

不同供氮方式下苹果矮化砧M9T337幼苗生长及内源激素的响应

彭玲, 于波, 陈倩, 葛顺峰*, 姜远茂*

作物生物学国家重点实验室, 山东农业大学园艺科学与工程学院, 山东泰安271018

摘要: 以苹果(*Malus domestica*)矮化砧M9T337幼苗为试材, 研究了5种不同供氮方式(NO_3^- -N浓度由低变高、 NO_3^- -N浓度由高变低、持续适量供氮、持续低氮及持续高氮, 分别以N1、N2、N3、N4和N5表示)对苹果幼苗生物量、根系形态、内源激素含量及根系硝态氮转运蛋白基因*NRT1.1*和*NRT2.1*相对表达量的影响。结果表明, 与N3处理相比, N4处理根冠比增加了11.11%, 而N5处理降低了28.57%。处理第21天, N3处理总根长、总表面积及根长密度最大, 其次为N2处理, 最小的为N5处理, 而叶面积为 $\text{N3} > \text{N5} > \text{N2} > \text{N1} > \text{N4}$ 。处理7 d后, N4处理根系吲哚乙酸(IAA)含量显著高于N5处理, 而叶片IAA含量显著低于N5处理。N2处理在 NO_3^- -N浓度变换11 d内根系IAA含量增加了16.68%, 叶片IAA含量降低了20.90%; N1处理趋势相反。处理21 d内, N5处理根系和叶片玉米素(Z)和玉米素核苷(ZR)含量均显著高于N4处理。各处理根系脱落酸(ABA)含量在处理第21天时无显著差异, 而叶片ABA含量为 $\text{N4} > \text{N2} > \text{N1} > \text{N5} > \text{N3}$ 。N4处理根系*NRT1.1*的相对表达量在处理7 d后显著高于N5处理, 且N4处理1 d后显著诱导了根系*NRT2.1*的表达。由此推测, 与高氮相比, 低氮下苹果幼苗IAA从地上部向根系极性运输增加, Z和ZR含量降低, 叶片ABA含量积累, 根系*NRT1.1*和*NRT2.1*相对表达量提高, 可能是苹果幼苗在不同 NO_3^- -N浓度下生长差异的重要原因。

关键词: 苹果; 根系; 硝态氮; 内源激素; 基因表达

氮是调节植物生长发育的必需营养元素之一, 在作物的物质和能量代谢中发挥着重要作用(李建勇和龚继明2011)。硝态氮(NO_3^- -N)是旱地土壤上最易被植物吸收利用的氮素营养, 研究发现, NO_3^- -N不仅是植物营养的主要氮源, 还可以作为信号物质在诱导叶片扩展、调控侧根发育和诱导相关基因表达等方面发挥重要作用(Alboresi等2005; 张合琼等2016)。 NO_3^- -N对植物生长及氮代谢的影响较为复杂, 植物对 NO_3^- -N浓度的变化也呈现出不同的生理和形态特性。低浓度 NO_3^- -N下, 拟南芥细根直径变小, 比根长增加, 分枝角减小。而供应高浓度 NO_3^- -N导致拟南芥总根长下降, 侧根数量明显减少(Zhang等2007)。与高氮相比, 低氮胁迫下油菜幼苗的氮素和干物质积累显著下降, 但氮素利用效率显著升高(荣楠等2017), 表明植物对外源不同浓度 NO_3^- -N的响应机制存在较大差异。作物的氮高效利用一直是植物学研究的重点和热点内容, 在5种苹果(*Malus domestica*)砧木及苹果幼树上的研究发现苹果是喜硝植物(王海宁等2012; 李晶等2013), 因此, 深入了解苹果植株在不同 NO_3^- -N供应条件下的生长差异及其生理学及形态学机制, 对提高苹果植株的氮肥吸收利用效率具有重要理论和实践指导意义。

植物在长期进化过程中形成了感知和捕获养

分的复杂机制, 植物激素与氮素信号途径间存在互作关系, 根际/根内氮状况信号以及地上部植株氮营养状况信号可通过多种激素信号途径传导, 共同控制调节植物的生长发育。低氮处理增加玉米根中吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)水平, IAA通过一氧化氮介导的信号途径促进主胚根和轴根的伸长(Zhao等2007)。在玉米上增加 NO_3^- -N引起细胞分裂素(cytokinin, CTK)含量的增加, 从而促进叶面积的扩展(Takei等2001)。而高氮下, CTK一方面拮抗生长素的作用, 另一方面可促进乙烯的产生, 从而抑制根的伸长(Mi等2010)。氮素营养充足, 植物叶片中脱落酸(abscisic acid, ABA)水平降低, 诱导气孔开放, 光合速率增加(Garcia和Lammattia 2002); 同时, 在高浓度 NO_3^- -N调节侧根发育过程中, ABA可能作为信号物质起作用(邢国芳等2015)。除激素外, 许多转运蛋白基因可通过调控 NO_3^- -N的吸收系统进而影响植物生长。*NRT1.1*不仅扮演外源 NO_3^- -N传感器的角色, 在低氮条件下

收稿 2017-10-09 修订 2018-01-03

资助 国家重点研发计划项目(2016YFD0201100)、国家自然科学基金项目(31501713)、国家现代农业产业技术体系建设资金项目(CARS-27)、山东省自然科学基金项目(ZR2015PC001)。

* 共同通讯作者: 葛顺峰(geshunfeng210@126.com)、姜远茂(yjmjiang@sdau.edu.cn)。

为高亲和性并主要负责根尖部位硝酸盐的吸收(Glass等2001),而*NRT2.1*是根成熟区吸收转运硝酸盐的主力军(Nazoa等2003)。此外,业已证明*NRT1.1*和*NRT2.1*在植物根系形态建成中均发挥重要作用。因此,研究不同浓度 NO_3^- -N下硝酸盐转运蛋白表达的差异及各种内源激素调控的机制,有助于增强植物对 NO_3^- -N营养的吸收利用效率,进而更好地促进其生长发育。

实现优质、高产、稳产是苹果栽培管理的核心,但目前我国苹果生产上氮肥施用标准不明确,偏施氮肥,施肥不足和超量并存等问题导致氮素利用率低、贮藏营养不足,后期脱肥等问题并发,继而出现产量不稳、果品质量下降等问题。因此,研究苹果植株响应氮信号的机理,对协调苹果优质高产与氮肥高效利用两者间的矛盾具有重要意义。以往对苹果氮素营养的研究主要集中在不同施氮期(Dong等2004;丁宁等2016)及施氮量(李晶等2015;孙聪伟等2015)对苹果氮素吸收和利用、产量高低、品质优劣及土壤质量和环境污染等方面(赵佐平等2013),虽然国内外对氮素营养和信号转导进行过大量研究,但也主要集中在拟南芥、玉米和大麦等作物上,而关于 NO_3^- -N诱导苹果根系结构的变化及地上部生长的机制尚不明确,通过观测幼苗在氮素浓度变换后产生的生理及形态学上的改变更能充分了解植株对不同氮浓度响应的机制。本试验以M9T337矮化自根砧苹果幼苗为试材,首先对不同 NO_3^- -N浓度及变换方式下苹果幼苗根系形态及地上部生长的响应进行研究,然后分析了不同 NO_3^- -N供应方式下苹果幼苗内源激素的变化及硝态氮转运蛋白基因*NRT1.1*和*NRT2.1*表达的差异,旨在揭示苹果幼苗对不同 NO_3^- -N水平的响应机制,为今后果树生产上氮素高效吸收利用及氮肥优化管理提供依据和参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

