果 树 学 报 2019,36(9):1150-1160
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20190046

施氮量对荒漠区‘蛇龙珠’葡萄叶片质量的影响

宁改星[1],马宗桓[1],毛 娟[1],李文芳[1],王 颖[1],胡紫璟[1],史星雲[2],陈佰鸿[1*]

([1]甘肃农业大学园艺学院,兰州 730070;[2]甘肃省武威市林业科学研究院,甘肃武威 733000)

摘 要:【目的】探讨干旱荒漠区滴灌条件下尿素施入量对葡萄叶片氮素代谢和果实发育的影响,为合理施用氮肥和提高氮素利用率提供科学依据。**【方法】**本试验以10 a(年)生‘蛇龙珠’(*Vitis vinifera* L.cv. Cabernet Gernischet)为材料,分别施入尿素0 kg·hm^{-2}(CK)、150 kg·hm^{-2}(N1)、300 kg·hm^{-2}(N2)、450 kg·hm^{-2}(N3)和600 kg·hm^{-2}(N4),测定了不同发育时期叶片叶绿素含量(SPAD值)、叶面积、净光合速率(P_n)、全氮与可溶性蛋白含量、氮代谢关键酶活性与相关基因表达水平、以及果实品质相关指标。**【结果】**施氮处理显著提高了叶片净光合速率,N2处理较对照促进叶面积增加,同时显著提高了花前5 d、花后50 d和80 d叶片全氮含量。在0~300 kg的施氮范围内,叶片的硝酸还原酶(NR)活性随着施氮量的增加而升高,N2处理能够显著提高叶片谷氨酰胺合成酶(GS)和谷氨酸合成酶(GOGAT)活性,N2和N3处理能显著提高整个生育期叶片谷氨酸脱氢酶(GDH)活性。花前5 d、花后20 d和80 d,N2处理*VvNR1*表达水平显著高于对照和其他施氮处理。花前5 d,N1和N2处理*VvGS1*明显上调表达,分别较对照上调142.33%和283.47%。施氮后*VvGDH1*在整个生育期均上调表达。N2处理果实可溶性糖、糖酸比、单宁、花青素均达到最大值,可滴定酸含量最小,产量居于中等水平。**【结论】**不同施氮量影响叶片*VvNR1*、*VvGS1*、*VvGOGAT1*和*VvGDH1*基因的表达,从而改善叶片氮代谢水平,N2处理有利于葡萄生育后期叶片中氮素的积累,同时促进叶片生长和净光合速率的增加,提高了果实品质。

关键词:葡萄;滴灌;施氮量;氮代谢酶活性;基因表达

中图分类号:S663.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-9980(2019)09-1150-11

Effects of nitrogen application rates on the leaf qualityof ‘Cabernet Gernischet’ in desert areas

NING Gaixing[1], MA Zonghuan[1], MAO Juan[1], LI Wenfang[1], WANG Ying[1], HU Zijing[1], SHI Xingyun[2], CHEN Baihong[1*]

([1]*College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China;* [2]*Wuwei Academy of Forestry, Wuwei 733000, Gansu, China*)

Abstract:【Objective**】**As an essential mineral element in plant growth and development, nitrogen has irreplaceable roles in organ construction, nutritive metabolism, biochemical processes as well as fruit yield and quality. The quality and yield of grapes are greatly influenced by the amount of nitrogen applied. In recent years, the industry of China's wine grape has developed rapidly, but there are problems with unreasonable fertilization in production. The Gansu Corridor has the climatic conditions and geographical resources suitable for producing high-quality wine grapes. However, wine grapes are extensively planted on a sandy loam soil with low organic matter. In the actual production, chemical fertilizers are often applied to ensure the normal growth and development of the grapes. At the same time, water-saving agriculture has become the demand for agricultural development in this area. The aim of our study is to investigate the effects of nitrogen application rates on key enzyme activities and related gene expression during nitrogen metabolism, so as to further provide a theoretical reference for the application of nitrogen in wine grape growing in the Gansu Corridor.**【**Methods**】**The experiment was carried out in a 10-year-old ‘Cabernet Gernischet’ vineyard of the Mo Gao located in Wuwei City from 2014 to

收稿日期:2019-02-13 接受日期:2019-06-09

基金项目:国家自然科学基金(31460499);甘肃省科技重大专项(18ZD2NA006);甘肃省青年科技基金计划(17JR5RH353)

作者简介:宁改星,女,在读硕士研究生。Tel:18894313073,E-mail:2410211097@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel:0931-7632466,E-mail:bhch@gsau.edu.cn

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2015. All the grapevines were planted from west to east with simple hedge-shape. The planting spacing was 0.7 m×3.0 m. The area of the plot was about 240 m^2, and each plot contained 40 plants. During the test period, the irrigation was carried out according to the "Wuwei Mo Gao Brewing Grape Drip Irrigation Water Distribution Quota", which formulated by the research team. The irrigation amount in the bud break stage was 675 $m^3 \cdot hm^{-2}$, the flowering stage was 900 $m^3 \cdot hm^{-2}$, the first berry swell period was 900 $m^3 \cdot hm^{-2}$, the secondary shoot growth period was 150 $m^3 \cdot hm^{-2}$, and the second berry swell period was 600 $m^3 \cdot hm^{-2}$, and overwintering water was 1 275 $m^3 \cdot hm^{-2}$. The total irrigation amount during the whole growth period was 4 500 $m^3 \cdot hm^{-2}$. Five different application amounts of nitrogen (0 $kg \cdot hm^{-2}$, 150 $kg \cdot hm^{-2}$, 300 $kg \cdot hm^{-2}$, 450 $kg \cdot hm^{-2}$ and 600 $kg \cdot hm^{-2}$, characterized as CK、N1、N2、N3 and N4, respectively) were applied with a completely randomized block. Urea was used as external nitrogen and applied with water. The 750 $kg \cdot hm^{-2}$ of calcium superphosphate was applied before the first irrigation during the soil excavation. The 825 $kg \cdot hm^{-2}$ of potassium sulfate was applied in fruit color-changing period. Effects of nitrogen application rates on total nitrogen content, soluble protein content, key enzyme activities including nitrate reductase(NR), glutamine synthetase(GS), glutamate synthase(GOGAT) and glutamate dehydrogenase(GDH) as well as the related gene expression levels in leaves (*VvNR1*, *VvGS1*, *VvGOGAT1* and *VvGDH1*) were determined at different developmental stages (5th day before anthesis, 20th day after anthesis, 50th day after anthesis, 80th day after anthesis). Ten to fifteen leaves were collected from each treatment. Fresh leaves were punched out with a punch and 1.0 g was weighed for determination of soluble protein content and enzyme activity assay with 3 replicates. The new leaves without pests and diseases on the top of the current shoots were selected to extract RNA. 2.0 g of grape leaves wrapped in tin foil were placed in a liquid nitrogen tank and stored in arefrigerator at −80℃ for RNA extraction.【Results】The results showed that nitrogen application significantly increased the net photosynthetic rate in leaves. The treatment of N2 significantly increased leaf area and the total nitrogen content in leaves in comparison with CK 5th day before anthesis, 20th day after anthesis and 80th day after anthesis. The soluble protein content increased by nitrogen application in leaves on 80th day after anthesis. The NR activity in leaves showed an increasing trend with the increase of nitrogen application in the range of 0 to 300 kg on 5th day before anthesis, 20th day after anthesis and 80th day after anthesis. The GS activity in leaves increased significantly by N2 treatment on 5th day before anthesis, 50th day after anthesis and 80th day after anthesis, which were 1.66, 1.25 and 1.34 times more than the control, respectively. The GOGAT activity in leaves increased significantly by N2 treatment on 5th day before anthesis and 80th day after anthesis, 0.53 and 0.42μmol $\cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$, respectively. Compared with CK, N2 and N3 treatments could improve the GDH activity in leaves during the whole growing period. The expression level of *VvNR1* in N2 treatment was significantly higher than CK and other nitrogen treatments on 5th day before anthesis, 20th day after anthesis and 80th day after anthesis. *VvGS1* was significantly up-regulated by N1 and N2 on 5th day before anthesis, which was up-regulated by 142.33% and 283.47% in comparison with CK, respectively. *VvGDH1* was up-regulated during the whole growing period after nitrogen application. With N2 treatment, fruit soluble sugar, the ratio of sugar to acid, tannins, anthocyanin content reached the maximum, the titratable acid content was the lowest, the yield was at a medium level.【Conclusion】The results suggested that different nitrogen application rates affected the expression of *VvNR1*, *VvGS1*, *VvGOGAT1* and *VvGDH1* genes in leaves, thereby improving leaf nitrogen metabolism. In addition, the nitrogen application with 300$kg \cdot hm^{-2}$ (N2) among all the treatments significantly promoted the accumulation of nitrogen in leaves during the late growth period. At the same time, it promoted the increase of leaf area and net photosynthetic rate, and improved the fruit quality.

