

粤北大宝山重金属污染土壤中 AM 真菌的研究

龙良鲲¹, 姚青², 黄永恒¹, 王燕³, 朱红惠¹

(1 广东省微生物研究所, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东省微生物应用新技术公共实验室, 广东 广州 510070;
2 华南农业大学园艺学院, 广东 广州 510642; 3 广东省科技图书馆, 广东 广州 510070)

摘要:从粤北大宝山采集了 30 份土壤样品及对应的植物根系样品, 分析发现, 取自污染区的 27 份土壤样品中, Cu、Zn、Pb 和 Cd 含量不同程度超过国家(二级)标准. 对植物根系样品进行染色, 观察丛枝菌根(AM)真菌侵染, 发现 81.5% 的污染区根系样品中存在 AM 真菌侵染; 土壤样品中含有一定数量的各种 AM 真菌孢子和 AM 真菌菌丝. 调查结果表明, 大宝山重金属污染的土壤中存在着多样性的 AM 真菌.

关键词:大宝山; 重金属污染土壤; 丛枝菌根(AM)真菌

中图分类号: Q938.1; X53

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2009)02-0117-04

Study on Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Heavy Metal-Contaminated Soil from Dabao Mountains, North Guangdong

LONG Liang-kun¹, YAO Qing², HUANG Yong-heng¹, WANG Yan³, ZHU Hong-hui¹

(1 Guangdong Institute of Microbiology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Provincial Common Laboratory of Microbial Applied Technology, Guangzhou 510070, China;
2 College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
3 Guangdong Science & Technology Library, Guangzhou 510070, China)

Abstract: Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can help plant to remedy the heavy metal-contaminated soil. In the present study, 30 soil samples and the corresponding plant root samples were collected from Dabao Mountains, North Guangdong. The results revealed that the contents of Cu, Zn, Pb and Cd in 27 soil samples from contaminated areas exceeded the national standard at different levels. Following the staining of root samples and the observation for AM fungi colonization, 81.5% of root samples from contaminated areas were found to be colonized by AM fungi. A certain amount of AM fungi spores and hyphae were also present in the corresponding soils. The diverse AM fungi existed in the contaminated soils at Dabao Mountains.

Key words: Dabao Mountains; heavy metal-contaminated soils; arbuscular mycorrhizal (AM) fungi

采矿活动是造成生态环境重金属污染的主要原因之一. 位于粤北的大宝山矿是一座大型多金属伴生矿床, 该矿区长期的粗放采矿及缺少有效防污措施, 使得大量重金属物质汇入横石河和翁江, 已对矿

收稿日期: 2008-06-17

作者简介: 龙良鲲(1978—), 男, 助理研究员, 博士; 通讯作者: 朱红惠(1970—), 女, 研究员, 博士, E-mail: zhuhonghui66@yahoo.com.cn

基金项目: 国家 973 前期基础研究(2008CB417207); 广东省自然科学基金研究团队项目(E05202480)

区周边及河流下游生态环境造成严重的污染^[1]. 据调查,受采矿废水污染的河流内,鱼虾绝迹;用污染河水灌溉或受洪泛影响的农田,土质已被破坏,农作物产量剧降甚至绝收,严重威胁到人民健康生活^[1]. 生态环境的自然净化过程相当漫长,研究开发污染区域的人工治理技术显得尤为紧迫. 当前,植物修复是针对重金属污染土壤的重要修复技术,已经受到世界范围内的广泛关注^[2].

丛枝菌根 (Arbuscular mycorrhizal, AM) 真菌是一类能与绝大多数陆生植物形成互惠共生关系的土壤真菌,能积极促进宿主植物吸收矿质营养和抵抗逆境胁迫^[3]. 研究表明,AM 真菌能够显著增强植物对许多重金属的耐受能力,在重金属污染土壤的植物修复中表现出积极的意义^[4]. 由于不同种类的 AM 真菌以及同种不同生态型的 AM 真菌对重金属的耐受能力差异很大,获得优良的重金属耐受型菌株是开展 AM 真菌-植物联合修复的基础和关键^[5]. 本文初步调查了粤北大宝山矿区的重金属污染及 AM 真菌分布情况,为进一步开展污染土壤的 AM 真菌-植物修复研究提供基础信息.

