磷肥下移深度对苜蓿根颈含氮 保护物质及其抗寒性的影响

夏全超¹, 张玉霞¹, 孙明雪¹, 陈卫东¹, 孙昊¹, 张庆昕¹, 丛百明²

(1. 内蒙古民族大学农学院, 内蒙古通辽 028041; 2. 内蒙古自治区通辽市畜牧兽医科学研究所, 内蒙古通辽 028000)

摘要:为探讨磷肥下移深度对苜蓿越冬器官生理特性的影响, 本试验于2020年7月1日播种, 以‘北极熊’紫花苜蓿品种为供试材料, 设置5个磷肥下移深度处理: 施地表、距离地表7.5、15、22.5、30 cm(分别以S₀、S₁、S₂、S₃、S₄表示), 并以不施肥为对照(CK), 于越冬期对苜蓿根颈进行模拟低温处理(4℃、-10℃、-20℃和-30℃), 测定相对电导率、含氮保护物质含量(可溶性蛋白、脯氨酸、游离氨基酸含量)。结果表明: 随着低温胁迫温度的下降, 苜蓿根颈相对电导率表现为持续增长, 可溶性蛋白、游离氨基酸表现为先升高后降低的趋势, 且可溶性蛋白、脯氨酸和游离氨基酸含量均在-10℃下达到最大值, 分别较4℃处理增长了65.18%~144.67%、46.24%~133.33%和27.13%~57.01%。苜蓿根颈相对电导率在S₂施磷深度为15 cm处理下数值最小, 较CK降低了24.87%~57.21%; 苜蓿根颈可溶性蛋白含量在S₂施磷深度为15 cm处理下数值最大, 较CK及其他施磷深度处理增长了8.18%~79.81%; -10℃、-20℃处理下的苜蓿根颈游离氨基酸与脯氨酸含量, 在S₀、S₁和S₂处理下均显著高于CK处理(P<0.05)。说明距离土壤表面15 cm(S₂处理)施用磷肥最有利于通过提高轻度和中度低温胁迫下苜蓿含氮物质含量, 降低其细胞的相对电导率, 提高苜蓿抗寒能力。

关键词: 苜蓿; 磷肥下移; 含氮保护物质; 抗寒性; 根颈

中图分类号: S551⁺.7; Q945.78; S147 **文献标志码:** A

Effects of phosphate fertilizer descending depth on nitrogen-containing protective substances and cold resistance of alfalfa root crown

XIA Quanchao¹, ZHANG Yuxia¹, SUN Mingxue¹, CHEN Weidong¹,
SUN Hao¹, ZHANG Qingxin¹, CONG Baiming²

(1. College of Agriculture, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao, Inner Mongolia 028041, China;

2. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Tongliao City, Inner Mongolia Autonomous Region, Tongliao, Inner Mongolia 028000, China)

Abstract: To explore the effects of the depth of descending phosphate fertilizer on physiological characteristics of the overwintering organs of alfalfa, the ‘Gibraltar’ alfalfa variety was sown on July 1, 2020. Five treatments of phosphate fertilizer depth included the ground surface, 7.5, 15, 22.5, 30 cm from the ground (respectively represented by S₀, S₁, S₂, S₃, S₄), and no fertilization as the control (CK). Simulated low temperature treatment on the root crown of alfalfa during the overwintering period (4, -10, -20℃ and -30℃) was used to determine the relative conductivity, the content of nitrogen-containing protective substances (soluble protein, proline, free amino acid content). The results showed that with the decrease of low temperature stress, the relative conductivity of alfalfa root crown displayed a continuous increase. The soluble protein and free amino acid had a trend of first increasing and then decreasing. The contents of soluble protein, proline and free amino acid were all reached the maximum value at -10℃, which increased by 65.18%~144.67%, 46.24%~133.33% and 27.13%~57.01%, respectively, compared with 4℃ treatment. The relative conductivity of alfalfa root crown was the smallest under the treatment of

S_2 phosphorus application depth of 15 cm, which was reduced by 24.87%~57.21% compared with CK. The value of the soluble protein content of alfalfa root crown was the largest under the treatment of S_2 phosphorus application depth of 15 cm, which was higher than that of CK and other treatments. The advanced phosphorus application treatment increased by 8.18%~79.81%. The proline and free amino acid content of the alfalfa root crown was significantly higher than other advanced phosphorus application treatments under the S_0 , S_1 and S_2 treatments, indicating that the application of phosphate fertilizer 15 cm (S_2 treatment) from the soil surface was the most beneficial for increasing the nitrogen content of alfalfa, reducing the relative conductivity, and improving the cold resistance of alfalfa.