Key words：Grape; Drip irrigation; Nitrogen application; Nitrogen metabolic enzyme activity; Gene expression

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

葡萄(*Vitis vinifera* L.)是世界上栽培面积最大、产量最多的果树之一。2016/2017年世界葡萄种植面积为760万hm^2,我国葡萄种植面积达84.7万hm^2,葡萄酒产量达11.4亿L[1]。近年来,我国酿酒葡萄产业发展迅猛,但在生产方面存在施肥的盲目性和葡萄品质普遍不高等问题[2]。氮素作为植物生长发育过程中必不可少的矿质元素,其对果树的器官建造、物质代谢、生化过程、果实产量及品质的形成等都有不可替代的作用[3]。施氮量对葡萄质量和产量具有重要影响,氮代谢(亚硝态氮-铵态氮-谷氨酰胺-谷氨酸-氨基酸-蛋白质)是植物体内重要的物质代谢过程,与植物的生长发育和果实产量、品质形成密切相关。植物氮素同化的主要途径是经过硝酸盐还原为铵后直接参与氨基酸的合成与转化,期间硝酸还原酶(nitrate reductase,NR)、谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase,GS)、谷氨酸合成酶(glutamate synthase,GOGAT)和谷氨酸脱氢酶(glutamate dehydrogenase,GDH)等关键酶参与催化与调节[4]。然而不同果树品种、同一种果树不同器官组织中氮代谢关键酶的活性对氮用量、施用时间等呈现不同的反应[5],其在植物体内的表达量与植物生长发育密切相关,可以成为探究果树生长对养分需要的依据[6]。

关于施氮量对氮代谢酶活性及相关基因表达的影响已经有较为广泛的研究。施氮处理使'赤霞珠'葡萄叶片硝态氮、氨态氮、可溶性蛋白质含量增加,同时NR和GS的活性也升高,依次为40 g•株$^{-1}$>30 g•株$^{-1}$>20 g•株$^{-1}$>10 g•株$^{-1}$,且40 g•株$^{-1}$处理显著高于对照及其他处理[7]。初建青等[8]采用半定量RT-PCR和荧光定量PCR法研究葡萄叶面喷施不同浓度尿素后与氮代谢相关的NR、亚硝酸还原酶(nitrite reductase, NiR)、GS、GDH和天冬酰胺合成酶(asparagine synthetase, AS)基因的表达变化,发现5个基因在不同时间段的表达水平不一致,但均高于对照,以0.3%和0.5%浓度的尿素对其影响明显。研究表明,硝铵比75∶25在整个时期促进'赤霞珠'葡萄叶片中*VvNR1*基因的上调表达,且NR活性与*VvNR1*基因的表达量显著正相关,GS活性与*VvGS1*、*VvGOGAT1*和*VvGDH1*的表达量显著相关[9]。王剑等[6]的研究表明,在成花期与转色期,'夏黑'葡萄叶面喷施不同浓度5种氮肥后,5个氮代谢基因(*VvGHD*、*VvNiR*、*VvNR*、*VvGS*和*VvAS*)的表达量整体呈现出增高趋势。甘肃省河西走廊地区具有种植优质酿酒葡萄的气候条件和地理资源优势,但该区土壤有机质含量低,生产中往往通过施入化学肥料以保证葡萄的正常生长和发育,同时,节水农业已成为该区农业发展的需求。因此,笔者在滴灌模式下,研究氮素施入量对酿酒葡萄叶片氮代谢和品质形成的影响,以期为河西走廊荒漠区酿酒葡萄氮素的施用提供一定的理论参考,能够为该区酿酒葡萄栽培技术体系的完善产生积极意义。

1 材料和方法

1.1 试验设计

田间试验于2014—2015年在甘肃省武威市凉州区黄羊镇莫高葡萄酒原料基地进行,连续2 a在试验区按照试验设计进行水肥管理。该基地位于河西走廊东部,是典型的内陆性荒漠气候,昼夜温差大,海拔高度1 600 m左右,年降水量为191 mm,年平均蒸发量为2 130.8 mm,无霜期150 d,年平均温度为6.9 ℃,年平均日照时数为2 724.8 h。土壤性质为沙壤土,有机质为0.62%,pH值为7.8,速效氮为0.9 g·kg^{-1},速效磷为22 mg·kg^{-1},速效钾为123 mg·kg^{-1},田间最大持水量28%。

试验期间按照课题组前期研究制定的"武威莫高酿造葡萄滴灌配水定额"进行灌溉,即萌芽期灌水量675 $m^3·hm^{-2}$、开花期900 $m^3·hm^{-2}$、果实第一次膨大期900 $m^3·hm^{-2}$、副梢生长期150 $m^3·hm^{-2}$、果实第二次膨大期600 $m^3·hm^{-2}$、越冬水1 275 $m^3·hm^{-2}$,整个生育期总灌水量为4 500 $m^3·hm^{-2}$。滴灌带购自大禹节水有限公司,壁厚0.2 mm,滴孔间距0.3 m,单孔出水量3 L·h^{-1},采用单管滴灌。

以10 a生'蛇龙珠'为材料,株行距0.7 m×3.0 m,单篱架,东西行向,采用随机区组设计,小区面积约240 m^2,每个小区定植40株葡萄,每小区为一个重复,设置3次重复。在试验前测定土壤中N素含量。P、K肥按当地常规施肥量进行,葡萄植株两侧开沟,施入过磷酸钙750 kg·hm^{-2},硫酸钾825 kg·hm^{-2},过磷酸钙在出土后第一次灌水前施入,硫酸钾在果实转色期施入。以尿素为外源氮素,随水施入,试验共设置4个施氮处理,分别为150 kg·hm^{-2}(N1)、300 kg·hm^{-2}(N2)、450 kg·hm^{-2}(N3)和600 kg·hm^{-2}(N4),其中600 kg·hm^{-2}是当地在沟灌条件下氮肥的常规施用量,不同发育时期按以下比例分别施入,萌芽期

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

（4月25日）30%、新梢生长旺期（5月15日）30%、开花期（6月5日）20%、果实第一次膨大期（6月25日）20%，以不施肥（CK）为对照。

于5月31日（花前5 d，BA5 Days）、6月25日（花后20 d，AA20 Days）、7月26日（花后50 d，AA50 Days）和8月26日（花后80 d，AA80 Days）共4次采样，每处理采集新梢第4~6节位的功能叶片10~15枚，重复3次。新鲜叶片用打孔器打出圆片，称取1.0 g用于测定可溶性蛋白含量及酶活性。选取新梢顶部且无病虫害的新叶，称取2.0 g用锡箔纸包裹后放入液氮罐中带回实验室，保存在−80 ℃超低温冰箱用于RNA提取。

