土壤水分对强筋小麦‘豫麦 34’氮素同化酶活性和籽粒品质的影响

马新明¹ 李琳² 赵鹏¹ 熊淑萍¹ 郭飞¹

(1 河南农业大学农学院, 郑州 450002) (2 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094)

摘要 以强筋型小麦(*Triticum aestivum*)品种‘豫麦 34 号’为材料, 采用盆栽方法研究了土壤水分对氮素同化酶活性及籽粒品质的影响。结果表明: 旗叶硝酸还原酶(NR)活性于花后呈下降趋势, 且土壤含水量为田间持水量(FC)60%的处理活性最强, 其次为 40% FC, 活性最低的是 80% FC。旗叶和籽粒中谷氨酰胺合成酶(GS)活性于开花 15 d 前均呈下降趋势, 15 d 后均为上升趋势, 各水分处理间酶活性大小关系是: 80% FC > 60% FC > 40% FC。各水分处理间旗叶和籽粒谷氨酸合成酶(GOGAT)活性的大小关系同 GS。60% FC 籽粒产量及品质最优, 80% FC 产量次之, 40% FC 产量最低; 40% FC 品质次之, 80% FC 品质最低。不同水分处理下籽粒蛋白质含量与叶片 NR、GS 和籽粒 GOGAT 活性均呈正相关, 与旗叶 GOGAT 活性呈负相关。且 40% FC 和 80% FC 下籽粒蛋白质含量只与旗叶 GS 活性相关性达显著水平, 60% FC 下蛋白质含量则与旗叶 NR 和籽粒 GS 活性均达显著相关, 与旗叶 GS 活性达极显著相关。

关键词 水分处理 冬小麦 氮素同化酶 籽粒品质

EFFECT OF WATER CONTROL ON ACTIVITIES OF NITROGEN ASSIMILATION ENZYMES AND GRAIN QUALITY IN WINTER WHEAT

MA Xin-Ming¹ LI Lin² ZHAO Peng¹ XIONG Shu-Ping¹ and GUO Fei¹

(1 Agronomy College, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

(2 College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract In order to understand the effects of soil water availability on nitrogen assimilation enzyme activity and grain quality in winter wheat cultivar, pot experiments were carried out at the Henan Agricultural University Research Station during 2001 – 2003. Soil containing 9.8 g•kg⁻¹ organic matter, 0.986 g•kg⁻¹ total N, 25.43 mg•kg⁻¹ Olsen-P and 259 mg•kg⁻¹ NH₄OAc-K were used for the experiments. 18 kg of sieved soil was placed in each 30 cm × 40 cm pot. ‘Yumai 34’, a strong gluten cultivar, was used in the experiments. Three water treatments were used: soil water content of 60% field capacity (FC), 40% FC and 80% FC. All pots were under a rain-shelter, and water levels were controlled from elongation stage to harvest. Water content was measured by weight every two days. Before sowing, 3.5 g N, 3.3 g K₂O and 2.9 g P₂O₅ were applied to each pot and a further 1.6 g N was applied to each pot during the elongation stage. Seven plants from each pot were selected when plants had five leaves. The experiment was arranged in a completely randomized design with ten replications per treatment, and all pots were managed in the same way.

The results indicated that nitrate reductase (NR) activity in the flag leaf declined after anthesis in a decreasing order of 60% FC > 40% FC > 80% FC. Glutamine synthetase (GS) activity in both the flag leaf and grain all declined from the beginning of anthesis to 15 days after anthesis and then increased with the order among the three water treatments as follows: 80% FC > 60% FC > 40% FC. A similar pattern was found for glutamate synthase (GOGAT) as for GS. The highest grain yield and the best nutritional quality occurred in the 60% FC treatment whereas the 80% FC treatment had the lowest quality and 40% FC had the lowest grain yield. Grain protein content was positively correlated to NR and GS activity in flag leaves and GOGAT activity in the grain, and was negatively correlated to GOGAT activity in the flag leaves for all water treatments. In the 40% FC and 80% FC treatments, there was a significant correlation between grain protein content and GS activity in flag leaves. In the 60% FC treatment, there were significant correlations between grain protein content and NR activity in flag leaves and GS activity in grain, and grain protein was closely correlated to GS activity in flag leaves.

