

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201506025

高雁琳,李钧敏,闫明. 接种 AMF 对煤矿废弃物上高丹草的生长和叶绿素荧光的影响 [J]. 广西植物, 2016, 36(5):539-547  
GAO YL, LI JM, YAN M. Effects of AMF inoculation on the growth and chlorophyll fluorescence of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* in coal wastes [J].  
Guihaia, 2016, 36(5):539-547

# 接种 AMF 对煤矿废弃物上高丹草的生长和叶绿素荧光的影响

高雁琳<sup>1</sup>, 李钧敏<sup>2,3</sup>, 闫明<sup>1\*</sup>

(1. 山西师范大学 生命科学学院, 山西 临汾 041004; 2. 浙江省植物进化生态学与保护重点实验室, 浙江 台州 318000; 3. 台州学院 生态研究所, 浙江 台州 318000)

**摘要:** 为改善采矿废弃物上植被生长状况, 提高植物成活率, 该研究采用盆栽试验法, 以高丹草为材料, 选用摩西球囊霉 (*Glomus mosseae*, G. m) 和地表球囊霉 (*G. versiforme*, G. v) 两种 AM 真菌, 分别研究单接种和混合接种对粉煤灰 (S1)、煤矸石 (S2) 和粉煤灰与煤矸石混合物 (S3) 三种煤矿废弃物基质上高丹草 (*Sorghum bicolor* × *S. sudanense*) 生长及叶绿素荧光的影响, 并以正常沙土 (S4) 作为对照。结果表明: (1) 4 种基质上, 3 种接种处理均获得较高侵染率, 在基质 S1、S3 和 S4 上均为接种摩西球囊霉对高丹草根系侵染率最高, 分别为 49.04%、57.40%、43.34%, 在基质 S2 上, 混合接种处理对高丹草根系侵染效果最好, 达 49.33%。(2) 3 种煤矿废弃物基质上高丹草根长、干重、叶绿素含量、 $F_v/F_o$ 、 $qP$  和 Yield 显著降低。接种 AM 真菌显著提高了高丹草的生长和光合效率。与其他处理相比, 在基质 S1、S3 和 S4 上, 接种摩西球囊霉显著增加了根长、干重、叶绿素含量、 $F_v/F_o$ 、 $qP$  和 Yield, 在基质 S2 上, 接种地表球囊霉显著增加了根长、干重, 接种地表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉 (*G. mv*) 处理间叶绿素荧光参数均无显著差异。这表明在煤矿废弃物基质的复合逆境中高丹草生长和光合作用显著受到抑制, AM 真菌可通过提高高丹草叶绿素含量, 改善叶片叶绿素荧光和光合作用, 促进植物生长, 来缓解该复合逆境对高丹草造成的伤害, 增强其对煤矿废弃物不良环境的抗逆性, 提高煤矿区植被恢复效果。接种摩西球囊霉对粉煤灰以及粉煤灰和煤矸石混合基质上高丹草的促进作用最佳, 而接种地表球囊霉更适于煤矸石基质上高丹草的生长。

**关键词:** 丛枝菌根真菌 (AMF), 煤矿废弃物, 高丹草, 生长, 叶绿素荧光

中图分类号: Q945.79, S154.36 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2016)05-0539-09

## Effects of AMF inoculation on the growth and chlorophyll fluorescence of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* in coal wastes

GAO Yan-Lin<sup>1</sup>, LI Jun-Min<sup>2,3</sup>, YAN Ming<sup>1\*</sup>

(1. College of Life Sciences, Shanxi Normal University, Linfen 041004, China; 2. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Plant Evolutionary Ecology and Conservation, Taizhou 318000, China; 3. Institute of Ecology, Taizhou University, Taizhou 318000, China)

**Abstract:** To improve the growth and survival rate of plants in three types of coal wastes, we chose two kinds of arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae* (G. m) and *G. versiforme* (G. v), to study the effects of pure fungi, mixed bac-

收稿日期: 2015-07-28 修回日期: 2015-12-08

基金项目: 国家自然科学基金 (30800133, 31270461); 山西师范大学校基金 (ZR1211) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (30800133, 31270461); the School Fund of Shanxi Normal University (ZR1211)].

作者简介: 高雁琳 (1988-), 女, 山西朔州人, 硕士, 研究方向为菌根生态学, (Email) egsayll@126.com。

\*通讯作者: 闫明, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事植被生态学研究, (E-mail) mycorrhiza@sina.com。

teria on growth and photosynthetic fluorescence of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* in three types of coal wastes which were that fly ash (S1), coal gangue (S2) and the mixture of fly ash and coal gangue (S3) and the mixture of sand and earth (S4) which was the control group. The results were as follows: (1) In the four substrates, the symbiotic associations were successfully established between AMF and *Sorghum bicolor* × *S. sudanense*. The inoculation of *G. m* could obviously improved the infection rate to 49.04%, 57.40% and 43.34% in the substrates of S1, S3 and S4 and the mixed inoculation treatment had the best infection rate to 49.33% in the substrate of S2. (2) The plant height, root length, content of chlorophyll,  $F_v/F_o$ ,  $qP$  and Yield of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* in three types of coal wastes significantly decreased. Inoculation of AM fungi significantly promoted the growth and photosynthetic efficiency of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense*. Comparing with other treatments, inoculation of *G. m* significantly improved the root length, dry weight, the content of chlorophyll,  $F_v/F_o$ ,  $qP$  and Yield in the substrates of S1, S3 and S4. In the substrate of S2, inoculation of *G. v* significantly increased the root length, dry weight and had little difference with mixed inoculation treatment on chlorophyll fluorescence parameters. The result indicated that the growth and photosynthesis of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* was inhibited in the composite adversity of different types of coal wastes. AM fungi was capable of alleviating the damage caused by the adverse factors of different types of coal mining wastes on *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* by means of improve leaf chlorophyll content, photosynthesis, chlorophyll fluorescence and growth, and enhance *Sorghum bicolor* × *S. sudanense*'s stress-resistance. *G. m* was more suitable for the revegetation of fly ash and the mixture of fly ash and coal gangue, while *G. v* was more suitable for the revegetation of coal gangue.

