

叶面涂抹DSE菌液对蛋白桑生长发育影响及其生态修复前景

毕银丽 王苗优 柯增鸣

引用本文:

毕银丽, 王苗优, 柯增鸣. 叶面涂抹DSE菌液对蛋白桑生长发育影响及其生态修复前景[J]. *煤田地质与勘探*, 2023, 51(2): 187–194.

BI Yinli, WANG Zhuoyou, KE Zengming. Effect of foliar application of DSE fungal solution on growth of *Morus alba* and its prospects of ecological restoration application[J]. *Coal Geology & Exploration*, 2023, 51(2): 187–194.

在线阅读 View online: <https://dx.doi.org/10.12363/issn.1001-1986.22.12.0930>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

我国矿区棕地综合治理及再利用

Sustainable management and reuse of brownfield in China's mining areas

煤田地质与勘探. 2017, 45(5): 127–134 <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1986.2017.05.022>

我国煤矿区矿井水污染问题及防控技术体系构建

Mine water drainage pollution in China's coal mining areas and the construction of prevention and control technical system

煤田地质与勘探. 2021, 49(5): 1–16 <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1986.2021.05.001>

煤矿区碳排放的确认和低碳绿色发展途径研究

Confirmation of carbon emissions in coal mining areas and research on low-carbon green development path

煤田地质与勘探. 2021, 49(5): 63–69 <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1986.2021.05.007>

煤矿地区的滑坡灾害及其防治技术

Landslide disaster and its prevention and control technology in coal mining area

煤田地质与勘探. 2018, 46(2): 1–7 <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1986.2018.02.001>

丛枝菌根真菌与沙棘对露天矿排土场的联合改良效应

Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and *Hippophae rhamnoides* on the improvement of the dump of open-pit coal mine in the eastern grassland

煤田地质与勘探. 2021, 49(2): 202–206 <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1986.2021.02.025>

东濮凹陷及其周缘地区上古生界煤系沉积有机相及煤成烃潜力

Sedimentary organic facies and hydrocarbon-forming potential of coal in Upper Paleozoic coal measures in Dongpu depression and its peripheral areas

煤田地质与勘探. 2018, 46(5): 107–116, 122 <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1986.2018.05.017>



移动阅读

毕银丽, 王茁优, 柯增鸣. 叶面涂抹 DSE 菌液对蛋白桑生长发育影响及其生态修复前景[J]. 煤田地质与勘探, 2023, 51(2): 187–194. doi: [10.12363/issn.1001-1986.22.12.0930](https://doi.org/10.12363/issn.1001-1986.22.12.0930)
BI Yinli, WANG Zhuoyou, KE Zengming. Effect of foliar application of DSE fungal solution on growth of *Morus alba* and its prospects of ecological restoration application[J]. Coal Geology & Exploration, 2023, 51(2): 187–194. doi: [10.12363/issn.1001-1986.22.12.0930](https://doi.org/10.12363/issn.1001-1986.22.12.0930)

叶面涂抹 DSE 菌液对蛋白桑生长发育影响及其生态修复前景

毕银丽^{1,2}, 王茁优¹, 柯增鸣¹

(1. 西安科技大学 西部矿山生态环境修复研究院, 陕西 西安 710054;
2. 中国矿业大学(北京) 矿山生态修复研究院, 北京 100083)

摘要: 微生物复垦技术在西部干旱-半干旱煤矿区生态修复中已被广泛应用, 便捷的微生物菌剂施用方式对于提高采煤沉陷地生态治理效率具有重要意义。试验以蛋白桑为研究对象, 供试菌剂为深色有隔内生真菌(*dark septate endophyte*, DSE), 采用温室盆栽试验, 设置 DSE 菌液根际接种(GXZR)、DSE 菌液叶片涂抹(YMTM) 和对照蛋白桑(CK)3 个处理, 探究不同菌液接种方式对蛋白桑生长发育影响及其生态修复前景。结果表明, 与 CK 相比, YMTM 与 GXZR 处理均能显著提高蛋白桑地上生物量, 增加幅度为 1.9~3.3 倍; 同时 YMTM 与 GXZR 处理促进了蛋白桑对土壤 C、N、P 的吸收, 全碳分别提升 164.8% 和 121.8%、全氮分别提升 177.7% 和 132.4%、全磷分别提升 113.6% 和 28.7%。此外, YMTM 与 GXZR 处理蛋白桑的相对饲用价值显著提升 1.04 和 1.07 倍。这些结果表明, DSE 叶面涂抹促进蛋白桑对土壤 C、N 的吸收, 使蛋白桑株高、冠幅、根茎叶生物量也得到显著提升, 具有较强的碳汇作用。此外, DSE 菌液叶面涂抹能够使 DSE 快速定殖于蛋白桑叶片, 具有养分吸收快、利用率高、见效快的特点。因此, DSE 叶面涂抹可作为一种新的微生物菌肥施用方式在矿区生态修复中应用, 为煤矿区土地复垦与生态修复提供技术支撑。

