

研究报告

复合菌剂调控连作当归根围土壤养分及对产量的影响

杨涛^{#1,2}, 姚阳阳^{#3}, 王治业^{*1,2}, 党昇荣⁴, 毛婷^{1,2}, 牛永艳^{1,2}, 彭桐³, 王引权³

1 甘肃省科学院生物研究所, 甘肃 兰州 730000

2 甘肃省微生物资源开发利用重点实验室, 甘肃 兰州 730000

3 甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000

4 甘肃绿能农业科技股份有限公司, 甘肃 武威 733000

杨涛, 姚阳阳, 王治业, 党昇荣, 毛婷, 牛永艳, 彭桐, 王引权. 复合菌剂调控连作当归根围土壤养分及对产量的影响[J]. 微生物学通报, 2022, 49(7): 2648-2660

Yang Tao, Yao Yangyang, Wang Zhiye, Dang Shengrong, Mao Ting, Niu Yongyan, Peng Tong, Wang Yinquan. Effects of complex bacterium inoculants on rhizosphere soil nutrients and yield of *Angelica sinensis* in continuous cropping[J]. Microbiology China, 2022, 49(7): 2648-2660

摘要: 【背景】连作可引起微生物群落结构失调, 导致土壤环境恶化、养分循环不畅、当归 [*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels] 产量降低, 通过现代微生物技术改良土壤、消减连作障碍势在必行。【目的】于大田条件下, 研究施用复合菌剂对当归根围土壤酶活、速效养分及产量的影响, 明确增产机制, 改进增产措施。【方法】利用溶磷圈法检测不同菌株溶磷活性、乙炔还原法检测固氮活性、试剂盒法检测过氧化物酶和硝化能力; 复合菌剂 T1 [荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) CBS5、产碱假单胞菌 (*Pseudomonas alcaligenes*) CBS7、嗜冷假单胞菌 (*Pseudomonas extremaustralis*) CBSB、生枝动胶菌 (*Zoogloea ramigera*) CBS4] 和 T2 (荧光假单胞菌 CBS5、产碱假单胞菌 CBS7、嗜冷假单胞菌 CBSB) 及对照 CK (无菌马铃薯葡萄糖肉汤培养基) 分别处理连作当归, 分光光度法测定根围土壤及根中养分循环、转化相关酶活, 氮、磷、钾速效养分含量; 常规方法测产量; 统计软件进行相关数据方差分析和主成分分析。【结果】产碱假单胞菌 CBS7 溶磷能力弱, 不同菌株均具有固氮、过氧化物酶活性和硝化能力, 生枝动胶菌 CBS4 高于其他菌株。与不接种对照相比, T1 和 T2 处理均显著提高当归根系生长旺盛期和生长末期根围土壤碳、氮分解代谢相关酶的活性, 降低碱性磷酸酶活性; 提高土壤速效钾、硝态氮、铵态氮、速效氮、根中铵态氮、硝态氮含量及

基金项目: 甘肃省重点研发计划(21YF1FA353); 甘肃省科学院产业化基金(2019YC-02); 甘肃省科学院创新团队计划项目(2019CX004-01); 双一流重大科研项目(GSSYLXM-05)

#对本文贡献相同

Supported by: Key Research and Development Program of Gansu Province (21YF1FA353); The Industrialization Fund of Gansu Academy of Sciences (2019YC-02); Innovation Team Plan of Gansu Academy of Sciences (2019CX004-01); Double First-Class Major Scientific Research Projects (GSSYLXM-05)

#These authors equally contributed to this work

***Corresponding author:** E-mail: zhiye_wang@sina.com

Received: 2021-10-24; **Accepted:** 2022-01-04; **Published online:** 2022-02-07

根中硝酸还原酶活性；促进根系的生长，提高了产量。与 T2 相比，T1 显著提高根系生长旺盛期土壤蔗糖酶和脲酶活性；提高了土壤铵态氮、速效氮和根中铵态氮含量；于生长末期提高了土壤硝态氮、速效氮、根中铵态氮、硝态氮含量及根中硝酸还原酶活性。【结论】复合菌剂 T1 和 T2 活化了根围土壤钾素；通过硝化作用可提高根围土壤硝态氮比例，缓解高浓度的铵盐对根系生长的毒害作用。当归通过主动运输硝态氮，能提高根中硝态氮与铵态氮的比值；根中硝酸还原酶活性提高，促进硝态氮向铵态氮转化，从而提高氮素吸收利用效率；综合效应 T1 大于 T2。

关键词：当归；假单胞菌属；土壤酶活；速效养分

Effects of complex bacterium inoculants on rhizosphere soil nutrients and yield of *Angelica sinensis* in continuous cropping

YANG Tao^{#1,2}, YAO Yangyang^{#3}, WANG Zhiye^{*1,2}, DANG Shengrong⁴, MAO Ting^{1,2}, NIU Yongyan^{1,2}, PENG Tong³, WANG Yinquan³

1 Institute of Biology, Gansu Academy of Sciences, Lanzhou 730000, Gansu, China

2 Key Laboratory of Microbial Resources Exploitation and Application of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu, China

3 College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu, China

4 Gansu Luneng Agricultural Science and Technology Limited Company, Wuwei 733000, Gansu, China

Abstract: [Background] Continuous cropping causes imbalance in microbial community structure, deterioration of soil environment, poor nutrient cycling, and thus the yield reduction of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. Therefore, it is imperative to improve soil by modern microbial technology and reduce continuous cropping obstacles. [Objective] To explore the effects of complex bacterium inoculants on rhizosphere soil enzyme activities, available nutrients, and yield of *A. sinensis*, clarify the yield-improving mechanism, and improve the measures for increasing yield. [Methods] The phosphorus-solubilizing activity of different strains was detected based on the halo zone, nitrogen-fixing activity by acetylene reduction assay, and peroxidase activity and nitrifying ability with kits. Complex bacterium inoculants T1 (*Pseudomonas fluorescens* CBS5, *P. alcaligenes* CBS7, *P. extremaustralis* CBSB, *Zoogloea ramigera* CBS4), T2 (*P. fluorescens* CBS5, *P. alcaligenes* CBS7, *P. extremaustralis* CBSB), and CK (sterile potato dextrose broth) were used to treat *A. sinensis*. The activities of enzymes related to nutrient cycling and transformation, and the content of available nutrients such as nitrogen, phosphorus and potassium in rhizosphere soil were determined by spectrophotometry. The yield was measured with conventional method. Statistical software was employed for variance analysis and principal component analysis of data. [Results] CBS7 had poor phosphorus-solubilizing ability. All the strains had nitrogen-fixing ability, peroxidase activity, and nitrifying ability, which were particularly prominent in CBS4. Compared with the CK, T1 and T2 significantly increased the activities of enzymes related to soil carbon and nitrogen metabolism and decreased the activity of soil alkaline phosphatase at the vigorous growth stage and late growth stage of *A. sinensis* root. They improved the content of available potassium, nitrate nitrogen, ammonium nitrogen, and available nitrogen in soil, content of

ammonium nitrogen and nitrate nitrogen in root, and the nitrate reductase activity in root. Moreover, they promoted the root growth of *A. sinensis* and increased the yield. Compared with T2, T1 significantly enhanced the activities of sucrase and urease in soil, and raised the content of ammonium nitrogen and available nitrogen in soil and the content of ammonium nitrogen in root during the vigorous growth stage of root, and T1 improved the content of nitrate nitrogen and available nitrogen in soil, content of ammonium nitrogen and nitrate nitrogen in root, and nitrate reductase activity in root at the late growth stage of root. [Conclusion] T1 and T2 activated potassium in rhizosphere soil and improved the proportion of nitrate nitrogen in rhizosphere soil by nitrification to alleviate the toxicity of the high-concentration ammonium salt to root. The ratio of nitrate nitrogen to ammonia nitrogen in root was increased by active transport of nitrate nitrogen in *A. sinensis*. Then the nitrate reductase activity in root was improved, promoting the transformation of nitrate nitrogen to ammonium nitrogen and nitrogen utilization. In a word, T1 and T2 promoted the absorption and utilization of nutrients, particularly T1.