选取新梢第4~6节位功能叶测定叶面积、叶鲜重和光合速率。选择晴天9: 00—11:00间测定花前5 d、花后20 d和花后50 d叶片相对叶绿素含量（SPAD值）和净光合速率（P_n）。于果实采收期，在每个小区的树体相同结果部位采集9穗葡萄果实，每处理共采集27穗，用于测定果实品质。果实品质测定时，分别在葡萄果穗上、中、下3个部位取样，以保证取样的均匀性。

1.2　指标测定

1.2.1　*叶片叶面积和比叶重的测定*　叶面积用YMJ-C型叶面积测定仪测定。

叶片鲜重于取样后立即用电子天平称重。比叶重（$g \cdot cm^{-2}$）=叶片鲜重（g）/叶面积（cm^2）。

1.2.2　*叶片相对叶绿素含量（SPAD值）和P_n的测定*　叶片叶绿素SPAD值测定采用SPAD-520型叶绿素计。

P_n测定利用LI-6400便携式光合测定分析仪（美国的Li-COR公司生产）。

1.2.3　*叶片全氮含量和可溶性蛋白质含量的测定*　将叶片在烘箱中105 ℃杀青半小时，然后置于80 ℃ 48 h烘干，粉碎后称取2.0 g，用于全氮含量测定[10]。采用考马斯亮蓝G-250法（Boradford法）[11]测定蛋白质含量。

1.2.4　*NR、GS、GOGAT和GDH酶活性的测定*　NR活性的测定采用磺胺比色法[12]，以在37 ℃的条件下每克组织每小时还原产生的亚硝态氮的量表示。GS活性的测定采用$FeCl_3$络合显色比色法[13]，用产生的γ-谷氨酰基异羟肟酸与铁络合物的生成量来表示酶活性。GOGAT活性测定参照赵鹏等[14]的方法进行测定，以每分钟反应混合液减少1 μmol NADH所需的酶量定义为一个酶活力单位。GDH活性测定采用购自南京建成生物研究所的GDH测定试剂盒，以每克组织每分钟消耗1 nmol NADH定义为一个酶活力单位。

1.2.5　*$VvNR1$、$VvGS1$、$VvGOGAT1$和$VvGDH1$基因表达量的测定*　将保存于−80 ℃的叶片样品采用CTAB法提取RNA[15]。以提取的总RNA为模板，用Reverse Transcriptase M-MLV（RNase H-）试剂盒进行cDNA第1链的合成，将0.5~2 μg纯化的总RNA反转录成第1链cDNA，作为实时荧光定量PCR的模板。其中，试验中使用实时荧光定量PCR仪（LightCycler 96Real- Time PCR System, Roche, 瑞士），使用SYBR Green Ⅰ（TaKaRa）试剂盒。以Actin为内参基因，引物序列见表1。反应程序为：95 ℃下

表1　荧光定量PCR引物序列

Table 1　Primers of fluorescent quantitative PCRs

基因 Gene	上游引物（5′−3′）Forward primer	下游引物（5′−3′）Reverse primer	定量产物的长度 Gene length/bp
VvNR1	5'-GCCCAACACCATCAGA-3'	5'-TCACCATAAACCACCC-3	113
VvGS1	5'-GCTACTCACCGCTCCTA-3'	5'-AATCAGCCAGCCTACC-3'	121
VvGOGAT1	5'-CCAGCCTTGGCATCGT-3'	5'-CTTGGGCAAACTCGTC-3'	103
VvGDH1	5'-GCGGAAGTATTTATCTG-3'	5'-ATGGCAAGTTGGTGAG-3'	128
VvActin	5'-ATTATCTCGCAGTCCC-3'	5'-GCATTGCCTATCTTTT-3'	106

变性30 s，95 ℃变性5 s，60 ℃下退火30 s，40个循环；95 ℃15 s，60 ℃30 s，95 ℃15 s。基因的相对表达量采用$2^{-\Delta\Delta CT}$计算。

1.2.6　*果实品质和产量的测定*　可溶性总糖采用蒽酮比色法测定。可滴定酸含量测定采用NaOH滴定法[16]。单宁含量（葡萄果实果皮带果肉）测定用香草醛盐酸法[17]。果皮花青素含量测定采用乙醇-硫酸法[18]。单粒重用1%的电子天平称量。

产量计算：分别对不同处理的3个小区的葡萄过秤，计算每个处理每个小区葡萄的平均产量，在已知小区面积的情况下，计算不同施氮处理每公顷的葡萄产量。

1.3　数据处理与分析

采用Microsoft Excel 2010作图，SPSS 19.0进行

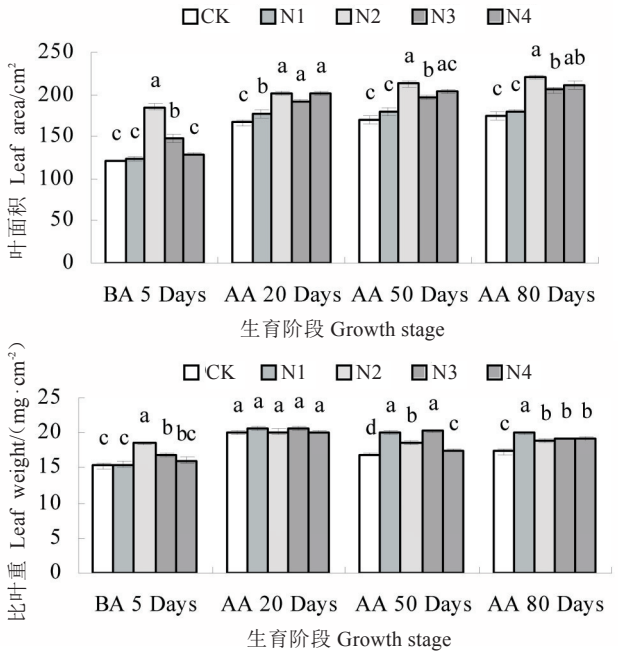
(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

差异显著性分析。采用最小显著差异法(LSD)和新复极差法(Duncan)检测不同数据组间的差异显著性,显著性水平设定为α=0.05。

2 结果与分析

2.1 施氮量对'蛇龙珠'叶片叶面积和比叶重的影响

从图1可知,花前5 d,N2处理葡萄叶片叶面积显著高于其他施氮处理,较N1、N3和N4处理分别提高49.15%、25.5%和42.76%。花后20 d,施氮处理叶片叶面积显著高于对照,N2、N3和N4处理无显著差异。花后50 d和花后80 d,N2处理葡萄叶片叶面积最大,分别为213.19、220.62 cm^2。由此可见,N2处理可有效增加葡萄叶片叶面积。花前5 d,N2处理葡萄叶片比叶重显著高于其他处理。花后20 d,各处理葡萄叶片比叶重无显著差异。花后50 d,N2处理葡萄叶片比叶重较N3处理下降9.06%,N1和N3处理差异不显著。花后80 d,N1处理葡萄叶片比叶重显著高于其他处理,N2、N3和N4处理无显著差异。



图中数据为均值±标准误差,同期不同字母表示不同处理间在0.05水平存在显著性的差异(p < 0.05)。对照.不施氮;N1.施氮150 kg·hm^{-2};N2.施氮300 kg·hm^{-2};N3.施氮450 kg·hm^{-2};N4.施氮600 kg·hm^{-2}。BA5 Days.花前5 d;AA20 Days.花后20 d;AA50 Days.花后50 d;AA80 Days.花后80 d。下同。

Data are presented as the means±standard error. The different letters in each sampling time indicate significant differences in different treatments at 0.05 level(p < 0.05). CK. No nitrogen fertilizer. N1. 150 kg·hm^{-2} nitrogen fertilizer. N2. 300 kg·hm^{-2} nitrogen fertilizer. N3. 450 kg·hm^{-2} nitrogen fertilizer. N4. 600 kg·hm^{-2} nitrogen fertilizer. BA5 Days. Before anthesis 5 days. AA20 Days. After anthesis 20 days. AA50 Days. After anthesis 50 days. AA80 Days. After anthesis 80 days. The same below.

