

施氮量对刺五加幼苗抗氧化酶系统的影响

刘寒¹, 金司阳¹, 杨立学², 王谦博³, 郭盛磊¹, 王振月^{1*}

(1. 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040; 2. 东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040;
3. 广东药科大学附属第一医院, 广州 510080)

[摘要] **目的:** 该文通过研究不同施氮(N)量对刺五加幼苗生长发育及抗氧化酶的影响, 筛选出适宜其生长发育的氮肥施用量。为刺五加人工栽培的科学施肥提供依据和指导。**方法:** 采用单点单因素大田实验, 以长势均一的1年生刺五加幼苗为研究样本, 进行5个不同的施氮量处理, 分别为N1组(30 g·m⁻²), N2组(60 g·m⁻²), N3组(90 g·m⁻²), N4组(120 g·m⁻²), N5组(150 g·m⁻²), 以及CK组(0 g·m⁻²)。3个月后, 收获时测定植株鲜重、根鲜重、叶鲜重、茎鲜重, 干燥至恒重后测量植株干重、茎干重、叶干重以及根干重。采集植物新鲜叶片测量丙二醛(MDA)含量及过氧化氢酶(CAT), 超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化物酶(POD), 酸性磷酸酶(ACP), 抗坏血酸过氧化物酶(APX)等抗氧化酶活力。**结果:** N4处理组最利于刺五加植株生物量的积累, 该处理下刺五加幼苗产量最高, N3处理组的刺五加蛋白质含量最高, N3处理组各抗氧化酶活力均最低, 表示此时植株所受环境胁迫影响最小。**结论:** 刺五加幼苗对施氮量存在剂量效应关系, 即低施氮量处理和高施氮量处理都会对刺五加造成逆境胁迫, 且低施氮量环境下的抗氧化酶活力高于高施氮量, 通过研究, 得出适宜刺五加生长的施氮量为90~120 g·m⁻²。

[关键词] 刺五加; 抗氧化酶; 氮素; 丙二醛; 过氧化氢酶; 超氧化物歧化酶; 过氧化物酶; 酸性磷酸酶

[中图分类号] R284.2; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)04-0157-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20200312

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191016.1657.001.html>

[网络出版时间] 2019-10-16 18:00

Effect of Nitrogen Application on Antioxidant Enzyme System of *Acanthopanax senticosus*

LIU Han¹, JIN Si-yang¹, YANG Li-xue², WANG Qian-bo³, GUO Sheng-lei¹, WANG Zhen-yue^{1*}

(1. School of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

3. The First Affiliate Hospital of Clinical Medicine of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510080, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of different N application rates on the growth and development of *Acanthopanax senticosus* and the changes of antioxidant enzyme activity, and screen out the suitable amount of nitrogen fertilizer for its growth and development, in order to provide scientific evidence for rational fertilization of *Acanthopanax senticosus* in artificial cultivation. **Method:** By single-point, single-factor field experiment, the study samples were one-year-old seedlings of growing evenly *A. senticosus*. Five nitrogen application treatment groups were set up in the fields. They were N1 (30 g·m⁻²), N2 (60 g·m⁻²), N3 (90 g·m⁻²), N4 (120 g·m⁻²), N5 (150 g·m⁻²) and CK (0 g·m⁻²) in the control group. Three months later, the raw weight of plant, root, leaf and stem were measured at harvest time. After drying to constant weight, plant dry weight,

[收稿日期] 20190414(005)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2016YFC0500303); 黑龙江省国家科技重大专项和重点研发项目省级项目(GX17C006); 黑龙江中医药大学研究生创新科研项目(2018年)

[第一作者] 刘寒, 在读博士, 从事中药资源研究, E-mail: 228307107@qq.com

[通信作者] *王振月, 教授, 从事中药资源开发与生物技术研究, E-mail: wangzhen_yue@163.com

stem dry weight, leaf dry weight and root dry weight were measured. Fresh leaves of plants were collected to measure malondialdehyde (MDA) content and activities of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), acid phosphatase (ACP) and ascorbateperoxidase (APX) after harvesting seedlings. **Result:** The biomass of *A. senticosus* in group N4 ($120 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$) was the highest, the protein content in group N3 ($90 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$) was the highest, and the activity of all antioxidant enzymes in group N3 ($90 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$) was the lowest. **Conclusion:** There is a dose-effect relationship between seedlings and the nitrogen application rate. That is to say, low nitrogen application rate and high nitrogen application rate will cause stress on *Acanthopanax senticosus*, and the activity of antioxidant enzymes under low nitrogen application rate is higher than that under high nitrogen application rate.

