

养分添加对青藏高原高寒草甸丛枝菌根真菌的影响

黄园园¹ OLBRECHT Luise² 杨晓霞³ 贺金生^{1,3,†}

1. 北京大学城市与环境学院生态学系, 北京大学地表过程分析与模拟教育部重点实验室, 北京 100871; 2. Ecological Farming Systems, Research Station Agroscope Reckenholz-Tänikon, Zürich 8046; 3. 中国科学院西北高原生物研究所, 高原生物适应与进化重点实验室, 西宁 810008; † 通信作者, E-mail: jshe@pku.edu.cn

摘要 基于海北站的养分添加实验平台探讨养分输入对青藏高原高寒草甸丛枝菌根真菌(AMF)的影响。实验处理包括: 1) 对照; 2) 10 gN/(m²·a)的氮添加; 3) 5 gP/(m²·a)的磷添加; 4) 10 gK/(m²·a)的钾添加。利用醋酸墨水染色法定量分析各处理下植物根系的 AMF 侵染率。结果表明, 氮添加使总的 AMF 侵染率显著减少 27%, 但对 AMF 的丛枝丰度和囊泡多度无显著影响; 磷添加和钾添加对 AMF 均无显著影响, 但是磷添加使 AMF 侵染率有降低趋势。可以得到, 不同养分添加对高寒草甸植物与 AMF 的共生关系具有不同影响, 由此可能会引起物种组成等一系列的变化, 影响生态系统结构和功能, 因此在评估养分添加效应时应该考虑其对 AMF 的影响。

关键词 高寒草甸; 丛枝菌根真菌(AMF); 养分添加; AMF 侵染率

中图分类号 Q143

Effects of Nutrient Additions on the Arbuscular Mycorrhizal Fungal Colonization in the Alpine Meadow on the Tibetan Plateau

HUANG Yuanyuan¹, OLBRECHT Luise², YANG Xiaoxia³, HE Jinsheng^{1,3,†}

1. Department of Ecology, College of Urban and Environmental Sciences, Peking University, Beijing 100871; 2. Ecological Farming Systems, Research Station Agroscope Reckenholz-Tänikon, Zürich 8046; 3. Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Science, Xining 810008; † Corresponding author, E-mail: jshe@pku.edu.cn

Abstract An experiment was conducted to investigate the effects of nutrient additions on the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) colonization in the alpine meadow at Haibei field station in China. Treatments of the experiment were control, N addition (10 gN/(m²·a)), P addition (5 gP/(m²·a)), and K addition (10 gK/(m²·a)), each with six replicates. With ink-vinegar staining method, mycorrhizal colonization of roots of the meadow plant community was quantified. Results showed that N addition significantly reduced total mycorrhizal root length colonization by 27%, but had no effect on the arbuscular and vesicular colonization. There was a trend towards reducing AMF colonization by the P addition, but not significantly. K addition did not influence the AMF colonization. The results indicate that there is different influence on the AMF in the alpine meadow with different fertilizer application, which may influence the structure and function of the ecosystem such as the change of species composition. So it is necessary to take the AMF into consideration when evaluating the effects of nutrient additions.

Key words alpine meadow; arbuscular mycorrhizal fungi; nutrient addition; AMF colonization

植物生长对氮(N)、磷(P)和钾(K)的需求较大, 而土壤中可利用的 N, P 和 K 常常供应较少, 供求存在矛盾。丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi,

AMF)与植物根系能形成互惠互利的共生体, 帮助植物吸收土壤中的营养元素, 尤其是磷^[1]。因此, AMF 对于植物的生长具有重要作用, 它能侵染 80%

的陆地植物,即使在海拔 4270 m 的地方也能发现 AMF^[2]。养分添加(N 沉降、施肥等)会改变土壤养分可利用性,从而会对植物与 AMF 的共生关系产生影响。但是,养分添加如何影响 AMF 这一问题还存在很大争议。

一方面,养分添加可能会减少 AMF 侵染率。AMF 依赖于植物为其提供的碳水化合物来构建自身结构,同时为植物提供大量的矿质元素。在植物吸收的营养元素中,平均约有 80% 的 P^[3], 25% 的 N^[4]以及 10% 的 K^[5]由 AMF 提供。因此,在养分限制时,植物会转移更多的碳水化合物到 AMF 中^[6],增加 AMF 的侵染率。而 N, P 和 K 添加会减弱宿主植物对 AMF 的依赖性,并减少对其的养分输入,从而降低 AMF 的侵染率^[7-8]。

