

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第32卷 第13期 Vol.32 No.13 **2012**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

中国科学院科学出版基金资助出版

第 32 卷 第 13 期 2012 年 7 月 (半月刊)

目 次

砂质潮间带自由生活海洋线虫对缺氧的响应——微型受控生态系研究.....	华 尔, 李 佳, 董 洁, 等 (3975)
植物种群自疏过程中构件生物量与密度的关系	黎 磊, 周道玮, 盛连喜 (3987)
基于景观感知敏感度的生态旅游地观光线路自动选址.....	李继峰, 李仁杰 (3998)
基于能值的沼气农业生态系统可持续发展水平综合评价——以恭城县为例.....	杨 谨, 陈 彬, 刘耕源 (4007)
内蒙古荒漠草原植被盖度的空间异质性动态分析.....	颜 亮, 周广胜, 张 峰, 等 (4017)
典型草地的土壤保持价值流量过程比较.....	裴 厦, 谢高地, 李士美, 等 (4025)
长沙市区马尾松人工林生态系统碳储量及其空间分布.....	巫 涛, 彭重华, 田大伦, 等 (4034)
厦门市七种药用植物根围 AM 真菌的侵染率和多样性	姜 攀, 王明元 (4043)
Cd、低 Pb/Cd 下冬小麦幼苗根系分泌物酚酸、糖类及与根际土壤微生物活性的关系	贾 夏, 董岁明, 周春娟 (4052)
凉水保护区土壤产类漆酶-多铜氧化酶细菌群落结构	赵 丹, 谷惠琦, 崔岱宗, 等 (4062)
盐渍化土壤根际微生物群落及土壤因子对 AM 真菌的影响.....	卢鑫萍, 杜 茜, 闫永利, 等 (4071)
菌丝室接种解磷细菌 <i>Bacillus megaterium</i> C4 对土壤有机磷矿化和植物吸收的影响.....	张 林, 丁效东, 王 菲, 等 (4079)
闽江河口不同河段芦苇湿地土壤碳氮磷生态化学计量学特征.....	王维奇, 王 纯, 曾从盛, 等 (4087)
高山森林三种细根分解初期微生物生物量动态.....	武志超, 吴福忠, 杨万勤, 等 (4094)
模拟降水对古尔班通古特沙漠生物结皮表观土壤碳通量的影响	吴 林, 苏延桂, 张元明 (4103)
铁皮石斛组培苗移栽驯化过程中叶片光合特性、超微结构及根系活力的变化	濮晓珍, 尹春英, 周晓波, 等 (4114)
不同产量水平旱地冬小麦品种干物质累积和转移的差异分析.....	周 玲, 王朝辉, 李富翠, 等 (4123)
基于作物模型的低温冷害对我国东北三省玉米产量影响评估.....	张建平, 王春乙, 赵艳霞, 等 (4132)
黄土高原 1961—2009 年参考作物蒸散量的时空变异.....	李 志 (4139)
莫莫格湿地芦苇对水盐变化的生理生态响应.....	邓春暖, 章光新, 李红艳, 等 (4146)
不同蚯蚓采样方法对比研究.....	范如芹, 张晓平, 梁爱珍, 等 (4154)
亚洲玉米螟成虫寿命与繁殖力的地理差异.....	涂小云, 陈元生, 夏勤雯, 等 (4160)
黑河上游天然草地蝗虫空间异质性与分布格局.....	赵成章, 李丽丽, 王大为, 等 (4166)
苦瓜叶乙酸乙酯提取物对斜纹夜蛾实验种群的抑制作用.....	骆 颖, 凌 冰, 谢杰峰, 等 (4173)
长江口中国花鲈食性分析.....	洪巧巧, 庄 平, 杨 刚, 等 (4181)
基于线粒体控制区序列的黄河上游厚唇裸重唇鱼种群遗传结构.....	苏军虎, 张艳萍, 娄忠玉, 等 (4191)
镉暴露对黑斑蛙精巢 ROS 的诱导及其蛋白质氧化损伤作用机理	曹 慧, 施蔡雷, 贾秀英 (4199)
北方草地牛粪中金龟子的多样性.....	樊三龙, 方 红, 高传部, 等 (4207)
合肥秋冬季茶园天敌对假眼小绿叶蝉和茶蚜的空间跟随关系.....	杨 林, 郭 骅, 毕守东, 等 (4215)
植被、海拔、人为干扰对大中型野生动物分布的影响——以九寨沟自然保护区为例.....	张 跃, 雷开明, 张语克, 等 (4228)
基于社会网络分析法的生态工业园典型案例研究.....	杨丽花, 佟连军 (4236)
基于生命周期的户用沼气系统可用能核算——以广西恭城瑶族自治县为例.....	齐 静, 陈 彬, 戴 婧, 等 (4246)
专论与综述	
水文情势与盐分变化对湿地植被的影响研究综述	章光新 (4254)
松嫩碱化草甸土壤种子库格局、动态研究进展	马红媛, 梁正伟, 吕丙盛, 等 (4261)
一种新的景观扩张指数的定义与实现	武鹏飞, 周德民, 官辉力 (4270)
研究简报	
华山新麦草光合特性对干旱胁迫的响应.....	李 倩, 王 明, 王雯雯, 等 (4278)
美丽海绵提取物防污损作用.....	曹文浩, 严 涛, 刘永宏, 等 (4285)

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 306 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 37 * 2012-07



封面图说: 涵养水源——在长白山南坡的峭壁上, 生长在坡面上的森林所涵养的水源还在汨汨地往下流个不停, 深红色的落叶掉在了苔藓上, 这里已经是长白山的深秋了。虽然雨季已经过去了很久, 但是林下厚厚的枯枝落叶层、腐殖质层、苔藓草本层所涵养的水分还在不间断地流淌, 细细的水线在壁下汇成了溪、汇成了河。涵养水源是森林的主要生态功能之一。

彩图提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201106170826

张林,丁效东,王菲,田芷源,冯固. 菌丝室接种解磷细菌 *Bacillus megaterium* C4 对土壤有机磷矿化和植物吸收的影响. 生态学报, 2012, 32(13): 4079-4086.