Keywords: *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; *Pseudomonas*; soil enzyme activities; available nutrients

当归为伞形科植物当归 [*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels] 的干燥根^[1], 是甘肃“道地药材”之首。在海拔 1 500–3 000 m 左右均可栽培, 喜高寒凉爽气候, 忌连作。种植地以土层肥沃深厚、疏松、排水良好、富含腐殖质的砂质壤土为宜, 不宜在低洼积水或者易板结的黏土和贫瘠的砂质土栽种。近年来, 随着当归被列入《药食同源目录》, 其需求激增, 单一作物连年重复种植, 化肥、农药大量且不合理施用, 不仅污染了土壤, 而且造成当归生长发育不良、产量及品质下降及抗病能力降低等问题。研究表明, 迎茬、重茬(连作 2 年)和三茬(连作 3 年)当归根围土壤中的细菌数量分别比正茬降低了 16%、31% 和 34%, 真菌分别比正茬增加 25%、119% 和 136%, 微生物多样性指数分别比正茬降低 48%、79% 和 81%, 当归总产量分别比正茬下降 11%、30% 和 58%^[2]。此外, 大量化肥、农药的投入, 也加剧了土壤微生物多样性的降低^[3]。轮作是消减连作障碍的有效传统方式之一, 研究表明轮作可以促进土壤中芽孢杆菌属(*Bacillus*)、固氮菌属(*Azotobacter*)、微球菌属 (*Micrococcus*) 及 假 单 胞 菌 属 (*Pseudomonas*)等土壤有益细菌数量增加, 从而

起到防治病害、促进土壤养分转化循环、降解污染物的作用^[4]。通过间作套种等栽培措施, 也可以改善当归根围土壤微生物多样性, 进而影响土壤酶活、矿质营养活化利用, 从而提高产量^[5–7]。由此可见, 土壤微生物群落结构失调及养分循环、转化不畅是导致连作障碍的主要原因之一。土壤酶活是土壤微生物代谢活性和促进养分循环、转化的重要指标, 对土壤理化性质的改变较敏感, 能够反映土壤环境中各种生化反应的强度和养分累积状况。二乙酸荧光素(fluorescein diacetate, FDA)水解酶反映微生物的代谢活性, 过氧化氢酶促进有害物质过氧化氢分解, 脲酶、磷酸酶、β-葡萄糖苷酶等与土壤氮、磷循环及有机质降解、腐殖质形成有关, 其活性与作物产量呈正相关^[8–10]。研究表明, 药用植物滇重楼接种丛枝菌根真菌, 通过提高土壤脲酶、蔗糖酶、蛋白酶活性, 可促进速效氮、磷、钾的吸收, 提高产量^[11]。施用新材料凹凸棒土包衣的生防菌解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) FZB42, 不仅降低当归根腐病的发生, 而且增强了土壤肥力, 提高了产量^[12]。施用生物有机肥 DZF-363, 显著增加了当归根围土壤细菌的多样性, 提高了脲酶和磷酸

酶活性, 减轻了根腐病的发生, 促进增产^[13]。

本课题组研究表明, 由枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) 5C1、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) 5C5、贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) 5C7 组成的芽孢杆菌属(*Bacillus*)复合菌剂和由荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*) CBS5、产碱假单胞菌(*Pseudomonas alcaligenes*) CBS7、嗜冷假单胞菌(*Pseudomonas extremaustralis*) CBSB 组成的假单胞菌属(*Pseudomonas*)复合菌剂, 通过提高连作当归光合作用、胁迫抗性, 调控内源激素水平, 起到增产提质的作用; 两者区别在于, 芽孢杆菌属(*Bacillus*)复合菌剂主要促进当归内源生长素、赤霉素的积累, 假单胞菌属(*Pseudomonas*)复合菌剂主要促进水杨酸、茉莉酸的积累, 而且增产作用优于芽孢杆菌属(*Bacillus*)^[14]。水杨酸、茉莉酸是植物免疫相关激素, 具有抑杀微生物的作用, 假单胞菌属(*Pseudomonas*)复合菌剂处理是否影响当归根围土壤微生物活性及养分活化利用, 有待进一步研究。此外, 考虑到当归生长中土壤富集较多的磷会促进抽薹, 氮素又是产量的保障, 本项目基于前期假单胞菌属(*Pseudomonas*)复合菌剂, 增添了一株自身固氮及硝化能力均较强且不解磷的菌株生枝动胶菌(*Zoogloea ramigera*) CBS4 组成新的复合菌剂, 在田间条件下研究其对连作当归根围土壤酶活性、速效养分含量及产量的影响, 旨在从土壤养分活化利用的角度进一步优化、复配复合菌剂。

1 材料与方法

1.1 材料

供试植株为岷归 1 号 1 年生幼苗。供试菌株由课题组成员前期从高寒萌生药用植物中分离获得, 鉴定后保存于中国工业微生物菌种保藏管理中心甘肃分中心。不同菌株在 28 °C、200 r/min

条件下用马铃薯葡萄糖肉汤培养基(potato dextrose broth, PDB)振荡培养 2 d, 调至相同 OD₆₀₀ 值, 等比例复配。

过氧化物酶、硝酸还原酶、土壤蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶、FDA 水解酶、β-葡萄糖苷酶、碱性蛋白酶、碱性磷酸酶、蔗糖、硝态氮、铵态氮、速效钾、速效磷试剂盒, 北京索莱宝科技有限公司。紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; 气相色谱仪, Agilent 公司。

PDB 培养基、阿须贝无氮培养基, 北京索莱宝科技有限公司, 用于菌株培养及测定固氮能力; 国际植物研究所磷酸盐生长培养基, 上海源叶生物科技有限公司, 用于测定溶磷能力; 改良斯蒂芬逊培养基, 山东拓普生物工程有限公司, 用于测定硝化能力。

1.2 方法

1.2.1 试验设计

接种复合菌剂 T1 [荧光假单胞菌 CBS5 (MW981369.1)、产碱假单胞菌 CBS7 (MW981370.1)、嗜冷假单胞菌 CBSB (MW981371.1)、生枝动胶菌 CBS4 (MW981368.1) 复配]、T2 (荧光假单胞菌 CBS5、产碱假单胞菌 CBS7、嗜冷假单胞菌 CBSB 复配)和不接种对照 CK (无菌 PDB 培养基)共 3 个处理, 完全随机排列, 重复 3 次。

