

DOI: 10.11686/cyxb2024221

http://cyxb.magtech.com.cn

魏孔钦, 张盈盈, 回金峰, 等. 菌磷配施对紫花苜蓿根系非结构碳水化合物及碳氮磷化学计量特征的影响. 草业学报, 2025, 34(5): 40—50.

WEI Kong-qin, ZHANG Ying-ying, HUI Jin-feng, *et al.* Effect of phosphate-solubilizing bacteria and phosphorus on non-structural carbohydrate content and the carbon:nitrogen:phosphorus stoichiometry of alfalfa roots. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(5): 40—50.

菌磷配施对紫花苜蓿根系非结构碳水化合物及碳氮磷化学计量特征的影响

魏孔钦, 张盈盈, 回金峰, 马春晖, 张前兵*

(石河子大学动物科技学院, 新疆 石河子 832003)

摘要:为揭示磷肥配施解磷细菌对紫花苜蓿根系非结构碳水化合物及化学计量特征的影响,采用双因素完全随机设计,设置了2个施磷(P_2O_5)水平:0(P_0)和100 $mg \cdot kg^{-1}$ (P_1),4个接菌处理:不接菌(J_0)、单接种胶质芽孢杆菌(J_1)、单接种巨大芽孢杆菌(J_2)和混合接菌(J_3),共8个处理。测定了紫花苜蓿的根系活力、可溶性糖、可溶性蛋白、淀粉、丙二醛、根际土—根系碳(C)、氮(N)、磷(P)含量。双因素方差分析表明:施磷和接菌处理显著改变了紫花苜蓿的根系活力、丙二醛、可溶性糖、淀粉含量、根际土N/P、根系C/N、C/P及N/P($P < 0.05$),但对根系可溶性蛋白的影响不显著($P > 0.05$)。进一步分析表明,在相同施磷水平下,与不接菌相比,接种解磷菌提高了紫花苜蓿的根系活力、可溶性糖、可溶性蛋白(除 J_2P_0 和 J_2P_1)、淀粉(除 J_1P_1)、根际土—根系C、N、P含量(除 J_2P_1 的根系C及 J_1P_0 和 J_2P_0 的根系N含量)及根际土C/P(除 J_3P_0)和N/P,降低了根际土C/N及根系丙二醛含量(除 J_1P_1 和 J_2P_1)。在相同接菌处理下,与不施磷相比,施磷处理提高了紫花苜蓿的根系活力、可溶性糖、可溶性蛋白、淀粉、根际土C、根际土P、根系N及P含量,降低了根系C/N、C/P、N/P、丙二醛及根际土N/P。综合分析表明,不同处理的综合得分依次为: $J_3P_1 > J_2P_1 > J_1P_1 > J_0P_1 > J_3P_0 > J_2P_0 > J_1P_0 > J_0P_0$ 。综上,施磷(100 $mg \cdot kg^{-1}$)和混合接种胶质芽孢杆菌及巨大芽孢杆菌,可以有效提高紫花苜蓿根际土养分含量并促进根系非结构碳水化合物的积累。

关键词:解磷细菌;磷;紫花苜蓿;非结构碳水化合物;化学计量特征

Effect of phosphate-solubilizing bacteria and phosphorus on non-structural carbohydrate content and the carbon:nitrogen:phosphorus stoichiometry of alfalfa roots

WEI Kong-qin, ZHANG Ying-ying, HUI Jin-feng, MA Chun-hui, ZHANG Qian-bing*

College of Animal Science & Technology, Shihezi University, Shihezi 832003, China

Abstract: The aim of this study was to determine the effects of phosphorus fertilizer applied with phosphate-solubilizing bacteria on the non-structural carbohydrate content and stoichiometric characteristics of alfalfa (*Medicago sativa*) roots. An experiment with a two-factor completely randomized design was established with two phosphorus (P_2O_5) fertilizer levels: 0 (P_0) and 100 $mg \cdot kg^{-1}$ (P_1); and four inoculation treatments: no inoculation (J_0), single inoculation with *Bacillus mucilaginosus* (J_1), single inoculation with *Bacillus megaterium* (J_2) and mixed inoculation (J_3), making a total of eight treatments. The root vigor, contents of soluble sugars, soluble protein, starch, and

收稿日期:2024-06-11;改回日期:2024-07-15

基金项目:国家自然科学基金项目(32260347),新疆维吾尔自治区重点研发任务专项(2023B02031)和国家现代农业产业技术体系资助。

作者简介:魏孔钦(1998—),男,甘肃榆中人,在读硕士。E-mail: 1609913844@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: qbz102@163.com

malondialdehyde, and the contents of carbon (C), nitrogen (N) and phosphorus (P) in the rhizosphere soil and roots of alfalfa were determined. Two-way ANOVA showed that phosphorus application and bacterial inoculation significantly affected the root vigor, the contents of malondialdehyde, soluble sugars, and starch in the roots, rhizosphere soil N:P, and root C:N, C:P, and N:P ($P < 0.05$), but did not significantly affect the root soluble protein content ($P > 0.05$). Further analyses showed that at the same level of phosphorus application, inoculation with phosphate-solubilizing bacteria increased alfalfa root vigor, soluble sugar content, and soluble protein content (except for J_2P_0 and J_2P_1); increased root starch content (except for J_1P_1); increased rhizosphere soil and root C, N, and P contents (except for root C in J_2P_1 and root N content in J_1P_0 and J_2P_0); and increased rhizosphere soil C:P (except for J_3P_0) and N:P; but reduced the rhizosphere soil C:N and root malondialdehyde content (except for J_1P_1 and J_2P_1). Under the same inoculation treatment, phosphorus application increased root vigor and the contents of soluble sugars, soluble protein, and starch in the roots, increased rhizosphere soil C and P and root N and P contents, and decreased root C:N, C:P, N:P, malondialdehyde content, and rhizosphere soil N:P, compared with their respective values in the no-phosphorus control. On the basis of these comprehensive analyses, the treatments could be ranked, from the highest composite score to lowest, as follows: $J_3P_1 > J_2P_1 > J_1P_1 > J_0P_1 > J_3P_0 > J_2P_0 > J_1P_0 > J_0P_0$. In conclusion, phosphorus application ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and mixed inoculation with *B. mucilaginosus* and *B. megaterium* effectively increased the nutrient content of alfalfa rhizosphere soil and increased the accumulation of non-structural carbohydrates in alfalfa roots.