图1 施氮量对'蛇龙珠'叶片叶面积和比叶重的影响

Fig. 1 Effect of nitrogen fertilizer rate on leaf area and specific leaf weight of 'Cabernet Gernischet'

2.2 施氮量对'蛇龙珠'叶绿素SPAD值和P_n的影响

从图2可知,花前5 d,各施氮处理下的SPAD值较对照没有显著差异。花后20 d,随着施氮水平逐渐增大,SPAD值呈上升趋势,其中以N4处理的SPAD值最高,与N2处理差异不显著。花后50 d,N3处理的SPAD值最高,与N2处理差异不显著。不同施氮处理葡萄叶片的P_n均高于同期对照。花前5 d,随着施氮水平逐渐增大,叶片P_n呈上升趋势,分别较对照提高了16.7%、32.5%、49.6%和98.7%。花后50 d,N2处理叶片P_n显著高于其他处理,较N1、N3和N4处理分别提高18.63%、7.14%和11.72%。

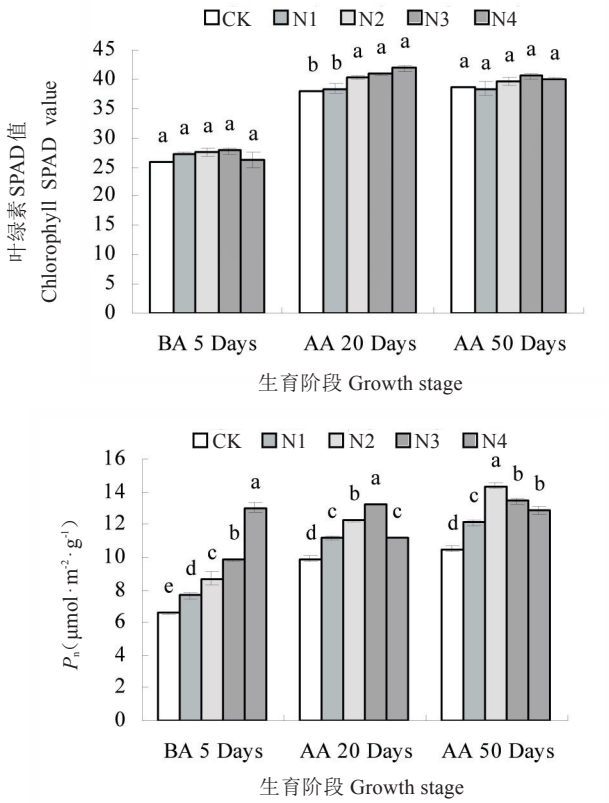


图2 施氮量对'蛇龙珠'叶片叶绿素SPAD值和P_n的影响

Fig. 2 Effect of nitrogen fertilizer rate on chlorophyll SPAD values and net photosynthetic rate in the leaves of 'Cabernet Gernischet'

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.3　施氮量对‘蛇龙珠’叶片全氮含量和可溶性蛋白含量的影响

从图3可知，不同施氮处理葡萄叶片的全氮含量均高于同期对照。花前5 d，N3处理叶片全氮含量显著高于其他处理。花后20 d和花后80 d，随着施氮水平逐渐增大，叶片全氮含量呈上升趋势，其中以N4处理的全氮含量最高，两个时期分别为6.93、6.65 mg·g^{-1}，与N2处理差异不显著。花后50 d，N2处理叶片全氮含量显著高于N1和N4处理，与N3处理无显著差异，N4处理叶片全氮含量显著下降。由此可见，N2处理可有效提高葡萄叶片全氮含量。花后50 d，N2和N4处理葡萄叶片蛋白质含量显著高于对照，分别较对照提高了5.10%和10.51%。与对照相比，施氮处理花后80 d提高了叶片蛋白质含量，其中N1、N2、N3和N4处理分别较对照提高了17.64%、5.71%、1.69%和0.52%。

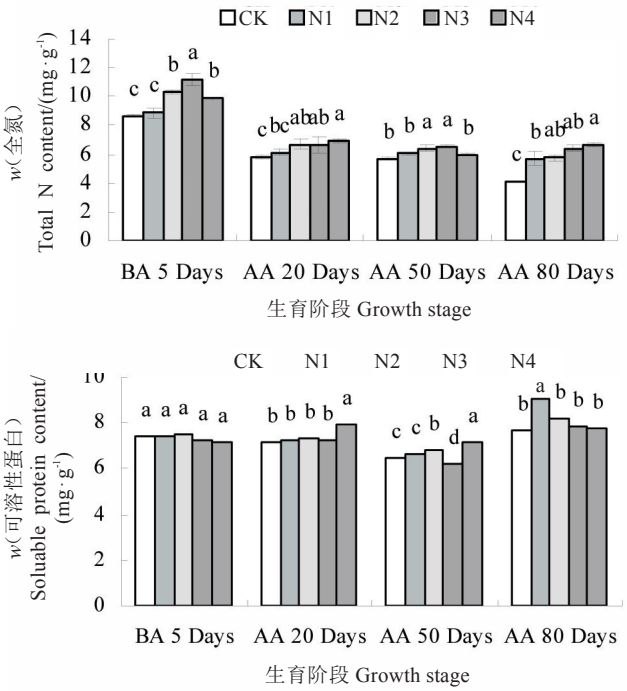


图3　施氮量对‘蛇龙珠’叶片全氮含量和可溶性蛋白含量的影响

Fig. 3　Effect of nitrogen fertilizer rate on total nitrogen and soluble protein content in the leaves of ‘Cabernet Gernischet’

2.4　施氮量对‘蛇龙珠’叶片NR、GS、GOGAT和GDH酶活性的影响

从图4可知，花前5 d、花后20 d和花后80 d在0~300 kg的氮素水平范围内，植株叶片的NR活性随着施氮量的提高而增加，之后随着施氮量的提高反而下降。N2处理能够显著增加花前5 d、花后20 d和花后80 d叶片NR活性，分别较对照增加148.81%、187.56%和87.46%。花后50 d，随着施氮水平逐渐增大，NR活性呈下降趋势，与对照之间差异显著。