关键词: 蛋白桑; 深色有隔内生真菌; 煤矿区; 生态修复

中图分类号: X171.4; S154.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1986(2023)02-0187-08

Effect of foliar application of DSE fungal solution on growth of *Morus alba* and its prospects of ecological restoration application

BI Yinli^{1,2}, WANG Zhuoyou¹, KE Zengming¹

(1. Institute of Ecological Environment Restoration in Mine Area of West China, Xi'an University of Science and Technology, Xi'an 710054, China; 2. Institute of Mine Ecological Environment Restoration, China University of Mining and Technology (Beijing), Beijing 100083, China)

Abstract: Microbial reclamation technology has been widely used in the ecological restoration of western arid and semi-arid coal mining areas. Convenient application of microbial agent has important significance for improving the efficiency of ecological management in coal-mining subsidence. Herein, this study tested with *Morus alba* as the study object, and the dark septate endophyte (DSE) as the test fungus. using a greenhouse pot experiment with three treatments, which including the root inoculation of DSE fungus (GXZR), foliar application of DSE fungus (YMTM) and control *Morus alba* (CK), this study investigated the effects of different inoculation methods on the growth of *Morus alba* and its ecological restoration prospects. The results show that: (1) Compared with CK, both YMTM and GXZR treatments could significantly increase the aboveground biomass of *Morus alba* by 1.9 to 3.3 times. (2) YMTM treatment also significantly increases the adsorption of *Morus alba* to carbon, nitrogen and phosphorus by 164.8%, 177.7% and 113.6% re-

收稿日期: 2022-12-08; 修回日期: 2023-02-05

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFF1303303); 国家自然科学基金项目(51974326)

第一作者: 毕银丽, 1971 年生, 女, 陕西米脂人, 博士, 长江学者特聘教授, 博士生导师, 从事矿山生态修复研究. E-mail: ylbi88@126.com

spectively, while the GXZR treatment has them increased by 121.8%, 132.4% and 28.7% respectively. (3) The relative forage value of *Morus alba* subjected to YMTM and GXZR treatment is significantly increased by 1.04 and 1.07 times respectively. These results indicate that YMTM could promote the uptake of soil carbon and nitrogen by *Morus alba*, resulting in a significant increase in plant height, crown size, and root and leaf biomass of *Morus alba* as well. Further, it realized a strong effect of carbon sink. Moreover, the YMTM could make DSE colonize the leaves of *Morus alba* rapidly, which has the characteristics of fast nutrient uptake, high utilization rate and quick effect. Therefore, YMTM could be applied as a new microbial fertilizer application method in the ecological restoration of mining areas, thus providing technical support for land reclamation and ecological restoration in coal mining areas.

Keywords: *Morus alba*; dark septate endophyte (DSE); coal mining area; ecological restoration

近年来,我国煤炭生产与消费占一次能源结构的70%左右^[1],且规模日益扩大。西部干旱-半干旱煤矿区是生态环境最为脆弱的地区之一,煤炭开采引起水土环境变化、植被退化、土地荒漠化,使原本脆弱的生态环境日趋恶化,资源开发与环境保护矛盾加剧^[2]。大量专家学者从生态修复和环境治理层面进行了探索与试验研究,矿山生态修复工作不仅关注生态环境效益^[3],更多关注其经济效益和社会效益。因而采用经济作物进行矿山生态治理不仅具有巨大的生态和经济效益,带动社会效应,而且可最大程度地挖掘并提高煤矿区土地产出和土地价值,是西部干旱-半干旱煤矿区绿色高效发展的一条新途径^[4]。

