同时接种解磷细菌与丛枝菌根真菌对低磷土壤红三叶草养分利用的影响

秦芳玲[1],田中民[2]

(1 西安石油大学 化学化工学院,陕西 西安 710065;2 西安交通大学 生命科学院,陕西 西安 710049)

[摘 要] 【目的】研究解磷细菌和丛枝菌根真菌同时接种,对低磷土壤养分利用的影响。【方法】采用盆栽试验,通过测定生长于石灰性低磷土壤上红三叶草地上部的生物量及氮、磷营养吸收和根际酸性磷酸酶活性,研究丛枝菌根真菌、4 种解磷细菌(编号分别为 B_1、B_2、B_3 和 B_4)单独接种及同时接种对石灰性低磷土壤植物生长及氮、磷养分利用的影响。【结果】在石灰性低磷土壤条件下,4 种解磷细菌单独接种对红三叶草植株地上部的生长和总吸磷量均无促进作用;单独接种丛枝菌根菌或不同解磷细菌与丛枝菌根真菌同时接种,均能显著提高红三叶草地上部干质量和总吸氮、磷量;在同时接种处理中,解磷细菌 B_4 与丛枝菌根真菌间的相互作用对红三叶草的生长和氮、磷营养吸收具有明显的协同效应,能显著提高红三叶草地上部干质量、总吸氮和吸磷量及红三叶草根际酸性磷酸酶的活性。【结论】在石灰性低磷土壤中,解磷细菌与丛枝菌根真菌同时接种,对植物的氮、磷养分吸收具有明显的互作效应,但这种互作效应与解磷细菌和丛枝菌根真菌的种类有关,解磷细菌 B_4 与丛枝菌根菌同时接种效果最佳。

[关键词] 丛枝菌根真菌;解磷细菌;三叶草;酸性磷酸酶

[中图分类号] S144.9 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2009)06-0151-07

Effect of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and four different phosphate-solubilizing bacteria on nutrients uptake of red clover in a low phosphorus soil

QIN Fang-ling[1], TIAN Zhong-min[2]

(1 *School of Chemical Engineering, Xi'an Shiyou University, Xi'an, Shaanxi* 710065, *China*;
2 *School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi* 710049, *China*)

Abstract: 【Objective】 The purpose of this article is to investigate the effect of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) and different bacteria on phosphate-solubilizing in a low phosphorus calcareous soil. 【Method】 The red clover (*Trifolium pratense*) was seeded in the pot with the soil single inoculated with arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus mosseae strain*), single inoculated with four different phosphate (P)-solubilizing bacteria (numbered B_1, B_2, B_3 and B_4, separterly) or inoculation with both the phosphate (P)-solubilizing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungus . The shoot dry matter yields, nitrogen and phosphorus nutrition and acid phosphatase activity of red clover (*Trifolium pratense*) were analyzed to value the contribution of these microbes, especially for phosphate-solubilizing bacteria to the phosphorus uptake of red clover in a low phosphorus soil. 【Result】 Single inoculation with the P-solubilizing bacteria had no effect on the shoot yields, nitrogen and total phosphorus uptake of red clover. Single inoculation with *Glomus mosseae* and co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus and the P- solu-

* [收稿日期] 2008-09-18
[基金项目] 陕西省自然科学基础研究计划项目(2005C259)
[作者简介] 秦芳玲(1972-),女,陕西蓝田人,讲师,硕士,主要从事油田污染治理技术研究。
[通信作者] 田中民(1967-),男,陕西合阳人,副教授,博士,主要从事生物技术和生物生理研究。

bilizing bacteria treatments showed higher shoot yields, total nitrogen and phosphorus uptake than un-inoculated controls or single inoculation with the P-solubilizing bacteria. There was a synergistic effect between B_4 and arbuscular mycorrhizal fungi, which could enhance the shoot dry matter yields, total nitrogen and phosphorus uptake of red clover significantly, and promote the acid phosphatase activity in the rhizosphere. 【Conclusion】*Glomus mosseae* could help the release of insoluble P in the calcareous soil. This effect could be enhanced significantly by co-inoculation with *Glomus mosseae* and the P- solubilizing bacteria. However, the synergism was related to the thpe of bacteria. The inoculation treatment with arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) and B_4 had the best effect on the growth and nutrients uptake of red clover in a low phosphorus calcareous soil.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungus; phosphate-solubilizing bacterium; red clover; acid phosphatase

