



**硕** 士 学 **位** 论 文

不同氮素形态及用量对三七Th长、品质和Th理特征的影响

**Effect of Nitrogen Forms and Dosage on Growth, Quality and Physical Characteristics of *Panax notoginseng***

**二零一五年五月**

分类号： UDC：

密 级： 保密年限： 年

不同氮素形态及用量对三七Th长、品质和Th理特征的影响

**Effect of Nitrogen Forms and Dosage on Growth, Quality and Physical Characteristics of *Panax notoginseng***

|  |  |
| --- | --- |
| 学科门类： | 理 学 |
| 学科专业： | 分析化学 |
| 论文作者： | 郑冬梅 |
| 指导教师： | 刘大会 副研究员 |
|  | 肖焱波 教授 |
| 培养单位： | 化学与生物技术学院 |
|  | 云南省农科学院药用植物研究所 |

万方数据

摘 要

三七(*Panax notoginseng* (Buke.) F. H. Chen)为五加科人参属植物，是名贵的中药材，在我国中医药事业中占有重要的地位。三七为人工栽培药材，已有400多年栽培历史，云南文ft既是其道地产区也是其主产区，但近年来三七价格不断飙升，种植面积逐年增加，生产上肥料的偏施、滥施现象十分普遍，特别是氮肥施用存在很大的盲目性、随意性。因此，本研究主要从氮素形态和用量两个方面对三七生长、品质和生理特征的影响进行沙培试验，为三七生产中氮肥的选用及用量的确定提供参考，为三七规范化栽培提供理论指导，促进三七药用植物资源的开发利用。本研究取得的成果主要有：

（1）铵态氮处理三七幼苗，第二天幼苗就出现倒伏现象，且随着铵态氮浓度和处理时间增加，倒伏率显著增加，而硝态氮处理则未出现倒伏现象。铵态氮处理三七幼苗根长、根条数和单株重均随铵态氮用量增加而显著降低，硝态氮处理则呈增加趋势，当氮素用量为10.0 mmol·L -1时，铵态氮处理株高、叶片长和单株重显著低于硝态氮处理。三七幼苗GS和GDH活性随铵态氮用量增加呈先增加后降低趋势，随硝态氮用量增加呈增加趋势，当氮素用量为10.0 mmol·L -1时，铵态氮处理GS和GDH活性显著低于硝态氮处理。三七幼苗可溶性蛋白和

MDA含量随铵态氮用量增加呈显著增加趋势，随硝态氮用量增加差异不显著，且当氮素用量大于5.0 mmol·L -1时，铵态氮处理可溶性蛋白和MDA含量显著高于硝态氮处理。低铵态氮用量能增加三七幼苗SOD和POD活性，高铵态氮用量则降低其活性，而SOD和POD活性则随硝态氮用量增加而增加，氮素用量大于

7.5 mmol·L -1时，硝态氮处理POD活性显著高于铵态氮处理。

（2）三七对铵态氮和硝态氮的吸收曲线均符合Michalis-Meten酶动力学方程，三七幼苗对铵态氮的亲和力小于对硝态氮（*Km*铵态氮> *Km*硝态氮）；三七幼苗对铵态氮的最大吸收速率为13.3033µmol(g·h) -1，对硝态氮的最大吸收速率为7.0699

µmol(g·h) -1, Vmax铵态氮> Vmax硝态氮；说明三七幼苗偏喜硝态氮，但对铵态氮的吸收潜力非常大。

（3）当氮素浓度大于5.0 mmol·L -1铵态氮处理对一年三七幼苗生长有显著抑制作用，且随着处理时间增加，抑制作用越显著；而硝态氮用量增加对三七生

II

长有促进作用，只有当硝态氮用量为15.0 mmol·L -1长时间处理时，才会对三七生长和生物量产生抑制作用，但其抑制作用小于铵态氮处理。随着氮素用量增加，三七根系活力均呈先增加后减小趋势，硝态氮处理根系活力始终高于铵态氮处理。适量的铵态氮能够增加三七GS和GDH活性，而高浓度铵态氮则会抑制其活性；硝态氮用量对三七GS和GDH活性影响较小，浓度大于5.0 mmol·L -1，硝态氮处理GS和GDH活性均高于铵态氮处理。氮素用量增加能显著增加三七可溶性蛋白含量，短时间铵态氮处理可溶性蛋白含量高于硝态氮处理，但随着处理时间增加，硝态氮处理可溶性蛋白含量高于铵态氮处理。MDA含量随着铵态氮用量增加而增加，且始终高于硝态氮处理；而硝态氮短时间处理对MDA含量影响不显著，而随着处理时间增加，MDA含量也随硝态氮用量增加而增加。SOD和POD活性随铵态氮用量增加先增加后降低，而随硝态氮用量增加差异不显著.

（4）三七N含量随氮素用量增加而增加，当氮素用量大于10.0 mmol·L -1时，铵态氮处理根部N含量显著高于硝态氮；短时间内，三七K含量随铵态氮用量增加而降低，随硝态氮用量增加而增加，当氮素用量为10.0 mmol·L -1时，硝态氮处理显著高于铵态氮处理；而长时间处理，三七K含量随铵态氮用量增加有增加趋势，随硝态用量增加有降低趋势，但差异均不明显，且铵态氮和硝态氮处理间差异亦不显著。氮素用量对三七P含量有显著影响，而氮素形态间差异不显著。氮素形态对三七皂苷含量和累积量影响差异不显著，而氮素用量对三七单体皂苷影响显著，低氮可以促进三七单体皂苷和皂苷累积量的增加。

**关键词：**三七； 氮素形态；生长；皂苷； SOD\POD\GS\GDH

III

Abstract

**Abstract**

*Radix Notoginseng*, the root of *Panax notoginseng*(Buke.) F. H. Chen, which is also called Sanqi in Yunnan and belongs to the *Ginseng* genus of *Araliaceae*, is a well- known traditional Chinese medicine(TCM). Sanqi has more than 400 year cultivation history and any wild varieties could be barely found. Wenshan, in southwestern China Yunnan province, is comfirmed as the geo-authentic and largest cultivated area of Sanqi. With the price rising and cultuvation area expanded accordingly. The problems such as over-using nitrogen fertilizers and imbalance nutrition result in plant diseases and pests. Accordingly experiments have been carried out to investigate the effects of nitrogen on growth, yield and quality of Sanqi, aiming at balance fertilization and GAP cultivation development. The main findings showed:

(1) *Panax notoginseng* seedlings got flattened after supplying ammonium and the flattened rate went up with higher nitrogen concentration and longer dealing time, but it did not occur when supplying nitrate nitrogen. Root length and root number got less with more ammonium nitrate as well as the weight per plant. At 10.0 mmol·L -1 nitrogen concentration, plant height and leaf length and the weight per plant supplied ammonium were considerable worse than that of applied nitrate. When increasing ammonium concentration, the GS and GDH activity of *P. notoginseng* seedling got stronger first then got weaker, which kept going stronger with nitrogen nitrate. At nitrogen concentration of 10.0 mmol·L -1, The GS and GDH activity with ammonium treatment were significant lower than nitrate treatment. The soluable protein and MDA content of both treatments increased, and ammonium treatment reached significant level but nitrate treatment did not. When nitrogen concentration was higher than 5.0 mmol·L -1, the soluable protein and MDA content of *P. notoginseng* applied ammonium were significant higher than that of applied nitrate. SOD and POD activity increased when applied a low concentration ammonium, but it got converse consequence when applied a high concentration ammonium, which kept increasing when applied nitrate. When nitrogen concentration was higher than 7.5 mmol·L -1, SOD and POD activity with

IV

云南民族大学硕士学位论文

Ammonium treatment were significant worse than that of nitrate treatment.

*(2)* The uptake kinetic characteristics of different ammonium and nitrate by *P.*

*Notoginseng* was reached. The *Km* value of ammonium uptake was higher than that of nitrate uptake by *P. notoginseng* (*Km* ammonium<*Km nitrate*), which indicated that *P. notoginseng* prefer nitrate. The maximum rate of ammonium uptake by *P. notoginseng*

Was larger than that of nitrate uptake and the maximum rate of ammonium was 13.3033

µmol(g·h) -1 and the maximum rate of nitrate was 7.0699µmol(g·h) -1, which indicated that *P. notoginseng* can uptake much more ammonium.

(3) The growth of one-year-old *P. notoginseng* was inhibited when supplied higher concentration ammonium, and the inhibition became wores with longer time. Increasing nitrate improved the growth of *P. notogiseng*, but when applied a concentration of 15.0 mmol·L -1 nitrate and long time treatment, the growth of *P. notoginseng* was also inhibited, but it was still better than ammonium treatment. The root activity of one-year-old *P. notoginseng* of both treatments increased first, then reduced, which nitrate treatment was better than ammonium treatment. Moderate concentration of ammonium increased GS and GDH activity, but inhibited when applied higher concentration, which were little influenced with different concentration of nitrate and when the concentration was greater than 5.0 mmol·L -1, the GS and GDH activity of nitrate treatment were better than ammonium treatment. The use of nitrogen helpt increase soluable protein. In short time, the soluable protein content of *P. notoginseng* applied ammonium was more than that of applied nitrate, but as treatment time got longer, it leaded opposite result. The MDA content of *P. notoginseng* of ammonium treatment kept going up, and was higher than nitrate treatment all along. The MDA content of *P. notoginseng* of changed little, when applied nitrate in short time, but increased also as treatment time accumulated. As nitrogen concentration increasing, the SOD and POD of ammonium treatment increased first, then reduced, and that of nitrate treatment increased a little.

(4) The N content of *P. notoginseng* increased as nitrogen concentration increasing, and when the concentration was higher than 10.0 mmol·L -1, root N content of ammonium treatment was remarkably greater than nitrate treatment; and As nitrogen concentration increasing, the K content of *P. notoginseng* applied ammonium was

V

Abstract

Reduced but increased when applied nitrate in short time and the K content of *P. notoginseng* of nitrate treatment was notable better than that of ammonium treatment. However, as treatment time increased, the K content change trend of *P. notoginseng* of two treatments were reversed, but there was no considerable difference and also no considerable difference between ammonium and nitrate. Dosage of nitogen showed great effect on P content of *P. notoginseng*, but there was obvious difference between ammonium and nitrate. Different nitrogen forms had no prominent effect on the content and cumulant of saponins. But Nitrogen dosage had a great effect on monomer saponins of *P. notoginseng*, and low nitrogen can improve content of saponin and saponins accumulation.

**Key Words:;** *Panax notoginseng*; Different; Nitrogen forms; Growth; Saponins;

SOD/POD/GS/GDH

VI

[摘要：II](#_bookmark0)

[ABSTRACT IV](#_bookmark1)

[目录VII](#_bookmark2)

[第1章文献综述1](#_bookmark3)

[1.1高等植物氮素营养.............................................. 1](#_bookmark4)

[1.2氮素吸收和同化途径............................................ 2](#_bookmark5)

[1.2.1硝态氮吸收和同化途径....................................... 2](#_bookmark6)

[1.2.2铵态氮的吸收和同化途径..................................... 3](#_bookmark7)

[1.3铵态氮和硝态氮的吸收动力学研究................................ 5](#_bookmark8)

[1.4铵态氮的毒害.................................................. 6](#_bookmark9)

[1.5氮素对同化酶活性的影响........................................ 6](#_bookmark10)

[1.5.1谷氨酰胺合成酶GS.......................................... 6](#_bookmark11)

[1.5.2谷氨酸脱氢酶GDH........................................... 6](#_bookmark12)

[1.5.3硝酸还原酶NR.............................................. 7](#_bookmark13)

[1.6氮素对保护酶活性的影响........................................ 7](#_bookmark14)

[1.6.1丙二醛MDA................................................. 7](#_bookmark15)

[1.6.2超氧化物歧化酶SOD......................................... 8](#_bookmark16)

[1.6.3过氧化物酶POD............................................. 8](#_bookmark17)

[1.7三七氮素营养研究现状.......................................... 9](#_bookmark18)

[第2章课题研究的背景、意义、内容和创新点11](#_bookmark19)

[2.1研究背景..................................................... 11](#_bookmark20)

[2.2研究目的意义................................................. 11](#_bookmark21)

[2.3研究内容、目标以及拟解决的问题............................... 12](#_bookmark22)

[2.3.1研究内容.................................................. 12](#_bookmark23)

[2.3.2拟解决的问题.............................................. 12](#_bookmark24)

[2.3.3技术路线.................................................. 12](#_bookmark25)

VII

[2.3.4创新点.................................................... 12](#_bookmark26)

[第3章不同氮素形态及用量对三七幼苗Th长及Th理特征的影响。14](#_bookmark27)

[3.1前言......................................................... 14](#_bookmark28)

[3.2材料与方法................................................... 15](#_bookmark29)

[3.2.1实验设计.................................................. 15](#_bookmark30)

[3.2.2测定指标及分析方法........................................ 15](#_bookmark31)

[3.3结果与分析................................................... 19](#_bookmark32)

[3.3.1倒伏及生长................................................ 19](#_bookmark33)

[3.3.2 GS和GDH活性............................................. 20](#_bookmark34)

[3.3.3可溶性蛋白和MDA含量...................................... 21](#_bookmark35)

[3.3.4 SOD和POD活性............................................ 21](#_bookmark36)

[3.3.5动力学吸收特征............................................ 22](#_bookmark37)

[3.4讨论......................................................... 23](#_bookmark38)

[第4章不同氮素形态及用量对一年Th三七Th长和Th理特征的影响25](#_bookmark39) [4.1前言......................................................... 25](#_bookmark40)

[4.2材料与方法................................................... 25](#_bookmark41)

[4.2.1实验材料.................................................. 25](#_bookmark42)

[4.2.2实验设计.................................................. 26](#_bookmark43)

[4.2.3测定项目及分析方法........................................ 26](#_bookmark44)

[4.3结果与分析................................................... 27](#_bookmark45)

[4.3.1对三七生长的影响.......................................... 27](#_bookmark46)

[4.3.2对三七生理特征的影响...................................... 32](#_bookmark47)

[4.4讨论......................................................... 36](#_bookmark48)

[第5章不同氮素形态及用量对一年Th三七N, P, K含量及皂苷含量的影响37](#_bookmark49)

[5.1前言......................................................... 37](#_bookmark50)

[5.2材料与方法................................................... 37](#_bookmark51)

[5.2.1实验设计.................................................. 37](#_bookmark52)

[5.2.2测定指标及分析方法........................................ 38](#_bookmark53)

[5.3结果与分析................................................... 39](#_bookmark54)

VIII

[5.3.1对三七矿质元素含量的影响.................................. 39](#_bookmark55)

[5.3.2对皂苷成分的影响.......................................... 42](#_bookmark56)

[5.5 讨论 ......................................................... 46](#_bookmark57)

[第 6 章 总结与展望 48](#_bookmark58)

[6.1 总结 ......................................................... 48](#_bookmark59)

[6.2 展望 ......................................................... 49](#_bookmark60)

[参考文献50](#_bookmark61)

[在学位期间发表的学术成果及获奖情况 57](#_bookmark62)

[致 谢58](#_bookmark63)

IX

目 录

[摘 要](#_Toc68695466) 3

[Abstract](#_Toc68695467) 4

**[Abstract](#_Toc68695468)** 4

[Abstract](#_Toc68695469) 5

[摘要：II](#_Toc68695470) 5

[ABSTRACT IV](#_Toc68695471) 5

[第 1 章 文献综述](#_Toc68695472) 8

**[1.1](#_Toc68695473)** [高等植物氮素营养](#_Toc68695473) 8

**[1.2](#_Toc68695474)** [氮素吸收和同化途径](#_Toc68695474) 8

**[1.3](#_Toc68695475)** [铵态氮和硝态氮的吸收动力学研究](#_Toc68695475) 9

**[1.4](#_Toc68695476)** [铵态氮的毒害](#_Toc68695476) 9

**[1.5](#_Toc68695477)** [氮素对同化酶活性的影响](#_Toc68695477) 9

**[1.6](#_Toc68695478)** [氮素对保护酶活性的影响](#_Toc68695478) 10

**[1.7](#_Toc68695479)** [三七氮素营养研究现状](#_Toc68695479)**[.](#_Toc68695479)** 10

[第 2 章 课题研究的背景、意义、内容和创新点](#_Toc68695480) 11

**[2.1](#_Toc68695481)** [研究背景](#_Toc68695481) 11

**[2.2](#_Toc68695482)** [研究目的意义](#_Toc68695482) 11

**[2.3](#_Toc68695483)** [研究内容、目标以及拟解决的问题](#_Toc68695483) 11

[第 3 章 不同氮素形态及用量对三七幼苗Th长及Th理特征的](#_Toc68695484) 13

**[3.1](#_Toc68695485)** [前言](#_Toc68695485) 13

**[3.2](#_Toc68695486)** [材料与方法](#_Toc68695486) 14

**[3.3](#_Toc68695487)** [结果与分析](#_Toc68695487) 16

**[3.4](#_Toc68695488)** [讨论](#_Toc68695488) 20

[3.5），MDA含量处于较高水平（图3.4），由此可以知道，铵态氮对植物细胞造成了伤害，而当铵态氮用量增加其伤害作用越大，进而导致了氨同化关键酶GS和GDH 活性随着铵态氮用量增加而降低（图3.3），过多的NH3 无法被迅速同化，使幼苗体内残留大量的NH4+，进一步加重了铵态氮对幼苗的伤害作用。此外，由于三七幼苗对铵态氮的亲和力小于硝态氮（表3.2），所以导致三七幼苗对铵态氮较为敏感，容易出现毒害症状。](#_Toc68695489) 20

[第 4 章 不同氮素形态及用量对一年Th三七Th长和Th理特征](#_Toc68695490) 21

**[4.1](#_Toc68695491)** [前言](#_Toc68695491) 21

**[4.2](#_Toc68695492)** [材料与方法](#_Toc68695492) 21

**[4.3](#_Toc68695493)** [结果与分析](#_Toc68695493) 22

[4.4 讨 论](#_Toc68695494) 38

[第](#_Toc68695495)**[5](#_Toc68695495)**[章](#_Toc68695495)[不同氮素形态及用量对一年](#_Toc68695495)**[Th](#_Toc68695495)**[三七](#_Toc68695495)**[N, P, K](#_Toc68695495)**[含量及皂](#_Toc68695495) 38

**[5.1](#_Toc68695496)** [前言](#_Toc68695496) 38

**[5.2](#_Toc68695497)** [材料与方法](#_Toc68695497) 38

**[5.3](#_Toc68695498)** [结果与分析](#_Toc68695498) 39

[2.5 mmol·L -1时，其累积量最大。铵态氮用量对人参皂苷Rb1累积量影响显著，硝态氮用量影响不显著，当氮素用量为2.5 mmol·L -1时，人参皂苷Rb1累积量达](#_Toc68695499) 50

