

不同品种水稻苗期硝态氮吸收与利用效率差异的筛选及研究

肖娟, 严欢欢, 杨永清, 梁永书, 南文斌, 张汉马, 秦小健*

重庆师范大学生命科学学院, 植物环境适应分子生物学重庆市重点实验室, 重庆401331

摘要: 在人工气候箱培养条件下, 对来自不同地域的60个水稻品种在高氮和低氮水平条件下培养, 通过对其生物量以及氮含量进行测定将其分成4种类型, 即高氮高生物量型、高氮低生物量型、低氮高生物量型、低氮低生物量型。经大规模的初步筛选, 我们筛选出8种在生物量、氮素含量等方面差异比较明显的水稻品种。对8份水稻材料进一步分析发现, 不同籼稻与粳稻水稻品种在氮的吸收与利用方面存在显著差异, 尤其在氮的吸收效率方面籼稻品种明显高于粳稻品种, 如‘南恢511’明显高于‘14CQ05’。通过设置不同的氮素水平, 结合不同品种的生物量变化以及氮吸收利用的差异鉴定出了苗期氮利用高效的品种, 如‘南恢511’在高氮下生物量、氮吸收和利用等方面都最高, 但是在低浓度下不明显, 可认为是高氮高效型品种; 而‘14CQ011’在两种氮浓度下, 从生物量、氮含量以及吸收利用方面都表现最差, 可初步认为是氮低效品种。另外, 通过相关指标关联分析发现无论在高氮和低氮条件下植株干重与氮素吸收效率都呈极显著正相关性, 而地上部氮含量和地下部氮含量与氮素利用效率呈极显著负相关性, 这为今后的氮高效育种提供一定的理论支撑。

关键词: 水稻; 苗期差异筛选; 氮素的吸收与利用; 氮高效品种

水稻作为人类最重要的粮食作物之一, 约占全球粮食作物种植面积的三分之一, 水稻的稳产与高产直接关系到全球社会的稳定和发展(宋健等2002; 徐匡迪和沈国舫2002)。水稻作为我国第一大粮食作物, 全国约三分之二的人口以水稻作为口粮(凌启鸿等2005), 随着工业化和城镇化的发展, 耕地面积逐渐减少, 人口压力越来越大, 依靠增加耕地面积来提高水稻产量的途径并不现实, 只有通过提高水稻的单株产量来实现水稻的稳产和增产(吕新业和冀县卿2013; 吴志华和胡学军2003)。中国是水稻的生产大国, 同时也是消费大国, 随着人口的增长对粮食产量尤其是水稻的需求量越来越大, 所以开展水稻高产育种以及选育氮高效的品种对于保证国家粮食安全和经济发展意义重大。

氮素是植物生长发育所必须的元素, 水稻对氮素的需求量远远高于任何其它矿质营养元素, 氮素是影响水稻生长及最终产量形成的首要因素(Frink等1999)。过去几十年来水稻产量的提高在很大程度上依赖于氮肥大量投入。但氮肥的长期过量施用, 造成了水体的富营养化、环境污染和温室效应等一系列问题(王超等2014; 吕忠贵和杨圆1997; 李生秀1999)。目前, 随着氮肥价格的走低加上农民为追求高产而过度施用氮肥, 世界上大部分地区的氮肥施用量已经过量, 这一现象在国内尤为明显。根据世界粮农组织统计, 全球氮肥使用量从1961年到1999年短短的30多年间提高了6.4倍, 而我国的氮肥施用量却增加了43倍左右

(FAO 2007)。我国水稻种植面积约占全球的五分之一, 但是氮肥利用量却占了全球用量的五分之一, 稻谷产量仅占世界的35%左右, 已经成为名副其实的氮肥消费大国(谢建昌1998; Buresh和Witt 2002)。

目前, 有关水稻氮利用高效方面的研究已有一些进展, 在不同的氮素水平条件下, 包括生物量、农艺相关性状、产量和氮素利用效率等方面的一些相关的数量性状基因座(quantitative trait locus, QTL)位点已有报道(Tong和Liang 2005; Lian等2005)。大量的遗传研究表明, 氮素利用相关性状的遗传是相对复杂的遗传调控机制, 影响的因素比较多, 大部分QTL都比较微效, 很难被检测到。在分子水平上阐明水稻氮素利用的分子机制对于改良氮低效的品种至关重要。已经克隆的水稻NRT1是PTR基因家族的一员, 是参与硝酸盐转运的一个转运子, 为拟南芥CHL1的同源基因(Hu等2015; Lin等2000)。中国科学院遗传研究所储成才研究团队发现水稻NRT1.1B基因在籼稻与粳稻之间由于一个SNP的存在导致籼粳之间氮利用效率存在差异, 揭示了NRT1.1B在水稻亚种间氮素利用差异的分子机制(Duan和Zhang 2015; Hu等2015)。南京农业大学徐国华研究团队发现水稻硝酸盐转运蛋白的基

