

黄瓜氮素胁迫相关基因 *CsAHP1* 的克隆及功能分析

杜亚琳¹,陈海燕²,徐丽琳¹,王 琛¹,范莲雪¹

(1. 农业部东北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室/

东北农业大学 园艺园林学院,黑龙江 哈尔滨 150030;

2. 河南省农业科学院 农业经济与信息研究所,河南 郑州 450002)

摘要: 为研究黄瓜耐低氮素胁迫的生理与分子机制,克隆了 1 个黄瓜氮素胁迫相关基因 *CsAHP1*, 其 cDNA 全长为 462 bp。序列分析表明,*CsAHP1* 基因在不同物种中高度保守。进化树分析结果表明,*CsAHP1* 蛋白与甜瓜的 AHP 蛋白亲缘关系较近。qRT-PCR 结果表明,*CsAHP1* 基因在低浓度氮素条件下表达量较高。功能分析结果表明,低浓度氮素胁迫条件下拟南芥 Col-0 植株根长明显变短,其质量也显著降低,而 35S::*CsAHP1* 转基因拟南芥株系的根长缩短程度和质量下降率都显著小于 Col-0 植株,表明 *CsAHP1* 过表达拟南芥转基因植株表现出比 Col-0 植株更强的耐氮素胁迫能力。综上所述,黄瓜 *CsAHP1* 基因可以提高 35S::*CsAHP1* 拟南芥过表达转基因株系的氮素胁迫能力。

关键词: 拟南芥; *CsAHP1*; 黄瓜; 低氮素胁迫

中图分类号: S642.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2018)06-0092-06

Cloning and Function Analysis of Cucumber *CsAHP1* Gene Involved in Nitrogen Tolerance

DU Yalin¹, CHEN Haiyan², XU Lili¹, WANG Chen¹, FAN Lianxue¹

(1. Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops (Northeast Region), Ministry of

Agriculture/Horticulture and Landscape Architecture College of Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

2. Institute of Agricultural Economics and Information, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: To investigate the physiological and molecular mechanism of low nitrogen (N) tolerance in cucumber, a low N tolerance related gene, named *CsAHP1* was cloned in the present study. The cDNA of *CsAHP1* was 462 bp in length. Sequence analysis showed that *CsAHP1* gene was highly conserved among different species. Phylogenetic analysis indicated that *CsAHP1* had a close relationship with *Cucumis melo* AHP among different species. qRT-PCR analysis results showed that *CsAHP1* was up-regulated under low N condition. Functional analysis results showed that root lengths and fresh weights of Col-0 plants were significantly reduced under low N condition, while reduction ratio of root lengths and fresh weights in transgenic line harboring 35S::*CsAHP1* was less than Col-0, which revealed that transgenic *Arabidopsis* plants showed higher capacity for low N tolerance than Col-0. These results revealed that the cucumber *CsAHP1* could improve low N tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants.

Key words: *Arabidopsis*; *CsAHP1*; Cucumber; Low nitrogen stress

氮是植物生长发育的重要营养元素之一。但过 过程中面临的主要问题。据报道,化肥中所包含的氮只有 30% ~ 50% 被植物吸收和利用^[1-3]。黄瓜是

收稿日期:2017-11-21
基金项目:国家自然科学基金(31701934);东北农业大学/农业部东北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室开放课题(neauhc201601)
作者简介:杜亚琳(1980-),女,河南漯河人,实验师,硕士,主要从事园艺作物分子育种研究。E-mail:duyalin123@163.com

一种富含硝酸盐的蔬菜。近年来,黄瓜栽培过程中氮肥的过量施用已经导致环境严重污染^[4],并且也抑制了黄瓜植株的生长发育^[5]。此外,蔬菜硝酸盐污染是我国绿色蔬菜以及无公害蔬菜生产中面临的主要问题,而过量施用氮肥不仅是造成该问题的主要原因之一^[6-9],还影响了农民的收入。因此,培育耐氮素胁迫能力强的黄瓜新品种对减轻环境受损及降低黄瓜生产成本意义重大。