试验于 2020 年在甘肃省武威市天祝藏族自治县红大村当归连作 3 年的地块开展(土壤类型为栗钙土, 速效钾 6.65 mg/kg, 速效磷 15.99 g/kg, 碱解氮 35.05 μg/g, 有机质 2.90%, pH 7.76), 小区面积 60 m², 种植时不覆膜; 7—9 月, 不同复合菌剂用无菌水稀释至 1×10⁷ CFU/mL, 每 3 周分别叶面喷施、灌根 1 次菌剂, 共 4 次, 不同小区施用量均为 13 L。田间管理按常规措施进行。

分别于根系膨大生长起始期 S1 (2020 年 7 月 8 日, 尚未施菌剂)、膨大生长旺盛期 S2 (2020 年

8月25日，第3次施用后1 d)、膨大生长末期S3(2020年10月9日，第4次施用后25 d)3次取样，每小区采挖当归10株，轻轻抖掉根系外围土，再用毛刷轻轻刷下附在根系表面的土壤，过筛，除去混杂的残根，自然风干后，用无菌的封口袋密封，4 °C保存备用；当归根洗净后，截成1 cm长的小段，混合均匀，鲜样测定相关指标。最终收获后测产量。

1.2.2 微生物溶磷、固氮、过氧化物酶活性及硝化力测定

(1) 菌株活化及酶活测定。分别取5 mL纯化菌液接种于灭菌的50 mL阿须贝无氮培养基中，30 °C、200 r/min振荡培养72 h，测定浊度 OD_{600} 值。按试剂盒所述方法测定过氧化物酶活性，计算结果除以相应菌液的浊度，标准化为单位浊度菌液的酶活。每个菌株重复3次，计算平均值。

(2) 溶磷圈法溶磷能力测定。将不同菌株分别接种于国际植物研究所磷酸盐生长培养基，置于28 °C恒温培养2–5 d，观察有无溶磷圈及溶磷圈大小，计算溶磷圈直径与菌落直径(D/d)的比值，确定溶磷作用的相对大小。

(3) 固氮活性乙炔还原法定量测定。分别移取上述活化菌液5 mL转入20 mL顶空瓶中，压盖封口，从瓶中抽出2 mL气体，再注入等体积乙炔，继续培养24 h，气相色谱仪检测生成的乙烯含量。气相色谱分析条件：PLOT/Q填充毛细管色谱柱(30 m×0.53 mm×40 μm)，载气为氮气，流速为2.0 mL/min；进样口温度为200 °C，分流比为10:1；升温程序为恒定温度60 °C，保持6 min。FID检测器：温度250 °C，氢气40 mL/min，空气450 mL/min，尾吹气(氮气)30 mL/min。固氮酶活性按如下公式计算，计算结果除以相应菌液的浊度，标准化为单位浊度菌液固氮酶活性。每个菌株重复3次，计

算平均值。

$$\text{固氮酶活性} [\text{C}_2\text{H}_4 \text{nmol} / (\text{mL} \cdot \text{h})] = \frac{\text{生成乙烯浓度} (\mu\text{L}/\text{mL}) \times \text{气体体积} (\text{mL}) \times \text{稀释倍数} \times 1000}{\text{样品体积} (\text{mL}) \times \text{反应时间} (\text{h}) \times 24.5}$$

(4) 硝化力定量测定。分别取上述活化的菌液，5 000 r/min离心10 min收集菌体，无菌水重悬，调 OD_{600} 至1.0，按1% (体积分数)将上述菌液分别接入改良斯蒂芬逊培养基，28 °C、200 r/min振荡培养2 d，测定 OD_{600} 值，按试剂盒所述方法检测亚硝酸盐氮、硝酸盐氮含量，按如下公式计算硝化力，计算结果除以相应菌液的浊度，标准化为单位浊度菌液的硝化力。每个菌株重复3次，计算平均值。

$$\text{硝化力} (\%) = \frac{\text{N浓度} (\text{NO}_3^- \text{-N} + \text{NO}_2^- \text{-N}) \times \text{稀释倍数}}{\text{NH}_4^+ \text{浓度} \times 14 \div 18} \times 100$$

1.2.3 当归根围土壤酶及根中硝酸还原酶活性测定

按试剂盒所述方法测定不同处理当归根围土壤不同时期脲酶、蔗糖酶、FDA水解酶、β-葡萄糖苷酶、碱性蛋白酶、碱性磷酸酶、过氧化氢酶及当归根中硝酸还原酶的活性。每个样品重复3次，计算平均值。

1.2.4 当归根围土壤、根中养分含量测定

按试剂盒所述方法测定不同处理当归根围土壤不同时期硝态氮、铵态氮、速效钾、速效磷，以及根中蔗糖、可溶性蛋白、铵态氮和硝态氮含量。每个样品重复3次，计算平均值。

1.2.5 当归产量指标测定

每小区测定300株，分别数不定根数，游标卡尺测量当归芦头直径、芦头长、身长，称量单株鲜重，计算平均值。

1.2.6 数据分析

利用Excel 2016进行数据整理，SPSS 22进行方差分析、最小显著差异法(least significant difference, LSD)多重比较、主成分

分析, 使用 GraphPad Prism 8、Origin 9 软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同菌株溶磷、固氮、过氧化物酶活性及硝化作用

产碱假单胞菌 CBS7 溶磷能力弱, 其他菌株都无溶磷作用; 各菌株均具有固氮、过氧化物酶活性和硝化能力, 生枝动胶菌 CBS4 高于其他菌株。由相关功能指标可知, 生枝动胶菌 CBS4 具有更强的铵态氮、硝态氮生产能力(表 1)。

2.2 不同复合菌剂对当归根围土壤酶活性的影响

与不接种对照相比, 复合菌剂 T1 和 T2 处理均提高了当归根围土壤 FDA 水解酶、蔗糖酶、 β -葡萄糖苷酶、脲酶、碱性蛋白酶的活性, 降低了碱性磷酸酶活性, 表明 2 种复合菌剂提高了根围土壤微生物的代谢活性和有机质的转化能力, 促进了碳、氮代谢, 抑制了磷代谢。从根系生长旺盛期 S2 到生长末期 S3, 2 种复合菌剂处理后, 土壤 FDA 水解酶、蔗糖酶、 β -葡萄糖苷酶、碱性蛋白酶活性均降低, 碱性磷酸酶活性均升高, 脲酶活性均不变, 表明其对根围土壤氮代谢的影响时间长、程度深。从

根系生长起始期 S1 至生长末期 S3, 随着生长的延续, 活性氧逐渐积累, 不同处理土壤过氧化氢酶逐渐升高。与不接种对照相比, T1 和 T2 处理, 在第 3 次菌剂施用后 1 d 生长旺盛期 S2, 土壤过氧化氢酶降低; 在第 4 次菌剂施用后 25 d 生长末期 S3, 土壤过氧化氢酶升高, 表明在施用外源菌剂干扰下, 短期作用结果增加活性氧含量, 长期作用结果清除活性氧。与 T2 相比, T1 显著提高了生长旺盛期 S2 土壤蔗糖酶和脲酶的活性(图 1)。

