

# 丛枝菌根真菌对红三叶草利用不同有机磷源的研究

宋勇春, 冯固, 李晓林

(中国农业大学植物营养系, 北京 100094)

**摘要:**以红三叶草为材料, 利用三室隔网培养方法, 施用不同有机磷源: 植酸钠(Na-Phytate)、核糖核酸(RNA)和卵磷脂(Lecithin), 研究接种菌根真菌 *Glmous versiforme* 对土壤及外加有机磷源的利用效率, 另设无机磷及不施磷作为对照。结果表明, 接种菌根真菌能明显增加植株干物重、含磷量和吸磷总量。与各有机磷处理相比, 无机磷处理前期的生长效应较好, 施用有机磷各处理在不同生长期均明显促进了植株生长, 但不同有机磷源之间没有显著差异。在植株吸磷量上, 植株生长 7 周以前, 磷酸二氢钾处理高于其它处理, 而植株生长 10 周时, 植酸钠处理高于磷酸二氢钾处理。接种菌根处理由于丛枝菌根活化了土壤有机磷, 到植株生长 10 周时其吸收有机磷的量已占吸磷总量的 76.7%。

**关键词:**丛枝菌根真菌; 红三叶草; 土壤磷; 有机磷

**中图分类号:**S154.3    **文献标识码:**A    **文章编号:**1008-505X(2001)04-0452-07

土壤有机磷一般占土壤全磷的 20%~80%, 只有矿化后才能被植物大量吸收。有机磷矿化受土壤微生物的控制。据报道, 存在于土壤和植物根上的微生物几乎有一半具有矿化有机磷的能力<sup>[1]</sup>。菌根是真菌与植物根系形成的共生联合体, 广泛存在于自然界, 尤其是内生菌根中的丛枝菌根(AM), 分布更为广泛<sup>[2]</sup>。多年来对菌根利用土壤无机磷机理的研究已取得了长足进展, 但关于丛枝菌根真菌能否分泌磷酸酶以及在有机磷源磷利用中的作用曾有报道, 但在有限的报道中观点也不一致。Jayachandran 等指出, 泡囊丛枝(VA)菌根真菌在有机磷矿化中可能起作用<sup>[4]</sup>; Joner 认为菌丝能利用膜界面以外的土壤有效磷, 但不影响土壤有机磷的含量<sup>[5]</sup>; Tarafdar 和 Marschner 则指出, 接种菌根真菌可以增加土壤磷酸酶活性, 能促进土壤有机磷的释放<sup>[6]</sup>。为进一步探讨 VA 菌根真菌对土壤有机磷的利用情况, 本试验以土壤中有代表性的 3 种有机磷化合物作为磷源, 通过分室隔网技术, 将菌丝吸收区与根系吸收区在空间位置上区分开, 以红三叶草为供试植物, 接种菌根真菌来定量测定菌根利用各种有机磷源的能力。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验装置和材料

试验采用有机玻璃制成的三室装置<sup>[7]</sup>, 包括一个根室和两个边室, 根室和边室之间用孔径 30 μm 的尼

收稿日期: 2000-06-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(39790100); 国家重点基础发展规划 973 项目(G1999011807)资助。

作者简介: 宋勇春(1970—), 女, 黑龙江萝北县人, 博士, 主要从事根际和菌根际的酶学研究。

本文由陆景陵教授精心修改, 特此致谢。

龙网或 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 的膜隔开,前者使根系限制在根室中生长,而菌根菌丝可以穿过尼龙网到边室土壤中吸收养分,后者则不仅限制了根系也使菌丝只能在根室内活动。

供试土壤采自中国农业大学昌平长期定位肥料试验地单施氮肥的小区,施氮(N)水平为 $270\text{ kg}/\text{hm}^2$ 。其有机质含量 $1.24\%$ ,全N $0.08\%$ ,速效N $87.2\text{ mg/kg}$ ,Olsen-P $3.06\text{ mg/kg}$ , $\text{NH}_4\text{OAc-K}$  $100.3\text{ mg/kg}$ ,pH7.5。供试作物为红三叶草(*Trifolium pratense L.*);菌根菌种为*Glomus versiforme*,先用砂土盆栽玉米繁殖,生长3个月后用已受真菌侵染的根段和含有菌丝的根际土壤作为菌根接种剂。