Keywords: alfalfa; phosphate fertilizers down; nitrogen-containing protective substances; cold resistance; root crown

苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 是世界公认的优质高产多年生豆科牧草^[1], 具有营养元素全面、蛋白质含量高、家畜喜食、可利用年限长的特点, 被誉为“牧草之王”^[2-3], 近年来在我国种植面积不断增加, 为我国畜牧业发展提供了有力保障。科尔沁地区位于内蒙古东部, 该地区四季分明, 降水主要集中在夏季, 冬季严寒且降水少, 并且近年来在初春时期出现了倒春寒现象, 严重限制了苜蓿越冬^[4]。苜蓿根颈是冬季苜蓿植物体最上部的休眠器官, 是对冻害最敏感的部位, 与苜蓿的抗寒性、再生性等均有密切关系, 因此在苜蓿越冬和春季返青时的发枝萌芽过程中发挥着极其重要的作用^[5]。磷元素是植物生长发育必不可少的生命元素, 同时也是植物合成磷脂、核酸、ATP 等重要物质的主要原料, 在植物的光合作用、呼吸作用、脂肪代谢、糖代谢及氮代谢等生理生化过程中起着不可替代的作用^[6]。植物细胞膜中的磷脂可与蛋白质、糖类物质相互作用, 缓解低温冷冻引起的细胞脱水, 保护生物膜的稳定, 在植物抗寒性方面有重大作用^[7]。有研究表明磷能提高植物体内可溶性蛋白、脯氨酸、可溶性糖类物质浓度从而提高植物抗寒能力^[8]。土壤中磷的总量大约在 0.02%~0.2%^[9], 与其他大量元素相比含量较低^[10]。虽然土壤中含有一定量的有效磷和无效磷^[11-13], 但传统磷肥主要施用在土壤表面, 并且磷在土壤中的流动性差又极易被固持, 导致植物对土壤中的磷元素利用率很低, 进而影响植物的生长及生理代谢^[14-15]。但是过量施入磷肥又会造成浪费和环境污染, 因此, 本研究针对苜蓿栽培生产中磷素与苜蓿根系空间分布匹配性差的问题, 探讨不同施磷深度对苜蓿根颈含氮物质及抗寒性的影响, 旨在为苜蓿抗寒高产栽培中磷肥的高效管理提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于内蒙古通辽市开鲁县东风镇林辉草业公司基地 (121°31'E, 43°60'N), 该地区属于温

带大陆性半干旱气候, 四季分明, 夏季炎热多雨, 冬季干旱少雪, $\geq 10^\circ\text{C}$ 年积温为 3 000 $^\circ\text{C}$ ~3 200 $^\circ\text{C}$, 年平均气温 5.8 $^\circ\text{C}$, 无霜期 140~150 d, 年平均降水量约 370 mm, 年平均风速 3.1~4.3 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, 土壤有机质含量为 64.10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 碱解氮含量为 35.88 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全氮含量 44.01 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效磷含量 3.59 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效钾含量 77.89 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.2 试验设计

1.2.1 大田试验设计 供试材料为‘北极熊’紫花苜蓿品种 (*M. sativa* ‘Gibraltar’), 由北京百思特有限公司提供。该品种的秋眠级为 2.0 级, 幼苗强壮、根系发达、多叶率高, 是抗寒性能非常突出的苜蓿品种。试验采用随机区组设计, 于 2020 年 7 月 1 日播种, 播种量为 22.5 $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$, 行距为 30 cm, 小区面积为 3 m $\times$ 5 m = 15 m^2 。播种前一次性施入氯化钾 (100 $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}\text{K}_2\text{O}$) 为基肥。磷肥用量为 225 $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ (P_2O_5), 共设置 5 个施磷深度: 施土地表面 (S_0)、距离地表 7.5 cm (S_1)、15 cm (S_2)、22.5 cm (S_3)、30 cm (S_4), 并设置不施磷肥作为对照 (CK), 每个处理设置 3 次重复, 共 18 个小区, 磷肥均作为基肥于播种前一次性施入, 施磷方式为开沟条施。试验田灌水使用指针式喷灌, 并正常进行田间管理。于封冻前 11 月 15 日挖取长势一致的苜蓿根系 (越冬器官), 带回室内进行低温处理, 取苜蓿根系距离地表 0~2 cm 部位, 测定含氮物质含量和相对电导率。