收稿 2016-07-31 修定 2016-10-09

资助 “973”计划前期研究专项(2014CB160306)和重庆市教委科学技术研究项目(KJ1600310)。

* 通讯作者(E-mail: xiaojianqin_ab@163.com)。

因OsNRT2.3可以产生2种结构上略有不同的蛋白OsNRT2.3a和OsNRT2.3b, 其表达比例在不同水稻品种中存在明显差异, 过量表达OsNRT2.3b可以提高氮素利用率40%, 提高产量20%~54% (Fan等2016)。再有, 研究表明质膜H⁺-ATPase的活性与硝态氮吸收有一定的关系, H⁺-ATPase的活性降低能够影响硝态氮的吸收(周小华等2016)。此外, 中国科学院遗传研究所傅向东研究团队还克隆了水稻氮素利用效率相关的主效位点*qNGR9 (DEP1)*, 研究发现DEP1能够与G蛋白 α 和 β 亚基相互作用, 通过降低他们的活性来调控氮信号途径最终影响水稻的产量(Sun等2014)。水稻的种质资源丰富, 并且在氮素利用效率上存在很大的差异, 因此, 从丰富的水稻种质资源中发掘和筛选氮高效的品种、探索他们的氮素利用分子机制对于我国的氮高效育种创新以及推进我国农业科持续发展具有十分重要的意义

材料与amp;方法

1 供试材料

试验于2015~2016年在重庆师范大学根系发育与氮高效利用实验室进行, 本研究所选用的试验材料为60个不同来源的水稻(*Oryza sativa* L.)品种, 最后各以2个批次中高于或低于平均值的30%筛选得到的不同N吸收利用效率8个品种做进一步分析比较。

2 幼苗培养及筛选方法

2.1 批量筛选

采用水培方法, 改良后的霍格兰营养液不含氮素, KNO₃作为唯一氮源, 设置3个不同的氮浓度(高氮: 3 mmol·L⁻¹ KNO₃; 中氮: 0.3 mmol·L⁻¹ KNO₃; 低氮: 0.03 mmol·L⁻¹ KNO₃), 用KCl作为对照平衡不同N水平下的K离子带来的影响。由于筛选群体较大, 试验采取分批次进行。

2.2 小区实验

由初次筛选出来不同氮利用效率的8份材料在人工植物培养箱进行进一步的比较分析。通过初选结果分析表明大部分品种在中氮和低氮水平下的氮含量变化幅度相差在10%左右, 因此在实验时设置2种氮水平浓度(高氮和低氮)做进一步分析。水稻种子经20%的NaClO₃浸泡消毒10 min, 37°C恒温培养箱黑暗培养催芽, 发芽后选取生长一致的

种子转移至培养瓶内的纱网上, 每个处理3个重复。植物培养箱条件: 白天, 温度28°C, 相对湿度(RH) 70%, 光照强度260 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; 黑暗, 温度23°C, 相对湿度(RH) 50%。昼夜循环: 光照14 h/黑暗10 h。培养瓶用锡箔纸包住挡光控制蓝藻生长, 每隔1 d换1次培养液。

3 苗期相关指标分析测定

水培条件下不同氮处理水平品种的相关指标分析, 苗龄30 d时取样。将根部和地上部分分开, 地上部分测定株高、干重等。地下部分测定干重、根长(以最长根计)、不定根数目等。

氮含量测定, 干样粉碎后经H₂SO₄-CuSO₄硝化, 海能公司全自动凯氏定氮仪分别测定地上部分和地下部分氮积累量。氮素吸收和利用效率的相关指标按以下公式计算: 氮利用效率(g·g⁻¹)=植株干物重/介质中供氮量; 植株总氮累积量(mg)=植株干物重×含氮量(%); 氮素吸收效率(%)=植株体内氮素吸收总量/介质中供氮量×100; 氮素利用率(g·g⁻¹)=植株干物重/植株体内氮素吸收总量。

4 数据处理

所有数据采用Excel 2007和GraphPad Prism 5进行统计分析和作图, 采用SPSS 22进行相关性分析。

实验结果

1 不同氮水平下水稻幼苗的筛选和生长情况

本研究所选用60个不同来源的水稻品种作为筛选对象(表1), 在3个氮水平下, 分2个批次进行, 前35种和后25种各为一个批次。以氮含量和生物量平均值为标准, 将60个品种分为4种类型(表2), 2个批次中各以高于或低于平均值的30%筛选得到的不同氮吸收利用效率8个品种做进一步分析比较。

氮素是植物生长的必须元素, 对水稻的生长发育至关重要。水培条件下我们比较了8份不同氮效率水稻材料在高氮和低氮下的生物量、株高、地上和地下部分干重、根长、不定根数目等指标。实验结果表明, 高氮水平下8份材料的生物量相对低氮水平下显著提高, 除‘14CQ011’外, 其余7份水稻材料均达到极显著水平(图1-A)。另外, 籼稻材料的生物量普遍比粳稻的提高幅度要大, 说明籼稻品种比粳稻品种对氮更敏感。在地上和地下干重方面, 除‘14CQ011’外, 高氮条件下水稻地

