

## 水稻氮高效利用相关基因的研究进展与展望

郑兴飞, 胡建林, 董华林, 王红波, 查中萍, 殷得所, 周黎, 徐得泽\*

(湖北省农业科学院粮食作物研究所/粮食作物种质创新与遗传改良湖北省重点实验室, 湖北武汉 430064)

**摘要** 随着人口的不断增加以及生态系统的逐渐恶化, 粮食安全问题成了近年来讨论的热点。粮食作物的稳产高产优质是育种家的重要育种目标。在我国, 由于农业结构的不合理以及栽培模式的落后, 使得粮食安全问题更加严峻。水稻是最重要的粮食作物之一, 确保水稻的持续高产是保障粮食安全的关键。氮是影响植物生长发育的重要矿质元素, 过少或过多施用氮肥均会造成作物的减产。因此, 对水稻氮素吸收、利用与分配进行深入研究, 有利推进化肥施用的精细调控, 是实现现代生态农业研究的几个必须课题。综述了水稻氮高效相关基因的研究进展, 以期水稻氮高效育种利用提供参考。

**关键词** 水稻; 氮素; 基因; 分子机理

中图分类号 S511 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)24-0001-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.24.001



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

### Research Progress and Prospect of Genes Related to Nitrogen Efficient Utilization in Rice

ZHENG Xing-fei, HU Jian-lin, DONG Hua-lin et al (Hubei Key Laboratory of Food Crop Germplasm and Genetic Improvement, Food Crops Institute, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan, Hubei 430064)

**Abstract** With the continuous increase of population and the gradual deterioration of ecosystems, the issue of food security has become a hot topic in recent years. In China, the problem of food security is more serious due to the irrational agricultural structure, backward cultivation models, and large agricultural inputs and low output. Rice is one of the most important food crops. To ensure the sustainable high yield of rice is the key to ensure food security. Nitrogen is an essential element that affects plant growth and development. Too little or too much application of nitrogen fertilizer would reduce crop yield. The following are several necessary topics for the realization of modernization of eco-agriculture: in-depth research on rice nitrogen absorption, utilization and distribution and the fine-tuning of fertilizer application and improve yield and quality of crops. We reviewed the research progress of nitrogen efficiency related genes, aiming at providing references for nitrogen efficiency utilization breeding in rice.

**Key words** Rice; Nitrogen; Gene; Molecular mechanisms

氮(N)素是植物生长发育所需的必需元素之一, 也是植物从土壤中吸收最多的元素。氮素构成了植物生长发育所必需的物质, 包括蛋白质、氨基酸和激素等。这些物质参与了植物体内一系列的生理代谢调控, 控制植物的各种生命活动以及产量构成。目前在我国, 由于氮肥的不合理施用导致环境污染问题日益严重<sup>[1]</sup>。氮肥的过多施用会出现以下几个主要问题: 首先, 导致土壤中水势下降, 造成植物水分吸收困难, 叶片萎蔫, 在籽粒充实期过多施用氮肥, 甚至会导致籽粒吸水不足, 造成瘪粒; 其次, 会产生气体毒害, 破坏臭氧层; 另外, 还可导致水质富营养化等环节污染问题。在我国, 氮肥的施用量已平均达到了 180 kg/hm<sup>2</sup>, 然而氮素的利用率却只有 28% ~ 35%, 比全球氮素平均利用水平低 15% ~ 20%<sup>[1-2]</sup>。根据《中国统计年鉴》1980—2014 年, 我国的氮肥施用量增长了近 3 倍, 而粮食的总产量仅增加了 83%。研究水稻氮素吸收、转运、分配的分子机理, 可以从合理、科学施肥和培育高效氮素利用品种等方面来改良目前的农业种植模式。同时, 减少氮肥施用, 提高氮素利用率, 减轻环境污染, 减少农业成本也是现在重要的育种目标之一<sup>[3-4]</sup>。

