻氮素利用相关基因。

## 2 基于全基因组关联分析的水稻氮素利用相关基因克隆

随着二代测序成本降低,结合水稻种质资源的



多样性,利用全基因组关联分析 (Genome Wide Association Study, GWAS) 成为快速克隆水稻氮素利用相关基因的有效方法。Tang 等<sup>[31]</sup>利用 117 份来自世界各地的具有极端氮响应的地方品种,结合 GBS (随机测序式基因型检测) 和 Imputation (预测) 方法检测其多态性,连续 3 年调查不同氮素处理下的株高、有效穗数和单株产量,克隆到硝酸根转运子 *OsNPF6.1*,该转运子负责硝酸根的吸收转运,其优势单倍型的氨基酸序列第 160 位氨基酸由甘氨酸变成天冬氨酸,水稻对硝酸根吸收能力更强。同时发现,优势单倍型具有更高的 *OsNPF6.1* 基因表达水平,是因为优势单倍型品种的 *OsNPF6.1* 启动子具有 4 个 CACG 元件,可以被调控水稻氮素高效利用的转录因子 *OsNAC42* 结合,而劣势单倍型品种只有 2 个 CACG 元件,该研究结果在转录调控水平上解释了 *OsNPF6.1* 优势单倍型以及 *OsNPF6.1* 基因表达量高的原因。

利用同一群体, *OsNLP4* 和 *OsGS1;1* 基因相继被发现<sup>[32-33]</sup>, *OsNLP4* 基因具有 8 个 SNP,优势单倍型 HapB 具有更高的转录水平,对下游基因 *OsNiR* 具有更高的转录激活能力。同时,还发现不同品种中 *OsNLP4* 下游的 *OsNiR* 基因启动子上的 NRE (硝酸盐响应元件) 数量存在差异, NRE 数量的增加提高植株对亚硝酸盐的耐受性,并提高分蘖数,最终影响产量和氮素利用效率<sup>[32]</sup>。Liu 等<sup>[33]</sup>发现 *OsGS1;1* 基因通过可变剪切产生 2 种转录本,均可编码具有活性的谷氨酰胺合成酶,优势单倍型 HapB 中的转录本 *OsGS1;1b* 具有更高的谷氨酰胺合成酶活性,可以提高水稻氮素利用效率,影响直链淀粉含量。在同一群体中 4 个基因 (*OsNPF6.1*, *OsNAC42*, *OsNLP4* 和 *OsGS1;1*) 的发掘验证了 GWAS 对于氮素利用相关基因的发掘能力,为快速鉴定与氮素利用有关的新基因提供了性状 (株高、有效穗数和单株产量) 借鉴和经验。

分蘖是氮素影响水稻发育的直观表型,随着氮肥施用量的增加,水稻分蘖呈现增加的趋势。Liu 等<sup>[34]</sup>利用来自世界各地的 110 份种质资源,通过 TRN (分蘖氮响应) 表型鉴定到 1 个氮素利用相关基因 *OsTCP19*,该基因通过调控下游 *DLT* 基因的表达负调控水稻分蘖,其优势单倍型启动子上缺失了 29 bp 长度的片段,该优势单倍型在 Aus 稻中占比较高,通过近等基因系发现,该优势单倍型可有效提高

水稻分蘖、产量和氮素利用效率。

有机氮可有效提升水稻氮素利用效率。Guo 等<sup>[13]</sup>发现,水稻不同亚群对于天冬氨酸的吸收水平不同,粳稻的吸收速率约为籼稻的 1.5 倍,对水稻中不同的氨基酸转运蛋白序列进行基因内关联分析,发现 *LHT1* 基因与表型关联程度高。根据 3 个 SNP 可以将 *LHT1* 分成两种单倍型,其中 type1 在粳稻中存在,具有更高的 *LHT1* 基因表达量和天冬氨酸吸收速率, type2 在籼稻中存在,具有较低的 *LHT1* 基因表达量和天冬氨酸吸收速率。

关联分析克隆氮素利用相关基因,并解释其变异,有效拓宽了水稻不同亚群的利用,不局限于籼稻和粳稻的差异,且自然变异群体可以检测到多个氮素利用相关基因,结合优异单倍型,更容易鉴定氮高效利用品种资源。