1.2.2 低温处理 参照朱爱民等^[16]的试验方法, 每个处理取 50 株长势均匀一致的苜蓿根颈, 平均分成 4 份, 其中 1 份放入 4 $^\circ\text{C}$ 冰箱中储存 (低温冷藏), 将另外 3 份苜蓿根系用蒸馏水冲洗干净, 先用 20 cm $\times$ 30 cm 的脱脂纯棉布包裹, 均匀喷洒 3 mL 蒸馏水使棉布保持湿润, 再用 30 cm $\times$ 30 cm 的锡箔纸包裹, 放入程式恒温恒湿试验箱分别进行 -10 $^\circ\text{C}$ 、-20 $^\circ\text{C}$ 、-30 $^\circ\text{C}$ 低温处理 (低温冷冻)。程式恒温恒湿试验箱设置为: 以 4 $^\circ\text{C}$ 为起点, 先以 4 $^\circ\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$ 的速率降

温,在目标温度下保持 6 h,后以 $4^{\circ}\text{C} \cdot \text{h}^{-1}$ 的速度升温至 4°C ,取出后在 4°C 下放置 12 h,与冷藏处理材料(4°C)同时测定根颈相对电导率、可溶性蛋白、游离氨基酸和脯氨酸含量。

1.3 测定指标及方法

相对电导率(REC)采用 DDS 电导率仪测定法进行测定^[17],可溶性蛋白(SP)含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定^[17],脯氨酸(Pro)含量采用酸性茚三酮法测定^[17],游离氨基酸(AA)含量采用水合茚三酮法测定^[17]。

1.4 数据处理

试验数据采用 WPS 2019 软件整理数据和绘制图表,用 DPS 7.0 软件进行方差显著性分析及相关性分析,采用二因素试验统计分析 Duncan 新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 施磷深度对苜蓿相对电导率的影响

如表 1 所示, S_0 处理的苜蓿根颈相对电导率在不同低温胁迫处理下均小于 CK,说明施磷能降低苜蓿根颈相对电导率。不同施磷深度处理之间,以 S_2 施磷深度处理的相对电导率在不同低温胁迫处理下均达到最小值,说明该施磷深度最有利于减少细胞液外渗程度,降低细胞膜透性;随着处理温度的降低,苜蓿根颈的相对电导率不断增加,且在 -30°C

表 1 施磷深度对苜蓿根颈相对电导率的影响/%

Table 1 The effect of phosphorus application depth on the relative conductivity of alfalfa root crown

处理 Treatment	温度处理 Temperature treatment/ $^{\circ}\text{C}$			
	4	-10	-20	-30
CK	13.99±0.89aD	26.29±0.85aC	41.82±1.79aB	60.32±3.48bA
S_0	10.98±0.91abC	13.60±0.53cdC	40.03±2.70aB	56.39±2.23cdA
S_1	9.59±0.49bD	15.30±1.95cC	24.31±1.07cB	54.37±3.10dA
S_2	9.33±0.73bC	11.25±2.01dC	21.23±1.28cB	45.32±0.83eA
S_3	11.24±2.51abD	20.42±0.99bC	31.78±3.91bB	65.52±3.37aA
S_4	11.26±1.11abD	16.30±1.49cC	40.18±2.10aB	59.69±3.53bcA

注:小写字母表示相同低温胁迫处理下不同磷肥深度处理间的差异显著性;大写字母表示相同磷肥深度处理下不同低温胁迫处理间的差异显著性($P<0.05$),下同。

Note: Lowercase letters indicate the significant difference between different phosphate fertilizer treatments under the same low temperature stress treatment. Uppercase letters indicate the significant difference between different low temperature stress treatments under the same phosphate fertilizer treatment ($P<0.05$). The same below.

