

接种 AM 真菌对采煤沉陷区复垦植物生长及土壤化学生物性状的影响

王志刚¹, 郭洋楠², 毕银丽¹, 袁浪¹, 江彬¹, 彭苏萍¹

(1. 中国矿业大学(北京), 煤炭资源与安全开采国家重点实验室, 北京 100083;

2. 中国神华能源股份有限公司 神东煤炭分公司技术研究院, 陕西 榆林 719315)

摘要:以神东煤矿采煤沉陷地种植的复垦植物(野樱桃、文冠果、欧李和山杏)为试材, 采用野外原位监测和室内分析方法, 研究了未接种和接种丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza, AM)真菌对植物生长状况及沙土化学和酶活性的影响。结果表明: 接种 AM 真菌的野樱桃、文冠果、欧李和山杏苗木根系形成了典型的菌根结构, 侵染率为 47%~52%, 菌丝密度均达到 $4 \text{ m} \cdot \text{g}^{-1}$ 以上, 植物地上部和根系干质量均显著高于未接种处理; 同样地, 植物成活率、株高、地径和叶色值均显著高于未接种处理; 接种 AM 真菌处理的土壤碱解氮、有机质、总球囊霉素含量、酸性磷酸酶、蔗糖酶、脲酶和硝酸还原酶活性显著增加, 土壤速效磷、速效钾含量显著降低。因此, 接种 AM 真菌显著改善了极端干旱贫瘠的神东采煤沉陷区复垦植物的生长、土壤化学和生物学性状, 为应用 AM 真菌进行矿区生态恢复提供了依据。

关键词:采煤沉陷区; AM 真菌; 复垦植物; 土壤化学性状; 土壤酶活性

中图分类号:S 154.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)24-0163-08

中国是世界上最大的煤炭生产国和消费国, 煤炭在我国一次性能源消费构成比例中占 66%, 占我国已探明化石能源的 84.7%; 在未来一段时间内仍会作为我国的主要能源^[1]。据统计, 我国 90% 煤炭采用井工方式开采, 产生大面积地下采空区, 并形成大量塌陷地, 严重的在坡度较大的地区造成山体滑坡; 同时地表裂缝使土壤侵蚀加剧, 加速土壤的干旱和沙化^[2]。煤炭开采扰动导致生物多样性急剧减少和植物生长退化, 土壤理化性质恶化, 生物活性降低, 生态功能紊乱, 严重制约矿区植被生长和生态功能的恢复。以往采用工程技术手段很难达到标本兼治的效果, 微生物复垦能有效修复矿区受损生态, 近年来逐渐成为矿区生态环境研究的热点^[3-4]。

丛枝菌根(arbuscular mycorrhizal, AM)真菌是自然界中普遍存在的一种土壤微生物, 能与 90% 以上的陆生植物形成菌根共生体^[5-6]。随着研究深入, 发现 AM 真菌在植物群落结构演替和稳定性方面具有重要生态学意义^[7-9]。AM 真菌能改善环境胁迫条件下植物的生长^[10], 贫瘠土壤上 AM 真菌可显著提高宿主植物对矿质营养的吸收, 特别是氮和磷营养^[11], 在某些情况 AM 真菌根外菌丝向植物提供 70% 的磷^[12]和 30% 的氮^[13]; 盐碱胁迫条件下 AM 真菌通过调节植物体内离子平衡, 特别是 K^+/Na^+ , 缓解盐离子吸收造成离子失衡, 增强植物对环境胁迫抵抗能力^[14], 促进植物成活并提高生产力。AM 真菌在修复土壤和改善土壤肥力方面 also 具有重要功能^[15], 通过分泌球囊霉素蛋白和增加菌丝密度促进团聚体形成和扩大土壤碳库容量, 为土壤提供 15%~20% 碳源^[16]; 干旱条件下, 通过促进根系分枝和增加不定根数量, 菌丝还能扩大根系吸收水分和养分的范围, 上调自身水通道蛋白基因表达, 提高宿主植物对水分吸收利用的能力^[17-18], 对于干旱地区植物生长至关重要。目前, 利用 AM 真菌进行矿区土地复垦的研究取得初步进展, 杜善周等^[4]发现矿区向日葵接种 AM 真菌花期提前 2 周, 根系侵染率和菌丝密度增加, 土壤磷和钾有效性提高, 对植物生长和土壤环境改善非常有益。同时, AM 真菌与土壤酶活性关系的研究也渐受关注, 温室模拟试验

第一作者简介:王志刚(1982-), 男, 河北怀来人, 博士, 讲师, 现主要从事矿区生态重建和环境治理等研究工作。E-mail: wzg6818691@126.com

责任作者:毕银丽(1971-), 女, 陕西米脂人, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事微生物在矿区生态重建等研究工作。E-mail: ylbis88@126.com

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51574253); 国家高技术研究发展计划(863)资助项目(2013AA102904); 神华科技创新资助项目(CSIE13023514)。

收稿日期:2016-09-27

发现接种AM真菌提高了沙打旺根际土壤酶活性,促进养分吸收利用,成为退化生态系统植被恢复和生态重建的重要参与者^[18]。因此,菌根技术将成为矿区生态修复的新途径和发展方向。