## 1.2 试验设计

试验设不施磷肥(CK)、施磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )、施核糖核酸(RNA)、施卵磷脂(Lecithin)和施植酸钠( $\text{Na-Phytate}$ )等处理,施用量为 $50\text{ mg/kg}$ ,所有有机磷均施在边室中。每个施肥处理又分别设接种(+M)菌根和不接种(-M)菌根,另设一个菌根对照(VA control,根室与边室之间用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 的膜隔开,将菌丝限制在根室中且根室不施磷),共11个处理,每个处理重复5次。为了保证三叶草正常生长,各处理均施有N $200\text{ mg/kg}$ ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )、K $150\text{ mg/kg}$ ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ )、Mg $50\text{ mg/kg}$ ( $\text{MgSO}_4$ )和Zn $5\text{ mg/kg}$ ( $\text{ZnSO}_4$ )。作物生长期各处理追施一次氮肥(N $50\text{ mg/kg}$ ),保证氮素供应充足。

将 $15\text{ g}$ 接种剂和 $100\text{ g}$ 土壤完全混匀后装入菌根处理的中室,对照组则加入相同重量的灭菌处理的接种剂和 $10\text{ mL}$ 菌种滤液,以保证土壤微生物区系一致。边室土壤为 $360\text{ g}$ 。播种前,三叶草种子在 $10\text{ % H}_2\text{O}_2$ 中浸泡 $10\text{ min}$ 进行表面消毒,而后置于湿润的滤纸上放置一昼夜使之发芽,每盆在根室中播种 $70$ 粒,并在各室土壤表面覆盖一层石英砂以减少水分蒸发。试验在生长室中进行,生长期温度 $20\sim 28^\circ\text{C}$ ,光照时间为 $15\text{ h/d}$ ,每天8点到23点用生物镝灯补充光照。

## 1.3 分析测定方法

三叶草分别于生长5、7和10周收获。收获时将根系取出洗净后,称取 $0.5\text{ g}$ 鲜根用锥虫蓝染色后以方格交叉法测定菌根侵染率。根系的其余部分和地上部经烘干、磨细后,用于测定含磷量。

# 2 试验结果

## 2.1 不同磷源对菌根侵染率和植株生长的影响

从表1可以看出,未接种菌根真菌的处理均未发现有菌根侵染,而接种菌根真菌的植株不论边室土壤是否施磷都有较高程度的侵染。收获后对边室土壤显微观察发现,接种各处理的整个边室土壤中都有大量的菌丝。总的来看,各处理菌根侵染率在植株生长7周时达到最高,10周时又有所下降。在植物生长过程中,植株生长5周时,菌根对照侵染率最低,其次是未施磷处理(CK+M),所有施磷的均高于未施磷的处理,这说明在生长前期供给一定数量的磷有利于菌根侵染。但植株生长至7和10周时,均是植酸钠处理菌根侵染率最高,而无机磷处理侵染率最低。这与已有的研究结果相一致,即供给有机磷能促进菌根侵染<sup>[5]</sup>。

在各生长期与不接种处理相比,接种菌根真菌对红三叶草植株生长都有显著促进作用,接种处理的植株干物重显著增加。植株生长前期(5、7周),磷酸二氢钾的作用表现最好。对各有机磷源而言,5周时卵磷脂处理的效果最好,7周时有所下降,10周时又上升。而植酸钠处理在生长前期效果较差,但10周时其作用已超过卵磷脂。从磷源对植株干物重增加量的影响可以看出,接种后,随生长天数增加,磷源的促进作用增加。然而不接种条件下,各磷源对植株生长的影响不大,磷酸二氢钾与植酸钠作用相似,产生这种现象的原因还需进一步深入研究。从表1还可以看出,不同生长期,各接种处理均有良好的生长效应,在限制根外菌丝发展的情况下(菌根对照),菌根化植株仍比未接种菌根对照处理有好的生长效应,植株生长5、7、10周时,其干物重增量分别为 $0.06$ 、 $0.33$ 、 $0.83\text{ g/pot}$ 。

