

裘浪, 毕银丽, 张延旭, 等. 风化煤用量下覆膜和AM真菌对玉米生长和土壤微环境的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(10): 2210–2219.

QIU Lang, BI Yin-li, ZHANG Yan-xu, et al. Effect of film mulching and AM fungi inoculation on maize growth and rhizosphere soil properties with the addition of weathered coal[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(10): 2210–2219.

风化煤用量下覆膜和AM真菌对玉米生长和土壤微环境的影响

裘浪, 毕银丽*, 张延旭, 余海洋

(中国矿业大学(北京)地球科学与测绘工程学院, 煤炭资源与安全开采国家重点实验室, 北京 100083)

摘要:为缓解我国东部贫瘠土壤,以风化煤与覆膜为切入点,通过室内盆栽试验,研究两种覆膜方式(无覆膜和覆薄膜)和两个供试土壤基质(砂土基质和砂煤混合基质)下接种AM真菌对干旱胁迫时玉米生长特性、水分利用效率与土壤性状的影响。结果表明:两个覆膜方式下,砂煤混合基质相比砂土基质提高了接种AM真菌处理的玉米根系侵染率和土壤根外菌丝密度,但无明显差异;同时土壤总球囊霉素和易提取球囊霉素含量分别显著提高了80.0%~106.5%和55.0%~73.3% ($P<0.05$)。同一覆膜方式下,砂煤混合基质接种AM真菌和CK处理的土壤有机碳、全氮与速效磷含量分别显著高于砂土基质下相应处理,但降低了土壤速效钾含量。砂煤混合基质下覆薄膜与接种AM真菌联合对玉米株高、生物量、叶片SPAD值及水分利用效率的促进效果最好;同时砂煤混合基质接种AM真菌处理提高了无覆膜下土壤蔗糖酶和全覆膜下过氧化氢酶和碱性磷酸酶含量,分别比砂土基质下处理显著提高了46.8%~59.8%、37.9%~70.0%与57.8%~87.5% ($P<0.05$)。研究表明施加一定量风化煤时,接种AM真菌和覆薄膜能够促进水分胁迫下的植物生长发育,改善水分利用效率和提高土壤肥力。

关键词:AM真菌;风化煤;覆薄膜;土壤酶;侵染率

中图分类号:X752 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2018)10-2210-10 doi:10.11654/jaes.2018-0191

Effect of film mulching and AM fungi inoculation on maize growth and rhizosphere soil properties with the addition of weathered coal

QIU Lang, BI Yin-li*, ZHANG Yan-xu, YU Hai-yang

(State Key Laboratory of Coal Resources and Safe Mining, College of Geoscience and Surveying Engineering, China University of Mining Technology (Beijing), Beijing 100083, China)

Abstract: Owing to the heavy evaporation in the spring-autumn period and cold climate, coal exploitation in the Eastern Prairie of China disturbs the soil structure, accelerates soil desertification, and lowers soil fertility, thus hindering crop growth in the mined regions. In order to solve the issues of poor soil nutrients, a pot experiment was conducted with two film mulching patterns, i.e., non-film mulching and film mulching; two soil substrate types, i.e., sandy soil and a mixed substrate of sand and weathered coal; and two levels of microbial inoculation, i.e., arbuscular mycorrhizal (AM) fungi inoculation and no inoculation, namely the control (CK). The aim of this study was to evaluate the effects of AM fungi inoculation on plant growth, water use efficiency, and rhizosphere soil properties under water stress conditions using different soil substrate types and film mulching patterns. Results showed that the inoculated, mixed-substrate system improved maize root colonization and soil external hyphal length compared to those of the inoculated, sandy-substrate system utilizing the two film mulching patterns, but not significantly. In addition, soil total glomalin and easily extractable glomalin contents with the mixed substrate were significant-

收稿日期:2018-02-04 录用日期:2018-04-27

作者简介:裘浪(1988—),男,江西南昌人,博士研究生,研究方向为丛枝菌根真菌与土地复垦。E-mail:qiulang000198@163.com

*通信作者:毕银丽 E-mail:ylbi88@126.com

基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFC0501106)

Project supported: The State Key Research Development Program of China(2016YFC0501106)

ly higher by 80.0%~106.5% and 55.0%~73.3% than with the sandy substrate ($P<0.05$). With the same mulching pattern, both the AM fungi and CK treatments utilizing the mixed substrate significantly improved the soil SOC, TN, and Olsen-P contents compared to those utilizing the sandy soil ($P<0.05$), but reduced the soil available K content. The combination of film mulching and AM fungi inoculation positively affected plant height and biomass, leaf SPAD value, and water use efficiency with the mixed substrate. Compared to the sandy soil, the inoculated soil invertase activity with non-film mulching and the soil catalase and alkaline phosphatase activities with film mulching of the mixed substrate significantly increased by 46.8%~59.8%, 37.9%~70.0%, and 57.8%~87.5% ($P<0.05$), respectively. Our results indicate that the combination of film mulching and AM fungi inoculation can improve plant growth, water use efficiency, and soil fertility with the addition of weathered coal.

