

氮素形态和水平对茶树生理特性的影响

胡国策, 蒋家月*, 田坤红, 潘 铖, 江昌俊, 李叶云

(安徽农业大学茶树生物学与资源利用国家重点实验室, 合肥 230036)

摘 要: 以一年生舒茶早 (*C. sinensis* cv. 'Shuchazao') 扦插苗为材料研究不同氮素形态和氮素水平对茶树叶片光合作用、叶片含氮量和氮素利用相关基因的影响。结果表明, 在氮素形态上, 铵硝比例 3:1 和 2:2 处理茶树叶片光合作用能力显著高于其他处理组; 铵硝比例 3:1 组叶片含氮量显著高于其他组; 铵硝比例 2:2 的谷氨酰胺合成酶基因 (*GS*) 的表达量最高, 全铵处理组表达量最低, 只有铵硝比例 2:2 处理组的 66.67%。铵硝比例 2:2 的谷氨酸合成酶基因 (*GOGAT*) 的表达量最高, 铵硝比例 1:3 表达量最低, 只有铵硝比例 2:2 组的 20%。在氮素水平上, 正常氮素营养液培养下, 茶树叶片的光合作用和叶片含氮量显著高于不含氮和 4 倍氮处理组; 茶树叶片的 *GS* 和 *GOGAT* 基因的表达量也最高, 分别是 4 倍氮素处理组的 1.3 倍和 2.1 倍, 是不含氮素处理组的 5.2 倍和 5.0 倍。综合来看, 茶园施肥需要铵硝配比施肥并适当提高铵态氮含量, 同时不宜过度施肥, 不仅造成肥料浪费还可能不利于茶树生长。

关键词: 氮素形态; 氮素水平; 光合作用; *GS*; *GOGAT*

中图分类号: S571.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2018)04-0588-06

Effects of nitrogen forms and nitrogen levels on the physiological characteristics of tea plants

HU Guoce, JIANG Jiayue, TIAN Kunhong, PAN Cheng, JIANG Changjun, LI Yeyun
(State Key Laboratory of Tea Plant Biology and Utilization, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: The effects of different nitrogen forms and nitrogen levels on the photosynthesis, leaf nitrogen contents and genes related to nitrogen usage were studied using annual cuttage seedlings of *C. sinensis* cv. 'Shuchazao' under hydroponic culture as experimental materials. Our results showed that among the varied nitrogen forms, when the ratio of $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ in the nutrient solution was 3:1 or 2:2, the photosynthesis of leaves gained an outstanding higher level than other treatments; the highest leaf nitrogen content was certified with a $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ ratio of 3:1; the glutamine synthetase (*GS*) gene obtained the highest expression with a $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ ratio of 2:2, while it reached the lowest level under the treatment of only ammonium, achieving only 66.67% of that with a $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ ratio of 2:2; and under a $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ ratio of 2:2, glutamate synthase (*GOGAT*) gene reached the highest expression level, while it got the lowest expression with a $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ ratio of 1:3, merely reaching 20% of that with the ratio of 2:2. Among the treatments of different nitrogen levels, in normal nitrogen nutrient solution, the photosynthesis and nitrogen contents in tea leaves were significantly higher than those of nitrogen-free treatment or the treatment with four times of normal nitrogen level, while the expression levels of *GS* and *GOGAT* were both the highest, reaching 1.3 times and 2.1 times as high as those under the treatment with four times of the normal nitrogen level, respectively, and achieving 5.2 and 5.0 times as high as those under nitrogen-free treatment, severally. In conclusion, from a comprehensive perspective, fertilizers should be applied with a proper ratio of $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ in tea gardens. In general, ammonium nitrogen ought to be applied in an appropriately high level; however, excessive application of fertilization would lead to a waste of fertilizers, which should be avoided as it is unfavorable to the growth of tea plants.

