



# 大豆 *NRT1. 2* 同源基因的生物信息学分析

朱 林, 左妍妍, 曹金山, 王小迪, 杨 薇, 王幼宁

(华中农业大学 植物科学技术学院, 湖北 武汉 430070)

**摘 要:** *AtNRT1. 2* 已被证明在模式植物拟南芥中作为低亲和硝酸根转运蛋白参与硝态氮的吸收。为研究其编码基因在大豆中的同源基因, 进一步挖掘大豆中参与调控共生固氮的候选基因并为开展其功能研究奠定基础, 本研究利用 Phytozome、ProtParam、TAIR 和 SoyBase 数据库以及 GSDS、TMpred Server、ClustalX 2. 1 和 MEGA 7. 0 软件, 对 *NRT1. 2* 在大豆中的 6 个同源蛋白的系统进化关系、基因序列、氨基酸序列、跨膜结构以及表达模式进行生物信息学分析。系统进化分析发现 *GmNRT1. 2a*、*GmNRT1. 2b*、*GmNRT1. 2c* 和 *GmNRT1. 2d* 与菜豆和苜蓿等豆科植物的 *NRT1. 2* 亲缘关系较近。氨基酸序列比对分析发现 *GmNRT1. 2a* 和 *GmNRT1. 2b* 相似度较高, 且 *GmNRT1. 2s* 都含有类似的跨膜结构。在表达模式方面, SoyBase 的数据显示 *GmNRT1. 2s* 同源基因的表达存在较明显差别, *GmNRT1. 2a* 和 *GmNRT1. 2b* 在大豆根及根瘤中表达较高。以上生物信息学分析结果暗示 *GmNRT1. 2s* 可能在参与硝酸盐吸收的同时也介导大豆共生固氮过程。本研究结果为深入探究 *GmNRT1. 2s* 在氮吸收与共生固氮协同调控大豆氮素供给的分子机制方面提供了一定的数据支持。

**关键词:** 大豆; 氮素营养; *NRT1. 2*; 共生固氮; 生物信息学

## Bioinformatic Analysis of *NRT1. 2* Homologous Gene in Soybean

ZHU Lin, ZUO Yan-yan, CAO Jin-shan, WANG Xiao-di, YANG Wei, WANG You-ning

(College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** *AtNRT1. 2* functions as a low affinity nitrate transporter involved in nitrate uptake in *Arabidopsis*. Based on studying the homologous genes of *AtNRT1. 2* in soybean and identifying putative genes involved in the regulation of symbiotic nitrogen fixation in soybean, it will provide evidence to uncover its' biological function. In this study, the homologous genes of *AtNRT1. 2* have been analyzed using different bioinformatic softwares and methods. It was found that *GmNRT1. 2a*, *GmNRT1. 2b*, *GmNRT1. 2c* and *GmNRT1. 2d* showed to have higher similarity with the homologous genes in *Phaseolus vulgaris* and *Medicago truncatula*. In addition, the greater the similarity between the amino acid sequences of *GmNRT1. 2a* and *GmNRT1. 2b* were found and showed the closer relationship between them compared with other homologous genes. Similar to *AtNRT1. 2*, all of *GmNRT1. 2s* contained the conserved transmembrane structure. Based on the expression data collected from SoyBase, *GmNRT1. 2a* and *GmNRT1. 2b* appeared to be highly expressed in roots and nodules of soybean. In summary, our results provide clues for the role of *GmNRT1. 2s* in nitrate absorption and symbiotic nitrogen fixation of soybean.

**Keywords:** Soybean; Nitrogen nutrient; *NRT1. 2*; Symbiotic nitrogen fixation; Bioinformatics

氮素调控植物的生长发育, 同时也是决定作物最终产量的关键因素。氮素参与到植物的氨基酸、蛋白质和磷脂等必需物质的合成过程中<sup>[1]</sup>。硝态氮和铵态氮是作物从土壤中吸收氮素的两种主要形式, 在通气良好的旱田中植物主要吸收硝态氮, 硝酸盐是植物生长过程中最主要的无机氮源<sup>[2]</sup>。硝酸盐( $\text{NO}_3^-$ )不仅作为氮素营养物质供给植物生长发育, 而且可以作为信号物质参与调控基因表

达、种子休眠、侧根发育和开花等生理过程<sup>[3-7]</sup>。植物根系主要通过主动运输吸收  $\text{NO}_3^-$ , 此过程中跨质膜同向转运  $2\text{H}^+/\text{NO}_3^-$ , 并通过质子电化学梯度提供能量<sup>[8]</sup>。硝酸盐的吸收需要硝酸盐转运蛋白(NRT)的参与。

目前在模式植物拟南芥中关于硝酸根转运蛋白的相关研究已较为深入, 拟南芥中硝酸盐的吸收、转运和分配是通过硝酸盐转运蛋白(nitrate

收稿日期: 2018-12-29

基金项目: 国家科技重大专项(2018ZX08009-19B); 国家自然科学基金(31872873)。

第一作者简介: 朱林(1992-), 男, 硕士, 主要从事大豆硝酸盐转运与共生固氮等研究。E-mail: onelin@163. com。

通讯作者: 王幼宁(1977-), 女, 博士, 副教授, 主要从事大豆共生固氮分子机制研究。E-mail: youningwang@mail. hzau. edu. cn。