表 1 不同磷源对菌根侵染率及三叶草干物重的影响

Table 1 Mycorrhizal infection rate and dry weight of different treatments

处理 Treat.	生长 5 周		生长 7 周		生长 10 周	
	侵染率 Infec. Rate (%)	干物量 Dry wt. (g/pot)	侵染率 Infec. Rate (%)	干物量 Dry wt. (g/pot)	侵染率 Infec. Rate (%)	干物量 Dry wt. (g/pot)
CK - M	0.0 c	0.44 d	0.0 e	0.93 e	0.0 d	1.29 e
CK + M	46.6 b	0.60 ab	66.0 b	1.34 c	58.5 bc	2.26 b
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - M	0.0 c	0.57 b	0.0 e	0.99 d	0.0 d	1.41 d
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + M	49.2 a	0.68 a	55.6 d	1.63 a	50.0 c	2.54 a
Lecithin - M	0.0 c	0.49 c	0.0 e	1.00 d	0.0 d	1.36 de
Lecithin + M	50.1 a	0.63 ab	67.3 ab	1.53 ab	60.3 b	2.46 ab
RNA - M	0.0 c	0.54 bc	0.0 e	0.99 d	0.0 d	1.33 de
RNA + M	50.5 a	0.61 ab	68.2 ab	1.53 ab	62.1 ab	2.40 ab
Na - phytate - M	0.0 c	0.50 c	0.0 e	0.98 d	0.0 d	1.49 d
Na - phytate + M	48.0 b	0.61 ab	71.7 a	1.45 b	65.7 a	2.58 a
VA control	46.0 b	0.50 c	62.1 c	1.26 c	57.6 bc	2.12 c

注:应用 LSR 法检验处理间差异程度,同一竖栏中的不同字母表示差异达到 5% 显著水平(下同)。

Note: The LSR method was used to test the significance of difference, mean values followed the same letters in a column are not significantly different at  $p \leq 0.05$  (Same as follows).

## 2.2 菌根在三叶草利用不同磷源中的作用

2.2.1 接种对三叶草植株含磷量的影响 从图 1 可以看出,在生长过程中,各接种处理的含磷量始终均高于相应的不接种处理。各处理地上部含磷量除菌根对照外(7 周与 10 周时的含磷量一致)均是 5 周时高于 7 周,10 周时又上升。总的的趋势是,植株生长 5 周时,未接种的各有机磷处理其地上部含磷量均高于根系,而未接种的无机磷处理则是根系含磷量高于地上部,因为磷酸二氢钾是植株可直接利用的形态,土壤中有效态磷含量最高,植物生长前期吸收充足的磷多分布于根内,这说明供给磷源不同,植株体内磷的分布也有差异。植株生长 7 周时,各处理含磷量均是根系高于地上部,但与 5 周时相比地上部含磷量降低,这可能是由于植株生长造成的稀释效应。由于磷源物质的性质不同,生长前期无机磷处理植株

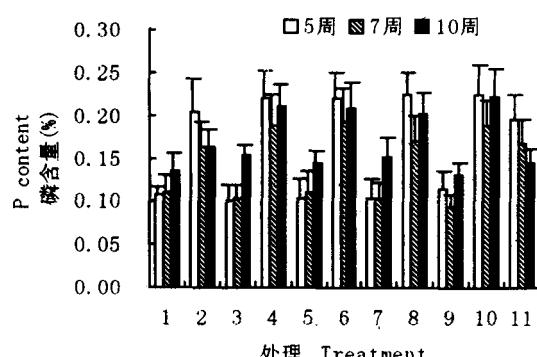


图 1 不同生长时期的植株各处理含磷量的变化

Fig.1 Change of plant P content of different periods of growth

(1: CK - M, 2: CK + M, 3: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - M,  
4: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + M, 5: Lecithin - M, 6: Lecithin + M,  
7: RNA - M, 8: RNA + M, 9: Na - phytate - M,  
10: Na - phytate + M, 11: VA control)

的含磷量均最高。植株生长 10 周时,各处理的含磷量又表现为地上部大于根系,植酸钠处理植株地上部含磷量已高于无机磷处理。以上结果说明,各生长时期植株吸磷能力出现差异,不同生长时期植株对不同磷源的利用效率不同。