Key words: nitrogen forms; nitrogen levels; photosynthesis; *GS*; *GOGAT*

收稿日期: 2018-01-08

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0200902) 和安徽省高校自然科学基金项目 (KJ2018A0133) 共同资助。

作者简介: 胡国策, 硕士研究生。E-mail: 836611426@qq.com

* 通信作者: 蒋家月, 副教授。E-mail: jiangjy@ahau.edu.cn

氮素是植物生长发育需求量最大的营养元素之一^[1-2], 既是构成植物有机体的结构物^[3], 也是植物生理代谢过程中起催化作用的物质^[4]。氮素形态和水平影响作物生长主要表现在影响作物产量^[5-7]、光合作用和呼吸作用^[8-11]、对其他矿质元素的吸收等^[12-13]生理生化代谢。合理施用氮肥^[14-15]、配比不同形态氮素能够有效增加作物产量^[16-18]。

有研究指出, 在适当供氮范围内, 大白菜的产量随供氮量增加而提高, 超出这个范围, 大白菜产量不再随供氮量的提高而增加^[19]。刘建平^[20]认为, 在正常施肥量的基础上增加对萝卜的肥料供应量, 并不会增加萝卜肉质根产量, 相反, 还会导致萝卜产量降低。对氮素形态近年来的研究表明, 氮素处理中适中的硝铵比可以提高韭菜的产量^[21], 番茄鲜果的重量^[22], 硝铵比 5:5 可以明显促进烤烟的生长^[23], 施用 50%~75%的 NO_3^- -N 有利白肋烟的产量及质量的提高^[24]。

游小妹等^[25]研究发现在一定范围内随着供氮量增加, 乌龙茶的生物量和品质均随着施氮量的增加而呈上升的趋势, 超过这个范围, 茶叶生物量和品质呈负相关关系。程博一^[26]研究发现在茶园过量施用氮肥后不仅降低产量还会对环境造成污染。Du 等^[27]研究发现, 在铵硝配比条件下茶树光合作用、GS 和 GOGAT 酶活最高; Ruan 等^[28]和万青等^[29]研究发现增施铵态氮能促进根系释放质子从而降低土壤 pH; 林郑和等^[30]在茶树中克隆出 GS、GOGAT 和 GDH 基因家族中的部分全长; Rana 等^[31]研究了在茶树暗处理下 GS2 基因的表达量明显下降。而不同氮素形态对茶树生长影响的分子机理研究较少。

本研究以一年生舒茶早扦插苗为材料, 探究在不同氮素形态和氮素水平下茶树叶片光合作用、氮素积累和氮素利用相关基因的表达情况, 为探究不同氮素形态和氮素水平对茶树生长影响的分子机理提供一定借鉴, 为茶园合理施肥提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验在安徽农业大学玻璃温室内完成。以一年生、长势一致无病虫害的舒茶早 (*C. sinensis* cv. 'Shuchazao') 扦插苗为试验材料, 用清水把茶苗洗净, 放在清水中培养 5 d, 再放入 1/4 营养液 (配方来源小西茂毅)^[32]中培养 5 d, 接着放入 1/2 营养液中培养 5 d, 再把茶苗放入完整小西茂毅营养液中培养 5 d。

本试验以小西茂毅营养液为 CK, 氮素浓度为 $1.427 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 铵态氮和硝态氮比例为 3:1。在总氮素浓度 ($1.427 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 保持不变的基础上设置 5 个不同氮素形态处理: T1 (铵态氮和硝态氮比例为 4:0)、CK (铵态氮和硝态氮比例为 3:1)、T2 (铵态氮和硝态氮比例为 2:2)、T3 (铵态氮和硝态氮比例为 1:3)、T4 (铵态氮和硝态氮比例为 0:4); 以铵硝比例 3:1 为基础, 设置 3 个不同氮素水平处理: N1 (不含氮素)、CK、N2 (4 倍氮素浓度), 其他元素保持不变。每隔 3 d 换 1 次营养液, 24 h 不间断通气, 共培养 30 d。试验结束后, 测定叶片和茎的含氮量、叶片光合作用, 取第二叶液氮冻存, -80°C 冰箱中保存。

表 1 荧光定量引物设计(内参为 *Actin*)

Table 1 Primer sequences for the Real-time quantitative PCR

引物名称 Primer name	引物序列 Primers sequences (5'-3')	目标片段长度/bp The target fragment length
GS-F	ATGGATTGGTGGTTCTGGC	181
GS-R	CCTCCTGAATGGGTCCCTTA	
GOGAT-F	GCCAACAAGCAAGGGATT	177
GOGAT-R	ATCCAAGCACCTCAAGACC	
<i>Actin</i> -F	GCCATCTTTGATTGGAATGG	内参
<i>Actin</i> -R	GGTGCCACAACCTTGATCTT	

