

菌根对镉污染水稻生长的影响研究

王立¹, 刘双洋¹, 马放¹, 安广楠², 徐亚男³, 齐珊珊¹, 朱宏源¹ (1. 哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150090; 2. 环境保护部环境工程评估中心, 北京 100012; 3. 中国市政工程华北设计研究总院有限公司, 天津 300000)

摘要 [目的]研究菌根对镉污染水稻生长的影响。[方法]以水稻为试验材料,采用土壤盆栽方式,研究了镉胁迫条件下,AMF菌剂对水稻植株营养生长的影响。[结果]AMF可与水稻稳定共生,镉的施加对水稻感染率不会产生明显抑制,施加菌剂处理后水稻的菌根依赖性指数提高。水稻株高和根长均随镉含量的增加呈下降趋势,且施加菌剂可缓解镉对水稻产生的生长抑制效应。不同镉处理条件下水稻地上干重顺序为GM>GI>CK,其中GM较CK相比增加幅度为10.76%~59.48%,因此摩西球囊霉对于水稻生物量的促进更为明显,且地下干重的增加趋势情况与地上顺序一致。在镉含量为5 mg/kg内的低浓度镉胁迫条件下,水稻根冠比降低程度较缓慢,表明菌剂在中低浓度的镉污染情况下对水稻有较强的保护作用。[结论]将AMF施加在镉污染的农田土壤时,能够很好地缓解镉胁迫对水稻造成的生长发育的抑制,对于保障水稻良好的生长状况有较强的应用潜力。

关键词 水稻;丛枝菌根真菌;镉;生长

中图分类号 S511;X5 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)19-241-04

Effect of Mycorrhiza on the Growth of Rice Contaminated by Cadmium

WANG Li, LIU Shuang-yang, MA Fang et al (State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin, Heilongjiang 150090)

Abstract [Objective] The research aims to study the impact of mycorrhiza on growth of rice contaminated by cadmium. [Method] The rice was inoculated with AMF in the cadmium contaminated soil. A pot culture experiment was carried out to study the effect of AMF on the growth of rice. [Result] AMF can live with rice stably. Adding cadmium does not produce significant inhibition of rice root infection rate, and rice mycorrhizal dependency index increases after inoculated with AMF. With the levels of cadmium increase, rice plant height and root length decline, while AMF can alleviate the growth inhibitory effect of rice with cadmium. Under different cadmium treatment conditions, the rule of dry weight in rice shoot is GM > GI > CK, and the increase amplitude of GM compared with CK is 10.76% - 59.48%, so GM is more effective in promoting rice biomass increase, and so as the root dry weight. When cadmium content is less than 5 mg/kg, root-top ratio reduces slowly, showing that AMF has strong protective effect in rice at low concentrations of cadmium pollution. [Conclusion] AMF can be useful in easing rice growth inhibition caused by cadmium, and has strong potential in guaranteeing good growth conditions for rice.

Key words Rice; Arbuscular mycorrhizal fungi; Cadmium; Growth

自工业革命以来,人们对于经济的追求使得越来越多的有害重金属释放到环境中。土壤作为最基础的生态系统组成部分,已遭受到严重污染。重金属不能被生物降解,因此长期潜藏留存于土壤中并呈现逐年积累态势^[1]。镉元素由于其高毒害性和移动性,已被公认为是对植物威胁最严重的金属元素之一。镉通过肥料、有机固体残余物、土壤改良剂及大气沉降进入农田土和地下水,并对植物生长构成不可逆的威胁。据统计,目前我国约有1.3万hm²耕地遭受了镉污染的侵袭^[2],而水稻是极易富集镉的作物^[3]。丁园等研究发现,水淹条件土壤镉含量达到20.84 mg/kg时会使水稻产生生长障碍,水稻减产10%^[4],因此水稻镉污染具有隐蔽性。农业种植区土壤镉污染超标不但会引起水稻污染造成水稻生长缓慢,甚至致使水稻的不良减产乃至植物死亡。

丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi,简称AMF)与植物共生现象广泛存在于自然界各类生态环境中^[5-8]。土壤中伸展的根外菌丝扩大了根系吸收养分的范围,提高了植物对磷及其他矿质营养元素的吸收效率^[9]。菌根的形成有利于提高植物的抗逆性^[10],并对镉胁迫土壤条件下植物的生长与生理活性能有保护作用^[11-13],因此可将镉污染环

境对水稻生产带来的不良影响降到最低。

该试验主要探讨在两种丛枝菌根真菌摩西球囊霉(*Glomus mosseae*,简称GM)和根内球囊霉(*Glomus intraradice*,简称GI)施加条件下,AMF与水稻形成良好共生体系的前提下,水稻应对镉胁迫的生长响应,为菌剂作用下镉对水稻的胁迫效果的影响提供理论依据,对更好了解重金属的根际行为、AMF作用于水稻的根际有效性等的研究都将具有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试作物:水稻,品种为龙稻17号,种子购于黑龙江省农科院,粳型常规水稻生育日数130d左右。供试菌种:摩西球囊霉、根内球囊霉,由白三叶草作为宿主植物,土壤、沙子、蛭石进行盆栽扩繁培养,内含扩繁植物根段、菌丝及孢子体,这两种菌剂作为广适AMF菌种可与多种宿主植物稳定共生。供试土壤:草炭土,经基础肥力测定,pH 6.4,有机质20.64 g/kg,有效氮156.89 mg/kg,有效钾78.25 mg/kg,土壤镉本底值为0.098 mg/kg。盆栽容器:塑料盆钵,长×宽×高=40 cm×16 cm×13 cm,试验前将盆钵用75%酒精擦拭消毒。

1.2 试验设计 土壤自然风干后过200目筛,为除去土壤中土著AMF菌,将土壤基质在121℃、0.15 MPa的高压灭菌锅中处理2 h。采用塑料盆钵土培方式,每盆装土4 kg。镉以CdCl₂·2.5H₂O的水溶液形式添加,模拟镉污染的浓度梯度为0.1、2.5、10、15、20 mg/kg。每个浓度水平下分别施加

基金项目 国家自然科学基金项目(51179041);水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07201003);黑龙江省自然科学基金项目(E201206);城市水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学)自主课题(2014TS05)。

作者简介 王立(1978-),女,黑龙江哈尔滨人,副教授,博士,从事环境生态学研究。

收稿日期 2015-05-08

100 g 的摩西球囊霉、根内球囊霉以及等量的经过两次灭菌处理的菌剂,每个处理种植 3 盆以作为重复。种子于 1% 的高锰酸钾溶液中浸泡 24h 消毒后催芽,在无污染的土壤中育秧,生长至 3 叶期时进行移栽,每盆 8 株单本插。每盆施用基肥量为尿素 0.26 g, KH_2PO_4 0.12 g, KCl 0.23 g。

1.3 测定方法 AMF 侵染率的测定:剪取 1 cm 左右的根段放于试管中,以 10% 的 KOH 沸水浴加热 30 min 后用超纯水洗净,以 2% 的盐酸中和 3 min 后再次清洗,倒入酸性品红沸水浴加热 30 min 后于载玻片上制片。根段侵染率加权法^[14]计算侵染率,每个处理观察 100 条根段。菌根依赖性的测定:菌根依赖性(%) = 侵染水稻生物量/未侵染水稻生物量 × 100%。植物生长指标的测定:①植株高度(cm):在成熟期用刻度软尺测量,从茎基部至穗顶部的长度,数据取 10 个样本的平均值。②根系长度(cm):在水稻成熟期随机选取 10 株植物,将其连根挖出后用蒸馏水洗净,软尺测量每株最长的根系长度。③生物量(g):以植株周围土壤为介质,将植株连根挖出,去除根系周围泥土及杂物,用蒸馏水洗净后,以去离子水润洗,装于干净纸袋中。将水稻样品放入电热恒温鼓风干燥箱内,105 °C 杀青 5 min 后,于 70 °C 烘 24 h 至恒重。分为地上部和根部,分别称重。④根冠比:根冠比 = 地下部分生物量/地上部分生物量。