试验于2017年3~6月在山东农业大学园艺试验站进行。供试苹果(*Malus domestica* Borkh.)试材为M9T337矮化自根砧幼苗。选取生长一致的幼苗定植于泡沫板上,每板15孔,每孔定植1株。为使幼苗逐渐适应营养液,先用1/2Hoagland营养液培养7 d,然后转入全浓度Hoagland营养液,每隔2 d

换一次营养液。待幼苗长至10~12片真叶时,选取生长一致的幼苗用蒸馏水进行饥饿处理7 d,以消耗幼苗中积累的硝态氮。

正式试验处理后采用全硝态氮 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 为唯一氮源。先将幼苗在低氮($0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ -N)、适量供氮($5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ -N)及高氮($25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ -N)下培养10 d,然后设置 NO_3^- -N浓度从低变高(由 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 变为 $25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, N1)、从高变低(由 $25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 变为 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, N2)、持续适量供氮(N3)、持续低氮(N4)及持续高氮处理(N5)继续再培养11 d。在低浓度 NO_3^- -N处理中,用 CaCl_2 将 Ca^{2+} 补充到和 $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ -N处理相同的钙水平。每个处理90株幼苗,试验所用溶液均用蒸馏水配制,期间每隔2 d换一次营养液,每天用通气泵定时通气12 h。用 H_3PO_4 或 NaOH 将营养液pH调至 6.0 ± 0.1 ,每个处理均加硝化抑制剂双氰胺。于正式试验处理后的第21天进行整株取样分析,另分别于正式试验处理后的第1、3、7、11、13、17和21天进行局部取样分析。每处理6次重复。

1.2 植株解析样品及叶面积的测定

将苹果幼苗解析成根、茎、叶三部分,放入牛皮纸信封 105°C 杀青30 min, 80°C 烘干至恒重,用万分之一电子天平称量各器官的干物质量,计算根冠比。用叶面积仪(YMJ-B, Konica Minolta, Japan)测定每处理单叶的叶片面积。

1.3 根系形态测定

根系经清水冲洗后用透射扫描仪(ESPON Perfection V750)对根系样品进行扫描,获取单株苹果幼苗根系图像,再利用WinRHIZO (Regent Instruments Inc., Canada)根系分析软件进行根系总长度、总表面积、总体积和根尖数分析,并计算每个样品根长密度。

1.4 内源激素的提取和测定

内源激素采用酶联免疫吸附剂测定法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)测定。将距离根尖末端2 cm左右处的根系和距离顶芽末端2~3 cm处的嫩叶全部取样,剪碎混匀。称取0.5 g样品,加入预冷的95%甲醇5 mL,冰浴研磨离心后取上清液,过 C_{18} 胶柱,过滤液用于免疫测定。ELISA试剂盒由上海邦奕生物公司提供。各处理重复6次。

1.5 根系硝酸盐转运蛋白基因表达的分析

取100 mg样品在液氮中迅速研磨成粉末,采

用TRIzol Reagent (Invitrogen)抽提样品RNA, 电泳检测RNA的完整性, 并用核酸仪测定其纯度。利用5×All-In-One RT Master Mix (ABM, Canada)试剂盒反转录成cDNA。根据苹果数据库(<https://www.rosaceae.org/>) *NRT1.1*和*NRT2.1*基因的全长序列, 利用Primer 3.0设计并合成目的基因的特异引物(表1), 以cDNA为模板, *Actin*基因为内参, 参考EvaGreen Express 2×qPCR Master Mix (ABM, Canada)试剂盒的操作步骤, 进行实时荧光定量PCR扩增检测目的基因的转录水平。反应程序如下: 95°C预变性30 s; 95°C变性5 s, 60~65°C退火30 s, 72°C延伸20~30 s, 45个循环。所有PCR都设3次生物学重复和3次技术重复。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对实时荧光定量PCR扩增数据进行分析。

1.6 数据处理

采用Excel 2003对数据进行统计分析, 用DPS 7.05数据处理系统进行单因素方差分析, 多重比较采用LSD法。利用Excel 2003软件作图, 图表中数据为平均值±标准差。

2 实验结果

2.1 不同供氮方式对苹果矮化砧M9T337幼苗生物量和根冠比的影响

从表2可知, 不同 NO_3^- -N浓度处理21 d后苹果

幼苗地上部干重以N3处理最大, 其次为N5处理, 最低的为N4处理, N1和N2处理间无显著差异。与N3处理相比, N1、N2、N4和N5处理根系干重分别降低了33.33%、21.43%、28.30%和38.78%。幼苗根冠比随 NO_3^- -N浓度的变化而改变, 且各处理间差异达显著水平。与N3处理相比, N4处理幼苗根冠比增加了11.11%, N1、N2和N5处理则分别降低了17.39%、8.00%和28.57%。

2.2 不同供氮方式对苹果矮化砧M9T337幼苗根系形态的影响

在影响植株对硝酸盐吸收能力方面, 根系形态特征对氮素的获取起重要作用。由表3可知, 不同 NO_3^- -N浓度处理1 d后苹果幼苗根系各形态参数无显著差异。处理3 d后各处理总根长、总表面积和根长密度差异也不显著, N1、N4和N3处理间根尖数无显著差异, 但均高于N2和N5处理。至处理第7天, N3处理根系各形态参数显著高于其他处理, N1和N4处理根尖数和根长密度无显著差异, N2和N5处理根长密度分别比N4处理降低了9.38%和8.69%, 根尖数呈相同趋势。

不同 NO_3^- -N浓度处理第11天(即 NO_3^- -N浓度变换1 d后), 增大或降低 NO_3^- -N浓度对苹果幼苗根系形态的影响不明显。随处理时间的延长, 变化 NO_3^- -N浓度显著影响苹果幼苗的根系形态。从 NO_3^- -N浓

表1 PCR引物序列

Table 1 Primer sequences for PCR

基因名称	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')
<i>MdNRT1.1</i>	CTCGGCCTCATTTGTGTTCTT	TCCAACGGCAGTTCCATATTC
<i>MdNRT2.1</i>	GCTGTACTCTTCTGTGACTTT	CGTCGACTTCTCGACATCTTT
<i>Actin</i>	TGGTGTCATGGTTGGTATGG	CCGTGCTCAATGGGATACTT

表2 不同供氮方式下苹果矮化砧M9T337幼苗地上部、根系干重及根冠比

Table 2 Dry weights of shoots and roots and root/shoot ratio of apple dwarfing rootstock M9T337 seedlings under different nitrogen supply

处理	地上部干重/g·株 ⁻¹	根系干重/g·株 ⁻¹	根冠比
N1	2.18 ^c	0.51 ^{cd}	0.23 ^d
N2	2.21 ^c	0.56 ^b	0.25 ^c
N3	2.51 ^a	0.68 ^a	0.27 ^b
N4	1.76 ^d	0.53 ^{bc}	0.30 ^a
N5	2.38 ^b	0.49 ^d	0.21 ^e

