

缺铁和过量重碳酸盐胁迫下丛枝菌根真菌对枳生长的影响

王明元¹, 夏仁学^{1*}, 王幼珊², 周开兵³, 王 鹏¹, 倪海枝¹

(¹华中农业大学园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070; ²北京市农林科学院植物营养与资源研究所, 北京 100097; ³海南大学生命科学与农学院, 海口 570228)

摘 要: 采用盆栽沙培试验, 研究了缺铁及重碳酸盐胁迫下丛枝菌根 (arbuscular mycorrhiza, AM) 真菌地衣球囊霉 (*Glaucus versiforme*) 对枳 [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] 实生苗生长及植株铁营养状况的影响。结果表明, 在 pH 7.0 和 pH 8.0 的重碳酸盐胁迫下, 与未接种处理相比, 接种 AM 真菌显著增加了枳实生苗的株高、茎粗、地上部和地下部干样质量, 并且明显促进了叶片叶绿素和活性铁的积累, 显著提高了叶片 Fe/P 的比值, 减轻了枳因缺铁引起的黄化现象。

关键词: 柑橘; 枳; 丛枝菌根真菌; 实生苗; 重碳酸盐; 活性铁

中图分类号: S 666 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2008) 04-0469-06

Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth of *Poncirus trifoliata* Seedlings under Iron Deficiency and Heavy Bicarbonate Stresses

WANG Ming-yuan¹, XIA Ren-xue^{1*}, WANG You-shan², ZHOU Kai-bing³, WANG Peng¹, and NI Hai-zhi¹

(¹Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; ²Institute of Plant Nutrition and Resources, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100097, China; ³College of Life Science and Agronomy, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: Effects of arbuscular mycorrhiza (AM) fungus (*Glaucus versiforme*) on growth and iron nutrition of trifoliate orange [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] were investigated with sand culture under iron deficiency and heavy bicarbonate stress. Results showed that the colonization of *Glaucus versiforme* significantly increased the plant height, stem diameter, shoot and root dry mass under bicarbonate stress at pH 7.0 and pH 8.0. AM fungus inoculation significantly enhanced the accumulation of chlorophyll and active iron, and increased Fe/P, suggesting that arbuscular mycorrhizal fungi alleviate chlorosis caused by iron-deficiency in trifoliate orange.

Key words: citrus; *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.; arbuscular mycorrhizal fungi; trifoliate orange; bicarbonate; active iron

丛枝菌根 (arbuscular mycorrhizal, AM) 能够与地球上 80% 以上的陆生植物共生 (刘润进和李晓林, 2000; Sharrock et al, 2004)。AM 真菌侵染植物根系后, 产生大量根外菌丝, 能促进植物体对水分、矿质元素的吸收 (葛均青等, 2002; 陈宁等, 2003); 诱导植物抗病性 (Diedhiou et al, 2003); 改善温度、水分和盐等胁迫对植物的伤害 (Sylvia & Williams, 1992)。

由于受土壤 pH、氧含量等因素影响, 土壤中大多数铁以难溶于水的三价铁形态存在 (王秀茹

收稿日期: 2007 - 12 - 25; 修回日期: 2008 - 02 - 27

基金项目: 国家科技部促进三峡移民开发专项 (2004EP090019)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: renxuexia@mail.hzau.edu.cn)

等, 2006)。目前全世界高达 40% 的土壤缺铁, 在干旱或半干旱气候区, 碱性土 ($\text{pH} > 7.0$) 分布很普遍, 土壤缺铁现象更加严重。柑橘是一种缺铁敏感型的果树, 容易发生缺铁黄化现象, 对其生长和产量造成严重不利影响。鲁剑巍等 (2002) 调查了湖北省柑橘园土壤营养状况, 发现 34% 的橘园不同程度缺铁。

