# 铁尾矿直接植被恢复中丛枝菌根真菌的应用\*

许永利<sup>1,2</sup> 李富平<sup>1,2</sup> 张俊英<sup>1,2</sup> 韩冬芸<sup>1,2</sup> (1. 河北理工大学;2. 河北省矿业开发与安全技术重点实验室)

摘 要 室内盆栽条件下,研究了接种菌根真菌对铁尾矿中直接种植的紫花苜蓿的生长以及对铁尾矿环境的影响。结果表明:接种幼套球囊霉(Glomus etunicatum)可显著提高紫花苜蓿种子在铁尾矿中的出苗率、成活率;显著增加其根系干重;使植物根际尾矿中细菌数量减少、真菌和放线菌数量增加,差异达到显著水平;菌根真菌对紫花苜蓿根系具有较高的侵染率达80%以上;菌根促进了铁尾矿中磷素含量增加。不同添加水平下,以2.5%(质量比)效果最好,可以作为适宜的接种量。总之,铁尾矿中接种幼套球囊霉(Glomus etunicatum)可显著提高紫花苜蓿根系的生长,改善根际微生物区系,增加尾矿中磷素的释放,有利于尾矿的植被复垦。

关键词 Glomus etunicatum 紫花苜蓿 铁尾矿 植被恢复 磷素 微生物区系

#### Application of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Vegetation Restoration of Iron Tailings

Xu Yongli<sup>1,2</sup> Li Fuping<sup>1,2</sup> Zhang Junying<sup>1,2</sup> Han Dongyun<sup>1,2</sup>

(1. Hebei Polytechnic University; 2. Key laboratory of Mining Development and Safety Technology of Hebei Province)

Abstract With pot experiments in room, the influences of arbuscular mycorrhizal fungi on the alfalfa growth directly planted in iron tailing and the environments of iron tailings are investigated. The results show that the addition of *Glomus etunicatum* can greatly improve the emergency and survival rate of alfalfa in iron tailings, and significantly increase the root dry weight, leading to the reduction of bacteria and the increase of epiphytes and actinomycetes. Its difference is significant. Mycorrhizal fungi has a high infection rate of 80% or more on roots of alfalfa, which promotes iron phosphorus content increased in the tailings. Comparing with different adding level, 2.5% of mass ratio is the most effective and can be used as the suitable inoculum concentration. In short, the vaccination of *Glomus etunicatum* in iron tailings can significantly increase the root growth of alfalfa, improve the rhizosphere microflora, and promote the release of phosphorus in the tailing, which benefit for vegetation reclamation of iron tailings.

Keywords Glomus etunicatum, Alfalfa, Iron tailings, Vegetation reclamation, Phosphate, Microbial

我国有 1500 多座大中型尾矿库,尾矿总量达 50 亿 t,大量尾矿造成资源浪费,并且占用大量耕地,同时会产生扬尘、风沙,从而危害周边环境,严重威胁着生态环境安全和人民健康<sup>[1-2]</sup>。对尾矿库进行直接植被复垦(表层不覆土),既可以消除扬尘,又可以增加绿地,又节约了土壤,美化环境。铁尾矿库复垦的主要障碍因子有基质松散、养分贫瘠、粘结性差以及保水保肥性能差等。因此,用于铁尾矿植被复垦的植物必需具有较强的耐贫瘠性能,具有较强的抗性。菌根真菌是一种具有广泛侵染性的菌种,其与植物侵染后,可以改善基质的营养<sup>[3-4]</sup>。因此,本研究的目的即在直接植被复垦中,接种菌根真菌,研究其对于植物从萌发到生长的过程的影响,同时监测其对于铁尾矿微环境的影响,以期为采矿废

弃地尤其是尾矿库的复垦提供理论基础。

#### 1 试验材料与方法

#### 1.1 试验材料

- (1)铁尾矿。来自唐山市首钢马兰庄铁矿,全量养分含量:全氮 0.07~g/kg,全磷 0.18~g/kg,全钾 1.06~g/kg。速效养分含量:碱解氮 36.00~mg/kg,速效磷  $(P_2O_5)$  8.37~mg/kg,速效钾  $(K_2O)$  151.02~mg/kg。PH = 8.3。
  - (2)植物。阿尔岗金紫花苜蓿,由唐山市林业

<sup>\*</sup> 河北省自然基金项目(编号: E2007000581),河北省科技厅重大项目(编号: 09236716D), 唐山市科技局重大项目(编号: 08120201D)。

