

接种不同根瘤菌株对紫花苜蓿生物量的影响

何龙, 师尚礼, 康文娟*, 关键, 陆保福, 南攀

(甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃省草业工程实验室, 中-美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】探究不同根瘤菌接种环境下紫花苜蓿幼苗各器官生物量变化和共生效应差异。【方法】以WL289HQ、WL319HQ、WL363HQ、陇中、清水、甘农9号紫花苜蓿(*Medicago sativa*)品种为材料, 以接种不同根瘤菌菌株G3L3、G3L4、G3L7、LL7、LP3、G9L4、WLP2、S12531为处理, 以不接菌处理为对照, 分析接种根瘤菌后紫花苜蓿品种之间的差异、根瘤菌菌株之间的差异、品种和菌株的交互效应差异。【结果】紫花苜蓿品种之间, WL298HQ的根、茎、叶生物量最高; 根瘤菌菌株之间, G9L4的根、叶生物量最高, G3L7的茎生物量最高。品种和菌株的交互效应下, WL298HQ苜蓿接种菌株G3L3、LL7、G9L4、LP3以及甘农9号苜蓿接种菌株G3L3、G3L7对叶、茎、根生物量的积累有促进效应; 陇中苜蓿接种菌株G3L3、WLP2、LL7、LP3以及清水苜蓿接种菌株WLP2对叶、茎、根生物量的积累有抑制效应; WL298HQ与菌株LL7对茎、叶生物量的分配效应最强, 匹配效果最好。【结论】WL298HQ和甘农9号接种菌株G3L3对叶、茎、根生物量的积累有促进效应, 陇中和清水苜蓿接种菌株WLP2对叶、茎、根生物量的积累有抑制效应, 紫花苜蓿与根瘤菌共生对生物量干重的分配效应遵循: 茎>叶>根。

关键词: 紫花苜蓿; 根瘤菌; 营养器官; 生物量

中图分类号: S541 **文献标志码:** A **文章编号:** 1009-5500(2024)06-0022-12

DOI: 10.13817/j.cnki.cyycp.2024.06.003



生物量是植物的物质积累状况及对环境资源利用能力的体现, 是植物的生物学特征和功能性状之一^[1]。在植物个体的生长发育过程中, 根、茎、叶等器官对环境中有有限的资源配置存在分配权衡, 对植物个体的生存、生长与繁殖都起着重要作用^[2]。这种权衡表现在植物各器官的生物量分配上, 反映了植物对环境的适应和生存策略^[3]。研究表明, 植物各器官的生物量分配随植株个体大小、种源、发育阶段和空间位置的变化而改变^[4-5], 当生长环境受限或改变时, 植物各器官之间的生物量分配会发生改变^[6-7]。作为重要

的环境因素之一, 接种根瘤菌势必会造成植物生物量积累和分配的差异^[8]。

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)是分布在温带、干旱和半干旱地区的一种多年生优良豆科牧草^[9], 具有产量高、品质优、适应性强的特点^[10], 具有“牧草之王”的美称^[11]。根瘤菌(*Rhizobium*)可与豆科植物共生形成根瘤, 将空气中的氮气转化为植物可以利用的化合态氮^[12], 从而供给植物营养。根瘤菌既可在土壤中生存, 亦能够在植物组织内定殖, 增强植株的生物^[13]和非生物^[14]抗性。目前对于苜蓿植株的生物量分配研究多集中于灌溉模式^[10]、外源激素添加^[15-16]、间作模式^[17-18]及施肥水平^[19]等环境条件下, 但对于接种根瘤菌如何影响紫花苜蓿叶、茎和根之间生物量分配尚未见报道。本试验以紫花苜蓿为研究对象, 通过接种不同根瘤菌株对其各器官生物量、共生效应及其异速生长关系进行系统对比研究, 以揭示不同器官间生物量

收稿日期: 2022-12-12; **修回日期:** 2023-02-10

基金资助: 国家现代农业产业技术体系(CARS-34); 国家自然科学基金项目(32101427)

作者简介: 何龙(1996-), 男, 甘肃天水人, 硕士研究生。

E-mail: 932169176@qq.com

*通信作者。E-mail: 1103683808@qq.com

的分配关系。研究结果将为深入了解接种根瘤菌后紫花苜蓿的适应特征提供基础数据,对根瘤菌和紫花苜蓿互作效应的合理开发利用也具有一定的指导意义。

1 材料和方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试紫花苜蓿材料 选用6个紫花苜蓿品种为供试材料(表1)。

1.1.2 供试菌株 供试菌株(表2)为中华根瘤菌株(*Sinorhizobium meliloti*),现保存于甘肃农业大学草业生态系统教育部重点实验室。

1.1.3 培养基 TY培养基:胰蛋白胨5 g;酵母粉3 g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.872 6 g;pH值7.0。

1.1.4 试剂药品 碘伏:有效碘含量为0.45%~0.55% W/V(德州亿康消毒制品有限公司)。

氯化钠—吐温溶液(Sodium chloride—Tween solution,ST液):0.9%无菌氯化钠溶液,0.5%吐温80(天津市北联精细化学品开发有限公司)。

磷酸二氢铵:含N量12%,含 P_2O_5 量61%(山东裕硕化工有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 种子处理 分别选取各个品种健康饱满、大小一致的紫花苜蓿种子1 000粒,在无菌操作台内将各个品种的种子置于已灭菌的50 mL三角瓶中,碘伏浸泡5 min后用无菌水冲洗干净,ST液浸泡1 min(ST液可提高消毒液的表面活性,增强消毒效果)后用无菌水冲洗干净^[20],用无菌滤纸吸干水分放置备用。

1.2.2 幼苗培育 试验于2022年4—6月在甘肃农业大学牧草实训基地网室中进行,取试验地表层土翻晒后混匀、过筛(1 cm),将表层样地土(1 000 g)和沙子(500 g)按2:1的比例混匀装入直径18 cm、高

13 cm、容积2.6 L的花盆内,每盆中施1.4 g磷酸二氢铵作为基肥(单位面积N素含量 $<5\%$ ^[21]),为苜蓿幼苗生长提供营养,将花盆半埋入网室中10 cm深。以6个苜蓿品种为一组,用8种根瘤菌液处理不同组,以浇无菌水为对照(CK),共9个处理,每个处理3次重复。于2022年4月28日播种,每盆播种25粒已消毒的种子,表面覆盖干土2 cm左右。出苗后间苗,每盆保留生长一致、分布均匀的幼苗20株,期间进行适当的田间管理,为后续试验提供保障。

1.2.3 根瘤菌液的制备及接菌 将保存于 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 的根瘤菌株划线接种于TY培养基进行活化,在生化培养箱内 $28\text{ }^\circ\text{C}$ 培养24 h。用无菌接种针挑取单菌落转接入含有200 mL TY液体培养基的三角瓶中, $28\text{ }^\circ\text{C}$ 、180 r/min振荡培养24 h至 $D_{600\text{ nm}}$ 值大于0.5,将含有根瘤菌的TY液体培养基 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 、10 000 r/min离心10 min,抛去上清液后用等体积无菌蒸馏水冲洗根瘤菌,并用涡旋振荡器将其打散摇匀,最后用无菌蒸馏水调制光密度 $D_{600\text{ nm}}$ 值为0.5^[22]。

在幼苗生长的第15天(第1片真叶出现)傍晚进行第1次根瘤菌接种,在每个花盆中浇含有根瘤菌的液体10 mL,以等体积的无菌水浇灌为对照。每隔2 d浇灌一次,共计3次,接种时保证每盆的接菌量达到 1.0×10^9 个以上^[23]。

1.3 构件生物量测定与分配比例计算

接菌后40 d,从每个处理组选取30株(每个重复10株)苜蓿,用自来水将根系和植株叶片清洗干净,晾干植株表面附着水分,在实验室内记录每株植物根瘤数及其重量(nodule biomass,NB)并将植株分为叶片、茎和根共3部分,装入信封袋,置于烘箱中,以 $120\text{ }^\circ\text{C}$ 杀青30 min,然后以 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 烘干至恒重,最后称量干重(天平精度0.000 1 g)。分别得到每株植物的叶片生