Zhang L, Ding X D, Wang F, Tian Z Y, Feng G. The effects of inoculation with phosphate solubilizing bacteria *Bacillus megaterium* C4 in the AM fungal hyphosphere on soil organic phosphorus mineralization and plant uptake. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(13): 4079-4086.

菌丝室接种解磷细菌 *Bacillus megaterium* C4 对 土壤有机磷矿化和植物吸收的影响

张 林¹, 丁效东^{1,2}, 王 菲¹, 田芷源¹, 冯 固^{1,*}

(1. 中国农业大学资源与环境学院 植物-土壤相互作用教育部重点开放实验室, 北京 100193;

2. 广东省生态环境与土壤研究所, 广州 510650)

摘要:通过 30 μm 尼龙网将根盒分成根室和菌丝室, 菌丝室中的低磷土壤施加 75 mg P/kg 土壤的植酸钙, 研究了菌丝室土壤中丛枝菌根(AM)真菌 *Glomus intraradices* 和解磷细菌 *Bacillus megaterium* C4 对有机磷的矿化和吸收。结果表明, 在试验条件下, 植酸钙的溶解性很低, 对土壤溶液有机磷的贡献不大。接种解磷细菌 C4 提高了土壤中磷酸酶的活性, 减少了土壤中有机磷的含量。但是, 由于存在解磷细菌与 AM 真菌对磷的竞争, 解磷细菌矿化出的磷大部分被自身利用, AM 真菌的生长受到抑制, 解磷细菌对植物磷营养的改善没有表现出显著的贡献。

关键词: AM 真菌; 解磷细菌; 有机磷; 竞争

The effects of inoculation with phosphate solubilizing bacteria *Bacillus megaterium* C4 in the AM fungal hyphosphere on soil organic phosphorus mineralization and plant uptake

ZHANG Lin¹, DING Xiaodong^{1,2}, WANG Fei¹, TIAN Zhiyuan¹, FENG Gu^{1,*}

1 College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University; Key Laboratory of Plant-Soil Interactions, MOE, Beijing 100193, China

2 Guangdong Institute of Eco-environment and Soil Sciences, Guangzhou 510650, China

Abstract: To study the interactions between arbuscular mycorrhizal (AM) fungus and phosphate solubilizing bacteria (PSB) and their effects on soil organic phosphorus (P) utilization in the hyphal compartment soil, maize (*Zea mays* L.) plants were grown 8 weeks in sterilized soil (brunisol soil) in a two compartmented rhizoboxes. The rhizobox was composed of a compartment for root growth (root compartment) and a compartment separated from the root compartment by 30 μm nylon mesh, which can allow the fungal hyphae penetration but prevent the root from growing through (hyphal compartment). *Glomus intraradices* was inoculated in root compartment of all rhizoboxes. PSB *Bacillus megaterium* C4 at the concentration of 10^8 CFU/mL were inoculated in the hyphal compartment. Each rhizobox received 20 mg P/kg of KH_2PO_4 in the root compartment and 75 mg P/kg of phytin in the hyphal compartment.

The results showed that inoculation with PSB C4 in the hyphal compartment soil had no significant influence on mycorrhizal colonization but decreased hyphal length density. The pH in AM treatment was higher than that in the control treatment but close to C4 treatment. The phosphatase activity in AM treatment was similar to the control treatment but significantly lower than that in C4 treatment. NaHCO_3 extractable organic and inorganic P contents in AM treatment were

基金项目: 国家自然科学基金(31071871, 30890132)

收稿日期: 2011-06-17; 修订日期: 2011-11-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: fenggu@cau.edu.cn

similar to those in the control treatment. But both of them decreased significantly in C4 treatment. The biomass and P content of maize in AM treatment were much higher than those in the control treatment, but similar to C4 treatment. The results showed that NaHCO_3 extractable organic P content in the hyphal compartment after experiment was 4.4 mg P/kg in the control treatment which was close to the initial soil content of 3.9 mg P/kg. Neither inoculation with AM fungus nor PSB C4 increased the P content, indicating that the solubility of phytin under the experimental condition was lower and didn't have significant contribution to the soil effective organic P. By supplying NO_3^- -N in the hyphal compartment soil, AM fungi raised soil pH but had no influence on the phosphatase activity. Inoculation with C4 increased phosphatase activity but didn't change soil pH, indicating that C4 added the amount of phosphatase in the hyphal compartment soil. The NaHCO_3 extractable organic P content in C4 treatment was much lower than that in AM treatment. NaHCO_3 extractable inorganic P content in the C4 treatment soil was also significantly lower than that in the AM treatment but the total P content of maize didn't increase. The hyphal length density decreased after inoculation with C4, and the number of C4 was 5×10^6 CFU/g soil, indicating that the soil must have provided it with P. So the bacterium C4 immobilized part of soil P to decrease the P uptake by AM fungal hyphae. As a result, the hyphae length density may decrease and P uptake of maize may not increase after inoculation with PSB C4.

