

丛枝菌根真菌群落对白三叶草植株生物量磷吸收和土壤磷酸单酯酶活性的影响

钟 敏¹, 黄益宗^{1*}, 伍 文¹, 隋立华¹, 贾 炎¹, 王晓辉¹, 郝晓伟¹, 王晓英¹, 王幼珊²

(1.中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2.北京市农林科学院植物营养与资源研究所, 北京 100089)

摘 要:丛枝菌根真菌(AMF)在土壤与植物的磷素循环中发挥着关键的作用。采用盆栽实验研究了丛枝菌根真菌群落对白三叶草植株生物量、磷吸收和土壤磷酸单酯酶活性的影响。结果表明,接种不同 AMF 群落均能显著地促进白三叶草植株的生长及其对磷素的吸收,提高根际土壤磷酸单酯酶的活性。Mnp 处理中,白三叶草生物量最大,白三叶草总生物量、茎叶生物量和根系生物量分别比对照处理(-M)提高 64.48%、61.48%和 84.91%。不同菌根处理中,Mck 处理显著地提高白三叶草磷吸收和土壤磷酸单酯酶活性,白三叶草磷吸收总量和茎叶磷吸收量分别比对照(-M)提高 107.18%和 91.91%,土壤碱性磷酸单酯酶和酸性磷酸单酯酶活性相对对照(-M)分别提高 54.33%和 138.43%。碱性磷酸单酯酶活性与 AMF 群落中的 *Acaullospora* 属孢子数呈显著的正相关关系,而酸性磷酸单酯酶活性则主要受 *Paraglomus* 属孢子数的影响。说明接种 AMF 群落可显著地影响土壤的磷酸单酯酶活性,从而影响白三叶草的生长及其对磷素的吸收。

关键词:丛枝菌根真菌群落;磷酸单酯酶;磷;白三叶草

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2012)09-1770-07

Effect of AMF Community on the Biomass of White Clover, Uptake of Phosphorus and Soil Phosphomonoesterase Activities

ZHONG Min¹, HUANG Yi-zong^{1*}, WU Wen¹, SUI Li-hua¹, JIA Yan¹, WANG Xiao-hui¹, HAO Xiao-wei¹, WANG Xiao-ying¹, WANG You-shan²

(1.Research Center for Eco-environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2.Institute of Plant Nutrition & Resources, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science, Beijing 100089, China)

Abstract: Arbuscular mycorrhizal fungi(AMF) play a crucial role in phosphorus circulation of plants and soil. Effects of different AMF communities upon white clover growth, uptake of phosphorus and soil phosphomonoesterase activities were performed by pot experiments. The results indicated that soil phosphomonoesterase activities, uptake of phosphorus and white clover biomass were enhanced significantly in each treatment with AMF inoculation. Among these eight treatments, biomass of plant tissue was highest in the Mnp treatment. In this treatment, plant total biomass, shoot biomass and root biomass were highest, which were 64.48%, 61.48% and 84.91% higher than control treatment(-M) respectively. Each AMF treatment induced positive effect on the uptake of phosphorus and phosphomonoesterase activity. The total phosphorus and shoot phosphorus of white clover in Mck treatment were 107.18% and 91.91% higher than control treatment respectively. Activities of alkaline phosphatase and acid phosphatase in Mck reached were separately increased by 54.33% and 138.43% compared with those in the control treatment. Pearson correlation analysis between AMF genus and phosphomonoesterase activities showed that alkaline phosphomonoesterase activities were positive relationship with abundance of *Acaullospora* while acid phosphomonoesterase were positive relationship with abundance of *Paraglomus*. Inoculations of AMF community could significantly influenced white clover growth, uptake of phosphorus and phosphomonoesterase activities in soil.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi(AMF) community; phosphomonoesterase; phosphorus; white clover

收稿日期:2012-02-08

基金项目:中国科学院知识创新工程重要方向资助项目(KSCX2-YW-N-41-05);国家自然科学基金面上项目资助项目(41071336)

作者简介:钟 敏(1987—),女,硕士,研究方向为环境生物学。E-mail:minryb@126.com

* 通信作者:黄益宗 E-mail:hzy@rcees.ac.cn

作为植物生长发育不可或缺的必需元素, 磷素以多种途径参与植物体内的各种代谢过程, 影响着植物的生理和形态, 且是影响作物产量提高的主要营养元素之一^[1]。然而, 土壤矿物对磷素具有强烈的吸附和固定作用^[2], 导致土壤磷素的植物有效利用率普遍较低。由于施肥管理不当以及土地污染等问题, 我国有 74% 的耕地土壤缺磷, 磷素的利用问题比较严峻^[3-4]。丛枝菌根真菌 (AMF) 是自然界中普遍存在的一种土壤微生物, 菌根的侵染可以增加宿主植物对各种矿质养分的吸收, 尤其可在低磷条件下提高植物对磷素的吸收^[5]。