1.4 数据分析 数据统计分析处理及作图采用 SPSS17.0 软件,各处理平均值之间的差异显著性比较采用 Duncan 法(显著性水平 0.05)。

2 结果与分析

2.1 菌根侵染率及菌根依赖性 不同镉浓度条件下,摩西球囊霉处理组的水稻根系侵染率的范围为 30.35% ~ 36.75%,根内球囊霉处理组为 27.45% ~ 32.30%,表明水稻与两种供试菌剂均能维持良好的共生状态,镉的施加不会对菌剂侵染造成较大的冲击。两者对比可知,摩西球囊霉侵染效果更优,良好的共生前提是进行进一步试验探究的基础。

菌根依赖性是指在一定的土壤肥力下,植物与菌根共生后所能获得的最大生物量程度,可定量地反映出宿主植物与菌剂的共生状况。若接种条件下植株的生长指标提高,则表明其对菌根的依赖性较高,菌根系统促进植物生长的作用效果越强,因此菌根依赖性对于评价菌种对宿主植物的应用效能有重要的实践意义。菌根依赖性指数可量化为菌根植物与非菌根植物干重之比,根据这一定义,将没有促生作用的空白对照组水稻菌根依赖性指数设为 100%。在未施加镉条件下,水稻生物量的菌根依赖性如图 1 所示。

结果表明,相对于空白处理,人工施加菌剂处理后水稻的菌根依赖性指数提高,其中施加摩西球囊霉组的菌根依赖性指数为 115.57%,显著高于 CK 组($P < 0.05$)。表明 GM 对水稻生物量的增加有较强的促进潜力,且水稻根系对于摩西球囊霉的依赖程度更大。根内球囊霉处理组的菌根依赖性指数为 109.55%,显著低于 GM 组。总的来说,供试菌剂的加入可使得水稻对菌剂的依赖程度增强,其中施加摩西球囊霉对于促使水稻生物量积累的作用效果优于根内球囊霉,因此

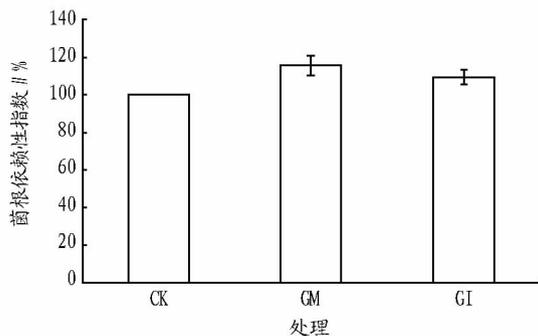


图1 不同处理下水稻菌根依赖性指数

摩西球囊霉对于保障水稻生长发育和产物的积累有重要意义。

2.2 AMF 对水稻株高的影响 于水稻收获期测量不同处理条件下水稻植株高度,考察菌根对镉污染水稻株高的影响,结果见图 2。通过对水稻株高实测值进行曲线拟合可知,随着 Cd^{2+} 胁迫浓度的增加,水稻株高均呈现下降趋势,且水稻生长受抑制程度随重金属胁迫强度升高而增大。当土壤中无外源添加的 Cd^{2+} 时,GM 处理的水稻的平均株高为 (81.77 ± 2.22) cm, GI 为 (81.03 ± 1.90) cm,而 CK 仅为 (78.93 ± 2.97) cm,GM 与 GI 处理分别较对照组提高 3.59%、2.66%。1 mg/kg 的胁迫条件会对水稻株高造成明显的生长抑制,水稻生长迟缓,表明土壤基质中的镉含量高于 1 mg/kg 时就对于水稻的生长发育产生不可逆的抑制效果,使得植株矮化而造成生长不良,进而影响水稻的产量等经济性状。当土壤中 Cd^{2+} 含量在最高设置浓度 20 mg/kg 时,GM、GI、CK 处理的水稻长势分别达到各自最低生长水平,分别为 (74.23 ± 1.37) cm、 (73.23 ± 2.27) cm、 (71.37 ± 1.76) cm。