[**Key words**] *Acanthopanax senticosus*; antioxidant enzymes; nitrogen; malondialdehyde; catalase; superoxide dismutase; peroxidase; acid phosphatase

刺五加为五加科五加属植物^[1],以干燥的根和根茎或茎入药,性温,味辛、微苦,归脾、肾、心经,常用于益气健脾,补肾安神,脾肺气虚,食欲不振,肺肾两虚,肾虚腰膝酸痛,心脾不足,失眠多梦^[2],同时具有很好的抗氧化作用^[3]。刺五加主要产于中国、俄罗斯、日本、朝鲜等国^[4],大、小兴安岭,长白山,燕山山脉,太行山和秦岭山脉是我国野生刺五加主产区^[5]。刺五加在治疗风湿病、冠心病、心绞痛、脑梗死等疾病中疗效显著。以其为主原料的功能保健型绿色食品及保健品畅销于国内外,是我国出口的主要中药材之一。但我国野生刺五加蕴藏量很小,在巨大的市场需求下野生刺五加遭遇了几十年的野蛮地毯式采挖,种群日渐濒危,早已被作为渐危植物列入《中国植物红皮书—稀有濒危植物(第一册)》中^[6]。野生状态下刺五加有性繁殖成功率极低,自我更新困难^[7],刺五加药材由野生转为人工栽培是必然趋势,然而我国 21 世纪初才开始人工培育刺五加^[8],且国内外对其栽培技术、管理技术鲜少研究,本课题组在考察黑龙江省 17 个刺五加种植基地后发现刺五加幼苗存在生长过于缓慢,病害高,无科学管理方法等问题,基本属于“靠天养”,这严重遏制了其产业发展和经济效益。

氮素是植物所必须的大量元素^[9],是组成植物体内蛋白质、叶绿素、肽类、核酸、辅酶、维生素、激素和细胞膜的重要成分。科学合理施用氮肥能够维持土壤肥力,提供苗木、林木生长所需营养^[10-11],促进苗木生长,提高苗木产量和质量^[12]。已有报道收集了药用植物化肥施用的科学数据^[13-14],证明了合理施用肥料不但可以提高产量和质量,还可以提高次生代谢产物含量。不合理施用会形成逆境胁迫环境,影响植物的生长,打破植物生理稳态造成细胞内活性氧过量产生^[15],氧化植物体内脂质、蛋白质、核酸^[16]。

植物通过调节自身抗氧化系统来有效消除和减少活性氧,研究显示氮胁迫条件下羌活^[17],玉米等植物通过增加抗氧化酶活性缓解活性氧离子对细胞膜脂过氧化作用以保证植物正常生理功能^[17-18]。

目前关于刺五加科学施肥管理的研究很少。本实验测定了不同施氮量处理下刺五加幼苗生长发育状况和抗氧化酶过氧化氢酶(CAT),超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物酶(POD),酸性磷酸酶(ACP)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)的酶活性的变化,以揭示刺五加抗氧化酶系统对不同施氮量的反应和适应机制,为刺五加高产、高质量栽培提供科学依据。

1 材料

刺五加实生苗采于黑龙江省伊春市红星林业局,由黑龙江中医药大学药王振月教授鉴定为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus*。试验在黑龙江省哈尔滨市黑龙江中医药大学药用植物园进行。

AE240 型电子天平(德国梅特勒公司);Spectra Max M2 型微孔板检测系统(美国美谷公司);FS-1 型可调高速匀浆机(上海比朗公司)。

尿素(CON_2H_4 ,山东润银生物化工股份有限公司,GB 2440-2001,含 N 量 46%)。

A060-2 型硝酸磷酸酶 ACP 测定试剂盒(微板法,批号 20180526);A001-3 型总超氧化物歧化酶 SOD 测定试剂盒(wst-1 法,批号 20180315);A007-1-1 型过氧化氢酶 CAT 测定试剂盒(可见光法,批号 20180415);A084-3 型过氧化物酶 POD 测定试剂盒(测植物)(比色法,批号 20180521);A123 型抗坏血酸过氧化物酶 APX 测试盒(紫外比色法,批号 20180719);A045-4 型总蛋白 TP 测定试剂盒(带标准:BCA 法,批号 20180713);A003-1 型丙二醛 MDA 测定试剂盒(TBA 法,批号 20180320),所有试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