1 材料与方法

1.1 样品采集

2008 年 4 月 17 日于粤北大宝山矿区的采矿污染区采集植物根际土壤和根系样品,并取少量非污染区样品作为对照. 各采样点,取距地表 5~10 cm 的土壤 1 kg 及相应的植被根系装入塑料袋中,编号并带回实验室. 土壤样品经风干后 4℃ 密闭保存,植物根系经福尔马林-醋酸-酒精 (FAA) 固定液固定,备用.

1.2 土壤 pH 及重金属测定

各土壤样品取 10 g,水浸法测量其 pH^[6]. 另取 100 g 土样,根据国家标准 (GB15618—1995)^[7] 采用原子吸收光谱法分别测定 Cu、Zn、Pb 和 Cd 的总含量.

1.3 根系的 AM 真菌侵染

固定后的根系样品各取约 20 cm,按 Trypan Blue 法^[8] 进行染色,并以十字交叉法^[9] 检测 AM 真菌的侵染强度,侵染率大于 70% 为强度侵染,30%~70% 为中度侵染,0~30% 为轻度侵染.

1.4 土壤中 AM 真菌分布

取各土壤样品 10 g,以湿筛法^[8] 获取其中的 AM 真菌孢子和菌丝,统计孢子密度、菌丝密度. 菌丝密度统计方法:湿筛法获取的菌丝经 Trypan Blue 染色

后,悬浮于 10 mL 清水中,并装入底部划有 0.5 cm × 0.5 cm 方格的培养皿 (直径 6 cm) 中,摇匀. 体式镜下观察,菌丝分布于 70% 以上的液面为高,30%~70% 为中,30% 以下为低.