2.3 不同复合菌剂对当归根围土壤及根中养分、酶活的影响

与不接种对照相比, 复合菌剂 T1 和 T2 处理, 在土壤速效磷不同时期均无显著差异。根系生长旺盛期 S2、生长末期 S3, 与不接种对照相比, T1 速效钾含量分别显著提高了 108% 和 25%; T2 分别显著提高了 97% 和 14%。上述两时期 S2、S3, 与不接种对照相比, T1 铵态氮分别降低了 37% 和 29%, 硝态氮增加了 84% 和 70%; T2 铵态氮分别降低了 46% 和 33%, 硝态氮增加了 81% 和 56%。与 T2 相比, T1 在生长旺盛期 S2, 硝态氮无显著差异, 铵态氮显著提高了 16%; 生长末期 S3, 铵态氮无显著差异, 硝态氮显著提高了 9%。从生长旺盛期 S2 至生长末期 S3 速效氮含量, T1 和

表 1 不同菌株功能指标($mean \pm SE, n=3$)

Table 1 Function indexes of different strains ($mean \pm SE, n=3$)

菌株 Strains	溶磷 Phosphate solubilizing	固氮活性 Nitrogen fixation activity (nmol/(mL·h))	过氧化物酶活性 Peroxidase activity (U/mg-prot)	硝化力 Nitrifying power (%)
生枝动胶菌 CBS4 <i>Zoogloea ramigera</i> CBS4	0	3.82±0.01a	86.23±3.04a	2.34±0.03a
荧光假单胞菌 CBS5 <i>Pseudomonas fluorescens</i> CBS5	0	2.45±0.01b	68.15±1.25b	1.04±0.02c
产碱假单胞菌 CBS7 <i>Pseudomonas alcaligenes</i> CBS7	1.52±0.10	2.35±0.01c	25.86±2.88d	1.38±0.01b
嗜冷假单胞菌 CBSB <i>Pseudomonas extremaustralis</i> CBSB	0	2.27±0.02d	48.29±2.75c	1.40±0.02b

注: 每列不同小写字母分别表示相应指标显著差异($P<0.05$)多重比较

Note: Different lowercase letters in each column indicate multiple comparisons in the significant differences ($P<0.05$).

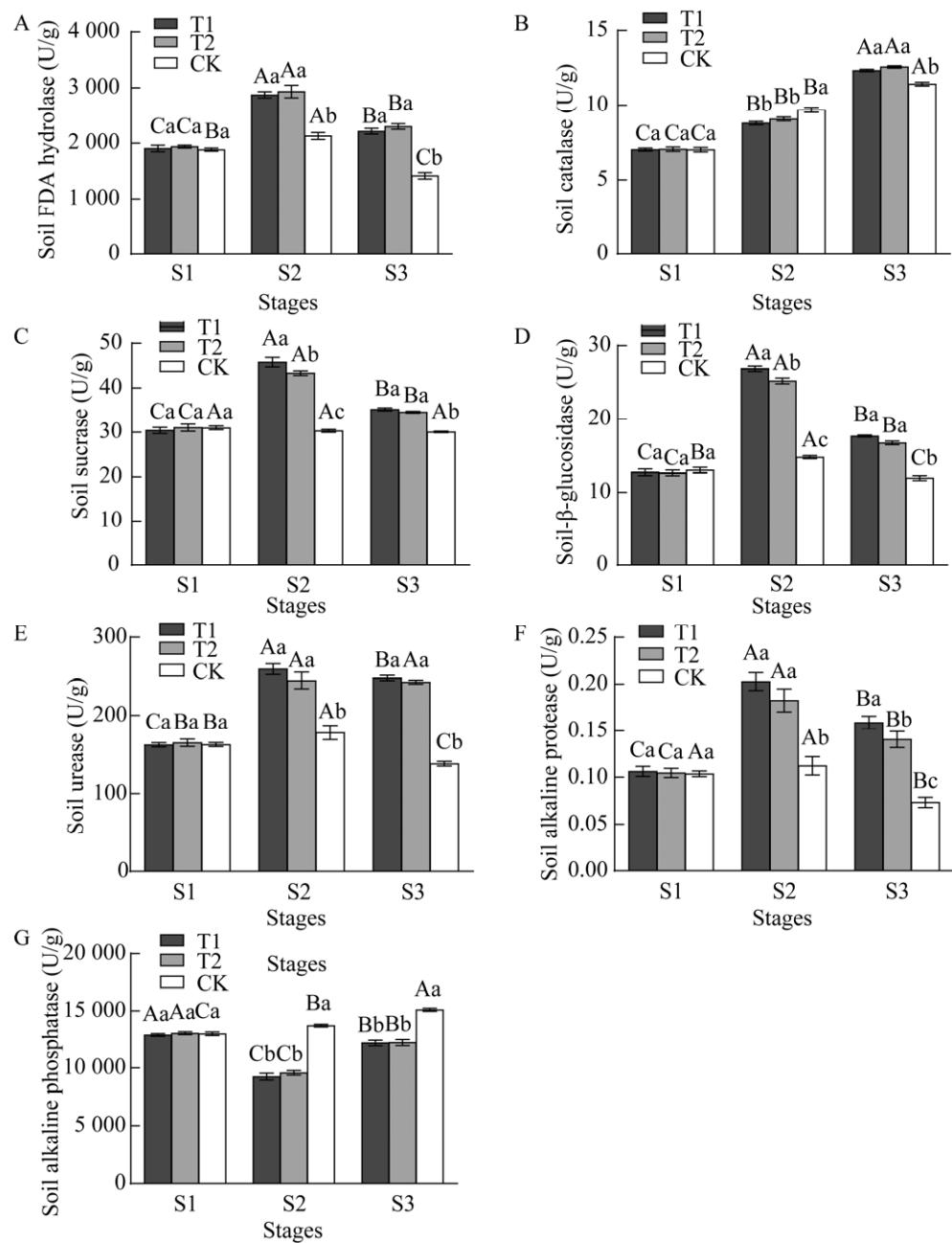


图 1 不同复合菌剂对当归根围土壤不同时期酶活性的影响 A: 土壤 FDA 水解酶; B: 土壤过氧化氢酶; C: 土壤蔗糖酶; D: 土壤- β -葡萄糖苷酶; E: 土壤脲酶; F: 土壤碱性蛋白酶; G: 土壤碱性磷酸酶。不同大写字母分别表示同一处理不同时期间显著差异($P<0.05$)多重比较; 不同小写字母分别表示同一时期不同处理间显著差异($P<0.05$)多重比较

Figure 1 Effects of different complex bacterium inoculants on rhizosphere soil enzyme activities of *A. sinensis* in different stages. A: Soil FDA hydrolase; B: Soil catalase; C: Soil sucrase; D: Soil- β -glucosidase; E: Soil urease; F: Soil alkaline protease; G: Soil alkaline phosphatase. Different uppercase letters indicate multiple comparisons in the same treatment and different stages respectively ($P<0.05$); Different lowercase letters indicate multiple comparisons in the same stage and different treatments respectively ($P<0.05$).

