

施氮时期对葡萄叶片光合生理及 内源激素水平的影响

马宗桓¹, 毛娟¹, 魏居灿², 褚明宇¹, 李文芳¹,
周琪¹, 杨始锦¹, 陈佰鸿¹

(1. 甘肃农业大学园艺学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省白龙江林业管理局南华生态建设局, 甘肃 张掖 734000)

摘 要:以 10 a 生酿酒葡萄‘蛇龙珠’为试验材料, 运用水肥一体化滴灌的方式分别在萌芽期(S1)、新梢旺长期(S2)、开花期(S3)、果实第一次膨大期(S4)和副梢生长旺期(S5)一次性施入 300 kg·hm⁻² 尿素, 对照为整个生育期均不施氮肥(CK), 分别于花后 50 d(DAF50)、花后 85 d(DAF85)和花后 120 d(DAF120)进行光合特性指标的测定, 并采样分析氮肥施用时期对葡萄叶片光合生理及内源激素水平的影响。结果表明:各生育期施氮均能增加叶片净光合速率(*Pn*)及 PSⅡ 最大光化学效率(*Fv/Fm*), 在花前施氮肥叶片 *Pn* 和 *Fv/Fm* 增加最为显著, 最高分别达到 18.22 μmol·m⁻²·s⁻¹ 和 0.854。S1、S2 和 S3 处理显著增大了不同生育期叶片气孔导度(*Gs*)和蒸腾速率(*Tr*), 且 S2 处理在 DAF85 时最显著, *Gs* 和 *Tr* 分别比 CK 高 18.5% 和 10.8%; S3、S4 和 S5 处理显著降低了叶片的胞间 CO₂ 浓度(*Ci*)和非光化学淬灭系数(*NPQ*), S1 处理叶片 *Ci* 与 CK 之间无显著差异。果实第一次膨大期之前施入氮肥能够显著增大各生育期叶片的 PSⅡ 电子传递量子效率(*ΦPSⅡ*)和光化学淬灭系数(*qP*), 最高分别达到 0.889 和 0.959。可见, 不同时期施氮肥, 通过改变光合荧光相关参数影响叶片光能的吸收、传递、耗散和分配, 从而改善叶片光能利用效率。氮肥的施用时期影响各生育期叶片内源激素的含量, 施氮肥均显著提高了 DAF85 后叶片玉米素(ZT)含量, 与 CK 相比至少提高 21.9%; 花后施入氮肥叶片中 IAA 含量在果实采收时保持在 34.9 μg·g⁻¹ 以上, S4 和 S2 处理 GA₃ 含量最高, 分别为 7.11 μg·g⁻¹ 和 6.49 μg·g⁻¹。因此, 氮肥施用时期影响葡萄各生育期不同内源激素的积累。

关键词:施氮时期; 葡萄; 光合参数; 荧光参数; 内源激素含量

中图分类号:S143.1; S663.1 **文献标志码:**A

Effects of nitrogen application timing on photosynthetic physiology and endogenous hormones in grape leaves

MA Zonghuan¹, MAO Juan¹, WEI Jucan², CHU Mingyu¹, LI Wenfang¹,
ZHOU Qi¹, YANG Shijin¹, CHEN Baihong¹

(1. College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China;

2. Nanhua Ecological Construction Bureau, Bailongjiang Forestry Administration of
Gansu Province, Zhangye, Gansu 734000, China)

Abstract: 10-year-old wine grapevine ‘Cabernet Gernischt’ was used as material. Drip irrigation of fertigation was applied at 300 kg·hm⁻² urea at germination stage (S1), vigorous growth of new shoots stage (S2), flowering stage (S3), the first stage of fruit expansion (S4), and secondary shoot growth stage (S5), respectively. No nitrogen was applied for control (CK) during the whole growth period. The photosynthetic characteristic index of leaves was measured separately at 50 days after anthesis (DAF50), 85 days after anthesis (DAF85), and 120 days after anthesis (DAF120), and collected leaf samples were analyzed photosynthetic physiology and endogenous hormone levels during the period of nitrogen (N) application. The results showed that N application increased *Pn* and *Fv/Fm* of leaves during the whole growth period, and the increase of *Pn* and *Fv/Fm* of leaves before anthesis was

收稿日期:2019-10-02

修回日期:2020-03-03

基金项目:甘肃省葡萄酒发展专项(039-041006);甘肃省科技重大专项(18ZD2NA006);甘肃省现代水果产业体系项目(GARS-SG-1)

作者简介:马宗桓(1988-),男,甘肃会宁人,博士,副教授,主要从事果树栽培生理与生物技术研究。E-mail:mazohu@163.com

通信作者:陈佰鸿(1969-),男,甘肃古浪人,教授,主要从事果树栽培生理与生物技术研究。E-mail:bhch@gsau.edu.cn

the most significant, reaching $18.22 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ and 0.854, respectively. The stomatal conductance (G_s) and transpiration rate (Tr) of leaves at different growth stages were significantly increased by applying N during S1, S2, and S3. While the most significant one was at 85 days after anthesis when N application was at S2, G_s and Tr increased by 18.5% and 10.8%, respectively, compared with control. The intercellular CO_2 concentration (C_i) and non photochemical quenching coefficient (NPQ) of leaves were significantly reduced when nitrogen application was at S3, S4, and S5. There was no significant difference between N fertilizer at S1 and CK. Applying N fertilizer before the first fruit expansion stage can significantly increase the quantum efficiency of PS II electron transfer (Φ_{PSII}) and photochemical quenching coefficient (qP), the highest values were 0.889 and 0.959, respectively. It can be seen that applying N fertilizer in different timings could affect the absorption, transmission, dissipation, and distribution of light energy in leaves by changing the parameters related to photosynthetic fluorescence, so as to improve the efficiency of light energy utilization. Application N fertilizer before S4 significantly increased the quantum efficiency of PS II electron transfer (Φ_{PSII}) and photochemical quenching coefficient (qP), the highest values were 0.889 and 0.959, respectively. Therefore, N fertilizer in different stages could affect the absorption, transmission, dissipation, and distribution of light by changing the parameters related to photosynthetic fluorescence, so as to improve the light efficiency of leaves. The application period of N affected the content of endogenous hormones in leaves at different growth stages. Compared with CK, the N application significantly increased the content of ZT in leaves after DAF85, increased by 21.9% at least. The content of IAA in leaves when N application after flowering maintained above $34.9 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ during the fruit harvest. The GA_3 content was the highest when N application at S4 and S2, $7.11 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ and $6.49 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ respectively. Therefore, N application at different stages can promote the accumulation of growth hormone and inhibiting the accumulation of growth-inhibiting hormone.