缺铁植株与正常植株总铁含量往往相当, 植株总铁含量并不能反映植物铁营养情况 (Pestana et al, 2003)。因此, 目前以叶绿素及叶片活性铁含量作为诊断植株缺铁与否的常规指标 (安华明和樊卫国, 2003; Pestana et al, 2005)。另外, 在植物生长发育的不同时期植物体内活性铁含量有波动, 但叶片 Fe/P 与 $50 (10\text{P} + \text{K}) / \text{Fe}$ 的比值恒定 (Álvarez-Fernández et al, 2005)。缺铁情况下, 植株 Fe/P 比值下降, 而 $50 (10\text{P} + \text{K}) / \text{Fe}$ 升高, 因此, Fe/P 与 $50 (10\text{P} + \text{K}) / \text{Fe}$ 的比值也是一种较好的诊断参数。

关于 AM 真菌对铁的吸收影响报道不一。Pacovsky 和 Fuller (1988) 发现 AM 真菌降低了大豆中铁含量, 却增加了玉米地上部总铁含量; 唐振尧和何首林 (1990) 盆栽 4 种柑橘砧木实生苗, 并接种 AM 真菌 *Glaucus citricolum*, 发现 AM 真菌能够促进砧木铁素吸收; Clark 和 Zeto (1996) 试验证实接种 AM 真菌促进了大豆和玉米总铁的吸收。可见, AM 真菌改善植物铁营养的效应值得进一步深入研究。

枳 [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] 是我国柑橘生产上应用最广泛的一种砧木, 其最适宜的土壤 pH 值为 5.5 ~ 6.5。在我国, 尤其是四川等地区, 土壤中钙以及重碳酸盐含量较高, 柑橘缺铁黄化问题比较严重。为探索纠正柑橘缺铁症的措施, 作者采用沙培方法模拟土壤缺铁、高钙与重碳酸盐环境, 测定 AM 真菌对枳生长及铁营养状况等的影响, 为 AM 真菌在柑橘上的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验地点在华中农业大学果树标本园温室大棚。

将河砂洗净过 2 mm 筛后与珍珠岩 (1:1, 体积比) 混合浸泡在 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液中 48 h, 取出用自来水冲洗后于清水浸泡 48 h, 去除过量氯离子, 然后用蒸馏水冲洗干净。将河砂和珍珠岩在 121 ~ 126 °C 高压湿热灭菌 2 h, 取出混合均匀, 装入 3 L 黑色套袋塑料盆, 每盆 3 kg。

供试 AM 真菌为地表球囊霉 (*Glaucus versiforme*), 由北京市农林科学院植物营养与资源研究所中国丛枝菌根真菌种质资源库 (BGC) 提供, 编号 BJ03, 每 10 mL 菌剂含 7045 个孢子。

2005 年 12 月 15 日, 选择籽粒饱满的枳 [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] 种子, 自来水冲洗干净, 75% 的乙醇浸泡 10 min, 蒸馏水冲洗 3 ~ 4 次, 然后将种子铺在湿润滤纸上, 恒温培养箱 26 °C 催芽。2 周后, 将已萌芽枳种子播种于塑料盆中, 每盆 10 棵, 转移至温室, 控制白天/夜间温度 25/15 °C, 每 2 d 浇 1 次 200 mL 蒸馏水, 1 个月后, 定苗 6 棵/盆, 每盆施浇 200 mL 去铁霍格兰氏营养液, 每 2 d 浇 1 次。2006 年 6 月 20 日, 枳实生苗开始出现缺铁黄化症状时按照试验设计方案浇灌营养液。

1.2 试验设计

试验采用双因素设计。因素一设两个处理: 不接种与接种 AM 真菌 (采用层播法, 每盆接种菌剂 2.1 mL, 约 1 488 个孢子)。因素二设 4 个处理: 营养液, 去铁霍格兰氏营养液 + 铁 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH 6.0), 作对照处理, 简称 +Fe (pH 6.0); 营养液, 去铁霍格兰氏营养液 (pH 6.0), 简称 -Fe (pH 6.0); 营养液, 去铁霍格兰氏营养液 + 铁 $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ + $0.5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3} \text{CaCO}_3$ + $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ (pH 7.0), 简称 CaCO_3 (pH 7.0); 营养液, 去铁霍格兰氏营养液 + 铁 $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ + $0.5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3} \text{CaCO}_3$ + $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ (pH 8.0), 简称 CaCO_3 (pH 8.0)。双因素共 8 个处理组合, 每组合重复 6 次。霍格兰氏营养液中, 铁以 EDTA-Fe 形式提供。1 个月后收获植株待测。

