

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2018.01.031

不同铁肥对缺铁桃树土壤酶活性 与细菌群落结构的影响

陈 城, 张福生, 彭忱晨, 陈次琼, 刘庆亚, 吴 东, 龙章富

(四川大学生命科学学院教育部生物资源与生态环境重点实验室, 成都 610065)

摘 要: 通过分析施用四种铁肥的缺铁桃树土壤有效铁、土壤酶活性、细菌群落结构及叶片活性铁差异, 结果表明不同铁肥对石灰性土壤中缺铁黄化桃树的矫正效果依次表现为 $\text{EDDHA} \cdot \text{Fe} > \text{Nutriagent} > \text{FeSO}_4 > \text{FeCl}_3 > \text{CK}$, 且导致土壤有效铁、叶片活性铁、土壤转化酶、脲酶和蛋白酶活性及细菌群落结构发生较大变化; $\text{EDDHA} \cdot \text{Fe}$ 、 Nutriagent 和 FeSO_4 明显提高土壤中细菌的多样性和丰度, 而叶片活性铁含量与土壤有效铁、转化酶、脲酶和蛋白酶活性有极显著相关性, 但与细菌群落均匀度呈不显著的负相关。

关键词: 铁肥; 桃树; 黄化病; 土壤酶活性; 细菌群落结构

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2018)01-0191-06

Effects of different ferric fertilizers on soil enzymatic activities and bacterial community structure of chlorotic peach trees

CHEN Cheng, ZHANG Fu-Sheng, PENG Chen-Chen,

CHEN Ci-Qiong, LIU Qing-Ya, WU Dong, LONG Zhang-Fu

(Key Laboratory of Bio-resources and Eco-environment, Ministry of Education,

College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: This paper reported the differences of the soil enzymatic activities, available iron contents, bacterial community structures and leaves' active iron contents among the chlorotic peach trees applied with four ferric fertilizers. Results indicated that four ferric fertilizers showed a tendency as $\text{EDDHA} \cdot \text{Fe} > \text{Nutriagent} > \text{FeSO}_4 > \text{FeCl}_3 > \text{CK}$ in the corrective effects on iron chlorosis of peach trees grown on calcareous soil and can differently changed the contents of soil available iron and leaves' active iron, activities of soil invertase, urease and protease, structures of soil bacterial communities in which the indexes of soil bacterial diversity and abundance were obviously promoted by $\text{EDDHA} \cdot \text{Fe}$, Nutriagent and FeSO_4 . However, the contents of leaves' active iron were most significantly correlated with the contents of soil available iron and activities of soil invertase, urease and protease while it was shown a non-significant negative correlation between the content of leaves' active iron and the soil bacterial evenness.

Keywords: Ferric fertilizer, Chlorosis, Soil enzymatic activity, Bacterial community

收稿日期: 2017-02-05

基金项目: 四川省科技厅科技支撑项目(2016KZ0006); 成都市科技局项目(2015-NY01-00074-NC, 2015-NY02-00100-NC)

作者简介: 陈城(1991-), 男, 河南省项城市人, 硕士研究生, 主要从事资源微生物与天然产物研究. E-mail: 1132789968@qq.com

通讯作者: 龙章富. E-mail: lzf0028@163.com

1 引言

桃树是我国重要的经济类果树,因其果实甘甜、营养丰富而深受人们喜爱;我国桃树栽培面积和产量均居世界首位,但因土壤缺铁导致的黄化病严重影响了桃树的产量和果品品质,常给果农造成巨大的经济损失^[1];如何矫治果树缺铁黄化症已成为当今世界亟待解决的一道难题.我国碱性土壤分布广泛,仅四川省就有 100 万 hm^2 以上的土壤严重缺铁,以致花生、大豆、柑橘、苹果、猕猴桃等作物产量降低、品质变差、年均经济损失超过亿元^[2].