Keywords: nitrogen application time; grape; photosynthetic parameters; fluorescence parameters; endogenous hormones content

氮肥和光合作用之间的关系已有许多研究^[1-2],为了保持作物的自然光合作用,>50%的氮被分配给光合器官^[3]。氮素是果树生长发育最重要的矿质元素之一,能够影响果树生长中的各个环节,尤其是对果树光合生理的影响^[4]。氮素能够影响果树叶片的气孔结构,改变叶片中的氮含量、叶绿素含量以及各种酶的活性^[5]。合理施用氮肥可以提高叶片的光合效率,反之,则不利于叶片进行光合作用^[6]。梁燕^[7]的研究表明,富士幼苗在单株施入 0~9 g 的氮素水平范围内,植株叶片的光合指标随着氮素水平的升高而增加,之后随着氮素水平的提高反而下降。叶绿素荧光特性可以反映叶片光合系统对光能的吸收、传递、耗散和分配^[8]。研究表明,氮素对叶绿素荧光特性有显著影响,施氮处理非光化学淬灭系数(NPQ)显著低于不施氮处理,增施氮素增大叶片 PS II 最大光化学量子产量(F_v/F_m)和叶片 PS II 活性(F_v/F_o),促使植物捕获光能和热耗散增加,光抑制减弱^[9]。适宜的施氮量能显著促进叶片叶绿素的合成,提高光合速率、PS II 光化学最大效率和实际光化学效率^[6]。人们在生产上主要通过合理施用氮肥来增强植物的光

合生产性能。研究表明,改善作物光合生产率是提高产量和品质的生理基础^[10-11]。

激素在影响植物生长发育时不是单一发挥作用,而是通过相互之间的协调平衡或是拮抗竞争来实现。植物可以正常开花结果,各种激素之间的比例必须达到某种协调或平衡才能实现^[12-13]。例如细胞分裂素和生长素的比值对芽的分化和生长有着重要的调节作用,比值较高对花芽分化和生长作用明显^[14]。氮素能够调节植物激素的生物合成,Kiba 等^[15]提出根际、根内氮状况信号以及地上部植株营养状况信号是通过细胞分裂素途径和生长素信号途径传导,二者的相互作用调控植物根系的生长发育与氮素吸收。苹果中研究发现,在整个生长期叶片内的 ABA 含量和淀粉在不施氮肥的情况下含量最高,而淀粉积累量与果树成花显著相关,不同氮水平下 ABA 合成差异也会造成树体光合产物的分配与贮藏形态的差异^[16]。

目前,氮素在植物生长及光合生理方面的研究已经比较广泛,本研究主要在前期工作的基础上,探讨不同生育期施入氮素对葡萄叶片光合生理及内源激素水平的影响,以为葡萄氮素合理施用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

田间试验于 2016—2017 年在武威市黄羊镇莫高葡萄酒原料基地进行,连续 2 a 按照试验设计进行水肥管理,并对叶片光合及荧光参数进行了测定,第 2 年试验进行内源激素水平的测定。试验基地土壤为中性到弱碱性的砾质沙壤土,土层深厚,透气好,年降雨量 191 mm,蒸发量 2 130.8 mm,年平均日照时数为 2 724.8 h,≥10℃ 的有效积温在 2 800℃~3 200℃,年平均温度 6.9℃,气候凉爽,无霜期 160 d,生长期光照充足,昼夜温差大。土壤有机质为 6.2 g·kg⁻¹,pH 值 7.8,速效氮 0.9 g·kg⁻¹,速效磷 22 mg·kg⁻¹,速效钾 123 mg·kg⁻¹。

1.2 试验设计

试验所用材料为 10 a 生酿酒葡萄‘蛇龙珠’,单篱架,树形为多主蔓扇形,株行距为 1 m×3 m。每株葡萄留 5 个主蔓,在新梢生长至 1 m 左右时摘心,及时疏除果穗以下的副梢,顶端 2 个副梢留 4 叶摘心,其它副梢均单叶摘心。采用滴管灌溉,尿素随水施入,葡萄植株两侧开沟分别施入过磷酸钙 750 kg·hm⁻²,硫酸钾 825 kg·hm⁻²,过磷酸钙在出土后第 1 次灌水前施入,硫酸钾在果实转色期施入。滴灌带为酒泉大禹节水有限公司生产,壁厚 0.2 mm,滴孔间距 30 cm,单孔出水量 3 L·h⁻¹,灌水量及时间参照“武威莫高酿造葡萄滴灌配水定额表^[11]”进行,在试验中根据实际情况有所调整。试验共设置 21 个小区,每小区为一个处理,设置 3 个生物学重复,各处理随机分布。小区长 80 m,宽 60 m,面积为 240 m²,每个小区定植 40 株葡萄,取样时不在同一棵葡萄树上重复取样。‘蛇龙珠’葡萄在该地区的主要生育期见表 1。

不同生育期施入等量氮肥,氮素分别在萌芽前(S1,4 月 25 日)、新梢旺长期(S2,5 月 15 日)、开花期(S3,6 月 5 日)、果实第一次膨大期(S4,6 月 25 日)和副梢生长旺期(S5,7 月 20 日)一次性施入 300 kg·hm⁻²尿素。为对照整个生育期均不施氮肥(CK)。分别于 7 月 25 日(花后 50 d,DAF50)、8 月 29 日(花后 85 d,DAF85)和 10 月 3 日(花后 120 d,DAF120)进行各项指标的测定并取样。光合及荧光相关参数于晴天上午 9:00~11:00 进行,测定时每个处理选取新梢从基部向上第 4~5 节位叶 30 片,测定 SPAD 值及光合荧光相关参数,然后摘除叶片,去除叶脉后称取 5 g 在液氮中速冻后置于超低温冰箱保存,每处理设置 3 个生物学重复,取样时在同一植株上不重复取样。