1.3 试验方法

用常规方法测定植株株高、茎粗、地上部和地下部干样质量。依照 Phillips和 Hayman (1970) 的方法测定 AM 的侵染率。用 95%乙醇提取叶绿素, 日本岛津 (UV-2450) 分光光度计测定。将新鲜叶片洗净, 于 105 °C 下烘干 48 h, 用盐酸浸提叶片钾和活性铁, 原子吸收光谱测定。叶片干样 480 °C 灰化, 采用钒钼黄比色法测定磷。

所有数据运用 SAS 软件 ANOVA 过程进行处理组合间的差异性检验, 对不同处理组合采用 LSD 法作多重比较; 运用 GLM 过程作交互作用双因素的差异显著性测验。

2 结果与分析

2.1 缺铁和重碳酸盐胁迫下枳菌根侵染率

砂培试验中, 未接种 AM 真菌的枳根系没有被侵染; 接种 AM 真菌, - Fe (pH 6.0)、CaCO₃ (pH 7.0) 和 CaCO₃ (pH 8.0) 处理中的根系侵染率分别为 72.44%、66.06%和 60.10%, 有逐步下降的趋势 (表 1)。

表 1 AM 真菌的侵染对枳生长的影响

Table 1 Effects of AM fungal colonization on growth of Poncirus trifoliata (L.) Raf seedlings grown in sand with iron deficiency and bicarbonate stress

AMF	营养液处理 Nutritional treatment	侵染率 / % Colonization	株高 / cm Plant height	茎粗 / mm Stem diameter	干样质量 / (g · plant ⁻¹) Dry mass	
					地上部 Shoots	地下部 Roots
接种 Inoculated	+ Fe (pH 6.0)	83.18 a	62.08 a	3.90 ab	2.40 a	1.25 a
	- Fe (pH 6.0)	72.44 ab	44.88 e	3.14 e	1.70 c	0.73 bcd
	CaCO ₃ (pH 7.0)	66.06 b	57.55 b	4.18 a	1.97 b	0.88 ab
	CaCO ₃ (pH 8.0)	60.10 b	51.64 bc	3.77 bc	1.77 c	0.75 bc
未接种 Uninoculated	+ Fe (pH 6.0)	0 c	48.75 cd	3.52 cd	2.16 ab	0.98 ab
	- Fe (pH 6.0)	0 c	35.80 f	3.12 e	0.98 d	0.47 cd
	CaCO ₃ (pH 7.0)	0 c	48.47 d	3.47 cde	1.26 d	0.57 cd
	CaCO ₃ (pH 8.0)	0 c	43.69 e	3.33 de	1.03 d	0.43 d

注: 同列不同字母表示差异显著 ($LSD_{0.05}$)。下同。

Note: Different letters in the same column mean significant difference at $P=0.05$ ($LSD_{0.05}$). The same below.

2.2 缺铁和重碳酸盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗生长的影响

在 pH 值 7.0 及 8.0 的重碳酸盐胁迫下, 接种 AM 真菌显著提高了枳株高、茎粗、地上部干样质量以及地下部干样质量, 尤其是株高, 分别比未接种的对照处理提高了 18.73% 和 18.20% (表 1)。不加铁处理的植株株高是最小的, 说明缺铁处理限制了枳的生长; pH 6.0 条件下, 不加铁处理的植株茎粗在接种与不接种 AM 真菌间无显著差异, 分别为 3.14 mm 和 3.12 mm, 但在重碳酸盐处理下, AM 真菌显著或极显著增加了枳茎粗。