在所有的营养元素中, 磷与菌根形成的关系最为密切。AMF 对植物吸收利用磷素影响较大, 其对植物生长的促进作用一般与其改善植物磷营养有关^[6]。土壤中磷含量过高往往抑制丛枝菌根真菌的发育和功能, 因此在低磷含量的土壤中接种菌根真菌植物生长效果最明显。AMF 的侵染能够使宿主植物在范围较大的根际周围吸收养分, 从而提高土壤磷的空间有效性, 这得益于菌根的庞大菌丝体的作用^[7]。AMF 还可以以其特殊的作用刺激土壤微生物的活性、提高土壤磷酸酶活性等方面来改善土壤的生物质量, 从而促进植物对磷素的吸收。土壤磷酸酶活性直接影响着土壤中有机磷的分解转化及其生物有效性^[8], 是评价土壤磷素营养的重要指标, 其中磷酸单酯酶活性一直是土壤磷酸酶研究的重点。已有研究证明外生菌根真菌能够分泌磷酸酶^[9], 但是对于 AMF 是否能够分泌胞外磷酸酶还不太清楚, 不过一些研究认为 AMF 可以影响土壤的酶活性^[10-11]。

鉴于 AMF 在改善土壤磷素营养上的作用, 利用 AMF 对低磷土壤进行生物修复受到广泛的关注。但目前主要针对单一 AMF 接种效应的研究^[12-13], 而关于 AMF 群落的研究比较少。本文选择长期定位不同施肥条件下得到的 AMF 群落作为接种菌剂, 研究 AMF 群落对白三叶草生长、磷吸收和土壤磷酸单酯酶活性的影响, 旨在筛选出能够有效提高植物磷素利用效率的 AMF 群落, 从而提高植物的生产力和粮食的产量。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

盆栽土壤采自中国科学院封丘农业生态实验站, 其质地为轻壤质黄潮土, 土壤 pH 7.91 (水土比 2.5:1), 有机质 1.66%, 有效 P 5.49 mg·kg⁻¹ (0.5 mol·L⁻¹ 的 NaHCO₃ 提取), 全 N 0.68 mg·g⁻¹, 全 K 9.28 mg·g⁻¹

(ICP-OES, Optima 2000DC, Perkin-Elementer Co. U. S. A)。供试土壤风干, 过 2 mm 筛后待用。

1.2 供试菌剂

供试菌剂分离自中国科学院封丘农业生态实验站 7 个长期定位的试验地。定位施肥试验始于 1989 年秋, 采用小麦-玉米一年两熟轮作方式。7 个不同施肥处理的试验地依次为: CK (不施任何肥)、NP (N、P 化肥)、NK (N、K 化肥)、PK (P、K 化肥)、NPK (N、1/2 OM (有机肥和化肥各占一半, 该试验地总的 N、P、K 养分含量和试验地 NPK 相同)、OM (有机肥)。每年施肥量是 300 kg N·hm⁻² (尿素), 135 kg P₂O₅·hm⁻² (过磷酸钙), 300 kg K₂O·hm⁻² (硫酸钾)。有机肥处理的 N、P、K 养分量与试验地 NPK 化肥的 N、P、K 含量相同, 原料以粉碎的麦秆为主, 加上适量的大豆饼和棉仁饼, 有机肥经堆制发酵后施用, 每年施用量约 18 t·hm⁻² (以鲜重计)。加富培养分离获得的 AMF 群落, 依次记为 Mck、Mnp、Mnk、Mpk、Mnpk、M1/2om 和 Mom。菌剂由北京市农林科学院植物营养与资源研究所分离, 含寄主植物根段、菌根真菌孢子及根外菌丝的根际砂土。各丛枝菌根群落中孢子种类及数量见表 1。

表 1 分离自不同施肥管理地的丛枝菌根群落

Table 1 Diversity of AMF communities originated from a long-term fertilization field

AMF ^a	20 g 接种剂中的孢子数/个			
	<i>Glomus</i>	<i>Acaulospora</i>	<i>Paraglomus</i>	<i>Entrophospora</i>
Mck	42	36	13	0
Mnp	354	0	0	0
Mnk	99	18	1	1
Mpk	40	7	1	0
Mnpk	12	1	18	3
M1/2om	98	1	0	0
Mom	23	3	12	0

注: a, AMF 是指分离自不同长期定位试验地的菌根真菌群落。
Mck: CK; Mnp: NP; Mnk: NK; Mpk: PK; Mnpk: NPK; M1/2om: 1/2OM; Mom: OM。

