DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.03047

ACC 处理对不同基因型玉米幼苗响应氮素供给的调控效应

吴冰卉** 王桂萍** 王玉斌 李召虎 张明才*

植物生长调节剂教育部工程研究中心 / 中国农业大学农学院, 北京 100193

摘 要: 乙烯对玉米生长发育与形态建成具有重要调控作用, 但乙烯对玉米氮素吸收与积累调控效应缺乏深入研究, 局限了乙烯在玉米丰产高效栽培中的应用。本研究以郑单 958、瑞福尔 1 号和德美亚 3 号 3 个玉米品种为试验材料, 比较研究不同基因型玉米植株对氮素供给的响应差异, 结合外源添加乙烯合成前体 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC), 分析乙烯对不同基因型玉米氮素吸收的调控效应。研究结果表明, 在低氮条件下, 氮素敏感型品种(德美亚 3 号和瑞福尔 1 号)比郑单 958 叶片缺氮表型明显, 对 ACC 处理敏感, 而且 ACC 处理抑制玉米植株地上和地下部的生长和干物质积累; ACC 处理抑制了低氮下叶片叶绿素合成, 降低叶片可溶性蛋白积累, 促进玉米叶片早衰, 其中 ACC 处理郑单 958 叶片叶绿素和可溶性蛋白含量均显著高于德美亚 3 号和瑞福尔 1 号; 进一步研究发现, 低氮处理抑制乙烯合成关键酶基因 *ZmACS7* 和 *ZmACO15* 的表达, 降低乙烯含量, ACC 处理促进低氮条件下 *ZmACS7* 和 *ZmACO15* 基因的表达, 提高乙烯含量; 低氮处理抑制玉米根系中 *ZmNRT2.1* 表达, 但 ACC 处理促进低氮下玉米根系中 *ZmNRT2.1* 表达, 其中郑单 958 根中 *ZmNRT2.1* 表达在低氮条件下显著高于德美亚 3 号和瑞福尔 1 号。研究结果表明乙烯通过调控玉米植株乙烯合成关键酶基因和 *ZmNRT2.1* 表达, 调节了氮素吸收与分配, 影响了植株生长, 其中氮素敏感性品种比持绿型品种对乙烯更为敏感。

关键词: 玉米; 基因型; 氮素吸收; 硝态氮; 1-氨基环丙烷-1-羧酸

Regulation of ACC treatment on nitrogen supply response of maize seedlings with different genotypes

WU Bing-Hui**, WANG Gui-Ping**, WANG Yu-Bin, LI Zhao-Hu, and ZHANG Ming-Cai*

Engineering Research Center of Plant Growth Regulator, Ministry of Education / College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 10093, China

Abstract: Ethylene plays an important role in the growth and morphological formation of maize, while little research is involved in the regulatory effects of ethylene on the nitrogen absorption and accumulation in maize, which limits the application of ethylene in high yield and efficient cultivation of maize production. In this study, three maize varieties (Zhengdan 958, Ruifuer 1, and Demeiya 3) were used as experimental materials to study the response of maize varieties with different nitrogen absorption efficiency under different nitrogen levels condition. Combined with the addition of the precursor of ethylene synthesize 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC), the regulation effects of ethylene on nitrogen uptake of different genotypes were analyzed in maize. The results showed that nitrogen-sensitive varieties (Ruifuer 1 and Demeiya 3) had more obvious phenotype of nitrogen deficiency than Zhengdan 958 under low nitrogen condition, and were more sensitive to ACC treatment. Moreover, ACC treatment repressed the growth and dry matter accumulation in the shoot and root of maize plants. ACC treatment decreased the chlorophyll content of leaves under low nitrogen, reduced the accumulation of soluble protein in leaves, and promoted the premature aging of maize leaves. Among them, the contents of chlorophyll and soluble protein in Zhengdan 958 leaves with ACC treatment were significantly higher than those of Ruifuer 1 and Demeiya 3. Furthermore, low nitrogen treatment inhibited the

本研究由国家自然科学基金项目(31871546)和国家级大学生创新创业训练计划项目资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (31871546) and the National Training Program of Innovation and Entrepreneurship for Undergraduates.