下达到最大值,说明随着低温胁迫处理温度的降低,苜蓿根颈细胞膜透性增加,电解质外渗液增多,细胞膜破坏更严重。

2.2 施磷深度对苜蓿可溶性蛋白含量的影响

如表 2 所示, S_0 处理的苜蓿根颈可溶性蛋白含量在不同低温胁迫处理下均显著高于 CK ($P<0.05$),在 4°C 、 -10°C 、 -20°C 和 -30°C 处理下分别较 CK 增长了 33.32%、61.66%、36.11% 和 37.46%,说明与不施磷相比,施用磷肥能提高苜蓿根颈内的可溶性蛋白含量。不同施磷深度处理之间, S_2 处理的可溶性蛋白含量在不同低温胁迫处理下均较高,说明 S_2 (距离土壤表面 15 cm 施磷) 处理最有利于苜蓿根颈中可溶性蛋白的积累。3 个低温胁迫处理下,随着胁迫温度的降低,苜蓿根颈可溶性蛋白含量也逐渐降低, -10°C 低温胁迫处理下的可溶性蛋白含量均显著高于其他温度处理 ($P<0.05$),说明 -10°C 低温胁迫处理最有利于增加苜蓿根颈中的可溶性蛋白含量,更有利于维持细胞渗透势。

2.3 施磷深度对苜蓿脯氨酸含量的影响

如表 3 所示, S_0 处理的苜蓿根颈脯氨酸含量在不同低温胁迫处理下均显著高于 CK ($P<0.05$),在 4°C 、 -10°C 、 -20°C 和 -30°C 处理下分别较 CK 增长了 75.47%、112.50%、84.29% 和 172.95%,说明与不施磷相比,施用磷肥能提高苜蓿根颈内的脯氨酸含量。不同施磷深度处理之间, S_0 、 S_1 和 S_2 处理的脯氨酸含量在不同低温胁迫处理下均较高,说明施表面、距离土表 10cm 或 15 cm,均有利于苜蓿根颈中脯氨酸的积累。且 S_1 、 S_2 和 S_3 施磷深度处理下, -10°C 、 -20°C 和 -30°C 低温胁迫处理间的苜蓿根颈脯氨酸含量均无显著性差异 ($P<0.05$)。综上所述说明 S_1 和 S_2 磷肥施用深度处理能促进苜蓿根颈中的脯氨酸积累,且受低温胁迫温度变化的影响较小。

表 2 施磷深度对苜蓿根颈可溶性蛋白含量的影响/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$
Table 2 The effect of phosphorus application depth on the soluble protein content of alfalfa root crown

处理 Treatment	温度处理 Temperature treatment/ $^{\circ}\text{C}$			
	4	-10	-20	-30
CK	24.43±0.68cB	39.38±1.66dA	29.52±0.34dB	25.20±2.45cB
S_0	32.57±0.74abC	63.66±4.49abA	48.15±1.31abB	34.64±4.31bC
S_1	30.33±1.65bcC	56.54±7.40bA	42.69±1.34bcB	39.20±2.67abB
S_2	39.03±3.69aC	68.87±5.33aA	53.08±2.15aB	43.51±6.03aC
S_3	29.18±2.28bcC	48.20±2.60cA	39.08±0.21cB	24.84±4.10cC
S_4	23.10±1.88cC	56.52±5.35bA	29.85±4.63dBC	32.39±3.65bB

2.4 施磷深度对苜蓿游离氨基酸含量的影响

如表4所示, S_0 处理的苜蓿根颈可溶性蛋白含量在4℃、-10℃、-20℃低温胁迫处理下均显著高于CK($P<0.05$),分别较CK增长了42.03%、16.07%和32.56%,说明与不施磷相比,施用磷肥能提高苜蓿根颈内的游离氨基酸含量。3个低温胁迫处理下,随着胁迫温度的降低,苜蓿根颈游离氨基酸含量也逐渐降低,-10℃处理下的游离氨基酸含量在不同施磷深度处理下均显著高于其他温度处理($P<0.05$),其中 S_0 、 S_1 和 S_2 处理的游离氨基酸含量显著高于 S_3 和 S_4 处理,说明施表面、距离土表10 cm或15 cm均有利于提高苜蓿根颈中游离氨基酸含量。而-30℃低温胁迫处理的游离氨基酸含量显著低于其他低温胁迫处理($P<0.05$),数值接近于0,说明-30℃低温胁迫已导致苜蓿根颈细胞中游离氨基酸无法积累。