Key words: phosphate-solubilizing bacteria; phosphorus; alfalfa; non-structural carbohydrates; stoichiometry

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)作为世界上重要的多年生豆科牧草,因其产量高、适应性强和饲喂价值高而被广泛种植。中国是世界上苜蓿的主要种植区之一,且随着畜牧业的发展,苜蓿的种植面积逐年增加^[1]。然而,我国苜蓿多种植在土壤肥力相对较低的干旱或盐碱地中,严重制约了苜蓿的产量和品质^[2]。氮素和磷素是实现苜蓿增产提质的重要营养元素^[3]。与其他豆科植物一样,紫花苜蓿可以与根瘤菌共生互作形成根瘤,从而固定大气中的氮供自身利用^[4]。同时,磷肥也会促进紫花苜蓿的氮素利用效率^[5]。因此,磷素则成为影响苜蓿产量和品质的关键因素。然而,由于磷素在土壤中的可移动性较差,作物对磷的利用率较低^[6]。而解磷菌可以通过分泌有机酸和各种酶类将土壤中的有机磷和无机磷转化为可供作物吸收的磷,进而提高磷素利用效率及减少磷肥的施用量^[7-8]。研究表明,磷肥和解磷菌提高了紫花苜蓿的株高、茎粗及干草产量,提高了紫花苜蓿粗蛋白含量及相关酶活性^[8-9]。同样,磷肥和解磷菌对于提高其他农作物产量及磷素利用率方面也得到了普遍共识^[10]。因此,本研究更侧重于关注磷肥和解磷菌配施对于紫花苜蓿根际土—根系化学计量特征及根系非结构碳水化合物的影响。

碳(carbon, C)、氮(nitrogen, N)和磷(phosphorus, P)是作物生长发育的主要养分,其相对含量及化学计量特征的变化影响着土壤质量和养分循环,进而影响作物生长^[11]。研究表明,土壤中C、N和P含量及化学计量特征的变化受气候因子、土壤类型及农业管理等的影响^[12]。磷肥的施用增加了土壤C和P含量,但降低了土壤N含量^[13]。同样,施用磷肥会降低土壤的碳磷比(C/P)及氮磷比(N/P),且这一过程受磷肥施用量及施用持续时间的影响^[14]。而对于碳氮比(C/N)而言,有研究发现,施磷有助于提高土壤C/N^[13],也有研究表明,施磷对土壤C/N几乎没有影响^[14]。根系是作物吸收养分和水分最重要的营养器官。合理的施磷量可以提高作物根系C、N和P的含量,显著影响根系C/N、C/P及N/P^[15]。也有研究发现,施磷主要影响了作物根系C/P和N/P^[16]。同样,与单施磷肥相比,磷肥配施解磷菌可有效提高土壤C和P含量及苜蓿的N和P含量^[17],这可能会进一步影响土壤—作物C、N、P化学计量特征。同时有研究表明,与单一接菌相比,混合接菌对于提高植物生长性能及土壤质量效果更佳^[18-19]。因此,研究磷肥配施解磷菌对紫花苜蓿田根际土—根系C、N、P化学计量特征变化的影响,可为土壤养分供应及紫花苜蓿营养需求平衡提供理论依据。

非结构性碳水化合物是植物光合作用的直接产物,主要包括可溶性糖和淀粉,是植物初级及次级代谢的主要

底物^[20]。在植物生长发育、物质运输、防御功能、渗透调节及提高逆境适应性方面发挥重要作用^[20]。可溶性糖和淀粉含量的变化受植物营养需求的调控,同时对外界环境变化敏感^[21]。研究表明,施磷提高了植物可溶性糖及淀粉含量,且淀粉更易受到养分含量变化的影响^[15,22]。同时有研究发现,解磷菌也会提高植物体内可溶性糖含量^[23]。因此,本研究采用盆栽试验,探究磷肥配施解磷菌对紫花苜蓿根际土—根系C、N、P化学计量特征及根系非结构碳水化合物含量的影响,明确菌磷配施下紫花苜蓿根际土壤养分及根系物质积累的变化规律。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验地点位于石河子大学动物科技学院试验站。供试紫花苜蓿品种为WL354HQ。供试土壤采自石河子大学试验站2连试验地,土壤过0.5 cm筛后进行高压灭菌,供试土壤基本理化性质见表1。2种供试菌株均购自中国农业微生物菌种保藏管理中心(Agricultural Culture Collection of China, ACCC),同时按照冻干管(中国农业微生物菌种保藏管理中心)开启说明,对菌株进行恢复培养后用无菌水制备成菌悬液,并采用稀释平板法^[24]调节菌液浓度为 10^8 cfu·mL⁻¹,菌株基本信息见表2。

表1 供试土壤理化性质
Table 1 Physico-chemical properties of test soils

有机质 Organic matter (g·kg ⁻¹)	容重 Bulk weight (g·cm ⁻³)	全氮 Total nitrogen (g·kg ⁻¹)	全磷 Total phosphorus (g·kg ⁻¹)	碱解氮 Alkaline nitrogen (mg·kg ⁻¹)	速效磷 Available phosphorus (mg·kg ⁻¹)	速效钾 Available potassium (mg·kg ⁻¹)
23.6	1.45	1.55	0.21	69.50	17.40	134.50

表2 2种解磷菌基本信息
Table 2 Basic information of the two phosphate solubilizing bacteria

序号 Rank	名称 Name	菌种编号 Strain No.	培养基名称 Medium name	简称 Abbreviation
1	胶质芽孢杆菌 <i>Bacillus mucilaginosus</i>	ACCC 10013	钾细菌琼脂 Potassium bacterial agar	J ₁
2	巨大芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	ACCC 10245	营养肉汁琼脂 Nutrient agar	J ₂

注: 钾细菌琼脂培养基配方为:蔗糖 10.0 g,磷酸氢二钾 0.5 g,酵母浸粉 0.4 g,七水硫酸镁 0.2 g,氯化镁 0.2 g,琼脂 15.0 g,蒸馏水 1.0 L。营养肉汁琼脂培养基配方为:蛋白胨 10.0 g,牛肉浸粉 3.0 g,氯化钠 5.0 g,琼脂 15.0 g,蒸馏水 1.0 L。
Note: Potassium bacterial agar medium is formulated as sucrose 10.0 g, K₂HPO₄ 0.5 g, yeast extract 0.4 g, MgSO₄·7H₂O 0.2 g, MgCl₂ 0.2 g, agar 15.0 g, distilled water 1.0 L. Nutrient agar medium is formulated as peptone 10.0 g, beef extract 3.0 g, sodium chloride 5.0 g, agar 15.0 g, distilled water 1.0 L.

1.2 试验设计

采用双因素完全随机设计,设置2个磷肥水平:0(P₀)和100 mg·kg⁻¹(P₁),4个接菌处理:不接菌(J₀)、单接种胶质芽孢杆菌(J₁)、单接种巨大芽孢杆菌(J₂)和混合接菌(J₃),共8个处理,每个处理重复10次。单接种处理组,每盆施加菌液10 mL;混合接种处理组,两种菌液各为5 mL,不接菌(J₀)处理组,添加10 mL灭活菌液,在紫花苜蓿三叶期随水施入土壤^[8-9,25]。

2022年5月3日开始盆栽试验,每盆种10粒苜蓿种子,播深1~2 cm。花盆在使用前进行清洗并用75%酒精消毒,花盆的规格为23 cm×15 cm×17 cm(盆口直径×盆底直径×高)。当紫花苜蓿幼苗长至三叶期时每盆均保留5株长势一致的幼苗。在生长期(2022年5月3日—6月14日)每两周向盆中定量添加100 mL无磷霍格兰氏营养液。在添加磷肥后停止施用营养液。经折算后,P₁处理中每盆施磷酸一铵(P₂O₅ 52%、N 12.2%)的量为577 mg,同时为保证试验只受磷肥的影响,向P₀处理的每盆中添加153 mg的尿素(N 46%)。当年的施肥日期为6月