transporter, NRT)实现的,已有研究表明,硝酸盐转运蛋白是由硝酸盐转运蛋白 NRT1 家族(nitrate transporter1, NRT1 / PTR, NPF)和硝酸盐转运蛋白 NRT2 家族(nitrate transporter 2, NRT2)组成<sup>[9]</sup>。拟南芥中已有 5 个硝酸盐转运蛋白被证实参与植物根部质膜上硝酸盐的吸收,即 NRT1 家族的 AtNRT1.1 和 AtNRT1.2 以及 NRT2 家族的 AtNRT2.1、AtNRT2.2 和 AtNRT2.4<sup>[10]</sup>。AtNRT1.2 (NRT1/AtNPF4.6)是拟南芥中第二个被克隆的 NRT1 家族基因,其主要在根尖成熟区的表皮细胞表达,与受外界 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 诱导的 AtNRT1.1 不同,AtNRT1.2 呈现显著的组成型表达模式,其表达水平不受 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的诱导<sup>[11-12]</sup>。在功能研究方面,水稻中 OsNRT1.1A 可以提高氮肥利用效率,加速开花并增加作物产量<sup>[13]</sup>,AtNRT1.2 编码的蛋白质主要在低亲和性的硝酸盐转运系统中发挥作用(low-affinity transport system, LATS)<sup>[14-15]</sup>,即在外界硝酸盐浓度较高的情况下发挥吸收硝酸盐的功能<sup>[16]</sup>。相关的研究表明,AtNRT1.2 不仅可以作为低亲和硝酸根转运蛋白吸收硝酸盐,还可以转运脱落酸(abscisic acid, ABA)。作为组成型的转运蛋白,AtNRT1.2 的 ABA 转运活性同样不受过量硝酸盐的抑制,即使外界硝酸盐浓度发生变化,AtNRT1.2 突变体在萌发过程中对 ABA 的敏感性都弱于野生型<sup>[17-18]</sup>。

近几年其它作物和蔬菜中也对相关的 NRT 蛋白开展了一定的研究<sup>[19-21]</sup>。在烟草(Nicotiana glauca)中也分离和鉴定到了 NpNRT1.2 基因。NpNRT1.2 主要在根中呈组成型表达,并且它的表达严格依赖高浓度硝酸盐<sup>[19]</sup>。从甘蓝型油菜(Brassica napus)中克隆到了拟南芥低亲和性硝酸盐转运蛋白的同源基因 BnNRT1.2,表达检测发现 BnNRT1.2 受硝酸根诱导表达,并且 BnNRT1.2 不仅可转运 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>,也可以转运氨基酸(L-组氨酸)和肽<sup>[20]</sup>。在西红柿(Lycopersicon esculentum)中克隆获得的 LeNrt1-1 和 LeNrt1-2 在根中特异性表达,但是,在茎和叶片组织中都没有检测到。而在西红柿中 LeNrt1-2 的表达并非是组成型的,其表达水平也显著受到硝酸盐的诱导<sup>[21]</sup>。这些研究结果表明,虽然 NRT1.2 在模式植物中呈组成型表达,但是由于物种的不同可能衍化出更多样的功能。

尽管近年来关于豆科植物的根系结瘤及共生固氮分子机制取得了一定的进展,其中还存在很多

未解之谜,大豆作为高需氮的重要粮油经济作物,目前对其氮吸收、转运及同化过程的分子机制研究相对较少。本研究利用相关生物信息学手段,对获得的 6 个大豆中 NRT1.2 的同源基因及其编码蛋白进行了较为详细的分析,内容涵盖基因的进化树构建、基因结构分析、编码蛋白的氨基酸序列比对及跨膜结构预测,同时也通过获取 SoyBase 数据库中的信息,对 6 个同源基因在大豆不同组织中的表达水平进行了初步分析。相关研究结果可为后续开展系统深入的基因功能研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究利用拟南芥数据库网站 TAIR (<http://www.arabidopsis.org>) 中的 PGDD duplications and orthologs 注释分析,获得了大豆中 AtNRT1.2 基因的同源基因序列。利用 Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) 网站获得 AtNRT1.2 在大豆和其它物种中同源基因的 CDS、genomic 序列以及对应的氨基酸序列。

1.2 方法

1.2.1 系统发育进化树分析 利用 Clustal W 对获得的 AtNRT1.2 的同源基因编码的氨基酸序列进行了比对,涉及物种主要包括:拟南芥(Arabidopsis thaliana)、卷心菜(Brassica oleracea capitata)、短柄草(Brachypodium distachyon)、白菜型油菜(Brassica rapa FPsc)、荠菜(Capsella rubella)、玉米(Zea mays)、大豆(Glycine max)、雷蒙德氏棉(Gossypium raimondii)、苹果(Malus domestica)、地钱(Marchantia polymorpha)、蒺藜苜蓿(Medicago truncatula)、柳枝稷(Panicum virgatum)、菜豆(Phaseolus vulgaris)、小立碗藓(Physcomitrella patens)、水蜜桃(Prunus persica)、谷子(Setaria italica)、苔藓(Sphagnum fallax)、紫萍(Spirodela polyrrhiza)、可可树(Theobroma cacao)、山箭菜(Eutrema salsugineum),进一步将比对结果用 MEGA 7.0 软件构建系统发育进化树,进化树算法采用 Neighbor-Joining Tree, No. of Bootstrap Replications 的参数设置为2 000。

1.2.2 基因结构分析 基因结构分析借助 GSDS 网站 (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 完成,将上述 AtNRT1.2 在不同物种中同源基因的 CDS 序列和 genomic 序列上传,生成对应的基因结构。

1.2.3 *AtNRT1. 2* 与 *GmNRT1. 2s* 氨基酸序列比对分析 通过 ClustalX 2.1 软件对不同物种中 *NRT1. 2* 基因编码的氨基酸序列进行比对。

1.2.4 *GmNRT1. 2s* 跨膜结构预测 在拟南芥中 *NRT1. 2* 为经典的质膜定位蛋白,本研究利用 TMPred Server 软件 ([https://embnet.vital-it.ch/software/TM-PRED\\_form.html](https://embnet.vital-it.ch/software/TM-PRED_form.html)) 对大豆中的 6 个同源蛋白进行了跨膜结构预测。