另一方面,AMF 的生长繁殖也需要矿质元素^[9]。研究发现,AMF 组织内的 N 含量比植物组织内高,对 N 的需求较高^[10]。AMF 在 N 极度缺乏的土壤里是受 N 限制的,因此,N 添加可能会增加 AMF 的侵染率^[11]。但是,Hodge 等^[12]发现 AMF 能加速分解并直接吸收有机氮,并且 AMF 还能通过改变土壤微生物的结构间接加速有机氮矿化。所以,即使土壤中可利用氮很低,但只要土壤总氮库含量高,AMF 的生长也不会受到限制,N 添加就不会增加 AMF 的多度。土壤中 P 缺乏对 AMF 的增殖限制性不大^[11]。除了菌丝可达到的范围更广外,AMF 本身对 P 的吸收能力更强,吸收速度远高于植物。AMF 对土壤 P 浓度的阈值要求较低,即使 P 浓度很低,AMF 也能检测到并进行吸收^[13]。不过也有研究表明,在 P 受较大限制的地区,AMF 会随着 P 添加而增加^[9]。K 添加对 AMF 自身生长影响的相关研究较少。由于 K 在土壤中移动性较大,而且 AMF 具有根外菌丝,AMF 本身生长一般不受 K 限制。

青藏高原高寒草甸虽处高海拔区域,但也有 AMF 侵染^[14-15]。海北高寒草甸土壤发育年轻,有机质贮量丰富,但是 N 和 P 大部分以有机态形式存在,矿化作用较弱^[16]。由于缺乏可利用性的 N 和 P,植物需要借助 AMF 来有效地吸收营养元素,因此,AMF 在高寒草甸生态系统中发挥重要的作用。养分添加可以通过增加土壤养分可利用性来解除植物的养分限制,从而可能会影响 AMF。AMF 的变化会影响生物多样性^[17]和生态系统功能,如影响植物的生理状况^[18]及土壤的结构^[19]等,因此研究养分添加对高寒草甸 AMF 的影响具有重要的意义。然而,

已有的研究大都只关注养分添加对地上植物产量的影响,对 AMF 等地下过程影响的研究则十分缺乏,相关研究也主要只在低海拔草地生态系统^[20-21]和农业生态系统^[22]中展开。在高寒草甸,养分添加如何影响植物与 AMF 共生关系的研究较少,尤其是 K 添加的影响在高海拔地区仍未见报道。

本实验的目的是研究 N, P 和 K 的添加对青藏高原高寒草甸 AMF 侵染率的影响。由于海北高寒草甸土壤有机质贮量丰富, K 供应的绝对量和有效量均较大,极易被植物利用,但可利用性 N 和 P 却较低,养分添加会增加土壤可利用性 N, P 的含量,使植物对 AMF 的依赖性降低。因此我们提出以下假设: 1) N 和 P 添加会减少高寒草甸植物 AMF 的侵染率; 2) K 添加对高寒草甸植物 AMF 侵染率的影响不显著。

1 研究区概况与方法

1.1 研究区自然概况

研究区为中国科学院海北高寒草甸生态系统定位研究站(37°29'—37°45'N, 101°12'—101°23'E)。该站位于青藏高原东北隅的祁连山谷地,青海海北藏族自治州门源县境内,海拔 3200~3600 m,多年平均气温为-1.6℃,年均降水量约 560 mm。站区属于典型的高原大陆性气候,生长季(5—9 月)湿润短暂,非生长季(10 月—次年 4 月)寒冷干燥而漫长^[23]。海北高寒草甸土壤有机质及全量养分丰富,但速效养分贫乏^[16]。

1.2 研究地点概况

研究地点是典型的高寒草甸,位于海北站东北方向约 2 km 处(37°37.1'N, 101°19.6'E, 海拔 3220 m)。本研究选择长期适应于高寒生态环境下的高寒矮嵩草草甸为研究对象,其植物群落以矮嵩草(*Kobresia humilis*)、异针茅(*Stipa aliena*)、垂穗披碱草(*Elymus nutans*)、小嵩草(*Kobresia pygmaea*)、早熟禾(*Poa annua*)、花苜蓿(*Medicago ruthenica*)等为优势种^[24]。土壤类型为草毡寒冻锥形土(高山草甸土),土壤有机质贮量丰富, N, P 绝大部分以有机态形式存在,矿化作用较弱^[25]。但是,本地区土壤母质中钾含量丰富,而且钾素绝大部分以无机态存在。2009 年养分添加前,土壤的基本理化性质见表 1。