22 日及 7 月 30 日,2023 年的具体施肥日期为 5 月 16 日、6 月 16 日和 7 月 16 日,肥料随水施入花盆。于 2023 年 9 月 23 日随机选择 3 盆苜蓿进行取样,采集了紫花苜蓿根际土,烘干后进行土壤 C、N、P 测定。同时采集紫花苜蓿根系进行清洗后迅速带回实验室,一部分进行烘干粉碎后测定根系 C、N、P 及可溶性糖含量,另一部分鲜样用于测定根系活力、丙二醛、淀粉及可溶性蛋白含量。

1.3 测定指标与方法

紫花苜蓿根系生理指标参考李合生^[26]的方法测定,其中可溶性蛋白采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定,可溶性糖采用蒽酮比色法测定,根系活力采用氯化三苯基四氮唑法测定。紫花苜蓿根际土—根系 C、N、P 含量分别采用重铬酸钾容量法、凯氏定氮法和钼锑抗比色法^[27]测定。丙二醛含量采用试剂盒(BC0025,北京索莱宝科技有限公司)测定,淀粉含量采用试剂盒(A148-1-1,南京建成有限公司)测定。

1.4 数据处理分析

利用 Microsoft Excel 2021 进行数据整理,利用 SPSS 26.0 对施磷水平和接菌处理进行双因素方差分析,采用 Duncan's 法比较同一施磷水平下不同接菌处理及同一接菌处理不同施磷水平下紫花苜蓿根际土—根系 C、N、P 及根系活力、丙二醛、可溶性糖、淀粉及可溶性蛋白含量的显著性差异。使用 Origin 2022 软件进行各指标的 Pearson 相关性分析及主成分分析并绘图。

2 结果与分析

2.1 不同菌磷处理下紫花苜蓿根际土及根系 C、N、P 含量的变化

接菌和施磷处理显著改变了紫花苜蓿根际土及根系 C、N、P 含量(除施磷水平下根际土 N 和根系 C 含量),而菌磷交互作用显著影响了根系 C、N 和 P 含量($P<0.05$,表 3)。在 P_0 水平下,与 J_0 相比, J_1 、 J_2 和 J_3 的根际土 C、N、P 含量及根系 C 和 P 含量分别提高了 2.72%~12.57%,9.16%~18.78%,4.87%~8.43%,3.12%~4.83% 及 2.08%~22.18%(图 1)。同时, J_0P_0 、 J_1P_0 、 J_2P_0 及 J_3P_0 的根际土和根系 C 含量差异不显著($P>0.05$), J_2P_0 的根际土 N 及根系 P 含量显著高于 J_0P_0 ($P<0.05$), J_2P_0 及 J_3P_0 的根际土 P 含量显著高于 J_0P_0 ($P<0.05$)。在 P_1 水平下, J_1 、 J_2 和 J_3 的根际土和根系 C、N、P 含量均高于 J_0 (除 J_2 的根系 C 含量)。 J_3P_1 的根际土 C、N、P 含量和根系 C 及 N 含量均显著高于 J_0P_1 ($P<0.05$)。在接菌处理下, P_1 的根际土和根系 C、N、P 含量均高于 P_0 (除 J_1 的根际土 N 含量及 J_2 的根系 C 含量)。同时, P_1 的根际土和根系 P 含量显著高于 P_0 ($P<0.05$)。

表 3 接菌处理和施磷水平对各因子影响的方差分析

Table 3 Analysis of variance of the effects of inoculation treatments and phosphorus application levels on the factors

变异来源 Source of variation	根际土 Rhizosphere soil						根 Root					
	碳 C		氮 N		磷 P		碳 C		氮 N		磷 P	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
J	5.164	0.011	7.722	0.002	6.467	0.004	6.235	0.005	33.650	<0.001	10.818	<0.001
P	5.937	0.027	3.610	0.076	73.533	<0.001	0.848	0.371	66.381	<0.001	115.144	<0.001
J×P	1.854	0.178	1.053	0.396	0.833	0.495	4.619	0.016	5.763	0.007	4.623	0.016

注: J 表示接菌处理, P 表示施磷水平, J×P 表示接菌处理与施磷水平的交互, 下同。

Note: J denotes inoculation treatment, P denotes phosphorus application level, J×P indicates the interaction of inoculation treatment with phosphorus application level, the same below.

2.2 不同菌磷处理下紫花苜蓿根际土及根系化学计量特征的变化

接菌处理显著影响了紫花苜蓿根际土 N/P 及根系 C/N、C/P 和 N/P($P<0.05$),施磷处理显著影响根际土及根系 C/N、C/P 和 N/P(除根际土 C/N, $P<0.05$),两者交互作用对根际土及根系 C/N、C/P 和 N/P 影响不显著

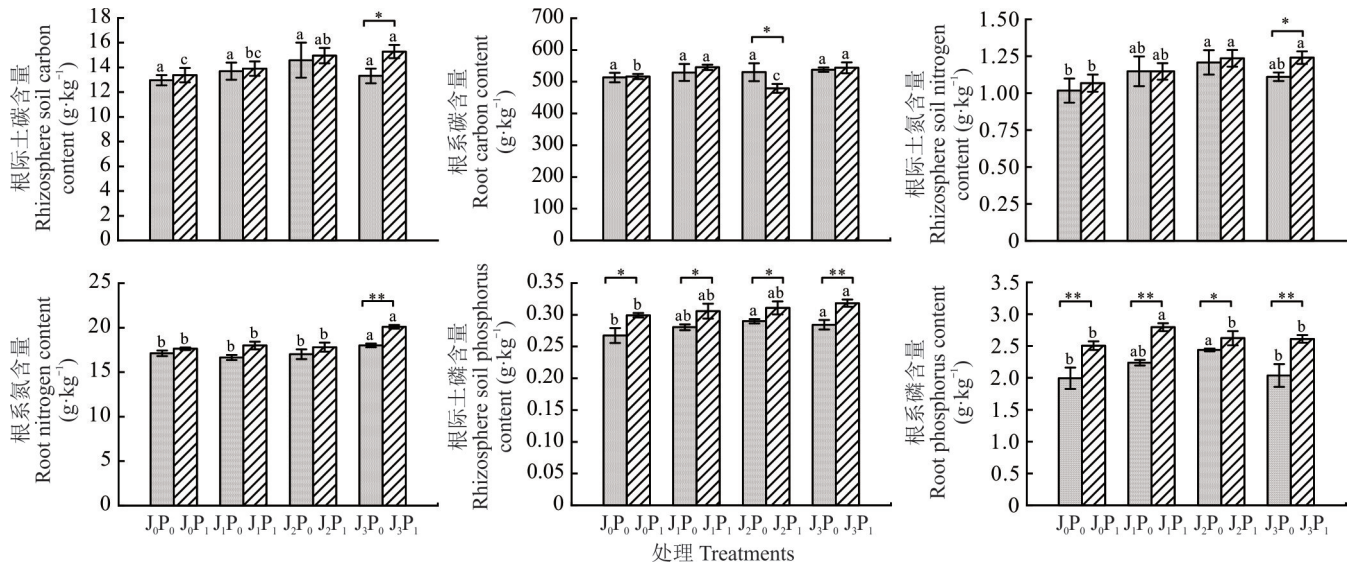


图1 接菌处理和施磷水平下紫花苜蓿根际土及根系碳、氮、磷含量

Fig. 1 Carbon, nitrogen and phosphorus content of alfalfa rhizosphere soil and root under inoculation treatment and phosphorus application level

不同小写字母表示在同一施磷水平下不同接菌处理之间差异显著 ($P < 0.05$)。*, ** 分别表示在同一接菌处理下不同施磷水平之间差异显著 ($P < 0.05$) 和极显著 ($P < 0.01$), 下同。Different lowercase letters indicate significant differences among different inoculation treatments at the same level of phosphorus application ($P < 0.05$). * and ** indicates significant differences ($P < 0.05$) and extremely significant differences ($P < 0.01$) between different levels of phosphorus application at the same inoculation treatment, respectively, the same below.