土壤中的磷通常以无机磷化合物和有机磷化合物2种形态存在,这2种形态磷绝大多数以不溶性或难溶性磷的形态存在,难以被植物吸收利用。通过施用磷肥可供给植物生长所需的磷,但由于可溶性磷酸盐在土壤中易被固定[1],导致磷肥的利用效率下降,为了提高其利用效率人们常加大磷肥用量,而过量施用磷肥又易造成经济上的浪费和环境危害[2]。土壤生物,如植物根系、土壤细菌和真菌等微生物能分泌胞外磷酸酶和有机酸,在土壤磷循环中具有重要的作用[3-10],所以研究通过生物途径促进土壤难溶性磷的转化,以供给植物生长所需的磷具有重要意义。

丛枝菌根真菌能够侵染陆地生态系统中的绝大多数植物,形成菌根共生体。丛枝菌根真菌可有效地促进宿主植物对土壤磷的吸收和利用,从而改善植物磷素营养,促进植物生长发育[11-12];土壤中的解磷微生物可合成和分泌一些有机酸和酶类,使土壤中的难溶性磷转化为可溶性磷,这也有利于植物对磷的吸收利用[9,13]。有研究表明,将以上2类微生物同时接种,其对植物生长和养分吸收的促进作用比单独接种任何一类微生物都强[14-19]。本研究将4种解磷能力较强的细菌与丛枝菌根真菌同时接种,研究其对石灰性低磷土壤上红三叶草生长和养分吸收的影响及其可能的影响机制,以期筛选出适合石灰性低磷土壤且与丛枝菌根真菌同时接种,对植物生长具有良好促进作用的解磷细菌。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 *供试土壤* 试验用土壤采自西北农林科技大学试验地,为石灰性低磷土壤,其速效磷(Olsen-P)为3.56 mg/kg,碱解氮为85.2 mg/kg,pH为8.13(水浸提法测定,每g土加水5 mL)。供试土样过孔径1 mm筛后在120 ℃下高压蒸汽灭菌2 h,以消除土生的菌根真菌。

1.1.2 *供试作物* 供试作物为红三叶草(*Trifolium pratense* L.)。将红三叶草种子在体积分数10% H_2O_2 中浸泡15 min进行表面消毒,而后置于湿润的滤纸上放置一夜催芽(15~20 ℃)。

1.1.3 *供试解磷细菌和丛枝菌根真菌* 供试解磷细菌ACCC10088(B_1)、10056(B_2)、10011(B_3)和ACCC10010(B_4),均由中国微生物菌种保藏管理中心提供,其中B_1、B_3、B_4为巨大芽孢杆菌(*Bacillus megatherium*),B_2为假单孢杆菌(*Psedomonas* sp.)。

供试丛枝菌根真菌为*Glomus mosseae*(Nicol & Gerdemann & Trappe)。*Glomus mosseae*预先经盆栽红三叶草繁殖,用含有足够孢子、根外菌丝和被感染根段的根际土壤混合物作为接种菌根菌剂。

1.2 试验方法

1.2.1 *解磷细菌的培养与接种* 采用细菌肉汤培养基,分别对4种解磷细菌进行液体培养(28 ℃,180 r/min)。当菌液浓度OD_{600}值达0.5以上时(菌液中的菌落数约为10^9 cfu/mL),取B_1、B_2、B_3和B_4的菌液各500 mL,进行高压蒸汽灭菌(121 ℃,1.2 kg/cm^2,30 min),杀死其中的解磷细菌以制得灭菌接种剂,未经高压灭菌的菌液即为解磷细菌接种剂。解磷细菌的接种采用拌土和浸种相结合的方法进行。拌土时,将解磷细菌接种剂和灭菌接种剂均稀释10倍,再分别进行拌土,每100 g土用量为6 mL,使接种解磷细菌的土壤含菌量约为10^6 cfu/g。将已催芽的红三叶草种子分别放入制备的解磷细菌接种剂和灭菌接种剂中浸泡1 h,然后播种。