2.5 相对电导率与苜蓿根颈中的含氮保护物质相关性分析

如表5所示,4℃处理下,脯氨酸含量与游离氨基酸含量呈极显著正相关($P<0.01$)。-10℃低温胁迫处理下,相对电导率与可溶性蛋白呈极显著负相关($P<0.01$),与脯氨酸含量呈显著负相关($P<0.05$);脯氨酸含量与可溶性蛋白含量呈显著正相关($P<0.05$);-20℃低温胁迫处理下,可溶性蛋白与脯

表3 施磷深度对苜蓿根颈脯氨酸含量的影响/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 3 The effect of phosphorus application depth on the proline content of alfalfa root crown

处理 Treatment	温度处理 Temperature treatment/℃			
	4	-10	-20	-30
CK	2.65±0.23bcA	3.20±0.20dA	2.61±0.57bA	2.44±0.40cA
S_0	4.65±0.62aB	6.80±0.44aA	4.81±0.12aB	6.66±1.37aA
S_1	3.09±0.34bB	4.83±0.41bcA	4.58±0.49aA	5.16±0.68bA
S_2	3.14±0.24bB	5.18±0.19bA	4.65±0.23aA	4.80±0.63bA
S_3	2.59±0.34bcB	4.24±0.37cA	4.17±0.66aA	4.57±0.59bA
S_4	2.13±0.30cC	4.97±0.13bcA	1.63±0.39cC	3.12±0.38cB

表4 施磷深度对苜蓿根颈游离氨基酸含量的影响/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 4 Effect of phosphorus application depth on free amino acid content of alfalfa root crown

处理 Treatment	温度处理 Temperature treatment/℃			
	4	-10	-20	-30
CK	2.07±0.11cB	3.36±0.36bA	2.15±0.14bcB	0.02±0.00aC
S_0	2.94±0.39aB	3.9±0.23aA	2.85±0.24aB	0.04±0.00aC
S_1	2.47±0.32bB	3.74±0.25aA	2.72±0.10aB	0.04±0.01aC
S_2	2.47±0.26bC	3.75±0.12aA	2.83±0.19aB	0.04±0.00aD
S_3	2.44±0.22bcB	3.13±0.47bA	2.47±0.24abB	0.04±0.00aC
S_4	2.17±0.27bcB	3.08±0.21bA	1.92±0.17cB	0.03±0.00aC

氨酸和游离氨基酸含量呈极显著正相关($P<0.01$);脯氨酸含量与游离氨基酸含量呈极显著正相关($P<0.01$);-30℃低温胁迫处理下,相对电导率与可溶性蛋白含量呈极显著负相关($P<0.01$),游离氨基酸含量与可溶性蛋白含量呈显著正相关($P<0.05$),与脯氨酸含量呈极显著正相关($P<0.01$)。表明苜蓿根颈可溶性蛋白含量的增加有利于降低相对电导率,而低温胁迫下苜蓿根颈中的含氮保护物质含量相互作用、相互促进增长或转化,提高苜蓿的抗寒性。

3 讨论

低温胁迫条件下,植物细胞膜受损,膜透性增大,严重时会导致细胞死亡,因此相对电导率可以用作反映植物受伤害程度及植物抗寒能力强弱的指标^[18-19]。程嘉惠等^[20]的研究结果表明,草莓叶片相对电导率随着胁迫温度下降而上升,与本研究结果一致。并且本研究结果表明,-10℃、-20℃和-30℃3个不同低温胁迫处理下,相对电导率均在 S_2 处理(施磷深度为15 cm)时最低,表明根颈在此深度下受伤害程度最低。

可溶性蛋白是植物所有蛋白组分中最活跃的一部分,可溶性蛋白的含量可以反映各种蛋白质类调节物质的水平,也能在一定程度上反映出植物体的总代谢情况,是用来衡量植物对逆境胁迫抗性的重要

表5 相对电导率与苜蓿根颈中含氮保护物质的相关性

Table 5 Correlation between relative conductivity and nitrogen-containing protective substances in alfalfa root and crown