* 通信作者(Corresponding author): 张明才, E-mail: zmc1214@163.com, Tel: 010-62733049

** 同等贡献(Contributed equally to this work)

第一作者联系方式: 吴冰卉, E-mail: wubinghui923@163.com; 王桂萍, 18810939619@163.com

Received (收稿日期): 2020-07-28; Accepted (接受日期): 2020-11-13; Published online (网络出版日期): 2020-12-24.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20201224.0907.002.html>

expression of key enzymes (*ZmACS7* and *ZmACO15*) in ethylene synthesis, while decreased the ethylene release rate. Thus, ACC treatment promoted the expression of *ZmACS7* and *ZmACO15* and enhanced ethylene release rate under low nitrogen treatments. Low nitrogen treatment inhibited the expression of *ZmNRT2.1* in maize roots, but ACC treatment promoted the expression of *ZmNRT2.1* in maize roots. In addition, the expression of *ZmNRT2.1* in roots of Zhengdan 958 was significantly higher than those of Ruifuer 1 and Demeiya 3 under low nitrogen treatments. The results showed that ethylene regulated the uptake and distribution of nitrogen by regulating the key enzyme genes of ethylene synthesis and the expression of *ZmNRT2.1* in maize which affected plants growth, and nitrogen-sensitive varieties were more sensitive to ethylene than green-holding variety.

Keywords: maize; genotype; nitrogen absorption; nitrate nitrogen; 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid

玉米是重要的粮饲作物和工业原料,目前已位列我国三大粮食作物的首位,因此玉米丰产高效栽培对我国粮食安全具有重要的现实意义^[1]。氮素在玉米生长发育中作用十分重要,大量研究表明,氮肥运筹可以提高玉米的产量和氮肥利用率^[2-4]。因此,研究玉米高效利用氮肥机制,提高氮素的利用效率具有重要意义。玉米中氮素的利用效率受玉米生长发育过程中氮素的吸收、同化和再分配过程等的控制,是许多生理生化反应过程相互作用的结果^[5-6]。不同基因型玉米品种的氮素吸收与转移效率上存在着较大差异,其中绿熟品种的氮素转移效率较低,氮素利用效率较低^[7-8]。乙烯作为一种常见的植物激素,在植物生长发育及应对胁迫防御反应中起重要调控作用,且在植物吸收氮素过程中也发挥重要作用^[9]。在玉米生产中,乙烯可调控玉米根系建成与株型,有效解决了由高密、不合理氮肥施用以及品种特性等导致群体质量下降引起倒伏、产量降低等问题^[10-11]。植株响应不同氮素水平供给过程中乙烯信号也受到了调节^[9]。研究表明,外源添加 ACC 抑制了油菜根系伸长与氮素吸收,且在油菜生长后期可调控植株氮素再利用能力^[12-14]。在氮素充足的条件下,乙烯利可以提高芥菜的氮素利用效率^[15]。此外,乙烯利处理降低了夏玉米氮素吸收量和氮素吸收效率,但提高了氮素利用效率和氮农学效率,并且乙烯利与氮肥在氮吸收量、氮吸收效率和氮农学效率上有显著的互作效应^[16]。但是,玉米植株响应氮素供给过程中,乙烯调控植株生长与氮素吸收机制缺乏研究。基于玉米在幼苗期对环境胁迫反应敏感^[17],本研究通过比较研究不同氮素水平下不同基因型玉米幼苗间氮素积累差异,分析乙烯信号表达与氮素吸收的关系,结合外源添加乙烯合成前体 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC),分析乙烯对不同基因型玉米氮素吸收的调控效应。研究结果将揭示乙烯对玉米氮素吸收的调控机制,为乙烯在玉米生产中氮素高效利用中应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验选用郑单 958、瑞福尔 1 号和德美亚 3 号 3 个玉米品种作为试验材料。RNA 快速提取试剂盒购买于艾德莱生物科技有限公司;反转录使用 TaKaRa 公司反转录试剂盒;荧光定量染料为 TaKaRa 公司 TB Green Reagents。试验中使用的其他试剂是进口或国产的分析纯试剂。

1.2 试验设计

试验在中国农业大学光照培养室内进行,采用液体培养法。挑选大小均匀一致的玉米种子,在室温下用 10%过氧化氢灭菌 20 min,用去离子水冲洗 5 遍后均匀播种在干净湿润的石英沙中。当玉米幼苗长至一叶一心时,挑选长势一致的幼苗,去掉胚乳后转移至半营养液中进行培养。营养液采用改良的 Hoagland 营养液。以 KNO_3 为氮源,氮素水平设置低氮 $0.05 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ (low nitrogen level, LN) 和正常氮 $2 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ (sufficient nitrogen level, SN) 处理。在移苗 2 d 后进行 ACC 处理。ACC 处理的浓度为 $1 \mu\text{mol L}^{-1}$,氮素处理的同时添加 ACC。完全随机排列,每个处理 4 个重复。营养液每 2 d 更换一次,培养温度为 $28/22^\circ\text{C}$,光照时间为 16 h,湿度控制在大约 70%~80%。

1.3 测定内容与方法

1.3.1 干物质积累量 在氮素处理以及 ACC 处理后的第 7 天,在处理的每个组合中随机挑选 8 株幼苗,用去离子水洗净表面杂质以及残留的营养液后吸干表面水分,用剪刀将单株分为地上部和地下部。地上地下部分别装入牛皮纸袋中,放入 105 烘箱杀青 20 min,之后放入 65 烘箱烘干至恒重,称量记干重(g)。