[5.5 讨 论](#_Toc68695500) 60

[5.5 、5.6），与欧小宏](#_Toc68695501)[[104]](#_Toc68695501)[研究结果相似，而韦美丽等](#_Toc68695501)[[80]](#_Toc68695501)[研究结果却表明，氮肥用量对三七皂苷成分含量影响不大。孙玉琴等](#_Toc68695501)[[82]](#_Toc68695501)[研究结果表明，氮肥形态也会影响三七皂苷含量，但不同形态氮肥间差异不显著。欧小宏](#_Toc68695501)[[104]](#_Toc68695501)[研究表明，硝态氮比铵态氮更有利于三七皂苷积累。本研究结果也表明，铵态氮和硝态氮短时间处理对三七各单体皂苷含量影响不显著（表5.7），而随着处理时间增加，氮素浓度为](#_Toc68695501) 61

[第 6 章 总结与展望](#_Toc68695502) 61

**[6.1](#_Toc68695503)** [总结](#_Toc68695503) 61

**[6.2](#_Toc68695504)** [展望](#_Toc68695504) 62

[参考文献](#_Toc68695505) 62

表格目录

表3.1 不同氮素形态及用量三七幼苗生长的影响 16

表3.2 三七幼苗对不同形态氮素的吸收动力学参数 20

表4.1 处理1个月不同形态氮素及用量对三七生长的影响 22

表4.3 表明，处理4个月，随着氮素用量增加，铵态氮处理对三七株高等性 29

表4.4 处理1个月不同形态氮素及用量对三七生物量的影响 32

表4.5 处理2个月不同形态氮素及用量对三七生物量的影响 34

表4.6 处理4个月不同形态氮素及用量对三七生物量的影响 35

表5.1 处理1个月不同氮素形态及用量对三七的氮磷钾含量的影响 39

表5.2 处理2个月不同氮素形态及用量对三七的氮磷钾含量的影响 41

表5.3 处理4个月不同氮素形态及用量对三七的氮磷钾含量的影响 43

表5.4 处理1个月不同氮素形态及用量对三七皂苷含量的影响 46

表5.5 处理1个月不同氮素形态及用量对三七皂苷累积量的影响 48

表5.6 处理2个月不同氮素形态及用量对三七皂苷含量的影响 51

表5.8 处理4个月不同氮素形态及用量对三七皂苷含量的影响 55

# 第 1 章 文献综述

## **1.1** 高等植物氮素营养

氮是除碳、氢、氧外在植株体内含量较多的生命元素之一，是构成蛋白质、核酸、叶绿体、酶和某些维生素的重要组成成分。蛋白质是构成原生质的基础物质，平均含氮16%~18%，蛋白氮通常可占植株全氮的80~85%。核酸是植物生长发育和生命活动的基础物质，含氮15%~16%，在遗传物质核糖核酸（RNA）和脱氧核糖核酸（DNA）中都有氮素存在。含蛋白质45%~60%的叶绿体是植物进行光合作用的场所，约占植物干重的20%~30%。酶类本身就是蛋白质，是植物体内生化作用和代谢过程中的生物催化剂，控制着植物体内许多生物化学反应的方向和速度。氮素还是某些维生素如B1、B2等的组分。氮素缺乏时，细胞伸长和分裂受到抑制，蛋白质合成受到阻碍，植物生长缓慢，植株矮小；叶绿素含量下降，叶片黄化；光合作用减弱，光合产物减少，严重影响作物产量，导致产量下降，品质变劣。因此，氮素在作物的生命活动中占有首要的地位，是植物生产、产量形成的首要限制因素，并对农产品质量有重要影响。

作物吸收的两种主要氮源为铵态氮和硝态氮，对某些可溶性有机氮化合物也有一定的吸收，如氨基酸[1]。大量实验证明，作为作物主要氮源的铵态氮和硝态氮都能很好地被吸收利用，而且在作物体内的同化过程中，除硝态氮需先还原为NH3(NH4+)外，其余的过程都是相同的，但这两种形态的氮源各有特点。

首先，两种离子本身固有的特点不同。铵态氮是阳离子，不含氧，带正电荷，呈还原态，易被负电荷的土壤胶体吸附和固定；而硝态氮是阴离子，含氧，带负电荷，呈氧化态，不被带负电荷的土壤胶体所吸附，存在于土壤溶液中，容易达到作物根系表面，也容易从土壤中淋失。

其次，两种形态氮素的补配离子不同。1931年，罗宗洛比较了各种铵盐和硝酸盐对作物幼苗生长的影响，发现氮素形态与其补配离子相联系[2]。有些情况下，补配离子会直接影响作物生长，有些情况下，补配离子则起间接作用[3]。例如，给交换容量低的土壤每年大量施用硫酸铵和硝酸钠会引起土壤酸化或碱化，从而导致某些微量元素及磷的有效性降低，影响作物的生长。

最后，两种形态氮对介质pH有不同影响。作物吸收铵态氮时，介质pH 下

1

降；吸收硝态氮，介质pH上升。在液培养实验中，这是可见到的最普遍现象。但在大田生长中由于土壤类型、作物种类不同，引起土壤pH，特别是根际pH变化状况不完全一致[4]，在通气良好的土壤中，铵态氮被土壤硝化细菌转化成硝态氮也可能导致pH下降[3]。营养介质pH的变化反过来又影响作物对两种氮源的吸收[3, 5, 6]。

## **1.2** 氮素吸收和同化途径

作物对铵态氮及硝态氮吸收利用的不同，是造成两种氮源效果不同的根源所在，但离子环境特性、条件又在很大程度上左右作物对它们的吸收利用。这两方面结合起来增加了研究这一问题的复杂度和困难度，因此，至今还没有完美的答案。

### **1.2.1** 硝态氮吸收和同化途径

植物对NO3-的吸收速率很快，逆电化学势梯度，是主动吸收过程。植物吸收NO3-时需要能量，且需ATP酶参与，在H+泵作用下，把H+泵出细胞膜外，细胞膜上吸附的OH-和HCO3-与NO3-的发生交换而被吸收[7]。NO3-通过表皮进入皮层共质体后，主要有以下4种去向：①被胞质中的NR还原为NO2-，进一步同化为氨基酸；②流向质外体；③储存于液泡；④进入木质部[8]。影响植物对NO3-吸收的因素主要有植物种类[9]、介质pH[10]、介质阴阳离子[11]、溶液中氮浓度[12]、温度[13]、光照[14]、通气[15]等。

NO3-不能直接被植物利用，只有转为NH3后才能被植物同化利用。NO3-还原成氨的过程，须经过两步催化作用还原为NH3。第一步在硝酸还原酶的作用下，NO3-还原为NO2-，该反应在细胞质中进行，还原成的HNO2以分子态的形式透过质膜。第二步，HNO2在叶绿体或前质体内有亚硝酸还原酶NiR催化而成氨，其中第一步是NO3-同化的限速步骤。NO3-还原为NH3后，进一步通过GS

（谷氨酰胺合成酶）-GOGAT（谷氨酸合成酶）途径同化为氨基酸，再进一步形成蛋白质供植物利用。其同化途径见图1.1。

2



图1.1 叶片中硝酸盐的吸收和同化[16]。

NRT: NO3运输载体；NR：硝酸还原酶；NiR：亚硝酸还原酶；Fdred：还原型铁氧还蛋白；GS：谷氨酰胺合成酶；GOGAT：谷氨酸合成酶

-

### **1.2.2** 铵态氮的吸收和同化途径

铵态氮带正电荷，能被土壤胶体吸附，植物根系获取NH4+主要通过截获和扩散两种方式，铵态氮被动地被植物吸收，所以其吸收同化所需能量仅需14%的能量，而硝态氮吸收同化需要23%的能量[17]。NH4+被植物吸收后，在根细胞中很快同化为氨基酸，然后向地上部分运输，很少以NH4+方式直接送往地上部分。植物对铵态氮吸收同样受植物种类[9]、介质pH[10]、介质阴阳离子[11]、溶液中氮浓度[12]、温度[13]、光照[14]、通气[15]等影响。铵态氮的同化途径有以下四种：GS-

GOGAT途径，谷氨酸脱氢酶途径，氨基交换途径，同化途径见图1.2，其中GS-

GOGAT为氨同化的主要途径，GS对氨的亲和力很高，可以避免氨累积所造成的毒害；谷氨酸脱氢酶途径中，GDH对NH3的亲和力很低，只有在植物体内NH3浓度较高时才起作用[18]。

3





图1.2 铵同化途径[16]

A: GS-GOGAT途径形成谷氨酰胺和谷氨酸；B：谷氨酸脱氢酶途径利用NADH或NADPH作为还原剂产生谷氨酸；C：谷氨酸的氨基转给草酰乙酸形成天冬氨酸，由天冬氨酸氨基转移酶催化；D：将谷氨酰胺的氨基转给天冬氨酸形成天冬酰胺，由天冬酰胺合酶催化。

4

## **1.3** 铵态氮和硝态氮的吸收动力学研究

1913年，Michaelis和Menten研究酶促反应速率与底物浓度之间关系时提出了著名的米氏方程。1952年，Epstein和Hagen将米氏方程应用到离子吸收过程，把被吸收的离子作为底物，把载体作为酶，其数学表达式仍为米氏方程[12]。假设离子吸收符合Michaelis-Menten动力学方程：

𝐶

V =𝑉𝑚𝑎𝑥

𝐾

𝑚

+𝐶

式中，*V*为离子吸收速率，即单位根系在单位时间内吸收离子的量，单位一般为µmoL(g·L) -1; *C*为外液离子浓度，单位一般为mmol·L-1；*Vmax*为载体饱和时最大吸收速率，与载体数目和转运效率有关，其数值越大表明该载体吸收介质离子浓度的内在潜力越大，单位一般为µmol (g·L) -1; *Km*为米氏常数，是载体对介质中离子亲和力倒数，为*V*=1/2*Vmax*时外液离子的浓度，其数值越小表面该载体对介质中的离子亲和力越大，单位一般为mmol·L-1。

研究作物根系对铵态氮和硝态氮吸收动力学的主要内容是作物根系的吸收速率和两个动力学参数(*Vmax*, *Km*)，*Vmax*和*Km*广泛用来鉴别作物品种间氮素营养的差异[19,20]，也可作为不同基因型对土壤营养条件适应水平的指标[19,21~22]。利用这两个特征参数，判断作物吸收铵态氮和硝态氮的最大速率和亲和力，可以揭示作物对两种形态氮素的偏好性，既可以为提高氮素的利用率提供有效措施，也可以选育、选用吸收利用氮素高的作物品种。一般认为，*Km*大小取决于载体特性，与浓度无关，主要体现离子与离子载体吸附位点之间的亲和性；*Km*倒数(1/*Km*)表示根系细胞膜上某离子吸收位点对该离子的亲和力，作物吸收某种离子的*Km*越小，则对该离子的亲和力越大，吸收能力越强。*Vmax*主要体现离子的吸收速度，表示吸收所能达到的最大速率，可反映植物吸附某个离子的最大潜力。*Vmax*越大，表明作物吸收该离子的内在潜力就越大。根系吸收动力学(*Km, Vmax)*可在一定程度上衡量植物根系对离子的吸收能力。Cacco等[23]将植物吸收NO3-的Vmax和*Km*分成4种组合：①高Vmax、高*Km*的基因型植物，适宜于高浓度的养分条件，适应大肥大水条件下生产；②高*Vmax*、低*Km*的基因型植物，能适应较广泛的营养条件，是理想的模式；③低*Vmax*、低*Km*的基因型植物，适合贫瘠地区、养分浓度低的条件；④低*Vmax*、高*Km*的基因型植物，在任何养分浓度下都是不利的，难以生存，没有优势。到目前为止，对小麦[24]、玉米[25]、水稻[20]等作物幼苗根系吸收动力参数已测定，但结果不尽一致，作物吸收铵、硝态氮的*Vmax*和*Km* 值

5

与作物种类、植物年龄、溶液中氮素浓度、温度等条件有关。

## **1.4** 铵态氮的毒害

当铵态氮作为唯一氮源大量供应时，常常会对植物生长发育产生不良影响，主要表现为生物量降低、光合速率下降、根系生长受阻、根冠比降低，严重时会造成植物死亡[26~31]。此外，铵毒害还表现为抑制种子的萌发和幼苗的发育[26]，抑制根系细胞伸长而不影响其分化[27]，侧根数量减少[32, 33]，根系向地性丧失[34~36]等。植物铵毒害的传统观点主要有以下几个方面：①铵态氮在吸收过程中与Ca2+、

K+、Mg2+等阳离子产生拮抗作用，诱导养分缺乏[37]；②植物为了保持体内阴阳离子平衡，在吸收铵态氮的过程中释放出H+，造成根际酸化，抑制根系生长[38]；

③长期供铵态氮使叶面积减小，叶片光合速率下降，使从叶片向根系输送碳水化合物减少，根系生长受阻[39]；④游离氨毒害[40]，但近年来研究证实，铵毒害与游离氨毒害没有直接关系[27]。最近的研究发现，铵毒害与大量NH4+无效跨膜运输，消耗大量能量有关[41]，目前大量研究试图从激素代谢失衡方面解释铵毒害产生的原因[27,32~35, 42, 43]。

## **1.5** 氮素对同化酶活性的影响

### **1.5.1** 谷氨酰胺合成酶**GS**

谷氨酰胺合成酶GS是催化氨从无机形态转化为氨基酸的主要酶[44]，对NH3的亲和力较大，其活性受受光、氮素形态及用量、温度及器官与组织的影响[45, 46]。研究表明，提高氮素用量可以提高花生[47]、玉米[48]等作物GS活性，但用量过高则会对其活性产生抑制作用。外源铵态氮能诱导植物根系GS基因表达，混合态氮和NH4+ -N的处理效果好，而NO3--N的效果差[49]。烟草GS活性随硝态氮施用比例增加，其活性降低[50]。中筋小麦豫麦49在施用铵态氮时，GS活性有较大增强[51]。

### **1.5.2** 谷氨酸脱氢酶**GDH**

谷氨酸脱氢酶GDH催化一对可逆反应：α-酮戊二酸加氨生成谷氨酸和谷氨酸脱氨生成α-酮戊二酸[52]，由于其对NH3的*Km*较大，是一种争议较大的酶，有

6

人认为它是氨同化的初始酶，而最近研究则认为GDH只限制在谷氨酸的代谢中起作用[53]。王云华等[54]研究表明，在黄瓜子叶发育初期，无论施氮与否，子叶中

GDH活性均随发育上升；在外源氮存在条件下，处理6天后，NADH-GDH活性呈降低趋势，而NAD+-GDH活性却增加；整个子叶发育期，外源氮对NAD+-GDH都有促进作用，尤其是子叶后期对NAD+-GDH促进作用更加明显。张智猛等[47, 48]研究发现适量施用氮肥能提高花生各器官可溶性蛋白含量和GDH活性，但用量过多，虽能提高可溶性蛋白含量，但却降低了GS和GDH活性。此外，GDH催化谷氨酸脱氢生成α-酮戊二酸可以为三羧酸循环提供有机酸，在缓解植物铵毒害方面具有重要的作用[55]。

### **1.5.3** 硝酸还原酶**NR**

硝酸还原酶NR是一种诱导酶，植物自身并没有这种酶存在，只有在特定物质的诱导下，才可以产生，对以硝态氮为氮源的植物，NR活性可作为其利用氮素能力的重要指标。吴相钰和汤佩松与1957年首次证明，水稻幼苗在硝酸盐诱导下可以形成硝酸还原酶[16]。氮素对NR活性的影响已有许多报道[56~59]，对于多数植物来说，在一定浓度范围内，作物吸收硝态氮越多，硝酸还原酶活性越高，硝酸还原酶活性与硝态氮浓度和硝态氮的累积量有一定正相关。用铵态氮作为氮源会抑制NR活性[56]。李春喜等[57]研究表明，施用硝态氮对小麦体内NR活性有显著影响，小麦叶片NR活性随施氮量增加而增加。Oaks等[58]指出施入氨基酸混合物可以抑制根系NR活性。李向东[59]等实验表明，施氮可以提高花生整株衰老期间叶片NR活性，提高氮素的同化能力。

## **1.6** 氮素对保护酶活性的影响

植物正常生长情况下，植物细胞内产生的有害物质，如活性氧等，与清除这些有害物质的保护酶，如SOD等处于动态平衡中。然而，当植物衰老或受到逆境胁迫时，这种平衡被打破，进而影响植物生长发育。因此，保护酶活性的大小能够直观地反映植物生长是否正常。

### **1.6.1** 丙二醛**MDA**

丙二醛(MDA)是膜质过氧化产物之一，其含量不仅直接标志膜质过氧化程度，也可间接表示组织中自由基的含量[60]，因而人们常以MDA作为判断细胞膜

7

质过氧化的一种主要指标[61]，其含量说明细胞膜的破环程度。氮素作为植物生长发育必需的大量元素之一，其形态和用量会直接影响植物体内丙二醛含量。有研究表明[62]，氮素水平提高显著降低了MDA含量，减少了细胞质膜的过氧化损伤。孙群等[63]研究表明，在水分亏缺条件下，合适的氮素可以提高叶片中酶促防御系统的活性，而缺氮或氮素水平过高则会增加叶肉细胞MDA含量。增施氮素可提高花生叶片SOD等酶活性，降低叶片MDA积累量[59]。邬飞波等[64]研究表明，适宜的施氮量可以显著增强棉花SOD活性，降低MDA含量，延缓叶片衰老。刘连涛等[65]研究表明，与中、高氮相比，低氮处理棉花，从盛玲末期开始，

SOD和POD活性快速降低，MDA含量快速升高，加速了棉花的衰老，而增加氮素则可以延缓衰老。在烟草研究中发现供应铵态氮，MDA含量显著高于硝态氮，但两者SOD和CAT活性无显著差异[66]。在水培条件下，完全供铵时菠菜叶片MDA含量最高，而铵硝比为50/50时，MDA含量略有下降[67]。

### **1.6.2** 超氧化物歧化酶**SOD**

超氧化物歧化酶(SOD)作为植物酶促防御系统中一种重要的保护酶，对清除植物体内活性氧有重要的贡献。SOD的主要功能是清除超氧物自由基O2-，避免进一步产生H2O2(O2-·+ O2-·→O2+ H2O2)，从而减轻O2-·对植物体的毒害作用。因此，SOD活性大小直接影响衰老过程中清除自由基能力的大小。一般来说，施氮可以提高植物叶片SOD活性[63,64,68,69]，氮肥后移或叶面施肥也可以提高植物叶片SOD活性[70, 71]。研究表明，施用氮肥都能提高苹果植株SOD活性，且硝态氮高于铵态氮[72]；而不同光强条件下，供应硝态氮和铵态氮对菜豆和烟草叶片