($P > 0.05$, 表4)。在 P_0 水平下, J_1 、 J_2 和 J_3 的根际土 C/N 及 J_1 和 J_2 的根系 C/P 及 N/P 均低于 J_0 , 而 J_1 、 J_2 和 J_3 的根际土 N/P 和 J_1 、 J_2 的根际土 C/P 及 J_1 、 J_2 、 J_3 根系 C/N 均高于 J_0 (图2)。 J_0 的根际土 C/N、C/P 和 N/P 及根系 C/N 与 J_1 、 J_2 和 J_3 间差异不显著 ($P > 0.05$)。在 P_1 水平下, J_0 的根际土 C/N 高于 J_1 、 J_2 和 J_3 , 而 C/P 及 N/P 低于 J_1 、 J_2 和 J_3 。 J_2 和 J_3 的根系 C/N 及 J_1 和 J_2 的根系 C/P 和 N/P 均低于 J_0 。在相同接菌条件下, P_1 的根际土和根系 C/P 和 N/P (除 J_3 根际土的 C/P) 及根系 C/N 均低于 P_0 , 但 P_1 和 P_0 的根际土 C/N、C/P 和 N/P 之间差异不显著 (除 J_1 的根际土 C/P, $P > 0.05$), 而根系 C/P 之间差异显著 ($P < 0.05$)。

表4 接菌处理和施磷水平对化学计量比影响的方差分析

Table 4 Analysis of variance of the effect of inoculation treatments and phosphorus application levels on stoichiometric ratios

变异来源 Source of variation	根际土 Rhizosphere soil						根 Root					
	碳氮比 C/N		碳磷比 C/P		氮磷比 N/P		碳氮比 C/N		碳磷比 C/P		氮磷比 N/P	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
J	0.762	0.532	1.655	0.217	5.158	0.011	5.285	0.010	8.344	0.001	16.181	<0.001
P	0.028	0.868	7.395	0.015	10.618	0.005	23.008	<0.001	63.950	<0.001	33.266	<0.001
J×P	0.128	0.942	1.626	0.223	1.219	0.335	2.667	0.083	0.773	0.526	2.944	0.065

2.3 不同菌磷处理下紫花苜蓿根系活力及丙二醛含量的变化

接菌处理和施磷水平及其交互作用显著影响紫花苜蓿根系活力及丙二醛含量 ($P < 0.05$, 表5)。在 P_0 条件下, J_2 的根系活力显著高于 J_0 、 J_1 和 J_3 , J_0 的丙二醛含量显著高于 J_2 和 J_3 ($P < 0.05$)。在 P_1 处理下, J_2 和 J_3 的根系活力显著高于 J_0 和 J_1 , J_1 的丙二醛含量与 J_0 之间差异显著 ($P < 0.05$)。在 J_2 和 J_3 条件下, P_1 的根系活力显著高于 P_0 ($P < 0.05$)。在 J_0 、 J_1 和 J_3 处理下, P_1 的丙二醛含量显著低于 P_0 ($P < 0.05$, 图3)。

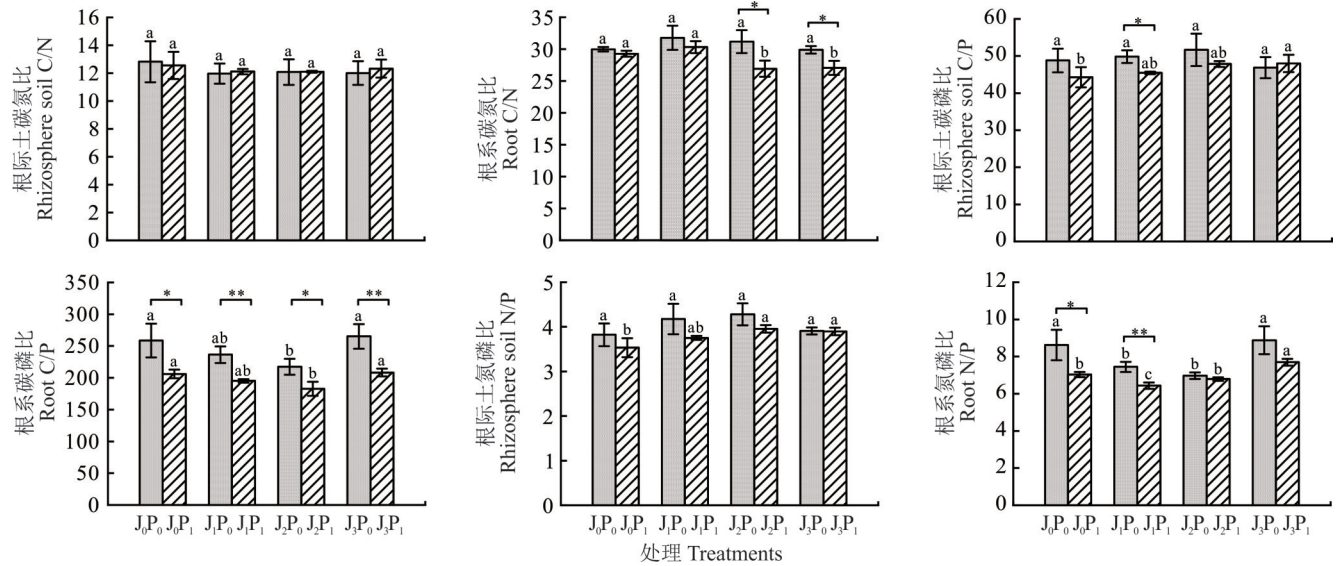


图2 接菌处理和施磷水平下紫花苜蓿根际土及根系化学计量比的变化
Fig. 2 Changes in rhizosphere soil and root stoichiometric ratios of alfalfa under inoculation treatments and phosphorus application levels

表5 接菌处理和施磷水平对根系生理指标影响的方差分析

变异来源		根系活力 Root activity		丙二醛 Malondialdehyde		可溶性糖 Soluble sugar		可溶性蛋白 Soluble protein		淀粉 Starch	
Source of variation		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
J		218.751	<0.001	21.612	<0.001	40.824	<0.001	3.067	0.058	7.402	0.003
P		166.668	<0.001	98.983	<0.001	26.717	<0.001	2.678	0.121	32.372	<0.001
J×P		73.885	<0.001	6.397	0.005	2.120	0.138	0.154	0.926	1.442	0.268

