

网络出版时间:2025-05-23

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20250522.1620.006

不同小麦品种苗期氮利用效率评价及*TaSPX1* 基因表达分析

顾鹏程^{1,2}, 姚立蓉^{2,3}, 张宏^{2,3}, 汪军成^{2,3}, 王昊^{1,2}, 马艳^{1,2}, 李玉刚⁴, 李葆春^{1,2}

(1. 甘肃农业大学生命科学技术学院, 甘肃兰州 730070; 2. 甘肃省干旱生境作物学重点实验室/甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 甘肃兰州 730070; 3. 甘肃农业大学农学院, 甘肃兰州 730070; 4. 青岛市农业科学研究所, 山东青岛 266100)

摘要: 培育氮素高效利用的小麦材料是提升氮素利用率和降低生产成本的有效方法, SPX 基因家族在植物对氮的响应及逆境应答中起关键调控作用。本研究以 20 个小麦品种为供试材料, 在低氮(0.05 mmol·L⁻¹)、正常氮(5 mmol·L⁻¹)和高氮(25 mmol·L⁻¹)三种氮浓度处理下进行苗期水培试验, 测定不同浓度氮处理下小麦苗期的形态指标和生理指标, 通过综合评价筛选出氮高效和氮低效小麦品种, 并分析*TaSPX1* 基因在不同氮利用效率小麦中的相对表达。结果表明, 与正常氮处理相比, 低氮处理下, 不同小麦品种的最大根长、根干重、根冠比等 7 个指标均升高, 且升幅较大; 株高、地上部干重、叶绿素含量等 6 个指标均降低, 其中叶绿素含量、株高和地上部干重降幅较大; 各指标变异系数范围为 3.16%~38.71%。高氮处理下, 不同小麦品种最大根长、株高、根干重等 8 个指标均降低, 其中叶绿素含量、最大根长和根干重降幅较大; 根表面积、根体积、可溶性糖等 5 个指标均升高, 根体积增幅最大, 各指标变异系数范围为 2.51%~36.53%。通过对 13 个指标主成分分析, 低氮处理下 3 个主成分贡献率分别为 54%、26%和 12%, 累积贡献率达到 91%; 高氮处理下 3 个主成分贡献率分别为 64%、16%和 9%, 累积贡献率达到 88%。利用隶属函数值进行综合评价和聚类分析, 供试材料可分为四类: 双高效型、低氮高效型、高氮高效型和双低效型。qRT-PCR 分析表明, 低氮胁迫下, 在双高效型和低氮高效型材料中*TaSPX1* 相对表达量上升, 而高氮高效型和双低效型材料中*TaSPX1* 相对表达量呈先上升后下降的趋势; 高氮胁迫下, 在双高效型和高氮高效型材料中*TaSPX1* 基因相对表达量有所降低, 而低氮高效型和双低效型材料中其相对表达量随着处理时间的增加而增加。

关键词: 小麦; 苗期; 氮素; 聚类分析; *TaSPX1*

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2025)07-0902-11

Evaluation of Nitrogen Use Efficiency and Expression Analysis of *TaSPX1* Gene in Different Wheat Varieties at Seedling Stage

GU Pengcheng^{1,2}, YAO Lirong^{2,3}, ZHANG Hong^{2,3}, WANG Juncheng^{2,3},
WANG Hao^{1,2}, MA Yan^{1,2}, LI Yugang⁴, LI Baochun^{1,2}

(1. College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China; 2. Key Laboratory of Crop Science in Arid Habitats of Gansu Province/Key Laboratory of Crop Genetic Improvement and Germplasm Innovation of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730070, China; 3. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China; 4. Qingdao Academy of Agricultural Sciences, Qingdao, Shandong 266100, China)

Abstract: The cultivation of wheat materials with high nitrogen use efficiency is an effective way to improve nitrogen use efficiency and reduce production cost. SPX gene family plays a key regulatory role in plant response to nitrogen and stress. In this experiment, 20 different varieties of wheat were used

收稿日期: 2024-08-21 修回日期: 2025-02-27

基金项目: 中央引导地方科技发展资金项目(25ZYJA002); 甘肃省科技计划联合计划基金项目(24JRRA840); 现代寒旱特色农业种业攻关项目(ZYGG-2025-3, ZYGG-2025-12-3); 甘肃省重点人才项目(2023RCXM70); 甘肃省科技厅重点研发项目(25YFNA032); 甘肃省科技计划项目(24CXNA038); 甘肃省自然科学基金重点项目(24JRRA637); 甘肃省教育厅产业支撑计划项目(2021CYZC-12); 甘肃农业大学伏羲青年英才计划(Gaufx-03Y06, GAUfx-04Y011); 国重实验室开放基金项目(GSCS-2021-05)

第一作者 E-mail: 1171991414@qq.com(顾鹏程)

通讯作者 E-mail: libc@gsau.edu.cn(李葆春); liyg1967@163.com(李玉刚)

as test materials, and hydroponics experiments were carried out at seedling stage under three nitrogen concentration treatments: low nitrogen ($0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), normal nitrogen ($5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) and high nitrogen ($25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$). The morphological and physiological indices of wheat at seedling stage were determined under different nitrogen concentration treatments. Wheat varieties with high nitrogen use efficiency and low nitrogen use efficiency were selected by comprehensive evaluation, and the relative expression of *TaSPX1* gene in wheat with different nitrogen use efficiency was analyzed. The results showed that, compared with normal nitrogen treatment, the maximum root length, root dry weight and root shoot ratio of different wheat varieties largely increased under low nitrogen treatment. Six indices, including plant height, above ground dry weight, and chlorophyll content, all decreased, among which chlorophyll content, plant height and above ground dry weight decreased significantly. The variation coefficients of each index ranged from 3.16% to 38.71%. Under high nitrogen treatment, the maximum root length, plant height, and root dry weight of different wheat varieties decreased, and the chlorophyll content, maximum root length, and root dry weight decreased significantly. Root surface area, root volume, and soluble sugar all increased, among which root volume increased the most. Coefficients of variation of all indices ranged from 2.51% to 36.53%. The principal component analysis of 13 indicators showed that the contribution rates of the three principal components extracted under low nitrogen treatment were 54%, 26%, and 12%, respectively, and the cumulative contribution rate was 91%. The contribution rates of the three principal components extracted under high nitrogen treatment were 64%, 16%, and 9%, respectively, and the cumulative contribution rate reached 88%. Using the membership function value to make comprehensive evaluation and cluster analysis, the tested materials were divided into four categories: double efficient type, low nitrogen efficient type, high nitrogen efficient type, and double inefficient type. qRT-PCR analysis showed that under low nitrogen stress, the relative expression of *TaSPX1* increased in double efficient and low efficient materials, while the relative expression of *TaSPX1* in high efficient and double inefficient materials increased first and then decreased. Under high nitrogen stress, the relative expression of *TaSPX1* gene decreased in the double and high nitrogen efficient materials, while the relative expression of *TaSPX1* gene in the low nitrogen efficient materials and double low efficiency materials increased with the increase of treatment time.