Key words Soil water availability, Winter wheat, Nitrogen assimilation enzymes, Grain quality

小麦(*Triticum aestivum*)是我国北方重要的粮食作物,其籽粒蛋白质含量与氮代谢密切相关。研究表明,硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶和谷氨酸合成酶是氮素同化的关键酶(Lam *et al.*, 1996)。其中,朱德群等(1991)、李春喜等(1995)认为,旗叶硝酸还原酶活性与籽粒蛋白质含量呈正相关;而 Dalling 等(1976)认为,二者间的关系不显著。同时,Cren 和 Hirel (1999)、Lin 和 Kao (1996)、Ochs 等(1999)和林清华等(2000)均通过水培法研究了逆境下水稻(*Oryza sativa*)等幼苗氮代谢关键酶活性后指出:GS-GOGAT 途径是氮同化的主要途径,并且,叶片中的酶活性比根系要高,逆境使氮代谢酶活性降低。但是,关于 GS 和 GOGAT 活性与小麦籽粒品质关系的报道还较少(王月福等,2002)。

土壤水分对小麦品质有十分重要的作用,许多研究表明,土壤水分与小麦品质呈负相关,原因在于土壤水分过多容易造成小麦根部硝酸盐浓度的降低,使氮素供应不足,引起根系早衰,另一方面也影响光合作用和降低物质运转(张宝军和樊虎玲,2002;荆奇等,1999;朱履宽和朱振武,1992)。但是,关于土壤水分对小麦后期氮代谢关键酶活性和籽粒品质的研究尚未见有报道。因此,本文以强筋型专用小麦品种‘豫麦 34’为材料,较系统地研究了土壤水分对小麦生育后期氮代谢关键酶活性和籽粒品质的影响,旨在为优质专用型小麦的节水灌溉提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设计

试验于 2001 ~ 2003 年在河南农业大学科教示范园区内进行。试验采用盆栽的方法,盆钵直径 30 cm,深 40 cm。试验土壤有机质 $0.98 \times 10^4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,全氮 $9.86 \times 10^2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,碱解氮 $72.47 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,速效磷 $25.43 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,有效钾 $2.59 \times 10^2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。供试品种为‘豫麦 34’。拔节期前不进行水分处理,拔节期至成熟期统一控水,3 种水分处理分别为田间最大持水量的 40%、60%和 80%,采用称重法,每两天补充 1 次水分,遇降水即将防雨蓬拉上,防止天然降水。每盆分别施纯氮 5.1 g, K_2O 3.3 g 和 P_2O_5 2.9 g。磷、钾肥于播种前一次施入,氮肥按 7:3 的比例于播种前和拔节期施入。试验于 10 月 15 日统一播种,每盆播种 14 粒,5 叶期定苗,每盆定 7 株。每处理重复 10 次,完全随机排列。

1.2 粗酶液的制备

分别称取籽粒、旗叶中部鲜样 1 g,加液氮研磨,再加 5 ml 提取液($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH 7.6 的 Tris-HCl, $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgCl}_2$ 、 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ EDTA}$ 和 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 2-巯基乙醇)。于 4°C 、 $15\,000 \times g$ 离心 20 min,取上清液用于 GS 和 GOGAT 酶活性测定。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 硝酸还原酶(NR)

于开花期及以后的 5、10、15、20、25 d 上午的 9:00 ~ 10:00 点取各处理旗叶,参照文献(李合生,2000)测定 NR 活性。

1.3.2 谷氨酰胺合成酶(GS)

参照 Zhang 等(1997)方法并做少许改动,具体步骤如下:于开花期及以后 5、10、15、20、25 d 取旗叶适量,于开花后 10、15、20、25、30、35 d 取籽粒适量,用 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH 7.6 的 Tris-HCl 缓冲液提取酶,测定 GS 活性。酶活性反应液组成为:0.6 ml 咪唑-盐酸缓冲液,0.4 ml 谷氨酸钠溶液,0.4 ml ATP-Na 溶液($30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.0), MgSO_4 溶液($0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),酶提取液 1.2 ml。反应液 0.2 ml 在 25°C 水浴中保温 5 min,加入 0.2 ml 羟胺试剂开始反应。在 25°C 水浴中反应 15 min,加入 0.8 ml 反应终止液。混合液在 $4\,000 \times g$ 离心 15 min,在 540 nm 处测定上清液的光密度。一个 GS 活性单位定义为在该反应条件下,15 min 反应时间内每克鲜重光密度的数值。