表 1 ‘蛇龙珠’葡萄在武威地区的主要生育期 Table 1 The main phenological period of ‘Cabernet Gernischet’ in Wuwei	
生育期 Growth period	日期 Date(m-d)
萌芽期 Germination stage	04-25
盛花期 Full-bloom stage	06-05
转色期 Colour-changed period	08-17
采收期 Harvesting time	10-06

1.2 测定项目与方法

1.2.1 叶绿素含量及光合荧光参数测定 叶绿素相对含量使用 SPAD502 叶绿素仪进行测定。净光合速率(*P_n*)、胞间 CO₂ 浓度(*C_i*)、气孔导度(*G_s*)和蒸腾速率(*T_r*)使用便携式光合系统(CIRAS-2, PP-system, UK)进行测定。测定时相对湿度保持在 75%,空气 CO₂ 浓度为 380 mol·mol⁻¹,叶片温度保持在 25℃,光量子通量密度调整为 1 000 mol·m⁻²·s⁻¹。叶片荧光参数用便携脉冲调制式荧光仪(FMS-2, Hansatech, UK)测定。

1.2.2 内源激素的提取 将冷冻的叶片在液氮中快速研磨成粉末,用 10 mL 80% 的色谱甲醇(超纯水配制)分 3 次洗入 15 mL 离心管中,放 4℃ 冰箱中浸提 24 h,期间每隔 1 h 震荡混匀 1 次,1 000 r·min⁻¹ 离心 15 min。吸取上清液用旋转蒸发仪在 40℃ 下浓缩除去甲醇,得到约 2 mL 的浓缩液,用 50% 的甲醇冲洗蒸发瓶瓶壁,最后定容至 10 mL,用一次性针管吸取 2 mL 过 0.22 μm 有机膜,装入 1.5 mL 的离心管放入冰盒中避光保存,测定玉米素(ZT)、生长素(IAA)和脱落酸(ABA)含量。赤霉素(GA₃)的浸提液为乙腈,提取步骤与前面一致。

1.2.3 内源激素的测定 液相色谱仪型号为 Agilent 1100 series,检测器为 vwd,色谱柱为 Extend-C18(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相为色谱甲醇和超声后 0.6% 的冰乙酸(0 min,甲醇:乙酸=40:60;11.9 min,甲醇:乙酸=40:60;12 min,甲醇:乙酸=50:50),流速为 1.0 mL·min⁻¹,波长为 254 nm,柱温 25℃。进样量为 10 μL,标样均为美国 Sigma 产品,取各浓度的混标溶液进行液相色谱分析后绘制标准曲线。采用外标法进行样内源激素含量的确定。

1.3 数据分析

用 Microsoft Excel 软件进行数据整理,用 SPSS 19.0 对数据进行统计分析,采用 Duncan 法进行方差分析,Origin 8.5 作图。

2 结果与分析

2.1 施氮时期对葡萄叶片光合作用的影响

与对照相比,不同时期施氮肥均显著增加了叶

片 Tr 水平(表 2),S2 处理叶片 Tr 在 3 个时期均最高。S1 处理除 2017 年在 DAF50 时叶片 Tr 与 S2 无显著差异外,其他生育期 S1 处理 Tr 均显著低于 S2,在 DAF85 时,S3 处理叶片 Tr 与 S2 无显著差异。S4 处理叶片 Tr 均显著高于 CK,在 DAF50 和 DAF120 时,S5 和 CK 叶片 Tr 无显著差异,DAF85 时,S5 显著高于 CK。

从表 3 测定结果来看,S2 处理叶片 G_s 增加最为显著,除 S3 处理在 2016 年 DAF85 时 G_s 与 S2 处理无显著差异外,其余各生育期 G_s 均显著高于其他处理。S1 和 S3 处理各个生育期 G_s 无显著差异。

相比其他处理,S5 处理在各生育期 G_s 较小,在 DAF50 和 DAF85 时 S5 处理与对照无显著差异,DAF120 时显著高于对照。

由表 4 可知,施氮处理降低了叶片 C_i ,2016、2017 年中 CK 和 S1 处理叶片 C_i 均最高。DAF50 和 DAF85 时,2016 年和 2017 年 S1、S2 和 S5 处理间 C_i 无显著差异,同样,2016 年的 DAF120 时,S1、S2 和 S5 处理间 C_i 无显著差异,而 2017 年 S1 处理 G_i 显著高于 S2 和 S5。S3 和 S4 处理在 2 a 中叶片发育的各时期 G_i 均无显著差异。

由表 5 可以看出,叶片 P_n 在 DAF85 达到了最

表 2 施氮时期对不同生育期葡萄叶片蒸腾速率(Tr)的影响/($\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)

Table 2 Effects of nitrogen application timing on the transpiration rate (Tr) of grape leaves at different growth stages

处理 Treatment	DAF50		DAF85		DAF120	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
S1	6.96±0.19bc	7.73±0.08abc	7.53±0.13b	7.81±0.04b	6.81±0.05bc	7.03±0.11b
S2	7.40±0.12a	7.84±0.11a	7.74±0.06a	7.89±0.01a	7.01±0.11a	7.22±0.08a
S3	7.20±0.01b	7.79±0.16ab	7.68±0.04ab	7.85±0.05ab	6.86±0.01b	7.16±0.03ab
S4	6.72±0.03d	7.12±0.01d	7.37±0.03c	7.72±0.01c	6.62±0.04d	7.01±0.01c
S5	6.67±0.05de	6.99±0.19de	7.31±0.05cd	7.41±0.19d	6.58±0.05de	6.64±0.10d
CK	6.66±0.04e	6.97±0.11e	7.02±0.08e	7.03±0.11e	6.51±0.04e	6.57±0.05de

注:DAF50,花后 50 d;DAF85,花后 85 d;DAF120,花后 120 d。同一时期下同一列数字后的不同字母表示在 $P<0.05$ 差异显著,下同。
Note: DAF50, the 50 days after flowering; DAF85, the 85 days after flowering; DAF120, the 120 days after flowering. Different letters in the same column under the same growth stages indicated significant difference in Duncant at $P<0.05$. The same below.