神东矿区是神府(陕西省神木县与府谷县)东胜(内蒙古自治区东胜市,现鄂尔多斯市)矿区的简称,是我国目前已探明储量最大的煤田,产量居全国首位,为世界七大煤田之一。神东矿区位于毛乌素沙漠边缘,属于典型的半干旱和半沙漠的温带大陆性气候,土壤类型以沙土为主,保水保肥能力差、植被稀疏,目前对矿区退化沙土化学和生物学性状及复垦植物生长初期效果的报道较少。因此,现以矿区常见的典型复垦植物野樱桃、欧李、文冠果和山杏为宿主植物,以退化沙土为基质,研究AM真菌对典型修复植物生长调节效应,同时探讨AM真菌对矿区退化沙土生物和化学性状改良效果,以期今后利用AM真菌恢复矿区生态环境提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验基地位于内蒙古鄂尔多斯市伊金霍洛旗乌兰木伦镇(东经110°4′;北纬39°18′),属于神东矿区活鸡兔采煤沉陷地,位于陕北黄土高原沟壑区向毛乌素沙漠的过渡地带。基地位于沟壑区的三道梁上,海拔高度1100~1300 m,年平均气温8℃,≥0℃年均积温3550℃,年均降水量约150 mm,主要集中在7—9月,年均蒸发量约2000 mm,多年平均大风日数15 d,最多可达40 d,最大风速20 m·s⁻¹以上,属于典型半干旱半沙漠温带大陆性气候。土壤基本性状为pH 7.92;碱解氮31.2 mg·kg⁻¹;有机质4.23 g·kg⁻¹;速效磷5.15 mg·kg⁻¹和速效钾30.6 mg·kg⁻¹。

1.2 试验材料

1.2.1 供试植物 以矿区土地复垦广泛采用的、树龄1年的野樱桃(*Prunus discadenia* Koebne)、欧李(*Prunus dictyneura* Diels)、文冠果(*Xanthoceras sorbifolium* Bunge)和山杏(*Armeniaca sibirica*)4种经济树种为供试植物。上述苗木生长速度快、耐干旱贫瘠。

1.2.2 供试菌剂 供试AM真菌(arbuscular mycorrhiza, AM)菌种由北京市农林科学院植物营养与资源研究所微生物实验室提供,菌种由中国矿业大学(北京)微生物复垦实验室用沙土通过盆栽扩繁培养,生长3个月用受真菌侵染根段和含有菌丝、孢子的沙土作为摩西管柄囊霉(*Funneliformis mosseae*,简称F.m)菌剂,每10 g菌剂含有700个孢子。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计 该试验于2014年在神东矿区活鸡兔采煤沉陷沙地进行。试验设置接种AM真菌(+M)和

不接菌(-M)2种处理,接种和对照区均种植野樱桃、欧李、文冠果和山杏,3次重复,共计2×4×3=24个小区。接种和对照区的小区面积均为240 m²,长度和宽度分别为20 m和12 m,苗木种植规格均为2 m×2 m,每个小区种植60株。4月初进行苗木移栽,6月中旬将菌剂均匀撒施在苗木根部并覆土,每株苗木约100 g菌剂。对照区接种等量的高压灭菌菌剂,其它管理措施完全相同。为确定AM真菌效应,将采集土壤样品进行室内分析,土壤原生微生物数量很少。试验前野樱桃、欧李、文冠果和山杏菌根侵染率分别为2.1%、1.5%、1.9%、1.8%;菌丝密度分别为0.35、0.32、0.36、0.37 m·g⁻¹。

1.3.2 样品采集 2015年10月中旬在每个小区以2 m×2 m的样方,按‘S’形方法随机定位选取5~6个样点,采集土壤样品均匀混合后,装入自封袋带回室内风干,过2 mm土壤筛备用。同时,每个小区随机选择3株长势一致的苗木,轻轻地挖开植株根部20 cm土壤,露出根系,轻轻抖落收集根际土壤,然后快速剪下10 g根系,分别装入自封袋,放入4℃冰盒,带回室内用于侵染率和菌丝密度测定。回填表土,防止水分蒸发对植物造成损伤。再选择3株苗木整体挖出,用水将根部清洗干净,烘干称重。

1.4 项目测定

1.4.1 植物生长指标测定 成活率:每个小区成活的苗木与栽植苗木总数的百分比。成活率(%)=成活的苗木数量/栽植苗木总数量×100。株高和地径:2015年7月中旬,采用钢卷尺测量苗木株高和地径。步骤如下:将钢卷尺展开后,将卷尺轻轻地垂直贴于地面,将植物顶点同时垂直于卷尺上端,记录高度值,每株苗木测量3次取平均值;同样地,将卷尺展开,平行于地面后测量植物树冠大小,每株苗木测量3次取平均值。每个小区随机选择30株长势基本一致的苗木测定。叶色值(SPAD):采用SPAD-502叶绿素仪测定(浙江托普生产),每个小区随机选择30株苗木,选取枝条中部无损伤的新鲜叶片测定。

1.4.2 土壤化学指标和酶活性测定 土壤碱解氮采用碱解扩散法;有机质采用重铬酸钾外加热法;速效磷采用钼锑抗比色法;速效钾采用pH 7.0醋酸铵浸提-火焰光度法;pH采用电位法(水土比2.5:1)^[19]。土壤酸性磷酸酶采用改进的Tabatabai和Brimmer方法;蔗糖酶采用水杨酸比色法;脲酶采用改进的Hoffmann和Teiche比色法;硝酸还原酶采用亚硝酸还原比色法^[19]。

1.4.3 球囊霉素(GRSP,glomalin related-soil protein)提取和测定方法 球囊霉素按照WRIGHT等^[20]和JANOS等^[21]的方法加以改进。EE-GRSP的提取:称取1.00 g土样于25 mL刻度离心管中,加入8 mL柠檬酸钠浸提液(20 mmol·L⁻¹,pH 7.0),加盖,摇匀,在103 kPa

和 121 ℃ 下提取 30 min, 以 $10\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 6 min, 收集上清液, 每个样品重复 4 次。T-GRSP 的提取: 称取 1.00 g 土样于 25 mL 刻度离心管中, 加入 8 mL 柠檬酸钠浸提液 ($50\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 8.0), 加盖, 摇匀, 在 103 kPa 和 121 ℃ 下提取 60 min, 重复提取 5 次, 每次重复提取时, 保证提取液体积固定且摇匀土样, 使土样与浸提液充分接触; 每次提取后迅速以 $10\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度离心 6 min, 将上浮物从土壤中分离出去, 收集上清液, 每个处理重复 4 次。上清液 4 ℃ 保存直至第 2 天分析。GRSP 的测定: 分别吸取 0.5 mL 的上清液, 加入 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 染色剂(使用之前过滤), 加盖, 震荡, 显色 10 min, 595 nm 波长下比色。用牛血清蛋白(BSA)作标准液, 考马斯亮蓝法显色, 绘制标准曲线, 以 1.00 g 土壤中蛋白质的微克数表示 GRSP 含量。菌根侵染率和根外菌丝密度的测定: 将植物根系上附着的土壤轻轻抖落, 用蒸馏水冲洗干净后, 样根剪成 1 cm 根段, 取出部分样根用曲利苯蓝-方格交叉法测定菌根侵染率^[22]; 称取 5 g 混合均匀的根际土壤样品测定菌丝密度^[22]。