蛋白桑(*Morus alba*),又称饲料桑,落叶乔木或灌木,具有抗干旱、耐严寒、耐贫瘠、抗风沙、抗沙埋、适应性强等抗逆境特性^[5],同时桑叶产量高、蛋白质含量高、氨基酸种类丰富、纤维素含量低,且含有丰富的多种活性物质^[6],是禽畜饲料的天然营养保健剂^[7-8],具有极大的开发潜力和应用价值^[9],是西部干旱-半干旱采煤沉陷区进行生态环境修复的优选植物。

微生物复垦技术在生态修复中具有良好的土壤改良、促进植物根系发育等作用,是近年来西部干旱-半干旱采煤沉陷区植被恢复的一种新方法^[10]。深色有隔内生真菌(*Dark septate endophyte*, DSE)是一类能够定殖于植物根表皮、组织细胞内或细胞间隙内的内生真菌^[11],可以定殖菌根和非菌根植物。其产生的植物

激素^[12]、次生代谢产物^[13]、挥发性化合物^[14]和胞外多糖^[15]等物质可以促进植物对土壤中碳、氮、磷、钾等营养元素的吸收^[16-17],从而促进植物的生长发育^[17-20]。微生物菌剂可作为提升矿区经济作物品质的一种重要研究方向^[21],研究表明 DSE 菌液施加到土壤容易被土壤吸附或固定,降低菌肥效果,增加了菌肥施用量;通过叶面施加,可以最高效率促进菌液中有效成分被植物直接吸收,提高植物生长速率及品质^[22]。

煤炭开采造成矿区土地生产力降低,生态更为脆弱,采用传统土壤接种方法费工费力,采用叶面施肥的方式可大大提高接菌效率,为后续大面积叶面喷施微生物菌肥的可行性提供研究基础和技术支持。为比较叶面施肥和土壤施肥的施用效率,提高作物品质可行性,拟采用室内盆栽试验,从机理上研究蛋白桑根际土壤接种和叶面涂抹 DSE 菌液对蛋白桑生长和品质的影响,以期为煤矿区土地复垦提供一种新的微生物高效接种方法,从而促进矿山生态修复高效产业化发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究采用室内盆栽模拟试验,试验钵为直径 220 mm、高 320 mm 的花盆,经紫外线照射进行表面消毒(30 min)。填充土壤为河沙(2 mm 筛),土壤理化性质见表 1,并经高压蒸汽灭菌(121℃, 2 h)以消除土生的菌根真菌。

表 1 室内盆栽土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of indoor potting soil

密度/(g·cm ⁻³)	有机质含量/(g·kg ⁻¹)	全碳含量/(g·kg ⁻¹)	全氮含量/(g·kg ⁻¹)	全磷含量/(g·kg ⁻¹)	速效磷含量/(mg·kg ⁻¹)	速效钾含量/(mg·kg ⁻¹)
1.60±0.17	0.84±0.12	1.13±0.15	0.80±0.09	0.45±0.06	1.84±0.46	12.35±1.33

每个花盆装填河沙 10 kg,河沙中分别按氮水平 100 mg/kg、磷水平 30 mg/kg 和钾水平 150 mg/kg 施入 NH₄NO₃、KH₂PO₄ 和 KNO₃ 作为氮、磷和钾基肥。

供试菌剂为 DSE 菌株种属的链格孢属 *Alternaria* sp(保藏编号为 CGMCC No.17463),菌剂由西安科技大学西部矿山生态修复研究院自主培养获得。

DSE 菌液的制备方法:将活化的 DSE 接种于 PDA 固体培养基(PDA 为培育微生物的固体营养物质),于 28℃ 培养 7 d,在菌落边缘打孔,得到直径为 5 mm 的菌片;然后将菌片接种至 150 mL MMN(MMN 为培育微生物的液体营养物质)液体培养基中,恒温振荡培养(25℃、160 r/min)8 d,然后将制得菌液进行离心

(12 000 r/min, 15 min), 收集上清, 即 DSE 菌液。

供试蛋白桑品种为“杂交桂桑 12”。将蛋白桑种苗用无菌蒸馏水冲洗数遍, 种植于灭菌处理的花盆进行育苗。选取植株株高、冠幅、叶片数较为一致且健康的蛋白桑苗进行移栽, 每盆 1 株, 移栽深度均为 20 cm 左右。

1.2 试验设计及处理

试验设计: 为了比较土壤接菌和叶面施肥的效率, 从机理上揭示接菌对植物品质的影响, 设置 3 个处理, DSE 菌液接种于蛋白桑根际土壤(简称 GXZR, 下同)、涂抹蛋白桑叶片(YMTM)和不接菌对照(CK), 每个处理 3 个重复。