温度处理 Temperature treatment/℃	测定指标 Measurement index	REC	SP	Pro	AA
4	REC	1.00			
	SP	-0.71	1.00		
	Pro	-0.25	0.55	1.00	
	AA	-0.50	0.62	0.91**	1.00
-10	REC	1.00			
	SP	-0.99**	1.00		
	Pro	-0.81*	0.82*	1.00	
	AA	-0.57	0.61	0.61	1.00
-20	REC	1.00			
	SP	-0.67	1.00		
	Pro	-0.62	0.89**	1.00	
	AA	-0.62	0.94**	0.98**	1.00
-30	REC	1.00			
	SP	-0.93**	1.00		
	Pro	-0.32	0.48	1.00	
	AA	-0.62	0.77*	0.91**	1.00

注: * 表示显著相关($P<0.05$); ** 表示极显著相关($P<0.01$)。

Note: * indicates significant correlation ($P<0.05$); ** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$).

参考指标^[21]。本试验研究结果表明,随着胁迫温度的降低,苜蓿根颈可溶性蛋白含量表现为先上升后下降的变化趋势,且在 -10°C 下达到最大值。杨振亚等^[22]的研究结果表明 5 个雷竹变型可溶性蛋白含量均随温度的降低呈先升高后降低的趋势,与本研究结果一致。本研究结果表明,在 S_2 处理时苜蓿根颈可溶性蛋白含量最高,说明 15 cm 施磷深度最有利于可溶性蛋白的积累,促进氮素代谢,以维持细胞一定的代谢活性和胁迫抵抗能力。

游离氨基酸是参与蛋白质等含氮化合物合成与分解过程的含氮保护物质,其含量的多少可反映植物体内的氮素代谢情况^[23]。脯氨酸既可以作为氮源,又可以作为渗透调节物质,维持细胞渗透势,保护生物大分子结构,调节细胞内 pH 值^[24-26]。本试验研究表明施用磷肥处理的苜蓿根颈脯氨酸含量在不同低温胁迫处理下均显著高于 CK ($P < 0.05$),与王天等^[8]的研究结果基本一致。并且本研究中, -10°C 处理下的脯氨酸和游离氨基酸含量在不同施磷深度处理下均显著高于 4°C 温度处理,且均在 S_0 和 S_2 处理下数值最高,说明适当深度增施磷肥有利于低温胁迫下苜蓿根颈中脯氨酸与游离氨基酸的积累;增强细胞保水能力,保护蛋白分子与酶的活性,减轻膜脂过氧化程度,在植物抗寒性方面有着极其重要的作用^[27]。

目前实际牧草生产中施用磷肥时,多采用抛施的方式,即施到土壤表面,或在播种时随种子一并施入到距离土表 3~5 cm 处,因此易发生土壤磷流失多、植物吸收少的问题。但是根据本研究结果显示,距离土壤表面 15 cm 处施用磷肥最有利于提高苜蓿含氮保护物质含量,此深度下苜蓿根系密集,可最大限度地缩减苜蓿根系与肥料的距离,扩大了苜蓿根系与磷肥的接触面积,磷肥的供需匹配性变好^[5],进而促进较深土层中苜蓿根系与养分接触,提高对磷肥的吸收和利用效率,促进苜蓿越冬器官内脯氨酸、游离氨基酸和可溶性蛋白等含氮保护物质的积累,提高苜蓿抗寒能力。

4 结 论

综上所述, -10°C 、 -20°C 和 -30°C 3 个不同低温胁迫处理下, S_2 (施磷深度为 15 cm)处理下苜蓿根颈相对电导率达到最小值,可溶性蛋白含量达到最大值; -10°C 处理下的脯氨酸和游离氨基酸含量在不同施磷深度处理下均与 4°C 处理达到显著性差异($P < 0.05$),其中在 S_0 和 S_2 处理下数值最大;综合以上说明距离土壤表面 15 cm 施用磷肥的 S_2 处理最有

利于提高低温胁迫下紫花苜蓿氮代谢关键酶活性和增加其氮积累,降低相对电导率,增强苜蓿抗寒性。因此建议于距离土壤表面 15 cm 处施用磷肥,促进苜蓿安全越冬。

参 考 文 献:

- [1] 李冰月,南丽丽,温素军,等.刈割强度对不同根型苜蓿主要非结构性碳水化合物含量的影响[J].干旱地区农业研究,2021,(2): 172-177.
LI B Y, NAN L L, WEN S J, et al. Effects of different cutting intensities on main non-structural carbohydrate content of different root-type alfalfa[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2021, (2): 172-177, 210.
- [2] 孙明雪,张玉霞,丛百明,等.不同苜蓿的抗寒性差异及其与糖类物质含量的相关性研究[J].草地学报,2021,29(2):303-308.
SUN M X, ZHANG Y X, CONG B M, et al. Study on the difference in cold resistance of different alfalfa and its correlation with carbohydrate content[J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(2): 303-308.
- [3] 崔国文.低温胁迫对紫花苜蓿种子萌发期可溶性糖和淀粉的影响[J].东北农业大学学报,2009,40(1):72-76.
CUI G W. Effect of low temperature stress on soluble sugar and starch of alfalfa at germination period[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2009, 40(1): 72-76.
- [4] 徐洪水.水分亏缺和骤然降温对紫花苜蓿抗寒性的影响机理[D].北京:中国农业科学院,2020.
XU H Y. The mechanism of cold tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) as affected by water deficit and abrupt chilling[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020.
- [5] 韩清芳,吴新卫,贾志宽,等.不同秋眠级数苜蓿品种根颈变化特征分析[J].草业学报,2008,(4):85-91.
HAN Q F, WU X W, JIA Z K, et al. An alysis on dynamic variety of crown characteristics of different fall dormancy *Medicago sativa* cultivars[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2008, (4): 85-91.
- [6] 范秀艳.磷肥运筹对超高产春玉米生理特性、物质生产及磷效率的影响[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2013.
FAN X Y. Effects of phosphorus application on physiological characteristics, matter production and nutrient utilization of super-high yield spring maize[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2013.
- [7] 陈钢.磷水平对西瓜产量、品质、养分吸收及幼苗耐冷性影响的研究[D].武汉:华中农业大学,2008.
CHEN G. Effect of phosphorus on yield, quality, nutrient absorption and seedling cold tolerance of watermelon[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2008.
- [8] 王天,宋佳承,闫土册,等.低温胁迫下磷肥施用量对油橄榄生长发育的影响[J].植物营养与肥料学报,2020,26(5):879-890.
WANG T, SONG J C, YAN S P, et al. Growth and development of olive under low temperature stress influenced by phosphate fertilizer application[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2020, 26(5): 879-890.
- [9] 周生路,黄劲松.东南沿海低山丘陵区土地利用结构的地域分异研究--以温州市为例[J].土壤学报,2003,(1):37-45.
ZHOU S L, HUANG J S. Study on division of regional land use structure in the coastal area of low mountains and hills in southeastern chi-

