

采煤沉陷地丛枝菌根的应用及其生态效应研究

张延旭¹, 毕银丽¹, 王 瑾^{1,2}, 孔维平¹, 于 淼¹, 张晓燕³

(1. 中国矿业大学(北京) 地球科学与测绘工程学院, 北京 100083; 2. 广西农业科学院 农业资源与环境研究所, 广西南宁 530007; 内蒙古自治区乌兰察布市四子王旗水利局, 内蒙古 乌兰察布 011800)

摘 要:以陕西省大柳塔矿采煤沉陷地为试验地, 自然状况下接种丛枝菌根真菌, 研究了丛枝菌根对沙棘生长及根系发育的影响, 并对接菌后根际微环境变化进行了探讨。结果表明: 接菌处理植株地上和根系发育生长指标优于不接菌组。接菌后宿主植物与菌根能形成良好的共生关系, 根际菌丝密度远高于对照。接种丛枝菌根增加了土壤微生物数量, 提高了根际土壤磷酸酶活性, 土壤速效养分含量也高于不接菌组。接种菌根对采煤沉陷地土壤具有一定的土壤改良效果, 改善了土壤根际微生态环境, 取得了较好的生态效益, 对当地的生态修复具有重要意义。

关键词:丛枝菌根真菌; 采煤沉陷地; 沙棘; 生态效应; 根际微环境

中图分类号:S 154 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)21-0161-04

煤炭是我国最主要的能源, 随着经济发展和工业产业化的加快, 人类对矿产资源的开发规模不断扩大, 同时对当地的生态环境也造成了巨大的压力和严重破坏^[1]。我国煤炭产量的 95% 以上为井工开采, 地下煤层开采后, 其上覆岩层失去支撑, 上覆岩层的应力平衡状态被破坏, 导致开采沉陷的发生^[2]。开采沉陷对地表土地, 特别是耕层的影响较为严重。据统计, 平均每采出 10 kt 原煤其土地沉陷面积为 0.2 hm², 目前全国已有开采沉陷地面积 8×10⁵ hm², 并且随着煤炭资源的开采, 采煤塌陷范围以每年 200 km² 的速度递增^[3]。煤炭开采造成的土地破坏, 引起土壤水分含量下降, 土壤渗透性强等, 土壤肥力下降, 水土流失和荒漠化加剧^[4]。对采煤沉陷区废弃地的生态治理亟待解决。

目前, 针对采煤沉陷区的生态建设主要依靠人工种植, 但由于煤炭开采后地表土开裂, 土壤失水失肥, 对沉陷地土壤微生境造成了破坏, 生态建设的效果不好, 植被成活率较低^[5]。针对此种情况, 引入先进的栽植方法和技术就显得尤为重要, 而丛枝菌根微生物技术为造林的成功高效进行提供了一个良好的工具。丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)是一种普遍存在

的内共生真菌, 它能够与 80% 以上的陆生植物形成共生体^[6-7]。AMF 菌丝大大增加了植物对营养的吸收范围和吸收面积, 从而促进植物生长。AMF 还能够提高植物的抗旱性和抗逆性, 改善土壤结构, 增加土壤中团粒结构, 从而改善土壤性状和微生境^[8-9]。

该研究主要针对采煤沉陷地较差立地条件, 利用菌根本身的生理生态特性, 对矿区脆弱地区的植物接种菌根菌, 通过监测丛枝菌根菌接种对植物生长和植被恢复的生态效应, 以期菌根生物技术在矿区环境治理的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

大柳塔矿区位于陕西省神木县西北约 52.5 km, 地处陕北高原北侧与毛乌素沙漠东南缘的接合部位, 海拔 1 334.1 m; 以风沙堆积地貌为主, 沙丘、沙垅、沙滩地交错分布, 地形切割强烈, 沟壑纵横。试验区属中温带干旱半干旱大陆季风气候, 冬季漫长寒冷, 夏季短暂炎热, 风沙频繁, 暴雨集中, 昼夜温差悬殊。年均气温 8.4℃, 最高 38℃, 最低 -28℃。多年均降水量 441.2 mm, 多集中在 7、8、9 月, 年均蒸发量 2 211.2 mm。该试验地点选择陕西省神木县大柳塔镇采煤沉陷区微生物复垦基地, 面积约为 4 800 m²。该区域地势较为平缓, 土质主要为风沙土, 土壤较为贫瘠^[10]。土壤基础 pH 7.51, 速效磷含量 2.30 mg/kg, 速效钾含量 126.43 mg/kg。