1.3 实验设计及采样

实验设计为完全随机区组设计,样地建于 2009

表 1 养分添加前实验样地土壤理化性质
Table 1 Soil properties at different depths of the study site before nutrients additions

土层/cm	pH	全氮 TN/(g·kg ⁻¹)	全磷 TP/(g·kg ⁻¹)	全钾 TK/(g·kg ⁻¹)	有效磷 AP/(mg·kg ⁻¹)	有效钾 AK/(mg·kg ⁻¹)
0~5	7.46 (0.04)	8.7 (0.12)	0.84 (0.006)	15.2 (0.09)	6.2 (0.009)	244.1 (0.28)
5~10	7.61 (0.03)	6.9 (0.08)	0.69 (0.006)	13.8 (0.08)	5.2 (0.008)	225.2 (0.23)
10~20	7.96 (0.02)	5.9 (0.07)	0.56 (0.018)	9.6 (0.08)	3.2 (0.008)	100.7 (0.17)
20~40	8.36 (0.01)	3.7 (0.07)	0.44 (0.006)	7.4 (0.08)	2.2 (0.011)	84.7 (0.16)
40~60	8.57 (0.02)	1.9 (0.06)	0.30 (0.011)	3.7 (0.08)	0.21 (0.006)	61.5 (0.09)

说明: 表中显示各指标的均值, 括号内为 6 个重复测量的标准误差。

年, 分为 6 个小区(43 m × 14 m), 区组间有宽 2 m 的缓冲区隔开。每个小区内 4 个样方(6 m × 6 m), 样方水平随机分配不同的养分添加处理。4 种处理为: 1) 对照; 2) N 添加, 添加尿素, 添加量为 10 gN/(m²·a); 3) P 添加, 添加重过磷酸钙, 添加量为 5 gP/(m²·a); 4) K 添加, 添加硫酸钾, 添加量为 10 gK/(m²·a), 此外钾处理中还加了 Fe, S, Zn, Mn 等 9 种微肥。样方间有宽 1 m 的缓冲区用来消除相邻处理的干扰。

2009 年 7 月 15 日, 一次性给不同样方添加该年对应的养分量。施肥当日在太阳落山后, 用手将肥料均匀地洒在样方中。选择在太阳落山后施肥的目的是可利用次日清晨形成的露水, 使得肥料顺利溶解并渗透到土壤中。

2010 年 6 月底, 于样方的预留实验区(3 m × 3 m)内, 采集以垂穗披碱草(*E.nutans*)为中心的群落水平的土壤表层 0~10 cm 的根样。每个样方至少随机选取 3 个根样, 同一个样方的根样混合在一起处理。

1.4 AMF 侵染率测定

根样用清水洗净后, 选取直径 ≤ 2mm 的幼嫩细根, 切成 1~2 cm 长的片段, 完全混合, 用醋酸墨水法测定 AMF 侵染率^[26]。

组织透化: 将洗净的根段用体积浓度为 10% 的 KOH 溶液在热水浴中解离 80 分钟, 进行透明处理。实验进行 40 分钟后 KOH 溶液用新鲜的 KOH 溶液替换。每隔 10 分钟, 热水浴的热水用新沸腾的热水替换。由于海北站实验室海拔 3240 m, 其大气压约为 680 hPa, 沸腾水温为 90.5℃。

漂洗: 热水浴后, 根用清水漂洗 3 次。

染色: 将根样放于 5% 的醋酸墨水溶液中, 并用热水浴加热 5 分钟。染色剂醋酸墨水溶液的制备是将 5 mL Quink 派克标准纯黑墨水溶于 95 mL 体积分

数为 5% 的上海白醋(99.5% CH₃COOH)中。

脱色: 用 5% 的白醋酸化过的清水将根漂洗褪色, 直至漂洗过的水澄清。

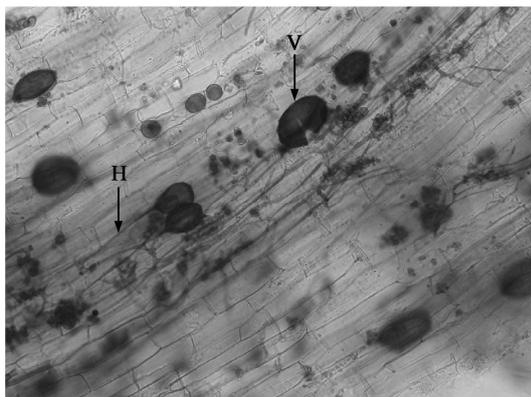
制片与显微观察: 挑取脱色处理后的 1 g 根段平行摆放于载玻片上制片。在显微镜下, 按照十字交叉划线法检测 AMF 的侵染率^[27]。用放大倍数为 200 倍的显微镜观察目镜十字丝和根样的交叉点, 并记录下交叉点上是否出现 AMF 的丛枝(arbuscule)、囊泡(vesicle)、菌丝(hyphae)结构, 凡有上述结构之一的根样, 均视为有 AMF 侵染。用囊泡多度、丛枝丰度和菌丝密度来表征含各自结构的根长占总根长的百分比。