石灰性土壤中全铁含量高但有效铁含量却很低,原因是土壤中的铁多以不易被植物吸收的 Fe^{3+} 的形式存在^[3].活性铁是指 0.1 mol/L HCl 浸提的铁,主要为 Fe^{2+} 和一部分易被还原的或可浸出的 Fe^{3+} ,是评价植物铁素营养很好的度量^[4].由于土壤酶和微生物群落结构与植物的营养吸收和代谢方面密切相关,因此,对缺铁桃树生长土壤的酶活性和细菌群落结构进行研究有重要的科学意义.目前关于有机肥料和无机肥料对作物产量、土壤养分、生物量和土壤酶活性的影响已有较多的研究报道^[5,6],但对于不同铁肥对果树土壤酶活性和细菌群落结构产生的影响还鲜见研究报道.本文通过比较 EDDHA·Fe(EDDHA 螯合铁)、Nutriagent(EDTA 螯合铁)、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (无机 Fe^{2+}) 和 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (无机 Fe^{3+}) 四种铁肥对缺铁黄化桃树的矫正效果及对土壤酶活性和细菌群落结构的影响,以期分析不同铁肥矫正桃树缺铁症的生态学效应差异,为阐明其不同作用机制提供可资借鉴的思路.

2 材料与方法

2.1 实验材料

实验地点设在四川省成都市龙泉驿区山泉镇红花村($30^\circ 30' 28''\text{N}$, $104^\circ 19' 29''\text{E}$).土质为紫色钙质化土壤,土壤 pH 8.31,含有机质 10.87 g/kg,含全量 N、P、K 分别为 0.154、0.172 和 0.522 g/kg,有效 Cu、Zn、Fe、Mn 和 Mo 含量分别为 1.21、6.11、8.36、13.4 和 0.17 mg/kg.

2.2 方法

2.2.1 实验设置 在桃树种植区选择 15 株黄化程度和树冠大小基本一致的缺铁失绿桃树,随机分为 5 组,每组 3 株,每组分别施用 25g/株(溶解在 6 L 清水) Nutriagent(含 EDTA·Fe、Zn、Mn、Cu、

Mo 和 B 分别为 3.76%、3.70%、2.56%、0.62%、0.08%、1.94%,四川通丰科技有限公司提供)、EDDHA·Fe、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.灌溉在桃树树冠滴水线 20cm 以内,对照组则施用等体积的清水处理,分别挂牌标记.在此期间,为保证实验数据不受干扰,除每隔 15d 正常补水一次(每次 10L)外,全程不补施其它肥料.施肥后 40d 前,每 10d 取各处理组桃树的代表性叶片,用清水洗净晾干后采用体视显微镜进行观察拍照(5×).

2.2.2 桃树土壤有效铁和叶片活性铁含量的测定

分别在施肥前、施肥后 20d 和 40d 采集土样和代表性叶片;各处理组的风干土壤经 DTPA 浸提,用原子吸收分光光度法测定土壤有效铁的含量(mg/kg).叶片鲜样切碎后用 1 mol/L HCl 按 1:10 的比例浸提过滤,用原子吸收分光光度计测定浸提液中桃树叶活性铁的含量(mg/kg)^[4].

2.2.3 土壤酶活性分析 在施肥前 1d 和施肥后第 20d、40d 分别采集每个处理组的土壤样品,4℃ 保存.主要参照《土壤与环境微生物研究法》、《土壤酶及其研究法》^[7,8] 等所述方法进行.其中土壤脲酶活性以 1h 后 1g 土壤中的 $\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ 的微克(μg)数表示,转化酶活性以 1h 后 1g 土壤中葡萄糖的毫克(mg)数表示,多酚氧化酶活性以 1h 后 1g 土壤中红紫脲精的毫克(mg)数表示,蛋白酶活性以 1h 后 1g 土壤中葡萄糖的微克(μg)数表示.

2.2.4 DGGE-PCR 分析土壤细菌群落结构 采取多点混合取样法,在施肥前 1d 和施肥后 20d 收集新鲜土样, -20℃ 保存.提取土壤总 DNA.基于土壤环境的复杂性,采用巢式 PCR 法进行细菌 V3 序列的 PCR 扩增,大片段扩增引物为 F27(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCA-3')、R1522(5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3'), V3 序列扩增引物为 F357-GC(5'-CGCCC GCCGCGC GCGGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGG GGGC-CTACGGGAGGCAGCAG-3')、R518(5'-AT-TACCG CGGCTGCTGG-3').变性凝胶梯度电泳参照魏巍的方法^[9],电泳条件为 90V(16h),变性剂范围为 40%~70%,凝胶浓度 8%.用 Quantity one 软件,按照 UPGAMA 算法对电泳结果进行细菌聚类、香农-威纳指数、均匀度指数、丰度指数分析,并测定施肥前后土壤中优势细菌种类.回收土壤细菌群落中共有微生物条带进行 PCR 扩增,电泳并回收特异性 PCR 产物,测序后将结果在 GenBank 数据库进行序列比对.