2 结果与分析

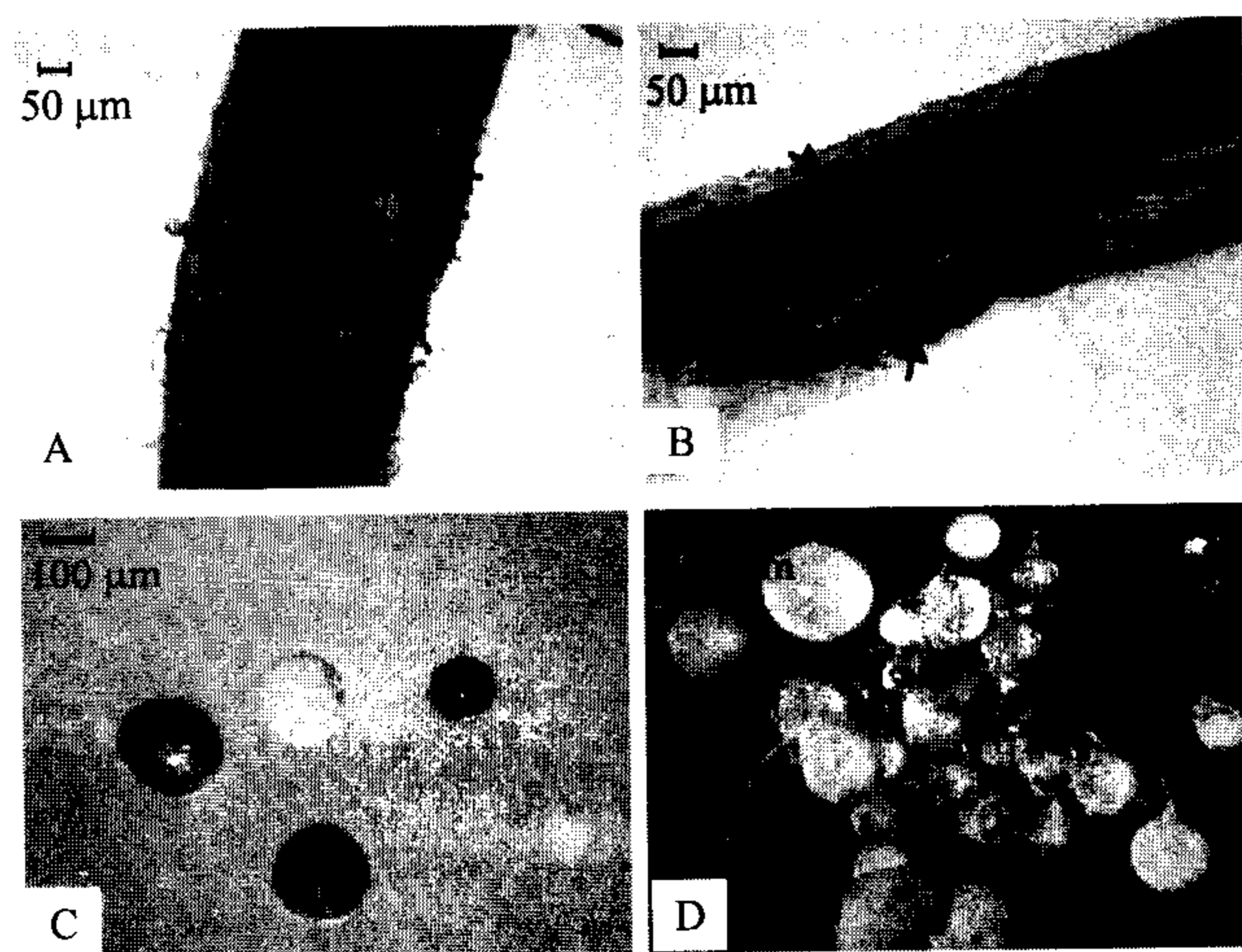
2.1 样品采集及土壤 pH、重金属含量

共采集了 30 份样品,对土壤样品的 4 种重金属含量进行了测定. 从表 1 可知,21 份土样的 pH 低于 5.0,最低可达 2.66 (04-19 号样). 采自尾矿区及受矿水污染的河床或农田的 27 份土样均存在重金属污染,各样品的 Cu、Zn、Pb 和 Cd 含量分别为国家标准 (二级) 的 3.96~37.90 倍、1.36~9.99 倍、1.23~22.86 倍和 1.80~27.90 倍. 而非污染区采集的样品中,除部分样品的 Cu、Cd 含量略高于国家二级标准外,其他重金属含量正常.

2.2 AM 真菌的分布情况

对所有采集到的约 17 科 18 种植物 (8 个样品未鉴定或未鉴定到种) 根系进行了 AM 真菌侵染检测. 结果表明,83.3% 的样品有 AM 真菌侵染,而采自污染区的 81.5% 的样品存在不同程度的 AM 真菌侵染,一些样品内观察到明显的泡囊结构 (表 1,图 1 A、B).

对根际土壤中 AM 真菌孢子及菌丝进行测定,部分样品中含有一定数量的各种形态的孢子,相对应 AM 植物的土壤样品中均能检测到真菌菌丝 (表 1,图 1 C、D).



A: 04-05 号根样内大量的菌丝 (箭头); B: 04-36 号根样内的泡囊 (箭头); C: 04-26 号土样中的孢子; D: 04-36 号土样中的孢子

图 1 大宝山根系样品的 AM 真菌侵染 (A、B) 及土样中获得的 AM 真菌孢子 (C、D)

Fig. 1 Roots colonized by AM fungi (A, B) and AM fungi spores from soil samples (C, D)

表 1 采集的样品信息及其中 AM 真菌的检测结果
Tab.1 Information about the samples and AM fungi distribution