1.5 数据处理与统计分析

采用 R3.0.0 软件对实验数据进行统计分析。以 $p=0.05$ 作为统计分析差异性显著的阈值。用 Bartlett 检验对数据方差齐性进行检验, 方差不齐性数据做对数转换, 使其满足统计分析要求。将 AMF 菌丝密度、囊泡多度和丛枝丰度以及总的侵染率分别作为因变量, 养分添加处理作为固定因子, 实验小区作为随机因子, 进行单因子方差分析, 检验 AMF 侵染率在不同养分添加处理水平下是否存在差异。再用 Duncan 多重范围检验进行方差分析的补充分析, 检验不同养分添加处理对 AMF 侵染率影响的差异。此外, 还用成对数据 t 检验来看养分添加样方与对照样方的 AMF 侵染率的差异。

2 结果

所有根样都被丛枝菌根真菌高度侵染, 平均侵染率为 53.84±2.55%, 最低侵染率为 34.62%, 最高侵染率为 76.7%。我们检测到 AMF 菌丝、囊泡和丛枝结构, 但一些根样片段没有 AMF 特有的丛枝结构(图 1)。除了较多的 AMF 侵染之外, 在根样中还发现一些其他未鉴定的类似于暗隔真菌(dark sep-



H: 菌丝; V: 囊泡

图 1 用醋酸墨水法染色的丛枝菌根真菌侵染的根样在 200 倍显微镜下的照片(Django Hegglin 拍摄)

Fig. 1 Microscope picture of a root colonized by arbuscular mycorrhizal fungi stained with ink-vinegar at a magnification of $\times 200$ (made by Django Hegglin)

tate endophytes, DSE)的内生真菌。

养分添加处理对总的 AMF 侵染率具有显著影响(ANOVA, $p=0.037$, 表 2)。跟对照相比, N 添加使

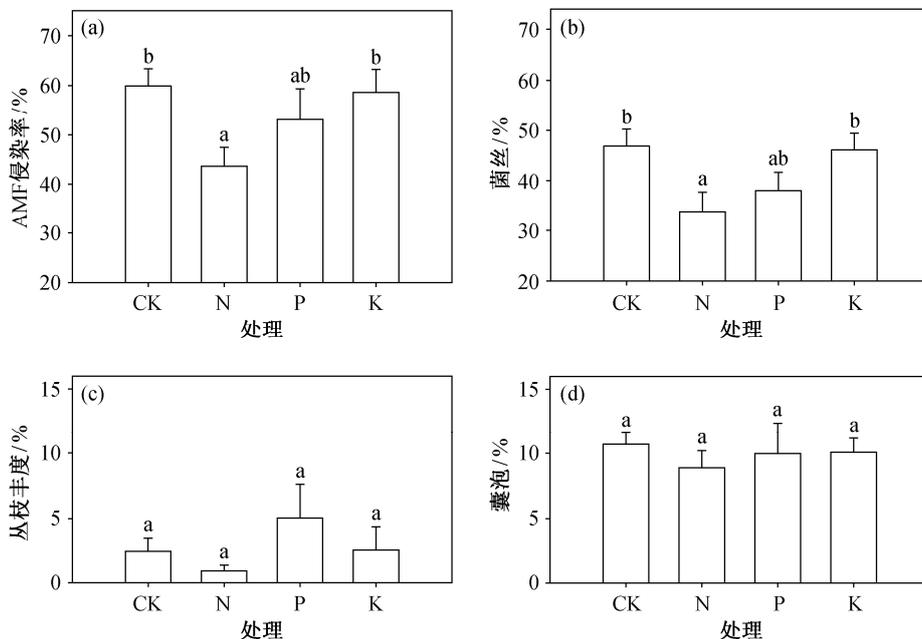
表 2 养分添加对根系 AMF 菌丝密度、囊泡多度、丛枝丰度和总侵染率的影响的方差分析结果