Key Words: AM fungi; PSB; organic P; competition

植酸及植酸盐(统称植酸磷)在土壤中广泛存在,是土壤有机磷的主要存在形式,占土壤总有机磷的比例很大^[1]。植酸磷不能被植物利用,必须经植酸酶水解释放出无机磷酸根离子,才能吸收^[2-3]。然而植物根系分泌的植酸酶很少,只占磷酸酶总量的0.8%^[4],但是土壤中多种微生物可以分泌植酸酶^[5],是土壤植酸酶的主要来源,在植酸的矿化过程中发挥着重要作用。

AM真菌可以与90%以上的陆地植物形成共生关系^[6],在土壤中形成大量纤细的菌丝,到达根系生长不到的区域,扩大根系面积,增大根际范围^[7-8],增强植物对养分尤其是磷的吸收^[9]。但是AM真菌主要吸收无机磷^[10-11],能否分泌磷酸酶直接利用有机磷尚存在争议。由于以前AM真菌可以分泌磷酸酶的证据大多来自土壤培养试验,难以排除菌丝际细菌的作用^[12-13]。最近的研究表明,菌丝际存在多种细菌,但这些细菌的功能尚不清楚^[14-15]。解磷细菌作为土壤中重要的功能微生物,它们否在菌丝际定殖及其与AM真菌相互作用对土壤有机磷矿化吸收的研究尚不多见。

研究的问题是:解磷细菌能否在菌丝际定殖?在AM真菌菌丝生长的土壤中接种解磷细菌,将对有机磷的矿化和菌丝、植物对磷的吸收产生什么影响?为此,本实验利用30 μm 尼龙网将根盒分隔成根室和菌丝室,菌丝室土壤中施加植酸钙,待AM真菌的菌丝生长到菌丝室后,在菌丝室接种解磷细菌,研究AM真菌与解磷细菌的共同作用对土壤中植酸钙的矿化、吸收的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试植物

玉米(*Zea mays* L.),品种选用20世纪90年代培育出的高产品种农大108。玉米种子在10% H_2O_2 中浸泡10 min进行表面消毒,用蒸馏水洗涤3次后置于湿润的滤纸上催芽2 d用于播种。

1.1.2 供试AM真菌

AM真菌菌种选用*Glomus intraradices*(BEG 141),由法国农科院Vivienne Gianinazzi-Pearson提供,先用沙土盆栽玉米繁殖,生长3个月后用已受真菌侵染的根段和含有菌丝和孢子的土壤作为AM真菌接种剂,每10 g接种剂含有700个孢子。

1.1.3 供试解磷细菌

解磷细菌菌种选用巨大芽孢杆菌*Bacillus megaterium* C4(以下简称C4),从玉米根际土壤分离得到,由中

国农业大学生物学院陈三凤老师提供,已通过电激转化的方法将含有表达绿色荧光蛋白(GFP)基因 *gfp* *mut3a* 的质粒 pGFP4412 转到细菌 C4 体内,通过激光共聚焦显微镜可以观测 C4 在菌丝表面的定殖情况^[16]。前期研究结果表明,C4 可以在植酸钙为唯一磷源的蒙金娜培养基^[17]上生长,溶解植酸钙产生透明圈,具有矿化有机磷的能力。细菌用液体 LB 培养基在 37 °C 下培养 24 h,然后用灭菌的生理盐水稀释细菌的数目到 10⁸ CFU/mL 作为接种菌液。

1.1.4 供试土壤

棕壤,2010 年 5 月取自山东省泰安市低磷农田土壤,土壤基本理化性状:速效磷(Olsen-P)3.30 mg/kg、有效钾(NH₄Cl 提取)97.6 mg/kg、有机质 7.27 g/kg、有效氮 7.20 mg/kg、pH 值 6.40。土壤过 2 mm 筛后,送至北京鸿仪四方辐射技术有限公司(Beijing Hongyisifang Radiation Technology Co., Ltd)进行 γ 射线(辐照强度:10 kGy⁶⁰Co γ-ray)灭菌。

1.1.5 供试装置

试验采用 PVC 板制作的两室根盒装置,包括根室(左侧)和菌丝室(右侧)两部分。根室和菌丝室之间用 30 μm 的尼龙网分隔,使根限制在根室中生长,而 AM 真菌的菌丝可以穿过尼龙网,在菌丝室中生长,从菌丝室的土壤中吸收养分。

1.2 试验设计

本试验共设 3 个处理:不接种 AM 真菌和细菌处理(CK),根室单接种 AM 真菌处理(AM),根室接种 AM 真菌和菌丝室接种解磷细菌 C4 处理(AM+C4),每个处理设 4 个重复,完全随机排列。

各处理根室、菌丝室土壤均施有 200 mg/kg N(KNO₃),200 mg/kg K(K₂SO₄),50 mg/kg Mg(MgSO₄·7H₂O),5 mg/kg Zn(ZnSO₄·7H₂O),5 mg/kg Mn(MnSO₄·H₂O),2 mg/kg Cu(CuSO₄·5H₂O)作为底肥。此外,根室土壤施加 20 mg/kg P(KH₂PO₄)保证玉米正常生长,菌丝室土壤中施加 75 mg/kg P(植酸钙,购自日本 TCI 公司)。根室和菌丝室分别加入 800 g 和 600 g 灭菌的土壤,每个根盒的根室内播种 3 颗催芽的玉米种子,待出苗后保留一颗。接种 AM 真菌的处理每盆在根室接种 20 g 接种剂,不接种处理接种等质量灭菌的接种剂。菌丝室土壤中埋入 0.45 μm 的微孔滤膜,用于收集观测菌丝的生长状况。播种 21 d 后,接种解磷细菌的处理在菌丝室右侧 1 cm 接种 10 mL *Bacillus megaterium* C4 的菌液,不接种处理接种等体积灭活的菌液。

试验于 2010 年 5 月 19 日至 7 月 15 日在中国农业大学资源与环境学院温室中进行。

1.3 测定指标及方法

测定指标分为植物指标和土壤指标,所测土壤为菌丝室土壤,为减小根系和空气粉尘对菌丝际土壤的影响,土壤取样时切除表层 2 cm 土壤,然后收集菌丝室右侧端 1 cm 的土壤,作为菌丝室土壤进行相关指标的分析。

1.3.1 生物量测定

将植株用蒸馏水冲洗,分为地上、地下部,用吸水纸吸干表面水分。地上部 105 °C 杀青 30 min,70 °C 烘干、称取干重。地下部取少量根系称重后用于菌根侵染率的测定,其余部分于 70 °C 下烘干、称取干重,然后将植株磨碎。

