

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.07.010

引用格式:冯廷旭,张琳,林伟山,等.氮磷添加对三江源地区禾豆混播作物根际微生物的影响[J].草地学报,2026,34(7):2450—2460

FENG Ting-xu, ZHANG Lin, LIN Wei-shan, et al. Effects of Nitrogen and Phosphorus Addition on Rhizosphere Microorganisms of Leguminous and Gramineae Mixed-Cropped Plants in the Sanjiangyuan Region[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(7):2450—2460

氮磷添加对三江源地区禾豆混播作物根际微生物的影响

冯廷旭¹, 张琳², 林伟山², 李菲², 刘若琪², 向雪梅², 魏希杰², 德科加^{1,2*}

(1. 青海大学, 青海 西宁 810016; 2. 青海省畜牧兽医科学院, 青海 西宁 810016)

摘要:为探究施肥对三江源禾豆混播系统根际微生物的影响,本研究以燕麦(*Avena sativa*)+饲用豌豆(*Pisum sativum*)为对象,设置施氮(A₁)、施磷(A₂)、氮磷混施(A₃)及不施肥(CK)的随机区组试验。于乳熟期测定土壤养分、根系形态,并采用高通量测序分析微生物群落。结果表明:A₂处理下根系体积与根瘤菌数量比CK处理分别提高了11.15%和9.49%($P<0.05$);A₃处理下根系表面积比CK处理提高63.37%($P<0.05$)。韦恩图结果表明A₁处理下土壤真菌数量明显增加,其占比为28.89%,CK处理占比19.12%;A₂处理的 α 多样性指数与 β 多样性指数均表明磷肥显著提高了土壤中的真菌数量,生态系统趋于稳定;真菌功能群预测结果表明氮磷添加后土壤真菌结构与数量会向腐生型转变。综上所述,氮磷添加提高了根系形态参数与土壤微生物数量及结构,且磷肥更有利于优化三江源地区人工草地根系形态与微生物群落结构。

关键词:三江源地区;外源肥料添加;人工草地;禾豆混播;根系生态系统

中图分类号:S544;S542

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)07-2450-11

Effects of Nitrogen and Phosphorus Addition on Rhizosphere Microorganisms of Leguminous and Gramineae Mixed-Cropped Plants in the Sanjiangyuan Region

FENG Ting-xu¹, ZHANG Lin², LIN Wei-shan², LI Fei², LIU Ruo-qi², XIANG Xue-mei²,
WEI Xi-jie², DE Ke-jia^{1,2*}

(1. Qinghai University, Xining, Qinghai Province 810016, China;

2. Qinghai Provincial Academy of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Xining, Qinghai Province 810016, China)

Abstract: To investigate the effect of fertilization on the rhizosphere microorganisms of the barley-pea mixed cropping system in the Sanjiangyuan region, this study took barley (*Avena sativa*) and forage pea (*Pisum sativum*) as the research objects. A randomized block experiment including nitrogen application (A₁), phosphorus application (A₂), nitrogen-phosphorus combined application (A₃), and no fertilization (CK) was set up. Soil nutrients and root morphology were measured at the milk stage, and microbial communities were analyzed using high-throughput sequencing. The results showed that under the A₂ treatment, the ratio of root volume to rhizobacteria was 11.15% and 9.49% higher than that under the CK treatment ($P<0.05$); under the A₃ treatment, the root surface area was 63.37% higher than that under the CK treatment ($P<0.05$). The Venn diagram results indicated that the number of soil fungi under the A₁ treatment significantly increased, accounting for 28.89%, compared to 19.12% under the CK treatment; the α diversity index and β diversity index of the A₂

收稿日期:2025-09-24;修回日期:2025-10-29

基金项目:称多县饲草供给及冷季牲畜利用提质增效技术集成与示范(2024-NK-137);称多县一年生人工草地养分调控技术研究与示范(2025-NK-P27);青海大学三江源生态系统教育部野外科学观测研究站资助

作者简介:冯廷旭(1994-),男,汉族,甘肃武威人,博士研究生,主要从事草种质资源与利用研究,E-mail:fengtingxu141377@163.com;

*通信作者 Author for correspondence, E-mail:dekejia1002@163.com

treatment indicated that phosphorus fertilizer significantly increased the number of fungi in the soil, and the ecosystem tended to be stable; the fungal functional group prediction results showed that after adding nitrogen and phosphorus, the structure and quantity of soil fungi shifted towards saprophytic type. In conclusion, nitrogen and phosphorus fertilization improved the root morphology parameters and soil microbial quantity and structure, and phosphorus fertilizer was more conducive to optimizing the root morphology and microbial community structure of the artificial grassland in the Sanjiangyuan region.

Key words: The Sanjiangyuan region; Addition of exogenous fertilizers; Artificial grassland; Mixed sowing of legumes and grasses; Root system ecosystem

建植人工草地是保障高寒地区草畜平衡的重要方式^[1]。在植物营养中,氮元素扮演着核心角色,其通过影响土壤特性,深刻改变着植物群落结构及养分分配模式^[2]。此外,磷元素同样是植物生长发育不可或缺的关键组分,它不仅是多种重要有机物(如核酸、ATP)的结构成分,还广泛参与根系发育、能量转移及酶活化等一系列核心代谢过程^[3-4]。氮磷添加试验表明,氮磷肥添加后显著提高了高寒草甸地上生物量,改变了植物组织的氮磷比,同时会影响根系构型,生物量以及根系呼吸等碳循环功能^[5]。氮磷元素能够影响植物根系,通过改变微生物群落结构来影响养分吸收速率^[6]。但是目前高寒地区氮磷添加对人工草地植物根系及根际微生物影响的相关研究并无明确的结果。

根系是连接植物与土壤的重要器官,对植物养分获取、提高生产性能以及改良土壤等有重要意义,根系不仅是吸收养分的器官,更是一个活跃的化学信号转换站,它通过穿透土壤和改变根际微环境,将土壤中的化学信息转化为植物可识别的信号,并向上传递,从而精准调控地上部分的生理活动^[7-9]。土壤作为地球关键带的核心组成部分,在维持陆地生态系统结构与功能中扮演着不可替代的角色。其中,土壤养分供应是驱动植物生长与微生物活性的动力,因而成为衡量生态系统生产力的基础^[10]。土壤微生物是生态系统功能的关键调节者,主导着养分循环与有机质降解过程。同时,它们也对环境变化极为敏感,其群落状态能直观反映土壤健康水平,因此常被用作评估生态环境功能的核心生物指标^[11]。

在人工草地建植中,禾豆混播模式相较于单作展现出更高的生产力。其优势源于地上与地下部分的双重互补机制。地上部分,禾本科与豆科植物在形态上互补,增强了对光、热、水等环境资源的捕获效率^[12]。地下部分,二者根系构型(如须根系与直根系)的差异使其占据不同的土壤空间,形成了生态位分化^[13-14]。由于高海拔地区的气候条件严重限制了植物的生长,三江源地区人工草地中根系形

态-土壤养分-土壤微生物间相互关系的报道较少。因此,本研究通过在高寒地区采用禾本科+豆科的方式建植人工草地,研究外源氮磷肥添加后人工草地的根系及微生物多样性变化,以期能够为高寒地区人工草地提质增产提供科学指导及数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