1.2 测定方法

1.2.1 茶树叶片光合作用和全氮含量的测定 使用 LI-6400 便携式光合仪在晴朗无风的上午 8:30—11:00, 在自然光照下, 统一测量各处理茶树第 3 叶的净光合速率 (P_n)、气孔导度 ($Cond$)、蒸腾速率

(T_r), 每个处理取 5 个重复, 每个重复测量 5 次。植物叶片和茎全氮含量参考《茶叶生物化学实验教材》中的方法^[34]。

1.2.2 荧光定量 PCR 扩增分析 从 NCBI 上获得目标基因 GS 和 GOGAT 序列, 登录号分别是 EF055882

和 JN602371, 应用 Primer Premier 5.0 软件设计引物, 在上海生工生物进行合成。拿到引物后, 首先进行普通 PCR 验证, 再根据 Real-time PCR 仪器上检测引物 PCR 产物的样品溶解曲线进一步验证 PCR 扩增的特异性。使用 Tiangen Biotech 公司的 RNA 提取试剂盒并且按试剂盒说明书提取样品 RNA。使用核酸测定仪测定样品 RNA 的浓度, 再根据 OD_{260}/OD_{280} 和 OD_{260}/OD_{230} 值, 确定样品纯度; 同时进行琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像系统进行成像, 检测 RNA 完整性。确定 RNA 合格后, 使用 TaKaRa 公司的反转录试剂盒把 RNA 模板反转录成 cDNA 模板, 产物稀释到适合 Real-time PCR 的浓度, 进行荧光定量 PCR。以 Action 作为内参基因^[33], 所用荧光引物见表 1。反应体系为: SYBR®Premix Ex Taq™II (Tli RNaseH Plus) 12.5 μ L, 引物 F、R 各 1 μ L, cDNA 模板 2 μ L, ddH₂O 补充至 20 μ L; 反应程序为: 95°C 热启动 30 s; 94°C 5 s, 60°C 30 s, 循环数 39 个。基因相对表达量分析按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak) 法^[35]。

1.3 数据处理

显著性分析使用 DPS 软件的邓肯氏新复极差法 ($P < 0.05$), 图表绘制使用 office 和 GraphPad

Prism5。

2 结果与分析

2.1 氮素形态和氮素水平对茶树光合作用的影响

由表 2 可知, 随着铵态氮含量减少, 茶树叶片光合作用呈先上升后下降的趋势。铵硝比例 2:2 处理茶树叶片的净光合速率 (P_n) 最高与铵硝比例 3:1 组没有显著性差异, 分别是铵硝比例 1:3 组、全铵和全硝组处理的 1.2 倍、2.0 倍和 2.4 倍, 达到显著性差异。全铵处理气孔导度 (Cond) 与铵硝比例 3:1 和 2:2 组处理没有显著差异, 显著高于铵硝比例 1:3 组处理组和全硝处理组, 全硝处理组最低为 $0.017 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。铵硝比例 3:1 处理蒸腾速率 (T_r) 与全铵和铵硝比例 2:2 处理组没有显著差异, 显著高于铵硝比例 1:3 组和全硝处理组 (表 2)。

由表 3 可知, 缺乏氮素和过高的氮素都会降低茶树叶片的光合作用, 在正常氮素水平培养下茶树叶片的净光合速率 (P_n)、气孔导度 (Cond) 和蒸腾速率 (T_r) 最高, 分别为 4 倍氮素营养的 1.8 倍、2.0 倍和 2.1 倍, 达显著性差异; 是不含氮素营养的 1.5 倍、1.9 倍和 1.9 倍, 达到显著性差异 (表 3)。

表 2 不同氮素形态比例对茶树叶片净光合速率、气孔导度和蒸腾速率的影响
Table 2 Effects of different ratios nitrogen forms on P_n , Cond and T_r

处理 Treatment	净光合速率/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ P_n	气孔导度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ Cond	蒸腾速率/ $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ T_r
T1	2.66 ± 0.06^c	$0.028 \pm 0.003 6^a$	0.67 ± 0.09^a
CK	5.44 ± 0.49^a	$0.028 \pm 0.003 7^a$	0.68 ± 0.09^a
T2	5.49 ± 0.39^a	$0.027 \pm 0.002 3^a$	0.66 ± 0.05^a
T3	4.69 ± 0.49^b	$0.022 \pm 0.006 3^b$	0.53 ± 0.14^b
T4	2.27 ± 0.31^d	$0.017 \pm 0.004 1^c$	0.48 ± 0.09^b

注: 表中同一列的不同小写字母为 $P < 0.05$ 的显著水平。下同。

Note: Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ level. The same below.