1.3.2 全氮含量 将 1.3.1 中烘干称重完毕的样品研磨粉碎过 45 目筛。样品按照凯氏定氮法进行全氮测定,具体方法参考 Bremner 和 Mulvaney^[18]。样品全氮含量(mg) = 样品氮浓度(mg g^{-1}) $\times$ 样品干重(g)。

1.3.3 叶绿素含量 取氮素处理 5 d 后的叶片, 剪碎后混匀, 用天平准确称取 0.2 g 后放入液氮中, 然后用提前预冷的 95%乙醇研磨, 用滤纸过滤到 50 mL 离心管, 定容至 25 mL。取过滤后的溶液用紫外/可见光分光光度计双波长(665 nm 和 649 nm)测量模式进行测定。根据测量的吸光值计算叶绿素 a 和叶绿素 b 的浓度。 $C_a = 13.95A_{665} - 6.88A_{649}$; $C_b = 24.96A_{649} - 7.32A_{665}$; $C_T = C_a + C_b$ 。

1.3.4 可溶性蛋白含量 取玉米幼苗氮素处理 3 d 后的新叶和胚根, 用去离子水冲洗后用吸水纸擦干, 用剪刀剪碎, 每个样品取 0.2 g, 每个处理取 3 个重复。采用考马斯亮蓝 G-250 法进行可溶性蛋白测量。

1.3.5 乙烯释放速率 在 ACC 处理 6 d 后对玉米幼苗进行取样, 分别取不同处理下的玉米幼苗地上部和地下部分, 立即将其放入 8 mL 青霉素小瓶中, 然后在小瓶中加入去离子水浸泡过的滤纸保持湿润, 盖上盖子并用封口膜封住, 密闭室温黑暗下放置 2 h。然后取已抽真空的 12 mL 真空集气瓶, 用排水法将青霉素小瓶中气体全部收集。取出样品并称取鲜重。

用 Shimadzu GC-2010 气相色谱仪测定乙烯含量。乙烯释放速率($\text{nmol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$) = $A \times a \times V \div T \div M$, 其中, A 为乙烯峰面积; a 为乙烯标准曲线斜率, 值为 $0.0236 \text{ nmol mL}^{-1}$; V 为容器体积(mL); T 为密闭孵育时间(h); M 为样品鲜重(g)。

1.3.6 基因表达量测定 取玉米幼苗氮素与 ACC 处理 12 h 后的根尖, 将样品立即置于液氮中, 后保存在-80 冰箱中。采用艾德莱生物科技有限公司植物 RNA 快速提取试剂盒进行玉米总 RNA 的提取, 置于-80 冰箱中保存。采用 TaKaRa 公司反转录试剂盒反转录成 cDNA。反转录后的产物稀释 10 倍作为模板 cDNA。使用 TaKaRa 公司 TB Green Reagents 荧光染料, 采用 ABI-7500 fast PCR 仪进行 Real-time PCR 反应。以 *ZmUbiquitin* 为内参, 测定相关基因的表达量(表 1)。反应体系为 15 μL , 含 TB Green 7.5 μL , 正向和反向引物各 0.3 μL , ddH₂O 5.1 μL , ROX Reference Dye II 0.3 μL , cDNA 模板 1.5 μL 。采用两步法 PCR 反应程序。根据样品的特定荧光阈值下的 Ct 值, 利用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算方法计算得到不同样品的基因相对表达量。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 qRT-PCR primer sequences

引物名称 Primer name	正向引物 Forward primer (5'-3')	反向引物 Reverse primer (5'-3')
<i>ZmUbiquitin</i>	CTGGTGCCCTCTCTCCATATGG	CAACACTGACACGACTCATGACA
<i>ZmACO15</i>	AGCGGCGGCGACGCATACC	GGAGATGACTTGGGCGCTGCAA
<i>ZmACS7</i>	CGACGCCTTATTACCCAGCT	AGGGGTTGGTGATGAGGATG
<i>ZmNRT2.1</i>	GGCTACATCACCGTCAGGTT	CGATGATCTTGCTGCTGAAC
<i>ZmNRT1.1a</i>	TGGGATTCTTCGTCAGCTCC	GCCTTGTACTIONGTACCAGCG

1.4 统计分析

采用 Microsoft Excel 2016 进行数据处理与图表制作, 处理后的数据采用 R x64 3.6.2 进行统计分析, 图中不同小写字母表示不同品种不同处理间差异达到显著性水平($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 ACC 处理对不同基因型玉米植株干物质积累和根冠比的调控

LN 处理抑制不同基因型玉米植株地下部和地上部干物质的积累(图 1-A, B), 但郑单 958 无论在 LN 或 SN 条件下植株地上部和地下部生物量均高于德美亚 3 号和瑞福尔 1 号。而且, ACC 处理抑制 LN 和 SN 培养条件下不同基因型玉米植株地上与地下