2.5 数据分析

采用 SPSS (Version 15) 软件对各分析指标的数据进行差异显著性分析与相关性分析, 对各指标之间的内在联系进行分析。

3 结果与分析

3.1 不同铁肥对桃树黄化病的治疗效果

借助体视显微镜观察各处理组的代表性桃树叶片(施肥后第 40d, 放大 5 倍), 结果发现 CK 组

桃树叶片黄化程度依旧十分严重, 其叶肉和叶脉颜色明显偏黄; FeCl_3 处理组的叶片颜色比 CK 组稍有好转, FeSO_4 处理组的叶片颜色返绿效果比 CK 组和 FeCl_3 组较为明显, 叶肉基本转绿, 但仍未完全恢复正常。而 Nutriagent 和 EDDHA · Fe 处理组的叶片颜色返绿效果较好, 叶肉与叶脉均已明显转绿, 尤以 EDDHA · Fe 的矫正效果最佳, 其次是 Nutriagent 处理组。

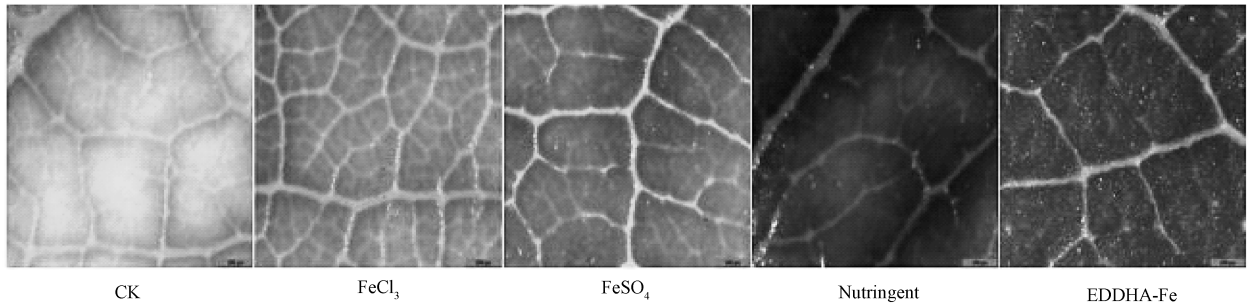


图 1 不同铁肥对桃树黄化病的矫正效果

Fig. 1 Corrective efficacy of different ferric fertilizers on chlorotic peach leaves

3.2 不同铁肥对土壤有效铁和叶片活性铁含量的影响

施用不同铁肥可不同程度地提高土壤中有效铁含量, 尤以 EDDHA · Fe 的效果最为明显, 其次为 Nutriagent (结果见表 1), 且不同铁肥提高桃树叶片活性铁含量也呈现同样趋势。这说明不同铁肥的应用可以通过提高土壤有效铁含量促进桃树对铁元素的吸收利用, 进而提高了叶片活性铁的含量并使桃树黄化病得到矫正。

3.3 土壤酶活性

各处理组对土壤酶活性的影响分析结果(见表 2)表明: (1) 不同铁肥对土壤转化酶和土壤脲酶活性均有促进作用; (2) EDDHA · Fe、Nutriagent 和 FeSO_4 均显著提高土壤蛋白酶活性, 而 FeCl_3 却明显的抑制土壤蛋白酶; (3) 施用不同铁肥 20d 后, 各

处理组的土壤多酚氧化酶都显著低于 CK 组, 这说明 4 种铁肥显著抑制土壤多酚氧化酶; 尤其是 FeCl_3 和 EDDHA · Fe 处理组抑制作用最显著。

3.4 土壤细菌群落结构分析

3.4.1 土壤细菌 16S rDNA V3 区 DGGE 电泳从 DGGE 图谱(图 2)可以看出每个处理组都有大量分离的条带, 表明其含有较多的不同细菌种类, 且每个处理组都有 7 个共有条带, 说明各处理均有这 7 条带所代表的细菌种类。测序分析显示 7 个共有细菌菌均为不可培养菌(表 3), 其中两个为未知菌, 其余 5 个共有细菌分别属于浮霉菌门(Planctomycetes)、栖热链球菌门(Deinococcus-Thermus)、变形菌门(Proteobacteria, 2 个)和 Gemmatimonadetes(芽单胞菌门)。