表1 供试水稻品种的含氮量

Table 1 Nitrogen contents of rice varieties in this study

编号	品种名称	类型	植株含氮量/%			编号	品种名称	类型	植株含氮量/%		
			高氮	中氮	低氮				高氮	中氮	低氮
L1	‘6326R’	<i>Indica</i>	2.194	1.591	1.459	L31	‘9311’	<i>Indica</i>	3.417	1.507	1.454
L2	‘14CQ06’	<i>Japonica</i>	2.286	1.156	0.919	L32	‘日本晴’	<i>Japonica</i>	3.444	1.959	1.658
L3	‘5号’	<i>Indica</i>	2.316	1.108	0.964	L33	‘连粳9号’	<i>Japonica</i>	3.496	1.638	1.403
L4	‘空育131’	<i>Indica</i>	2.369	1.028	1.125	L34	‘明恢77’	<i>Indica</i>	3.516	2.110	1.311
L5	‘武运粳24’	<i>Japonica</i>	2.392	1.469	1.032	L35	‘协B’	<i>Indica</i>	3.681	2.007	1.472
L6	‘徐稻3号’	<i>Japonica</i>	2.625	1.501	0.948	L36	‘6312’	<i>Indica</i>	2.491	2.356	1.949
L7	‘中花11号’	<i>Japonica</i>	2.644	1.337	1.149	L37	‘南恢511’	<i>Indica</i>	2.863	1.476	1.391
L8	‘明恢23’	<i>Indica</i>	2.653	1.292	1.213	L38	‘R28’	<i>Indica</i>	3.157	2.066	1.598
L9	‘淮稻11号’	<i>Japonica</i>	2.663	1.156	1.077	L39	‘7008R’	<i>Indica</i>	3.259	1.904	1.552
L10	‘南粳45’	<i>Japonica</i>	2.682	1.160	1.251	L40	‘武运粳23’	<i>Japonica</i>	3.265	2.681	1.978
L11	‘JT20’	<i>Japonica</i>	2.715	1.561	1.086	L41	‘14CQ01’	<i>Indica</i>	3.292	1.906	1.497
L12	‘淮稻5号’	<i>Japonica</i>	2.823	1.563	1.013	L42	‘镇恢084’	<i>Indica</i>	3.314	2.086	1.616
L13	‘连粳7号’	<i>Japonica</i>	2.947	1.177	1.115	L43	‘大粒’	<i>Japonica</i>	3.317	2.218	1.775
L14	‘14CQ02’	<i>Indica</i>	2.974	1.274	0.974	L44	‘5155’	<i>Japonica</i>	3.327	2.546	1.902
L15	‘泗稻11号’	<i>Japonica</i>	2.976	1.971	1.596	L45	‘辐恢838’	<i>Indica</i>	3.363	1.858	1.461
L16	‘热粳35’	<i>Japonica</i>	3.060	2.010	1.261	L46	‘连粳6号’	<i>Japonica</i>	3.408	2.146	1.551
L17	‘华占’	<i>Indica</i>	3.081	1.432	1.052	L47	‘蜀恢316’	<i>Indica</i>	3.410	1.801	1.447
L18	‘14CQ011’	<i>Japonica</i>	3.082	1.750	1.154	L48	‘6853黑米’	<i>Indica</i>	3.448	2.767	1.859
L19	‘盐稻11号’	<i>Japonica</i>	3.170	1.552	1.552	L49	‘中稻1号’	<i>Japonica</i>	3.467	2.042	1.568
L20	‘绵恢725’	<i>Indica</i>	3.197	1.456	1.457	L50	‘珍汕97B’	<i>Indica</i>	3.474	2.345	2.016
L21	‘3301R’	<i>Indica</i>	3.277	1.583	1.365	L51	‘明恢86’	<i>Indica</i>	3.529	2.119	1.570
L22	‘镇稻88’	<i>Japonica</i>	3.281	1.238	1.029	L52	‘思恢80’	<i>Indica</i>	3.539	2.372	1.807
L23	‘14CQ05’	<i>Japonica</i>	3.286	1.380	1.178	L53	‘宣恢1577’	<i>Indica</i>	3.551	1.968	1.359
L24	‘宁粳4号’	<i>Japonica</i>	3.317	2.147	2.148	L54	‘泰丰B’	<i>Indica</i>	3.555	1.968	1.550
L25	‘连粳11号’	<i>Japonica</i>	3.324	1.427	1.428	L55	‘蜀恢885R’	<i>Indica</i>	3.558	2.426	1.763
L26	‘E优540’	<i>Indica</i>	3.348	1.535	1.239	L56	‘R2122’	<i>Indica</i>	3.577	2.326	2.327
L27	‘中恢9308’	<i>Indica</i>	3.348	1.536	1.099	L57	‘盐恢559’	<i>Indica</i>	3.596	2.016	1.539
L28	‘泗稻12号’	<i>Japonica</i>	3.390	1.501	1.185	L58	‘双粒’	<i>Indica</i>	3.649	2.002	2.001
L29	‘299R’	<i>Indica</i>	3.401	1.579	1.312	L59	‘03B’	<i>Indica</i>	3.712	1.799	1.342
L30	‘CDR22’	<i>Indica</i>	3.402	1.737	1.137	L60	‘R507’	<i>Indica</i>	4.304	2.232	1.635

表2 大规模初筛后水稻的4种氮效率类型

Table 2 Four rice types of nitrogen use efficiency according to large-scale screening

类型代码	类型名称	品种数	品种名称
H-H	高氮高效型	15	‘R507’、‘03B’、‘南恢511’、‘泰丰B’、‘7008R’、‘中稻1号’、‘盐恢559’、‘JT20’、‘协B’、‘299R’、‘明恢77’、‘14CQ05’、‘泗稻12号’、‘CDR22’、‘14CQ02’
H-L	高氮低效型	15	‘珍汕97B’、‘5155’、‘6853黑米’、‘6312’、‘双粒’、‘6326R’、‘日本晴’、‘空育131’、‘南粳45’、‘宁粳4号’、‘武运粳24’、‘盐稻11号’、‘3301R’、‘5号’、‘热粳35’、‘宣恢1577’
L-H	低氮高效型	20	‘连粳6号’、‘镇恢084’、‘中恢9308’、‘辐恢838’、‘蜀恢316’、‘R2122’、‘14CQ01’、‘明恢86’、‘淮稻11号’、‘14CQ06’、‘连粳9号’、‘绵恢725’、‘连粳7号’、‘E优540’、‘连粳11号’、‘徐稻3号’、‘明恢23’、‘华占’、‘镇稻88’
L-L	低氮低效型	10	‘武运粳23’、‘大粒’、‘思恢80’、‘蜀恢885R’、‘R28’、‘泗稻11号’、‘14CQ011’、‘中花11’、‘9311’、‘淮稻5号’