1.3.3 谷氨酸合成酶(GOGAT)

在 GS 测定的同时,测定 GOGAT 活性。反应混合液包括 0.4 ml $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 L-谷氨酰胺,0.5 ml $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 α -酮戊二酸,0.1 ml $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 KCl,0.2 ml $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NADH 和 0.3 ml 酶液,总体积 3.0 ml,不足部分用 $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Tris-HCl 缓冲液(pH 7.6)补足(1.5 ml)。反应启动后,用 752 型紫外可见分光光度计于 340 nm 处每 30 s 测定一个消光值,连续测定 11 次,取光密度稳定减小的一段来衡量酶活性。一个 GOGAT 活性单位定义为每分钟反应混合液于 30°C 减少 $1 \mu\text{mol}$ NADH 数表示(Lin & Kao, 1996)。

1.3.4 蛋白质含量和组分

籽粒风干制粉后,用 5% 的三氯乙酸在 90°C 水浴中沉淀蛋白质,用蒸馏水、10% NaCl、75% 乙醇和 0.2% NaOH 提取清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和麦谷蛋白,然后用半微量凯氏定氮法测定蛋白氮含量(李合生,2000)。

1.3.5 赖氨酸含量

籽粒风干制粉后参照文献(李合生,2000)测定

不同处理小麦籽粒的赖氨酸含量。

1.3.6 面粉沉降值

采用 CIMMYT 法测定,用 SDS 法(1 g 全麦粉),加入 19 ml 乳酸与 SDS 混合,静置 14 min 后读数(Penna *et al.*, 1990)。

1.3.7 湿面筋含量、容重

采用 NIR 5000 光栅型近红外仪进行测定(金同铭和刘钤,1998)。

2 结果与分析

2.1 水分处理对硝酸还原酶活性的影响

从图 1 可以看出,开花后小麦旗叶中硝酸还原酶活性花后 10 d 以前急速下降,不同水分处理间 NRA 高低顺序为 60% FC > 40% FC > 80% FC,方差分析得知 60% FC 和 40% FC 酶活性显著高于 80% FC($p < 0.01$)。花后 15 d,40% FC 最高,之后仍表现为 60% FC > 40% FC > 80% FC,但差异不显著。

图 1 水分处理对‘豫麦 34’旗叶 NR 活性的影响
Fig.1 Effect of water control on NR activity in wheat flag leaves
FC: 由田间持水量 Field capacity

2.2 水分处理对谷氨酰胺合成酶活性的影响

由图 2 可知,不同水分条件下小麦旗叶谷氨酰胺合成酶活性呈开口向上的抛物线趋势,并以花后 15 d 为拐点。即开花后 GS 活性逐渐下降,开花 15 d 后又逐渐上升,不同水分处理间,除开花期外,酶活性大小均表现为 80% FC > 60% FC > 40% FC。图 3 表示了不同水分处理对小麦籽粒中谷氨酰胺合成酶活性的影响。籽粒中 GS 活性变化趋势与叶片相同。但开花 15 d 前,40% FC 和 60% FC 酶活性差异不大,且均大于 80% FC,之后,酶活性表现为 80% FC > 60% FC > 40% FC。

2.3 水分处理对谷氨酸合成酶活性的影响

在 3 个水分处理条件下,小麦旗叶谷氨酸合成酶活性均呈先上升后下降的趋势。但不同水分处理

酶活性高峰时间不同,其中,40% FC 和 60% FC 的峰值出现在花后 15 d,80% FC 的峰值出现在花后 10 d。从图 4 可以看出,80% FC 处理在开花 10 d 后比其它两个处理的都高,而 60% FC 在试验的各个

图 2 水分处理对‘豫麦 34’旗叶 GS 活性的影响
Fig.2 Effect of water control on GS activity in wheat flag leaves
FC: 同图 1 See Fig.1

图 3 水分处理对‘豫麦 34’籽粒 GS 活性的影响
Fig.3 Effect of water control on GS activity in wheat grain
FC: 同图 1 See Fig.1

图 4 水分处理对‘豫麦 34’旗叶 GOGAT 活性的影响
Fig.4 Effect of water control on GOGAT activity in wheat flag leaves
FC: 同图 1 See Fig.1