植物能够利用的氮素主要有 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 2 种。目前,

关于植物氮素高效利用的研究主要集中在根系对环境氮素的吸收能力上<sup>[5]</sup>。在模式植物拟南芥中, 利用突变体材料鉴定出一系列转运 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的 *AtAMT* 的基因和转运 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的 *At-NRT* 基因, 并对这些基因与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的亲和能力进行了一系列的研究<sup>[6-7]</sup>。而在水稻中, 由于表型鉴定困难, 利用正向遗传学的手段仅鉴定出少量氮素吸收相关基因。鉴于此, 笔者在总结水稻氮素吸收利用的特点的基础上, 对水稻氮素利用相关基因研究进行总结展望。

#### 1 水稻氮素吸收特点

植物对氮素的利用包括以下几个主要步骤: 吸收、同化和运输等。当叶片进入衰老期后, 同时还伴随着氮素的循环和再分配。目前, 在模式植物拟南芥和水稻中, 研究比较深入的是氮素的吸收和同化, 这 2 个步骤也决定了植物从外界摄取氮素的能力, 是植物氮素利用率的关键限制因子。在土壤中, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的分布随着土壤环境的变化而变动, 其中最大的影响因素是土壤的 pH<sup>[8]</sup>。因此, 植物在长期的演化过程中, 对土壤 pH 的适应性决定了其在特定条件下偏好吸收的氮素类型。一般而言, 适应偏酸性、还原性土壤的植物偏好吸收 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 而适应偏碱性土壤的植物偏好吸收 NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sup>[9]</sup>。因此, 在不同的土壤条件下, 施用不同类型的氮肥也有利于提高植物的利用率。

关于水稻氮素吸收的研究, Kronzucker 等<sup>[10]</sup> 利用<sup>13</sup>N 同位素示踪法研究铵态氮和硝态氮吸收规律, 结果发现水稻对硝态氮的吸收大于铵态氮。何文寿等<sup>[11]</sup> 研究发现, 从水稻移栽到开始分蘖, 铵的吸收比例为 53.5%, 分蘖期吸收比例

**基金项目** 国家重点研发计划(2016YFD0102103, 2018YFD0100806); 粮食作物种质创新与遗传改良湖北省重点实验室开放课题(2018lzij02, 2018lzij03); 湖北省农业科技创新中心资助项目(2016-620-000-001-005)。

**作者简介** 郑兴飞(1986—), 男, 山东临沂人, 助理研究员, 博士, 从事水稻分子育种研究。\* 通信作者, 副研究员, 硕士, 从事优质水稻育种研究。

**收稿日期** 2020-10-15

为71.8%,拔节期到乳熟期铵态氮与硝态氮吸收量基本一致,在蜡熟期吸收比例为57.6%。Yoneyama等<sup>[8]</sup>利用同位素示踪法对水稻全生育期(约150 d)氮素吸收与分配情况进行了系统的研究。结果表明,营养生长到籽粒充实阶段叶片生长、分蘖形成、根系伸长和小穗的分化等阶段所需的氮源中,有50%来源于成熟的器官;这些成熟的器官在衰老阶段将氮源以蛋白质、氨基酸或含氮化合物的形式,通过韧皮部筛管运输到正在生长的组织,以实现氮素的流转;另外一半的氮素来源于根系从土壤中吸收的无机氮源,通过同化作用之后,由木质部导管向上运输;在水稻的籽粒充实阶段,约80%的氮源来自于成熟器官的氮素转运。