表1 供试紫花苜蓿品种
Table 1 Details of alfalfa varieties

苜蓿品种	学名	产地	来源
WL298HQ	<i>M. sativa</i> cv. 'WL298HQ'	美国	北京正道生态科技有限公司
WL319HQ	<i>M. sativa</i> cv. 'WL319HQ'		
WL363HQ	<i>M. sativa</i> cv. 'WL363HQ'		
陇中	<i>M. sativa</i> cv. 'Longzhong'	中国	甘肃农业大学草业生态系统教育部重点实验室
清水	<i>M. sativa</i> cv. 'Qingshui'		
甘农9号	<i>M. sativa</i> cv. 'Gannong No. 9'		

表2 供试根瘤菌株来源
Table 2 Details of rhizobial bacteria

菌株编号	分离部位	苜蓿品种
G3L3	根瘤	<i>M. sativa</i> cv. ‘Gannong No. 3’
G3L4		
G3L7		
LL7	根瘤	<i>M. sativa</i> cv. ‘Longzhong’
LP3	根表皮	
G9L4	根瘤	<i>M. sativa</i> cv. ‘Gannong No. 9’
WLP2	根表皮	<i>M. sativa</i> cv. ‘WL168HQ’
S. 12531	苜蓿外源根瘤菌	

物量 (leaf biomass, LB)、茎生物量 (stem biomass, SB),两者之和为地上生物量 (aboveground biomass, AGB);地上生物量与根生物量 (root biomass, RB)之和为总生物量 (total biomass, TB)。用单位质量根瘤所产生的叶、茎、根生物量表示不同根瘤菌株与各紫花苜蓿品种接种环境下各构件生物量的分配效率^[24]。相关指标计算公式如下:

地上生物量 = 茎生物量 + 叶生物量

表3 方差分析表
Table 3 Variance analysis of the orthogonal test data

方差来源	因变量	平方和	自由度	均方	F	显著性
品种	根生物量	0.031	5	0.006	10.649	0.000
	茎生物量	0.119	5	0.024	4.867	0.000
	叶生物量	0.145	5	0.029	12.498	0.000
菌株	根生物量	0.018	8	0.002	3.896	0.000
	茎生物量	0.626	8	0.078	16.047	0.000
	叶生物量	0.283	8	0.035	15.241	0.000
品种×菌株	根生物量	0.138	40	0.003	5.914	0.000
	茎生物量	1.795	40	0.045	9.196	0.000
	叶生物量	0.892	40	0.022	9.609	0.000
误差	根生物量	0.063	108	0.001		
	茎生物量	0.527	108	0.005		
	叶生物量	0.251	108	0.002		
总计	根生物量	4.372	162			
	茎生物量	29.541	162			
	叶生物量	22.058	162			

2.2 紫花苜蓿品种之间生物量的差异

不同品种间的根生物量, WL298HQ 显著高于其余品种 ($P<0.05$), 依次同比增加 25.69%、11.75%、23.53%、26.95% 和 19.15%, WL363HQ 显著高于 WL319HQ 和陇中 ($P<0.05$), 同比增加 12.47% 和 13.60%, 其余处理间差异不显著 (图 1-A)。不同品种间的茎生物量, WL298HQ 显著高于 WL319HQ、

总生物量 = 地上生物量 + 根生物量
叶共生效应 (leaf biomass gained by efficiency, LBE) = $(LB_{处理} - LB_{CK}) / NB$
茎共生效应 (stem biomass gained by efficiency, TBE) = $(SB_{处理} - SB_{CK}) / NB$
根共生效应 (root biomass gained by efficiency, RBE) = $(RB_{处理} - RB_{CK}) / NB$

1.4 数据处理

通过 Microsoft Office 2019 软件整理、计算数据并用 Prism 8 和 R3.6.3 软件作图, 利用 SPSS 25.0 (IBM Corporation, USA) 软件进行方差分析和 LSD 法多重比较。

2 结果与分析

2.1 紫花苜蓿品种之间生物量的

接种根瘤菌后紫花苜蓿品种、根瘤菌菌株及二者的交互作用, 在紫花苜蓿根、茎、叶生物量中均存在显著差异 (表 3)。

WL363HQ、甘农 9 号和清水 ($P<0.05$), 依次同比增加 22.80%、17.74%、13.70% 和 15.41%, 陇中显著高于 WL319HQ ($P<0.05$), 同比增长 13.40%, 其余处理间差异不显著 (图 1-B)。不同品种间的叶生物量, WL298HQ 显著高于 WL319HQ、WL363HQ、甘农 9 号、陇中和清水 ($P<0.05$), 依次同比增加 29.91%、18.97%、22.19%、17.60% 和 21.39%, 陇中显著高于

WL319HQ ($P < 0.05$), 同比增长 10.47%, 其余处理间差异不显(图 1-C)。

2.3 根瘤菌菌株之间苜蓿生物量的差异

不同接菌处理之间的根生物量, G9L4 显著高于 S12531 和 WLP2 ($P < 0.05$), 同比增加 18.28% 和 26.80%, 但均与 CK 差异不显著(图 2-A)。不同接菌处理间的茎生物量, G3L3、G3L7、G9L4、LL7 和 LP3

显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比增加 28.88%、50.17%、39.27%、22.77% 和 28.38%, G3L4、S12531、WLP2 与 CK 差异不显著(图 2-B)。不同接菌处理间的叶生物量, G3L3、G3L7、G9L4、LL7 和 LP3 显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比增加 20.73%、37.06%、37.61%、20.00%、22.57%, G3L4、S12531 和 WLP2 与 CK 差异不显著(图 2-C)。

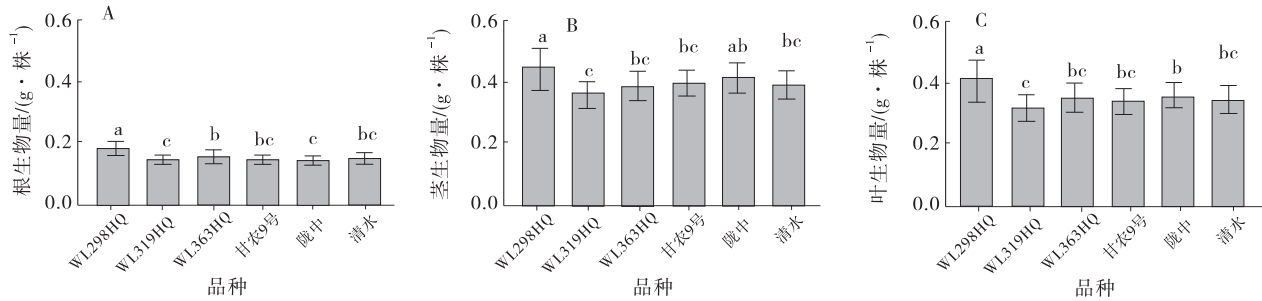


图 1 不同品种紫花苜蓿之间生物量的差异

Fig. 1 Differences in biomass between different cultivars of alfalfa

注:不同小写字母代表不同处理间差异显著($P < 0.05$),下同。

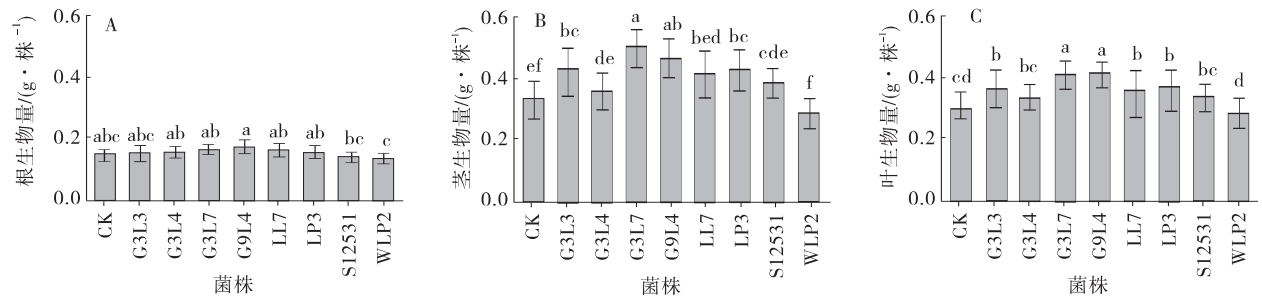


图 2 紫花苜蓿接种不同根瘤菌株之间生物量的差异

Fig. 2 Differences in biomass between different rhizobial strains inoculated with alfalfa