**2.2.2 菌根和菌丝对解磷的贡献** 表 2 为比较菌根化和非菌根化植株对不同磷源的磷吸收量(为磷源处理与 CK 植株吸磷量的差值)及菌根的贡献。表中不接种和接种处理植株从不同磷源中吸收的磷量分别为施磷处理植株吸磷量与相应的不施磷(CK)处理的植株吸磷量的差值。结果表明,菌根侵染可使植株对各种磷源(包括土壤有机磷)中磷的吸收量增加。植株生长 5 周时,接种处理对不同磷源磷吸收量增加量的顺序为磷酸二氢钾>卵磷脂>核糖核酸>植酸钠>对照;植株生长 7 周时,顺序为磷酸二氢钾>卵磷脂>植酸钠>核糖核酸>对照,卵磷脂释放磷的速率较快;植株生长 10 周时,顺序为植酸钠>磷酸二氢钾>卵磷脂>核糖核酸>对照,植酸钠释放磷的速率明显加快,而核糖核酸在红三叶草整个生长过程中释放缓慢。

表 2 菌根对植株磷营养的贡献

Table 2 Contribution of mycorrhizae to P nutrition of plant

处理 Treatment	吸磷总量(mg/pot)			吸收磷酸盐量(mg/pot)			贡献率(%)		
	Total P uptake			P from phosphate			Contribution		
	5	7	10	5	7	10	5	7	10
周(week)									
CK-M	0.47 e	1.03 d	1.74 e						
CK+M	1.22 b	2.19 c	3.72 c						
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -M	0.57 d	1.02 d	2.16 d	0.10 <sup>1)</sup>	—	0.42	—	—	—
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> +M	1.49 a	3.06 a	5.37 ab	0.27	0.87	1.65	18.1	28.4	30.7
Lecithin-M	0.50 d	1.11 d	1.97 d	0.03	0.08	0.23	—	—	—
Lecithin + M	1.38 ab	2.95 a	5.12 ab	0.16	0.76	1.40	11.6	25.8	27.3
RNA-M	0.56 d	1.01 d	2.01 d	0.09	—	0.27	—	—	—
RNA+M	1.37 ab	2.59 b	4.81 b	0.15	0.40	1.09	10.9	15.4	22.7
Na-phytate-M	0.57 d	0.92 d	1.95 d	0.10	—	0.21	—	—	—
Na-phytate+M	1.37 ab	2.71 ab	5.76 a	0.15	0.52	2.04	10.9	19.2	35.4
VA control	0.97 c	2.10 c	3.06 cd	0.50 <sup>2)</sup>	1.07	1.33			

1) 植株吸收施入的磷酸盐量 = 各磷源处理植株吸磷总量—不施磷对照(CK)处理的植株吸磷量

P uptake by plant from phosphate = Total P uptake of P treatment — Total P uptake of without P treatment(CK)

2) 菌根吸收的土壤磷酸盐量 = 菌根对照植株吸磷总量—CK-M 处理蜘蛛吸磷总量

P uptake by AMF form soil = Total P uptake of VA control — total P uptake of CK - M treatment

从表 2 还可以看出,植株生长 5 周时,菌根对照植株吸收的土壤总磷量已达到 0.50 mg,远高于根室土壤有效磷总量 0.31 mg。假设这部分磷可被全部利用,超出的 0.19 mg 磷大多只能来自土壤有机磷;植株生长 7 周时,植株吸收的土壤总磷量为 1.07 mg,从土壤吸收的有机磷量为 0.760 mg,占植株吸收总磷量的 71.2%;植株生长 10 周时,植株吸收的土壤总磷量为 1.33 mg,从土壤吸收的有机磷量为 1.02 mg,占其吸收总磷量的 76.7%。对其他磷源处理来说,植株生长 10 周时,磷酸二氢钾和植酸钠处理其根外菌丝吸磷量已超过

2.203mg(两边室土壤有效磷总量之和),说明此时菌丝吸收了部分外加磷源来满足植株生长的需求,尤其应指出的是菌丝对植酸钠处理磷的吸收量超过了磷酸二氢钾处理,无机磷在三叶草生长初期对根系侵染和菌丝形成有着重要作用,但随着生长期的延长,中后期却显示出有机磷(植酸钠)对三叶草生长的良好作用。