2 方法

2.1 实验设计 以刺五加幼苗为实验材料进行为期一年田间试验,试验田位于黑龙江中医药大学药用植物园内,面积约 130 m²。2018 年 4 处平整土地,划分 18 个实验小区,小区间以 PVC 板和聚乙烯膜进行隔离。5 月初于刺五加繁殖基地采购供试种苗,供试种苗单株长 (12.73 ± 1.54) cm,根长 (6.25 ± 1.44) cm,茎粗 (0.57 ± 0.15) cm,分枝数 1 个,芽为嫩绿色,芽长 (0.58 ± 0.21) cm,移栽于实验小区,下种量为 1.5 t·m⁻²,株距 0.4 m。待 95% 以上幼苗长出第二片新叶后以不同施氮量进行处理,其他田间生产管理措施均按当地实际生产措施进行,适时防治病虫害,并于拔节期追施氮肥,9 月中旬全部采收。

本试验为单点(植物营养研究方法)单因素试验,共设 6 个施氮量处理,分别为 CK(0 g·m⁻²)组, N1 处理组(30 g·m⁻²), N2 处理组(60 g·m⁻²), N3 处理组(90 g·m⁻²), N4 处理组(120 g·m⁻²)及 N5 处理组(150 g·m⁻²),每处理组重复 3 次。每组缓苗期后施加氮肥总量 60%,拔节期施加 40%。

2.2 生物量指标测定 每处理组随机挑选 12 株刺五加幼苗冲洗干净,用滤纸吸干水分,将每株幼苗的根、茎和叶区分开,用电子天平称重法分别称量,分别装入档案袋中,于 105 °C 烘箱中杀青 30 min,然后在 75 ~ 80 °C 下烘干至恒重,冷却后使用电子天平称重测定干物质含量。计算地上干鲜重和地下干鲜重,根冠比 = 地下干重/地上干重,折干率 = 干重/鲜重 × 100%。

2.3 抗氧化酶活力测定 每个处理组及重复组随机挑选 12 株刺五加苗冲洗干净,摘取第二层鲜叶,进行测定抗氧化酶活性,采用 SOD, POD, CAT, APX, ACP, MDA 和蛋白定量试剂盒(南京建成生物工程研究所)进行测定,按照说明书流程严格操作,各指标重复测定 3 次。

2.4 数据处理 试验数据采用 SPSS 23.0 统计软件进行统计分析,通过单因素方差分析(One-way ANOVA), LSD 和 Dunnett's-T 法多重比较对比数据差异显著性,差异显著定义为 $P < 0.05$; 采用 Excel 绘制表格。所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果与分析

3.1 不同施氮量对刺五加植株生物量影响 不同施氮量处理对刺五加植株生物量影响见表 1。整株鲜重、地下部分鲜重、整株干重、地上部分干重和地下部分干重最大值均出现在 N4 处理组中,分别为 8.87, 6.00, 3.32, 1.18, 2.14 g/株,分别比 CK 组增加 285.65%, 287.09%, 395.52%, 391.67%, 397.67%, 地上部分鲜重和折干率最大值均出现在 N5 处理组中,分别为 2.99 g/株和 33.01%, 分别比 CK 组增加 298.66% 和 37.5%。施氮后各处理组刺五加植株生物量各指标均高于 CK 组。所有处理组中刺五加生物量指标组间差异达显著水平。随着施氮量增加植株整株鲜重、整株干重、地上部分干重、地下部分干重均呈现先升再降再升再降的变化趋势,地下部分鲜重与折干率呈现先升后降再升的变化规律,整株干重呈现先升后降的变化规律,地上鲜重呈现一直增加的变化趋势。