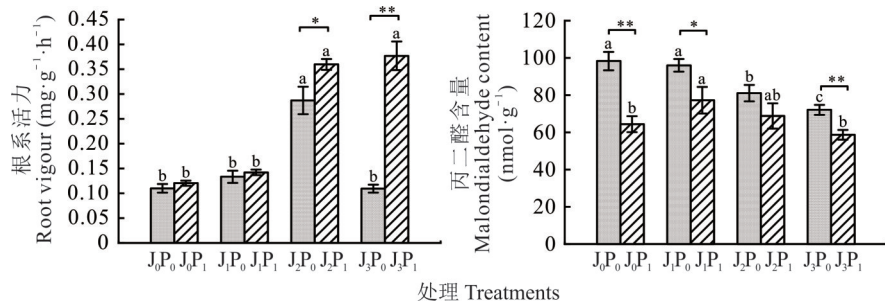


图3 接菌处理和施磷水平下紫花苜蓿根系活力及丙二醛含量
Fig. 3 Root vigour and malondialdehyde content of alfalfa under inoculation treatment and phosphorus application level

2.4 不同菌磷处理下紫花苜蓿根系非结构碳水化合物及可溶性蛋白的变化

接菌处理和施磷水平显著影响苜蓿根系可溶性糖及淀粉含量($P < 0.05$),对可溶性蛋白含量影响不显著($P > 0.05$,表5)。在 P_0 条件下, J_1 、 J_2 和 J_3 的可溶性糖含量显著高于 J_0 处理($P < 0.05$), J_3 的可溶性糖含量最高。 J_1 和 J_3 的可溶性蛋白含量高于 J_0 ,且 J_1 和 J_0 间差异显著($P < 0.05$)。 J_1 、 J_2 和 J_3 的淀粉含量高于 J_0 ,且 J_2 和 J_3 与 J_0 差异显著($P < 0.05$)。在 P_1 条件下, J_1 、 J_2 和 J_3 的可溶性糖含量高于 J_0 ,且 J_2 和 J_3 与 J_0 差异显著($P < 0.05$)。 P_1 处理下, J_0 、 J_1 、 J_2 和 J_3 的可溶性蛋白和淀粉含量差异不显著($P > 0.05$)。在相同接菌条件下, P_1 的可溶性糖、可溶性蛋白及淀粉含量均高于 P_0 (图4)。

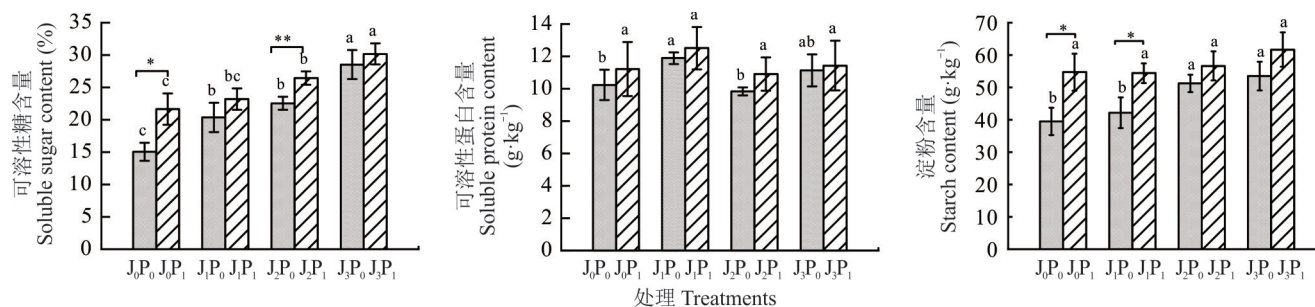


图4 接种处理和施磷水平下紫花苜蓿根系可溶性糖、可溶性蛋白及淀粉含量

Fig. 4 Soluble sugars, soluble protein and starch content of alfalfa roots under inoculation treatments and phosphorus application level

2.5 紫花苜蓿根际土及根系各指标相关性分析

相关性分析表明(图5),根际土C与根际土N、P含量及根系活力呈显著正相关($P < 0.05$),根际土N与根际土P含量及根系活力呈显著正相关($P < 0.05$),根际土P与根系N、P及淀粉含量呈显著正相关($P < 0.05$)。根际土C/P与根际土N/P显著相关($P < 0.05$)。根系N与根系C/N及丙二醛含量呈显著正相关($P < 0.05$),与淀粉含量呈显著负相关($P < 0.05$)。根系P与根系C/P及N/P呈显著负相关($P < 0.05$)。根系C/N与丙二醛含量呈显著正相关($P < 0.05$)。根系C/P与根系N/P呈显著正相关($P < 0.05$)。丙二醛含量与淀粉含量呈显著负相关($P < 0.01$)。

2.6 紫花苜蓿根际土及根系各指标主成分分析

将根际土及根系C、N、P含量、根系活力、丙二醛、可溶性糖、可溶性蛋白及淀粉含量11个指标进行主成分分析。第一主成分和第二主成分(特征值均大于1)的累计解释量为74.94%。不同菌磷处理的综合得分依次为: $J_3P_1 > J_2P_1 > J_1P_1 > J_0P_1 > J_3P_0 > J_2P_0 > J_1P_0 > J_0P_0$ (图6)。

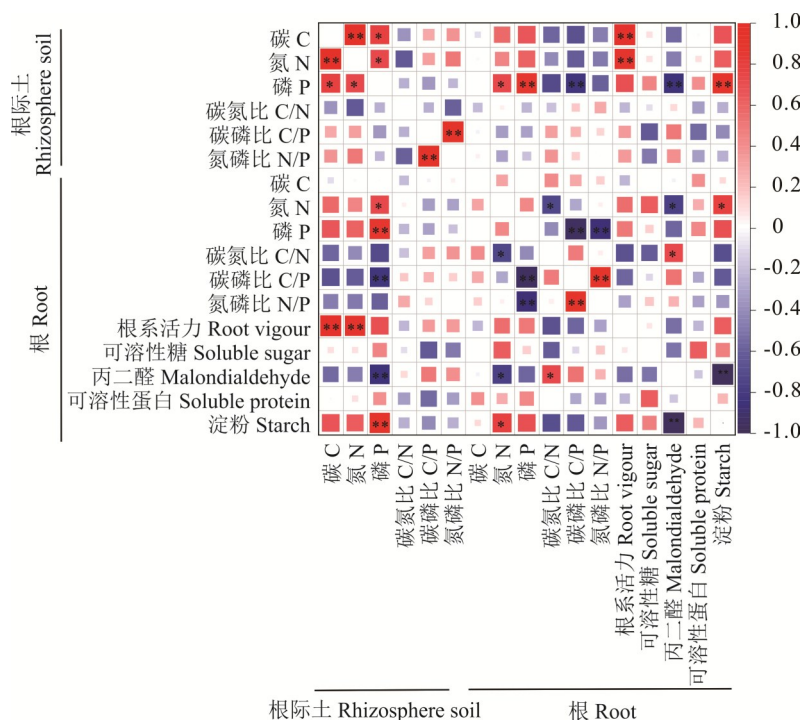


图5 紫花苜蓿根际土及根系各指标相关性热图

Fig. 5 Heat map of the correlation of rhizosphere soil and root indexes of alfalfa

*表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$ 。图例中数字为皮尔逊相关系数。* denotes $P < 0.05$, ** denotes $P < 0.01$. The numbers on the legend are Pearson correlation coefficients.