试验于 2021 年 5 月在西安科技大学雁塔校区西部矿山生态环境修复研究院温室内进行。蛋白桑秧苗移栽第 4 周后进行微生物接菌处理。GXZR 处理是将 200 mL DSE 菌液注入蛋白桑根际。叶面涂抹处理方法: 为保证蛋白桑植株接收 DSE 菌液单位面积涂抹浓度的相同, 选取大小相同的 5 片蛋白桑叶片, 采用刷子均匀轻涂抹于叶片, 防止菌液溅出与滴落, 以保证作用在叶片上的菌液浓度一致, 在 2 h 内将 5 mL 菌液完全涂抹完, 保持最终叶面涂抹浓度(即单位面积涂抹菌液体积)为 611.4 mL/m²。

试验在温室中进行, 温度维持在 20~25℃。每天光暗交替, 光照时间为 16 h, 用生物镓灯补充光照, 光照强度为 12 000~13 000 Lux, 试验周期为 80 d。土壤水分维持在田间持水量的 40%~50%。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 DSE 定殖情况

采用 Phillips&Hayman 的方法^[23]测定 DSE 定殖情况。结果表明 CK 处理植株根系未检测到菌根侵染, YMTM 处理的菌根侵染率为 68.5%, GXZR 处理的菌根侵染率为 50.0%。2 种不同接菌方式相比, YMTM 和 GXZR 处理较 CK 分别显著提升 97% 和 119%。

1.3.2 蛋白桑生长指标

采集各处理蛋白桑的鲜叶、茎和根系, 用自封袋

封存, 并迅速在实验室于 4℃ 冰箱中冷藏保存。用乙醇浸取法测定叶绿素^[24]; 采集蛋白桑的根、茎、叶称量鲜重, 将其在 105℃ 杀青 30 min, 并在 60℃ 烘至恒重^[25], 称量干重; 茎叶比为茎鲜重与叶鲜重的比值。

1.3.3 蛋白桑植物养分及品质指标

将烘干植物样品进行粉碎, 过筛(0.25 mm), 称取 50 mg 样品用锡纸包裹进入元素分析仪(vario MACRO cube.elementar)对植物的全碳(C)、全氮(N)进行测定。称取 0.1 g 样品置于 100 mL 的消煮管中, 采用 H₂SO₄-H₂O₂ 消煮法进行消煮, 运用 ICP(ICP-OES, Optima 5300DV, Perkin Elmer, Waltham, MA)测定全磷(P)。对烘干样进行粉碎过筛(1 mm)称取 0.5 g 样品放入 ringbio 滤袋, 用范氏法^[26]纤维素分析仪(Automatic Fiber Analyzer, R-2000)测定中性洗涤纤维(Neutral Detergent Fiber, NDF, %)、酸性洗涤纤维(Acid Detergent Fiber, ADF, %), 结果以干物质基础平均数表示(即烘干后样品质量)。相对饲用价值(Relative Feedvalue Value, RFV)、干物质采食量(Plant Dry Matter Intake, DMI, %)以及可消化干物质(Plant Digestible Drymatte, DDM, %)按照张吉颀^[27]的方法计算: RFV=DMI×DDM/1.29; DMI=120/NDF; DDM=88.9-0.779×ADF。

1.4 数据处理及统计分析

所有数据采用 Excel 2003 软件进行平均值和标准误差计算; 采用 IBM SPSS Statistics 21 进行单因素(one-way ANOVA)方差分析(Duncan 检验法), 显著性差异水平设置为 $\alpha=0.05$; 运用 Origin 2018 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 不同处理蛋白桑生长指标及生物量

表 2 为不同处理蛋白桑的生长指标, 结果表明 YMTM 和 GXZR 处理较 CK 显著提升 2.9 和 1.9 倍; 叶鲜重以 YMTM 处理最佳, 较 CK 处理显著提升 3.5 倍, GXZR 较 CK 提升 190%。与 CK 相比, YMTM 和 GXZR 处理的茎叶比分别降低 32.8% 和 23.5%。同时, YMTM 和 GXZR 处理的株高和冠幅也显著提高。