细胞分裂素是参与调节植物生长发育过程的重要激素之一^[10-13],而含有组氨酸的磷酸转移蛋白(AHPs)是细胞分裂素信号级联反应的重要组成部分,拟南芥中共有 6 种 AHP 蛋白^[14]。然而在低氮胁迫条件下 AHPs 在黄瓜中的作用尚不清楚。

为深入了解黄瓜生殖生长过程中的氮循环与其耐氮素胁迫能力之间的关系,前期对黄瓜生殖生长期叶片的转录组进行分析,获得了 1 个黄瓜氮素胁迫相关候选基因 *CsAHPI* (*Csa1M572420*)^[15]。本研究对 *CsAHPI* 在不同氮素处理条件下的表达及其序列进行了分析,构建了 35S:: *CsAHPI* 拟南芥过表达转基因株系,并对转基因拟南芥植株耐氮素胁迫能力进行了分析,为深入理解 *CsAHPI* 基因参与黄瓜耐氮素胁迫的生理与分子机制提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料种植及氮素处理

本研究以黄瓜津研四号为试验材料,对其进行低浓度氮素处理试验。将黄瓜津研四号种子先进行催芽,然后移植于装有蛭石的营养钵中,分别用 3 mmol/L 和 14 mmol/L 的 KNO_3 溶液进行处理,处理后 37 d 对幼苗进行全株取样。

拟南芥 Col-0 植株和 35S:: *CsAHPI* 拟南芥过表达转基因株系种植于光照培养箱 (HPG-280HX, HDL)。昼夜温度分别为 22、18 ℃,光周期为 16 h 光照/8 h 黑暗,空气相对湿度保持在 75% 左右。分别用低浓度氮素 (1 mmol/L NO_3^-) 和高浓度氮素溶液 (10 mmol/L NO_3^-) 处理。高浓度氮素溶液包含 1 mmol/L KH_2PO_4 、0.5 mmol/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、1 mmol/L CaCl_2 、10 mmol/L KNO_3 、50 $\mu\text{mol/L}$ NaFe-EDTA 、12 $\mu\text{mol/L}$ MnCl_2 、1 $\mu\text{mol/L}$ ZnCl_2 、1.0 $\mu\text{mol/L}$ CuCl_2 、50 $\mu\text{mol/L}$ H_3BO_3 、30 nmol/L $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 130 nmol/L $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;低浓度氮素 (1 mmol/L NO_3^-) 溶液包含 0.5 mmol/L CaCl_2 、1 mmol/L KNO_3 和 9 mmol/L KCl ^[16]。

1.2 qRT-PCR 分析

根据 Wu 等^[17]的方法,将 3 mmol/L 和 14

mmol/L NO_3^- 条件下生长 37 d 的黄瓜津研四号幼叶用 Trizol 法 (Invitrogen 公司) 提取其总 RNA,用分光光度计检测浓度;按照 TOYOBO 公司 Rever Tra Ace qPCR RT Kit 反转录试剂盒说明书进行 cDNA 第一链合成;使用 iQ5 实时 PCR 检测系统 (Bio-RAD, USA) 进行 qRT-PCR 分析。相关基因的引物序列信息见表 1。

表 1 基因克隆、表达分析和载体构建所需引物序列		
基因	引物序列 (5'-3')	用途
<i>CsAHPI</i> - F	GGCAGCAGCTCAAGCATTGG	表达分析
<i>CsAHPI</i> - R	AGCAAATTCCTCCTTCACATGTTGT	
<i>CsEFIα</i> - F	CGCTCTTCTTGCTTTACCCCTT	内参基因
<i>CsEFIα</i> - R	TACCTTGCCTTGGAGTATTTGG	
<i>CsAHPI</i> - S	GCTCTAGATGGAAGATGTGATTC	克隆及载体构建
<i>CsAHPI</i> - A	CGGGATCCTCATTTGTTACATATTG	