表 1 不同施氮量对刺五加生物量的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of nitrogen application rate of *Acanthopanax senticosus* ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	整株鲜重 /g/株	地上部分鲜重 /g/株	地下部分鲜重 /g/株	整株干重 /g/株	地上部分干重 /g/株	地下部分干重 /g/株	折干率 /%
CK	2.30 ± 0.18 ^{abc}	0.75 ± 0.09 ^{ab}	1.55 ± 0.19 ^{abcd}	0.67 ± 0.06 ^{abc}	0.24 ± 0.04 ^{acd}	0.43 ± 0.02 ^{abcd}	24.51 ± 1.42 ^{abcd}
N1	5.07 ± 0.81 ^{abc}	1.65 ± 0.33 ^{ab}	3.42 ± 0.81 ^a	2.03 ± 0.01 ^a	0.79 ± 0.12 ^a	1.24 ± 0.11 ^a	34.57 ± 1.50
N2	3.64 ± 0.59 ^{ab}	1.50 ± 0.13 ^{ab}	2.14 ± 0.33 ^{abd}	2.07 ± 0.28 ^{abc}	0.25 ± 0.11 ^{abcd}	0.82 ± 0.18 ^{abcd}	26.69 ± 0.47 ^{abcd}
N3	5.36 ± 0.45 ^{abc}	1.70 ± 0.27 ^{ab}	3.61 ± 0.51 ^a	2.13 ± 0.10 ^a	0.69 ± 0.04 ^{ab}	1.44 ± 0.06 ^a	32.71 ± 0.61
N4	8.87 ± 1.15	2.87 ± 0.90	6.00 ± 0.17	3.32 ± 0.35	1.18 ± 0.18	2.14 ± 0.17	32.36 ± 0.91
N5	7.49 ± 1.03	2.99 ± 0.06	4.49 ± 0.69 ^{cda}	2.48 ± 0.48 ^a	1.01 ± 0.06	1.47 ± 0.43 ^a	33.01 ± 1.84

注:同列不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$ (表 2 同)。

3.2 不同施氮量对刺五加植株蛋白质含量的影响

不同施氮量对刺五加幼苗体内蛋白质含量影响见表 2。由表 2 可知,除 N1 处理组幼苗蛋白质含量低于 CK 组外其余处理组蛋白质含量均高于 CK 组,随着各组间施氮量的递增植株体内蛋白质呈现迅速升

高的趋势,并在 N3(90 g·m⁻²)处理下蛋白质含量最大后,随着施氮量继续增大蛋白质含量逐渐降低。

3.3 不同施氮量对刺五加植株 CAT 活性的影响

不同施氮量对刺五加幼苗植株 CAT 活力的影响见表 2。由表 2 可知,除 N2 和 N3 处理组 CAT 活力低于

表 2 不同施氮量对刺五加蛋白质含量及抗氧化酶活力影响($\bar{x} \pm s, n = 36$)

Table 2 Effect of fungi fractions on proteint and anzyme activity of *Acanthopanax senticosus*($\bar{x} \pm s, n = 36$)

组别	蛋白质/mg·g ⁻¹	CAT/nmol·g ⁻¹	POD/nmol·g ⁻¹	APX/nmol·g ⁻¹	SOD/nmol·g ⁻¹	ACP/nmol·g ⁻¹	MDA/nmol·g ⁻¹
CK	4.63 ± 0.64	1.74 ± 0.55	16.73 ± 2.97	0.47 ± 0.25	3 146.2 ± 366.37	94.2 ± 51.52	1.426 ± 0.794
N1	4.08 ± 0.91	4.74 ± 1.69	17.55 ± 4.38	0.69 ± 0.03	3 884.35 ± 1 180.33	98.04 ± 39.28	1.061 ± 0.221
N2	7.31 ± 2.94	1.61 ± 0.92	14.81 ± 5.01	0.37 ± 0.31	2 198.81 ± 590.47	36.08 ± 10.25	0.735 ± 0.262
N3	10.99 ± 1.02	1.15 ± 1.20	5.14 ± 0.55	0.18 ± 0.11	1 753.10 ± 226.02	21.35 ± 4.90	0.322 ± 0.067
N4	7.83 ± 2.55	3.69 ± 1.74	11.51 ± 4.96	0.38 ± 0.15	2 309.94 ± 647.00	93.04 ± 31.23	0.58 ± 0.140
N5	5.50 ± 0.73	5.47 ± 1.43	15.29 ± 1.97	0.56 ± 0.13	2 469.37 ± 594.78	54.62 ± 12.97	0.529 ± 0.050

CK 组,其余各处理组 CAT 活力均高于 CK 组,N5 处理组最高。随着各组间施氮量的递增植株 CAT 活力呈现逐渐降低的趋势,并在 N3 (90 g·m⁻²) 处理下达到最小值后,随着施氮量增大 CAT 活力快速升高。

