

水稻氮高效基因型筛选及相关基因研究进展

刘 丹¹ 孙玉友¹ 柴永山² 魏才强¹ 解 忠¹ 李洪亮¹ 程杜娟¹ 徐德海¹

(¹ 黑龙江省农业科学院牡丹江分院, 牡丹江 157041; ² 黑龙江省农业科学院, 哈尔滨 150086)

摘要:氮是水稻生长发育过程中所需的最重要的营养元素之一,直接影响着水稻产量和品质。然而,近年来,为了保持和追求更高的稻谷产量,大量施用氮肥对环境造成日益严重的影响。为了有效地改变这种局面,提高水稻自身的氮肥利用效率迫在眉睫。基于此,对前人在水稻氮素利用效率方面的研究进行了综述,并着重从水稻氮高效筛选鉴定体系、水稻氮高效的形态生理特征以及氮高效基因的遗传调控机理 3 个方面进行了总结,旨在为今后更好地开展水稻氮高效育种研究提供参考。

关键词:水稻;氮肥;高效利用;应用;研究进展

近年来,我国化肥的过度施用已导致农业污染严重,提高肥料利用效率是实现“减肥控污”、加快推进生态循环农业建设的关键。然而,在我国农业生产过程中,随着土地生产力和利用率的不断下降,为了保持和追求更高的水稻产量,广大稻农不得不施用大量氮肥来实现增产目标。过多地施入氮肥,不仅增加了农业投入成本,而且产生了环境污染和稻米品质下降等问题。如何彻底改变当前这种局面,全面落实农业农村部“2020 年化肥、农药使用量零增长行动”方案,提高水稻的氮肥利用效率迫在眉睫。目前来看,尽管影响水稻氮肥利用效率的因素很多,包括水稻品种类型、种植环境、栽培技术、氮肥类型以及土壤类型等,但提高水稻品种自身的氮肥利用效率依旧是根本。为了从根源上解决该问题,育种家试图从育种源头上提高水稻本身的氮肥利用效率,并取得了阶段性成果^[1-2]。因此,本文通过对水稻氮高效筛选鉴定体系、水稻氮高效的形态生理特征以及氮高效基因的遗传调控机理 3 个方面进行

了综述,以期今后更好地开展氮高效水稻新品种选育研究提供理论参考。

1 水稻氮高效筛选鉴定体系

1.1 水稻氮效率筛选指标 目前,国内外还没有一套公认统一的水稻氮高效评价体系。国外评价水稻氮肥利用率的指标包括氮肥吸收利用率、氮肥农学利用率、氮肥生理利用率和氮肥偏生产力,它们在不同的层面上反映出水稻对氮肥的利用水平。在国内,研究者们也从不同的角度开展了相关研究,并尝试建立水稻氮高效的鉴定方法^[3-6]。柴煜^[4]通过对 285 份不同基因型水稻种质在 2 种氮素水平下进行研究,并通过逐步回归分析进行指标优化,认为苗期分蘖数、成熟期叶绿素含量、单株产量、地上部生物学产量以及成熟期穗部性状(有效穗数、每穗总粒数、每穗实粒数、穗长、结实率)可以用于氮高效材料的筛选鉴定。钟代斌等^[5]研究表明,相对株高、相对分蘖数和相对干物质重在水稻品种中存在较大的变异,其中相对分蘖数可作为氮素利用评价的重要指标。文春阳^[6]研究表明水稻的株高、有效穗数、单株产量、生物产量以及结实率可用于耐低氮和氮高效材料筛选鉴定。此外,还可根据抽穗期叶片的 SPAD 值和收获指数进行氮高效材料和耐低氮材料

基金项目:黑龙江省农业科学院牡丹江分院青年基金(mdj-2017);黑龙江省农业科学院基金(2018);国家水稻产业技术体系建设专项(CARS-01-41);黑龙江低温黑土区春玉米、粳稻全程机械化丰产增效技术集成与示范(2018YFD0300105-3-2)