1.2.5 *GmNRT1. 2s* 组织表达分析 利用大豆 SoyBase 数据库(<https://www.soybase.org/soyseq/>)分析了大豆中的 6 个 *NRT1. 2* 同源基因的组织表达模式<sup>[22]</sup>,利用 HemI 软件制作 *GmNRT1. 2s* 的表达数据热图。

2 结果与分析

2.1 大豆中 *AtNRT1. 2* 同源基因的获得

如图 1 所示,比对获得 *AtNRT1. 2* 在大豆中的 6

个同源基因,分别命名为:*GLYMA. 18G126500* (*GmNRT1. 2a*)、*GLYMA. 08G296000* (*GmNRT1. 2b*)、*GLYMA. 01G042100* (*GmNRT1. 2c*)、*GLYMA. 02G022200* (*GmNRT1. 2d*)、*GLYMA. 17G096800* (*GmNRT1. 2e*)和 *GLYMA. 05G029900* (*GmNRT1. 2f*)。并进一步通过 Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>)网站分析了 *AtNRT1. 2* 在大豆中的同源基因与 *AtNRT1. 2* 的相似度。检索获得的 6 个同源基因分别位于不同的染色体上,其中位于 17 号染色体上的 *GLYMA. 17G096800* 与 *AtNRT1. 2* 的相似度为 76.4%,而位于 8、18、5、1 及 2 号染色体上的 *GLYMA. 08G296000*、*GLYMA. 18G126500*、*GLYMA. 05G029900*、*GLYMA. 01G042100* 及 *GLYMA. 02G022200* 的相似度分别为 79.1%、79.0%、74.9%、74.4% 及 72.6%。

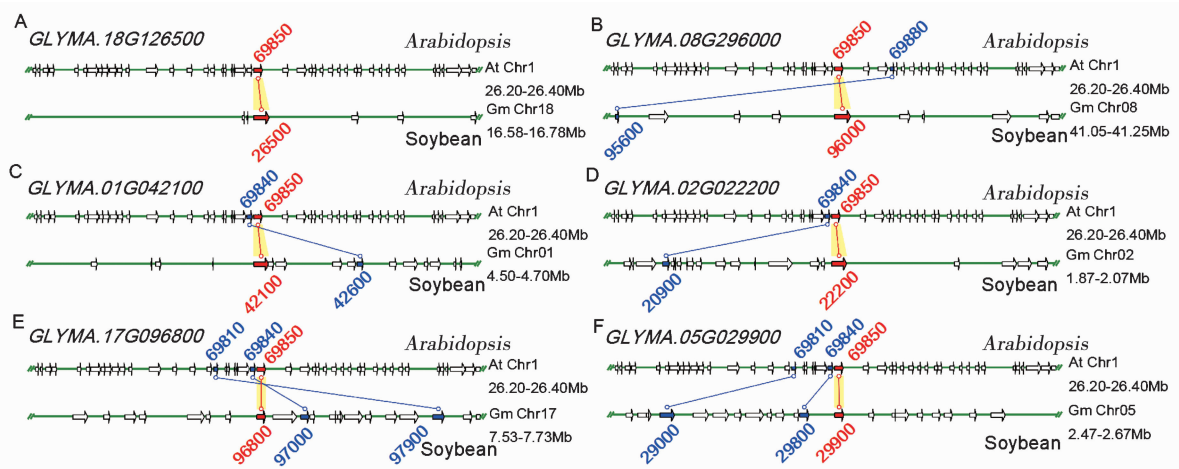


图 1 拟南芥 *AtNRT1. 2* 在大豆中的同源基因  
Fig. 1 The homologous genes of *AtNRT1. 2* in soybean

2.2 不同物种中 *NRT1. 2* 蛋白的系统进化树分析

21 个物种的 36 个 *AtNRT1. 2* 的进化树结果如图 2 所示,*GmNRT1. 2a* 和 *GmNRT1. 2b*,*GmNRT1. 2c* 和 *GmNRT1. 2d*, *GmNRT1. 2e* 和 *GmNRT1. 2f*, 其两两之间在同一分支,同一分支的蛋白可能具有相似的功能。*GmNRT1. 2a*、*GmNRT1. 2b*、*GmNRT1. 2c* 和 *GmNRT1. 2d* 与豆科植物苜蓿中 *Medtr8g469310. 1* 和 *Medtr5g038380. 1* 以及菜豆中 *phvul. 003G070100. 1* 和 *phvul. 002G067214. 1* 在同一分支上,在进化上的亲缘关系比较近,进一步分析发现该分支与模式植物拟南芥 *AtNRT1. 2* 的进化关系比较近,说明它们可能具有比较

保守的硝酸盐吸收的功能。*GmNRT1. 2e* 和 *GmNRT1. 2f* 与苜蓿中的 *Medtr4g107670. 1* 进化距离较近,而与 *AtNRT1. 2* 及豆科植物的亲缘关系较远,该结果暗示大豆中 *NRT1. 2* 的同源蛋白可能存在着一一定程度的功能分化,在发挥其比较保守的硝酸盐吸收功能的同时可能衍化出了更多样的功能。地钱、小立碗藓和苔藓与其它物种中 *NRT1. 2* 的同源蛋白距离最远。紫萍、短柄草、玉米、水稻、柳枝稷和谷子单子叶植物中的 *NRT1. 2* 的同源蛋白聚集在同一分支上,可能是单双子叶植物之间的 *NRT1. 2* 的同源蛋白在功能上有一些差别。

