

DOI: 10.11686/cyxb2017071

http://cyxb.lzu.edu.cn

郭艳娥, 王晓瑜, 高萍, 段廷玉. 磷添加条件下摩西球囊霉与禾草内生真菌对多年生黑麦草生长的影响. 草业学报, 2017, 26(12): 160-169.
GUO Yan-E, WANG Xiao-Yu, GAO Ping, DUAN Ting-Yu. Effects of *Glomus mosseae* and grass endophytes on the growth of *Lolium perenne* under phosphorus addition. Acta Prataculturae Sinica, 2017, 26(12): 160-169.

磷添加条件下摩西球囊霉与禾草内生真菌对多年生黑麦草生长的影响

郭艳娥, 王晓瑜, 高萍, 段廷玉*

(草地农业生态系统国家重点实验室, 农业部草牧业创新重点实验室, 兰州大学草地农业科技学院, 甘肃 兰州 730020)

摘要: 本试验探究了不添加磷(P_0)和添加 50 mg/kg(P_{50})条件下, 丛枝菌根(arbuscular mycorrhizae, AM)真菌摩西球囊霉(*Glomus mosseae*)和禾草内生真菌对多年生黑麦草生长、养分吸收和磷酸酶活性的影响。多年生黑麦草分别由含有禾草内生真菌(E^+)和不含禾草内生真菌(E^-)种子建植获得。结果表明: 1) AM 真菌与禾草内生真菌可显著影响多年生黑麦草的生物量($P < 0.05$), 二者共同作用(AME^+)时生物量最低。 P_0 处理, 以 AM 真菌 E^- 植株生物量最高。 P_{50} 条件下, 对照(NME^-)最高; 2) P 添加平均提高 AM 真菌的侵染率 11.40%, P_0 和 P_{50} 条件下 E^+ 植株较 E^- 植株的菌根侵染率分别低 18.65% 和 11.77%; 3) AM 真菌未显著影响 P 吸收($P < 0.05$)。禾草内生真菌增加了植株 N 含量, 而 AM 真菌侵染降低了 E^+ 植株 N 含量; 4) P 添加显著提高了磷酸酶活性($P < 0.05$), 不同处理以 AME^+ 的磷酸酶活性最高。两种共生微生物在不同 P 条件下, 单独作用均有利于植物生长, 共同作用时因对光合产物存在竞争, 并未协同促进植物生长和养分吸收。

关键词: AM 真菌; 禾草内生真菌; 磷添加; 多年生黑麦草

Effects of *Glomus mosseae* and grass endophytes on the growth of *Lolium perenne* under phosphorus addition

GUO Yan-E, WANG Xiao-Yu, GAO Ping, DUAN Ting-Yu*

State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems, Key Laboratory of Grassland Livestock Industry Innovation, Ministry of Agriculture, College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, China

Abstract: This study aimed to determine the effects of arbuscular mycorrhizae fungi *Glomus mosseae* and grass endophytes on the growth, nutrient absorption and phosphatase activities of *Lolium perenne* without phosphorus addition (P_0) and with 50 mg/kg phosphorus addition (P_{50}). Seeds of perennial ryegrass infected with grass endophyte (E^+) and without grass endophyte (E^-) were used to establish plants with and without the endophytes. The results showed that: 1) AM fungi and grass endophytes had significant effects on the host biomass ($P < 0.05$); plants infected by both AM fungi and grass endophytes (AME^+) had the lowest biomass. Plants infected by only *Glomus mosseae* had the highest biomass under P_0 , while plants free of the two symbiosis fungi reached their highest biomass under P_{50} . 2) Phosphorus addition increased mycorrhizal colonization of perennial ryegrass by 11.40%, while infection with grass endophytes inhibited plant mycorrhizal colonization by 18.65% and 11.77% under P_0 and P_{50} respectively. 3) *G. mosseae* had no significant effect on the absorption of

收稿日期: 2017-03-01; 改回日期: 2017-04-17

基金项目: 国家绿肥产业技术体系(CARS-22), 中央高校基本科研业务费(2022016zr0003)和教育部创新团队发展计划项目(IRT_17R50)资助。

作者简介: 郭艳娥(1991-), 女, 甘肃会宁人, 在读硕士。E-mail: guoye15@lzu.edu.cn

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: duanty@lzu.edu.cn

P ($P < 0.05$). Grass endophytes increased the content of total N, while AM colonization decreased the total N of plants with grass endophytes. 4) Phosphorus addition significantly increased phosphatase activities ($P < 0.05$). Plants infected by AM fungi and grass endophytes had the highest phosphatase activities across the treatments. Each of the two symbiosis fungi improved plant growth when taken alone; however, they showed competition on photosynthate and did not enhance plant growth and nutrition absorption when applied together.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi; grass endophyte; phosphorus addition; *Lolium perenne*

多年生黑麦草(*Lolium perenne*)作为优良牧草和草坪草,具有养分利用率高,适口性好,再生能力强,建坪速度快,覆盖能力以及抗病虫害能力强等特性^[1],在世界各温带地区都有分布^[2]。禾草内生真菌(*Epichloë*)是指在禾草体内完成全部或大部分生活周期,而禾草不显示明显病害症状的一大类真菌^[3]。禾草内生真菌对宿主生长的介导效应与 P 的有效性密切相关^[4]。缺 P 时,接种内生真菌能促进宿主植物生长^[5-6]。与非感染禾草内生真菌(E^-)植株相比,内生真菌感染(E^+)的高羊茅(*Festuca elata*)根系直径减小,根毛长度增加,进而扩大了根系吸收面积^[6]。此外, E^+ 高羊茅还通过根部分泌酚类化合物对 P 胁迫作出反应^[5]。目前,国际上销售的多年生黑麦草种子多含有禾草内生真菌。