SOD活性没有显著影响[73, 74]。曹翠玲等[68, 69]研究发现，铵硝混合供应，小麦叶片

SOD、CAT活性最高，但MDA含量也最高。

### **1.6.3** 过氧化物酶**POD**

过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)具有分解H2O2的功能，可减小活性氧的毒性，POD主要清除在线粒体和细胞质中所产生的H2O2，是一种含铁卟啉的蛋白复合体[75]，而且能使脂质的过氧化物转化变成正常的脂肪酸，从而阻止脂质过氧化物积累而引起细胞中毒。干旱胁迫下，抗旱品种POD和SOD活性均高与不抗旱品种[76]。氮肥对POD活性的影响基本与SOD活性一致。施氮可以提高菠菜[77]、小麦[78]等作物叶片POD活性。

8

## **1.7** 三七氮素营养研究现状**.**

三七(*Panax notoginseng*(Buke) F. H. Chen)为多年生的五加科人参属草本植物，是中药材中的一颗明珠，享有“金不换”、“南国神草”的美誉。三七最早的文字记载见于1587年李时珍的《本草纲目》；1765年的赵学敏《本草拾遗》述：“人参补气第一，三七补血第一，味同而功亦等，故称人参三七，为中药之最珍贵者。”三七打粉可直接食用，也可作为为原料，例如，三七为复方丹参滴丸、云南白药、血塞通、片仔癀等中成药大品种的主要原料。目前，全国用三七做原料的中成药品种逾300个，生产厂家达1000余家，几乎覆盖所有中药制药企业，相关产品

销售收入达320亿。三七已有400多年的栽培历史，出产于我国云南文ft，随着三七药用价值和经济价值的不断挖掘，三七仅在文ft种植已不能满足市场需求。近几年，三七种植地迅速从文ft扩展到曲靖、红河、昆明等周边地区，2014年三七总种植面积达60万亩，产量达2500万公斤，农业产值已达200亿，三七产业已成为云南文ft重要的支柱型产业[79]。施肥是影响三七品质和产量的决定性因素之一，而氮作为植物所需的大量元素之一，对三七品质和产量的形成具有不可忽视的作用。

韦美丽等[80, 81]采用田间试验的方法研究了不同施氮（氮肥品种为尿素）水平对3年生三七生长、产量、品质的影响，施用方法按照常用施肥方式基施加6次追施，认为施用氮肥（施氮量≦22.5 kg N/亩）可显著改善三七的主要性状和产量，而对三七中各皂苷含量影响不大；还发现三七植株发病率和死亡率随着氮肥施用量（施氮量≦30 kg N/亩）的增加而呈逐步降低的趋势，因此认为氮肥的施用促进了三七植株抗病性的增强，建议生产上适宜氮肥用量为22.5～30 kg纯N/亩。孙玉琴[82]等在田间试验条件下研究了不同氮肥种类对三七生长、质量的影响，氮肥施用方式为4、6、8月追施，研究得出氮肥用量为15 kg纯氮/亩时，酰胺态氮肥、硝态氮肥、铵态氮肥、硝态氮铵态氮复合肥均显著促进三七生长，增加产量，以酰胺态氮肥（尿素）效果最好，其次为硝酸钙；施氮肥增加了三七的有效成分，并以硝酸钙最好；综合考虑各因素，三七生产上选用尿素做氮源较适宜[83]。王朝梁等[84]采用田间实验研究了不同氮磷钾配比对2年生三七生长及产量的影响，氮肥品种为尿素，肥料施用方式为1/3基施、1/3在展叶期拌土撒施和1/3在现蕾期追施，结果表明N: P2O5: K2O为1:1:2的处理生长形状和三七产量显著改善；并认为三七施氮肥以11～18 kg/亩为宜。而崔秀明[85]研究发现3年生三七每形成100 kg干物质仅需纯氮1.85 kg，并认为三七的需肥量较其他作物低，特别是对

9

氮的需求量相对较少。之后，崔秀明和陈中坚，采用四元二次回归正交转组合实验，研究了以尿素为氮肥对2年生三七产量的影响，施用方式为1/2基施，1/2追施，分析得出2年生三七最佳的氮肥用量为4 kg/亩[86]。归纳有关三七氮肥施用的研究，可以发现一下几个问题：1. 围绕三七氮肥施用，甚至栽培的研究较少，更无系统的研究，因此三七氮肥的施用缺乏丰富的理论；2. 氮肥对三七生长、产量、品质的影响因素复杂，氮肥种类、氮肥用量、施用方式等均会对其产生影响；3. 三七生产上氮肥的施用不仅决定其产量、品质，还影响对其存活率、抗病性等。因此，本次研究选取铵态氮和硝态氮两种主要形态氮素，及其不同用量对三七生长、品质及生理特征影响为题，从不同氮素形态的氮肥和用量两个方面着手，不光从生长、品质上探讨，还研究了其对三七生理特征的响应。

10

# 第 2 章 课题研究的背景、意义、内容和创新点

## **2.1** 研究背景

近几年，随着三七药食价值不断发掘，三七广泛应用于药业、保健行业、美容行业、饮食行业等等，使得其价格暴涨，因此三七种植户片面追求产量，在三七种植上大量施肥。为了方便快捷，三七种植户放弃了传统施用有机肥的习惯，而采用大量施用无机化肥。调查发现三七年氮肥施肥量高达22.5~30 kg N/亩（为玉米、水稻等农作物的2倍，烟草的4~5倍）。大量施用速效性化肥会导致酸碱度的急剧变化，土壤氮素营养形态与比例失调[87, 88]，一方面，生态环境遭到严重破坏，同时三七种植地土壤板结，连作障碍严重；另一方面，大量的肥料的施用导致三七田间病害严重、种植年限缩短、块根变小和三七药材苦涩味减弱、品质下降等系列问题，严重影响了三七的临床用药安全和云南三七产业的健康发展。

本课题组前期研究发现三七对铵较敏感，施用高浓度铵态氮对三七产生了毒害作用，而生产上多施用会短时间内转化为铵态氮的酰胺态氮肥。有关三七氮肥用量和不同氮肥品种的研究较少，且观点不尽一致。因此，开展不同形态氮素及用量对三七产量和品质的影响及生理特征反应的研究有重要的科学意义，这也是中药农业和中药资源生理生态学上有待解决的实际问题。

## **2.2** 研究目的意义

通过分析比较不同水平铵态氮、硝态氮供应条件下对三七生长不同时期植株根部生长发育、产量与有效成分累积量、矿质元素吸收特征和差异，明确不同氮素形态及用量三七生长反应效应；并从三七对不同形态氮素的吸收特征、差异和机制，不同形态氮素供应条件下三七植株植抗逆性反应等生理过程差异，解析不同形态氮素影响三七生长的各种可能作用机制，为三七生产上氮肥的合理施用和植物铵毒害的缓解措施提出理论依据，并为最终提出调控三七产量和质量的氮素管理策略，降低三七田间病虫害，保证三七产品安全、有效和稳定奠定基础。

11

## **2.3** 研究内容、目标以及拟解决的问题

### 2.3.1 研究内容

1. 不同氮素形态及用量对三七幼苗生长和生理特征影响的研究；

2. 不同氮素形态及用量对一年生三七生长、品质及生理特征影响的研究；

3. 三七对不同氮素形态的吸收特征研究。

### **2.3.2** 拟解决的问题

1. 明确铵态氮和硝态氮对三七幼苗和一年生三七生长及保护酶活性的影响；

2. 明确铵态氮和硝态氮对三七品质的影响；

3. 明确三七对铵态氮和硝态氮吸收的动力学方程。

### **2.3.3** 技术路线

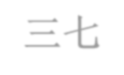
见图2.1

### **2.3.4** 创新点

系统研究了三七对铵态氮和硝态氮的吸收特征，以及不同氮素形态对三七生长、生理特征的影响，从而为三七生产氮肥的施用提供科学的理论依据，在理论上具有一定的创新。采用沙培的方式对三七进行培育，在实验方法上具有一定的创新。

12

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | 元 | 皂 | 抗 |
| 产 | 素 | 苷 | 逆 |
| 量 | 含 | 含 | 生 |
|  | 量 | 量 | 理 |



**三七**

氮素受控

砂培

水培

生长发育

生理生化

根

系生长

活

性酶

吸

收特征

合理的氮素形态及

用量

三七对不同氮素

形态吸收动力学

**指导三七生产氮肥**

**合理的施用**

图2.1 技术路线

13

# 第 3 章 不同氮素形态及用量对三七幼苗Th长及Th理特征的

**影响**

## **3.1** 前言

铵态氮和硝态氮是植物能够吸收利用的主要两种无机氮素形态，由于其离子自身特性的不同，致使植物对其的吸收和同化方式不同。植物对铵态氮的吸收为被动吸收，在植物根系通过GS-GOGAT途径直接同化为氨基酸后，再转运至地上部供植物利用；而植物对硝态氮的吸收为主动方式，根系吸收硝态氮后不能直接利用，需用通过硝酸还原酶和亚硝酸还原酶转化为氨后，才能进一步被同化利用。因此，同一植物对铵态氮和硝态氮亲和力以及吸收的最大速率不同，进而影响铵同化酶GS和GDH活性。如：烟草GS活性随硝态氮施用比例增加，其活性降低[50]。

研究表明，氮素形态和用量对植物保护酶系统活性的影响不同。施氮可以提高植物叶片SOD活性[63,64,68,69]，增施氮素可提高花生叶片SOD等酶活性，降低叶片MDA积累量[59]，施用氮肥都能提高苹果植株SOD活性，且硝态氮高于铵态氮[72]。关于氮素形态及用量对作物氨同化酶和保护酶活性的影响报道已很多

[50,63,64,68,69,72]，但不同氮素形态及用量对三七幼苗氨同化酶、保护酶活性以及吸

收动力学的研究鲜见报道。因此，本研究以三七为研究对象，选用硝态氮和铵态氮两种氮素形态，设置5个氮素用量，采用沙培的方式对其生长、氨同化酶（GS和GDH）、保护酶（SOD和POD）等生理指标以及吸收动力学进行研究，目的是为明确三七对不同形态氮素形态及用量的响应，以期为三七育苗提供理论依据。

14

## **3.2** 材料与方法

### **3.2.1** 实验设计

#### **3.2.1.1** 幼苗的培育

2014年1月16日选取大小一致，健康饱满的三七种子播于盛有干净河沙的穴盘里（规格: 1.9 cm\*1.2 cm\*4.7 cm），一个穴两粒种子，每周浇一次水以保持沙的潮湿，出苗后，每5天浇一次水，其余按照正常管理，备用。

#### **3.2.1.2** 不同氮素形态对三七幼苗Th长及Th理活性的影响

2014年4月16日选取生长一致的幼苗（3.2.1.1）进行不同氮素形态及用量实验，设置铵态氮和硝态氮浓度为0.5、2.5、5.0、7.5、10.0 mmol·L -1，营养液采用霍格兰大量元素和阿农微量元素，其它元素的用量为全营养的1/4，另加7µmol/L二氰胺作为硝化抑制剂，设置3个重复。处理后第二天，每天观察记录

三七幼苗的生长情况，第5天取样测定三七生理指标，第15天取样观察三七根部特征的变化和其他形态指标的测定。

#### **3.2.1.3** 三七幼苗对铵态氮和硝态氮的吸收动力学

选取长势一致的3.2.1.1幼苗，采用常规耗竭法，将经纯水清洗后的三七幼苗放入支持电解质为0.1 mmol·L-1的CaSO4溶液48 h，以耗竭植物体内积累的氮素。设置铵态氮和硝态氮的浓度为：0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.0、2.0、5.0、

15.0、20.0 mmol·L -1，将分析纯硫酸铵和硝酸钙分别溶于0.1 mmol·L -1的CaSO4

溶液配制不同浓度的培养液。取不同浓度的铵态氮和硝态氮溶液50 mL置于100

mL的塑料瓶，每瓶放3株吸干表面水分的三七幼苗，称重记录，设置3个重复。室内自然光照下培养24 h后，称重，用0.1 mmol·L -1的CaSO4溶液补足损失的重量，摇匀后取出植株，吸净表面的水分，从根基处将根系和茎叶分开并分别称重，测定溶液铵态氮和硝态氮含量。

### **3.2.2** 测定指标及分析方法

#### **3.2.2.1** 倒伏率及植株形态特征

倒伏率(%) =每盆倒伏三七幼苗数/每盆三七幼苗总数\*100%，用游标卡尺和

15

尺子测定三七株高、茎粗、叶片长宽、剪口长宽、块根长宽、根粗、须根长并计数根条的数量。

#### **3.2.2.2** **GS**活性的测定

谷氨酰胺合成酶(GS)活性测定采用Zhang等的方法[89]

原理：GS在ATP和Mg2+存在下，催化植物体内谷氨酸形成谷氨酰胺。在反应体系中，谷氨酰胺转化为γ－谷氨酰胺基异羟肟酸，进而在酸性条件下与铁形成红色络合物，该络合物在540 nm处有最大吸收峰。

方法：a.粗酶液的提取称取植物材料1 g于研钵中，加3 mL提取缓冲液

(0.05 mol·L -1 Tris-HCl, pH 8.0, 内含2 mmol·L -1Mg2+, 2 mol·L -1DTT, 0.4 mol·L -

1蔗糖）置于冰浴上研磨匀浆，转移于离心管中，4℃下15, 000 rpm离心20 min，上清液即为粗酶液。

b.反应1.6 mL反应混合液B，加入0.7 mL粗酶液和0.7 mLATP溶液，混匀，于37℃下保温半小时，加入显色剂1 mL，摇匀，并放置片刻后于5 000 rpm

下离心10 min，取上清液测定540 nm处的吸光度值，以加入1.6 mL反应混合液

A为对照。粗酶液供可溶性蛋白的测定。

#### **3.2.2.3** **GDH**活性的测定

参照Loulakakis等(1991)的方法[90]

原理：以每分钟在30℃（常温下）还原1μmol的NADPH所需要的酶量为一个活性单位。

方法：a.粗酶液的制备取适量的植物叶片0.25 g，用液氮研磨后立即加入放置在冰浴上已预冻好的提取缓冲液5 mL(内含50 mmol·L -1 Tris-HCl(pH 7.5)、1.0 mmol·L -1EDTA、1.0 mmol·L -1MgCl2、0.5% TritonX-100和0.1%β-疏基乙醇)，混匀，4℃12 000 rpm离心30 min后，吸取上清液，即为粗酶提取液，分装后置于-20℃冰箱冻存。

b. GDH活性的测定测定前先在准备好的5 mL离心管中加入1.3 mL测活储备液、0.05 mL CaCl2、0.05 mL16 mmol·L -1NADH溶液和2 mL纯水；加入0.05 mL，粗酶液启动反应，立即于340 nm下读取吸光度值，每30秒读取一次，共读6 min，以稳定下降的一段吸光度值计算下降速度，为GDH的相对活性。空白对照管不加6 mmol·L -1NADH溶液和粗酶液，以纯水代替，其余相同。

16

#### **3.2.2.4** 可溶性蛋白含量的测定

可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝比色法[91]。考马斯亮蓝是一种染料，在游离状态下呈红色，在稀酸溶液中与蛋白质的疏水结合后变为青色。采用3.2.2.2的提取液，取0.5 mL提取液加入4.5 mL水再加5 mL考马斯亮蓝溶液(100 mg考马斯亮蓝溶于50 mL 90%乙醇，加入100 mL85%的磷酸，再用蒸馏水定容到1L)，显色5 min后，在波长595 nm下进行比色。

#### **3.2.2.5** 丙二醛含量的测定

丙二醛含量的测定采用硫代巴比妥酸法[92]。取0.5 g植株样品，加5% TCA

5 mL，研磨后所得匀浆在3 000 r/min下离心10 min. 取上清液2 mL，加入0.67%

TBA 2 mL，混合后在100℃水浴上加热30 min，冷却后再离心一次。分别测定上清液在450 nm、532 nm和600 nm处的吸光度值，按下面公式计算新鲜组织中

MDA的含量。

MDA含量，(µmol/g·FW) =[6.45(A 532-A600) -0.56A450] \*r/m

r…………………………分取倍数，

m…………………………植株重量

#### **3.2.2.6** 超氧化物歧化酶**SOD**含量的测定

超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑比色法[92]。SOD的提取：称取植物材料0.5 g于预冷的研钵中，加2 mL预冷的提取介质（50 mmol·L -1磷酸缓存液pH 7.8内含1%聚乙烯吡咯烷酮）在冰浴中研磨匀浆，转移至10 mL容量瓶中，用提取介质冲洗研钵2～3次，合并冲洗液于容量瓶中，定容至10 mL。取5 mL提取液于4℃下1 0000 rpm离心15 min，上清液即为SOD粗提取液。

#### **3.2.2.7** 过氧化物酶**POD**含量的测定

过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚的方法[92]。粗酶液的提取：称取植物材料0.50 g，加3.0 mL 20 mmol·L -1KH2PO4于冰浴下研磨提取，当材料研成匀浆后，再加入7.0 mL KH2PO4溶液于匀浆混合均匀。匀浆液在5 000×g离心15 min，分离上清液保存于冰箱中备用。

POD活性的测定：取3.0 mL反应混合液（在50 mL100 mmol·L -1磷酸缓冲液(pH 6.0)中加入28µL愈创木酚，溶解后加入19µL 30% H2O2，混合均匀，冷

17

藏）加1 mL酶提取液，立即启动秒表，在470 nm处读取0～3 min的吸光度值，每隔1 min读一次。以每克鲜组织每分钟A470nm值变化0.10为1个酶活性单位

POD活性(µg·g -1FW·min -1) = 𝑋×Vt

𝐹𝑊×𝑉𝑠×𝑡

#### **3.2.2.7** 硝态氮及铵态氮的测定

NO3-采用紫外比色法测定，NH4+离子采用纳氏试剂比色法测定。

#### **3.2.2.8** 动力学相关参数计算方法

##### **3.2.2.8.1** 离子的吸收速率

*V =* (𝐶0−𝐶1)𝑉

𝑡×𝑊

式中*v*为离子吸收速率µmmol (g·h) -1；*C0*和*C1*分别为试验开始和结束时的离子浓度(mmol·L-1)；t为吸收时间（h），W为植物鲜重（g）。

##### **3.2.2.8.2** 最大吸收速率**Vmax**和**Km**米氏常数

采用双倒数法Lineweare-Burk法[93]:

1 1

=

𝑉𝑉𝑚𝑎𝑥

𝐾𝑚1

+×

𝑉𝑚𝑎𝑥𝐶

以1/V为应变量，1/C为自变量作图，其中直线拮据即为1/*Vmax*，斜率即为

*Km*/*Vmax*，进而求得*Vmax*和*Km*. V为离子的吸收速率，C为外液中离子浓度。

#### **3.2.2.9** 数据统计及分析

采用EXCEL和SPSS 18.0对数据进行统计和单因素方差分析。

18

## **3.3** 结果与分析

### **3.3.1** 倒伏及Th长

图3.1 结果表明，浇施不同形态及不同水平氮素的营养液后，第二天，

2.5 mmol·L -1铵态氮处理三七幼苗出现倒伏，且随着铵态氮用量和时间增加，倒伏率增加，10.0 mmol·L -1铵态氮处理第二天倒伏率达到2.5%，到第5天幼苗倒伏率达到了27.5%，而硝态氮处理则未出现倒伏现象（图3.1）。