### 3 利用突变体克隆水稻氮素利用相关基因

谷氨酸在水稻氮素吸收利用过程中起到关键作用, *GOGAT* (谷氨酸合酶) 负责将谷氨酰胺转化为谷氨酸。Yang 等<sup>[35]</sup>通过一个水稻细胞分裂素异常反应突变体 *abc1*,克隆到水稻 *Fd-GOGAT* 基因,该基因在氮素同化和碳氮平衡中起到关键作用,遗传变异分析结果表明,该基因编码区内含有 5 个非同义变异,在水稻亚群中具有明显的籼粳分化。Wang 等<sup>[36]</sup>后续利用再突变的方式,将突变体 *abc1* 表型恢复,并筛选到了表型恢复的突变体 *are1*, *ARE1* 是 1 个叶绿体定位蛋白,突变后叶片叶绿素含量升高,衰老延迟,可以使水稻产量提升 10%~20%。遗传变异分析结果表明,在 18% 的籼稻和 48% 的 aus 稻中 *ARE1* 基因序列中被插入长度 6 bp 的片段,使得该基因表达量降低,水稻产量升高。后续研究发现,在 *ghd7* 突变体中, *ARE1* 的表达量升高。研究结果表明,转录抑制因子 *Ghd7* 可以与 *ARE1* 的启动子和第 1 个内含子结合,抑制 *ARE1* 的表达, *Ghd7* 的优势单倍型和 *ARE1* 的优势单倍型在东亚和南亚氮肥施用少的地方具有相对较高的比例,可以提高氮素利用效率和水稻产量<sup>[37]</sup>。有研究表明, *DELLA* 蛋白在氮素利用中起到关键作用<sup>[27]</sup>。Wu 等<sup>[38]</sup>利用 EMS 诱变,得到 1 个分蘖数量减少,对氮肥供应量变化不敏感的突变体 *ngr5*。通过图位克隆,发现 *NGR5* 是水稻响应氮素的正调控因子,含有 APETA-

LA2(AP2)结构域,与 PRC2 蛋白复合物互作,通过介导组蛋白 H3K27me3 甲基化修饰水平来调节靶基因的表达,最终调控水稻的分蘖等生长发育性状。研究还发现,NGR5 与 DELLA 蛋白互作,DELLA 竞争性结合赤霉素受体 GID1(Gibberellin Receptor),抑制赤霉素介导的 NGR5 蛋白降解,增加 NGR5 蛋白稳定性。遗传分析发现,NGR5 基因含有 5 种单倍型,其中 Hap2 单倍型与 NGR5 高转录水平有关,具有更高的分蘖数和田间产量,高产籼稻品种桂朝 2 号属于 Hap2 单倍型。

在对  $\text{NH}_4^+$  影响水稻根系生长的研究中,Xie 等<sup>[39]</sup>通过 EMS 诱变,得到 1 个对铵盐超敏感的突变体 rohan,并克隆其突变基因 *ASL*。研究发现,过表达 *ASL* 可以显著增强水稻根系对铵盐的耐受性,显著提高水稻的产量和氮素利用效率。进一步分析 *ASL* 基因的自然变异,发现该基因在籼稻和粳稻之间具有明显的分化,*ASL* 基因共有 37 个 SNP,其中错义突变 SNP(Chr3:10847318, A→G)导致编码的赖氨酸变为精氨酸,SNP<sup>C</sup>植株根系对  $\text{NH}_4^+$  敏感性高于 SNP<sup>A</sup>植株。在高氮诱导下,SNP<sup>A</sup>植株的 *ASL* 表达水平更高,对  $\text{NH}_4^+$  的耐受性更强。

## 4 利用反向遗传学克隆水稻氮素利用相关基因

Fan 等<sup>[40]</sup>发现 NRT2.3 是 1 个对 pH 值敏感的硝酸根转运子,其可变剪切体 OsNRT2.3b 主要在韧皮部表达,并在胞质侧具有调节基序,能通过 pH 传感机制开启或关闭硝酸盐转运活性。在水稻中过表达 *OsNRT2.3b*,可以使水稻对氮素的利用效率提高 40%。同时,Xie 等<sup>[41]</sup>发现,相比于 *Indica* I,*OsNRT2.3* 在 *Indica* II 进化过程中受到了选择。Fan 等<sup>[40]</sup>试验数据也验证了这一结果。Zhang 等<sup>[42]</sup>在前人研究基础上,继续探究 *OsNRT2.3* 的功能,发现 *OsNRT2.3* 的等位基因 *HTNE-2* 发生 SNP 变异(距离 ATG 111 bp 的 C 碱基和距离 ATG 7 bp 的 T 碱基),导致 *OsNRT2.3b* 蛋白水平增加,使水稻在受到高温胁迫时具有更高产量,为抗高温和氮高效利用育种改良提供了基因资源。