本研究在青海大学三江源生态系统教育部野外科学观测研究站进行。该站地处青藏高原(33°24′30″N, 97°18′00″E),海拔4270 m,属典型的高原大陆性气候,其特征为冬季漫长严寒,年均温-1.4℃(变幅-26.6至24.1℃),年均降水量406 mm(其中83.8%集中于6至10月),无霜期约260 d,日照时数2650.5 h。土壤理化性质显示,其pH值为6.92,有机质含量2.36%,全氮、全磷、全钾含量分别为9.50 g·kg⁻¹, 8.20 g·kg⁻¹和13.50 g·kg⁻¹;速效氮、速效磷、速效钾含量则分别为14.0 mg·kg⁻¹, 7.0 mg·kg⁻¹和76.5 mg·kg⁻¹。

1.2 试验材料

本试验供试燕麦品种为‘青甜1号’,饲用豌豆品种为‘青建1号’,均由青海省畜牧兽医科学院草原所提供,氮肥为尿素(含N 46%),磷肥为过磷酸钙(含P₂O₅ 12%)。

1.3 试验设计

试验于2024年5月12日播种,9月25日收获。采用随机区组设计,供试作物为燕麦与饲用豌豆(混播比例70:30),设单施氮肥(A₁)(75 kg·hm⁻²),单施磷肥(A₂)(300 kg·hm⁻²),氮磷混施(A₃)(75 kg·hm⁻²+300 kg·hm⁻²)及不施肥对照(CK)共4个处理,3次重复,小区面积15 m²。播种前进行整地,随后以行距30 cm开沟10行进行条播(深3~4 cm),种子采用同行条播,播种时同步采用撒播进行施肥。全生育期不进行灌溉与追肥。禾豆种子

按行内计算的播量分别播种^[15]。

在进行播种时,同步将每个试验地布置3根聚碳酸酯材料的根管,选择不相邻的3条播种行进行布置,微根管长度为100 cm,直径为6.5 cm。布置时先在试验地中挖出斜向下45°的壕沟,垂直深度为55~60 cm,先在壕沟中铺垫一层浮土,然后将根管放置于沟中,再覆盖根管,期间在根管外表面喷施部分水,使土壤紧贴根管外壁。露出地面部分根管用配套的橡胶盖盖好,并用黑色塑料袋包裹,避免光线照射影响根系的生长。布置好后填平,再在根管上部开沟播种,播种时需注意避免将根管破坏。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 土壤样品采集与测定 作物收获后(2024年9月21日),按三点采样法采集各小区0~20 cm土层土壤,混合成一个样品。样品经风干,磨细并通过1 mm筛后,用于测定土壤全氮(凯氏法)、速效氮(碱解扩散法)、全磷(NaOH熔融-钼锑抗比色法)、速效磷(NaHCO₃浸提-钼锑抗比色法)和有机碳(重铬酸钾外加热法)含量。

1.4.2 根系图片采集与处理 2024年9月22日至23日对每块试验地饲草进行根系指标采集工作,利用CI-600微根管对根系扫描分析,先打开根管顶部塑料袋与橡胶盖,利用配套的棉布将根管内部水蒸气擦干,等待5 min左右,将准备好的根系扫描仪放入根管进行根系扫描,结束后依然盖好盖子。将CI-600扫描的图像带回到实验室,利用WinRHIZO Tron MF (CID Bio-Science, Gamas, USA)软件与EPSON Expression 10000XL根系扫描仪对根系进行扫描。测定根系总长度、根系表面积、根系体积、根系平均直径以及根系投影面积等指标。

豆科根瘤数量(采用分区计数法):小心地挖取完整的根系。轻轻抖掉大块泥土,然后将根系浸泡在水中,用软毛刷轻轻刷洗,直至根瘤和根系清晰可见。计数区域主要分为以下两部分:主根区从茎与根连接处开始,向下10~15 cm的主根部分,以及在此段主根上的一级侧根;侧根区为超出主根区的所有其他根系,包括主根的更下部,以及二级、三级等的侧根,分别对两个区域内根瘤的数量进行计数。记录实验数据,每个试验小区取样三次(图1)。

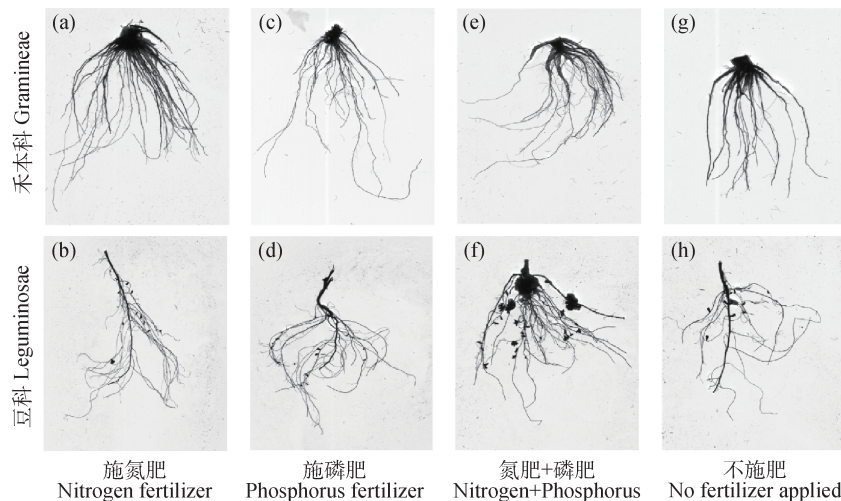


图1 根系根瘤实际采集情况的扫描图

Fig. 1 Scanning image of the actual collection of root nodules

注:a,b为单施氮肥,c,d为单施磷肥,e,f为氮磷混施,g,h为不施肥

Note: a and b represent nitrogen fertilizer alone; c and d represent phosphorus fertilizer alone; e and f represent combined nitrogen and phosphorus fertilizer; g and h represent no fertilizer applied

1.4.3 土壤微生物数据采集与检测 于2024年9月21日,在每块试验地中随机选择3个地点,每个地点利用土钻采集0~20 cm深度的土壤3次,混合为一份土壤样品,做好标记。

土壤微生物DNA分析与测序:根际土壤总DNA使用FAST试剂盒提取,经Nanodrop2000质

检(浓度 $>20 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, $A_{260}/A_{280}=1.8\sim 2.0$)后稀释至 $1 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。使用引物ITS₁F/ITS₂R进行巢式PCR,反应体系为25 μL 。扩增程序如下:首先在95°C下预变性5分钟;随后进行20个循环(95°C变性30秒,55°C退火30秒,72°C延伸45秒);紧接着进行5个循环(95°C变性30秒,55°C退火30秒,72°C延伸90

秒);最后在72℃下终延伸7分钟。产物经2%琼脂糖凝胶电泳检测后,按AxyPrepDNA试剂盒说明书切胶回收纯化,并经Qubit定量。最终利用TruSeqTM建库试剂盒构建文库,委托上海伟寰生物科技有限公司进行Miseq测序。

1.5 数据处理

用Microsoft Excel 2016进行数据的汇总,利用IBM SPSS 23.0进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),处理间差异采用Duncan多重比较检验($P<0.05$)。利用Origin 2021软件和Adobe Illustrator 2022软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 施肥对牧草根系形态的影响

外源肥料的添加显著改善了植物根系形态(图2)。与CK处理相比较,植物总根长、根系直径、根瘤数量、根系表面积均有显著增加。 A_1 显著提高了根系投影面积,比 A_2 和 A_3 提高13.05%和6.49%($P<0.05$)。 A_2 处理根系体积比 A_3 和CK显著提高11.01%和11.15%($P<0.05$), A_2 处理根瘤数量比 A_3 和CK显著提高9.49%和51.52%($P<0.05$)。 A_3 则对根系表面积有显著的提升作用,比 A_1 、 A_2 、CK显著提高13.96%、29.40%、63.37%($P<0.05$)。