采样地点	样品编号	植被		$w(\text{土壤})^{1)}/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$					AM 真菌		孢子密度/ (个·g ⁻¹)	菌丝 密度 ²⁾
		科名	种名	pH	Cu	Zn	Pb	Cd	侵染 ²⁾	孢囊 ³⁾		
尾矿区	04-01	蝶形花科	野葛 <i>Pueraria lobata</i>	4.14	1 821.0	764.6	1 067.0	0.966	-	-	0	-
	04-05	骨碎补科	肾蕨 <i>Nephrolepis cordifolia</i>	6.73	1 149.0	886.7	1 863.0	1.198	+++	-	0	++
	04-06	禾本科	未鉴定	4.23	278.1	310.5	689.7	0.682	++	-	0.4	++
	04-08	樟科	黄樟 <i>Cinnamomum parthenoxylon</i>	4.01	822.6	1 190.0	2 331.0	2.732	++	-	0	+
	04-11	未鉴定		4.14	640.4	1 342.0	1 288.0	3.830	+	-	1.5	++
	04-12	未鉴定		7.89	1 258.0	1 282.0	1 273.0	8.370	+++	+	0	+++
	04-13	酢酱草科	红花酢酱草 <i>Oxalis corymbosa</i>	6.86	1 298.0	1 449.0	1 323.0	4.172	+	-	0	+
污染河床 (横石河)	04-15	里白科	芒箕 <i>Dicranopteris linearis</i>	3.55	1 798.0	831.5	1 172.0	1.363	+	-	0.3	+++
	04-19	未鉴定		2.66	1 895.0	1 110.0	2 780.0	2.728	-	-	0	-
	04-27	禾本科	马唐 <i>Digitaria sanguinalis</i>	6.94	670.8	586.2	1 762.0	1.602	++	-	0	+++
	04-28	苋科	空心莲子草 <i>Alternanthera philoxeroides</i>	5.12	607.7	462.4	1 868.0	0.758	-	-	0	-
	04-29	含羞草科	楸树 <i>Albizia chinensis</i>	3.14	628.6	436.4	1 693.0	0.541	+	-	0.8	++
	04-31	禾本科	未鉴定	4.32	649.9	496.4	2 057.0	0.742	++	-	0	++
	04-33	莎草科	水莎草 <i>Cyperus glomeratus</i>	6.18	653.5	547.6	2 116.0	1.265	-	-	0	-
	04-34	里白科	芒箕	4.18	666.1	1 998.0	5 715.0	2.023	+++	+	0	+++
	04-35	岩蕨科	膀胱岩蕨 <i>Woodsia manchuriensis</i>	3.85	396.3	801.6	3 648.0	1.341	+++	+	0	+++
	04-36	藤黄科	地耳草 <i>Hypericum japonicum</i>	4.07	1 516.0	1 253.0	1 207.0	2.757	+++	+	1.4	+++
	04-37	未鉴定		4.09	546.0	527.1	2 071.0	1.446	+++	+	0	+++
	04-38	蚌壳蕨科	金毛狗 <i>Cibotium barometz</i>	3.00	455.3	819.4	4 180.0	1.269	+	-	0	++
	04-40	野牡丹科	野牡丹 <i>Melastoma candidum</i>	3.18	275.2	286.2	1 466.0	0.495	+	-	0.3	+++
	04-41	灯心草科	灯心草 <i>Juncus effusus</i>	4.71	469.9	525.1	2 715.0	1.157	-	-	0	-
	04-43	桑科	未鉴定	3.85	240.6	401.5	1 618.0	0.788	+++	+	0.2	+
污染农田	04-03	百合科	小葱 <i>Allium schoenoprasum</i>	5.18	198.2	271.2	883.2	1.203	++	-	0	++
	04-22	禾本科	马唐	4.01	1 503.0	1 247.0	1 215.0	1.612	++	-	1.4	++
	04-23	禾本科	未鉴定	3.62	1 392.0	1 157.0	1 405.0	1.107	+	-	0	+
	04-24	禾本科	蟋蟀草 <i>Eleusine indica</i>	5.46	498.8	762.4	469.7	3.603	+	-	0	+
	04-26	菊科	鼠麴草 <i>Gnaphalium affine</i>	5.66	771.2	652.2	307.9	1.859	++	-	0.5	+++
非污染区	04-16	里白科	芒箕	4.38	144.2	94.0	217.2	0.258	+++	-	1.8	+++
	04-17	禾本科	刚竹 <i>Phyllostachys viridis</i>	4.14	91.5	89.9	140.0	0.121	++	-	0	++
	04-18	里白科	芒箕	4.02	136.1	68.8	153.5	0.189	+	-	0	+

1) 土壤质量国家二级标准(GB15618—1995)^[7]: $w(\text{Cu}) < 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $w(\text{Zn}) < 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $w(\text{Pb}) < 250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $w(\text{Cd}) < 0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 2) AM 真菌侵染和菌丝密度栏中, +++、++、+ 和 - 分别表示强(高)、中、轻(低)和无; 3) 孢囊栏中的 + 和 - 分别表示有和无

3 讨论

粤北大宝山矿的开采对周边及河流下游的环境造成了严重污染^[1]. 本研究中采自采矿污染区(尾矿、污染河流及农田)的 27 份土壤样品均存在不同程度的重金属(Cu、Zn、Pb、Cd)污染, 部分样品重金属含量严重超出国家相应标准, 而未受采矿污染的 3

份土壤样品的重金属含量基本正常. 在采样过程中, 发现采矿活动的直接污染区(尾矿区及受矿水污染的河床)仅有稀疏的植被, 主要为一些禾本科杂草和蕨类植物(未显示的数据). 浇灌污染河水的农田多数已经遭到废弃, 且有较多的禾本科等科的杂草生长. 据文献报道, 重金属污染土壤中存在着多样性的 AM 真菌^[2, 10]. 本研究调查发现