表 1 AM 真菌对菌根侵染率、菌丝密度和生物量的影响

物种 Species	处理 Treatment	菌根侵染率 Mycorrhizal colonization/%	菌丝密度 Hyphal density/($\text{m} \cdot \text{g}^{-1}$)	植株干质量 Shoot dry weight/($\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$)	根系干质量 Root dry weight/($\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$)
野樱桃 Wild cherry	对照-M	$1.8 \pm 0.1\text{b}$	$0.42 \pm 0.05\text{b}$	$56.2 \pm 6.4\text{b}$	$10.2 \pm 1.3\text{b}$
	接菌+M	$52.3 \pm 3.5\text{a}$	$4.35 \pm 0.27\text{a}$	$72.9 \pm 5.8\text{a}$	$15.4 \pm 1.1\text{a}$
欧李 <i>Cerasus humilis</i>	对照-M	$2.2 \pm 0.2\text{b}$	$0.39 \pm 0.03\text{b}$	$68.9 \pm 7.1\text{b}$	$14.9 \pm 0.9\text{b}$
	接菌+M	$50.1 \pm 2.9\text{a}$	$4.62 \pm 0.47\text{a}$	$87.8 \pm 8.9\text{a}$	$18.8 \pm 1.2\text{a}$
文冠果 Shiny leaf yellowhorn	对照-M	$3.4 \pm 0.4\text{b}$	$0.38 \pm 0.08\text{b}$	$682.0 \pm 35.0\text{b}$	$124.0 \pm 12.0\text{b}$
	接菌+M	$48.7 \pm 3.7\text{a}$	$4.57 \pm 0.52\text{a}$	$975.0 \pm 48.0\text{a}$	$163.0 \pm 17.0\text{a}$
山杏 Wild apricot	对照-M	$2.7 \pm 0.3\text{b}$	$0.40 \pm 0.04\text{b}$	$518.0 \pm 55.0\text{b}$	$171.0 \pm 13.0\text{b}$
	接菌+M	$46.6 \pm 3.7\text{a}$	$4.49 \pm 0.35\text{a}$	$786.0 \pm 46.0\text{a}$	$203.0 \pm 19.0\text{a}$
显著性	树种差异性 P(S)	*	*	*	*
ANOVA	接菌差异性 P(AM)	*	*	*	*
	交互作用 P(S×AM)	*	*	*	*

注: 表中数值为 3 次重复的平均值±标准偏差, 不同小写字母表示同一物种下接菌和对照在 5% 水平上的差异显著性 ($P < 0.05$); -M 表示植物不接种 AM 真菌菌剂处理, +M 表示植物接种 AM 真菌菌剂处理。P(S) 为树种之间差异显著性; P(AM) 为接种 AM 差异显著性; P(S×AM) 为树种和接种 AM 真菌的交互作用; * 表示在 5% 水平上差异显著。下同表 2、3。

Note: The mean values are three replicates in the table ($\text{M} \pm \text{STDEV}$). Different lowercase letters indicate significant differences between -M and +M at the 5% level by LSD ($P < 0.05$); -M indicates that without inoculated arbuscular mycorrhizal fungi (AM) and +M indicates that inoculated with AM treatment. P(S) indicates that are significant differences among different plant species; P(AM) indicates that are significant differences between two AM inoculums treatments; P(S×AM) indicates that the interactions between plant species and AM; asterisk indicates that are significant differences at 5% level by LSD. The same as Table 2 and Table 3.

2.2 AM 真菌对矿区植物生长特性的影响

由图 1 可知, 接种 AM 真菌野樱桃、欧李、文冠果和山杏的成活率分别达到 93%、92%、94% 和 91%, 对照处理分别为 78%、73%、70%、78%, 二者之间差异显著; 4 种植物的株高分别显著高于对照 17%、13%、16%、11%; 地径的变化也具有相同趋势。接种 AM 真菌野樱桃、欧李、文冠果和山杏的叶色值分别从 24.8、26.3、25.1、27.6 增加到 29.8、30.4、29.9、33.9, 差异显著。综上所述, AM 真菌对复垦植物成活率、株高、地径和叶色值等生长特性具有促进作用, 加速了植物恢

1.5 数据分析

试验数据用 Microsoft Excel 进行均值和标准差计算并作图; 利用统计分析软件 SAS 8.0 (SAS institute, Cary, NC, 2003) 在 5% 显著水平下进行 LSD 多重比较检验。

2 结果与分析

2.1 AM 真菌对菌根侵染率和生物量的影响

由表 1 可知, 未接种 AM 真菌处理的菌根侵染率在 1.8%~3.4%, 接种 AM 真菌处理的野樱桃、欧李、文冠果和山杏根系侵染率分别为 52.3%、50.1%、48.7% 和 46.6%, 差异显著。接种 AM 真菌后菌丝密度分别为 4.35、4.62、4.57、4.49 $\text{m} \cdot \text{g}^{-1}$, 为相应对照的 10~15 倍, 菌丝密度显著提高。接种 AM 真菌后地上部干质量分别比对照显著增加 29.7%、27.4%、43.0% 和 51.7%, 根系干质量变化趋势一致。植物类型、AM 真菌及二者的交互效应对干质量也有显著影响。