表 2 不同处理蛋白桑的生长指标
Table 2 Growth indexes of different treatments of Morus alba

处理	根鲜重/g	茎鲜重/g	叶鲜重/g	茎叶比	株高/cm	冠幅/cm
CK	3.67±0.34b	1.70±0.23b	3.01±1.19b	0.74±0.08a	27.33±1.76b	15.93±1.96b
YMTM	7.22±1.01a	6.58±0.90a	13.52±2.67a	0.50±0.05b	57.57±5.62a	28.77±3.50a
GXZR	8.05±0.26a	4.95±0.17a	8.72±0.51ab	0.57±0.02ab	47.80±1.68a	28.67±1.27a

注: 表中不同小写字母表示同列不同处理间具有显著性差异($\alpha<0.05$), 下同。

不同处理下蛋白桑地上、地下生物量和总生物量如图 1 所示。YMTM 与 GXZR 处理地下生物量较

CK 分别显著提升 1.0 倍和 1.2 倍, 地上生物量显著提高 3.3 倍和 1.9 倍, 总生物量显著提高 226.1% 与 159.6%。

有研究发现,在甘蔗茎部近芽处的切面有与 DSE 相似的真菌结构,因此推测,DSE 不仅能在植物根中定殖,也可能侵染到植物茎秆,该推测有待进一步证实^[16],本研究发现,GXZR 与 YMTM 处理蛋白桑根系均存在 DSE 侵染,YMTM 处理蛋白桑根系侵染 DSE 高达 68%,因此推测 DSE 不仅能在植物根中定殖,也可能从叶片侵染到茎秆最终到达根部。

2.2 DSE 菌液对蛋白桑叶绿素含量的影响

相较 CK 处理,YMTM 处理叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量显著增加了 53.78%、53.49% 和 53.30%,GXZR 处理分别提升了 0.21、0.20 和 0.21 倍(表 3)。综合比较表明 YMTM 处理对蛋白桑叶绿素含量的影响高于 GXZR 处理。

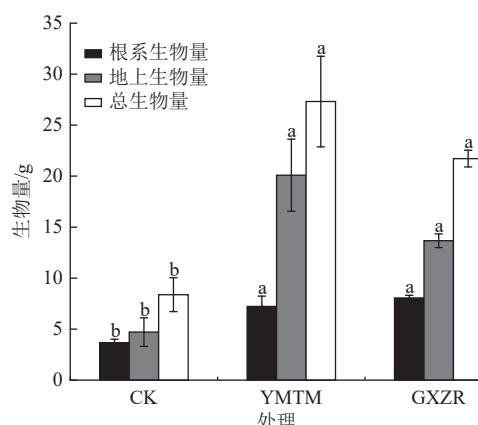


图 1 不同处理下蛋白桑地上、地下生物量和总生物量
Fig.1 The aboveground and underground biomass and total biomass of Morus alba under different treatments

表 3 不同处理对蛋白桑叶绿素含量的影响
Table 3 Effect of different treatments on chlorophyll content of Morus alba

处理	叶绿素a含量/(mg·g ⁻¹)	叶绿素b含量/(mg·g ⁻¹)	总叶绿含量/(mg·g ⁻¹)
CK	0.85±0.08b	0.49±0.05b	1.34±0.12b
YMTM	1.30±0.11a	0.75±0.06a	2.06±0.17a
GXZR	1.02±0.06ab	0.59±0.08ab	1.61±0.13ab

2.3 不同处理蛋白桑植株各器官 C、N、P 含量

不同处理蛋白桑植株各器官 C、N、P 含量如图 2 所示。YMTM 处理蛋白桑叶片 C 含量较 CK 和 GXZR 处理分别提升 5.5% 和 5.8%; YMTM 与 GXZR 处理根部位 C 含量较 CK 处理提升 12.3%~13.6%; 同

一处理不同部位间并无显著差异。GXZR 处理叶片 N 含量比 YMTM 和 CK 处理显著高 16.5% 和 16.2%; 而茎、根部位 CK 处理均高于 GXZR 和 YMTM 处理; 相同处理叶片 N 含量显著高于茎、根部位。YMTM 处理叶片 P 含量最高,比 CK 处理提升 15.9%。