Keyword: Wheat; Seedling stage; Nitrogen; Cluster analysis; *TaSPX1*

小麦 (*Triticum aestivum* L.) 是中国第二大粮食作物,其产量对保障国家粮食安全至关重要。根据统计,2023 年中国粮食种植面积为 11 896.85 万 hm^2 ,总产量为 69 541.0 万吨,其中小麦种植面积为 2 362.72 万 hm^2 ,占粮食种植面积的 19.86%,产量为 13 659.0 万吨,占粮食总产量的 19.64%。小麦的碳水化合物和蛋白质含量普遍高于水稻 (*Oryza sativa*) 和玉米 (*Zea mays*) 等作物^[1],富含矿物质、维生素和植物化学物质等营养成分,在全球范围内被广泛用于制作面包、面条等食品,也在一定程度上用于酿酒等工业产品^[2]。作为中国重要的储粮作物,小麦与人民生活水平、经济发展和社会可持续发展息息相关,因此,科学高效地提

高小麦产量和品质是育种工作的关键目标^[3]。

氮是植物合成核苷酸、氨基酸和蛋白质等物质的重要元素,是植物生长发育不可或缺的营养成分。为了提高作物产量和品质,生产中常施用大量的氮肥,但仅有 35% 左右的氮肥能够被作物吸收和利用^[4]。因此,提高作物氮素利用效率,合理施肥对促进经济发展和环境保护具有重要作用^[5]。小麦能够吸收硝态氮和铵态氮,并由谷氨酸合酶、谷氨酰胺合成酶等将铵根离子转化为氨基酸,实现氮同化。然而由于小麦苗期根茎生长缓慢,根长、根数和根表面积较小,吸氮能力较弱,导致氮肥残留在土壤中并流失到周围环境,显著降低了苗期氮肥利用率^[6-7]。在低氮条件下,虽然

小麦植株生长受到抑制,但是会促使小麦根系扩张以增加吸氮面积,提高氮素吸收速率,并促进小麦根系的氮素同化,以及氮素在小麦叶片中的再利用和循环,氮状态比较好的新叶更加适合低氮营养^[8-9]。罗来超等^[10]研究发现,硝态氮对根干重、根体积和根冠比的影响较其他氮素明显。本研究以20份不同小麦品种为试验材料,分别在低氮(0.05 mmol·L⁻¹)、正常氮(5 mmol·L⁻¹)和高氮(25 mmol·L⁻¹)浓度下进行水培处理,测定苗期相关性状指标,并通过主成分(principal component, PC)分析和聚类分析等方法筛选不同小麦品种的氮素利用效率。

植物在遭受低氮、干旱和高温等非生物胁迫时,会启动一系列响应机制来抵御胁迫。SPX基因通过调控硝酸盐转运蛋白的表达或活性,影响根系对氮素的吸收能力。例如,*OsSPX4*通过负调控水稻中硝酸盐转运蛋白基因的表达,防止氮素过量吸收^[31]。张宝华等^[11]研究发现,在低氮胁迫下,过表达*TaSPX1*的转基因株系相较于野生型表现出更强的耐低氮胁迫能力,表明*TaSPX1*可能通过增强保护酶系统、促进氮吸收和转运等机制在植物抵御低氮胁迫中发挥重要作用。基于此,本研究进一步分析氮响应相关基因*TaSPX1*在不同氮效率类型材料苗期响应氮胁迫的表达特征,从分子水平验证材料筛选的准确性,旨在筛选氮高效材料,为小麦氮高效利用的研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

基于本课题组前期对不同小麦品种根系形态特征研究,选择20个小麦品种作为本试验的供试材料(表1)。

1.2 试验设计

试验于2023年3月至8月在甘肃农业大学人工气候培养室中进行,采用水培方法。首先,选取大小均匀且颗粒饱满的种子,用20% H₂O₂溶液浸泡10 min,再用去离子水清洗2~3次,随后将种子均匀地放置于铺有湿润滤纸的培养皿中,在光照培养箱中培养,待生长至两叶一心期,用海绵固定,移栽到水培箱中,每孔移栽2株。移栽到水培箱后先用纯水培养5 d,然后根据设置的氮素浓度(低氮、正常氮和高氮)在每个培养箱中加入改进的霍格兰营养液(表2)进行培养^[12]。每隔5

d换一次营养液,并在每天用氧气泵进行3 h的持续通气,培养25 d后进行采样测定。

1.3 测定指标和方法

1.3.1 苗期形态指标测定

植株在不同氮浓度营养液中培养25 d后进

表1 供试材料

Table 1 Test materials

编号 Code	品种 Cultivar	编号 Code	品种 Cultivar
A1	赤小麦 Chixiaomai	A11	长治 6406 Changzhi 6404
A2	涿鹿小麦 Zhuluxiaomai	A12	农大 183 Nongda 183
A3	茶淀红 Chadianhong	A13	品早 328 Pinhan 328
A4	白三月黄 Baisanyuehuang	A14	蜀 58 号 Shu 58
A5	蚰色 Youse	A15	甘肃 96 Gansu 96
A6	大默须 Damoxu	A16	延安 11 Yanan 11
A7	大白麦 Dabaimai	A17	东方红 3 号 Dongfanghong 3
A8	白花麦 Baihuamai	A18	高原 706 Gaoyuan 706
A9	小口红 Xiaokouhong	A19	丰产 3 号 Fengchan 3
A10	白芒麦 Baimangmai	A20	凤麦 11 Fengmai 11

表2 不同处理霍格兰营养液组成

Table 2 Hoagland solution with three different nitrogen concentrations

成分 Composition	浓度 Concentration/(mmol·L ⁻¹)		
	低氮 Low N	正常氮 Normal N	高氮 High N
KH ₂ PO ₄	0.200 00	0.200 00	0.200 00
MgMO ₄ ·7H ₂ O	1.000 00	1.000 00	1.000 00
H ₃ BO ₃	0.001 00	0.001 00	0.001 00
(NH ₄)Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0.000 05	0.000 05	0.000 05
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.000 05	0.000 05	0.000 05
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.001 00	0.001 00	0.001 00
FeEDTA	0.100 00	0.100 00	0.100 00
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	0.010 00	1.000 00	5.000 00
KNO ₃	0.010 00	1.000 00	5.000 00
NH ₄ NO ₃	0.010 00	1.000 00	5.000 00
KCl	2.000 00	2.000 00	0.000 00
CaCl ₂	4.500 00	4.000 00	0.000 00
K ₂ SO ₄	1.000 00	1.000 00	0.000 00