表 3 不同氮素水平对茶树叶片净光合速率、气孔导度和蒸腾速率的影响
Table 3 Effects of different nitrogen levels on P_n , Cond and T_r

处理 Treatment	净光合速率/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ P_n	气孔导度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ Cond	蒸腾速率/ $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ T_r
N1	1.73 ± 0.06^b	0.007 ± 0.001^b	0.22 ± 0.04^b
CK	2.62 ± 0.10^a	0.014 ± 0.002^a	0.43 ± 0.06^a
N2	1.44 ± 0.33^c	0.007 ± 0.002^b	0.20 ± 0.05^b

2.2 氮素形态和水平对茶树叶片和茎含氮量影响

由表 4 可知, 铵硝比例 3:1 时茶树叶片含氮量最高为 3.42%, 显著高于铵硝比例 2:2、1:3、全铵和全铵处理组。铵硝比例 4:0 时茎含氮量最高为 1.37%, 显著高于其他 4 组处理, 其次铵硝比例 3:1

的含氮量较高显著高于全硝以及铵硝比例 2:2 和 1:3 处理组 (表 4)。由表 5 可以看出在正常氮素营养下叶和茎的含氮量最高, 显著高于 4 倍氮素和不含氮素处理组, 分别是 4 倍氮素的 1.3 倍和 1.2 倍, 是不含氮素组的 1.4 倍和 1.2 倍。

2.3 氮素形态和氮素水平对茶树叶片 *GS*、*GOGAT* 相对表达量的影响

由图 1 可知在铵硝比例 2:2 营养液培养下茶树叶片 *GS* 基因的表达式最高, 是铵硝比例 3:1 处理组的 1.1 倍, 是铵硝比例 1:3 和全硝处理组的 1.2 倍, 是全铵处理组的 1.5 倍 (图 1A)。铵硝比例 2:2 营养液培养下茶树叶片的 *GOGAT* 基因的表达式最高,

是铵硝比例 3:1 表达量的 1.9 倍, 是全硝处理组的 3.6 倍, 是全铵处理组的 4.9 倍 (图 1B), 是铵硝比例 1:3 处理组的 5.1 倍。正常氮素营养液培养下, 茶树叶片的 *GS* 和 *GOGAT* 基因的表达式最高, 分别是 4 倍氮素处理组的 1.3 倍和 2.1 倍, 是不含氮素处理组的 5.2 倍和 5.0 倍 (图 1C、1D)。

表 4 不同氮素形态处理后茶树叶片和茎的含氮量

Table 4 Nitrogen contents in leaves and stems of tea plants under different nitrogen form treatments

处理 Treatment	叶片含氮量/% Nitrogen content in leaf	茎含氮量/% Nitrogen content in stem
T1	3.42 ± 0.02^b	1.37 ± 0.02^a
CK	4.42 ± 0.16^a	1.25 ± 0.05^b
T2	3.28 ± 0.22^b	1.10 ± 0.02^c
T3	3.36 ± 0.20^b	1.10 ± 0.01^c
T4	3.58 ± 0.10^b	1.05 ± 0.07^c

表 5 不同氮素水平处理后茶树叶片和茎的含氮量

Table 5 Nitrogen contents in leaves and stems of tea plants under different nitrogen level treatments

处理 Treatment	叶片含氮量/% Nitrogen content in leaf	茎含氮量/% Nitrogen content in stem
N1	3.20 ± 0.03^b	1.05 ± 0.10^b
CK	4.42 ± 0.09^a	1.25 ± 0.05^a
N2	3.20 ± 0.08^b	1.04 ± 0.08^b