许永利(1974—),男,河北理工大学,河北省矿业开发与安全技术重点实验室,讲师,硕士,063009河北省唐山市新华西道46号。

局提供。

(3)菌根真菌。幼套球囊霉(Glomus etunicatum),来自北京市农林科学院植物营养与资源研究所国家基金资助"中国丛枝菌根真菌种植资源库"(BGC)。

# 1.2 试验方法

采用室内盆栽法,设 4 个处理方法:①纯铁尾矿;②铁尾矿+1%菌根;③铁尾矿+2.5%菌根;④铁尾矿+5%菌根,以上比例均为质量比。每个处理设置 3 次重复。每盆装铁尾矿 1 kg,然后按比例施入菌根真菌。为保证铁尾矿中氮、磷、钾的供给,播种前施入基肥(g/kg 尾矿):N 0.04, $P_2O_5$  0.15, $K_2O$  0.15。养分由分析纯尿素、磷酸二氢钾及氯化钾提供。

选取饱满、大小均匀一致的紫花苜蓿种子,用 10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浸泡 10 min,然后用去离子水清洗数次,置于湿润纱布上,于黑暗条件下 28 ℃催芽 2 h。选取芽势一致的紫花苜蓿种子 50 颗,播于铁尾矿中。播种前每盆浇水 150 mL,保证铁尾矿浇透。植物每天光照 14 h,出苗后每隔 1 天于早晨浇自来水 100 mL,生长后期视植物生长状况在其他时间补充水分。室内培养温度 25 ±5 ℃。植物培养 35 d 后收获。

### 1.3 测定方法

播种后每天统计出苗数用于计算出苗率、10 d 后计算成活率、12 d 时定苗 15 株,并记录株高。在植物生长 20 d 和 35 d 时取样,测定植物根系的菌根侵染率<sup>[4]</sup>和根际微生物的数量,细菌采用牛肉蛋白胨培养基;真菌采用马丁氏培养基;放线菌采用改良高氏 1 号培养基。同时测定铁尾矿中全磷和速效磷含量。

#### 1.4 数据统计分析

采用 Excel 软件和 SAS8.2 软件进行制图及数据统计分析。

# 2 结果与分析

#### 2.1 植物生长指标的变化

(1)出苗率和成活率。不同用量的丛枝菌根真菌对紫花苜蓿在铁尾矿中的出苗率和成活率存在不同的作用(图1)。从图1可见,丛枝菌根真菌可以促进铁尾矿中紫花苜蓿种子的出苗,以1.0%和2.5%接种量效果最显著,尤其2.5%水平下紫花苜蓿幼苗的成活率在4个处理中最高,达到86.2%,比1.0%和5.0%处理的成活率高16.5个百分点和

6.7个百分点,但与对照之间差异不显著。对照中紫花苜蓿(CK)的成活率较高,达到84.8%,虽然其出苗率不高,但是成活率较高,说明紫花苜蓿在铁尾矿中具有一定的适应性,能够顺利出苗,而且绝大多数幼苗可以成活。这正说明了该种植物的耐贫瘠性能。菌根的介入可以提高其出苗数量,增强其成活率,但是接种量需要适宜,过多或过少都会对其出苗和成活造成不利影响。本试验中2.5%的接种量在这两个指标中表现较好。

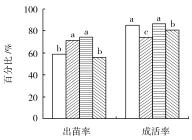


图 1 不同丛枝菌根真菌接种量下铁尾矿中 紫花苜蓿的出苗率和成活率

 $\square$ -CK;  $\square$ -1.0%;  $\square$ -2.5%;  $\square$ -5.0%;

注:字母不同表示处理之间的出苗率或成活率差异显著(*P* < 0.05);字母相同表示差异不显著。下同。

(2)株高和生物量。植物生长需要不断进行光 合作用,株高则是一个较为代表性的指标。试验中, 紫花苜蓿的株高因丛枝菌根真菌的加入而降低,但 菌根剂量对其影响不显著(图2)。

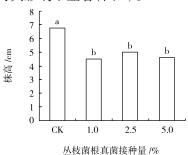


图 2 不同菌剂水平下铁尾矿中紫花苜蓿株高的差异

该菌根真菌对紫花苜蓿的鲜重影响较大,对照(CK)和2.5%处理的水分含量较高,干物质积累在处理之间差异不显著,见图3(a)。可能因为培养时间较短,菌根对于植物生长的促进作用尚未显现。但是,菌根真菌对根系的影响非常大,见图3(b)。接种菌根处理的根系鲜重比对照(CK)按接种量由低到高依次显著提高了59.5%,97.3%和35.1%;1.0%和2.5%处理的根系干重比对照(CK)则提高了85.7%和100%。可见,菌根真菌对植物根系的影响大于对地上部的作用,尤其在植物生长初期。