1.3 试验处理

试验设不接种对照 (-M) 和接种 7 种 AMF 群落 (分别记为 Mnpk、Mom、Mck、M1/2om、Mnp、Mnk、Mpk) 共 8 个处理, 每个处理 4 次重复。接种处理每盆加入 20 g 菌剂, 不接种处理每盆加入灭菌处理的接种剂 20 g 和 20 mL 浸泡 20 g 接种剂滤液 (本次试验为 7 种菌剂的接种滤液) 以保证土壤微生物区系基本一致。在种植植物前将 NH₄NO₃、KH₂PO₄ 和 K₂SO₄ 按

N 100 mg·kg⁻¹、P 40 mg·kg⁻¹、K 160 mg·kg⁻¹ 的用量均匀混入土壤中。供试植物为白三叶草(*Trifolium repens* L.)。播种的前 1 d 将三叶草种子在 10% H₂O₂ 溶液中浸泡 10 min 进行表面消毒,然后用蒸馏水冲洗干净置于湿润的滤纸上,25 ℃恒温培养箱放置一昼夜催芽,出芽后播入 1 L 的 PVC 塑料盆,每盆装 900 g 土,每盆播种 25 粒,出苗 4 d 后每盆间至长势相近的 12 株。种苗期间称重浇水,土壤含水量保持在田间持水量的 80% 左右。试验于中国科学院生态环境研究中心控温温室进行,保持白天/晚上时间为 16 h/8 h,白天和晚上的温度分别为 25 ℃和 18 ℃。

1.4 样品采集

植物生长 14 周后,采集白三叶草根部分土壤 50 g 置于 4 ℃保存。分别收获白三叶草地上部分和地下部分,去离子水洗净晾干。随机选取 0.6~1.0 g 新鲜根系样品,置于 FAA 固定液(13 mL 甲醛、5 mL 冰醋酸、200 mL 50% 的乙醇)^[14]中保存,待测定菌根侵染率用。其余的植株样品经 65 ℃烘干至恒重。

1.5 样品分析

菌根侵染率测定:新鲜根系样品用蒸馏水冲洗 2~3 次,并剪成 0.5~1.0 cm 长度的根段,置于玻璃小瓶中,加入 10% KOH 溶液,90 ℃水浴至脱色透明,再用蒸馏水冲洗干净,加入 2% HCl 溶液酸化 3 min,去掉酸液后用 0.05% 台盼蓝于乳酸甘油溶液染色 15 min,并用甘油保存、制片^[15]。每个样品在显微镜下检查 25 个根段,并用根段频率法计算菌根侵染率^[14]。

植株生物量及其 P 含量测定:植株地上和地下部分分别烘干、称重测定生物量。烘干植株样品粉碎后用 HNO₃ 消煮,分别测定植物样品中的 P 元素含量

(ICP-OES, Optima 2000DC, Perkin Elmer Co U.S.A)。

土壤磷酸单酯酶活性测定:取 4 ℃保存的新鲜土样 1 g,加 1 mL 含对硝基苯磷酸二钠 115 mmol·L⁻¹ 的反应底物溶液,再加 4 mL 缓冲液(测定酸性磷酸酶时,用 pH6.5 的缓冲液;测定碱性磷酸酶时,用 pH11 的缓冲液)放入 37 ℃培养箱中培养 1 h,然后用 4 mL 0.5 mol·L⁻¹ NaOH 终止酶反应,再加 1 mL 0.5 mol·L⁻¹ CaCl₂ 充分混匀,用定量滤纸过滤。滤液在 400 nm 处比色。酶活性单位为每小时每克土(以干土计)得到的对硝基苯酚 pNP (pNP 对硝基苯酚)的值(以 μg 计)^[16]。

1.6 数据分析

数据处理均在 SPSS13.0 统计软件下完成,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)和 LSD 多重比较各处理间的差异显著性。