2.4 紫花苜蓿品种接种不同根瘤菌株的效应差异

2.4.1 对紫花苜蓿叶生物量的影响 与CK相比,各接菌处理均不同程度地影响了紫花苜蓿的叶生物量。WL298HQ 品种上,处理 G3L3、WLP2、G3L7、LL7、G9L4、LP3 的叶生物量显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比增长 128.97%、66.61%、75.64%、173.52%、134.39%、158.79% (图 3-A); WL319HQ 品种上,处理 G3L3、G9L4 的叶生物量显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比增长 38.53%、71.56% (图 3-B); WL363HQ 品种上,处理 G3L7、LL7、G9L4、S12531 的叶生物量显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比增长 51.24%、59.41%、55.70%、47.53% (图 3-C); 陇中苜蓿品种上,处理 G3L7 的叶生物量显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比增长 18.74%, 处理 G3L3、WLP2、LL7、LP3、S12531 的叶

生物量均显著低于 CK ($P < 0.05$), 同比分别减少 20.48%、31.74%、39.05%、18.88%、33.02% (图 3-D); 清水苜蓿品种上,处理 WLP2 的叶生物量显著低于 CK ($P < 0.05$), 同比减少 51.56% (图 3-E); 甘农 9 号品种上,处理 G3L3、G3L7、S12531 的叶生物量显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比增长 50.24%、88.23%、55.72% ($P < 0.05$), 其余处理与 CK 差异不显著 ($P > 0.05$) (图 3-E)。

2.4.2 对紫花苜蓿茎生物量的影响 与CK相比,各接菌处理均不同程度的影响了紫花苜蓿的茎生物量。WL298HQ 品种上,处理 G3L3、WLP2、G3L7、LL7、G9L4、LP3 的茎生物量均显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比分别增长 175.59%、98.66%、90.45%、245.20%、198.02%、231.68% (图 4-A); WL319HQ 品种上,处

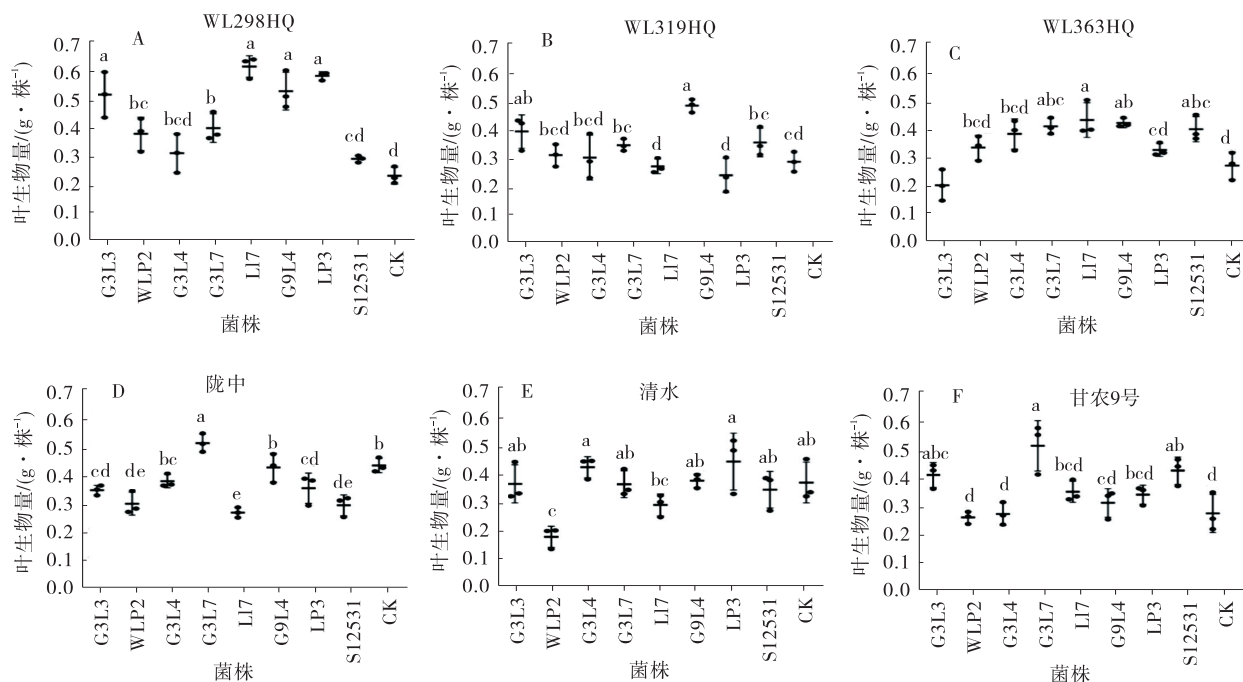


图3 接种不同根瘤菌株对紫花苜蓿叶生物量的影响

Fig. 3 Leaf biomass of *M. sativa* cultivars inoculated with different *rhizobial* strains

理 G3L3、G9L4 的茎生物量显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比分别增长 111.49%、106.88% (图 4-B); WL363 HQ 品种上, 处理 G3L4、G3L7、LL7、S12531 的茎生物量均显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比分别增长 58.64%、91.89%、59.33%、63.94% (图 4-C); 陇中苜蓿品种上, 处理 G3L3、WLP2、G3L4、LL7、LP3、S12531 的茎生物量均显著低于 CK ($P < 0.05$), 同比分别减少 35.11%、41.86%、29.41%、46.28%、36.04%、45.93% (图 4-D); 清水苜蓿品种上, 处理 WLP2 的茎生物量显著低于 CK ($P < 0.05$), 同比减少 58.49% (图 4-E); 甘农 9 号品种上, 处理 G3L3、G3L7、LP3、S12531 的茎生物量均显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比分别增长 88.33%、127.46%、59.94%、52.52% ($P < 0.05$), 其余处理与 CK 差异不显著 ($P > 0.05$) (图 4-E)。

2.4.3 对紫花苜蓿根生物量的影响 与 CK 相比, 各接菌处理均不同程度的影响了紫花苜蓿的根生物量。WL298HQ 品种上, 处理 G3L3、LL7、G9L4、LP3 的根

2.5 根瘤菌株接种不同紫花苜蓿品种的效应差异

2.5.1 对紫花苜蓿叶生物量的影响 各处理下的紫花苜蓿叶生物量变化不同。不接种根瘤菌时 (CK), 陇中的叶生物量显著高于 WL298HQ、WL319HQ、WL363HQ、甘农 9 号 ($P < 0.05$), 同比分别增加 90.91%、51.81%、55.56%、57.50% (图 6-A); 接种

生物量均显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比分别增加 60.50%、51.26%、42.44%、38.66%, 处理 S12531 的根生物量显著低于 CK ($P < 0.05$), 同比减少 33.61% (图 5-A); WL319HQ 品种上, 处理 WLP2、G3L4、G9L4、S12531 的根生物量均显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比分别增加 30.51%、29.41%、81.95%、40.68% (图 5-B); WL363HQ 品种上, 处理 G3L3 的根生物量均显著低于 CK ($P < 0.05$), 同比分别减少 49.15% (图 5-C); 陇中苜蓿品种上, 处理 G3L3、WLP2、LL7、G9L4、LP3 的根生物量均显著低于 CK ($P < 0.05$), 同比分别减少 38.35%、38.35%、26.41%、25.36%、30.27% (图 5-D); 清水苜蓿品种上, 处理 WLP2 的根生物量显著低于 CK ($P < 0.05$), 同比减少 41.61% (图 5-E); 甘农 9 号品种上, 处理 G3L3、G3L7、LL7、LP3 的根生物量显著高于 CK ($P < 0.05$), 同比增加 17.29%、42.65%、17.29%、20.87%, 其余处理与 CK 差异不显著 ($P > 0.05$) (图 5-F)。

G3L3 后 WL298HQ 的叶生物量显著高于 WL319HQ、WL363HQ、陇中、清水 ($P < 0.05$), 同比分别增加 33.04%、150.82%、51.49%、41.67% (图 6-B); 接种 G3L4 后清水的叶生物量显著高于 WL298HQ、WL319HQ、甘农 9 号 ($P < 0.05$), 同比分别增加 38.89%、42.05%、56.25% (图 6-C); G3L7 处理中甘