而且,以2.5%的添加量效果最为明显,成倍提高了根系干物质的积累。

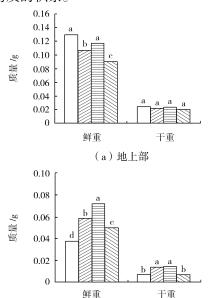


图 3 不同菌根接种量下植物生物量差异 □-CK; □-1.0%; □-2.5%; □-5.0%;

(b)根系

#### 2.2 菌根侵染率

不同菌根接种量处理根系侵染率差异见表 1。 表 1 不同菌根添加量处理根系侵染率差异

 菌根接种量	植物生土	长时间/%
/%	20 d	35 d
CK	0.0(c)	0(c)
1.0	67.1(b)	83.3(b)
2.5	77.6(a)	89.5(a)
5.0	73.2(a)	85.7(ab)

从表1可见,菌根真菌对紫花苜蓿根系的侵染率较高,且随植物生长侵染率增加,在35d时均达到80%以上。可见植物与菌根真菌的共生较好,菌根在紫花苜蓿根系定殖较快,而且扩散速度快,促进了植物根系生长。各水平同样以2.5%最好。

#### 2.3 铁尾矿中磷素含量的变化

紫花苜蓿根际铁尾矿中磷养分含量变化见表 2。

表 2 紫花苜蓿根际铁尾矿中磷养分含量变化

菌根接种量	速效磷/(mg/kg)		全磷/(g/kg)	
/%	20 d	35 d	20 d	35 d
CK	55.32 a	22.21 a	1.79 a	1.69 b
1.0	50.40 a	7.30 b	1.81 a	1.93 a
2.5	56.28 a	6.49 b	1.73 ab	1.92 a
5.0	63.55 a	6.26 b	1.71 b	1.89 a

从表 2 可见,菌根真菌对于植物吸收磷的促进作用十分显著,植株收获后根际速效磷含量显著低·128·

于对照 CK,分别比对照低 67.1%,70.8% 和71.8%,处理之间的差异达到显著水平。对植物吸收氮素影响仅次于磷,对植物吸收钾影响较弱。随着植物苗龄增加,菌根真菌对植物吸收磷的促进作用增强。从表2还可看出,菌根真菌促进了铁尾矿中难溶磷的释放,植物收获后,菌根真菌处理的铁尾矿中全磷含量显著高于对照 CK,随菌剂添加量增加,铁尾矿中全磷含量分别比对照 CK 提高 14.2%,13.6%和11.8%。但是,3个菌剂水平之间并未出现显著差异。原因可能有两个,第一,由于植物的培养时间较短(仅处于苗期),菌根真菌对于植物根际磷素的变化在不同剂量之间尚未体现出来;第二,可能因为菌剂添加量之间的差异较小,不足以在促进植物根际磷释放方面表现显著的差异。具体原因,有待于进一步的研究。

# 2.4 菌根真菌对铁尾矿中可培养微生物的影响

研究对根际微生物的数量进行了分离培养,得 到在不同时间下,各处理之间同种微生物的数量差 异见图4。

从图 4 可见,所有处理根际不同微生物的数量以细菌 > 放线菌 > 真菌为主;且随着植物苗龄的增大,根际真菌和放线菌呈现增加的趋势,细菌则表现为数量减少,对照 CK 除外。

就细菌数量而言,在植物生长 20 d 时,2.5%和5.0%剂量下的细菌数量显著高于1.0%剂量,添加菌剂的处理细菌数量由低至高分别比对照 CK 显著提高了30.8%,187.7%,178.5%。但随着植物生长的延续,菌剂处理的植物根际细菌数量显著减少,依次减少58.8%,43.3%,83.4%,其中菌剂量越多,细菌数量减少越明显。可见,菌根真菌的加入促进植物生长的同时,也加强了自身的生长,在物质和能源有限的环境中,因菌根真菌的繁殖,而导致细菌的可摄取物质和能源数量减少,造成细菌数量显著降低。无菌剂的对照处理,则随着植物的生长,细菌数量显著增加5.23倍,这是因为植物根系分泌物为根际细菌提供了大量的营养物质和能源物质。