参考文献

- [1] 杨江龙,唐浩,李硕碧,杜联盟,张丽,孙虎,张锦荣. DUS 测试将促进我国种业规范创新发展. 中国种业,2018(4): 21-23
- [2] 谢特立,张卫清,朱鸿,藏春荣. 福建省种业科研成果评估与交易问

题的探讨. 福建农业科技,2018(2): 43-49

- [3] 崔野韩. 创新发展下的农业植物新品种保护. 2018 年中国种子大会论文集. 北京:中国种子协会,2018

(收稿日期:2018-08-03)

的筛选评价^[7-8]。可见,在进行水稻资源氮高效筛选鉴定时,应综合利用多个相关性状指标。

1.2 水稻氮效率筛选时期 水稻在不同生育期吸收和利用氮素的效率存在明显差异,选择合适的筛选时期至关重要。江立庚等^[9]研究发现,水稻氮利用效率高低顺序为成熟期>抽穗期>分蘖期,而变异系数为抽穗期>成熟期>分蘖期,暗示抽穗期间氮利用效率变异范围更大,有利于优良品种的选择。程建峰等^[3]研究表明,水稻拔节期之前的植株生长吸氮量占全生育期80%以上,故拔节期是进行氮高效基因型筛选和鉴定的最佳时期。事实上,前人在水稻苗期和全生育期都进行了相关研究,并筛选鉴定出一些氮高效的水稻材料。

在水稻苗期筛选上,童汉华等^[10]依据水稻相对苗高、相对单株分蘖数和相对地上部生物学产量3个性状指标,在101份不同基因型水稻种质资源中筛选出16份氮高效材料和24份氮敏感型材料。阮新民等^[11]研究认为,苗期单株干物质重是其氮素效率筛选的重要指标,并初步鉴定出一个苗期氮高效品种K优52。张耀鸿^[12]认为苗期氮素吸收特征分析是氮高效材料鉴定的关键,其试验表明Elio的氮素吸收效率显著高于4007和南光,且南光对低氮条件最为敏感。尹西翔^[13]认为水稻的相对干物质重和相对SPAD值变化范围较大,是苗期水稻氮营养效率筛选考察指标,并从中筛选出4#、33#、65#3个氮高效品种和41#、160#、169#3个氮低效品种。

在水稻全生育期的筛选上,魏海燕^[14]以最高籽粒产量和氮素利用效率为指标,对各基因型水稻的产量和氮素利用效率进行综合的评价和分类,并筛选出6个氮高效基因型材料(9优418、武育梗3号、扬粳9538、86优8号、武粳15、泗优422)和6个氮低效基因型材料(农垦57、武农早、郑稻5号、镇稻196、香粳20-18、T1-56)。余友玲等^[15]认为整个生育期过程中氮高效品种的干物质积累量显著大于氮低效品种,并根据产量和产量增幅大小初步筛选出Ⅱ优602、两优6326、Y两优2号等6个品种为氮高效品种,新两优6号、Y两优1号、春光1号等8个品种为氮低效品种。黄永兰等^[16]对氮吸收与利用等相关性状进行分析,并认为青马早和陆财早为典型氮高效型;广陆矮4号为典型耐低氮型;早89-01和早粳152适于高氮条件种植。

2 水稻氮高效材料的形态生理特征

氮高效水稻品种往往具有根系活力强、叶片代谢活力旺盛、充实度好、养分积累量大等一系列特征。根系是作物吸收营养元素的主要途径,氮利用效率高的水稻品种在整个生育期里都保持着较强的根系活力,其根系数量、根系体积以及冠根比等都较氮低效水稻品种表现出不同程度的优势^[17-18]。研究发现,拔节期具有较高的根密度、根系总吸收面积、根重、根系表面积以及根系伤流量有利于提高水稻吸氮能力^[19-20]。樊剑波等^[19]研究表明,水稻根系形态特征和根系活力的差异是引起氮高效和氮低效差异的重要原因之一。氮高效品种南光根系对氮肥的响应高于氮低效品种Elio,其总根长和根系表面积在高氮下比低氮分别增加127%和114%。此外,在分蘖期和拔节期,水稻根系分泌有机酸和氨基酸总量与氮素利用效率均呈显著(极显著)负相关关系,其分泌组分中的草酸和天冬氨酸的分泌量也与氮素利用效率呈显著(极显著)负相关关系^[21]。