时期都比 40% FC 的高。籽粒中谷氨酸合成酶活性随时间变化表现为下降趋势(图 5)。花后 15 d 前呈快速下降,之后缓慢下降,且酶活性值表现为 80% FC > 60% FC > 40% FC。

2.4 水分处理对小麦籽粒品质的影响

由表 1 可知,不同水分处理对小麦籽粒品质影响很大。60% FC 可提高小麦籽粒蛋白质、赖氨酸、清蛋白、球蛋白和谷蛋白含量,且赖氨酸含量与其它两处理相比其差异达极显著水平;80% FC 提高了谷

/醇溶蛋白比值;40% FC 醇溶蛋白含量最高。由表 2 可知,60% FC 提高了小麦籽粒容重、湿面筋含量、沉降值、百粒重和籽粒产量,且产量和百粒重与其它两处理相比,差异均达极显著水平。

2.5 籽粒蛋白质含量与各酶活性的相关性分析

对籽粒蛋白质含量与后期各种酶活性作相关性分析得知(表 3),籽粒蛋白质含量在 40% FC、60% FC 和 80% FC 下与旗叶 NR 活性均呈正相关,相关系数分别是 0.313、0.711* 和 0.086,且在 60% FC 下

表 1 水分处理对籽粒蛋白质品质及其组分的影响(%)
Table 1 Effect of water control on grain protein contents and its component parts of wheat for specialized end-uses (%)

水分处理 Water control	蛋白质 Protein	赖氨酸 Lysine	清蛋白 Aibumins	球蛋白 Globin	醇蛋白 Gliadins	谷蛋白 Glutenins	谷/醇蛋白 Gli/Glu
40%	14.77 ^a	0.534 ^B	0.267 ^a	0.774 ^a	6.570 ^a	3.093 ^a	0.471 ^a
60%	15.21 ^a	0.740 ^A	0.303 ^a	1.399 ^a	5.595 ^a	3.423 ^a	0.612 ^a
80%	12.49 ^a	0.535 ^B	0.229 ^a	1.219 ^a	4.097 ^a	2.778 ^a	0.678 ^a

同一栏内标相同字母的平均值表示经方差分析差异不显著($p > 0.05$) Different letters within the same column indicate statistical difference at 0.05 level (Student's t -test)

表 2 不同土壤水分处理对籽粒部分加工品质的影响
Table 2 Effect of water control on some process quality of wheat for specialized end-uses

水分处理 Water control	容重 Grain test weight ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	湿面筋 Wet gluten content (%)	沉降值 Sedimentation value (ml)	百粒重 100 grain weight (g)	产量 Yield ($\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$)
40%	749.0 ^a	37.2 ^a	21.00 ^a	4.47 ^A	22.41 ^B
60%	761.5 ^a	38.3 ^a	21.25 ^a	4.69 ^A	33.04 ^A
80%	742.9 ^a	33.1 ^a	20.50 ^a	3.91 ^B	25.78 ^B

同表 1 See table 1

表 3 籽粒蛋白质含量与小麦花后酶活性的相关分析
Table 3 Correlation analysis of the grain protein contents and enzyme activities after anthesis

水分处理 Water control	硝酸还原酶 NR	旗叶谷氨酰胺合成酶 GS	籽粒谷氨酰胺合成酶 GS	旗叶谷氨酸合成酶 GOGAT	籽粒谷氨酸合成酶 GOGAT
40%	0.313	0.670*	0.454	-0.489	0.100
60%	0.711*	0.911**	0.779*	-0.295	0.388
80%	0.086	0.716*	0.370	-0.601	0.123

$t_{0.01,7} = 2.365$

图 5 水分处理对‘豫麦 34’籽粒 GOGAT 活性的影响
Fig.5 Effect of water control on GOGAT activity in wheat grain
FC: 同图 1 See Fig.1

相关性达 95% 显著水平。籽粒蛋白质含量在 40% FC 和 80% FC 下与旗叶 GS 活性呈显著正相关,在 60% FC 下呈极显著正相关,其相关系数分别为 0.670*、0.911** 和 0.716*;与籽粒 GS 活性相关系数分别为 0.454、0.779* 和 0.370。但与 GOGAT 活性的相关系数均不显著,且与旗叶酶活性呈负相关与籽粒酶活性呈正相关。