丛枝菌根(arbuscular mycorrhizae, AM)真菌广泛存在于草地农业生态系统中,可与 80% 以上陆生植物根系建立共生关系,是土壤微生物的重要组成部分^[7]。AM 真菌促进植物生长的效应与菌根侵染改善植物的养分状况(尤其是 P)密切相关^[8-10],菌索及根外菌丝的生长,可比根系更远地扩展到土壤中,从而增加宿主植物吸取养分的范围^[11-12]。AM 真菌可与根际土壤和根皮层细胞形成密集的菌丝网,扩大植物根系吸收面积,缩短养分运输距离^[11],分泌磷酸酶、有机酸和质子,改变根系周围土壤理化性质,解离难溶性磷酸盐^[13],并通过磷转运蛋白完成磷从 AM 真菌到植物细胞的跨膜运输^[14]。由于 AM 真菌的宿主具有广谱性,如单一宿主植物体内的菌丝在向周边生长过程中遇到另一植物的根系,可再度侵染,在两个植株间形成菌丝桥^[15],利用菌丝桥对磷进行传递是可行的,而且形成的菌丝桥越多,宿主植物获得的养分越多^[16],这种作用在含 P 不足的土壤环境中更为显著^[17-19]。

我国土壤普遍缺 P,改善 P 的吸收对促进植物生长和维持生态系统生产力具有重要意义^[20]。在自然界和农业生态系统中,禾草能够分别与内生真菌和 AM 真菌建立共生关系^[21-22],且有大量关于宿主植物与单一共生菌相互关系的报道。但二者共同作用对植物生长影响的报道还甚少,磷添加条件下两种共生微生物互作对宿主影响的研究更是鲜有报道。前人多是基于内生真菌和 AM 真菌关系的研究,所得结论也并不一致^[23-25],当禾草内生真菌存在时,AM 真菌是否还能促进养分吸收,尚不明确。本研究以多年生黑麦草为供试对象,旨在探究磷添加条件下 AM 真菌与禾草内生真菌对生长、养分吸收和磷酸酶活性的影响,以期为高效利用共生微生物,促进牧草生长提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试植物 多年生黑麦草种子 AR1 带有内生真菌(E^+)、Nil 不带内生真菌(E^-),由新西兰国家草地研究所(AgResearch)、新西兰皇家科学院院士 John Caradus 教授提供。

1.1.2 AM 真菌 摩西球囊霉(*Glomus mosseae*, G. m)购买于北京市农林科学院植物营养与资源研究所,“丛枝菌根真菌种质资源库 BGC”编号为 NM04A,以三叶草扩繁所得的孢子、菌根根段、根外菌丝及培养基质作为接种物。

1.1.3 供试土壤 土壤理化性质:pH 7.6;全 P 19.62 mg/g;全 N 18.35 mg/g。将过 3 mm 筛的土壤,于 121 °C 下高压蒸汽灭菌 2 h,以消除基质中其他微生物的干扰,风干备用。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 盆栽试验于 2016 年 4—6 月在兰州大学草地农业科技学院智能温室中进行,共设 2 个 P 水

平,不添加 P(P₀)和添加 50 mg/kg(P₅₀)。试验将 20 g AM 真菌接种物/盆平铺在 800 g 灭菌的土壤上面,然后再覆盖 200 g 土,对照(NM)则加等量灭菌接种物和接种物滤液,以保证微生物区系一致。挑选大小一致且籽粒饱满的种子,用 10% H₂O₂ 对其表面消毒 10 min,然后用无菌水冲洗干净,于 25 °C 恒温培养箱催芽。48 h 后,选取长势基本一致,大小相近的带菌(E⁺)和不带菌(E⁻)黑麦草植株分别移栽至直径 18 cm、高 19 cm 的花盆中,每盆移栽 5 株,出苗 1 周后,定苗至 3 株。定苗后,加入所需量的 0.1 mol/L KH₂PO₄ 溶液,建立 P 添加处理,P₀ 则加入等量蒸馏水,共设 8 个处理,每个处理 8 个重复。生长 8 周后收获并测定植物生长及生理生化指标。

1.2.2 指标测定 生物量采用烘干法测定;AM 真菌侵染率的测定采用染色镜检法^[26];土壤速效 P 含量采用钼锑抗比色法测定^[27];全 N、全 P 含量:用球磨仪研磨植物干样,并过 2 mm 筛,称取 0.25 g 左右研磨好的植物样,加入 3.3 g 催化剂(K₂SO₄ 和 CuSO₄ 研磨后 10:1 混合)和 10 mL 浓 H₂SO₄,420 °C 消煮 2 h,冷却后定容至 100 mL,采用流动注射仪(FIAstar 5000 Analyzer, FOSS, Sweden)测定;叶片与根系磷酸酶活性的测定参照 Sadasivam 等的方法^[28];用改进的方法测定土壤磷酸酶活性^[29]。

1.3 数据统计与分析

采用 JMP IN 4 对各指标进行交互效应以及方差分析,结果用 GraphPad Prism 5.01 作图。

2 结果与分析

2.1 生物量

P 添加对地上生物量无显著影响($P>0.05$)(表 1)。低 P 条件下,以接种 AM 真菌的 E⁻ 植株(AME⁻)生物量最高,其较 NME⁻、NME⁺ 和 AME⁺ 分别提高 13.51%、19.09% 和 32.41%。P₅₀ 条件下,以不含两种共生微生物处理(NME⁻)的黑麦草地上生物量最高,但其与 AME⁻ 和 NME⁺ 间的差异不显著($P>0.05$)(表 1,图 1)。由此可知,P 与 AM 真菌互作时存在交互效应,P 添加降低了 AM 真菌对宿主地上部分生长的贡献。此外,AM 真菌与禾草内生真菌分别对宿主地上、地下生物量产生显著或极显著影响,二者共同作用(AME⁺)的地上、地下生物量皆为最低,AM 真菌侵染抑制了 E⁺ 植株的地上生长($P<0.05$)(表 1,图 1)。

表 1 AM 真菌、禾草内生真菌与 P 添加对多年生黑麦草各指标的方差分析(P 值)

Table 1 Variance analyses of E⁻ and E⁺ perennial ryegrass inoculated with or without AM fungi under phosphorus addition (P value)