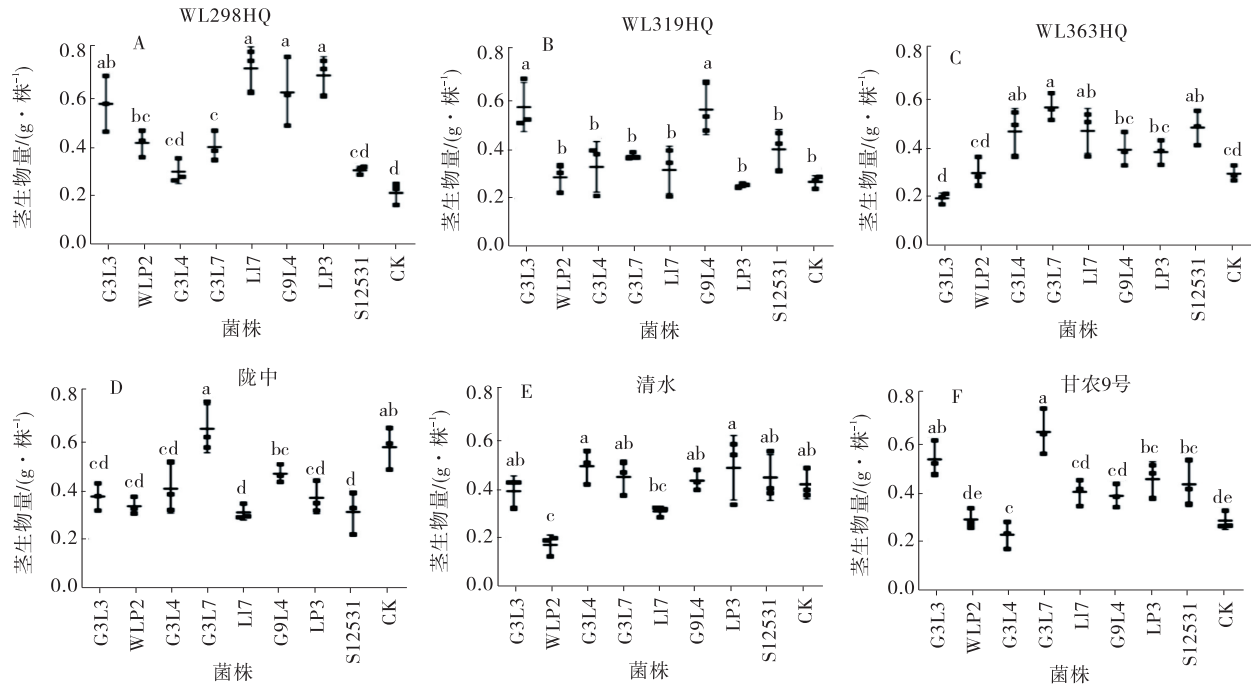


图 4 接种不同根瘤菌株对紫花苜蓿茎生物量的影响

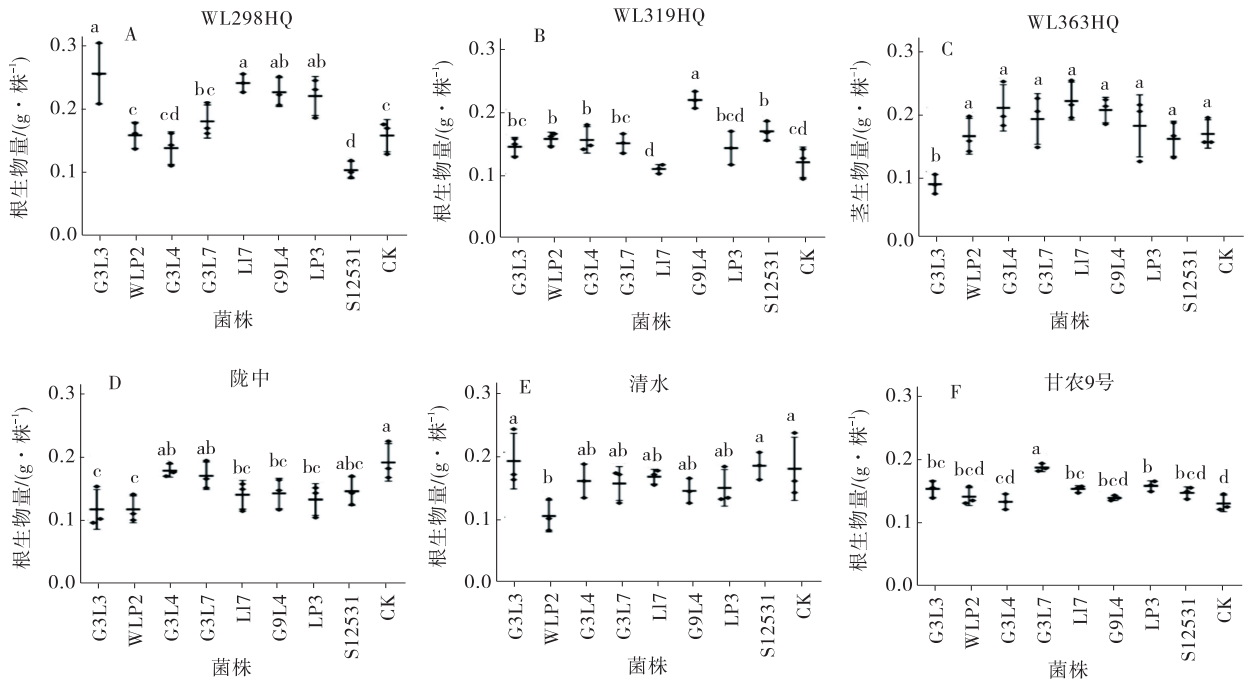
Fig. 4 Stem biomass of *M. sativa* cultivars inoculated with different rhizobial strains

图 5 接种不同根瘤菌株对紫花苜蓿根生物量的影响

Fig. 5 Root biomass of *M. sativa* cultivars inoculated with different rhizobial strains

农 9 号和陇中的叶生物量均显著高于 WL298HQ、WL319HQ、清水 ($P < 0.05$), 分别同比增加 28.21%、48.51%、40.19% 和 28.21%、48.51%、40.19% (图 6-D); G9L4 处理中 WL298HQ 的叶生物量显著高于 WL363HQ、甘农 9 号、陇中、清水 ($P < 0.05$), 同比分别增加 23.02%、68.48%、25.00%、40.91% (图 6-E);

LL7 处理中 WL298HQ 的叶生物量显著高于其余品种 ($P < 0.05$), 同比分别增加 132.05%、40.31%、75.73%、135.06%、110.47% (图 6-F); 接种 LP3 后 WL298HQ 的叶生物量显著高于其余品种 ($P < 0.05$), 同比分别增加 152.94%、77.32%、73.74%、68.63%、32.31% (图 6-G); S12531 处理中 WL363HQ

和甘农9号的叶生物量显著高于WL298HQ、清水 ($P<0.05$), 分别同比增加 41.67%、16.67% 和 47.62%、21.57%(图 6-H); WLP2 处理中 WL298HQ