1.2.2 *丛枝菌根真菌的接种* 取10 g丛枝菌根真

菌菌剂，撒施于种子下约 2 cm 的土层中；对照接种相同质量经灭菌的丛枝菌根真菌菌剂，再加 10 mL 浸泡过菌根接种物的滤液，以使除丛枝菌根真菌外的其他微生物区系与接种丛枝菌根真菌的处理保持一致。

1.2.3　施　肥　供试土壤施氮(N) 100 mg/kg、钾(K) 100 mg/kg、磷(P_2O_5) 50 mg/kg，其中氮肥和钾肥分别为硝酸铵(NH_4NO_3)和硫酸钾(K_2SO_4)，磷肥为磷矿粉(含 P_2O_5 20 mg/kg)和植酸(含 P_2O_5 30 mg/kg)。在红三叶草生长 2 周时追施 1 次磷肥(KH_2PO_4)，施肥量(以 P_2O_5 计)为 10 mg/kg，以保证各处理植株具有一定的生物量。

1.2.4　试验设计　试验设 4 种处理，分别为解磷细菌和丛枝菌根真菌同时接种(＋M＋B)、单独接种丛枝真菌根菌(＋M)、单独接种解磷细菌(＋B)和不接种处理(对照，CK)，每处理重复 4 次，随机排列。试验用塑料盆钵上端直径为 90 mm、下端直径为 60 mm、高为 105 mm，分别装各处理土壤 0.45 kg。

试验在温室中进行，红三叶草生长期间温度维持 20～25 ℃。每天光照时间为 14 h，早晨 07:00～08:00 和下午 17:00～20:00 用生物镝灯补充光照。待各盆出苗齐全后进行间苗，每盆留苗 30 株。

1.3　测定项目与方法

红三叶草生长 5 周后收获，分别取植株地上部和根系，清洗干净备用。称取 0.5 g 鲜根，用曲利苯兰染色-方格交叉法[20]测定菌根侵染率。用抖土法取根际土鲜样，参考文献[21]测定根际土壤酸性磷酸酶活性。由于各处理盆钵中红三叶草根系生物量较少，故仅对其地上部样品进行生物量测定。取红三叶草地上部样品，经 H_2O_2-H_2SO_4 消煮后获得消化样品，分别采用凯氏定氮法和钒钼黄比色法[22]测定消化样品的全氮和全磷含量(以质量分数(%)表示)。

1.4　数据处理

试验数据应用 SAS 统计软件进行方差分析，并用 Duncan 多重比较分析差异显著性。

2　结果与分析

2.1　不同解磷细菌对红三叶草丛枝菌根真菌侵染率的影响

由表 1 可见，未接种丛枝菌根真菌的处理红三叶草根系没有丛枝菌根真菌侵染，而接种丛枝菌根真菌的红三叶草根系菌根真菌的侵染率均较高。不同解磷细菌对红三叶草丛枝菌根真菌侵染率的影响不同，接种 B_1、B_3 或 B_4 能促进丛枝菌根真菌对红三叶草根系的侵染，接种 B_3 可使丛枝菌根真菌的侵染率较＋M 处理提高 21%，差异显著；接种 B_2 的红三叶草菌根真菌侵染率较＋M 处理有所降低，但未达到差异显著性水平。

表 1　解磷细菌与丛枝菌根真菌同时接种对红三叶草丛枝菌根真菌侵染率的影响

Table 1　Effect of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) and phosphate-solubilizing bacteria on the root colonization rate of arbuscular mycorrhizal fungi in red clover　%

处 理 Treatment	B_1	B_2	B_3	B_4
对照 CK	0 b	0 b	0 c	0 b
＋B	0 b	0 b	0 c	0 b
＋M	36.8 a	46.1 a	28.8 b	47.0 a
＋M＋B	39.4 a	35.8 a	34.8 a	57.1 a

注：同列数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)；标不同大写字母者表示差异极显著($P<0.01$)，下表同。

Note: Means in a column followed the different small and captial letters are significantly difference at $P<0.05$ and $P<0.01$ separtely.