测定指标 Index	AM 真菌 Mycorrhizae (M)	内生真菌 Endophyte (E)	磷 Phosphorus (P)	交互作用 Interaction			
				M×P	M×E	E×P	M×E×P
侵染率 AM colonization	<0.0001	0.0051	0.0555	0.0555	0.0051	ns	ns
地上生物量 Shoot biomass	0.0097	<0.0001	ns	0.0010	0.0003	ns	ns
地下生物量 Root biomass	0.0008	<0.0001	<0.0001	0.0079	ns	ns	0.0432
速效 P 含量 Content of available P in soil	ns	ns	<0.0001	ns	<0.0001	0.0015	<0.0001
地上全 P 含量 Content of total P in shoot	ns	<0.0001	<0.0001	ns	ns	0.0004	ns
根系全 P 含量 Content of total P in root	<0.0001	0.0099	<0.0001	0.0004	ns	0.0012	ns
地上全 N 含量 Content of total N in shoot	ns	<0.0001	ns	<0.0001	0.0094	0.0508	<0.0001
根系全 N 含量 Content of total N in root	<0.0001	0.0009	<0.0001	<0.0001	0.0217	ns	<0.0001
叶片 ACP 活性 ACP activity at the leaf	ns	<0.0001	<0.0001	0.0208	0.0002	ns	ns
叶片 ALP 活性 ALP activity at the leaf	0.0489	<0.0001	0.0018	<0.0001	<0.0001	0.0055	0.0051
根系 ACP 活性 ACP activity at the root	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
根系 ALP 活性 ALP activity at the root	<0.0001	0.0328	0.0050	ns	<0.0001	ns	ns
土壤 ACP 活性 ACP activity in soil	<0.0001	<0.0001	0.0189	<0.0001	0.0150	<0.0001	0.0217
土壤 ALP 活性 ALP activity in soil	<0.0001	ns	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0001	<0.0001

ns; $P>0.05$. ACP: Acid phosphatase; ALP: Alkaline phosphatase.

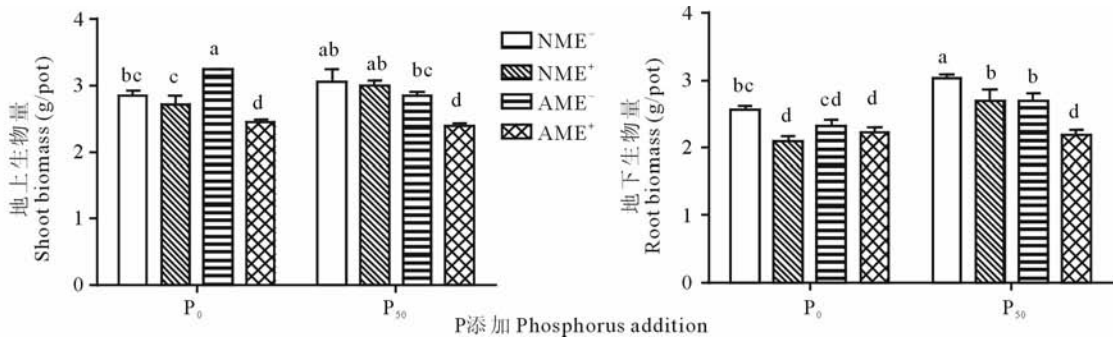


图 1 AM 真菌、禾草内生真菌与 P 添加对生物量的影响

Fig. 1 Biomass of E⁻ and E⁺ perennial ryegrass inoculated with or without AM fungi under phosphorus addition

不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Different lowercase letters on the bars show significant differences among treatments ($P < 0.05$). The same below.

P 添加促进了植物根系生长,同时增加了 AM 真菌对宿主地下部分生长的贡献 ($P < 0.05$) (表 1, 图 1)。AM 真菌、P 以及禾草内生真菌三者存在交互效应, P₅₀ 条件下 AME⁺ 的地下生物量比 NME⁻、NME⁺ 和 AME⁻ 分别低 27.70%、18.69% 和 18.69%, 低 P 条件 AM 真菌与禾草内生真菌各处理间的差异均不显著 ($P > 0.05$) (表 1, 图 1)。

2.2 AM 真菌侵染率

未接种 AM 真菌的植株均未发现菌根结构。AM 真菌分别与 P 和禾草内生真菌存在交互作用, P 添加显著提高了 AM 真菌的侵染率, 禾草内生真菌抑制了 AM 真菌的侵染 ($P < 0.05$) (表 1, 图 2)。接种 AM 真菌的 E⁻、E⁺ 植株菌根侵染率差异显著。P₀ 和 P₅₀ 条件下, E⁺ 植株的侵染率比 E⁻ 植株低 18.65% 和 11.77% ($P < 0.05$) (图 2)。

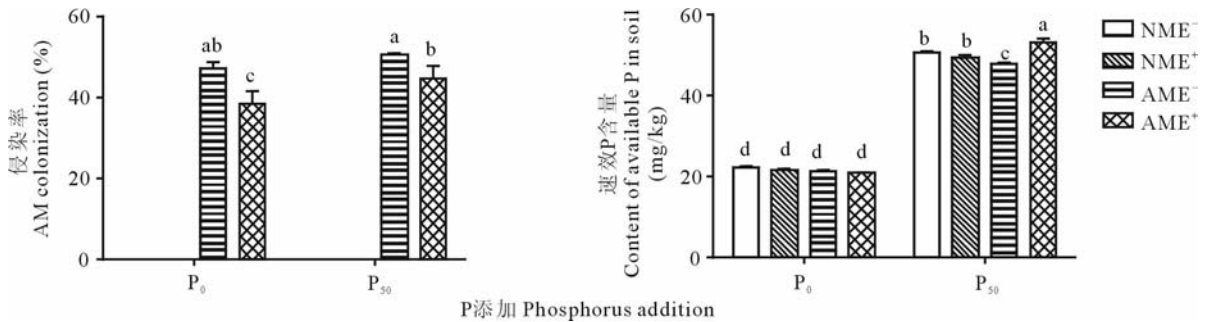


图 2 AM 真菌、禾草内生真菌与 P 添加对侵染率和速效 P 含量的影响

Fig. 2 AM colonization and available P content of E⁻ and E⁺ perennial ryegrass inoculated with or without AM fungi under phosphorus addition