表3为菌根化植株磷吸收量(为磷源处理与CK植株吸磷量的差值)及菌丝对植株磷营养的贡献。菌丝吸收的磷酸盐量为某一磷源处理菌根化植株与菌根对照吸收磷量的差值。可以看出随生长时间延长,植株吸磷量显著增加,尤以植酸钠处理增加幅度最大,菌丝吸磷量也有相似趋势。生长5周时磷酸二氢钾处理菌丝吸磷量最大,其次时卵磷脂处理;生长10周时植酸钠处理菌丝吸磷量已远高于磷酸二氢钾处理,其对植株磷营养的贡献率最大。

从以上试验结果可以看出,由于菌根共生体系的形成,土壤原有磷源和外加有机磷源的利用率都大大提高。

表3 菌丝对植株磷营养的贡献

Table 3 Contribution of hyphal to P nutrition of plant

处理 Treatment	吸磷总量(mg/pot)			吸收磷酸盐量(mg/pot)			贡献率(%)		
	Total P uptake			P from phosphate			Contribution		
	5	7	10	5	7	10	5	7	10
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.49	3.06	5.37	0.17	—	1.23	11.4	—	22.9
RNA + M	1.37	2.59	4.81	0.06	—	0.82	4.4	—	17.2
Lecithin + M	1.38	2.95	5.12	0.13	0.68	1.17	9.4	23.0	22.8
Na-phytate + M	1.37	2.71	5.76	0.05	—	1.83	3.6	—	31.8

注:菌丝贡献率(%) = 100% × 菌丝吸收磷酸盐量 / 植株吸磷总量

Note: Contribution of hyphal(%) = P uptake by hyphal from phosphate / total P uptake by plant × 100 %

### 3 讨论

有机磷在土壤中的累积基本上是由于植物和动物残留及微生物活性作用的结果。有机磷在土壤磷转化中充当一个重要角色,因为它的某些组分(如磷酸糖、植酸钠)在土壤中比无机磷的溶解度更大、移动更迅速<sup>[8]</sup>。通常认为有机磷被矿化或水解成无机磷后能被植物很好利用。尽管水溶性土壤有机磷(特别是可水解的分级)可以被植物直接吸收。一般来讲,决定有机磷被植物利用的两个主要因素是特殊磷源的溶解性和它对植物和土壤磷酸酶的稳定性<sup>[9]</sup>。

本试验中,接种条件下,各有机磷处理均显著增加了植株生长和磷吸收量(表1、2);未接种条件下,由于植物被限制在有限的根室土壤中生长,故只能借助于根毛穿过隔网吸收部分施入边室的磷或在磷胁迫诱导下产生酸性磷酸酶水解土壤固有的有机磷来获得一定量的磷维持自身的生长,而主要靠根系分泌的酸性磷酸酶来活化吸收部分磷为植物利用,因此在不接种的条件下有机磷源对植株的生长和供磷作用都比较小,表现出无机磷的优势。但经接种后,有机磷源表现出良好的效果,无论是植株的干物重或是吸磷量均明显提高,且供磷量大于无机磷处理,这可能与无机磷随时间推移被土壤固定有关。

磷酸二氢钾(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)作为一种水溶性磷肥,较其它形态的磷肥更易被利用,施用于作物后能获得明显的生长效应。如果其它有机磷肥在菌根作用下也能表现出相似的生长效

应,则证明菌根能够利用这种有机磷肥,并能间接说明其被利用的程度。本试验中选择无机磷( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )为对照来研究菌根及其根外菌丝对不同有机磷源的利用,可以更有力地说明菌丝利用有机磷源的能力大小。

试验中观察到植株生长的前4周,核糖核酸与无机磷的生长效应相似,但之后的生长效应不如卵磷脂和植酸钠。在常规的肥料试验中无机磷的效果明显大于有机磷,本试验中不论接种与否,生长前期无机磷处理的生长效应最大。但接种条件下由于菌根及其根外菌丝的作用,植株生长后期(10周时),与无机磷( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )处理相比,有机磷(植酸钠)处理已表现出一定的优势,每盆需水量较其它处理为最大。取样时发现无机磷处理植株根系已部分变黑,而有机磷处理植株根系无此现象。如果再延长生长时期,有机磷处理植株的生长定会超过无机磷处理。产生这种结果的原因可能是根际微生物活动的结果,我们在建立菌丝收集培养装置时发现菌根真菌 *Glmous versiforme* 在根室土壤施有 25 mg/kg 磷时收集到的孢子和菌丝量最多,它们活动产生的有机酸和磷酸酶必定影响到磷在土壤中的转化和根际微域环境。有报道指出,菌丝能分泌酸性磷酸酶矿化土壤中的有机磷<sup>[6,10]</sup>。植酸钠作为磷酸酶反应基质,在磷酸酶作用下迅速水解为无机可溶性磷而被植株吸收利用,这也是其在生长后期利用率高的原因。