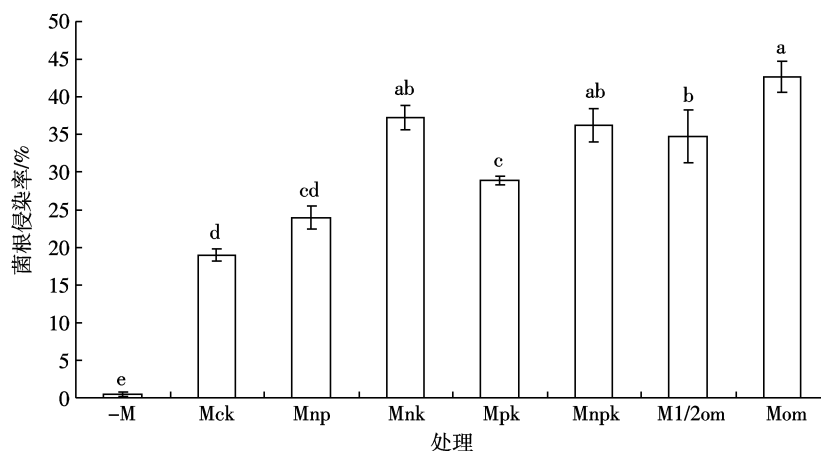
2 结果

2.1 菌根侵染率

不接种菌根菌的处理菌根侵染率极低,接种丛枝菌根真菌群落后,菌根侵染率得到不同程度的提高,比不接种(-M)处理高 18.96%~42.68% (图 1)。其中 Mom 处理白三叶草的菌根侵染率最高,达到 42.68%;其次是 Mnk 处理,为 37.21%;菌根侵染率最低的接种处理为 Mck,仅为 18.96%。各接种处理与对照(-M)间均存在极显著的差异。

2.2 白三叶草生物量

接种丛枝菌根真菌群落对白三叶草生物量的影响显著。不接种菌根真菌时白三叶草总生物量最低,而接种菌根菌后其总生物量均有不同程度的提高。与



Error bars: +/- SE, 不同小写字母表示不同处理间差异达到 5% 显著水平。下同。

图 1 接种丛枝菌根真菌群落对白三叶草菌根侵染率的影响

Figure 1 Mycorrhizal infection rate of white clover within different AMF community inoculations

对照(-M)相比,Mck、Mnp、Mom 处理对白三叶草总生物量的影响显著($P<0.05$),Mck、Mnp、Mnpk 处理对白三叶草根生物量影响显著 ($P<0.05$),而 Mck、Mnp、Mnpk、Mom 处理对白三叶草茎叶生物量影响显著($P<0.05$)。Mnp 处理中白三叶草总生物量、茎叶生物量和根系生物量分别比对照处理提高 64.48%、61.48%和 84.91%(图 2)。

2.3 白三叶草的磷吸收量

由图 3 可见,接种丛枝菌根真菌群落能显著地促

进白三叶草对磷的吸收。与对照处理相比,Mck、Mnp、Mnpk 处理白三叶草对磷的吸收总量分别提高 107.18%、94.08%、82.3%。接种丛枝菌根真菌群落对植物茎叶和根系对磷吸收量也有相似作用。Mck、Mnp、Mnpk 处理中白三叶草茎叶磷吸收量比对照处理分别提高 91.91%、85.33%、80.58%。

