

张文杰,赵 林,张 婷,等. 氮胁迫对草莓氮代谢与相关基因表达的影响[J]. 江苏农业科学,2022,50(24):112-117.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.24.016

氮胁迫对草莓氮代谢与相关基因表达的影响

张文杰¹, 赵 林¹, 张 婷¹, 杨青青¹, 石梦云¹, 李刚波¹, 王庆莲², 赵密珍²

(1. 江苏徐淮地区徐州农业科学研究所, 江苏徐州 221121; 2. 江苏省农业科学院果树研究所, 江苏南京 210014)

摘要:为研究氮胁迫对草莓氮代谢和相关基因表达的影响,在沙培条件下以妙香3号草莓为试验材料,设置N1(0 mmol/L)、N2(5 mmol/L)、N3(10 mmol/L)、N4(15 mmol/L)、N5(20 mmol/L)和N6(25 mmol/L)6种氮浓度梯度,监测不同处理下的植株氮积累量、相关基因的相对表达量和酶活性。结果表明,外源氮浓度升高,草莓体内氮积累量也随之增加。与对照N1相比,各处理氮积累量均表现出显著性差异,根系中分别增加了78.15%、95.06%、185.22%、289.09%、307.05%,叶片中分别增加了69.47%、118.99%、137.36%、187.26%、197.89%。与中等氮水平相比,在氮胁迫(低氮或高氮水平)下,*NADH-GOGAT1*、*NADH-GOGAT2*和*NADH-GOGAT3*基因在叶片中的相对表达量均出现上调,特别是低氮胁迫更是显著提高了其相对表达量。随着氮浓度升高,*NR*、*NiR*、*GS*、*FD-GOGAT*、*NADP-GDH*、*GDH1*、*GDH2*、*GDH3*基因在叶片和根系中的相对表达量,均呈先升高后下降的抛物线走势。随着氮浓度升高,硝酸还原酶(*NR*)、亚硝酸还原酶(*NiR*)、谷氨酸脱氢酶(*NADH-GDH*)和谷氨酸合成酶(*GOGAT*)4种氮代谢相关酶活性都呈先上升后下降的变化趋势。适宜的氮浓度保证了草莓氮代谢的正常进行,过低或过高的氮浓度都会对其产量和品质产生不利影响。在一定的氮浓度范围内,草莓通过调节相关基因的表达量和酶活性,增强氮素的代谢能力。在大多数情况下,15 mmol/L是草莓生长发育比较理想的氮素水平。

关键词:草莓;氮胁迫;氮代谢;酶活性;基因表达

中图分类号:S668.401;S668.406

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2022)24-0112-06

草莓是蔷薇科草莓属多年生草本植物,是我国重要的设施栽培作物。由于其营养丰富、颜色鲜艳、生长期较短、能填补冬季水果市场空白、经济价值较高等原因,在国内得到越来越广泛的种植。但在设施生产中,为追求高产,种植户往往会盲目施用过量肥料,大量盐离子不能被有效吸收而富集在土壤中,或通过淋洗、径流等方式进入水体,导致土壤盐渍化、水体富营养化现象日益严重^[1]。草莓是

盐敏感作物,盐害阈值只有约0.006 4%^[2],在次生盐渍化土壤中其产量和品质会大幅下降,生产受到严重制约。 NO_3^- 是设施土壤中主要的盐害因子,约占耕层盐离子总量的50%。研究表明,在 NO_3^- 胁迫下,甜瓜幼苗的株高、叶片和可溶性糖含量会显著降低,生长受到严重抑制^[3],草莓叶片的光合作用、蛋白质合成、氮同化等过程都会受到不同程度的影响^[4-5]。

氮吸收和同化是植物氮利用的关键步骤。植物的氮源以 NH_4^+ 、 NO_3^- 为主, NH_4^+ 可以被根系直接吸收,用于合成氨基酸。 NO_3^- 则必须经过一系列还原同化过程,转化成 NH_4^+ 才能被吸收利用。高等植物中的氮素大部分由 NO_3^- 的同化作用来提供,该过程受到一系列相关基因和酶的调控^[6]。硝酸还

收稿日期:2022-01-12

基金项目:江苏省农业重大新品种创制项目(编号:PZCZ201721);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(20)2021]。

作者简介:张文杰(1989—),男,安徽阜阳人,硕士,研究实习员,主要从事果树栽培研究。E-mail:zhangwj747@163.com。

通信作者:赵密珍,硕士,研究员,主要从事草莓资源收集、评价与新品种选育工作。E-mail:njzhaomz@163.com。

子萌发和幼苗生长的影响[J]. 生态学报,2012,32(12):3825-3833.