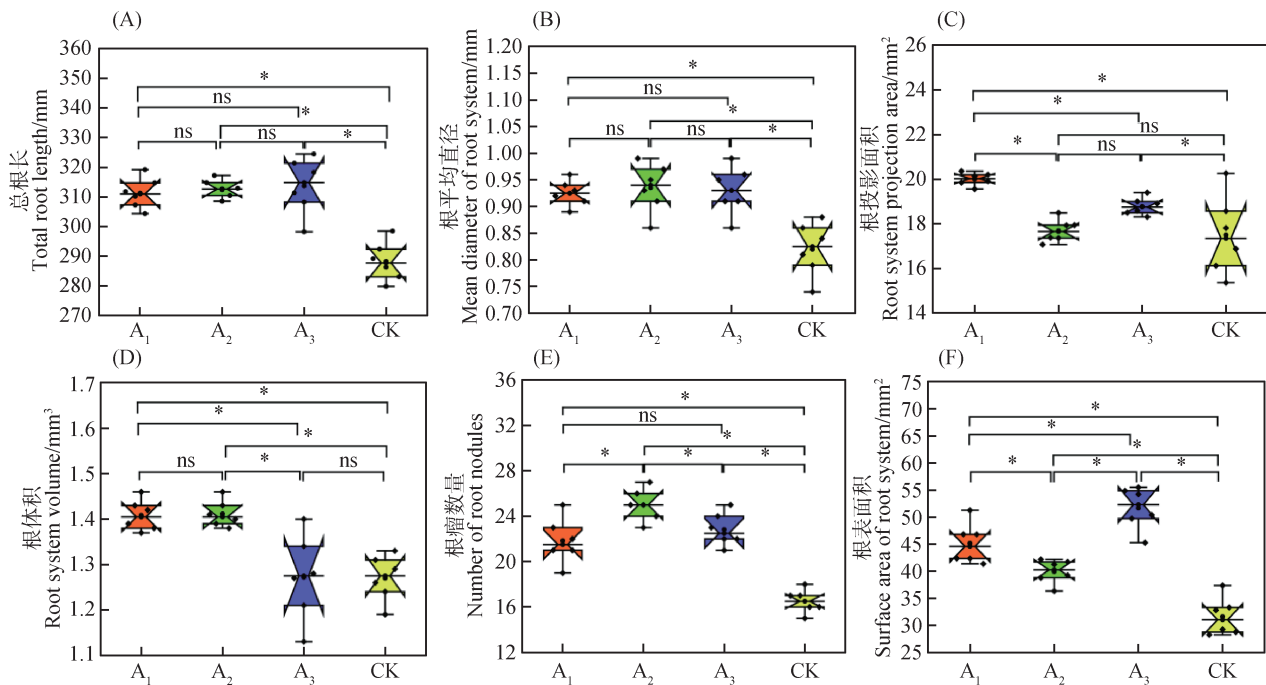


图2 肥料对禾本科植物根系形态的影响

Fig. 2 The influence of fertilizers on the root morphology of grass plants

注:施氮肥、施磷肥、氮磷混施以及不施肥分别为 A_1 、 A_2 、 A_3 、CK;*表示两个处理间存在显著差异,ns表示无显著差异。下同

Note: Nitrogen fertilizer, phosphorus fertilizer, combined nitrogen-phosphorus application, and no fertilizer application are designated as A_1 , A_2 , A_3 , and CK respectively;*indicates a significant difference between two treatments; ns indicates no significant difference. The same as below

2.2 施肥对草地土壤养分的影响

与CK相比, A_1 、 A_2 和 A_3 处理在土壤有机碳、全氮、有效氮及全磷含量均显著下降,降幅分别为27.46%~45.43%, 34.92%~49.71%, 26.04%~43.12%和21.94%~29.10%($P<0.05$),其土壤氮磷比也较CK降低了11.27%~17.68%($P<0.05$)。与此相反, A_1 、 A_2 和 A_3 处理下的土壤有效磷含量则均大幅提高,增幅为127.65%~274.54%($P<0.05$)。

2.3 施肥对草地土壤微生物的影响

2.3.1 土壤真菌扩增子序列变体(Amplicon sequence variant, ASV)分析

不同施肥处理下土壤真菌群落变化存在显著性差异,对前20个土壤真菌属进行相关性分析并绘制聚类热图,结果显示在不同施肥处理下土壤真菌被聚类为4类,CK处理下土壤真菌在担子菌门与子囊菌门表现出群落富集; A_1 处理下土壤真菌在壶菌门、担子菌门与子囊菌门表现出群落富集; A_2 处理下土壤真菌在壶菌门与子囊菌门表现出群落富集; A_3 处理下土壤真菌在子囊菌

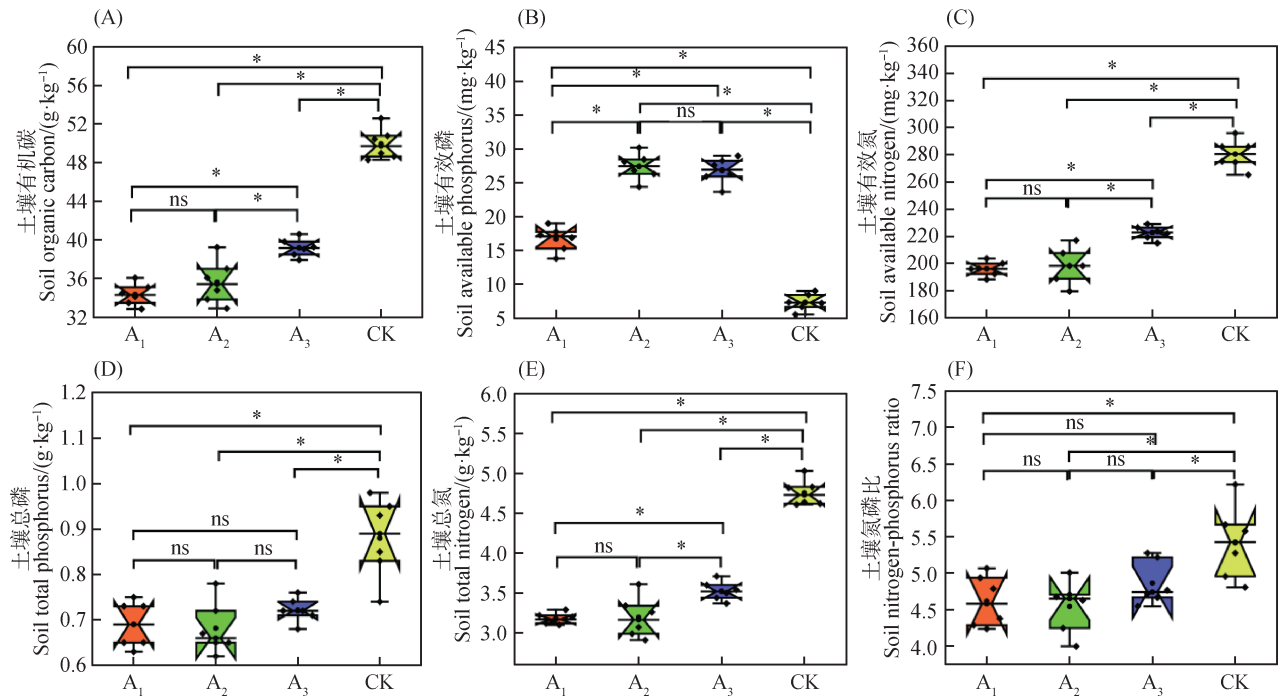


图 3 施肥对土壤养分的影响

Fig. 3 Effects of fertilization on soil nutrients in grasslands

门表现出群落富集(图 4a)。韦恩图分析结果显示(图 4b), A₁处理下真菌数量占比为 28.89%, CK 处理下真菌数量占比为 19.12%。真菌群落门水平表明(图 4c), 子囊菌门(Ascomycota)在 CK, A₁, A₂和