T2 处理均显著降低了 21%，对照显著降低了 30%。综合分析上述根围土壤速效氮、磷、钾元素含量变化可知，复合菌剂 T1 和 T2 均活化了土壤钾素，促进了铵态氮向硝态氮的转化，改变了不同氮素的比例(表 2)。

与不接种对照相比，T1 和 T2 处理均显著提高了不同时期根中蛋白、蔗糖、铵态氮和硝态氮含量；与 T2 相比，T1 根中铵态氮 2 时期都显著增加，硝态氮生长旺盛期 S2 无显著差异，生

长末期 S3 显著增加。硝酸还原酶是植物中催化硝态氮还原为铵态氮的第一个限速酶，与不接种对照相比，T1 和 T2 处理均显著提高了不同时期硝酸还原酶活性；与 T2 相比，T1 在生长旺盛期 S2 无显著差异，生长末期 S3 显著提高(表 3)。

土壤和根中根系生长旺盛期 S2、生长末期 S3 不同形态氮的比值见表 4。复合菌剂 T1 和 T2 处理有效地将土壤铵态氮转化为硝态氮，土壤硝态氮/铵态氮的比值大于 1，对照小于 1。植物

表 2 不同复合菌剂对当归不同时期根围土壤养分的影响($mean \pm SE, n=3$)

Table 2 Effects of different complex bacterium inoculants on rhizosphere soil nutrients of *A. sinensis* in different stages ($mean \pm SE, n=3$)

时期 Stages	处理 Treatments	速效钾 Available potassium (mg/kg)	速效磷 Available phosphorus (μmol/g)	铵态氮 Ammonium nitrogen (μg/kg)	硝态氮 Nitrate nitrogen (μg/kg)	速效氮 Available nitrogen (μg/kg)
Start	T1	6.73±0.18Ba	16.39±0.05Aa	17.16±0.37Aa	9.60±0.20Ca	26.76±0.50Ba
growth	T2	6.57±0.16Ca	16.28±0.06Aa	17.28±0.20Aa	9.22±0.37Ca	26.50±0.38Ba
stage	CK	6.64±0.13Ca	16.42±0.03Aa	17.43±0.13Ba	9.05±0.44Aa	26.48±0.54Ba
Vigorous	T1	15.32±0.29Aa	17.15±0.05Aa	14.47±0.29Bb	18.16±0.50Aa	32.63±0.64Aa
growth	T2	14.50±0.48Ab	16.74±0.06Aa	12.45±0.18Bc	17.90±0.30Aa	30.35±0.31Ab
stage	CK	7.35±0.44Bc	16.98±0.03Aa	23.14±0.09Aa	9.88±0.57Ab	33.02±0.42Aa
Late	T1	15.12±0.27Aa	16.57±0.07Aa	9.81±0.28Cb	15.97±0.22Ba	25.78±0.34Ba
growth	T2	13.69±0.34Bb	16.16±0.06Aa	9.36±0.25Cb	14.63±0.27Bb	23.99±0.36Cb
stage	CK	12.05±0.35Ac	16.38±0.04Aa	13.90±0.20Ca	9.39±0.39Ac	23.29±0.43Cb

注：不同大写字母分别表示同一处理不同时期间显著差异($P<0.05$)多重比较；不同小写字母分别表示同一时期不同处理间显著差异($P<0.05$)多重比较

Note: Different uppercase letters indicate multiple comparisons in the same treatment and different stages, respectively ($P<0.05$)；Different lowercase letters indicate multiple comparisons in the same stage and different treatments, respectively ($P<0.05$)。

表 3 不同复合菌剂对当归不同时期根中养分和酶活的影响($mean \pm SE, n=3$)

Table 3 Effects of different complex bacterium inoculants on the nutrients and enzyme activity of root in different stages ($mean \pm SE, n=3$)

时期 Stages	处理 Treatments	根中蛋白 Root protein (mg/g)	根中蔗糖 Root sucrose (mg/g)	根中铵态氮 Root ammonium nitrogen (μg/g)	根中硝态氮 Root nitrate nitrogen (μg/g)	硝酸还原酶 Nitrate reductase (U/g)
Vigorous	T1	374.49±1.26Aa	61.47±0.20Aa	696.11±4.80Aa	100.26±0.40Aa	5.36±0.07Aa
growth	T2	373.63±1.93Aa	59.94±0.37Aa	594.26±4.75Ab	98.18±0.39Aa	5.43±0.04Aa
stage	CK	328.34±0.84Ab	44.34±0.52Ab	525.00±3.67Ac	62.39±0.59Ab	2.22±0.08Ab
Late	T1	362.48±0.88Ba	50.62±0.32Ba	666.85±3.20Ba	93.90±0.30Ba	4.90±0.05Ba
growth	T2	350.91±1.33Bb	51.48±0.29Ba	581.67±3.44Ab	84.15±0.69Bb	4.52±0.06Bb
stage	CK	317.48±1.76Bc	38.69±0.24Bb	495.37±3.72Bc	53.37±0.59Bc	1.75±0.06Bc

注：不同大写字母分别表示同一处理不同时期间显著差异($P<0.05$)多重比较；不同小写字母分别表示同一时期不同处理间显著差异($P<0.05$)多重比较

Note: Different uppercase letters indicate multiple comparisons in the same treatment and different stages, respectively ($P<0.05$)；Different lowercase letters indicate multiple comparisons in the same stage and different treatments, respectively ($P<0.05$)。

中 T1、T2 和对照处理不同时期根铵态氮/总速效氮的比值远高于根硝态氮/总速效氮，与不接种对照相比，T1 和 T2 处理根硝态氮与铵态氮的比值提高。植物对硝态氮和铵态氮的富集吸收程度，分别以根硝态氮/土壤硝态氮的比值、根铵态氮/土壤铵态氮的比值表示。由于根中硝态氮还原为铵态氮，与不接种对照相比，T1 和 T2 处理硝态氮富集差异不大，铵态氮富集差异明显：生长旺盛期 S2，T1 是对照的 2.12 倍，T2 是对照的 2.10 倍；生长末期 S3，T1 是对照的 1.91 倍，T2 是对照的 1.74 倍，T1 大于 T2。

植物对不同形态氮素的吸收利用方式不同，硝态氮主动运输，铵态氮自由扩散。复合菌剂 T1 和 T2 通过硝化作用提高了根围土壤硝态氮比例，缓解了高浓度的铵盐对根系生长的毒害作用；当归通过主动运输硝态氮，提高了根中硝态氮与铵态氮的比值；根中硝酸还原酶活性提高，促进了硝态氮向铵态氮的转化，从而促进了氮素吸收利用，T1 优于 T2。

2.4 不同复合菌剂对当归产量指标的影响

与不接种对照相比，T1 和 T2 处理后当归平均不定根数、芦头直径、芦头长、身长、鲜重均显著增加。T1 较对照分别增长了 14%、20%、9%、11%、34%；T2 较对照分别增长了 27%、14%、5%、7%、20%，T1 优于 T2（表 5）。

2.5 酶活、养分指标主成分分析

当归根围土壤酶活指标主成分分析见图 2，与不接种对照相比，T1 和 T2 处理对酶活的影响很明显。旺盛生长期 S2，主成分 1 的载荷为 90%，主成分 2 的载荷为 8%，土壤过氧化氢酶对主成分 2 贡献更大，其余指标对主成分 1 的贡献更大，对照与 T1、T2 主要通过主成分 1 区分，土壤碱性磷酸酶活性高是 CK 的主要特征。生长末期 S3，主成分 1 的载荷为 97%，主成分 2 的载荷为 2%，土壤过氧化氢酶、碱性蛋