行取样测定,不同处理的品种各取 3 株作为重复,把根部和地上部分分开后用去离子水冲洗干净,使用 EPSON Scan 12000XL 植物根系扫描仪对植株根系进行扫描,接着用 WinRHIZO 分析软件来分析扫描图像,获得总根长、根体积和根表面积数据。同时测量最大根长和株高。测定完成后,将根系与地上部在 105 °C 处理 10 min 以进行杀青,随后置于 70 °C 烘箱中使其恒重。最后用千分位电子天平称量根系和地上部分干重,并通过根干重/地上部干重来计算根冠比。

1.3.2 生理指标的测定

采用混合液法测定叶绿素含量^[13-14];可溶性糖含量采用蒽酮比色法^[15];可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[16];根据姜苏育^[17]的方法测定 GS 活性;NR 活性采用活体法进行测定^[18]。

1.3.3 氮效率综合值

利用隶属函数法计算氮效率综合值,不同氮浓度处理下不同小麦品种的氮效率状况用氮效率综合值来反映。

低氮耐受指数 = 低氮水平实测值 / 正常氮水平实测值

高氮耐受指数 = 高氮水平实测值 / 正常氮水平实测值

隶属函数值 $U(X_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$

对于第 i 个主成分,得分为 X_i ,最小值为 X_{\min} ,最大值为 X_{\max} 。

权重 $W_i = P_i / \sum P_i$

P_i 为第 i 个主成分的贡献率。

氮效率综合值 $D = \sum [U(X_i) \times W_i]$

1.4 *TaSPXI* 基因的表达特征分析

从双高效型、低氮高效型、高氮高效型和双低高效型材料中各选取 1 份小麦材料,挑选籽粒饱满,大小均匀的种子放置在湿润的培养皿,生长至二叶一心期后移栽于装有霍格兰营养液的水培箱中,三叶一心期时进行低氮(0.05 mmol · L⁻¹)和高氮(25 mmol · L⁻¹)处理,在处理 0、2、6、12 和 24 h 的时间点取样,保存于 -80 °C 超低温冰箱。使用 RNA 提取试剂盒提取 RNA 后用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性,接着使用 Fast-King gDNA Dispelling RT SuperMix 试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA,并用超微量分光光度计测定其浓度。以 cDNA 为模版,小麦 *TaActin* 基因

为内参基因,SuperReal PreMix Plux 试剂盒进行 qRT-PCR 实验,鉴定 *TaSPXI* 基因在不同氮胁迫处理及不同处理时间点的表达水平(3 个生物学重复)。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行基因表达量计算。

1.5 数据处理与分析

采用 Excel 2010、SPSS 27 和 Origin 2022 等软件对试验数据进行分析并绘制图表。

2 结果与分析

2.1 不同氮处理下小麦苗期各性状的差异分析

在 3 种氮浓度处理下,20 份不同小麦品种的各性状呈现出不同的差异(表 3)。与正常氮处理相比,低氮处理下株高、地上部干重、叶绿素含量、可溶性蛋白含量、谷氨酰胺合成酶活性和硝酸还原酶活性等 6 个指标均降低,其中叶绿素含量、地上部干重和株高降幅较大,分别降低了 37.1%、34.2% 和 20.8%,可溶性蛋白含量、谷氨酰胺合成酶活性和硝酸还原酶活性分别降低 8.0%、8.0% 和 9.0%;最大根长、根干重、根冠比、总根长、根表面积、根体积和可溶性糖含量等 7 个指标均升高,且升幅均高于 20%,分别升高了 58.4%、47.4%、124.1%、41.8%、61.21%、83.5% 和 21.2%。由此说明低氮处理对根系形态、地上部形态和叶绿素含量影响较大,而对酶活性和可溶性蛋白含量的影响较低。高氮处理下,小麦苗期最大根长、株高、根干重、地上部干重、根冠比和总根长、叶绿素含量和可溶性糖含量等 8 个指标均降低,其中叶绿素含量、最大根长和根干重等降幅较大,分别降低了 28.0%、25.1% 和 25.5%,株高、地上部干重、根冠比、总根长和可溶性糖含量等降幅较小,分别降低了 5.4%、10.3%、18.6%、3.5% 和 17.0%;而根表面积、根体积、可溶性蛋白含量、GS 和 NR 活性升高,根体积增加了 22.9%,其余增加了 5.5%~8.4%。这说明高氮处理对地下部形态和叶绿素含量影响较大,而对酶活性、地上部形态和可溶性蛋白含量的影响较低。正常氮处理下,各性状变异系数范围为 2.80%~45.03%;低氮处理下,不同性状变异系数范围为 3.16%~38.71%;高氮处理下,不同性状变异系数范围为 2.51%~36.53%。在低氮和高氮处理下,根干重、总根长和叶绿素含量变异系数比正常氮处理均有所升高,说明不同小麦品种在低氮和高氮处理下苗期各性状的差异较为明显。

表 3 不同氮处理下小麦苗期性状
Table 3 Values of wheat traits at seedling stage under different nitrogen treatments

性状 Trait	低氮 Low nitrogen			正常氮 Normal nitrogen			高氮 High nitrogen		
	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数 CV/%	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数 CV/%	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数 CV/%
MRL/cm	44.82a	9.83	21.93	28.29b	8.42	29.76	21.19c	3.32	15.68
PH/cm	37.38b	5.36	14.35	47.22a	5.20	11.01	44.68a	4.88	10.92
DWR/mg	45.73a	13.55	29.64	31.02b	5.48	17.68	23.11c	5.91	25.59
ADW/mg	141.35b	22.55	15.95	214.76a	44.93	20.92	192.67a	40.14	20.83
R/S	0.33a	0.11	32.02	0.15b	0.03	17.64	0.12b	0.02	16.11
TRL/cm	383.95a	120.78	31.46	270.69b	71.48	26.41	261.16b	74.54	28.54
RSA/cm ²	43.50a	14.67	33.71	26.99b	8.86	32.82	29.25b	9.12	31.19
RVE/cm ³	0.40a	0.15	38.71	0.22b	0.10	45.03	0.27b	0.10	36.53
SPAD/(mg·g ⁻¹)	0.66b	0.18	28.13	1.05a	0.19	18.59	0.75b	0.17	22.46
SP/(mg·g ⁻¹)	23.22c	2.98	12.82	25.24b	2.66	10.53	27.04a	2.56	9.47
SS/(mg·g ⁻¹)	35.96a	2.48	6.88	29.67b	2.60	8.76	24.64c	2.14	8.68
GS/ (μmol·h ⁻¹ ·g ⁻¹)	9.59b	1.38	14.40	10.46a	1.66	15.85	11.20a	1.73	15.39
NR/ (nmol·min ⁻¹ ·g ⁻¹)	292.31c	9.24	3.16	321.19b	8.99	2.80	338.77a	8.50	2.51

MRL:最大根长;PH:株高;DWR:根干重;ADW:地上部干重;R/S:根冠比;TRL:总根长;RSA:根表面积;RVE:根体积;SPAD:叶绿素含量;SP:可溶性蛋白含量;SS:可溶性糖含量;GS:谷氨酰胺合成酶活性;NR:硝酸还原酶活性;下同。同行数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。

MRL: Maximum root length; PH: Plant height; DWR: Root dry weight; ADW: Aboveground dry weight; R/S: Root shoot ratio; TRL: Total root length; RSA: Root surface area; RVE: Root volume; SPAD: Chlorophyll content; SP: Soluble protein content; SS: Soluble sugar content; GS: Glutamine synthetase activity; NR: Nitrate reductase activity. The same in tables 4 and 5. Different lower-case letters following data in same line indicate significant differences among treatments($P < 0.05$).