Keywords: AM fungi; weathered coal; film mulching; soil enzyme; mycorrhizal colonization

我国东部草原煤炭资源开采通常造成土壤结构破坏和土壤沙化加速,使得土壤理化性质退化及生物多样性下降,主要表现为土壤结构差、有机质低与有效养分少的特性,以致于当地植物生长难、生态环境趋于恶化^[1],这也阻碍了矿区农作物的正常生长和发育。针对东部草原土层贫瘠和干旱酷寒的问题,提高退化土地生产力和有限降水的利用率是维持东部草原煤矿区农业可持续发展的重要途径。

丛枝菌根(Arbuscular mycorrhizae, AM)真菌是自然界中普遍存在的一种土壤微生物,其能够与大多数植物营养根系形成共生关系。大量研究表明,AM真菌可增强宿主植物对土壤水分和N、P、K等养分元素的吸收^[2],增强植物干旱胁迫的耐受能力^[3],同时AM真菌分泌的球囊霉素相关土壤蛋白(Glomalin-related soil protein, GRSP)能够促进水分稳定的土壤团聚体形成,改善土壤的通透性和持水性,进而促进植物生长^[4]。相对于化学肥料投入的经济效益以及伴随的环境负面影响,在农业生态系统中运用AM真菌的生态功能优势,对维持土壤肥力和作物的促生效应具有很大潜力,已被视为有机农业领域的一种“生物肥料”^[5]。

地膜覆盖技术在我国干旱半干旱地区得到广泛运用,主要是因为其明显的增温、保墒和增产效果。研究表明,覆膜能够最大限度地保蓄降雨,减少土壤水分的无效蒸发,提高作物抗旱性与水分生产效率^[6],但已有研究多集中在比较不同覆膜方式下的农田土壤环境及产量效应^[7],对覆膜与其他改良剂结合对作物生长发育和水分利用效率、土壤保水能力和有效养分含量影响的研究并不多见。风化煤作为一类富含腐植酸类物质的废煤,由于其具有有机质高,吸附、络合和交换等优良特性,对于干旱半干旱地区退化土壤的理化性质具有明显改良效果,尤其是在保水方面^[8]。

AM真菌与宿主植物形成共生体的能力及菌根效

应的发挥与诸多环境因素密切相关,其中AM真菌种类、土壤环境以及人类活动等因素都可能影响AM真菌的侵染程度^[9-10],而菌根侵染率大小反映了AM真菌与宿主植物的共生能力,其通常决定了菌根在促进植物生长、养分吸收和抗逆性等方面的能力。覆膜和风化煤用量条件下,接种AM真菌是否还会发挥其抗旱能力和促进作物养分吸收的生态效应。土壤酶活性与土壤肥力的形成和转化具有密切关系,其能够敏感地反映土壤养分循环状况,因而常被作为表征土壤肥力的重要指标之一。但影响土壤酶活性大小的因素复杂多样,例如土壤养分含量、土壤微生物数量、施肥措施等。目前有关施用风化煤对土壤酶活性大小影响的研究较少,并且已有研究发现施加风化煤对不同土壤酶活性的响应存在差异^[11-12]。基于此,本研究以玉米为供试植物材料,以砂土和风化煤为供试基质,盆栽试验研究覆薄膜和风化煤用量下接种AM真菌对玉米生长和AM真菌特性、土壤肥力化学与酶活性的影响,旨在为东部草原煤矿区的作物生境改善提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试玉米品种为“品糯28号”。供试土壤为砂土,来自北京市北沙滩;供试风化煤基质来自陕西省神木县大柳塔煤矿区。砂土和风化煤经风干、筛选与蒸汽灭菌(121℃、0.14 MPa、2 h)后装于塑料盆(上口径21.5 cm、下内径14 cm、盆高20 cm)。供试AM真菌为摩西管柄囊霉(*Funneliformis mosseae*, BGC XJ01),购买于北京农业科学院,后由中国矿业大学(北京)微生物复垦实验室经砂土栽培玉米扩繁培养3个月,菌剂包含感染根段(90%以上)、根外菌丝和真菌孢子(16.1个·g⁻¹)。覆膜材料为市场上的透明保鲜膜。供试土壤基本理化性状见表1。

表1 供试土壤基本理化性质
Table 1 The properties of the tested soil

供试基质	有机质/g·kg ⁻¹	全氮/g·kg ⁻¹	碱解氮/mg·kg ⁻¹	速效磷/mg·kg ⁻¹	速效钾/mg·kg ⁻¹	最大含水量/%	pH
砂土	1.11	0.10	7.0	2.4	26.7	20.2	9.1
风化煤	96.0	2.3	21.0	0.56	19.1	57.4	6.3

1.2 试验设计

试验采用完全随机三因素设计,研究因素分别为覆膜方式、供试基质与接种微生物。覆膜方式设2个水平:无覆膜和覆薄膜,其中覆薄膜为玉米幼苗出土后,通过对保鲜膜挖取适量大小的洞使玉米幼苗穿过,同时使保鲜膜铺满整个盆栽表面,并用少量土压实。供试基质设2个水平:砂土基质和砂煤混合基质,其中砂煤混合基质质量比为3:1。接种微生物设2个水平:接种摩西管柄囊霉(AM)和对照(CK)。试验共8个处理,每个处理重复3次,共24盆,随机排列于温室内。

每盆基质总共5.0 kg,其中砂煤混合基质每盆分别定量称取3.75 kg砂土和1.25 kg风化煤,并充分拌匀。接种AM真菌处理每盆加50 g AM菌剂,并与供试土样基质混匀,非接种AM真菌处理每盆加同等质量灭菌AM菌剂。出苗后每盆定植1株玉米,同时向供试土壤中施入NH₄NO₃、KH₂PO₄和KNO₃混合溶液作基肥,用量分别为N 120 mg·kg⁻¹、P 30 mg·kg⁻¹、K 150 mg·kg⁻¹。试验期间通过重量法定期补给水分,使土壤含水量控制在干旱胁迫水平,即供试基质最大持水量的35%。盆栽于2015年5月20日在中国矿业大学(北京)人工温室中进行,自然采光,不控温,定期交换盆栽位置。

1.3 样品采集与测定方法

植株生长12周后测定玉米株高,随机选取每株玉米叶片10个点作为叶片SPAD一次重复值。分别收获玉米地上部分和地下根系,其中留少许植株根系洗净后用于测定菌根侵染率,其余样品于80℃烘干,用于测定植株生物量。轻轻抖落附在根系上的土壤作为植株根际土样,取部分混合均匀土样测定AM真菌特性(土壤根外菌丝密度、总球囊霉素与易提取球囊霉素)、土壤化学性质(有机碳、全氮、速效磷与速效钾)与酶活性(蔗糖酶、过氧化氢酶、脲酶与碱性磷酸酶)。试验期间,记录每次植株浇水日期和浇水量,用于测定玉米水分利用效率。水分利用效率(WUE)用植物合成每克干物质所需要消耗的水分量来表示,即该数值越低表明水分的利用效率越高,其计算公式