同列数据后不同字母表示处理间差异达5%显著水平。

表3 不同供氮方式下苹果矮化砧M9T337幼苗总根长、总表面积、根尖数及根长密度

Table 3 The root length, root surface area, tip number and root length density of apple dwarfing rootstock M9T337 seedlings under different nitrogen supply

处理时间/d	总根长/cm					总表面积/cm ²				
	N1	N2	N3	N4	N5	N1	N2	N3	N4	N5
1	466.03 ^a	468.26 ^a	471.04 ^a	465.54 ^a	469.16 ^a	104.25 ^a	105.55 ^a	107.34 ^a	107.71 ^a	106.72 ^a
3	484.16 ^{abc}	480.76 ^c	487.13 ^a	485.04 ^{ab}	482.29 ^{bc}	111.75 ^a	107.55 ^b	111.99 ^a	111.73 ^a	109.69 ^{ab}
7	503.23 ^b	494.33 ^{bc}	522.09 ^a	498.53 ^{bc}	493.66 ^c	116.94 ^b	111.65 ^c	123.89 ^a	115.21 ^{bc}	111.22 ^c
11	519.11 ^b	528.14 ^b	553.04 ^a	524.39 ^b	518.23 ^b	117.95 ^c	118.61 ^c	131.36 ^a	121.24 ^b	115.72 ^d
13	539.13 ^c	551.20 ^b	588.54 ^a	544.39 ^{bc}	536.16 ^c	121.51 ^{cd}	124.54 ^{bc}	139.11 ^a	126.71 ^b	120.52 ^d
17	554.05 ^d	586.74 ^b	644.16 ^a	577.89 ^c	557.16 ^d	125.01 ^c	133.05 ^b	148.54 ^a	133.92 ^b	124.70 ^c
21	565.03 ^d	625.26 ^b	688.06 ^a	588.39 ^c	572.16 ^d	128.51 ^c	142.38 ^b	159.61 ^a	140.05 ^b	128.09 ^c

处理时间/d	根尖数/个					根长密度/cm·cm ⁻³				
	N1	N2	N3	N4	N5	N1	N2	N3	N4	N5
1	1729.0 ^a	1724.0 ^a	1731.0 ^a	1729.0 ^a	1726.0 ^a	71.02 ^a	70.08 ^a	73.40 ^a	72.18 ^a	70.28 ^a
3	1801.0 ^a	1779.3 ^b	1806.0 ^a	1799.0 ^a	1781.0 ^b	75.02 ^{bc}	73.03 ^c	78.40 ^a	76.08 ^{ab}	73.78 ^{bc}
7	1887.3 ^b	1857.3 ^c	1926.0 ^a	1891.0 ^b	1851.0 ^c	80.61 ^b	74.15 ^c	84.10 ^a	80.98 ^b	74.50 ^c
11	1954.3 ^c	1962.7 ^c	2063.0 ^a	1995.0 ^b	1923.3 ^d	81.66 ^b	77.78 ^c	88.78 ^a	83.66 ^b	76.57 ^c
13	2019.3 ^c	2069.3 ^b	2213.0 ^a	2074.7 ^b	1989.7 ^d	84.04 ^c	83.95 ^c	94.78 ^a	86.92 ^b	78.61 ^d
17	2081.0 ^c	2191.0 ^b	2364.0 ^a	2171.0 ^c	2063.0 ^d	87.06 ^c	90.26 ^{bc}	103.92 ^a	91.60 ^b	82.23 ^d
21	2137.0 ^d	2314.3 ^b	2482.3 ^a	2263.0 ^c	2126.0 ^d	89.71 ^c	97.63 ^b	112.44 ^a	96.23 ^b	85.32 ^d

同一取样时间同行数据后不同字母表示处理间差异达5%显著水平,表4同。

度变换第3天开始(即处理第13天), N2处理总根长、总表面积、根尖数和根长密度显著高于N5处理,至NO₃⁻-N浓度变换第11天(即处理第21天), 分别比N5处理高9.28%、11.16%、8.86%和14.43%。而与N4处理相比, N1处理则逐渐抑制了苹果幼苗根系的生长, 且NO₃⁻-N浓度增加时间越长, 降幅越明显。整个处理期间均以N3处理的总根长、总表面积和根长密度最大, 根尖数最多, 至处理第21天其总根长、总表面积、根尖数和根长密度分别是处理第1天的1.46、1.49、1.43和1.53倍, 增幅显著高于其他处理(表3)。

2.3 不同供氮方式对苹果矮化砧M9T337幼苗叶片生理特征的影响

由表4可知, 苹果幼苗单叶面积和叶片数在不同NO₃⁻-N浓度处理1 d时无显著差异。不同NO₃⁻-N浓度处理第3天, N2、N5和N3处理下单叶面积及叶片数均大于N1和N4处理, 单叶面积差异达显著水平。至处理第11天, 苹果幼苗单叶面积及叶片数为N5>N3>N2>N1>N4, 而处理第13~21天, 则为N3>N5>N2>N1>N4, 且各处理单叶面积差异达显著水平。随处理时间的延长, 变换NO₃⁻-N浓度显著影响苹果幼苗叶片的生长。与NO₃⁻-N浓度变换1

表4 不同供氮方式下苹果矮化砧M9T337幼苗单叶面积及叶片数

Table 4 The leaf area and leaf number of apple dwarfing rootstock M9T337 seedlings under different nitrogen supply

处理时间/d	单叶面积/cm ²					每株叶片数				
	N1	N2	N3	N4	N5	N1	N2	N3	N4	N5
1	12.76 ^a	12.99 ^a	12.90 ^a	12.63 ^a	13.01 ^a	10.33 ^a	10.67 ^a	10.33 ^a	10.00 ^a	10.67 ^a
3	13.76 ^b	15.43 ^a	15.04 ^a	13.50 ^b	15.63 ^a	11.33 ^b	12.33 ^a	12.00 ^{ab}	11.00 ^b	12.33 ^a
7	14.77 ^c	18.61 ^a	18.00 ^b	14.82 ^c	18.90 ^a	12.33 ^c	15.00 ^a	14.00 ^b	12.33 ^c	14.67 ^{ab}
11	16.17 ^c	21.57 ^b	21.63 ^{ab}	15.90 ^c	22.08 ^a	14.33 ^b	16.33 ^a	16.67 ^a	13.33 ^c	17.00 ^a
13	18.13 ^d	23.90 ^c	24.98 ^a	16.80 ^c	24.58 ^b	15.67 ^c	17.33 ^b	19.00 ^a	14.00 ^d	19.00 ^a
17	20.96 ^d	24.76 ^c	27.92 ^a	17.82 ^c	26.69 ^b	17.00 ^d	18.33 ^c	22.00 ^a	15.00 ^e	21.00 ^b
21	24.30 ^d	25.26 ^c	30.28 ^a	18.61 ^c	28.61 ^b	19.00 ^c	19.33 ^c	24.00 ^a	15.67 ^d	22.67 ^b

d时(即处理第11天)相比, NO_3^- -N浓度变化第11天(即处理第21天), N1、N2、N3、N4和N5处理叶面积分别增加了50.28%、17.11%、39.99%、17.04%和29.57%, 叶片数呈相同趋势。可见, 增加 NO_3^- -N浓度显著促进了苹果幼苗叶面积的扩张及叶片数的增加, 且以 NO_3^- -N浓度从低变高处理的促进作用最为明显。