部干物质积累。此外, 与 SN 比较, LN 处理显著增加了不同基因型玉米植株根冠比(图 1-C)。ACC 处理均提高了 LN 或 SN 条件下不同基因型玉米植株根冠比。

2.2 ACC 处理对不同基因型玉米植株氮素积累的调控

LN 处理显著降低不同基因型玉米植株地上和地下部氮素的积累, 而且德美亚 3 号和瑞福尔 1 号植株在 LN 和 SN 条件下的氮素积累量均显著低于郑单 958 (图 2)。ACC 处理显著降低了 LN 和 SN 条件下不同基因型植株地上和地下部的氮素积累。

2.3 ACC 处理对不同基因型玉米叶片可溶性蛋白和叶绿素含量的调控

与 SN 比较, LN 处理显著降低了不同基因型玉

图 1 不同氮素供给条件下 ACC 处理对不同基因型玉米植株干重与根冠比的影响

Fig. 1 Effects of ACC on the dry weight and the ratio of root and shoot in different maize genotypes under different nitrogen treatments

A 和 B 分别为 ACC 处理 7 d 后不同基因型玉米植株在不同氮素条件下根系和地上部的干重; C 为 ACC 处理 7 d 后不同基因型玉米植株在不同氮素条件下的根冠比。

A and B indicate the dry weight of roots and shoots of different maize genotypes under the different nitrogen conditions after 7 days of ACC treatment, respectively; C indicates the root-to-shoot ratio of different maize genotypes under different nitrogen conditions after 7 days with ACC treatment. LN: low nitrogen level; SN: sufficient nitrogen level.

米植株叶片可溶性蛋白和叶绿素含量(图 3), 其中郑

单 958 叶片中可溶性蛋白和叶绿素含量均显著高于其他 2 个品种, 而且德美亚 3 号在 LN 条件下叶片叶绿素含量下降最大, 表明其比其他 2 个品种对氮素更为敏感。在 SN 条件下, ACC 处理显著促进了各基因型叶片可溶性蛋白和叶绿素积累。与其相反, 在 LN 条件下, ACC 处理显著降低了各基因型叶片可溶性蛋白和叶绿素积累, 其中福尔 1 号和德美亚 3 号叶片可溶性蛋白和叶绿素含量降低幅度大于郑单 958。

2.4 ACC 对不同基因型玉米植株乙烯释放速率调控

与 SN 比较, LN 处理显著降低了不同基因型玉米植株叶片乙烯释放量速率(图 4)。ACC 处理显著促进 LN 和 SN 条件下不同基因型植株叶片乙烯释放率, 并且德美亚 3 号和瑞福尔 1 号植株受 ACC 处理调控影响较大。

2.5 ACC 对不同基因型玉米植株乙烯合成限速酶表达的调控

与 SN 比较, LN 处理显著抑制不同基因型玉米植株根系中 *ZmACO15* 与 *ZmACS7* 的表达(图 5)。同时, 在 LN 条件下, ACC 处理促进了不同基因型玉米植株根系中 *ZmACO15* 与 *ZmACS7* 的表达, 相反, 在 SN 条件下, ACC 处理抑制不同基因型玉米根中 *ZmACO15* 与 *ZmACS7* 的表达。另外, 在 LN 或 SN 条件下, 瑞福尔 1 号和德美亚 3 号与郑单 958 相比, 根中 *ZmACO15* 与 *ZmACS7* 的表达较低。

2.6 ACC 对不同基因型玉米植株硝酸盐转运蛋白表达的调控

LN 处理显著影响硝酸盐转运蛋白的表达, 其中 LN 处理显著诱导 *ZmNRT2.1* 在不同基因型玉米根中的表达, 但对 *ZmNRT1.1a* 表达影响较小(图 6)。与郑单 958 相比, 瑞福尔 1 号和德美亚 3 号根中 *ZmNRT2.1* 的表达受硝酸盐诱导较小。在 LN 条件下, ACC 促进不同基因型玉米根中 *ZmNRT2.1* 的表达, 相反, 在 SN 条件下, ACC 抑制其根中 *ZmNRT2.1* 的表达。与 *ZmNRT2.1* 不同, 硝酸盐与 ACC 处理对 *ZmNRT1.1a* 在不同基因型玉米根中的表达影响较小。

3 讨论

3.1 ACC 对不同基因型玉米幼苗响应氮素供给过程中形态建成的调控

3 个玉米品种在 LN 条件下第 7 天地上部和地下部干重明显降低, 但根冠比增加。前人研究表明, 玉

图 2 不同氮素供给条件下 ACC 处理对不同基因型玉米植株氮素积累的影响

Fig. 2 Effects of ACC on nitrogen accumulation of shoots (A) and roots (B) of different maize genotypes under different nitrogen levels

LN: low nitrogen level; SN: sufficient nitrogen level.