上和地下的干重都显著提高(图1-B和E)。同样,在株高和不定根数目方面也是类似的结果(图1-C和

F)。值得注意的是,图1-D所示,‘中恢9308’在低氮条件下根长显著增加,而‘明恢23’则在高氮条件下

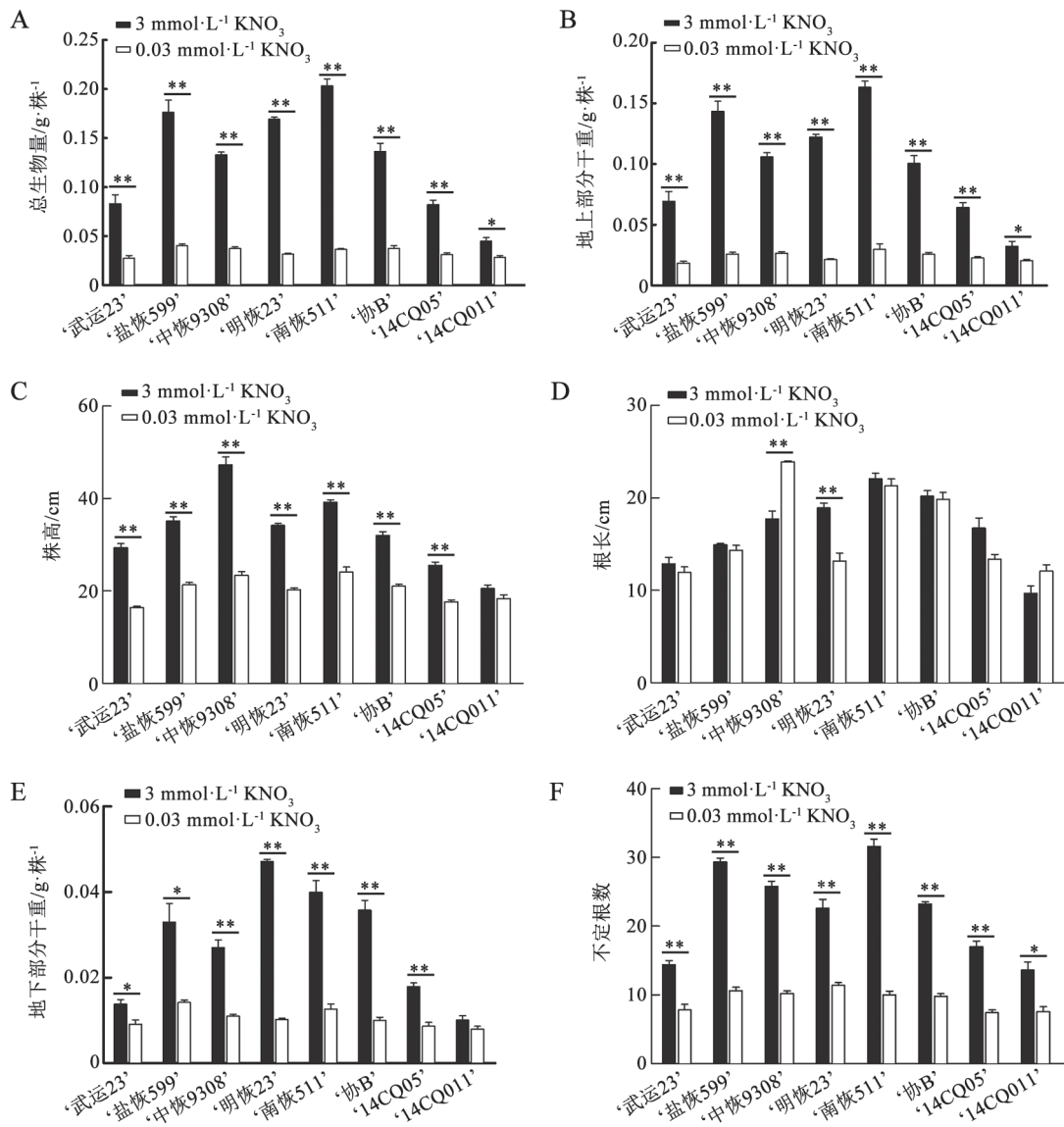


图1 不同氮水平下水稻幼苗的生长情况

Fig.1 The growth of rice seedlings under different nitrogen levels

*和**表示同一材料在不同氮水平下的相关指标存在显著和极显著的差异。

显著增加,两者正好相反,而其余材料根长均无显著差异。总的来讲,从图1中可以看出,随着氮水平的增加,水稻的总生物量、根长及不定根数等随之增加且,不同的水稻间存在差异。其中,籼稻材料‘武运23’、‘14CQ05’及‘14CQ011’与籼稻品种‘盐恢599’、‘中恢9308’、‘明恢23’、‘南恢511’及‘协B’之间增加幅度差异明显,说明籼稻和籼稻品种间在氮利用方面有明显的差异。其中籼稻‘14CQ011’在各项指标下表现都不高,这说明‘14CQ011’对氮不敏感表现为氮低效材料;而籼稻