2.4 不同供氮方式对苹果矮化砧M9T337幼苗根系和叶片内源激素含量的影响

不同 NO_3^- -N浓度处理3 d内, 苹果幼苗根系IAA含量差异不显著。处理第7天, N3处理根系IAA含量最高, N1和N4处理显著高于N2和N5处理。N4处理根系IAA含量在处理第11天上升至最大值, 为 $389.04 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 之后一直高于其他处理。N3和N5处理则在第7天达到最大值, N3处理17 d后与N4处理间差异不显著, 而N5处理在第11天后根系IAA含量显著低于其他处理。 NO_3^- -N浓度变换显著影响了根系IAA含量, 处理第21天与第11天时相比, N1处理根系IAA含量降低了29.60%, 而N2处理则增加了16.68%。处理第21天, 根系IAA含量为 $\text{N4}>\text{N3}>\text{N2}>\text{N1}>\text{N5}$, N4、N3和N2处理间无显著差异, 与其他处理间差异达显著水平(图1-A)。不同 NO_3^- -N浓度处理下苹果幼苗叶片IAA含量与根系趋势相反, 处理7 d内, N2和N5处理叶片IAA含量显著高于N1和N4处理。处理第11~17天N5处理叶片IAA含量一直高于其他处理, 且变幅较小, N4处理则一直处于较低水平。处理第21与第11天时相比, N1处理叶片IAA含量增加了16.52%, 而N2处理则降低了20.90%。至处理第21天, 叶片IAA含量为 $\text{N1}>\text{N5}>\text{N3}>\text{N4}>\text{N2}$, 说明提高 NO_3^- -N浓度可显著增加叶片IAA含量(图1-B)。

不同 NO_3^- -N浓度处理苹果幼苗玉米素(zeatin, Z)和玉米素核苷(zeatin riboside, ZR)含量动态变化显示, 处理21 d内, N4和N5处理根系Z+ZR含量变幅均较小, 但N5处理始终处于较高水平, 而N4处理则一直处于最低水平, 两处理间差异显著。N3处理在第7天时根系Z+ZR含量累积到最大值, 且与N5处理间差异不显著, 之后呈直线下降趋势, 处理17 d后与N4处理间无显著差异。 NO_3^- -N浓度变换显著影响了根系Z+ZR含量, 处理11 d后, N1处理根系Z+ZR含量呈直线上升趋势, 至处理第21天时, 增

幅为28.20%, 而N2处理则呈迅速下降趋势, 降幅为35.02%。处理第21天根系Z+ZR含量为 $\text{N1}>\text{N5}>\text{N2}>\text{N3}>\text{N4}$, N2、N3和N4处理间差异不显著(图1-C)。高氮及低氮处理下叶片Z+ZR含量与根系相似, 处理7 d内, N5处理叶片Z+ZR含量呈迅速上升趋势, 之后变幅不大, 但与其他处理相比始终处于较高水平。处理期间N4处理一直处于较低水平, 与N5处理间差异显著。处理11 d后, N1和N3处理叶片Z+ZR含量呈直线上升趋势, 而N2处理则呈直线降低趋势, 处理第17天, N3和N5处理间无显著差异。至处理第21天, 叶片Z+ZR含量为 $\text{N3}>\text{N5}>\text{N1}>\text{N2}>\text{N4}$ (图1-D)。

不同 NO_3^- -N浓度处理3 d内, 苹果幼苗根系ABA含量以N3处理最高, N2和N5处理均显著高于N1和N4处理。处理第7天, N1和N4处理显著高于N2和N5处理, N3处理降为最低。N3和N4处理根系ABA含量在处理第11天差异不显著, 但均显著高于N5处理。处理13 d后, N3、N4和N5处理间根系ABA含量均差异不显著。 NO_3^- -N浓度变化7 d内(即处理第11~17天), N1处理根系ABA含量呈迅速上升后有下降的趋势, 而N2处理则呈直线下降后又上升的趋势。处理第21天, N1和N2处理间无显著差异(图1-E)。不同 NO_3^- -N水平下叶片ABA含量差异显著, 处理期间N4处理下叶片ABA含量始终显著高于N3和N5处理, 至处理第21天时分别是N3和N5处理的1.83和1.78倍。处理17 d后, N3和N5处理叶片ABA含量差异性不显著。 NO_3^- -N浓度变化对叶片ABA含量影响较大, 处理第11 d后, N1处理一直呈直线下降趋势, 而N2处理则呈上升趋势, 至处理第21天, 叶片ABA含量大小为 $\text{N4}>\text{N2}>\text{N1}>\text{N5}>\text{N3}$ (图1-F)。

2.5 不同供氮方式对苹果矮化砧M9T337幼苗根系硝态氮转运蛋白基因*NRT1.1*和*NRT2.1*表达的影响

利用实时荧光定量PCR技术分析了苹果幼苗根系*NRT1.1*和*NRT2.1*基因表达的差异, 结果显示, 与N3处理相比, 低氮和高氮处理下苹果幼苗根系*NRT1.1*和*NRT2.1*相对表达量差异显著。处理3 d内, N1、N2、N4和N5处理间根系*NRT1.1*相对表达量差异不显著。处理7 d后, N4处理根系*NRT1.1*相对表达量一直显著高于N5处理, 在处理第13天比