2.2　丛枝菌根真菌与不同解磷细菌同时接种对红三叶草地上部干质量的影响

解磷细菌与丛枝菌根真菌同时接种对红三叶草地上部干质量的影响结果见表 2。由表 2 可见，接种丛枝菌根真菌可极显著促进红三叶草植株的生长；与 CK 相比，4 种解磷细菌单独接种均对红三叶草地上部干质量无显著影响；与 CK 和＋B 处理相比，＋M 和＋M＋B 处理红三叶草地上部干质量极显著增加($P<0.01$)；与单独接种丛枝菌根真菌处理(＋M)相比，丛枝菌根真菌与 B_1 或 B_2 同时接种对红三叶草地上部干质量无显著影响，而与 B_3 或 B_4 同时接种红三叶草地上干质量分别增加 63%和 41%，差异达极显著水平($P<0.01$)。

上述结果表明，在本试验条件下，单独接种解磷细菌对红三叶草地上部分生长均无明显的促进作用，B_3 或 B_4 与丛枝菌根真菌同时接种均可极显著提高红三叶草地上部干质量，即对红三叶草地上部的生长具有极显著的正效应。

表 2 解磷细菌与丛枝菌根真菌同时接种对红三叶草地上部干质量的影响

Table 2 Effect of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) and phosphate-solubilizing bacteriaon shoot dry weights of red clover g/盆

处 理 Treatment	B_1	B_2	B_3	B_4
对照 CK	0.36 bB	0.35 bB	0.29 cC	0.26 cC
+B	0.36 bB	0.33 bB	0.27 cC	0.35 cC
+M	0.94 aA	0.93 aA	0.75 bB	0.95 bB
+M+B	0.95 aA	0.92 aA	1.22 aA	1.34 aA

2.3 丛枝菌根真菌与不同解磷细菌同时接种对红三叶草地上部氮、磷吸收的影响

2.3.1 对氮吸收的影响 表 3 为不同接种处理红三叶草地上部含氮量和总吸氮量。表 3 表明,在单独接种解磷细菌的处理中,接种 B_1、B_2 和 B_3 处理红三叶草地上部的含氮量和总吸氮量与对照处理均无显著差异,表明这 3 种解磷细菌在单独接种时对红三叶草地上部分氮营养没有改善作用;接种 B_4 可显著提高红三叶草地上部含氮量和总吸氮量($P<0.05$)。

接种丛枝菌根真菌各处理(+M 和+M+B)红三叶草地上部的含氮量均显著低于不接种丛枝菌根真菌的处理(CK 和+B),但其总吸氮量均显著高于不接种丛枝菌根真菌的处理,这可能是由于接种丛枝菌根真菌处理的红三叶草地上部生物量显著高于不接种丛枝菌根真菌的处理(表 2)而导致的稀释效应所致。

在解磷细菌和丛枝菌根真菌同时接种的处理中,B_1、B_2 和 B_3 同时接种的处理(+M+B)与相应的单独接种丛枝菌根真菌处理(+M)相比,红三叶草地上部氮营养没有改善;而 B_4 与丛枝菌根真菌同时接种使红三叶草地上部的总吸氮量提高 27%,差异极显著($P<0.01$)。表明丛枝菌根真菌与 B_4 同时接种对红三叶草地上部氮营养的改善具有一定的正交互作用。

表 3 解磷细菌与丛枝菌根真菌同时接种对红三叶草地上部含氮量和总吸氮量的影响

Table 3 Effect of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) and phosphate-solubilizing bacteriaon shoot nitrogen concentration and total nitrogen uptake of red clover

处 理 Treatment	B_1		B_2		B_3		B_4	
	含氮量/% N content	总吸氮量/(g·盆$^{-1}$) N uptake	含氮量/% N content	总吸氮量/(g·盆$^{-1}$) N uptake	含氮量/% N content	总吸氮量/(g·盆$^{-1}$) N uptake	含氮量/% N Content	总吸氮量/(g·盆$^{-1}$) N uptake
对照 CK	7.401 a	2.66 b	6.367 a	2.23 b	6.54 a	1.90 b	6.939 a	1.80 d
+B	7.091 a	2.55 b	6.549 a	2.16 b	6.08 a	1.64 b	6.472 b	2.27 c
+M	4.865 b	4.57 a	4.457 b	4.15 a	4.73 bB	3.55 a	4.504 c	4.28 bB
+M+B	3.726 b	3.54 ab	4.153 b	3.82 a	3.27 cC	3.99 a	4.057 d	5.44 aA