1.3.2 植株磷浓度测定

H₂SO₄-H₂O₂ 消煮,钼锑抗比色法^[18]。

1.3.3 菌根侵染率的测定

采用 KOH 消煮,曲利苯蓝(Trypan blue)染色、镜检法^[19]。

1.3.4 菌丝密度的测定

采用湿筛抽滤,曲利苯蓝染色、镜检法^[20]。

1.3.5 土壤 pH 值测定

土水比 1:5 测定。

1.3.6 磷酸酶活性测定

用改进的 Tabatabai 和 Brimmer^[21]方法测定。在 5 mL 离心管中加入 0.5 g 新鲜土壤,再依次加入 0.8 mL pH 值为 5.2(酸性磷酸酶)或 8.5(碱性磷酸酶)的 200 mmol/L 的乙酸钠缓冲液、0.2 mL 150 mmol/L 的 *p*-NPP(对硝基苯磷酸盐),30 °C 反应 30 min 后,加 1 mL 0.5 mol/L 的 NaOH 终止反应,离心后取上清液在 405 nm 波长下测吸光度,磷酸酶活性单位为每分钟每克土壤催化 1 μ g *p*-NPP 的值。

1.3.7 土壤 NaHCO₃ 提取的无机磷和有机磷含量测定

用 0.5 mol/L 的 NaHCO₃ 浸提土壤,浸提液过滤后得到的滤液直接用钼锑抗比色法测定得到土壤中 NaHCO₃ 提取的无机磷含量,滤液用过硫酸钾 121 °C 氧化后钼锑抗比色测得土壤中 NaHCO₃ 提取的总磷含量,总磷含量与无机磷含量之差即为土壤中 NaHCO₃ 提取的有机磷含量^[18]。

1.4 数据分析

本试验所有数据均采用 Excel 2003 进行前期处理,用 SPSS 16.0 统计软件对各指标数据进行单因素方差分析,在 5% 水平下采用最小显著差异法(LSD)对数据进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 接种解磷细菌对 AM 真菌侵染率和菌丝密度的影响

在解剖镜下的观察结果表明,菌丝室中埋放的微孔滤膜上着生了密集的 AM 真菌的菌丝,说明菌丝室中的菌丝生长正常(图 1)。激光共聚焦显微镜观察发现 C4 在有活性的 *Glomus intraradices* 的离体菌丝表面大量定殖,荧光呈斑块状(图 2)。

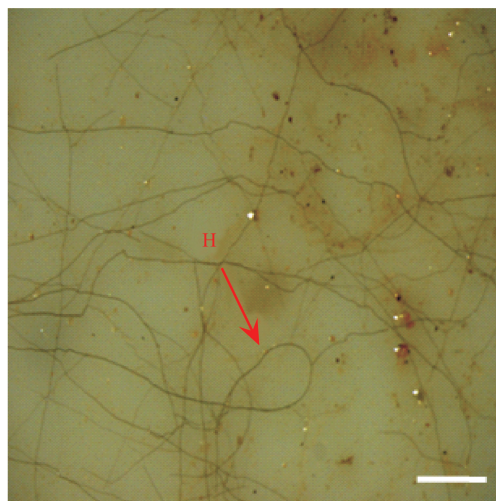


图 1 菌丝室中埋入 0.45 微米膜收集到的菌丝

Fig. 1 The hyphae on the surface of 0.45 μ m mesh embedded in the hyphal compartment soil

H: 菌丝; 标尺=2 mm

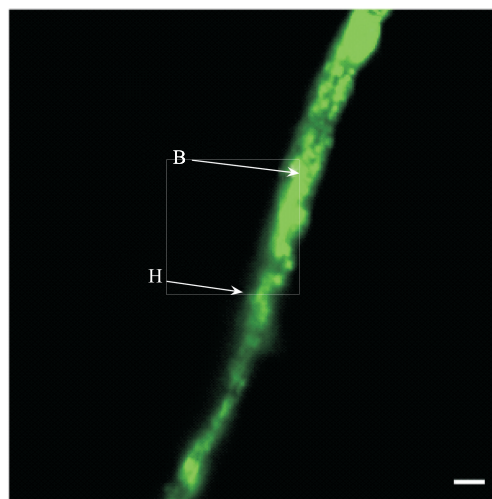


图 2 激光共聚焦显微镜下解磷细菌 C4 在 AM 真菌 *Glomus intraradices* 菌丝表面的定殖

Fig. 2 Phosphate solubilizing bacterium C4 colonized on the surface of *Glomus intraradices* hypha

H: 菌丝; B: 细菌 C4; 标尺=10 μ m

接种解磷细菌 C4 后其在菌丝室土壤中的数目为 5×10^6 CFU/g 干土,接种解磷细菌 C4 对玉米根系的菌根侵染率没有影响,却显著降低了菌丝室土壤中 AM 真菌 *Glomus intraradices* 的菌丝密度(表 1)。不接种 AM 真菌的对照处理没有菌根真菌的侵染。单接种 AM 真菌处理的菌根侵染率为 30%,菌丝密度为 0.72 m/g 土壤,二指标在 3 个处理中均为最高。菌丝室接种解磷细菌 C4 后,菌根侵染率为 24%,与单接种 AM 真菌处理相比无显著差异;菌丝密度为 0.43 m/g 土壤,显著低于单接种 AM 真菌处理。

2.2 接种解磷细菌对菌丝室土壤磷酸酶活性和磷含量的影响

接种解磷细菌 C4 提高了菌丝室土壤中磷酸酶活性(图 3),降低了土壤中碳酸氢钠可提取的磷的含量(图 4)。不接种 AM 真菌处理的菌丝室土壤 pH 值为 5.8,单接种 AM 真菌和接种细菌 C4 处理的土壤 pH 值