**Key words:** AMF, coal wastes, *Sorghum bicolor* × *S. sudanense*, growth, chlorophyll fluorescence

煤矿开采对环境造成极大扰动,引发了一系列如水土流失、土地贫瘠化、盐碱化等亟待解决的生态环境问题,采煤沉陷区是煤矿废弃地土地复垦与生态重建的主要类型,其综合治理是目前矿区生态恢复的一个重大难题(袁宵梅等, 2008)。充填复垦作为采煤沉陷区植被重建的主要方式之一,使用煤矸石和粉煤灰等煤矿废弃物作为充填复垦材料,一方面减少煤矿废弃物的排放,另一方面也解决了由其堆放引发的环境污染等问题(毕银丽等, 2005a; Zhao et al, 2015)。然而,由于煤矸石、粉煤灰通常具有物理结构不良、保水保肥能力差、营养元素缺乏、重金属浓度高、盐分含量过高、极端 pH 值以及微生物区系稀少且活性极低等许多不利因子,这些不利因子对植物的胁迫或是单一的,或是多个胁迫因子同时对植物构成交叉伤害(赵仁鑫等, 2013),从而引起植物生长以及生理活性降低,最终导致植被退化。因此,增强煤矿废弃地植被的抗逆性,提高植物成活率的研究具有实际意义。丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)存在于几乎所有类型的土壤中,可以与陆地上绝大部分的高等植物物种形成互惠共生体(Smith & Read, 2008)。AM 真菌能够改良土壤结构(Daynes et al, 2013),促进植物的水分和矿质营养的吸收(Zhao et al, 2015),从而提高植物生长、光合效率以及对盐碱、过酸和重金属等不良环境的耐受性(刘润进和李晓林, 2000;

Estrada et al, 2013; 田野等, 2013)。

目前,煤矿区 AM 真菌的研究,一方面集中在对煤矿区 AM 真菌的调查、分类以及优势 AM 真菌的筛选(杜涛, 2013; 于淼, 2013),一方面集中在通过添加污泥或堆肥,或与其他微生物联合接种对煤矿区土壤进行改良如土壤酶活性、养分等(Qian et al, 2012; 李少朋等, 2013)和对煤矿区植被修复如通过影响植物矿质营养吸收、分配(Channabasava et al, 2015; Zhao et al, 2015),重金属吸收、转移(Guo et al, 2014),增强抗氧化酶活性(Kong et al, 2014)以及修复受损根系(岳辉, 2012)等,提高植物的生长活性。尽管在干旱(Ruiz-Sánchez et al, 2010)、盐碱(Porcel et al, 2015)、重金属(田野等, 2013)等单一胁迫下 AM 真菌对光合作用的影响已有研究,但是 AM 真菌对煤矿废弃物复合逆境中植物的光合作用的影响相关研究较少。那么,在煤矿废弃物不利因子复合胁迫下,AM 真菌如何影响植物的光合荧光参数,能否提高植物的生长和光合效率,增强植物对该不良环境的抗逆性?本研究通过室内试验模拟室外煤矿区废弃地环境,以高丹草为研究对象,分析了单接种和混合接种 AM 真菌对不同类型煤矿区废弃物上高丹草的生长和叶绿素荧光参数的影响,并进一步筛选出不同类型的煤矿废弃物上高丹草接种的最适 AM 菌种,以期运用菌根技术提高煤矿区植被恢复效果提供理论基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

选择禾本科草本植物高丹草 (*Sorghum bicolor* × *S. sudanense*), 晋草 1 号, 种子购自临汾市小麦研究所。供试菌种选用摩西球囊霉 (*Glomus mosseae*, G.m) 和地表球囊霉 (*G. versiforme*, G.v), 菌种购自北京市农林科学院植物与营养资源研究所, 接种剂为以高粱为宿主植物繁殖的土沙混合物, 内含供试菌种孢子、被侵染根段和根外菌丝。供试基质以煤矸石、粉煤灰为主要材料, 表层覆盖土沙混合物 (黄土和河沙体积比为 3:1)。煤矸石取自临汾市煤运公司煤炭转运站, 粉煤灰取自漳泽电力临汾热电厂。盆栽容器是棕色的圆形塑料花盆 (盆口直径 18 cm × 盆底直径 14 cm × 盆高 15 cm)。

### 1.2 试验设计与处理

采用随机区组设计, 设置 2 个因素 (菌根 × 基质)。其中接种菌根有 4 个水平, 分别是不接种对照 (CK)、接种摩西球囊霉、接种地表球囊霉以及两者混合接种摩西球囊霉+地表球囊霉 (G.mv) 4 个处

理; 栽培基质也有 4 个水平, 分别是粉煤灰、煤矸石、粉煤灰与煤矸石混合 (按体积比 1:4)、沙土混合物 (按体积比 1:3) 作为对照, 依次编号 S1~S4, 供试基质基本理化性质见表 1。每个处理设 4 个重复, 4 种基质共计 64 盆。试验采用盆栽法。播种前, 挑选籽粒饱满, 大小均一的种子, 用 10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消毒 10 min, 无菌水冲洗数遍后, 置于湿润纱布上, 于 25 °C 培养箱催芽, 种子露白即可播种。栽培容器用水清洗干净后, 用 75% 酒精消毒。栽培基质调配前, 煤矸石过 3 mm 筛, 黄土、河沙和粉煤灰过 1 mm 筛, 经 121 °C 高温高压蒸汽灭菌 2 h, 取出放置 1 周后待用。每盆装厚度约 8 cm 的灭菌基质, 粉煤灰、煤矸石、粉煤灰与煤矸石混合物及沙土混合物的质量分别为 1 405、1 785、1 598、2 250 g, 其上覆盖灭菌沙土 800 g, 厚度约 3 cm, 采用菌种层接法, 分别称取接种剂摩西球囊霉、地表球囊霉以及 2 种菌剂按 1:1 比例混合均匀后的接种剂, 各 120 g, 将 60 g 菌剂均匀撒施在土壤表面, 放入已催芽的种子 20 粒, 在其上覆盖 60 g 菌剂, 再覆盖沙土 220 g, 厚度约 1 cm。不接种处理采用相同方法加入 120 g 的灭菌菌剂。用称重法维持基质含水量在田间持水量的 80% 左右。