抽穗期是水稻根系各指标的转折点,抽穗后水稻的根系生长缓慢、根系活力开始下降。生育后期,高的氮素供应有利于维持根系活力、延缓根系衰老<sup>[12]</sup>。董桂春等<sup>[13]</sup>对不同抽穗期的水稻品种进行了氮素吸收利用研究发现,生育期长的品种吸氮能力强,并且促进营养器官中氮素向穗部运转,降低茎叶中氮素分配比例,有利于生育期长的品种氮素利用效率的提高。一些研究表明,全生育期较短的品种氮素籽粒生产效率较大<sup>[14]</sup>,生育期较长的品种成熟期吸氮量较大<sup>[15-17]</sup>。可见,品种生育期的长短与水稻氮素吸收利用有密切的关系,生育期不同的品种氮素吸收规律具有明显的差异。叶利庭等<sup>[18]</sup>通过<sup>15</sup>N同位素标记,发现不同基因型水稻的氮积累量在齐穗期没有差异,而在成熟期氮高效利用基因型在氮积累量具有优势。晏娟等<sup>[9]</sup>研究发现,增加施氮量提高了茎叶中<sup>15</sup>N的分配比例,但降低了<sup>15</sup>N在水稻籽粒中的分配比例,而在根中的分配比例不受施氮量和品种的影响。近年来,有关氮素在水稻不同器官的分配和转运的动态变化已有不少研究,且已明确这些特征与产量的关系,认为产量的高低与生育后期营养器官中的氮素向经济器官的转运量有关。

## 2 水稻对铵态氮吸收与同化的分子机制

在土壤中,硝态氮和铵态氮的含量随着土壤环境的变化而变化,因此植物进化出针对不同氮源的2种吸收机制,这2种吸收机制保证了作物在不同环境下能够感知土壤中氮素的状态,从而响应环境的变化,调整自身的吸收能力。目前,对植物吸收分子机制方面的研究,主要集中在模式植物拟南芥上,利用突变体材料,鉴定出了一系列植物铵转运蛋白(Ammonium transporter, *AtAMT*)家族成员,他们大多在根系中表达,并且定位于质膜,负责铵离子的高亲和吸收<sup>[6]</sup>。

近年来,利用基因工程和正向遗传学方法,在水稻中共鉴定到10个*OsAMT*基因,根据同源性的不同将其分为4类,3个*OsAMT1*、3个*OsAMT2*、3个*OsAMT3*和1个*OsAMT4*<sup>[20]</sup>。Sonoda等<sup>[21]</sup>利用同源比对的方法,克隆到水稻中与*AtAMT*同源的3条序列,分别命名为*OsATM1:1*、*OsATM1:2*和*OsATM1:3*。在氮素吸收缺陷型酵母31019b表达这3个基因,发现均能增强该突变体对氮素的吸收,结合*OsATM1:1*、*OsATM1:2*、*OsATM1:3*的转录水平能够受到铵态氮高效诱导,确认这3个基因属于水稻*OsAMT*家族成员。Suenaga等<sup>[20]</sup>利用酵母突变体鉴定出*OsAMT2.1*具有 $\text{NH}_4^+$ 转运蛋白的功能,

同时研究表明,该基因在水稻的根系、茎中组成型表达,与介质无机氮无关;而*OsAMT3.1*表达相对较弱。因此推测,在与水稻 $\text{NH}_4^+$ 吸收相关基因调控中,主要以*OsAMT1*家族为主,其余的形成1个小家族。此外,众多学者在水稻中用<sup>15</sup>N标记的铵态氮浸泡培养水稻,以观察根系对铵态氮吸收和同化作用。研究表明,水稻根系通过*OsAMT*蛋白将 $\text{NH}_4^+$ 转移到胞质中,首先快速积累的是<sup>15</sup>N标记的谷氨酰胺,这个过程是在谷氨酰胺合成酶1(GS1)的催化作用下完成,称为 $\text{NH}_4^+$ 的同化<sup>[22]</sup>。谷氨酰胺被转运到质体中,通过GS-GOGAT途径(依赖铁氧还蛋白的谷氨酸合成酶Fd-GOGAT或者依赖NADH的谷氨酸合成酶NADH-GOGAT)转化成为谷氨酸<sup>[23]</sup>。此外,<sup>15</sup>N标记的天冬酰胺的含量逐渐积累,推测是由于谷氨酰胺含量的增加,在依赖谷氨酰胺的天冬酰胺合成酶1(*OsAS1*)的催化作用下合成天冬酰胺<sup>[24]</sup>。完成 $\text{NH}_4^+$ 的同化之后,氮素以谷氨酰胺或者其他氨基酸的形式由木质部向地上部分运输<sup>[8]</sup>。