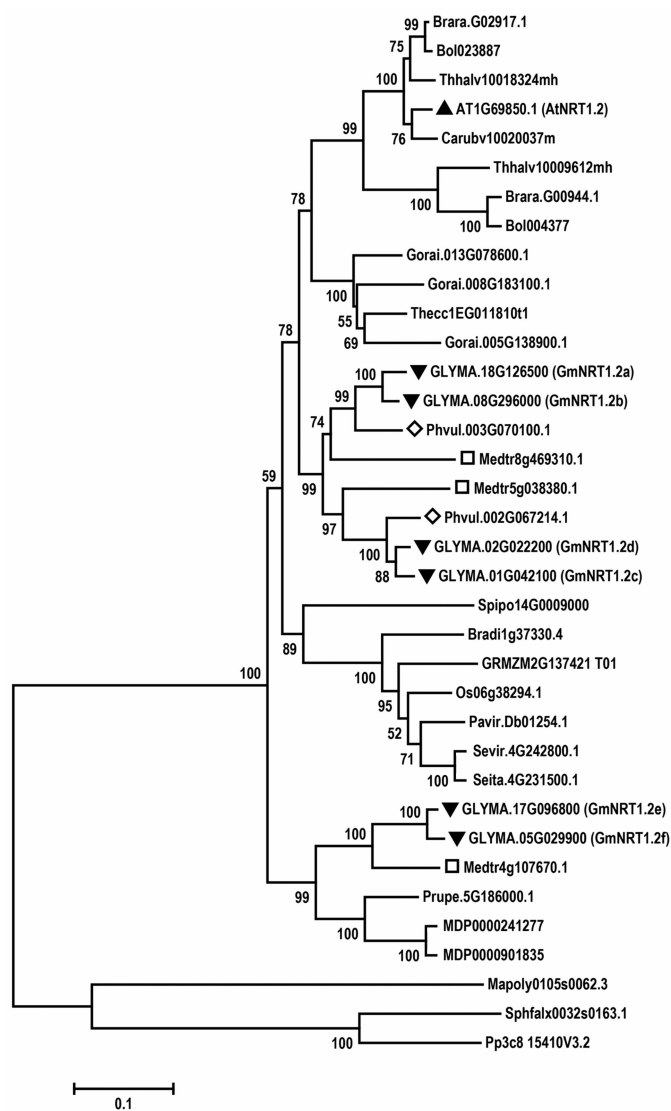


图2 AtNRT1.2 与其它物种同源蛋白的系统进化树分析  
Fig. 2 Phylogenetic analysis of AtNRT1.2 homologous proteins  
in different species

2.3 植物中 *NRT1.2* 基因结构分析

已有研究显示,基因结构的不同也可能影响目的基因发挥其功能,例如,内含子的有无都可能决定着转录因子对该基因的调控模式,外显子和内含子的数目是某些基因家族中典型的进化印记<sup>[23]</sup>。基因结构的差别可能是进化过程中所形成的。如图3所示,36个 *NRT1.2* 同源基因的 CDS 和 genomic 序列的进化分析结果显示 *NRT1.2* 的同源基因在双子叶的非豆科植物拟南芥、卷心菜、白菜型油菜、芥菜、雷蒙德氏棉、苹果、水蜜桃、桉桉树和山萼菜中均含有3个内含子和4个外显子。此外,在豆科植物大豆、苜蓿和菜豆中有着相似的基因结构。与此不同的是,在单子叶植物玉米、水稻、谷子和短柄草中 *NRT1.2* 的同源蛋白均含有2个内含子和3个外显子。在单子叶植物柳枝稷中没有内含子,在最低等的高等植物苔藓中含有4个内含子5个外显

子。该结果表明在双子叶和单子叶植物中 *NRT1.2* 的调控机制可能不同。

2.4 AtNRT1.2 和 GmNRT1.2s 氨基酸序列比对

核苷酸序列的差异可能会导致其编码氨基酸序列不同,进而可能影响对应蛋白的功能发挥。氨基酸序列比对分析结果显示:在氨基酸序列上,AtNRT1.2 在306位处含有一段特殊的“PPRAQ”氨基酸序列,而大豆的6个同源蛋白的氨基酸序列中均缺失了此段序列(图4)。GmNRT1.2a 和 GmNRT1.2b 在451位和456位分别特有“THSN”和“HTNNNN”氨基酸序列,AtNRT1.2 及 GmNRT1.2s 中其它成员均缺失了此段氨基酸序列;GmNRT1.2b 在320位特有“QNN”氨基酸序列,AtNRT1.2 及 GmNRT1.2s 的其它成员缺失了此段氨基酸序列;GmNRT1.2e 和 GmNRT1.2f 在128位氨基酸序列处含有“VIG”序列,而 AtNRT1.2 及 GmNRT1.2a、Gm-



*NRT1. 2b*、*GmNRT1. 2c* 和 *GmNRT1. 2d* 的氨基酸序列中缺失了此段序列。该结果表明大豆中 *NRT1. 2* 的同源蛋白在具有保守的硝酸根吸收功能的同时，可能衍化出了一些特殊的功能。另外，同一物种的不同蛋白因为氨基酸的差异也可能发挥并不相似的功能。