为:水分利用效率(mL·g⁻¹)=生育期耗水量(mL)/植株生物量(g)。

植株株高采用直尺直接测量。采用Phillips和Hayman法染色^[13],随机选取2组15条鲜根段镜检测定植株根系的侵染根段数,菌根侵染率计算公式为:菌根侵染率=被侵染根段数/被检根段数×100%^[14]。土壤根外菌丝密度的测定采用网格交叉法^[13]。总球囊霉素(Total glomalin, T-GRSP)和易提取球囊霉素(Easily extractable glomalin, EE-GRSP)采用Bradford法测定,柠檬酸钠浸提,考马斯亮蓝法显色,紫外可见分光光度计测定样品吸光度,以每克土壤中蛋白质的毫克数表示球囊霉素相关土壤蛋白含量^[15]。

土壤化学性质的测定参考《土壤农化分析》^[17]。土壤酶的测定方法参考《土壤酶及其研究方法》^[18],其中蔗糖酶活性的测定采用3,5-二硝基水杨酸比色法,酶活性以24 h后每克土壤中酶解生成的葡萄糖质量(mg·g⁻¹·24 h⁻¹)表示;过氧化氢酶活性的测定采用高锰酸钾滴定法,酶活性以20 min后每克土壤消耗的0.02 mol·L⁻¹ KMnO₄溶液的毫升数(mL·g⁻¹·20 min⁻¹)表示;脲酶活性的测定采用苯酚钠-次氯酸钠比色法,酶活性以24 h后每克土壤中释放出的NH₄⁺-N质量(μg·g⁻¹·24 h⁻¹)表示;磷酸酶活性的测定采用对硝基苯磷酸二钠比色法,酶活性以每小时每克土壤中释放出的酚(pNP)质量(μmol·g⁻¹·h⁻¹)表示。

菌根贡献率(%)=(接菌植株干质量-未接菌植株干质量)/接菌植株干质量×100%。

1.4 数据处理

采用SAS 8.0统计软件进行方差分析(ANOVA),最小显著差数法(LSD, α=0.05)进行多重比较。Excel 2010软件处理数据并作图。

2 结果与分析

2.1 不同处理对玉米根系侵染、土壤根外菌丝密度与球囊霉素的影响

非接种AM真菌的对照处理玉米根系未发现被菌丝侵染(表2),而接种AM真菌处理的玉米根系侵染率和土壤根外菌丝密度在砂煤混合基质下均高于

砂土基质,分别提高了3.5%~6.6%和3.1%~34.3%,但无显著差异。同一覆膜方式下,砂煤混合基质下的接种AM真菌和CK处理的土壤T-GRSP和EE-GRSP含量均显著高于砂土基质下的两个处理($P<0.05$),表明施加风化煤有机物提高了土壤中GRSP含量,其中与砂土基质相比,砂煤混合基质下的土壤T-GRSP含量在无覆膜和覆薄膜下分别提高了80.0%~89.3%和81.4%~106.5%($P<0.05$),土壤EE-GRSP含量在无覆膜和覆薄膜下分别提高了55.0%~76.7%和71.8%~73.3%($P<0.05$)。同一覆膜和供试土壤基质下,接种AM真菌相比CK处理提高了土壤T-GRSP和EE-GRSP含量,其中两个处理间的土壤T-GRSP在无覆膜+砂煤混合基质和覆薄膜+砂土基质下有显著差异,以及土壤EE-GRSP在覆薄膜+砂煤混合基质下有显著差异($P<0.05$)。

2.2 不同处理对玉米生长特性的影响

同一覆膜和供试土壤基质下,接种AM真菌相比

CK处理显著提高了玉米株高、生物量与叶片SPAD值(除无覆膜+砂土基质外),分别提高了9.0%~42.9%、36.5%~157.1%与4.7%~29.5%($P<0.05$)(表3)。同时砂土基质下接菌植物生物量的菌根贡献率要高于砂煤混合基质,说明施加风化煤降低了接菌植物生长对菌根的依赖性。覆薄膜下,砂煤混合基质下CK处理的玉米株高和生物量要高于砂土基质下接种AM真菌处理,这可能与风化煤的保水特性有关。干旱胁迫下,覆薄膜相比无覆膜处理提高了玉米平均株高、生物量与叶片SPAD值,但无显著差异。

2.3 不同处理对玉米水分利用效率的影响

覆薄膜相比无覆膜处理显著降低了玉米生育期平均耗水量(图1),而砂煤混合基质处理的玉米生育期平均耗水量相比砂土基质处理显著提高了46.4%($P<0.05$)。同一覆膜和供土壤基质下,接种AM真菌相比CK处理提高玉米生育期耗水量,其中无覆膜下,接种AM真菌处理的生育期耗水量相比CK处理在砂

表2 不同土壤基质和覆膜下接种AM真菌对玉米根系侵染、土壤根外菌丝密度与球囊霉素的影响
Table 2 Effect of AM fungi inoculation on mycorrhizal colonization, soil external hyphal length and glomalin under soil substrate types and film mulching patterns