注:下划线表示酶切位点。

1.3 *CsAHPI* 基因的克隆及序列分析

在葫芦科基因组数据库 ([http://www. icugi.org/cgi-bin/ICuGI/index. cgi](http://www.icugi.org/cgi-bin/ICuGI/index.cgi)) 中搜索 *CsAHPI* 基因 ID 号 *Csa1M572420.1*, 获得其 CDS 序列信息,以该 CDS 序列为模板,使用 Primer Premier 5.0 设计克隆引物 (表 1),并由上海生物工程技术服务有限公司合成。利用 PCR 方法进行 *CsAHPI* 基因的克隆。利用 NCBI ([http://www. ncbi. nlm. nih. gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)) 在线 Blast 工具和 DNAMAN 8.0 软件进行序列比对和分析,利用 MEGA 6.0 软件的邻近法进行系统进化树的构建。通过在线软件 Expasy 对该基因所编码的蛋白质理化性质进行预测分析。

1.4 *CsAHPI* 过表达转基因拟南芥株系的获得

将 *CsAHPI* 基因的全长编码序列克隆到带有 *Xba* I / *Bam* H I 酶切位点的 pBI121 载体中,然后将所构建好的重组体转化到农杆菌菌株 LBA4404 中,最后通过花序侵染法^[18]转化到 Col-0 植株中。在含有卡那霉素 (Kan) 的 MS 培养基上筛选转化的种子 (T_1),并最终获得纯合的 T_3 代种子,即 35S:: *CsAHPI* 转基因拟南芥株系。

1.5 拟南芥植株根长和质量的测定

拟南芥 Col-0 植株和 35S:: *CsAHPI* 拟南芥过表达转基因株系在低浓度氮素 (1 mmol/L NO_3^-) 和高浓度氮素 (10 mmol/L NO_3^-) 条件下生长 10 d,然后用 ImageJ ([http://rsb. info. nih. gov/ij/](http://rsb.info.nih.gov/ij/)) 测量所有植株的根长,质量用分析天平进行称量。数据以平均值 \pm 标准差表示,每处理至少 30 次重复。用 Tukey 检验法进行差异显著性分析 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 黄瓜耐氮素胁迫基因 *CsAHP1* 的表达分析

本研究前期通过 Solexa 测序技术对黄瓜耐氮素胁迫相关基因的表达谱进行了分析,鉴定出 1 个在低氮素胁迫条件下上调表达的基因 *CsAHP1*^[15]。为进一步验证 *CsAHP1* 与耐氮素胁迫之间的关系,对 *CsAHP1* 的表达进行了 qRT-PCR 分析。结果表明,在低氮素胁迫条件下,*CsAHP1* 基因表达水平显著增加,这一结果与前期 Solexa 测序结果^[15]一致(图 1),表明 *CsAHP1* 为一个黄瓜低氮素胁迫诱导表达的基因。

2.2 黄瓜 *CsAHP1* 基因的克隆及序列分析

黄瓜 *CsAHP1* 基因 cDNA 长 462 bp,编码 153 个氨基酸。在线软件 ExPASy-ProtParam 预测结果表明,*CsAHP1* 蛋白分子质量为 17.78 ku,理论等电点为 5.76。NCBI 数据库检索结果显示,*CsAHP1* 属于

HPT 家族。序列分析表明,*CsAHP1* 的氨基酸序列与甜瓜的同源性为 95%,与巨桉和川桑的同源性为 64%,与拟南芥、烟草和番茄也均有 > 60% 的同源性,表明 *CsAHP1* 基因在不同物种中高度保守(图 2)。此外,在 *CsAHP1* 的同源序列中发现了 HPT 家族的特征,即组氨酸残基(图 2)。