30



第二天

第三天第四天第五天

三七幼苗倒伏率（%）

25

20

15

10

5

0

硝态氮A0.5 A2.5 A5.0 A7.5 A10

氮素水平N level (mmol·L -1)

图3.1 施营养液后三七幼苗倒伏情况

表3.1和图3.2结果表明，随着氮素用量增加，铵态氮处理三七幼苗株高、叶片长呈降低趋势，但差异不显著，根长、根条数和单株重呈显著降低趋势，而叶片宽则呈显著增加趋势。硝态氮处理三七幼苗株高、叶片大小、根条数呈增加趋势，根长呈降低趋势，但差异不显著。当氮素用量大于5.0 mmol·L -1时，铵态

氮处理根长、根条数显著低于硝态氮处理；当氮素用量为10.0 mmol·L -1时，铵态氮处理株高、叶片长和单株重显著低于硝态氮处理。



图3.2 不同氮素形态及用量对三七幼苗根部生长的影响

19

表3.1 不同氮素形态及用量三七幼苗生长的影响

| 氮素水平  (mmol·L -1) | 株高/cm | | 叶片长/cm | | 叶片宽/cm | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 7.01a±0.59a | 7.16±0.42a | 2.56±0.19a | 2.53±0.21a | 1.61±0.14b | 1.67±0.14b |
| 2.5 | 6.52a±0.37a | 7.23±0.76a | 2.45±0.30a | 2.77±0.08a | 1.60±0.14b | 2.01±0.20a |
| 5.0 | 6.76±0.33a | 6.89±0.70a | 2.41±0.30a | 2.51±0.15a | 1.76±0.12a | 1.82±0.05ab |
| 7.5 | 6.55±0.77a | 7.00±0.54a | 2.40±0.13a | 2.51±0.27a | 1.68±0.11ab | 1.83±0.12ab |
| 10.0 | 6.57±0.87a | 7.43±0.32a\* | 2.41±0.16a | 2.71±0.11a\* | 1.72±0.09a b | 1.96±0.16a |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 根长/cm | | 根条数/条 | | 单株重/g | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 2.94±0.53a | 2.77±0.27a | 5.5±0.6a | 6.1±0.6a | 0.29±0.01a | 0.29±0.02a |
| 2.5 | 2.74±0.34a | 2.75±0.25a | 5.6±0.5a | 6.0±0.0a | 0.28±0.02a | 0.30±0.01a |
| 5.0 | 1.84±0.44b | 2.74±0.28a \* | 5.2±1.0a | 6.7±0.7a \* | 0.27±0.01ab | 0.29±0.02a |
| 7.5 | 1.66±0.42b | 2.61±0.28a \* | 5.3±0.6a | 6.5±0.8a \* | 0.26±0.02b | 0.29±0.01a |
| 10.0 | 1.28±0.14b | 2.61±0.29a \* | 3.7±1.2b | 7.0±0.8a \* | 0.26±0.02b | 0.30±0.03a\* |

注：同列小写字母表示不同氮素用量处理间差异达显著水平，p＜0.05；\*表示同浓度铵态氮与硝态氮处理间差异达显著水平，p＜0.05，后同。

### **3.3.2** **GS**和**GDH**活性

图3.3结果表明，氮素浓度升高对三七幼苗GS活性有显著影响，铵态氮处理三七幼苗GS活性先升高后降低，当铵态氮用量为2.5 mmol·L -1时，GS活性最大；而硝态氮处理GS活性则呈升高趋势，当硝态氮用量为10.0 mmol·L -1时，

GS活性达到最大。不同氮素形态处理间，只有当氮素用量为10.0 mmol·L -1时，硝态氮处理和铵态氮处理GS活性差异达到显著水平。氮素形态对三七幼苗GDH活性影响不显著；铵态氮用量对三七幼苗GDH活性有显著影响，其活性随铵态氮用量增加呈显著降低趋势；而硝态氮用量对三七幼苗GDH活性没有显著影响。

20



图3.3 不同氮素形态及用量对三七幼苗GS和NADH-GDH活性的影响

### **3.3.3** 可溶性蛋白和**MDA**含量

图3.4表明，三七幼苗可溶性蛋白和MDA含量随着铵态氮用量增加而显著升高，而随硝态氮用量增加差异不显著。不同氮素形态处理间，当氮素用量小于

5.0 mmol·L -1时，铵态氮和硝态处理三七幼苗可溶性蛋白和MDA含量差异不显著，而当氮素用量大于5.0 mmol·L -1时，铵态氮处理可溶性蛋白和MDA含量均显著高于硝态氮处理。



图3.4 不同氮素形态及用量对三七幼苗可溶性蛋白含量和MDA含量的影响

### **3.3.4** **SOD**和**POD**活性

图3.5表明，硝态氮用量对三七幼苗SOD活性影响不显著，而铵态氮用量对三七幼苗SOD活性有显著影响，随铵态氮用量增加呈先增加后减小趋势，当铵态氮用量为5.0 mmol·L -1时，SOD活性最大；然而，不同形态氮素处理间，

SOD活性差异不显著。氮素用量和形态对三七幼苗POD活性均有显著影响，

POD 活性随铵态氮用量增加呈先增加后减小趋势，当铵态氮用量 为

21

5.0 mmol·L -1时达到最大；而POD活性随硝态氮用量增加而增加；当氮素用量大于7.5 mmol·L -1时，硝态氮和铵态氮处理POD活性差异达到显著水平。



图3.5 不同氮素形态及用量对三七幼苗SOD和POD酶活性的影响

### **3.3.5** 动力学吸收特征

三七幼苗对铵态氮的吸收速率随着溶液中铵离子浓度的增大而增大（图3.6），

吸收曲线符合Michaelis-Menten方程的描述，其回归方程为V= 0.0558𝐶

13.3033+𝐶

，决定系

数*R2*=0.9962(n=12)，达到极显著水平(P<0.01)。



图3.6 三七幼苗对铵态氮的吸收动力学曲线

三七幼苗对硝态氮的吸收速率随着溶液中硝酸根离子浓度的增加而增大

（图3.7），吸收曲线符合Michaelis-Menten方程的描述，其回归方程为

22

V= 0.0303𝐶 ，决定系数*R2*=0.9823(n=12)，达极显著水平（p＜0.01）。

7.0669+𝐶



图3.7 三七幼苗对硝态氮的吸收动力学曲线

采用Lineweaver &Burk转换式处理数据得到三七幼苗对铵态氮和硝态氮的吸收动力学方程参数如表3.2，三七幼苗对铵态氮的最大吸收速率Vmax大于硝态氮，是硝态氮的1.84倍，但三七幼苗对铵态氮吸收的米氏常数*Km*小于硝态氮，即三七幼苗对铵态氮的亲和力小于硝态氮，只有硝态氮的53.12%。

表3.2 三七幼苗对不同形态氮素的吸收动力学参数

| 氮吸收形态-氮源 | 最大吸收速率  Vmax[µmol(g·h) -1] | 米氏常数  Km(mmol·L -1) |
| --- | --- | --- |
| +  NH4 -(NH4)2SO4 | 0.0558 | 13.3033 |
| -  NO3 -Ca(NO3)2 | 0.0303 | 7.0669 |

## **3.4** 讨论

植物正常生长情况下，植物体内的活性氧的产生与清除处于动态平衡状态，当植物衰老或受到逆境胁迫时，这种平衡就会被破坏，积累起来的活性氧就会对植物细胞造成伤害[94]。丙二醛MDA含量越高，表示植物受伤害程度越大[95]，进一步影响植物对营养的吸收和同化。研究表明，氮素用量和形态不仅会对植物保护酶活性产生影响[63,67~69]，还会对植物氮素同化酶产生影响。研究表明，氮素用量较低时GS活性增加，而氮素用量较高，GS活性却受到抑制；而GDH活性则与

GS活性相反[47]。

23

本研究结果表明，三七幼苗用铵态氮处理后第二天就出现倒伏现象，且随着铵态氮用量和处理时间增加，倒伏率增大，而硝态氮则未出现倒伏（图3.1）。其原因可能是由于三七幼苗用营养液处理前，只靠种子自身的营养维持幼苗的生长，其茎缺少足够的碳架使幼苗强壮，幼苗吸收铵态氮后消耗大量的碳水化合物同化氨，使茎中碳架更少，进而使三七幼苗出现倒伏现象；而幼苗吸收硝态氮后，多余的NO3-能储存在幼苗液泡中，避免了大量消耗碳架，所以硝态氮处理的三七幼苗未出现倒伏。铵态氮处理抗氧化保护酶SOD和POD活性受到抑制（图

## 3.5），MDA含量处于较高水平（图3.4），由此可以知道，铵态氮对植物细胞造成了伤害，而当铵态氮用量增加其伤害作用越大，进而导致了氨同化关键酶GS和GDH 活性随着铵态氮用量增加而降低（图3.3），过多的NH3 无法被迅速同化，使幼苗体内残留大量的NH4+，进一步加重了铵态氮对幼苗的伤害作用。此外，由于三七幼苗对铵态氮的亲和力小于硝态氮（表3.2），所以导致三七幼苗对铵态氮较为敏感，容易出现毒害症状。

综上所述，三七对硝态氮的亲和力大于铵态氮，但对铵态氮的吸收潜力较大；三七幼苗在低浓度铵态氮下，生长正常，而在高浓度铵态氮下，生长严重受到抑制，保护酶活性增加，铵同化酶活性降低，出现毒害现象，而硝态氮则使三七能够正常生长。因此，三七喜硝态氮，铵态氮会对三七产生毒害。

24

# 第 4 章 不同氮素形态及用量对一年Th三七Th长和Th理特征

**的影响**

## **4.1** 前言

氮素营养是作物需求量最大的矿质元素之一，也是限制作物生长及生产力的主要因子之一。作物能够吸收利用的氮素形态主要有铵态氮、硝态氮，以及一些可溶性有机氮化合物，如氨基酸等。然而，植物对不同形态氮素吸收同化途径不同，硝态氮的吸收是逆电化学势梯度进行的主动吸收过程，需要消耗代谢能量，而铵态氮的吸收是与H+进行交换的；植物吸收硝态氮后首先还原成铵态氮再形成氨基酸供植物利用，多余的NO3-储存在液泡里，而植物吸收铵态氮后立即同化呈氨基酸供植物利用，多余的NH4+需要大量的碳源和能量进行同化[26]，容易导致植物“铵毒害”。因此，植物对不同形态氮素吸收同化途径不同，导致植物对不同形态氮素的生理响应也不一样。如：供给铵态氮，作物的总氮和游离氨基酸含量均高于供给硝态氮[3]。

中药材人工栽培的面积逐年扩大，而药材栽培上肥料的施用技术相对与其他农作物还较薄弱。目前，已有许多研究多中药材人工栽培中肥料的施用进行了研究，主要集中于对药材产量和品质方面的研究[80~84, 86]，而关于施肥对药材种植中药材的生理特征的影响研究还较少。因此，本研究以三七为研究对象，研究不同氮素形态及用量对三七生长及生理特征的影响，根据其对氮素形态及用量的生理特征响应，用以指导三七生产中氮肥的施用，为三七规范化种植提供理论依据。

## **4.2** 材料与方法

### **4.2.1** 实验材料

实验在云南省农业科学院药用植物研究所小哨实验基地进行。三七种苗为长势一致的文ft一年生三七子条。塑料筐：下底28.5 cm\*18 cm，上低30 cm\*22

cm，高10 cm，容积约5 L。

25

### **4.2.2** 实验设计

沙培盆栽实验，每盆装沙10 kg，通过调整霍格兰营养液氮素含量，分别设置铵态氮和硝态氮浓度为0.5、2.5、5.0、10.0、15.0 mmol·L -1，其余大量元素及微量元素按照1/4霍格兰营养液及阿侬微量元素营养液，营养液中硝化抑制剂按照7µmol·L -1加入。于2014年1月14日选取大小一致的三七子条植于沙盆里，

每盆9株。于三七出苗前保持沙湿润，待4月12日出苗整齐后，开始进行不同

氮素营养液处理，每个处理设置3次重复，每15天浇一次营养液，其余按照田

间正常管理。分别于处理1个月（5月16日）、处理2个月（6月16日）和处理4个月（8月16日）进行三次取样。

### **4.2.3** 测定项目及分析方法

#### **4.2.3.1** 农艺形状及Th物量的测定

用游标卡尺和直尺测定三七株高、叶柄长、茎粗、叶片大小、剪口大小、块根大小、须根长、根粗，统计根条数，分别称量植株地上地下部分的生物量，并将样品洗净，晾干，粉碎，备用。

#### **4.2.3.2** 根系活力的测定

采用TTC法[92]称取根尖样品0.5 g，放入10 mL烧杯中，加入0.4% TTC溶液和磷酸缓冲液的等量混合液10 mL，把根系充分浸没在溶液内，在37℃下暗保温3 h，此后加入1 mol·L-1硫酸2 mL，以停止反应。然后把根取出，吸干水分后与乙酸乙酯3~4 mL和少量石英砂一起在研钵内研碎，以提取三苯甲腙。红色提取液移入试管，并用少量乙酸乙酯把残渣洗涤2~3次，皆移入试管，最后加乙酸乙酯使总量为10 mL，用分光光度计在波长485 nm下比色，以空白实验作参比测吸光度，查标准曲线，即可求出四氮唑还原量。

#### **4.2.3.3** **GS**活性的测定

同第3章3.2.2.2

#### **4.2.3.4** **GDH**活性的测定

同第3章3.2.2.3

26

#### **4.2.3.5** 可溶性蛋白的测定

同第3章3.2.2.4

#### **4.2.3.6** 丙二醛含量的测定

同第3章3.2.2.5

#### **4.2.3.7** **SOD**活性的测定

同第3章3.2.2.6

#### **4.2.3.8** **POD**活性的测定

同第3章3.2.2.7

## **4.3** 结果与分析

### **4.3.1** 对三七Th长的影响

#### **4.3.1.1** 农艺性状性

表4.1表明，处理1个月，铵态氮用量增加对三七株高、叶柄长、叶片长、剪口长、根条数有显著影响，对剪口宽、主根长、宽的影响较小，当用量小于

5.0 mmol·L -1，对三七株高、叶片长、叶片宽、剪口长、块根长、根条数均有一定的促进作用，而当用量大于5.0 mmol·L -1则会对其造成抑制作用，尤其当用量为15 mmol·L -1时，三七株高和根条数均显著低于用量小于5.0 mmol·L -1的处理。硝态氮用量增加对三七各性状的影响均较小。此外，氮素用量为0.5 mmol·L -1时，铵态氮处理三七株高、叶柄长、叶片长、块根长、块根宽和须根长均比硝态氮处理大，但差异不显著；而当氮素用量为10 mmol·L -1时，铵态氮处理三七的根条数显著低于硝态氮处理。上述结果说明，当氮素用量较低时，铵态氮和硝态氮处理对三七生长均有一定的促进作用，氮素用量较高时，铵态氮会对三七生长产生抑制作用，硝态氮对其仍有促进作用。

27

表4.1 处理1个月不同形态氮素及用量对三七生长的影响

| 氮素水平(mmol·L -1) | 株高/cm | | 叶柄长/cm | | 叶片长/cm | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 12.76±2.22a | 12.34±0.91a | 4.76±0.45ab | 4.62±0.43a | 5.69±0.37ab | 5.11±0.53b |
| 2.5 | 13.04±1.16a | 12.37±1.53a | 5.07±0.47a | 5.13±0.53a | 5.51±0.12ab | 5.36±0.11ab |
| 5.0 | 12.32±0.81ab | 12.12±1.05a | 4.25±0.27ab | 4.82±0.37a | 5.99±0.52a | 5.34±0.25ab |
| 10.0 | 11.23±0.83ab | 11.42±1.24a | 3.32±0.32b | 4.89±0.18a | 5.26±0.51ab | 6.18±0.61a |
| 15.0 | 10.70±1.15b | 11.13±1.22a | 3.63±0.12ab | 4.34±0.06a | 4.65±0.37b | 5.47±0.58ab |
| 氮素水平(mmol·L -1) | 剪口长/cm | | 剪口宽/cm | | 块根长/cm | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 1.24±0.17b | 1.53±0.15a | 0.83±0.03a | 0.85±0.04a | 2.80±0.31a | 2.69±0.33a |
| 2.5 | 1.38±0.18ab | 1.32±0.14a | 0.75±0.07a | 0.75±0.03a | 3.41±0.35a | 2.26±0.25a |
| 5.0 | 1.54±0.11a | 1.32±0.09a | 0.72±0.03a | 0.77±0.13a | 3.01±0.34a | 2.66±0.28a |
| 10.0 | 1.48±0.07ab | 1.33±0.08a | 0.72±0.05a | 0.73±0.01a | 3.10±0.31a | 3.16±0.01a |
| 15.0 | 1.47±0.03ab | 1.29±0.02a | 0.78±0.03a | 0.72±0.01a | 3.38±0.42a | 2.67±0.05a |
| 氮素水平(mmol·L -1) | 块根宽/cm | | 根条数/条 | | 须根长/cm | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 1.13±0.06a | 1.08±0.12a | 23.8±3.3ab | 27.2±2.3a | 6.24±0.65a | 5.15±0.61a |
| 2.5 | 1.12±0.07a | 1.46±0.13a | 28.6±0.7a | 27.3±3.1a | 6.08±0.35a | 5.16±0.53a |
| 5.0 | 1.09±0.04a | 1.11±0.12a | 26.3±2.5a | 24.7±2.6a | 4.69±0.52b | 5.11±0.46a |
| 10.0 | 1.05±0.06a | 1.13±0.10a | 13.4±2.1bc | 23.1±3.4a\* | 4.84±0.51b | 4.31±0.84a |
| 15.0 | 1.15±0.11a | 1.09±0.03a | 7.3±0.1c | 21.6±3.1a\* | 5.05±0.48b | 4.59±0.55a |

表4.2表明，处理2个月，氮素用量增加，铵态氮处理对三七株高、剪口长、

块根宽、根条数有抑制作用，而当铵态氮用量小于5.0 mmol·L -1时，对三七叶柄

长、叶片长、剪口宽有促进作用，大于5.0 mmol·L -1则有抑制作用，尤其是对三七根条数抑制作用显著。硝态氮用量增加对三七植株性状的影响较小，仅对三七根条数有一定抑制作用，但与同等量的铵态氮处理相比，其抑制作用较小。说明随着处理时间的增加，高浓度铵态氮和硝态氮均对三七根部性状有抑制作用，但铵态氮对三七根部性状的抑制作用大于硝态氮。