覆膜方式	供试基质	接种微生物	侵染率/%	根外菌丝密度/ $\text{m}\cdot\text{g}^{-1}$	T-GRSP/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	EE-GRSP/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
无覆膜	砂土	CK	0±0b	0±0b	0.50±0.01c	0.40±0.01b
		AM	62.2±2.2a	0.99±0.18a	0.56±0.02c	0.43±0.03b
	砂煤混合	CK	0±0b	0±0b	0.90±0.03b	0.62±0.01a
		AM	64.4±4.4a	1.33±0.14a	1.06±0.04a	0.76±0.06a
		均值	63.3A	1.16A	0.76A	0.55A
覆薄膜	砂土	CK	0±0b	0±0b	0.46±0.02c	0.39±0.02c
		AM	66.7±3.8a	1.31±0.13a	0.59±0.03b	0.45±0.03c
	砂煤混合	CK	0±0b	0±0b	0.95±0.03a	0.67±0.05b
		AM	71.1±4.4a	1.35±0.20a	1.07±0.06a	0.78±0.01a
		均值	68.9A	1.34A	0.77A	0.57A
方差分析	ANOVA					
	覆膜方式 M		NS	NS	NS	NS
	供试基质 S		NS	NS	*	*
	接种微生物 I		*	*	*	*
	M×S		NS	NS	NS	NS
	M×I		NS	NS	NS	NS
	S×I		NS	NS	NS	NS
	M×S×I		NS	NS	NS	NS

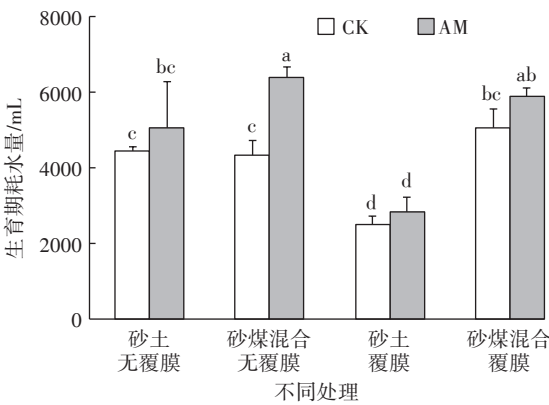
注:表中数据为3次重复的均值±标准误差。同列不同小写字母表示同一覆膜方式下不同处理在0.05水平上有显著差异。同列不同大写字母表示两种覆膜方式处理间在0.05水平上有显著差异。CK和AM分别表示对照和接种AM真菌。*, $P<0.05$, NS. 无显著差异。下同。

Note: Values are means ± s.e. of three replicates. Different lowercases in the same column within the same film mulching pattern indicate significant difference among treatments at 5% level by LSD. Values followed by the different capital letters in the same column indicate significant difference between two film mulching patterns at 5% level by LSD. CK and AM indicate non-inoculation and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. * and NS represent $P<0.05$ and no significance, respectively. The same below.

表3 不同土壤基质和覆膜下接种AM真菌对玉米生长特性的影响

Table 3 Effect of AM fungi inoculation on maize growth under soil substrate types and film mulching patterns

覆膜方式	供试基质	接种微生物	株高/cm	生物量/g·pot ⁻¹	叶片 SPAD/spad	水分利用效率/mL·g ⁻¹	菌根贡献率/%
无覆膜	砂土	CK	51.3±2.4d	4.9±0.2c	32.1±2.9ab	835±10a	
		AM	73.3±3.8c	12.6±1.0b	33.6±3.4ab	396±23b	61.1
	砂煤混合	CK	87.3±1.5b	12.5±0.3b	32.0±0.1b	344±15bc	
		AM	96.0±1.7a	20.1±0.5a	39.8±1.5a	320±15c	37.8
		均值	77.0A	12.5A	34.4A	474A	
覆薄膜	砂土	CK	68.7±1.9d	5.1±0.1d	30.2±2.2c	485±25a	
		AM	81.3±1.8c	11.5±0.2c	39.1±0.8ab	248±16c	55.7
	砂煤混合	CK	95.7±2.3b	14.8±1.0b	33.5±2.0bc	342±22b	
		AM	104.3±3.3a	20.2±0.9a	40.1±1.9a	293±19bc	26.7
		均值	87.5A	12.9A	35.7A	342B	
方差分析	ANOVA						
	覆膜方式 M		*	NS	NS	*	
	供试基质 S		*	*	NS	*	
	接种微生物 I		*	*	*	*	
	M×S		NS	NS	NS	*	
	M×I		NS	NS	NS	*	
	S×I		*	NS	NS	*	
	M×S×I		NS	NS	NS	*	



图中数据为3次重复的均值±标准差。不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)

Values in the figure are means±s.d. of three replicates.
Different lowercases indicate significant difference among all treatments at 0.05 levels by LSD

图1 不同土壤基质和覆膜下接种AM真菌对玉米生育期耗水量的影响

Figure 1 Effect of AM fungi inoculation on water consumption during whole growth period of maize under soil substrate types and film mulching patterns

煤混合基质下显著提高了48.8% ($P<0.05$)。方差分析结果表明,玉米水分利用效率受到覆膜方式、供试基质与接种微生物及其各因素二者及三者之间交互

的显著影响($P<0.05$) (表3)。覆薄膜处理的玉米平均水分利用效率相比无覆膜处理显著提高了27.8% ($P<0.05$),其中无覆膜下,砂煤混合基质的接种AM真菌和CK处理的水分利用效率分别显著高于砂土基质下的相应处理,分别提高了58.8%和19.2% ($P<0.05$);而覆薄膜下,接种AM真菌处理的水分利用效率在砂煤混合基质与砂土基质间无显著差异。

2.4 不同处理对玉米根际土壤有机碳和养分的影响

方差分析结果表明,供试砂煤混合基质显著提高了玉米根际土壤有机碳和全氮含量(表4)。同一覆膜和供试土壤基质下,接种AM真菌的根际土壤有机碳含量高于CK处理,但无显著差异;但却显著降低了根际土壤全氮(除无覆膜+砂土基质外)和速效钾(除无覆膜+砂煤混合基质外)含量,其中土壤全氮含量分别在砂土基质和砂煤混合基质下降低了40.0%~57.1%和14.3%~23.8% ($P<0.05$),土壤速效钾含量分别在砂土基质和砂煤混合基质下降低了27.5%~41.2%和11.9%~16.3% ($P<0.05$),这主要得益于土壤中大量根外菌丝,其可有效地吸收根系周围的土壤营养元素。覆薄膜+砂煤混合基质下接种AM真菌的根际土壤速效磷含量相比CK处理显著降低了28.5% ($P<0.05$)。此外,覆薄膜相比无覆膜处理显著降低了土壤速效钾平均含量($P<0.05$)。