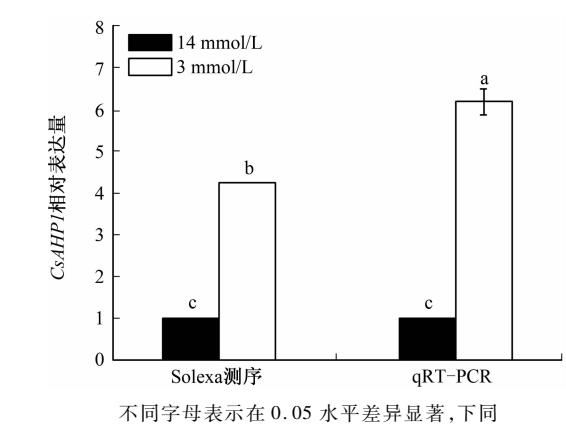


图 1 *CsAHP1* 在不同氮素处理条件下的表达水平

<i>Cucumis sativus</i>	MEDVI HLQTQFLRYKVS LFKKEGYLNDQFKEI ENLEDESNP	40
<i>Cucumis melo</i>	MEDVI HLQTQLLHYKVS LFKKEGYLNDQFKELESLEDESNP	40
<i>Eucalyptus grandis</i>	. MDVAQLKRQLFHYTTLLFFHEGFLDDEQFTQLQQQLQDESNP	39
<i>Morus notabilis</i>	MAYLVQLQKQFDDYRAS LFNHEGFLDDEQFEQLQQQLQDESNP	40
<i>Nicotiana tabacum</i>	MESVNQLQRKLADYTSSLYNENFLDDEQFIQLQQQLADESNP	40
<i>Solanum lycopersicum</i>	. . . MEQIQRKLAEYTAASLYNEKI LDEQFIQLQQQLQDESNP	37
<i>Arabidopsis thaliana</i>	. MDLVQKQKSLQDYTKSLFLLEGI LDSQFLQLQQQLQDESNP	39
His residue		
<i>Cucumis sativus</i>	KFVEEVVTI FFEDSHRLI NELAKALECKCI DFKKVDAAYVH	80
<i>Cucumis melo</i>	KFVEEVVAI FFEDSHRLI NELTKALECKCI DFKKVDAAYVH	80
<i>Eucalyptus grandis</i>	DFVVEVVS LFFEDSRLNLELAKALDCCNI DEKKVDAEYVH	79
<i>Morus notabilis</i>	DFVVEVVS LFFQDSERLLNLELATSLECCNTDYRKVDAEYVH	80
<i>Nicotiana tabacum</i>	DFVVEVVS LFFEDSDRLNLELTKALNPNVDFKKVDAEYVH	80
<i>Solanum lycopersicum</i>	DFVVEVVS LFFEDSERLLNLELAKALNQSNDVDFKKLDAEYVH	77
<i>Arabidopsis thaliana</i>	DFVSVQVTLFFQDSDRILNDSLSLECCQVVDFFKKVDEYVH	79
<i>Cucumis sativus</i>	QLKGSSSSI GANKVQVACI AFRNYCHDMNI QCCLKCLQHV	120
<i>Cucumis melo</i>	QLKGSSSSI GANKVQVACI AFRNYCHDMNI QCCLKCLQHV	120
<i>Eucalyptus grandis</i>	QLKGSSSSI GAQRVQRVCI AFRNYCQDKNVEGCLKCLQCV	119
<i>Morus notabilis</i>	QLKGSSSSI GAQRVQRVCI AFRNFCEEQNTCECLKCLQCV	120
<i>Nicotiana tabacum</i>	QLKGSSSSI GALRVQKICI AFRNYCEQI VECCLKCLQCV	120
<i>Solanum lycopersicum</i>	QLKGSSSSI GAQRVQRVCI SFRNYCDERNVEGCLKCLQCV	117
<i>Arabidopsis thaliana</i>	QLKGSSSSI GAQRVKNA CVVRSFCEQQNVEACHRCLQCV	119
<i>Cucumis sativus</i>	KEEFALVKNKLETFLKVEKEFLANASNP I CNK.	153
<i>Cucumis melo</i>	KEEFALVKNKLETFLKVEKEFLDANASNP I . . .	151
<i>Eucalyptus grandis</i>	KQEYSLVKNKLETFLNLEKQI LAAGGSAPM. . .	149
<i>Morus notabilis</i>	KHEYTLVKNKLETFLKVSN.	139
<i>Nicotiana tabacum</i>	KNEYTLVKNKLETFLKLEKQLVDAGGSLP VV. . .	151
<i>Solanum lycopersicum</i>	KI EYTLVKNKLETFLKLEKQFVDAGGSFP VV. . .	148
<i>Arabidopsis thaliana</i>	KQEYVLVKNRLETFLKLEQQI VASGGM PAVELG	153

甜瓜 (*Cucumis sativus*): XP_008450710.1; 巨桉 (*Eucalyptus grandis*): XP_010025131.1; 川桑 (*Morus notabilis*): XP_010102682.1; 烟草 (*Nicotiana tabacum*): XP_016494193.1; 茄子 (*Solanum lycopersicum*): XP_004230155.1; 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*): NP_188788.1