## 3 水稻对硝态氮吸收与同化的分子机制

在水稻根系中存在着高亲和力和低亲和力2种不同的硝态氮吸收方式。当土壤中硝态氮含量较低时,植物启动高亲和硝态氮吸收机制;而当土壤中硝态氮含量较高时,则以低亲和硝态氮吸收机制为主,以维持植物体内硝态氮的平衡。水稻硝态氮高亲和转运是由*NTR2*基因家族编码,与拟南芥中的*AtNTR2*高度同源。硝态氮低亲和力转运子由*NTR1*基因家族编码,与拟南芥*NTR1*蛋白同源<sup>[25]</sup>。用<sup>15</sup>N标记的硝态氮培养水稻,在根系中能够陆续检测到<sup>15</sup>N标记的 $\text{NH}_4^+$ 、谷氨酰胺和谷氨酸等,研究表明,水稻根系通过*OsNTR*蛋白将 $\text{NO}_3^-$ 转移到胞质中,大部分的 $\text{NO}_3^-$ 被还原成 $\text{NH}_4^+$ ,然后经由GS-GOGAT途径同化为谷氨酸,小部分的 $\text{NO}_3^-$ 被依赖NADH的硝酸根还原酶(NADH-NR)还原成为 $\text{NO}_2^-$ ,然后运输至质体中,在依赖铁氧还蛋白亚硝酸盐还原酶(Fd-NiR)的作用下生成 $\text{NH}_3$ 。 $\text{NH}_3$ 在谷氨酰胺合成酶2(GS2)的作用下同化成为谷氨酰胺,然后由Fd-GOGAT途径生成谷氨酸,然后转运到木质部<sup>[23]</sup>。

由此也能看出,植物对硝态氮的同化过程要比铵态氮更为复杂,需要消耗更多的能量,水稻对铵态氮的利用效率也高于硝态氮,因此被认为是喜铵作物。此外,Yoneyama等<sup>[8]</sup>发现,由铵态氮同化产生的氨基酸大多运输至生长旺盛的叶片,而由硝态氮同化产生的氨基酸则运输至成熟的叶片中。同时,*AMT*和*NRT*的转录水平能受到*IDD*、*NLP*和*HYS*等转录因子的调控,*AMT*和*NRT*蛋白能够通过磷酸化修饰来调节根系对氮素的吸收能力<sup>[26]</sup>。为了严格控制根系的氮素吸收能力,铵态氮、硝态氮转运蛋白在各个层面上都受到严格的调控<sup>[27]</sup>。

## 4 反向遗传学克隆氮素吸收关键基因

尽管水稻氮素吸收与转运的基因被定位,但这些基因多是基于拟南芥相关同源基因序列克隆获得。由此鉴定的氮素相关基因尽管重要,但也相对保守,很难在水稻中直接进行育种利用。从2001年农业部948计划“参与全球水稻分

子育种计划”项目开始,张启发院士等逐步提出“绿色超级稻”的育种概念,其中重要目标就是提高水稻肥料利用效率。随着水稻转基因技术和基因编辑技术的应用,越来越多的氮素吸收相关基因在水稻中的功能得到了有效的鉴定,为水稻的氮素高效育种提供了基因资源和种质资源。2012年,Yan等<sup>[28]</sup>发现将水稻中的 *OsNAR2.1* 用 RNAi 的技术沉默之后,转基因植株中和硝态氮转运相关的基因 *OsNRT2.1*、*OsNRT2.2*、*OsNRT2.3a* 表达量均下调,在施用相同含量硝态氮的情况下,转基因水稻比对照材料生长势弱,对硝态氮的吸收能力下降。*OsNAR2.1* 干涉之后不影响转基因材料对铵态氮的吸收<sup>[28]</sup>。*OsNAR2.1* 是 *OsNRT2* 家族成员 (*OsNRT2.1*、*OsNRT2.2*、*OsNRT2.3a*) 的伴侣蛋白,*OsNAR2.1* 和 *OsNRT2* 形成的复合体是水稻中硝态氮高亲和里转运子<sup>[9]</sup>。因此,提高水稻体内 *OsNAR2.1* 的表达水平能够增强水稻对硝态氮的吸收能力,同时也可以开发相关的标记,作为水稻氮高效利用材料的筛选标记。