2.5 不同处理对玉米根际土壤酶活性的影响

不同处理对玉米根际土壤4种酶活性的影响各不相同(表5)。土壤蔗糖酶一般参与土壤有机质的代谢,促进蔗糖转化为葡萄糖和果糖。无覆膜下,砂

煤混合基质下接种AM真菌和CK处理的根际土壤蔗糖酶活性相比砂土基质下相应处理分别显著提高了59.8%和46.8%($P<0.05$)。土壤过氧化氢酶可将土壤中多余的过氧化氢分解成水和氧,从而抑制其对植物

表4 不同土壤基质和覆膜下接种AM真菌对玉米根际土壤有机碳和养分的影响

Table 4 Effect of AM fungi inoculation on rhizosphere soil SOC and nutrient content under soil substrate types and film mulching patterns						
覆膜方式	供试基质	接种微生物	有机碳/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	全氮/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	速效磷/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	速效钾/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
无覆膜	砂土	CK	0.89±0.09b	0.15±0.018c	1.41±0.11a	86.5±2.0a
		AM	1.28±0.14b	0.09±0.006c	1.17±0.10a	50.9±5.5c
	砂煤混合	CK	11.4±0.65a	0.63±0.035a	1.62±0.31a	73.1±4.5ab
		AM	12.5±0.55a	0.48±0.013b	1.31±0.21a	64.4±4.4bc
		均值	6.52A	0.34A	1.38A	68.7A
覆薄膜	砂土	CK	0.95±0.08b	0.14±0.012c	1.32±0.05ab	64.7±0.6a
		AM	1.42±0.11b	0.06±0.004d	1.11±0.03ab	46.9±1.3c
	砂煤混合	CK	12.7±0.78a	0.56±0.009a	1.44±0.19a	58.4±2.0b
		AM	13.1±0.90a	0.48±0.033b	1.03±0.05b	48.9±1.1c
		均值	7.03A	0.31A	1.23A	54.7B
方差分析	ANOVA					
	覆膜方式M		NS	NS	NS	*
	供试基质S		*	*	NS	NS
	接种微生物I		NS	*	*	*
	M×S		NS	NS	NS	NS
	M×I		NS	NS	NS	NS
	S×I		NS	NS	NS	*
	M×S×I		NS	NS	NS	NS

表5 不同土壤基质和覆膜下接种AM真菌对玉米根际土壤酶活性的影响

Table 5 Effect of AM fungi inoculation on rhizosphere soil enzyme activities under soil substrate types and film mulching patterns						
覆膜方式	供试基质	接种微生物	蔗糖酶/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 24\text{h}^{-1}$	过氧化氢酶/ $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 20\text{min}^{-1}$	脲酶/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 24\text{h}^{-1}$	碱性磷酸酶/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot \text{h}^{-1}$
无覆膜	砂土	CK	12.2±0.10b	0.29±0.027c	73.2±4.4bc	0.28±0.02b
		AM	14.1±0.95b	0.39±0.004ab	86.5±6.7ab	0.43±0.02a
	砂煤混合	CK	19.5±0.62a	0.33±0.035bc	60.7±2.1c	0.34±0.08ab
		AM	20.7±0.17a	0.44±0.041a	87.0±1.2a	0.49±0.05a
		均值	16.6B	0.36A	76.9B	0.39B
覆薄膜	砂土	CK	22.8±1.63a	0.20±0.020d	72.8±1.0b	0.45±0.04c
		AM	23.2±0.61a	0.29±0.017c	97.7±0.6a	0.48±0.05c
	砂煤混合	CK	21.6±0.23a	0.34±0.005b	78.6±3.5b	0.71±0.06b
		AM	22.1±0.45a	0.40±0.003a	96.6±7.8a	0.90±0.06a
		均值	22.4A	0.31B	86.4A	0.63A
方差分析	ANOVA					
	覆膜方式M		*	*	*	*
	供试基质S		*	*	NS	*
	接种微生物I		NS	*	*	*
	M×S		*	*	NS	*
	M×I		NS	NS	NS	NS
	S×I		NS	NS	NS	NS
	M×S×I		NS	NS	NS	NS

的毒性,脲酶可催化尿素和有机氮转化为铵态氮,从而有利于植物吸收。同一覆膜和供试土壤基质下,接种AM真菌相比CK处理显著提高了土壤过氧化氢酶和脲酶活性,其中覆薄膜下,砂煤混合基质下的接种AM真菌和CK处理的土壤过氧化氢酶活性显著高于砂土基质下相应处理($P<0.05$),而土壤脲酶活性无明显差异。土壤碱性磷酸酶可以将土壤中有机磷酸酯和磷酸水解转化为无机态磷。覆薄膜下,砂煤混合基质下的接种AM真菌和CK处理的土壤碱性磷酸酶活性显著高于砂土基质下相应处理,分别提高了57.8%和87.5%($P<0.05$),而无覆膜下两个供试土壤基质间的处理无显著差异。此外,覆薄膜相比无覆膜处理显著提高了玉米根际土壤平均蔗糖酶、脲酶与碱性磷酸酶活性,却显著降低了土壤过氧化氢酶活性($P<0.05$)。