不同铁处理中, 接种 AM 真菌后, 植株地上部和地下部干样质量有不同程度提高。pH 7.0 及 pH 8.0 的重碳酸盐胁迫下, 接种处理的地上部干样质量达到每株 1.97 g 和 1.77 g, 与未接种 AM 真菌处理相比, 分别提高了 56.35% 和 71.84%; 在 pH 8.0 的重碳酸盐处理下, 地下部干样质量最大增幅达到了 74.42%, 与未接种处理相比差异极显著。

上述结果表明 AM 真菌促进了植株生长, 缓解了重碳酸盐胁迫对枳生长的抑制。

2.3 缺铁和重碳酸盐胁迫下 AM 真菌对枳叶绿素和活性铁含量的影响

在 pH 7.0 及 pH 8.0 的重碳酸盐胁迫下, 接种与未接种 AM 处理的叶绿素和活性铁含量都达到了显著性差异; 接种处理的叶绿素含量分别达到 2.34 和 2.05 mg · g⁻¹ FM, 与未接种 AM 真菌处理相比, 分别提高了 27.87% 和 32.26%; 活性铁含量分别达到 1 441 和 1 353 μg · g⁻¹ DM, 与未接种 AM 真菌处理相比, 分别提高了 22.95% 和 26.33% (表 2)。

表 2 AM 真菌对枳叶片叶绿素和活性铁含量的影响

Table 2 Effect of AM fungi on the content of chlorophyll and active iron in leaves of trifoliate orange seedlings grown in sand with iron deficiency and bicarbonate stress

AMF	营养液处理 Nutritional treatment	叶绿素 / (mg · g ⁻¹ FM) Chlorophyll	活性铁 / (μg · g ⁻¹ DM) Active iron
接种 Inoculated	+ Fe (pH 6.0)	2.98 a	1 577 a
	- Fe (pH 6.0)	1.75 cd	1 139 de
	CaCO ₃ (pH 7.0)	2.34 b	1 441 ab
	CaCO ₃ (pH 8.0)	2.05 bc	1 353 bc
未接种 Uninoculated	+ Fe (pH 6.0)	2.81 a	1 268 cd
	- Fe (pH 6.0)	1.53 d	1 020 e
	CaCO ₃ (pH 7.0)	1.83 cd	1 172 de
	CaCO ₃ (pH 8.0)	1.55 d	1 071 e

双因子交互作用分析表明，铁和 AM 真菌对枳叶片叶绿素和活性铁含量有极显著交互作用 ($P < 0.01$)。可见，AM 真菌能显著提高枳叶片活性铁含量，减少碳酸钙引起的缺铁黄化现象。

2.4 缺铁和重碳酸盐胁迫下 AM 真菌对枳叶片 Fe/P 和 50 (10P + K) /Fe 比值的影响

枳叶片 Fe/P 比值随着缺铁胁迫的加重而降低，而 50 (10P + K) /Fe 的比值则逐渐升高。但是，在 + Fe、- Fe 以及 pH 7.0 和 pH 8.0 的处理中，接种 AM 真菌的枳叶片 Fe/P 的比值显著高于未接种处理的植株，分别提高了 87.4%、63.9%、62.6% 和 59.2%，然而，未接种 AM 真菌的枳叶片中 50 (10P + K) /Fe 的比值显著高于接种处理的植株，在 pH 7.0 和 pH 8.0 的重碳酸盐胁迫处理中出现最高值，分别达到了 4 882 和 5 634 (表 3)。

表 3 AM 真菌对枳叶片 Fe/P 和 50 (10P + K) /Fe 比值的影响

Table 3 Effect of AM fungi on Fe/P and 50 (10P + K) /Fe ratios in leaves of trifoliate orange seedlings grown in sand with iron deficiency and bicarbonate stress