目前,利用反向遗传学的方法在水稻根系中鉴定到了一些氮素吸收的相关基因,但是氮素如何从根系向地上部分转移,哪些蛋白参与了氮素的转移仍然不清楚。有研究表明,*OsNRT2.3* 存在可变剪切,编码 2 种不同的蛋白产物 *OsNRT2.3a* 和 *OsNRT2.3b*<sup>[28]</sup>。Tang 等<sup>[29]</sup>发现 *OsNRT2.3a* 定位于根部木质部中柱薄壁细胞的质膜上,且在根系中大量表达;原位杂交及组织表达模式分析表明,*OsNRT2.3b* 主要在叶片的韧皮部表达。将水稻中的 *OsNRT2.3a* 用 RNAi 的技术沉默之后,转基因植株根系中的氮素含量增加,茎秆中氮素含量减少,但是整个植株的总氮含量并没有明显的变化,说明 *OsNRT2.3a* 参与了氮素从根系向地上部分的转运,但不影响植物对氮素的吸收。

虽然,利用反向遗传学的手段进行基因功能的分析存在一些局限性,其一般只研究单个或者少数基因的功能。但是不可否认,反向遗传学的手段给功能基因组学的研究带来了很大的便利,能够快速锚定其在作物中的候选基因并进行功能验证,也有利于进行分子调控网络的研究,结合现在成熟的转录组、蛋白组、代谢组、表观遗传学的研究手段,可进一步解析基因之间复杂的调控网络,为植物育种提供更多的候选基因和种质资源<sup>[30-31]</sup>。

## 5 正向遗传学挖掘氮素吸收关键基因

栽培稻主要包括籼稻和粳稻 2 个亚种。已有研究表明,相对籼稻而言,粳稻对氮肥的利用率低,对氮肥供应敏感,且产量与氮肥供应有显著的相关性,这意味着粳稻种植需要更多的肥料施用,农业成本更高<sup>[32]</sup>。籼粳稻之间对氮素利用效率差异的分子机制一直鲜见报道<sup>[33]</sup>。

2014年,中国科学院遗传与发育生物学研究所傅向东实验室构建了粳稻 QZL2 (Qianzhonglang 2) × 籼稻 NJ6 (Nanjing 6) 的重组自交系,其中 RIL-D22 这个株系表现为氮素敏感,RIL-D04 表现为氮素不敏感。以 RIL-D22 作为供体,QZL2 作为轮回亲本,构建了 BC<sub>2</sub>F<sub>5</sub> 群体,图位克隆得到 1 个控制氮素高效利用的数量性状基因 *QTL-qNGR9*,并定位在第 9 号

染色体上。进一步研究发现,该基因编码的是 1 个异源三聚体 G 蛋白的  $\gamma$  亚基,含有硝态氮高效利用等位变异 *qNGR9* 的水稻生长对增加氮素供应不敏感,表现为半矮化。相同的施氮条件下,近等基因系 NIL-*qNGR9* 的籽粒产量明显高于 NIL-*qNGR9*,这意味着要达到相同的产量,NIL-*qNGR9* 必须施用更多的氮肥,而 NIL-*qNGR9* 由于氮肥利用效率高,需要较少的氮肥<sup>[32]</sup>。该研究不仅在理论上证明了 G 蛋白能够参与植物对氮素的利用,而且为水稻高效氮素利用育种提供了优良的基因资源。

