

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

朱玉珍, 惠竹梅, 张 辉

(西北农林科技大学 葡萄酒学院, 陕西省葡萄与葡萄酒工程中心, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以欧亚种酿酒葡萄‘赤霞珠’为供试材料,于开花前、果实膨大期分2个时期对‘赤霞珠’植株分别进行10、20、30、40 g/株施氮处理,以不施肥为对照,研究不同氮素水平对葡萄叶片氮素化合物含量及氮代谢关键酶活性的影响。结果表明:与对照(CK)相比,4种施氮处理均使葡萄叶片硝态氮、氨态氮、可溶性蛋白质含量增加,同时硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)的活性也升高,依次为40 g/株>30 g/株>20 g/株>10 g/株,且40 g/株处理显著高于对照及其它处理。

关键词:‘赤霞珠’;施氮水平;氮素化合物;硝酸还原酶;谷氨酰胺合成酶

中图分类号:S 663.106⁺.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)16-0142-04

氮素是植物生长必需元素之一,其对植物生长发育发挥着至关重要的作用。施氮水平对葡萄质量和产量具有重要影响,氮素不足会降低光合作用,叶片颜色淡、小、薄,果穗与果粒也小,产量低;氮素过量会促进葡萄的营养生长,成熟果实着色差,含糖量低,含酸量高,果实品质差^[2];适量的施氮有利于枝条及叶面的生长,植株提早萌芽,提高坐果率,增加产量^[1]。植株从土壤中吸收硝态氮,在叶片中通过硝酸还原酶(NR)等的作用转化为氨态氮,然后在谷氨酰胺合成酶(GS)的作用下转化为谷氨酰胺,才能用于形成氨基酸和蛋白质^[3-4]。施氮水平通过影响植株体内硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)活性,影响到硝态氮、氨态氮以及可溶性蛋白质等有机氮素组成及含量,进而影响到植物的生长、发育以及对环境的适应^[7-10]。近年来,对冬小麦、花生、黄粟等不同氮素水平下植物氮素代谢关键酶活性及相关氮素指标影响的报道较多^[5-8],而对于葡萄生长发育过程中氮素指标含量及关键酶活性影响的报道较少。

该试验以欧亚种(*Vitis vinifera* L.)酿酒葡萄‘赤霞珠’(‘Cabernet Sauvignon’)为试材,研究不同施氮水平

对葡萄叶片中氮素化合物含量及氮代谢关键酶活性的影响,以期为酿酒葡萄合理施用氮肥提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

该试验在陕西泾阳县白王镇酿酒葡萄基地进行,泾阳县位于东经108°29′40″~108°58′23″,北纬34°26′37″~34°44′57″。海拔高度400 m,年日照时数2 195.2 h,无霜期213 d,年平均降雨量548.7 mm,年平均温度13℃。

1.2 试验材料

供试品种为欧亚种(*Vitis vinifera* L.)酿酒葡萄品种‘赤霞珠’(‘Cabernet Sauvignon’),2006年栽植,东西行向,多主蔓扇形整形,中长梢修剪,常规管理。试验所用氮肥为NH₄NO₃(含N量35%),天津试剂厂生产。

1.3 试验方法

每处理选择生长势基本一致的葡萄植株10株,3次重复。采用无机氮肥NH₄NO₃,施氮梯度为:10、20、30、40 g/株,以不施肥为对照。在葡萄开花期(5月13日)、果实膨大期(6月3日)分2次进行施肥,每次施入50%。每次施肥在距葡萄植株40 cm的4个方向上开穴,将氮肥穴施覆土,然后每穴灌水。施肥后的第20、36、51天采样,以后每隔7或8 d采样测定分析相关指标,直到果实成熟为止。每次采样于上午8:00~9:30进行,每处理选取2~3个结果枝,每枝取果穗上第1~2节的健康叶片1枚,在不同的植株上,选取不同着生方向的叶片进行采集,取样后放入冰盒立即带回实验室,置于-40℃冰箱保存备用。