表 1 供试基质基本理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the substrates

| 基质<br>Substrate | pH   | 全氮<br>Total N<br>(g · kg <sup>-1</sup> ) | 全磷<br>Total P<br>(g · kg <sup>-1</sup> ) | 速效氮<br>Available N<br>(mg · kg <sup>-1</sup> ) | 速效磷<br>Available P<br>(mg · kg <sup>-1</sup> ) | 速效钾<br>Available K<br>(mg · kg <sup>-1</sup> ) | 有机质<br>Organic matter<br>(g · kg <sup>-1</sup> ) |
|-----------------|------|--|--|--|--|--|--|
| S1              | 7.92 | 0.25                                     | 0.12                                     | 12.31  | 7.36   | 85.49  | 9.83   |
| S2              | 4.73 | 0.31                                     | 0.18                                     | 25.70  | 10.36  | 62.35  | 18.72  |
| S3              | 6.82 | 0.28                                     | 0.15                                     | 21.03  | 9.12   | 74.80  | 15.95  |
| S4              | 6.98 | 0.97                                     | 0.23                                     | 73.29  | 10.56  | 124.73   | 26.59  |

### 1.3 测定参数和方法

1.3.1 侵染与生长状况测定 在对高丹草培养 8 周后, 测定株高, 将植株培养基质连同花盆一起浸泡在水中, 待基质松软后将植株从花盆中小心取出, 洗净根系后, 使用 WinRHIZO 根系分析仪测定主根长度; 每种处理随机选取鲜根 2 g 保存于 FAA 固定液中, 用 Phillips & Hayman (1970) 方法进行染色, 统计菌根侵染率; 并将其按根和地上部分开, 置于烘箱中 105 °C 烘干至恒重, 称重。丙酮浸提法 (孔祥生和易现锋, 2008) 测定高丹草叶片的叶绿素 a (Chl a)、

叶绿素 b (Chl b) 和总叶绿素 [Chl (a+b)] 含量, 并计算叶绿素 a/b (Chl a/b)。

1.3.2 叶绿素荧光参数测定 植株生长至 8 周, 使用美国 Opti-science 公司制造的 OS5-FL 型调制式叶绿素荧光仪, 选用完全展开的第三片叶进行叶绿素荧光参数测定。测定前暗适应 20 min, 测定参考高俊凤 (2006) 的方法步骤。

### 1.4 统计与分析

所有试验数据使用 Excel 整理, 用 SPSS 17.0 计算平均值和标准差, 并进行方差分析和邓肯多重比

较, Origin 9.0 绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 接种 AM 真菌对菌根侵染率和植株生长的影响

表 2 结果表明, 4 种基质上, 未接种处理菌根侵染率不超过 5%, 可能是由于植物培养过程属于开放培养, 空气或水中传播了真菌孢子导致污染, 3 种接种处理均获得较高的菌根侵染率, 且均存在显著性差异。在基质 S1、S3 和 S4 上, 接种摩西球囊霉处

理菌根侵染率均为最高, 分别为 49.04%、57.40%、43.34%, 接种地表球囊霉处理菌根侵染率较低, 分别为 30.67%、39.65%、35.67%, 而在基质 S2 上接种摩西球囊霉+地表球囊霉处理显著高于其他两种接种处理(为 49.33%), 接种摩西球囊霉处理菌根侵染率较低(为 33.43%)。接种摩西球囊霉处理在 4 种基质上菌根侵染率是 S3>S1>S4>S2, 接种地表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理基质 S2 和 S3 间无显著差异, 但显著高于基质 S4, 未接种处理 4 种基质间菌根侵染率无显著差异。

表 2 接种 AM 真菌对矿区废弃物上高丹草菌根侵染率的影响

Table 2 Effects of inoculation with AM fungi on mycorrhizal colonization rate of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* in different substrates of coal wastes (%)

| 接种处理<br>Treatment        | S1             | S2             | S3             | S4             |
|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 摩西球囊霉 <i>G. m</i>        | 49.04 ± 1.96Ba | 33.43 ± 2.97Dc | 57.40 ± 6.73Aa | 43.34 ± 1.75Ca |
| 地表球囊霉 <i>G. v</i>        | 30.67 ± 2.32Cc | 42.67 ± 5.42Ab | 39.65 ± 3.71Ac | 35.67 ± 1.99Bb |
| 摩西球囊霉+地表球囊霉 <i>G. mv</i> | 40.37 ± 1.13Bb | 49.33 ± 6.49Aa | 46.68 ± 2.62Ab | 42.34 ± 1.21Ba |
| 对照 CK                    | 3.67 ± 0.29Ad  | 3.68 ± 0.31Ad  | 4.36 ± 0.32Ad  | 4.07 ± 0.71Ac  |

注: 数据为平均值 ± 标准差, 不同小写字母表示同一基质下不同处理间在  $P<0.05$  水平上差异显著; 不同大写字母表示同一处理下不同基质间在  $P<0.05$  水平上差异显著。下同。

Note: Values are mean ± SD, different lowercase letters mean significantly differences ( $P<0.05$ ) between different treatments in same substrate; different capital letters mean significantly differences ( $P<0.05$ ) between different substrates in same treatment. The same below.

在 4 种基质上, 接种 AM 真菌显著增加了植株高、根长和干重(图 1,  $P<0.05$ ), 3 种接种处理间株高差异不显著。在基质 S1 和 S3 上, 接种摩西球囊霉显著增加了根长和干重( $P<0.05$ ), 接种地表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间根长和干重差异不显著。在基质 S2 上接种地表球囊霉处理增加了根长和干重, 接种摩西球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间差异均不显著。在基质 S4 上, 接种摩西球囊霉显著增加了根长和地上干重( $P<0.05$ ), 3 种接种处理间地下干重差异不显著。无论接种与否, 3 种煤矿废弃物基质上高丹草各指标均低于基质 S4。接种地表球囊霉处理, 基质 S2 和 S3 间各指标均无显著差异, 显著高于基质 S1。未接种和其他接种处理, 根长和干重均为基质 S3 较高。

### 2.2 接种 AM 真菌对高丹草叶绿素含量的影响

从图 2 可以看出, 与未接种处理相比, 4 种基质上 3 种接种处理 Chl a、Chl b、Chl (a+b) 含量以及 Chl a/b 均显著增加( $P<0.05$ )。在基质 S1 和 S3 上, 接种摩西球囊霉处理 Chl a 和 Chl (a+b) 含量显著高于其他处理( $P<0.05$ ), Chl a 含量分别是未接