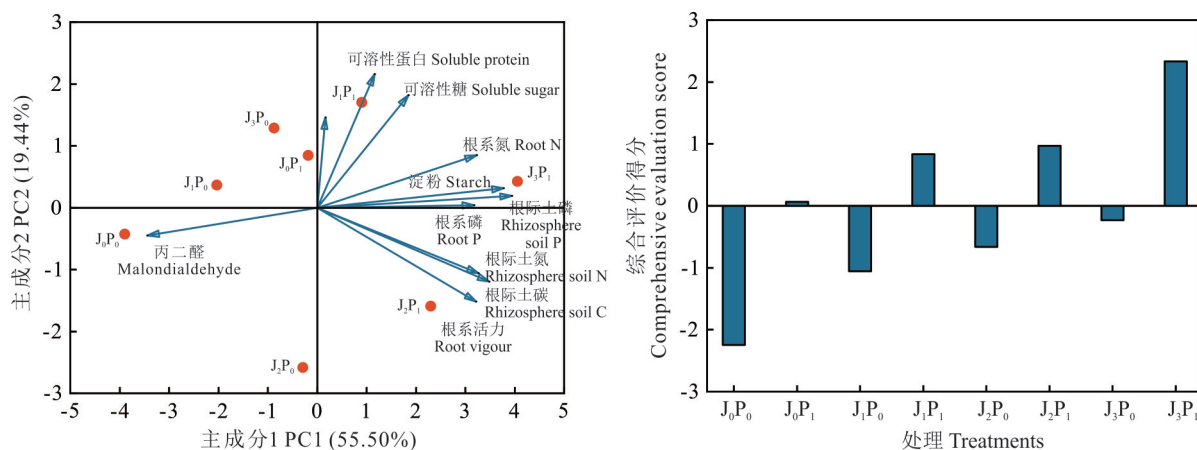


图 6 不同菌磷处理下各指标间主成分分析及综合评价得分

Fig. 6 Principal component analysis and comprehensive evaluation score among indicators under different bacterial-phosphorus treatments

3 讨论

3.1 菌磷配施对紫花苜蓿根际土—根系 C、N、P 含量的影响

C、N 和 P 含量是影响土壤肥力及健康的重要因素,也是植物生长发育所必需的营养物质。土壤养分供应情况决定了植物不同器官(根、茎和叶)C、N、P 的分布及生产力大小^[28]。研究表明,施磷提高了根际土 C 及 P 含量^[13]。同样在本研究中,施磷使紫花苜蓿根际土壤 C 及 P 的平均含量提高了 5.40% 和 11.87%。也有研究表明,磷肥的输入增加了土壤中全 P 及有效 P 含量,提高了紫花苜蓿的光合效率,促进了其生长发育^[8],从而使紫花苜蓿生物量、凋落物及根系分泌物增加,土壤 C 含量增加^[29]。同时本研究发现,在相同施 P 水平下,与未接种解磷菌相比,接种解磷菌可提高根际土 C 及 P 含量,这与前人研究结果一致^[30]。这可能是由于施磷促进了紫花苜蓿根系的发育及生物量,加速了土壤养分向根系表面的迁移^[31],而解磷菌可以促进苜蓿根系分泌物的代谢,影响紫花苜蓿根际环境,促进根际土壤养分活化及循环^[17]。而施磷水平对土壤的 N 含量影响并不一致,包括正效应^[32]、负效应^[13]和无明显影响^[14]。在本研究中,施磷和接种解磷菌均可提高紫花苜蓿土壤 N 含量。这可能是施磷和解磷菌提高了紫花苜蓿的根瘤菌数量,增强了其固氮能力,使土壤 N 含量增加^[7,33]。也有研究发现,施肥处理下土壤 N 含量的积累可能受到苜蓿品种的影响^[32]。

研究表明,施磷及接种解磷菌可提高紫花苜蓿根系 C、N、P 含量^[15]。本研究中,在相同接菌处理下,除 J₂P₁ 的根系 C 外,施磷使紫花苜蓿根系 C、N、P 含量分别提高了 0.58%~3.06%、2.98%~11.65% 及 7.59%~28.18%。施磷提高了紫花苜蓿土壤有效 P 的含量,而解磷菌可进一步提升苜蓿的磷素利用效率,使苜蓿根系中 P 含量增加^[8]。施磷也可以提高苜蓿对 N 的吸收和利用,起到了以 P 增 N 的目的^[6]。同时 P 也直接参与紫花苜蓿的光合作用,研究发现,菌磷互作可以更有效地提高紫花苜蓿的光合效率,使紫花苜蓿分配给根系的光合产物增多^[25]。同时,在本研究中混合接菌对于提高苜蓿根系—土壤养分含量积累的效果更优,这可能是由于菌株之间存在协同效应,增强了 P 循环及分泌代谢物的能力,有效促进了植物养分积累^[18-19]。因此,磷肥配合混接解磷菌可以有效提升紫花苜蓿根际土—根系 C、N、P 含量。

3.2 菌磷配施对紫花苜蓿根际土—根系化学计量特征的影响

土壤化学计量比作为土壤中 C、N、P 元素循环的重要指标,可以反映土壤肥力以及土壤营养平衡状况。土壤 C/N 可以指示土壤 C 的矿化速率,土壤 C/P 可以表征土壤中 P 的释放或吸收能力,土壤 N/P 可以指示土壤 N 和 P 元素平衡及限制^[28]。研究表明,施肥改变了根际土壤 C、N、P 化学计量比,且这一过程受到施肥量及土层深度的影响^[13]。本研究发现,施磷显著影响土壤的 C/P 及 N/P,但对 C/N 的影响不显著(表 4),这与前人研究结果一致^[14]。我国土壤的平均 C/N、C/P 及 N/P(摩尔比)分别为 11.9、61.0 和 5.2^[34]。在本试验得到的平均 C/N、C/P

及N/P(换算为摩尔比)分别为14.3、123.6和8.7,均高于我国平均水平,这表明菌磷互作有助于提高土壤C、N含量及养分有效性。但由于本研究是盆栽试验,取样深度有限,其平均C/N、C/P及N/P低于我国0~10 cm土层的均值(14.4、136.0及9.3)^[34]。同样,本研究发现,施磷和接菌处理显著影响了紫花苜蓿根系化学计量比(表4),施磷降低了紫花苜蓿根系C/N、C/P及N/P,这主要是由于施磷使紫花苜蓿体内N和P含量增加导致的^[35]。Koerselman等^[36]研究发现,植物的N/P可以指示植物是否受N和P养分的限制,其中N/P大于16时,说明植物受P限制;小于14时,植物受N限制;14~16时,植物受N和P的共同限制。本研究中,紫花苜蓿根系N/P为6.44~8.88,表明紫花苜蓿根系主要受N限制。虽然施磷和接种解磷菌在一定程度上提高了根际土及根系的N含量^[6,33],但紫花苜蓿的生长速度较快且一年中可多次刈割,施磷和接种解磷菌可能会加剧紫花苜蓿的N限制,在实际生产中应该考虑补充适量氮肥,以减缓紫花苜蓿的N限制。