- na-a case study in Wenzhou city[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, (1): 37-45.
- [10] 刘洋.不同磷肥施用量对玉米主要生理特性及产量的影响[D].长春:吉林农业大学,2013.
LIU Y. Effects of different phosphate fertilizer on yield and physiological characteristic of maize[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2013.
- [11] 黄平升.磷肥不同配比对接树苗木生长生理及养分积累的影响[D].南宁:广西大学,2017.
HUANG P S. Effect of different ratio of phosphate fertilizer on growth physiology and nutrient accumulation of eucalyptus seedlings [D]. Nanning: Guangxi University, 2017.
- [12] 刘春花.供磷水平对核桃实生苗生长、生理特性及土壤养分的影响[D].阿拉尔:塔里木大学,2020.
LIU C H. Effects of phosphorus supply level on growth status, physiological characteristics and soil nutrients of xin Cuifeng walnut seedlings[D]. Alar: Tarim University, 2020.
- [13] 秦宁.施磷对桔梗根系形态和生理及土壤磷特性的影响[D].泰安:山东农业大学,2019.
QIN N. Effects of phosphorus application on root morphology, physiology and soil phosphorus characteristics of *Platycodon grandiflorum* [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2019.
- [14] 徐中平.低磷胁迫对玉米磷吸收、转运及 IAA 和 CTK 水平与分布的影响[D].济南:山东大学,2008.
XU Z P. Effect of low phosphorus stress on phosphate uptake and transport, levels and distribution of IAA and CTK in maize[D]. Jinan: Shandong University, 2008.
- [15] 王贤丽.耐低磷玉米自交系磷营养特征[D].济南:山东大学,2006.
WANG X L. Phosphorus nutrition characteristics of low-phosphorus tolerant corn inbred lines[D]. Jinan: Shandong University, 2006.
- [16] 朱爱民,张玉霞,王显国,等.沙地生境不同苜蓿品种形态特征对低温的响应及其与抗寒性关系[J].草地学报,2018,26(6):1400-1408.
ZHU A M, ZHANG Y X, WANG X G, et al. Responses of morphological characteristics of different alfalfa varieties to low temperature and their relationship with cold resistance in sandy habitats[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2018, 26(6): 1400-1408.
- [17] 邹琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2000: 129-174.
ZOU Q. Experimental guidance of plant physiology [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 129-174.
- [18] 高树涛,李文彬,郭绍霞,等.不同单株大叶女贞对冬季低温的生理响应[J].江苏农业科学,2019,47(20):168-172.
GAO S T, LI W B, GUO S X, et al. Physiological responses of *Ligustrum lucidum* to low temperature in winter[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, 47(20): 168-172.
- [19] SMIRNOFF N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation [J]. *New Phytologist*, 1993, 125(1): 27-58.
- [20] 程嘉惠,张梅丽,王超,等.低温胁迫对4个草莓品种生理指标的影响[J].东北农业科学,2021,46(1):85-88,113.
CHENG J H, ZHANG M L, WANG C, et al. Effect of low temperature stress on physiological index of four strawberry varieties [J]. *Journal of Northeast Agricultural Sciences*, 2021, 46(1): 85-88, 113.
- [21] 陈卫东,张玉霞,丛百明,等.钾肥对紫花苜蓿根颈丙二醛、可溶性蛋白含量与抗氧化系统的影响[J].草地学报,2021,29(4): 717-723.
CHEN W D, ZHANG Y X, CONG B M, et al. Effects of potassium fertilizer on MDA, SP content and antioxidant system of alfalfa root neck [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(4): 717-723.
- [22] 杨振亚,赵建诚,袁金玲,等.5个观赏雷竹变型对低温胁迫的生理响应[J].林业科学研究,2021,34(2):131-140.
YANG Z Y, ZHAO J C, YUAN J L, et al. Physiological response of five varieties of ornamental *Phyllostachys praecox* 'prevernalis' to low temperature stress [J]. *Forest Research*, 2021, 34(2): 131-140.
- [23] 刘浩荣,宋海星,刘代平,等.油菜茎叶可溶性糖与游离氨基酸含量的动态变化[J].西北农业学报,2007,(1):123-126.
LIU H R, SONG H X, LIU D P, et al. Dynamics changes of soluble sugar and free amino acid contents in stem and leaf of different oilseed rape varieties [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2007, (1): 123-126.
- [24] 张荣华,李拥军,张叶玲.脯氨酸含量对苜蓿抗寒性影响的研究[J].现代化农业,2006,(4):17-18.
ZHANG R H, LI Y J, ZHANG Y L. Study on effect of free proline content on cold resistance of alfalfa [J]. *Modernizing Agriculture*, 2006, (4): 17-18.
- [25] 席吉龙,王珂,杨娜,等.不同小麦品种对晚霜冻的响应及抗霜性评价[J].干旱地区农业研究,2020,38(1):125-132,147.
XI J L, WANG K, YANG N, et al. Evaluation of responses of different wheat varieties to spring frost injury and their frost resistance [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2020, 38(1): 125-132, 147.
- [26] 杨宏伟.增施钾肥、磷肥及稀土微肥对马铃薯抗旱性的影响及机制研究[D].兰州:甘肃农业大学,2017.
YANG H W. Effect and mechanism of potassium fertilizer, phosphate fertilizer and rare earth fertilizer on drought resistance of potato [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2017.
- [27] 鲁艳,雷加强,曾凡江,等.NaCl 处理对多枝怪柳 (*Tamarix ramosissima*) 生长及生理的影响[J].中国沙漠,2014,34(6):1509-1515.
LU Y, LEI J Q, ZENG F J, et al. Effects of NaCl treatments on growth and eco-physiological characteristics of *Tamarix ramosissima* [J]. *Journal of Desert Research*, 2014, 34(6): 1509-1515.