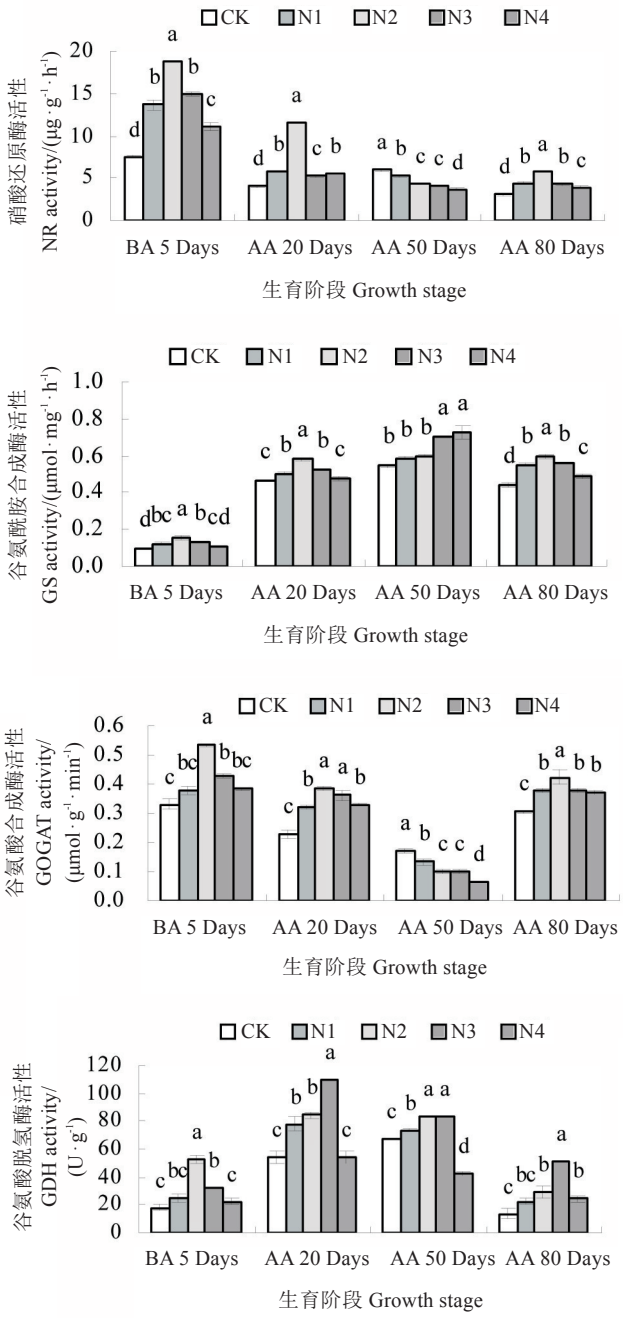


图4　施氮量对‘蛇龙珠’叶片NR、GS、GOGAT和GDH酶活性的影响

Fig. 4　Effect of nitrogen fertilizer rate on NR, GS, GOGAT and GDH activity in the leaves of ‘Cabernet Gernischet’

各施氮处理叶片GS活性在花前5 d、花后20 d、花后50 d和花后80 d均不同程度高于同期对照。与N1、N3和N4处理相比，N2处理花前5 d时显著提

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

高了叶片GS活性，较N1、N3和N4处理分别提高33.33%、23.08%和45.45%。N2处理花后20 d时显著提高了叶片GS活性，较对照增加26.09%。花后50 d，随着施氮水平逐渐增大，GS活性呈上升趋势，N4时为0.73 mg·g^{-1}，N3和N4无显著差异。花后80 d，施氮处理对葡萄叶片GS活性的影响与花前5 d大致相同。

各施氮处理叶片花前5 d、花后20 d和花后80 d时GOGAT活性均高于同期对照。N2处理花前5 d时显著提高了叶片GOGAT活性，较N1、N3和N4处理分别提高39.47%、23.26%和39.47%。与对照相比，各施氮处理显著提高了花后20 d叶片GOGAT活性，以N2处理活性最高，较N1、N3和N4处理分别增加18.75%、5.56%和15.15%。花后50 d，随着施氮水平逐渐增大，GOGAT活性呈下降趋势，与对照差异显著。花后80 d，与对照相比，各施氮处理显著提高了叶片GOGAT活性，以N2处理活性最高，较对照增加40.00%，N1、N3和N4处理无显著差异。

各施氮处理叶片GDH活性在花前5 d，花后20 d和花后80 d均不同程度高于同期对照。与对照相比，N2和N3处理花前5 d时显著提高了叶片GDH活性，以N2处理活性最高，为对照的2.94倍；N4处理与对照差异不显著。花后20 d，N3处理显著提高了叶片GDH活性，为对照的2.96倍。花后50 d，与对照相比，N1、N2和N3处理显著提高了叶片GDH活性，N2和N3处理差异不显著；与对照相比，N4处理明显降低了葡萄叶片中GDH活性，降幅为59.65%，表明N4抑制了GDH的代谢活动。花后80 d，与对照相比，N2、N3和N4处理显著提高了叶片GDH活性，以N3处理活性最高。

2.5 施氮量对‘蛇龙珠’叶片 *VvNR1*、*VvGS1*、*VvGOGAT1* 和 *VvGDH1* 基因表达的影响

N2和N3处理对葡萄叶片全氮含量和NR、GS、GOGAT、GDH酶活性的影响最为明显，为探明其更深层次原因，检测了4个与氮代谢关键酶相关基因的转录水平（图5），在0~300 kg的氮素水平范围内，植株叶片的 *VvNR1* 和 *VvGS1* 的表达水平上调，施氮处理上调了各生育阶段 *VvGDH1* 基因的表达。

花前5 d、花后20 d和花后80 d，*VvNR1* 的表达水平在N2时显著高于对照和其他施氮处理。花前5 d，N2处理 *VvNR1* 基因表达水平明显上调，较对照增加47.60%。花后20 d，N2处理 *VvNR1* 基因的转录

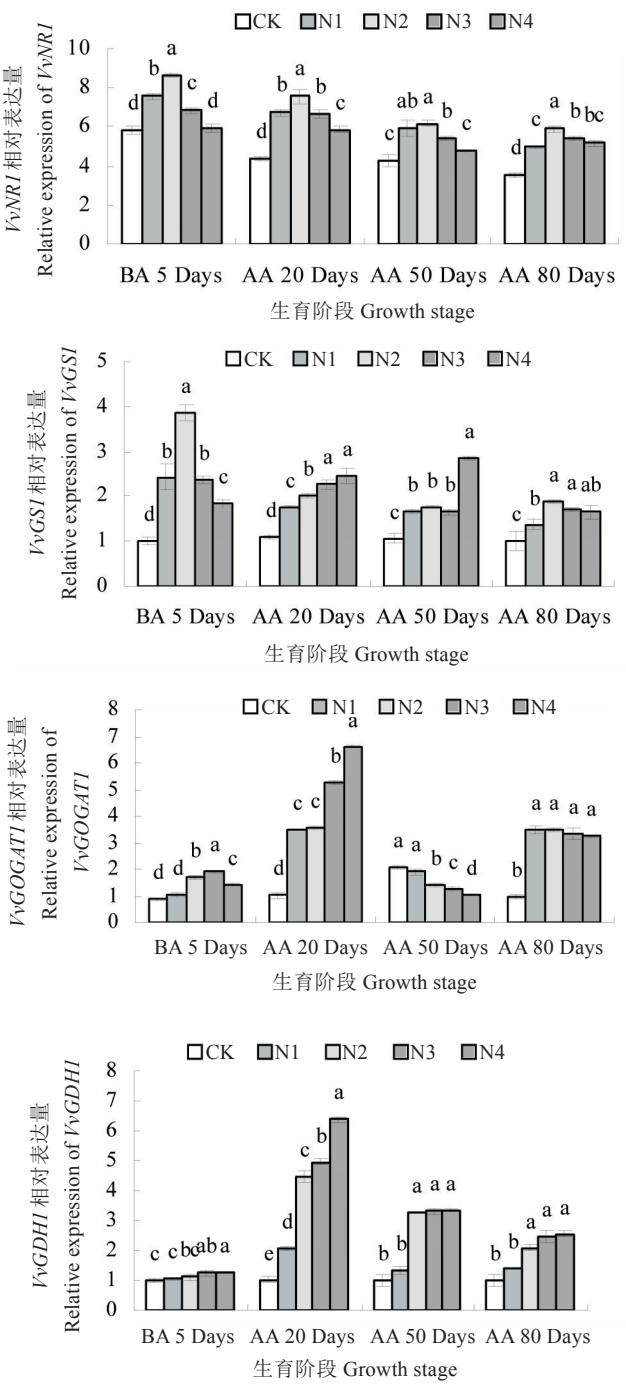


图5 施氮量对‘蛇龙珠’叶片 *VvNR1*、*VvGS1*、*VvGOGAT1* 和 *VvGDH1* 基因相对表达量的影响

Fig. 5 Effect of nitrogen fertilizer rate on *VvNR1*, *VvGS1*, *VvGOGAT1* and *VvGDH1* relative expression in the leaves of ‘Cabernet Gernischet’

水平显著高于N1、N3和N4处理，分别上调12.32%、13.36%和29.31%。花后50 d，各施氮处理 *VvNR1* 的表达水平显著高于对照。花后80 d，葡萄叶片 *VvNR1* N2处理时表达显著。