‘南恢511’在大多数指标都表现较高,对氮较为敏感,表现为氮高效的特点。

2 不同氮水平下水稻幼苗的氮含量分析

为了分析高氮和低氮水平下所选8份材料的氮素积累量是否存在差异,对不同水稻材料采用凯氏定氮法测定氮含量并进行了统计学的方差分析和检验。结果(图2)表明,不同材料在高氮水平下氮含量有显著提高,并且不同材料之间也存在极显著的差异。在植株总含氮量方面,供试8个材料在高氮条件下氮含量极显著提高,且不同材料

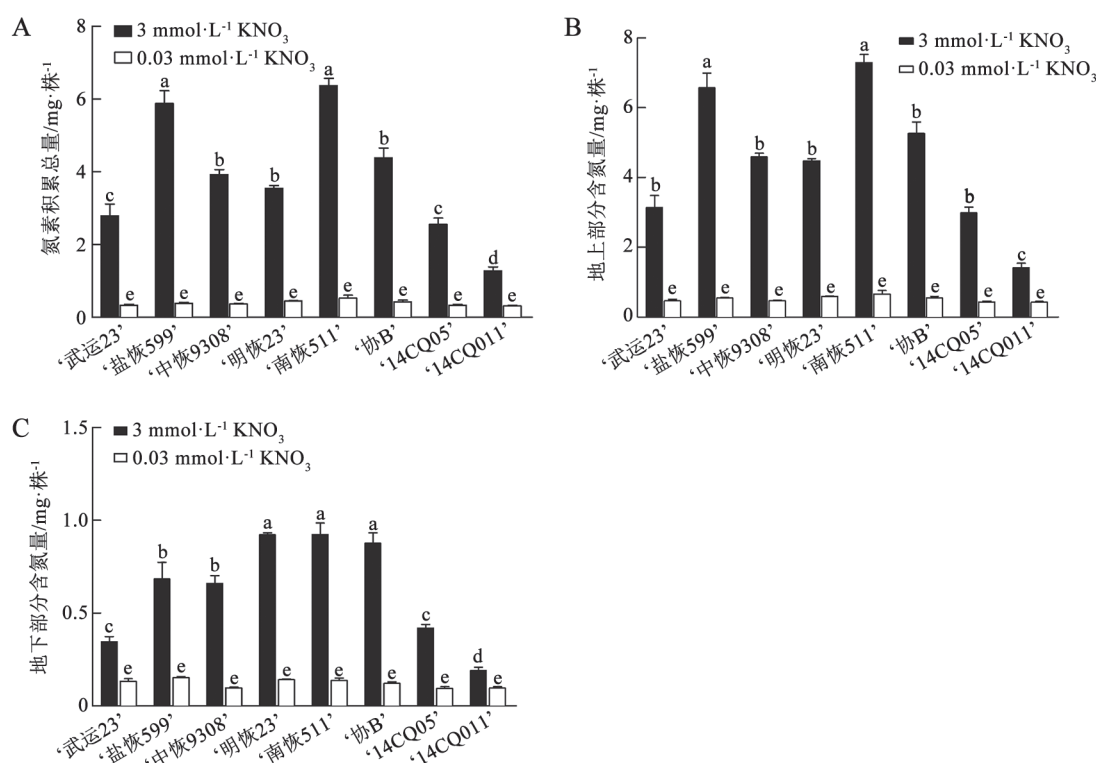


图2 不同氮水平下水稻幼苗的氮含量分析

Fig.2 Nitrogen accumulation analysis of rice seedlings under different nitrogen levels

不同小写字母表示品种之间存在极显著差异($P < 0.01$)。

之间差异显著; 其中, '南恢511'和'盐恢599'总氮积累量最高, '中恢9308'、'协B'和'明恢23'次之, 而粳稻材料'14CQ05'、'14CQ011'和'武运23'相对最低(图2-A)。而低氮条件下8个材料之间总氮的积累并无明显差异($P < 0.01$) (图2-A)。在地上和地下部分的含氮量也表现出类似的结果(图2-B和C)。其中, 高氮条件下'南恢511'不管在总氮含量、地上、地下氮含量方面都比较高, 而'14CQ011'则表现最低, 比'南恢511'低约5倍。据此证明, 在高氮和低氮2个不同条件下, '14CQ011'的总氮含量、地上和地下氮含量都表现较低, 说明'14CQ011'是一个极度氮低效品种。而'南恢511'则表现相反, 这一结果与前面的相关指标分析结果保持一致, 证实了不同水稻材料尤其籼粳之间氮利用效率的差异。

3 不同氮水平下水稻幼苗的氮吸收效率分析

图3-A显示, 8份水稻材料在相同的氮水平下氮的吸收效率有明显差异, 其中粳稻品种'14CQ011'、'14CQ05'及'武运23'在高氮条件下吸收效率与籼稻相比都表现很低; 籼稻品种'明恢23'在高氮水平

下氮吸收效率最低, '南恢511'最高, 约为'明恢23'的2倍。在低氮水平下8份材料间吸收效率表现出类似的结果。氮吸收效率分析的结果证实了8份水稻材料对氮素的吸收存在明显的差异, 说明在同一氮素水平下不同的水稻材料在氮的吸收方面差异可能导致它们在氮含量以及总生物量存在差异的原因, 这些原因可能与他们硝酸盐转运相关基因存在差异的表达导致。

另外, 我们还分析了8份水稻材料间氮素利用效率的情况, 发现不同材料在氮素利用方面并无明显差异(图3-B), 更进一步说明导致不同材料间在高氮和低氮情况下所表现的差异与氮的吸收效率相关。'南恢511'在高氮下生物量、氮吸收和利用等方面都最高, 但是在低浓度下不明显, 可认为是高氮高效型品种。而粳稻品种'14CQ011'的吸收效率较低, 与前面的结论一致, 是氮效率最低的一个品种。