Table 2 ANOVA test of effects of nutrients additions on the percentage of total root length AMF hyphae, vesicles, arbuscule, and total colonization

差异来源	Df	菌丝侵染率		囊泡含量		丛枝丰度		总AMF 侵染率	
		F	p	F	p	F	p	F	p
养分添加	3	4.28	0.02	0.44	0.73	1.23	0.33	3.66	0.037

丛枝菌根真菌侵染率显著减少 27.23% (配对 t 检验, $p=0.027$); P 添加有减少 AMF 侵染率的趋势, 但是统计上并不显著; 而 K 添加没有影响 AMF 侵染率(图 2)。

养分添加对 AMF 菌丝、囊泡和丛枝结构的影响如图 2 所示。养分添加处理显著影响 AMF 菌丝密度(ANOVA, $p=0.02$), 但是对囊泡多度和丛枝丰度的影响并不显著(表 2)。其中, N 添加使 AMF 菌丝密度显著减少 27.81%, 囊泡多度减少 16.92% (不显著, 图 2)。此外, N 添加处理中 AMF 特有的丛枝结构较少, 但在统计上跟其他处理没有显著差异



CK: 对照; N: 氮添加(10 gN/(m²·a)); P: 磷添加(5 gP/(m²·a)); K: 钾添加(10 gK/(m²·a))。数据用均值表示, 误差线代表每个处理 6 个重复的标准误差, 不同字母表示同一因素不同水平的均值间有显著差异(Duncan 多重范围检验, $p < 0.05$), 字母顺序按均值由小到大排列

图 2 养分添加处理对总的菌根真菌侵染率(a)、菌丝密度(b)、丛枝丰度(c)和囊泡多度(d)的影响
Fig. 2 Influence of nutrient addition on the percentage of total root length colonization of arbuscular mycorrhizal fungi (a), hyphae (b), arbuscule (c) and vesicle (d)

(图 2)。P 添加对 AMF 菌丝、囊泡和丛枝结构含量均没有显著影响, 但是丛枝结构在 P 添加的不同重复之间差异较大(图 2)。K 添加处理对 AMF 的 3 种结构均无显著影响。

3 讨论

青藏高原高寒草甸 AMF 侵染率较高, 平均侵染率为 53.84%, 原因可能是当地水热同期, 光照充足, 植被生产力高^[23], 能为 AMF 提供足够的碳源, 促使 AMF 增多。此外, 本研究中的丛枝丰度较低, 菌丝密度较高, 与 Mandyam 在美国堪萨斯州高草大草原得出的结果相一致^[21]。原因主要与它们各自的功能有关, AMF 特有的丛枝结构是 AMF 与宿主植物进行物质交换的主要场所, 但是 AMF 吸收植物提供的碳水化合物主要还是依靠菌丝结构。丛枝结构周转快, 完成任务后便分解^[28]。

3.1 氮添加对丛枝菌根侵染的影响

研究结果显示 10 gN/(m²·a) 的 N 添加显著降低高寒草甸植物群落 AMF 的侵染率, 这与之前的假设及很多研究结果一致。Grogan 等^[29]和 Johnson 等^[30]都观察到 N 添加会减少根际 AMF 侵染。Treseder^[31]对不同生物区的研究进行综合分析, 结果显示施 N 肥使 AMF 侵染率降低 15%。但是, Hepper^[32]和 Furlan 等^[33]发现根际 AMF 侵染率随着施 N 肥浓度的增加而增加。Mandyam 等^[21]在美国堪萨斯州高草大草原上的实验结果表明 N 添加对 AMF 侵染率影响较小。结果不一致是由于 N 添加对 AMF 的影响与研究样地土壤和植物状况以及研究时间有关。AMF 在 N 库含量低的土壤里受 N 限制, N 添加会促进 AMF 的增殖。

本研究中, 土壤的有机氮库大, 但是可利用氮含量却很低, 约占总 N 的 3%~8%^[16]。在同一实验样地, 研究表明第一年添加尿素后, 土壤中可利用无机氮, 包括硝氮和氨氮都显著增加, 而且植物将更多的生物量分配到地上(未发表)^①。将施肥 1 个月后测的土壤可利用 N 含量和 AMF 侵染率数据进行 Spearman 相关分析, 结果显示 AMF 与硝态氮相关性较好($r_s = -0.70, p = 0.01$), 但与铵态氮的相关性就较弱($r_s = -0.50, p = 0.11$)。可见 AMF 与移动性强