A₃处理中的占比分别为 38%, 62%, 69% 和 73%。其余菌门主要包括:担子菌门(Basidiomycota)、被孢霉门(Mortierellomycota)、毛霉门(Mucoromycota)与壶菌门(Chytridiomycota)。

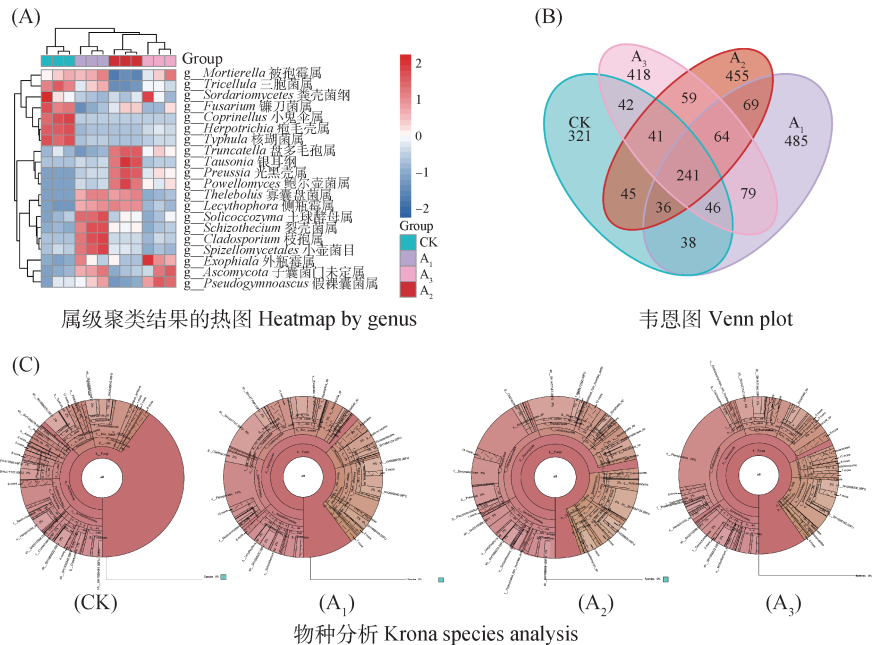


图 4 土壤真菌 ASV(扩增子序列变体)分析

Fig. 4 Soil fungal ASV (Amplified sequence variant) analysis

注:其中(A)表示分层热图聚类分析;(B)表示真菌分布构成的维恩图;(C)代表物种的分类组成;各扇形的大小反映了不同分类级别下物种的相对丰度
Note: (A) denotes hierarchical heat map clustering analysis; (B) denotes Venn diagram fungal distribution composition; (C) represents the taxonomic composition of species, with the size of the sectors reflecting the relative abundance of species at different levels of classification

2.3.2 土壤真菌 α 多样性指数组间差异分析 肥料的添加显著改变了土壤中的物种总数,通过对土壤中真菌的 α 多样性指数计算结果可知, A_1 , A_2 和 A_3 施肥处理下 Chao1, ACE, Faith_pd,

Observed, Shannon, Simpson 指数均显著高于 CK 处理,说明了施肥能够显著提高土壤中的真菌数量,从而提高了植物对养分的吸收效率(图 5)。

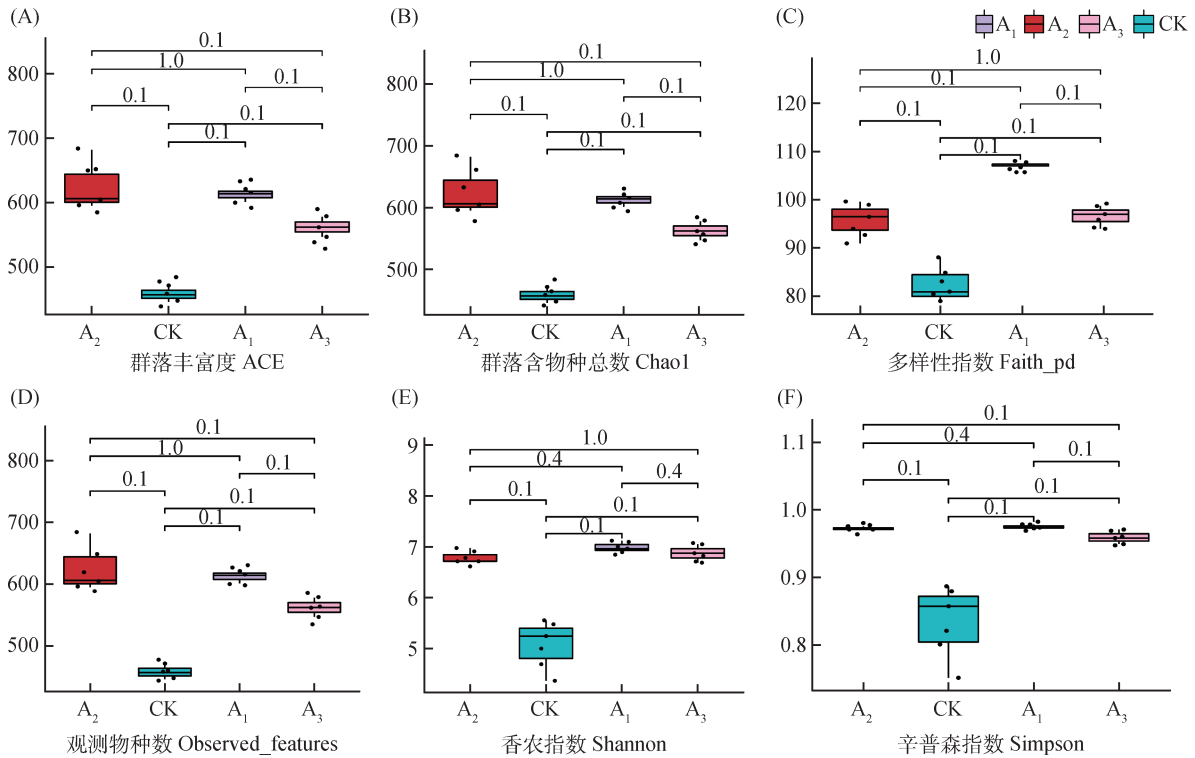


图5 各组之间的 α 多样性指数差异分析

Fig. 5 Analysis of differences between groups in the alpha diversity index

注:(A),(B)为丰富度指数 Chao1, ACE; (C)为 Faith_pd; (D)为观测值(测序结果中显示的物种总数); (E)香农指数(香农指数越高,生物多样性越好); (F)辛普森指数:从样本中随机选取两种微生物属于不同物种的概率越高,样本中微生物的多样性就越好。0.1 表示有显著差异, 0.4, 1.0, 4.0 表示无显著差异