表 3 施氮时期对不同生育期葡萄叶片气孔导度(G_s)的影响/($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)

Table 3 Effects of nitrogen application timing on stomatal conductance (G_s) of grape leaves at different growth stages

处理 Treatment	DAF50		DAF85		DAF120	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
S1	568.50±12.17bc	608.33±24.17bc	644.40±10.60b	638.33±24.17bc	587.63±12.17bc	621.33±14.13bc
S2	657.17±18.72a	677.28±11.4a	672.12±12.38a	687.28±11.4a	634.17±11.51a	643.22±10.13a
S3	553.89±16.19c	583.44±13.1c	667.67±15.32ab	669.16±8.4b	562.74±14.29c	610.42±13.1c
S4	601.75±25.22b	639.16±8.4b	631.75±13.22c	633.16±10.4bc	601.33±15.12b	632.11±4.42b
S5	529.00±14.24cd	545.31±7.17d	619.00±14.14cd	587.31±11.15d	549.16±14.24cd	528.39±7.45d
CK	555.00±22.72c	539.22±18.33de	615.00±8.72cd	560.22±18.33de	513.02±11.12e	509.23±8.63e

表 4 施氮时期对不同生育期葡萄叶片胞间 CO_2 浓度(C_i)的影响/($\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$)

Table 4 Effect of nitrogen application timing on intercellular CO_2 concentration (C_i) of grape leaves at different growth stages

处理 Treatment	DAF50		DAF85		DAF120	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
S1	121.75±2.41ab	141.38±2.01ab	137.97±5.61ab	161.22±2.21ab	104.71±4.01ab	121.52±2.41ab
S2	117.58±2.95abc	137.64±2.13bc	128.58±6.05b	152.64±7.13b	101.52±2.83b	116.61±1.02c
S3	102.44±4.25d	118.63±1.17d	111.74±4.25d	126.63±2.17de	90.04±1.13d	101.01±1.22d
S4	102.17±3.07d	113.66±4.09de	108.13±2.97d	130.16±4.09d	86.27±4.22de	99.84±3.07d
S5	116.17±2.14bc	137.22±0.92bc	124.17±2.44bc	147.22±1.92bc	96.13±2.02bc	117.22±0.92c
CK	122.67±1.48a	144.15±3.02a	143.64±1.18a	163.15±1.02a	109.92±1.14a	123.11±3.12a

表 5 施氮时期对不同生育期葡萄叶片净光合速率(P_n)的影响/($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)

Table 5 Effects of nitrogen application timing on net photosynthetic rate (P_n) of grape leaves at different growth stages

处理 Treatment	DAF50		DAF85		DAF120	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
S1	15.45±0.30ab	17.33±0.20a	17.34±0.04b	18.16±0.10a	13.51±0.24ab	14.37±0.20a
S2	15.63±0.25a	17.32±0.25a	17.63±0.11a	18.22±0.15a	13.64±0.25a	14.32±0.25a
S3	15.60±0.14a	17.16±0.23ab	17.60±0.10a	17.94±0.38ab	13.60±0.04a	14.26±0.13ab
S4	14.76±0.16b	16.97±0.11bc	17.10±0.16c	17.33±0.11c	13.23±0.16b	14.01±0.01b
S5	14.14±0.38c	15.39±0.06d	16.64±0.38cd	16.87±0.41cd	12.97±0.18c	13.72±0.06c
CK	13.46±0.32d	15.04±0.44de	15.49±0.32e	16.01±0.22e	12.14±0.12d	13.04±0.44d

高,并且在 DAF120 时下降。不同时期施氮均增加了各生育期叶片 P_n ,CK 叶片 P_n 最小。S1、S2 和 S3 处理对各生育期叶片 P_n 的增加较为显著,S2 和 S3 处理在 2016 和 2017 年各生育期 P_n 差异均不显著。

2.2 施氮时期对葡萄叶片叶绿素荧光参数的影响

由表 6 可知,不同时期施氮提高了叶片 $\Phi PS II$, S1、S2 和 S3 处理 $\Phi PS II$ 显著高于 S4、S5 处理及 CK,可见,生育前期施氮有利于叶片 $\Phi PS II$ 的增大。S1 和 S2 处理,S4 和 S5 处理的 $\Phi PS II$ 分别在 2016 年和 2017 年的各生育期均无显著差异,S2 处理在 2016 年的 DAF50 和 DAF120 时显著高于 S3 处理,其他时期两个处理间无显著差异。CK 的 $\Phi PS II$ 最低,在 DAF50 时与 S5 处理无显著差异,而在 DAF120 时显著低于 S5 处理。

S1、S2 和 S3 处理叶片 F_v/F_m 在各生育期均无显著差异(表 7),可见,这 3 个时期施氮肥对 F_v/F_m 的影响较小。CK 叶片 F_v/F_m 值显著小于各施氮处理,不施氮肥显著降低 F_v/F_m 。S4 和 S5 处理 F_v/F_m 在 2016 年差异显著,而在 2017 年两个处理间差异不显著。

由表 8 可知,2016 年和 2017 年,S2 处理在各生育期 qP 均最高,S1 和 S3 处理在 DAF50 和 DAF85

时 qP 无显著差异,2016 年 S1 处理 qP 显著高于 S3,而 2017 年二者无显著差异。DAF50 时 S4 和 S5 处理间 qP 无显著差异,且均显著高于 CK,DAF85 和 DAF120 时除 S5 处理在 2016 年 qP 与对照无显著差异外,其他各处理均显著高于 CK。