图 3 不同氮素供给条件下 ACC 处理对不同基因型玉米叶片可溶性蛋白(A)和叶绿素含量(B)的影响

Fig. 3 Effects of ACC on the soluble protein content (A) and chlorophyll content (B) of different maize genotypes under different nitrogen levels

LN: low nitrogen level; SN: sufficient nitrogen level.

图 4 不同氮素供给条件下 ACC 处理对不同基因型玉米乙烯释放速率影响

Fig. 4 Effects of ACC on the ethylene release rate of different maize genotypes under different nitrogen levels

LN: low nitrogen level; SN: sufficient nitrogen level.

米植株响应氮胁迫的典型反应是通过增加根部表面

积和减少地上部的生长方式来提高同化物从地上部到地下部的转运,从而显著增加根冠比^[19]。ACC 处理显著降低 3 个品种地上部和地下部的干重,乙烯可以降低玉米株高,这与表型是相符合的。与郑单 958 相比,ACC 处理 7 d 后,瑞福尔 1 号和德美亚 3 号在 LN 条件下叶片先出现黄化早衰表型。这一结果表明郑单 958 较瑞福尔 1 号和德美亚 3 号耐低氮胁迫,瑞福尔 1 号和德美亚 3 号在 LN 条件下对乙烯更敏感。

3.2 乙烯对不同基因型玉米品种响应低氮胁迫过程中氮素积累与生理生化指标调控

外源添加 ACC 处理会显著提高 3 个玉米品种在 LN 和 SN 下的叶片乙烯释放量,乙烯可以加速叶片衰老,这与表型也是相一致的。叶绿素降解和蛋白质含量的降低是植物衰老的典型特征。LN 处理会显著降低玉米幼苗地上部和地下部的氮素积累量、叶

图 5 不同氮素供给条件下 ACC 处理对不同基因型玉米乙烯合成关键酶 *ZmACO15* (A) 和 *ZmACS7* (B) 表达的影响

Fig. 5 Effects of ACC on the expression levels of *ZmACO15* (A) and *ZmACS7* (B) of different maize genotypes under different nitrogen levels

LN: low nitrogen level; SN: sufficient nitrogen.

图 6 不同氮素供给条件下 ACC 处理对不同基因型玉米氮转运蛋白 *ZmNRT2.1* (A) 和 *ZmNRT1.1a* (B) 表达的影响

Fig. 6 Effects of ACC on the expression levels of *ZmNRT2.1* (A) and *ZmNRT1.1a* (B) of different maize genotypes under different nitrogen levels

LN: low nitrogen level; SN: sufficient nitrogen level.

叶片叶绿素含量和可溶性蛋白含量。叶绿素的合成与氮的再利用和氮的同化相关,而且处在营养生长阶段的植物,在氮胁迫的条件下会将营养物质和代谢产物由老叶向新叶转移^[20-21],因此老叶叶片中的叶绿素含量在 LN 条件下会降低。与瑞福尔 1 号和德美亚 3 号相比,郑单 958 在 LN 条件下,叶片叶绿素含量较高,耐低氮胁迫,这与表型相一致。外源添加 ACC 处理通过降低 LN 下叶片叶绿素含量,加速玉米叶片的衰老。但是在 SN 条件下添加 ACC 处理提高叶片中叶绿素含量,ACC 处理抑制玉米生长,提高单位叶面积内叶绿素的含量。通过测定叶片可溶性蛋白含量发现, LN 处理显著降低 3 个品种叶片可溶性蛋白的含量,植物通过大量减少体内最丰富的蛋白质来减少氮的消耗^[20]。在 LN 条件下,郑单 958

叶片可溶性蛋白含量显著高于瑞福尔 1 号和德美亚 3 号,这与郑单 958 较其他 2 个品种耐低氮的表型相一致。外源添加 ACC 处理通过降低叶片中可溶性蛋白含量加快玉米叶片的衰老。ACC 处理显著升高 3 个品种地上部氮浓度,但会降低地上部和地下部的全氮含量,氮浓度升高但含量降低,这与 ACC 处理显著降低植株干重有关。

3.3 乙烯对不同基因型玉米品种响应氮素胁迫过程乙烯合成关键基因及硝酸盐转运蛋白基因表达调控

高等植物中存在 2 种硝酸盐转运系统,即高亲和转运系统(high affinity transport system, HATS)和低亲和转运系统(low affinity transport system, LATS)^[22-23]。*NRT2.1* 是 *NRT2* 家族中负责高亲和和硝