通过对白三叶草生物量、磷吸收和菌根侵染率等方面的相关性分析(表 2),发现白三叶草磷吸收总量与菌根侵染率、根生物量和总生物量之间均呈显著的

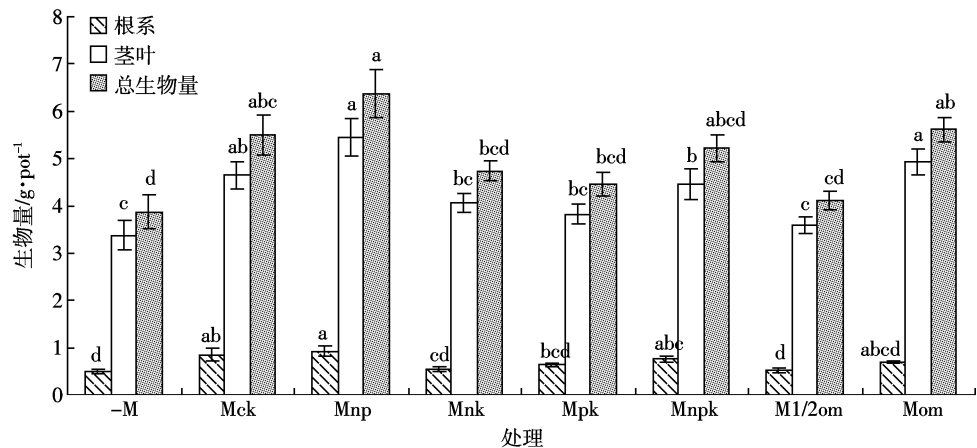


图 2 接种丛枝菌根真菌群落对白三叶草生物量的影响

Figure 2 Biomass of white clover within different AMF community inoculations

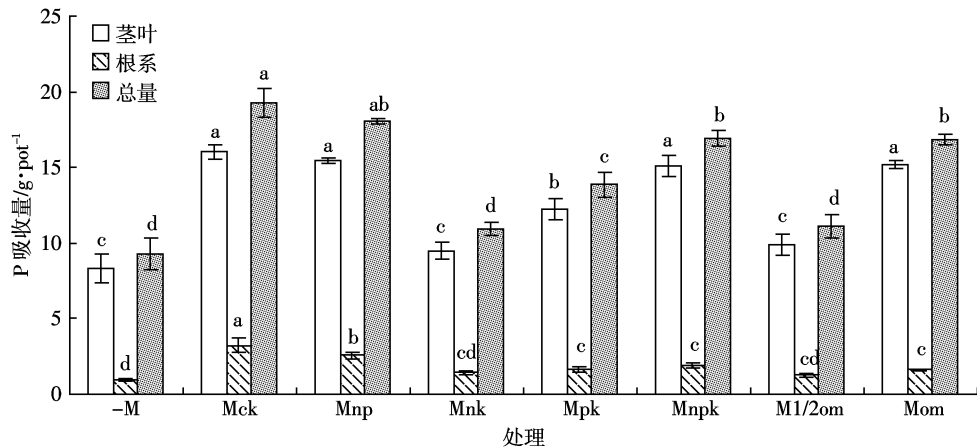


图 3 接种丛枝菌根真菌群落对白三叶草各部分磷吸收量的影响

Figure 3 Phosphorus uptake of different plant issues in different treatments

表 2 白三叶草菌根侵染率、生物量和磷吸收的 Pearson 相关系数

Table 2 Pearson correlation coefficients between AM infection rates ,biomass and phosphorus uptake

	菌根侵染率	总生物量	根生物量	磷吸收总量	根对磷的吸收
菌根侵染率	1	0.251	0.054	0.350*	0.102
总生物量		1	0.849**	0.842**	0.038
根生物量			1	0.810**	0.039
磷吸收总量				1	0.079
根对磷的吸收					1

注: * $P<0.05$ 在 0.05 水平显著相关, ** $P<0.01$ 在 0.01 水平显著相关。

正相关关系。对丛枝菌根真菌菌属与白三叶草生物量、磷吸收进行 Pearson 相关性分析(表 3),发现接种 *Glomus* 属菌根真菌与白三叶草总生物量和根生物量呈显著的正相关关系,接种 *Acaullospora* 属和 *Paraglomus* 属菌根真菌与白三叶草磷吸收总量呈显著的正相关关系。

表 3 丛枝菌根真菌菌属与白三叶草生物量、磷吸收的 Pearson 相关系数

Table 3 Pearson correlation coefficients between abundance of different AMF genus, biomass and phosphorus uptake

项目	丛枝菌根真菌菌属			
	<i>Glomus</i>	<i>Acaullospora</i>	<i>Paraglomus</i>	<i>Entrophospora</i>
总生物量	0.506*	NS	NS	NS
根系生物量	0.406*	NS	NS	NS
磷吸收总量	NS	0.436*	0.595**	NS

注:* $P<0.05$ 在 0.05 水平显著相关,** $P<0.01$ 在 0.01 水平显著相关,NS:不显著。

2.4 土壤磷酸单酯酶活性变化

从图 4 可以看出,接种丛枝菌根真菌群落可促进土壤酸性磷酸单酯酶和碱性磷酸单酯酶活性的提高,碱性磷酸单酯酶比酸性磷酸单酯酶活性高 2~5 倍。Mpk 处理的酸性磷酸单酯酶活性显著高于其他处理,比对照处理提高 197.34%。Mck 和 Mom 处理的碱性磷酸单酯酶活性显著高于其他处理,分别比对照处理提高 54.33%和 53.24%。通过 Pearson 相关性分析可知,土壤磷酸酶活性与 AMF 菌属和菌根侵染率有关。白三叶草菌根侵染率与 AMF 菌属没有显著相关关系,但与土壤酸性磷酸酶活性呈现出显著的正相关($r=0.362, P<0.05$)。*Glomus* 属和 *Entrophospora* 属的菌根菌与土壤的酸性和碱性磷酸酶

活性均没有相关关系。接种 *Acaullospora* 属的菌根真菌孢子数与土壤碱性磷酸酶活性呈显著的正相关($r=0.435, P<0.05$)。接种 *Paraglomus* 属菌根真菌孢子数与土壤酸性磷酸酶活性的相关性也较大($r=0.360, P<0.05$)。白三叶草菌根侵染率与 *Glomus* 属、*Entrophospora* 属、*Acaullospora* 属和 *Paraglomus* 属的孢子数均无相关关系。