2.3.2 对磷吸收的影响 表 4 为不同接种处理红三叶草地上部的含磷量和总吸磷量。表 4 表明,与对照相比,单独接种解磷细菌对改善红三叶草植株地上部的磷营养没有作用;+M 和+M+B 处理红三叶草地上部含磷量和总吸磷量均显著高于不接种丛枝菌根真菌的处理(CK 和+B 处理)。表明丛枝菌根真菌对红三叶草地上部磷营养具有明显的改善作用。

表 4 解磷细菌与丛枝菌根真菌同时接种对红三叶草地上部含磷量和总吸磷量的影响

Table 4 Effect of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) and phosphate-solubilizing bacteriaon shoot phosphorous concentration and total phosphorous uptake of red clover

处 理 Treatment	B_1		B_2		B_3		B_4	
	含磷量/% P content	总吸磷量/(g·盆$^{-1}$) P uptake	含磷量/% P content	总吸磷量/(g·盆$^{-1}$) P uptake	含磷量/% P content	总吸磷量/(g·盆$^{-1}$) P uptake	含磷量/% P content	总吸磷量/(g·盆$^{-1}$) P uptake
对照 CK	0.128 b	0.05 b	0.097 b	0.04 b	0.116 b	0.03 c	0.122 c	0.03 c
+B	0.111 b	0.04 b	0.104 b	0.03 b	0.095 b	0.03 c	0.105 c	0.04 c
+M	0.257 a	0.24 a	0.298 a	0.28 a	0.209 a	0.16 bB	0.259 a	0.25 bB
+M+B	0.257 a	0.24 a	0.303 a	0.28 a	0.200 a	0.24 aA	0.222 b	0.30 aA

表 4 还表明,与相应的单独接种丛枝菌根真菌处理相比,B_1、B_2 和 B_3 与丛枝菌根真菌同时接种对红三叶草地上部含磷量无显著影响;而 B_4 与丛枝菌根真菌同时接种能使红三叶草地上部含磷量降低

14.29%，差异显著（$P<0.05$）。这可能是由于接种丛枝菌根真菌处理的红三叶草地上部生物量显著高于不接种丛枝菌根真菌的处理（表 2）而导致的稀释效应所致。从总吸磷量来看，与单独接种丛枝菌根真菌处理（＋M）相比，B_3 和 B_4 与丛枝菌根真菌同时接种，可使红三叶草地上部总吸磷量分别增加 50.0%和 20.0%，差异极显著（$P<0.01$）；B_1 和 B_2 与丛枝菌根真菌同时接种，对红三叶草地上部的总吸磷量无显著影响。

2.4　丛枝菌根真菌与不同解磷细菌同时接种对红三叶草根际酸性磷酸酶活性的影响

由表 5 可见，与对照相比，解磷细菌 B_2 和 B_4 单独接种，均对红三叶草根际酸性磷酸酶活性无显著影响；B_1 单独接种能使红三叶草根际酸性磷酸酶活性降低 11.54%，但差异不显著；B_3 单独接种使红三叶草根际酸性磷酸酶活性增加 42.88%，差异达极显著水平。

与对照相比，B_2 和 B_3 的＋M 处理对红三叶草根际酸性磷酸酶活性无显著影响；B_1 的＋M 处理能使红三叶草根际酸性磷酸酶活性提高 23.72%（$P<0.05$）；B_4 的＋M 处理可使红三叶草根际酸性磷酸酶活性极显著增加，增幅达 110.0%（$P<0.01$）。

与相应的单独接种丛枝菌根真菌处理（＋M）相比，B_4 与丛枝菌根真菌同时接种处理红三叶草的根际酸性磷酸酶活性极显著增高，增幅达 40.48%；B_1 和 B_3 与丛枝菌根真菌同时接种处理红三叶草根际酸性磷酸酶活性均有增加，但差异不显著；B_2 与丛枝菌根真菌同时接种处理红三叶草根际酸性磷酸酶活性降低，但差异也不显著。

由上述结果可知，在本试验条件下，解磷细菌 B_1 或 B_4 与丛枝菌根真菌同时接种，对红三叶草根际酸性磷酸酶活性的影响存在相互促进的正交互作用；B_2 与丛枝菌根真菌同时接种对红三叶草根际酸性磷酸酶活性的影响则表现为负交互作用；B_3 与丛枝菌根真菌同时接种对红三叶草根际酸性磷酸酶活性无显著影响。