酸盐吸收最重要的转运体,在大多数情况下发挥吸收 NO_3^- 的功能。*AtNRT2.1* 缺失突变体 *atnrt2.1* 中,高亲和硝酸盐吸收活性显著降低^[24]。小麦 *TaNRT2.1* 和黄瓜 *CrNRT2.1* 同样具有硝酸盐转运功能^[25-26]。*ZmNRT2.1* 与玉米表皮吸收和转运高亲和力硝酸盐这一过程有关^[27]。乙烯通过调控 *AtNRT1.1* 或 *AtNRT2.1* 的表达影响根系发育与氮素吸收,如乙烯信号突变体 *etr1-3* 和 *ein2-1* 中 *AtNRT1* 和 *AtNRT2.1* 的表达对氮素敏感性降低,且乙烯负调控 *AtNRT2.1* 的表达,减少高亲和 NO_3^- 吸收^[28-29]。ACO 和 ACS 作为乙烯合成过程中的关键限速酶,其基因表达量影响着植物产生乙烯水平。乙烯的合成主要由 ACS 调控,同时 ACO 对乙烯的合成也起着调控作用,乙烯处理导致乙烯合成增加^[30]。前人研究发现植物在遇到环境胁迫时会下调或上调 ACS 基因的表达^[31],当在一些植物中添加乙烯合成前体 ACC,也可以观察到乙烯的产生明显增加^[32]。我们研究发现, LN 处理显著抑制 3 个玉米品种根中 *ZmACS7* 和 *ZmACO15* 的表达,抑制根系乙烯的释放,外源添加 ACC 处理促进 LN 条件下 3 个品种根中 *ZmACS7* 和 *ZmACO15* 的表达,促进乙烯的释放。因此我们推测, ACC 处理是否也可以通过调控玉米硝酸盐 *ZmNRT2.1* 和 *ZmNRT1.1* 的表达影响根系氮素吸收?通过测定玉米硝酸盐转运蛋白的表达发现, LN 处理显著抑制 3 个玉米品种根中 *ZmNRT2.1* 的表达,郑单 958 根中 *ZmNRT2.1* 表达显著高于瑞福尔 1 号和德美亚 3 号,这一结果与低氮下郑单 958 较瑞福尔 1 号和德美亚 3 号耐低氮胁迫表型相一致。ACC 处理促进 LN 下 3 个品种根中 *ZmNRT2.1* 的表达,而且,与瑞福尔 1 号和德美亚 3 号相比, ACC 处理对 LN 条件下郑单 958 根中 *ZmNRT2.1* 诱导较高,这一结果与外源添加 ACC 促进 LN 下瑞福尔 1 号和德美亚 3 号叶片早衰结果相一致。在 LN 下,乙烯可能通过反馈调节 *ZmNRT2.1* 的表达,促进根系硝酸盐的吸收,延缓玉米叶片的衰老。与 *NRT2.1* 不同, *NRT1.1* 在拟南芥中为双亲和转运蛋白。玉米中与 *AtNRT1.1* 同源的基因有 4 个, *ZmNRT1.1a* 具有吸收硝酸盐功能,且表达不受硝酸盐的调控^[28]。我们研究发现,硝酸盐与 ACC 处理对 *ZmNRT1.1a* 在 3 个品种玉米根中的表达影响较小。以上结果表明, LN 处理可能通过抑制乙烯合成,乙烯通过调控 *ZmNRT2.1* 表达影响不同基因型玉米品种响应氮素过程中叶片的衰老。

4 结论

在 LN 条件下,与郑单 958 相比,瑞福尔 1 号和德美亚 3 号对氮素胁迫反应更迅速,早衰表型更明显。外源添加 ACC 处理通过降低 LN 条件下叶片全氮含量、叶绿素含量以及可溶性蛋白含量加快瑞福尔 1 号和德美亚 3 号早衰表型。LN 处理显著抑制玉米根系乙烯合成关键酶 *ZmACS7* 和 *ZmACO15* 表达,降低乙烯含量,外源添加 ACC 处理促进 LN 下 *ZmACS7* 和 *ZmACO15* 表达,促进乙烯合成。乙烯参与调控 *ZmNRT2.1* 的表达影响氮素吸收, LN 条件下,郑单 958 根系中 *ZmNRT2.1* 的表达量显著高于瑞福尔 1 号和德美亚 3 号,从而促进氮素吸收,延缓叶片衰老。LN 条件下, ACC 处理加速玉米叶片的衰老并调节了乙烯合成,进而调控 *ZmNRT2.1* 的表达调控氮素吸收。