2.3 植物 P、N 含量

P 添加对黑麦草速效 P、地上全 P 以及根系全 P 含量皆产生极显著影响 ($P < 0.05$) (表 1)。AM 真菌与禾草内生真菌均对速效 P 含量无显著影响, 但二者共同作用以及与 P 三者共同作用时存在交互效应。P₀ 条件下, AM 真菌降低了 E⁺ 植株的速效 P 含量。P₅₀ 条件下, AME⁺ 处理的速效 P 含量最高 ($P < 0.05$) (表 1, 图 2)。

AM 真菌对植物地上全 P 含量无显著影响 ($P < 0.05$) (表 1)。禾草内生真菌对地上全 P 含量具有极显著影响, 且与 P 存在交互效应, P 添加显著增加了 E⁺ 植株的地上全 P 含量, NMP₅₀ 较 NMP₀ 高 40.45%, AMP₅₀ 较 AMP₀ 高 55.29% ($P < 0.05$) (表 1, 图 3)。

与地上全 P 含量不同, AM 真菌对根系全 P 含量产生极显著影响 ($P < 0.05$) (表 1)。接种 AM 真菌增加了根系全 P 含量, 且其与 P 有交互作用, P 添加显著增加了 AM 所侵染宿主的根系全 P 含量 ($P < 0.05$) (表 1, 图

3)。感染禾草内生真菌 E^+ 植株的根系全 P 含量显著高于 E^- 植株 ($P < 0.05$) (图 3)。与地上全 P 含量类似, P 添加同样增加了 E^+ 植株的根系全 P 含量 (图 3)。

P 对地上全 N 含量无显著影响, 对根系全 N 含量产生极显著影响 ($P < 0.05$) (表 1)。P 添加降低了 AM 侵染植株的全 N 含量, 二者交互时存在交互效应 (表 1, 图 4)。AM 真菌对 E^+ 植株的地上、根系全 N 含量皆有显著影响, P_0 条件 AM 真菌显著降低 E^+ 植株的全 N 含量 ($P < 0.05$) (表 1, 图 4)。 P_{50} 条件 AM 真菌侵染却不同程度增加了 E^+ 植株的全 N 含量, 其分别比 NME^- 、 NME^+ 和 AME^- 处理的地上全 N 含量高 19.81%、19.65% 和 25.14%, AME^+ 的根系全 N 含量亦为最高, 但与 NME^+ 间的差异不显著 ($P < 0.05$) (表 1, 图 4)。禾草内生真菌对地上、根系全 N 含量均产生显著影响, P_0 条件 NME^+ 处理的全 N 含量最高, 分别较 NME^- 、 AME^- 和 AME^+ 的地上全 N 含量高 8.57%、12.66% 和 10.00%, 较根系全 N 含量高 18.64%、30.05% 和 44.77% ($P < 0.05$) (表 1, 图 4)。

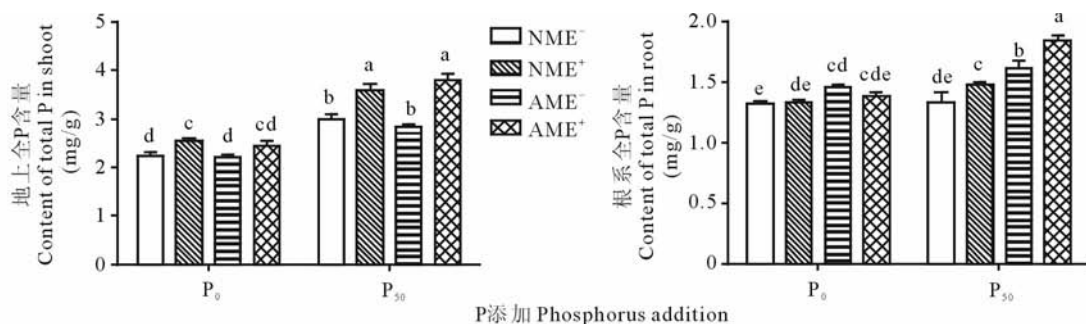


图 3 AM 真菌、禾草内生真菌与 P 添加对全 P 含量的影响

Fig. 3 Content of total P of E^- and E^+ perennial ryegrass inoculated with or without AM fungi under phosphorus addition

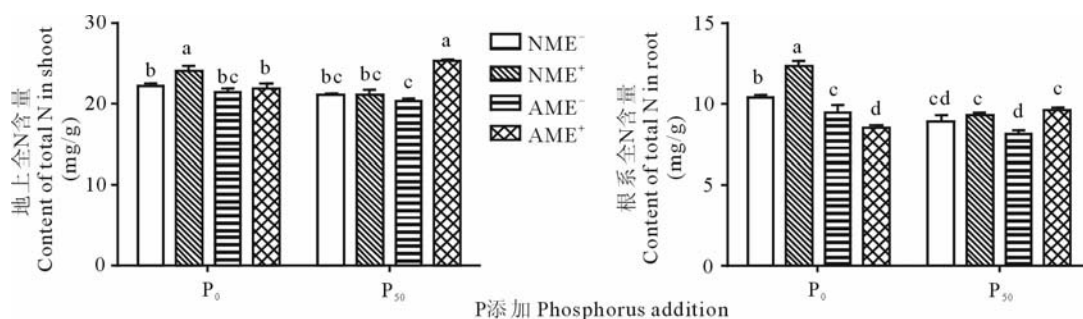


图 4 AM 真菌、禾草内生真菌与 P 添加对全 N 含量的影响

Fig. 4 Content of total N of E^- and E^+ perennial ryegrass inoculated with or without AM fungi under phosphorus addition