种处理的 1.45 倍和 1.34 倍, Chl (a+b) 含量分别是未接种处理的 1.37 倍和 1.31 倍。基质 S4 上, 接种摩西球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间 Chl a、Chl (a+b) 含量和 Chl a/b 均无显著差异。基质 S1、S3 和 S4 上, 3 种接菌处理相比, 接种地表球囊霉处理 Chl a、Chl (a+b) 含量和 Chl a/b 均最低。在基质 S2 上, 3 种接菌处理相比, 接种地表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理 Chl a、Chl (a+b) 含量和 Chl a/b 差异均不显著, 但显著高于接种摩西球囊霉处理( $P<0.05$ )。在基质 S1 和 S4 上, 3 种接种处理间 Chl b 含量差异不显著。基质 S2 和 S3 上接种地表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间 Chl b 含量差异不显著, 但在基质 S2 上显著高于接种摩西球囊霉处理( $P<0.05$ ), 在基质 S3 上显著低于接种摩西球囊霉处理。无论接种与否, 4 种基质上高丹草 Chl a、Chl b、Chl (a+b) 含量以及 Chl a/b 均为基质 S4 最高, 其次是基质 S3。

### 2.3 接种 AM 真菌对高丹草叶绿素荧光参数的影响

在 4 种基质上, 接种 AM 真菌显著降低  $F_v$  值, 在基质 S1 上, 3 种接种处理间差异不显著(图 3)。基

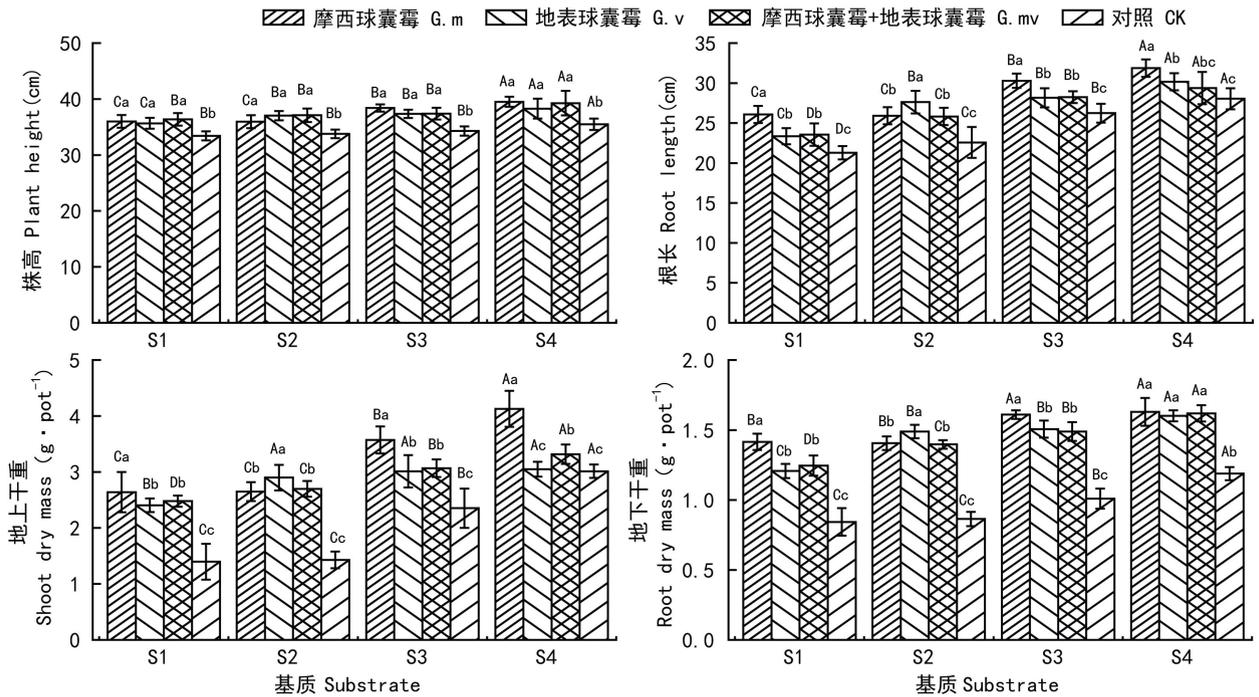


图 1 接种 AM 真菌对不同矿区废弃物基质上高丹草生长的影响

Fig. 1 Effects of inoculation with AM fungi on the growth of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* in different substrates of coal wastes

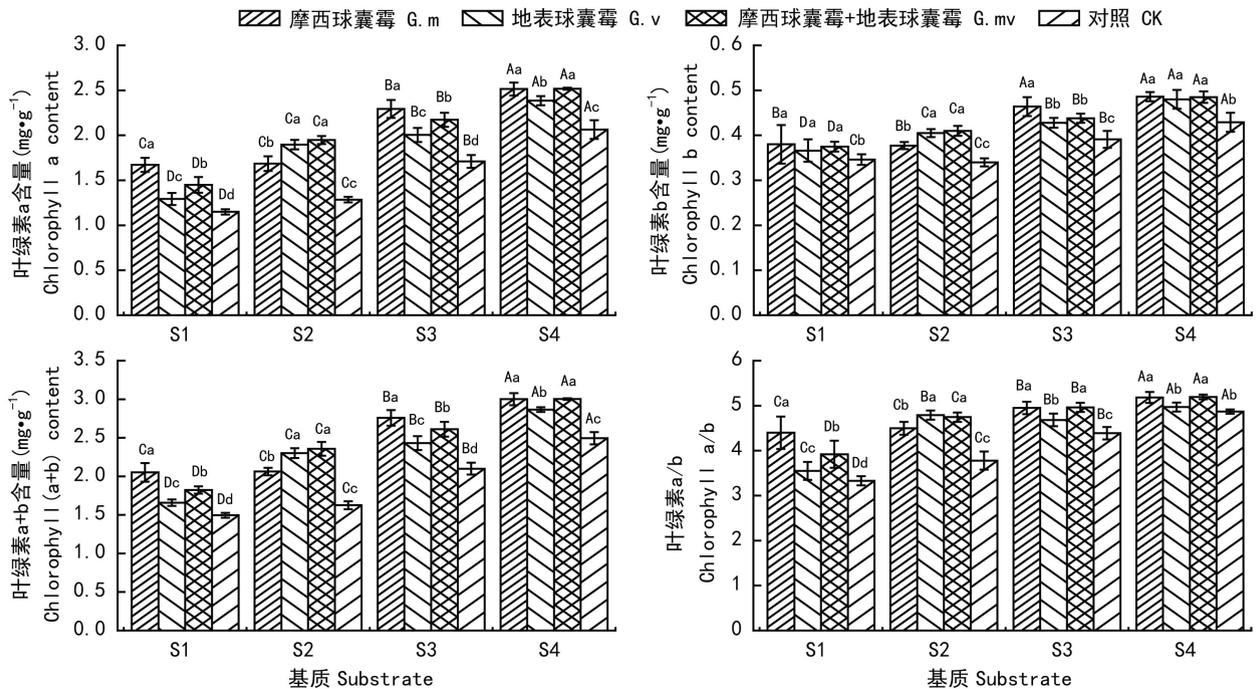


图 2 接种 AM 真菌对不同矿区废弃物上高丹草叶片叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effects of inoculation with AM fungi on chlorophyll content in leaves of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* in different substrates of coal wastes