References

- [1] 崔爱民, 张久刚, 张虎, 单皓, 陈伟. 我国玉米生产现状及发展变革. 中国农业科技导报, 2020, 22(7): 10-19.
- [2] Cui A M, Zhang J G, Zhang H, Shan H, Chen W. Preliminary exploration on current situation and development of maize production in China. *J Agric Sci Technol*, 2020, 22(7): 10-19 (in Chinese with English abstract).
- [3] 侯云鹏, 孔丽丽, 杨建, 尹彩侠, 秦裕波, 李前, 于雷, 王立春, 谢佳贵. 氮肥运筹对春玉米产量、养分吸收和转运的影响. 玉米科学, 2016, 24(4): 137-143.
- [4] Hou Y P, Kong L L, Yang J, Yin C X, Qin Y B, Li Q, Yu L, Wang L C, Xie J G. Effects of nitrogen fertilizer management on yield, nutrient absorption and translocation of spring maize. *J Maize Sci*, 2016, 24(4): 137-143 (in Chinese with English abstract).
- [5] 银敏华, 李援农, 李昊, 徐袁博, 周昌明, 张天乐. 氮肥运筹对夏玉米根系生长与氮素利用的影响. 农业机械学报, 2016, 47(6): 129-138.
- [6] Yin M H, Li Y N, Li H, Xu Y B, Zhou C M, Zhang T L. Effects of nitrogen application rates on root growth and nitrogen use of summer maize. *Trans CSAM*, 2016, 47(6): 129-138 (in Chinese with English abstract).
- [7] 张丽丽, 齐华, 樊叶, 杨海龙, 付俊, 许淑娟, 景希强, 王璞. 氮肥后移对玉米冠层内物质分配及氮素利用的影响. 玉米科学, 2017, 25(1): 127-132.
- [8] Zhang L L, Qi H, Fan Y, Yang H L, Fu J, Xu S J, Jing X Q, Wang P. Effects of postponing N application on dry matter accumulation and nitrogen utilization in maize canopy. *J Maize Sci*, 2017, 25(1): 127-132 (in Chinese with English abstract).
- [9] Ciampitti I A, Vyn T J. Grain nitrogen source changes over time in maize: a review. *Crop Sci*, 2013, 53: 366-377.
- [10] Chen Y L, Xiao C X, Chen X C, Li Q, Zhang J, Chen F J, Yuan L X, Mi G H. Characterization of the plant traits contributed to high grain yield and high grain nitrogen concentration in maize. *Field Crops Res*, 2014, 159: 1-9.