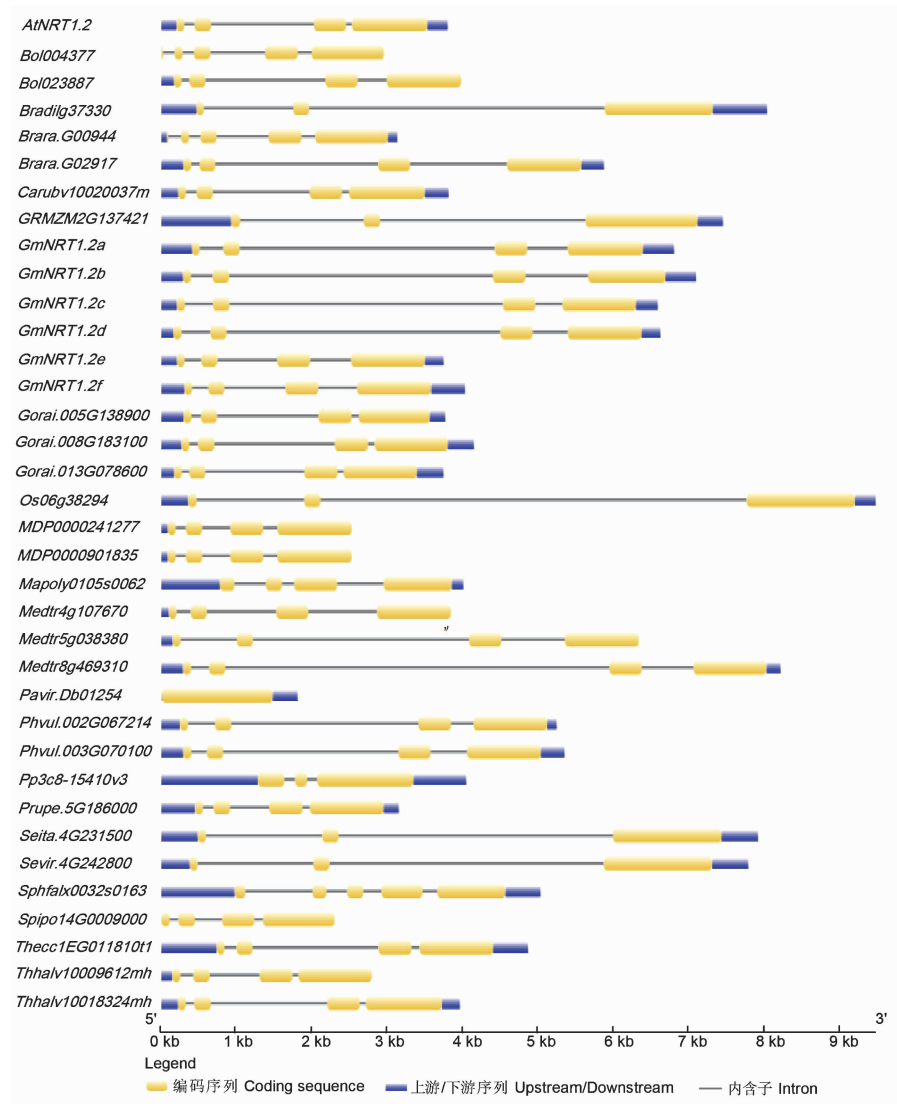
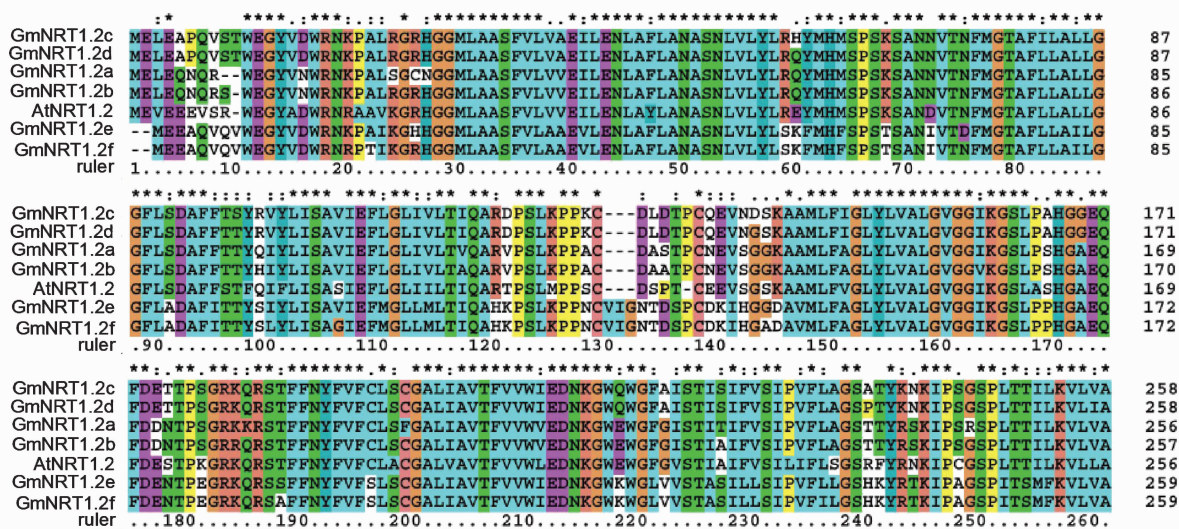


图3 不同植物中 *AtNRT1. 2* 同源基因的基因结构分析

Fig. 3 Gene structure analysis of *AtNRT1. 2* family homologous genes in different species