3 讨论

3.1 接种丛枝菌根真菌群落对植物生长的影响

接种丛枝菌根真菌群落能不同程度地提高白三叶草的生物量和磷吸收量,主要有三方面原因。

(1)丛枝菌根真菌可加速土壤中磷的风化速率,使土壤固定形态的磷转化为植物可利用的形态,增加生态系统参与磷素循环的总磷量^[17]。

(2)丛枝菌根真菌可通过植物根系分泌物促进土壤有机磷源溶解和有机磷对土壤磷酸酶的敏感性来提高有机磷的利用率^[18]。

(3)丛枝菌根真菌的菌丝可生长到植物根系不能到达的土壤中吸收 P 素,并运输给植物根系。对于不同的接种处理,由于菌根真菌群落不同,其对土壤磷的风化速率、有机磷溶解影响不同,菌根菌丝所能到达的土壤范围也不一样,所以造成了白三叶草吸收磷的差异。

白三叶草磷吸收量与根生物量呈现出显著的相关关系,可能是接种丛枝菌根真菌群落促进了白三叶草根系的生长和磷吸收量的增加,从而导致三叶草总生物量的提高,这与前人的结果相一致^[19-21]。Pearson 相关性分析发现,接种 *Glomus* 属菌根真菌与白三叶草总生物量和根生物量呈显著的正相关关系,这可能

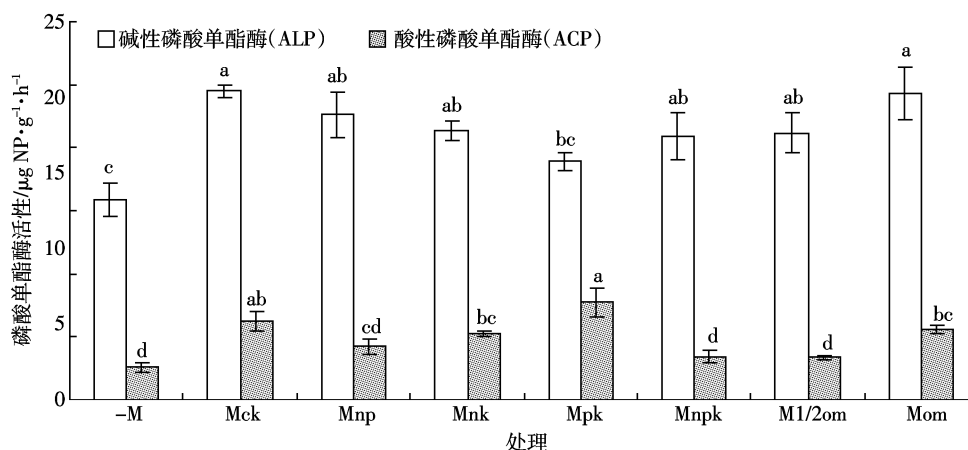


图 4 接种丛枝菌根真菌群落对土壤磷酸单酯酶活性的影响

Figure 4 Soil phosphomonoesterase activities within different AMF community inoculations

是因为本试验的供试土壤是碱性黄潮土,由于 *Glomus* 属的菌根菌适宜在碱性土壤中生长^[22],它对促进白三叶草根生长和营养物质吸收方面作用最大,从而使其对植物生长的促进作用相对于另外3个属的菌根真菌最大。

3.2 接种丛枝菌根真菌群落对土壤磷酸单酯酶活性的影响

土壤磷的有效性对陆地植物生长起着关键性的作用,土壤有机磷是土壤中磷的重要组成部分,但有机磷必须在各种磷酸酶的作用下转化为无机磷后才能被植物根系吸收利用^[23]。因此,土壤磷酸酶可以作为有机磷矿化潜势和土壤磷转化的生化活性的指示指标^[24-26]。*Acaullospora* 属和 *Paraglomus* 属菌根真菌与白三叶草的磷吸收量呈显著正相关,这可能与 *Acaullospora* 属和 *Paraglomus* 属菌根真菌对土壤磷酸酶活性的影响有关。接种的 *Acaullospora* 属的菌根真菌孢子数与碱性磷酸酶活性呈显著正相关($r=0.435$, $P<0.05$),*Paraglomus* 属菌根真菌孢子数也显著影响土壤的酸性磷酸酶活性($r=0.360$, $P<0.05$)都证实了这一点。*Acaullospora* 属和 *Paraglomus* 属菌根真菌可显著地影响土壤的磷酸酶活性,可能与其都适合在中性或者偏碱性的条件下生长有关^[27-28],而且这两个属的菌根真菌并非宽幅菌种,基数较小,轻微的环境变化对整个 AMF 群落结构都会有影响,因此土壤磷酸酶活性对这两种菌根真菌比较敏感。