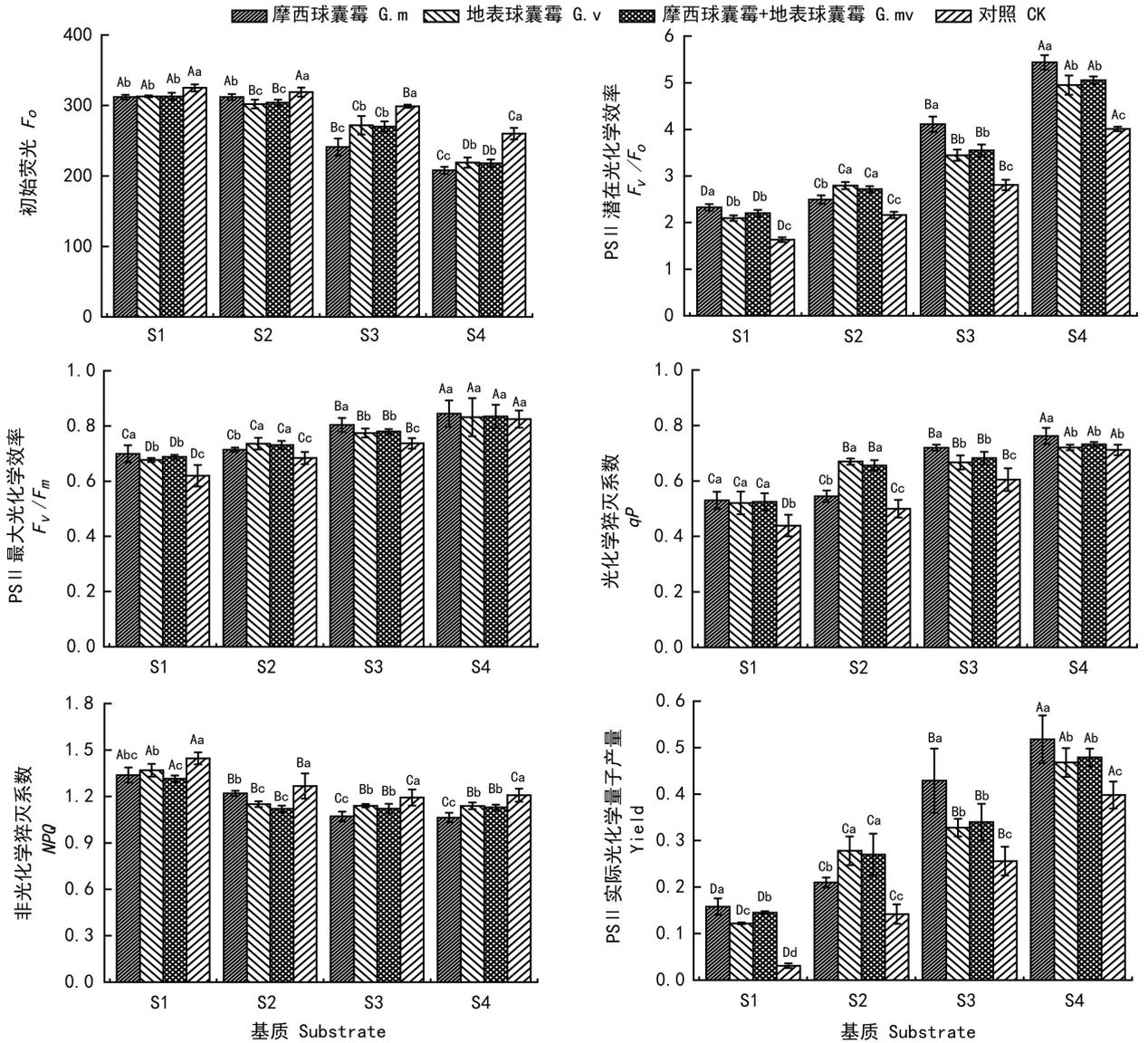


图3 接种AM真菌对矿区废弃物上高丹草叶片叶绿素荧光参数的影响

Fig. 3 Effects of inoculation with AM fungi on chlorophyll fluorescence parameters in leaves of *Sorghum bicolor* × *S. sudanense* in different substrates of coal wastes

质 S2 上,接种摩西球囊霉处理的  $F_0$  显著高于其他 2 种接种处理 ( $P < 0.05$ ),接种地表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间无显著差异。在基质 S3 和 S4 上,接种摩西球囊霉处理的  $F_0$  显著低于其他处理,接种地表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间无显著差异。在基质 S1 和 S3 上,接种摩西球囊霉处理的  $F_v/F_0$  和  $F_v/F_m$  显著高于其他处理 ( $P < 0.05$ ),接种地表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间差异不显著。在基质 S2 上,接种摩西球囊霉处理的  $F_v/F_0$  和  $F_v/F_m$  显著低于其他 2 种接种处理,

接种地表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间无显著差异。在基质 S4 上,接菌处理和未接菌处理间  $F_v/F_m$  无显著差异,接种摩西球囊霉处理的  $F_v/F_0$  显著高于其他处理 ( $P < 0.05$ ),接种地表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间  $F_v/F_0$  差异不显著。4 种基质上,3 种接种处理显著增加了  $qP$  和 Yield,降低了 NPQ。在基质 S1 上,3 种接种处理间  $qP$  差异不显著,接种摩西球囊霉处理的 Yield 显著高于其他处理,接种摩西球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间 NPQ 差异不显著。在基质 S2 上,接种地