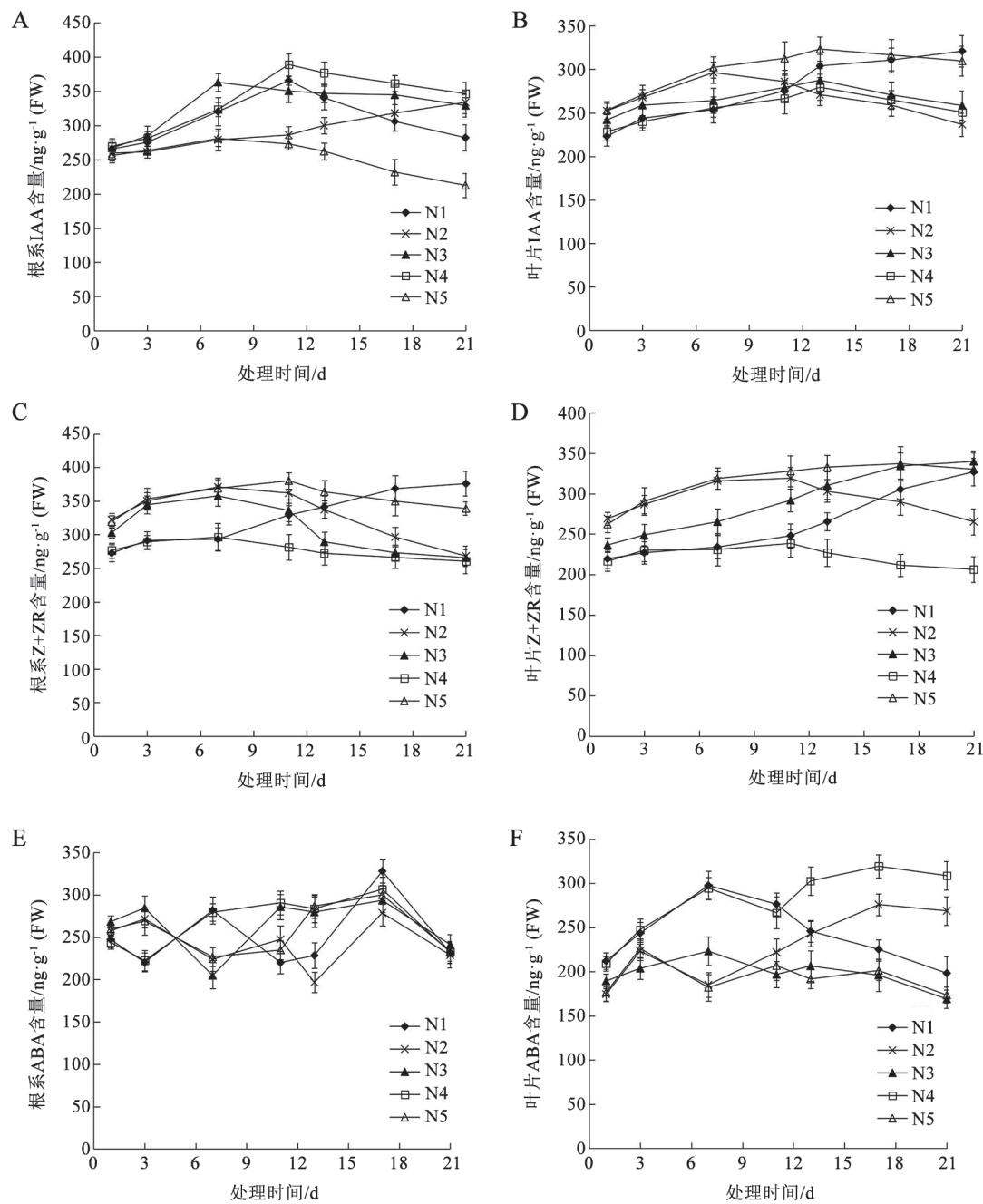


图1 不同供氮方式下苹果矮化砧M9T337幼苗根系和叶中IAA、Z+ZR和ABA含量

Fig.1 IAA, Z+ZR and ABA contents in roots and leaves of apple dwarfing rootstock M9T337 seedlings under different nitrogen supply

N5处理高61.11%。 NO_3^- -N浓度变化后显著影响根系*NRT1.1*的表达,与N5处理相比,N2处理根系*NRT1.1*相对表达量显著增大,至 NO_3^- -N浓度降低第11天(即处理第21天),N2处理是N5处理的1.65倍。而此时N1处理根系*NRT1.1*相对表达量比N4处理低69.76%。处理17 d后,根系根系*NRT1.1*相对

表达量为 $\text{N4} > \text{N2} > \text{N1} > \text{N5}$,各处理间差异达显著水平(图2-A)。

与*NRT1.1*相对表达量变化趋势不同,低氮处理1 d后即显著诱导了苹果幼苗根系*NRT2.1*的表达,N1和N4处理间无显著差异,但显著高于N2和N5处理。N4处理根系*NRT2.1*的相对表达量在处

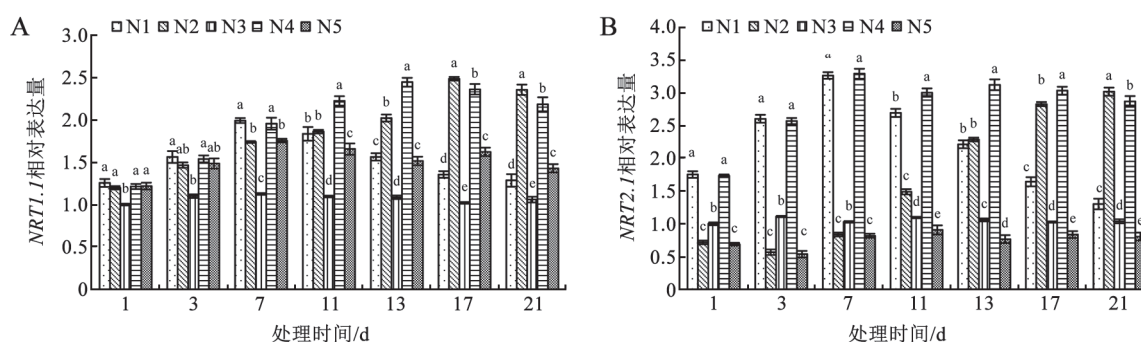


图2 不同供氮方式下苹果矮化砧M9T337幼苗根系*NRT1.1*和*NRT2.1*相对表达量
Fig.2 The relative expression levels of *NRT1.1* and *NRT2.1* in apple dwarfing rootstock M9T337 seedlings under different nitrogen supply

各柱形上不同字母表示处理间差异达5%显著水平。

理第7天时达到最大值,之后变幅不大,始终处于较高水平,N5处理则一直处于最低水平。与N4处理相比,N1处理显著降低了根系*NRT2.1*的相对表达量,至 NO_3^- -N浓度增大第3天(即处理第13天),降幅达41.10%。而与N5处理相比, NO_3^- -N浓度降低第1天(即处理第11天),N2处理根系*NRT2.1*的相对表达量则增加了64.07%,且处理时间越长增幅越明显。至处理第21天,N2处理根系*NRT2.1*相对表达量分别是N1、N4和N5处理的2.31、1.05和3.74倍(图2-B)。

3 讨论

已有研究表明,施氮可以促进植物生长,且对地上部生长的促进作用优于根系(姜琳琳等2011)。本试验处理21 d后持续高氮及 NO_3^- -N浓度由低变高处理地上部干重分别比持续低氮处理高35.23%和23.86%;与前人研究结果一致。但苹果幼苗生物量并未与施氮量的增加成正比增大,至培养结束时持续高氮处理生物量显著低于持续适量供氮。在玉米幼苗上也发现,超过一定浓度 NO_3^- -N后,地上部生物量不受 NO_3^- -N水平的影响(Tian等2008)。果树生产上过量施氮不仅影响果树产量和品质,还会造成肥料资源的浪费和生态环境的污染,因此应确定适宜、经济的施氮量,提高氮肥利用率的同时达到高产、高效和环境保护的目的。低氮处理由于供氮不足导致植物体内蛋白酶数量下降,蛋白质合成受阻,细胞分裂减慢(孙虎威等2014),造成地上部生长受阻生物量下降,而根系生

物量则没有明显降低,因而根冠比相对增大,这可能是植物在感受外界低 NO_3^- -N浓度后通过促进根系生长,来提高对养分的吸收的一种响应机制,这与孙虎威等(2014)在水稻、郭芸琿等(2017)在菊花上的研究结果一致。