2.6 相关性分析

相关分析结果表明(表6),砂土基质下的植物株高、生物量、土壤有机碳和脲酶均与菌根侵染率和土壤根外菌丝密度呈显著正相关($P<0.01$),而植物水分利用效率、土壤全氮、速效磷、速效钾均与菌根侵染率和土壤根外菌丝密度呈显著负相关($P<0.01$),表明AM真菌的侵染率强度及其根外菌丝能够显著影响土壤养分转运与植物水分的利用效率;同时,植物生物量和叶片SPAD值均与土壤T-GRSP($P<0.01$)和EE-GRSP($P<0.05$)呈显著正相关。

砂煤混合基质下的植物生物量、叶片SPAD值、过氧化氢酶和脲酶均与菌根侵染率和土壤根外菌丝密度呈显著正相关($P<0.01$);但其与砂土基质不同的是,砂

煤混合基质下的土壤有机碳、速效磷、速效钾并不与菌根侵染率和土壤根外菌丝密度呈显著相关性。此外,植物水分利用效率与土壤根外菌丝密度呈显著负相关($P<0.05$),相关系数为-0.639。植物生物量、叶片SPAD值和脲酶均与土壤T-GRSP和EE-GRSP呈显著正相关($P<0.05$);相反,土壤全氮与二者呈显著负相关($P<0.05$),相关系数分别为-0.690和-0.657。

3 讨论

东部草原煤炭资源开采造成的土壤结构破坏与养分流失,给矿区农业带来了一定损失。通过菌根微生物技术缓解矿区土壤贫瘠与水分缺乏问题,是维持矿区农业生态系统发展的重要途径之一。菌根侵染是根系菌根化的重要指标,由于菌根真菌与宿主植物根系共生的媒介是土壤,因此诸如土壤类型、养分高低或含水量大小都影响着菌根真菌对宿主植物的侵染效果^[19]。研究表明,在一定范围内AM真菌的共生能力会随着有机质含量的升高而增强,但长期高有机质土壤环境则会降低AM真菌对宿主植物根系的侵染率和丛枝着生率或侵入点数^[20]。本研究发现,砂煤混合基质的土壤有机质含量明显高于砂土基质,但接种AM真菌处理的玉米根系侵染率在两种基质间无明显差异,说明短期内施加风化煤并不能影响AM真菌对宿主植物的侵染程度。但砂煤混合基质明显提高了土壤T-GRSP和EE-GRSP含量($P<0.05$)。球囊霉素相关土壤蛋白(GRSP)主要是由AM真菌菌丝和孢子分泌的一类糖蛋白,是土壤有机碳库的重要组成

表6 不同处理下玉米生长和根际土壤指标与AM真菌特性之间的皮尔逊相关分析($n=12$)

Table 6 Pearson's correlation coefficients for various parameters of maize growth, rhizosphere soil property and AM fungi characteristics among all treatments($n=12$)

指标	株高	生物量	叶片 SPAD值	水分 利用效率	有机碳	全氮	速效磷	速效钾	蔗糖酶	过氧化 氢酶	脲酶	碱性 磷酸酶
砂土基质												
侵染率	0.772**	0.972**	0.571	-0.777**	0.796**	-0.899**	-0.678**	-0.829**	0.144	0.630*	0.802**	0.472
根外菌丝密度	0.785**	0.930**	0.655*	-0.763**	0.838**	-0.889**	-0.720**	-0.830**	0.224	0.520	0.763**	0.418
T-GRSP	0.563	0.795**	0.747**	-0.498	0.714**	-0.746**	-0.574	-0.537	0.101	0.449	0.547	0.072
EE-GRSP	0.458	0.615*	0.737**	-0.297	0.449	-0.496	-0.401	-0.338	0.151	0.194	0.258	-0.048
砂煤混合基质												
侵染率	0.650*	0.896**	0.825**	-0.521	0.272	-0.799**	-0.495	-0.509	0.393	0.740**	0.774**	0.441
根外菌丝密度	0.543	0.942**	0.849**	-0.639*	0.228	-0.708**	-0.508	-0.447	0.308	0.692*	0.784**	0.349
T-GRSP	0.358	0.647*	0.649*	-0.228	0.108	-0.690*	-0.493	-0.496	0.358	0.541	0.767**	0.471
EE-GRSP	0.706*	0.789**	0.670*	-0.514	0.270	-0.657*	-0.041	-0.435	0.490	0.582*	0.662*	0.481

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

Note: * and ** indicate significance at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively.

部分。但随着对 GRSP 的深入研究,研究者们发现 GRSP 并不是一种典型的糖蛋白,它也可能是一种土壤中的腐植酸,并且其提取过程非专一性,而风化煤富含腐植酸^[21],这就可能导致施砂煤混合基质的 GRSP 提取含量要高于砂土基质。施加风化煤能够提高土壤 GRSP 含量,在一定程度上对促进矿区土壤大团聚体形成、改善退化土壤结构和土壤水分特性具有重要作用。

宿主植物保持较高的菌根侵染率可有效促进植物根系吸收更多的养分和水分,这主要是通过根外菌丝运输远离宿主植物根系周围的矿质养分和水分,同时菌丝分泌的土壤球囊霉素具有“超级胶水”的作用,其能够促进土壤颗粒黏附成大聚集体,进而形成稳定的土壤大团聚体,同时水稳性团聚体的数量和分布状况会影响植物对土壤水分的利用性^[22]。本研究中砂煤混合基质下的玉米生育期耗水量总体高于砂土基质下,但其植株制造每克干物质的耗水量却显著低于砂土基质下($P<0.05$),说明施加风化煤改善了土壤水分含量,提高了干旱胁迫下的土壤保水能力。玉米水分利用效率得到显著改善,主要在于风化煤疏松多孔,具有较强的吸附性和吸水性,调节了土壤水分含量。这与陈伏生等^[23]的研究结果一致,其研究发现相比土壤水分充足,在土壤水分轻微干旱时施加风化煤可提高土壤通透性,有利于植物吸收水分和养分及根系呼吸。