表 5　解磷细菌与丛枝菌根真菌同时接种对红三叶草根际酸性磷酸酶活性的影响

Table 5　Effect of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) and phosphate-solubilizing bacteria on rhizosphere acid phosphatase activity of red clover　　mg/(g・h)

处理 Treatment	B_1	B_2	B_3	B_4
对照 CK	9.74 bcAB	13.10 a	11.48 bB	2.40 cC
＋B	8.61 c B	14.05 a	16.41 aA	2.35 cC
＋M	11.41 abAB	15.47 a	10.89 bB	5.04 bB
＋M＋B	12.05 a A	13.89 a	11.72 bB	7.08 aA

3　讨　论

在本试验中，不同解磷细菌对丛枝菌根真菌侵染红三叶草根系的影响不同，其中 *Bacillus megatherium* 属的 B_1、B_3 和 B_4，在一定程度上有利于丛枝菌根真菌侵染，而 *Pseudomona* sp. 属的 B_2 则不利于丛枝菌根真菌侵染红三叶草根系。这与许多研究认为 *Bacillus* 和 *Pseudomonas* 属细菌能提高植物丛枝菌根真菌侵染率的结论[7,23]不完全一致，表明菌根的形成及其作用的发挥受其他接种微生物的影响，并与接种微生物种类有关[24]。Abott 等[25]认为，丛枝菌根真菌与微生物间的定向选择作用，可能是由于细菌影响丛枝菌根真菌侵染初期的识别反应和侵染进程（如提高丛枝菌根侵染速度、扩大侵染范围），而产生的一种直接或间接作用。这种作用对外生菌丝在土壤中的延伸生长、分布和存活有一定的影响[26]，进而影响到宿主植物的生长和养分吸收。本试验中，B_3 和 B_4 与丛枝菌根真菌同时接种对红三叶草地上部生长和养分吸收具有促进作用，而 B_2 与丛枝菌根真菌同时接种，对红三叶草生长和养分吸收无影响，这可能与前者较后者更有利于丛枝菌根真菌侵染及其功能的发挥有关。

在本试验中，单独接种解磷细菌对红三叶草的磷营养无明显改善作用，其地上部生物量也未见显著增加。这可能是由于，解磷细菌能否使土壤中的难溶性磷化合物溶解释放出可溶性磷，不仅取决于其解磷能力的强弱，也与其作用的环境条件（即供试土壤的农化性状）有关[27]。本试验供试土壤为石灰性土壤，呈碱性且可溶性钙离子含量较高，对解磷细菌作用的发挥具有一定的抑制作用。

本研究中，接种丛枝菌根真菌处理的红三叶草地上部干质量、含磷量和总吸磷量均显著高于不接种丛枝菌根真菌处理，表明丛枝菌根真菌在红三叶草生长和磷营养改善中发挥着巨大作用，这与许多研究结果一致[15,17,21]。不同解磷细菌与丛枝菌根真菌间的相互作用，对红三叶草生长和磷吸收的影响不同，其中 B_3 和 B_4 与丛枝菌根真菌同时接种有利于红三叶草地上部的生长和对土壤磷酸盐的吸收利

用,而 B_1 和 B_2 与丛枝菌根真菌同时接种则对红三叶草的生长和磷营养改善没有影响,这与前人的一些研究结果[28,14]不一致。B_3 和 B_4 与丛枝菌根真菌同时接种有利于植物生长和磷吸收的原因,可能是其相互作用有利于土壤的磷循环所致[29-31]。

本研究中,解磷细菌 B_3 和 B_4 与丛枝菌根真菌同时接种,对红三叶草生长的促进作用,除与其相互作用有利于植物对土壤中难溶性磷的吸收利用外,还可能与其,尤其是 B_4 有利于提高红三叶草对氮素的吸收利用有关。单独接种 B_4 处理,红三叶草地上部总吸氮量较对照提高了 24.94%,而同时接种处理红三叶草地上部总吸氮量则比单独接种丛枝菌根真菌处理增加 27.07%,这与 Azcon-Aguilar[32]等在中性钙质土壤上对大豆的研究结果一致。究其原因,一方面可能是由于解磷细菌 B_3 和 B_4 具有固氮和矿化土壤氮素的能力[33],另一方面可能与丛枝菌根真菌菌丝形成的菌丝桥,有利于土壤中的氮素向红三叶草根系传递有关[14,34]。解磷细菌与丛枝菌根真菌同时接种促进植物对氮素的吸收利用,在豆科作物上作用明显[14,32]。