S1~S5 处理中,随施氮时期的后移 NPQ 增大,S5 和 CK 间 NPQ 无显著差异,在各生育期 NPQ 均较高,S4 除 2017 年的 DAF85 时显著低于 CK 外,其他均与 S5 和对照无显著差异(表 9)。DAF50 时,S3 处理 NPQ 显著高于 S1 和 S2;DAF85 时,2016 年 S2 和 S3 处理 NPQ 无显著差异,而 S3 显著高于 S1,2017 年 S1、S2 和 S3 处理均无显著差异;DAF120 时,连续两年测得 NPQ 在 S1、S2 和 S3 处理之间无显著差异。

2.3 施氮时期对葡萄叶片内源激素含量的影响

不同时期施氮对葡萄叶片 ZT 含量的影响如图 1A,不同时期施氮对不同生育期叶片内源激素水平的影响不同。DAF50 时 S4 处理叶片中 ZT 含量显著高于其他各处理,S3、S4 和 S5 叶片 ZT 含量显著高于对照,分别是对照的 1.27 倍、1.46 倍和 1.10 倍。DAF85 时,S1 叶片中 ZT 含量显著高于对照,是对照的 1.6 倍,S3 和 S4 处理叶片中 ZT 含量无显著差异,均显著高于对照,S5 处理和对照差异不显著。DAF120

表 6 施氮时期对不同生育期葡萄叶片 $\Phi PS II$ 的影响

Table 6 Effects of nitrogen application timing on grape leaf $\Phi PS II$ at different growth stages

处理 Treatment	DAF50		DAF85		DAF120	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
S1	0.684±0.004ab	0.729±0.001a	0.784±0.002ab	0.889±0.005a	0.635±0.004ab	0.694±0.001a
S2	0.689±0.002a	0.726±0.003ab	0.789±0.002a	0.884±0.004ab	0.639±0.001a	0.691±0.003ab
S3	0.676±0.004b	0.721±0.004b	0.786±0.004a	0.862±0.004ab	0.628±0.004b	0.687±0.003b
S4	0.649±0.004c	0.707±0.005c	0.729±0.004c	0.819±0.001c	0.596±0.001c	0.671±0.005c
S5	0.640±0.005cd	0.700±0.004cd	0.722±0.005cd	0.815±0.003cd	0.600±0.003c	0.670±0.002c
CK	0.634±0.001d	0.688±0.004e	0.718±0.001d	0.813±0.005e	0.591±0.001d	0.653±0.001d

表 7 施氮时期对不同生育期葡萄叶片 F_v/F_m 的影响

Table 7 Effects of nitrogen application timing on F_v/F_m in grape leaves at different growth stages

处理 Treatment	DAF50		DAF85		DAF120	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
S1	0.799±0.005ab	0.844±0.002a	0.829±0.005ab	0.854±0.003a	0.742±0.005ab	0.832±0.002a
S2	0.804±0.004a	0.842±0.002ab	0.834±0.003a	0.852±0.003ab	0.747±0.003a	0.832±0.001a
S3	0.796±0.006ab	0.842±0.005ab	0.826±0.006ab	0.848±0.005ab	0.740±0.002ab	0.827±0.005ab
S4	0.794±0.011ab	0.839±0.001b	0.824±0.011ab	0.839±0.001c	0.736±0.004b	0.818±0.001c
S5	0.780±0.011c	0.827±0.013bc	0.783±0.013c	0.829±0.011bc	0.730±0.001c	0.814±0.003cd
CK	0.723±0.005d	0.800±0.007d	0.729±0.012d	0.804±0.002d	0.708±0.002d	0.800±0.007e

表 8 施氮时期对不同生育期葡萄叶片 qP 的影响

Table 8 Effect of nitrogen application timing on qP of grape leaves at different growth stages

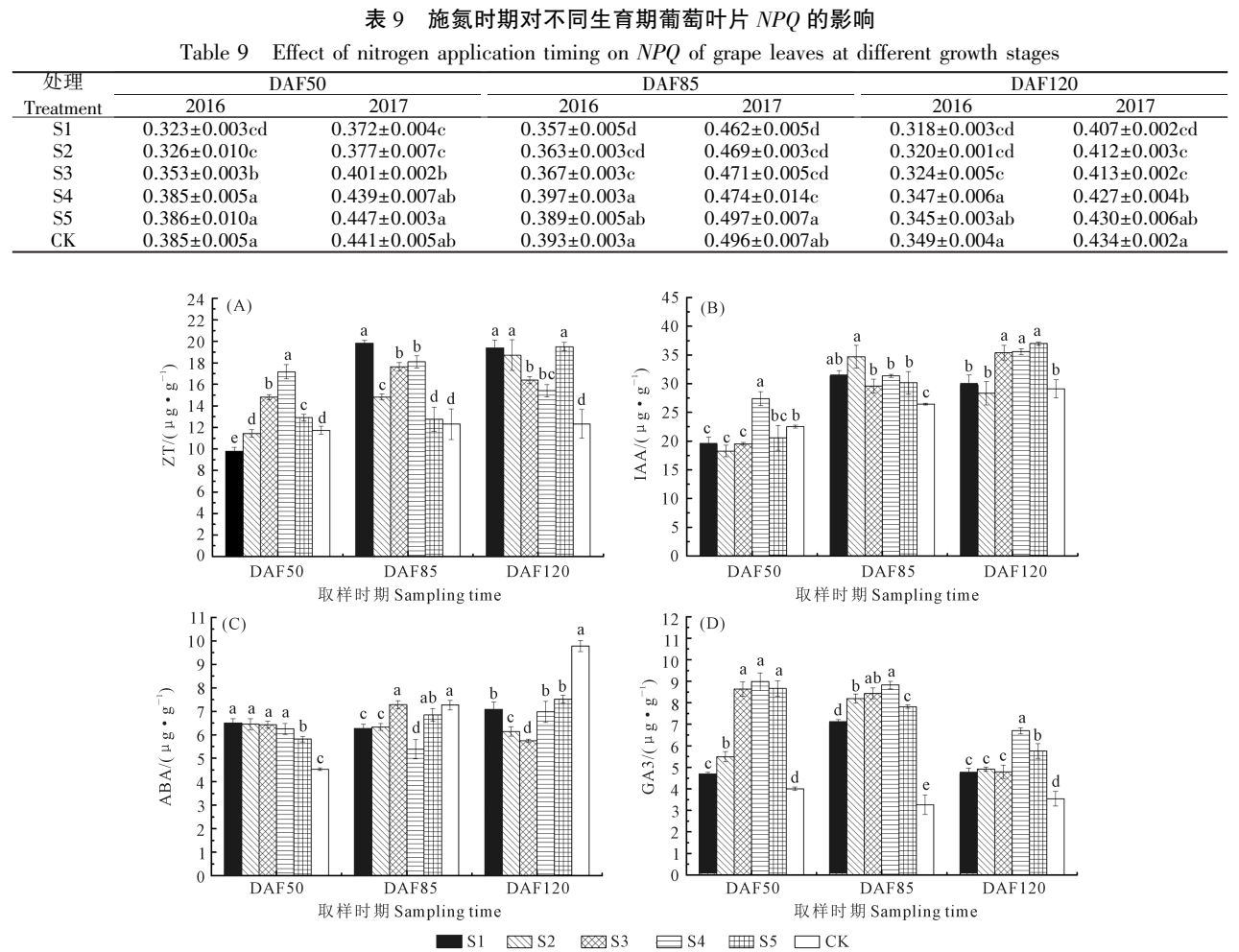
处理 Treatment	DAF50		DAF85		DAF120	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017
S1	0.879±0.003b	0.951±0.001ab	0.883±0.005b	0.957±0.002ab	0.846±0.003a	0.924±0.001ab
S2	0.895±0.001a	0.954±0.004a	0.895±0.001a	0.959±0.003a	0.845±0.001a	0.927±0.002a
S3	0.891±0.004ab	0.947±0.004ab	0.891±0.004ab	0.956±0.004ab	0.831±0.004b	0.922±0.002b
S4	0.884±0.004b	0.941±0.03b	0.881±0.004b	0.944±0.003c	0.825±0.002c	0.921±0.003b
S5	0.886±0.003ab	0.933±0.010bc	0.872±0.003c	0.943±0.002c	0.823±0.003c	0.903±0.011c
CK	0.847±0.003c	0.841±0.001d	0.869±0.003c	0.857±0.004d	0.802±0.003d	0.881±0.003d