[22]魏 婧,徐 畅,李可欣,等. 超氧化物歧化酶的研究进展与植物抗逆性[J]. 植物生理学报,2020,56(12):2571-2584.

[23]赵 红,徐芬芬,熊安琪,等. 不同种类盐胁迫对水稻种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 分子植物育种,2021,19(17):5842-

5847.

[24]黄 勇,郭 猛,张红瑞,等. 盐胁迫对石竹种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 草业学报,2020,29(12):105-111.

[25]杨佳鑫,李庆卫,刘玉霞,等. NaCl胁迫对梅花和山桃种子萌发及生理特性的影响[J]. 西北林学院学报,2018,33(2):94-99.

原酶(NR)将土壤中的硝酸盐还原成亚硝酸盐,亚硝酸还原酶(NiR)将亚硝酸盐还原为铵态氮^[6-8],然后在谷氨酰胺合成酶/谷氨酸合成酶(GS/GOGAT)作用下,转化成谷氨酸等有机氮,进一步参与蛋白质等物质的合成过程^[9-13]。

本研究采用营养液沙培法探究草莓幼苗在氮胁迫下的生理响应和基因表达,以期深入了解草莓氮代谢、促进科学施肥和优质高产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

本试验于2021年7—9月在徐州现代农业试验示范基地日光大棚内进行,供试草莓品种为妙香3号。选取长势基本一致的草莓匍匐茎,定植在装有洗净沙子的白色倒梯形塑料槽中,每个塑料槽上底宽20 cm,下底宽13 cm,高17.5 cm,长670 cm,每槽定植1行,株距20 cm。定植后7 d内浇清水,然后进行试验处理。

试验设6个氮素水平,分别为N1(0 mmol/L)、N2(5 mmol/L)、N3(10 mmol/L)、N4(15 mmol/L)、N5(20 mmol/L)和N6(25 mmol/L),每个处理3次重复,每次重复10株草莓。各处理营养液中其他元素水平保持一致,其中大量元素参照日本园试配方,微量元素参照Arnon配方,以浓硫酸调整pH值为5.5~6.5。所有处理田间管理保持一致。

试验于7月开始,7月15日定植,7月22日开始处理,按照每株草莓200 mL营养液每4 d浇1次。9月15日取样进行相关指标的测定。

1.2 测定指标与方法

取植株鲜样,清水冲洗后用吸水纸擦干,一部分用液氮速冻后保存在-80℃冰箱中备用,另一部分在80℃条件下杀青并烘干至恒质量,研磨并过60目筛后装装备用。

1.2.1 植株氮含量的测定 称取0.100 0~0.200 0 g植株样品,采用浓硫酸消煮-凯氏定氮仪测定全氮含量。

1.2.2 氮代谢相关酶活性的测定 硝酸还原酶活性、谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)活性、谷氨酸合成酶活性采用Solarbio试剂盒(紫外分光光度法)测定,亚硝酸还原酶活性采用Boxbio试剂盒(可见分光光度法)测定。

1.2.3 氮代谢相关基因的表达 使用PD Biotech多糖多酚植物总RNA提取试剂盒提取草莓叶片和

根系的总RNA,用NanoDrop2000超微量分光光度计检测RNA的浓度和纯度。反转录试剂盒使用HiScript® II 1st Strand cDNA Synthesis Kit(+gDNA wiper),荧光定量酶采用Hieff® qPCR SYBR® Green Master Mix(No Rox),反应体系(20 μL):10 μL荧光定量酶,7.2 μL ddH₂O,cDNA 2 μL,正向引物0.4 μL,反向引物0.4 μL。在ABI QuantStudio 6 Flex荧光定量PCR仪上完成反应。

引物设计使用NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)、GDR(<https://www.rosaceae.org/>)、Bioedit和Primer Premier 6.0,引物序列见表1。