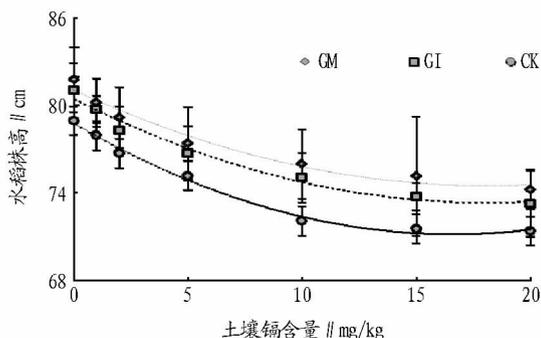


图2 不同镉浓度处理下菌剂对水稻株高的影响

通过实测点得到的拟合方程可知,水稻株高随 Cd^{2+} 浓度变化整体呈现二次函数曲线规律。方程的初始斜率表征 Cd^{2+} 胁迫对水稻株高的抑制作用强度,由曲线最低值可知不同处理条件下对水稻生长产生抑制效应的临界 Cd^{2+} 含量以及最低株高。具体参数见表 1 所示。由不同菌剂处理条件下曲线斜率变化规律可知,接种菌剂可以减缓水稻株高的下降程度,且 GM 对水稻的保护效应更为明显。当高于三者(CK、GM、GI)的临界镉含量浓度(16.59、18.13、18.00 mg/kg)时,水稻生长均达到各自最低水平, Cd^{2+} 浓度的继续增加将导致由于重金属胁迫而产生的植株死亡。

总体来说,随着土壤基质中 Cd^{2+} 胁迫浓度的增加,水稻株高呈明显的下降趋势。菌剂的施加使水稻营养生长的长势更为明显,施加 GM 对于缓解植株镉胁迫的效果更优,其次为 GI,表明了 AMF 能够对镉胁迫水稻起到保护效果,降低镉胁迫导致的生长损伤,并能减缓土壤镉污染对水稻带来的不利影响。

表 1 水稻株高与 Cd 含量变化关系

AMF	拟合方程	初始斜率	最低株高 cm	临界 Cd 含量 mg/kg	相关系数
CK	$y=0.0277x^2-0.919x+78.783$	-0.92	71.16	16.59	0.94
GM	$y=0.0201x^2-0.7289x+81.047$	-0.73	74.43	18.13	0.97
GI	$y=0.022x^2-0.792x+80.456$	-0.79	73.33	18.00	0.98

2.3 AMF 对水稻根长的影响 根系作为与地上部分进行营养物质交换的媒介器官,对于植物养分利用和物质积累至关重要,根系总长度的形态变化会直接影响到地上的植株高度及干物质积累,因此是对植物生长重要的影响因子。对不同镉浓度处理条件下水稻根系总长度的测定结果如图 3 所示。