从研究结果可以看出,接种菌根真菌后各有机磷源的利用率都大大提高,如果能将菌根真菌广泛应用于有机磷含量高的无土著菌根真菌存在的农业土壤,将可大幅度提高作物产量,在不施磷的情况下获得同样的增产效果,并可减少大量施用磷肥所造成的环境污染,在维持农业的可持续发展中具有重要的生态意义。

## 参 考 文 献:

- [1] Azcon R et al. Utilization of phosphate in alkaline soils by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphatesolubilizing bacteria[J]. Soil Science, 1976, 93:39-42.
- [2] Bolan N S et al. Specific activity of phosphorus in mycorrhizal and non-mycorrhizal plants in relation to the availability of phosphorus[J]. Plant and Soil, 1984, 16:299-305.
- [3] Haussling M and 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]. Biol Fertil Soils, 1989, 8:128-133.
- [4] Jayachandran K A P and Hetrick B A D. Minerlization of organic phosphorus by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Soil Biol. Biochem., 1992, 24(9):897-903.
- [5] Joner E J et al. Growth and extracellular phosphatase activity of arbuscular mycorrhizal hyphae as influenced by soil organic matter[J]. Soil Biol. Biochem., 1995, 27:1153-1159.
- [6] Tarafdar J C et al. Phosphatase activity in the rhizosphere and hyphosphere of VA Mycorrhizal wheat supplied with inorganic and organic phosphorus[J]. Soil Biol. Biochem., 1994, 26:387-395.
- [7] 宋勇春、李晓林、冯固. 泡囊丛枝菌根真菌对红三叶草根际土壤磷酸酶活性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2000, 6(2):171-175.
- [8] Dalal R C. Organic phosphorus[J]. Advances in Agron., 1977, 29:83-117.
- [9] Sanyal S K et al. Chemistry of phosphorus transformations in soil[J]. Advances in Soil Sci., 1991, 16:1-120.
- [10] SONG Yong-chun, LI Xiao-lin, FENG Gu, ZHANG Fu-suo and CHRISTIE Peter. Rapid assessment of acid phosphatase activity in the mycorrhizosphere and in arbuscular mycorrhizal fungal hyphae[J]. Chinese Science Bulletin, 2000: 45(9): 1187-1191.

## Effect of inoculated AMF on red clover in utilizing organic phosphorus

SONG Yong-chun, FENG Gu, LI Xiao-lin,

(Department of Plant Nutrition , China Agricultural University , Beijing 100094 , China )

**Abstract:** In order to study the role of AMF(Arbuscular Mycorrhizal Fungus) hyphae in absorbing phosphorus from organic phosphorus sources, a pot experiment was carried out under controlled conditions. The pot consists of three compartments. The root compartment was separated from the hyphal compartment by a nylon net with 30  $\mu\text{m}$  mesh . Red clover were grown in the root compartments inoculated or uninoculated with AM fungus *Glomus versiforme* . Different organic phosphorus sources were added uniformly in the hyphae compartments except for the control treatments in which no phosphorus was added. The results showed that mycorrizal infection significantly increased phosphorus uptake of red clover from different phosphorus sources and growth of plants. Inorganic phosphorus ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) had better effect on growth of plants than organic phosphorus, but no significant differences lie in all inoculated treatments. The results obtained clearly demonstrated that efficiency of AM hyphal in utilisation of organic phosphorus by red clover. Plants inoculated with AMF were effective in the hydrolysis of organic phosphorus and confirmed the important direct contribution of AM hyphae to plant P nutrition.

**Key words:** AMF; red clover; different phosphorus sources; organic phosphorus