1.2 试验材料

供试菌种为中国矿业大学(北京)微古物复垦实验室增殖培养的真菌菌种摩西球囊霉 *Glomus mosseae* (简称 Gm.)。供试植物为神木县当地苗圃提供的适生植物

第一作者简介:张延旭(1984-), 男, 山东兖州人, 博士研究生, 研究方向为矿区生态修复与重建。E-mail: zhangyanxu911@163.com

责任作者:毕银丽(1971-), 女, 陕西米脂人, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事矿区生态修复等研究工作。E-mail: ylbis88@126.com

基金项目:国家“863”计划资助项目(2013AA102904); 中央高校基本科研费资助项目(2009KD01)。

收稿日期:2014-05-19

中国沙棘幼苗,株高 20 cm 左右,根系未发育,树干分支基本一致,裸根栽植。

1.3 试验方法

于 2012 年 4 月平整土地后挖穴种植,设置接种(+M)和不接种处理(CK),其中接菌处理和对照处理分别为 216、240 株,每株穴播接种 50 g 菌剂。沙棘株距为 1 m,处理间设置小区隔离带,间距为 3 m。栽植后采用穴灌的方式浇水,浇水量达到沙土最大饱和持水量。开始每周浇水 1 次,1 个月后每 2 周浇水 1 次。3 个月后植株免水分管理自然生长。

1.4 项目测定

接菌后定期调查沙棘植株地上生长高度、植株冠幅等指标。接菌 1 年后随机定位采集地下根段和根际土样,测定菌根侵染率^[11]。采集根际土装入无菌塑封袋内,低温冷藏并迅速带回实验室:一部分鲜土样过 2 mm 筛置于 4℃ 冰箱保存备用,用于测定土壤微生物数量和酶活性。另一部分土样自然风干过 1 mm 筛,用于测定土壤理化性质和菌丝密度。土壤微生物数量采用稀释平板法^[12]测定,磷酸酶活性采用改进的 Tabatabai 和 Brimmer 方法测定。菌丝密度采用网格交叉法测定。土壤 pH 值、电导率和速效 P、K 含量等测定参照鲍士旦^[13]的方法测定。

在植物栽植的同时埋设根管,采用 CI-600 原位监测法监测植物根系形态特征,动态揭示植被表观的生长特征和微观的根系结构功能发育变化规律。

1.5 数据分析

试验数据利用 Excel 2007 软件和 DPS 7.05 软件进

表 2

接菌对沙棘根系发育的影响

Table 2 Effect of different treatment types on the root development of *Hippophae rhamnoides*

处理	根长	根投影面积	根表面积	根平均直径	根体积	根尖数
Treatment	Root length/cm	Root projection area/cm ²	Root surface area/cm ²	Average root diameter/cm	Root volume/cm ³	Root tip number/个
+M	452.76a	21.79a	68.46a	0.48a	1.73a	271a
CK	287.06b	14.54b	45.67b	0.36a	1.25b	152b

2.3 接菌对沙棘菌根侵染率和菌丝密度的影响

菌根侵染率能够反映宿主植物与丛枝菌根真菌的共生关系,菌根侵染率越高,说明其与宿主植物的结合

行数据分析和作图处理。

2 结果与分析

2.1 丛枝菌根对沙棘地上生长的影响

由表 1 可知,接菌 1 年后,接菌处理平均株高、冠幅分别达到 56.76、47.91 cm,较 CK 处理分别增加 53.7%、78.5%,均达到显著差异。同时接菌后植株地径有所增加,平均增加 8.1%,但差异不显著。接种菌根对沙棘植株地上部分生长有明显效果,其生长速度较未接菌显著提高。这可能是由于接菌后,丛枝菌根与沙棘形成共生关系,依靠其产生的大量菌丝吸收土壤中的水分和养分、矿质元素等,增大了根系的吸收面积,从而促进了沙棘的快速生长。