2.4 磷酸酶活性

P 添加对叶片、根系以及土壤酸性磷酸酶 (acid phosphatase, ACP) 和碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 活性皆产生显著或极显著影响 ($P < 0.05$) (表 1)。 P_{50} 的叶片、根系 ACP 和 ALP 活性均不同程度高于 P_0 处理, 土壤磷酸酶活性反之 (图 5)。AM 侵染与 P 存在交互效应, P 添加条件下, AM 侵染植株的叶片 ALP、土壤 ACP 活性均不同程度高于低 P 处理, 根系 ACP、土壤 ALP 活性低于低 P 处理 (表 1, 图 5)。禾草内生真菌对磷酸酶活性也有显著或极显著影响 ($P < 0.05$) (表 1)。P 添加对 E^+ 植株磷酸酶活性的影响不一致, P_{50} 条件下叶片 ALP、根系 ACP 以及土壤 ACP 活性低于 P_0 。P 添加却增加了 E^+ 植株叶片 ACP、根系及土壤 ALP 活性 (图 5)。AM 真菌与禾草内生真菌交互时有交互效应, 大多以二者共同作用的磷酸酶活性最高。不同 P 条件下二者的交互结果存在差异, 根系 ACP 活性, P_{50} 条件下表现为最高; 土壤 ACP 和 ALP 活性, 低 P 条件 AME^+ 处理的最高, 但与其他各处理间的差异均不显著 (表 1, 图 5)。

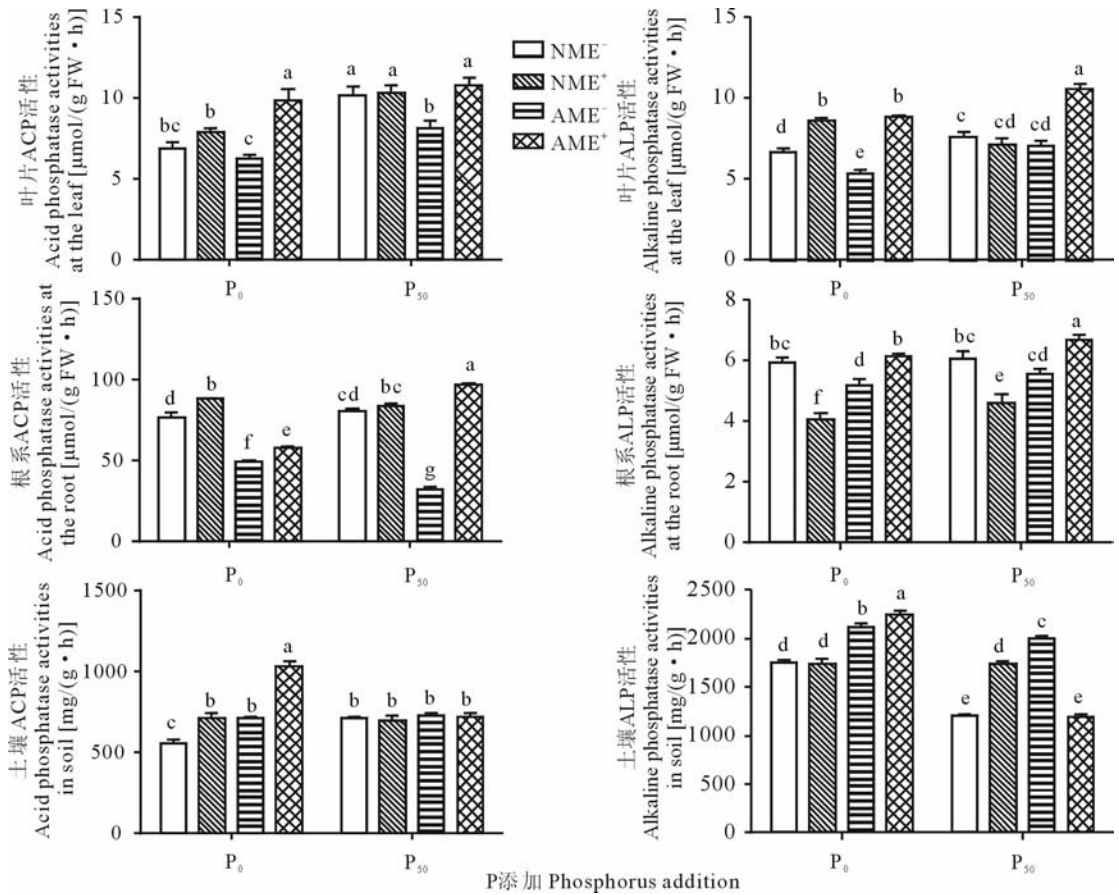


图 5 AM 真菌、禾草内生真菌与 P 添加对磷酸酶活性的影响

Fig. 5 Phosphatase activities of E⁻ and E⁺ perennial ryegrass inoculated with or without AM fungi under phosphorus addition

3 讨论与结论

AM 真菌可促进宿主植物生长,增加其对营养元素,尤其是 P 的吸收,这种作用在供 P 不足土壤环境中尤为显著^[17-19]。禾草内生真菌通过增加分蘖数、生物量以及提高宿主植物抗逆性对植物的生长起一定介导作用^[30-32],该效应亦与 P 的有效性密切相关^[4],缺 P 土壤中,感染内生真菌的 E⁺ 植株比 E⁻ 植株吸收更多的 N、P 等元素^[33]。本研究接种 AM 真菌与禾草内生真菌均对多年生黑麦草的生物量产生显著影响。P₀ 条件下,接种 AM 真菌的地上生物量高于禾草内生真菌,这是由于 AM 真菌存在于宿主植物的根部,其根外菌丝可以直接吸收土壤中的 N 和 P^[17,34],而禾草内生真菌通常位于宿主植物的地上部分,其通过改变根部形态和生理性状等途径来间接获取养分^[35]。因此,在该养分条件下 AM 真菌对多年生黑麦草生物量的贡献较禾草内生真菌更大。P₅₀ 水平下,地上和地下生物量均以 NME⁻ 处理最高,AME⁺ 最低,接菌处理并未显著提高宿主生物量,这与冯海艳等^[36]的研究结果一致。在土壤有效养分供应充足的情况下,宿主植物与 AM 真菌之间的关系可能由互利共生转变为偏利共生,即 AM 真菌从宿主植物获取光合产物,但其帮助宿主植物吸收的养分对于植物的生长并未产生积极影响,甚至会导致宿主植物的生物量降低^[37]。