1.4 项目测定

1.4.1 氮化物指标 硝态氮含量测定采用水杨酸-硫酸

第一作者简介:朱玉珍(1984-),女,在读硕士,现主要从事葡萄生理学研究。E-mail:zhuyuzhen06@163.com。

责任作者:惠竹梅(1969-),女,博士,副教授,现主要从事葡萄与葡萄酒研究工作。E-mail:xizhumei@nwsuaf.edu.cn。

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项基金资助项目(nycytx-30-ZP-04);西北农林科技大学青年科研专项基金资助项目(QN2009059)。

收稿日期:2012-05-07

法^[11], 氨态氮含量测定采用水合印三酮、抗坏血酸比色法^[11], 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝比色法^[12]。

1.4.2 氮素代谢相关酶活性 硝酸还原酶活性的测定采用磺胺比色法^[11], GS 活性的测定采用的 FeCl_3 比色法^[13], 用 UV1800 型号紫外可见分光光度计测定吸光值。

1.5 数据分析

试验数据采用 Excel 2003 和 SPSS 17 数据处理软件进行处理, 采用 Duncan 新复极差法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 ‘赤霞珠’葡萄叶片中硝态氮含量的变化

由图 1 可知, 随着葡萄果实的发育, 各处理叶片中硝态氮含量变化趋势一致, 表现为先上升, 后下降, 再上升, 然后基本趋于平稳, 且各处理在转色前 1 周, 叶片硝态氮含量最高。此时冬芽和夏芽形成、花序继续分化, 必须供给足够的氮素营养, 否则会影响花芽分化及枝蔓的生长^[16]。与对照(CK)相比, 4 种施氮处理总体提高了‘赤霞珠’葡萄叶片硝态氮含量, 且随着施氮水平的增加, 硝态氮含量提高的幅度越大。数据统计分析表明, 除 8 月 9 日 10 g/株施氮处理叶片中硝态氮含量与对照之间无显著差异外, 其它各个时期, 施氮处理叶片硝态氮含量与对照之间差异均达显著水平 ($P < 0.05$), 且 40 g/株施氮处理叶片硝态氮含量显著高于 20 和 10 g/株处理, 而其它施氮处理之间总体上差异不显著。

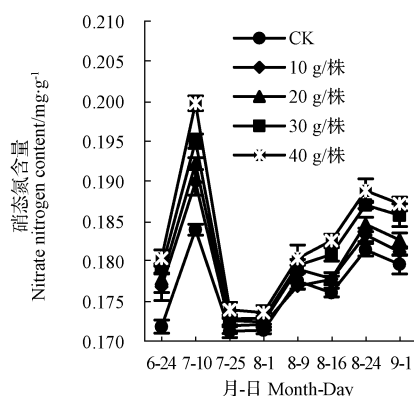


图 1 不同施氮水平对葡萄叶片中硝态氮含量的影响

Fig. 1 Effect of different nitrogen level on the total nitrate nitrogen of grape leaf

2.2 ‘赤霞珠’葡萄叶片中氨态氮含量的变化

叶片中氨态氮是植物氮素循环和储存的主要形式, 对葡萄生长、品质和产量形成有重要的影响^[7]。由图 2 可知, 随着葡萄果实的发育, 各处理叶片中氨态氮含量变化趋势一致, 表现为先上升, 后下降, 然后再上升, 果实成熟前 1 周有一个下降过程。与对照(CK)相比, 4 种施氮处理总体提高了‘赤霞珠’葡萄叶片氨态氮含量, 且

随着氮素水平的增加, 氨态氮含量提高的幅度越大。数据统计分析表明, 除 6 月 24 日各处理无显著差异外, 其它各个时期, 4 种施氮处理叶片氨态氮含量与对照之间差异均达显著水平 ($P < 0.05$), 各处理叶片氨态氮含量由高到低依次为 40 g/株 > 30 g/株 > 20 g/株 > 10 g/株, 且 4 种施氮处理之间差异也达显著水平 ($P < 0.05$)。