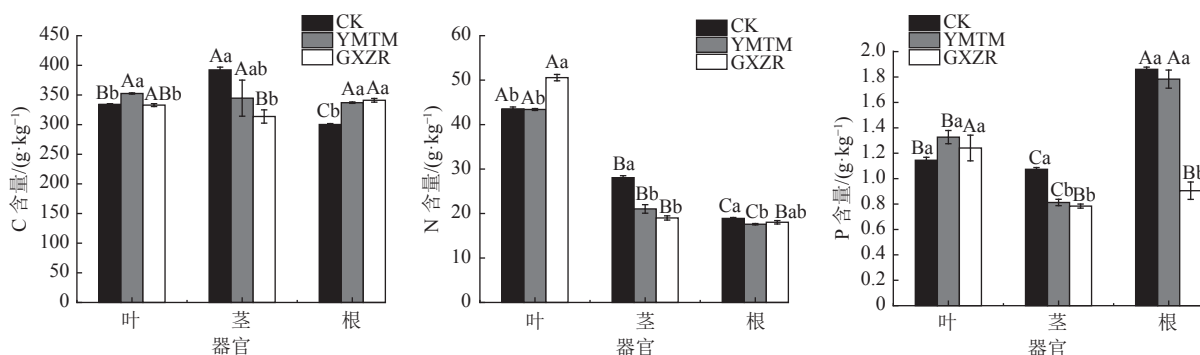


图 2 不同处理蛋白桑植株各器官 C、N、P 含量
Fig.2 C, N and P in organs of Morus alba plant with different protein treatments

2.4 不同处理土壤及蛋白桑植株 C、N、P 含量

表 4 为不同处理土壤及蛋白桑植株 C、N、P 含量。相较 CK 处理,YMTM 和 GXZR 处理均能提高了土壤 C、N 含量,其中 YMTM 处理较 CK 处理土壤 C、N 含量分别增加 60.1% 和 26%。YMTM 和 GXZR 处理蛋白桑植株 C、N 总积累量较 CK 处理分别提高 1.2~1.7 倍、1.3~1.8 倍。相较 CK 处理,YMTM 和 GXZR 处理土壤 P 含量显著降低 36.9% 和 27.6%,然

而蛋白桑植株 P 含量分别增加 113.6% 和 28.7%。

2.5 不同处理蛋白桑饲养价值

图 3、图 4 为蛋白桑不同部位间饲用品质含量。相较 CK 处理,DSE 菌液接种处理蛋白桑叶片的 NDF、ADF 含量降低,RFV 值增加。所有处理蛋白桑叶部位的 ADF 和 NDF 含量均低于茎部位。YMTM 与 GXZR 处理相较 CK 处理显著降低叶片及地上部的 ADF 含量 41.3%~41.4%, 15.4%~18.0%,茎部位的 ADF

表 4 不同处理土壤及蛋白桑植株 C、N、P 含量
Table 4 C, N and P in soil and *Morus alba* plants under different treatments

处理	全碳(C)		全氮(N)		全磷(P)	
	土壤含量/(g·kg ⁻¹)	植株总累积量/g	土壤含量/(g·kg ⁻¹)	植株总累积量/g	土壤含量/(g·kg ⁻¹)	植株总累积量/g
CK	0.99±0.03b	1 116.44±163.31b	0.10±0.01b	86.11±11.74b	0.38±0.03a	5.54±0.73b
YMTM	1.59±0.24a	2 956.34±478.30a	0.13±0.01a	239.13±39.00a	0.24±0.02b	11.84±1.95a
GXZR	1.19±0.07ab	2 476.28±163.30a	0.11±0.01ab	200.08±7.33a	0.28±0.03b	7.14±0.49b