## 5 展望

挖掘水稻氮素利用相关基因是提高水稻产量和减少氮肥施用量的关键,研究者利用双亲 QTL 检

测、GWAS 等方法克隆到多个水稻氮素利用相关基因。然而,水稻基因组极为复杂,基因组包含了大量基因,其中涉及到氮素吸收、转运、同化和再利用的基因有数百个,在水稻染色体上还存在结构变异<sup>[43]</sup>。因此,鉴定和解析与水稻氮素利用相关的基因是一个巨大的挑战,需要高通量测序或者单细胞测序等先进技术来进行基因筛选和功能研究。同时,还需要根据已克隆的与氮高效利用有关的基因进一步地构建水稻氮营养调控网络,包括氮素信号感知、转录因子调控和代谢途径调控等调控网络。

水稻氮素利用还受到环境因素的影响<sup>[44-45]</sup>,如土壤氮含量和气候条件等,环境因素使得研究水稻氮素利用相关基因的遗传机制更加困难。因此需要多年多点、大规模和更精准的种植结果进行相互验证,从而获取更全面的数据和准确的结果<sup>[46]</sup>。目前研究多使用低产亲本日本晴、中花 11 等作为背景亲本,与实际生产上所用的水稻品种有较大差异,如何用已克隆的优异单倍型改善现有的种植品种性状也是需要关注的重点。

不同品种水稻对氮素的利用效率不同,这与其遗传背景密切相关。因此,在研究水稻氮素利用相关基因变异的同时,需要考虑到不同品种之间的遗传多样性,并进行全基因组关联分析和群体遗传学研究,以揭示品种间的差异和遗传机制。目前已克隆到多个与氮素利用相关的基因<sup>[47-48]</sup>,后续可以结合不同水稻品种进行单倍型分析,进一步发掘、验证这些基因的优异单倍型,为氮素高效利用新品种选育提供氮高效利用的优异单倍型资源。前期研究发现的氮高效利用优异单倍型普遍存在于籼稻中,如 *OsNRT1.1B-IR24*、*OsNR2-9311*、*OsNPF6.1<sup>HapB</sup>*、*GRF4<sup>ngt2</sup>* 和 *NGR5-Hap2* 等。然而,粳稻中同样具有丰富的氮高效种质资源,后续研究可以围绕粳稻地方种质资源进行氮素利用相关基因的发掘和验证,加快粳稻氮高效利用育种进程。

目前研究主要对水稻与氮素利用有关的表型如株高、分蘖等进行分析,较少分析氮含量直接指标,如不同时期、不同部位氮含量的测定,氮含量直接指标可以更有效地反映氮素在水稻体内不同时期、不同部位的变化情况,并且结合关联分析形成动态的位点分析,既可以为氮素利用相关基因的克隆提供更多的位点,又可为氮高效利用育种的精准改良提供更精确的位点。

水稻氮素利用相关基因的研究有着广阔的发展前景,随着基因编辑技术等技术的不断进步,可以更精确地研究和编辑水稻氮素利用相关基因。同时,组学研究结合大数据和人工智能等技术,可以更深入地挖掘水稻基因组中与氮素吸收、转运、同化和再利用有关的基因,加速氮素利用相关基因的鉴定和功能验证,从而缩短氮高效利用品种的育种周期。挖掘水稻氮素利用相关基因,研究水稻氮素利用的分子调控机制,培育氮高效利用水稻品种对于推动中国农业可持续发展、保障国家粮食安全都具有重要意义。