表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间  $qP$ 、Yield 和  $NPQ$  差异不显著,但  $qP$ 、Yield 显著高于接种摩西球囊霉处理, $NPQ$  显著低于接种摩西球囊霉处理。在基质 S3 和 S4 上,接种摩西球囊霉处理  $qP$  和 Yield 显著高于其他 2 种接种处理, $NPQ$  显著低于其他 2 种接种处理,接种地表球囊霉和摩西球囊霉+地表球囊霉处理间  $qP$ 、Yield 和  $NPQ$  无显著差异。无论接种与否,4 种矿区废弃物基质上高丹草  $F_v/F_o$ 、 $F_v/F_m$ 、 $qP$  和 Yield 均为基质 S4 最高,其次是基质 S3;基质 S4 上  $F_o$  显著低于其他基质,基质 S3 上  $F_o$  较基质 S1 和 S2 低,基质 S1 上  $NPQ$  显著高于其他基质。

### 3 讨论

本研究中,4 种基质上 3 种接种处理均具有较高的菌根侵染率,表明 AM 真菌与高丹草建立了良好的共生关系。4 种基质不同,菌根侵染率以及菌种间的相互作用有差异,这可能是因为 4 种基质的 pH、营养成分和有机质含量及基质类型等理化性质存在显著差异,菌根侵染率及菌种间的相互作用受到基质类型、pH 值、矿质营养和有机质含量等理化性质以及宿主植物等因素的综合影响。菌根与基质以及宿主植物有一定选择性,不同菌种对不同基质的适应和生存能力以及宿主植物的亲和力不同,从而造成 AM 真菌的侵染率以及真菌之间的相互作用不同(毕银丽等, 2005b; 陈宁等, 2006)。此外,接种 AM 真菌,基质的 pH 值、矿质元素以及有机物的含量等理化性质会发生一定变化(毕银丽和吴福勇, 2006),这可能对 AM 真菌的侵染率及真菌间的互作效应产生一定影响。但在 4 种基质上 2 种 AM 真菌间的互作效应有待进一步研究。

煤矿废弃物基质上高丹草的生长发育显著受到抑制,接种 AM 真菌显著提高了高丹草株高、根长和干重。一般认为 AM 真菌对宿主植物侵染率越高,对促进植物生长的可能性也就越大(Hallett et al, 2009)。本试验中基质 S1、S3 和 S4 均符合侵染率越高,对植物生长促进效果越明显,这与赵仁鑫等(2013)和刘德良等(2013)的研究结果一致;然而在基质 S2 上,混合接种处理对高丹草的侵染率较其他接种处理高,但对高丹草的促进作用反而显著低于接种地表球囊霉处理。这与 Bi et al (2003)的研究结果相似。这两种结果不一致的原因可能是因为菌

根对宿主植物的作用不完全由侵染率决定(Koide & Elliott, 1989)。从经济学的角度来说,AM 真菌共生体对宿主植物产生的影响取决于菌根共生关系中宿主植物的成本与收益之间的平衡(Alkaraki, 2002)。宿主植物为 AM 真菌供应碳水化合物(成本),AM 真菌促进宿主植物对土壤中养分等的吸收以及提高宿主植物的抗逆能力(收益)。当宿主植物在菌根共生关系中投入成本与收益达到一定平衡时,表现为 AM 菌根侵染率越高,对宿主植物的促进效果越好;由于煤矿废弃物基质类型、条件以及菌种的适应性不同,可能造成菌根共生关系中的成本-收益不平衡,导致高的菌根侵染率反而对宿主植物的促进效果较差甚至抑制宿主植物的生长。无论接种与否,4 种基质上高丹草的生长均表现为  $S4 > S3 > S2 > S1$ 。说明基质 S3 对植物生长的抑制程度较其他两种基质轻,粉煤灰和煤矸石按一定比例混合可对粉煤灰和煤矸石的理化性质起到一定的改良作用。毕银丽和吴福勇(2006)研究发现接种摩西球囊霉白三叶草干重表现为粉煤灰基质 > 煤矸石基质。王辉等(2005)则发现煤矸石上红豆的长势较粉煤灰好。本试验结果与王辉相似,这可能由于培养基质理化性质以及不同植物对基质类型和条件的适应性不同所致。由此可得,植物在煤矿废弃物基质上的生长效应由矿区基质类型和条件、菌种以及宿主植物共同决定,因此应合理筛选适合不同煤矿废弃物类型以及植物的菌种进行植被恢复。

叶绿素是高等植物进行光合作用的重要色素,在一定程度上可作为判断植物光合作用高低的指标。叶绿素 a/b 的值可反映叶绿体类囊体膜的稳定性和垛叠程度,垛叠程度越小,叶片对光抑制抵抗力越弱(胡梦芸等, 2009)。本试验中,3 种煤矿废弃物基质上,高丹草叶绿素含量和叶绿素 a/b 均显著降低,这与胡梦芸等(2009)和田野等(2013)的研究结果一致。说明煤矿废弃物基质不利因子的复合胁迫破坏了高丹草叶片叶绿体结构和类囊体膜的稳定性,光抑制增强,抑制了叶绿素合成或促进其降解,并且 Chl a 较 Chl b 对煤矿废弃物基质胁迫更敏感,同时,叶片对光能的捕获减少,降低光氧化对光合机构破坏风险,这是高丹草适应煤矿废弃物不良环境的自我保护调节机制。接种 AM 真菌有助于保持煤矿废弃物胁迫下叶绿体膜结构的稳定性,缓解了叶绿素的降解或提高了 Chl a 和 Chl b 的合成,并对 Chl a 含量促进程度大于 Chl b 含量,导致 Chl a/

b 升高,说明在煤矿废弃物基质胁迫下高丹草通过增强类囊体膜的垛叠程度,提高其对光抑制的抵抗力,保证光合作用的正常进行。田野等(2013)研究发现 Cd 污染的土壤上接种 AM 真菌对黑麦草 Chl b 含量影响不大,这与本研究结果不同,可能与菌根真菌类型不同以及不同宿主植物对红光和蓝紫光的利用存在差异有关。