图 2 来自不同物种的 *CsAHP1* 氨基酸序列比对

为了解黄瓜 *CsAHP1* 和其他物种 AHP 蛋白之间的进化关系,利用 MEGA 6.0 进行进化树的构建,结果表明,黄瓜 *CsAHP1* 和甜瓜关系最近(图 3)。

2.3 过表达 *CsAHP1* 基因拟南芥耐氮素胁迫能力分析

为进一步阐明 *CsAHP1* 参与耐低浓度氮素胁迫

过程的生物学功能,本研究构建了 *CsAHP1* 基因过量表达载体,并转入了拟南芥植株,获得了 1 个 35S:: *CsAHP1* 转基因拟南芥株系。根长测定结果表明,在低浓度氮素和高浓度氮素生长条件下,转基因植株根长均显著大于 Col-0 植株(图 4A、B)。在低浓度氮素条件下,Col-0 植株的根长为

1.34 cm,不到转基因植株幼苗根长的 44.7% (图 4B)。在高浓度氮素和低浓度氮素胁迫情况下,通过比较分析 Col-0 相对于转基因株系在根长方面

的变化程度发现,Col-0 植株的根伸长发育受抑制程度(56.2%)显著大于转基因植株(36.7%) (图 4C)。

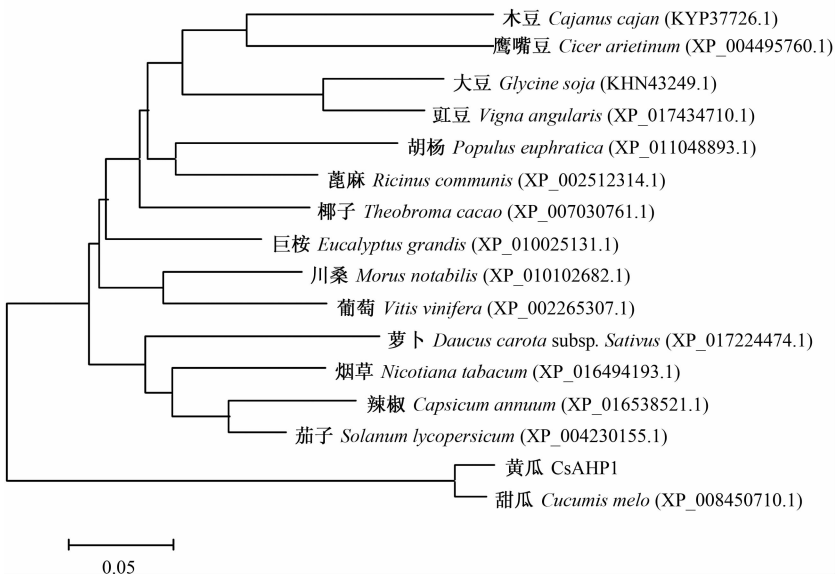
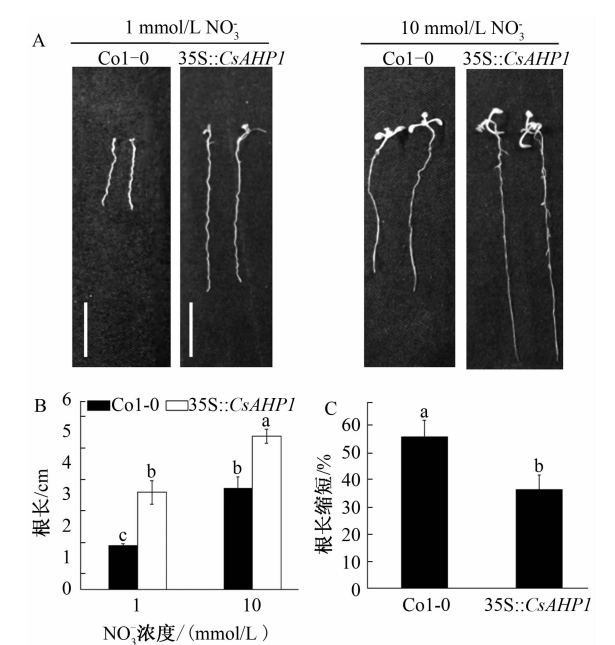