4 水稻氮素营养相关参数间的关系

我们将水稻氮营养相关的参数数据进一步整

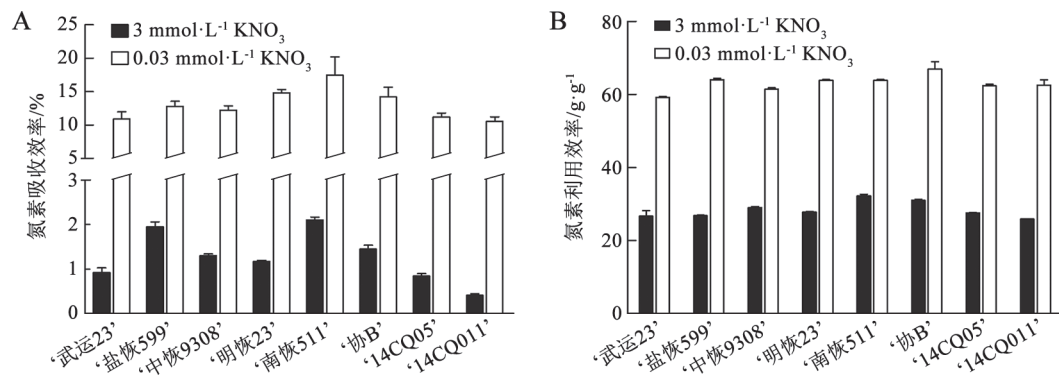


图3 不同氮水平下水稻幼苗的氮吸收和利用效率分析

Fig.3 Analysis of nitrogen uptake and utilization efficiency of rice seedlings under different nitrogen levels

合, 分析在高氮及低氮条件下其干重、地上部氮含量、地下部氮含量、氮吸收与利用效率等方面在不同氮水平下的变异程度, 结果说明地上部氮含量和地下部氮含量变异程度较低, 而干重、氮的吸收利用等参数变异程度较高(表3)。

再通过对不同指标之间进行相关性分析发现, 无论在高氮和低氮条件下植株干重与氮素吸收率都呈极显著正相关, 而地上部氮含量和地下部氮含量与氮素利用效率呈极显著负相关, 且地上部氮含量与地下部氮含量具有显著的相关性(表4)。

表3 水稻氮营养相关指标的差异分析

Table 3 Differential analysis of nitrogen relative parameters in rice

参数	氮水平	干重/g·株 ⁻¹	地上部氮含量/mg·g ⁻¹	地下部氮含量/mg·g ⁻¹	氮吸收效率/%	氮利用效率/g·g ⁻¹
范围	低氮	0.0212~0.0441	12.98~22.25	8.11~15.23	9.31~14.02	52.82~82.84
	高氮	0.0353~0.2209	27.11~44.81	16.83~27.68	1.02~6.87	21.84~38.60
平均数	低氮	0.0337	16.53	11.80	13.02	67.56
	高氮	0.1286	38.10	22.28	3.91	29.03
SD	低氮	0.0039	0.96	0.60	3.42	9.11
	高氮	0.0142	1.21	1.04	0.54	3.91
变异系数/%	低氮	11.62	5.81	5.08	26.32	13.51
	高氮	11.14	3.17	4.66	13.91	13.46

表4 水稻氮营养相关指标的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of nitrogen relative parameters in rice

指标	氮水平	干重	地上部氮含量	地下部氮含量	氮素吸收效率
地上部氮含量	高氮	0.001			
	低氮	-0.347			
地下部氮含量	高氮	0.048	0.504*		
	低氮	-0.521*	0.639**		
氮素吸收效率	高氮	0.919**	0.356	0.209	
	低氮	0.811**	0.301	-0.175	
氮素利用效率	高氮	0.134	-0.883**	-0.530**	-0.253
	低氮	0.269	-0.806**	-0.606**	-0.303

*和**分别表示 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平上相关性显著。

讨 论

氮素是植物生长需求量最大的矿质元素,是植物进行生长发育的限制因子,植物体内核酸、蛋白质等合成都需要氮素的参与(Harvey 1939)。在上个世纪人们就发现不同种类的植物或者同一植物不同的品种间由于基因型的差异而导致植物的氮素营养利用存在差异(Harvey 1939)。早在上个世纪80年代国际水稻所(IRRI)就已开始研究不同水稻材料基因型的氮营养效率差异,但是由于当时技术手段的限制以及水稻基因组并未解析导致研究进展缓慢(Broadbent等1987; Inthapanya 2000)。我国科研工作者关于氮素利用相关的工作也起步较早,前期主要基于大量的遗传材料来分析不同水稻材料间的氮利用差异。在生理水平方面已有一些初步的研究,并且指出水稻的含氮量、植株氮积累量、氮素吸收效率和利用指数等方面均于基因型之间有显著的差异,说明不同的水稻材料之间由于基因型的差异存在氮利用效率的差异。目前水稻除了克隆了几个关键的氮利用相关基因外,其他相关的研究报道并不多。中国科学院遗传研究所傅向东研究团队发表有关水稻氮素利用相关的研究结果揭示水稻的氮素利用的关键基因DEP1能够与G蛋白信号偶联调控氮肥的利用过程(Sun等2014),而储成才团队研究发现水稻硝酸盐转运基因NRT1.1B在籼稻与粳稻之间的一个SNP导致亚种间氮肥利用的差异(Duan和Zhang 2015; Hu等2015)。南京农业大学徐国华研究团队研究发现水稻硝酸盐转运基因NRT2.1等基因在水稻硝酸转运中有重要的功能,而且NRT2.1能够与水稻NAR2.1相互作用来调控水稻硝酸的转运过程揭示了NAR基因在水稻氮素利用过程中的重要功能(Feng等2011)。这些研究结果更进一步的揭示了水稻硝酸转运与利用的机理,为后续的研究提供了一个参考。