- [7] Chen Y L, Xiao C X, Wu D L, Xia T T, Chen Q W, Chen F J, Yuan L X, Mi G H. Effects of nitrogen application rate on grain yield and grain nitrogen concentration in two maize hybrids with contrasting nitrogen remobilization efficiency. *Eur J Agron*, 2015, 62: 79–89.
- [8] 郭松, 孙文彦, 顾日良, 王章奎, 陈范骏, 赵秉强, 袁力行, 米国华. 两个玉米品种灌浆期叶片氮转移效率差异的分子机制. *植物营养与肥料学报*, 2018, 24: 1149–1157.
Guo S, Sun W Y, Gu R L, Wang Z K, Chen F J, Zhao B Q, Yuan L X, Mi G H. Differences in leaf nitrogen remobilization efficiency and related gene expression during grain filling stage of two maize hybrids. *Plant Nutr Fert Sci*, 2018, 24: 1149–1157 (in Chinese with English abstract).
- [9] Khan M I R, Trivellini A, Fatma M, Masood A, Francini A, Iqbal N, Ferrante A, Khan N A. Role of ethylene in responses of plants to nitrogen availability. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 1–20.
- [10] Shekoofa A, Emam Y. Plant growth regulator (ethephon) alters maize (*Zea mays* L.) growth, water use and grain yield under water stress. *J Agron*, 2008, 7: 41–48.
- [11] Ye D L, Zhang Y S, Al-Kaisi M M, Duan L S, Zhang M C, Li Z H. Ethephon improved stalk strength associated with summer maize adaptations to environments differing in nitrogen availability in the North China Plain. *J Agric Sci*, 2016, 154: 960–977.
- [12] 余音, 卢胜, 宋海星, 官春云, 陈柯豪, 张振华. ACC对不同氮效率油菜生长后期硝态氮再利用的调控机理. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23: 1378–1386.
Yu Y, Lu S, Song H X, Guan C Y, Chen K H, Zhang Z H. Regulation mechanisms of NO_3^- re-utilization by ACC at later growth stages of *Brassica napus*. *Plant Nutr Fert Sci*, 2017, 23: 1378–1386 (in Chinese with English abstract).
- [13] Leblanc A, Renault H, Lecourt J, Etienne P, Deleu C, Le D E. Elongation changes of exploratory and root hair systems induced by aminocyclopropane carboxylic acid and aminoethoxyvinylglycine affect nitrate uptake and *BnNrt2.1* and *BnNrt1.1* gene expression in oil rape. *Plant Physiol*, 2008, 146: 1928–1940.
- [14] Leblanc A, Segura R, Deleu C, Le D E. In low transpiring conditions, uncoupling the *BnNrt2.1* and *BnNrt1.1* NO_3^- transporters by glutamate treatment reveals the essential role of *BnNRT2.1* for nitrate uptake and the nitrate-signalling cascade during growth. *Plant Signal Behav*, 2013, 8: e22904.
- [15] Iqbal N, Nazar R, Syeed S, Masood A, Khan N A. Exogenously-sourced ethylene increases stomatal conductance, photosynthesis, and growth under optimal and deficient nitrogen fertilization in mustard. *J Exp Bot*, 2011, 62: 4955–4963.
- [16] 叶德练, 王玉斌, 周琳, 李建民, 段留生, 张明才, 李召虎. 乙烯和氮肥对夏玉米氮素吸收与利用及产量的调控效应. *作物学报*, 2015, 41: 1701–1710.
Ye D L, Wang Y B, Zhou L, Li J M, Duan L S, Zhang M C, Li Z H. Effect of ethephon and nitrogen fertilizer on nitrogen uptake, nitrogen use efficiency and yield of summer maize. *Acta Agron Sin*, 2015, 41: 1701–1710 (in Chinese with English abstract).
- [17] Kurtyka R, Małkowski E, Kita A, Karcz W. Effect of calcium and cadmium on growth and accumulation of cadmium, calcium, potassium and sodium in maize seedlings. *Pol J Environ Stud*, 2008, 17: 51–56.
- [18] Bremner J M, Mulvaney C S. *Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. Madison, WI: Soil Science Society of America, Inc., 1982. pp 595–624.
- [19] Abdel-Ghani A H, Kumar B, Reyes-Matamoros J, Gonzalez-Portilla P J, Jansen C, Martin J P S, Lee M, Lübberstedt T. Genotypic variation and relationships between seedling and adult plant traits in maize (*Zea mays* L.) inbred lines grown under contrasting nitrogen levels. *Euphytica*, 2013, 189: 123–133.
- [20] Schlüter U, Mascher M, Colmsee C, Scholz U, Bräutigam A, Fahnenstich H, Sonnewald U. Maize source leaf adaptation to nitrogen deficiency affects not only nitrogen and carbon metabolism but also control of phosphate homeostasis. *Plant Physiol*, 2012, 160: 1384–1406.
- [21] Coque M, Martin A, Veyrieras J B, Hirel B, Gallais A. Genetic variation for N-remobilization and postsilking N-uptake in a set of maize recombinant inbred lines: 3. QTL detection and coincidences. *Theor Appl Genet*, 2008, 117: 729–747.
- [22] Lee R B, Drew M C. Nitrogen-13 studies of nitrate fluxes in barley roots. *J Exp Bot*, 1986, 185: 1768–1779.
- [23] Tsay Y F, Chiu C C, Tsai C B, Ho C H, Hsu P K. Nitrate transporters and peptide transporters. *FEBS Lett*, 2007, 581: 2290–2300.
- [24] Li W, Wang Y, Okamoto M, Crawford N M, Siddiqi M Y, Glass A D M. Dissection of the *AtNRT2.1*: *AtNRT2.2* inducible high-affinity nitrate transporter gene cluster. *Plant Physiol*, 2007, 143: 425–433.
- [25] Taulemesse F, Le Gouis J, Gouache D, Gibon Y, Allard V. Post-flowering nitrate uptake in wheat is controlled by N status at flowering, with a putative major role of root nitrate transporter NRT2.1. *PLoS One*, 2015, 10: e0120291.
- [26] Li Y, Li J Q, Yan Y, Liu W Q, Zhang W N, Gao L H, Tian Y Q. Knock-down of *csNRT2.1*, a cucumber nitrate transporter, reduces nitrate uptake, root length, and lateral root number at low external nitrate concentration. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 1–13.
- [27] Trevisan S, Borsa P, Botton A, Varotto S, Malagoli M, Ruperti B, Quaggiotti S. Expression of two maize putative nitrate transporters in response to nitrate and sugar availability. *Plant Biol (Stuttg)*, 2008, 10: 462–475.
- [28] Tian Q Y, Sun P, Zhang W H. Ethylene is involved in nitrate-dependent root growth and branching in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 2009, 184: 918–931.
- [29] Zheng D C, Han X, An Y, Guo H W, Xia X L, Yin W. The nitrate transporter NRT2.1 functions in the ethylene response to nitrate deficiency in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 2013, 36: 1328–1337.
- [30] Johnson P R, Ecker J R. The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective. *Annu Rev Genet*, 1998, 32: 227–254.
- [31] Tsuchisaka A, Theologis A. Unique and overlapping expression patterns among the *Arabidopsis* 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate synthase gene family members. *Plant Physiol*, 2004, 136: 2982–3000.
- [32] Yang S, Hoffman N. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol*, 1984, 35: 155–189.