2015年,中国科学院遗传与发育生物学研究所储成才团队对 34 个籼稻和粳稻品种的氮肥利用率进行了研究,发现籼稻对硝态氮的利用率明显高于粳稻,而对铵态氮的利用率与粳稻没有明显差异。为了研究籼稻和粳稻对氮素吸收的遗传差异,首先氯酸盐模拟硝酸盐毒害,研究了 134 个水稻品种对氯酸盐的敏感性,发现籼稻比粳稻对氯酸盐处理更加敏感。进一步以对氯酸盐高度敏感籼稻品种 IR24 作为供体,对氯酸盐低敏感的粳稻品种日本晴作为受体,构建了 BC<sub>2</sub>F<sub>5</sub> 群体,共 315 个株系。对这 315 个株系进行氯酸盐敏感性试验,结果显示有 7 个株系表现为对氯酸盐的高度敏感,其中对氯酸盐最敏感的株系 NI10-1 在第 10 号染色体上插入了来自 IR24 的染色体片段,从而表现出相对受体材料 (日本晴) 而言,更高的氯酸盐敏感性和硝态氮吸收能力。将 NI10-1 和日本晴进行杂交,F<sub>2</sub> 代材料氯酸盐敏感性表现出 1:2:1 的分离情况,推测该插入片表现为半显性。进一步精确差异区段,最终将候选基因定位在了第 10 号染色 M10-21 和 M10-23 共 2 个遗传标记之间,并且这 2 个标记之间只有 1 个编码基因序列—*NRT1.1B* (*OsNPF6.5*)。日本晴和 IR24 的 *NRT1.1B* 基因编码序列存在 2 个 SNP 位点,其中的 1 个产生的是同义突变,另外 1 个导致苏氨酸 (日本晴) 突变成甲硫氨酸 (IR24),在其他籼稻、粳稻品种中也发现了该 SNP 的存在,证实了籼粳稻间的硝态氮吸收差异是由于 *NRT1.1B* 的籼粳稻中等位基因的差异造成的,转化来源于 IR24 的 *NRT1.1B* 的转基因水稻也能够提高水稻对氮素的利用效率<sup>[34]</sup>。*NRT1.1B* 基因的发现为遗传改良提升我国籼稻氮素利用效率提供了理论基础和优良的基因资源<sup>[35]</sup>。2018年,左建儒团队图位克隆了 1 个控制水稻氮素利用效率的关键基因 *ARE1*,该基因产物定位于叶绿体,在氮素限制条件下,*ARE1* 突变体可以增强氮素利用效率,其启动子区的插入突变,导致 *ARE1* 表达量降低,水稻籽粒产量增加,该基因为培育氮高效利用水稻提供了重要基因资源<sup>[36]</sup>。

综上所述,正向遗传学是一个相对耗时且工作量大的研究方法,但是正向遗传学定位出来的基因能够快速应用于育种和生产实践,且效应明显。随着高通量测序技术的发展以及测序成本的不断降低,多种简单快捷的利用测序手段定位基因的方法被开发出来。高通量测序技术结合正向遗传学将成为从表型到基因到育种实践最有效的手段。

## 6 问题与展望

氮素在植物生长发育以及产量形成中都是不可替代的

元素,过多或过少使用氮肥都会造成经济损失,提高植物对氮素的利用效率,减少氮肥的施用量,可以减少农业成本,控制环境污染,保证粮食安全。提高水稻对氮素的利用效率不仅包括氮素的吸收,还包括氮素的运输以及库源之间的分配问题,如何使更多的能量从环境流入到库中,实现水稻产量的增加,才是真正需要解决的科学问题。目前,水稻高效氮素利用机理研究虽然取得了一定的进展,但是仍然处于起步阶段,还停留在研究水稻根系如何从土壤中吸收氮素。而 these 与氮素吸收、转运、分配相关的因子又是如何感知氮素含量的变化、受到哪些因子的调控仍然未知,还需要科研工作者进一步挖掘和研究。