由于我国氮肥利用率低,通过筛选出氮高效品种或者是耐低氮水稻品种有助于缓解这一问题。本研究以前期大量初选出的不同基因型的8个品种为材料,研究了这些品种在实验室苗期水培条件下的氮效率差异。结果表明水稻不同群系粳稻和籼稻间差异显著,具体表现为籼稻在生物量、株高以及根系发达等方面明显高于粳稻。如

‘南恢511’和‘14CQ011’。氮吸收效率方面籼稻品种明显高于粳稻品种,高氮水平下吸收率最大的是‘南恢511’,最低的是‘14CQ011’,这与生物量的结果保持一致,但是在植株氮含量方面籼粳之间没有明显的分化,原因可能是籼稻品种吸收率高,但是生物量也高,因此氮素在植株体内被分化了。通过设置不同的氮素水平,结合不同品种的形态指标以及氮吸收利用的差异鉴定出了苗期氮高效的品种‘南恢511’,其在高氮下生物量,氮吸收和利用等方面都最高,但是在低浓度下不明显,可认为是高氮高效型品种。而‘14CQ011’在2个氮素水平下,从生物量、根系、氮含量以及吸收利用方面都表现最差,可初步认为是氮低效品种。本文研究结果揭示8个品种间存在的氮素利用差异与最初的氮素吸收相关,说明不同材料间氮素转运相关基因的表达水平可能存在差异,最终导致氮的吸收受到影响,从而表现出材料之间的氮效率差异,但是否与硝酸盐转运家族基因的表达水平差异有关还需进一步去研究。最后,无论从生态环境以及选育氮高效水稻品种方面考虑,了解苗期氮效率不同的生理机制同样有助于了解水稻不同品种间的氮利用效率差异,尤其是农业生产实际中,基肥和前期氮肥施用量很大,如不能被高效吸收利用,造成的损失很大,对环境的负面影响也很大。因此,开展水稻苗期氮高效利用研究对于选育氮高效品种和降低稻田氮肥的环境影响方面有重要的指导意义。

参考文献

- Broadbent FE, De Data SK, Laureles EV (1987). Measurement of nitrogen utilization efficiency in rice genotype. *Agron J*, 79 (5): 786–791
- Buresh R, Witt C (2002). Challenge and opportunity in improving fertilizer-nitrogen use efficiency of irrigated rice in China. *Agr Sci China*, 1 (7): 776–785
- Duan D, Zhang H (2015). A single SNP in NRT1.1B has a major impact on nitrogen use efficiency in rice. *Sci China Life Sci*, 58 (8): 827–828
- Fan X, Tang Z, Tan Y, Zhang Y, Luo B, Yang M, Lian X, Shen Q, Miller AJ, Xu G (2016). Overexpression of a pH-sensitive nitrate transporter in rice increases crop yields. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113 (26): 7118–7123
- FAO (2007). Concern about rice production practices. Food and Agriculture Organization of United Nations, Website: <http://www.fao.org>
- Feng H, Fan X, Fan X, Liu X, Miller AJ, Xu G (2011). Multiple roles of nitrate transport accessory protein NAR2 in plants. *Plant Sig-*