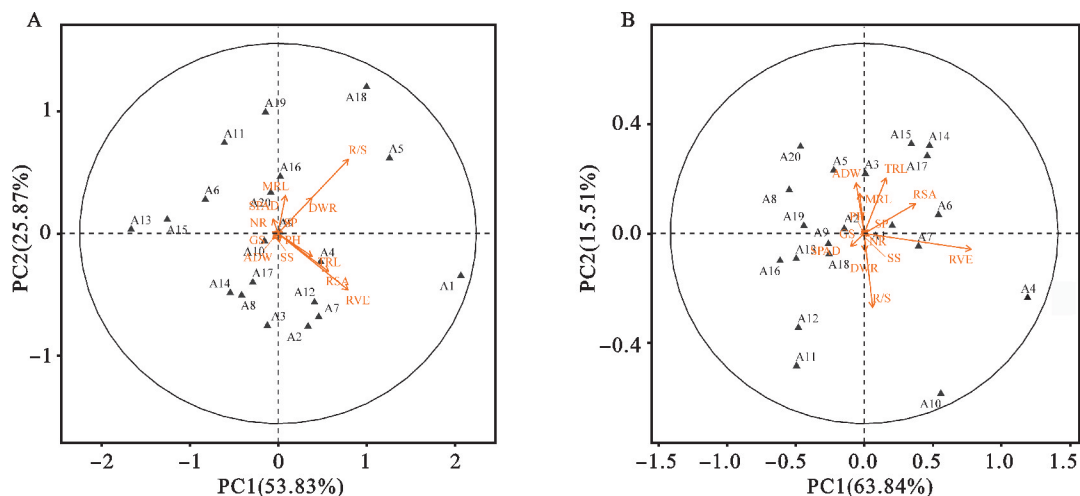
2.2 不同氮处理下小麦各指标的主成分分析

通过对供试小麦苗期 13 个性状的低氮和高氮耐受指数进行主成分分析,选取了在低氮胁迫下累计贡献率达到 91% 的 3 个主成分和高氮胁迫下累计贡献率达到 88% 的 3 个主成分(表 4)。结果(图 1)表明,低氮胁迫下,在 PC1 中,根冠比(载荷值为 0.58)、根体积(0.57)、根表面积(0.41)、最大根长(0.28)和根干重(0.25)有较大的正向影响;在 PC2 中,根冠比(0.63)、最大根长(0.33)和根干重(0.31)拥有较大的正向投影,根体积(-0.48)、根表面积(-0.33)和总根长(-0.20)对 PC2 有较大的负向影响;在 PC3 中最大根长(0.92)的正向投影远大于其他指标,总根长(0.17)和根表面积(0.14)有一定的正向影响,根冠比(-0.29)的负向投影远大于其他指标。高氮胁迫下,在 PC1 中,根体积(-0.88)和根表面积(-0.42)有较大的负向影响;在 PC2 中,总根长(0.46)、地上部干重(0.42)、最大根长(0.33)和

根表面积(0.25)拥有较大的正向影响,而根冠比(-0.62)拥有远大于其他指标的负向投影,且根干重(-0.15)、根体积(-0.13)和绿素含量(-0.11)有一定的负向影响。主成分分析结果说明,小麦在氮胁迫下的耐氮特性主要与小麦根系和根冠比等指标密切相关。

2.3 小麦苗期耐氮指标的筛选

对供试小麦苗期在低氮和高氮处理下各指标相对值与综合评价值(D 值)的相关性分析(表 5)表明,低氮处理下(图 2A),最大根长、根干重、地上部干重、根冠比、根表面积和谷氨酰胺合成酶活性的低氮耐受指数与 D 值的相关性达到显著水平($P < 0.05$),其中根干重和根冠比 2 项指标相关系数高于其他指标,分别为 0.91 和 0.92。高氮处理下(图 2B),根表面积和根体积的高氮耐受指数与 D 值的相关性达到显著水平($P < 0.05$),且与其他指标相比相关系数最高,分别为 -0.78 和 -0.98。



A1~A20 同表 1, 下同; ▲: 得分; →: 载荷投影。

A1-A20 are same in table 1, the same in belows; ▲: Score; →: Load projection.

图 1 各指标低氮(A)和高氮(B)耐受指数主成分散点图

Fig. 1 Scatter plots of tolerance indices to low nitrogen(A) and high nitrogen(B) conditions

表 4 不同氮处理下小麦苗期各综合指标载荷系数及累计贡献率

Table 4 Load coefficients and cumulative contribution rate of each comprehensive index of wheat seedling under different nitrogen treatments

性状 Trait	主成分 Principal component(PC)					
	低氮 Low nitrogen			高氮 High nitrogen		
	PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3
MRL	0.06	0.33	0.92	0.04	0.33	0.27
PH	-0.01	0.00	0.04	0.01	0.00	0.00
DWR	0.28	0.31	-0.03	-0.01	-0.15	0.42
ADW	-0.04	-0.05	0.07	0.07	0.42	-0.01
R/S	0.58	0.63	-0.29	-0.07	-0.62	0.54
TRL	0.28	-0.20	0.17	-0.18	0.46	0.51
RSA	0.41	-0.33	0.14	-0.42	0.25	0.27
RVE	0.57	-0.48	0.03	-0.88	-0.13	-0.24
SPAD	-0.04	0.12	-0.03	0.11	-0.11	0.24
SP	0.01	0.01	-0.04	-0.01	0.02	-0.04
SS	0.01	-0.07	0.05	0.00	-0.03	-0.09
GS	-0.04	0.01	-0.01	0.01	0.00	-0.02
NR	-0.02	0.01	0.01	0.00	-0.01	0.05
贡献率 Contribution rate/%	54	56	12	64	16	9
累计贡献率 Accumulated contribution/%	54	80	91	64	79	88