叶片是进行光合作用的主要场所,水稻叶片的含氮量与其光合作用紧密相关,是影响氮素利用的重要因子。通常,叶片氮素含量高,可以延缓叶片衰老,叶片持绿时间长,从而有效延长了叶片的光合时间。Wu等^[22]认为光合速率与叶片含氮量的比例是评价氮素参与光合利用的指标。魏海燕等^[23]通过分析不同氮效率水稻品种叶片衰老特性,发现氮高效品种在分蘖盛期至穗原基分化、抽穗期至灌浆结实期这2个阶段的氮素吸收速率和积累量都高于氮敏感材料。此外,Ray等^[24]认为水稻氮高效可能与相对低的Rubisco含量有关。江立庚等^[25]研究认为培育氮高效利用基因型应注意提高单位氮素的CO₂同化速率。安久海等^[26]研究表明氮高效水稻品种在低氮水平下净光合速率的下降可能与RuBP羧化酶活性下降有关。

库容量也是导致不同水稻品种的产量和氮素利用效率差异的重要原因之一。张亚丽^[27]研究表明,不同氮效率水稻品种的库容量差异较大,其中氮高效品种的库容量高于氮低效品种25%左右。同时,氮高效和氮低效水稻品种在分蘖动态上也差异明显。在不同氮素水平下,氮低效品种在移栽后15d左右达到分蘖最高峰,其最高分蘖数甚至超过氮高效品种,但其最终成穗率却较低,最终库容量显

著低于氮高效品种。

3 水稻氮高效基因的遗传机理研究

随着分子标记技术的快速发展,前人已对水稻氮素利用效率的遗传机理开展了相关研究,检测到的 QTL 位点分布于水稻 12 条染色体上^[28-30]。至今,我国科学家也已经成功分离克隆出一些参与氮素吸收调控的基因,如 *qNGR9*、*OsNRT3*、*OsPTR6*、*OsNAR2*、*NRTB* 以及 *ARE1* 等。*qNGR9* 是一个控制氮肥利用效率的主效 QTL 位点,该位点与 *DEP1* 位于同一个基因位点上。*DEP1/DN1/qPE9 A* *qNGR9* 编码 γ 亚基, $G\gamma$ 蛋白 *DEP1* 与 $G\alpha$ 亚基和 $G\beta$ 亚基发生了互作,导致 RGA1 活性降低,RGB1 活性增高,从而抑制了氮反应。该位点上的显性等位基因能引起稻穗变短、直立以及氮不敏感型营养生长,是功能获得性突变^[31]。*OsNRT3* 是一个水稻硝酸盐转运蛋白,在转录过程中通过选择性剪接产生 *OsNRT2* 和 *OsNRT3* 两种转录本,其中 *OsNRT3* 主要在韧皮部表达,能增强水稻对 pH 的缓冲能力,提高氮、铁、磷的吸收和对氮的有效利用率,对植株适应不同形式的氮源十分重要。田间试验表明,过表达 *OsNRT3* 可以提高水稻日本晴产量 20%~54%,提高氮素利用率 40% 左右^[32]。*OsPTR6* 是一个小肽转运蛋白,过表达 *OsPTR6* 会明显促进不同氮素供应条件下植株的生长,但是会减少高氮环境下的氮利用效率^[33]。*OsNAR2* 可能在 NO_3^- 吸收和 NO_3^- 信号中发挥功能,并调控生长素从茎部向根部的转运,影响侧根形成^[34]。同时, *OsNAR2* 能与 *OsNRT2* 和 *OsNRT3* 进行互作,促进水稻根系吸收硝酸盐^[35-36]。有研究表明,在 *OsNAR2* 转基因水稻株中, *OsNAR2* 的表达提高了氮肥吸收率和水稻产量^[37]。*NRTB* 基因单碱基突变是导致籼稻与粳稻亚种间氮肥利用效率差异的重要原因。籼稻型 *NRTB* 基因能够提高氮的吸收效率和根系间氮素的转移,上调氮素吸收相关基因的表达水平^[38]。*ARE1* 是一个氮利用效率的重要调控基因,其表达量的降低与产量直接相关。*are1* 变异能延缓水稻植株衰老和耐受氮饥饿,在低氮水平下,具有较高的氮肥利用效率,能提高水稻 10%~20% 的产量^[39]。