P₀ 条件下,不同处理对土壤速效 P 含量无显著影响,这可能与土壤基质的养分供应状况密切相关,当其满足宿主植物生长所需时,接种 AM 真菌与禾草内生真菌对养分的介导效应势必会减弱。P₅₀ 条件下,AME⁻ 处理的速效 P 含量最低,AME⁺ 处理最高。菌根化植物对土壤中 P 元素的摄取包括直接吸收途径(direct uptaking process, DUP)和菌根吸收途径(mycorrhizal uptaking process, MUP)两条,且 MUP 途径对 P 吸收的贡献更大^[17],非菌根植物只有 DPU 途径,因此菌根化植物能够吸收更多的 P,相应土壤中残留的速效 P 含量最低。由于禾草内生真菌对 AM 真菌的抑制作用,被宿主吸收利用的养分降低,土壤速效 P 的含量达到最高。此外 P₅₀ 水

平下 AME⁺ 处理的 P 含量最高,这与对 N 含量影响的结果保持一致。

不同 P 添加条件下的全 N 含量都以 E⁺ 植株(NME⁺ 处理)比接种 AM 真菌(AME⁻)效果显著。这是因为原始土壤 P 含量较高抑制了 AM 真菌的生长和代谢活性,致使 AM 真菌吸 P 量减少,造成菌根效应降低,同时减弱了 AM 真菌吸收 N 的能力^[36]。P₀ 条件 NME⁺ 处理的全 N 含量最高,这与 Malinowski 等^[33]的结果相似,表明存在于禾草茎叶中的内生真菌可以加强矿质元素的吸收。P₅₀ 条件 AME⁺ 处理最高,表明 N、P 积累存在协同效应,这与叶少萍等^[38]在对不同 P 水平下 AMF 对狗牙根(*Cynodon dactylon*)生长与再生影响的研究结果一致。

Ezawa 等^[39]用细胞化学的方法证明 AM 真菌菌丝释放的 ACP 和 ALP 对菌丝体内多聚磷酸盐的降解和运输起着重要作用。Chang 等^[40]的研究进一步证实菌根化植物的磷酸酶活性高于非菌根植物。本试验中 AME⁻ 处理的磷酸酶活性最低,与前人的研究结果^[41-44]并不一致。此外,供 P 条件对磷酸酶活性也产生显著影响,同一 P 添加条件下 AME⁺ 处理的磷酸酶活性最高,NME⁺ 次之,这与养分的结果基本一致,原因可能是养分对磷酸酶活性进行直接调节,AM 真菌等通过改善养分状况对其产生间接作用。

土壤 pH 是影响 AM 真菌孢子萌芽和菌丝生长的一个重要因子^[45]。通常,AM 真菌适应于中性和微酸性土壤环境^[46]。本试验所添加的 0.1 mol/L KH₂PO₄ 溶液 pH 为 4.5 左右,供试基质 pH 7.6, KH₂PO₄ 溶液对该基质具有一定的缓冲性。不同供 P 条件所造成的 pH 差异对 AM 真菌侵染率亦产生显著影响,P₅₀ 高于 P₀,这与 AM 真菌的适应性结果相一致。P 添加处理的地上、地下生物量以及速效 P、地上、根系全 P 含量皆高于 P₀,其原因可能是较低 pH 对植物的直接调节作用,抑或是通过影响 AM 真菌活性来间接改善宿主生存环境,促进对养分的吸收,并增加其生物量。此外,较低 pH 的地上与根系 ACP 和 ALP 活性高于 P₀,这与 Joner 等^[47]的结果一致,酸性条件下的磷酸酶活性大于碱性条件。

AM 真菌与禾草内生真菌共同作用对植物生长影响的报道尚不多见,所得结论也并不一致。例如感染内生真菌的高羊茅^[48]、多年生^[49]和一年生黑麦草(*Lolium*)^[50]根系的菌根侵染率降低,禾草内生真菌的存在不同程度抑制了 AM 真菌的侵染,同样 AM 真菌降低了禾草内生真菌的菌丝密度和寄主植物叶片中的生物碱含量,二者相互竞争,互相制约^[21,49-50]。然而,Novas 等^[51]对天然禾草雀麦(*Bromus setifolius*)的研究发现,禾草内生真菌可以增加 AM 真菌的侵染率,而且在一定浓度内,禾草内生真菌浸提液作用下可以增加 AM 真菌的菌丝长度。Larimer 等^[52]对披碱草(*Elymus hystrix*)的研究发现,内生真菌对 AM 真菌侵染率的影响因 AM 真菌种类的不同而不同,接种近明球囊霉(*Glomus claroideum*)的 E⁻ 植株的侵染率高于 E⁺。相反,接种摩西球囊霉的 E⁺ 植株的侵染率显著高于 E⁻。Vignale 等^[53]和 Zhou 等^[24]的报道进一步指出,AM 真菌与禾草内生真菌的互作可能与供试基质的养分状况、内生真菌菌株类型以及 AM 真菌类型等诸因素相关。

本研究不同 P 条件下,接种 AM 真菌与禾草内生真菌都对菌根侵染率产生显著影响。低 P 条件,AME⁺ 的侵染率比 AME⁻ 降低 18.65%,P₅₀ 水平下降低 11.77%,禾草内生真菌抑制了 AM 真菌的侵染。此外,P₅₀ 的侵染率显著高于 P₀。有关禾草内生真菌抑制 AM 真菌侵染的作用机制尚不明确,目前认为有如下 3 种可能:1) 宿主植物在资源分配上存在权衡^[21],AM 真菌和禾草内生真菌均须从宿主植物获得光合产物^[54-55],但禾草内生真菌存在于地上部分,具有空间优势,可能优先获得光合产物,因而留给 AM 真菌的光合产物减少,从而抑制 AM 真菌的侵染^[21];2) 禾草内生真菌增加植物对 P 的吸收和贮存^[32],改变宿主对营养元素的需求,降低 AM 真菌的有益作用^[56],从而间接影响 AM 真菌对植物的侵染;3) 禾草内生真菌产生的化感物质抑制了 AM 真菌侵染^[48]。接种 AM 真菌与禾草内生真菌(AME⁺)处理的生物量最低,这与侵染率的结果相关联。

综上所述,不同 P 条件下,AM 真菌与禾草内生真菌单独作用均促进了植物生长,共同作用时,因对光合产物存在竞争,禾草内生真菌抑制了 AM 真菌侵染,二者并未协同促进植物生长和养分吸收。

参考文献 References:

- [1] Altpeter F. Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Methods in Molecular Biology*, 2006, 114: 75-105.
- [2] Ma B Y. Research advances in stress physiological adaptation of perennial ryegrass. *Journal of Biology*, 2010, 27(2): 58-61. 马博英. 多年生黑麦草的逆境生理研究进展. *生物学杂志*, 2010, 27(2): 58-61.