3.3 菌磷配施对紫花苜蓿根系生理指标的影响

可溶性糖和淀粉作为紫花苜蓿光合作用的产物,是其生长发育所需的基础能量来源,也是影响其顺利越冬及返青的重要因素^[20]。本研究中,施磷和接菌处理提高了紫花苜蓿根系可溶性糖和淀粉含量,其中磷肥和解磷菌配施对其提升效果更佳。这可能是因为磷肥和解磷菌配施下紫花苜蓿的光合速率高于单施磷肥,进而使其根、茎和叶的可溶性糖和淀粉含量增多^[24]。同样,可溶性蛋白、根系活力及丙二醛也是响应外界环境胁迫的重要指标^[37]。研究发现,低磷胁迫降低了苜蓿根系活力、可溶性糖、可溶性蛋白的含量及抗氧化酶活性^[37]。另有研究表明,接种解磷菌可以提高滇重楼(*Paris polyphylla* var. *yunnanensis*)根系活力、可溶性糖及可溶性蛋白的含量,降低丙二醛含量^[23]。本研究中,施磷提高了紫花苜蓿根系活力和可溶性蛋白含量,降低了丙二醛含量。同样,在相同施磷(P₀或P₁)条件下,与未接菌(J₀)处理相比,接种解磷菌(J₁、J₂及J₃)均提高了紫花苜蓿的根系活力、可溶性蛋白(除J₂P₀及J₂P₁)及降低了丙二醛(除J₁P₁及J₂P₁)含量。因此,磷肥和解磷菌配施可以更有效地提高紫花苜蓿根系的养分代谢能力,进而促进紫花苜蓿生长发育。

4 结论

与不施肥及不接菌处理相比,菌磷配施提高了紫花苜蓿根际土C、N、P含量,以及紫花苜蓿的根系活力、根系C(除J₂P₁)、N(除J₁P₀及J₂P₀)、P、可溶性糖、可溶性蛋白(除J₂P₀)及淀粉含量,降低了根系丙二醛含量。同时,施磷和接种解磷菌也显著改变了紫花苜蓿根际土N/P、根系C/N、C/P及N/P。综合分析表明,当施磷量(P₂O₅)为100 mg·kg⁻¹并混合接种胶质芽孢杆菌和巨大芽孢杆菌对提高紫花苜蓿根际土壤养分及促进根系非结构碳水化合物效果最佳。

参考文献 References:

- [1] Guo T, Xue B, Bai J, *et al.* Discussion of the present situation of China's forage grass industry development: An example using alfalfa and oats. *Pratacultural Science*, 2019, 36(5): 1466—1473.
郭婷, 薛彪, 白娟, 等. 刍议中国牧草产业发展现状—以苜蓿、燕麦为例. *草业科学*, 2019, 36(5): 1466—1473.
- [2] Zhang W H, Hou L Y, Yang J, *et al.* Establishment and management of alfalfa pasture in cold regions of China. *Chinese Science Bulletin*, 2018, 63(17): 1651—1663.
张文浩, 侯龙鱼, 杨杰, 等. 高寒地区苜蓿人工草地建植技术. *科学通报*, 2018, 63(17): 1651—1663.
- [3] Haki J, Kunzová E, Tocaurová Š, *et al.* Impact of long-term manure and mineral fertilization on yield and nutritive value of lucerne (*Medicago sativa*) in relation to changes in canopy structure. *European Journal of Agronomy*, 2021, 123: 126219.
- [4] Duan B H, Lu J Y, Liu M G, *et al.* Relationships between biological nitrogen fixation and leaf resorption of nitrogen, phosphorus, and potassium in the rain-fed region of eastern Gansu, China. *Acta Prataculturæ Sinica*, 2016, 25(12): 76—83.
段兵红, 陆姣云, 刘敏国, 等. 陇东雨养农区紫花苜蓿叶片氮、磷、钾重吸收与生物固氮的偶联关系. *草业学报*, 2016, 25(12): 76—83.
- [5] Francisquini J A, Calonero J C, Rosolem C A, *et al.* Increase of nitrogen-use efficiency by phosphorus fertilization in grass-legume pastures. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2020, 118(2): 165—175.
- [6] Yu T F, Liu X J, Hao F. Effect of phosphate fertilizer application on alfalfa yield, nutritive value and N and P use efficiency.