各生育阶段，对照 *VvGS1* 表达量无明显变化，施氮水平对 *VvGS1* 基因表达有着显著的影响。花前

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

5 d，N1和N2处理*VvGS1*明显上调表达，分别较对照上调142.33%和283.47%。花后20 d，随施氮量的增加，*VvGS1*上调表达。花后50 d，各施氮处理较对照显著提高了*VvGS1*表达量，N1、N2和N4处理*VvGS1*的表达水平无显著差异，以N4处理最高。花后80 d，各施氮处理*VvGS1*的表达水平显著高于对照，N2、N3和N4处理*VvGS1*基因的表达水平无显著差异。

*VvGOGAT1*表达的变化与GOGAT活性的变化趋势基本一致。花前5 d，与N1、N2和N4处理相比，N3处理显著提高了*VvGOGAT1*基因表达量，较N1、N2和N4处理分别提高85.29%、11.18%和34.04%。花后20 d，与对照相比，各施氮处理显著提高了*VvGOGAT1*表达量，以N4处理基因表达量最大，较N2和N3处理分别增加86.48%和26.34%。花后50 d，N2、N3和N4处理的表达水平出现明显的下降变化。花后80 d，各施氮处理*VvGOGAT1*的表达水平较对照显著提高，但施氮处理间无显著差异。

各生育阶段，对照*VvGDH1*表达量无明显变化，施氮水平对*VvGDH1*基因表达有着显著的影响。花前5 d，各施氮处理上调了*VvGDH1*基因的表达，N3和N4处理上调显著，且在N4处理达到了最大值。花后20 d，各施氮处理显著上调了*VvGDH1*基因的表达，N4处理较对照上调154.97%。花后50 d和花后80 d，N1处理*VvGDH1*的表达量与对照无显著差异，N2、N3和N4处理*VvGDH1*的表达量显著高于对照，N2、N3和N4处理*VvGDH1*的表达量无显著差异。

2.6　施氮量对‘蛇龙珠’果实品质和产量的影响

各施氮量处理对果实品质指标和产量的影响不同（表2）。果实可溶性糖含量、糖酸比、单宁（果肉带果皮）含量和果皮花青素含量均随施氮量的增加呈先增加后降低的趋势，均在N2处理最大，分别较N3处理增加17.15%、30.81%、9.56%和3.46%。N2处理可滴定酸含量最小，较对照处理降低26.5%，与N3和N4处理差异显著。各施氮处理果实单粒重均显著高于对照，施氮处理间无显著差异。葡萄产量随着施氮量的增加而增加，N4处理下产量达到最大，较对照每公顷增收4 320.38 kg。

表2　不同施氮量对‘蛇龙珠’果实品质和产量的影响

Table 2　Effects of different nitrogen treatments on fruit quality and yield of ‘Cabernet Gernischet’ berry

处理 Treatment	*w*（可溶性总糖） Soluble sugar/ (mg·g^{-1})	*ρ*（可滴定酸） Titratable acid/ (mg·mL^{-1})	糖酸比 Sugar to acid	*w*（单宁） Tannins/ (μg·g^{-1})	*w*（花青素） Anthocyanin/ (mg·g^{-1})	单粒重 Weight per berry/ g	产量 Yield/ (t·hm^{-2})
对照CK	234.64±2.18 c	8.29±0.43 a	28.44±1.30 c	3.56±0.19 b	9.55±1.30 c	1.93±0.18 b	11.68+136.080 c
N1	253.79±6.04 b	7.07±0.05 bc	35.88±0.68 b	3.69±0.12 b	10.44±0.68 ab	2.18±0.09 a	14.40+360.030 b
N2	273.20±4.05 a	6.55±0.22 c	41.74±1.18 a	4.47±0.13 a	10.76±1.18 a	2.21±0.34 a	14.50+89.080 b
N3	233.21±5.55 c	7.34±0.18 b	31.91±1.46 c	4.08±0.15 ab	10.40±1.46 ab	2.17±0.11 a	15.07+680.400 ab
N4	229.98±0.20 c	7.37±0.02 b	31.39±0.09 c	4.03±0.31 ab	10.26±0.09 b	2.23±0.06 a	15.99+337.270 a

注：同列不同小写字母表示差异显著（$p < 0.05$）。

Note: The data with different small letters in same column show significance difference ($p < 0.05$) .

综合来看，N2处理果实可溶性糖、糖酸比、单宁、花青素均达到最大值，可滴定酸含量最小，产量居于中等水平，所以综合品质和产量来看，N2处理更有利于葡萄果实品质和产量的提高。

3　讨　论

不同水平的施肥处理可改善果树叶片的氮代谢，提高树体内的化合氮，碳水化合物与化合氮结合就形成了蛋白质，从而提高了可溶性蛋白含量，可溶性蛋白参与葡萄各种代谢酶的合成，提高酶的活性[19]。本试验条件下，施氮量的高低对葡萄叶片可溶性蛋白的含量影响较小，可能是由于植物体内的可溶性蛋白质大多数是参与各种代谢的酶类，不同的氮素水平对酶蛋白的影响小[20]。这与前人在紫香无核葡萄[19]的研究结果一致。梁燕[21]的研究表明，富士幼苗在0~9 g的氮素水平范围内，植株叶片的全氮含量随着氮素水平的提高而增加，之后随着氮素水平的提高反而下降，本试验结果与之类似。本试验中，N2处理较对照显著提高了花前5 d、花后50 d和花后80 d叶片全氮含量，花前5 d和花后50 d N4处理叶片全氮含量下降，表明适量的施氮水平有利于叶片中全氮含量的积累。

施氮量对酶活性具有一定的调控作用，进而引起氮代谢的变化[22-24]。本研究中，NR、GS、GOGAT和GDH是植物氮代谢的关键酶，特别是NR的活性

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

与植株的生长和氮素的同化效率密切相关，是氮同化过程的限速酶。葡萄叶片中，NR活性随着施氮水平的提高而增加，但是超过300 kg·hm^{-2}酶活性下降，可能是因为NH_4^+可以抑制NR酶的活性，随着葡萄的生长发育，逐渐进入氮代谢旺盛阶段，氮素需求量减小，NR活性也逐渐降低。这与刘娜等[25]在甜菜上的研究结果相似。GDH一般参与氨基酸降解的氧化脱氧作用，在逆境以及碳骨架受限制时，GDH催化的谷氨酸脱氨作用保证为三羧酸循环提供充足碳骨架，是碳氮代谢转化过程中的一个关键酶。花后20 d，各施氮处理GDH活性均达到最大，而后开始下降，表明各处理葡萄在花后20 d开始进入碳代谢旺盛时期，开始需求大量碳骨架，在氮代谢向碳代谢转化过程中可以通过脱氨作用提供更多的碳骨架，保障碳代谢的正常进行[26]。GS在植物氨同化过程中起着关键作用，其活性的高低可以反应氮素同化能力的高低。本研究结果表明，适宜的施氮量（N2）对葡萄叶片GS活性有促进作用，GS活性保持较高水平，保证氨同化途径的畅通运转，但过高或过低的施氮量均不利于葡萄叶片氮素物质的合成和运转。这与张智猛等[27]在花生的研究结果一致。NR活性的增加可以诱导GS和GDH酶活性的增加[27-28]，GS/GOGAT循环是植物同化吸收氮素的主要途径[29]。本试验中，花前5 d、花后20 d和花后80 d GS和GDH酶活性与NR活性变化趋势基本一致，GS和GOGAT酶活性变化趋势也基本一致，说明氮代谢关键酶之间具有一定的协同性。