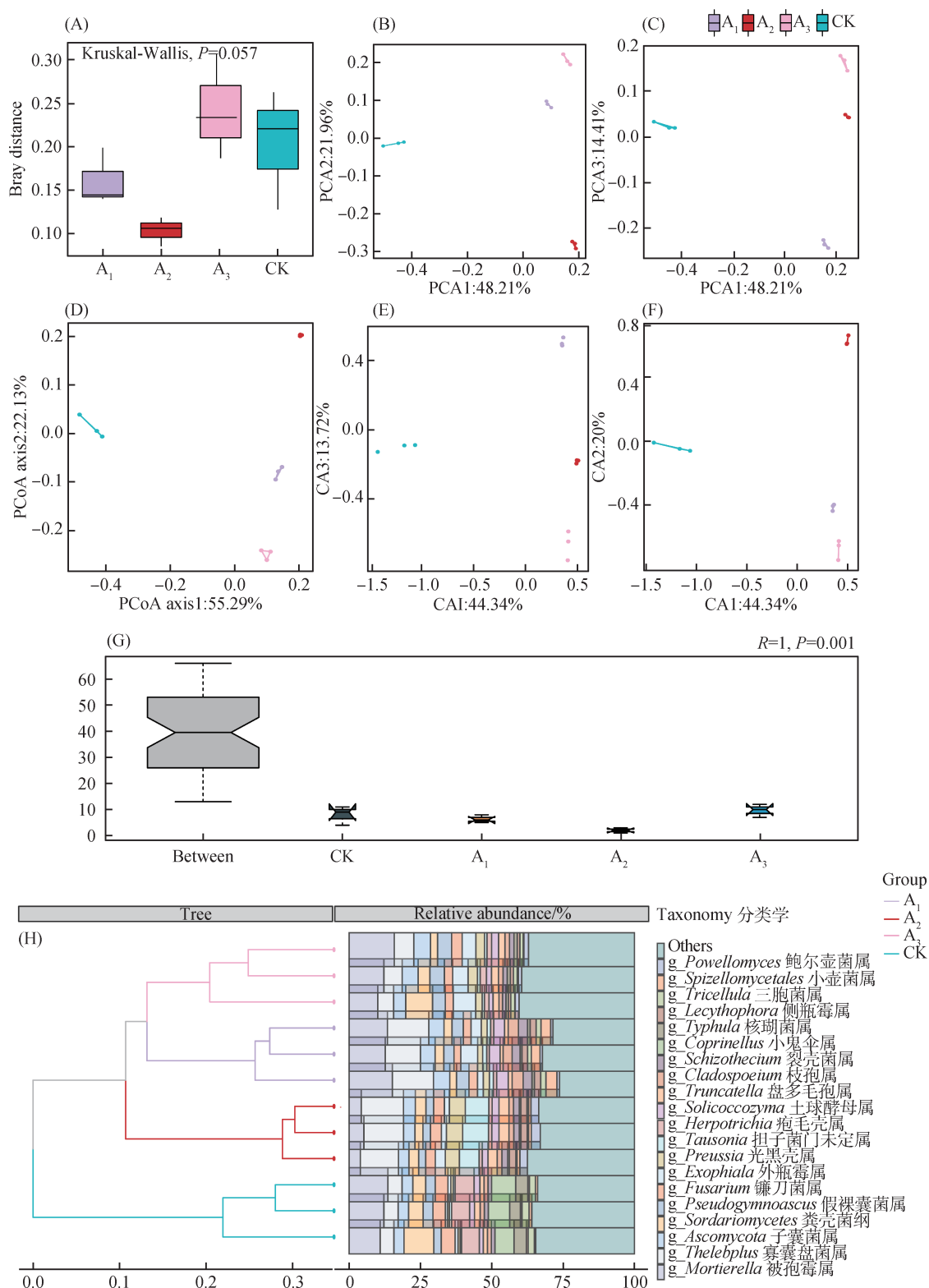
Note: (A), (B) Abundance indices: Chao1, ACE; (C) Faith_pd; (D) Observed features: Total number of species displayed in sequencing results; (E) Shannon index (Higher Shannon indices indicate greater biodiversity); (F) Simpson's index (Higher probability of randomly selecting two distinct species from a sample indicates greater microbial diversity). 0.1 indicates significant difference; 0.4, 1.0 and 4.0 indicate no significant difference

2.3.3 土壤真菌 β 多样性指数组间差异分析 β 多样性指数分析结果显示, CK 处理组与 A_1 , A_2 , A_3 处理组间的物种丰富度存在显著差异。Kruskal-Wallis 检验进一步表明, A_2 处理组的组内微生物群落差异较小(图 6a)。PCA, PCoA 与 CA 分析结果表明, 施肥处理的土壤物种群落组成较为相似, 与 CK 处理间存在明显分离(图 6b-f)。Anosim 分析结果同样支持上述结论(图 6g)。此外, 样本聚类树分析将土壤真菌群落划分为四类, 进一步显示出 CK 处理组与施肥处理组(A_1 , A_2 , A_3)间具有较大差异(图 6h)。

2.3.4 土壤真菌组间差异菌筛选 根据相对丰度降序筛选并绘制了前 10 种差异真菌的结果(图 7), 被孢霉属(*Mortierella*)的相对丰度在 A_1 , A_3 和 CK

处理组中较高; 而 A_2 处理组的真菌为垫菌属(*Thelebolus*)和陶森尼亚菌属(*Tausonia*)。

2.3.5 FUNGuild(真菌同质功能群)功能预测 通过 FUNGuild 预测样本中真菌功能类别的相对丰度。图 8 结果分析表明施肥处理后, 土壤真菌数量会相对增高, 且 Saprotroph(腐生营养型)真菌数量最高(图 8a)。通过采用“guild”的分类预测方法, 共鉴定出 15 类不同种类的真菌, 其中 A_2 处理下的真菌数量较高, 且植物病原菌(Plant pathogen), 粪生腐生菌(Dung saprotroph), 动物病原菌(Animal pathogen), 木材腐生菌(Wood Saprotroph)数量较高(图 8b), 可以作为后续的重点真菌属进行分析研究。

图 6 各组间 β 多样性指数差异的分析Fig. 6 Analysis of differences between groups in the β -diversity index

注: (A) Bray Distance; (B) 和 (C) PCA 分析; (D) PCoA 分析; (E) 和 (F) CA 分析; (G) Anosim 分析; (H) 样本聚类分析。R 值用于表明组间是否存在差异, P 值用于表明是否存在显著差异。R 值的范围为 $[-1, 1]$, $R > 0$ 表示组间差异大于组内差异, $R < 0$ 表示组间差异小于组内差异。 $|R|$ 值越大, 差异越大。统计分析的置信水平以 P 值表示, $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

Note: (A) Bray Distance; (B) and (C) PCA analysis; (D) PCoA analysis; (E) and (F) CA analysis; (G) Anosim analysis; (H) Sample cluster analysis. The R-value is used to indicate whether there is a difference between groups, and the P-value is used to indicate whether there is a significant difference. The range of the R-value is $[-1, 1]$, $R > 0$ indicates that the difference between groups is greater than the difference within groups, and $R < 0$ indicates that the difference between groups is less than the difference within groups. The larger the $|R|$, the larger the difference. The confidence level of the statistical analysis is expressed as P-value, and $P < 0.05$ indicates statistical significance.