28

| 氮素水平  (mmol·L -1) | 株高/cm | | 叶柄长/cm | | 叶片长/cm | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 13.84±1.07a | 12.89±1.68a | 4.88±3.81ab | 5.11±0.49ab | 5.85±0.72ab | 5.37±0.42a |
| 2.5 | 12.70±1.01b | 11.85±1.14ab | 5.14±7.38ab | 5.25±0.96a | 5.55±0.53abc | 5.37±2.37a |
| 5.0 | 12.30±1.59b | 12.02±0.66ab | 5.42±0.93a | 4.62±0.45b | 6.01±0.53a | 5.42±0.39a |
| 10.0 | 12.30±0.75b | 11.90±1.72ab | 4.68±0.33bc | 4.58±0.40b | 5.30±0.32bc | 5.57±0.37a |
| 15.0 | 12.33±1.96b | 11.36±1.10b | 4.06±0.58c | 4.56±0.33b | 5.02±0.60c | 5.84±0.96a |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 剪口长/mm | | 剪口宽/mm | | 块根长/mm | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 13.10±1.73a | 12.51±1.28a | 7.21±0.53ab | 6.83±0.52b | 28.04±5.00a | 25.91±1.86b |
| 2.5 | 12.31±1.43ab | 12.16±1.88a | 7.48±1.05ab | 7.47±1.05a | 28.66±4.71a | 26.44±2.66b |
| 5.0 | 11.29±0.96b | 11.64±1.04a | 7.88±0.47b | 7.06±0.49a | 28.20±3.65a | 25.56±2.04b |
| 10.0 | 11.65±1.26b | 11.81±1.73a | 7.58±0.75ab | 7.32±0.54a | 30.62±2.83a | 27.74±2.90ab |
| 15.0 | 11.57±1.28b | 11.52±0.71a | 7.18±0.96b | 7.33±0.65a | 28.42±3.98a | 28.32±2.51a |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 块根宽/mm | | 根条数/条 | | 须根长/cm | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 11.16±1.20a | 9.64±0.97b | 26.8±3.8a | 22.44±6.0ab | 5.22±0.81a | 4.90±0.70a |
| 2.5 | 9.80±1.18b | 10.90±1.39a | 26.6±3.7a | 26.25±3.3a | 5.63±1.04a | 5.40±0.72a |
| 5.0 | 9.75±1.83b | 10.55±1.08a | 20.5±4.9b | 25.6±2.6ab | 5.90±0.72a | 4.73±4.82a |
| 10.0 | 9.61±0.61b | 9.99±0.52ab | 12.5±3.1c | 19.7±1.8b\* | 5.59±0.45a | 5.10±0.57a |
| 15.0 | 9.87±0.44b | 9.66±0.93b | 4.0±1.4d | 11.4±1.8c\* | 4.33±0.70b | 5.24±0.89a\* |

表4.3 表明，处理4个月，随着氮素用量增加，铵态氮处理对三七株高等性

状的抑制与硝态氮处理间差异增大，其中当氮素用量为5.0 mmol·L -1时，硝态氮处理的株高、叶柄长、块根长、块根宽、根条数与须根长均显著高于铵态氮处理。说明随着处理时间的增加，与硝态氮处理相比，铵态氮处理对三七生长的抑制逐渐增大，第一个月主要抑制地下部分根条数的数量，第四个月地上部株高、叶柄长和地下部分各性状均受到显著抑制。

29

| 氮素水平  (mmol·L -1) | 株高/cm | | 叶柄长/cm | | 叶片长/cm | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 13.72±2.95a | 15.39±2.38b | 5.42±1.22ab | 5.76±1.28a | 5.51±0.67b | 5.71±1.36a |
| 2.5 | 13.90±1.29a | 14.72±3.50b | 6.53±0.67a | 6.38±1.81a | 6.67±0.72a | 6.79±1.33a |
| 5.0 | 13.77±2.49a | 16.08±2.67a\* | 5.23±1.07b | 6.55±0.92a\* | 6.09±0.75ab | 6.66±1.72a |
| 10.0 | 13.30±0.64a | 14.89±2.12b | 5.85±1.63ab | 6.32±1.78a\* | 5.48±1.75b | 6.10±1.61a\* |
| 15.0 | 12.29±1.00b | 14.30±1.93b | 5.30±0.55b | 6.32±2.57a\* | 5.89±0.5b | 6.91±0.79a\* |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 剪口长/mm | | 剪口宽/mm | | 块根长/mm | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 12.35±3.75b | 12.82±1.89b | 8.38±1.34a | 7.68±0.65a | 34.21±4.69a | 31.61±2.84b |
| 2.5 | 12.21±3.03b | 14.78±2.51ab | 7.97±1.16ab | 7.46±1.14a | 30.34±2.64b | 29.30±4.33ab |
| 5.0 | 14.68±3.29a | 14.59±2.22ab | 7.85±1.17ab | 7.53±0.77a | 27.28±3.16bc | 31.02±2.98a\* |
| 10.0 | 14.27±5.58ab | 15.12±2.01a | 7.36±0.89b | 7.77±0.72a | 26.66±3.67c | 32.28±4.00a\* |
| 15.0 | 14.23±3.16ab | 14.54±2.45ab | 7.55±0.49ab | 7.73±0.74a | 27.67±2.83bc | 25.61±2.50c |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 块根宽/mm | | 根条数/条 | | 须根长/cm | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 12.52±1.35ab | 12.04±0.95b | 27.2±6.0ab | 31.2±4.7a | 5.56±0.70ab | 5.76±1.81ab |
| 2.5 | 13.14±1.85a | 12.57±1.33ab | 28.2±4.2a | 30.1±6.3ab | 5.84±2.00a | 5.98±2.26a |
| 5.0 | 11.40±1.32b | 13.37±1.35a\* | 21.1±2.2b | 29.6±6.4ab\* | 4.58±1.31c | 5.57±1.21ab\* |
| 10.0 | 11.87±1.30b | 12.00±1.24b | 13.0±1.2c | 23.6±6.8b\* | 4.73±1.48c | 4.65±1.09ab |
| 15.0 | 11.66±0.59b | 13.04±1.31ab | 11.3±0.6c | 24.2±1.9ab\* | 4.34±1.03c | 4.33±0.78a |

#### **4.3.1.2** **Th**物量

表4.4表明，处理1个月，随着氮素用量增加，铵态氮和硝态氮处理茎叶和

根系生物量均呈先增加后减小趋势，当铵态氮和硝态氮用量分别为5.0和10.0

mmol·L -1时，茎叶生物量达到最大；铵态氮为15.0 mmol·L -1的处理茎叶生物量

显著低于铵态氮用量小于10.0 mmol·L -1处理，而硝态氮用量为15.0 mmol·L -1 的

处理则差异不显著。当氮素用量为15.0 mmol·L -1时，铵态氮处理茎叶生物量显

30

著低于硝态氮处理。随着氮素用量增加，铵态氮处理根冠比先减小后增加，而硝态氮处理则呈增加趋势，但不同氮素用量及形态处理间差异均不显著。

表4.4 处理1个月不同形态氮素及用量对三七生物量的影响

| 氮素水平  (mmol·L -1) | 茎叶干重(g/株) | | 根系干重/(g/株) | | 根冠比 | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 0.29±0.03a | 0.29±0.03a | 0.34±0.01a | 0.34±0.03a | 1.17±0.12a | 1.17±0.08a |
| 2.5 | 0.30±0.02a | 0.30±0.02a | 0.35±0.02a | 0.35±0.02a | 1.16±0.07a | 1.17±0.09a |
| 5.0 | 0.31±0.01a | 0.30±0.01a | 0.35±0.03a | 0.36±0.03a | 1.12±0.14a | 1.20±0.08a |
| 10.0 | 0.28±0.03a | 0.31±0.01a | 0.32±0.04a | 0.39±0.02a | 1.14±0.14a | 1.26±0.03a |
| 15.0 | 0.25±0.01b | 0.30±0.03a\* | 0.30±0.01a | 0.38±0.02a | 1.20±0.18a | 1.27±0.06a |

表4.5表明，处理2个月后，随着氮素用量的增加，铵态氮和硝态氮处理三七茎叶、根系生物量和根冠比均呈先增加后减小的趋势，当铵态氮用量为

5.0 mmol·L -1，其茎叶生物量达到最大，显著高于15.0 mmol·L -1铵态氮处理，而其余氮素水平间差异不显著，而当氮素用量为15.0 mmol·L -1时，铵态氮和硝态氮处理差异达到显著水平。

表4.5 处理2个月不同形态氮素及用量对三七生物量的影响

| 氮素水平  (mmol·L -1) | 茎叶干重(g/株) | | 根系干重/(g/株) | | 根冠比 | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 0.35±0.04ab | 0.34±0.03a | 0.46±0.03a | 0.44±0.03a | 1.31±0.12a | 1.29±0.11a |
| 2.5 | 0.36±0.03ab | 0.35±0.03a | 0.47±0.04a | 0.49±0.05a | 1.32±0.12b | 1.40±0.15a |
| 5.0 | 0.38±0.04a | 0.36±0.02a | 0.48±0.05a | 0.53±0.06a | 1.26±0.11a | 1.47±0.12a |
| 10.0 | 0.37±0.03ab | 0.37±0.04a | 0.43±0.04a | 0.51±003a | 1.16±0.20a | 1.34±0.13a |
| 15.0 | 0.33±0.02b | 0.36±0.06a | 0.37±0.04b | 0.50±0.04a\* | 1.12±0.19a | 1.39±0.19a |

表4.6表明，处理4个月后，铵态氮用量增加对三七茎叶和根系生物量有显著影响，硝态氮用量增加对三七茎叶生物量有显著影响，但对根系生物量无显著影响。铵态氮及硝态氮用量增加对三七根冠比影响不显著，当铵态氮和硝态氮用量为0.5 mmol·L -1时，其根冠比均较大。当氮素用量小于10 mmol·L -1时，铵态

氮和硝态氮处理间三七茎叶生物量无显著差异，氮素用量大于5 mmol·L -1时，硝

31

态氮处理根系生物量显著高于铵态氮处理。此外，氮素用量相同时，硝态氮处理根冠比大于铵态氮处理。说明随着处理时间的增加，铵态氮对三七根系生物量的抑制作用越大。

表4.6 处理4个月不同形态氮素及用量对三七生物量的影响

| 氮素水平  (mmol·L -1) | 茎叶干重(g/株) | | 根系干重/(g/株) | | 根冠比 | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 0.44±0.04ab | 0.42±0.04c | 0.81±0.05a | 0.80±0.09a | 1.84±0.15a | 1.90±0.21ab |
| 2.5 | 0.46±0.04a | 0.48±0.05bc | 0.85±0.03a | 0.88±0.01a | 1.85±0.21a | 1.83±0.22ab |
| 5.0 | 0.45±0.05a | 0.52±0.07a | 0.71±0.07b | 0.97±0.12a\* | 1.58±0.15b | 1.86±0.28ab |
| 10.0 | 0.39±0.05ab | 0.51±0.06ab\* | 0.64±0.07bc | 0.94±0.03a\* | 1.64±0.30ab | 1.84±0.08a |
| 15.0 | 0.37±0.06c | 0.48±0.06bc\* | 0.60±0.04c | 0.82±0.13a\* | 1.62±0.08b | 1.72±0.13b |

### **4.3.2** 对三七Th理特征的影响

#### **4.3.2.1** 根系活力

植物根系是活跃的吸收器官和合成器官，根的生长情况和活力水平直接影响地上部的生长和营养状况及产量水平。图4.1表明，处理2个月和4个月后，随着氮素用量增加，铵态氮和硝态氮处理三七根系活力均呈先升高后降低的趋势，当氮素用量为10 mmol·L -1时活力最高，铵态氮和硝态氮处理根系活力最低

时氮素用量分别为15.0 mmol·L -1和0.5 mmol·L -1。当处理2月时，铵态氮与硝态

氮处理在氮素用量为15.0 mmol·L -1达到显著水平，而处理4个月后，铵态氮处

理与硝态氮处理在氮素用量为10.0 mmol·L -1时达到显著水平，说明高浓度铵态氮对三七根系活力降低较硝态氮处理快。



图4.1 不同氮素形态及用量对三七子条根系活力的影响

32

**4.3.2.2 GS和GDH活性**

谷氨酰胺合成酶(GS)是植物对氮素同化的关键酶之一，其酶活性不仅与植物吸收的氮素形态有关，而且与氮素用量也有关系。图4.2表明，处理1个月后，

GS活性随铵态氮用量增加呈先增加后减小的趋势，当铵态氮用量为5 mmol·L -1

时，GS活性最大；GS活性则随硝态氮用量增加呈增加趋势。处理2个月后，

GS活性随铵态氮和硝态氮用量增加均呈降低趋势。处理4个月后，GS活性随铵态氮和硝态氮用量增加均呈先增加后减小的趋势，当铵态氮用量大于10.0 mmol·L -1时，GS活性显著降低，而不同浓度硝态氮处理间差异不显著。此外，同等浓度的铵态氮和硝态氮处理间GS活性均无显著差异，且不随时间增加而变化。说明氮素用量对GS活性的影响比氮素形态对其的影响大，高浓度氮素对GS活性均有一定的抑制作用，且随处理时间增加其抑制作用增强。



图4.2 不同氮素形态及用量对三七子条GS活性的影响

谷氨酸脱氢酶(GDH)是植物对氮素同化的另一关键酶，由于GDH对NH3的亲活力较低，所以只有当植物体内大量存在NH3的时候其活性才会增加。图4.3表明，处理1个月后，GDH活性随铵态氮用量增加而降低，当铵态氮用量大于10 mmol·L -1 时，其活性显著降低；处理2 个月后，当铵态氮用量增加到

10 mmol·L -1, GDH活性显著降低；处理4个月后，GDH活性随铵态氮用量增加而显著增加。硝态氮处理对GDH活性影响不随硝态氮用量和处理时间增加而显著变化。说明硝态氮处理三七植株体内游离NH3基本保持在同一水平，而铵态氮处理三七植株体内的游离NH3随着铵态氮用量和处理时间而变化。

33



图4.3 不同氮素形态及用量对三七子条GDH活性的影响

**4.3.2.3可溶性蛋白和MDA含量**

图4.4表明，处理1个月和2个月后，三七可溶性蛋白含量随铵态氮用量增

加呈显著增加趋势，而随硝态氮用量增加变化不显著；处理4个月后，可溶性蛋白含量随铵态氮和硝态氮用量增加均显著增加。铵态氮处理可溶性蛋白含量高于硝态氮处理，在处理1个月和2个月时当氮素用量大于5.0 mmol·L -1，差异达到显著水平。



图4.4 不同氮素形态及用量对三七可溶性蛋白含量的影响

图4.5表明，处理1个月后，MDA含量随铵态氮用量增加而显著增加，随

硝态氮用量增加有降低趋势，但差异不显著。处理2个月和4个月后，MDA含量随铵态氮和硝态氮用量增加而显著增加。此外，铵态氮处理MDA含量基本都高于硝态氮处理，仅处理1个月后，氮素用量大于10.0 mmol·L -1的铵态氮处理显著高于硝态氮处理。

34



图4.5 不同氮素形态及用量对三七MDA含量的影响

#### **4.3.2.4** **SOD**和**POD**活性

图4.6表明，SOD含量随铵态氮用量增加呈先增加后降低的趋势，当铵态氮用量为2.5 mmol·L -1到5.0 mmol·L -1之间时，SOD含量达到最大；而SOD含量随硝态氮含量增加基本呈增加趋势。此外，相同氮素用量，不同形态氮素间SOD含量差异均不显著，且不随处理时间增加而变化。



图4.6 不同氮素形态及用量对三七SOD活性的影响

图4.7表明，POD含量随铵态氮用量增加呈先增加后降低趋势，当铵态氮用量处于5.0 mmol·L -1到10.0 mmol·L -1之间时，其POD含量达到最大。POD含量

随硝态氮用量增加呈增加趋势，但处理1个月和2个月后，不同硝态氮用量间差

异不显著，而处理4个月后，其差异达到显著水平。相同氮素用量，不同形态氮素处理间差异均不显著。

35



图4.7 不同氮素形态及用量对三七POD活性的影响

## 4.4 讨 论

植物长期暴露在高铵环境下，容易造成“铵毒害”，造成植物生物量降低、光合速率下降、根系生长受阻、根冠比下降，严重时会导致死亡[26~31]。本研究结果表明，当铵态氮用量大于5.0 mmol·L -1时，三七株高、叶片长、剪口长、块根长、根条数等显著受到抑制（表4.1），进而导致根冠比和生物量减小（表4.4），

且随着处理时间的增加，其抑制作用加强（表4.5、4.6）；而硝态氮处理则差异不显著（表4.1）；高浓度铵态氮处理三七根条数显著少于硝态氮处理，进而导致三七茎叶生物量和根系生物量低于硝态氮处理（表4.4、4.5、4.6）。其原因可能是由于三七长期暴露在铵态氮环境中，造成三七根系活力减小（图4.1）和氨同化酶GS和GDH活性降低（图4.2、4.3），导致大量的氨不能及时在三七根系同化，产生大量MDA（图4.7），造成三七根系膜质过氧化加剧，进而使其保护酶

SOD和POD活性降低（图4.6、4.7），最终导致三七植株生长受到抑制，生物量受抑制。然而，三七处于高浓度硝态氮环境中，其生长和产量也受到一定的抑制

（表4.1~4.6），但由于植物吸收过量的NO3-，不能及时被同化的NO3-，能够储存在液泡中，进而保护三七根系不受损害，保持较高的根系活力（图4.1），且

MDA量较少（图4.5）。因此，高浓度氮素都会导致三七生长和产量受抑制，所以三七生长发育需氮量较低，与崔秀明等研究结果相似[85, 86]；同时，铵态氮会对三七造成毒害作用，所以硝态氮更适合三七生产。

综上所述，高浓度氮素不适合三七生长，低浓度氮素不仅能促进三七生长，提高三七生物量，还能提高三七根系活力和GS酶活性等生理特性。硝态氮比铵态氮更适合三七生长及产量提高。

36

# 第**5**章不同氮素形态及用量对一年**Th**三七**N, P, K**含量及皂

**苷含量的影响**

## **5.1** 前言

氮在自然界中主要以有机氮和无机氮为主，植物主要以吸收铵态氮

（NH4+-N）和硝态氮（NO3--N）两种无机氮来维持植物生长发育所需。植物对铵态氮和硝态氮的吸收反应差异主要与作物种类及其生长环境有关。氮素形态会很大程度上影响植物的生长和对矿质营养的吸收[96]。研究表明，NH4+-N作为唯一氮源时，作物常常生长不良，主要表现为生物量降低、根系生长受阻、根际酸化、离子吸收失衡等[26~31]。土壤中的铵态氮会较快地经硝化作用转化为硝态氮，所以作物吸收的硝态氮常常多于铵态氮，特别是在旱地土壤上[93]，但是在酸性土壤上，硝化作用受到强烈抑制[98]，所以在酸性土壤上经常出现“铵毒”现象。