时,与对照相比,各施氮处理促进了叶片中 ZT 的积累,S1、S2 和 S5 处理对叶片中 ZT 含量的增加效果最为显著,分别是对照的 1.57 倍、1.52 倍和 1.58 倍,且 3 个处理间无显著差异,S3 和 S4 间无显著差异,但均显著高于对照。

与 DAF50 时相比,在 DAF85 和 DAF120 时叶片 IAA 含量升高(图 1B),DAF50 时,S4 叶片中 IAA 含量最高,为 $27.38\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,显著高于其他处理。S1、S2 和 S3 处理叶片 IAA 含量均显著低于对照,S5 处理和对照无显著差异。DAF85 时,S1、S2、S3、S4 和 S5 处理叶片 IAA 含量均显著高于对照,S2 处理 IAA 含量最高,为 $34.70\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,S1、S3、S4 和 S5 处理叶片中 IAA 含量无显著差异。DAF120 时,S1 和 S2 处理叶片 IAA 含量和对照无显著差异,均显著低于 S3、S4 处理和 S5 处理,S3、S4 处理和 S5 处理显著促进了叶片中 IAA 含量的积累,在该生育期 IAA 含量均显著高于对照,分别为 35.41 、 $35.60\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $36.99\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (图 1B)。

DAF50 时,S1、S2、S3、S4 和 S5 处理叶片 ABA 含量显著高于对照,S1、S2、S3 和 S4 处理间无显著差异,但均显著高于 S5 处理。DAF85 时,S1、S2 和 S4 处理叶片中 ABA 含量分别为 6.25 、 $6.33\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $5.39\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,显著低于对照及其他施氮处理,S3 和 S5 处理叶片中 ABA 含量与对照无显著差异。DAF120 时,对照叶片中 ABA 含量显著高于各施氮处理,S1、S4 和 S5 处理叶片 ABA 含量无显著差异,S3 处理叶片 ABA 含量为 $5.74\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,显著低于对照和各施氮处理(图 1C)。

由图 1D 可知,葡萄叶片中 GA_3 含量随叶片发育逐渐减少,DAF50 时,施氮处理叶片 GA_3 含量显著高于 CK,S3、S4 和 S5 处理叶片 GA_3 含量无显著差异,分别是对照的 2.16 倍、2.25 倍和 2.17 倍。DAF85 时,各施氮处理均显著增加了叶片中 GA_3 的含量,S1、S2、S3、S4 和 S5 处理叶片中 GA_3 含量分别为 7.05 、 8.2 、 8.44 、 $8.82\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $7.82\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,其中 S4 处理叶片中 GA_3 含量最高,是对照的 2.71 倍。DAF120



注:不同小写字母表示处理之间差异显著($P<0.05$)。
Note: The different lowercase letters indicate the significant difference ($P<0.05$).
图 1 施氮时期对葡萄叶片内源激素水平的影响
Fig.1 Effects of nitrogen application timing on endogenous hormone levels in grape leaves

时,叶片中 GA_3 含量下降,施氮处理叶片中 GA_3 含量显著高于对照,其中, S1、S2 和 S3 处理在该生育期 GA_3 含量无显著差异, S4 处理叶片中 GA_3 含量最高,是该时期对照的 1.63 倍。