均为 6.2 左右,显著高于对照处理。接种 AM 真菌提高了土壤的 pH 值,而接种细菌 C4 对土壤 pH 值影响不大。与对照相比,接种 AM 真菌土壤磷酸酶活性没有显著变化,与未接种 AM 真菌时一致。但接种细菌 C4 后,菌丝室土壤的磷酸酶活性显著提高:酸性磷酸酶活性比单接种 AM 真菌提高了 36%,碱性磷酸酶活性比单接种 AM 真菌提高了 31%。用碳酸氢钠提取的土壤无机磷和有机磷含量在 3 个处理间存在差异。未接种 AM 真菌处理的无机磷和有机磷含量分别为 3.0 mg/kg 土壤和 4.4 mg/kg 土壤,单接种 AM 真菌后土壤的有机磷含量没有变化,而无机磷含量有所降低。但是在接种 AM 真菌的基础上接种细菌 C4 后,无机磷含量和有机磷含量都显著降低:无机磷含量减少到 2.0 mg/kg 土壤,有机磷含量减少到 3.4 mg/kg 土壤。

表 1 不同处理下的菌根侵染率、菌丝密度和接种细菌数目

Table 1 Root colonization, hyphal length density and inoculated bacterial numbers in different treatments

处理 Treatment	侵染率 Colonization/%	菌丝密度 Hyphal length density/(m/g 土)	接种细菌数目 Inoculated bacterial number/(10 ⁶ CFU/g 土)
CK	0b	0c	—
AM	30±7.7a	0.72±0.11a	—
AM+C4	24±1.7a	0.43±0.07b	5.0±0.3

CK,对照处理;AM,根室单接种 AM 真菌处理;AM+C4,根室接种 AM 真菌和菌丝室接种解磷细菌 C4 处理。表中数据为平均值±标准误,小写字母表示不同处理间同一指标的比较

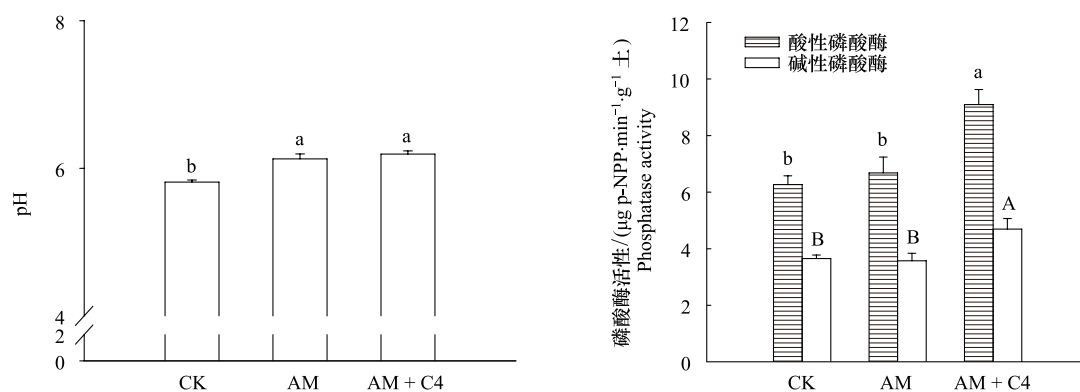


图 3 不同处理下菌丝室土壤 pH 和磷酸酶活性

Fig. 3 Soil pH (a) and phosphatase activity in the hyphal compartment in different treatments

(a) 中小写字母表示不同处理间 pH 的比较;(b) 中小写字母和大写字母分别表示不同处理间酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活性的比较

2.3 接种解磷细菌对玉米生长的影响

接种解磷细菌 C4 对玉米生物量没有影响(表 2)。不接种 AM 真菌时,玉米地上部和地下部的生物量分别为 7.3 g 和 4.2 g;接种 AM 真菌后,地上部和地下部生物量都显著提高,达到 9.3 g 和 5.8 g,比对照分别高 27% 和 38%。但接种解磷细菌 C4 后,玉米植株地上部和地下部的生物量分别为 8.9 g 和 6.4 g,与单接种 AM 真菌处理相比并无显著差异。

2.4 接种解磷细菌对玉米磷浓度和磷含量的影响

在接种 AM 真菌基础上接种解磷细菌对玉米磷浓度和磷含量没有显著影响(表 2)。未接种 AM 真菌处理地上部和地下部的磷浓度分别为 1.44 mg/g 和 0.92 mg/g;接种 AM 真菌后地上部和地下部磷浓度显著提高,达到 1.88 mg/g 和 1.20 mg/g,分别提高 36% 和 33%,达到显著水平。接种解磷细菌 C4 后,地上部与地下部磷浓度分别为 1.93 mg/g 和 1.28 mg/g,与单接种 AM 真菌处理相比没有显著差异。未接种 AM 真菌处理地上部和地下部的磷含量分别为 10.6 mg/盆和 3.9 mg/盆;接种 AM 真菌后地上部和地下部的磷含量显著提高,达到 17.0 mg/盆和 6.9 mg/盆,分别提高 68% 和 77%。接种解磷细菌 C4 后,玉米地上部和地下部含磷量分别为 16.7 mg/盆和 7.5 mg/盆,与单接种 AM 真菌处理相比无显著差异。

表2 不同处理下玉米生物量、磷浓度和磷含量

Table 2 The biomass, P concentration and P content of maize in different treatments

处理 Treatment	生物量 Biomass/g		磷浓度 P concentration/(mg/g)		磷含量 P content/mg	
	地上部 Shoot	地下部 Root	地上部 Shoot	地下部 Root	地上部 Shoot	地下部 Root
CK	7.3±0.2b	4.2±0.4b	1.44±0.03b	0.92±0.02b	10.6±0.3b	3.9±0.4b
AM	9.3±0.1a	5.8±0.4a	1.88±0.06a	1.20±0.02a	17.0±0.6a	6.9±0.3a
AM+C4	8.9±0.6a	6.4±0.5a	1.93±0.05a	1.28±0.03a	16.7±1.2a	7.5±1.3a