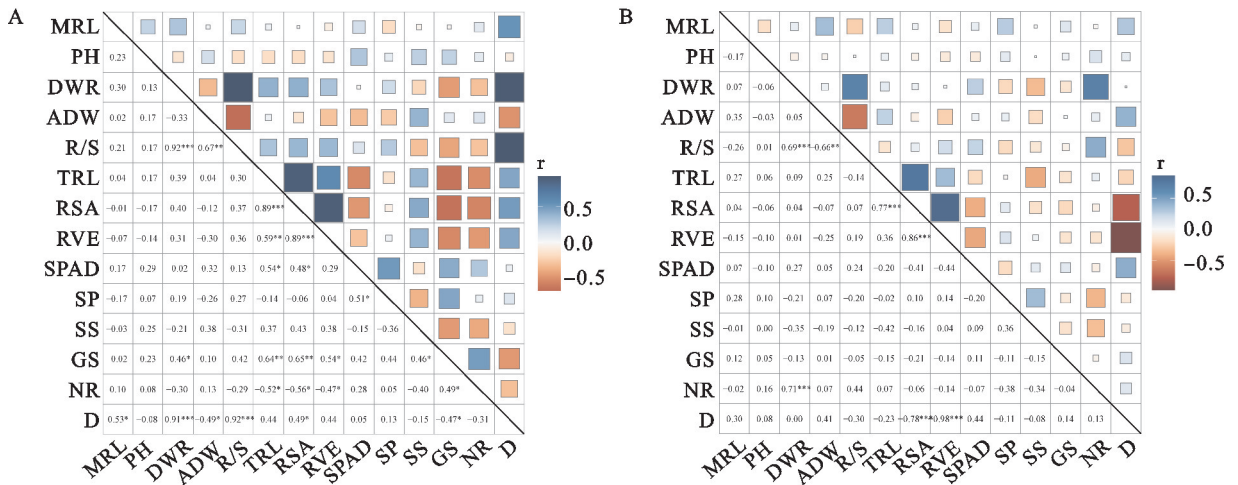
根据各指标的低氮耐受指数和高氮耐受指数与 D 值建立多元逐步回归分析模型。低氮处理下因变量 D 值和 3 个自变量的多元回归方程: $D = -0.392 + 0.196X_1 + 0.145X_2 + 0.087X_3$ (X_1 : R/S, X_2 : MRL, X_3 : RSA), 回归方程决定系数为 0.997 ($P < 0.01$), 说明该方程用于综合评价小麦苗期耐低氮能力的可靠性达到 99.7%。高氮处理下因变量 D 值和 4 个自变量的多元回归方程: $D = 0.894 - 0.400X_1 + 0.159X_2 + 0.120X_3 + 0.062X_4$ (X_1 :

RVE; X_2 : ADW; X_3 : MRL; X_4 : TRL), 回归方程决定系数为 0.996 ($P < 0.01$), 说明该方程用于综合评价小麦苗期耐高氮能力的可靠性达到 99.6%。相关性分析和多元逐步回归分析结果综合表明, 根冠比、最大根长和根表面积 3 个指标可以作为评价不同小麦品种苗期耐低氮的鉴定指标, 根体积、地上部干重、最大根长和总根长 4 个指标可以作为评价不同小麦品种苗期耐高氮的鉴定指标。

表 5 不同氮处理下小麦苗期综合评价

Table 5 Comprehensive evaluation values of wheat seedling under different nitrogen treatments

编号 Code	D 值 D value		编号 Code	D 值 D value	
	低氮 Low nitrogen	高氮 High nitrogen		低氮 Low nitrogen	高氮 High nitrogen
A1	0.67	0.56	A11	0.40	0.77
A2	0.35	0.70	A12	0.41	0.75
A3	0.34	0.67	A13	0.15	0.86
A4	0.50	0.46	A14	0.28	0.58
A5	0.75	0.76	A15	0.24	0.65
A6	0.40	0.52	A16	0.52	0.85
A7	0.47	0.52	A17	0.32	0.61
A8	0.26	0.89	A18	0.75	0.72
A9	0.43	0.76	A19	0.57	0.85
A10	0.34	0.40	A20	0.50	0.89



A: 低氮; B: 高氮; * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$; *** : $P < 0.001$ 。正方形的大小代表相关系数的大小,蓝色表示正相关,红色表示负相关。颜色越深,表示相关性越强。

A: Low nitrogen; B: High nitrogen; * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$; *** : $P < 0.001$ 。The size of the square represent the correlation coefficient, with blue representing a positive correlation and red representing a negative correlation. The darker the color, the stronger the correlation.

图 2 小麦苗期各性状氮胁迫耐受指数与综合评价(D)的相关系数

Fig. 2 Correlation coefficients between nitrogen stress tolerance index and comprehensive evaluation value(D) of wheat at seedling stage

2.4 基于氮效率综合值对不同氮效率的小麦进行分类

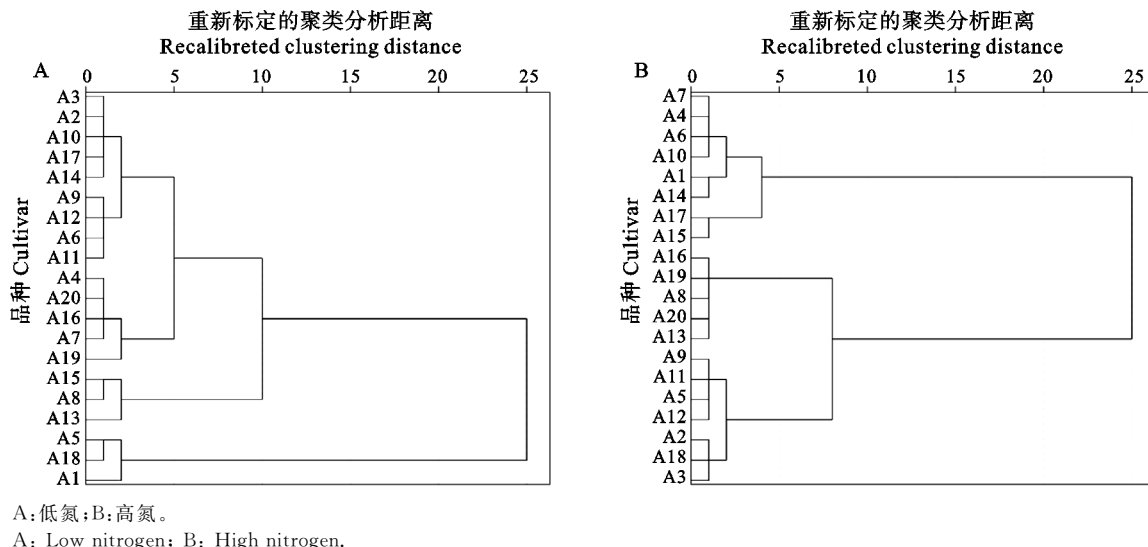
基于 3 个耐低氮鉴定指标和 4 个耐高氮鉴定指标的氮胁迫耐受指数,以及上述回归方程计算氮效率综合值(D),采用欧氏距离最长距离法对各品种在不同氮浓度水平下的综合评价进行聚类分析(图 3)。把 20 个供试小麦品种在低氮和高氮处理下都分为 3 类。低氮处理下,第一类的综合评价 D 值为 0.146~0.251,属于低氮敏感型品种,分别为 A8、A13 和 A15;第二类的综合评价 D 值为 0.286~0.574,属于中间型品种,分别为