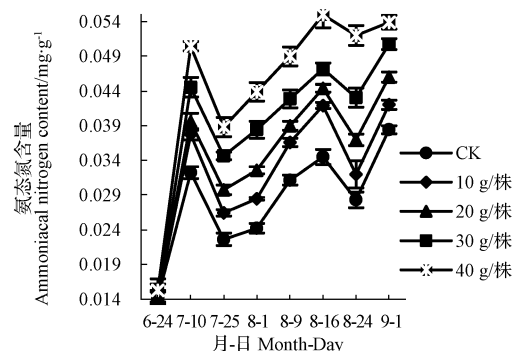


图 2 不同施氮水平对葡萄叶片中氨态氮含量的影响

Fig. 2 Effect of different nitrogen level on the total ammoniacal nitrogen of grape leaf

2.3 ‘赤霞珠’葡萄叶片中可溶性蛋白质含量的变化

可溶性蛋白参与植株各种代谢酶的合成, 提高酶的活性, 从而提高葡萄抗逆性^[7]。由图 3 可知, 各处理叶片可溶性蛋白质含量变化趋势一致, 表现为先缓慢上升, 到转色期以后快速上升, 最后基本趋于平稳。与对照(CK)相比, 4 种施氮处理总体提高了‘赤霞珠’葡萄叶片可溶性蛋白含量, 且随着施氮水平的增加, 可溶性蛋白含量提高的幅度越大。数据统计分析表明, 除 6 月 24 日外, 其它各个时期, 4 种施氮处理叶片可溶性蛋白含量与对照之间差异达显著水平 ($P < 0.05$), 且 40 g/株施氮处理显著高于 20 和 10 g/株处理, 而其它施氮处理之间总体上差异不显著。

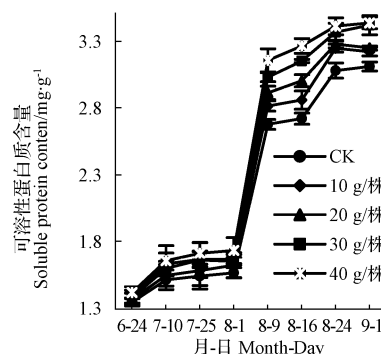


图 3 不同施氮水平对葡萄叶片可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 3 Effect of different nitrogen level on the total soluble protein of grape leaf

2.4 ‘赤霞珠’葡萄叶片中硝酸还原酶(NR)活性的变化

植物吸收硝态氮后, 必须经过一系列还原变成氨态氮后才能用于形成蛋白质^[2]。由图 4 可知, 随着葡萄果

实的发育,各处理叶片中 NR 活性的变化趋势一致,表现为先升高,后下降,然后再上升,再下降。在 7 月 25 日之前,叶片中硝酸还原酶的活性变化与硝态氮及氨态氮含量的变化趋势基本一致,均表现为先上升,后下降。在成熟期,植株营养生长缓慢,叶片中硝酸还原酶活性降低,氨态氮含量也降低。与对照(CK)相比,4 种施氮处理均提高了‘赤霞珠’葡萄叶片中 NR 的活性,且随着施氮水平的增加,NR 活性提高的幅度越大。数据统计分析表明,在整个测定过程中,40 g/株施氮处理叶片 NR 活性显著高于对照及其它处理,其它 3 种施氮处理均显著高于对照,而它们三者总体上之间差异不显著。

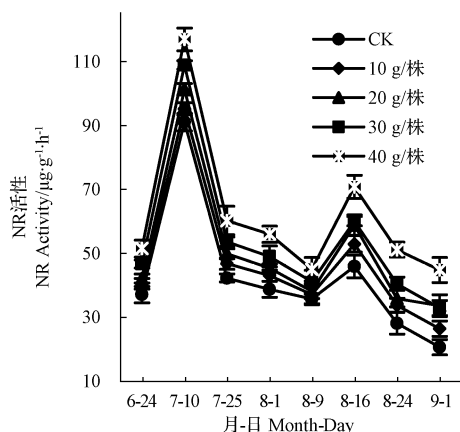


图 4 不同施氮水平对葡萄叶片中 NR 活性的影响

Fig. 4 Effect of different nitrogen level on the total NR activity of grape leaf

2.5 ‘赤霞珠’葡萄叶片中谷氨酸合成酶(GS)活性的变化

谷氨酰胺合成酶在植物氮同化过程中起着关键作用,其活性的高低可以反映氮素同化能力的强弱^[14]。由图 5 可知,不同施氮水平下,叶片中 GS 活性变化趋势基本一致,表现为先缓慢升高,后快速下降,最后基本趋于稳定。随着葡萄果实的发育,各施氮处理叶片中 GS 活性与可溶性蛋白质含量基本呈相反的变化趋势。与对照