- nal Behav, 6 (9): 1286–1289
- Frink CR, Waggoner PE, Ausubel JH (1999). Nitrogen fertilizer: retrospect and prospect. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96 (4): 1175–1180
- Harvey PH (1939). Heredity variation in plant nutrition. *Genetics*, 24 (4): 437
- Hu B, Wang W, Ou S, Tang J, Li H, Che R, Zhang Z, Chai X, Wang H, Wang Y, et al (2015). Variation in NRT1.1B contributes to nitrate-use divergence between rice subspecies. *Nat Genet*, 47 (7): 834–838
- Inthapanya P (2000). Genotype differences in nutrient uptake and utilization for grain yield production of rainfed lowland rice under fertilized and non-fertilized conditions. *Field Crop Res*, 65 (1): 57–68
- Li SX (1999). The current state and prospect of plant nutrition and fertilizer science. *J Plant Nutr Fert*, 5 (3): 193–205 (in Chinese with English abstract) [李生秀(1999). 植物营养与肥料学科的现状与展望. *植物营养与肥料学报*, 5 (3): 193–205]
- Lian X, Xing Y, Yan H, Xu C, Li X, Zhang Q (2005). QTLs for low nitrogen tolerance at seedling stage identified using a recombinant inbred line population derived from an elite rice hybrid. *Theor Appl Genet*, 112 (1): 85–96
- Lin CM, Koh S, Stacey G, Yu SM, Lin TY, Tsay YF (2000). Cloning and functional characterization of a constitutively expressed nitrate transporter gene, *OsNRT1*, from rice. *Plant Physiol*, 122 (2): 379–388
- Ling QH, Zhang HC, Dai QG, Ling L, Su ZF, Xu M, Que JH, Wang SH (2005). Study on precise and quantitative N application in rice. *Agr Sci China*, 38 (12): 2457–2467 (in Chinese with English abstract) [凌启鸿, 张洪程, 戴其根, 丁艳锋, 凌励, 苏祖芳, 徐茂, 阙金华, 王绍华(2005). 水稻精确定量施氮研究. *中国农业科学*, 38 (12): 2457–2467]
- Lü XY, Ji XQ (2013). Think again about China's food safety problem. *Agr Econ Probl*, 9: 15–24 (in Chinese) [吕新业, 冀县卿(2013). 关于中国粮食安全问题的再思考. *农业经济问题*, 9: 15–24]
- Lü ZG, Yang Y (1997). Review on application and utilization of nitrogen, phosphorus fertilizers and their pollution on agricultural ecological environment. *Agro-Environ Dev*, 14 (3): 30–34 (in Chinese) [吕忠贵, 杨圆(1997). 浅析氮磷化肥的使用、利用及对农业生态环境污染. *农业环境与发展*, 14 (3): 30–34]
- Song J (2002). The international rice congress delivered a speech at the opening ceremony. *Chin Rice*, 8 (6): 7 (in Chinese) [宋健(2002). 在国际水稻大会开幕式上的致辞. *中国稻米*, 8 (6): 7]
- Sun H, Qian Q, Wu K, Luo J, Wang S, Zhang C, Ma Y, Liu Q, Huang X, Yuan Q, et al (2014). Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice. *Nat Genet*, 46 (6): 652–656
- Tong G, Liang H (2005). Effects of simulated acid rain and its acidified soil on soluble sugar and nitrogen contents of wheat seedlings. *J Appl Ecol*, 16 (8): 1487–1492
- Wang C, Xiang C, Qu LJ, Zhang JW, Shi YY (2014). The advance of physiological mechanism of nitrogen assimilation-transport and utilization, and genetics basis of low nitrogen tolerance in rice. *Chin Agr Sci Bull*, 30 (3): 1–9 (in Chinese with English abstract) [王超, 项超, 曲丽君, 张俊巍, 石英尧(2014). 水稻氮吸收转运利用生理机制及耐低氮遗传基础研究进展. *中国农学通报*, 30 (3): 1–9]
- Wu ZH, Hu XJ (2003). Comments on study of grain safety in china. *Food Econ Res*, (1): 48–61 (in Chinese) [吴志华, 胡学君(2003). 中国粮食安全研究述评. *粮食经济研究*, (1): 48–61]
- Xie JC (1998). Present situation and prospects for the world's fertilizer use. *J Plant Nutr Fert*, 4 (4): 321–330 (in Chinese with English abstract) [谢建昌(1998). 世界肥料使用的现状与前景. *植物营养与肥料学报*, 4 (4): 321–330]
- Xu KD, Shen GF (2002). Rely on rice science and technology innovation, and promote China's rice industry development: in the first international conference of rice as the theme of the report. *Chin Rice*, (6): 8–11 (in Chinese) [徐匡迪, 沈国舫(2002). 依靠稻作科技创新, 推动中国水稻产业发展: 在首届国际水稻大会上作的主题报告. *中国稻米*, (6): 8–11]
- Zhou XH, Xu HN, Gu ZH, Cheng LM, Li KZ (2016). Effects of PM H⁺-ATPase on the nitrate uptake of rice under aluminum stress. *Plant Physiol J*, 52 (7): 1011–1081 (in Chinese with English abstract) [周小华, 徐慧妮, 谷照虎, 陈丽梅, 李昆志(2016). 铝胁迫下质膜H⁺-ATPase对水稻硝态氮吸收的影响. *植物生理学报*, 52 (7): 1011–1081]

Screening and research of different rice (*Oryza sativa*) varieties based on nitrate absorption and utilization in seedlings

XIAO Juan, YAN Huan-Huan, YANG Yong-Qing, LIANG Yong-Shu, NAN Wen-Bin, ZHANG Han-Ma, QIN Xiao-Jian*

Chongqing Key Laboratory of Molecular Biology of Plants Environmental Adaptations, College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China

Abstract: Seedlings of sixty rice varieties were cultivated hydroponically under two different levels of nitrogen (N) supply and their biomass and nitrogen (N) contents were analysed. The results put these varieties into 4 different groups, i.e. high nitrogen and high biomass, high nitrogen and low biomass, low nitrogen and high biomass, low nitrogen and low biomass. Further analyses with eight selected varieties demonstrated a clear division between indica and japonica varieties in nitrogen absorption and utilization, with indica varieties showing higher nitrogen absorption and utilization efficiencies than japonica varieties. In addition, significant variations exist among the varieties in their responses to different levels of N supply, with ‘Nanhui511’ being the best performer in terms of nitrogen absorption rate and N content under high N supply, whilst ‘14CQ05’ and ‘14CQ011’ being the worst performers under both high and low N supplies in the terms of biomass, N content and N uptake among the varieties. Correlation analyses indicate that seedling dry weight were positively correlated with nitrogen absorption efficiency, and nitrogen content in stem, leaves and root was negatively correlated with nitrogen use efficiency regardless of the levels of N supply. These results demonstrate the existence of variations among different rice varieties in nitrogen uptake and utilization and provide valuable information for the breeding of nitrogen efficient rice varieties in the future.

Key words: rice; seedling screening; nitrate absorption and utilization; nitrogen high-efficiency varieties

Received 2016-07-31 Revised 2016-10-09

This work was supported by the National Grand Fundamental Research Pre-“973” Program of China (Grant No. 2014CB160306) and the Science and Technology Research Project of Chongqing Education Committee (Grant No. KJ1600310).

*Corresponding author (E-mail: xiaojianqin_ab@163.com).