白酶、FDA 水解酶对主成分 2 贡献更大，其余指标对主成分 1 的贡献更大，对照与 T1、T2 主要通过主成分 1 区分，土壤碱性磷酸酶活性高是 CK 的主要特征。虽然 T1 与 T2 主要通过主成分 2 区分，但因主成分 2 载荷较低，与 T2 相比，T1 酶活差异并不明显。

当归根围土壤及根中养分指标主成分分析见图 3。旺盛生长期 S2，主成分 1 的载荷为 73%，主成分 2 的载荷为 23%，主成分 1 和 2 累计方差贡献率为 96%。根铵态氮、硝态氮，土壤速效钾、铵态氮、硝态氮对主成分 1 的贡献更大，对照与 T1、T2 主要通过主成分 1 区分，土壤铵态氮高是对照的主要特征；T1 与 T2 主要通过主成分 2 区分，根铵态氮高是 T1 的主要特征。生长末期 S3，主成分 1 的载荷为 75%，主成分 2 的载荷为 19%，主成分 1 和 2 累计方差贡献率为 94%。不同指标对主成分的贡献同旺盛生长期 S2，对照与 T1、T2 主要通过主成分 1 区分，土壤铵态氮高是 CK 的主要特征；T1 与 T2 主要通过主成分 2 区分，根铵态氮、土壤速效钾高是 T1 的主要特征。

3 讨论与结论

韦江璐等^[15]研究表明，分别施用蕈状芽孢杆菌(*Bacillus mycoides*) CA1、喜昆虫假单胞菌(*Pseudomonas entomophila*) CN11、克雷伯氏菌(*Klebsiella* sp.) DX120E、固氮链霉菌(*Streptomyces chartreusii*) WZS021 及重氮营养葡萄糖醋杆菌(*Gluconacetobacter diazotrophicus*) PAL5 都可不同程度地显著提高土壤碱性磷酸酶、过氧化氢酶、脲酶、蔗糖酶活性和土壤速效氮、磷、钾含量，增加土壤细菌群落功能多样性，喜昆虫假单胞菌 CN11 和克雷伯氏菌 DX120E 处理较其他菌株，提高土壤酶活性、活化土壤养分、促进碳代谢效果更优。Deng 等^[16]研究发现，接种

表 4 根和根围土壤不同形态氮素的比值(means \pm SE, n=3)

		Ratio of different forms of nitrogen in root and rhizosphere soil (means \pm SE, n=3)							
时期	处理	Soil NO ₃ ⁻ -N /NH ₄ ⁺ -N	Soil NO ₃ ⁻ -N /N	Soil NH ₄ ⁺ -N /N	Root NO ₃ ⁻ -N/NH ₄ ⁺ -N	Root NO ₃ ⁻ -N/N	Root NH ₄ ⁺ -N/N	Root NO ₃ ⁻ -N/ Soil NO ₃ ⁻ -N	Root NH ₄ ⁺ -N/ N/Soil NH ₄ ⁺ -N
Stages Vigorous growth stage	T1	1.26 \pm 0.03Bb	0.56 \pm 0.003Ba	0.44 \pm 0.003Ab	0.14 \pm 0.00Ab	0.13 \pm 0.00Aa	0.87 \pm 0.00Aa	5.52 \times 10 ³ \pm	48.12 \times 10 ³ \pm
	T2	1.44 \pm 0.01Ba	0.59 \pm 0.001Aa	0.41 \pm 0.001Ab	0.17 \pm 0.00Aa	0.14 \pm 0.00Aa	0.86 \pm 0.00Aa	0.24 \times 10 ³ Bb	0.78 \times 10 ³ Ba
Late growth stage	CK	0.43 \pm 0.04Bc	0.30 \pm 0.002Bb	0.70 \pm 0.002Aa	0.12 \pm 0.00Ac	0.11 \pm 0.00Ab	0.89 \pm 0.00Aa	5.49 \times 10 ³ \pm	47.72 \times 10 ³ \pm
	T1	1.63 \pm 0.05Aa	0.62 \pm 0.002Aa	0.38 \pm 0.002Bb	0.14 \pm 0.00Aa	0.12 \pm 0.00Aa	0.87 \pm 0.00Aa	0.14 \times 10 ³ Bb	1.09 \times 10 ³ Ba
T2	1.56 \pm 0.02Aa	0.61 \pm 0.000Aa	0.39 \pm 0.000Ab	0.15 \pm 0.00Aa	0.13 \pm 0.00Aa	0.87 \pm 0.00Aa	6.32 \times 10 ³ \pm	22.69 \times 10 ³ \pm	
	CK	0.68 \pm 0.03Ab	0.40 \pm 0.002Ab	0.60 \pm 0.002Ba	0.11 \pm 0.00Ab	0.10 \pm 0.00Ab	0.90 \pm 0.00Aa	0.41 \times 10 ³ Aa	0.14 \times 10 ³ Bb

注: 不同大写字母分别表示同一处理不同时期间显著差异($P<0.05$)多重比较;

Note: Different uppercase letters indicate multiple comparisons in the same treatment and different stages, respectively ($P<0.05$); Different lowercase letters indicate multiple comparisons in the same stage and different treatments, respectively ($P<0.05$).

表 5 不同复合菌剂对当归产量指标的影响(means \pm SE, n=3)

Effects of different complex bacterium inoculants on yield indexes of <i>A. sinensis</i> (means \pm SE, n=3)						
Treatments	Average numbers of adventitious roots	Average reed head diameter (mm)	Average reed head length (mm)	Average height (mm)	Average fresh weight (g)	
T1	16.07 \pm 1.81b	31.12 \pm 1.88a	47.26 \pm 5.44a	256.73 \pm 18.04a	127.90 \pm 17.53a	
T2	17.82 \pm 2.07a	29.64 \pm 1.95b	45.45 \pm 5.81b	248.12 \pm 17.23b	115.06 \pm 15.05b	
CK	14.06 \pm 1.70c	25.99 \pm 1.63c	43.18 \pm 5.29c	232.15 \pm 17.48c	95.79 \pm 13.35c	

注: 每列不同小写字母分别表示相应指标显著差异($P<0.05$)多重比较

Note: Different lowercase letters in each column indicate multiple comparisons in the significant differences ($P<0.05$).