表1 qPCR引物序列

基因名称	引物序列(5'→3')
<i>NR</i>	F:CCTCAGTCCAGAACCGCCAGTT; R:AGTAGTCGTCGTCGTCGCCAC
<i>NiR</i>	F:TGGATTACAGAGGCAACCGACAA; R:CCACCTCCTCAGTCACCTTCAA
<i>GS</i>	F:GGTGCCTCAATCCGTGTTGGT; R:AGCAGTGCAGTCACAGTGTAAAG
<i>FD-GOGAT</i>	F:GCTGCTGCTGCTGCTGATAGA; R:GCTGCTGCTGCTGCTGATAGA
<i>NADH-GOGAT1</i>	F:CCAACTCCGAACCAAGCCTTCC; R:ACACCGCAGAGTCCTTATCCA
<i>NADH-GOGAT2</i>	F:TCTCCACCGCCGCTTCTCA; R:CGCCATACGCAAGCACAACCA
<i>NADH-GOGAT3</i>	F:GCCAACAACACCGAGGTTTACA; R:CACACCAGGTTACGGCACA
<i>NADP-GDH</i>	F:GGCAGCAGGTGGCAGTGATT; R:TTCAGGTCCGCAAGCAAGAGC
<i>GDH1</i>	F:GCAGCACTTGGAGGTGTCATCA; R:CCATGCGGAGGTCACAGTTGT
<i>GDH2</i>	F:CTCGCCGCAACTAGCCGTAAT; R:GCCACAGCAGTCTTCCATGTCA
<i>GDH3</i>	F:CCAACCATCCCACTGACCCTGA; R:CTCACAGTCACACCACCAGCAT

1.3 数据处理

采用Excel 2019软件进行数据处理和Sigmaplot 14.5作图,采用SPSS 20.0软件进行统计分析,采用Duncan's新复极差法进行差异显著性检验($\alpha = 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 氮胁迫对草莓根系和叶片氮积累量的影响

由表2可知,草莓根系和叶片中的氮积累量都随着氮胁迫浓度的增加而增高,即N6>N5>N4>

N3 > N2 > N1。与对照(N1)相比,各处理氮积累量均表现出显著性差异,根系中全氮积累量分别增加了 78. 15%、95. 06%、185. 22%、289. 09%、307. 05%,叶片中分别增加了 69. 47%、118. 99%、137. 36%、187. 26%、197. 89%。各处理下,叶片中氮积累量都高于根系,增幅在 3. 38% ~ 58. 59% 范围内。

表 2 不同氮水平下草莓根系和叶片的氮积累量

处理	根系全氮积累量 (g/kg)	叶片全氮积累量 (g/kg)
N1	4. 27 ± 0. 19d	6. 03 ± 1. 13d
N2	7. 61 ± 0. 58c	10. 23 ± 0. 55c
N3	8. 33 ± 0. 97c	13. 22 ± 0. 07b
N4	12. 19 ± 0. 83b	14. 32 ± 1. 00b
N5	16. 62 ± 0. 94a	17. 34 ± 1. 52a
N6	17. 39 ± 1. 43a	17. 98 ± 0. 57a

注:同列数值后不同小写字母表示差异显著($P < 0. 05$),下同。

2.2 氮胁迫对草莓根系和叶片氮代谢相关酶基因表达量的影响

如图 1 - A 所示,在根系中,较低氮水平和较高氮水平均降低了所有基因的相对表达量。其中,基因 *NADP - GDH*、*FD - GOGAT* 的相对表达量在较低氮水平时显著降低,基因 *NR*、*NiR*、*GDH1*、*GDH3*、*NADH - GOGAT2*、*NADH - GOGAT3* 的相对表达量在较高氮水平时显著降低,基因 *GS*、*GDH2* 和 *NADH - GOGAT1* 的相对表达量在低氮和高氮水平下则无显著差异。基因 *NiR*、*GS*、*NADH - GOGAT1*、*NADH - GOGAT2* 和 *NADH - GOGAT3* 的相对表达量都在 N3 处理下取得最大值,且与其他处理差异显著;基因 *NR*、*NADP - GDH*、*GDH1*、*GDH2* 和 *GDH3* 的相对表达量都在 N4 处理下表现出最大值,且与其他处理差异显著;基因 *FD - GOGAT* 则在 N5 处理下有最高的相对表达量,且显著高于其他所有处理。