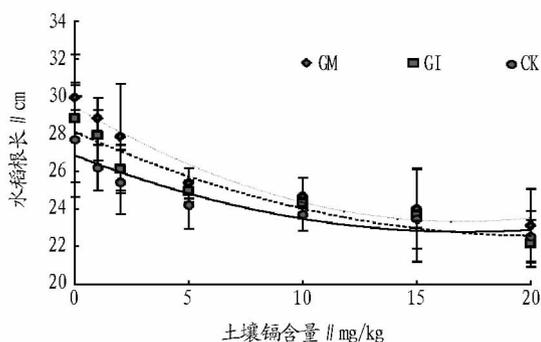


图 3 不同镉浓度处理下菌剂对水稻根长的影响

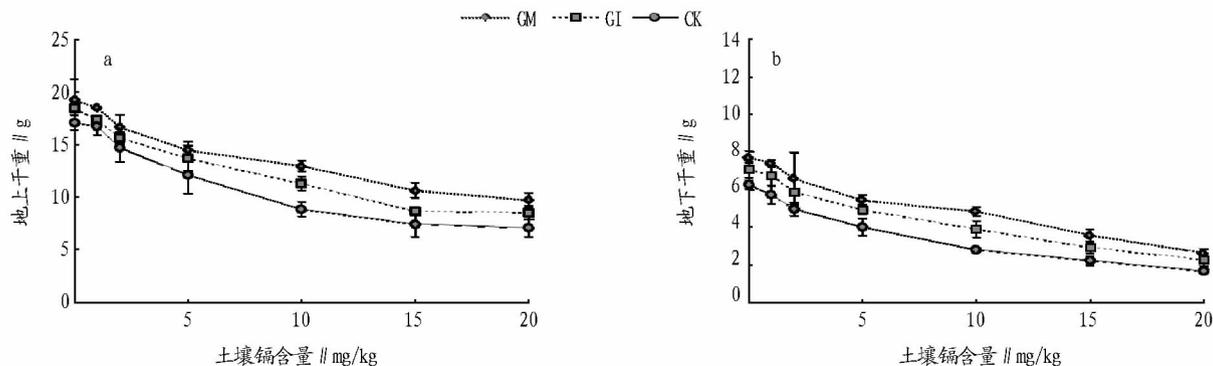


图 4 不同镉浓度处理下菌剂对水稻地上(a)、地下(b)生物量的影响

的促进更为明显,与 CK 相比增加幅度为 10.76% ~ 59.48%。零外源镉添加时,GM 就表现出对水稻较强的促生潜力,能明显增加水稻地上干重($P < 0.05$),随着镉施加量的升高,GM 组与 CK 组差异水平逐渐增加,菌剂的保护效应亦随着镉胁迫加剧而增强。20 mg/kg 的施镉水平下,GM 与 GI 处理的水稻地上干重分别为(9.72 ± 0.72)和(8.51 ± 0.64)g,与 CK 组相比分别提高 37.87% 和 20.71% (图 4a)。因此菌剂的施加能促进水

水稻成熟期后对根系长度的统计结果表明,在无 Cd^{2+} 污染的土壤条件下,GM 与 GI 处理的最大根长平均值分别比 CK 组高 2.23 和 1.13 cm,表明接种 AMF 菌剂对于诱导水稻根系生长的效能显著,通过根系的深层延伸和扩张,能增大大养分的吸收界面,提高营养物质的摄取和有效利用率,进而能改善植株的生理状况并增强对逆境环境的适应能力。随着 Cd^{2+} 胁迫的增加,根长的生长受到明显的抑制,呈现出先急速而后平稳的下降趋势。在 1 mg/kg 的 Cd^{2+} 施加量时,GM、GI、CK 处理的水稻根系长度比各自不施加 Cd^{2+} 的处理分别降低了 3.68%、3.12% 和 5.41%,并没有出现外界 Cd^{2+} 含量低可刺激植株根系生长的现象,表明根系对于 Cd^{2+} 的添加量颇为敏感,1 mg/kg 的 Cd^{2+} 含量已超过其耐受限度。在 20 mg/kg 的 Cd^{2+} 浓度施加时,3 种处理下的水稻根长则无明显差异($P > 0.05$),此时水稻根长最短,生长受到 Cd^{2+} 胁迫的抑制也最大,并且根系出现木质化现象。

自然环境条件下土壤中镉含量较低,且选择的水稻品系为非重金属耐性较强的种类,根系作为与重金属直接接触的器官,受到的毒害效应在形态上的体现更为明显。总的来说,镉污染环境中施加 AMF 一方面能确保水稻根系的健康生长,另一方面也可以使得镉对水稻的生长发育毒害作用减弱,因此对于水稻的保护功效以及缓解植株生长过程所遭受的胁迫方面应用潜力巨大。

2.4 AMF 对水稻生物量的影响 生物量即植株的干物质积累量,对水稻干重的测量能反映出镉胁迫对于水稻营养生长的影响。在收获期测得不同处理条件下水稻地上、地下部分的生物量,结果如图 4 所示。

水稻营养生长阶段,地上部分干重随着镉胁迫浓度的增加总体呈现初期加速而后平稳下降的趋势。不同镉处理条件下水稻地上干重积累量顺序为 GM > GI > CK,菌剂强化处理整体高于空白对照组,其中 GM 的施加对于水稻生物量