表 1 不同铁肥对土壤和叶片有效铁含量的影响

Tab. 1 Effects of different ferric fertilizers on soil available Fe and leaves's active Fe

处理组	土壤有效铁含量(mg/kg)			叶片活性铁含量(mg/kg)		
	0d	20d	40d	0d	20d	40d
FeCl_3	8.27	8.71	8.96	36.73	45.36	47.11
FeSO_4	7.96	9.37	8.93	37.98	53.2	58.83
Nutriagent	8.48	11.59	11.86	38.15	59.9	68.4
EDDHA · Fe	8.38	11.76	11.38	38.34	63.84	72.25
CK	8.72	8.47	8.66	39.12	38.31	36.73

表 2 土壤酶活性变化
Tab. 2 Changes of the soil enzyme activities

土壤酶活性	采样时间(d)	FeCl ₃	FeSO ₄	Nutriagent	EDDHA·Fe	CK
转化酶 (mg/g·h)	0	10.20±0.42a	10.09±1.54a	10.11±1.51a	10.16±0.90a	10.14±1.04a
	20	12.32±0.34a	11.50±0.86bc	12.19±1.05ab	11.56±0.89abc	10.89±0.55c
	40	15.18±1.18ab	14.20±0.31b	15.84±1.60a	14.68±0.95ab	12.60±1.02c
脲酶 (μg/g·h)	0	4.06±0.17a	4.08±0.37a	4.12±0.45a	4.08±0.23a	4.08±0.30a
	20	4.57±0.13d	6.34±0.26b	8.91±0.48a	5.41±0.44c	4.36±0.23d
	40	7.53±0.30c	6.52±0.36d	10.94±0.51a	9.31±0.77b	5.70±0.37e
蛋白酶 (g/g·h)	0	14.36±0.05ab	14.87±0.70a	13.56±0.43b	14.13±0.65ab	14.20±0.10ab
	20	22.50±0.18d	46.75±0.78a	46.66±0.45a	37.37±1.30b	25.16±0.34c
	40	15.13±0.35d	33.29±1.22c	48.48±0.43a	39.89±1.22b	16.36±0.15d
多酚氧化酶 (mg/g·h)	0	2.45±0.16a	2.43±0.44a	2.45±0.19a	2.40±0.28a	2.56±0.14a
	20	2.72±0.14d	4.40±0.20b	4.04±0.15c	3.87±0.14c	5.78±0.49a
	40	4.34±0.26d	4.87±0.11c	5.86±0.29b	4.08±0.24e	6.93±0.17a

注:同一时间对应的不同处理组标注有不同字母的酶活性(M±SD)即为两者间存在显著性差异(P<0.05)。

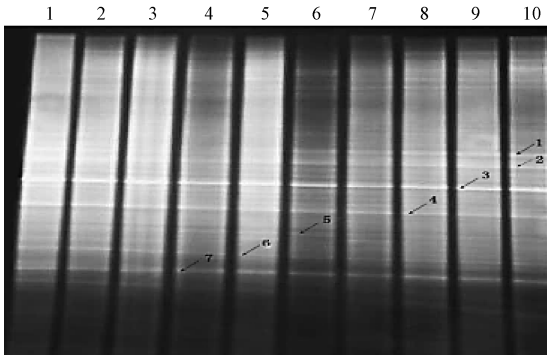


图 2 不同处理组的土壤细菌 16S rDNA V3 区的 PCR-DGGE 指纹图谱

Fig. 2 PCR-DGGE banding patterns of 16SrDNA V₃ region from different soil treatments

Note: Lanes of 1, 3, 5, 7, 9 为施用 EDDHA·Fe, FeSO₄, Nutriagent, FeCl₃ 和清水后的土壤细菌, Lanes of 2, 4, 6, 8, 10 为施肥前的土壤细菌。