外源不同浓度 NO_3^- -N可影响植物内源激素的含量和运输,IAA主要在地上部幼嫩部位合成,继而通过韧皮部极性运输到根系,能够影响细胞的伸长。Walch-Liu等(2006)研究发现,将拟南芥从高浓度 NO_3^- -N转移到低浓度 NO_3^- -N介质中,根系中IAA含量增高,而地上部IAA含量降低。Liu等(2010)用同位素示踪也证明,低氮胁迫促进了玉米体内IAA向根系的运输,说明供应低浓度 NO_3^- -N可使根中IAA含量增加,并促进IAA从地上部到根系的运输,这在黑麦草、大豆、菠萝等多种作物上也得到证实(Pavliková等2012; Caba等2000; Tamaki和Mercie 2007)。本试验也发现,处理7 d后,持续低氮处理下苹果幼苗根中IAA含量显著高于持续高氮处理,而叶片中IAA含量则显著降低。将 NO_3^- -N浓度由高变低11 d后,根中IAA含量增加了16.68%,叶片中IAA含量则降低了20.90%, NO_3^- -N浓度由低变高处理则呈相反趋势,进一步表明低氮处理有利于苹果幼苗根系IAA的积累,并促进了IAA从叶片向根系的极性运输。

CTK主要由根系产生,经木质部运输到植物的地上部,施用 NO_3^- -N不仅能刺激CTK的生物合成和向地上部的运输,而且还可增强CTK的活性(Forde 2002)。本试验中苹果幼苗根系和叶片中

Z+ZR含量随供氮浓度的提高显著增大,与持续低氮处理相比,NO₃⁻-N浓度由低变高后根系和叶片Z+ZR含量也均显著增加体现出与前人研究结果的一致性。但处理第21天时,持续高氮处理叶片Z+ZR含量低于持续适量供氮,这可能是与持续适量供氮相比,持续高氮处理下根系IAA含量明显减少,造成根系中*IPT3*基因的表达相对降低,导致运输到地上部的Z+ZR含量减少所致(于迟等2012)。在稳定氮浓度的营养液中,大麦根中ABA含量与NO₃⁻-N供应量不相关,而短期改变NO₃⁻-N浓度后,根中和地上部ABA含量均发生显著变化(Brewitz等1995)。本试验处理11 d内,高氮和低氮处理下根系ABA含量变化趋势不同,但处理13 d后差异性显著降低。增高或降低NO₃⁻-N浓度7 d内根系ABA含量均发生快速变化,但至第11天时两处理间无显著差异。说明根系感受外界NO₃⁻-N浓度的变化虽会引起苹果体内ABA含量的改变,但随处理时间延长不同NO₃⁻-N浓度对苹果幼苗根系ABA影响的差异性较小。与根系不同,低氮处理下苹果叶片ABA含量一直较高,NO₃⁻-N浓度由高变低后叶片ABA含量也呈快速积累趋势;彭静等(2008)在平邑甜茶上也发现,缺氮下叶片ABA含量显著增加。这可能是与缺氮下ABA作为抑制植物生长激素会促使叶片脱落有关。

在地上部生长及根系建成过程中,养分信号和激素信号间存在互作关系。本试验处理7 d内与低氮相比,高氮下苹果幼苗的总根长、总表面积差异不显著,但根长密度和根尖数显著降低。处理13 d后,持续高氮处理根系各形态指标均显著低于持续低氮。NO₃⁻-N浓度由低变高后,苹果幼苗根系生长也逐渐受抑,且NO₃⁻-N浓度增加时间越长,降幅越明显,说明高氮处理抑制了苹果幼苗根系的生长,且对根长密度及根尖数的抑制作用最为明显。Tian等(2008)研究表明,高氮抑制玉米轴根伸长可能与根中IAA含量下降有关。提高内源IAA含量的突变体可以促进主根和侧根的数量(Aloni等2006),而外源施用CTK不仅降低侧根数量和长度,而且还抑制主根的伸长,且以Z和ZR抑制根伸长最有效(Zhang和Hasenstein 1999; Stenlid 1982)。进一步结合激素测定结果可知,高氮通过降低苹果幼苗根系中IAA含量,提高Z+ZR含量,两

种激素共同作用抑制了苹果幼苗根系的生长。近年来研究发现,ABA也参与介导高浓度NO₃⁻-N对侧根的抑制效应, Malamy (2005)推测IAA和ABA是两种不同的信号系统,它们之间的平衡可能影响拟南芥侧根生长。本试验条件下ABA是否影响苹果幼苗根系生长还需进一步的探讨。Takei等(2001)认为Z型细胞分裂素作为远程信号响应NO₃⁻-N来调节叶片的生长,运输到叶片的Z和ZR通过双组分信号系统的作用,引起叶肉细胞分裂,叶面积扩大。增加NO₃⁻-N浓度促进了叶片Z+ZR含量的积累,从而促进了苹果幼苗叶面积的扩张及叶片数的增加。随处理时间的延长,持续适量供氮处理根系IAA含量和低氮处理无显著差异,而叶片Z+ZR含量逐渐高于高氮处理,两种激素相互平衡正适于苹果幼苗的生长,这可能是适量供氮最有利于苹果幼苗整株生长的原因之一。

硝酸盐转运蛋白在作物吸收和转运硝酸盐过程中起关键作用,其中*NRT1.1*和*NRT2.2*还可以调控植物的根系形态建成。外界NO₃⁻-N浓度较低时,*NRT1.1*感知NO₃⁻-N信号,对抗谷氨酸对主根生长的抑制作用,从而促进主根生长(Walch-Liu和Forde 2008)。此外,IAA处理可使*NRT1.1*表达量增加从而诱导侧根的发生(张合琼等2016)。本试验中,低氮下苹果幼苗根系IAA积累,而*NRT1.1*基因的表达也表现出明显的上升趋势,反过来增加NO₃⁻-N浓度根系IAA含量降低,而根系*NRT1.1*相对表达量显著下降,推测低浓度NO₃⁻-N下根系IAA的增加对*NRT1.1*基因的表达起到促进作用,IAA和*NRT1.1*协同作用促进苹果幼苗根系的生长。与高氮处理相比,低氮处理1 d后苹果幼苗根系*NRT2.1*的相对表达量显著增大,说明苹果幼苗根系在接收缺氮信号较短时间内即可诱导*NRT2.1*的表达。Remans等(2006)研究表明,低氮条件下*NRT2.1*除了运输功能外还在NO₃⁻-N刺激侧根的发育中参与了NO₃⁻-N的信号传导,但也有研究发现,IAA信号对*NRT2.1*基因转录水平有抑制作用(Suzuki等2009)。本试验低氮胁迫下苹果根系IAA含量增加,但显著诱导了*NRT2.1*的表达,这可能是由于不同物种对低氮胁迫的响应机制不同所致。关于*NRT1.1*和*NRT2.1*影响苹果幼苗根系生长的分子机制还需进一步的研究来揭示。