如图 1 - B 所示,在叶片中,氮胁迫均显著影响了所有基因的相对表达量。基因 *NR*、*GS*、*NADP - GDH*、*GDH1*、*GDH2*、*GDH3*、*NADH - GOGAT1*、*NADH - GOGAT2* 和 *NADH - GOGAT3* 的相对表达量在低氮水平下显著增加,*FD - GOGAT* 的相对表达量在低氮和高氮水平下均显著降低。与中等氮水平相比,*NiR* 基因的相对表达量在低氮、高氮水平下均受到显著抑制,但高氮水平抑制作用更强。基因 *NADH - GOGAT1*、*NADH - GOGAT2* 和 *NADH - GOGAT3* 的相对表达量在 N1 处理下取得最大值,基

因 *GDH3* 和 *FD - GOGAT* 的相对表达量在 N3 处理下取得最大值,基因 *NR*、*NADP - GDH*、*GDH1* 和 *GDH2* 的相对表达量在 N4 处理下取得最大值,基因 *NiR* 的相对表达量在 N5 处理下取得最大值。

2.3 氮胁迫对草莓根系和叶片氮代谢相关酶活性的影响

随着氮浓度的升高,草莓叶片和根系中的 *NR*、*NiR*、*NADH - GDH*、*GOGAT* 活性均呈先升高后下降的趋势。与对照 N1 相比,各处理酶活性均表现出显著性差异(图 2)。

根系和叶片的硝酸还原酶活性均在 N3 处理下取得最大值,分别为(0. 86 ± 0. 04)、(7. 47 ± 0. 38) U/g,较对照处理 N1 分别提高了 169. 18%、175. 63%。随着氮浓度的升高,*NR* 活性逐渐下降,在 N6 处理时较 N3 处理分别降低了 65. 48%、55. 85%。

根系亚硝酸还原酶活性在 N4 处理下取得最大值,为(6. 32 ± 0. 18) U/g,较 N1 处理提高了 113. 32%,随后下降。叶片亚硝酸还原酶活性则在 N3 处理下取得最大值,为(15. 04 ± 0. 32) U/g,较 N1 处理提高了 461. 34%,随后逐渐降低。

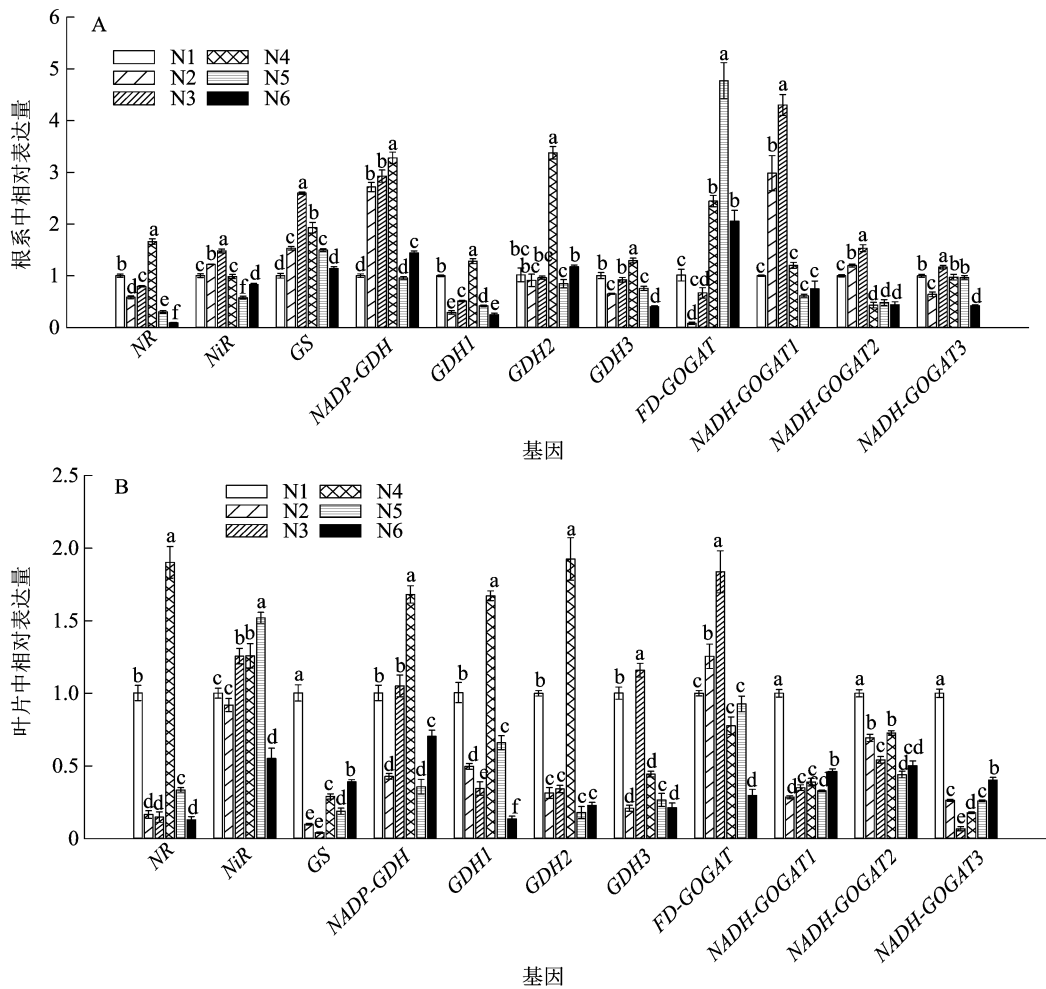
根系谷氨酸脱氢酶在 N5 处理下获得最大活性,为(25. 27 ± 0. 17) U/g,较 N1 处理增加 110. 70%,随后下降。叶片谷氨酸脱氢酶则在 N4 处理下获得最大活性,为(44. 94 ± 0. 73) U/g,较对照处理 N1 高出 258. 47%,随后逐渐下降。