土壤细菌群落结构表现出较大的差异(见图 3),说明不同铁肥处理前后土壤细菌多属不同分枝群,但对照组处理前后的细菌群落结构变化最小.从多样性分析结果(见表 4)也可看出:(1)细菌群落均匀度指数变化较大:施用 FeCl₃、FeSO₄、Nutriagent 和 ck 组的细菌均匀度与施用前的分别增加了 0.1%、2.2%、8.2%和 4.8%,但 EDDHA·Fe 组却降低 7.9%;(2)细菌群落丰度变化也有明显的组间差异:EDDHA·Fe、Nutriagent 和 FeSO₄ 组比施用前分别增加 28.4%、5.1%、65.4%,而 FeCl₃ 组和 CK 组降低 21.1%和 7.4%;(3)细菌群落香农-威纳指数增减趋势与丰度指数一致,EDDHA·Fe、FeSO₄、Nutriagent 等 3 个处理组分别比施用前增加了 10.0%、21.7%、2.0%,而施用 FeCl₃ 和对照组则降低 8.6%和 2.9%。

3.4.2 细菌群落结构分析 施用不同铁肥前后的

表 3 土壤细菌 DGGE 共有条带的测序结果

Tab. 3 Sequencing results of the bacterial DGGE bands owned by all samples

序号 Band	最相近序列 Closest sequence	相似度最大微生物 Most closely related organism	生物学分类 Taxonomic group	相似度(%) Sequence similarity	细菌类型 Bacterial species
1	JN002823	Planctomycetales	Planctomycetes	98	Uncultured bacterium
2	JF145596.1	Unknown	Unknown	99	Uncultured bacterium
3	KC237717	Thermus sp	Deinococcus-Thermus	98	Uncultured bacterium
4	HG379849	Deltaproteobacteria	Proteobacteria	97	Uncultured bacterium
5	AY289462.1	Unknown	Unknown	98	Uncultured bacterium
6	JQ400221	Gemmatimonas sp.	Gemmatimonadetes	97	Uncultured bacterium
7	KJ410621	Kofleria sp.	Proteobacteria	98	Uncultured bacterium

表 4 土壤样品 DGGE 条带多样性指数、丰度及均匀度
Tab. 4 Shannon-wienerIndex, Richness and Evenness of each soil sample by DGGE bands pattern

处理	采样时间(d)	丰度指数	均匀度指数	香农-威纳指数
CK	0	14.412049	0.922427	2.668065
	20	13.346171	0.966279	2.591230
FeCl ₃	0	15.495958	0.953282	2.740579
	20	12.232370	0.954482	2.504086
FeSO ₄	0	10.111411	0.935775	2.313665
	20	16.722809	0.955907	2.816774
Nutriagent	0	13.046599	0.907378	2.568527
	20	13.717526	0.982146	2.618674
EDDHA·Fe	0	12.223167	0.956919	2.503333
	20	15.699991	0.881034	2.753660

3.5 检测指标的相关性分析

通过对土壤有效铁、叶片活性铁含量、土壤酶活性及土壤细菌群落结构的各检测指标进行相关性分析,结果(见表 5)表明:(1)土壤有效铁含量与叶片活性铁含量、土壤脲酶及蛋白酶活性极显著相关,与土壤转化酶显著相关,但与细菌群落均匀度却不显著的负相关;(2)叶片活性铁含量与土壤转化酶、脲酶和蛋白酶活性有极显著相关性,但与细菌群落均匀度却表现为不显著的负相关;(3)土壤转化酶与脲酶活性有极显著相关性,与多酚氧化酶也有显著相关性;(4)土壤脲酶与蛋白酶活性有极显著相关性,与多酚氧化酶也有显著相关性;(5)细菌群落的丰度指数与 shannon 指数表现出极显著的相关性,而细菌丰度指数与均匀度指数、均匀度指数与香农指数均为不显著的负相关。