综上所述, 与高氮处理相比, 低氮下苹果幼苗根系IAA含量增加, 并促使IAA从地上部向根系的极性运输, 降低根系Z+ZR含量, 从而促进了根系的生长。而高氮处理通过提高叶片Z+ZR含量, 降低ABA含量促进地上部的生长。另外推测, 低氮下根系*NRT1.1*相对表达量的提高可能和低氮处理导致根系IAA含量增大有关, 低氮下IAA和*NRT1.1*两者共同作用刺激了苹果幼苗根系的发生。

参考文献(References)

- Alboresi A, Gestin C, Leydecker MT, et al (2005). Nitrate, a signal relieving seed dormancy in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 28: 500–512
- Aloni R, Aloni E, Langhans M, et al (2006). Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. *Ann Bot*, 97 (5): 883–893
- Brewitz E, Larsson CM, Larsson M (1995). Influence of nitrogen supply on concentrations and translocation of abscisic acid in barley (*Hordeum vulgare*). *Physiol Plant*, 95: 499–506
- Caba JM, Centeno ML, Fernández B, et al (2000). Inoculation and nitrate alter phytohormone levels in soybean roots: differences between a supernodulating mutant and the wild type. *Planta*, 211: 98–104
- Ding N, Peng L, An X, et al (2016). Absorption, distribution and utilization of dwarf apple trees to ¹⁵N applied in different growth stages. *Plant Nutr Fert Sci*, 22 (2): 572–578 (in Chinese with English abstract) [丁宁, 彭玲, 安欣等 (2016). 不同时期施氮矮化苹果对¹⁵N的吸收、分配及利用. *植物营养与肥料学报*, 22 (2): 572–578]
- Dong SF, Cheng LL, Scagel CF, et al (2004). Nitrogen mobilization, nitrogen uptake and growth of cuttings obtained from poplar stock plants grown in different N regimes and sprayed with urea in autumn. *Tree Physiol*, 24: 355–359
- Forde BG (2002). The role of long-distance signaling in plant responses to nitrate and other nutrients. *J Exp Bot*, 53 (366): 39–43
- Garcia MC, Lamattia L (2002). Nitric oxide and abscisic acid cross talk in guard cells. *Plant Physiol*, 128 (3): 790–792
- Glass AD, Brito DT, Kaiser BN, et al (2001). Nitrogen transport in plants, with an emphasis on the regulation of fluxes to match plant demand. *J Plant Nutr Soil Sci*, 164: 199–207
- Guo YH, Yu YY, Wen LZ, et al (2017). Molecular basis of the effects of nitrate signal on root morphological structure changes of chrysanthemum. *Sci Agric Sin*, 50 (9): 1684–1693 (in Chinese with English abstract) [郭芸琿, 于媛媛, 温立柱等(2017). 硝态氮影响菊花根系形态结构变化的分子基础. *中国农业科学*, 50 (9): 1684–1693]
- Jiang LL, Han LS, Han XR, et al (2011). Effects of nitrogen on growth, root morphological traits, nitrogen uptake and utilization efficiency of maize seedlings. *Plant Nutr Fert Sci*, 17 (1): 247–253 (in Chinese with English abstract) [姜琳琳, 韩立思, 韩晓日等(2011). 氮素对玉米幼苗生长、根系形态及氮素吸收利用效率的影响. *植物营养与肥料学报*, 17 (1): 247–253]
- Li J, Jiang YM, Men YG, et al (2013). Effects of ammonium and nitrate nitrogen on growth and properties of ¹⁵N distribution of apple trees. *Sci Agric Sin*, 46 (8): 3818–3825 (in Chinese with English abstract) [李晶, 姜远茂, 门永阁等(2013). 供应铵态和硝态氮对苹果幼树生长及¹⁵N利用特性的影响. *中国农业科学*, 46 (8): 3818–3825]
- Li J, Jiang YM, Wei SC, et al (2015). Annual utilization and allocation of urea-¹³C by *M. hupehensis* Rehd. under different N rates. *Plant Nutr Fert Sci*, 21(3): 800–806 (in Chinese with English abstract) [李晶, 姜远茂, 魏绍冲等(2015). 不同施氮水平苹果矮化中间砧幼树光合产物的周年分配利用. *植物营养与肥料学报*, 21 (3): 800–806]
- Li JY, Gong JM (2011). Nitrate signal sensing and transduction in higher plants. *Plant Physiol J*, 47 (2): 111–118 (in Chinese with English abstract) [李建勇, 龚继明(2011). 植物硝酸根信号感受与传导途径. *植物生理学报*, 47 (2): 111–118]
- Liu JX, AnX, Cheng L, et al (2010). Auxin transport in maize roots in response to localized nitrate supply. *Ann Bot*, 106: 1019–1026
- Malamy JE (2005). Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. *Plant Cell Environ*, 28: 67–77
- Mi GH, Chen FJ, Wu QP, et al (2010). Ideotype root architecture for efficient nitrogen acquisition by maize in intensive cropping system. *Sci China: Life Sci*, 53 (12): 1369–1373
- Nazoa P, Vidmar JJ, Tranbarger TJ, et al (2003). Regulation of the nitrate transporter gene *AtNRT2.1* in *Arabidopsis thaliana*: responses to nitrate, amino acids and developmental stage. *Plant Mol Biol*, 52: 689–703
- Pavliková D, Neuberger M, Žižková E, et al (2012). Interactions between nitrogen nutrition and phytohormone levels in *Festulolium* plants. *Plant Soil Environ*, 58 (8): 367–372
- Peng J, Peng FT, Wei SC, et al (2008). Effect of nitrogen forms on *IPT3* expression and hormone contents of Pingyitiancha (*Malus hupehensis* Rehd.). *Sci Agric Sin*, 41 (11): 3716–3721 (in Chinese with English abstract) [彭静, 彭福田, 魏绍冲等(2008). 氮素形态对平邑甜茶 *IPT3*表达与内源激素含量的影响. *中国农业科学*, 41 (11): 3716–3721]
- Remans T, Naciy P, Pervent M, et al (2006). A central role for the nitrate transporter *NRT2.1* in the integrated morpho-