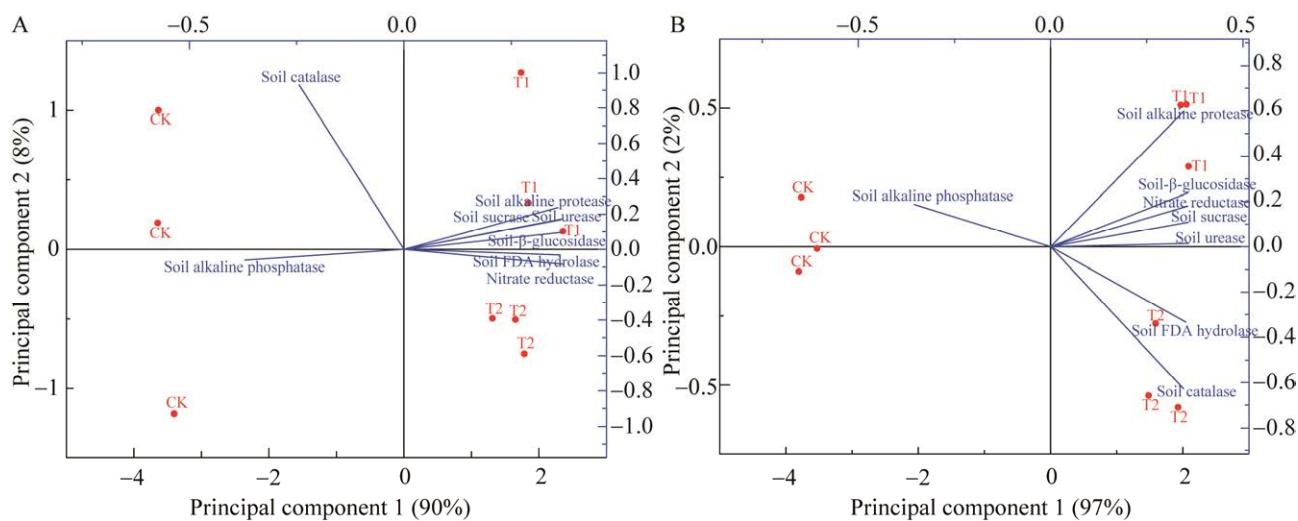


图 2 酶活指标主成分分析 A: 生长旺盛期; B: 生长末期

Figure 2 Principal component analysis of enzyme activity indexes. A: Vigorous growth stage; B: Late growth stage.

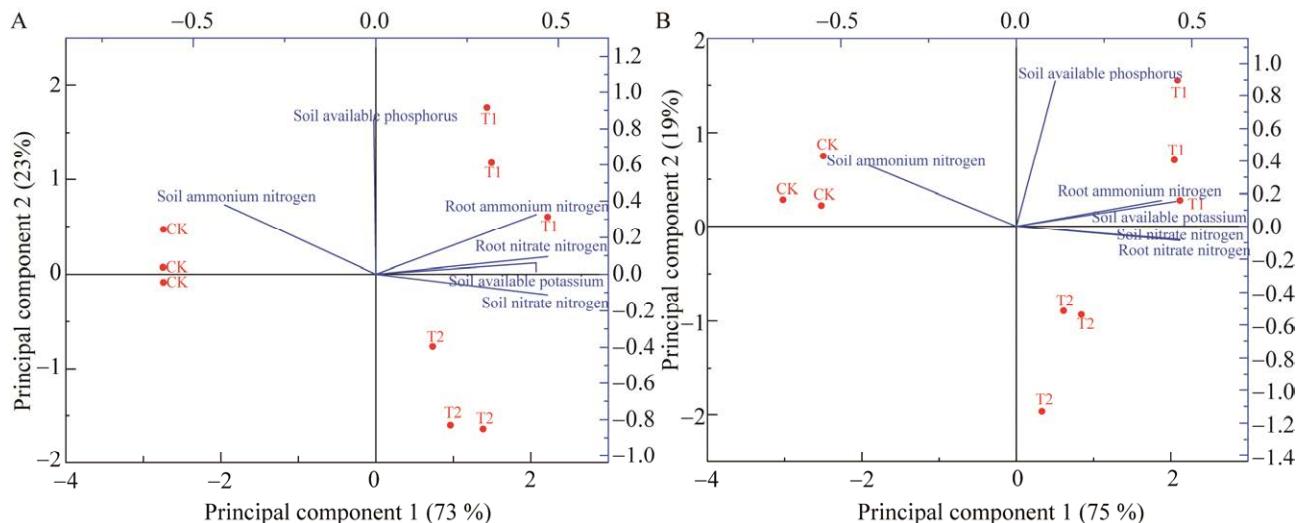


图 3 养分指标主成分分析 A: 生长旺盛期; B: 生长末期

Figure 3 Principal component analysis of nutrient indexes. A: Vigorous growth stage; B: Late growth stage.

复合微生物菌剂[耐盐芽孢杆菌(*Bacillus halotolerans*) P75、苜蓿中华根瘤菌(*Sinorhizobium meliloti*) D10、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*) H3、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) HB01]显著提高土壤有机质、碱解氮、速效磷、速效钾含量和蔗糖酶、脲酶活性；同时，显著促进苜蓿、黑麦草和柠条

生长。本研究考虑当归喜氮、速效磷促进抽薹等原因，选用的产碱假单胞菌 CBS7 溶磷活性较弱，其余菌株都无此活性；生枝动胶菌 CBS4 固氮和硝化能力最强，其余菌株均较强。与不接种对照相比，复合菌剂 T1 和 T2 处理后，根围土壤脲酶、碱性蛋白酶、FDA 水解酶、蔗糖酶、β-葡萄糖苷酶等活性增强，碱性磷酸酶活

性降低,速效氮、钾含量提高,磷含量无显著差异。本研究所述复合菌剂对土壤氮、磷、钾、碳养分活化、吸收、利用的影响,除了磷素,其余与上述文献报道一致。植物受到生物和非生物胁迫,过氧化氢等活性氧信号分子含量增加,水杨酸、茉莉酸等内源激素积累,进而激活活性氧清除系统,提高胁迫抗性。本研究所述复合菌剂虽然短期作用激活了水杨酸、茉莉酸、活性氧的产生,但长期作用仍然表现为清除活性氧,并未对微生物代谢活性、养分活化利用造成影响。

张金波等^[17]研究表明,土壤pH值呈中性或碱性时,铵态氮常由于发生氨挥发而损失。紫花苜蓿混合施氮(铵态氮:硝态氮=1:1)和单施硝态氮处理组较单施铵态氮处理组,氮素积累量、吸收利用效率、产量都显著增高,表明在中性偏碱性土壤中,单施硝态氮和混合施氮效果更优^[18]。Ou等^[19]研究发现,三七生长中只添加铵态氮时,叶缘发黄、根尖细胞受损、根系生长受到抑制,只添加硝态氮或硝态和铵态氮同时添加时,叶片浓绿、株高、毛根长、根的直径、根的生物量显著提高,表明硝态氮可以显著减缓铵态氮对根系生长造成的毒害作用;转录组测序表明,硝态氮显著促进了三羧酸循环相关基因的表达,通过促进 α -酮戊二酸的积累,促进游离铵态氮的同化吸收,在谷氨酸合酶和谷氨酰胺合酶的催化下,合成谷氨酸和谷氨酰胺,平衡碳氮代谢,起到消减铵盐毒害的作用。本研究从当归根系生长旺盛期S2至生长末期S3,与不接种对照相比,复合菌剂T1和T2处理,虽然根围土壤速效氮含量降低较小,但平均单株重量显著增加,表明复合菌剂处理,根围土壤减少的氮素被植物吸收利用的较多,而对照减少的氮素以氨气挥发损失的较多。复合菌剂T1和T2通过硝化作用,增加了碱性土壤中硝态氮含量,缓解了铵态氮对根系生