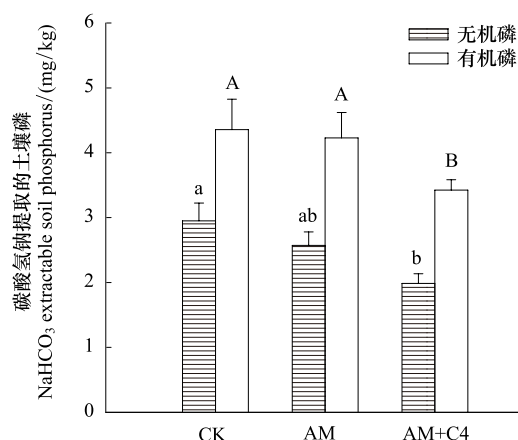
CK, 对照处理; AM, 根室单接种 AM 真菌处理; AM+C4, 根室接种 AM 真菌和菌丝室接种解磷细菌 C4 处理。表中数据为平均值±标准误, 小写字母表示不同处理间同一指标的比较

3 讨论

供试的基础土壤 NaHCO_3 提取态的有机磷含量为 3.9 mg/kg, 试验开始时向菌丝室土壤中施加植酸钙含量为 75 mg P/kg 的有机磷, 试验结束后测得对照处理菌丝室中 NaHCO_3 提取出的有机磷仅为 4.4 mg/kg, 因此 8 周后植酸钙只有少量以溶解态的形式存在于土壤溶液中, 大部分被土壤颗粒吸附或以沉淀的形式存在。在接种 AM 真菌或解磷细菌 C4 时, 没有发现菌丝室土壤中 NaHCO_3 提取的有机磷含量显著提高, 说明接种 AM 真菌或 C4 没有提高土壤中植酸钙的溶解性, 菌丝室土壤中有效态的有机磷含量依然很低。在菌丝室土壤供应硝态氮的条件下, 与对照相比, 接种 AM 真菌后, 土壤 pH 值显著提高, 而磷酸酶活性没有显著变化; 在接种 AM 真菌基础上再接种解磷细菌 C4, 土壤 pH 值没有变化, 但酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活性均显著提高, 表明解磷细菌增加了土壤中磷酸酶的来源, 从而提高了菌丝际土壤磷酸酶活性。因此, 单接种 AM 真菌时, 菌丝室中 NaHCO_3 提取的有机磷含量没有变化, 但在 AM 真菌基础上接种解磷细菌 C4 时 NaHCO_3 提取的有机磷含量则显著降低, 表明解磷细菌 C4 在土壤有机磷的矿化过程中发挥了重要作用。

尽管接种解磷细菌 C4 处理的菌丝室土壤中 C4 的数目高达 5×10^6 CFU/g 土壤, 并且菌丝室土壤中 NaHCO_3 提取的有机磷和无机磷含量也都显著低于对照处理, 但是在接种 AM 真菌基础上再接种解磷细菌 C4 并没有进一步提高玉米的吸磷量。即: 解磷细菌 C4 的解磷效应并没有表现在植物体内磷含量的增加上。那么 C4 活化的磷转化到何处? 土壤微生物对磷的固定是磷的一个重要去向, 因此土壤中无机磷和有机磷的减少与土壤微生物数量有着密切的联系。本试验采用的是灭菌土壤, 可以消除土壤本身微生物的影响; 浇水用的是蒸馏水, 可以减少杂菌对土壤的污染。因此, 与对照和单接种 AM 真菌处理相比, 接种的解磷细菌 C4 是土壤中微生物的主要来源。菌丝室的解磷细菌 C4 自身生长对土壤磷的竞争利用是导致土壤中磷含量下降的主要原因, 植物的吸磷量没有从细菌活化磷的过程中获得好处。

菌丝际细菌对菌根真菌的生长有不同的影响, 比较典型的如菌根帮助细菌 (Mycorrhizal Helper Bacteria, MHB) [22-23], 可以显著提高菌根侵染、增加根外菌丝密度。如 Fester 等发现接种细菌 *Pseudomonas fluorescens* 可以将 *Glomus intraradices* 与宿主植物 *Triticum aestivum* 的菌根侵染率提高 2—3 倍 [24]。Vosatka 等研究表明细菌 *Pseudomonas putida* 可以显著提高土壤中 AM 真菌 *Glomus fistulosum* 的菌丝密度 [25]。本研究观察到, 与单接种 AM 真菌处理相比, 菌丝室接种解磷细菌 C4 导致菌丝密度显著降低, 菌根侵染率变化不大。即 C4 抑制了真菌的生长, 但对菌根侵染率没有显著影响。这表明在菌丝室土壤速效磷含量仅为 3.3 mg P/kg 的低磷条

图4 不同处理下菌丝室土壤中 NaHCO_3 提取的磷含量Fig. 4 NaHCO_3 extractable soil phosphorus in the hyphal compartment in different treatments

小写字母和大写字母分别表示不同处理间 NaHCO_3 提取的无机磷和有机磷含量的比较

件下发生了解磷细菌 C4 与 AM 真菌对磷的竞争作用,土壤磷被解磷细菌 C4 固定、转化成了土壤微生物磷。根据陈国潮^[26]的研究结果,土壤微生物量磷在 100 d 左右才能周转利用,本实验接种的解磷细菌 C4 的生长时间为 43 d,因此细菌固定的磷还未能实现周转,不能释放被菌丝吸收,使 AM 真菌吸收的磷减少,不但没对宿主植物表现出吸磷量的贡献,AM 真菌自身的生物量可能也因磷的限制而减少。

传统研究多用难溶性无机磷作为磷源,在盆栽条件下同时接种 AM 真菌与解磷细菌,发现双接种比单接种更能促进植物的生长和对磷的吸收^[27-28]。本试验通过两室分隔试验装置,将菌丝与根系分隔,单独研究 AM 真菌与解磷细菌的作用对植物吸收磷的效应。试验中采用的解磷细菌 *Bacillus megaterium* C4 可以在离体的菌丝表面定殖,接种到菌丝室后,可以在菌丝室土壤中大量存在,并且在低磷条件下发生与 AM 真菌对磷的竞争作用,导致菌丝室土壤中 AM 真菌生物量的减少,这与低磷条件下植物与解磷细菌对磷的竞争结果一致^[29]。因此,适当提高土壤中无机磷浓度,也许有利于消除微生物与植物根系和 AM 真菌对磷的竞争,使土壤中的解磷微生物有效地发挥功能,提高植酸磷的利用效率,这些推测值得进一步研究证实。