的叶生物量显著高于甘农9号、陇中、清水 ($P<0.05$), 同比分别增加 46.05%、29.07%、109.43% (图 6-I)。

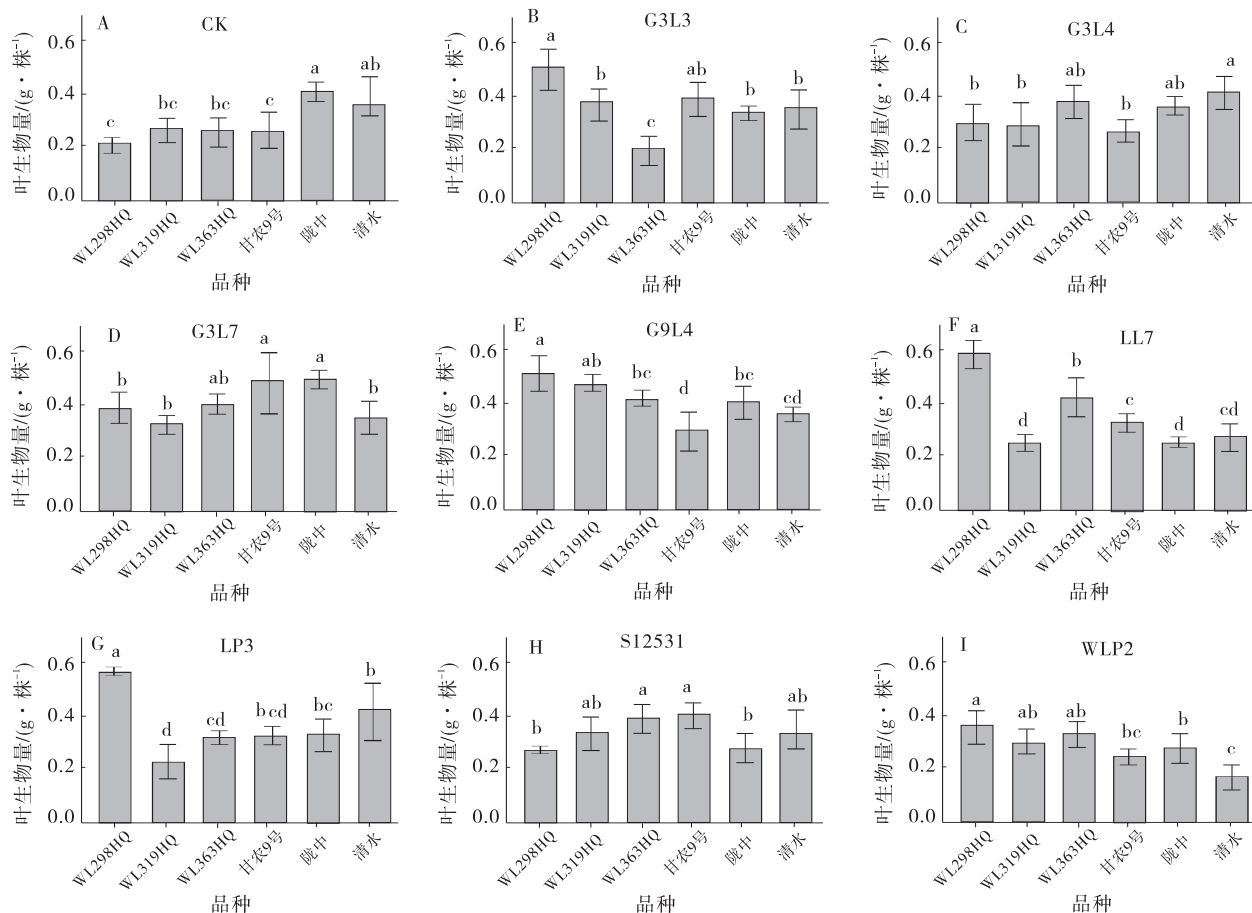


图 6 不同紫花苜蓿品种接种同一根瘤菌株对叶生物量的影响

Fig. 6 Effect of different *M. sativa* cultivars inoculated with the same rhizobial strain on leaf biomass

2.5.2 对紫花苜蓿茎生物量的影响 各处理下的紫花苜蓿茎生物量变化不同。不接种根瘤菌时(CK), 陇中苜蓿的茎生物量显著高于其余品种 ($P<0.05$), 同比分别增加 186.67%、115%、100%、104.76%、38.71%(图 7-A); 接种 G3L3 后 WL298HQ 和 WL319HQ 的茎生物量均显著高于 WL363HQ、陇中、清水 ($P<0.05$), 分别同比增加 194.74%、50.00%、44.83% 和 198.25%、51.79%、46.55%(图 7-B); 接种 G3L4 后清水和 WL363HQ 的茎生物量均显著高于 WL298HQ、甘农9号 ($P<0.05$), 分别同比增加 66.60%、116.42% 和 59.30%、104.48%(图 7-C); G3L7 处理中甘农9号和陇中的茎生物量显著高于 WL298HQ、WL319HQ、清水 ($P<0.05$), 分别同比增加 66.09%、72.07%、43.61% 和 68.69%、74.77%、45.86%(图 7-D); G9L4 处理中 WL298HQ 的茎生物量显著高于 WL363HQ、甘

农9号、清水 ($P<0.05$), 同比分别增加 55.17%、57.89%、40.62%(图 7-E); 接种 LL7 后 WL298HQ 的茎生物量显著高于其余品种 ($P<0.05$), 同比分别增加 122.34%、50.36%、75.63%、127.17%、129.67%(图 7-F); 接种 LP3 后 WL298HQ 的茎生物量显著高于其余品种 ($P<0.05$), 同比分别增加 165.79%、80.36%、50.75%、81.98%、41.25%(图 7-G); S12531 处理中 WL363HQ 的茎生物量显著高于 WL298HQ、陇中 ($P<0.05$), 同比分别增加 61.36%、51.06%(图 7-H); WLP2 处理中 WL298HQ 的茎生物量显著高于 WL319HQ、WL363HQ、甘农9号、清水 ($P<0.05$), 同比分别增加 41.18%、36.36%、41.18%、130.77%(图 7-I)。

2.5.3 对紫花苜蓿根生物量的影响 各处理下的紫花苜蓿根生物量变化不同。不接种根瘤菌时(CK), 陇

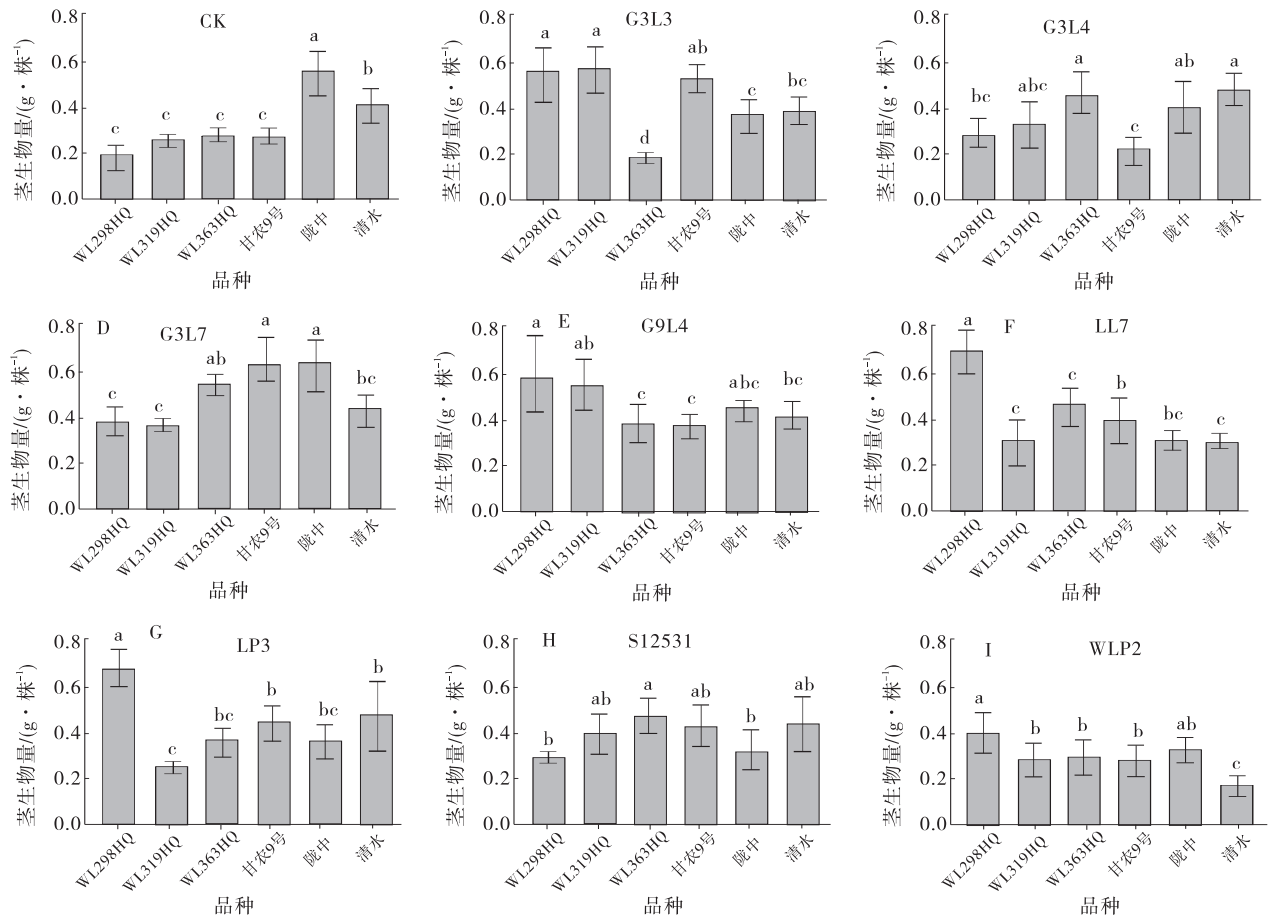


图 7 不同紫花苜蓿接种同一根瘤菌株对茎生物量的影响

Fig. 7 Effect of different alfalfa inoculated with the same rhizobial strain on stem biomass