复进程。

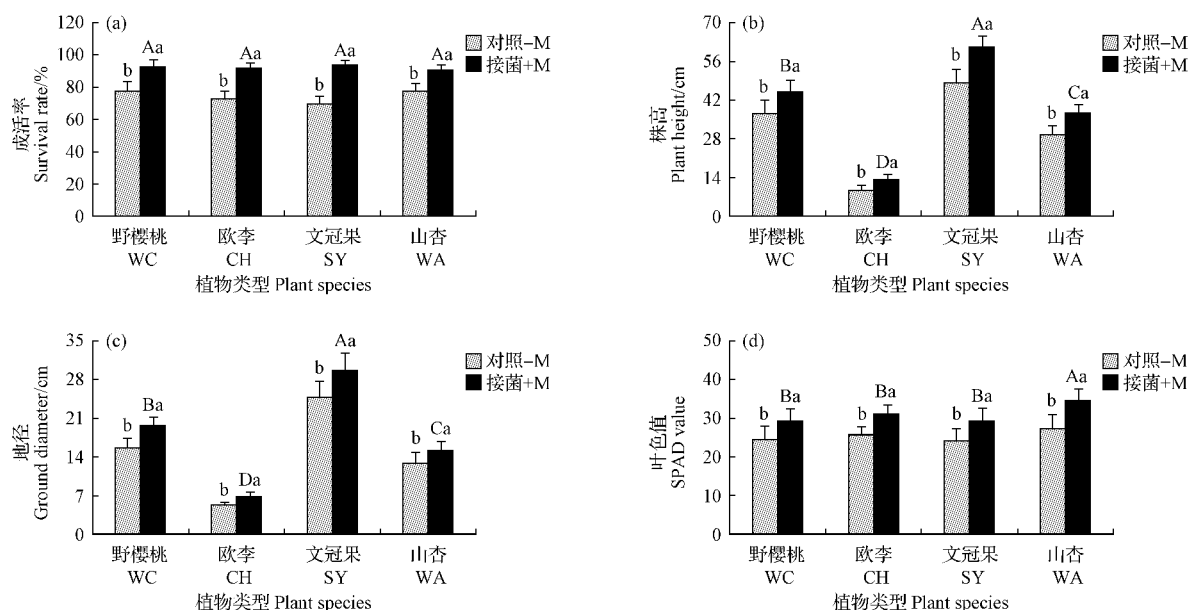
2.3 AM 真菌对矿区土壤主要化学性状的影响

土壤化学性状是表征土壤肥力的重要指标。接种 AM 真菌显著促进野樱桃、欧李、文冠果和山杏种植区的土壤碱解氮含量, 分别增加 9.3%、13.9%、10.7% 和 17.1%。接种 AM 真菌处理土壤有机质含量分别为 6.23、6.25、6.19、6.27 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 比对照处理显著提高 14.5%、15.5%、15.5%、14.6%。

AM 真菌显著降低野樱桃、欧李、文冠果和山杏土壤速效磷和速效钾含量, 分别达到 10.8%、13.8%、

7.7%、6.2% 和 21.1%、21.4%、19.7%、21.7%。接种 AM 真菌对土壤 pH 无显著影响,但呈下降趋势,可能与

AM 真菌促进宿主植物根系呼吸,养分有效性、根系形态、根系分泌物变化有关。



注:图中数值为多个重复的平均值,不同大写字母表示不同物种之间在 5% 水平上的差异显著性 ($P < 0.05$);不同小写字母表示同一物种下接菌和对照之间在 5% 水平上的差异显著性 ($P < 0.05$);WC,CH,SY 和 WA 分别表示野樱桃、欧李、文冠果和山杏的简称。下同图 2。

Note: The mean values are the several replicates in the figure. Different capital letters indicate that are significant differences among different plant species at the 5% level by LSD ($P < 0.05$); different lowercase letters indicate that are significant differences between -M and +M at the 5% level by LSD ($P < 0.05$); WC,CH,SY and WA represent the abbreviation of wild cherry, *Cerasus humilis*, shiny leaf yellowhorn and wild apricot, respectively. The same as Fig. 2.

图 1 AM 真菌对植物生长发育状况的影响

Fig. 1 Effect of AM on the growth conditions with different plant species

表 2

AM 真菌对不同物种种植下土壤化学性状的影响

Table 2

Effect of AM on soil major chemical properties with different plant species

物种 Species	处理 Treatment	碱解氮 Available N/(mg · kg ⁻¹)	有机质 OM/(g · kg ⁻¹)	速效磷 Olsen P/(mg · kg ⁻¹)	速效钾 Available K/(mg · kg ⁻¹)	pH /(2.5 ± 1)
野樱桃 Wild cherry	对照-M	36.5 ± 2.8b	5.44 ± 0.34b	7.87 ± 0.42a	50.3 ± 0.8a	8.10 ± 0.03a
	接菌+M	39.9 ± 3.1a	6.23 ± 0.29a	7.02 ± 0.36b	39.8 ± 0.7b	8.09 ± 0.02a
欧李 <i>Cerasus humilis</i>	对照-M	34.4 ± 1.9b	5.41 ± 0.39b	8.06 ± 0.49a	50.6 ± 0.9a	8.10 ± 0.02a
	接菌+M	39.2 ± 2.2a	6.25 ± 0.61a	6.95 ± 0.53b	39.8 ± 0.6b	8.09 ± 0.07a
文冠果 Shiny leaf yellowhorn	对照-M	37.3 ± 1.2b	5.36 ± 0.38b	7.71 ± 0.36a	49.8 ± 0.9a	8.09 ± 0.02a
	接菌+M	41.3 ± 2.7a	6.19 ± 0.33a	7.12 ± 0.41b	40.0 ± 0.2b	8.12 ± 0.03a
山杏 Wild apricot	对照-M	34.4 ± 1.4b	5.47 ± 0.29b	8.02 ± 0.33a	51.6 ± 0.3a	8.11 ± 0.02a
	接菌+M	40.3 ± 3.2a	6.27 ± 0.61a	7.52 ± 0.39b	40.4 ± 0.6b	8.09 ± 0.02a
显著性	树种差异性 P(S)	*	*	*	*	NS
ANOVA	接菌差异性 P(AM)	*	*	*	*	NS
	交互作用 P(S×AM)	*	*	*	*	NS