风化煤由于含氧量高、发热量低,并且具有吸附、络合和交换等性能,已被广泛作为一种土壤改良剂^[24]。由于风化煤富含有机质,使得砂煤混合基质下的土壤有机碳含量明显高于砂土基质,同时提高有机质含量也可有效提高土壤全氮含量。本研究中,同一覆膜和供试土壤基质下,接种 AM 真菌降低了玉米根际土壤全氮、速效磷与速效钾含量。袁丽环等^[25]的研究发现,接种 AM 真菌对根际磷酸酶有刺激和分泌作用,能够加速土壤全磷矿化,促使根际土壤速效磷富集。这与本试验研究结果不一致,可能是因为本试验供试土壤基质肥力不足、含磷量匮乏,玉米根系周围有限的磷养分被植物地上部分所吸收利用。一般来说,当 AM 真菌处于土壤养分贫瘠环境中时,其能够明显促进植物吸收 N、P、K 等营养元素。此外,覆膜能够改善土壤水温条件、增强土壤微生物活性,从而能够增强植物对土壤中速效养分的利用效率^[26]。本研究也发现覆薄膜促进了玉米对根际土壤速效养分的吸收,并且对土壤速效钾含量有显著影响($P<0.05$),表明这对东

部草原矿区因气候干旱寒冷逆境下的植物生长和发育具有促进作用。

土壤酶活性作为土壤肥力的一个潜在指标,在土壤养分的循环代谢过程中起着重要作用。一般来说,影响土壤酶活性的因素很多,例如土壤微生物数量、理化性质、施肥措施等,其中土壤有机质的存在状况和含量会与土壤酶活性大小有关^[27]。本研究中,与砂土基质相比,砂煤混合基质总体表现为提高了玉米根际土壤酶活性。干旱胁迫环境下,施加风化煤一定程度上改善了土壤水分状况并加快了土壤养分的转运,从而刺激植物根系或其他微生物分泌了一定量的土壤酶。方差分析结果表明,供试基质与接种 AM 真菌二者互作对玉米根际土壤酶活性无显著影响,但接种 AM 真菌明显提高了根际土壤蔗糖酶(除覆薄膜外)、过氧化氢酶、脲酶与碱性磷酸酶活性,这与贺学礼等^[28]的研究结果一致。研究表明,AM-植物共生关系能够提高宿主植物的光合作用能力,从而将多余的碳水化合物由地上转移到土壤中,增强植物根系或土壤中微生物分泌酶的能力^[29]。同时,土壤酶活性与土壤有效养分含量高低也有直接影响,而接种 AM 真菌能够提供更多的有效养分供给土壤中的微生物,这有利于刺激土壤微生物释放更多的酶^[30-31]。

4 结论

(1)砂煤混合基质下,AM 真菌与玉米根系形成良好的共生体促进了玉米和土壤根外菌丝生长,提高了植物生物量和叶片 SPAD 值,同时改善了植物水分利用效率;尤其是在覆薄膜条件下,接种 AM 真菌对干旱胁迫下植物生长的促进效果最好。

(2)与砂土基质相比,砂煤混合基质提高了玉米根际土壤有机碳和全氮含量,促进了土壤速效养分转运和土壤 GRSP 含量增加,同时提高了根际土壤酶活性,说明施加风化煤可提高土壤基质的肥力和稳定性。

(3)施加风化煤下接种 AM 真菌与覆薄膜联合对水分胁迫下植物生长发育、土壤养分转运和酶活性提高具有重要促进作用,这有利于缓解干旱半干旱矿区植物或作物生长面临的土壤养分贫瘠和水分缺乏状况。

参考文献:

- [1] 江彬,毕银丽,申慧慧,等. 氮营养与 AM 真菌协同对玉米生长及土壤肥力的影响[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(2): 327-332.
JIANG Bin, BI Yin-li, SHEN Hui-hui, et al. Synergetic effects of arbuscular mycorrhizal fungus and nitrogen on maize growth and soil fer-