3 讨论

NR 是植物氮同化的关键酶,它是一种诱导酶,其活性由底物 NO₃⁻ 诱导产生并受多种因子的调节。小麦旗叶中硝酸还原酶活性在开花期达到最大值,

且 80% FC 在籽粒形成期显著降低小麦旗叶中硝酸还原酶活性,后期的降低作用则表现不明显,而 60% FC 则能使旗叶在花后维持较高的酶活性。水分轻度胁迫有利于提高硝酸还原酶活性,这可能与根系的生长和活性有关,轻度水分胁迫可以促进根系的下扎,提高根部对 NO_3^- 的吸收,从而提高 NR 活性。

GS-GOGAT 途径是氮同化的主要途径。GS 是氮代谢中心的多功能酶,参与多种氮代谢的调节。试验表明,80% FC 有利于提高小麦的 GS 和 GOGAT 活性,其次是 60% FC,40% FC 最低。水分胁迫降低 GS 和 GOGAT 酶活性,GS-GOGAT 活性并不受 NR 酶活性的调控,但 GS 和 GOGAT 活性偶联,这与人研究的结果表现一致(林清华等,2000)。

小麦籽粒品质与蛋白质品质及组成密切相关。其中,清蛋白、球蛋白和赖氨酸含量丰富,营养价值高。在面团流变学特性上,醇溶蛋白主要起粘滞作用,谷蛋白起弹性作用。小麦品质性状与谷蛋白、醇溶蛋白的比值显著相关,随谷蛋白含量的增加,面筋含量、沉降值、稳定时间等都明显增加,加工特性较好(荆奇等,1999)。本实验结果表明轻度干旱胁迫有利于提高小麦籽粒的品质和产量。这说明提高小麦籽粒品质与提高小麦产量并不冲突。原因可能是在轻度干旱胁迫下一方面不易减少小麦根部的硝酸盐浓度,使氮素供应充足,提高 NR 活性,同时根系生长相对增加,提高根系吸收能力,从而达到提高小麦籽粒品质的结果;另外,有试验表明,冬小麦的土壤水分下限阈值为土壤相对含水量的 60% 左右,也有实验表明轻度胁迫并不影响叶片气孔开放(山仑和徐萌,1991),甚至在某些情况下光合速率高于充分供水的植株(张喜英等,2000),结果提高小麦籽粒产量。

不同水分处理下蛋白质含量与旗叶 NR、GS 和籽粒 GOGAT 活性均呈正相关,与旗叶 GOGAT 活性呈负相关。但不同水分处理下蛋白质含量与各酶活性的相关性表现并不一致,40% FC 和 80% FC 下蛋白质含量只与旗叶 GS 活性相关性显著,60% FC 下蛋白质含量则与旗叶 NR 和 GS 活性相关性均显著,且与旗叶 GS 活性相关性极显著。这表明蛋白质含量与旗叶 NR 活性及籽粒 GS 相关性受土壤含水量的影响变化较大,而旗叶 GS 活性则可作为不同土壤含水量下蛋白质含量的测定指标。

60% FC 比其它水分处理小麦籽粒蛋白质含量高、品质好,但这并不是以牺牲产量为代价。60%

FC 产量为 $33.04 \text{ g} \cdot \text{pot}^{-1}$,较 40% FC ($22.41 \text{ g} \cdot \text{pot}^{-1}$)提高了 32.17%,较 80% FC ($25.78 \text{ g} \cdot \text{pot}^{-1}$)提高 12.97%,且均达极显著水平。因此,60% FC 能兼顾产量与品质,是面包型专用小麦‘豫麦 34’理想的土壤含水量。

近红外反射光谱分析技术(或 NIRS 法)是利用化学物质在近红外光谱区的光学吸收特性快速测定某种样品中的一种或多种化学成分含量和特性的新的物理测定技术。其特点是使用样品数量少(可以原样分析)、分析速度快和无废物污染,且测定结果与常规方法十分一致(金同铭和刘铃,1998)。本实验分别用常规方法和近红外光谱技术对‘豫麦 34’种子进行湿面筋含量和容重的测定,其相关系数分别为 0.948** 和 0.923**,达到了极显著水平,说明利用订正后的 NIRS 法可用于测定少量样品的湿面筋含量和容重。