谷氨酸合成酶活性在根系和叶片中的最大活性都出现在 N3 处理,分别为(28. 92 ± 0. 58)、(26. 87 ± 0. 74) U/g,与对照相比差异显著。随着氮浓度提高,活性逐渐减弱。

各处理中叶片的硝酸还原酶活性明显高于根系,亚硝酸还原酶和谷氨酸脱氢酶活性总体高于根系但差异不明显,而谷氨酸合成酶活性则无明显差异,总体保持相等水平。

3 讨论与结论

作为氨基酸、蛋白质、叶绿素和多种植物激素的关键组成元素,氮在作物生长发育中不可或缺,氮素利用对农业生产至关重要^[14-15]。通常农田中作物根际的有效氮含量波动较大,缺氮时作物生长受抑制、产量降低^[16],过量施氮则导致生产成本提高,且氮素流失对环境产生负面影响^[17]。研究表明,NH₄⁺、NO₃⁻除了具有供应营养物质的功能外,更是调节系列生理过程的重要信号因子,在低氮胁迫、干



柱上不同小写字母表示同一基因的表达量在不同处理间差异显著($P < 0.05$)。下图同

图1 氮胁迫对草莓根系和叶片中氮代谢相关酶基因表达量的影响

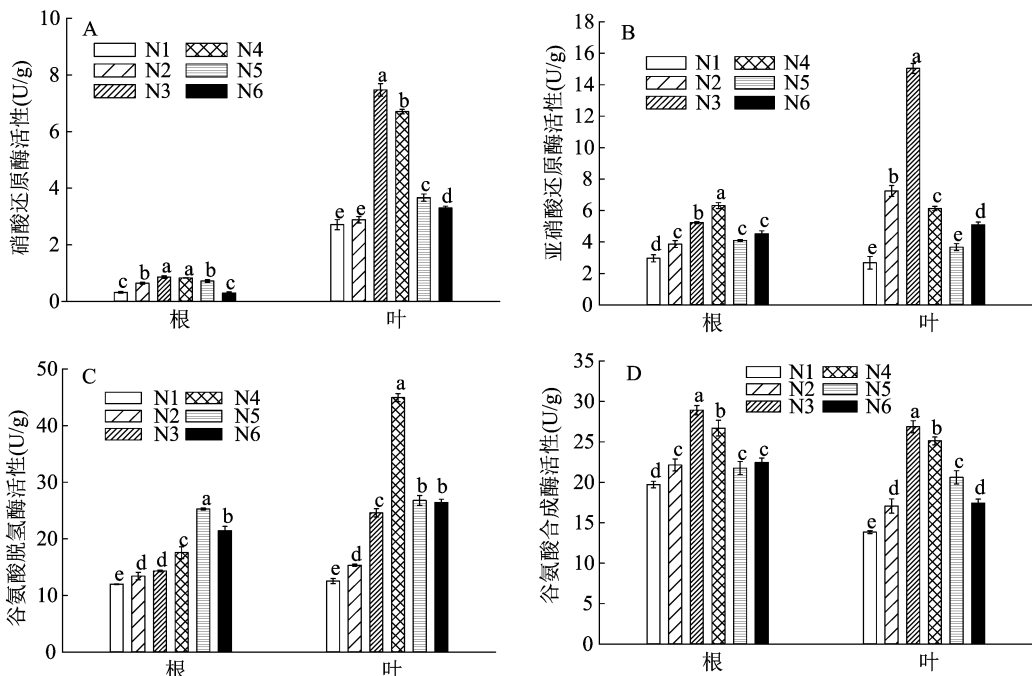


图2 氮胁迫对草莓根系和叶片中氮代谢相关酶活性的影响

旱胁迫等非生物胁迫过程中表现活跃^[18-19]。

本研究中,随着氮浓度提高,草莓地下部和地上部氮积累量都显著增加,表现出明显的奢侈吸收现象,这与前人的研究结果^[20-21]相似。林郑和等研究发现茶树 *GS* 和 *GOGAT* 基因在低氮胁迫下表达增强^[22];Liao 等发现柑橘在高氮胁迫下 *NR* 和 *NiR* 基因的表达显著受到抑制^[23];陈志伟等认为大麦 *GS1* 基因在低氮胁迫下的迅速上调可能更有利于植物对低氮胁迫的适应^[24]。本研究中,在氮胁迫下,*NADH - GOGAT1*、*NADH - GOGAT2* 和 *NADH - GOGAT3* 基因在叶片中的相对表达量均出现上调,特别是低氮胁迫更是显著提高了其表达量,这与曹雄军等研究柑橘面对干旱胁迫时的发现^[25]基本一致。