长造成的毒害作用,增产作用显著,与上述报道结果一致。本研究明确了相关复合菌剂对土壤养分循环、活化、利用的影响,成功改进了增产效果,但相关分子机制还有待通过宏基因组学、转录组学技术深入研究。

REFERENCES

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2020 版. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 139
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2020 Edition (Part I)[S]. Beijing, China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2020: 139 (in Chinese)
- [2] 张新慧, 张恩和. 不同茬口对当归根际微生物数量和产量的影响[J]. 中草药, 2008, 39(2): 267-269
Zhang XH, Zhang EH. Effect of various rotation systems on yield of *Angelica sinensis* and microbial populations in its rhizosphere[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2008, 39(2): 267-269 (in Chinese)
- [3] 王红阳, 康传志, 张文晋, 周良云, 万修福, 吕朝耕, 黄璐琦, 刘大会, 郭兰萍. 中药生态农业发展的土地利用策略[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(9): 1990-1995
Wang HY, Kang CZ, Zhang WJ, Zhou LY, Wan XF, Lyu CG, Huang LQ, Liu DH, Guo LP. Land use strategy of ecological agriculture of Chinese materia medica in future development[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(9): 1990-1995 (in Chinese)
- [4] Wang Y, Chen GW, Sun YF, Zhu K, Jin Y, Li BG, Wang G. Different agricultural practices specify bacterial community compositions in the soil rhizosphere and root zone[J]. Soil Ecology Letters, 2022, 4: 18-31
- [5] 邱黛玉, 沈鹏瑞, 张磊, 王思嘉, 巫蓉. 大蒜对膜侧栽培当归连作、轮作土壤环境及产量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(3): 156-162
Qiu DY, Shen PR, Zhang L, Wang SJ, Wu R. Effect of garlic on soil environment and yield of continuous cropping and rotation of *Angelica sinensis* under membrane cultivation[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2021, 27(3): 156-162 (in Chinese)
- [6] 金彦博, 郭凤霞, 陈垣, 白刚, 袁洪超, 梁伟. 岷县不同茬口对当归苗栽生长及抗病性的影响[J]. 草业学报, 2018, 27(4): 69-78
Jin YB, Guo FX, Chen Y, Bai G, Yuan HC, Liang W. Effect of various crop residues on growth and disease resistance of *Angelica sinensis* seedlings in Min

- County[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2018, 27(4): 69-78 (in Chinese)
- [7] 姜小凤, 郭凤霞, 陈垣, 郭建国, 刘晓峰. 种植模式对当归根际细菌群落多样性及代谢通路的影响[J]. 应用生态学报, 2021, 32(12): 4254-4262
Jiang XF, Guo FX, Chen Y, Guo JG, Liu XF. Effect of cropping patterns on bacterial community diversity and metabolic function in rhizosphere soil of *Angelica sinensis*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2021, 32(12): 4254-4262 (in Chinese)
- [8] Attademo AM, Sanchez-Hernandez JC, Lajmanovich RC, Repetti MR, Peltzer PM. Enzyme activities as indicators of soil quality: response to intensive soybean and rice crops[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2021, 232(7): 1-12
- [9] 王理德, 王方琳, 郭春秀, 韩福贵, 魏林源, 李发明. 土壤酶学研究进展[J]. 土壤, 2016, 48(1): 12-21
Wang LD, Wang FL, Guo CX, Han FG, Wei LY, Li FM. Review: progress of soil enzymology[J]. *Soils*, 2016, 48(1): 12-21 (in Chinese)
- [10] He DY, Cui J, Gao M, Wang WQ, Zhou J, Yang J, Wang JJ, Li Y, Jiang CS, Peng Y. Effects of soil amendments applied on cadmium availability, soil enzyme activity, and plant uptake in contaminated purple soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 654: 1364-1371
- [11] 黄艳萍, 甘秋霞, 杨敏, 祁俊生, 潘兴娇, 张杰, 周浓. 田间施加丛枝菌根真菌剂对滇重楼根际土壤理化性质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(22): 110-115
Huang YP, Gan QX, Yang M, Qi JS, Pan XJ, Zhang J, Zhou N. Effect of field inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on rhizosphere soil structure of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2020, 26(22): 110-115 (in Chinese)
- [12] Liu Y, Tian Y, Yue L, Constantine U, Zhao X, Zhou Q, Wang Y, Zhang YB, Chen GF, Dun ZH, et al. Effectively controlling *Fusarium* root rot disease of *Angelica sinensis* and enhancing soil fertility with a novel attapulgite-coated biocontrol agent[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 168: 104121
- [13] 王文丽, 李娟, 赵旭. 生物有机肥对连作当归根际土壤细菌群落结构和根腐病的影响[J]. 应用生态学报, 2019, 30(8): 2813-2821
Wang WL, Li J, Zhao X. Effects of biological organic fertilizer on rhizosphere soil bacteria community and root rot diseases of continuous cropping *Angelica sinensis*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(8): 2813-2821 (in Chinese)
- [14] 姚阳阳, 杨涛, 王引权, 彭桐, 王治业, 杨晖. 两类根际复配促生菌剂对当归生长、生理特征及药效成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(8): 131-138
Yao YY, Yang T, Wang YQ, Peng T, Wang ZY, Yang H. Effect of two kinds of compound rhizosphere growth-promoting bacteria on growth, physiological characteristics and pharmacodynamic components of *Angelica sinensis* radix[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2022, 28(8): 131-138 (in Chinese)
- [15] 韦江璐, 覃英, 谢显秋, 陈教云, 董登峰, 邢永秀, 李杨瑞. 促生菌对土壤养分、酶活性及细菌群落功能多样性的影响[J]. 南方农业学报, 2020, 51(10): 2348-2357
Wei JL, Qin Y, Xie XQ, Chen JY, Dong DF, Xing YX, Li YR. Effects of growth-promoting bacteria on soil nutrient, enzyme activity and bacterial community function diversity[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51(10): 2348-2357 (in Chinese)
- [16] Deng L, Wang T, Luo W, He LY, Liang ZS. Effects of a compound microbial agent and plants on soil properties, enzyme activities, and bacterial composition of Pisha sandstone[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(38): 53353-53364
- [17] 张金波, 程谊, 蔡祖聪. 土壤调配氮素迁移转化的机理[J]. 地球科学进展, 2019, 34(1): 11-19
Zhang JB, Cheng Y, Cai ZC. The mechanisms of soil regulating nitrogen dynamics[J]. *Advances in Earth Science*, 2019, 34(1): 11-19 (in Chinese)
- [18] 刘文涛, 王玉强, 孙盛楠, 赵仪, 沈宇, 钱进, 严学兵. 氮素形态对不同茬次紫花苜蓿氮素积累及利用的影响[J]. 草业科学, 2021, 38(4): 716-725
Liu WT, Wang YQ, Sun SN, Zhao Y, Shen Y, Qian J, Yan XB. Effects of nitrogen forms on nitrogen accumulation and utilization of alfalfa in different stubbles[J]. *Pratacultural Science*, 2021, 38(4): 716-725 (in Chinese)
- [19] Ou XH, Li SP, Liao PR, Cui XM, Zheng BL, Yang Y, Liu DH, Zheng Y. The transcriptome variations of *Panax notoginseng* roots treated with different forms of nitrogen fertilizers[J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(9): 1-15