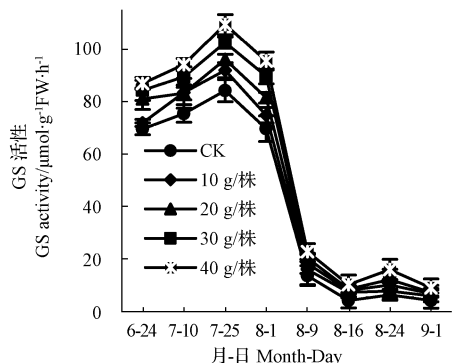


图 5 不同施氮水平对葡萄叶片中 GS 活性的影响

Fig. 5 Effect of different nitrogen level on the total GS activity of grape leaf

(CK)相比,不同施氮水平处理均能提高叶片中 GS 活性,升高幅度依次为 40 g/株>30 g/株>20 g/株>10 g/株。数据统计分析表明,在整个测定过程中,40、30、20 g/株施氮处理叶片 NR 活性总体显著高于对照和 10 g/株处理,且 40 和 20 g/株处理之间差异达显著水平($P < 0.05$),而其它施氮处理之间总体上差异不显著。

3 讨论

3.1 不同氮素水平对‘赤霞珠’叶片氮素化合物的影响

在葡萄生长过程中,叶片中硝态氮含量的起伏变化与果实膨大趋势相近,反映果实对氮素的营养需求^[7]。叶片中氨态氮是氮素循环和储存的主要形式,在氮素代谢中处于中心位置。可溶性蛋白参与葡萄各种代谢酶的合成,提高酶的活性,从而提高葡萄抗逆性,对葡萄生长、品质和产量形成有重要的影响^[7]。

该试验结果表明,在不同施氮水平下,硝态氮含量在转色前 1 周达到最大值,此时葡萄果实迅速膨大,需要大量的氮素营养。与对照(CK)相比,4 种施氮水平处理下叶片中硝态氮、氨态氮、可溶性蛋白质含量均增加,从而促进葡萄生长发育和氮素代谢,进而有利于提高果实品质,增加产量^[1]。适量的施氮水平有利于叶片中各氮素化合物的累积,这与前人在紫香无核葡萄^[7]、黄梨^[8]等的研究结果一致。

3.2 不同氮素水平对‘赤霞珠’叶片关键酶活性的影响

硝酸还原酶(NR)是硝态氮同化过程中的限速酶,它的活性与植株的生长势和产量密切相关^[14]。谷氨酰胺合成酶(GS)是氮代谢中心的关键酶,参与多种氮代谢的调节,其活性的高低可以反映氮素同化能力的强弱^[5]。

该试验结果表明,增加施氮水平,叶片中硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)的活性升高。李霞等^[8]研究指出,随着供氮水平的提高,黄梨叶片中 NR 活性增加,并表现出了与硝态氮含量相似的变化趋势。王月福等^[6]研究表明,提高氮素水平能够显著提高小麦旗叶 NR 和 GS 的活性,与该试验结论基本一致。因此,增加施氮水平能够提高氮素的同化能力,促进植株旺盛生长,进而提高果实的产量。

一般而言,充足的氮肥对葡萄营养生长有着积极的作用,适当增加施氮水平,可以提高硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)的活性,有利于叶片中各氮素化合物的累积,进而有利于葡萄枝条及叶面的生长,提高坐果率,增加产量^[1,15]。而过量的施氮则不利于果实品质的形成,成熟果实着色差,含糖量低,含酸量高^[2]。因而,对于适宜‘赤霞珠’生长的施氮水平,有待于结合酿酒葡萄果实品质,监控发酵过程及葡萄酒的理化指标做进一步的深入研究。