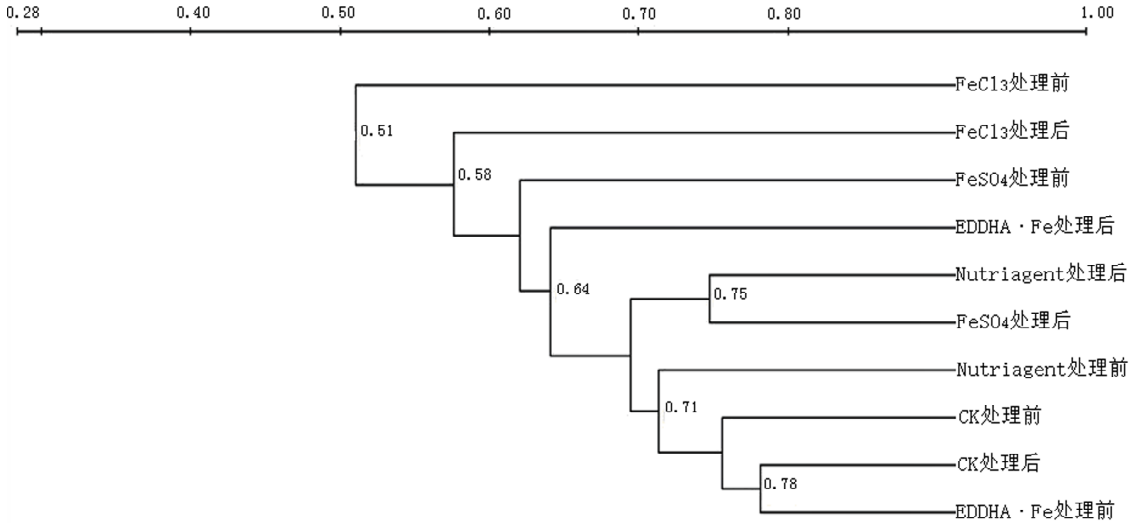


图 3 不同处理组土壤样品细菌群落结构相似性的聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of bacterial community structure similarity in different soil samples

表 5 桃树土壤有效铁含量、酶活性及土壤细菌群落结构的相关性分析

Tab. 5 The correlation analysis of leaves and soil active Fe, enzyme activities and bacterial community structure

Item	土壤有效铁	叶片活性铁	转化酶	脲酶	蛋白酶	多酚氧化酶	丰度	均匀度
叶片活性铁	0.901**							
转化酶	0.544*	0.705**						
脲酶	0.795**	0.832**	0.852**					
蛋白酶	0.827**	0.867**	0.508	0.759**				
多酚氧化酶	0.313	0.309	0.587*	0.516*	0.426			
丰度	0.445	0.473	0.237	0.314	0.528	0.361		
均匀度	-0.167	-0.141	0.267	0.375	0.209	0.283	-0.144	
香农威纳指数	0.453	0.464	0.246	0.317	0.514	0.367	0.996**	-0.132

注:数据上标有*表示存在显著相关性,标记为**则表示存在极显著相关性。

4 讨论

土壤酶对土壤中各种物质的生化反应、矿物质元素的循环起着重要作用,因此成为评价土壤肥力

和土壤生产力的一个重要指标.其中脲酶的活性越高,土壤中微生物数量、氮素含量、有机质含量就越多,因此脲酶能用来表征土壤中氮素情况^[8].蛋白酶是土壤酶类中研究较多的水解酶类之一.转化酶存

在于所有土壤,与土壤中水溶性有机物、微生物数量、腐殖质、土壤熟化程度成正相关,用于表征土壤肥力水平、熟化程度^[10].多酚氧化酶在土壤中芳香族化合物循环中发挥很重要的作用,常被用于土壤环境修复^[7,8].李双霖^[11]等通过研究发现转化酶、蛋白酶、脲酶的活性与土壤肥力显著或极显著相关,认为这几种酶活性可以作为果园土壤肥力高低的重要指标.唐艳^[12]对不同银杏园土壤的研究表明脲酶、蛋白酶、转化酶可作为评价银杏园土壤肥力水平的指标.本研究结果证实施用铁肥尤其是 EDDHA·Fe 和 Nutriagent 会使土壤中有效铁与叶片活性铁的含量均显著增加,同时提升土壤中蛋白酶、脲酶和转化酶活性;这些指标的升高可能有助于桃树对土壤中铁和其他营养元素的吸收,促使桃树黄化病得以快速缓解或矫正,这也说明螯合铁肥或者含多元素的螯合微肥对缺铁桃树的矫正效果更加突出.