图 3 *CsAHP1* 蛋白及其同源蛋白的系统进化树

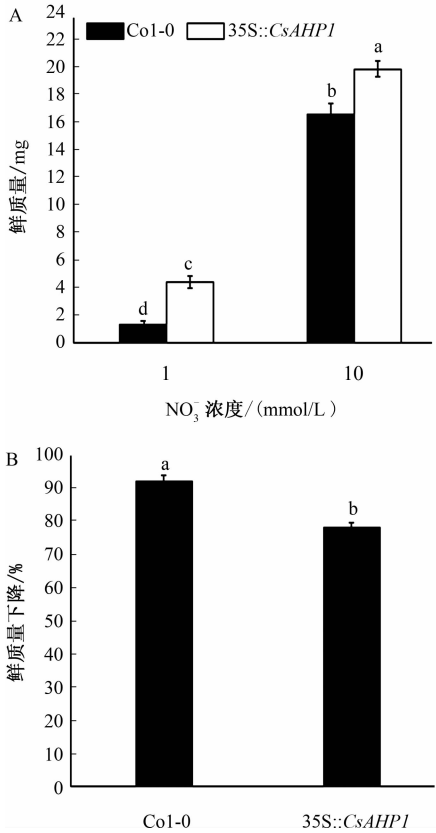


A: 在高氮(10 mmol/L NO_3^-) 和低氮(1 mmol/L NO_3^-) 条件下生长 10 d 的拟南芥 Col-0 植株和 35S:: *CsAHP1* 过表达转基因植株;B: Col-0 植株和转基因植株根长统计;C: 低氮下 Col-0 植株和转基因植株根长的减少比例

图 4 不同氮素条件下的拟南芥植株

在低浓度氮素和高浓度氮素情况下,Col-0 植株的质量分别为 1.34 mg 和 16.53 mg;而转基因植株幼苗的质量分别为 4.37 mg 和 19.83 mg (图 5A)。相对于高浓度氮素条件下植株的质量,在低氮素浓度胁迫条件下 Col-0 植株质量下降程度(91.89%)显著大于转基因植株(77.96%) (图

5B)。综上所述,*CsAHP1* 的过表达显著提高了转基因植株的耐氮素胁迫能力。



A: 在高氮(10 mmol/L NO_3^-) 和低氮(1 mmol/L NO_3^-) 条件下生长 10 d 幼苗的质量统计;B: 低氮下 Col-0 和转基因植株的质量减少比例

图 5 不同氮素条件下拟南芥 Col-0 植株和 35S:: *CsAHP1* 过表达转基因植株质量比较

3 结论与讨论

本研究在高浓度氮素及低浓度氮素胁迫条件下对拟南芥 Col-0 植株和 35S::CsAHP1 过表达转基因拟南芥株系根长及质量的测定分析结果表明, 35S::CsAHP1 过表达转基因植株具有比 Col-0 植株更强的耐低浓度氮素胁迫能力。在本研究中, 对这些结果给出了几种可能的解释。其中一个假设是 CsAHP1 可能通过细胞分裂素信号通路参与耐低浓度氮素胁迫过程。细胞分裂素调节植物的生长发育^[19-24], 而 AHP 蛋白在细胞分裂素信号通路中起重要作用^[25]。Yokoyama 等^[26]证明了 CsAHP1 的下游基因 ARR10 和 ARR12 参与拟南芥根的分化和伸长过程, 而该过程受细胞分裂素调节。CsAHP1 基因过表达可以使 ARR10 和 ARR12 出现上调表达, 从而可能促进了细胞分裂素的合成以维持拟南芥植株的正常生长。有研究发现, 外源细胞分裂素处理可缓解车前草因低浓度氮素胁迫所引起的生长抑制问题^[27]。大多数在植株茎间中表达的 AtNRTs 都受细胞分裂素处理诱导表达, 由此促进硝酸盐的运输和分布^[28]。此外, 低浓度氮素胁迫条件下拟南芥幼苗根部生长素含量极高^[26]。细胞分裂素通过调节生长素的外排量来调节生长素的分布^[29], 生长素-细胞分裂素相互作用控制根分生组织的发育^[30-31]。因此, CsAHP1 还可能通过促进细胞分裂素合成, 调节生长素分布以提高根分生组织活力, 进而增强其耐低浓度氮素胁迫能力。