叶绿素荧光参数可作为逆境胁迫对光合机构伤害的内在响应的理想探针(赵昕等, 2009)。本研究表明,与基质 S4 相比,3 种煤矿废弃物基质上高丹草叶片初始荧光( $F_0$ )显著升高,表明煤矿废弃物不利因子造成高丹草叶片类囊体膜损伤,PS II 反应中心不可逆破坏或可逆失活,这可能是由于煤矿废弃物基质胁迫下产生过多的活性氧攻击 PS II 所致。煤矿废弃物基质胁迫下,PS II 潜在光化学效率( $F_v/F_0$ )、PS II 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、光化学猝灭系数( $qP$ )和 PS II 实际光化学量子产量(Yield)均显著降低,非光化学猝灭系数( $NPQ$ )升高,这与其他植物在逆境胁迫下的研究结果一致(陈笑莹等, 2014; 冉琼和钟章成, 2015)。这说明在煤矿废弃物复合逆境中高丹草叶片 PS II 反应中心实际光化学效率下降,光合电子传递受阻,从天线色素捕获的光能用于光化学反应的份额减少,导致过剩光能积累,光抑制加剧,PS II 反应中心的光化学活性降低,从而导致 ATP、NADPH 合成减少,碳同化能力降低。高丹草可通过增加热耗散缓解煤矿废弃物胁迫对光合机构破坏,是高丹草对该环境的适应机制。在基质 S4 上,接种 AM 真菌对  $F_v/F_m$  无显著影响,这是因为在正常的环境条件下  $F_v/F_m$  比较稳定(许大全等, 1992)。接种 AM 真菌显著降低了  $F_0$  和  $NPQ$ ,提高了  $F_v/F_0$ 、 $F_v/F_m$ 、 $qP$  和 Yield 值,这与其他逆境胁迫下,接种 AM 真菌缓解的效果一致(Zhu et al, 2010; Porcel et al, 2015; 冉琼和钟章成, 2015)。这可能是由于 AM 真菌通过一定途径如促进根系对水分和矿质元素吸收(Sailo & Bagyaraj, 2005),影响重金属的吸收和转移(刘德良等, 2013),提高抗氧化酶活性,增强活性氧清除能力(Kong et al, 2014)等抑制了煤矿废弃物不利因子复合胁迫对 PS II 反应中心的破坏,阻止了光合色素降解,提高了 PS II 反应中心活性,促进高丹草叶片将吸收的光能更多用于光合反应,缓解光抑制,使高丹草叶片在该胁迫下保持较高的 PS II 光化学效率,从而提高其光合能力和对煤矿废弃物胁迫的耐受性。

## 4 结 论

在煤矿废弃物基质复合逆境中高丹草的生长受到抑制,光合系统遭到破坏。4 种基质上,3 种接种处理均可很好地侵染高丹草根系并显著促进了高丹草的生长和光合作用。通过接种 AM 真菌可显著促进 3 种煤矿废弃物基质上高丹草叶片光合色素的合成或缓解其降解,提高了植物叶片  $F_v/F_0$ 、 $qP$  和 Yield,降低了  $F_0$  和  $NPQ$ ,增强了植物的光合能力,增加高丹草的根长、株高以及生物量积累,提高植物的生长活性和对矿区废弃物基质不利因子如重金属、盐碱等的耐受性。综合分析 3 种接种处理对矿区废弃物基质上高丹草的生长和光合荧光特性的影响,表明接种摩西球囊霉对粉煤灰以及粉煤灰和煤矸石混合基质上高丹草的促进作用最佳,而接种地表球囊霉更适于煤矸石基质上高丹草的生长。因此,在煤矿区废弃地生态恢复中,为更好地发挥菌根的作用,应针对不同类型煤矿废弃地接种不同的 AM 真菌,在一定程度上可解决矿区废弃地植被生长受胁迫和易退化等问题,提高植被恢复效果。

## 参 考 文 献:

- ALKARAKI GN, 2002. Benefit, cost, and phosphorus use efficiency of mycorrhizal field-grown garlic at different soil phosphorus levels [J]. *J Plant Nutr*, 25(6): 1 175-1 184.
- BI YL, WU FY, WU YK, 2005a. Application of arbuscular mycorrhizas in ecological restoration of areas affected by coal mining in China [J]. *Acta Ecol Sin*, 25(8): 2 068-2 073. [毕银丽, 吴福勇, 武玉坤, 2005a. 丛枝菌根在煤矿区生态重建中的应用 [J]. *生态学报*, 25(8): 2 068-2 073.]
- BI YL, WU FY, LIU BH, 2005b. Preliminary study on ecological adaptability of arbuscular mycorrhizal fungi in coal solid wastes [J]. *Mycosystema*, 24(4): 570-575. [毕银丽, 吴福勇, 柳博会, 2005b. AM 真菌在煤矿废弃物中生态适应性的初步研究 [J]. *菌物学报*, 24(4): 570-575.]
- BI YL, WU FY, 2006. Effects of mycorrhiza on ecological restoration of solid wastes from coal mine and their nutritional dynamics [J]. *Trans CSAE*, 22(5): 147-152. [毕银丽, 吴福勇, 2006. 菌根对煤矿废弃物生态恢复的营养动力学影响 [J]. *农业工程学报*, 22(5): 147-152.]
- BI YL, LI XL, CHRISTIE P, et al, 2003. Growth and nutrient uptake of arbuscular mycorrhizal maize in different depths of soil overlying coal fly ash [J]. *Chemosphere*, 50(6): 863-869.
- CHEN N, WANG YS, YANG TJ, et al, 2006. Effect of host plants on development of arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *Acta Agric Boreal-Sin*, 21(6): 103-106. [陈宁, 王幼珊, 杨廷杰, 等, 2006. 宿主植物对 AM 真菌生长发育的影响 [J]. *华北农学报*, 21(6): 103-106.]
- CHANNABASAVA A, LAKSHMAN HC, MUTHUKUMAR T,