总之,从枝菌根真菌和解磷细菌同时接种,对植物生长和磷营养具有一定的促进作用,其促进作用的大小与解磷细菌的种类有关。在本试验研究的 4 种解磷细菌中,无论从红三叶草生长状况和植株的氮、磷营养来看,还是从根际中酸性磷酸酶活性来看,解磷细菌 B_4 与丛枝菌根真菌同时接种,对石灰性土壤上红三叶草的生长和磷营养的改善具有协同作用,B_4 是本试验条件下与丛枝菌根真菌同时接种效果较好的解磷细菌。

[参考文献]

[1] Sanyal S K,DeDatta S K. Chemistry of phosphorus transformations in soil [J] . Adv Soil Sci, 1991, 16:1-120.

[2] 林 葆. 中国肥料 [M]. 上海:上海科学技术出版社,1994:13-32.
Lin B. Chinese fertilizer [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press,1994:13-32. (in Chinese)

[3] Gerretsen F C. The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant [J]. Plant Soil,1948,1:51-81.

[4] Cunningham J E,Kuiack C. Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphate by *Penicillium bilaii* [J]. Applied and Environmental Microbiology ,1992,58:1451-1458.

[5] Omar S A. The role of rock-phosphate-solubilizing fungi and vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM) in growth of wheat plants fertilized with rock phosphate [J]. World J Microbiol Biotech,1998,14:211-218.

[6] Tarafdar J C,Marschner H. Phosphatase activity in the rhizosphere and hyphosphere of VAM wheat supplied with inorganic and organic phosphorus [J]. Soil Biol Biochem. 1994,26:387-395.

[7] Kucey R M N. Increased phosphorus uptake by wheat and feild beans inoculated with a phosphorus-solubilizing *Penicillium bilaji* strain and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Appl Environ Micr-obiol,1987,53:2699-2703.

[8] Steven A,Wakelin R A,Warren P R,et al. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots [J]. Biol Fertil Soils,2004,40:36-43.

[9] Trivedi P,Sa T. Pseudomonas corrugate (NRRLB-30409) mutants increased phosphate solubilization,organic acid production,and plant growth at lower temperatures [J]. Curr Microbiol,2008,56:140-144.

[10] Tarafdar J C,Marschner H. Phosphatase activity in the rhizosphere and hyphosphere of VAM wheat supplied with inorganic and organic phosphorus [J]. Soil Biol Biochem,1994,26:387-395.

[11] Barea J M. Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility [J]. Adv Soil Sci,1991,15:1-40.

[12] Tarafdar J C,Kumar P. The role of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on crop,tree and grasses grown in an arid environment [J]. J Arid Environ,1996,34:197-203.

[13] 金术超,杜春梅,平文祥,等. 解磷微生物的研究进展 [J]. 微生物学杂志,2006,26(2):73-78.
Jin S C,Du C M,Ping W X,et al. Advance in phosphorus-dissolving microbes [J]. Journal of Microbiology ,2006,26(2):73-78. (in Chinese)

[14] Singh S,Kapoor K K. Effects of inoculation of phosphate-solubilizing microorganisms and an arbuscular mycorrhizal fungus on mungbean grown under natural soil conditions [J]. Mycorrhiza,1998,7:249-253.

[15] Yao q,Qin F L,Li X L,et al. Utilization of sparingly soluble phosphate by red clover in association with *Glomus mosseae* and Bacillus megaterium [J]. Pedosphere,2002,12(2):131-138.

[16] Singh S,Kapoor K K. Inoculation with phosphate- solubilizing microorganisms and avesicular-arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil [J]. Biol Fertil Soils,1999,28,139-144.

[17] 秦芳玲,王敬国,李晓林,等. 解磷细菌和 VA 菌根菌同时接种对三叶草生长和磷吸收的影响 [J]. 草业学报,2000,9(1):9-14.
Qin F L,Wang J G,Li X L,et al. Effect of VA mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria on growth and phosphorus uptake of red clover [J]. Acta Pratacul Turae Sinica,2000,9(1):9-14. (in Chinese)

[18] Babana A H, Antoun H. Effect of Tilemsi phosphate rock-solubilizing microorganisms on phosphorus uptake and yield of ? eld-grown wheat (*Triticumaestivum* L.) in Mali [J]. Plant

and Soil，2006，287：51-58.