这些基因可能在作物应对氮胁迫等非生物胁迫方面有着重要作用。在草莓根系和叶片中,其他 8 个基因在 10、15、20 mmol/L 氮水平时表达量最大,尽管部分基因的相对表达量在对照处理(0 mmol/L)中出现一定程度的上调,这仍表明较低氮和较高氮水平会对其表达产生抑制,与较低氮浓度相比,较高的氮浓度通常会对其产生更负面的影响。

本研究中,在氮胁迫下,4 种氮代谢相关酶活性都有先上升后下降的过程,这表明酶发挥功能需要合适的氮浓度范围,缺氮和过量施氮都会抑制其活性。其中,*NR*、*GOGAT* 和叶片中的 *NiR* 在 10 mmol/L 氮水平时活性最高,根中的 *NiR* 和叶片中的 *NADH - GDH* 在 15 mmol/L 氮水平时活性最高,根中的 *NADH - GDH* 在 20 mmol/L 氮水平时活性最高。*NR* 活性在氮浓度较低时随着氮浓度升高而增加,这可能是因为 *NR* 基因的表达受到正向诱导而大量合成 *NR*^[26]。当氮浓度持续增加时,*NR* 活性逐渐降低,这可能是氮的负反馈抑制^[27],也可能由于这一过程需要还原的 NO_3^- 太多而碳水化合物供应不足,导致 *NR* 活性的降低^[28]。*NiR* 活性的变化具有类似的现象^[29-31]。

NADH - GDH 是谷氨酸合成与代谢过程的关键酶^[32],但这一过程会产生 NH_4^+ ^[33],尽管 *NADH - GDH* 在协助作物抵抗 NH_4^+ 毒害方面具有重要作用,但过高的氮浓度显然会抑制其发挥功能^[34]。本研究中随着氮浓度升高,*NADH - GDH* 活性呈现先升高后下降的趋势,可能也是因为这种机制。*GOGAT* 是 *GS/GOGAT* 循环的关键组成,与 *GS* 协同负责氮的同化,随着氮浓度升高,其活性也呈先升