### 参考文献:

- [1] SHI J X, AN G, WEBER A P M, et al. Prospects for rice in 2050 [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2023, 46(4): 1037-1045.
- [2] GRUBER N, GALLOWAY J N. An earth-system perspective of the global nitrogen cycle[J]. *Nature*, 2008, 451: 293-296.
- [3] SCHULTE-UEBBING L F, BEUSEN A H W, BOUWMAN A F, et al. From planetary to regional boundaries for agricultural nitrogen pollution[J]. *Nature*, 2022, 610: 507-512.
- [4] HE W T, JIANG R, HE P, et al. Estimating soil nitrogen balance at regional scale in China's croplands from 1984 to 2014[J]. *Agricultural Systems*, 2018, 167: 125-135.
- [5] YIN Y L, ZHAO R F, YANG Y, et al. A steady-state N balance approach for sustainable smallholder farming[J]. *PNAS*, 2021, 118(39): e2106576118.
- [6] XU G H, FAN X R, MILLER A J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2012, 63: 153-182.
- [7] WEI J, ZHENG Y, FENG H M, et al. OsNRT2.4 encodes a dual-affinity nitrate transporter and functions in nitrate-regulated root growth and nitrate distribution in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(5): 1095-1107.
- [8] XIA X D, FAN X R, WEI J, et al. Rice nitrate transporter OsNPF2.4 functions in low-affinity acquisition and long-distance transport[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(1): 317-331.
- [9] FAN X R, NAZ M, FAN X R, et al. Plant nitrate transporters: from gene function to application[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(10): 2463-2475.
- [10] LI C, TANG Z, WEI J, et al. The OsAMT1.1 gene functions in ammonium uptake and ammonium-potassium homeostasis over low and high ammonium concentration ranges[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2016, 43(11): 639-649.
- [11] WU X Y, XIE X X, YANG S, et al. OsAMT1;1 and OsAMT1;2 coordinate root morphological and physiological responses to ammonium for efficient nitrogen foraging in rice[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2022, 63(9): 1309-1320.
- [12] LEE S, MARMAGNE A, PARK J, et al. Concurrent activation of OsAMT1;2 and OsGOGAT1 in rice leads to enhanced nitrogen use efficiency under nitrogen limitation[J]. *Plant Journal*, 2020, 103(1): 7-20.
- [13] GUO N, HU J Q, YAN M, et al. *Oryza sativa* Lysine-Histidine-type Transporter 1 functions in root uptake and root-to-shoot allocation of amino acids in rice[J]. *Plant Journal*, 2020, 103(1): 395-411.
- [14] TABUCHI M, SUGIYAMA K, ISHIYAMA K, et al. Severe reduction in growth rate and grain filling of rice mutants lacking OsGS1;1, a cytosolic glutamine synthetase1;1[J]. *Plant Journal*, 2005, 42(5): 641-651.
- [15] REN Z H, GAO J P, LI L G, et al. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter[J]. *Nature Genetics*, 2005, 37(10): 1141-1146.
- [16] LI X M, CHAO D Y, WU Y, et al. Natural alleles of a proteasome  $\alpha 2$  subunit gene contribute to thermotolerance and adaptation of African rice[J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(7): 827-833.
- [17] SI L Z, CHEN J Y, HUANG X H, et al. OsSPL13 controls grain size in cultivated rice[J]. *Nature Genetics*, 2016, 48(4): 447-456.
- [18] YANO K, YAMAMOTO E, AYA K, et al. Genome-wide association study using whole-genome sequencing rapidly identifies new genes influencing agronomic traits in rice[J]. *Nature Genetics*, 2016, 48(8): 427-434.
- [19] ZHAO K Y, TUNG C W, EIZENGA G C, et al. Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*[J]. *Nature Communications*, 2011, 2: 467.
- [20] ZHANG Y J, TAN L B, ZHU Z F, et al. TOND1 confers tolerance to nitrogen deficiency in rice[J]. *Plant Journal*, 2015, 81(3): 367-376.
- [21] YANG X H, XIA X Z, ZHANG Z Q, et al. QTL mapping by whole genome re-sequencing and analysis of candidate genes for nitrogen use efficiency in rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1634.
- [22] YANG X H, NONG B X, CHEN C, et al. OsNPF3.1, a member of the NRT1/PTR family, increases nitrogen use efficiency and biomass production in rice[J]. *The Crop Journal*, 2023, 11(1): 108-118.
- [23] SUN H Y, QIAN Q, WU K, et al. Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice[J]. *Nature Genetics*, 2014, 46(6): 652-656.
- [24] HUANG X Z, QIAN Q, LIU Z B, et al. Natural variation at the DEP1 locus enhances grain yield in rice[J]. *Nature Genetics*, 2009, 41(4): 494-497.
- [25] HU B, WANG W, OU S J, et al. Variation in NRT1.1B contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies[J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(7): 834-838.
- [26] GAO Z Y, WANG Y F, CHEN G, et al. The indica nitrate reduc-