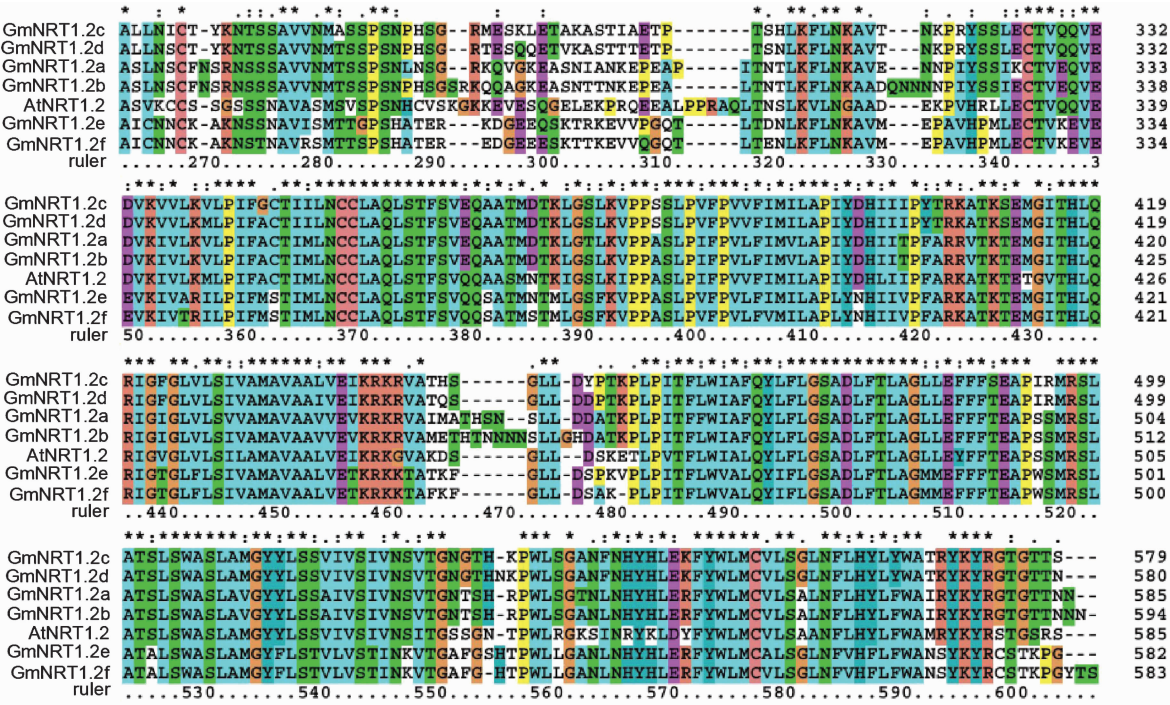


图4 GmNRT1.2s和AtNRT1.2的氨基酸序列比对

Fig. 4 Amino acid sequence alignment of GmNRT1.2s and AtNRT1.2

2.5 GmNRT1.2同源蛋白的跨膜结构预测

同源蛋白的跨膜结构分析结果如图5所示:GmNRT1.2b、GmNRT1.2c、GmNRT1.2d、GmNRT1.2e和GmNRT1.2f的跨膜结构与AtNRT1.2非常相似,都呈现出经典的跨膜结构,且含有12个跨膜区,在第

6个和第7个跨膜区之间被一个中央亲水环分隔开。而GmNRT1.2a含有11个跨膜区。跨膜结构与NRT1.2发挥其保守的硝酸盐吸收转运功能密不可分,结构的保守性在一定程度上保证了其保守功能的发挥。

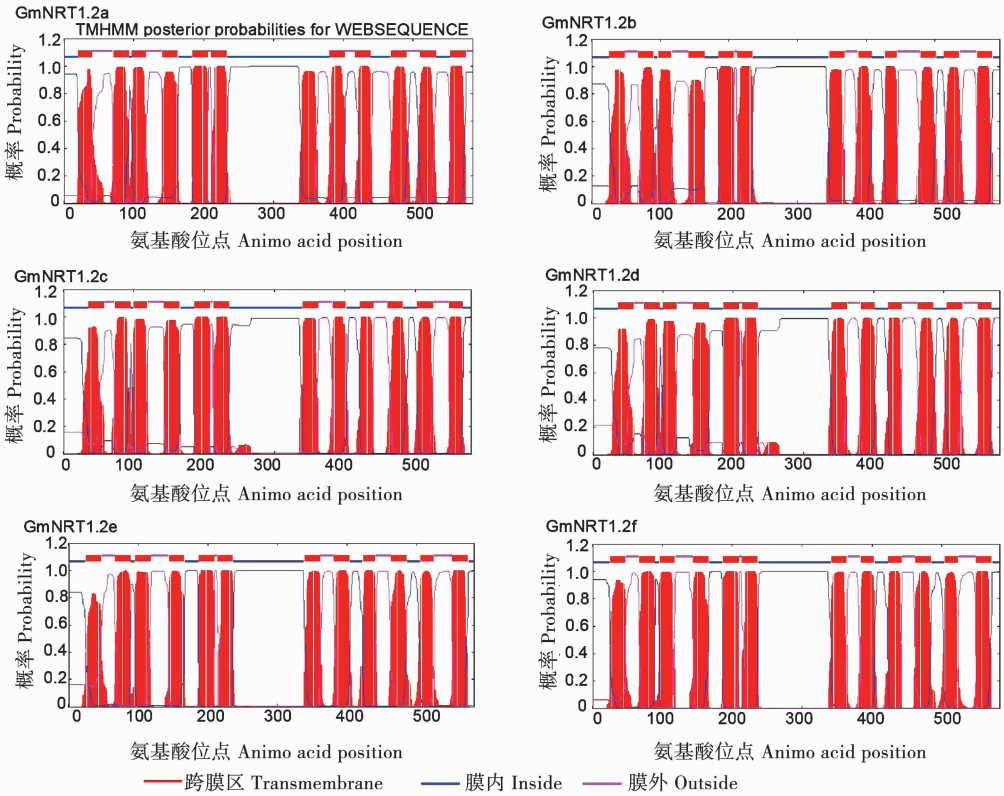


图5 GmNRT1.2s蛋白跨膜结构预测

Fig. 5 The prediction of transmembrane structure of GmNRT1.2s



2.6 *GmNRT1. 2s* 同源基因的组织表达模式

组织表达模式分析结果如图 6 所示:*GmNRT1. 2a* 和 *GmNRT1. 2b* 在检测的多个地上组织及根和根瘤中均有较高水平的表达,而 *GmNRT1. 2c* 特异地在大豆的根中表达,且表达水平较高。*GmNRT1. 2d* 表现为在根中表达量最高,其次在开花后

35 d 的种子中有一定的表达,而在其它组织中几乎没有表达。另外,*GmNRT1. 2e* 仅在幼嫩的叶片中有特异表达。*GmNRT1. 2f* 仅在幼嫩叶片及花的组织中有较高水平的表达,其在叶片中的表达是几个同源基因中最高的。