水稻地上有机干物质的积累,使得光合器官的生长占优势,从而增强水稻的同化吸收作用,对于提高水稻的生长和抗病害潜力,缓解镉胁迫造成的生长抑制有很强的抗冲击能力。

水稻地下干重的趋势情况与地上顺序一致,且施加 GM 对于水稻根系干重的增加幅度更高,达到 23.16% ~ 73.12% (图 4b),主要由于 AMF 真菌孢子侵染水稻根系后,菌根共生体产生大量根外菌丝,因此菌剂对植物生长的促进主要表

现为根系重量的增加。菌根植物庞大的菌丝体系中,脂质、糖原颗粒等会随着菌丝消解而作为营养物质留存于植物根系,被植物细胞所利用。此外,菌丝网络的深层扩张有利于水稻吸取更多的水分及养料,因此菌剂侵染后的水稻根系也十分发达,抵抗重金属胁迫能力也越强。

2.5 AMF 对水稻根冠比的影响 根冠比一般以地下部根系与地上茎叶干重的比值来表示,这两部分的比例关系可直接反映出植株生长发育状况,比值高则表明根系生理机能的活性强,反之则弱。不同镉浓度处理条件下水稻根冠比结果如图5所示。

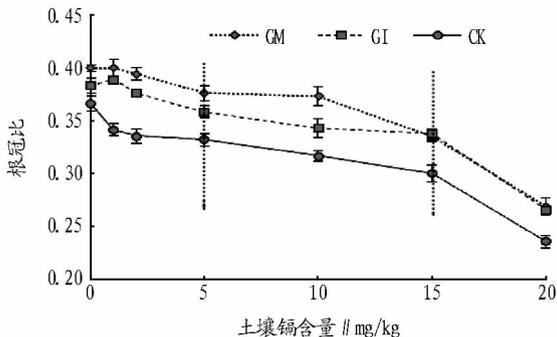


图5 不同镉浓度处理下菌剂对水稻根冠比的影响

通过根冠比变化的整体趋势来看,随着施加镉程度的增强,水稻根冠比均有不同程度的下降,且比值 <1 ,表明镉对水稻地下器官的生长抑制作用较为明显。非菌根植物根冠比低于菌根植物,这主要由于接种AMF的作物根系比例增大所影响的。施加摩西球囊霉处理的水稻根冠比的平均值较空白组高14.44%,施加根内球囊霉处理高10.13%。通过区域划分可以明显看出,在低浓度镉胁迫条件下($Cd \leq 5$ mg/kg)根冠比降低程度较缓慢,此时菌剂对水稻是有保护作用的;中度镉胁迫条件下(5 mg/kg $\leq Cd \leq 15$ mg/kg)根冠比开始有下降趋势,表明此浓度镉胁迫条件下,菌剂对水稻的保护程度较弱;而在高镉胁迫的20 mg/kg浓度下,根冠比急剧下降,水稻根系受损,根系生长受到伤害,植物表现出致死症状,此时菌剂对植物的保护效果体现得不明显。因此高浓度的镉胁迫会导致菌剂作用效果欠佳,对于逆境植物的保护优势发挥得并不明显。

3 结论

(1)人工施加AMF处理后水稻的菌根依赖性指数提高,因此水稻对AMF的依赖性是存在的。丛枝菌根真菌的施加可显著提高水稻根系侵染率,GM侵染率保持在30.35%~36.75%的范围内,GI侵染率范围为27.45%~32.30%。因此土壤镉浓度的提高对AMF的侵染率并无较大影响,表明在不同浓度镉胁迫条件下,AMF可与水稻保持稳定共生状态并对镉污染具有较好的抗性。供试菌剂的加入可使得水稻对菌剂的依赖程度增强,其中施加摩西球囊霉对于促使水稻生物量积累的作用效果优于根内球囊霉。

(2)随着镉浓度的增加水稻株高呈下降趋势,而接菌处理可缓解镉胁迫对水稻带来的生长抑制程度。无外源镉添加时,GM与GI处理分别较对照组提高3.59%、2.66%,接种