次生代谢产物是植物在长期的环境适应过程中产生的一类小分子有机化合物，是药用植物主要的活性成分。氮素是植物生长发育的必需元素之一，在植物体内不仅维系着其初生代谢的正常运转，其还以氨基酸的初始形态介入植物的次生代谢。一般而言，药用植物中的黄酮和皂苷等次生代谢物含量与氮等矿质元素等密切相关[99]。如在低氮环境条件下，菊花[100]、灯盏细辛[101,102]等药用植物中的黄酮含量均较高，而高氮环境则相反。也有研究表明，氮素含量高低对西洋参皂苷类成分含量影响不显著[103]。关于氮素对三七皂苷成分的影响研究表明，氮素形态对其皂苷含量的影响较小[82]，氮素用量增加能够刺激皂苷成分的积累[80]，但也有研究表明在低氮环境下，三七皂苷含量更高[104]。为此，本研究对不同形态氮素及用量对三七矿质元素吸收和皂苷成分代谢进行研究，以期为调控三七品质提供理论依据。

## **5.2** 材料与方法

### **5.2.1** 实验设计

同第4章4.2.1

37

### **5.2.2** 测定指标及分析方法

#### **5.2.2.1** 植株氮磷钾含量的测定

植株氮磷钾的测定参照土壤农化分析第三版[105]：精准称取0.15××粉碎后并过20目筛的植物样品，置于100 mL的消化管中，然后加入5 mL浓H2SO4，轻轻摇匀（最好放置过夜），瓶口放一个弯颈漏斗，在消化炉上先低温缓缓加热，待浓硫酸分解冒白烟逐渐升高温度。当溶液全部呈棕褐色时，从消化炉上取下消化管，稍冷，逐滴加入300 g·L -1 H2O2 10滴，并不断摇动凯氏瓶。如此反复2~3次，直至消煮液呈无色或清亮色后，再加热5~10 min,以除尽过剩的双氧水。取出消化管、冷却转移消煮液至100 mL容量瓶中，洗涤、定容、静止过夜，备用。全氮采用凯氏定氮法，全磷采用钼锑抗比色法，全钾采用火焰分光光度计测定。

#### **5.2.2.2** 皂苷含量的测定

皂苷测定方法参照药典[106]

(1)色谱条件：

Intramax色谱柱(4.6 mm×250 mm,5µm ). 流动相：乙腈(A) -水(B)二元梯度洗脱，0～12 min，19%A；12～55 min，18～38% A；55～60 min，38%～100% A；60～70 min，100%A. 检测波长为203 nm，进样量20μL，流速1 mL·min -1，柱温为室温。

(2)对照品混合溶液的制备

精密称取R1、Rg1、Rb1、Rd、Re对照品各10 mg，加甲醇5 mL配制成2

mg·mL -1的标准溶液，再分别准确移取各标准溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL加入到5 mL容量瓶中定容到5 mL，配成浓度各为0.08、0.16、0.24、0.32、0.40 mg·mL -1混合标准溶液。对照品三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、人参皂苷Rb1、人参皂苷Rd、人参皂苷Re(批号分别为：110745-201318、110703-201128、110704-201404、111818-201302、110754-201324)均购于中国食品药品检定所。

(3)样品提取测定

取三七样品粉末0.40 g，精密称定，装于具塞比色管中，精密加甲醇25 mL，密塞后称定重量，放置过夜，置超声波清洗机上在300 W功率下常温超声提取1 h，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液过0.45

μm有机滤膜，并依上法测定皂苷含量。

38



图 5.1 三七皂苷标准对照品HPLC图谱(A)和三七样品HPLC图谱(B)

## **5.3** 结果与分析

### **5.3.1** 对三七矿质元素含量的影响

表5.1表明，处理1个月，随氮素水平提高，三七茎叶和根部的氮素含量均呈增加趋势；当氮素用量低于5.0 mmol·L -1时，铵态氮处理茎叶N含量低于硝态氮处理，而氮素用量高于5.0 mmol·L -1，铵态氮处理茎叶N含量则高于硝态氮处理；铵态氮处理根部N含量高于硝态氮处理，且当氮素用量大于10.0 mmol·L -1时，差异达到显著水平。铵态氮用量对三七茎叶和根部K含量有显著影响，随铵态氮用量增加呈先增加后减小的趋势，当铵态氮用量为2.5 mmol·L -1时，其含量达到最大。硝态氮用量对三七茎叶和根部K含量影响不显著，但硝态氮处理

K含量均比铵态氮处理高，且当氮素用量大于5.0 mmol·L -1时，不同氮素形态处理间差异达到显著水平。铵态氮用量对三七茎叶P含量影响均不显著，对根部P含量影响显著，而硝态氮处理对三七茎叶和根部P含量影响均不显著。硝态氮处理茎叶P含量高于铵态氮处理，而根部P含量低于铵态氮处理，但差异均未达到显著水平。

39

表5.1 处理1个月不同氮素形态及用量对三七的氮磷钾含量的影响

| 氮素水平  (mmol∙L-1) | | 全氮 total N(%) | | 全钾 total K (%) | | 全磷 total (P)% | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
|  | 0.5 | 2.02±0.06c | 2.16±0.13a | 4.03±0.11b | 4.66±0.33a | 0.18±0.01a | 0.22±0.04a |
|  | 2.5 | 2.06±0.11b | 2.21±0.12a | 4.40±0.24a | 4.82±0.21a | 0.18±0.01a | 0.22±0.02a |
| 茎  叶 | 5.0 | 2.12±0.10b | 2.26±0.11a | 4.17±0.15ab | 5.00±0.12a\* | 0.18±0.01a | 0.20±0.23a |
|  | 10.0 | 2.35±0.23ab | 2.29±0.16a | 4.00±0.15b | 4.55±0.02a\* | 0.19±0.02a | 0.19±0.01a |
|  | 15.0 | 2.45±0.19a | 2.34±0.04a | 3.40±0.04c | 4.53±0.21a\* | 0.18±0.01a | 0.19±0.02a |
|  | 0.5 | 0.91±0.01c | 0.89±0.02b | 2.30±0.04ab | 2.34±0.05a | 0.19±0.02b | 0.17±0.03a |
|  | 2.5 | 0.99±0.02c | 0.91±0.01ab | 2.39±0.10a | 2.41±0.07a | 0.20±0.01b | 0.19±0.01a |
| 根  部 | 5.0 | 1.21±0.02b | 1.09±0.01ab | 2.33±0.01a | 2.58±0.07a | 0.21±0.00b | 0.18±0.02a |
|  | 10.0 | 1.37±0.03ab | 1.13±0.01a\* | 2.28±0.06ab | 2.62±0.33a\* | 0.23±0.01a | 0.18±0.01a |
|  | 15.0 | 1.59±0.02a | 1.19±0.02a\* | 2.25±0.03b | 2.63±0.03a\* | 0.22±0.03ab | 0.18±0.01a |

表5.2 处理2个月不同氮素形态及用量对三七的氮磷钾含量的影响

| 氮素水平  (mmol∙L-1) | | 全氮 total N(%) | | 全钾 total K (%) | | 全磷 total P(%) | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
|  | 0.5 | 2.09±0.08b | 1.52±0.03b | 4.97±0.32a | 4.79±0.03a | 0.13±0.02a | 0.13±0.02a |
|  | 2.5 | 2.12±0.03b | 1.63±0.06b | 4.73±0.08a | 4.52±0.10ab | 0.12±0.01a | 0.13±0.01a |
| 茎  叶 | 5.0 | 2.15±0.04b | 1.95±0.04a | 4.09±0.15b | 4.30±0.11b | 0.12±0.00a | 0.13±0.01a |
|  | 10.0 | 2.33±0.03a | 2.00±0.06a | 3.97±0.04b | 4.27±0.05b | 0.14±0.01a | 0.13±0.00a |
|  | 15.0 | 2.40±0.05a | 2.05±0.01a | 3.96±0.04b | 4.12±0.11b | 0.14±0.00a | 0.13±0.01a |
|  | 0.5 | 0.89±0.01c | 0.86±0.01b | 2.34±0.04ab | 2.42±0.07a | 0.20±0.02b | 0.18±0.03a |
|  | 2.5 | 0.92±0.01c | 1.01±0.02a | 2.48±0.10a | 2.54±0.09a | 0.19±0.01b | 0.18±0.01a |
| 根  部 | 5.0 | 1.30±0.09b | 1.03±0.01a | 2.41±0.01a | 2.62±0.06a | 0.19±0.00b | 0.17±0.02a |
|  | 10.0 | 1.37±0.03b | 1.07±0.03a\* | 2.33±0.01ab | 2.61±0.34a\* | 0.25±0.01a | 0.17±0.01a\* |
|  | 15.0 | 1.61±0.02a | 1.09±0.01a\* | 2.25±0.07b | 2.64±0.01a\* | 0.24±0.03ab | 0.17±0.01a\* |

表5.2结果表明，处理2个月后，铵态氮和硝态氮用对三七茎叶和根部N 含

40

量均有显著影响，随着氮素用量增加茎叶和根部N含量均呈显著增加趋势。不同氮素形态处理间茎叶N含量差异不显著，而当氮素用量大于10.0 mmol·L -1时，铵态氮和硝态氮处理间根部N含量差异达到显著水平。随着氮素用量增加，铵态氮和硝态氮处理三七茎叶K含量均呈降低趋势，但氮素形态处理间差异不显著；而当铵态氮用量增加三七根部K含量呈降低趋势，硝态氮用量增加则呈增加趋势，且当氮素用量大于10.0 mmol·L -1时，铵态氮和硝态氮处理间差异达到显著水平。氮素用量增加对三七茎叶P含量影响不显著，铵态氮用量对三七根部P含量有显著影响；而硝态氮用量对P含量影响不显著，但当氮素用量大于

10.0 mmol·L -1时，铵态氮处理P含量显著高于硝态氮处理。

表5.3 处理4个月不同氮素形态及用量对三七的氮磷钾含量的影响

| 氮素水平  (mmol∙L-1) | | 全氮 total N(%) | | 全钾 total K (%) | | 全磷 total (P)% | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
|  | 0.5 | 1.52±0.11b | 1.54±0.02c | 4.31±0.11a | 4.74±0.17a | 0.16±0.01a | 0.14±0.01a |
|  | 2.5 | 1.52±0.13b | 1.66±0.15bc | 4.49±0.21a | 4.69±0.04a | 0.14±0.02ab | 0.13±0.02ab |
| 茎  叶 | 5.0 | 1.61±0.11ab | 1.80±0.10b | 4.52±0.15a | 4.43±0.13b | 0.12±0.01bc | 0.13±0.03ab |
|  | 10.0 | 1.73±0.04a | 2.09±0.18a | 4.76±0.39a | 4.41±0.00b | 0.13±0.01b | 0.13±0.00ab |
|  | 15.0 | 1.62±0.04ab | 2.05±0.11a\* | 4.65±0.37a | 4.66±0.19a | 0.11±0.01c | 0.12±0.02b |
|  | 0.5 | 0.94±0.01b | 1.07±0.13b | 2.25±0.13a | 2.40±0.08a | 0.15±0.01b | 0.13±0.01ab |
|  | 2.5 | 1.09±0.14b | 1.13±0.05b | 2.27±0.08a | 2.31±0.10a | 0.16±0.01b | 0.13±0.01b |
| 根  部 | 5.0 | 1.45±0.16a | 1.13±0.03b | 2.51±0.19a | 2.37±0.21a | 0.17±0.02b | 0.14±0.01ab |
|  | 10.0 | 1.62±0.10a | 1.33±0.10a | 2.36±0.17a | 2.31±0.06a | 0.18±0.00a | 0.15±0.01a |
|  | 15.0 | 1.60±0.09a | 1.36±0.07a\* | 2.20±0.05a | 2.18±0.02a | 0.16±0.02b | 0.13±0.01b |

表5.3表明，处理4个月后，三七茎叶和根部氮素含量均随氮素用量增加而显著增加，当氮素用量为15.0mmol·L -1时，铵态氮处理茎叶N含量显著低于硝态氮处理，根部N含量显著高于硝态氮处理。铵态氮用量增加三七茎叶和根部

K含量呈增加趋势，但不同用量处理间差异影响不显著；硝态氮用量增加三七茎叶和根部K含量呈减小趋势，但差异不显著。氮素形态处理间茎叶和根部K含量差异也不显著。氮素用量对三七茎叶和根部P含量均有显著影响，氮素用量增加茎叶P含量呈降低趋势，而根部P含量呈增加趋势，但氮素形态处理间差

41

异不显著。

### **5.3.2** 对皂苷成分的影响

表5.4表明，处理1个月，铵态氮和硝态氮用量对三七根部各单体皂苷均有显著影响，随着氮素用量增加，三七各单体皂苷含量呈降低趋势，氮素用量为

0.5 mmol·L -1时，单体皂苷总和含量最大，氮素用量为15.0 mmol·L -1时，皂苷总和含量最小。铵态氮和硝态氮处理间各单体皂苷含量和皂苷总和含量差异均不显著，说明氮素形态对三七皂苷含量的影响较小。

表5.4 处理1个月不同氮素形态及用量对三七皂苷含量的影响

| 氮素水平  (mmol·L -1) | 三七皂苷 R1 (%) | | 人参皂苷 Rg1 (%) | | 人参皂苷 Re (%) | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 0.53±0.11a b | 0.52±0.09a | 4.71±0.51a | 4.73±0.42a | 0.62±0.10a | 0.67±0.06a |
| 2.5 | 0.56±0.10a | 0.55±0.01a | 4.50±0.52a | 4.57±0.15a | 0.50±0.12ab | 0.51±0.02b |
| 5.0 | 0.50±0.12a b | 0.52±0.02a | 4.12±0.64b | 4.29±0.56a | 0.47±0.04b | 0.48±0.07b |
| 10.0 | 0.49±0.06 ab | 0.49±0.11a | 4.12±0.52b | 3.98±0.60b | 0.48±0.09b | 0.45±0.03b |
| 15.0 | 0.40±0.05b | 0.45±0.01a | 4.07±0.61c | 3.25±0.02c | 0.44±0.06b | 0.35±0.05c |
|  |  |  |  |  |  |  |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 人参皂苷 Rb1 (%) | | 人参皂苷 Rd (%) | | 皂苷总和 (%) | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 1.78±0.05a | 1.72±0.17a | 0.21±0.04a | 0.21±0.02ab | 7.85±1.15a | 7.85±0.46a |
| 2.5 | 1.53±0.10b | 1.43±0.11b | 0.22±0.03a | 0.23±0.011a | 7.31±1.53a | 7.29±0.19a |
| 5.0 | 1.41±0.26b | 1.48±0.06b | 0.19±0.03ab | 0.18±0.01b | 6.69±0.37a | 6.93±0.57a |
| 10.0 | 1.29±0.30b | 1.49±0.11b | 0.17±0.05b | 0.17±0.06b | 6.55±1.33a | 6.58±1.66ab |
| 15.0 | 1.28±0.18b | 1.44±0.03b | 0.16±0.04b | 0.16±0.04b | 6.34±0.68a | 5.70±0.12b |

表5.5结果表明，铵态氮用量对三七根部人参皂苷Re、Rb1和Rd累积有显著影响，硝态氮用量仅对人参皂苷Re累积有显著影响；而铵态氮和硝态氮处理间各单体皂苷累积量差异不显著，当氮素用量为0.5 mmol·L -1时，三七根部皂苷累积总和最大，但与其他氮素用量处理差异未达到显著水平。

42

表5.5 处理1个月不同氮素形态及用量对三七皂苷累积量的影响

| 氮素水平(mmol·L -1) | 三七皂苷 R1(mg/株) | | 人参皂苷 Rg1 (mg/株) | | 人参皂苷 Re (mg/株) | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 1.80±0.21a | 1.77±0.12a | 16.02±2.11a | 16.08±1.59a | 2.11±0.18a | 2.28±0.24a |
| 2.5 | 1.96±0.22a | 1.93±0.16a | 15.76±1.61a | 16.00±1.81a | 1.75±0.15ab | 1.79±0.19ab |
| 5.0 | 1.75±0.19a | 1.87±0.21a | 14.43±1.92a | 15.44±1.41a | 1.65±0.14ab | 1.73±0.21ab |
| 10.0 | 1.77±0.19a | 1.91±0.14a | 14.82±1.76a | 15.52±1.61a | 1.71±0.15ab | 1.76±0.18ab |
| 15.0 | 1.68±0.25a | 1.86±0.16a | 13.83±1.51a | 12.35±1.19a | 1.17±0.11b | 1.34±0.11b |
|  |  |  |  |  |  |  |
| 氮素水平(mmol·L -1) | 人参皂苷 Rb1(mg/株) | | 人参皂苷 Rd (mg/株) | | 皂苷总和 (mg/株) | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 6.05±0.87a | 5.85±0.51a | 0.71±0.06a | 0.72±0.05a | 26.69±1.98a | 26.70±2.31a |
| 2.5 | 5.36±0.51ab | 5.01±0.48a | 0.77±0.08a | 0.81±0.07a | 25.59±2.11a | 25.52±2.34a |
| 5.0 | 4.94±0.34ab | 5.33±0.49a | 0.67±0.06a b | 0.57±0.08a | 23.43±2.25a | 24.94±3.01a |
| 10.0 | 4.66±0.25b | 5.81±0.37a | 0.61±0.05a b | 0.66±0.05a | 23.57±2.19a | 25.66±3.22a |
| 15.0 | 4.35±0.29b | 5.48±0.39a | 0.53±0.04 b | 0.62±0.04a | 21.56±2.18a | 21.66±4.1 0a |

表5.6结果表明，处理2个月，氮素用量对三七各单体皂苷含量有显著影响，当氮素用量为10.0 mmol·L -1时，三七皂苷R1含量最大；氮素用量增加人参皂苷Rg1、Rd含量呈降低趋势，人参皂苷Re、Rb1含量呈先增加后降低趋势，氮素用量为2.5 mmol·L -1时，含量达到最大；铵态氮用量增加皂苷总和呈降低趋势，而硝态氮用量增加皂苷总和呈先增加后降低趋势，当硝态氮用量为5.0 mmol·L -1时，皂苷总和达到最大。此外，不同形态氮素处理间各单体皂苷和皂苷总和含量差异均不显著。