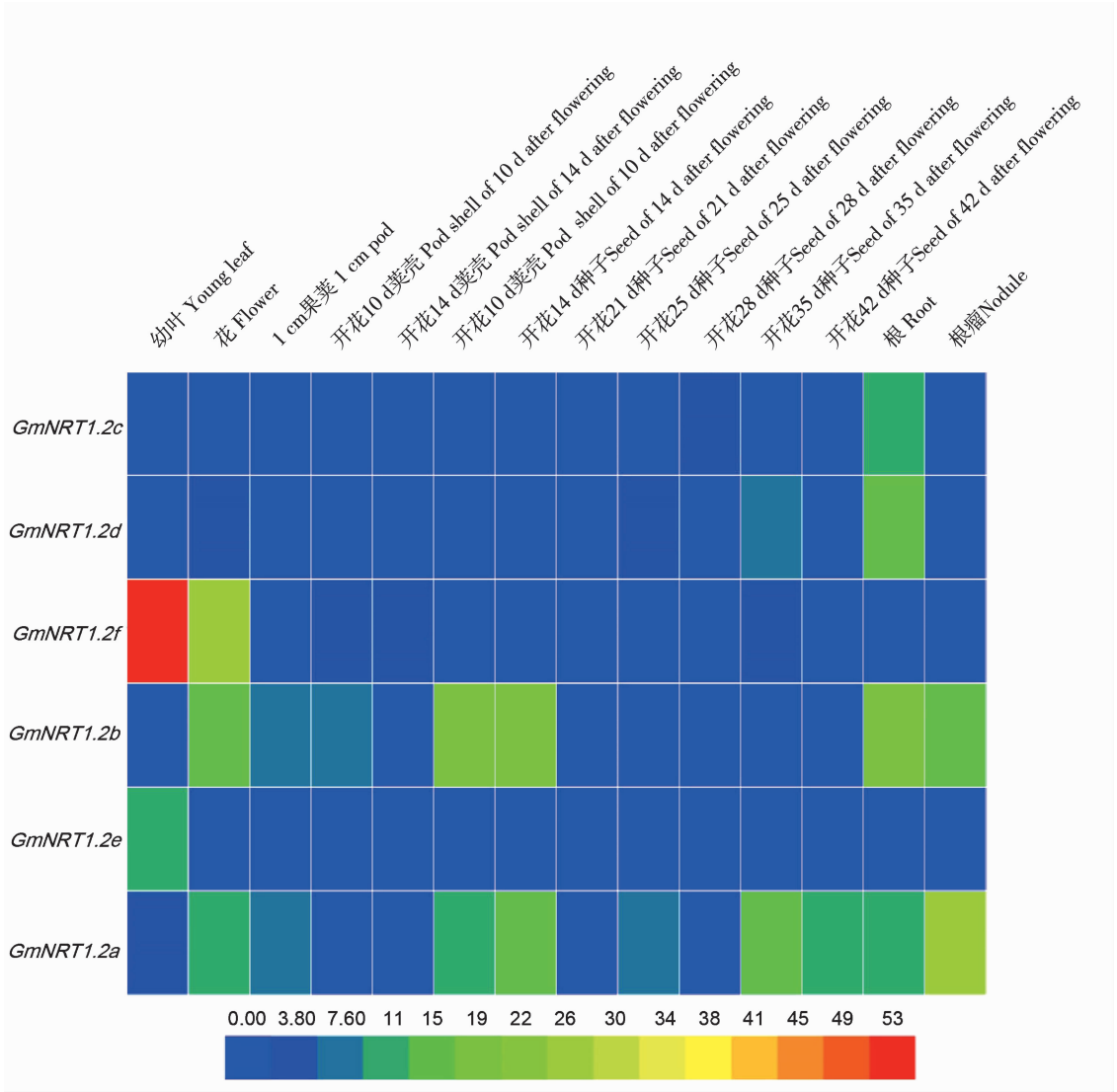


图 6 *GmNRT1. 2* 同源基因的组织表达模式

Fig. 6 The expression patterns of different *GmNRT1. 2* homologous gene

3 讨论

氮素营养会显著影响作物的产量,而大豆作为高需氮的粮油经济作物对氮素也具有更高的需求。作为主要的氮素营养,植物对硝酸盐的吸收利用是决定氮素营养供给充分与否的关键因素之一,其中植物根系对硝酸根的吸收可谓是“门户”步骤。*NRT1. 2* 作为经典的硝酸根转运蛋白,其已被证明作为组成型转运蛋白参与了硝酸根的吸收过程<sup>[11]</sup>。

为了便于后续在大豆中开展关于 *NRT1. 2* 的相关功能研究,本研究通过相关生物信息学方法对 *AtNRT1. 2* 在大豆及其它多个物种中的同源基因进行

了较为系统的分析。研究结果显示,不同物种中 *NRT1. 2* 同源基因的结构存在明显差别,尤其是单子叶和双子叶中基因结构存在着较大的差异,这说明随着物种的进化过程,*NRT1. 2* 可能会因为物种间对硝酸根需求的不同而在基因结构上进行了相应的调整。在氨基酸序列系统进化树中,*GmNRT1. 2a*、*GmNRT1. 2b*、*GmNRT1. 2c* 和 *GmNRT1. 2d* 与菜豆和苜蓿等豆科植物的亲缘关系较近,而 *GmNRT1. 2e* 和 *GmNRT1. 2f* 与豆科植物的亲缘关系较远,该结果说明大豆中的 6 个 *NRT1. 2* 同源蛋白可能在功能上出现了分化。作为潜在的质膜定位的硝酸盐转运蛋白,*GmNRT1. 2s* 与 *AtNRT1. 2* 含有相

似的跨膜结构,在一定程度上暗示着 *GmNRT1.2s* 可能发挥着保守的硝酸根吸收功能。在对大豆中的 *NRT1.2* 同源基因及其编码蛋白进行相关生物信息学分析的同时,本研究利用 SoyBase 提供的大豆的基因芯片数据完成了 *GmNRT1.2s* 的组织表达模式分析。在 6 个同源基因中有 4 个基因组织特异性表达,其中 *GmNRT1.2a*、*GmNRT1.2b* 和 *GmNRT1.2d* 在根中有较高的表达量,而 *GmNRT1.2c* 只在根中特异的表达,它们可能介导氮素的吸收过程。*GmNRT1.2a* 和 *GmNRT1.2b* 2 个基因在根瘤中表达水平较高,其可能参与大豆的共生固氮过程。而 *GmNRT1.2a*、*GmNRT1.2b*、*GmNRT1.2e* 和 *GmNRT1.2f* 在地上各部位表达,更可能参与氮素的转运过程。