AMF	营养液处理 Nutritional treatment	Fe/P	50 (10P + K) /Fe
接种 Inoculated	+ Fe (pH 6.0)	1 368 a	3 380 d
	- Fe (pH 6.0)	1 016 bc	4 361 bc
	CaCO ₃ (pH 7.0)	1 117 ab	3 793 cd
	CaCO ₃ (pH 8.0)	968 bcd	4 174 bcd
未接种 Uninoculated	+ Fe (pH 6.0)	730 cd	4 285 bc
	- Fe (pH 6.0)	620 e	5 300 a
	CaCO ₃ (pH 7.0)	687 de	4 882 ab
	CaCO ₃ (pH 8.0)	608 e	5 634 a

交互作用分析表明，铁和 AM 真菌对枳叶片 Fe/P 的比值有显著交互作用 ($P < 0.05$)，对 50 (10P + K) /Fe 的比值有极显著交互作用 ($P < 0.01$)。

3 讨论

AM 真菌的发育和分布受环境 (土壤 pH、温度、通气状况等) 影响很大，其中 pH 是影响 AM 真菌生长的一个重要因子 (Wang et al, 1993; 吴强盛和夏仁学, 2004)。大多数 AM 真菌分布在 pH 2.7 ~ 9.2 的土壤中，本试验中所用菌剂 *G. versiforme* 目前发现只在 pH 3.8 ~ 8.0 的土壤中存在 (Clark, 1997)。本试验结果表明，随着重碳酸盐过量胁迫的加剧，pH 值逐步升高，AM 真菌侵染率逐渐下降。Fortin 等 (2002) 曾报道 pH 值影响 AM 真菌孢子的萌芽和菌丝生长，本试验可能是高 pH 值抑制了菌根的发育和生长。目前尚未见到关于重碳酸盐处理对 AM 真菌侵染率的影响的报道。因此，上述推断尚待进一步通过试验验证。

接种 AM 真菌促进了各个营养液处理 (尤其是重碳酸盐胁迫处理) 中枳的生长 (如株高、茎粗、地上部及地下部干样质量)。可能是由于 AM 真菌侵染寄主后, 增加了寄主植物的根系吸收面积, 促进了寄主植物对矿质元素和水分的吸收 (Singh & Kapoor, 1999; Hernández et al, 2000)。进而, 提高了植株叶绿素含量, 增强光合作用, 增加碳水化合物的积累, 利于植物的快速生长。这与胡利明等 (2006) 的结果是一致的。

植株因缺铁引起的黄化现象是叶片叶绿素含量以及活性铁含量的降低的结果。缺铁条件下, 叶绿素前体物质的合成受阻, 导致叶绿素的生成减少 (Chatterjee et al, 2006)。本研究中, 接种 AM 真菌的植株叶绿素含量显著高于未接种处理的植株, 这是 AM 真菌间接作用的结果。低铁条件下, AM 真菌能够促进寄主植物对铁等元素的吸收 (Liu et al, 2000), 这在本研究中也得以证实。AM 真菌对养分的吸收取决于基质中营养元素的空间分布以及化学有效性。一般, 庞大的根外菌丝可以伸展到根系范围以外更远的地方, 吸收和转运更多空间的营养元素。同时, 在基质元素较低含量水平下, 菌根分泌物对金属元素的活化有一定的有益作用 (刘润进和李晓林, 2000)。本试验中, 接种 AM 真菌也显著提高了对照 (pH 6.0) 的枳实生苗的活性铁含量。一般地, AM 真菌在低元素的土壤中, 促进宿主植物吸收矿质元素的效应最好。由于本试验采用的是霍格兰营养液原配方, 有可能该配方中的铁浓度低于枳正常生长所需的浓度, 造成低铁环境, 因此, AM 真菌显著提高对照 (pH 6.0) 中枳实生苗的活性铁含量的结果也是可以理解的。

根据植物吸收铁的机理不同, 可以将高等植物分为机理 和机理 两类。机理 植物包括双子叶和非禾本科单子叶植物 (包括枳), 机理 只包括禾本科单子叶植物。缺铁情况下, 机理 植物根系释放出大量 H^+ , 促使根系周围 HPO_4^{2-} 向 $H_2PO_4^-$ 转化, 进而土壤中积累大量可以供植株吸收的可溶性磷。因此, 缺铁条件下叶片 Fe/P 的比值下降, $50 (10P + K) / Fe$ 比值上升 (Köseoglu, 1995)。本研究表明, 接种 AM 真菌提高了叶片 Fe/P 的比值, 降低了 $50 (10P + K) / Fe$ 的比值, 主要是接种 AM 真菌明显提高了植株体内活性铁含量。