A2、A3、A4、A6、A7、A9~A12、A14、A16、A17、A19、A20;第三类的综合评价 D 值为 0.669~0.759,属于耐低氮型品种,分别为 A1、A5 和 A18。在高氮处理,第一类的综合评价 D 值为 0.401~0.642,属于高氮敏感型品种,分别为 A1、A4、A6、A7、A10、A14、A15 和 A17;第二类的综合评价 D 值为 0.677~0.771,属于中间型品种,分别为 A2、A3、A5、A9、A11、A12 和 A18;第三类的综合评价 D 值为 0.842~0.890,属于氮高效型品种,分别为 A8、A13、A16、A19 和 A20。

利用低氮处理和高氮处理下氮效率综合值进

行散点作图,将 20 个供试小麦品种分为 4 类(图 4):(1)双高效型,低氮和高氮胁迫下氮效率综合值高于平均值,包含 A5、A20 等 5 个品种;(2)低氮高效型,低氮胁迫下氮效率综合值高于平均值,而高氮胁迫下低于平均值,包含 A13、A2 等 6 个品种;

品种;(3)高氮高效型,高氮胁迫下氮效率综合值高于平均值,而低氮胁迫下低于平均值,包含 A1、A7 等 3 个品种;(4)双低效型,低氮和高氮胁迫下氮效率综合值均低于平均值,包含 A6、A17 等 6 个品种。



A: 低氮; B: 高氮。
A: Low nitrogen; B: High nitrogen.

图 3 不同氮处理下小麦苗期氮效率综合值的系统聚类

Fig. 3 Dendrogram of nitrogen efficiency of wheat seedlings under different nitrogen treatments

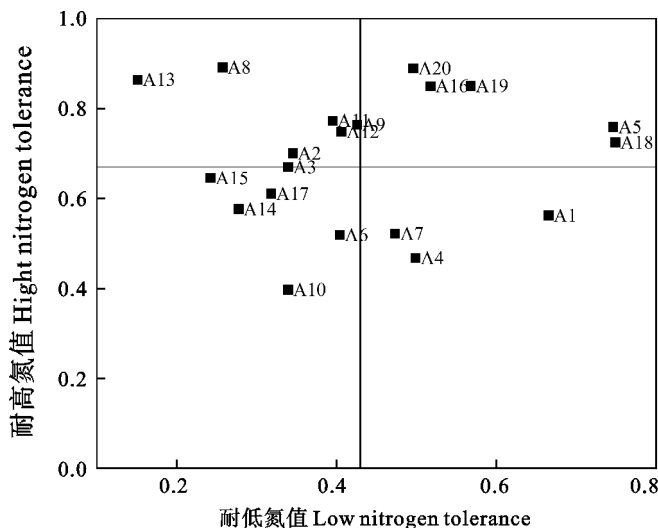


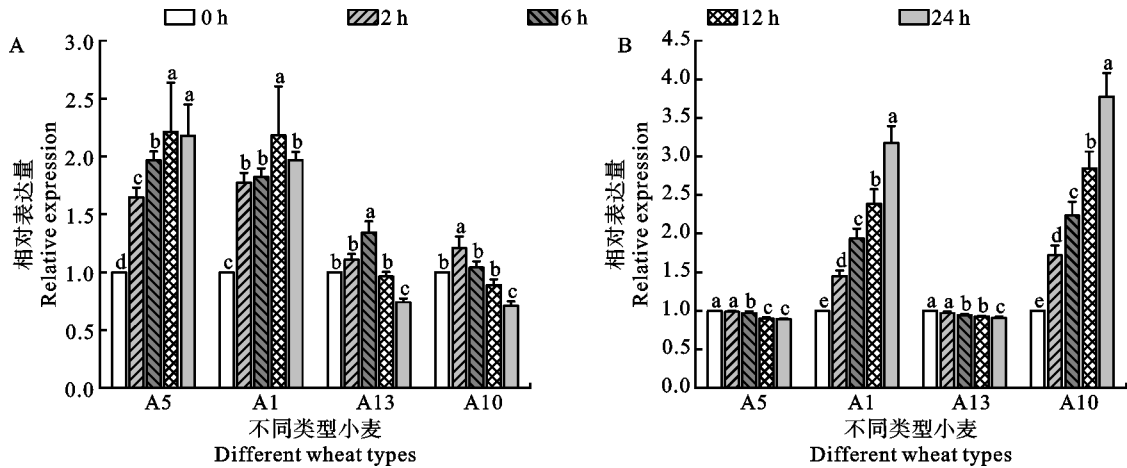
图 4 不同氮处理下小麦苗期氮效率综合值的散点图

Fig. 4 Scatter plots of the comprehensive value of nitrogen efficiency in wheat seedling under different nitrogen treatments

2.5 *TaSPX1* 在氮胁迫下的表达分析

为进一步验证氮高效品种和氮低效品种在分子水平上的差异,从上述 4 种类型材料中各挑选 1 份小麦材料进行 *TaSPX1* 基因 qRT-PCR 分析。结果(图 5)表明,低氮处理下,双高效型(A5)和低氮高效型(A1)材料的 *TaSPX1* 基因相对表达量在 0~12 h 时显著增加,12 h 后有所下降但是仍高于 0 h。高氮高效型(A13)和双低效型(A10)材

料的 *TaSPX1* 基因在刚开始胁迫时相对表达量略微上调,随着处理时间的增加 *TaSPX1* 基因相对表达量开始降低,其在处理时间内相对表达量变化相对缓慢。高氮处理下,双高效型(A5)和高氮高效型(A13)材料的 *TaSPX1* 基因相对表达量在整个氮胁迫时期趋于稳定,变化不太明显,但是低氮高效型(A1)和双低效型(A10)材料的 *TaSPX1* 基因相对表达量随着处理时间的增加而显著上升。



A: 低氮; B: 高氮; A5: 双高效型; A1: 低氮高效型; A13: 高氮高效型; A10: 双低型。同一类型图柱上不同小写字母代表处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

A: Low nitrogen; B: High nitrogen; A5: Double high type; A1: Low nitrogen efficient type; A13: High nitrogen efficient type; A10: Double low type. Different letters above columns of same type represent significant differences between treatments ($P < 0.05$).