已有研究表明,AMF 可以提高根际土壤磷酸酶的活性,AMF 的侵染率可影响土壤碱性磷酸酶活性^[29],碱性磷酸酶活性大小也可以反映 AMF 的活性^[30],因此碱性磷酸酶活性的增强可能正是 AMF 侵染率提高的结果所致。对白三叶草菌根侵染率与土壤碱性磷酸酶之间进行相关性分析,发现它们两者之间呈现出显著的正相关关系($r=0.495$, $P<0.01$)。有报道 AMF 可影响植物根际土壤环境,促进根际微区域微生物碱性磷酸酶的分泌^[31-32]。本研究土壤中碱性磷酸酶活性比酸性磷酸酶活性高,这与其他研究者报道的在碱性土壤中的结果一致^[25]。植物根系是土壤酸性磷酸酶的主要来源^[33],有研究表明外生丛枝菌根真菌也可以产生酸性磷酸酶^[34],但内生丛枝菌根真菌是否能产生酸性磷酸酶还没有一个明确的结论。本试验中白三叶草菌根侵染率与土壤酸性磷酸酶活性并不存在显著的相关性,说明丛枝菌根真菌可能并不能分泌酸性磷酸酶,它对于酸性磷酸酶活性的影响可能是由于菌根的间接作用引起的。接种 AMF 群落对白三叶草生物量、磷

吸收以及磷酸单酯酶活性的影响结果表明,某些接种处理可有效地提高白三叶草的磷素利用效率,从而提高白三叶草的生物量,这对实际的农业生产具有指导意义。

4 小结

(1)接种丛枝菌根真菌群落可促进白三叶草的生长,尤其是 Mck、Mnp、Mom 处理的效果最显著。

(2)接种丛枝菌根真菌群落可显著地促进白三叶草对磷的吸收,Mck、Mnp、Mnpk 处理导致白三叶草磷吸收总量比对照处理分别提高 107.18%、94.08%、82.3%。

(3)接种丛枝菌根真菌群落可不同程度地促进土壤酸性磷酸单酯酶和碱性磷酸单酯酶活性的提高。所有 AMF 群落接种处理中,Mpk 处理对酸性磷酸单酯酶活性的影响最显著,而 Mck 和 Mom 处理对碱性磷酸单酯酶活性影响最显著。菌根侵染率、*Acaullospora* 属孢子数与土壤碱性磷酸酶活性呈显著的正相关关系,菌根侵染率、*Paraglomus* 属孢子数与酸性磷酸单酯酶活性呈显著的正相关。

参考文献:

- [1] Shen J B, Yuan L X, Zhang J L, et al. Phosphorus dynamics: From soil to plant[J]. *Plant Physiology*, 2011, 156(3):997-1005.
- [2] 邵宗臣, 赵美芝. 土壤中积累态磷活化动力学研究 I. 有机质的影响[J]. *土壤学报*, 2002, 39(3):318-325.
SHAO Zong-chen, ZHAO Mei-zhi. Activation kinetics of accumulative phosphorus in soils: I. The effects of organic matter[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39(3):318-325.
- [3] 赵小蓉, 林启美. 微生物解磷的研究进展 [J]. *土壤肥料*, 2001, 5(3):7-11.
ZHAO Xiao-rong, LIN Qi-mei. A Review of phosphate-dissolving microorganisms[J]. *Soil and Fertilizer*, 2001, 5(3):7-11.
- [4] 沈善敏. 中国土壤肥力[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998:80-83.
SHEN Shan-min. Fertility of Chinese soil[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1998:80-83.
- [5] 李晓林, 冯 固. 丛枝菌根生态生理 [M]. 北京: 华文出版社, 2001:168-178.
LI Xiao-lin, FENG Gu. Physiology of arbuscular mycorrhizal fungi[M]. Beijing: Huawen Press, 2001:168-178.
- [6] 刘润进, 李晓林. 丛枝菌根及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
LIU Run-jin, LI Xiao-lin. Arbuscular mycorrhizae and its application [M]. Beijing: Science Press, 2000.
- [7] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal symbiosis[M]. 3rd. New York: Academic Press, 2008.
- [8] Makoi J HJR, Ndakidemi P A. Selected soil enzymes: Examples of their potential roles in the ecosystem[J]. *African Journal of Biotechnology*,