中、清水的根生物量显著高于 WL319HQ ($P < 0.05$), 同比分别增加 62.86%、51.43% (图 8-A); 接种 G3L3 后 WL298HQ 的根生物量显著高于其余品种 ($P < 0.05$), 同比分别增加 33.04%、150.82%、71.70%、51.49%、41.67% (图 8-B); 接种 G3L4 后 WL363HQ 的根生物量显著高于 WL298HQ、甘农 9 号 ($P < 0.05$), 同比分别增加 46.34%、50.00% (图 8-C); G3L7 处理中各品种间差异不显著 (图 8-D); G9L4 处理中 WL298HQ、WL319HQ 和 WL363HQ 的根生物量均显著高于甘农 9 号、陇中、清水 ($P < 0.05$), 分别同比分别增加 61.90%、58.14%、61.90%、52.38%、48.84%、52.38% 和 38.10%、34.88%、38.10% (图 8-E); 接种 LL7 后 WL298HQ 和 WL363HQ 的根生物量均显著高于其余品种 ($P < 0.05$), 分别同比增加 125.00%、53.19%、71.43%、46.94% 和 93.75%、31.91%、47.62%、26.53%; 接种 LP3 后 WL298HQ 的根生物量显著高于 WL319HQ、陇中、清水 ($P < 0.05$), 同比分别增加 57.14%、69.23%、50.00%

(图 8-G); S12531 处理中 WL319HQ、WL363HQ、甘农 9 号、清水的根生物量均显著高于 WL298HQ ($P < 0.05$), 同比分别增加 58.06%、48.39%、45.16%、74.19% (图 8-H); WLP2 处理中 WL298HQ、WL319HQ 和 WL363HQ 的根生物量均显著高于陇中、清水 ($P < 0.05$), 分别同比增加 37.14%、54.84%、31.43%、48.39% 和 34.29%、51.61% (图 8-I)。

2.6 不同根瘤菌株与紫花苜蓿品种的共生效应

在各苜蓿品种与根瘤菌的共生过程中, 结瘤对植株茎的促生效应最强, 其次为叶部, 对根部的促生效应最低。WL298HQ 品种上, 处理 G3L3 (2.83)、LL7 (2.89) 的根共生效应均显著高于 G3L4、G3L7、S12531、WLP2 ($P < 0.05$), 处理 LL7 的茎、叶共生效应显著高于其余处理 ($P < 0.05$), 分别为 17.60、13.65 (图 9-A); WL319HQ 品种上, 处理 G9L4 (2.39) 的根共生效应显著高于除 G3L4 外的其余处理 ($P < 0.05$), 处理 G3L3 (8.62) 的茎共生效应显著高于除 G9L4 外的其余处理 ($P < 0.05$), 处理 G9L4 (4.90) 的叶共生

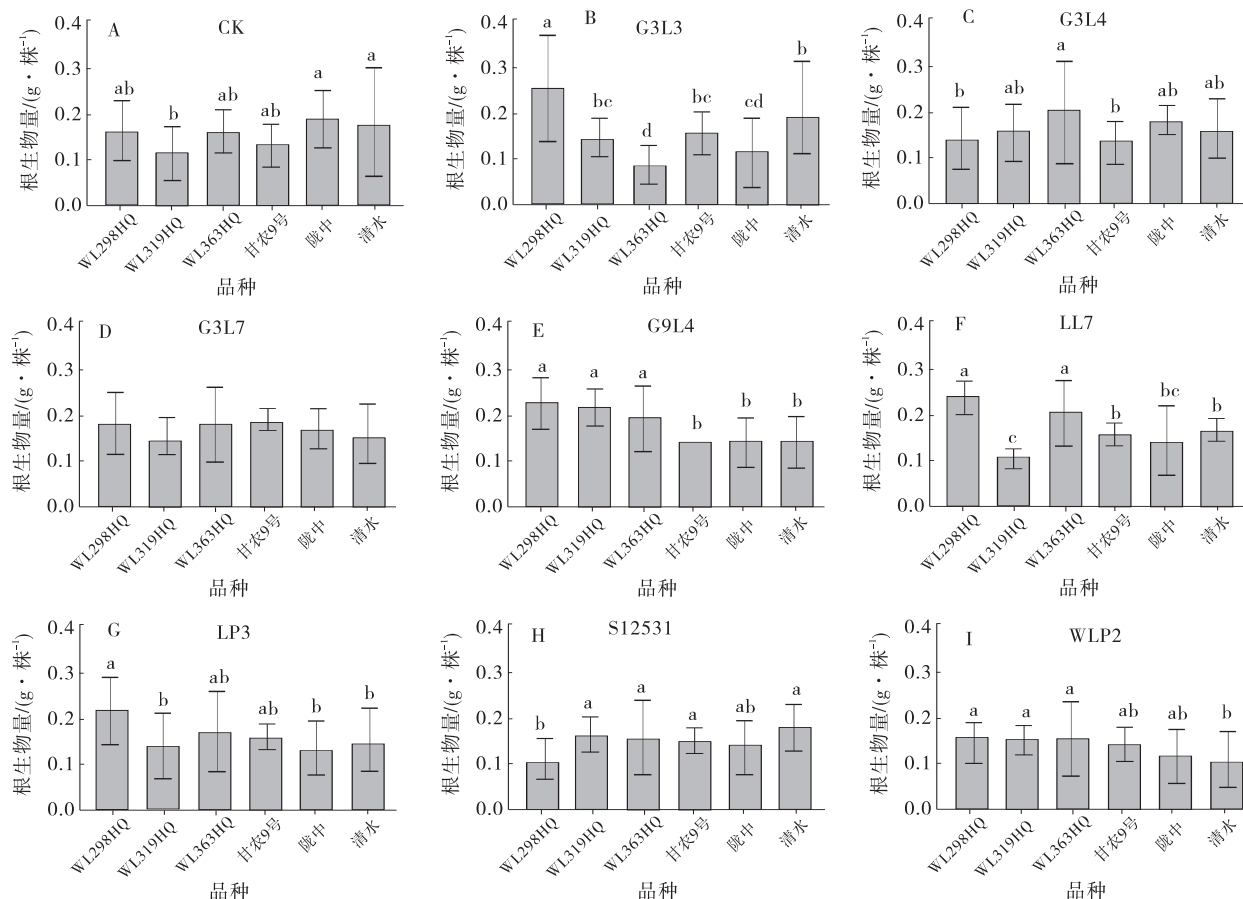


图8 不同紫花苜蓿接种同一根瘤菌株对根生物量的影响

Fig. 8 Effect of different alfalfa inoculated with the same nodule strain on root biomass

应显著高于 G3L4、LL7、LP3、WLP2 ($P<0.05$) (图 9-B); WL363HQ 品种上, 处理 G3L3 (-2.77) 的根共生效应显著低于其余处理 ($P<0.05$), 处理 G3L7 (6.54) 的茎共生效应均显著高于 G3L3、LP3、WLP2 ($P<0.05$) (图 9-C), 处理 G9L4 (4.57)、LL7 (4.52) 的叶共生效应显著高于 G3L3、LP3 ($P<0.05$); 陇中苜蓿品种上, 处理 G3L4 (-0.38)、G3L7 (-0.50) 的根共生效应均显著高于其余处理 ($P<0.05$), 处理 G3L7 的茎、叶共生效应显著高于其余处理 ($P<0.05$), 分别为 1.80、1.90 (图 9-D); 清水苜蓿品种上, 处理 G3L3 (0.36)、S12531 (0.11) 的根共生效应均显著高于 WLP2 ($P<0.05$), 处理 WLP2 的茎、叶共生效应显著低于除 LL7 外的其余处理 ($P<0.05$), 分别为 -7.13、-5.53 (图 9-E); 甘农 9 号品种上, 处理 G3L7 (1.45) 的根共生效应显著高于其余处理 ($P<0.05$), 处理 G3L7 (9.24) 的茎共生效应显著高于除 G3L4 外的其余处理 ($P<0.05$), 处理 G3L7 (6.11) 的叶共生效应显著高于除 G3L4、S12531 外的其余处理 ($P<0.05$) (图 9-F)。