的硝态氮含量相关, 可能原因是硝态氮移动性强, 植物较易吸收, 其含量增加使植物对 AMF 的依赖性减弱, 从而对 AMF 的碳投入减少, 使 AMF 的侵染率减少^[6]。

植物本身能通过根表皮和根毛吸收无机氮, 而且有研究指出青藏高原高寒草甸植物还能吸收小分子有机氮^[34]。但当土壤可利用 N 含量低时, 植物还是会依赖 AMF 吸收 N。原因可能是相对于吸收 C, 植物需要消耗更多的能量来吸收等量的 N, 也就是说植物提供碳水化合物给 AMF 所消耗的成本要低于自己吸收 N 所消耗的成本。为了达到最高的能量利用效率, 植物会依赖 AMF 吸收 N。因此, 随着可利用 N 源的增加, 植物吸收 N 的成本降低, 对 AMF 的依赖性就会减弱, 使 AMF 的侵染率减少。

此外, N 添加还有可能通过对群落的影响间接地减少 AMF 侵染率。可利用性 N 源增加使禾草类植物比例增加, 而使豆科植物减少, 改变群落的物种组成, 并会降低群落多样性^[20,35], 这些变化可能会降低 AMF 的侵染率。

3.2 磷添加对丛枝菌根侵染的影响

5 gP/(m²·a) 的磷添加使 AMF 侵染率有降低趋势, 但统计结果并不显著。在农田生态系统的一些研究中, 发现 AMF 对 P 添加并无响应^[22,36]。但是 Treseder^[31]的 meta 分析中指出施 P 肥会使侵染率下降 32%。由于该地植物生长受 P 限制^[37], 增加 P 供应应该减少宿主植物对 AMF 的依赖性, 从而减少对 AMF 的碳输入, 导致 AMF 侵染率降低。同实验平台研究显示 P 添加使植物成熟叶片 P 含量显著增加, P 重吸收效率显著降低(未发表)^②, 可见 P 添加是有效果的。

我们的结果在统计上不能证明 AMF 侵染率有显著下降。原因可能是 P 添加效果在此时可能只减缓缺 P 状况, 使其达到一般状态, 还不至于到减少 AMF 的状态。与吸收 N 不同, 植物吸收的 P 约 80% 都是由 AMF 提供, 对 AMF 的依赖性更大。而且, 与硝态氮等不同, 无机 P 在土壤中的移动性差, 且极易被土壤胶体所吸附, 使根表皮和根毛附近产生一个磷亏缺区。研究样地表层土壤 pH 约为 7.46, P 极易与 Ca 形成沉淀物, 使 P 的可利用性减弱, 因此

① Yang X X, Ren F, Zhou H S, et al. Contrasting effects of nitrogen and phosphorus addition on soil respiration in an alpine grassland on the Tibetan Plateau (未发表)

② 朱文琰, 等. 养分添加对植物养分重吸收的影响(未发表)

即使添加外源 P, 植物可能仍然需要依赖 AMF 来吸收 P。此外, 采样时间是在 6 月底, 是植物生长旺盛时期, 此时植物和 AMF 对 P 的需求都较高, 植物需要 AMF 帮助吸收更多的 P, 所以 AMF 侵染率并不显著减少。

3.3 钾添加对丛枝菌根侵染的影响

对 10 gK/(m²·a) 钾添加样方的 AMF 进行定量分析, 并没有发现 K 添加对 AMF 有显著影响。在青藏高原, 可能由于 K 的本底值较高, 因此人工添加 K 对 AMF 的影响不大。只有少数文献报道钾添加对 AMF 的影响, 而且结果各不相同。Furlan 等^[33]发现在生长季, 施钾肥后孢子产量会增加, 从而增加 AMF 的侵染率。与 N 和 P 相比, 尽管从 AMF 的菌丝输送给植物的 K 的含量很少, 但 K 对 AMF 的侵染率仍可能会有间接影响。很多实验显示, 增加 K 含量会使植物的净 C 交换增加; 缺钾会减少叶绿素含量, 减弱光合能力, 减少 C 的运输^[38]。因此, AMF 也可能因提供 K 而从植物中获得 C 源。