3.4 不同施氮量对刺五加植株 POD 活性的影响

不同施氮量对刺五加幼苗植株中 POD 的影响见表 2。由表 2 可知,N2,N3,N4 和 N5 处理组 POD 活力低于 CK 组,N1 处理组最高,高于 CK 组。植株 POD 活力随着各组间施氮量增减呈现“V”型变化规律,即随着施氮量增加,植株 POD 活力先降低,N3 (90 g·m⁻²) 处理下达到最小值后显著升高。

3.5 不同施氮量对刺五加植株 APX 活性的影响

不同施氮量培养下刺五加植株体内 APX 活性的变化见表 2,N2,N3,N4 处理组 APX 活力低于 CK 组,其余各处理组 APX 活力均高于 CK 组,其中 N1 处理组最高。刺五加幼苗体内 APX 活力随着各组间施氮量的增加呈现逐渐降低的趋势,并在 N3 (90 g·m⁻²) 处理下达到最小值后,随着施氮量增大 APX 活力快速升高。

3.6 不同施氮量对刺五加植株 SOD 活性的影响

不同施氮量培养下刺五加植株体内 SOD 活性的变化见表 2,除 N1 处理组 SOD 活力高于 CK 组,其余各处理组 SOD 活力均低于 CK 组,其中,N1 处理组最高。刺五加幼苗体内 SOD 活力随着各组间施氮量的增加呈现逐渐降低的趋势,并在 N3 (90 g·m⁻²) 处理下达到最小值后,随着施氮量增大 SOD 活力呈现缓慢升高的趋势。

3.7 不同施氮量对刺五加植株 ACP 活性的影响

不同施氮量对刺五加幼苗植株体内 ACP 的影响见表 2。由表 2 可知,N2,N3,N4 和 N5 处理组 ACP 活力低于 CK 组,其中 N1 处理组 ACP 活力最高,高于 CK 组。随着各组间施氮量的递增植株 ACP 活力呈现逐渐降低的趋势,并在 N3 (90 g·m⁻²) 处理下达到最小值后,随着施氮量增

大 ACP 活力快速升高。

3.8 不同施氮量对刺五加植株 MDA 活性的影响

不同施氮量对刺五加幼苗植株体内 MDA 活力影响见表 2。由表 2 可知,各处理组 MDA 活力均低于 CK 组,CK 组 MDA 活力最高。植株体内 MDA 活力随着施氮量增加呈现先降低后增加再降低的变化趋势。

4 讨论

4.1 不同施氮量对刺五加幼苗生长发育的影响

氮素对植物的生长发育至关重要,当施氮量适宜时,能促进植物体内蛋白质和叶绿素的合成,此时茎叶色泽深绿,植物体健壮,繁殖器官发育良好,产量明显增加,品质高^[19]。缺氮时植物地上部和根系生长显著受到抑制,尤其是叶片表现显著。氮素过多导致植株营养体徒长,叶面积过大,叶片下互相遮阴,不利通风透光,植物体内可溶性非蛋白态氮含量和含水量过高,茎秆软弱,抗病虫能力弱,造成土壤氮挥发的增大,毒害根系,降低土壤水分的有效性^[20]。本研究中,与 CK 组相比各施氮处理组刺五加幼苗生物量均显著增高,施氮量不同幼苗生理指标具有差异性,说明施氮能促进和调控刺五加幼苗生长发育。随着各处理组施氮量逐渐增大刺五加幼苗地上部营养体徒长,导致叶鲜生物量一直增加,N5 (150 g·m⁻²) 组叶面积最大。N4 处理组刺五加幼苗的整株植株生物量以及地下部生物量达到最大值,说明氮素不足和过多都会不同程度抑制刺五加幼苗生物量的积累,适宜刺五加幼苗生物量积累的施氮量为 N4 (120 g·m⁻²)。

4.2 不同施氮量对刺五加幼苗抗氧化酶系统的影响

植物在逆境胁迫下体内会产生大量具有毒害作用的活性氧。植物通过促进抗氧化酶系统加强清除活性氧以维持正常生长。施氮量不足和过多时都会对植物产生不同的胁迫作用,造成抗氧化酶活性变化^[21]。本研究发现,除 N1 处理组中植株体内