后降的趋势。结合前人的研究,可能是因为氮同化时释放的 H^+ 浓度逐渐升高,对 *GS/GOGAT* 循环产生了抑制^[35],也可能是该循环形成的产物谷氨酰胺过量,对 *GS/GOGAT* 循环产生了负反馈调节^[36],从而降低了酶活性。

综上所述,在一定的氮浓度范围内,草莓通过提高相关基因的表达量和酶活性,增强氮素的代谢能力;氮素代谢的正常进行需要适当的氮浓度,在大多数情况下 15 mmol/L 是比较理想的水平;低氮胁迫和高氮胁迫均抑制了部分基因的表达和酶活性,但高氮胁迫产生了更强的抑制作用。笔者建议在实际生产中应进一步调控氮素施用量,尽管加大氮肥施用量,作物体内氮累积会显著增加、表观生长性态会明显改善,但其代谢过程会受到越来越明显的限制,果实产量降低,维生素 C、可溶性糖、类黄酮等品质因子的含量也会出现不同程度下降^[37-39]。

参考文献:

- [1] 李海云,王秀峰,邢禹贤. 设施土壤盐分积累及防治措施研究进展[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2001,32(4):535-538.
- [2] 刘友良,汪良驹. 植物对盐胁迫的反应和耐盐性[M]. 北京:科学出版社,1998:752-769.
- [3] 任文奇,潘雄波,向丽霞,等. 不同喷施频率外源 γ -氨基丁酸对 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫下甜瓜幼苗生长的影响[J]. 北方园艺,2015(23):6-10.
- [4] Keutgen A J, Pawelzik E. Impacts of NaCl stress on plant growth and mineral nutrient assimilation in two cultivars of strawberry [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 65(2/3):170-176.
- [5] 李青云,葛会波,胡淑明,等. 钠盐和钙盐胁迫对草莓光合作用的影响[J]. 西北植物学报,2006,26(8):1713-1717.
- [6] Kyaing M S, 顾立江, 程红梅. 植物中硝酸还原酶和亚硝酸还原酶的作用[J]. 生物技术进展,2011,1(3):159-164.
- [7] 罗 凤, 卢永恩, 杨 猛, 等. 氮胁迫对水稻营养生长期氮代谢及相关基因表达量的影响[J]. 华中农业大学学报,2012,31(1):16-22.
- [8] 孙敏红, 卢晓鹏, 曹雄军, 等. 不同氮素形态培养对枳橙幼苗硝酸还原酶活性及相关基因表达的影响[J]. 果树学报,2017,34(4):410-417.
- [9] Redinbaugh M G, H Campbell W. Nitrate regulation of the oxidative pentose phosphate pathway in maize (*Zea mays* L.) root plastids: induction of 6-phosphogluconate dehydrogenase activity, protein and transcript levels[J]. *Plant Science*, 1998, 134(2):129-140.
- [10] 蔡红梅, 肖景华, 张启发, 等. 抑制表达谷氨酰胺合成酶基因对水稻氮代谢和生长发育的影响[J]. 科学通报,2010,55(10):871-882.
- [11] 徐晓鹏, 傅向东, 廖 红. 植物铵态氮同化及其调控机制的研究进展[J]. 植物学报,2016,51(2):152-166.