2015. Fly ash mycorrhizoremediation through *Paspalum scrobiculatum* L. inoculated with *Rhizophagus fasciculatus* [J]. C R Biol, 338(1): 29-39.
- CHEN XY, SONG FB, ZHU XC, et al, 2014. Effect of arbuscular mycorrhizal fungus on morphology, growth and photosynthetic characteristics in maize seedlings under low temperature stress [J]. Acta Agric Boreal-Sin, 29(Suppl.): 155-161. [陈笑莹, 宋凤斌, 朱先灿, 等, 2014. 低温胁迫下丛枝菌根真菌对玉米幼苗形态、生长和光合的影响 [J]. 华北农学报, 29(增刊): 155-161.]
- DAYNES CN, FIELD DJ, SALEEBA JA, et al, 2013. Development and stabilisation of soil structure via interactions between organic matter, arbuscular mycorrhizal fungi and plant roots [J]. Soil Biol Biochem, 57(3): 683-694.
- DU T, 2013. Influence laws of coal mining on plant rhizosphere microenvironment and ecological remediation effect [D]. Beijing: China University of Mining and Technology: 7-8. [杜涛, 2013. 煤炭开采对植物根际微环境影响规律及生态修复效应 [D]. 北京: 中国矿业大学: 7-8.]
- ESTRADA B, AROCA R, BAREA JM, et al, 2013. Native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from a saline habitat improved maize antioxidant systems and plant tolerance to salinity [J]. Plant Sci, 201-202(3): 42-51.
- GUO W, ZHAO R, FU R, et al, 2014. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the development of maize (*Zea mays* L.) grown in three types of coal mine spoils [J]. Environ Sci Poll Res, 21(5): 3 592-3 603.
- GAO JF, 2006. Experimental guidance for plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press: 77-79. [高俊凤, 2006. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社: 77-79.]
- HALLETT PD, FEENEY DS, BENGOUGH AG, et al, 2009. Disentangling the impact of AM fungi versus roots on soil structure and water transport [J]. Plant Soil, 314(1-2): 183-196.
- HU MY, LI H, ZHANG YJ, et al, 2009. Photosynthesis and related physiological characteristics affected by exogenous glucose in wheat seedlings under water stress [J]. Acta Agron Sin, 35(4): 724-732. [胡梦芸, 李辉, 张颖君, 等, 2009. 水分胁迫下葡萄糖对小麦幼苗光合作用和相关生理特性的影响 [J]. 作物学报, 35(4): 724-732.]
- KONG J, PEI ZP, DU M, et al, 2014. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the drought resistance of the mining area repair plant sainfoin [J]. Int J Min Sci Technol, 24(4): 485-489.
- KONG XS, YI XF, 2008. Experimental technology of plant physiology [M]. Beijing: China Agriculture Press: 131-135. [孔祥生, 易现锋, 2008. 植物生理学实验技术 [M]. 北京: 中国农业出版社: 131-135.]
- KOIDE R, ELLIOTT G, 1989. Cost benefit and efficiency of the vesicular arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. Funct Ecol, 3(2): 253-255.
- LI SP, BI YL, KONG WP, et al, 2013. Effects of the arbuscular mycorrhizal fungi on environmental phytoremediation in coal mine areas [J]. Environ Sci, 34(11): 4 455-4 459. [李少朋, 毕银丽, 孔维平, 等, 2013. 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, 34(11): 4 455-4 459.]
- LIU DL, WANG KF, YANG QH, 2013. Study on effects of *Crotalaria pallida* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi in coal mining area [J]. J Soil Water Conserv, 27(2): 282-287. [刘德良, 王开峰, 杨期和, 2013. 煤矿区先锋植物猪屎豆接种丛枝菌根的效应研究 [J]. 水土保持学报, 27(2): 282-287.]
- LIU RJ, LI XL, 2000. Arbuscular mycorrhizal fungi and their applications [M]. Beijing: Science Press: 125-128. [刘润进, 李晓林, 2000. 丛枝菌根及其应用 [M]. 北京: 科学出版社: 125-128.]
- PHILLIPS JM, HAYMAN DS, 1970. Improved procedures for clearing root and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection [J]. Trans Brit Mycol Soc, 55(1): 158-161.
- PORCEL R, REDONDO-GÓMEZ S, MATEOS-NARANJO E, et al, 2015. Arbuscular mycorrhizal symbiosis ameliorates the optimum quantum yield of photosystem II and reduces non-photochemical quenching in rice plants subjected to salt stress [J]. J Plant Physiol, 185: 75-83.
- QIAN KM, WANG LP, YIN NN, 2012. Effects of AMF on soil enzyme activity and carbon sequestration capacity in reclaimed mine soil [J]. Int J Mining Sci Technol, 22(4): 553-557.
- RAN Q, ZHONG ZC, 2015. Effect of AMF on the photosynthetic characteristics and growth of maize seedlings under the stress of drought, high calcium and their combination in karst area [J]. Acta Ecol Sin, 35(2): 460-467. [冉琼, 钟章成, 2015. 模拟岩溶旱钙土壤基质中 AM 真菌对玉米幼苗光合生长的影响 [J]. 生态学报, 35(2): 460-467.]
- RUIZ-SÁNCHEZ M, AROCA R, MUÑOZ Y, et al, 2010. The arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances the photosynthetic efficiency and the antioxidative response of rice plants subjected to drought stress [J]. J Plant Physiol, 167(11): 862-869.
- SMITH SE, READ DJ, 2008. Mycorrhizal symbiosis [M]. London: Academic Press: 31-35.
- SAILO GL, BAGYARAJ DJ, 2005. Influence of different AM-fungi on the growth, nutrition and forskolin content of *Coleus forskohlii* [J]. Mycol Res, 109(7): 795-798.
- TIAN Y, ZHANG HH, MENG XY, et al, 2013. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) on growth and photosynthesis characteristics of *Lolium perenne* L. under Cd contaminated soil [J]. Acta Agron Sin, 21(1): 135-141. [田野, 张会慧, 孟祥英, 等, 2013. 镉(Cd)污染土壤接种丛枝菌根真菌(*Glomus mosseae*)对黑麦草生长和光合的影响 [J]. 草地学报, 21(1): 135-141.]
- WANG H, BIE ZF, MA CZ, et al, 2005. Influence of the mining offal on the crop growth [J]. J Agro-Environ Sci, 24(Suppl): 209-211. [王辉, 卞正富, 马昌忠, 等, 2005. 采煤废弃物对作物生长的影响 [J]. 农业环境科学学报, 24(增刊): 209-211.]
- XU DQ, ZHANG YZ, ZHANG RX, 1992. Photoinhibition of photosynthesis in plants [J]. Plant Physiol Comm, 28(4): 237-243. [许大全, 张玉忠, 张荣铤, 1992. 植物光合作用的光抑制 [J]. 植物生理学通讯, 28(4): 237-243.]
- YUAN XM, LI G, CHEN YS, 2008. Influence of coal mining on environment and countermeasure [J]. Coal Min Technol, 13(6): 33-35. [袁宵梅, 李光, 陈永胜, 2008. 浅析煤矿开采对环境的影响及对策 [J]. 煤矿开采, 13(6): 33-35.]
- YU M, 2013. Rules of ecological succession and reclamation and lasting effects with mycorrhizal fungi in coal mining subsidence [D]. Beijing: China University of Mining and Technology: 11-13. [于森, 2013. 采煤沉陷区生态演替规律及菌根修复作用与后效研究 [D]. 北京: 中国矿业大学: 11-13.]