高等植物中，外源氮对氮素同化酶表达的影响因植物种类、组织器官、环境的差异以及氮源的不同而有差别[30]。有研究表明，叶面喷施氮肥，氮代谢基因的表达量整体呈现出增高趋势[6]。本试验研究结果表明，*VvNR1*、*VvGS1*、*VvGOGAT1*和*VvGDH1*基因在不同时期的表达水平差异不一致，但除花后50 d *VvGOGAT1*基因表达水平低于对照，其他施氮处理4个基因表达水平均不同程度高于对照，表明土壤施尿素诱导了4个基因的表达，从而引起相关酶活性的变化和氮代谢过程发生变化，进而植物产生生理效应，最终改变葡萄果实的品质。基因对不同施氮量处理后的响应不同[6]，其中花前5 d、花后20 d和花后80 d，*VvNR1*的表达水平在N2处理时显著高于其他施氮处理，花前5 d、花后20 d和花后80 d *VvGS1*的表达量随施氮量的增加先上调随后下调，在N2时最高，表明N2处理对氮代谢基因表达的影响比其他施氮处理的影响效果显著，同时，叶片中氮含量较高，因此，N2处理促进了氮代谢循环中的关键酶发挥作用，并对氮同化有显著效果。氮素可能通过诱导叶片氮代谢相关基因的响应，从而调控对应酶的活性，影响植物体的生长发育。

氮肥施用量直接影响植物对氮素的吸收、同化和转运，从而影响植物的光合特性。光合作用对果树生长和产量有重要影响，叶片是进行光合作用的主要器官，充足的叶片营养有利于植株光合作用的提高，促进光合产物的积累[31]，从而促进葡萄生长发育、提高产量和改善果实品质。施用氮肥时苹果植株的叶面积、叶绿素含量、叶片总氮量和单果质量显著增加[32]。本试验研究结果表明，N2处理显著增加了叶面积，施氮处理显著提高了叶片净光合速率。N2处理果实可溶性糖含量达到最大值，这与彭福田等[33]在苹果上的研究结果一致。

综上所述，不同施氮量影响叶片*VvNR1*、*VvGS1*、*VvGOGAT1*和*VvGDH1*基因的表达，从而改善叶片氮代谢水平，N2处理显著促进了葡萄生育后期叶片中氮素的积累，同时促进叶片生长和净光合速率的增加，提高了果实品质。

参考文献 References：

[1] 亓桂梅，李旋，赵艳侠，张久慧 . 2017年世界葡萄及葡萄酒生产及流通概况[J]. 中外葡萄与葡萄酒，2018(1): 68-74.
QI Guimei，LI Xuan，ZHAO Yanxia，ZHANG Jiuhui. Production and circulation of grape and its products in the world in 2017[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine，2018(1): 68-74.

[2] 张志勇，马文奇 . 酿酒葡萄‘赤霞珠’养分累积动态及养分需求量的研究[J]. 园艺学报，2006，33(3): 466-470.
ZHANG Zhiyong，MA Wenqi. Studies on the requirement and accumulative trend of nutrients in wine grape‘Cabernet Sauvignon’[J]. Acta Horticulturae Sinica，2006，33(3): 466-470.

[3] 李文庆，张民，束怀瑞 . 氮素在果树上的生理作用[J]. 山东农业大学学报（自然科学版），2002，33(1): 96-100.
LI Wenqing，ZHANG Min，SHU Huairui. The physiological effects of nitrogen on fruit trees[J]. Journal of Shandong Agricultural University（Natural Science），2002，33(1): 96-100.

[4] 许振柱，周广胜 . 植物氮代谢及其环境调节研究进展[J]. 应用生态学报，2004，15(3): 511-516.
XU Zhenzhu，ZHOU Guangsheng. Research advance in nitrogen metabolism of plant and its environmental regulation[J]. Chinese Journal of Applied Ecology，2004，15(3): 511-516.

[5] 刚爽，王敬国，杨亮，高扬，臧家祥，赵宏伟 . 氮素用量对寒地

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

水稻氮代谢关键酶活性的影响[J]. 农业现代化研究，2010，31(2): 224-227.
GANG Shuang，WANG Jingguo，YANG Liang，GAO Yang，ZANG Jiaxiang，ZHAO Hongwei. Effects of nitrogen level on key enzyme to nitrogen metabolism of rice in cold region[J]. Research of Agricultural Modernization，2010，31(2):224-227.

[6] 王剑，李炳锐，李晓鹏，朱旭东，朱传根，贾海锋 . 利用葡萄氮代谢基因的表达评价不同氮肥肥效[J]. 园艺学报，2016，43(1):1-14.
WANG Jian，LI Bingrui，LI Xiaopeng，ZHU Xudong，ZHU Chuangen，JIA Haifeng. Evaluation of N fertilizers effects based on the expression of N metabolic genes[J]. Acta Horticulturae Sinica，2016，43 (1):1-14.

[7] 朱玉珍，惠竹梅，张辉 . 不同施氮水平对‘赤霞珠’葡萄叶片氮素化合物及关键酶活性的影响[J]. 北方园艺，2012(16):142-145.
ZHU Yuzhen，HUI Zhumei，ZHANG Hui. Effects of different nitrogen levels on nitrogen compounds and key enzyme activities in leaves of ‘Cabernet Sauvignon’[J]. Northern Horticulture，2012(16):142-145.

[8] 初建青，岳林旭，房经贵，刘洪，宋长年，张演义 . 尿素对葡萄 5 个氮代谢相关基因表达的影响[J]. 园艺学报，2013，40(2):221-230.
CHU Jianqing，YUE Linxu，FANG Jinggui，LIU Hong，SONG Changnian，ZHANG Yanyi. Effects of fertilizer application on expression of genes related to nitrogen metabolism in Fujiminori grapevine[J]. Acta Horticulare Sinica，2013，40(2):221-230.

[9] 王添民 . 不同硝铵比对赤霞珠葡萄幼苗碳氮同化及氮代谢相关酶基因表达的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学，2014.
WANG Tianmin. Effect of different nitrogen forms on carbon & nitrogen metabolism and nitrogen metabolism gene expression in *Vitis Vinifera* cv. Cabernet Sauvignon[D]. Yangling：Northwest A&F University，2014.

[10] 金松南，崔东根，周广芳 . 喷施 KNO_3 对新高梨实生苗硝酸还原酶活性和氮素积累的影响[J]. 果树学报，2005，22(4):315-318.
JIN Songnan，CUI Donggen，ZHOU Guangfang. Nitrate reductase activity and nitrogen accumulation in *Pyrus pyrifolia* cv. Niitaka seedlings as affected by $KN0_3$ spray[J]. Journal of Fruit Science，2005，22(4):315-318.

[11] 许衡，杨和生，束怀瑞 . 氮胁迫对平邑甜茶水培苗的生理效应[J]. 果树学报，2006，23(6):787-792.
XU Heng，YANG Hesheng，SHU Huairui. Effects of N stress on the physiology of seedlings of Malus hupehensis cultured by hydroponic method[J]. Journal of Fruit Science，2006，23(6):787-792.

[12] 李慧，丛郁，常有宏，蔺经，盛宝龙 . 豆梨 NADH 型硝酸还原酶基因克隆、表达及酶活性分析[J]. 果树学报，2014，31(5):760-768.
LI Hui，CONG Yu，CHANG Youhong，LIN Jing，SHENG Baolong. Cloning，expression and enzyme activity analysis of nitrite reductase gene from *Pyrus calleryana*[J]. Journal of Fruit Science，2014，31(5):760-768.

[13] 马宗桓，陈佰鸿，毛娟，胡紫璟，李文芳 . 施氮时期对酿酒葡萄叶片氮代谢酶及相关基因表达的影响[J]. 西北植物学报，2018，38(2):298-306.
MA Zonghuan，CHEN Baihong，MAO Juan，HU Zijing，LI Wenfang. Effects of nitrogen metabolism enzymes and related gene expression in leaves of *Vitis vinifera* during nitrogen application Period[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica，2018，38 (2):298-306.