图 5 小麦 *TaSPX1* 基因在氮胁迫下的表达

Fig. 5 Relative expression of *TaSPX1* of wheat seedlings under N stress

3 讨论

苗期是小麦生长发育的基础阶段,采用水培法筛选氮高效小麦具有耗时短、环境影响小等优势。小麦苗期对氮素的吸收与成熟期时小麦产量密切相关。在不同氮浓度水平下,作物地上部分形态指标^[19-20]和地下部分形态特征均会发生显著变化^[21]。李淑文等^[22]研究表明,在低氮处理下,小麦地上部分生长受到的抑制作用比根系更明显,而在高氮处理下,根系受到的抑制作用更加明显^[23]。本研究发现,低氮处理下小麦苗期根系生长受到促进,而地上部生长发育则受到抑制;在高氮处理下,小麦苗期根系和地上部生长发育都受到不同程度的抑制作用。这可能与氮胁迫时地上部分对根系同化物运输的增加有关。叶绿素在光合作用中起关键作用,而可溶性蛋白和可溶性糖则是植物生长所需的重要营养成分。姜苏育^[17]、冯福生等^[24]和曹翠玲等^[25]研究发现,在低氮胁迫下,小麦叶绿素含量先增加后降低,可溶性蛋白含量降低,而可溶性糖含量增加。本研究中,低氮条件下小麦叶绿素和可溶性蛋白含量均下降,而可溶性糖含量上升,表明植物通过增加糖分来维持基本代谢活动。高氮处理下,叶绿素和可溶性糖含量均降低,而可溶性蛋白含量上升,提示过量氮可能导致光合作用效率下降和代谢失调。NR 和 GS 作为氮代谢中的关键酶,其活性受氮浓度

显著影响^[26-27]。王月福等^[28]认为,高氮条件下 NR 和 GS 的活性升高。张士昌等^[29]研究得出低氮胁迫下小麦 NR 和 GS 活性比对照显著降低。本研究结果显示,在低氮处理下小麦 NR 和 GS 活性降低,而在高氮处理下升高。在不同氮浓度处理下,小麦最大根长、根干重、根冠比、叶绿素含量、总根长、根表面积和根体积的变异系数较大,说明小麦这些性状对氮素水平较为敏感,这与张恒等^[30]的研究相似。

在耐低氮和氮高效材料筛选方面,虽然已有较多研究,但筛选指标缺乏统一标准。陈旭^[12]研究表明,根系的主要形态性状可以作为评价氮高效的筛选指标。张恒等^[30]通过对不同小麦材料在高氮和低氮处理下研究发现,叶绿素含量、全氮积累量、根干重等 7 个指标可作为小麦苗期氮高效材料的筛选指标。本研究结合主成分分析法和多元逐步回归方程,确定了根冠比、最大根长和根表面积可作为小麦苗期耐低氮能力评价体系的筛选指标,根体积、地上部干重、最大根长和总根长可作为小麦苗期耐高氮能力评价体系的筛选指标,并利用隶属函数分析和聚类分析将 20 个供试小麦品种分为四类:双高效型、低氮高效型、高氮高效型和双低效型。

关于 SPX 基因家族的研究,主要集中在拟南芥和水稻中,其中少数基因如水稻的 *OsSPX4* 已被证实参与氮素利用的调控^[31]。张宝华等^[11]研

究表明, *TaSPX1* 在低氮胁迫下表达量显著增加, 且通过超表达发现其能增强小麦抵御低氮胁迫的能力。本研究中, 低氮处理下, 双高效型和低氮高效型材料的 *TaSPX1* 相对表达量上升, 而高氮高效型和双低效型材料则在胁迫初期略微上调, 但随后下降。这可能是双高效型和低氮高效型材料在初期感知氮素供应减少后增强表达, 以应对低氮胁迫, 但在长期胁迫下逐渐适应, 表达趋于稳定。在高氮处理下, 双高效型和高氮高效型材料的 *TaSPX1* 相对表达量趋于稳定, 而低氮高效型和双低效型材料的表达量随着处理时间延长而上调, 表明其在适应高氮环境方面存在不足, 可能影响生长发育。通过 *TaSPX1* 基因在筛选材料中的表达分析, 进一步验证了上述材料筛选的结果准确性。

本研究在氮高效材料筛选方面具有创新性, 为提高氮肥利用率和小麦的氮素吸收提供了重要依据。未来研究可进一步探讨不同环境因素对小麦氮素代谢的影响, 并优化氮肥施用策略。

参考文献:

- [1]张冰雪, 张晓敏, 邢燕平, 等. 影响禾谷类作物籽实营养素含量的遗传因素分析[J]. 寒旱农业科学, 2023, 2(8): 687.
ZHANG B X, ZHANG X M, XING Y P, *et al.* Analysis on genetic factors affecting the nutrient contents of grains in cereals [J]. *Journal of Cold-Arid Agricultural Sciences*, 2023, 2(8): 687.
- [2]ZÖRB C, LUDEWIG U, HAWKESFORD M J. Perspective on wheat yield and quality with reduced nitrogen supply [J]. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(11): 1029.
- [3]韩晓宇, 黄芳, 王峥, 等. 陕西关中不同年代小麦品种产量及氮素吸收利用对土壤肥力的响应[J]. 中国农业科学, 2015, 48(23): 4769.
HAN X Y, HUANG F, WANG Z, *et al.* Responses of grain yield and nitrogen use efficiency of wheat cultivars released in different decades to soil fertility in Shaanxi Guanzhong Plain [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(23): 4769.
- [4]蒋昕. 不同类型(品种)小麦幼苗氮素吸收特性比较研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
JIANG X. Comparative study on nitrogen absorption characteristics of different types (varieties) of wheat seedlings [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2021.
- [5]RAUN W R, JOHNSON G V. Improving nitrogen use efficiency for cereal production [J]. *Agronomy Journal*, 1999, 91(3): 357.
- [6]WANG W G, LI R, LIU B, *et al.* Effects of low nitrogen and drought stresses on proline synthesis of *Jatropha curcas* seedling [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2011, 33(5): 1591.
- [7]WU Y, LIU W, LI X, *et al.* Low-nitrogen stress tolerance and nitrogen agronomic efficiency among maize inbreds: Comparison of multiple indices and evaluation of genetic variation [J]. *Euphytica*, 2011, 180(2): 281.
- [8]JIANG S, SUN J, TIAN Z, *et al.* Root extension and nitrate transporter up-regulation induced by nitrogen deficiency improves nitrogen status and plant growth at the seedling stage of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2017, 141: 28.
- [9]LI D, TIAN M, CAI J, *et al.* Effects of low nitrogen supply on relationships between photosynthesis and nitrogen status at different leaf position in wheat seedlings [J]. *Plant Growth Regulation*, 2013, 70(3): 257.
- [10]罗来超, 苗艳芳, 李生秀, 等. 氮素形态对小麦幼苗生长及根系生理特性的影响[J]. 河南科技大学学报(自然科学版), 2013, 34(4): 81.
LUO L C, MIAO Y F, LI S X, *et al.* Effect of N forms on growth and root physiological characteristics of wheat seedling [J]. *Journal of Henan University of Science & Technology (Natural Science)*, 2013, 34(4): 81.
- [11]张宝华, 刘佳静, 田晓, 等. 小麦 *TaSPX1* 基因的克隆、表达及耐低氮逆境的功能研究[J]. 作物学报, 2024, 50(3): 576.
ZHANG B H, LIU J J, TIAN X, *et al.* Cloning, expression, and functional analysis of wheat (*Triticum aestivum* L.) *TaSPX1* gene in low nitrogen stress tolerance [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2024, 50(3): 576.
- [12]陈旭. 小麦不同氮效率品种苗期根系性状与籽粒产量和品种的关系研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2020.
CHEN X. Study on relationships of seedling root traits with grain yield & quality of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars with different nitrogen use efficiency [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2020.
- [13]陈福明, 陈顺伟. 混合液法测定叶绿素含量的研究[J]. 林业科技通讯, 1984, 4(1): 19.
CHEN F M, CHEN S W. Study on determination of chlorophyll content by mixed liquid method [J]. *Forest Science and Technology*, 1984, 4(1): 19.
- [14]李得孝, 员海燕, 郭月霞, 等. 混合液浸提法测定玉米叶绿素含量的研究[J]. 玉米科学, 2006, 14(1): 117.
LI D X, YUAN H Y, GUO Y X, *et al.* Mixture solution soaking extraction efficiencies of chlorophyll from maize [J]. *Maize Science*, 2006(1): 117.
- [15]JIA W S, ZHANG J H. Stomatal movements and long-distance signaling in plants [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2008, 3(10): 772.
- [16]郝建军, 康宗利, 于洋. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
HAO J J, KANG Z L, YU Y. Experimental technology of plant physiology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
- [17]姜苏育. 低氮营养对小麦幼苗根系生长与氮素吸收利用的影响及其生理机制[D]. 南京: 南京农业大学, 2018.
JIANG S Y. Effects of low nitrogen nutrition on root growth