本试验证实, 接种 AM 真菌可以明显提高枳的生长, 促进枳叶绿素和活性铁的积累, 改善高钙和重碳酸盐引起的枳缺铁问题, 因此接种 AM 真菌能够缓解柑橘因缺铁引起的黄化现象。

References

- Álvarez-Femández A, García-Marco S, Lucena J J. 2005. Evaluation of synthetic iron () -chelates (EDDHA/ Fe^{3+} , EDDHMA/ Fe^{3+} and the novel EDDHSA/ Fe^{3+}) to correct iron chlorosis. *European Journal of Agronomy*, 22: 119 - 130.
- An Huaming, Fan Weiguo. 2003. Effects of iron deficiency on *Pyrus pashia* Buch-Ham. *Scientia Agricultura Sinica*, 36 (8): 935 - 940. (in Chinese)
- 安华明, 樊卫国. 2003. 缺铁胁迫对川梨的生理影响. *中国农业科学*, 36 (8): 935 - 940.
- Chatterjee C, Gopal R, Dube B K. 2006. Impact of iron stress on biomass, yield, metabolism and quality of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Scientia Horticulturae*, 108: 1 - 6.
- Chen Ning, Wang You-shan, Li Xiao-lin, Zhang Mei-qing, Xing Li-jun, Feng Gu, Ni Xiao-hui. 2003. The effects of cultivated densities of host plant on the development of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycosystema*, 22 (1): 88 - 94. (in Chinese)
- 陈宁, 王幼珊, 李晓林, 张美庆, 邢礼军, 冯固, 倪小会. 2003. 宿主植物栽培密度对 AM 真菌生长发育的影响. *菌物系统*, 22 (1): 88 - 94.
- Clark R B, Zeto S K. 1996. Mineral acquisition by mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 28: 1495 - 1503.
- Clark R B. 1997. Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. *Plant and Soil*, 192: 15 - 22.
- Diedhiou PM, Hallmann J, Oserke E C, Dehne H W. 2003. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and a non-pathogenic *Fusarium oxysporum* on *Meloidogyne incognita* infestation of tomato. *Mycorrhiza*, 13: 199 - 204.