表5.7结果表明，处理2个月，铵态氮用量对三七皂苷R1累积量有显著影响，硝态氮用量对三七皂苷R1累积量影响不显著，当氮素用量为15.0 mmol·L -1时，硝态氮处理三七皂苷R1累积量显著高于铵态氮处理。氮素用量增加人参皂苷Rg1累积量呈降低趋势，当用量为15.0 mmol·L -1时，其累积量显著低于其他处理。人参皂苷Re 累积随氮素用量增加呈先增加后减小趋势，当氮素用量为

## 2.5 mmol·L -1时，其累积量最大。铵态氮用量对人参皂苷Rb1累积量影响显著，硝态氮用量影响不显著，当氮素用量为2.5 mmol·L -1时，人参皂苷Rb1累积量达

43

到最大。氮素用量增加人参皂苷Rd累积量呈降低趋势，铵态氮对其累积量影响显著，而硝态氮影响不显著。铵态氮用量对皂苷累积量总和影响显著，而硝态氮处理影响不显著。此外，氮素用量为15.0 mmol·L -1时，铵态氮处理三七皂苷R1、人皂苷Rb1和皂苷总和累积量均显著低于硝态氮处理。

表5.8表明，处理4个月后，氮素用量对三七单体皂苷和皂苷总和含量均有显著影响，但不同氮素形态处理间差异不显著。氮素用量增加，三七皂苷R1含量呈增加趋势，人参皂苷Rg1、Re、Rb1和皂苷总和含量呈降低趋势，但不同形态氮素处理间差异不显著。

表5.9表明，处理4个月后，三七皂苷累积量随氮素用量增加呈显著变化，铵态氮处理随铵态氮用量增加三七皂苷R1累积量呈先增加后降低趋势，人参皂苷Rg1、Re、Rb1、Rd和皂苷累积总和均呈降低趋势；硝态氮处理各单体皂苷及皂苷累积总量均随硝态氮用量增加呈先增加后降低趋势。当氮素用量大于

5.0 mmol·L -1时，硝态氮处理各单体皂苷和皂苷总累积量均显著高于铵态氮处理。

表5.6 处理2个月不同氮素形态及用量对三七皂苷含量的影响

| 氮素水平  (mmol·L -1) | 三七皂苷 R1 (%) | | 人参皂苷 Rg1 (%) | | 人参皂苷 Re (%) | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 0.50±0.05b | 0.49±0.03b | 3.78±0.41a | 3.68±0.01a | 0.41±0.04b | 0.42±0.01b |
| 2.5 | 0.51±0.04b | 0.51±0.04b | 3.72±0.29a | 3.56±0.29a | 0.53±0.03a | 0.52±0.02a |
| 5.0 | 0.51±0.04b | 0.52±0.02b | 3.61±0.35a | 3.42±0.28a | 0.38±0.02b | 0.41±0.04b |
| 10.0 | 0.59±0.06a | 0.58±0.01a | 3.77±0.38a | 3.22±0.10a | 0.38±0.03b | 0.39±0.03b |
| 15.0 | 0.40±0.01c | 0.50±0.04b | 3.17±0.07b | 3.24±0.20a | 0.38±0.01b | 0.39±0.02b |
|  |  |  |  |  |  |  |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 人参皂苷 Rb1 (%) | | 人参皂苷 Rd (%) | | 皂苷总合 (%) | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 1.49±0.15ab | 1.45±0.06a | 0.30±0.02a | 0.29±0.04ab | 6.49±0.06a | 5.90±0.11a |
| 2.5 | 1.63±0.12a | 1.60±0.03a | 0.27±0.04ab | 0.32±0.01a | 5.87±0.07a | 5.92±0.03a |
| 5.0 | 1.37±0.11ab | 1.39±0.08a | 0.23±0.04ab | 0.25±0.06b | 5.93±0.15a | 5.98±0.51a |
| 10.0 | 1.28±0.09b | 1.33±0.07a | 0.21±0.13ab | 0.24±0.01b | 5.71±0.15a | 5.66±0.20a |
| 15.0 | 1.28±0.01b | 1.39±0.03a | 0.19±0.10b | 0.21±0.01b | 5.39±0.13a | 5.75±0.11a |

44

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 三七皂苷 R1(mg/株) | | 人参皂苷 Rg1 (mg/株) | | 人参皂苷 Re (mg/株) | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 2.28±0.19a | 2.15±0.19a | 17.41±1.56a | 16.93±1.55a | 1.91±0.18ab | 1.93±0.17ab |
| 2.5 | 2.41±0.21a | 2.50±0.18a | 16.57±1.71a | 16.75±1.29a | 2.47±0.19a | 2.44±0.21a |
| 5.0 | 2.46±0.23a | 2.74±0.25a | 17.31±1.62a | 16.43±1.28a | 1.84±0.17ab | 1.97±0.17ab |
| 10.0 | 2.54±0.18a | 2.96±0.28a | 16.22±1.59a | 13.85±1.21ab | 1.63±0.15ab | 1.68±0.11ab |
| 15.0 | 1.47±0.11b | 2.69±0.17a\* | 11.74±1.05b | 11.97±0.99b | 1.39±0.11b | 1.44±0.09b |
|  |  |  |  |  |  |  |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 人参皂苷 Rb1(mg/株) | | 人参皂苷 Rd (mg/株) | | 皂苷总和 (mg/株) | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 6.86±1.11ab | 6.38±0.57a | 1.40±0.02a | 1.34±0.11a | 29.85±2.19a | 25.96±2.31a |
| 2.5 | 7.66±0.48a | 7.85±0.49a | 1.27±0.17ab | 1.14±0.08a | 27.59±2.34a | 29.01±2.18a |
| 5.0 | 6.58±0.59ab | 7.38±0.77a | 1.10±0.09ab | 1.13±0.07a | 28.46±2.18a | 31.69±2.99a |
| 10.0 | 5.50±0.37b | 6.73±0.61a | 0.90±0.07b | 1.21±1.03a | 24.55±1.98a | 28.87±2.27a |
| 15.0 | 4.74±0.56b | 7.53±0.52a\* | 0.70±0.05b | 1.36±1.14a\* | 19.94±1.81b | 31.05±3.05a\* |

表5.8 处理4个月不同氮素形态及用量对三七皂苷含量的影响

| 氮素水平  (mmol·L -1) | 三七皂苷 R1 (%) | | 人参皂苷 Rg1 (%) | | 人参皂苷 Re (%) | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 0.28±0.05b | 0.27±0.02b | 2.39±0.45a | 2.21±0.30a | 0.31±0.05a | 0.28±0.07a |
| 2.5 | 0.32±0.03a | 0.38±0.07a | 1.93±0.20b | 2.22±0.25a | 0.23±0.03b | 0.21±0.05b |
| 5.0 | 0.33±0.01a | 0.35±0.09ab | 1.91±0.36b | 2.23±017a | 0.22±0.05b | 0.20±0.07b |
| 10.0 | 0.34±0.07a | 0.33±0.07ab | 1.77±0.02b | 2.19±0.21a | 0.15±0.04c | 0.18±0.01b |
| 15.0 | 0.32±0.03a | 0.34±0.07ab | 1.73±0.21b | 1.76±0.03b | 0.14±0.03c | 0.15±0.01c |
|  |  |  |  |  |  |  |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 人参皂苷 Rb1 (%) | | 人参皂苷 Rd (%) | | 皂苷总和 (%) | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.5 | 0.93±0.19a | 0.85±0.09ab | 0.15±0.02a | 0.14±0.02b | 3.94±0.76a | 3.75±0.38ab |
| 2.5 | 0.94±0.10b | 0.94±0.12a | 0.15±0.02a | 0.16±0.03ab | 3.57±0.20ab | 3.91±0.47a |
| 5.0 | 0.76±0.13bc | 0.83±0.04ab | 0.15±0.05a | 0.17±0.02ab | 3.37±0.11ab | 3.78±0.65ab |
| 10.0 | 0.70±0.09bc | 0.85±0.10ab | 0.12±0.01b | 0.20±0.03a | 3.07±0.29b | 3.75±0.55ab |
| 15.0 | 0.67±0.08c | 0.65±0.05b | 0.10±0.01b | 0.15±0.02b | 2.97±0.31b | 3.05±0.37b |

45

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 三七皂苷 R1(mg/株) | | 人参皂苷 Rg1 (mg/株) | | 人参皂苷 Re (mg/株) | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.50 | 2.13±0.15a | 2.41±0.22b | 18.16±1.51a | 19.89±0.22a | 2.33±0.19a | 2.52±0.22a |
| 2.50 | 2.50±0.21a | 3.80±0.26a | 15.05±1.28ab | 22.20±1.92a | 1.79±0.14ab | 2.10±0.08ab |
| 5.0 | 2.28±0.19a | 3.49±0.31ab\* | 13.18±1.17b | 22.52±1.81a | 1.52±0.11b | 2.02±0.15ab |
| 10.0 | 2.14±0.18a | 3.16±0.37ab\* | 11.15±0.91bc | 21.02±1.27a\* | 0.93±0.06c | 1.73±0.16b\* |
| 15.0 | 1.92±0.16a | 3.46±0.29b\* | 10.40±0.61c | 17.80±1.75b\* | 0.84±0.05c | 1.52±1.15b\* |
|  |  |  |  |  |  |  |
| 氮素水平  (mmol·L -1) | 人参皂苷 Rb1(mg/株) | | 人参皂苷 Rd (mg/株) | | 皂苷总和 (mg/株) | |
| 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 | 铵态氮 | 硝态氮 |
| 0.50 | 7.07±0.56a | 7.65±0.27ab | 1.12±0.24a | 1.26±0.07b | 29.94±1.82a | 33.73±2.87a |
| 2.50 | 7.33±0.29a | 9.40±0.72a | 1.17±0.07a | 1.57±0.16ab | 28.84±1.91a | 39.07±3.18a |
| 5.0 | 5.24±0.68b | 8.38±0.45ab\* | 1.00±0.06a | 1.73±0.07a\* | 23.22±1.27ab | 38.14±3.09a\* |
| 10.0 | 4.39±0.27b | 8.16±0.56ab\* | 0.74±0.04b | 1.89±0.12a\* | 19.35±1.07b | 35.96±2.19a\* |
| 15.0 | 4.00±0.26b | 6.57±0.41b\* | 0.58±0.01c | 1.47±0.16ab\* | 17.75±1.32b | 30.81±2.99a\* |

## 5.5 讨 论

氮素是植物生长发育必需的元素之一，增加氮素用量能够增加植物对其的吸收和利用。本研究结果表明，氮素用量越大，三七氮素含量越高，但硝态氮与铵态氮处理在第一个月时，氮素含量差异不显著，是由于第一个月三七对氮素的需求较小；到第二个月用量大于10.0 mmol·L -1的铵态氮处理根部N素含量显著高于硝态氮处理，是由于第二个月三七需要更多的营养用于生长，同化铵态氮比硝态氮需要的能量要少；到第四个月15.0 mmol·L -1铵态氮处理茎叶氮素含量显

著低于15.0 mmol·L -1硝态氮处理，而根部氮素却显著高于硝态氮处理，主要是由于高浓度铵态氮处理抑制三七植株的生长，主要是对三七根部生长的抑制作用较为显著，抑制了氮素向地上部分的转运，因此，其根部氮素含量显著高于硝态氮处理。植物长期生长在NH4+的环境中，植物同化吸收NH4+，能够减少植物对K+等阳离子的吸收，而植物生长在NO3-的环境中，需要更多的阳离子用以维持植物体内阴阳离子平衡。铵态氮用量增加，三七K含量呈降低趋势，硝态氮用量增加，三七K含量呈增加趋势（表5.1、5.2），结果与欧小宏[104]研究相似。

氮素形态也影响植物对阴离子的吸收。一般说来，铵态氮促进植物对P等阴

46

离子的吸收。Schittenhelm等[107]研究认为，NH4+可能促进了P元素的吸收，与硝态氮相比，铵态氮培养液中植株含磷量较高。本研究结果也表明，铵态氮用量增加，三七P含量呈增加趋势，而硝态氮用量增加，三七P含量却呈降低趋势

（表5.1、5.2、5.3）。

皂苷成分是一种三帖类化合物，以初生代谢产物乙酰辅酶A(acetyl-CoA)为起始物质，由甲羟戊酸(MVA)途径衍生经过一系列复杂的结构转化而来[85]，其中氮素对皂苷成分的代谢有一定的影响[82]，但对不同植物的影响结果不尽一致。本研究结果表明，氮素用量越高三七各单体皂苷含量及皂苷总和含量越低（表5.4、

## 5.5 、5.6），与欧小宏[104]研究结果相似，而韦美丽等[80]研究结果却表明，氮肥用量对三七皂苷成分含量影响不大。孙玉琴等[82]研究结果表明，氮肥形态也会影响三七皂苷含量，但不同形态氮肥间差异不显著。欧小宏[104]研究表明，硝态氮比铵态氮更有利于三七皂苷积累。本研究结果也表明，铵态氮和硝态氮短时间处理对三七各单体皂苷含量影响不显著（表5.7），而随着处理时间增加，氮素浓度为

15.0 mmol·L -1时，铵态氮处理其单体皂苷含量显著低于硝态氮处理（表5.8），且其累积量也显著低于硝态氮处理（表5.9）。

综上所述，施氮会增加三七氮素含量，铵态氮会抑制三七对钾的吸收，促进磷的吸收；而硝态氮则促进钾的吸收，抑制磷的吸收。低水平氮素有利于提高三七皂苷含量和皂苷累积量；与硝态氮处理相比，三七短时间供应铵态氮不会显著降低其皂苷含量，而长时间供应高浓度铵态氮则会使其皂苷含量显著降低。

47

# 第 6 章 总结与展望

## **6.1** 总结

氮素是植物生长发育必须元素之一，是构成蛋白质、核酸、叶绿体、酶和某些维生素的重要组成部分。铵态氮和硝态氮是作物吸收氮素的两种主要形态。作物对这两种氮素吸收同化途径的不同是影响作物生长差异的根源。作物对铵态氮和硝态氮都能吸收，但不同作物对其有不同的吸收偏好。本研究针对氮素影响对三七生长、品质和生理特征的影响进行研究主要取得了以下成果：

（1）三七幼苗在浓度小于2.5mmol·L -1铵态氮下，生长正常，而在大于2.5mmol·L -1高铵浓度，保护酶活性增加，铵同化酶降低，出现毒害现象，而硝态氮则使三七正常生长；

（2）三七幼苗对铵态氮和硝态氮的吸收速率随溶液中的铵根离子和硝酸根离子增大而增大，吸收曲线符合Michaelis-Menten方程描述，其回归方程分别为

V= 0.0558𝐶13.3033+𝐶

和V= 0.0303𝐶大，三七幼苗对铵态氮的吸收速率大于硝态氮，但是亲

7.0669+𝐶

和力小于硝态氮；

（3）施氮会增加三七氮素的含量，在低浓度时均会促进对其他元素的吸收，但浓度较高时，铵态氮会抑制三七对钾的吸收，促进对磷的吸收；而硝态氮则促进对钾的吸收，抑制对磷的吸收；

（4）高浓度氮素（大于5.0mmol·L -1）不适合三七子条的生长，低浓度氮素

（小于5.0mmol·L -1）不仅能促进三七的生长，提高生物量，还能提高三七根系活力和GS酶活性等生理特性。硝态氮比铵态氮更适合三七生长及产量提高。

（5）低浓度氮素（小于5.0mmol·L -1）有利于提高三七皂苷含量和皂苷累积量；与硝态氮相比，三七短时间供应铵态氮下不会显著降低其含量，而长时间供应铵态氮则会使皂苷含量显著降低。

48

## **6.2** 展望

本文就不同形态氮素及用量对三七幼苗及一年生三七进行研究结果表明，铵态氮对三七生长及一些相关抗逆生理有抑制作用，说明铵态氮尤其是高铵态氮对三七会有毒害作用，但对其毒害机制尚不明确，可从以下几个方面对其毒害机制进行深入研究：

（1）铵毒害产生的可能原因是由于NH3（NH4+）的过量吸收，植物没有足够的碳水化合物对其进行同化，大量的NH3在植物细胞内积累，因此进一步研究三七吸收NH3后对植物细胞内同化过程的影响，是明确铵毒害产生的原因之一。

（2）植物吸收铵后会向根际释放H+导致植物根际酸化，进而导致植物根系生长受阻，也影响其他阳离子的吸收。因此需要从根际酸化及阳离子吸收失衡方面对三七毒害机制进行进一步研究。

（3）利用现代分子生物学技术从基因水平上对三七铵毒害产生的机制进行研究。

49

参考文献

[1] Chapin F S, Moilanen L, Kielland K. Preferential use of organic nitrogen for growth by a non- mycorrhizal arctic sedge[J]. 1993,361(6408): 150-153.

[2] 殷宏章. 罗宗洛文集[G]. 北京：科学出版社, 1988: 33-46.

[3] Hageman R H. Ammonium versus nitrate nutrition of higher plants[J]. Nitrogen in Crop Production, 1984 (nitrogenincropp): 67-85.

[4]吴文彬，刘芷宇. 不同作物根际土壤的pH状况及其与氮肥形态的关系[J]. 土壤, 1985, 3(8)：150。

[5] Mengel K, Robin P, Salsac L. Nitrate reductase activity in shoot of maize seedlings as affected by the form of nitrogen nutrition and the pH of the nutition solution[J]. Plant Pysoilogy 1983, 71:618-622.

[6] Barber S A. Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach[M]. John Wiley & Sons, 1995.

[7]刘文国，范学科，马安良. 植物体对氮吸收和同化过程的研究进展[J]. 杨凌职业技术学院学报, 2002, 1(2)：17-19.

[8] Crawford N M, Glass A D M. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants[J]. Trends in Plant Science, 1998, 3(10): 389-395.

[9] Baligar V C, Barber S A. Genotypic differences of corn for ion uptake[J]. Agronomy Journal, 1979, 71(5): 870-873.

[10] Barber S A. Nutrient balance and nitrogen use[J]. Nitrogen in crop production, 1984 (nitrogen in crop): 87-95.

[11] Epstein E. Mineral nutrition of plants: principles and perspectives[M]. New York: Wiley,1972.

[12] Epstein E, Hagen C E. A kinetic study of the absorption of alkali cations by barley roots[J]. Plant Physiology, 1952, 27(3): 457.

[13] Lycklama J C. The absorption of ammonium and nitrate by perennial rye-grass[J]. Acta botánica neerlandica, 1963, 12(4): 361 -423.

[14] Mengel K, Viro M, Hehl G. Effect of potassium on uptake and incorporation of ammonium- nitrogen of rice plants[J]. Plant and Soil, 1976, 44(3): 547-558.

[15] 谭钧. 植物的水培实验[J].生物学通报, 1981, (6):4-5.

[16]李春俭. 高级植物营养学[M].北京：中国农业大学出版社,2008。

[17] Bloom A J, Sukrapanna S S, Warner R L. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley[J]. Plant Physiology, 1992, 99(4): 1294-1301.