随着各类组学的发展,进一步结合新的技术手段,研究水稻对氮素吸收利用,从转录水平、蛋白水平、代谢水平,甚至表观水平系统地研究水稻氮素的各个层面,提高水稻对氮素的利用效率。此外,在水稻品种高产高效遗传改良的基础上,要进一步结合精确的大田管理栽培技术,最大限度地发挥品种的生物学潜能,实现环境友好、高产、高效的“绿色超级稻”目标。

#### 参考文献

- [1] HAN M, OKAMOTO M, BEATTY P H, et al. The genetics of nitrogen use efficiency in crop plants[J]. Annual review of genetics, 2015, 49(1): 269-289.
- [2] LIU X J, ZHANG Y, HAN W X, et al. Enhanced nitrogen deposition over China[J]. Nature, 2013, 494(7438): 459-462.
- [3] FUKUSHIMA A, KUSANO M. A network perspective on nitrogen metabolism from model to crop plants using integrated 'omics' approaches[J]. Journal of experimental botany, 2014, 65(19): 5619-5630.
- [4] WU L L, YUAN S, HUANG L Y, et al. Physiological mechanisms underlying the high-grain yield and high-nitrogen use efficiency of elite rice varieties under a low rate of nitrogen application in China[J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 1-12.
- [5] MASCLAUX-DAUBRESSE C, DANIEL-VEDELE F, DECHORGNAT J, et al. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: Challenges for sustainable and productive agriculture[J]. Ann Bot, 2010, 105(7): 1141-1157.
- [6] KAISER B N, RAWAT S R, SIDDIQI M Y, et al. Functional analysis of an Arabidopsis T-DNA "knockout" of the high-affinity  $\text{NH}_4^+$  transporter AtAMT1;1[J]. Plant physiology, 2002, 130(3): 1263-1275.
- [7] OKAMOTO M, VIDMAR J J, GLASS A D M. Regulation of *NRT1* and *NRT2* gene families of *Arabidopsis thaliana*: Responses to nitrate provision[J]. Plant Cell Physiol, 2003, 44(3): 304-317.
- [8] YONEYAMA T, TANNO F, TATSUMI J, et al. Whole-plant dynamic system of nitrogen use for vegetative growth and grain filling in rice plants (*Oryza sativa* L.) as revealed through the production of 350 grains from a germinated seed over 150 days: A review and synthesis[J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 1-13.
- [9] LIU X Q, HUANG D M, TAO J Y, et al. Identification and functional assay of the interaction motifs in the partner protein OsNAR2.1 of the two-component system for high-affinity nitrate transport[J]. New Phytol, 2014, 204(1): 74-80.
- [10] KRONZÜCKER H J, GLASS A D M, SIDDIQI M Y, et al. Comparative kinetic analysis of ammonium and nitrate acquisition by tropical lowland rice: Implications for rice cultivation and yield potential[J]. New phytologist, 2000, 145(3): 471-476.
- [11] 何文寿, 李生秀, 李辉桃. 水稻对铵态氮和硝态氮吸收特性的研究[J]. 中国水稻科学, 1998, 12(4): 249-252.
- [12] 孙静文, 陈温福, 曾雅琴, 等. 氮素水平对梗稻根系形态及其活力的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2003, 34(5): 344-346.
- [13] 董桂春, 王熠, 于小凤, 等. 不同生育期水稻品种氮素吸收利用的差异[J]. 中国农业科学, 2011, 44(22): 4570-4582.
- [14] 董桂春, 李进前, 张彪, 等. 高氮素籽粒生产效率类型水稻品种的一些相关性状[J]. 中国水稻科学, 2009, 23(3): 289-296.
- [15] 单玉华. 不同类型水稻品种氮素吸收利用的差异及控制[D]. 扬州: 扬州大学, 2002.
- [16] 张岳芳. 不同氮素累积量类型水稻品种的基本特点及其对供氮浓度的响应[D]. 扬州: 扬州大学, 2006.
- [17] 殷春渊, 张洪程, 张庆, 等. 水稻不同生育期类型品种精确定量施氮参数的初步研究[J]. 作物学报, 2010, 36(8): 1342-1354.
- [18] 叶利庭, 宋文静, 吕华军, 等. 不同氮效率水稻生育后期氮素积累转运特征[J]. 土壤学报, 2010, 47(2): 303-310.
- [19] 晏娟, 尹斌, 张绍林, 等. 不同施氮量对水稻氮素吸收与分配的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(5): 835-839.