- [12] 黄成能. 氮胁迫对柑橘营养生长及 GS/GOGAT 循环酶基因表达影响的研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2014.
- [13] 莫良玉,吴良欢,陶勤南. 高等植物 GS/GOGAT 循环研究进展[J]. 植物营养与肥料学报,2001,7(2):223–231.
- [14] Curci P L, Aiese C R, Zuluaga D L, et al. Transcriptomic response of durum wheat to nitrogen starvation[J]. Scientific Reports, 2017, 7:1176.
- [15] 董胜君,王若溪,张皓凯,等. 不同种源东北杏果实表型性状多样性分析[J]. 植物资源与环境学报,2020,29(6):42–50.
- [16] Quan X Y, Qian Q F, Ye Z L, et al. Metabolic analysis of two contrasting wild barley genotypes grown hydroponically reveals adaptive strategies in response to low nitrogen stress[J]. Journal of Plant Physiology, 2016, 206:59–67.
- [17] Boussadia O, Steppe K, Zgallai H, et al. Effects of nitrogen deficiency on leaf photosynthesis, carbohydrate status and biomass production in two olive cultivars ‘Meski’ and ‘Koroneiki’ [J]. Scientia Horticulturae, 2010, 123(3):336–342.
- [18] Liu Y, von Wirén N. Ammonium as a signal for physiological and morphological responses in plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(10):2581–2592.
- [19] Sun C H, Yu J Q, Hu D G. Nitrate: a crucial signal during lateral roots development[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8:485.
- [20] 李菲菲,黄成能,谢深喜,等. 施氮过量对桤柑园土壤和树体矿质养分及果实品质的影响[J]. 南方农业学报,2018,49(4):748–756.
- [21] 李 晶,姜远茂,魏 靖,等. 不同氮水平下不同中间砧苹果幼树的生长及氮吸收、利用、分配特性[J]. 植物营养与肥料学报,2015,21(4):1088–1094.
- [22] 林郑和,钟秋生,陈常颂,等. 不同氮浓度下茶树氮合成关键酶基因的表达分析[J]. 核农学报,2014,28(6):985–989.
- [23] Liao L, Dong T T, Liu X Y, et al. Effect of nitrogen supply on nitrogen metabolism in the citrus cultivar ‘Huangguogan’ [J]. PLoS One, 2019, 14(3):e0213874.
- [24] 陈志伟,陆瑞菊,王亦菲,等. 低氮胁迫下大麦谷氨酰胺酶基因的表达分析[J]. 核农学报,2010,24(6):1182–1184,1207.
- [25] 曹雄军,卢晓鹏,熊 江,等. 干旱胁迫对枳的氮含量及氮代谢相关基因表达的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2018, 44(5):500–505, 538.
- [26] Foyer C, Champigny M, Valadier M, et al. Partitioning of photosynthetic carbon; the role of nitrate activation of protein kinases [J]. Proceedings – Phytochemical Society of Europe, 1996, 9(3):297–310.
- [27] 韩宇睿,王秀峰,杨凤娟,等. NO_3^- 胁迫对草莓幼苗光合特性和氮代谢的影响[J]. 应用生态学报,2015,26(8):2314–2320.
- [28] 张丽莹,王荣莲,张俊生,等. 水肥耦合对温室无土栽培黄瓜氮代谢的影响[J]. 园艺学报,2011,38(5):893–902.
- [29] 朱礼乾,沈鑫健,周上铃,等. 氮胁迫对枳和‘资阳香橙’砧木氮代谢及相关基因表达的影响[J]. 果树学报,2020,37(4):449–458.
- [30] Munzarova E, Lorenzen B, Brix H, et al. Effect of $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ availability on nitrate reductase activity and nitrogen accumulation in wetland helophytes *Phragmites australis* and *Glyceria maxima* [J]. Environmental and Experimental Botany, 2006, 55(1/2):49–60.
- [31] Zou D H. Effects of elevated atmospheric CO_2 on growth, photosynthesis and nitrogen metabolism in the economic brown seaweed, *Hizikia fusiforme* (Sargassaceae, Phaeophyta) [J]. Aquaculture, 2005, 250(3/4):726–735.
- [32] 汪建飞,董彩霞,沈其荣. 氮素不同形态配比对菠菜体内游离氨基酸含量和相关酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(4):664–670.
- [33] Stewart G R, Shatilov V R, Turnbull M H, et al. Evidence that glutamate dehydrogenase plays a role in the oxidative deamination of glutamate in seedlings of *Zea mays* [J]. Functional Plant Biology, 1995, 22(5):805.
- [34] 张智猛,万书波,戴良香,等. 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.
- [35] 汪建飞. 营养液不同铵硝比对菠菜产量和品质影响的机理研究[D]. 南京:南京农业大学,2007:8–9.
- [36] Ota K, Yamamoto Y. Effects of different nitrogen sources on glutamine synthetase and ferredoxin dependent glutamate synthase activities and on free amino acid composition in radish plants [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 1990, 36(4):645–652.
- [37] 唐恒朋,李莉婕,钱晓刚,等. 氮素施用量对火龙果产量、品质及贮藏效果的影响[J]. 河南农业科学,2016,45(8):64–68.
- [38] 吴 玥. 氮肥供应对辣椒品质的影响及机制[D]. 重庆:西南大学,2020:38–39.
- [39] 何志学. 氮素水平对辣椒生长生理和养分利用的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学,2016:36–37.