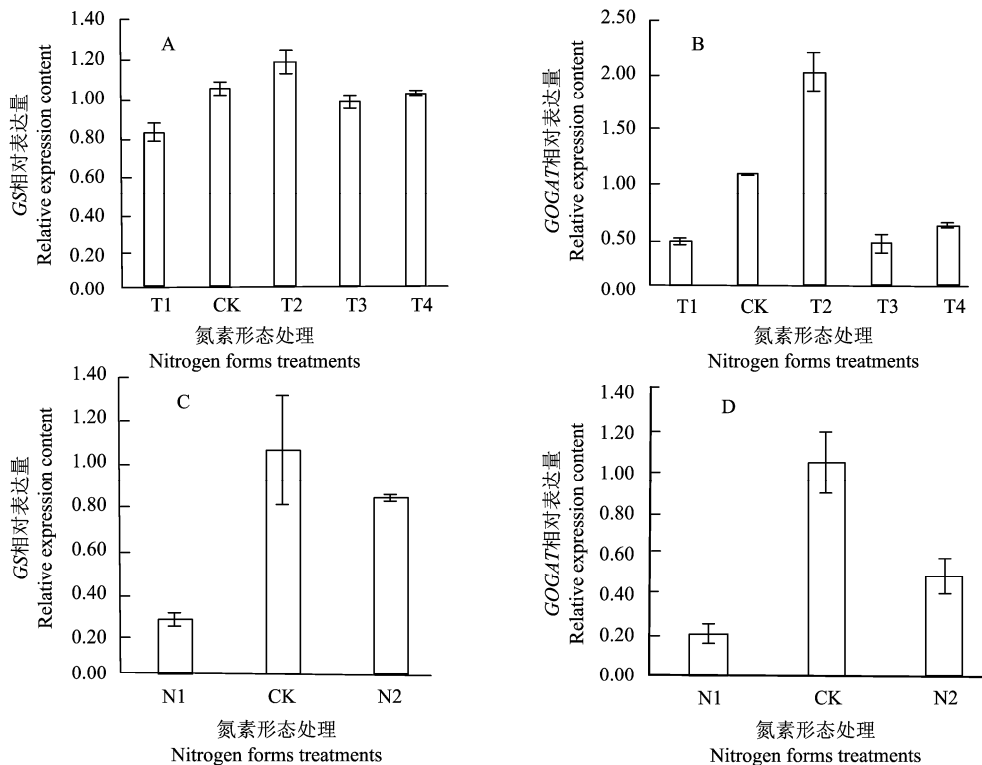


图 1 不同氮素形态和氮素水平处理后茶树叶片 *GS*、*GOGAT* 基因的相对表达量

Figure 1 *GS* and *GOGAT* gene relative expression levels under the treatments with different nitrogen forms and nitrogen

3 讨论与结论

光合作用是植物的重要代谢过程, 并且和植物

的氮和水代谢密切相关^[36], 在铵硝配比施肥条件下, 植物叶片含氮量明显增加^[37]。有研究发现叶片含氮量越高, 植物的光合作用越强^[38]。李辉^[39]研究

发现,在铵硝配比条件下,杨树叶片含氮量最高,气体交换最高。还有研究表明铵硝配比施肥能提高植物碳和水代谢活力,从而提高叶片净光合速率(P_n)、气孔导度($Cond$)、蒸腾速率(T_r)^[40]。如刘秀敏^[41]研究表明,在铵硝配比施肥条件下,茶树的光合作用比全施铵态氮或者硝态氮要高。而本研究发现,铵硝比例3:1时,茶树叶片含氮量最高,茶树气体交换也较高。正常氮素水平培养下茶树叶片含氮量最高,茶树的气体交换能力最强,过度施用氮肥反而降低了茶树气体交换能力。

GS 和 *GOGAT* 是氮素利用途径中两个重要基因,这2个基因调控着 *GS* 和 *GOGAT* 循环,影响植物对氮素的利用。有研究表明,在盐胁迫下植物叶片 *GS* 和 *GOGAT* 基因明显下调,植物叶片含氮量下降^[42]。Rana 等^[31]研究表明,暗处理下,茶树 *GS2* 基因表达下调。本试验研究结果表明,在铵硝比例2:2时茶树叶片 *GS* 和 *GOGAT* 基因表达量最高,铵硝比例3:1时 *GS* 和 *GOGAT* 表达量较高。可能是铵态氮含量高时需要通过 *GDH* 途径提高茶树对氮素的利用。在正常氮素水平培养下,茶树叶片 *GS* 和 *GOGAT* 基因表达量最高,过度施用氮肥降低了茶树叶片 *GS* 和 *GOGAT* 基因的表达,降低了叶片含氮量和光合作用。