由图 2 可以看出,接种 AM 真菌的野樱桃、欧李、文冠果和山杏土壤总 GRSP 含量分别为 1.24、1.17、1.28、1.22 g · kg⁻¹,对照处理为 1.13、1.13、1.09、1.07 g · kg⁻¹,差异显著。同时,接种 AM 真菌显著提高土壤易提取 GRSP 含量,分别高于对照处理 0.11、0.10、0.14、0.12 g · kg⁻¹,增幅达到 9.8%、7.5%、10.3% 和 8.9%。不同植物类型之间没有差异表明 AM 真菌对土壤 GRSP 含量贡献超过植物种类的作用。

2.4 AM 真菌对矿区土壤主要酶活性的影响

由表 3 可知,与不接种处理相比,接种 AM 真菌野樱桃、欧李、文冠果和山杏的土壤酸性磷酸酶活性显著增加 34.0%、35.6%、35.5% 和 31.3%;蔗糖酶活性显著提高 18.4%、28.6%、32.1% 和 39.1%;脲酶活性显著上升 40.3%、35.4%、56.1% 和 34.5%;硝酸还原酶活性改善 35.3%、39.6%、46.8% 和 28.3%。同时,植物类型和 AM 真菌及其交互作用均对酶活性有显著影响。

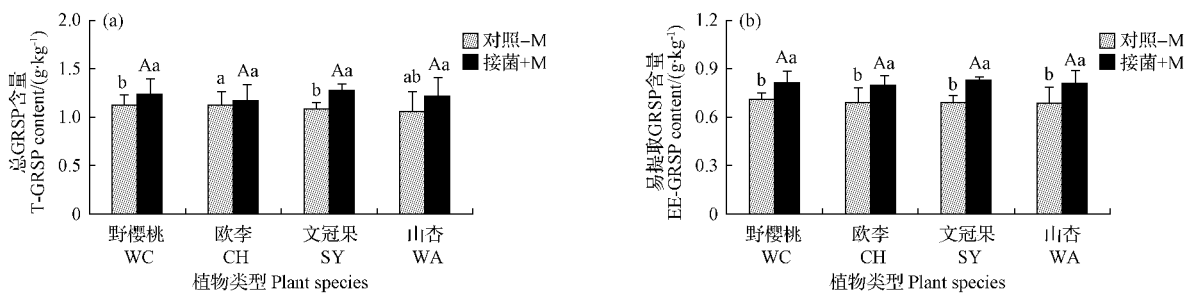


图 2 AM 真菌对不同植物根际球囊霉素相关蛋白含量的影响
Fig. 2 Effect of AM on GRSP in rhizosphere soil of different plant species

表 3 AM 真菌对不同物种种植下土壤酶活性的影响
Table 3 Effect of AM on soil enzymatic activities properties with different plant species

物种 Species	处理 Treatment	酸性磷酸酶 Acid phosphatase /(P-nitrophenol μg·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	蔗糖酶 Sucrase /(glucose mg·g ⁻¹ ·d ⁻¹)	脲酶 Urease /(NH ₄ ⁺ -N mg·g ⁻¹ ·d ⁻¹)	硝酸还原酶 Nitratase /(NO ₂ ⁻ -N μg·g ⁻¹ ·d ⁻¹)
野樱桃 Wild cherry	对照-M	65.6±4.5b	25.6±3.3b	1.59±0.13b	8.30±0.55b
	接菌+M	87.9±8.3a	30.3±3.7a	2.23±0.22a	11.23±1.13a
欧李 <i>Cerasus humilis</i>	对照-M	69.1±5.8b	23.1±2.6b	1.61±0.19b	7.85±0.65b
	接菌+M	93.7±9.6a	29.7±3.1a	2.18±0.31a	10.96±1.06a
文冠果 Shiny leaf yellowhorn	对照-M	70.2±4.5b	22.1±1.9b	1.55±0.13b	8.22±0.68b
	接菌+M	95.1±7.9a	29.2±2.7a	2.42±0.35a	12.07±0.75a
山杏 Wild apricot	对照-M	76.3±7.2b	23.3±2.8b	1.48±0.21b	7.69±0.49b
	接菌+M	100.2±8.5a	32.4±2.5a	1.99±0.18a	9.87±0.82a
显著性 ANOVA	树种差异性 P(S)	*	*	*	*
	接菌差异性 P(AM)	*	*	*	*
	交互作用 P(S×AM)	*	*	*	*

2.5 AM 真菌与矿区土壤各指标相关性分析

由表 4 可知,菌根侵染率与速效磷、速效钾、总球囊霉素、磷酸酶、蔗糖酶呈极显著正相关($P<0.01$),与碱解氮、脲酶和硝酸还原酶呈显著正相关($P<0.05$)。可见,菌根侵染率越强,越能提高碱解氮、总球囊霉素含量和磷酸酶、蔗糖酶、脲酶、硝酸还原酶活性,但对不同化学指标和酶活性的影响程度不同。磷酸酶与有机质、碱解氮、速效磷、速效钾含量呈极显著正相关($P<0.01$),

与 pH、球囊霉素含量显著正相关;蔗糖酶与有机质、碱解氮、速效磷含量呈极显著正相关($P<0.01$),与速效钾和易提取球囊霉素显著正相关,与 pH 和总球囊霉素正相关,但相关性不显著,与磷酸酶负相关;脲酶活性与有机质、碱解氮、速效磷和蔗糖酶呈极显著正相关($P<0.01$),与速效钾呈显著正相关,与 pH 和易提取球囊霉素正相关,但相关性不显著,与总球囊霉素和磷酸酶负相关;硝酸还原酶活性与有机质、碱解氮和速效磷极显