参考文献:

- [1] Schjoerring J K, Bock J G H, Gammelvind L, et al. Nitrogen incorporation and remobilization in different shoot components of field-grown winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) as affected by rate of nitrogen application and irrigation[J]. Plant and Soil, 1995, 177(2): 255-264.
- [2] Hodge A, Robinson D, Fitter A. Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen? [J]. Trends in Plant Science, 2000, 5(7): 304-308.
- [3] Garnett T, Conn V, Kaiser B N. Root based approaches to improving nitrogen use efficiency in plants[J]. Plant Cell Environ, 2009, 32(9): 1272-1283.
- [4] Du Y, Fan L, Tian C, et al. Auxin positively regulates nitrogen remobilization in cucumber leaf under low nitrogen tolerance[J]. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 2018, 59(2): 189-198.
- [5] 徐静静, 秦智伟, 于明磊, 等. 低氮胁迫下黄瓜根系相关指标的变化[J]. 中国蔬菜, 2011, 1(14): 47-51.

- [6] Amr A, Hadidi N. Effect of cultivar and harvest date on nitrate (NO_3) and nitrite (NO_2) content of selected vegetables grown under open field and greenhouse conditions in Jordan[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2001, 14(1): 59-67.
- [7] Xu H N, Wang X F, Sun X D, et al. Molecular cloning and characterization of a cucumber MAP kinase gene in response to excess NO_3^- and other abiotic stresses [J]. Sci Horticulture, 2008, 117(1): 1-8.
- [8] Ju X T, Xing G X, Chen X P, et al. Reducing environmental risk by improving N management in intensive Chinese agricultural systems [J]. PNAS, 2009, 106(9): 3041-3046.
- [9] 张素瑛, 贾英, 王美丽. 蔬菜硝酸盐污染状况及防治途径[J]. 山西农业科学, 2005, 33(4): 53-55.
- [10] Hwang I, Sheen J, Muller B. Cytokinin signaling networks [J]. Annu Rev Plant Biol, 2012, 63: 353-380.
- [11] Wang Y, Li J. Molecular basis of plant architecture [J]. Annu Rev Plant Biol, 2008, 59: 253-279.
- [12] 朱艳梅, 罗兴录, 樊吴静. 木薯内源细胞分裂素含量对块根淀粉积累的影响[J]. 南方农业学报, 2016, 47(8): 1279-1284.
- [13] 李明军, 邓丽, 刘欣英, 等. 生长素和细胞分裂素对怀山药微型块茎诱导形成的影响[J]. 河南农业科学, 2008, 37(11): 102-106.
- [14] Hutchison C E, Li J, Argueso C, et al. The *Arabidopsis* histidine phosphotransfer proteins are redundant positive regulators of cytokinin signaling [J]. Plant Cell, 2006, 18(11): 3073-3087.
- [15] 范莲雪. 黄瓜耐低氮胁迫的生理与分子机制初步研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
- [16] Fujiwara T, Hirai M Y, Chino M, et al. Effects of sulfur nutrition on expression of the soybean seed storage protein genes in transgenic petunia [J]. Plant Physiol, 1992, 99(1): 263-268.
- [17] Wu T, Qin Z, Zhou X, et al. Transcriptome profile analysis of floral sex determination in cucumber [J]. Journal of Plant Physiology, 2010, 167(11): 905-913.
- [18] Bechtold N, Ellis J, Pelletier G. In planta *Agrobacterium*-mediated gene transfer by infiltration of adult *Arabidopsis thaliana* plants [J]. Methods in Molecular Biology, 1993, 82(10): 259.
- [19] Mok D W, Mok M C. Cytokinin metabolism and action [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 2001, 52(52): 89-118.
- [20] Mizuno T. Plant response regulators implicated in signal transduction and circadian rhythm [J]. Curr Opin Plant Biol, 2004, 7(5): 499-505.
- [21] Ferreira F J, Kieber J J. Cytokinin signaling [J]. Curr