- Fortin J A, B éard G, Declerck S, Dalp éY, St-Arnaud M, Coughlan A P, Pich éY. 2002. Arbuscular mycorrhiza on root-organ cultures. *Canadian Journal of Botany*, 80: 1 - 20.
- Ge Jun-qing, Yu Xian-chang, Wang Zhu-hong. 2002. Effects of VAM on plant mineral nutrition. *Soils*, 13 (6): 337 - 343. (in Chinese)
- 葛均青, 于贤昌, 王竹红. 2002. VAM对植物矿质营养的效应. *土壤*, 13 (6): 337 - 343.
- Hernández G, Cuenca G, García A. 2000. Behaviour of arbuscular mycorrhizal fungi on *Vigna luteola* growth and its effect on the exchangeable (32 P) phosphorus of soil. *Biology and Fertility of Soils*, 31: 232 - 236.
- Hu Li-ming, Xia Ren-xue, Zhou Kai-bing, Huang Ren-hua, Wang Ming-yuan, Tan Mei-lian. 2006. Effects of different rootstocks on the photosynthesis of Satsuma Mandarin. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (5): 937 - 941. (in Chinese)
- 胡利明, 夏仁学, 周开兵, 黄仁华, 王明元, 谭美莲. 2006. 不同砧木对温州蜜柑光合特性的影响. *园艺学报*, 33 (5): 937 - 941.
- Köseoglu A T. 1995. Effect of iron chlorosis on mineral composition of peach leaves. *Journal of Plant Nutrition*, 18: 765 - 776.
- Liu A, Hamel C, Hamilton R I, Ma B L, Smith D L. 2000. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza*, 9: 331 - 336.
- Liu Run-jin, Li Xiao-lin. 2000. Arbuscular mycorrhizas and their utilization. Beijing: Science Press. 8 - 10. (in Chinese)
- 刘润进, 李晓林. 2000. 丛枝菌根及其应用. 北京: 科学出版社: 8 - 10.
- Lu Jian-wei, Chen Fang, Wang Fu-hua, Dong Bi, Wan Yun-fan, Yu Chang-bing, Hu Fang-lin, Wang Ming-rui, Wang Yun-hua. 2002. Study of classification of the soil nutrient status of citrus orchard in Hubei Province. *Plant Nutrition and Fertilizing Science*, 8 (4): 390 - 394. (in Chinese)
- 鲁剑巍, 陈 防, 王富华, 冬 碧, 万运帆, 余常兵, 胡芳林, 王明锐, 王运华. 2002. 湖北省柑橘园土壤养分分级研究. *植物营养与肥料学报*, 8 (4): 390 - 394.
- Pacovsky R S, Fuller G. 1988. Mineral and lipid composition of *Glycine-Glans-B nadythizobium* symbioses. *Physiologia Plantarum*, 72: 733 - 746.
- Pestana M, Varennes A D, Faria E A. 2003. Diagnosis and correction of iron chlorosis in fruit trees: A review. *Food, Agriculture and Environment*, 1: 46 - 51.
- Pestana M, Varennes A D, Abad A J, Faria E A. 2005. Differential tolerance to iron deficiency of citrus rootstocks grown in nutrient solution. *Scientia Horticulturae*, 104: 25 - 36.
- Phillips J M, Hayman D S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158 - 161.
- Sharrock R A, Sinclair F L, Gliddon C, Rao I M, Barrios E, Mustonen P J, Smithson P, Jones D L, Godbold D L. 2004. A global assessment of mycorrhizal fungal populations colonising *Tithonia diversifolia* using PCR techniques. *Mycorrhiza*, 14: 103 - 109.
- Singh S, Kapoor K K. 1999. Inoculation with phosphate-solubilizing microorganisms and a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biology and Fertility of Soils*, 28: 139 - 144.
- Sylvia D M, Williams S E. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stress. *ASA Special Publication*, 54: 101 - 124.
- Tang Zhen-yao, He Shou-lin. 1990. A preliminary report on the effect of a mycorrhizal fungus on iron uptake by citrus seedlings. *Acta Horticulturae Sinica*, 17 (4): 257 - 262. (in Chinese)
- 唐振尧, 何首林. 1990. VA菌根对柑桔吸收铁素效应研究初报. *园艺学报*, 17 (4): 257 - 262.
- Wang G M, Stribley D P, Tinker P B, Walker C. 1993. Effects of pH on arbuscular mycorrhiza I. Field observations on the long-term liming experiments at Rothamsted and Woburn. *New Phytologist*, 124: 465 - 472.
- Wang Xiu-ru, Xue Jin-jun, Yang Qing-qin, Tai She-zhen, Li Shao-hua, Zhang Fu-suo. 2006. The research about the absorption, transportation and distribution of iron in apple trees by using different fertilize methods. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (3): 597 - 600. (in Chinese)
- 王秀茹, 薛进军, 杨青芹, 台社珍, 李绍华, 张福锁. 2006. 苹果不同施肥方式对铁的吸收、运输与分配的影响. *园艺学报*, 33 (3): 597 - 600.
- Wu Qiang-sheng, Xia Ren-xue. 2004. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and osmotic adjustment matter content of trifoliate orange seedling under water stress. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 30 (5): 583 - 588. (in Chinese)
- 吴强盛, 夏仁学. 2004. 水分胁迫下丛枝菌根真菌对枳实生苗生长和渗透调节物质含量的影响. *植物生理与分子生物学学报*, 30 (5): 583 - 588.