表 4 AM 真菌与各指标的相关性分析

Table 4 Correlation analysis among different soil indicators and AM

指标 Item	侵染率 Infection rate	有机质 OM	碱解氮 Available N	速效磷 Olsen P	速效钾 Available K	pH	总球囊霉素 T-GRSP	易提取 GRSP EE-GRSP	磷酸酶 ACP	蔗糖酶 Surease	脲酶 Urease	硝酸还原酶 Nitratase
侵染率 Infection rate	1											
有机质 OM	-0.08	1										
碱解氮 Available N	0.51*	0.57**	1									
速效磷 Olsen P	0.63**	0.14	0.22	1								
速效钾 Available K	0.39*	0.35*	0.17	0.25	1							
pH	0.02	0.18	0.27	0.19	0.26	1						
总球囊霉素 T-GRSP	0.71**	0.78**	0.41*	0.62**	-0.02	-0.05	1					
易提取 EE-GRSP	0.75**	0.67**	0.38*	0.68**	0.05	0.03	0.92**	1				
磷酸酶 ACP	0.57**	0.58**	0.23*	0.55**	0.47**	0.36*	0.45*	0.33*	1			
蔗糖酶 Sucrase	0.50**	0.57**	0.87**	0.74**	0.36*	0.12	0.02	0.31*	-0.31	1		
脲酶 Urease	0.41*	0.55**	0.66**	0.63**	0.35*	0.19	-0.01	0.05	-0.01	0.63**	1	
硝酸还原酶 Nitratase	0.39*	0.63**	0.57**	0.54**	0.09	-0.33*	0.01	0.03	0.04	0.05	0.07	1

注: ** 表示在 0.01 水平(双侧)上极显著相关; * 表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关。
Note: ** represents significant difference at the 0.01 level; * represents significant difference at the 0.05 level.

著正相关,与 pH 显著负相关。有机质与碱解氮极显著正相关,与速效钾显著正相关,蔗糖酶与脲酶极显著正相关。相关性分析表明,土壤酶活性与化学性状之间存在协同反馈效应,酶在土壤养分循环和转化过程中起关键作用。

3 讨论

已有研究表明,AM 真菌能促进煤矿复垦区植物的生长,这与 AM 真菌对其它植物的促生作用相似^[4]。由于神东采煤沉陷区气候干旱和土壤贫瘠,复垦初期植物根系难以形成根毛或根毛数量很少,造成定植困难,这与张旭红等^[23]的研究结果一致。AM 真菌与植物根系形成菌根系统,构建庞大菌丝网络增加根系对水分和养分吸收利用促进植物生长^[7]。因此,植物与 AM 真菌共生是矿区复垦植物适应极端干旱和贫瘠土壤的重要策略。

单一植物的复垦效果较差,必须选择典型苗木与菌根技术结合才能实现最佳效果。接种 AM 真菌植物的株高或地径高于对照处理,这与李少朋等^[24]在神东矿区研究紫穗槐生态修复的结果较为一致。同时,叶绿体是植物光合的重要场所,AM 真菌通过改善氮磷营养来提高叶色值^[25]。因此,接种 AM 真菌可促进复垦苗木生长,加速生态恢复进程。

AM 真菌能增加土壤氮含量,可能是菌丝增加根系与土壤接触面积,提高土壤氮浓度;同时加速土壤有机氮矿化,增加氮有效性^[26]。对于土壤磷营养,菌丝延伸到远离根系的范围,活化难溶性磷,扩大磷吸收效率^[27]。同时,根外菌丝分泌质子使菌丝际形成磷亏缺区,活化菌丝际土壤难溶性钙磷等,增加有机磷底物有效性和提高磷酸酶活性,加速土壤磷矿化,促进植物吸收利用^[28-29]。试验中,接种 AM 真菌显著降低了土壤速效磷含量,表明 AM 真菌能促进宿主植物对土壤磷的吸收,这与前人研究结果一致。试验证实未接种处理的钾在土壤中亏缺区约为 5 mm,接菌处理钾的亏缺区一直延伸到 50 mm,有效地提高土壤吸收,导致接菌处理的钾含量降低^[18]。

试验中,接种 AM 真菌提高了土壤球囊霉素(GRSP)含量。这与 RILLIG 等^[10]发现菌丝分泌 GRSP 增加土壤 15% 有机碳库,提高土壤固碳量的结果一致。因为接菌处理植物地上和地下部生物量显著高于对照处理,大量枯枝落叶为增加土壤 GRSP 含量提供原料。同时,球囊霉素也来源于 AM 真菌孢子壁和菌丝体的糖蛋白,随孢子和菌丝降解进入土壤,本身亲水性能提高土壤团粒结构稳定性和抗侵蚀能力。试验中,接种 AM 真菌增加土壤 GRSP 含量,与前人在莴苣上的试验结果一致^[30]。

土壤酶积极参与土壤生物化学过程,活性高低反映

营养物质转化速率和代谢的强弱^[31]。该研究表明,接种 AM 真菌提高土壤酸性磷酸酶、蔗糖酶、脲酶和硝酸还原酶活性,这与其它研究结果一致^[32]。土壤酶主要来源于微生物和植物根系的分泌物,酶活性增强可能是 AM 真菌促进植物或其它微生物或根外菌丝分泌更多酶所致。磷酸酶催化土壤磷酸单酯和磷酸二酯水解,将有机磷和难溶磷转化为植物可以利用的有效磷^[33],该研究磷酸酶活性增强与速效磷含量降低的结论一致。蔗糖酶将土壤难分解有机物催化为葡萄糖和果糖,为植物提供更多碳源和能源,增加土壤有机质含量。土壤脲酶和硝酸还原酶是土壤氮素转化的关键酶,促使土壤尿素水解,生成的氨成为植物生长重要的氮素来源^[33],是该试验中碱解氮增加的重要原因。同时,土壤养分含量和酶活性越高,表明土壤肥力状况越好,越有利于 AM 真菌与植物形成共生关系^[34]。

4 结论

综上所述,对复垦植物接种 AM 真菌在采煤沉陷区复垦中具有可行性,在促进土壤养分循环和转化中发挥重要作用。该研究证实 AM 真菌能促进复垦植物的生长和改善土壤生态环境;但是外源菌剂的添加可能对土著微生物造成一定影响,二者之间的相互作用机理对于沉陷地的贡献目前尚鲜见报道,有待于进一步研究。同时,未来研究重点应当筛选针对不同复垦植物的当地土著优势菌种,使微生物复垦效果达到最佳。