- [3] Arnold A E, Maynard Z, Gilbert G S, *et al.* Are tropical fungal endophytes hyperdiverse. *Ecology Letters*, 2000, 3(4): 267-274.
- [4] Li X, Ren A, Han R, *et al.* Endophyte-mediated effects on the growth and physiology of *Achnatherum sibiricum* are conditional on both N and P availability. *Plos One*, 2012, 7(11): e48010.
- [5] Malinowski D P, Alloush G A, Belesky D P. Evidence for chemical changes on the root surface of tall fescue in response to infection with the fungal endophyte *Neotyphodium coenophialum*. *Plant and Soil*, 1998, 205(1): 1-12.
- [6] Malinowski D P, Brauer D K, Belesky D P. The endophyte *Neotyphodium coenophialum* affects root morphology of tall fescue grown under phosphorus deficiency. *Journal of Agronomy & Crop Science*, 1999, 183(1): 53-60.
- [7] Shi W Q, Xia Y S, Liu X L. The important role of arbuscular mycorrhizal in carbon sequestration in grassland ecosystems. *Ecology & Environment*, 2008, 17(2): 846-850.
石伟琦, 夏运生, 刘晓蕾. 丛枝菌根在草原生态系统碳固持中的重要作用. *生态环境学报*, 2008, 17(2): 846-850.
- [8] Hecke M M V, Treonis A M, Kaufman J R. How does the fungal endophyte *Neotyphodium coenophialum* affect tall fescue (*Festuca arundinacea*) rhizodeposition and soil microorganisms. *Plant and Soil*, 2005, 275(1): 101-109.
- [9] Casas C, Omacini M, Montecchia M S. Soil microbial community responses to the fungal endophyte *Neotyphodium* in Italian ryegrass. *Plant and Soil*, 2011, 340(1): 347-355.
- [10] Iqbal J, Siegrist J A, Nelson J A, *et al.* Fungal endophyte infection increases carbon sequestration potential of southeastern USA tall fescue stands. *Soil Biology & Biochemistry*, 2012, 44(1): 347-355.
- [11] Li X L, George E, Marschner H. Extension of the phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil. *Plant and Soil*, 1991, 136(1): 41-48.
- [12] Marschner H, Dell B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 1994, 159(1): 89-102.
- [13] Hinsinger P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil*, 2001, 237(2): 173-195.
- [14] Balestrini R, Gomez-Ariza J L, Bonfante P. Laser microdissection reveals that transcripts for five plant and one fungal phosphate transporter genes are contemporaneously present in arbusculated cells. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2007, 20(9): 1055-1062.
- [15] Vestberg M, Tuomi J. A test of mutual aid in common mycorrhizal networks: established vegetation negates benefit in seedlings. *Ecology*, 2003, 84(4): 898-906.
- [16] Ai W D, Zhang J L, Li L, *et al.* Phosphorus transfer via mycorrhizal hyphal links from red clover to rye grass. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1999, 10(5): 615-618.
艾为党, 张俊伶, 李隆, 等. 三叶草体内磷通过菌丝桥向黑麦草的传递研究. *应用生态学报*, 1999, 10(5): 615-618.
- [17] Smith S E, Smith F A, Jakobsen I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiology*, 2003, 133(1): 16-20.
- [18] Smith S E, Read D J. *Mycorrhizal Symbiosis*. Longdon: Academic Press, 2008.
- [19] Hodge A, Helgason T, Fitter A H. Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology*, 2010, 3(4): 267-273.
- [20] Van der Heijden M G A, Klironomos J N, Ursic M, *et al.* Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 1998, 396: 69.
- [21] Mack K M L, Rudgers J A. Balancing multiple mutualists: asymmetric interactions among plants, arbuscular mycorrhizal fungi, and fungal endophytes. *Oikos*, 2008, 117(2): 310-320.
- [22] Binet M N, Sage L, Malan C, *et al.* Effects of mowing on fungal endophytes and arbuscular mycorrhizal fungi in subalpine grasslands. *Fungal Ecology*, 2013, 6(4): 248-255.
- [23] Larimer A L, Bever J D, Clay K. The interactive effects of plant microbial symbionts: a review and meta-analysis. *Symbiosis*, 2010, 51(2): 139-148.
- [24] Zhou Y, Li X, Qin J, *et al.* Effects of simultaneous infections of endophytic fungi and arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of their shared host grass *Achnatherum sibiricum* under varying N and P supply. *Fungal Ecology*, 2016, 20: 56-65.
- [25] García-Parisi P A, Omacini M. Arbuscular mycorrhizal fungi can shift plant-soil feedback of grass-endophyte symbiosis from negative to positive. *Plant and Soil*, 2017, DOI: 10.1007/s11104-017-3216-y.
- [26] Koske R E, Gemma J N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research*, 1989, 92(4): 486-488.
- [27] Pittman J J, Zhang H, Schroder J L, *et al.* Differences of phosphorus in methanol 3 extracts determined by colorimetric and spectroscopic methods. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2005, 36(11/12): 1641-1659.
- [28] Sadasivam S, Manickam A. *Biochemical Methods*. India: New Age International Publishers, 1996.