表 1 接菌对沙棘生长的影响

Table 1 Effect of different treatment types on the growth of *Hippophae rhamnoides*

处理	株高	冠幅直径	地径
Treatment	Plant height/cm	Crown diameter/cm	Ground diameter/mm
+M	56.76a	47.91a	8.54a
CK	36.92b	26.84b	7.90a

2.2 丛枝菌根对沙棘根系发育的影响

菌根真菌能够通过菌丝增加对土壤中水分和营养元素的吸收,同时接种菌根还能够促进植物根系的发育。由表 2 可知,接菌 1 年后,丛枝菌根促进了沙棘根系的发育,根系根长、根投影面积、根表面积、平均直径、根体积和根尖数等指标均表现出较大的优势。根系的生长发育能够促进植物对土壤水分和养分的吸收,能更好地促进植株的健康快速生长。

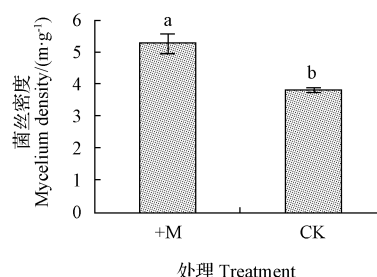
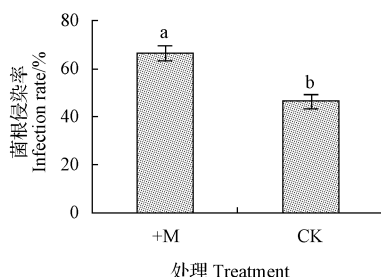


图 1 接菌对沙棘菌根侵染率和菌丝密度的影响

Fig. 1 Mycorrhizal infection rate and the mycelium density of different treatments

越好。由图 1 可知,+M 处理菌根侵染率为 67%,而未接菌处理菌根侵染率为 47%,其菌根贡献率约为 20%。说明接种后丛枝菌根能够较好地与沙棘根系侵染形成

良好的共生关系。未接菌处理其根系亦有侵染,说明土壤中本身就存在一些土著菌种,它们也能侵染植物的根系,贺学礼等^[14]、包玉英等^[15]的结论也证明了这一点。人工强化接种后其菌根侵染率提高,这也反映了人工强化接种的必要性。

菌丝密度能够反映出不同菌种对植物生长的促进能力。菌丝密度越长,说明其对菌根植物的作用效果越大^[7]。从菌丝密度来看,+M 处理土壤菌丝密度较大,达到 5.26 m/g,较 CK 处理表现出较大优势,且差异显著。这说明通过人为强化接种菌根真菌,能够增加菌根对根的侵染能力,促进土壤中菌丝密度的增加。

2.4 接菌对沙棘根际土壤微生物数量的影响

土壤微生物是土壤生物特性的重要组成部分,在土壤形成、生态系统的生物地球化学循环等方面都具有重要作用^[16]。土壤微生物数量组成不仅可以敏感地反映土壤环境质量的变化,而且也是土壤生物活性的具体体现^[17]。由表 3 可知,接菌和对照处理微生物数量均表现

表 3 接种丛枝菌根对根际土壤微生物数量的影响

Table 3 Effect of different treatments on microbe quantity in the rhizosphere of *Hippophae rhamnoides*

处理 Treatment	细菌 Bacteria		真菌 Fungi		放线菌 Actinomycetes	
	数量	比重	数量	比重	数量	比重
	Number/(10 ⁵ cfu · g ⁻¹)	Proportion/%	Number/(10 ³ cfu · g ⁻¹)	Proportion/%	Number/(10 ⁴ cfu · g ⁻¹)	Proportion/%
+M	60.85	81.54	44.66	0.60	133.29	17.86
CK	54.57	82.16	7.40	0.11	117.74	17.73

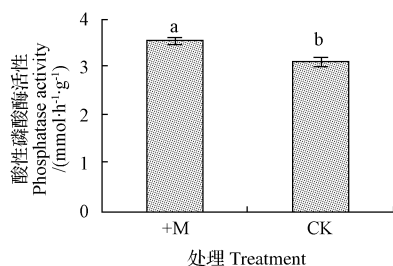


图 2 接种菌根对根际土壤酸性磷酸酶活性的影响

Fig. 2 Effect of different treatments on phosphatase activity in the rhizosphere of *Hippophae rhamnoides*