[14] 赵鹏，何建国，熊淑萍，马新明 . 氮素形态对专用小麦旗叶酶活性及籽粒蛋白质和产量的影响[J]. 中国农业大学学报，2010，15(3):29-34.
ZHAO Peng，HE Jianguo，XIONG Shuping，MA Xinming. Studies on the effects of different nitrogen forms on enzyme activity in flag leaves in wheat and protein and yield of grain for specialized end- uses[J]. Journal of China Agricultural University，2010，15(3):29-34.

[15] 米宝琴，毛娟，申鹏，陈佰鸿，郝燕，杨瑞 . 山葡萄‘通化-3’抗寒相关基因 SSH 文库的构建及分析[J]. 果树学报，2015，32(4):546-554.
MI Baoqin，MAO Juan，SHEN Peng，CHEN Baihong，HAO Yan，YANG Rui. Construction and analyses of SSH libraries of cold resistance related genes in *Vitis amrensis* accession‘Tonghua-3’[J]. Journal of Fruit Science，2015，32(4):546-554.

[16] 杜艳民，王文辉，贾晓辉，佟伟，王志华 . 不同可溶性固形物含量‘鸭梨’耐贮性差异比较[J]. 果树学报，2018，35(10):1262-1270.
DU Yanmin，WANG Wenhui，JIA Xiaohui，TONG Wei，WANG Zhihua. The comparison of storage ability of ‘Yali’ pear in different soluble solids contents grades[J]. Journal of Fruit Science，2018，35(10):1262-1270.

[17] 程大伟，陈锦永，顾红，张威远，张洋，郭西智，靳路真 .‘夏黑’葡萄果实质量分级评价及质量标准研究[J]. 果树学报，2016，33(11):1396-1404.
CHENG Dawei，CHEN Jinyong，GU Hong，ZHANG Weiyuan，ZHANG Yang，GUO Xizhi，JIN Luzhen. Resarech on grading evaluation about fruit quality of‘Summer Black’grape[J]. Journal of Fruit Science，2016，33(11):1396-1404.

[18] 余俊，赵玉华，白描，杨国顺 . 钙处理对葡萄果实花青素含量及品质的影响[J]. 果树学报，2018，35(6):741-746.
YU Jun，ZHAO Yuhua，BAI Miao，YANG Guoshun. Effects of calcium treatments on grape fruit quality and anthocyanin content[J]. Journal of Fruit Science，2018，35(6):741-746.

[19] 刘卫英 . 不同氮素水平对紫香无核葡萄生长发育的影响[J]. 新疆农垦科技，2011，34(4):25-27.
LIU Weiying. Effects of different nitrogen levels on the growth and development of purple vine seedless grapes[J]. Xinjiang Farm Research of Science and Technology，2011，34(4):25-27.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[20] 张国英 . 不同氮素水平处理对水稻碳氮代谢关键酶 GS 和 GDH 活性及表达的影响[D]. 福州:福建农林大学,2012.
ZHANG Guoying. Effect of different nitrogen levels treatment on activity and expression of key enzyme of carbon and nitrogen [D]. Fuzhou:Fujian Agriculture and Forestry University,2012.

[21] 梁燕 . 不同氮素水平对苹果幼苗生长发育的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2015.
LIANG Yan. Effect of different nitrogen levels on growth and development of apple seedlings[D]. Yanglin:Northwest A&F University,2015.

[22] 赵春波,王超楠,宋述尧,王艳,陈姗姗,毛立宝,宋廷宇 . 氮素营养水平对黄瓜氮代谢关键酶活性变化及氮化物的影响[J]. 吉林农业大学学报,2017,39(2):139-147.
ZHAO Chunbo,WANG Chaonan,SONG Shuyao,WANG Yan,CHEN Shanshan,MAO Libao,SONG Tingyu. Effects of nitrogen nutrition on change of key enzyme activity during nitrogen metabolism and nitrogenous compounds in cucumber[J]. Journal of Jilin Agricultural University,2017,39(2):139-147.

[23] SHAH S H. Effects of nitrogen fertilization on nitrate reductase activity, protein, and oil yields of *Nigella sativa* L. as affected by foliar GA_3 application[J]. Turkish Journal of Botany, 2008 (32):165-170.

[24] LATIFA I C,ANGGARWULAN E. Nitrogen content, nitrate reductase activity, and biomass of kimpul (*Xanthosoma sagittifolium*) on shade and nitrogen fertilizer variation[J]. Nusantara Bioscience,2009,1(2):65-71.

[25] 刘娜,闫志山,范有君,宋柏权,贾海伦,杨骥 . 不同氮素水平对甜菜氮代谢酶和可溶性蛋白含量的影响[J]. 中国农学通报,2015,31(30):149-154.
LIU Na,YAN Zhishan,FAN Youjun,SONG Baiquan,JIA Hailun,YANG Ji. Effect of different nitrogen application levels on the content of soluble protein and key enzyme activities in nitrogen metabolism of sugar beet[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2015,31(30):149-154.

[26] 葛国锋,王树会,刘卫群 . 氮肥对不同烤烟品种碳氮代谢关键酶活性的影响[J]. 中国农业科技导报,2014,16(1):59-64.
GE Guofeng,WANG Shuhui,LIU Weiqun. Effects of nitrogen fertilizer on activities of key enzymes of carbon and nitrogen metabolism of different flue-cured tobacco tarieties[J]. Journal of Agricultural Science and Technology,2014,16(1):59-64.

[27] 张智猛,万书波,戴良香,宁堂原,宋文武 . 施氮水平对不同花生品种氮代谢及相关酶活性的影响[J]. 中国农业科学,2011,44(2):280-290.
ZHANG Zhimeng,WAN Shubo,DAI Liangxiang,NING Tangyuan,SONG Wenwu. Effects of nitrogen application rates on nitrogen metabolism and related enzyme activities of two different peanut cultivars[J]. Scientia Agricultura Sinica,2011,44 (2):280-290.

[28] 王月福,于振文,李尚霞,余松烈 . 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):743-748.
WANG Yuefu,YU Zhenwen,LI Shangxia,YU Songlie. 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):743-748.

[29] ELRIFI I R,HOLMES J J,WEGER H G,MAYO W P,TURPIN D H. RuBP limitation of photosynthetic carbon fixation during NH(3) assimilation : Interactions between photosynthesis, respiration, and ammonium assimilation in N-Limited green algae[J]. Plant Physiology,1988,87(2):395-401.

[30] OLIVEIRA I C,CORUZZI G M. Carbon and amino acids reciprocally modulate the expression of glutamine synthetase in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology,1999,121(1):301-310.

[31] 宋阳,崔世茂,杜金伟,金丽萍 . 氮肥不同施用量对葡萄叶片生长及根、叶细胞结构的影响[J]. 华北农学报,2008,23(3):204-208.
SONG Yang,CUI Shimao,DU Jinwei,JIN Liping. The grape leaves growth and the anatomical changes both of the grape leaves and roots through different levels of nitrogen fertilizer applications[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica,2008, 23(3):204-208.

[32] 丁宁,陈建明,丰艳广,沙建川,张民,姜远茂 . 矮化苹果负载量对氮素吸收、分配及利用的影响[J]. 园艺学报,2016,43(3):549-556.
DING Ning,CHEN Jianming,FENG Yanguang,SHA Jianchuan,ZHANG Min,JIANG Yuanmao. Effects of fruit load on absorption,distribution and utilization of N in the dwarf apple [J]. Acta Horticulare Sinica,2016,43(3):549-556.

[33] 彭福田,姜远茂,顾曼如,束怀瑞 . 不同负荷水平下氮素对苹果果实生长发育的影响[J]. 中国农业科学,2002,35(6): 690-694.
PENG Futian,JIANG Yuanmao,GU Manru,SHU Huairui. Effect of nitrogen on apple fruit development in different load [J]. Scientia Agricultura Sinica,2002,35(6): 690-694.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net