References:

- [1] Turner B L, Paphúzy M J, Haygarth P M, McKelvie I D. Inositol phosphates in the environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 2002, 357(1420): 449-469.
- [2] Lim B L, Yeung P, Cheng C, Hill J E. Distribution and diversity of phytate-mineralizing bacteria. *The ISME Journal*, 2007, 1(4): 321-330.
- [3] Hussin A S M, Farouk A E, Greiner R, Salleh H M, Ismail A F. Phytate-degrading enzyme production by bacteria isolated from Malaysian soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2007, 23(12): 1653-1660.
- [4] Richardson A E, Hadobas P A, Hayes J E. Extracellular secretion of *Aspergillus* phytase from *Arabidopsis* roots enables plants to obtain phosphorus from phytate. *The Plant Journal*, 2001, 25(6): 641-649.
- [5] Jorquera M, Martínez O, Maruyama F, Marschner P, de la Luz Mora M. Current and future biotechnological applications of bacterial phytases and phytase-producing bacteria. *Microbes and Environments*, 2008, 23(3): 182-191.
- [6] Smith S E, Read D J. *Mycorrhizal Symbiosis*. London: Academic Press, 2008.
- [7] Johansson J F, Paul L R, Finlay R D. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 48(1): 1-13.
- [8] Wooley S C, Paine T D. Infection by mycorrhizal fungi increases natural enemy abundance on tobacco (*Nicotiana rustica*). *Environmental Entomology*, 2011, 40(1): 36-41.
- [9] Li X L, George E, Marschner H. Phosphorus depletion and pH decrease at the root-soil and hyphae-soil interfaces of VA mycorrhizal white clover fertilized with ammonium. *New Phytologist*, 1991, 119(3): 397-404.
- [10] Rausch C, Bucher M. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Planta*, 2002, 216(1): 23-37.
- [11] Smith F W. The phosphate uptake mechanism. *Plant and Soil*, 2002, 245(1): 105-114.
- [12] Feng G, Song Y C, Li X L, Christie P. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to utilization of organic sources of phosphorus by red clover in a calcareous soil. *Applied Soil Ecology*, 2003, 22(2): 139-148.
- [13] Bünenmann E K, Oberson A, Frossard E. Phosphorus in Action. Heidelberg: Springer, 2011: 137-168.
- [14] Andrade G, Mihara K L, Linderman R G, Bethlenfalvay G J. Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 1997, 192(1): 71-79.
- [15] Artursson V, Finlay R D, Jansson J K. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(1): 1-10.
- [16] Liu X M. Isolation and Identification of Nitrogen-Fixing *Bacillus* and Colonization of Maize, Rice and Wheat By Nitrogen-Fixing *Bacillus megaterium* C4 [D]. Beijing: China Agriculture University, 2005.
- [17] Zhou D Q. *A Laboratory Manual for Microbiology*. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1986.
- [18] Bao S D. *Soil and Agricultural Chemistry Analysis*. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [19] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 1970, 55(1): 158-161.
- [20] Jakobsen I, Abbott L K, Robson A D. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L.: 1. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. *New Phytologist*, 1992, 120(3): 371-380.

- [21] Tabatabai M A, Bremner J M. Use of *p*-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 1969, 1(4): 301-307.
- [22] Garbaye J. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 1994, 128(2): 197-210.
- [23] Frey-Klett P, Garbaye J, Tarkka M. The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytologist*, 2007, 176(1): 22-36.
- [24] Fester T, Maier W, Strack D. Accumulation of secondary compounds in barley and wheat roots in response to inoculation with an arbuscular mycorrhizal fungus and co-inoculation with rhizosphere bacteria. *Mycorrhiza*, 1999, 8(5): 241-246.
- [25] Vosátka M, Gryndler M. Treatment with culture fractions from *Pseudomonas putida* modifies the development of *Glomus fistulosum* mycorrhiza and the response of potato and maize plants to inoculation. *Applied Soil Ecology*, 1999, 11(2/3): 245-251.
- [26] Chen G C. Microbial Biomass C and P, Their Turnover Rates with Relation to Soil Fertility Sustainability in Red Soils [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2000.
- [27] Kim K Y, Jordan D, McDonald G A. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biology and Fertility of Soils*, 1998, 26(2): 79-87.
- [28] Vázquez M M, César S, Azcón R, Barea J M. 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. *Applied Soil Ecology*, 2000, 15(3): 261-272.
- [29] Marschner P, Crowley D, Rengel Z. Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis-model and research methods. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(5): 883-894.

参考文献:

- [16] 刘旭明. 固氮芽孢杆菌的分离鉴定以及固氮巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*) C4 在玉米、水稻、小麦上的定殖研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [17] 周德庆. 微生物学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [26] 陈国潮. 红壤微生物生物量碳、磷及其周转, 以及与土壤肥力关系研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2000.