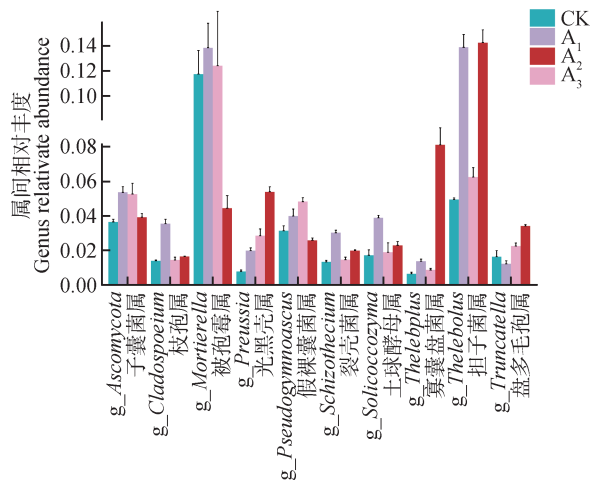


图 7 差异细菌筛选分析

Fig. 7 Differential bacteria screening analysis

3 讨论

3.1 氮磷添加对牧草根系形态的影响

根系是连接植物地上与地下部分的核心器官,具有贮藏营养、供给水分和调节发育^[16],以及驱动植物生产力提升和维持生态系统功能稳定等关键作

用^[17-18]。本研究表明施肥处理显著增加了总根长、直径、投影面积、根瘤数及表面积。张慧文等人^[19]研究表明可能是外源肥料通过调控离子吸收-质子外排-磷酸酶激活的连锁反应,促进了高寒人工草地禾豆混播的根系发育。同时豆科植物固氮作用间接提高了对磷吸收的协同促进作用,这一观点从磷肥对根瘤数量的显著提升可以得到证实^[20-22]。而本研究结果表明,氮磷配施处理下根系投影面积与根系体积低于单施氮肥与磷肥,但是根系长度与平均直径等并无明显差异。这与牛学礼等^[23]的结果存在一定的差异性,主要的原因可能是本试验中植物生长的土层较浅,加之受气候环境、海拔等地理位置的影响,试验地浅层土壤养分流失相对严重,对根系生长发育的限制作用较大,而深层土壤对根系的影响相对较小^[24]。也可能是因为施肥缓解了高寒环境中的氮磷养分限制,根系发育的改善促使植物采取适应性权衡策略——将更多资源分配给地上部分生长,以优化短期光合收益^[25],从而减少了对深层根系的资源投入。此外,试验地植物生育期较短,也可能是导致根系浅层化分布的重要因素之一^[26-27]。

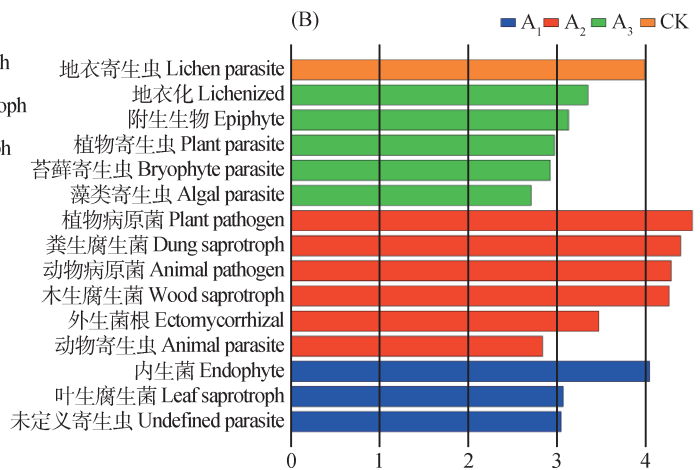
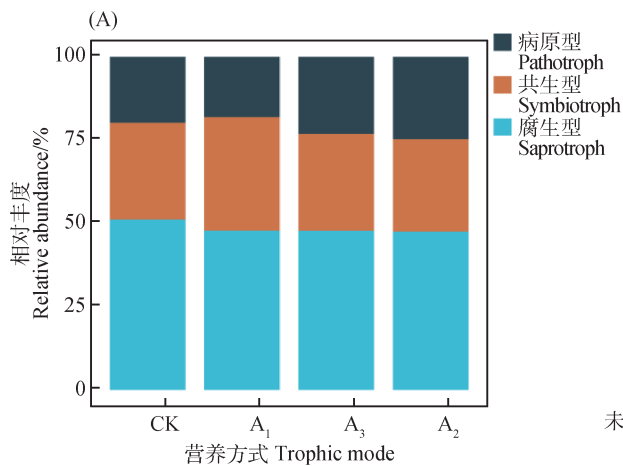


图 8 FUNGuild 功能预测

Fig. 8 FUNGuild function prediction

注:(A)为将真菌分为三大类的营养模式(病原营养型,共生营养型和腐生营养型);(B)展示了“群组”分类预测方法

Note:(A) shows the trophic mode that classifies fungi into three major groups (pathotrophic, symbiotrophic and saprotrophic); (B) shows the classification prediction method for 'guild'

3.2 氮磷添加对草地土壤养分的影响

青藏高原高寒生态系统的特性在很大程度上受其土壤这一关键界面主导^[28-29]。土壤养分作为主导因素,不仅调控植物群落的组成与代谢,也深刻影响着生态系统的结构、功能及生产力水平^[30]。本研究表明,不施肥处理的土壤有机碳、全氮、有效氮及全磷含量均高于施肥处理,说明在不施肥条件下

土壤养分的残留量相对较高。这主要是由于研究区地处高寒环境,气候条件严酷、气温较低,土壤中虽储存大量有机质,但低温抑制了土壤的矿化速率^[31],导致养分释放缓慢。同时可利用的土壤层较浅,导致植被覆盖度降低,使得植物根系生长减缓,削弱了土壤的蓄水保肥能力^[32],进一步影响了土壤对养分的保持。但是施肥处理显著提高了土壤速

效磷含量。其可能原因是外源肥料添加促进了植物根系生长及向下延伸,增强了土壤的涵水能力和养分保持能力^[33]。同时,肥料输入也刺激了根系分泌物的释放,有助于提升土壤微生物活性。而施肥可能抑制了土壤对磷的吸附固定^[34],并在氮素共存条件下促进磷的解吸;此外,养分添加还可能推动微生物将部分无机磷转化为微生物生物量磷,形成积极的生物固持效应,从而提高速效磷水平^[35-36]。外源磷肥进入土壤后,会随着氧化还原条件的变化而发生转化,通过改变这一平衡并向土壤磷库直接输入活性组分,从而有效提升速效磷含量^[37-38]。

3.3 氮磷添加对草地土壤微生物的影响

土壤微生物作为土壤环境的重要组成部分,通过其活动对植物健康产生直接或间接的影响^[39]。在不同种类的微生物的影响下,禾豆混播系统中植物促生菌可以通过固氮、释放钾、合成植物激素和分泌抗生素来促进植物生长以及提高植物产量^[40]。而根际微生物与植物生长密切相关,是植物生产力的重要调节因子和驱动因子^[41]。本研究结果表明,不同施肥处理显著改变了土壤真菌群落的组成与结构。通过对丰度前20的真菌属进行相关性分析及聚类热图可视化,发现不同施肥处理下的真菌群落可分为四类。不施肥处理主要富集子囊菌门;单施氮肥处理中壶菌门和子囊菌门占优势;单施磷肥处理的真菌群落以放线菌门、子囊菌门和接合菌门为主;而氮磷配施处理则以担子菌门和子囊菌门为主要类群。由此可见,施肥能够增加土壤真菌群落的种类。韦恩图结果显示,施肥处理下的土壤真菌数量明显增加:单施氮肥处理的真菌占总数比例为28.89%,而不施肥处理仅占19.12%。这可能是因为氮添加直接提高了土壤中微生物可利用氮(如 NH_4^+-N 和 NO_3^--N)的浓度^[42-43],为微生物活动提供了基础。而外源磷肥施入后容易向生物有效性较低的铝结合态磷和铁结合态磷转化,这种难利用磷素的积累可能特异性促进了溶磷细菌的增殖,这些溶磷菌通过分泌酸性物质、质子、磷酸酶及激素等,最终将难溶性磷转化为有效形态,从而提高了磷的生物有效性^[44-45]。本研究结果还表明了肥料的添加显著改变了土壤中的物种总数,通过对土壤中真菌的 α 多样性指数计算结果可知,施肥处理下Chao1, ACE, Faith_pd, Observed, Shannon, Simpson指数均显著高于不施肥处理,说明了施肥能够显著