4 总结与展望

氮是影响水稻生长发育和产量形成的最重要

营养元素之一。提高我国水稻氮肥利用效率,对于减少肥料资源浪费,避免环境污染具有重要意义。目前,有关水稻氮肥利用效率的研究主要包括 3 个方面。

(1) 水稻氮高效品种的筛选。在这个过程中建立合理的水稻氮高效评价体系至关重要;在品种筛选鉴定时必须兼顾筛选方法、筛选指标和筛选时期 3 个方面,这样才能保证材料筛选的准确性。

(2) 水稻氮高效品种的形态生理特征分析,建立氮高效水稻理想主效模式。与氮低效品种相比,氮高效水稻品种通常会具备根系活力强、叶片代谢活力旺盛、充实度好以及结实期养分积累量大等特征,深入分析氮高效基因型品种的形态生理特征,将有助于明确氮素在植物体内的高效吸收、运转和再分配生理机制。

(3) 氮高效基因的遗传分析和定位。近年来,通过开展氮高效材料的基因定位,已经克隆了一些水稻氮素利用效率基因,并阐明了它们的分子作用机制,但对于水稻氮高效的形成机制、遗传调控网络以及关键调控过程目前还没有明确的答案,有待于今后更深入的研究。

总体来看,随着水稻氮肥利用相关研究的不断深入,必将促进今后水稻氮高效品种的培育和氮肥利用效率相关性状的遗传改良,加快我国水稻产业绿色、高效、可持续发展的步伐。

参考文献

- [1] Vlek P L G, Byrnes B H. The efficacy and loss of fertilizer N in lowland rice. *Fertilizer Research*, 2000, 9: 131-147
- [2] Zhu G L, Peng S B, Huang J L, Cui K H, Nie L X, Wang F. Genetic improvements in rice yield and concomitant increases in Radiation- and Nitrogen use efficiency in middle reaches of Yangtze River. *Scientific Reports*, 2016, 6: 21049
- [3] 程建峰, 蒋海燕, 刘宜柏, 戴廷波, 曹卫星. 氮高效水稻基因型鉴定与筛选方法的研究. *中国水稻科学*, 2010, 24 (2): 175-182
- [4] 柴煜. 水稻氮高效种质的筛选及氮效率评价体系的建立. 上海: 上海海洋大学, 2013
- [5] 钟代斌, 陆雅海, 郭龙彪, 罗利军, 王一平, 梅捍卫, 余新桥, 应存山. 氮高效水稻种质资源筛选的初步研究. *植物遗传资源科学*, 2001, 2 (4): 16-20
- [6] 文春阳. 耐低氮水稻筛选及筛选指标研究. 重庆: 重庆大学, 2009
- [7] 徐福荣, 汤翠凤, 余藤琼, 严红梅, 周海, 李俊, 蒋会兵, 叶昌荣, 戴陆园. 利用叶绿素仪 SPAD 值筛选耐低氮水稻种质. *分子植物育种*, 2005, 3 (5): 695-700