表 4 接菌对根际土壤性状的影响

Table 4 Effect of different treatments on rhizosphere soil

处理 Treatment	pH 值 pH value	电导率 Conductivity/(μ S · cm ⁻¹)	碱解氮 Available nitrogen/(mg · kg ⁻¹)	有效磷 Available phosphate/(mg · kg ⁻¹)	速效钾 Rapidly available potassium/(mg · kg ⁻¹)
+M	8.3a	76.9a	36.1a	4.9a	71.83a
CK	8.0a	61.4b	35.7a	4.0b	68.29a

3 结论与讨论

丛枝菌根能够与沙棘形成良好的共生关系,这对于采煤沉陷地沙棘的生长和受损生态系统的恢复与重建具有重要意义。该研究结果表明,人工接种丛枝菌根能够促进沙棘地上部分和根系生长发育,促进植株生长。这一结论与之前的研究得出的结论较为一致^[20-21],这也

为细菌>放线菌>真菌。接种菌根 1 年后,接菌区土壤中的细菌、真菌、放线菌较对照均有所提高,分别提高 11.5%、503%、13.2%。土壤中微生物数量与多方面的因素有关,包括土壤理化性质、土壤水热状况、微生物间的相互作用等。接菌后微生物数量的增加,一定程度上反映了土壤质量的改善,使得土壤微生态环境得到改善,最终使得受损的生态系统朝着有利的方向发展。

2.5 接菌对根际土壤磷酸酶活性影响

土壤酶是土壤一切生物化学过程的积极参与者,是灵敏可靠的土壤生物活性指标和土壤肥力指标^[18]。磷酸酶活性与细胞的许多生理生化过程相关,可以反映土壤有机磷转化状况^[19]。由图 2 可知,接种菌根菌后酸性磷酸酶活性高于对照处理,且差异显著。磷酸酶活性的增强,能够大大促进土壤中磷的转化,对于有效磷含量亏缺的沉陷区有关键作用,有利于改善土壤肥力,为植物生长所需的大量有效磷肥提供了保障。

2.6 接菌对根际土壤性状影响

菌根真菌影响了根际土壤微生物和酶活性,根际土壤性状也产生了变化(表 4)。接菌显著增加了土壤电导率、土壤有效磷,土壤 pH 值、碱解氮、速效钾含量略有增加。接菌改善了土壤中微生态环境和土壤酶活性代谢,进一步加速了土壤中养分释放,改良了土体,从而促进地上植物生长和根际生态的改善。而土壤理化性质的改善反过来又能促进根际土壤微生物种群结构的改善和土壤酶系统的快速代谢,这对采煤沉陷地受损生态系统的恢复具有重要的生态意义。

说明了野外接种丛枝菌根的可行性和有效性,为今后丛枝菌根的大面积推广应用提供了依据。

丛枝菌根本身作为微生物的一种,人工向土壤中添加微生物可能会对当地土壤微生物区系和土壤酶活性造成一定影响,该研究中接菌后对微生物数量及土壤酶活性有一定的促进和提高,初步说明了丛枝菌根能够改

善土壤微生物环境,但对外源菌种和土著种之间相互作用机理和贡献率方面有待于进一步细致研究。同时也应当加大对当地土著菌种的调查和研究,筛选出当地的优势菌种,大力开发当地土著菌种,充分发挥微生物对生态改善的优势。

目前,在野外条件下接种丛枝菌根还存在许多问题,比如丛枝菌根对植物根系的侵染与各种生态环境因子有关,植物品种、不同土质、地形条件、栽植管理方法等都能影响到菌根与植物根系的侵染,在推广应用前应进行全面调查和分析。另外,对于菌根真菌的接种方法、接种时间、接种量、不同土质和环境条件下菌种的选择等都还有待于进一步的研究,以便对丛枝菌根进行大面积的推广和应用,进一步加速改善当地受损的生态。