- Opin Plant Biol, 2005, 8(5): 518-525.
- [22] Sakakibara H. Cytokinin biosynthesis and regulation[J]. VitamHorm, 2005, 72: 271-287.
- [23] Aloni R, Aloni E, Langhans M, *et al.* Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: Regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism[J]. Ann Bot, 2006, 97(5): 883-893.
- [24] Aoyama T, Oka A. Cytokinin signal transduction in plant cells[J]. Journal of Plant Research, 2003, 116(3): 221-231.
- [25] Werner T, Schmülling T. Cytokinin action in plant development[J]. Current Opinions in Plant Biology, 2009, 12(5): 527-538.
- [26] Yokoyama A, Yamashino T, Amano Y I, *et al.* Type-B ARR transcription factors, ARR10 and ARR12, are implicated in cytokinin-mediated regulation of protoxylem differentiation in roots of *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Cell Physiol, 2007, 48(1): 84-96.
- [27] Kuiper D. Growth responses of *Plantago major* L. ssp. pleiosperma (Pilger) to changes in mineral supply: Evidence for regulation by cytokinins[J]. Plant Physiol, 1988, 87(3): 555-557.
- [28] Kiba T, Kudo T, Kojima M, *et al.* Hormonal control of nitrogen acquisition: Roles of auxin, abscisic acid, and cytokinin[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(4): 1399-1409.
- [29] Su Y, Liu Y B, Zhang X S. Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development[J]. Molecular Plant, 2011, 4(4): 616-625.
- [30] Werner T, Motyka V, Laucou V, *et al.* Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity[J]. Plant Cell, 2003, 15(11): 2532-2550.
- [31] Delloloio R, Linhares F S, Scacchi E, *et al.* Cytokinins determine *Arabidopsis* rootmeristem size by controlling cell differentiation[J]. Curr Biol, 2007, 17(8): 678-682.

(上接第 17 页)

- [14] 姚素梅, 康跃虎, 刘海军, 等. 喷灌与地面灌溉冬小麦干物质积累、分配和运转的比较研究[J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(6): 51-56.
- [15] 李国强, 汤亮, 张文宇, 等. 不同株型小麦干物质积累与分配对氮肥响应的动态分析[J]. 作物学报, 2009, 35(12): 2258-2265.
- [16] 乔嘉, 朱金城, 赵娇, 等. 基于 Logistic 模型的玉米干物质积累过程对产量影响研究[J]. 中国农业大学学报, 2011, 16(5): 32-38.
- [17] 王彬, 张萌, 陈景天, 等. 超晚播节水栽培冬小麦品种花后光合与灌浆特性[J]. 科技导报, 2017, 35(18): 86-91.
- [18] 郭艳艳, 段巍巍. 不同冬小麦品种籽粒胚乳增殖和灌浆对粒重的影响[J]. 麦类作物学报, 2018, 38(1): 84-89.
- [19] 赛力汗·赛, 薛丽华, 张永强, 等. 滴灌量对冬小麦干物质积累、灌浆和籽粒产量的影响及行间差异[J]. 麦类作物学报, 2018, 38(3): 323-329.
- [20] 文廷刚, 陈昱利, 杜小凤, 等. 不同植物生长调节剂对小麦籽粒灌浆特性及粒重的影响[J]. 麦类作物学报, 2014, 34(1): 84-90.
- [21] 王晓慧, 张磊, 刘双利, 等. 不同熟期春玉米品种的籽粒灌浆特型[J]. 中国农业科学, 2014, 47(18): 3557-3565.
- [22] 韩占江, 郜庆炉, 吴玉娥, 等. 小麦籽粒灌浆参数变异及与粒重的相关性分析[J]. 种子, 2008, 27(6): 27-30.
- [23] 蔡庆生, 吴兆苏. 小麦籽粒生长各阶段干物质积累量与粒重的关系[J]. 南京农业大学学报, 1993, 16(1): 27-32.
- [24] 李向岭, 赵明, 李从峰, 等. 播期和密度对玉米干物质积累动态的影响及其模型的建立[J]. 作物学报, 2010, 36(12): 2143-2153.