3 讨 论

植物主要通过光合作用积累干物质,光合作用可直接影响植物的生长、产量和品质形成。影响光合作用的因子很多,比如光照、水分、 CO_2 浓度、温度和矿质元素等^[17-19]。在农业生产中,影响植株生长和干物质积累的因素还有土壤水分和氮素,不同的土壤水分含量和氮素水平影响植物的光合能力,从而直接影响植株的生产能力^[20]。研究发现在一定范围内随着施氮量的增加叶片净光合速率显著提高^[17]。另外,研究发现适当推迟施氮时期有利于提高叶片净光合速率,延缓叶片衰老,延长光合时间^[21]。本研究发现,不同时期施氮均能增加叶片净光合速率,在花前施氮肥效果最为显著,能够显著延长光合时间。同时,在副梢生长旺期前施氮肥叶片 G_s 和 T_r 也显著高于对照, C_i 与之相反。研究表明,氮素有利于叶片 G_s 的增加,主要是由于氮素通过调控植物对钾元素的吸收增加所致,空气动力学研究结果认为钾素能够调节气孔的开张^[8]。茶树中的研究表明,施氮通过增加叶片的 P_n 、 G_s 和 T_r ,降低 C_i 以促进茶树的生长^[6],本研究的结果与之相同。从本研究中新梢旺长期和开花期施氮肥 P_n 、 G_s 和 T_r 相对高于其他各生育期施氮,因此,认为这两个生育期施氮能够改善葡萄叶片光合性能,增加光合同化能力。

与表观的光合指标相比,叶绿素荧光特性能够反映植物叶片光系统对光能的吸收、传递、耗散和分配,通过叶片的荧光特性可以分析植物生长状况及生理状态^[22]。研究表明,施氮量的提高会增加叶片的 qP ,而显著降低 NPQ ^[23]。 F_v/F_m 代表了 $PS II$ 的最大光化学效率,能反映植物对光能的利用效率,本研究中,施氮增加了叶片的 $\Phi PS II$ 、 F_v/F_m 和 qP ,而 NPQ 相反,可见氮素改变了叶片荧光参数,从而促进叶片的光合作用。果实第一次膨大期之前施入氮肥对叶片 $\Phi PS II$ 和 qP 的增加最显著,副梢生长期施氮肥和对照的 NPQ 在各生育期最高。萌芽期、新梢旺长期和开花期施氮肥对葡萄各生育期 $\Phi PS II$ 、 F_v/F_m 和 qP 的增加显著,从而增加叶片的光合同化能力。

施氮时期可通过影响植物体内的内源激素水平变化而对植物的生长发育起作用。研究表明,氮

素可以调节植物根系形态生理及构型,进而影响植物地上部分的生长发育和养分吸收及利用^[24]。研究表明,施氮量增加会增加植株体内促进型激素含量,但 ZT/GA 和 ABA/GA 比值逐渐减低,氮肥利用率显著降低^[25]。氮肥和钾肥供应充足时有利于植物根系和地上部分的生长,细胞分裂素合成增加, ABA 分解加快,延缓植物衰老,当植物缺素或者养分不足时则相反^[26]。本研究发现氮素施用时期不同,葡萄不同生育期叶片的内源激素水平不同,和不施氮肥相比, DAF85 后施氮肥均显著提高了叶片 ZT 含量。花后施入氮素叶片 IAA 含量在果实采收时保持较高的水平,在果实第一次膨大期和新梢旺长期施氮肥 GA_3 含量最高。可见,施入氮素会促使促进生长型激素含量的增加,施氮时期延后,对采收后叶片功能保持具有积极作用。施入氮素降低了采收时葡萄叶片的 ABA 含量,新梢旺长期和花期施氮对 ABA 含量减少最为显著。因此,施氮也减少了葡萄生育后期抑制生长型激素含量,从而延长叶片光合同化时间。本研究中发现,在 DAF50 时,施氮处理叶片中 ABA 含量显著高于对照叶片 ABA 含量,而在果实采收时对照处理与施氮处理相比,叶片 ABA 含量显著升高。有研究表明, ABA 能够促进植株保卫细胞的气孔关闭以维持植株内的水分^[27],在 DAF50 时,河西走廊地区气温达到全年最高的时段,氮素促进叶片 ABA 含量增加可能与叶片水分保持有关。

4 结 论

本试验主要研究不同生育期施入氮素对酿酒葡萄叶片光合及荧光特性、内源激素水平的影响,与 CK 相比,新梢旺长期和开花期施氮叶片 T_r 、 G_s 和 P_n 分别提高 4.3%、2.1% 和 9.3% 以上, C_i 显著降低;萌芽期、新梢旺长期和开花期施氮肥叶片 $\Phi PS II$ 、 F_v/F_m 和 qP 与 CK 相比增加量在 1.5%~11.7% 之间, NPQ 降低;同时,不同生育期施氮肥有利于促进生长型激素的积累,而降低采收期叶片 ABA 的增加。

参 考 文 献:

- [1] Singh M, Singh V P, Prasad S M. Responses of photosynthesis, nitrogen and proline metabolism to salinity stress in *Solanum lycopersicum* under different levels of nitrogen supplementation [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 109:72-83.
- [2] 王久龙,王振华,李文昊,等.施氮量对复播青贮玉米光合特性和产量的影响[J].干旱地区农业研究, 2017, 35(5):250-255.
- [3] Saibo N J M, Lourenco T, Oliveira M M. Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses [J]. *Annals of Botany*, 2009, 103:609-623.

[4] Raese J T, Drake S R, Curry E A. Nitrogen fertilizer influences fruit quality, soil nutrients and cover crops, leaf color and nitrogen content, biennial bearing and cold hardiness of ‘Golden Delicious’ [J]. Journal of Plant Nutrition, 2007, 30(10):1585-1604.

[5] Greer D H. Photosynthetic light responses of apple (*Malus domestica*) leaves in relation to leaf temperature, CO₂ and leaf nitrogen on trees grown in orchard conditions [J]. Functional Plant Biology, 2018, 45(11):1149-1161.

[6] 向芬, 李维, 刘红艳, 等. 氮素水平对不同品种茶树光合及叶绿素荧光特性的影响[J]. 西北植物学报, 2018, 38(6):1138-1145.

[7] 梁燕. 不同氮素水平对苹果幼苗生长发育的影响[D]. 咸阳:西北农林科技大学, 2015.

[8] 李曼, 王丽红, 周青. 双酚 A 对番茄和生菜幼苗叶绿素荧光参数的影响[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(6):1089-1094.

[9] 王佳佳, 张明如, 许焱, 等. 光强和氮素对苜蓿光响应及叶绿素荧光参数的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2019, 36(6):1199-1207.