- [8] 朴钟泽, 韩龙植, 高熙宗, 陆家安, 张建明. 水稻氮素利用效率的选择效果. 作物学报, 2004, 30 (7): 651-656
- [9] 江立庚, 戴廷波, 韦善清, 甘秀芹, 徐建云, 曹卫星. 南方水稻氮素吸收与利用效率的基因型差异及评价. 植物生态学报, 2003, 27 (4): 466-471
- [10] 童汉华, 余新桥, 梅捍卫, 曹一平, 章善庆, 罗利军. 水稻苗期氮素营养高效基因型的筛选. 浙江农业科学, 2007, 1 (5): 537-541
- [11] 阮新民, 施伏芝, 罗起祥, 余德红. 水稻苗期氮高效品种评价与筛选的初步研究. 中国稻米, 2010, 16 (2): 22-25
- [12] 张耀鸿. 不同水稻基因型氮效率差异的生理机制研究. 南京: 南京农业大学, 2006
- [13] 尹西翔. 水稻氮高效品种的筛选及其机理的初步探讨. 武汉: 华中农业大学, 2005
- [14] 魏海燕. 水稻氮素利用的基因型差异与生理机理研究. 扬州: 扬州大学, 2008
- [15] 余友玲, 吴文革, 陈刚, 周永进, 许有尊, 习敏, 杨成林. 水稻氮高效品种的初步筛选. 中国稻米, 2015, 21 (4): 99-102
- [16] 黄永兰, 黎毛毛, 芦明, 万建林, 龙起樟, 王会民, 唐秀英, 范志洁. 氮高效水稻种质资源筛选及相关特性分析. 植物遗传资源学报, 2015, 16 (1): 87-93
- [17] 张岳芳, 王余龙, 张传胜, 董桂春, 杨连新, 黄建晔, 龙银成. 籼稻品种的氮素累积量与根系性状的关系. 作物学报, 2006, 32 (8): 1121-1129
- [18] 于小凤, 李进前, 田昊, 彭斌, 张燕, 王熠, 袁秋梅, 黄建晔, 王余龙, 董桂春. 影响梗稻品种吸氮能力的根系性状. 中国农业科学, 2011, 44 (21): 4358-4366
- [19] 樊剑波, 沈其荣, 谭炯壮, 叶利庭, 宋文静, 张亚丽. 不同氮效率水稻品种根系生理生态指标的差异. 生态学报, 2009, 29 (6): 3052-3058
- [20] 戢林, 李廷轩, 张锡洲, 余海英. 氮高效利用基因型水稻根系形态和活力特征. 中国农业科学, 2012, 45 (23): 4770-4781
- [21] 戢林, 李廷轩, 张锡洲, 余海英. 水稻氮高效基因型根系分泌物中有机酸和氨基酸的变化特征. 植物营养与肥料学报, 2012, 18 (5): 1046-1055
- [22] Wu P, Tao Q N. Genotypic response and selection pressure on nitrogen-use efficiency in rice under different nitrogen regimes. Journal of Plant Nutrition, 1995, 18 (3): 487-500
- [23] 魏海燕, 张洪程, 马群, 戴其根, 霍中洋, 许轲, 张庆, 黄丽芬. 不同氮肥吸收利用效率水稻基因型叶片衰老特性. 作物学报, 2010, 36 (4): 645-654
- [24] Ray D, Sheshshayee M S, Mukhopadhyay K, Bindumadhava H, Prasad T G, Udaya kumar M. High nitrogen use efficiency in rice genotypes is associated with higher net photosynthetic rate at lower Rubisco content. Biologia Plantarum, 2003, 46 (2): 251-256
- [25] 江立庚, 曹卫星. 水稻高效利用氮素的生理机制及有效途径. 中国水稻科学, 2002, 16 (3): 261-264
- [26] 安久海, 刘晓龙, 徐晨, 崔菁菁, 徐克章, 凌凤楼, 张治安, 武志海. 氮高效水稻品种的光合生理特性. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2014, 42 (12): 29-45
- [27] 张亚丽. 水稻氮效率基因型差异评价与氮高效机理研究. 南京: 南京农业大学, 2006
- [28] 刘童. 利用染色体片段代换系定位水稻苗期氮素利用相关 QTL. 扬州: 扬州大学, 2017
- [29] 王杰. 用一个籼梗交重组自交系群体定位水稻氮高效利用的 QTLs. 南京: 南京农业大学, 2007
- [30] 李培德. 水稻氮高效有关性状 QTLs 定位及不同基因型氮素利用效率差异分析. 合肥: 安徽农业大学, 2006
- [31] Sun H, Qian Q, Wu K, Luo J, Wang S, Zhang C, Ma Y, Liu Q, Huang X, Yuan Q, Han R, Zhao M, Dong G, Guo L, Zhu X, Gou Z, Wang W, Wu Y, Lin H, Fu X. Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice. Nature Genetics, 2014, 46 (6): 652-656