- 2008, 7(3):181-191.
- [9] Häussling M, Marschner H. Organic and inorganic soil phosphates and acid phosphatase activity in the rhizosphere of 80-year-old Norway spruce(*Picea abies* L. Karst.) trees[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1989: 8(2):128-133.
- [10] 宋勇春, 李晓林, 冯 固. 菌根真菌磷酸酶活性对红三叶草生境中土壤有机磷亏缺的影响[J]. 生态学报, 2001, 21(7):1130-1135.
SONG Yong-chun, LI Xiao-lin, FENG Gu. Effect of phosphatase activity on soil organic phosphorus loss in the environment of clover growth[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(7):1130-1135.
- [11] 梁 宇, 郭良栋, 马克平. 菌根真菌在生态系统中的作用[J]. 植物生态学报, 2002, 26(6): 739-745.
LIANG Yu, GUO Liang-dong, MA Ke-ping. The role of mycorrhizal fungi ecosystems[J]. *Acta Phytocologica Sinica*, 2002, 26(6):739-745.
- [12] Hodge A, Campbell C D, Fitter A H. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material[J]. *Nature*, 2001, 413(6853):297-299.
- [13] Mar Vázquez M, César S, Azcón R, et al. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants[J]. *Applied Soil Ecology*, 2000, 15(3):261-272.
- [14] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing and staining parasitic and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection[J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 1970, 55:158-161.
- [15] Biermann B, Linderman R. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizaw: A proposed method towards standardization[J]. *New Phytologist*, 1981, 87(1):63-67.
- [16] Schinner F, Öhlinger R, Kandeler E, et al. Methods in soil biology[M]. Berlin: Springer, 1995.
- [17] Allen M F. The ecology of mycorrhizae[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1991.
- [18] Jeffries P, Gianinazzi S, Perotto S, et al. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2003, 37(1):1-16.
- [19] 冀永生, 高 辉, 顾泳洁, 等. 不同生境条件下苦楸丛枝菌根对根际土壤磷酸酶活性的影响[J]. 生态环境, 2008, 17(4):1586-1589.
JI Yong-sheng, GAO Hui, GU Yong-jie, et al. The impact of the arbuscular mycorrhizae of *Castanopsis sclerophylla* on the phosphatase activity of rhizosphere in different habitats[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(4):1586-1589.
- [20] Smith S E, Dickson S, Morris C, et al. Transfer of phosphate from fungus to plant in VA mycorrhizas: Calculation of the area of symbiotic interface and of fluxes of P from two different fungi to *Allium porrum* L. [J]. *New Phytologist*, 1994, 127(1):93-99.
- [21] Smith S E, Smith F A, Jakobsen I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses[J]. *Plant Physiology*, 2003, 133(1):16-20.
- [22] Porter W M, Robson A D, Abbott L K. Field survey of the distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil pH[J]. *Journal of Applied Ecology*, 1987:659-662.
- [23] Stevenson F J, Cole M A. Cycles of soil: Carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients[M]. New York: John Wiley and Sons Inc, 1999.
- [24] Speir T W, Cowling J C. Phosphatase activities of pasture plants and soils: Relationship with plant productivity and soil P fertility indices[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1991, 12(3):189-194.
- [25] Kramer S, Green D M. Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in a semiarid woodland[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(2):179-188.
- [26] Ho I, Zak B. Acid phosphatase activity of six ectomycorrhizal fungi[J]. *Canadian Journal of Botany*, 1979, 57(11):1203-1205.
- [27] Zhong C, Zhang Y, Chen Y, et al. Casuarina research and applications in China[J]. *Symbiosis*, 2010, 50(1):107-114.
- [28] Peng Y, Cai X, Qian C, et al. The species diversity and characteristic of ecological distribution of arbuscular mycorrhizal fungi of Northern Tibetan Plateau[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006, 22(8):507-507.
- [29] Saito M. Enzyme activities of the internal hyphae and germinated spores of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker & Hall[J]. *New Phytologist*, 1995, 129(3):425-431.
- [30] Tisserant B, Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S, et al. In planta histochemical staining of fungal alkaline phosphatase activity for analysis of efficient arbuscular mycorrhizal infections[J]. *Mycological Research*, 1993, 97(2):245-250.
- [31] Smith S E, Jakobsen I, Grønlund M, et al. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: Interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition[J]. *Plant Physiology*, 2011, 156(3):1050-1057.
- [32] Karandashov V, Bucher M. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas[J]. *Trends in Plant Science*, 2005, 10(1):22-29.
- [33] 薛 峰, 颜廷梅, 杨林章, 等. 施用有机肥对土壤生物性状影响的研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(6):1372-1377.
XUE Feng, YAN Ting-mei, YANG Lin-zhang, et al. Influences of organic fertilizer application on soil biological properties[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(6):1372-1377.
- [34] Kindaichi T, Ito T, Okabe S. Ecophysiological interaction between nitrifying bacteria and heterotrophic bacteria in autotrophic nitrifying biofilms as determined by Microautoradiography-Fluorescence in situ hybridization[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(3):1641-1650.