参考文献

- [1] 臧荫桐,汪季,丁国栋,等.采煤沉陷后风沙土理化性质变化及其评价研究[J].土壤学报,2010(2):262-269.
- [2] 黎炜,陈龙乾,周天建,等.我国采煤沉陷地土壤质量研究进展[J].煤炭科学技术,2011(5):131-134.
- [3] 李凤明.我国采煤沉陷区治理技术现状及发展趋势[J].煤矿开采,2011(3):8-10.
- [4] 王力,卫三平,王全九.榆神府煤田开采对地下水和植被的影响[J].煤炭学报,2008(12):1408-1414.
- [5] 张发旺,侯新伟,韩占涛,等.采煤塌陷对土壤质量的影响效应及保护技术[J].地理与地理信息科学,2003(3):67-70.
- [6] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal symbiosis[M]. San Diego: Academic Press, 1997.
- [7] 李少朋,毕银丽,陈咄圳,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(1):109-116.
- [8] Wu Q S, Xia R X, Zou Y N. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress[J]. European Journal of Soil Biology, 2008, 44(1): 122-128.
- [9] Gong M G, Tang M, Zhang Q, et al. Effects of climatic and edaphic factors on arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Hippophae rhamnoides* in the Loess Plateau, China[J]. Stxben, 2012, 32(2): 62-67.
- [10] 徐友宁,吴贤,陈华清.大柳塔煤矿地面塌陷区的生态地质环境效应分析[J].中国矿业,2008(3):38-40,50.
- [11] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing and staining parasitic and Vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection[J]. Trans Br Mycol Soc, 1970, 55(1): 158-161.
- [12] 沈平,范秀如,李广斌.微生物学实验[M].北京:高等教育出版社,1999:123-128.
- [13] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:农业出版社,2000.
- [14] 贺学礼,杨欢,杨莹莹,等.沙棘 AM 真菌孢子形态结构及其生态适应性[J].干旱区研究,2013(1):96-100.
- [15] 包玉英,闫伟.内蒙古中西部草原主要植物的丛枝菌根及其结构类型研究[J].生物多样性,2004(5):31-38.
- [16] 胡亚林,汪思龙,颜绍旭.影响土壤微生物活性与群落结构因素研究进展[J].土壤通报,2006(1):172-178.
- [17] 杨满元,杨宁,郭锐,等.衡阳紫色土丘陵坡地恢复过程中土壤微生物数量特征[J].生态环境学报,2013,22(2):229-232.
- [18] 杨万勤,王开运.森林土壤酶的研究进展[J].林业科学,2004(2):152-159.
- [19] 谢安强,洪伟,吴承祯.内生真菌对尾巨桉幼苗磷元素吸收的影响[J].浙江农林大学学报,2013(6):68-75.
- [20] 任嘉红,刘瑞祥,张晓刚,等. AMF 及 Frankie 混合接种对沙棘生长效应的研究[J].微生物学通报,2004(2):6-9.
- [21] Tian C J, He X Y, Zhong Y, et al. Effects of VA mycorrhizae and Frankia dual inoculation on growth and nitrogen fixation of *Hippophae tibetana* [J]. Forest Ecology and Management, 2002, 170(1-3): 307-312.

Application of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Its Ecological Effect in Coal Mining Subsidence Area

ZHANG Yan-xu¹, BI Yin-li¹, WANG Jin-li², KONG Wei-ping¹, YU Miao¹, ZHANG Xiao-yan³

(1. School of Geoscience and Surveying Engineering, China University of Mining and Technology, Beijing 100083; 2. Agricultural Resources and Environment Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007; 3. Water Resources Bureau of Siziwang County, Wulanchabu, Inner Mongolia 011800)

Abstract: Taking Da Liuta coal mining subsidence land in Shannxi province as the studied area, effect of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on *Hippophae rhamnoides* growth and rhizosphere microenvironment changes under natural conditions were analyzed. The results showed that the plant aerial part and root growth indexes of the inoculation treatment were better than those of control treatment. After the inoculation host plants and mycorrhizal could form good symbiosis, rhizosphere mycelium density were much higher than control treatment. Arbuscular mycorrhizal inoculation increased the quantity of soil microorganism and content of available soil nutrient. Arbuscular mycorrhizal inoculation could improve soil nutrient and root microenvironment, could obtain better ecological benefits, which was great significance to the local ecological restoration.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi; coal mining subsidence land; *Hippophae rhamnoides*; ecological effect; rhizosphere microenvironment