- and nitrogen absorption and utilization of wheat seedlings and its physiological mechanism [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018.
- [18] 张志良. 植物生理学实验指导(2版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- ZHANG Z L. Experimental instruction of plant physiology (2nd ed) [M]. Beijing: Higher Education Press, 1990.
- [19] 张美俊, 乔治军, 杨武德, 等. 不同糜子品种对低氮胁迫的生物学响应[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(3): 661.
- ZHANG M J, QIAO Z J, YANG W D, *et al.* Biological response of different cultivars of millet to low nitrogen stress [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20(3): 661.
- [20] 谢孟林, 李强, 查丽, 等. 低氮胁迫对不同耐低氮玉米品种幼苗根系形态和生理特征的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(8): 946.
- XIE M L, LI Q, ZHA L, *et al.* Effects of low nitrogen stress on the physiological and morphological traits of roots of different low nitrogen tolerance maize varieties at seedling stage [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2015, 23(8): 946.
- [21] 金玉红, 张开利, 张兴春, 等. 双波长法测定小麦及小麦芽中直链、支链淀粉含量[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(1): 137.
- JIN Y H, ZHANG K L, ZHANG X C, *et al.* Determination of amylose and amylopectin in wheat and wheat malt by dual-wavelength spectrophotometry [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2009, 24(1): 137.
- [22] 李淑文, 文宏达, 周彦珍, 等. 不同氮效率小麦品种氮素吸收和物质生产特性[J]. 中国农业科学, 2006, 39(10): 1992.
- LI S W, WEN H D, ZHOU Y Z, *et al.* Characterization of nitrogen uptake and dry matter production in wheat varieties with different N efficiency [J]. *Chinese Journal of Agricultural Sciences*, 2006, 39(10): 1992.
- [23] 陈哲, 伊霞, 陈范骏, 等. 玉米根系对局部氮磷供应响应的基因型差异[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(1): 83.
- CHEN Z, YI X, CHEN F J, *et al.* Differential response of maize roots to heterogeneous local nitrogen and phosphorus supply and genotypic differences [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2017, 23(1): 83.
- [24] 冯福生, 陈文龙, 李洁, 等. 不同供氮水平下冬小麦叶片中RuBP羧化酶和硝酸还原酶的活性变化[J]. 植物生理学通讯, 1986, 22(6): 20.
- FENG F S, CHEN W L, LI J, *et al.* Variation of the activities of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase and nitrate reductase in leaves from wheat plant grown different nitrogen levels [J]. *Plant Physiology Communications*, 1986, 22(6): 20.
- [25] 曹翠玲, 李生秀, 李学俊. 冬小麦分蘖期氮素亏缺时间对某些生理特性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2002, 30(1): 23.
- CAO C L, LI S X, LI X J. The effect of nitrogen stress time on some physiologic characteristics in winter wheat tillering stage [J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*, 2002, 30(1): 23.
- [26] 刘金萍. 香椿对硝态氮积累和同化特征的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2011.
- LIU J P. Study on the characteristics of nitrate accumulation and assimilation in *Toona sinensis* [D]. Jinan: Shandong Normal University, 2011.
- [27] 张新钵. 不同氮效率小麦碳氮代谢关键酶活性与基因表达差异及氮肥响应[D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
- ZHANG X B. Differences in activities and gene expression of key enzymes involved in carbon-nitrogen metabolism and response to nitrogen fertilizer in wheat with different NUE [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2022.
- [28] 王月福, 于振文, 李尚霞, 等. 氮素营养水平对冬小麦氮代谢关键酶活性变化和籽粒蛋白质含量的影响[J]. 作物学报, 2002, 28(6): 743.
- WANG Y F, YU Z W, LI S X, *et al.* Effect of nitrogen nutrition on the change of key enzyme activity during the nitrogen metabolism and kernel protein content in winter wheat [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2002, 28(6): 743.
- [29] 张士昌, 史占良, 李孟军, 等. 长期定位氮胁迫对小麦碳氮代谢、氮素利用及产量的影响[J]. 河南农业科学, 2016, 45(12): 13.
- ZHANG S C, SHI Z L, LI M J, *et al.* Effect of long-term nitrogen stress on carbon and nitrogen metabolism, nitrogen use efficiency and yield of wheat [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2016, 45(12): 13.
- [30] 张恒, 陈艳琦, 任杰莹, 等. 西南麦区小麦苗期氮高效品种筛选及指标体系构建[J]. 四川农业大学学报, 2022, 40(1): 10.
- ZHANG H, CHEN Y Q, REN J Y, *et al.* Screening of wheat cultivars with high nitrogen efficiency at seedling stage and construction of index system in southwest wheat region [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2022, 40(1): 10.
- [31] HU B, JIANG Z, WANG W, *et al.* Author correction: Nitrate-NRT1.1B-SPX4 cascade integrates nitrogen and phosphorus signalling networks in plants [J]. *Nature Plants*, 2019, 5: 637.