AMF真菌处理可以明显提高植株长势。20 mg/kg的外源镉条件下,水稻株高分别达到各自生长的最低值,此浓度下水稻受到的生长抑制程度最大。

(3)在无镉污染的土壤条件下,GM与GI处理的水稻最大根长平均值分别比CK组高2.23和1.13 cm,表明接种AMF菌剂对于诱导水稻根系生长发育的效能显著。随着镉胁迫的增加,根长的生长受到明显的抑制,呈现出先急速而后平稳的下降趋势,且菌剂处理能减轻镉胁迫对水稻根长的抑制,增强污染环境中水稻根系被重金属胁迫的抵御能力,从而使镉对水稻的生长发育毒害作用减弱。

(4)施加AMF真菌能通过促进水稻根系的生长,形成庞大的菌丝网络以固定土壤中更多的能量和物质,从而增加根系干物质的积累。不同镉处理条件下水稻地上干重积累量表现为菌剂强化处理整体高于空白对照组,即GM>GI>CK。水稻地下干重的趋势情况与地上顺序一致,且施加摩西球囊霉对于水稻根系干重的增加幅度更高。

(5)通过根冠比变化的整体趋势来看,随着施加 Cd^{2+} 程度的增强,水稻根冠比均有不同程度的下降,在低浓度镉胁迫条件下($Cd \leq 5$ mg/kg)根冠比降低程度较缓慢,此时菌剂对水稻是有保护作用的;中度镉胁迫条件下(5 mg/kg $\leq Cd \leq 15$ mg/kg)根冠比开始有下降趋势,表明此浓度镉胁迫条件下,菌剂对水稻的保护程度较弱;而在高镉胁迫的20 mg/kg浓度下,根冠比急剧下降,水稻根系受损,根系生长受到伤害,植物表现出致死症状,此时菌剂对植物的保护效果体现得不明显。

参考文献

- [1] WU G, KANG H, ZHANG X, et al. A critical review on the bio-removal of hazardous heavy metals from contaminated soils: Issues, progress, eco-environmental concerns and opportunities [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 174(1): 1-8.
- [2] 崔斌, 王凌, 张国印, 等. 土壤重金属污染现状与危害及修复技术研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(1): 373-375.
- [3] 章秀福, 王丹英, 储开富, 等. 镉胁迫下水稻SOD活性和MDA含量的变化及其基因型差异 [J]. 中国水稻科学, 2006, 20(2): 194-198.
- [4] 丁园, 宗良纲, 徐晓炎, 等. 镉污染对水稻不同生育期生长和品质的影响 [J]. 生态环境学报, 2009, 18(1): 183-186.
- [5] ANDRADE S, SILVEIRA A, MAZZAFERA P. Arbuscular mycorrhiza alters metal uptake and the physiological response of *Coffea arabica* seedlings to increasing Zn and Cu concentrations in soil [J]. Science of the Total Environment, 2010, 408(22): 5381-5391.
- [6] HASSAN S E, HIJRI M, ST-ARNAUD M. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on trace metal uptake by sunflower plants grown on cadmium contaminated soil [J]. New Biotechnology, 2013, 30(6): 780-787.
- [7] JANKONG P, VISOOTTHIVISETH P. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on plants growing on arsenic contaminated soil [J]. Chemosphere, 2008, 72(7): 1092-1097.
- [8] RUIZ-LOZANO J M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies [J]. Mycorrhiza, 2003, 13(6): 309-317.
- [9] MEIER S, BORIE F, BOLAN N, et al. Phytoremediation of metal-polluted soils by arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2012, 42(7): 741-775.
- [10] 陈婕, 谢清, 唐明. 水分胁迫下丛枝菌根真菌对紫穗槐生长和抗旱性的影响 [J]. 北京林业大学学报, 2014, 36(6): 142-148.
- [11] 王玲, 王发园. 丛枝菌根对镉污染土壤的修复研究进展 [J]. 广东农业科学, 2012, 1(2): 51-53.
- [12] 陈保冬. 丛枝菌根减轻宿主植物镉、铜毒害机理研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2002.
- [13] LI Y, PENG J, SHI P, et al. The effect of Cd on mycorrhizal development and enzyme activity of *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* in *Astragalus sinicus* L. [J]. Chemosphere, 2009, 75(7): 894-899.
- [14] BIERMANN B, LINDERMAN R. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae: A proposed method towards standardization [J]. New Phytologist, 1981, 87(1): 63-67.