提高土壤中的真菌数量,从而提高了植物对养分的吸收效率^[46]。 β 多样性指数组间差异分析结合Kruskal-Wallis检验显示,磷肥组内微生物群落差异较小,Anosim结果也可证实这一试验结果。对差异菌进行排序,选取排名前10的真菌进行分析,结果表明子囊菌门群落相对较优。FUNGuild功能预测施肥处理后,土壤真菌数量会相对增高,且腐生营养型真菌数量最高^[47-49]。

4 结论

高寒地区人工草地禾豆混播中,外源肥料可显著促进根系发育与养分吸收,其中单施磷肥能有效增加根系体积与根瘤数量,并影响土壤微生物群落;而禾豆混播草地对外源氮肥的依赖性和响应性会逐渐降低。从系统生产力与可持续性出发,建议生产中仍需适量配施氮肥,以维持养分平衡与草地生产性能,从而支持高寒人工草地的稳产提质。

参考文献

- [1] VITOUSEK P M, PORDER S, HOULTON B Z, et al. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen-phosphorus interactions[J]. *Ecological Applications*, 2010, 20(1): 5-15
- [2] JIANG J, ZONG N, SONG M H, et al. Responses of ecosystem respiration and its components to fertilization in an alpine meadow on the Tibetan Plateau[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2013, 56: 101-106
- [3] MARKLEIN A R, HOULTON B Z. Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems[J]. *New Phytologist*, 2012, 193(3): 696-704
- [4] 罗俊强, 张瑞琪, 董世魁, 等. 我国草原信息化建设现状及建设模式研究[J]. *草地学报*, 2023, 31(11): 3227-3232
- [5] LUO J Q, ZHANG R Q, DONG S K, et al. Research on current status and the mode of grassland informatization construction in China[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(11): 3227-3232
- [6] 向雪梅, 德科加, 冯廷旭, 等. 三江源区高寒草甸草场植被和土壤对外源氮素输入的响应[J]. *草地学报*, 2021, 29(9): 2010-2016
- [7] Response of vegetation and soil to exogenous nitrogen inputs in the Alpine meadow of Sanjiangyuan Region[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(9): 2010-2016
- [8] ZHANG J J, YAN X B, SU F L, et al. Long-term N and P additions alter the scaling of plant nitrogen to phosphorus in a Tibetan Alpine meadow[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 625: 440-448
- [9] 杨晓霞, 任飞, 周华坤, 等. 青藏高原高寒草甸植物群落生物量对氮、磷添加的响应[J]. *植物生态学报*, 2014, 38(2):

- 159-166
YANG X X, REN F, ZHOU H K, et al. Responses of plant community biomass to nitrogen and phosphorus additions in an Alpine meadow on the Qinghai-Xizang Plateau [J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2014, 38(2): 159-166
- [8] WANG C T, LONG R J, WANG Q L, et al. Fertilization and litter effects on the functional group biomass, species diversity of plants, microbial biomass, and enzyme activity of two alpine meadow communities [J]. Plant and Soil, 2010, 331(1): 377-389
- [9] DEGENS B P. Macro-aggregation of soils by biological bonding and binding mechanisms and the factors affecting these: a review [J]. Australian Journal of Soil Research, 1997, 35(3): 431-460
- [10] XIAO L, YAO K H, LI P, et al. Increased soil aggregate stability is strongly correlated with root and soil properties along a gradient of secondary succession on the Loess Plateau [J]. Ecological Engineering, 2020, 143: 105671
- [11] 冯廷旭, 德科加, 向雪梅, 等. 一年生禾豆混播人工草地产量及品质影响因素的研究进展 [J]. 青海畜牧兽医杂志, 2021, 51(4): 49-54
FENG T X, DE K J, XIANG X M, et al. Research progress on influencing factors of yield and quality of annual mixed-sown artificial grassland [J]. Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2021, 51(4): 49-54
- [12] WU S N, WEN L, DONG S K, et al. The plant interspecific association in the revegetated Alpine grasslands determines the productivity stability of plant community across restoration time on Qinghai-Tibetan Plateau [J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 850854
- [13] WU G L, LIU Z H, ZHANG L, et al. Effects of artificial grassland establishment on soil nutrients and carbon properties in a black-soil-type degraded grassland [J]. Plant and Soil, 2010, 333(1): 469-479
- [14] ZHANG C, ZHANG D W, DENG X G, et al. Various adaptations of meadow forage grasses in response to temperature changes on the Qinghai-Tibet Plateau, China [J]. Plant Growth Regulation, 2019, 88(2): 181-193
- [15] 刘晓英, 陈琴. 牧草混播技术简介 [J]. 草业与畜牧, 2010(11): 61-62
LIU X Y, CHEN Q. An introduction to pasture mixed-sowing techniques [J]. Grassland and Animal Husbandry, 2010(11): 61-62
- [16] CAO J R, LIN L, PANG S, et al. Early season precipitation accounts for the variability of fine-root traits in a Tibetan alpine grassland [J]. Environmental and Experimental Botany, 2020: 10399
- [17] WANG C T, ZHAO X Q, ZI H B, et al. The effect of simulated warming on root dynamics and soil microbial community in an alpine meadow of the Qinghai-Tibet Plateau [J]. Applied Soil Ecology, 2017, 116: 30-41
- [18] BARDGETT R D, MOMMER L, DE VRIES F T. Going underground: Root traits as drivers of ecosystem processes [J]. Trends in Ecology & Evolution, 2014, 29(12): 692-699
- [19] 张慧文, 马剑英, 孙伟, 等. 不同海拔天山云杉叶功能性状及其与土壤因子的关系 [J]. 生态学报, 2010, 30(21): 5747-5758
ZHANG H W, MA J Y, SUN W, et al. Altitudinal variation in functional traits of *Picea schrenkiana* var. *tianschanica* and their relationship to soil factors in Tianshan Mountains, Northwest China [J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(21): 5747-5758
- [20] BAI W M, ZHOU M, FANG Y, et al. Differences in spatial and temporal root lifespan of three *Stipa* grasslands in northern China [J]. Biogeochemistry, 2017, 132(3): 293-306
- [21] KURZ I, O'REILLY C D, TUNNEY H. Impact of cattle on soil physical properties and nutrient concentrations in overland flow from pasture in Ireland [J]. Agriculture Ecosystems and Environment, 2006, 113(1/2/3/4): 378-390
- [22] 乔福生, 王长庭, 宋小艳, 等. 3种多年生禾本科牧草不同径级根系特征比较 [J]. 应用与环境生物学报, 2023, 29(5): 1100-1108
QIAO F S, WANG C T, SONG X Y, et al. A comparative study of the characteristics of roots of three perennial graminous forages with different diameter classes [J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2023, 29(5): 1100-1108
- [23] 牛学礼, 南志标. 运用微根管技术研究草地植物细根的进展 [J]. 草业学报, 2017, 26(11): 205-215
NIU X L, NAN Z B. Review of minirhizotron applications for study of fine roots in grassland [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2017, 26(11): 205-215
- [24] VAN DER KRIFT T A J, BERENDSE F. Root life spans of four grass species from habitats differing in nutrient availability [J]. Functional Ecology, 2002, 16(2): 198-203
- [25] 杨元武, 周华坤, 李希来, 等. 高寒草甸物种多样性和生产力对养分添加的初期响应 [J]. 西北农业学报, 2017, 26(2): 159-166
YANG Y W, ZHOU H K, LI X L, et al. Initial response of species diversity and productivity to nutrients addition on alpine meadow [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2017, 26(2): 159-166
- [26] 张新洁. 氮磷施肥对水曲柳生长和生态化学计量特征的影响 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2019: 1-55
ZHANG X J. Effects of nitrogen and phosphorus fertilization on the growth and ecological stoichiometry of *Fraxinus mandshurica* Rupr [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2019: 1-55
- [27] 李露航, 类延宝, 陈秋捷, 等. 若尔盖高寒沙化草地恢复过程中土壤全碳和植物根系特征的变化 [J]. 生态学杂志, 2023, 42(2): 282-290
LI L H, LEI Y B, CHEN Q J, et al. Changes of soil total carbon and plant root characteristics during restoration of Zoige alpine desertified grassland [J]. Chinese Journal of Ecology, 2023, 42(2): 282-290
- [28] VENTERA R T, COULTER J A, CLOUGH T J. Nitrite accumulation and nitrogen gas production increase with decreasing temperature in urea-amended soils: experiments and modeling [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 142: 107727
- [29] 张莉, 王长庭, 刘伟, 等. 不同建植期人工草地优势种植物根系活力、群落特征及其土壤环境的关系 [J]. 草业学报, 2012, 21(5): 185-194