3 讨论

3.1 不同根瘤菌接种环境对紫花苜蓿各器官生物量积累的影响

接种根瘤菌可以促进紫花苜蓿生物量的积累^[25], 根瘤菌通过感染苜蓿根部形成根瘤进行共生固氮, 为苜蓿植株提供充足氮素^[26], 引起苜蓿植株生长和生理代谢的变化, 不同根瘤菌对紫花苜蓿的生物量影响也存在差异^[27]。生物量是紫花苜蓿植株对接种根瘤菌作用结果的综合体现, 是筛选苜蓿—根瘤菌最优组合的直接指标。试验中 WL298HQ 接种菌株 G3L3、LL7、G9L4、LP3, 甘农 9 号接种菌株 G3L3、G3L7 对叶、茎、根生物量的积累均有促进效应, 其中茎生物量最高, 叶生物量次之, 根生物量最低, 表明苜蓿在接菌环境下, 地上器官优先生长, 以达到增加产草量的目的。WL298HQ 接种菌株 WLP2、G3L7, WL319HQ 接种菌株 G3L3、G9L4, WL363HQ 接种菌株 G3L7、LL7、G9L4、S12531, 陇中接种菌株 G3L7, 甘农 9 号接

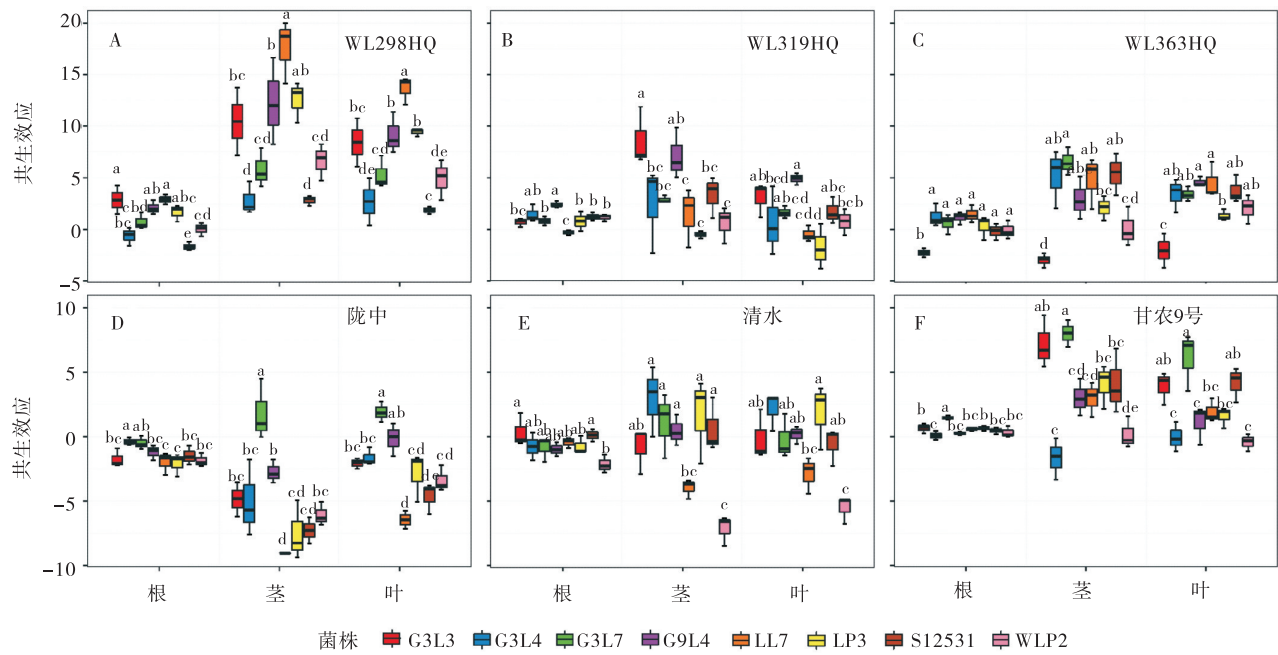


图9 不同根瘤菌株与紫花苜蓿品种的共生效应

Fig. 9 Symbiotic effects of different *rhizobial* strains with alfalfa cultivars

种菌株 S12531 对叶生物量的积累有促进效应；WL298HQ 接种菌株 WLP2、G3L7，WL319HQ 接种菌株 G3L3、G9L4，WL363HQ 接种菌株 G3L4、G3L7、LL7、S12531，甘农 9 号接种菌株 LP3、S12531 对茎生物量的积累有促进效应；WL319HQ 接种菌株 WLP2、G3L4、G9L4、S12531，甘农 9 号接种菌株 LL7、LP3 对根生物量的积累有促进效应。有研究发现，甘农 9 号接种菌株 G3L3 地上鲜重和地下鲜重显著大于 CK^[22]，公农 5 号接种菌株 HLCC3002 植株干重显著大于 CK^[27]，新牧 1 号接种根瘤菌 XGL026 能显著增加苜蓿的草产量^[25]，有良好的接种效果。与本研究结果一致，其原因可能是在自然条件下，紫花苜蓿结瘤晚，数量少，且多为无效根瘤。人工接种根瘤菌，能较快地侵染苜蓿，提前形成有效根瘤，增强固氮能力，从幼苗期就加强共生固氮能力，促进植株生长，提高牧草产量^[28]。陇中接种菌株 G3L3、WLP2、LL7、LP3，清水苜蓿接种菌株 WLP2 对叶、茎、根生物量的积累均有抑制效应，WL298HQ 接种菌株 S12531，WL363HQ 接种菌株 G3L3 对根生物量的积累均有抑制效应。有研究发现，陇中接种菌株 WLP2、LL7、LP3 地上鲜重显著小于 CK^[22]，草原 3 号接种菌株 HK、SJN 单株生物量显著小于 CK^[29]。与本研究结果中部分菌株接种后产量较对照相比降低一致，这可能是因为与土著根瘤菌相比，接种的根瘤菌较土著根瘤菌竞争结瘤能力强，结

瘤量大，但根瘤的固氮效率低^[30]，根瘤菌过度消耗掉苜蓿植株大量的光合产物，对其生长发育产生消极影响^[31]，减少了苜蓿植株生物量的积累；未接种植物缺氮，促使其增加对根部生长的投入，增加其根系生长，以探索土壤中更多的氮源区域^[24]，从而增加 CK 根部生物量积累。

3.2 不同根瘤菌接种环境下紫花苜蓿的共生效应

共生效应是指每克根瘤的植物生物量增益，计算方法为接种和未接种植物之间的生物量差值除以根瘤生物量（即，效率 = $\Delta M / MNB$ ）。使用植物生物量参数来估计共生过程的效率，具有对影响固氮酶活性的临时波动不太敏感的优点，因此， $\Delta M / MNB$ 是评估共生过程效率的一个很好的指标^[24]。本研究中与非接种环境（CK）相比，接种环境下植株的共生效应差异显著，其中苜蓿茎部的共生效应波动最显著，共生效应总体变化趋势呈茎 > 叶 > 根。茎部共生效应值最高在 WL298HQ 接种菌株 LL7 处理，为 19.98，最低在陇中接种菌株 S12531 处理，为 -11.91；叶部共生效应值最高在 WL298HQ 接种菌株 LL7 处理，为 14.53，最低在陇中接种菌株 LL7 处理，为 -7.17；根部共生效应值最高在 WL298HQ 接种菌株 G3L3 处理，为 4.23，最低在陇中接种菌株 LP3 处理，为 -3.12；说明接种环境下根瘤菌的促进或抑制效果对植株茎生物量影响最大，其次是叶生物量，最后是根生物量。有研究发

现, 籼稻接种菌株 ORS278 的共生效率显著高于接种菌株 ORS357, 接种的植物的茎共生效应显著高于根共生效应^[24], 与本研究结果一致, 其原因可能是: 植物根部接触菌株产生不同程度的免疫反应, 从而导致根部共生代谢降低^[24]; 接菌处理可能导致紫花苜蓿分枝数的增加^[10], 使茎部共生效应最显著。在所有苜蓿品种中, WL298HQ 苜蓿对菌株接种的生物量共生效应最大, 陇中苜蓿对菌株接种的生物量共生效应最小, 说明供试菌株整体与 WL298HQ 苜蓿的匹配效果最好, 与陇中苜蓿的匹配效果较差。