参 考 文 献

- Cren M, Hirel B (1999). Glutamine synthetase in higher plant: regulation of gene and protein expression from the organ to the cell. *Plant Cell Physiology*, 40, 1187 – 1193.
- Dalling MJ, Boland G, Willson JH (1976). Relation between acid proteinase activity and redistribution of nitrogen during grain development in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology*, 3, 721 – 730.
- Jin TM (金同铭), Liu Q (刘铃) (1998). Near-infrared reflectance spectroscopy and its applications in vegetable. *Chinese Journal of Tropical Crops* (热带作物学报), 8, 53 – 59. (in Chinese with English abstract)
- Jing Q (荆奇), Cao WX (曹卫星), Dai TB (戴廷波) (1999). Progress on the study of cause and control on wheat grain quality. *Tritical Crops* (麦类作物), 19(4), 46 – 50. (in Chinese with English abstract)
- Lam HM, Coschigano KT, Oliveira IC (1996). The molecular genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47, 569 – 593.
- Li CX (李春喜), Zhang GF (张根发), Shi HE (石惠恩), Shi YM (石有民) (1995). Effects of nitrogen on the dynamic change of nitrate reductase activity and grain protein content of wheat. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), 15, 276 – 281. (in Chinese with English abstract)
- Li HS (李合生) (2000). *Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment* (植物生理生化实验原理和技术). Higher Education Press, Beijing. (in Chinese)
- Lin CC, Kao CH (1996). Disturbed ammonium assimilation is associated with growth inhibition of roots in rice seedlings caused by NaCl. *Plant Growth Regulation*, 18, 233 – 238.
- Lin QH (林清华), Li CJ (李常健), Peng J (彭进), Zhang CF (张楚富), Peng SB, Bennett J (2000). Effect of NaCl stress on glutamate system and glutamate dehydrogenase of rice plant. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), 18,

206 – 210. (in Chinese with English abstract)

Ochs G, Schoth G, Trischler M(1999). Complexity and expression of the glutamine synthetase multigene family in the amphidiploid crop *Brassica napus*. *Plant Molecular Biology*, 39, 395 – 405.

Pena RJ, Amaya A, Rajam S, Mujeeb-kazi A(1990). Variation in quality characteristics associated with some spring 1B/1R translocation wheats. *Journal of Cereal Science*, 12, 105 – 112.

Shan L(山仑), Xu M(徐萌)(1991). Water-saving agriculture and its physio-ecological bases. *Chinese Journal of Applied Ecology(应用生态学报)*, 2, 70 – 76. (in Chinese with English abstract)

Wang YF(王月福), Yu ZW(于振文), Li SX(李尚霞), Yu SL(余松烈)(2002). Effect of nitrogen nutrition on the change of key enzyme activity during the nitrogen metabolism and kernel protein content in winter wheat. *Acta Agronomica Sinica(作物学报)*, 28, 743 – 748. (in Chinese with English abstract)

Zhang BJ(张宝军), Fan HL(樊虎玲)(2002). Progress on the study of effect of environment conditions on wheat protein. *Research of Soil and Water Conservation(水土保持研究)*, 9(2), 61 – 63. (in Chinese with English abstract)

Zhang CF, Peng SB, Peng XX, Chavez AQ, Bennett J(1997). Response of glutamine synthetase isoforms to nitrogen sources in rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Plant Science*, 125, 163 – 170.

Zhang XY(张喜英), Pei D(裴冬), You MZ(由懋正)(2000). Response of leaf water potential, photo-synthesis and stomatal conductance to varying soil moisture in four crops: winter wheat, corn, sorghum and millet. *Acta Phytoecologica Sinica(植物生态学报)*, 24, 280 – 283. (in Chinese with English abstract)

Zhu DQ(朱德群), Zhu XL(朱遐龄), Wang Y(王雁), Qi BZ(祁葆滋)(1991). Several physiological parameters in relation to grain protein content in winter wheat. *Acta Agronomica Sinica(作物学报)*, 17, 135 – 144. (in Chinese with English abstract)

Zhu LK(朱履宽), Zhu ZW(朱振武)(1992). Effect of agricultural weather condition on winter kernel protent. *Chinese Journal of Agrometeorology(中国农业气象)*, 13(4), 49 – 52. (in Chinese with English abstract)

责任编辑：李凤民 责任编辑：刘丽娟