- ZHANG L, WANG C T, LIU W, et al. Relationships of dominant species root activity, plant community characteristics and soil micro-environment in artificial grassland over different cultivation periods [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2012, 21(5): 185-194
- [30] WANG X Y, LI Y Q, WANG L L, et al. Soil extracellular enzyme stoichiometry reflects microbial metabolic limitations in different desert types of northwestern China [J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 874: 162504
- [31] SHEN F Y, LIU N, SHAN C F, et al. Soil extracellular enzyme stoichiometry reveals the increased P limitation of microbial metabolism after the mixed cultivation of Korean pine and Manchurian walnut in Northeast China [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2023, 118: 103539
- [32] 戴黎聪, 柯浔, 曹莹芳, 等. 青藏高原矮嵩草甸地下和地上生物量分配格局及其与气象因子的关系 [J]. *生态学报*, 2019, 39(2): 486-493
- DAI L C, KE X, CAO Y F, et al. Allocation patterns of above- and belowground biomass and its response to meteorological factors on an Alpine meadow in Qinghai-Tibet Plateau [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(2): 486-493
- [33] MOORHEAD D L, RINKES Z L, SINSABAUGH R L, et al. Dynamic relationships between microbial biomass, respiration, inorganic nutrients and enzyme activities: informing enzyme-based decomposition models [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 223
- [34] CUI Y X, WANG X, ZHANG X C, et al. Soil moisture mediates microbial carbon and phosphorus metabolism during vegetation succession in a semiarid region [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 147: 107814
- [35] CUI Y X, MOORHEAD D L, GUO X B, et al. Stoichiometric models of microbial metabolic limitation in soil systems [J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2021, 30(11): 2297-2311
- [36] XU M P, LI W J, WANG J Y, et al. Soil ecoenzymatic stoichiometry reveals microbial phosphorus limitation after vegetation restoration on the Loess Plateau, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 815: 152918
- [37] 字洪标, 陈焱, 胡雷, 等. 氮肥添加对川西北高寒草甸植物群落根系动态的影响 [J]. *植物生态学报*, 2018, 42(1): 38-49
- ZI H B, CHEN Y, HU L, et al. Effects of nitrogen addition on root dynamics in an alpine meadow, Northwestern Sichuan [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2018, 42(1): 38-49
- [38] 王奇, 王金枝, 姜丽丽, 等. 氮和磷添加对草原群落特征及有关生态过程的影响 [J]. *草地学报*, 2017, 25(5): 914-920
- WANG Q, WANG J Z, JIANG L L, et al. Effects of nitrogen and phosphorus additions on plant community characteristics and related ecological processes [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2017, 25(5): 914-920
- [39] MA W J, LI J, GAO Y, et al. Responses of soil extracellular enzyme activities and microbial community properties to interaction between nitrogen addition and increased precipitation in a semi-arid grassland ecosystem [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 703: 134691
- [40] BOOT C M, HALL E K, DENEFF K, et al. Long-term reactive nitrogen loading alters soil carbon and microbial community properties in a subalpine forest ecosystem [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 92: 211-220
- [41] 毛伟华, 吴三玲, 张旭. 土壤微生物 16S rDNA 的 Ion Torrent PGM 高通量检测方法构建与应用 [J]. *浙江农业学报*, 2015, 27(12): 2165-2170
- MAO W H, WU S L, ZHANG X. Establish and application of the high throughput sequencing method for soil microbial 16S rDNA using Ion Torrent PGM [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2015, 27(12): 2165-2170
- [42] 鲁显楷, 莫江明, 张炜, 等. 模拟大气气沉降对中国森林生态系统影响的研究进展 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2019, 27(5): 500-522
- LU X K, MO J M, ZHANG W, et al. Effects of simulated atmospheric nitrogen deposition on forest ecosystems in China: an overview [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2019, 27(5): 500-522
- [43] 张雪冰, 张泽和, 鲁显楷. 森林生态系统土壤微生物碳利用效率对氮沉降增加的响应及其机制 [J]. *地球科学进展*, 2023, 38(10): 999-1014
- ZHANG X B, ZHANG Z H, LU X K. Responses of soil microbial carbon use efficiency to elevated nitrogen deposition in forest ecosystems [J]. *Advances in Earth Science*, 2023, 38(10): 999-1014
- [44] LIU J B, RÜHLAND K M, CHEN J H, et al. Aerosol-weakened summer monsoons decrease lake fertilization on the Chinese Loess Plateau [J]. *Nature Climate Change*, 2017, 7(3): 190-194
- [45] ZAK D R, HOLMES W E, BURTON A J, et al. Simulated atmospheric NO_3^- deposition increases soil organic matter by slowing decomposition [J]. *Ecological Applications*, 2008, 18(8): 2016-2027
- [46] WU J P, WANG S M, CAI M T, et al. Review on carbon use efficiency of plants and microbes and its influencing factors [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(20): stxb201812072685
- [47] CLEVELAND C C, LIPTZIN D. C: N: P stoichiometry in soil: is there a "Redfield ratio" for the microbial biomass? [J]. *Biogeochemistry*, 2007, 85(3): 235-252
- [48] LI J, SANG C P, YANG J Y, et al. Stoichiometric imbalance and microbial community regulate microbial elements use efficiencies under nitrogen addition [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 156: 108207
- [49] 孙雪琦, 戴辉, 曾泉鑫, 等. 氮添加土壤微生物群落结构影响微生物碳利用效率 [J]. *生态学报*, 2024, 44(4): 1737-1746
- SUN X Q, DAI H, ZENG Q X, et al. The influence of soil microbial community structure on microbial carbon use efficiency under nitrogen addition [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2024, 44(4): 1737-1746