粤北大宝山重金属污染区域内的植物多数受到 AM 真菌侵染,其根际土中含有较多的 AM 真菌菌丝,部分土样中检测到不同形态的 AM 真菌孢子.因此,可以认为该区域的污染土壤中也分布有多样性的 AM 真菌. AM 真菌对重金属胁迫下植物的生长具有重要的意义,而利用 AM 真菌协助植物修复重金属污染的土壤已经倍受关注^[4, 11-12]. 获得抗重金属的 AM 真菌菌株对于探索 AM 真菌抗重金属胁迫机制和应用 AM 真菌联合植物修复污染土壤具有关键的意义. 下一步,我们将对分布于粤北大宝山重金属土壤中的 AM 真菌菌株进行分离、筛选及分类鉴定,并对菌株(尤其是优势菌株)的抗重金属能力、抗性机制以及应用潜力等进行研究.

参考文献:

- [1] 付善明,周永章,赵宇,等. 广东大宝山铁多金属矿废水对河流沿岸土壤的重金属污染[J]. 环境科学, 2007, 28: 805-812.
- [2] 王发园,林先贵. 丛枝菌根在植物修复重金属污染土壤中的作用[J]. 生态学报, 2007, 27(2): 793-801.
- [3] POWELL C L, BAGYARAJ D J. VA mycorrhiza[M]. Florida, USA: CRC Press, 1984: 24-113.
- [4] HILDEBRANDT U, REGVAR M, BOTHE H. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance[J]. Phytochemistry, 2007, 68: 139-146.
- [5] DEL VAL C, BAREA J M, AZCO'N-AGUILAR C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in Heavy-Metal-Contaminated soils[J]. Appli Environ Microbiol, 1999, 65: 718-723.
- [6] 姚余君,张彦东,任向荣. 云杉和落叶松树干径流对土壤 pH 值的影响[J]. 东北林业大学学报, 2006, 34(6): 22-25.
- [7] 国家环境保护局. GB15618—1995 土壤环境质量标准[S]. 北京:中国环境科学出版社, 1996: 11-12.
- [8] 刘润进,李晓林. 丛枝菌根及其应用[M]. 北京:科学出版社, 2000: 1-198.
- [9] MCGONIGLE T P, MILLER M H, EVANS D G, et al. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytol, 1990, 115: 495-501.
- [10] 唐明. VA 菌根提高植物抗盐碱和抗重金属能力的研究进展[J]. 土壤, 1998(5): 251-254.
- [11] AUDET P, CHAREST C. Dynamics of arbuscular mycorrhizal symbiosis in heavy metal phytoremediation: Meta-analytical and conceptual perspectives[J]. Environ Pollution, 2007, 147: 609-614.
- [12] PAWLOWSKA T E, CHARVAT I. Heavy-Metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Appli Environ Microbiol, 2004, 70: 6643-6649.

【责任编辑 李晓卉】

(上接第 116 页)

分类学家对深圳香荚兰的认识可以追溯到很久以前^[3],但由于没有具花标本而无法描述,直至 2005 年在深圳发现了开花植株才以其发现地命名发表.该种被正式命名后,这是第一次在深圳以外地方发现的野外香荚兰属植物被鉴定为深圳香荚兰.因此,深圳香荚兰目前是一个十分稀有的种类,在其模式产地已建立了自然保护区,惠州的深圳香荚兰居群有必要设立保护点加以保护.

致谢:感谢刘仲健教授提供有关深圳香荚兰在深圳的分布情况!

参考文献:

- [1] LUO Yi-bo, JIA Jian-sheng, WANG Chun-ling. Conservation strategy and potential advantages of the Chinese *Paphiopedilum*[J]. Biodiversity Science, 2003, 11: 491-498.
- [2] LIU Zhong-jian, CHEN Sing-chi, RU Zheng-zhong. *Vanilla shenzhenica*, the first new species of Orchidaceae in She-nzhen, South China[J]. Acta Phytotaxonomica Sinica, 2007, 45(3): 301-303.
- [3] CHEN Sing-chi. Flora Reipublicae Popularis Sinicae: 18 [M]. Beijing: Science Press, 1999: 2-5.

【责任编辑 李晓卉】