- [29] Song Y C, Li X L, Feng G. Effect of phosphatase activity on soil organic phosphorus loss in the environment of clover growth. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(7): 1130-1135.
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. *生态学报*, 2001, 21(7): 1130-1135.
- [30] Clay K, Schardl C. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *The American Naturalist*, 2002, 160(S4): S99-S127.
- [31] Ren A Z, Gao Y B. Growth characteristics of endophyte-infected and endophyte-free *Lolium perenne* L. seedlings under osmotic stress conditions. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(11): 2307-2317.
任安芝, 高玉葆. 渗透胁迫下内生真菌感染对黑麦草幼苗生长的影响. *生态学报*, 2003, 23(11): 2307-2317.
- [32] Rahman M H, Saiga S. Endophytic fungi (*Neotyphodium coenophialum*) affect the growth and mineral uptake, transport and efficiency ratios in tall fescue (*Festuca arundinacea*). *Plant and Soil*, 2005, 272(1): 163-171.
- [33] Malinowski D P, Alloush G A, Belesky D P. Leaf endophyte *Neotyphodium coenophialum* modifies mineral uptake in tall fescue. *Plant and Soil*, 2000, 227(1/2): 115-126.
- [34] Hodge A, Fitter A H. Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(31): 13754-13759.
- [35] Malinowski D P, Belesky D P. Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Science*, 2000, 40(4): 923-940.
- [36] Feng H Y, Feng G, Wang J G, *et al.* Regulation of P status in host plant on alkaline phosphatase (ALP) activity in intraradical hyphae and development of extraradical hyphae of AM fungi. *Mycosystema*, 2003, 22(4): 589-598.
冯海艳, 冯固, 王敬国, 等. 植物磷营养状况对丛枝菌根真菌生长及代谢活性的调控. *菌物学报*, 2003, 22(4): 589-598.
- [37] Fang A G. Effects of Neotyphodium Endophyte and AM Fungi on Growth of Hordeum Brevisubulatum Under Salt and Phosphorus Stress Conditions. Lanzhou: Lanzhou University, 2013.
方爱国. 盐与磷胁迫条件下内生真菌和菌根菌对野大麦生长的影响. 兰州: 兰州大学, 2013.
- [38] Ye S P, Zeng X H, Xin G R, *et al.* Effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on growth and regrowth of bermudagrass under different P supply levels. *Acta Prataculturae Sinica*, 2013, 22(1): 46-52.
叶少萍, 曾秀华, 辛国荣, 等. 不同磷水平下丛枝菌根真菌(AMF)对狗牙根生长与再生的影响. *草业学报*, 2013, 22(1): 46-52.
- [39] Ezawa T, Saito M, Yoshida T. Comparison of phosphatase localization in the intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus* spp. and *Gigaspora* spp. *Plant and Soil*, 1995, 176(1): 57-63.
- [40] Chang C N, Chou L C. Growth responses, enzyme activities, and component changes as influenced by *Rhizoctonia orchid* mycorrhiza on *Anoectochilus formosanus* Hayata. *Botanical Studies*, 2007, 48(4): 445-451.
- [41] Geneva M, Zehirov G, Djonova E, *et al.* The effect of inoculation of pea plants with mycorrhizal fungi and *Rhizobium* on nitrogen and phosphorus assimilation. *Plant Soil & Environment*, 2006, 52(10): 435-440.
- [42] Amaya-Carpio L, Davies F T, Fox T, *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi and organic fertilizer influence photosynthesis, root phosphatase activity, nutrition, and growth of *Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa*. *Photosynthetica*, 2009, 47(1): 1-10.
- [43] Ratti N, Verma H N, Gautam S P. Effect of *Glomus* species on physiology and biochemistry of *Catharanthus roseus*. *Indian Journal of Microbiology*, 2010, 50(3): 355-360.
- [44] Doley K, Jite P K. Response of groundnut ('JL-24') cultivar to mycorrhiza inoculation and phosphorous application. *Notulae Scientia Biologicae*, 2012, 4(3): 118-125.
- [45] Fortin J A, Bécard G, Declerck S, *et al.* Arbuscular mycorrhiza on root-organ cultures. *Canadian Journal of Botany*, 2002, 80(1): 1-20.
- [46] Ouzounidou G, Skiada V, Papadopoulou K K, *et al.* Effects of soil pH and arbuscular mycorrhiza (AM) inoculation on growth and chemical composition of chia (*Salvia hispanica* L.) leaves. *Brazilian Journal of Botany*, 2015, 38(3): 487-495.
- [47] Joner E J, Johansen A. Phosphatase activity of external hyphae of two arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 2000, 104(1): 81-86.
- [48] Chuchou M, Guo B, An Z Q, *et al.* Suppression of mycorrhizal fungi in fescue by the *Acremonium coenophialum* endophyte. *Soil Biology & Biochemistry*, 1992, 24(7): 633-637.
- [49] Müller J. Artificial infection by endophytes affects growth and mycorrhizal colonisation of *Lolium perenne*. *Functional Plant Biology*, 2003, 30(4): 419-424.
- [50] Omacini M, Eggers T, Bonkowski M, *et al.* Leaf endophytes affect mycorrhizal status and growth of co-infected and neighbouring plants. *Functional Ecology*, 2006, 20(2): 226-232.

- [51] Novas M V, Cabral D, Godeas A M. Interaction between grass endophytes and mycorrhizas in *Bromus setifolius* from Patagonia, Argentina. *Symbiosis*, 2005, 40(1): 23-30.
- [52] Larimer A L, Bever J D, Clay K. Consequences of simultaneous interactions of fungal endophytes and arbuscular mycorrhizal fungi with a shared host grass. *Oikos*, 2012, 121(12): 2090-2096.
- [53] Vignale M V, Iannone L J, Pinget A D, *et al.* Effect of epichloid endophytes and soil fertilization on arbuscular mycorrhizal colonization of a wild grass. *Plant and Soil*, 2016, 405(1/2): 279-287.
- [54] Brundrett M C. Tansley review No. 134: Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*, 2002, 154(2): 275-304.
- [55] Thrower L B, Lewis D H. Uptake of sugars by *Epichloe typhina* (Pers. Ex Fr.) Tul. in culture and from its host, *Agrostis stolonifera* L. *New Phytologist*, 1973, 72(3): 501-508.
- [56] Blanke V, Renker C, Wagner M, *et al.* Nitrogen supply affects arbuscular mycorrhizal colonization of *Artemisia vulgaris* in a phosphate-polluted field site. *New Phytologist*, 2005, 166(3): 981-992.