3.4 染色方法

用醋酸墨水染色法给丛枝菌根染色特异性不强, 我们不能鉴定 AMF 到物种水平, 而且其他的真菌结构如暗隔真菌也会被染色。不过采用 Quink 派克标准黑色墨水染色^[39]时, 菌丝着色十分牢固, AMF 的菌丝是无隔的, 颜色为鲜艳的蓝色, 囊泡也为蓝色, 而暗隔真菌的典型结构是根表面及皮层细胞间的褐色有隔菌丝, 以及褐色的微菌核。因此, 通过形态特征的比较, 可以区分 AMF 与其他真菌结构。相关分子技术可以用来鉴定根系的 AMF, 但是比较昂贵, 而且对野外样品有一定的限制^[40]。本实验所使用的醋酸墨水法的染色液配方中, 仅使用墨水和日常使用的白醋, 操作简便, 成本低廉, 无毒性。经过醋酸墨水染色后, AMF 的菌丝、囊泡和丛枝等着色牢固, 耐脱色, 易于镜检观察, 尤其适用于野外实验室。

4 结论与研究展望

海北高寒草甸生态系统中, 土壤中有有机质含量高, 但可利用的 N 和 P 养分含量低, 植物吸收 N 和 P 需要的成本较高, 所以 AMF 的 N 和 P 营养效应在该生态系统中发挥作用的空间很大。N 添加对 AMF 的影响比 P 添加的大。N 添加会增加土壤中移动性较强的硝态氮, 降低植物吸收 N 的成本, 使植物对 AMF 的依赖性减弱, 从而降低 AMF 侵染率。但是

P 的移动性较弱, 植物对 AMF 吸收 P 的依赖性较强。即使添加 P, 植物依然需要依赖 AMF 来帮助吸收, 因此, 植物与 AMF 的共生关系没有因 P 添加而减弱。该地土壤可利用 K 含量较高, 植物不缺 K, K 添加对 AMF 影响不显著。

本研究还应进一步考虑其他问题。在其他养分都满足植物需要的情况时添加特定养分对 AMF 的影响如何? 除了一种养分添加外, 多种养分混合添加是否也会减少 AMF, 不同养分之间是否具有交互作用? 生物多样性、物种组成、地上地下的 C 源分配、养分循环等在养分添加处理中的变化等研究可以结合起来解释养分添加对植物与 AMF 共生关系的影响机制。

致谢 实验得到 Bernhard Schmid 教授、Pascal Niklaus 博士、王志恒博士和牛克昌博士的指导和帮助, 以及中国科学院西北高原生物研究所的帮助, 在此一并致谢。

参考文献

- [1] Smith S E, Read D. Mycorrhizal symbiosis. Oxford: Elsevier, 2008
- [2] Schmidt S, Sobieniak-Wiseman L, Kageyama S, et al. Mycorrhizal and dark-septate fungi in plant roots above 4270 meters elevation in the Andes and Rocky Mountains. Arctic, Antarctic, and Alpine Research, 2008, 40(3): 576–583
- [3] 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
- [4] Ames R N, Reid C P P, Porter L K, et al. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ¹⁵N-labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytologist, 1983, 95(3): 381–396
- [5] George E, Häussler K U, Vetterlein D, et al. Water and nutrient translocation by hyphae of *Glomus mosseae*. Canadian Journal of Botany, 1992, 70(11): 2130–2137
- [6] Mosse B, Phillips J M. The influence of phosphate and other nutrients on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in culture. Journal of General Microbiology, 1971, 69(2): 157–166