- tase gene OsNR2 allele enhances rice yield potential and nitrogen use efficiency[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1):5279.
- [27] LI S, TIAN Y H, WU K, et al. Modulating plant growth-metabolism coordination for sustainable agriculture [J]. *Nature*, 2018, 560:595-600.
- [28] ZHANG S Y, ZHU L M, SHEN C B, et al. Natural allelic variation in a modulator of auxin homeostasis improves grain yield and nitrogen use efficiency in rice[J]. *Plant Cell*, 2021, 33(3):566-580.
- [29] HUANG Y Z, JI Z, TAO Y J, et al. Improving rice nitrogen-use efficiency by modulating a novel monounitination machinery for optimal root plasticity response to nitrogen [J]. *Nature Plants*, 2023, 9(11):1902-1914.
- [30] GAO Y H, XU Z P, ZHANG L J, et al. MYB61 is regulated by GRF4 and promotes nitrogen utilization and biomass production in rice[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1):1-12.
- [31] TANG W J, YE J, YAO X M, et al. Genome-wide associated study identifies NAC42-activated nitrate transporter conferring high nitrogen use efficiency in rice[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1):5279.
- [32] YU J, XUAN W, TIAN Y L, et al. Enhanced OsNLP4-OsNiR cascade confers nitrogen use efficiency by promoting tiller number in rice[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(1):167-176.
- [33] LIU X L, TIAN Y L, CHI W C, et al. Alternative splicing of OsGS1;1 affects nitrogen-use efficiency, grain development, and amylose content in rice[J]. *Plant Journal*, 2022, 110(6):1751-1762.
- [34] LIU Y Q, WANG H R, JIANG Z M, et al. Genomic basis of geographical adaptation to soil nitrogen in rice [J]. *Nature*, 2021, 590:600-605.
- [35] YANG X L, NIAN J Q, XIE Q J, et al. Rice ferredoxin-dependent glutamate synthase regulates nitrogen-carbon metabolomes and is genetically differentiated between japonica and indica subspecies [J]. *Molecular Plant*, 2016, 9(11):1520-1534.
- [36] WANG Q, NIAN J Q, XIE X Z, et al. Genetic variations in ARE1 mediate grain yield by modulating nitrogen utilization in rice[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1):735.
- [37] WANG Q, SU Q M, NIAN J Q, et al. The Ghdt7 transcription factor represses ARE1 expression to enhance nitrogen utilization and grain yield in rice[J]. *Molecular Plant*, 2021, 14(6):1012-1023.
- [38] WU K, WANG S K, SONG W Z, et al. Enhanced sustainable green revolution yield via nitrogen-responsive chromatin modulation in rice[J]. *Science*, 2020, 367. DOI:10.1126/science.aaz2046.
- [39] XIE Y M, LV Y D, JIA L T, et al. Plastid-localized amino acid metabolism coordinates rice ammonium tolerance and nitrogen use efficiency[J]. *Nature Plants*, 2023, 9(9):1514-1529.
- [40] FAN X R, TANG Z, TAN Y W, et al. Overexpression of a pH-sensitive nitrate transporter in rice increases crop yields [J]. *PNAS*, 2016, 113(26):7118-7123.
- [41] XIE W B, WANG G W, YUAN M, et al. Breeding signatures of rice improvement revealed by a genomic variation map from a large germplasm collection[J]. *PNAS*, 2015, 112(39):5411-5419.
- [42] ZHANG Y, TATEISHI-KARIMATA H, ENDOH T, et al. High-temperature adaptation of an OsNRT2.3 allele is thermoregulated by small RNAs[J]. *Science Advances*, 2022, 8(47). DOI: 10.1126/sciadv.adc9785
- [43] WANG C L, WANG J, LU J Y, et al. A natural gene drive system confers reproductive isolation in rice[J]. *Cell*, 2023, 186(17):3577-3592.
- [44] 赵彭辉, 费良军, 刘大有. 土表致密层形成下肥液膜孔灌入渗土壤水氮分布[J]. *排灌机械工程学报*, 2023, 41(7):709-715.
- [45] 刘中良, 高俊杰, 陈震, 等. 氮肥减量配施有机肥对大白菜产量、品质及氮肥利用率的影响[J]. *排灌机械工程学报*, 2022, 40(11):1138-1144.
- [46] KHAIPHOBURCH M, COOPER M, CROSSA J, et al. Genetic modification can improve crop yields—but stop overselling it [J]. *Nature*, 2023, 621:470-473.
- [47] WANG W, HU B, YUAN D Y, et al. Expression of the nitrate transporter gene *OsNRT1.1A/OsNPF6.3* confers high yield and early maturation in rice[J]. *Plant Cell*, 2018, 30(3):638-651.
- [48] YAN M, FAN X R, FENG H M, et al. Rice OsNAR2.1 interacts with OsNRT2.1, OsNRT2.2 and OsNRT2.3a nitrate transporters to provide uptake over high and low concentration ranges[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2011, 34(8):1360-1372.

(责任编辑:成纾寒)