- Acta Prataculturae Sinica, 2018, 27(3): 154—163.
- 于铁峰, 刘晓静, 郝凤. 施用磷肥对紫花苜蓿营养价值 and 氮磷利用效率的影响. 草业学报, 2018, 27(3): 154—163.
- [7] Ma Y, Cheng Y Y, Shi X J, *et al.* Phosphate-solubilizing bacteria: roles in phosphorus cycling and ecological agriculture and application as potential biofertilizers. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(12): 4502—4521.
- 马莹, 程莹莹, 石孝均, 等. 溶磷菌在磷素循环和生态农业中的作用与其生物肥料应用. 微生物学报, 2023, 63(12): 4502—4521.
- [8] Liu J Y, Hui J F, Sun M Y, *et al.* Effects of phosphorus application and inoculation arbuscular mycorrhizae fungi (AMF) and phosphate solubilizing bacteria on dry matter yield and phosphorus use efficiency of alfalfa. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2020, 36(19): 142—149.
- 刘俊英, 回金峰, 孙梦瑶, 等. 施磷水平和接种 AMF 与解磷细菌对苜蓿产量及磷素利用效率的影响. 农业工程学报, 2020, 36(19): 142—149.
- [9] Liu J Y, Liu X S, Zhang Q B, *et al.* Response of alfalfa growth to arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria under different phosphorus application levels. AMB Express, 2020, 10: 1—13.
- [10] Zhang B B, Wang Y J, Liu H J, *et al.* Optimal phosphorus management strategies to enhance crop productivity and soil phosphorus fertility in rapeseed-rice rotation. Chemosphere, 2023, 337: 139392.
- [11] Zhang P P, Liu G W, Yu Y. Ecological stoichiometry of soil carbon, nitrogen and phosphorus in reclaimed farmland in coal mining subsidence area. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2023, 23(2): 2498—2511.
- [12] Zheng S M, Xia Y H, Hu Y J, *et al.* Stoichiometry of carbon, nitrogen, and phosphorus in soil: Effects of agricultural land use and climate at a continental scale. Soil and Tillage Research, 2021, 209: 104903.
- [13] Gu X D, Zhang F J, Xie X W, *et al.* Effects of N and P addition on nutrient and stoichiometry of rhizosphere and non-rhizosphere soils of alfalfa in alkaline soil. Scientific Reports, 2023, 13(1): 12119.
- [14] Sun Y, Wang C T, Chen X L, *et al.* Phosphorus additions imbalance terrestrial ecosystem C:N:P stoichiometry. Global Change Biology, 2022, 28(24): 7353—7365.
- [15] Yang K X, Zhao J W, Zhao J T, *et al.* Effects of nitrogen and phosphorus addition on biochemical and stoichiometric characteristics of alfalfa fine roots and root collars. Chinese Journal of Grassland, 2023, 45(12): 72—79.
- 杨开鑫, 赵俊威, 赵建涛, 等. 氮磷添加对紫花苜蓿细根与根颈生化及化学计量特征的影响. 中国草地学报, 2023, 45(12): 72—79.
- [16] Yuan H Z, Liu S L, Razavi B S, *et al.* Differentiated response of plant and microbial C:N:P stoichiometries to phosphorus application in phosphorus-limited paddy soil. European Journal of Soil Biology, 2019, 95: 103122.
- [17] An X X, Liu J Y, Liu X S, *et al.* Optimizing phosphorus application rate and the mixed inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria can improve the phosphatase activity and organic acid content in alfalfa soil. Sustainability, 2022, 14(18): 11342.
- [18] Wang Z K, Xu Z H, Chen Z Y, *et al.* Synergistic effects of organic fertilizer coupled with phosphate-solubilizing and nitrogen-fixing bacteria on nutrient characteristics of yellow-brown soil under carbon deficiency. Chinese Journal of Applied Ecology, 2020, 31(10): 3413—3423.
- 王志康, 徐子恒, 陈紫云, 等. 有机肥和解磷固氮菌配施对缺碳黄棕壤养分特性的协同效应. 应用生态学报, 2020, 31(10): 3413—3423.
- [19] Chauhan P K, Sudhir K U. Mixed consortium of salt-tolerant phosphate solubilizing bacteria improves maize (*Zea mays*) plant growth and soil health under saline conditions. Molecular Biotechnology, 2024, 66(3): 489—499.
- [20] Hartmann H, Trumbore S. Understanding the roles of nonstructural carbohydrates in forest trees—from what we can measure to what we want to know. New Phytologist, 2016, 211(2): 386—403.
- [21] Du Y, Lu R L, Xia J J. Impacts of global environmental change drivers on non-structural carbohydrates in terrestrial plants. Functional Ecology, 2020, 34(8): 1525—1536.
- [22] Peleja V L, Peleja P L, Lara T S, *et al.* Seasonality and phosphate fertilization in carbohydrates storage: *Carapa guianensis* Aubl. seedlings responses. Plants, 2022, 11(15): 1956.
- [23] Zhao J J, Guo D Q, Yang M, *et al.* Effect of different dosage of dissolving phosphorus bacteria on growth and development in *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*. Environmental Chemistry, 2022, 41(2): 761—769.
- 赵晶晶, 郭冬琴, 杨敏, 等. 不同剂量解磷菌对滇重楼生长发育的影响. 环境化学, 2022, 41(2): 761—769.
- [24] Li Y L, Zhang J X, Peng Y K, *et al.* A counting method of living bacteria in microbial fertilizer. Acta Agriculturae Boreali-

- occidentalis Sinica, 1999, 8(4): 94—96.
- 李亚兰, 张建新, 彭玉魁, 等. 微生物肥料中有效活菌数检测方法. 西北农业学报, 1999, 8(4): 94—96.
- [25] Zhang Y Y, An X X, Ma C H, *et al.* The coupling of phosphate solubilizing bacteria and phosphate fertilizer to improve the growth and photosynthetic performance of alfalfa. Chinese Journal of Grassland, 2023, 45(11): 43—51.
- 张盈盈, 安晓霞, 马春晖, 等. 解磷细菌与磷肥耦合提高苜蓿生长及光合性能. 中国草地学报, 2023, 45(11): 43—51.
- [26] Li H S. Principle and technology of plant physiological and biochemical experiments. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [27] Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [28] Wang S Q, Yu G R. Ecological stoichiometry characteristics of ecosystem carbon, nitrogen and phosphorus elements. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(8): 3937—3947.
- 王绍强, 于贵瑞. 生态系统碳氮磷元素的生态化学计量学特征. 生态学报, 2008, 28(8): 3937—3947.
- [29] Wei K Q, Zhao J W, Zhang Q B. Effects of phosphorus application on soil respiration rate and active organic carbon components of alfalfa. Acta Prataculturae Sinica, 2024, 33(2): 80—92.
- 魏孔钦, 赵俊威, 张前兵. 施磷对紫花苜蓿土壤呼吸速率及活性有机碳组分的影响. 草业学报, 2024, 33(2): 80—92.
- [30] Sun J, Wang Y Y, Zhang X P, *et al.* Screening of phosphorus solubilizing microorganisms in cold environment and their effects on the growth of *Brassica napus*. Chinese Journal of Applied Ecology, 2023, 34(1): 221—228.
- 孙健, 王亚艺, 张鑫鹏, 等. 青海地区解磷微生物的筛选及对小油菜生长的影响. 应用生态学报, 2023, 34(1): 221—228.
- [31] Zhang J Y, Han F, Xia L, *et al.* The response strategies of growth and root traits to phosphorus addition in four herbaceous plants. Chinese Journal of Grassland, 2023, 45(1): 1—10.
- 张家铤, 韩飞, 夏蕾, 等. 四种草本植物生长性状和根性状对磷添加的响应策略. 中国草地学报, 2023, 45(1): 1—10.
- [32] Han Q F, Zhou F, Jia J, *et al.* Effect of fertilization on productivity different producing performance alfalfa varieties and soil fertility. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2009, 15(6): 1413—1418.
- 韩清芳, 周芳, 贾珺, 等. 施肥对不同品种苜蓿生产力及土壤肥力的影响. 植物营养与肥料学报, 2009, 15(6): 1413—1418.
- [33] Chen Y M, Li Q, Wang Y X, *et al.* Effects of N, P, K fertilizers application on yield, rhizobium and nutrient up-take and utilization of alfalfa. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2019, 33(7): 174—180.
- 陈昱铭, 李倩, 王玉祥, 等. 氮、磷、钾肥对苜蓿产量、根瘤菌及养分吸收利用率的影响. 干旱区资源与环境, 2019, 33(7): 174—180.
- [34] Tian H Q, Chen G S, Zhang C, *et al.* Pattern and variation of C:N:P ratios in China's soils: a synthesis of observational data. Biogeochemistry, 2010, 98: 139—151.
- [35] Mao R, Chen H M, Zhang X H, *et al.* Effects of P addition on plant C:N:P stoichiometry in an N-limited temperate wetland of Northeast China. Science of the Total Environment, 2016, 559: 1—6.
- [36] Koerselman W, Meuleman A F M. The vegetation N:P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation. Journal of Applied Ecology, 1996, 33: 1441—1450.
- [37] Xia J, Nan L L, Chen J, *et al.* Morphological and physiological responses of different root types of alfalfa under low phosphorus stress. Chinese Journal of Grassland, 2023, 45(10): 58—67.
- 夏静, 南丽丽, 陈洁, 等. 低磷胁迫下不同根型苜蓿形态及生理响应. 中国草地学报, 2023, 45(10): 58—67.