- [7] Read D J. Mycorrhizas in ecosystems — nature's response to the law of the minimum // Hawksworth Frontiers in mycology. Regensburg: CABI Publishing, 1991: 101–130
- [8] Schmidt B, Gaspar S, Camen D, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi in terms of symbiosis-parasitism continuum. *Commun Agric Appl Biol Sci*, 2011, 76(4): 653–659
- [9] Treseder K K, Allen M F. Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular mycorrhizal fungi: a model and field test. *New Phytologist*, 2002, 155(3): 507–515
- [10] 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*, 2010, 107(31): 13754–13759
- [11] Grman E, Robinson T M P. Resource availability and imbalance affect plant-mycorrhizal interactions: a field test of three hypotheses. *Ecology*, 2013, 94(1): 62–71
- [12] Hodge A, Campbell C D, Fitter A H. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature*, 2001, 413: 297–299
- [13] Bolan N S. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, 1991, 134(2): 189–207
- [14] Gai J P, Cai X B, Feng G, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with sedges on the Tibetan plateau. *Mycorrhiza*, 2006, 16(3): 151–157
- [15] 蔡晓布, 彭岳林, 盖京苹. 西藏高山草原 AM 真菌生态分布. *应用生态学报*, 2010, 21(10): 2635–2644
- [16] 乐炎舟, 左克成, 张金霞, 等. 海北高寒草甸生态系统定位站的土壤类型及其基本特点 // 夏武平. 高寒草甸生态系统(第 1 集). 兰州: 甘肃人民出版社, 1982: 19–23
- [17] 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: 69–72
- [18] Azcón-Aguilar C, Barea J M. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens: an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 1997, 6(6): 457–464
- [19] Rillig M C, Mummey D L. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 2006, 171(1): 41–53
- [20] Gough L, Osenberg C W, Gross K L, et al. Fertilization effects on species density and primary productivity in herbaceous plant communities. *Oikos*, 2000, 89(3): 428–439
- [21] Mandyam K, Jumpponen A. Seasonal and temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal and dark septate endophytic fungi in a tallgrass prairie ecosystem are minimally affected by nitrogen enrichment. *Mycorrhiza*, 2008, 18(3): 145–155
- [22] Beauregard M S, Gauthier M P, Hamel C, et al. Various forms of organic and inorganic P fertilizers did not negatively affect soil- and root-inhabiting AM fungi in a maize-soybean rotation system. *Mycorrhiza*, 2013, 23(2): 143–154
- [23] 李英年, 赵新全, 曹广民, 等. 海北高寒草甸生态系统定位站气候、植被生产力背景的分析. *高原气象*, 2004, 23(4): 558–567
- [24] Wang C, Long R, Wang Q, et al. Fertilization and litter effects on the functional group biomass, species diversity of plants, microbial biomass, and enzyme activity of two alpine meadow communities. *Plant and Soil*, 2010, 331: 377–389
- [25] 赵新全, 周兴民. 青藏高原高寒草甸生态系统管理的生态学基础: 海北高寒草甸生态系统研究站. *AMBIO—人类环境杂志*, 1999, 28(8): 642–647
- [26] Vierheilig H, Coughlan A P, Wyss U, et al. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(12): 5004–5007
- [27] McGonigle T P, Miller M H, Evans D G, et al. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 1990, 115(3): 495–501
- [28] Van der Heijden M G A, Sanders I R. *Mycorrhizal ecology*. Berlin: Springer-Verlag, 2002: 77
- [29] Grogan P, Chapin F S III. Nitrogen limitation of production in a Californian annual grassland: the

- contribution of arbuscular mycorrhizae. *Biogeochemistry*, 2000, 49(1): 37–51
- [30] Johnson C R, Jarrell W M, Menge J A. Influence of ammonium: nitrate ratio and solution pH on mycorrhizal infection, growth and nutrient composition of *Chrysanthemum morifolium* var. *Circus*. *Plant and Soil*, 1984, 77: 151–157
- [31] Treseder K K. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO₂ in field studies. *New Phytologist*, 2004, 164(2): 347–355
- [32] Hepper C M. The effect of nitrate and phosphate on the vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of lettuce. *New Phytologist*, 1983, 93(3): 389–399
- [33] Furlan V, Bernier-Cardou M. Effects of N, P, and K on formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae, growth and mineral content of onion. *Plant and Soil*, 1989, 113(2): 167–174
- [34] Xu X, Ouyang H, Kuzyakov Y, et al. Significance of organic nitrogen acquisition for dominant plant species in an alpine meadow on the Tibet plateau, China. *Plant and Soil*, 2006, 285: 221–231
- [35] Stevens C J, Dise N B, Mountford J O, et al. Impact of nitrogen deposition on the species richness of grasslands. *Science*, 2004, 303: 1876–1879
- [36] Baslam M, Pascual I, Sanchez-Diaz M, et al. Improvement of nutritional quality of greenhouse-grown lettuce by arbuscular mycorrhizal fungi is conditioned by the source of phosphorus nutrition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(20): 11129–11140
- [37] Jiang C, Yu G, Li Y, et al. Nutrient resorption of coexistence species in alpine meadow of the Qinghai-Tibetan Plateau explains plant adaptation to nutrient-poor environment. *Ecological Engineering*, 2012, 44: 1–9
- [38] Zhao D, Oosterhuis D M, Bednarz C W. Influence of potassium deficiency on photosynthesis, chlorophyll content, and chloroplast ultrastructure of cotton plants. *Photosynthetica*, 2001, 39(1): 103–109
- [39] 杨亚宁, 巴雷, 白晓楠, 等. 一种改进的丛枝菌根染色方法. *生态学报*, 2010, 30(3): 774–779
- [40] Gamper H A, Young J P W, Jones D L, et al. Real-time PCR and microscopy: are the two methods measuring the same unit of arbuscular mycorrhizal fungal abundance?. *Fungal Genetics and Biology*, 2008, 45(5): 581–596