[19] Muthukumar T，Udaiyan K，Rajeshkannan V. Response of neem (*Azadirachta indica A. Juss*) to indigenous arbuscular mycorrhizal fungi，phosphate-solubilizing and asymbiotic nitrogen-fixing bacteria under tropical nursery conditions [J]. Biol Fertil Soils ，2001，34：417-426.

[20] Phillips J M，Hayman D S. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection [J]. Trans Br Mycol Soc，1970，55：158-161.

[21] 宋勇春，李晓林，冯　固. 丛枝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 Y C，Li X L，Feng G. Effect of phosphatase activity on soil organic phosphorus loss in the environment of clover growth [J] . Acta Ecologic Sinica，2001，21(7)：1130-1135. (in Chinese)

[22] 南京农业大学. 土壤农化分析 [M]. 2 版. 北京：中国农业出版社，1992：213-218.
Nanjing Agricultual University. Soil analysis in agricultural chemistry[M]. 2nd Edition. Beijing：China Agricultural Press，1992：213-218. (in Chinese)

[23] Azcon R. Growth and nutrition of nodulated mycorrhizal and non-mycorrhizal *Hedysarum coronarium* as a result of treatment with fractions from a plant growth-promoting rhizobacteria [J]. Soil Biol Biochem，1993，25：1037-1042.

[24] Toro M，Azcon R，Herrera R. Effect of yield and nutrition of mycorrhizal and nodulated *Pueraria phaseoloides* exterted by P-solubilizing rhizobacteria [J]. Biol Fertil Soils，1996，21：23-29.

[25] Abott L K，Robson A D. Infectivity and effectiveness of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi：Effect of inoculum type [J]. Aust J Agric Res，1981，32：631-639.

[26] Kim K Y，Jordan D，Mcdonald G A. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscu- larmycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity [J]. Boil Fertil Soils，1998，26：79-87.

[27] Piccini D，Azcon R. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the utilization of Bayovar rock phosphate by alfalfa plants using a sand-vermiculite medium [J]. Plant and Soil，1987，101：45-50.

[28] Banik S，Dey B K. Phosphate-solubilizing micro-organisms of a lateritic soil Ⅲ. Effect of inoculation of some tricalcium phosphate-solubilizing micro-organisms on available content of rhizosphere soils of rice(*Oryza sativa L. cv.* IR-20) plants and their uptake of phosphorus [J]. Zentralbl Bakteriol II Abt，1981，136：493-501.

[29] Azcon-Aguilar C，Barea J M. Effect of interactions between different culture fractions of 'phosphobacteria' and Rhizobium on mycorrhizal infection，growth and nodulation of *Medicogo sativa* [J]. Can J Microbiol，1978，24：520-524.

[30] Jurinak J J，Dudley L M，Allen M F，et al. The role of calcium oxalate in the availability of phosphorus in soils of semi-arid regions：a htermodynamic study [J]. Soil Sci，1986，142：255-261.

[31] Kinght W G，Allen M F，Jurinak J J，et al. Elevated carbon dioxcide and solution phosphorus in soil with vesicular-arbuscular mycorrhizal western wheatgrass [J]. Soil Sci Soc AM J，1989，53：1075-1098.

[32] Azcon-Aguilar C，Gianinazzi-pearson V，Fardeau J C，et al. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria on growth and nutrients of soybean in netural-calcareous soil amended with ^{32}P-^{45}Ca-tricalcicum phosphate [J]. Plant and Soil，1986，96：3-15.

[33] Sigh H P，Sigh T A. The interaction between of rock phosphate，Bradyrhizobium，vesicular-arbuscular mycorrhizae and phosphate-solubilizing microes on soybean grown in sub-Himalayan Mollisol [J]. Mycorrhiza，1993，4：37-43.

[34] Johansen A I，Jakobsen I，Jensen E S. Hyphal N transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus associated with cucumber grown at three nitrogen levels [J]. Plant Soil，1994，160：1-9.