- [32] Fan X R, Tang Z, Tan Y W, Zhang Y, Luo B B, Yang M, Lian X M, Shen Q R, Miller A J, Xu G H. Overexpression of a pH-sensitive nitrate transporter in rice increases crop yields. PNAS, 2016, 113 (26): 7118-7123
- [33] Fan X R, Xie D, Chen J G, Lu H Y, Xu Y L, Ma C, Xu G H. Overexpression of *OsPTR6* in rice increased plant growth at different nitrogen supplies but decreased nitrogen use efficiency at high ammonium supply. Plant Science, 2014, 227: 1-11
- [34] Huang S J, Chen S, Liang Z H, Zhang C M, Yan M, Chen J G, Xu G H, Fan X R, Zhang Y L. Knockdown of the partner protein *OsNAR2. 1* for high-affinity nitrate transport represses lateral root formation in a nitrate-dependent manner. Scientific Reports, 2015, 5: 18192
- [35] Feng H M, Yan M, Fan X R, Li B Z, Shen Q R, Miller A J, Xu G H. Spatial expression and regulation of rice high-affinity nitrate transporters by nitrogen and carbon status. Journal of Experimental Botany, 2011, 62 (7): 2319-2332
- [36] Yan M, Fan X R, Feng H M, Miller A J, Shen Q, Xu G H. Rice *OsNAR2. 1* interacts with *OsNRT2. 1*, *OsNRT2. 2* and *OsNRT2. 3a* nitrate transporters to provide uptake over high and low concentration ranges. Plant Cell & Environment, 2011, 34 (8): 1360-1372
- [37] Chen J G, Fan X R, Qian K Y, Fan X R. *pOsNAR2. 1*: *OsNAR2. 1* expression enhances nitrogen uptake efficiency and grain yield in transgenic rice plants. Plant Biotechnology Journal, 2017, 15: 1273-1283
- [38] Hu B, Wang W, Ou S J, Tang J Y, Li H, Che R H, Zhang Z H, Chai X Y, Wang H R, Wang Y Q, Liang C Z, Liu L C, Piao Z Z, Deng Q Y, Deng K, Xu C, Liang Y, Zhang L H, Li L G, Chu C C. Variation in *NRT1. 1B* contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies. Nature Genetics, 2015, 47 (7): 834-838
- [39] Wang Q, Nian J Q, Xie X Z, Yu H, Zhang J, Bai J T, Dong G J, Hu J, Bai B, Chen L C, Xie Q J, Feng J, Yang X L, Peng J L, Chen F, Qian Q, Li J Y, Zuo J R. Genetic variations in *ARE1* mediate grain yield by modulating nitrogen utilization in rice. Nature Communications, 2018, 9 (1): 735. doi: 10.1038/s41467-017-02781-w

(收稿日期: 2018-08-02)