土壤微生物具有分解动植物残体的作用,其生命活动是土壤养分转化的驱动力,有助于土壤保水力,改良土壤物理状况,减缓腐殖质的流失,而施肥会影响土壤微生物的生命活动^[13,14].物种多样性变化可反应群落组成结构的变化,土壤特性影响物种多样性的空间分布格局,同时物种多样性也可影响土壤性质^[15].樊军、孙瑞莲等人研究发现,施肥尤其是施用有机肥能明显提高土壤微生物数量,有利于土壤微生物生长繁殖的土壤生态化学环境^[16,17].本研究发现施用 EDDHA·Fe、Nutriagent 和 FeSO₄能明显提高土壤细菌的多样性和丰度.或许土壤细菌丰度和多样性的增加可以促进土壤有机质的分解,使植物获得更多的营养元素.而施用 FeCl₃却降低土壤细菌群落的多样性和丰度,这或许是 FeCl₃治疗桃树黄化病效果较差的原因之一.

目前对植物黄化病治疗的研究主要集中在新型铁肥的研发与铁蛋白转基因入植物两个方面^[18].而目前铁肥是矫正植物黄化病最直接有效的方法,且以 EDDHA 螯合铁肥应用效果最佳.四川龙门山脉地带的桃树虽也有 EDDHA·Fe 的应用,但桃树缺铁症却表现为不规律性复发.其不稳定、无规律性的发病原因可能十分复杂.我们在后续研究中初步发现,桃树在缺铁胁迫情况下,土壤铁细菌与产酸菌的数量会大幅增多(另文发表).而在不补铁肥的情况下,桃树黄化症状也可得到一定程度的改善,说明桃树自身也有相应的缺铁应急机制.因此,对缺铁果树的应急机制与补铁后的应答机制均应进一步进行系统而深入的研究.

参考文献:

- [1] 赵艳琴.成都市龙泉驿区桃树黄花病调查及初步研究.硕士学位论文[D].雅安:四川农业大学,2006.
- [2] 赵海燕.有机铁肥的发展现状[J].云南化工,2004,31:15.
- [3] 崔兴国.果树缺铁研究进展[J].黑龙江农业科学,2010,6:152.
- [4] Pierson E E, Clark R B. Ferrous iron determination in plant tissue [J]. Plant Nutr, 1984, 7: 107.
- [5] Wang Y, Shen Q R, Yang Z M, *et al.* Size of microbial biomass in soils of China [J]. Pedosphere, 1996, 6: 265.
- [6] Ward D M, Weller R, Bateson M M. 16SrRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a nature community [J]. Nature, 1990, 344: 63.
- [7] 李振高,骆永明,滕应.土壤与环境微生物研究法[M].北京:科学出版社,2008.
- [8] 关松荫.土壤酶及其研究方法[M].北京:农业出版社,1986.
- [9] 魏巍,许艳丽,朱琳,等.长期施肥对黑土农田土壤微生物群落的影响[J].土壤学报,2013,50:372.
- [10] 郝建朝,吴沿友,连宾,等.土壤多酚氧化酶性质研究及意义[J].土壤通报,2006,37:470.
- [11] 李双霖,李友钦.果园土壤酶活性与土壤肥力关系的研究[J].福建农业科技,1990:9.
- [12] 唐艳,杨林林,叶家颖.银杏园土壤酶活性与土壤肥力的关系研究[J].广西植物,1999,19:277.
- [13] Cress W A, Johnson G V, Barton L L. The role of endomycorrhizal fungi in iron uptake by *Hilaria jamesii* [J]. Plant Nutr, 1986, 9: 547.
- [14] Yang C H, Crowley D E, Yang C H. Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status [J]. Appl Environ Microb, 2000, 66: 345.
- [15] 武文娟,辜彬.震后边坡植被多样性与土壤特性的相关性研究[J].四川大学学报:自然科学版,2016,53:1415.
- [16] 樊军,郝明德.长期轮作与施肥对土壤主要微生物类群的影响[J].水土保持研究,2003,10:88.
- [17] 孙瑞莲,朱鲁生,赵秉强,等.长期施肥对土壤微生物的影响及其在养分调控中的作用[J].应用生态学报,2004,15:1907.
- [18] Connolly E L, Fett J P, Guerinot M L. Expression of the IRT1 metal transporter is controlled by metals at the levels of transcript and protein accumulation [J]. Plant Cell, 2002, 6: 1347.