- logical and physiological responses of the root system to nitrogen limitation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 140: 909–921
- Rong N, Han YL, Rong XM, et al (2017). Response of NO_3^- uptake and distribution and nitrogen use efficiency in oil-seed rape to limited nitrogen stress. *Plant Nutr Fert Sci*, 23 (4): 1104–1111 (in Chinese with English abstract) [荣楠, 韩永亮, 荣湘民等(2017). 油菜 NO_3^- 的吸收、分配及氮利用效率对低氮胁迫的响应. *植物营养与肥料学报*, 23 (4): 1104–1111]
- Stenlid G (1982). Cytokinins as inhibitors of root growth. *Physiol Plant*, 56: 500–506
- Sun CW, Chu FJ, Yang LL, et al (2015). Effects of nitrogen fertilization on characteristics of distribution and utilization of ^{15}N and ^{13}C of Gala seedlings. *Plant Nutr Fert Sci*, 21 (2): 431–438 (in Chinese with English abstract) [孙聪伟, 褚凤杰, 杨丽丽等(2015). 施氮量对嘎啦幼苗 ^{15}N 、 ^{13}C 分配利用特性影响. *植物营养与肥料学报*, 21 (2): 431–438]
- Sun HW, Wang WL, Liu SJ, et al (2014). Formation on rice root regulation by nitrogen deficiency. *Acta Pedol Sin*, 51 (5): 1096–1102 (in Chinese with English abstract) [孙虎威, 王文亮, 刘尚俊等(2014). 低氮胁迫下水稻根系的发生及生长素的响应. *土壤学报*, 51 (5): 1096–1102]
- Suzuki A, Kuromori T, Shinozaki K, et al (2009). Regulation of *NRT2.1* nitrate transporter by auxin response factor in *Arabidopsis*. *The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI*, 2009, 1134–1136
- Takei K, Sakakibara H, Taniguchi M, et al (2001). Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulator. *Plant Cell Physiol*, 42 (1): 85–93
- Tamaki V, Mercier H (2007). Cytokinins and auxin communicate nitrogen availability as long-distance signal molecules in pineapple (*Ananas comosus*). *Plant Physiol*, 164 (11): 1543–1547
- Tian QY, Chen FJ, Liu JX, et al (2008). Inhibition of maize root growth by high nitrate supply is correlated with reduced IAA levels in roots. *J Plant Physiol*, 165 (9): 942–951
- Walch-Liu P, Forde BG (2008). Nitrate signalling mediated by the *NRTL1.1* nitrate transporter antagonizes L-glutamate-induced changes in root architecture. *Plant J*, 54 (5): 820–828
- Walch-Liu P, Ivanov I, Filleur S, et al (2006). Nitrogen regulation of root branching. *Ann Bot*, 97: 875–881
- Wang HN, Ge SF, Jiang YM, et al (2012). Growth characteristics and absorption, distribution and utilization of $^{15}\text{NO}_3^-$ -N and $^{15}\text{NH}_4^+$ -N application for five apple rootstocks. *Acta Hort Sin*, 39 (2): 343–348 (in Chinese with English abstract) [王海宁, 葛顺峰, 姜远茂等(2012). 苹果砧木生长及吸收利用硝态氮和铵态氮特性比较. *园艺学报*, 39 (2): 343–348]
- Xing GF, Feng WJ, Niu XL, et al (2015). Physiological mechanisms in phytohormone regulation of plant lateral root development. *Plant Physiol J*, 51 (12): 2101–2108 (in Chinese with English abstract) [邢国芳, 冯万军, 牛旭龙等(2015). 植物激素调控侧根发育的生理机制. *植物生理学报*, 51 (12): 2101–2108]
- Yu C, Zhang H, Li HL, et al (2012). The content of hormone and auxin transport gene *pin1* of SH40 as the interstock of apple. *J China Agric Univ*, 17 (2): 80–84 (in Chinese with English abstract) [于迟, 张鹤, 李鸿莉等(2012). 苹果矮化中间砧SH40激素含量及生长素转运蛋白基因 *pin1* 表达. *中国农业大学学报*, 17 (2): 80–84]
- Zhang HM, Rong HL, Pilbeam D (2007). Signalling mechanisms underlying the morphological responses of the root system to nitrogen in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot*, 58 (9): 2329–2338
- Zhang HQ, Zhang HM, Liang YS, et al (2016). Research progress of nitrate in plant transport mechanism. *Plant Physiol J*, 52 (2): 141–149 (in Chinese with English abstract) [张合琼, 张汉马, 梁永书等(2016). 植物硝酸盐转运蛋白研究进展. *植物生理学报*, 52 (2): 141–149]
- Zhang NG, Hasenstein KH (1999). Initiation and elongation of lateral roots in initiation and elongation of lateral roots in *Lactuca sativa*. *Int J Plant Sci*, 160 (3): 511–519
- Zhao DY, Tuan QY, Li LH, et al (2007). Nitric oxide is involved in nitrate-induced inhibition of root elongation in *Zea mays*. *Ann Bot*, 100: 497–503
- Zhao ZP, Tong YA, Liu F, et al (2013). Effects of different long-term fertilization patterns on Fuji apple yield, quality, and soil fertility on Weibei Dryland, Shanxi Province of Northwest China. *Chin J Appl Ecol*, 24 (11): 3091–3098 (in Chinese with English abstract) [赵佐平, 同延安, 刘芬等(2013). 长期不同施肥处理对苹果产量、品质及土壤肥力的影响. *应用生态学报*, 24 (11): 3091–3098]

Growth response of apple dwarfing rootstock M9T337 seedlings regulated by endogenous hormone under different nitrogen supply

PENG Ling, YU Bo, CHEN Qian, GE Shun-Feng*, JIANG Yuan-Mao*

State Key Laboratory of Crop Biology, College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China

Abstract: This experiment was carried out to study the effects of different nitrogen (NO_3^- -N) supply on biomass, root morphology, endogenous hormone contents and *NRT1.1* and *NRT2.1* expression, using apple (*Malus domestica*) dwarfing rootstock M9T337 seedlings as experiment materials. Five methods for NO_3^- -N supply were designed: NO_3^- -N concentration varied from deficit to excess (N1), from excess to deficit (N2), keeping appropriate (N3), keeping deficiency (N4) and keeping excess (N5). Results showed that compared with the seedlings under N3 treatment, the ratio of root to shoot was 11.11% higher under N4 treatment and 28.57% lower under N5 treatment. The effect on root length, root surface area and root length density of seedlings was the most significant in N3 treatment, followed by N2 treatment, and least in N5 treatment on the 21th day after treatment, and the leaf area displayed an order of $\text{N3} > \text{N5} > \text{N2} > \text{N1} > \text{N4}$. Indole-3-acetic acid (IAA) content was increased significantly in roots but decreased significantly in leaves under N4 treatment after 7 d compared with the seedlings under N5 treatment. Besides, IAA content increased by 16.68% in roots but decreased by 20.90% in leaves under N2 treatment within the 11 d after NO_3^- -N concentration variation, while the opposite tendency was showed in N1 treatment. Zeatin (Z) and zeatin riboside (ZR) contents in roots and leaves under N5 treatment were significantly higher than those under N4 treatment within 21 d after treatment. There were no significant differences in abscisic acid (ABA) content in roots across the treatment, while ABA content in leaves displayed an order of $\text{N4} > \text{N2} > \text{N1} > \text{N5} > \text{N3}$ on the 21th day after treatment. The relative expression level of *NRT1.1* under N4 treatment was significantly higher than that under N5 treatment after 7 d, and the relative expression level of *NRT2.1* was increased significantly under N4 treatment on the first day after treatment. It could, therefore, be concluded that compared with high NO_3^- -N level, the polar transport of IAA from shoot to root, the decrease in Z+ZR content of roots and leaves, the increase in ABA content of leaves, thus the relative expression of *NRT1.1* and *NRT2.1* were promoted in the seedlings by nitrogen deficiency. These were important reasons for growth response of apple seedlings to different NO_3^- -N levels.

Key words: apple; roots; NO_3^- -N; endogenous hormone; gene expression

Received 2017-10-09 Accepted 2018-01-03

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2016YFD0201100), the National Natural Science Foundation of China (31501713), the China Modern Agriculture Industry System Construction Foundation (CARS-27), and the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2015PC001).

*Co-corresponding authors: Ge SF (geshunfeng210@126.com), Jiang YM (ymjiang@sdau.edu.cn).