4 结论

在该试验施氮水平范围内,与对照(CK)相比,4 种

处理均使叶片中硝态氮、氨态氮、可溶性蛋白质含量显著增加,硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)的活性显著升高,且升高幅度依次为 40 g/株>30 g/株>20 g/株>10 g/株。40 g/株施氮处理叶片各氮素化合物含量及关键酶活性显著高于对照及其它处理,其它 3 种施氮处理总体上显著高于对照,而它们三者之间差异不显著。因此,在生产上,在低浓度范围内选择 10 g/株的施氮水平,高浓度选择 40 g/株施氮水平。

参考文献

- [1] 隋静,姜远茂,彭福田,等. 施氮水平对草莓果实品质的影响[J]. 落叶果树,2007(1):1-2.
- [2] 谢海霞,陈冰,文启凯,等. 氮、磷、钾肥对“全球红葡萄”产量与品质的影响[J]. 北方园艺,2005(4):73-74.
- [3] Crasford N M, Glass A D M. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants [J]. Trends Plant Sci,1998,3(10):389-395.
- [4] Andrews M. The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of higher plants[J]. Plant Cell & Environ,1986,9(7):511-519.
- [5] 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):743-748.
- [6] 张智猛,万书波,宁堂原,等. 氮素水平对花生氮素代谢及相关酶活性的影响[J]. 植物生态学报,2008,32(6):1407-1416.
- [7] 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(4):25-27.
- [8] 李霞,阎秀峰. 氮素浓度对黄梨幼苗生长及氮代谢相关酶类的影响[J]. 东北林业大学学报,2010,38(6):40-41.
- [9] Inokuchi R, Kuma K, Miyata T, et al. Nitrogen-assimilating enzymes in land plants and algae phylogenetic and physiological perspectives[J]. Physiologia Plantarum,2002,116:1-11.
- [10] 杨阳,郑秋玲,裴成国,等. 不同硝铵比对霞多丽葡萄幼苗生长和氮素营养的影响[J]. 植物营养与肥料学,2010,16(2):370-375.
- [11] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006:63-64,68-70,107-108.
- [12] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社,2002:54-55.
- [13] 韩明珠,祖艳群. 不同施氮水平对丘北辣椒生长、产量及品质的影响[A]. 第三届全国农业环境科学学术研讨会论文集[C],2009:95-99.
- [14] 张青. 供氮水平对草莓氮素同化的影响[J]. 山东农业科学,2007,32(6):92-93.
- [15] Smart R E. Canopy microclimate implications for nitrogen effects on yield and quality[J]. International Symposium on Nitrogen in Grape and Wine,1991:90-101.
- [16] 姬树林. 酿酒葡萄栽培[M]. 石家庄:河北科学技术出版社,1999,28-30.

Effect of Different Nitrogen Application Treatments on Nitrogen Compounds Content and Nitrogen Metabolism Key Enzymes Activity in ‘Cabernet Sauvignon’ Grape Leaf

ZHU Yu-zhen, XI Zhu-mei, ZHANG Hui

(College of Enology, Northwest Agricultural and Forestry University, Shaanxi Engineering Research Center for Viti-Viniculture, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Nitrogen fertilizer were respectively applied on vinifera wine grapes ‘Cabernet Sauvignon’ with 0, 10, 20, 30, 40 g/plant treatment, the effects of different nitrogen level on nitrogen compounds content and nitrogen metabolism key enzymes activity of the grape leaf were studied. The results showed that compared to CK, during grape ripening, total nitrate nitrogen, ammoniacal nitrogen, soluble protein content and nitrate reductase (NR), glutamine synthase (GS) activity of ‘Cabernet Sauvignon’ grape leaf were significantly increased with four kinds of nitrogen treatments. Followed by 40 g/plant>30 g/plant>20 g/plant>10 g/strains, and 40 g/plant nitrogen fertilizer treatment significantly higher than those of CK and other treatments.

Key words: ‘Cabernet Sauvignon’; different nitrogen level; nitrogen compounds; NR; GS