真菌数量表现与细菌大不相同,20 d 时,真菌数量以对照最高,菌剂显著低于对照 CK,且以5.0%处理最低。随着苗龄增加(35 d),菌剂处理下根际真菌数量显著提高,依加入量分别提高了19.4,13.4,83.0倍,可见菌根真菌的加入为根际真菌提供了良好的生存环境,大大提高了真菌的繁殖速度。

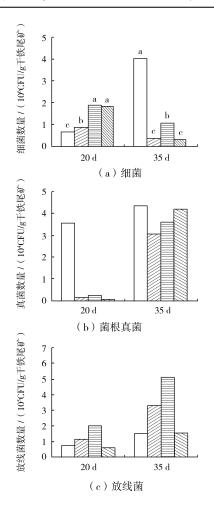


图 4 铁尾矿中根际可培养微生物 数量随时间的变化 □-CK; □-1.0%; □-2.5%; □-5.0%;

对照 CK 则仅提高了 80%。

放线菌数量在同一时期处理之间均表现为 2.5% > 1.0% > CK > 5.0%。各处理(CK,1.0%, 2.5%, 5.0%) 放线菌数量随时间依次增加了 108.3%,186.2%,153.5%及 149.2%,差异达到显著水平。

土壤中真菌/细菌(B/F)比值反映了土壤的质量,而本研究中,植物收获后该比值顺序为 CK (92.9) > 2.5% (29.4) > 1.0% (11.4) > 5.0% (7.1),说明不加菌剂情况下,紫花苜蓿的生长对于根际尾矿环境具有很好的改善作用;添加菌剂时,以2.5%水平下的改善作用较好,考虑到植物的生长作用,选择加入2.5%的菌剂效果最好。

# 3 讨论与结论

(1)丛枝菌根真菌可以提高铜尾矿中白三叶草 地上部的干物重和植株体内的磷含量,但是对于黑 麦草两项指标的影响不显著,说明了菌根真菌对植 物的侵染率与植物本身的抗逆性具有密切的联系。本研究中,豆科牧草紫花苜蓿具有较强的抗逆性,而且与幼套球囊霉(Glomus etunicatum)具有较好的共生性,侵染率较高,20 d 时就达到 67%以上,培养后期达到 80%以上。这是因为,苜蓿根部可以释放类黄酮,能够促进 Glomus etunicatum 的孢子萌发、菌丝生长以及分枝。因此,Glomus etunicatum 对紫花苜蓿具有较高的亲和力,侵染率较高。但是,Glomus etunicatum 对于紫花苜蓿地上部的影响小于其对根系的影响,接种该菌后,紫花苜蓿根系干重显著提高(1.0%和2.5%处理),可见菌根真菌与其根系的共生促进了植物根系干物质的积累。

- (2)铁尾矿中,植被复垦的主要的限制因子之一是矿质养分贫乏,尤其是植物生长所必需的氮磷钾等大量元素。因此,选择一种可以具有固氮性能的植物种类,首先就克服了氮素缺乏的问题;阿尔冈金紫花苜蓿是一种具有抗逆性的植物种类,其适宜的pH=6.5~8.0,因此在偏碱性的铁尾矿中具有较强的适应能力。菌根真菌对磷的影响较大,菌根植物的吸磷量是非菌根植物的10倍左右,同时在根系周围形成磷亏缺区。菌根真菌可以促进土壤中磷酸酶活性,尤其对于磷素缺乏的土壤而言效果更为明显。本研究中,接种 Glomus etunicatum 的铁尾矿中全磷含量显著高于对照 CK,表明菌根促进了根际难溶态磷素的释放,明显改善根际铁尾矿矿质养分环境。
- (3)铁尾矿中接种 Glomus etunicatum 有利于紫花苜蓿的种子的萌发、出苗和成活,利于植物根系的生长,促进植物根际真菌和放线菌繁殖,加速铁尾矿中磷素的释放。Glomus etunicatum 促进植物在铁尾矿中的定植,改善铁尾矿根际微生物区系,促进矿质养分尤其是磷的释放,从而更加有利于植物的生长,加速了铁尾矿直接植被恢复的进程。

#### 参考文献

- [1] 延吉生.矿山生态环境综合整治是矿山面临的重要任务[J]. 金属矿山,2002(12):5-7.
- [2] 杨绍兰,陈云裳. 尾矿库复垦对人群健康影响的研究[J]. 矿冶,1998,7(2);90-96.
- [3] 肖雪毅,陈保冬,朱永官. 丛枝菌根真菌对铜尾矿上植物生长和矿质营养的影响[J]. 环境科学学报,2006,26(2):312-317.