综合本试验结果来看,在茶园施肥时应注意铵硝配比,并适当提高铵态氮肥的含量,有利于提高茶树氮素利用相关基因的表达,提高茶树对氮素的利用,从而提高茶树叶片含氮量,进而提高茶树光合作用的能力。而在施肥量上,过度施肥可能会降低茶树对氮素的利用和光合作用的能力。

参考文献:

- [1] 康清,马晓林,徐隆华,等. 氮循环及植物对氮素吸收特点[J]. 青海草业, 2014, 23(2): 23-25.
- [2] QIU X H, XIE W B, LIAN X M, et al. Molecular analyses of the rice *glutamate dehydrogenase* gene family and their response to nitrogen and phosphorous deprivation[J]. *Plant Cell Rep*, 2009, 28(7): 1115-1126.
- [3] 卓燕,郑强卿,窦中江,等. 氮素营养代谢对果树生长发育的影响[J]. 新疆农垦科技, 2009, 32(6): 41-43.
- [4] 张石城. 植物体内各种代谢过程之间的相互关系:进行植物生理整体教学的体会[J]. 植物生理学报, 1984, 20(4): 50-52.
- [5] 曹翠玲,李生秀,苗芳. 氮素对植物某些生理生化过程影响的研究进展[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(4): 99-104.
- [6] 孙传范,戴廷波,曹卫星. 不同施氮水平下增铵营养对小麦生长和氮素利用的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2003, 9(1): 33-38.
- [7] 苏亚拉其其格,秦永林,贾立国,等. 氮素形态及供应时期对马铃薯生长发育与产量的影响[J]. 作物学报, 2016, 42(4): 619-623.
- [8] 晏枫霞,王康才,罗庆云,等. 氮素形态对菘蓝氮代谢、光合作用及生长的影响[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(16): 2039-2042.
- [9] 宋娜,郭世伟,沈其荣. 不同氮素形态及水分胁迫对水稻苗期水分吸收、光合作用及生长的影响[J]. 植物学通报, 2007, 24(4): 477-483.
- [10] 武新岩,郭建华,方正,等. 不同氮素形态对黄瓜光合作用及果实品质的影响[J]. 华北农学报, 2011, 26(2): 223-227.
- [11] 罗雪华,邹碧霞,吴菊群,等. 氮水平和形态对比对巴西橡胶树花药苗生长及氮代谢、光合作用的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(3): 693-701.
- [12] 袁红梅. 氮素形态对小麦矿质吸收和氮素代谢相关酶类活性的影响[D]. 济南:山东大学, 2011.
- [13] 吕婷婷,施晟璐,唐晓清,等. 不同氮素形态和对比对菘蓝根的生长及含氮成分含量和总量的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2016, 25(1): 62-70.
- [14] 刘石山,梁艳丽,张广辉,等. 施用氮肥对橡胶林下套种的谢君藤芋光合系统重要特征及相关生化指标的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2015, 24(4): 18-27.
- [15] 巨晓棠,张福锁. 中国北方土壤硝态氮的累积及其对环境的影响[J]. 生态环境, 2003, 12(1): 24-28.
- [16] 高志,徐阳春,沈其荣,等. 不同氮素形态配比的复混肥对玉米苗期生长及氮肥利用效率的影响[J]. 华北农学报, 2005, 20(6): 68-72.
- [17] 周箬涵,郁继华,杨兵丽,等. 不同氮素形态及对比对娃娃菜产量、品质及其养分吸收的影响[J]. 华北农学报, 2015, 30(3): 216-222.
- [18] 李强,黄明,李友军,等. 不同氮素形态对比对冬小麦根际土壤酶活性的影响[J]. 广东农业科学, 2013, 40(13): 68-71.
- [19] 黄素平,潘峰,杨顺平. 供氮水平对大白菜产量·品质的影响[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(27): 82-84.
- [20] 刘建平. 不同氮肥种类和数量对潍县萝卜产量和品质的影响[D]. 泰安:山东农业大学, 2006.
- [21] 罗未蓉,孙涌栋,刘会超,等. 不同硝铵比对韭菜生长及叶绿素含量的影响[J]. 北方园艺, 2013(15): 28-30.
- [22] 刘冉,石峰,刘伟成,等. 不同形态氮素对盐胁迫下番茄细胞超微结构与光合作用的影响[J]. 园艺学报, 2015, 42(3): 471-479.
- [23] 张春红,邱慧珍,张文明,等. 不同形态氮肥对陇东烤烟产量形成的作用及其机理[J]. 水土保持学报, 2011, 25(4): 165-169.
- [24] 尚志强,柴家荣. 氮素形态对白肋烟干物质积累及产量、质量的影响[J]. 内蒙古农业科技, 2007(4): 42-45.
- [25] 游小妹,陈常颂,钟秋生,等. 不同用氮量水平对乌龙茶产量、品质的影响[J]. 福建农业学报, 2012, 27(8): 853-856.
- [26] 程博一. 不同施肥模式对茶叶品质、产量构成以及土壤肥力的影响[D]. 合肥:安徽农业大学, 2014.
- [27] DU X H, PENG F R, JIANG J, et al. Inorganic nitrogen fertilizers induce changes in ammonium assimilation and