[10] Rubio Ames Z, Brecht J K, Olmstead M A. Nitrogen fertilization rates in a subtropical peach orchard: effects on tree vigor and fruit quality [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(2):527-539.

[11] 马宗恒, 陈伯鸿, 胡紫璟, 等. 施氮时期对干旱荒漠区‘蛇龙珠’葡萄叶片糖代谢及果实品质的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2018, 36(6):145-152,167.

[12] 束怀瑞. 果树栽培生理学[M]. 北京:中国农业出版社, 1993, 118-137.

[13] Armao M B, Hernández-Ruiz J. Melatonin and its relationship to plant hormones [J]. Annals of Botany, 2018, 121(2):195-207.

[14] Zhang S W, Zhang D, Fan S, et al. Effect of exogenous GA3 and its inhibitor paclobutrazol on floral formation, endogenous hormones, and flowering-associated genes in ‘Fuji’ apple (*Malus domestica* Borkh.) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 107:178-186.

[15] 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.

[16] 李晶. 供氮水平等对中间砧苹果碳氮营养利用、分配特性影响的研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2013.

[17] Wolleweber B, Porter J R, Schellberg J. Lack of interaction between extreme high-temperature events at vegetative and reproductive stages in wheat [J]. Journal of Agronomy and Crop Science. 2003, 189(3):142-150.

[18] 李天来, 颜阿丹, 罗新兰, 等. 日光温室番茄单叶净光合速率模型的温度修正[J]. 农业工程学报, 2010, 26(9):274-279.

[19] 徐俊增, 彭世彰, 魏征, 等. 不同供氮水平及水分调控条件下水稻光合作用光响应特征[J]. 农业工程学报, 2012, 28(2):72-76.

[20] 艾雪莹, 吴奇, 周宇飞, 等. 干旱-复水条件下氮素对高粱光合特性及抗氧化代谢的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2019, 37(5):99-105,113.

[21] 马冬云, 郭天财, 王晨阳, 等. 不同发育时期追施氮肥对冬小麦旗叶中光合酶活性的影响[J]. 植物生理学报, 2016, 42(6):1091-1095.

[22] Mitra S, Irshad M, Debnath B, et al. Effect of vineyard soil variability on chlorophyll fluorescence, yield and quality of table grape as influenced by soil moisture, grown under double cropping system in protected condition [J]. Peer Journal, 2018, 6:e5592.

[23] 苏兰茜, 白亭玉, 鱼欢, 等. 氮素营养对菠萝蜜幼苗生长及光合荧光特性的影响[J]. 中国南方果树, 2019, 48(3):67-72.

[24] 徐国伟, 陆大克, 刘聪杰, 等. 干湿交替灌溉和施氮量对水稻内源激素及氮素利用的影响[J]. 农业工程学报, 2018, 34(7):137-146.

[25] 李洪娜, 许海港, 任怡华, 等. 不同施氮水平对矮化富士苹果幼树生长、氮素利用及内源激素含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(5):1304-1311.

[26] 郭志刚, 李文芳, 毛娟, 等. 钾肥施用对元帅苹果果实内源激素含量及酸代谢的影响[J]. 农业工程学报, 2019, 35(10):281-290.

[27] 许喆, 任健, 田英, 等. 外源 ABA 对干旱胁迫下多年生黑麦草光合特性的影响[J]. 草地学报, 2019, 27(5):1243-1249.

(上接第 7 页)

[26] 刘涛, 梁永超, 褚贵新, 等. 三种硝化抑制剂在石灰性土壤中的应用效果比较[J]. 土壤, 2011, 43(5):758-762.

[27] Azam F, Benckiser G, Müller C, et al. Release, movement and recovery of 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP), ammonium, and nitrate from stabilized nitrogen fertilizer granules in a silty clay soil under laboratory conditions [J]. Biology and Fertility of Soils, 2001, 34:118-125.

[28] 黄益宗, 冯宗炜, 张福珠. 硝化抑制剂硝基吡啶在农业和环境保护中的应用[J]. 土壤与环境, 2001, 10(4):323-326.

[29] Habibullah H, Nelson K A, Motavalli P P. Assessing management of Nitrapyrin with urea ammonium nitrate fertilizer on corn yield and soil nitrogen in a poorly-drained claypan soil [J]. Journal of Agricultural Science, 2017, 9(11):17-29.

[30] 赖晶晶, 兰婷, 王启, 等. 硝化抑制剂对紫色土硝化作用及 N₂O 排放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(6):1420-1428.

[31] Takei K, Sakakibara H, Sugiyama T. Identification of genes encoding adenylate isopentenyl transferase, a cytokinin biosynthesis enzyme, in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(28):26405-26410.

[32] Takei K, Sakakibara H, Taniguchi M, et al. Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulator [J]. Plant Cell Physiology, 2001, 42(1):85-93.

[33] 韩科峰, 陈余平, 胡铁军, 等. 硝化抑制剂(2-氯-6-三氯甲基吡啶)对花椰菜产量和品质的影响[J]. 浙江农业科学, 2017, 58(6):924-926.

[34] 杨秀霞, 商庆银, 陈柳燕, 等. 新型氮肥增效剂在水稻上的节肥增产效果研究[J]. 江西农业大学学报, 2016, 38(4):616-622.

[35] Yang M, Fang Y T, Sun D, et al. Efficiency of two nitrification inhibitors (dicyandiamide and 3, 4-dimethylpyrazole phosphate) on soil nitrogen transformations and plant productivity: a meta-analysis [J]. Scientific Reports, 2016, 6:22075.

[36] Ju X T, Gu B J, Wu Y Y, et al. Reducing China’s fertilizer use by increasing farm size [J]. Global Environmental Change, 2016, 41:26-32.

[37] 黄东风, 李卫华, 邱孝煊. 硝化抑制剂对小白菜产量、硝酸盐含量及营养累积的影响[J]. 江苏农业学报, 2009, 25(4):871-875.

[38] 郑海霞, 齐莎, Kolbl Angelika, 等. 氮肥与羊粪对内蒙古典型草原土壤多糖含量及组成的影响[J]. 土壤通报, 2018, 39(6):1298-1301.