CONTENTS

Responses of sandy beach nematodes to oxygen deficiency: microcosm experiments	HUA Er, LI Jia, DONG Jie, et al (3975)
Allometric relationship between mean component biomass and density during the course of self-thinning for <i>Fagopyrum esculentum</i> populations	LI Lei, ZHOU Daowei, SHENG Lianxi (3987)
Automatic site selection of sight-seeing route in ecotourism destinations based on landscape perception sensitivity	LI Jifeng, LI Renjie (3998)
Emergy evaluation for sustainability of Biogas-linked agriculture ecosystem: a case study of Gongcheng county	YANG Jin, CHEN Bin, LIU Gengyuan (4007)
Spatial heterogeneity of vegetation coverage and its temporal dynamics in desert steppe, Inner Mongolia	YAN Liang, ZHOU Guangsheng, ZHANG Feng, et al (4017)
Soil conservation value flow processes of two typical grasslands	PEI Sha, XIE Gadi, LI Shimei, et al (4025)
Spatial distribution of carbon storage in a 13-year-old <i>Pinus massoniana</i> forest ecosystem in Changsha City, China	WU Tao, PENG Chonghua, TIAN Dalun, et al (4034)
Colonization rate and diversity of AM fungi in the rhizosphere of seven medicinal plants in Xiamen	JIANG Pan, WANG Mingyuan (4043)
Effects of Cd, Low Concentration Pb/Cd on the contents of phenolic acid and simple glucides exuding from winter wheat seedlings root and the relationship between them and rhizosphere soil microbial activity	JIA Xia, DONG Suiming, ZHOU Chunjuan (4052)
The community structure of laccase-like multicopper oxidase-producing bacteria in soil of Liangshui Nature Reserve	ZHAO Dan, GU Huiqi, CUI Daizong, et al (4062)
Effects of soil rhizosphere microbial community and soil factors on arbuscular mycorrhizal fungi in different salinized soils	LU Xinping, DU Qian, YAN Yongli, et al (4071)
The effects of inoculation with phosphate solubilizing bacteria <i>Bacillus megaterium</i> C4 in the AM fungal hyphosphere on soil organic phosphorus mineralization and plant uptake	ZHANG Lin, DING Xiaodong, WANG Fei, et al (4079)
Soil carbon, nitrogen and phosphorus ecological stoichiometry of <i>Phragmites australis</i> wetlands in different reaches in Minjiang River estuary	WANG Weiqi, WANG Chun, ZENG Congsheng, et al (4087)
Dynamics of soil microbial biomass during early fine roots decomposition of three species in alpine region	WU Zhichao, WU Fuzhong, YANG Wanqin, et al (4094)
Effects of simulated precipitation on apparent carbon flux of biologically crusted soils in the Gurbantunggut Desert in Xinjiang, Northwestern China	WU Lin, SU Yangui, ZHANG Yuanming (4103)
Changes in photosynthetic properties, ultrastructure and root vigor of <i>Dendrobium candidum</i> tissue culture seedlings during transplantation	PU Xiaozhen, YIN Chunying, ZHOU Xiaobo, et al (4114)
Analysis of dry matter accumulation and translocation for winter wheat cultivars with different yields on dryland	ZHOU Ling, WANG Zhaohui, LI Fucui, et al (4123)
Impact evaluation of low temperature to yields of maize in Northeast China based on crop growth model	ZHANG Jianping, WANG Chunyi, ZHAO Yanxia, et al (4132)
Spatiotemporal variations in the reference crop evapotranspiration on the Loess Plateau during 1961—2009	LI Zhi (4139)
Eco-physiological responses of <i>Phragmites australis</i> to different water-salt conditions in Momoge Wetland	DENG Chunnuan, ZHANG Guangxin, LI Hongyan, et al (4146)
Comparative study of different earthworm sampling methods	FAN Ruqin, ZHANG Xiaoping, LIANG Aizhen, et al (4154)
Geographic variation in longevity and fecundity of the Asian corn borer, <i>Ostrinia furnacalis</i> Guenée (Lepidoptera: Crambidae)	TU Xiaoyun, CHEN Yuansheng, XIA Qinxin, et al (4160)
Analysis on grasshopper spatial heterogeneity and pattern of natural grass in upper reaches of Heihe	ZHAO Chengzhang, LI Lili, WANG Dawei, et al (4166)
Inhibition effects of ethyl acetate extracts of <i>Momordica charantia</i> leaves on the experimental population of <i>Spodoptera litura</i>	LOU Ying, LING Bing, XIE Jiefeng, et al (4173)
Feeding habits of <i>Lateolabrax maculatus</i> in Yangtze River estuary	HONG Qiaoqiao, ZHUANG Ping, YANG Gang, et al (4181)
Genetic structure of <i>Gymnodontichus pachycheilus</i> from the upper reaches of the Yellow River as inferred from mtDNA control region	SU Junhu, ZHANG Yanping, LOU Zhongyu, et al (4191)
Toxicity mechanism of Cadmium-induced reactive oxygen species and protein oxidation in testes of the frog <i>Rana nigromaculata</i>	CAO Hui, SHI Cailei, JIA Xiuying (4199)
The diversity of scarab beetles in grassland cattle dung from North China	FAN Sanlong, FANG Hong, GAO Chuanbu, et al (4207)
Spatial relationships among <i>Empoasca vitis</i> (Gothé) and <i>Toxoptera aurantii</i> (Boyer) and natural enemies in tea gardens of autumn-winter season in Hefei suburban	YANG Lin, GUO Hua, BI Shoudong, et al (4215)
Effects of vegetation, elevation and human disturbance on the distribution of large- and medium-sized wildlife: a case study in Jiuzhaigou Nature Reserve	ZHANG Yue, LEI Kaiming, ZHANG Yuke, et al (4228)
Research of typical EIPs based on the social network analysis	YANG Lihua, TONG Lianjun (4236)
Exergy-based life cycle accounting of household biogas system: a case study of Gongcheng, Guangxi	QI Jing, CHEN Bin, DAI Jing, et al (4246)
Review and Monograph	
The effects of changes in hydrological regimes and salinity on wetland vegetation: a review	ZHANG Guangxin (4254)
Advances in research on the seed bank of a saline-alkali meadow in the Songnen Plain	MA Hongyuan, LIANG Zhengwei, LÜ Bingsheng, et al (4261)
A new landscape expansion index: definition and quantification	WU Pengfei, ZHOU Demin, GONG Huili (4270)
Scientific Note	
Response of photosynthetic characteristics of <i>Psathyrostachys huashanica</i> Keng to drought stress	LI Qian, WANG Ming, WANG Wenwen, et al (4278)
The antifouling activities of <i>Callyspongia</i> sponge extracts	CAO Wenhao, YAN Tao, LIU Yonghong, et al (4285)

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7 国外邮发代号:M670 标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 32 卷 第 13 期 (2012 年 7 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 32 No. 13 (July, 2012)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:1000717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元