- gas exchange in *Camellia sinensis* L.[J]. Turk J Agric For, 2015, 39(1): 28-38.
- [28] RUAN J Y, ZHANG F S, WONG M H. Effect of nitrogen form and phosphorus source on the growth, nutrient uptake and rhizosphere soil property of *Camellia sinensis* L.[J]. Plant Soil, 2000, 223(1/2): 65-73.
- [29] 万青, 徐仁扣, 黎星辉. 氮素形态对茶树根系释放质子的影响[J]. 土壤学报, 2013, 50(4): 720-725.
- [30] 林郑和, 钟秋生, 陈常颂. 茶树叶片 *GDH*、*GS*、*GOGAT* 基因的克隆及荧光定量 PCR 分析[J]. 茶叶科学, 2012, 32(6): 523-529.
- [31] RANA N K, MOHANPURIA P, KUMAR V, et al. A *CsGS* is regulated at transcriptional level during developmental stages and nitrogen utilization in *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze [J]. Mol Biol Rep, 2010, 37(2): 703-710.
- [32] 吴伯千, 梁月荣, 潘根生. 水培和土培茶树的显微及超微结构比较[J]. 浙江农业大学学报, 1992, 18(4): 21-24.
- [33] MAROUFI A, VAN BOCKSTAELE E, DE LOOSE M. Validation of reference genes for gene expression analysis in chicory (*Cichorium intybus*) using quantitative real-time PCR[J]. BMC Mol Biol, 2010, 11(1): 15.
- [34] 中国农业科学院茶叶研究所. 茶树生理及茶叶生化实验手册[M]. 北京: 农业出版社, 1983.
- [35] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [36] CAUSIN H F, RUFTY T W, REYNOLDS J F. Gas exchange and carbon metabolism in two *Prosopis* species (Fabaceae) from semiarid habitats: effects of elevated CO_2 , N supply, and N source[J]. AM J BOT, 2006, 93(5): 716-723.
- [37] BOARI F, CALABRESE N, RENNA M, et al. Effects of biofertilizers on gas exchange, yield and quality of some broccoli cultivars in organic farming [J]. Acta Horticulturae, 2013(1005): 397-404.
- [38] AGRAWAL R, GUPTA S, GUPTA N K, et al. Effect of sodium chloride on gas exchange, antioxidative defense mechanism and ion accumulation in different cultivars of Indian jujube (*Ziziphus mauritiana* L.)[J]. Photosynthetica, 2013, 51(1): 95-101.
- [39] 李辉. 酚酸浓度和铵硝比对杨树光合作用及氮代谢的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
- [40] XING S Z, WANG J F, ZHOU Y, et al. Effects of NH_4^+ -N/ NO_3^- -N ratios on photosynthetic characteristics, dry matter yield and nitrate concentration of spinach[J]. Experimental Agriculture, 2015, 51(1): 151-160.
- [41] 刘秀敏. 氮素形态对茶树生理特性和茶叶品质的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2009.
- [42] ZHANG Y, ZHANG L, HU X H. Exogenous spermidine-induced changes at physiological and biochemical parameters levels in tomato seedling grown in saline-alkaline condition [J]. Bot Stud, 2014, 55(1): 1-8.