[18]李合生. 现代植物生理学[M].北京：高等教育出版社, 2002。

50

[19]倪晋ft. 小麦吸收，累积硝酸根的品种间差异[J]. 植物生理学报, 1982, 8(3): 307-315.

[20]杨肖娥，孙羲. 不同水稻品种NH4和NO3吸收的动力学[J]. 土壤通报, 1991, 22(5): 222-224.

+ -

[21]倪晋ft. 高等植物的离子运转[J]. 植物生理学通讯, 1980 (3): 76-76.

[22]倪晋ft. 高等植物的离子运转（续）[J]. 植物生理学通讯, 1980, 4: 19.

[23] Cacco G, Ferrari G, Saccomani M. Pattern of sulfate uptake during root elongation in maize: its correlation with productivity[J]. Physiologia Plantarum, 1980, 48(3): 375-378.

[24]汪晓丽， 陶玥玥， 盛海君， 等. 硝态氮供应对小麦根系形态发育和氮吸收动力学的影响

[J]. 麦类作物学报, 2010, 30(1): 129-134.

[25]刘秀珍，李韵珠. 玉米苗期硝酸离子吸收动力学参数的研究[J]. 土壤肥料, 1994 (3)：21- 24.

[26] Britto D T, Kronzucker H J, NH4 toxicity in higher plants: A critical review [J]. Journal of Plant Physiology, 2002, 159:567-584.

+

[27] Li Q, Li B H, Kronzucker H J, et al. Root growth inhibition by NH4 in *Arabidopsis* is mediated by the root tip and is linked to NH4 efflux and GMPase activity[J]. Plant, Cell and Environment, 2010,33, 1529-1542.

+

+

[28]李青，李保海，施卫明. 高铵胁迫对拟南芥幼苗侧根生长的影响及机制探索[J].土壤,2011, 43(3)：374-381.

[29]邹娜，强晓敏，施卫明. 不同供铵水平对番茄根系生长的影响[J]. 土壤,2012, 44(5)：827- 833.

[30] Liu Y, Lai N W, Gao K, et al. Ammonium inhibits primary root growth by reducing the length of meristem and elongation zone and decreasing elemental expansion rate in the root apex in *Arabidopsis thaliana*[J]. PLoS ONE,2013,8(4): e61031

[31] Liu N, Zhang L, Meng X X, et al. Effect of nitrate/ammonium ratios on growth, root morphology and nutrient elements uptake of watermelon (*Citrullus lanatus*) seedlings[J]. Journal of Plant Nutrition, 2014,37:1859-1872.

[32] Lima J E, Kojima S, Takahashi H, et al. Ammonium triggers lateral root branching in *Arabidopsis* in an AMMONIUM TRANSPORTER1;3-Dependent manner[J]. Plant Cell, 2010, 22: 3621-3633.

[33] Li G Z, Li B H, Dong G Q, et al. Ammonium-induced shoot ethylene production is associated with the inhibition of lateral root formation in *Arabidopsis*[J]. Journal of Experimental Botany, 2013,64(5):1413-1425.

[34] Zou N, Li B H, Chen H, et al. GSA-1/ARG1 protects root gravitropism in *Arabidopsis* under ammonium stress[J]. New Phytologist,2013,200: 97-111.

[35] Zou N, Li B H, Li G Q, et al. Ammonium-induced loss of root gravitropism is related to auxin distribution and TRH1 function, and is uncoupled from the inhibition of root elongation in

51

*Arabidopsis*[J]. Journal of Experimental Botany,2012, 63(10): 3777–3788.

[36]邹娜，李保海，董刚强，等. 铵减弱拟南芥主根向地性及其相关作用途径[J]. 植物生理学报,2011,47 (11)：1109-1116.

[37] Gerendás J, Zhu Z, Bendixen R, et al. Physiological and biochemical processes related to ammonium toxicity in higher plants[J]. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde, 1997, 160(2): 239-251.

[38] Claussen W, Lenz F. Effect of ammonium or nitrate nutrition on net photosynthesis, growth, and activity of the enzymes nitrate reductase and glutamine synthetase in blueberry, raspberry and strawberry[J]. Plant and Soil, 1999, 208(1): 95-102.

[39] Puritch G S, Barker A V. Structure and function of tomato leaf chloroplasts during ammonium toxicity[J]. Plant Physiology, 1967, 42(9): 1229-1238.

[40] Cramer M D, Lewis O A M. The influence of NO3-and NH4+ nutrition on the carbon and nitrogen partitioning characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays* L.) plants[J]. Plant and Soil, 1993, 154(2): 289-300.

[41] Britto D T, Siddiqi M Y, Glass A D M, et al. Futile transmembrane NH4 cycling: a cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2001, 98(7): 4255-4258.

+

[42] Hachiya T, Watanabe C K, Fujimoto M, et al. Nitrate addition alleviates ammonium toxicity without lessening ammonium accumulation, organic acid depletion and inorganic cation depletion in *Arabidopsis thaliana* shoots[J]. Plant and Cell Physiology, 2012, 53(3): 577-591.

[43] You W, Barker A V. Ethylene evolution and ammonium accumulation by tomato plants after root-applied glufosinate-ammonium treatment in the presence of ethylene inhibitors[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2005, 35(13-14): 1957-1965.

[44] Lea P J, Miflin. Alternative route for nitrogen in higher plants[J]. Nature, 1974, 251: 614-616.

[45] Cren M, Hirel B. Glutamine synthetase in higher plants regulation of gene and protein expression from the organ to the cell[J]. Plant and Cell Physiology, 1999, 40(12): 1187-1193.

[46]管闪青， 张屹东， 杨冬冬， 等. 甜瓜谷氨酰胺合成酶基因在不同氮素条件下的表达分析

[J].上海交通大学学报：农业科学版,2007, 25(1):24-29.

[47]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.

[48]张智猛，戴良香，胡昌浩，等. 氮素对不同类型玉米蛋白质及其组分和相关酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(3)：320-326.

[49]陈煜，朱保葛，张敬，等.不同氮源对大豆硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性及蛋白质含量的影响[J].大豆科学，2004,23(2)：143-146.

[50]张新要，刘卫群，易建华，等. 红壤， 水稻土上不同氮素形态配比对烤烟碳氮代谢关键酶活性的影响[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(2)：225-230.

52

[51]王小纯，熊淑萍，马新明，等. 不同形态氮素对专用型小麦花后氮代谢关键酶活性及籽粒蛋白质含量的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(25)：802-807.

[52] El-Shora H M, Abo-Kassem E M. Kinetic characterization of glutamate dehydrogenase of marrow cotyledons[J]. Plant Science, 2001, 161(6): 1047-1053

[53] Robinson S A, Slade A P, Fox G G, et al. The role of glutamate dehydrogenase in plant nitrogen metabolism[J]. Plant Physiology, 1991, 95(2): 509-516.

[54]王云华，王志强，张楚富，等. 硝态氮对黄瓜子叶谷氨酰胺合成酶和谷氨酸脱氢酶活性的影响[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(6)：534-538.

[55] Lasa B, Frechilla S, Aparicio-Tejo P M, et al. Role of glutamate dehydrogenase and phosphoenolpyruvate carboxylase activity in ammonium nutrition tolerance in roots[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2002, 40(11): 969-976.

[56] Mengel K, Robin P, Salsac L. Nitrate reductase activity in shoots and roots of maize seedlings as affected by the form of nitrogen nutrition and the pH of the nutrient solution[J]. Plant Physiology, 1983, 71(3): 618-622.

[57]李春喜，姜丽娜. 小麦氮素营养与后期衰老关系的研究[J]. 麦类作物学报, 2000, 20(2)：39-41.

[58] Oaks A, Aslam M, Boesel I. Ammonium and amino acids as regulators of nitrate reductase in corn roots[J]. Plant Physiology, 1977, 59(3): 391-394.

[59]李向东， 王晓云， 张高英， 等. 花生衰老的氮素调控[J]. 中国农业科学, 2000, 33(5): 1-7.

[60]赵丽英， 邓西平， ft仑. 活性氧清除系统对干旱胁迫的响应机制[J]. 西北植物学报

2005,25(2):413-418.

[61] 阎成士， 张建华. 植物叶片衰老与氧化胁迫[J]. 植物学通报, 1999, 16(4): 398-404.

[62] Mohammadi M, Karr A L. Membrane lipid peroxidation, nitrogen fixation and leghemoglobin content in soybean root nodules[J]. Journal of Plant Physiology, 2001, 158(1): 9-19.

[63]孙群，梁宗锁. 氮对水分亏缺下玉米幼苗膜脂过氧化及光合速率的影响[J]. 西北农业学报, 2001, 10(1)：7-10.

[64]邬飞波. 氮素营养对短季棉生理代谢和产量的影响[J]. 浙江农业大学学报, 1998, 24(3)：241-247.

[65]刘连涛，李存东，孙红春，等. 氮素营养水平对棉花衰老的影响及其生理机制[J]. 中国农业科学, 2009, 42(5)：1575-1581.

[66]朱祝军，喻景权. 氮素形态和光照强度对烟草生长和H2O2清除酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1998, 4(4)：379-385.

[67]张英鹏，林咸永，章永松，等. 不同氮素形态对菠菜生长及体内抗氧化酶活性的影响[J]. 浙江大学学报： 农业与生命科学版, 2006, 32(2)：139-144.

[68]曹翠玲， 李生秀. 氮素形态对小麦中后期的生理效应[J]. 作物学报, 2003, 29(2): 258-262.

53

[69]曹翠玲，李生秀. 氮素形态对玉米幼苗碳水化合物及养分累积的影响[J]. 华中农业大学学报, 2003, 22(5)：457-461.

[70]姜丽娜，王伟莉. 不同氮肥处理对小麦生育后期旗叶生理活性的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 1999, 30(6)：609-612.

[71]姜东，于振文，苏波，等. 不同施氮时期对冬小麦根系衰老的影响[J]. 作物学报, 1997, 23(2)：181-190.

[72]李宪利，高东升. 铵态和硝态氮对苹果植株SOD和POD活性的影响（简报）[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(4): 254-256.

[73]朱祝军，喻景权. 氮素形态和光照强度对烟草生长和H2O2清除酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1998, 4(4)：379-385.

[74]朱祝军. 氮素形态和光照强度对菜豆生长和抗氧化酶活性的影响[J]. 浙江农业大学学报, 1998, 24(1)：51-56

[75]王宝ft. 生物自由基与植物膜伤害[J]. 植物生理学通讯, 1988, 2(12.16).

[76]王振镒，郭蔼光，罗淑萍. 水分胁迫对玉米SOD 和POD 活力及同工酶的影响[J]. 西北农林科技大学学报（自然科学版）, 1989, 17(1)：45: 49。

[77]刘伟，徐坤，苏华，等. 氮素对菠菜衰老生理指标的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(6)：1110-1115.

[78]张国盛，张仁陟，黄高宝，等. 水分亏缺时氮磷营养对春小麦幼苗抗逆性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(6)：584-587.

[79]崔秀明，黄璐琦，郭兰萍，等. 中国三七产业现状及发展对策[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(004)：553-557.

[80]韦美丽，孙玉琴，黄天卫，等. 不同施氮水平对三七生长及皂苷含量的影响[J]. 现代中药研究与实践, 2008, 22(1)：17-17.

[81] 韦美丽， 陈中坚， 孙玉琴， 等. 3年生三七吸肥规律研究[J]. 特产研究, 2008, 30(1): 38-41.

[82]孙玉琴，陈中坚，韦美丽，等. 不同氮肥种类对三七产量和品质影响的初步研究. [J] 中国土壤与肥料,2008，(4)：22 -25.

[83]欧小宏，金航，郭兰萍，等. 三七营养生理与施肥的研究现状与展望[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(19)：2620-2624.

[84]王朝梁，陈中坚，孙玉琴，等. 不同氮磷钾配比施肥对三七生长及产量的影响[J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(1)：5-7.

[85]崔秀明，王朝梁，李伟， 等. 三七吸收氮、磷、钾动态的分析[J]. 云南农业科技,1994,2: 9。

[86]崔秀明，陈中坚，皮立原. 密度及施肥对二年生三七产量的影响[J]. 中药材, 2000, 23(10)：596-598.

[87]欧小宏， 金航， 郭兰萍， 等. 平衡施肥及土壤改良剂对连作条件下三七生长与产量的影

54

响[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(13):1905-1911.

[88]金航，崔秀明，朱艳，等. 三七GAP基地土壤养分分析与肥力诊断[J]. 西南农业学报, 2006,19(1):100-102.

[89] Zhang C F, Peng S B, Peng X X, et al. Bennett J. Response of glutamine synthetase isoforms to nitrogen sources in rice root [J]. Plant Science, 1997, 125: 163-170.

[90] Loulakakis K A, Roubelakis K A. Intracelluar localization and properties of NADH-glutamate dehydrogenase from *Vitis vinifera* L.; Purification and characterization of major leaf isoenzyme [J]. Journal of Experimental Botany, 1990, 41:1223-1230.

[91]李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京：高等教育出版社,2000。

[92]孙群， 胡景江. 植物生理学研究技术[M]. 陕西：西北农林科技大学,2006。

[93]李生秀. 中国旱地土壤植物氮素[M].北京：科学出版社,2008

[94] 何萍, 金继运. 氮钾营养对春玉米叶片衰老过程中激素变化与活性氧代谢的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1999, 5(4): 289 -296 .

[95]彭长连， 林植芳， 林桂珠， 等. 人为干扰对亚热带森林木本植物叶片抗氧化能力的影响

[J]. 生态学报, 1998, (18) 1:101 -106 .

[96]邹春琴， 范晓云， 石荣丽， 等. 铵态氮和硝态氮对旱稻、水稻生长及铁营养状况的影响

[J].中国农业大学学报, 2007,12(4):45-49.

[97]邹春琴，王晓凤，张福锁. 铵态氮抑制向日葵生长的作用机制初步探讨[J].植物营养与肥料学报，2004, 10(1)：82-85.

*[98]* Osborone B A and Whittingon W J. Variation in nitrate reductase activity between *Agrostic*

Species and ecotypes[J]. New Phytologist,1981,890:581-590.

[99]阎秀峰，王洋，李一蒙. 植物次生代谢及其与环境的关系[J]. 生态学报, 2007, 27(6): 2554-2562.

[100] Liu W, Zhu D W, Liu D H, et al. Influence of nitrogen on the primary and secondary metabolism and synthesis of flavonoids in *Chrysanthemum Morifolium Ramat*[J]. Journal of Plant Nutriton, 2010,33, 240-254.

[101]苏文华， 张光飞， 周鸿， 等. 短葶飞蓬黄酮及咖啡酸酯的含量与土壤氮供应量的关系

[J]. 植物生态学报, 2009, 33(5): 885-892.

[102]苏文华，张光飞，周鸿，等. 短葶飞蓬总咖啡酸酯和灯盏乙素含量的空间变化[J]. 生态学报, 2010, 30(4)：1109-1116.

[103] Beyaert R P. Influence of nitrogen fertilization on the growth and yield of North American Ginseng[J]. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 2006, 11(4): 65-80.

[104]欧小宏. 氮素营养对三七生长、产量及品质的影响[D]. 云南民族大学, 2012。

[105]鲍士旦. 土壤农化分析（第三版）[M]. 北京：中国农业出版社, 2000。

[106]国家药典委员会. 中华人民共和国药典2010版(一部)[S].北京：中国医药科技出版

55

社,2010.

[107] Schittenhelm S, Menge-Hartmann U. Yield formation and plant metabolism of spring barley in response to locally injected ammonium [J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2006, 192(6): 434-444.

56

**在学位期间发表的学术成果及获奖情况**

**郑冬梅**，李佳，欧小宏，刘大会\*，等. 三七种植地土壤养分动态变化研究[J]. 西南农业学报，2015, 28(1)：279-285.

**郑冬梅**， 欧小宏， 米艳华， 刘大会\*，等. 不同钾肥品种及配施对三七产量和品质的影响[J]. 中

国中药杂志, 2014, 39(4): 588-593.

**郑冬梅**，王丽，欧小宏，刘大会\*，等. 三七传统产区和新产区植株农艺性状比较及相互关系研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(004)：558-565.

欧小宏， 张智慧， **郑冬梅**， 等. 氮肥运筹对二年生三七产量、品质及养分吸收与分配的影响

[J]. 中国现代中药, 2014 (12): 1000-1005.

**郑冬梅**，王丽，刘大会\*，等. 高铵胁迫对三七生长及生理活性的影响[C]. 中国生态学学会中药生态专业委员会第五次全国学术研讨会暨世界中医药学会联合会药用植物资源利用与保护专业委员会第二届学术年会，2014: 134-138.

57

致 **谢**

三年不长也不短，是我们人生最宝贵的时光，在这即将结束之际，回首试问，对自己的这三年的学习和生活能否画上一个圆满的句号。答案是肯定的，因为这一路走来，不是自己一个人：

首先是我的导师，云南省农业科学院药用植物研究所的刘大会副研究员，在实验课题研究上，刘老师谆谆教诲，不辞辛苦，悉心教导，从小事比如标签的书写，土样的分取到课题的选择、实验方案确定都是他亲历指导。刘老师渊博的知识、广阔的学术视野和灵活的思维方式都是我学习的榜样，激发了我对科研的兴趣。在实验遇到问题，无比失落时，是他不断的鼓励、赞扬和支持让我对科研课题重拾信心，继续上路。在论文的写作上，刘老师更是不厌其烦，耐心讲解分析，一次一次的指导修改。刘老师的关心和体贴不仅在实验上，也在平时的生活中，刘老师教诲我们要用平和积极的心态面对，他告诉我人要有一颗向上和感恩的心，不要怕困难，在此谨向刘老师表示最诚挚的敬意和深深的谢意。

其次，感谢云南民族大学给予我宝贵的学习机会，给我提供了一个良好的学习和科研环境。感谢化生学院的各位领导和老师的支持，感谢郭俊明教授、高云涛教授、陈毅坚教授、肖焱波教授等在我的实验中给予的帮助和支持；感谢云南省农科院药用植物研究所王家金书记、季鹏章研究员、张智慧副研究员、王丽老师在我的实验中给予的帮助和支持；感谢云南农业大学夏云生教授在我实验用给予的帮助和支持；感谢华中农大的欧小宏师兄在实验中和论文写作上给予的帮助和支持，同时感谢任明丽、李蓉、孟艳玲、杨玉春、黄季军、陈梦云、李一梅、黄雪、徐娜等同学，是你们让我的研究生活多了很多色彩。

最后，我要感谢一直以来给予我支持、理解、和鼓励的亲人。谨以此文祝愿我的家人快乐、健康。

毕业论文的完成只是我人生一个新的开始，今后我会更加努力工作，藉此回报我的家人和关心帮助我的老师、朋友们。

本课题得到国家自然科学基金（81260618）与云南省自然科学基金

（2012FB192）的支持！

58