综上所述,在大豆中 *NRT1.2* 的同源基因及其编码蛋白可能在参与硝酸盐吸收的同时也介导诸如共生固氮等其它更多的生物学过程,相关研究结果为后续针对 *GmNRT1.2s* 开展更为系统深入的功能研究奠定了一定的基础。

4 结 论

通过对大豆中 *AtNRT1.2* 的同源蛋白进行相关分析,共获得 6 个 *GmNRT1.2* 蛋白,分别由位于 6 条染色体上的不同基因编码。不同物种中 *NRT1.2* 同源基因的结构存在明显差别,分析发现 *GmNRT1.2a*、*GmNRT1.2b*、*GmNRT1.2c* 和 *GmNRT1.2d* 的进化距离与 *GmNRT1.2e* 和 *GmNRT1.2f* 较远。大豆中 *GmNRT1.2s* 与 *AtNRT1.2* 含有相似的跨膜结构。数据分析结果显示 *GmNRT1.2a* 和 *GmNRT1.2b* 在大豆的根和根瘤中表达水平较高。

参考文献

[1] 张合琼,张汉马,梁永书,等. 植物硝酸盐转运蛋白研究进展[J]. 植物生理学报, 2016, 52(2): 141-149. (Zhang H Q, Zhang H M, Liang Y S, et al. Research progress of nitrate in plant transport mechanism[J]. Plant Physiology Journal, 2016, 52(02): 141-149. )

[2] Alboresi A, Gustin C, Leydecker M T, et al. Nitrate, a signal relieving seed dormancy in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell and Environment, 2005, 28(4): 500-512.

[3] Zhang H, Forde B G. An *Arabidopsis* MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture[J]. Science, 1998, 279(5349): 407-409.

[4] Walch-Liu P, Neumann G, Bangerth F, et al. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco[J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51(343): 227-237.

[5] Lin Y L, Tsay Y F. Influence of differing nitrate and nitrogen availability on flowering control in *Arabidopsis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(10): 2603-2609.

[6] Nacry P, Bouguyon E, Gojon A. Nitrogen acquisition by roots: Physiological and developmental mechanisms ensuring plant adaptation to a fluctuating resource[J]. Plant Soil, 2013, 370(1-2): 1-29.

[7] O'Brien J A, Vega A, Bouguyon E, et al. Nitrate transport, sensing, and responses in plants[J]. Molecular Plant, 2016, 9(6): 837-856.

[8] Miller A J, Smith S J. Nitrate transport and compartmentation in cereal root cells[J]. Journal of Experimental Botany, 1996, 47: 843-854.

[9] Krapp A, David L C, Chardin C, et al. Nitrate transport and signalling in *Arabidopsis*[J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(3): 789-798.

[10] Wang Y, Hsu P, Tsay Y F. Uptake, allocation and signaling of nitrate[J]. Trends in Plant Science, 2012, 17(8): 458-467.

[11] Huang N C, Liu K H, Lo H J, et al. Cloning and functional characterization of an *Arabidopsis* nitrate transporter gene that encodes a constitutive component of low-affinity uptake[J]. The Plant Cell, 1999, 11(8): 1381-1392.

[12] 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 and Cell Physiology, 2003, 44(3): 304-317.

[13] Wang W, Hu B, Yuan D, 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.

[14] Wang R, Crawford N M. Genetic identification of a gene involved in constitutive, high-affinity nitrate transport in higher plants[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(17): 9297-9301.

[15] Crawford N M, Glass A D M. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants[J]. Trends in Plant Science, 1998, 3(10): 389-395.

[16] Wang R, Okamoto M, Xing X, et al. Microarray analysis of the nitrate response in *Arabidopsis* roots and shoots reveals over 1 000 rapidly responding genes and new linkages to glucose, trehalose-6-phosphate, iron, and sulfate metabolism[J]. Plant Physiology, 2003, 132(2): 556-567.

[17] Kanno Y, Hanada A, Chiba Y, et al. Identification of an abscisic acid transporter by functional screening using the receptor complex as a sensor[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109(24): 9653-9658.

[18] Kanno Y, Kamiya Y, Seo M. Nitrate does not compete with abscisic acid as a substrate of *AtNPF4.6/NRT1.2/AIT1* in *Arabidopsis*[J]. Plant Signal Behavior, 2013, 8(12): e26624.

[19] Fraiser V, Dorbe M F, Daniel V F. Identification and expression analyses of two genes encoding putative low-affinity nitrate transporters from *Nicotiana glauca*[J]. Plant Molecular Biology, 2001, 45(2): 181-190.

[20] Zhou J, Theodoulou F L, Muldin I, et al. Cloning and functional characterization of a *Brassica napus* transporter that is able to transport nitrate and histidine[J]. Journal of Biological Chemistry, 1998, 273(20): 12017-12023.

[21] Lauter F R, Ninnemann O, Bucher M, et al. Preferential expression of an ammonium transporter and of two putative nitrate transporters in root hairs of tomato[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(15): 8139-8144.

[22] Severin A J, Woody J L, Bolon Y T, et al. RNA-Seq atlas of *Glycine max*: A guide to the soybean transcriptome[J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 160.

[23] Hua Y, Zhou T, Song H, et al. Integrated genomic and transcriptomic insights into the two-component high-affinity nitrate transporters in allotetraploid rapeseed[J]. Plant and Soil, 2018, 427(1-2): 245-268.