- tility[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2017, 33(2): 327–332.
- [2] Veresoglou S D, Chen B, Rillig M C. Arbuscular mycorrhiza and soil nitrogen cycling[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2012, 46(1): 53–62.
- [3] Wu Q S, Xia R X. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2006, 163(4): 417–425.
- [4] Rillig M C, Wright S F, Eviner V T. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species[J]. *Plant & Soil*, 2002, 238(2): 325–333.
- [5] 王 强, 王 茜, 王晓娟, 等. AM真菌在有机农业发展中的机遇[J]. *生态学报*, 2016, 36(1): 11–21.
WANG Qiang, WANG Qian, WANG Xiao-juan, et al. The application of arbuscular mycorrhizal fungi in organic farming systems[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(1): 11–21.
- [6] 李尚中, 王 勇, 樊廷录, 等. 旱地玉米不同覆膜方式的水温及增产效应[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(5): 922–931.
LI Shang-zhong, WANG Yong, FAN Ting-lu, et al. Effects of different plastic film mulching modes on soil moisture, temperature and yield of dryland maize[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(5): 922–931.
- [7] 李尚中, 樊廷录, 王 勇, 等. 旱地玉米抗旱覆膜方式研究[J]. *核农学报*, 2009, 23(1): 165–169.
LI Shang-zhong, FAN Ting-lu, WANG Yong, et al. A study on film-covering modes of drought prevention for dry land maize[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2009, 23(1): 165–169.
- [8] 李 华, 李永青, 沈成斌, 等. 风化煤施用对黄土高原露天煤矿区复垦土壤理化性质的影响研究[J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27(5): 1752–1756.
LI Hua, LI Yong-qing, SHEN Cheng-bin, et al. Physicochemical properties of reclaimed soil with weathered coal in open cast mining areas of Loess Plateau[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(5): 1752–1756.
- [9] 王宇涛, 辛国荣, 李韶山. 丛枝菌根真菌最新分类系统与物种多样性研究概况[J]. *生态学报*, 2013, 33(3): 834–843.
WANG Yu-tao, XIN Guo-rong, LI Shao-shan. An overview of the updated classification system and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(3): 834–843.
- [10] Bonanomi G, Chirico G B, Palladino M, et al. Combined application of photo-selective mulching films and beneficial microbes affects crop yield and irrigation water productivity in intensive farming systems[J]. *Agricultural Water Management*, 2017, 184: 104–113.
- [11] 武瑞平, 李 华, 曹 鹏. 风化煤施用对复垦土壤理化性质酶活性及植被恢复的影响研究[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(9): 1855–1861.
WU Rui-ping, LI Hua, CAO Peng. Amelioration of weathered coal on soil physical, chemical properties and enzyme activities with vegetation restoration[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(9): 1855–1861.
- [12] 贺 婧, 钟艳霞, 颜 丽. 不同来源腐植酸对土壤酶活性的影响[J]. *中国农学通报*, 2009, 25(24): 258–261.
HE Jing, ZHONG Yan-xia, YAN Li, et al. Effect of different sources humic acid on soil enzyme activity[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(24): 258–261.
- [13] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection[J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 1970, 55(1): 158–160.
- [14] Giovannetti M, Mosse B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots[J]. *New Phytologist*, 1980, 84(3): 489–500.
- [15] Abbott L K, Robson A D, Boer G D. The effect of phosphorus on the formation of hyphae in soil by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *glomus fasciculata*[J]. *New Phytologist*, 1984, 97(3): 437–446.
- [16] 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.
LI Shao-peng, BI Yin-li, KONG Wei-ping, et al. Effects of the arbuscular mycorrhizal fungi on environmental phytoremediation in coal mine areas[J]. *Environmental Science*, 2013, 34(11): 4455–4459.
- [17] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
BAO Shi-dan. Soil agricultural chemistry analysis[M]. 3th Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [18] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 274–321.
GUAN Song-yin. Soil enzyme and its research methods[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986: 274–321.
- [19] Hart M M, Forsythe J A. Using arbuscular mycorrhizal fungi to improve the nutrient quality of crops; nutritional benefits in addition to phosphorus[J]. *Scientia Horticulturae*, 2012, 148: 206–214.
- [20] 王晓英, 王冬梅. 丛枝菌根真菌与土壤养分交互作用的生态效应研究[J]. *北方园艺*, 2009(6): 111–115.
WANG Xiao-ying, WANG Dong-mei. The study of ecological effect of the interaction between AMF and soil nutrient[J]. *Northern Horticulture*, 2009(6): 111–115.
- [21] 王 建, 周紫燕, 凌婉婷. 球囊霉素相关土壤蛋白的分布及环境功能研究进展[J]. *应用生态学报*, 2016, 27(2): 634–642.
WANG Jian, ZHOU Zi-yan, LING Wan-ting. Distribution and environmental function of glomalin-related soil protein: A review[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27(2): 634–642.
- [22] 叶佳舒, 李 涛, 胡亚军, 等. 干旱条件下AM真菌对植物生长和土壤水稳定性团聚体的影响[J]. *生态学报*, 2013, 33(4): 1080–1090.
YE Jia-shu, LI Tao, HU Ya-jun, et al. Influences of AM fungi on plant growth and water-stable soil aggregates under drought stresses[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(4): 1080–1090.
- [23] 陈伏生, 曾德慧, 陈广生, 等. 风沙土改良剂对白菜生理特性和生长状况的影响[J]. *水土保持学报*, 2003, 17(2): 152–155.
CHEN Fu-sheng, ZENG De-hui, CHEN Guang-sheng, et al. Effects of peat and weathered coal on physiological characteristics and growth of Chinese cabbage on aeolian sandy land[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2003, 17(2): 152–155.
- [24] 于 森, 李少朋, 毕银丽, 等. 西部矿区接菌对风化煤与黄土配比的土壤改良效应[J]. *干旱地区农业研究*, 2016, 34(2): 130–135.

- YU Miao, LI Shao-peng, BI Yin-li, et al. Soil remediation after inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi on the ratio of weathered coal and loess in the mining area of Western China[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2016, 34(2):130-135.
- [25] 袁丽环, 闫桂琴. 丛枝菌根化翅果油树幼苗根际土壤微环境[J]. 植物生态学报, 2010, 34(6):678-686.
- YUAN Li-huan, YAN Gui-qin. Rhizospheric soil of seedlings of *Elaeagnus mollis* colonized by arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2010, 34(6):678-686.
- [26] 井大炜. 地膜覆盖对杨树林下土壤生物学特征的影响[J]. 水土保持通报, 2013, 33(6):269-273.
- JING Da-wei. Effects of plastic film mulching on soil biological characters in poplar field[J]. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 2013, 33(6):269-273.
- [27] 刘善江, 夏雪, 陈桂梅, 等. 土壤酶的研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(21):1-7.
- LIU Shan-jiang, XIA Xue, CHEN Gui-mei, et al. Study progress on functions and affecting factors of soil enzymes[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(21):1-7.
- [28] 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(自然科学版), 2013, 33(5):508-513.
- HE Xue-li, GUO Hui-juan, WANG Yin-yin. Effects of soil moisture and AM fungi on the soil physicochemical property in the rhizosphere of *Astragalus adsurgens*[J]. *Journal of Hebei University(Natural Science Edition)*, 2013, 33(5):508-513.
- [29] Orwin K H, Kirschbaum M U, St John M G, et al. Organic nutrient uptake by mycorrhizal fungi enhances ecosystem carbon storage: A model-based assessment[J]. *Ecology Letters*, 2011, 14:493-502.
- [30] He X L, Li Y P, Zhao L L. Dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in the rhizosphere of *Artemisia ordosica* Krasch. in Mu Us Sandland, China[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2010, 42(8):1313-1319.
- [31] Vázquez M M, César S, Azcón R, et al. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants[J]. *Applied Soil Ecology*, 2000, 15(3):261-272.