蛋白质含量低于 CK 组,其余处理组均高于对照组,说明适宜的施氮量能提高刺五加植株体内蛋白质含量,施氮量为 $30 \sim 90 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 促进植物体内蛋白质合成,进一步增加施氮量抑制体内蛋白质合成。随着施氮量增加 CAT, APX, ACP 活力均呈现两边高中间低的“V”型变化趋势,且低施氮量处理组的 CAT, APX, ACP 的活力要高于高施氮量处理组说明低施氮量和高施氮量都会对刺五加生长造成胁迫环境,低施氮量处理组植物所受的氧化伤害高于高施氮量处理组。除 N3 处理组刺五加植株体内 POD 活力较低外其余各处理组活力均很高,由此可以推断,刺五加植株体内 POD 活力受施氮量变化影响较大,而 SOD 活力随着施氮量显著降低到 N3 处理组后,随着施氮量增加 SOD 活力仅缓慢升高,说明 SOD 主要在氮素缺乏时提高活力将歧化为 H_2O_2 和 O_2 。MDA 是脂膜过氧化最重要的产物之一,能加剧膜损伤,反应膜系统受损程度以及植物抗逆性。低施氮量处理下刺五加幼苗膜受损严重, N3 处理组膜受损情况最轻,低施氮量处理造成的氮胁迫情况较高施氮量处理严重。由刺五加抗氧化酶系统活力推断,适宜刺五加生长的施氮量为 $90 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 。

综上所述,刺五加对施氮量存在剂量效应关系,适宜的施氮量有利于刺五加生长发育,低施氮量和高施氮量都不利于刺五加生长,都会对刺五加造成 N 胁迫环境。适宜刺五加生长的施氮量为 $90 \sim 120 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 。

[参考文献]

[1] 曾建飞. 中国植物志:第 54 卷[M]. 北京:科学出版社,1978:99.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:206-207.
[3] 樊星,闫静,刘舒,等. 刺五加根有效组分的抗氧化活性分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(9):5-8.
[4] 徐燃,吴杰,董林林,等. 刺五加全球产地生态适宜性及品质生态学研究[J]. 药学报,2018,53(2):313-320.
[5] HUANG L, CHEN W R, LIN L, et al. Discussion on development of endangered *eleutherococcus senticosus* [J]. *South Hort*, 2012, 23:41-43.
[6] 冉宪飞. 刺五加关键栽培技术研究及质量评价[D].

长春:吉林农业大学,2015.
[7] 罗周良. 刺五加资源及质量研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2009.
[8] 曹建国. 刺五加生活史型特征及其形成机制的研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2004.
[9] 周珏. 刺五加种质资源的化学及分子生物学评价研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2007.
[10] 巨晓棠,谷保静. 我国农田氮肥施用现状、问题及趋势[J]. 植物营养与肥料学报,2014,20(4):783-795.
[11] 浙江农业大学. 植物营养与肥料[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,1991:43,49.
[12] 邓坦. 欧美杨 107 杨扦插苗需肥规律和合理施肥技术研究[D]. 北京:北京林业大学,2009.
[13] 于彩莲,刘元英,彭显龙. 中草药施肥研究状况及展望[J]. 东北农业大学学报,2003(4):478-481.
[14] 张燕,刘勇,王继永,等. 药用植物专用肥研究现状与展望[J]. 中国中药杂志,2004,29(8):6-9.
[15] 张舒涵. 磷钾肥增施量及氮肥基追比对马铃薯生长发育及根系生理的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学,2018.
[16] LI J, ZHANG M Q, CHEN F, et al. Improving rice modeling success rate with ternary non-structural fertilizer response model [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):27-28.
[17] 朱钰. 灵武长枣合理施肥及水肥一体化应用效果研究[D]. 银川:宁夏大学,2016.
[18] Vanessa N. Kavamura, inorganic nitrogen application affects both taxonomical and predicted functional structure of wheat rhizosphere bacterial communities [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9:1074.
[19] XIA H Y, XUE Y F. Rational application of fertilizer nitrogen to soil in combination with foliar Zn spraying improved Zn nutritional quality of wheat grains [J]. *Front Plant Sci*, 2018, 9:677.
[20] 林佳,车银伟,李瑞,等. 梨枣幼树生长发育对底施氮肥反应的研究初报[J]. 干旱地区农业研究,2011,29(6):139-142.
[21] Anita L, Stefania A, Sabrina Z. Nitrate induction triggers different transcriptional changes in a high and a low nitrogen use efficiency maize inbred line [J]. *J Integrative Plant Biol*, 2014, 56(11):1080-1094.

[责任编辑 顾雪竹]