该研究只是 AM 真菌菌剂在野外的初步应用,未来推广过程中还应该考虑植物种类、土壤类型、气象条件、栽培技术以及菌剂接种量、接种时间、接种方法等相关因子的影响,AM 真菌对植物根系的侵染效果有待于深入的调查和分析,便于进行大规模推广和应用,改善当地受损的生态环境。

(本文作者还有张延旭,单位同第一作者。)

参考文献

- [1] 国家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社, 2014.
- [2] 钱鸣高, 缪协兴, 许家林. 资源与环境协调(绿色)开采[J]. 煤炭学报, 2007, 32(1): 1-7.
- [3] 李少朋, 毕银丽, 陈晔圳, 等. 外源钙与丛枝菌根真菌协同对玉米生长的影响与土壤改良效应[J]. 农业工程学报, 2013, 29(1): 109-115.
- [4] 杜善周, 毕银丽, 王义, 等. 丛枝菌根对神东煤矿区塌陷地的修复作用与生态效应[J]. 科技导报, 2010, 28(7): 41-44.
- [5] van DER HEIJDEN M G A, de BRUIN S, LUCKERHOFF L, et al. A widespread plant-fungal-bacterial symbiosis promotes plant biodiversity, plant nutrition and seedling recruitment[J]. The ISME Journal, 2016, 10(2): 389-399.
- [6] SMITH S E, READ D J. Mycorrhizal symbiosis[M]. 2nd. San Diego: Academic Press, 1997.
- [7] KÖHL L, LUKASIEWICZ C E, HEIJDEN M G A. Establishment and effectiveness of inoculated arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils[J]. Plant, Cell and Environment, 2016, 39(1): 136-146.

- [8] SYMANCZIK S, COURTNEY P E, BOLLER T, et al. Impact of water regimes on an experimental community of four desert arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) species, as affected by the introduction of a non-native AMF species[J]. *Mycorrhiza*, 2015, 25(8): 639-647.
- [9] KOCH A M, KUHN G, FONTANILLAS P, et al. High genetic variability and low local diversity in a production of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(8): 2369-2374.
- [10] RILLIG M C, MUMMEY D L. Mycorrhizas and soil structure[J]. *New Phytologist*, 2006, 171(1): 41-53.
- [11] CHEN X, TANG J J, ZHI G Y, et al. Arbuscular mycorrhizal colonization and phosphorus acquisition of plants: effects of coexisting plant species[J]. *Applied Soil Ecology*, 2005, 28(3): 359-369.
- [12] BÜCKING H, KAPLE A. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in the nitrogen uptake of plants: current knowledge and research gaps[J]. *Agronomy*, 2015, 5(4): 587-612.
- [13] FREY B, SCHÜEPP H. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L.[J]. *New Phytologist*, 1993, 124(2): 221-230.
- [14] KUMAR A, SHARMA S, MISHRA S. Influence of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and salinity on seedling growth, solute accumulation, and mycorrhizal dependency of *Jatropha curcas* L.[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2010, 29(3): 297-306.
- [15] PENG J, LI Y, SHI P, et al. The differential behavior of arbuscular mycorrhizal fungi in interaction with *Astragalus sinicus* L. under salt stress[J]. *Mycorrhiza*, 2011, 21(1): 27-33.
- [16] WU Q S, LI Y, ZOU Y N, et al. Arbuscular mycorrhiza mediates glomalin-related soil protein production and soil enzyme activities in the rhizosphere of trifoliate orange grown under different P levels[J]. *Mycorrhiza*, 2015, 25(2): 121-130.
- [17] LI T, HU Y J, HAO Z P, et al. First cloning and characterization of two functional aquaporin genes from an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*[J]. *New Phytologist*, 2013, 197(2): 617-630.
- [18] 贺学礼, 郭辉娟, 王银银. 土壤水分和 AM 真菌对沙打旺根际土壤理化性质的影响[J]. *河北大学学报*, 2013, 33(5): 508-514.
- [19] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [20] WRIGHT S F, UPADHYAYA A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Plant and Soil*, 1998, 198(1): 97-107.
- [21] JANOS D P, GARAMSZEI S, BELTRAN B. Glomalin extraction and measurement[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(3): 728-739.
- [22] FREY B, SCHÜEPP H. A role of vesicular arbuscular(VA) mycorrhizal fungi in facilitating interplant nitrogen transfer[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1993, 25: 651-658.
- [23] 张旭红, 王幼珊, 王殿武, 等. 丛枝菌根真菌对大豆不同水分条件的适应性研究[J]. *河北农业大学学报*, 2003, 26(3): 40-45.
- [24] 李少朋, 毕银丽, 孔维平, 等. 丛枝菌根真菌在矿区生态环境修复中应用及其作用效果[J]. *环境科学*, 2013, 34(11): 4455-4459.
- [25] 周世力. 磷肥用量对高羊茅生长的影响[J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(14): 4247-4248.
- [26] TOUSSAINT J P, STARNAUD M, CHAREST C. Nitrogen transfer and assimilation between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck & Smith and *Rhizoctonia carota* L. in an *in vitro* compartmented system[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2004, 50: 251-260.
- [27] LI X L, GEORGE E, MARSCHNER H. Extension of the phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil[J]. *Plant and Soil*, 1991, 136: 41-48.
- [28] DELLA M I F, SAPARRAT M C N, GODEAS A M, et al. The co-existence between DSE and AMF symbionts affects plant P pools through P mineralization and solubilization processes[J]. *Fungal Ecology*, 2015(17): 10-17.
- [29] WANG F, JIANG R F, KERTESZ M A, et al. Arbuscular mycorrhizal fungal hyphae mediating acidification can promote phytate mineralization in the hyphosphere of maize (*Zea mays* L.)[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 65: 69-74.
- [30] KOHLER J, CARAVACA F, ROLDAN A. Effect of drought on the stability of rhizosphere soil aggregates of *Lactuca sativa* grown in a degraded soil inoculated with PGPR and AM fungi[J]. *Applied Soil Ecology*, 2009, 42: 160-165.
- [31] SARDANS J, PENUELAS J. Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean *Quercus ilex* L. forest[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(3): 455-461.
- [32] HUANG H L, ZHANG S Z, WU N Y, et al. Influence of *Glomus etunicatum*/*Zea mays* mycorrhiza on atrazine degradation, soil phosphatase and dehydrogenase activities, and soil microbial community structure[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41: 726-734.
- [33] WANG F Y, LIN X G, YIN R, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on the growth of *Elsholtzia splendens* and *Zea mays* and the activities of phosphatase and urease in a multi-metal-contaminated soil under unsterilized conditions[J]. *Applied Soil Ecology*, 2006, 31: 110-119.
- [34] 岳英男, 杨春雪. 松嫩盐碱草地土壤理化特性与丛枝菌根真菌感染的相关性[J]. *草业科学*, 2014, 31(8): 1427-1444.

Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungus Inoculation on Plant Growth and Soil Chemical and Biological Properties Amelioration in Coal Mining Subsidence Area

WANG Zhigang¹, GUO Yangnan², BI Yinli¹, QIU Lang¹, JIANG Bin¹, PENG Suping¹, ZHANG Yanxu¹

(1. China University of Mining and Technology (Beijing), State Key Laboratory of Coal Resources and Safe Mining, Beijing 100083;
2. The Technology Research Institute of Shendong Coal Company in China Shenhua Group, Yulin, Shaanxi 719315)

Abstract: The effects of arbuscular mycorrhizal fungus inoculation on the growth of wild cherry, Shiny leaf Yellowhorn, *Cerasus humilis*, apricot and the major soil chemical properties and enzymatic activities in the degenerated sandy soil by using *in-situ* field monitoring and lab analyzed methods in Shendong coal mining-induced subsidence area were

DOI:10.11937/bfy.201624044

强碱土土壤呼吸对不同降水强度的响应

张 录¹, 张 芳^{1,2}, 胡 实¹, 张 楠¹, 段 鹏 程¹

(1. 新疆大学 资源与环境科学学院, 教育部绿洲生态重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830046;

2. 新疆大学 生态学博士后流动站, 新疆 乌鲁木齐 830046)

摘 要:以准噶尔盆地南缘奇台县境内的强碱土为研究对象,测定分析了模拟不同降水强度(小雨、中雨、大雨)在降水过程中和降水后对土壤呼吸速率的影响。结果表明:小雨处理促进了土壤呼吸速率的释放,在降水过程中,其比对照点增加了 320.69%,降水后仅比对照点增加了 58.82%;中雨处理在降水过程中,土壤呼吸速率比对照点减少了 48.27%,但在降水后则增加了 29.41%;大雨处理使得土壤呼吸速率迅速降低,与对照点相比,降水过程中和降水后的土壤呼吸速率,分别减少 306.89%和 188.24%,且表现出持续负值的趋势,大雨明显地增强了强碱土对 CO₂ 的吸收效应。

关键词:强碱土;土壤呼吸;模拟降水

中图分类号:S 154.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)24-0170-05

土壤呼吸是全球碳循环的一个重要环节,即使较小的土壤呼吸作用变化也能显著地减缓或加剧大气中 CO₂ 含量的增加^[1-2]。据估算,全球陆地生态系统每年由土壤呼吸释放到大气中的碳通量达到 68~100 Pg^[2-3]。相关研究表明,在全球气候变暖的情况下,未来中国干旱地区的降水有增加的趋势^[4-6]。土壤呼吸与土壤水分紧密相关,因此,降水量的改变对于干旱区土壤呼吸的影

响尤为明显^[7]。目前,在干旱区已进行的土壤呼吸速率对模拟降水响应的研究,多集中于有植被覆盖的区域^[8-10],对于无植被覆盖的强碱土在模拟不同降水条件下的土壤呼吸变化研究较少。现以强碱土为研究对象,通过对人工模拟不同降水强度下土壤呼吸速率的动态监测,研究干旱区不同降水强度下以及降水后的土壤呼吸变化特征,探讨强碱土对于不同降水等级的响应,以增加对于干旱区碳循环的进一步认识。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于天山北坡与准噶尔盆地南缘地区过渡地带的新疆奇台县草原站(北纬 44°04′42.62″,东经 89°53′24.81″,海拔 791 m),属中温带大陆性干旱半干旱气候。年平均气温 4.7℃,年平均降水量 176 mm,蒸发

第一作者简介:张录(1989-),男,陕西汉中,人,硕士,研究方向为干旱区环境。E-mail:zhanglu1356@126.com.

责任作者:张芳(1969-),女,山东嘉祥人,博士,副教授,现主要从事干旱区环境与人地关系等研究工作。E-mail:zhangf602@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(41261049);中国博士后科学基金资助项目(2013M532100)。

收稿日期:2016-09-26

investigated. The results showed that mycorrhizal colonization rates were 47%—52%, external hyphal density was more than 4 m · g⁻¹ soil, aboveground parts and root dry weight were improved significantly, and the typical mycorrhizal structures were formed in the roots of the above four plant species by using AM inoculums. Similarly, plant vegetative growths were improved significantly by inoculation of AM via increasing survival rate, plant height, ground diameter and leaf SPAD. Also, available N, organic matter, GRSP, acid phosphatase, sucrase and urease and nitrates activities of soil was significantly higher and reduced Olsen P and available K in the inoculation treatments than those in the non-inoculated treatments. Thus, AM fungi dramatically enhanced the extremely poor and arid coal mining-induced subsidence soil restoration by improving typical plant growths and chemical or biological properties of soil, which could provide some suggestions for long-term ecological improvements by using AM inoculums.

Keywords: coal mining subsidence area; arbuscular mycorrhizal fungus; reclamation species; soil chemical properties; soil enzymatic activities