4 结论

接种根瘤菌可显著改变紫花苜蓿营养器官生物量, 当前研究表明接种根瘤菌既可以促进紫花苜蓿生物量积累, 也可以抑制其积累, WL298HQ 和甘农 9 号接种菌株 G3L3 对叶、茎、根生物量的积累有促进效应, 陇中和清水苜蓿接种菌株 WLP2 对叶、茎、根生物量的积累有抑制效应, 紫花苜蓿与根瘤菌共生对生物量干重的分配效应遵循: 茎 > 叶 > 根。

参考文献:

- [1] Poorter H, Niklas K J, Reich P B, *et al.* Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control[J]. *New Phytologist*, 2012, 193(1): 30–50.
- [2] 冯丽, 张景光, 张志山, 等. 腾格里沙漠人工固沙植被中油蒿的生长及生物量分配动态[J]. *植物生态学报*, 2009, 33(6): 1132–1139.
- [3] 罗永开, 方精云, 胡会峰. 山西芦芽山 14 种常见灌木生物量模型及生物量分配[J]. *植物生态学报*, 2017, 41(1): 115–125.
- [4] 卢艺苗, 王满堂, 陈晓萍, 等. 江西常绿阔叶林木本植物不同冠层高度当年生小枝茎构型对叶生物量的影响[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(11): 3653–3661.
- [5] Sun J, Wang M, Lyu M, *et al.* Stem diameter (and not length) limit twig leaf biomass[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 185.
- [6] 李鑫, 李昆, 段安安, 等. 不同地理种源云南松幼苗生物量分配及其异速生长[J]. *北京林业大学学报*, 2019, 41(4): 41–50.
- [7] 张磊, 吕光辉, 蒋腊梅, 等. 四种荒漠植物生物量分配对土壤因子的响应及异速生长分析[J]. *广西植物*, 2019, 39(9): 1201–1211.
- [8] 杨宁, 马绍英, 马蕾, 等. 重茬豌豆幼苗对接复合根瘤菌的生理响应[J]. *草业学报*, 2020, 29(6): 144–152.
- [9] 马俊能. 紫花苜蓿的综合利用[J]. *山东畜牧兽医*, 2014, 35(3): 16–17.
- [10] 张静. 分根区灌溉对紫花苜蓿产量稳定性和氮磷利用的影响[D]. 兰州: 兰州大学, 2021.
- [11] Benabderrahim M A, Mansour H, Ali F. Diversity of lucerne (*Medicago sativa* L.) populations in south Tunisia [J]. *Pakistan Journal of Botany*. 2009, 41(6): 2851–2861.
- [12] 张旭辉, 马绍英, 马蕾, 等. 接种根瘤菌对重茬豌豆植株生长及光合特性的影响[J]. *草地学报*, 2021, 29(6): 1234–1241.
- [13] Pavlo A, Leonid O, Iryna Z, *et al.* Endophytic bacteria enhancing growth and disease resistance of potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. *Biological Control*. 2011, 56(1): 43–49.
- [14] Miliute I, Buzaitė O, Baniulis D, *et al.* Bacterial endophytes in agricultural crops and their role in stress tolerance: a review [J]. *Zemdirbyste—Agriculture*, 2015, 102(4): 465–478.
- [15] 高海娟, 刘泽东, 孙蕊, 等. 矮壮素对紫花苜蓿种子产量及产量构成因子的影响[J]. *中国饲料*, 2022(5): 122–124.
- [16] 王香, 高永, 汪季, 等. 植物生长调节剂 GGR-6 对苜蓿种子萌发及芽苗生理特性的影响[J]. *北方园艺*, 2016(15): 67–71.
- [17] 赵雅姣. 紫花苜蓿/禾本科牧草间作优势及其氮高效机理和土壤微生态效应研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2020.
- [18] 李威, 刘鹏, 王涛, 等. 2 种间作模式对 5 年生苜蓿产量及光合特性的影响[J]. *安徽农业科学*, 2020, 48(13): 37–39.
- [19] 苏晶. 土壤水分对不同氮素供应下紫花苜蓿生长及氮代谢的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2019.
- [20] 张淑卿, 李剑峰, 师尚礼. 苜蓿繁殖器官发育过程与内生根瘤菌侵染数量的关系[J]. *江苏农业学报*, 2009, 25(5): 997–1001.
- [21] 阿芸, 师尚礼, 张晓燕, 等. 5 龄紫花苜蓿轮作草地早熟禾的土壤养分变化特征[J]. *草业科学*, 2019, 36(11): 2863–2870.
- [22] 康文娟. 紫花苜蓿根瘤菌生物型划分及其转录组学分析[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2019.
- [23] 曾昭海, 隋新华, 胡跃高, 等. 紫花苜蓿—根瘤菌高效共生体筛选及田间作用效果[J]. *草业学报*, 2004, 13(5): 95–100.

- [24] Florian L, Nolwenn B B, Peter M, *et al.* Symbiotic Efficiency of Spherical and Elongated Bacteroids in the Aeschynomene—Bradyrhizobium Symbiosis [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 377.
- [25] 热比姑丽·热合曼, 罗明, 李卫军. 地下滴灌苜蓿根瘤菌的接种效应[J]. *草业科学*, 2020, 37(3): 497—505.
- [26] 陈永岗, 师尚礼, 吴芳, 等. 硼处理根瘤菌接种液对紫花苜蓿根、茎、叶中可溶性糖含量的影响[J]. *草业科学*, 2021, 38(6): 1138—1146.
- [27] 杨健. 不同紫花苜蓿品种与根瘤菌优化共生匹配组合的筛选[D]. 长春: 吉林农业大学, 2016.
- [28] 张新杰, 布鲁呼木图, 张良斌, 等. 根瘤菌接种对紫花苜蓿生产性能的影响[J]. *草学*, 2021(4): 29—32.
- [29] 钱亚斯. 接种不同根瘤菌对3个苜蓿品种及土壤养分的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020.
- [30] 吴萍, 何庆元, 李正鹏, 等. 高效大豆根瘤菌筛选的初步研究[J]. *安徽科技学院学报*, 2013, 27(3): 29—32.
- [31] 刘颖, 张佳蕾, 李新国, 等. 豆科作物氮素高效利用机制研究进展[J]. *中国油料作物学报*, 2022, 44(3): 476—482.

Effect of rhizobia inoculation on vegetative organ biomass of alfalfa

HE Long, SHI Shang-li, KANG Wen-juan*, GUAN Jian, LU Bao-fu, NAN Pan

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: [Objective] To explore the biomass changes and symbiotic effect differences in various organs of Alfalfa Seedlings under different rhizobial inoculation environments, [Method] *Medicago sativa* (WL289HQ, WL319HQ, WL363HQ, Longzhong, Qingshui, Gannong 9) were used as materials. Rhizobia strains G3L3, G3L4, G3L7, LL7, LP3, G9L4, WLP2, S12531 were inoculated as treatments. Samples without rhizobia inoculation were used as control. The differences among *M. sativa* cultivars after inoculation with rhizobia, the differences among rhizobial strains, and the interactive effect differences between cultivars and strains were comparatively analyzed. [Result] Among different alfalfa varieties, WL289HQ had the highest biomass of root, stem and leaf. Among different mycorrhizal treatments, the root and leaf biomass of G9L4 was the highest, while the stem biomass of G3L7 was the highest. Under the interactive effect of variety and strain, the WL289HQ alfalfa inoculated with strains G3L3, LL7, G9L4, and LP3 as well as the gannong 9 alfalfa inoculated with strains G3L3, G3L7 showed enhanced leaf, stem, and root biomass accumulation. Longzhong inoculated with strains G3L3, WLP2, LL7, and LP3 as well as the Qingshui inoculated strain WLP2 in longum showed inhibitory effects on the accumulation of leaf, shoot, and root biomass. WL289HQ showed the strongest partition effect with strain LL7 on the biomass of stem and leaf, with the best matching effect. [Conclusion] The WL289HQ and Gannong 9 inoculated strain G3L3 showed positive effect on leaf, stem and root biomass accumulation. The inhibitory effect of WLP2, an inoculated strain with long neutralizing *Medicago* clear, on the accumulation of leaf, shoot and root biomass, and the partition effect of the symbiosis between *M. sativa* and rhizobia on biomass dry weight followed: stem > leaf > root.

Key words: *Medicago sativa*; *rhizobium*; nutrient organs; biomass

(责任编辑: 刘建荣)