- [20] SUENAGA A, MORIYA K, SONODA Y, et al. Constitutive expression of a novel-type ammonium transporter *OsAMT2* in rice plants[J]. Plant Cell Physiol, 2003, 44(2): 206-211.
- [21] SONODA Y, IKEDA A, SAIKI S, et al. Distinct expression and function of three ammonium transporter genes (*OsAMT1*;1-1;3) in rice[J]. Plant Cell Physiol, 2003, 44(7): 726-734.
- [22] FUNAYAMA K, KOJIMA S, TABUCHI-KOBAYASHI M, et al. Cytosolic glutamine synthetase1;2 is responsible for the primary assimilation of ammonium in rice roots[J]. Plant Cell Physiol, 2013, 54(6): 934-943.
- [23] SUZUKI A, VIDAL J, GADAL P. Glutamate synthase isoforms in rice: Immunological studies of enzymes in green leaf, etiolated leaf, and root tissues[J]. Plant physiology, 1982, 70(3): 827-832.
- [24] OHASHI M, ISHIYAMA K, KOJIMA S, et al. Asparagine Synthetase1, but not asparagine Synthetase2, is responsible for the biosynthesis of asparagine following the supply of ammonium to rice roots[J]. Plant Cell Physiol, 2015, 56(4): 769-778.
- [25] LIN C M, KOH S, STACEY G, et al. Cloning and functional characterization of a constitutively expressed nitrate transporter gene, *OsNRT1*, from rice[J]. Plant physiology, 2000, 122(2): 379-388.
- [26] CHEN X B, YAO Q F, GAO X H, et al. Shoot-to-root mobile transcription factor HY5 coordinates plant carbon and nitrogen acquisition[J]. Curr Biol, 2016, 26(5): 640-646.
- [27] HO C H, LIN S H, HU H C, et al. CHL1 functions as a nitrate sensor in plants[J]. Cell, 2009, 138(6): 1184-1194.
- [28] 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 and environment, 2011, 34(8): 1360-1372.
- [29] TANG Z, FAN X R, LI Q, et al. Knockdown of a rice stelar nitrate transporter alters long-distance translocation but not root influx[J]. Plant physiology, 2012, 160(4): 2052-2063.
- [30] CHANDRAN A K N, PRIATAMA R A, KUMAR V, et al. Genome-wide transcriptome analysis of expression in rice seedling roots in response to supplemental nitrogen[J]. J Plant Physiol, 2016, 200: 62-75.
- [31] DAI G J, CHENG S H, HUA Z T, et al. Mapping quantitative trait loci for nitrogen uptake and utilization efficiency in rice (*Oryza sativa* L.) at different nitrogen fertilizer levels[J]. Genetics and molecular research, 2015, 14(3): 10404-10414.
- [32] SUN H Y, QIAN Q, WU K, et al. Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice[J]. Nat Genet, 2014, 46(6): 652-656.
- [33] KOUTROUBAS S D, NTANOS D A. Genotypic differences for grain yield and nitrogen utilization in Indica and Japonica rice under Mediterranean conditions[J]. Field crops research, 2003, 83(3): 251-260.
- [34] HU B, WANG W, OU S J, et al. Variation in *NRT1.1B* contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies[J]. Nat Genet, 2015, 47(7): 834-838.
- [35] CHEN Z C, MA J F. Improving nitrogen use efficiency in rice through enhancing root nitrate uptake mediated by a nitrate transporter, *NRT1.1B*[J]. J Genet Genomics, 2015, 42(9): 463-465.
- [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]. Nat Commun, 2018, 9: 1-10.