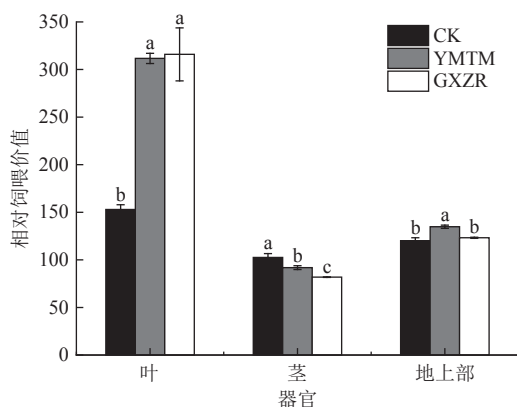
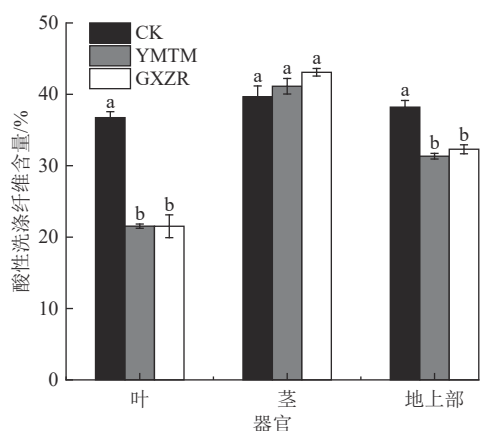
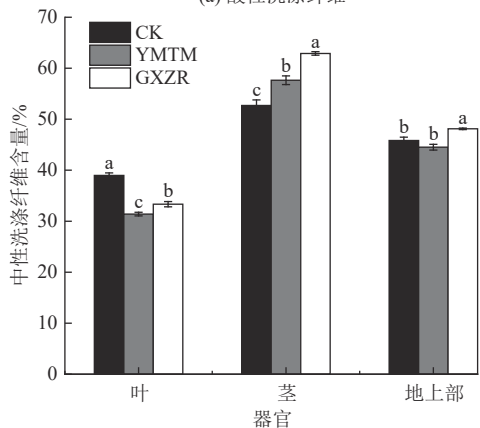


图 4 不同处理下蛋白桑的相对饲喂价值

Fig.4 RFV of *Morus alba* under different treatments



(a) 酸性洗涤纤维



(b) 中性洗涤纤维

图 3 不同处理下蛋白桑的中性和酸性洗涤纤维含量

Fig.3 NDF content and ADF content of *Morus alba* under different treatments

各处理间无显著性差异,地上部 ADF 含量相较 CK 处理 YMTM 与 GXZR 显著降低 18.0% 与 15.4%。NDF 含量叶片部位 YMTM 处理和 GXZR 处理相较 CK 处理均显著性降低 19.5% 和 14.5%,茎部位与地上部位 GXZR 处理含量显著高于 YMTM 与 GXZR 处理。RFV 叶片部位高于茎部位,叶部位 YMTM 处理与 GXZR 处理相较 CK 处理分别显著提升 1.04 倍和 1.07 倍,茎部位 CK 处理显著高于其他处理,地上部位 YMTM 显著高于 CK 处理(12.2%) 和 GXZR 处理(9.4%)。

3 讨论

我国煤炭基地主要集中在生态环境脆弱的干旱—半干旱区,地下煤炭开采形成大面积采空区,易诱发表沉陷,地裂缝发育、根系拉伤、植被退化等一系列的生态环境问题,给矿区土地复垦与生态修复造成严重制约^[28]。近年来,微生物复垦技术在矿区广泛应用已经取得了良好的生态效应。矿区微生物复垦通常采用人工接菌的方法,存在户外作业危险性大,工期较长,人工成本高,接菌均匀度低等问题。DSE 作为微生物复垦技术常用的菌种之一,可以定植于宿主植物根表皮、皮层,并在维管束组织细胞内和细胞间隙形成菌丝。研究发现甘蔗茎部近芽处存在与 DSE 相似的真菌结构^[16],表明植物地上部分也可作为接种 DSE 的一种方式。同时,毕银丽等^[29]发现 DSE 菌液含有 137 种化合物,其中氨基酸和肽类化合物可以作为有效的肥料促进植物生长,促进矿区土壤养分的增加,具备作为叶面肥的潜力。

DSE 菌液叶面涂抹与根际接种均提高了植株株高、冠幅、根茎叶生物量,这与 Li Xia 等^[30]的研究结果相似。DSE 定殖后协同植物根系分泌出大量有机酸和活性酶,有利于土壤中难溶性营养元素转换为离子态供植物快速吸收利用,起到增加土壤 C、N、P 的养分含量和延长供给时间的作用^[31]。同时 DSE 与宿主植物互惠共生,具有植物—土壤之间的桥梁作用,增大土壤与植物根系营养传导的途径,从而提升植物对土壤中营养元素的吸收效率,增加植物各部位营养物质积累,促进植株生长^[32-33]。此外,DSE 提高了植株光

合作用也是一个重要的原因,研究表明 2 个 DSE 接种处理均提高了蛋白桑叶绿素含量^[30]。DSE 菌液叶面涂抹与根际接种显著提升蛋白桑叶相对饲用品质,该结果与魏勇等^[34] 研究结果相似。纤维含量是评价牧草品质的重要指标,纤维含量越低动物消化率越低,饲用品质越高^[26]。本研究发现 DSE 促进蛋白桑植株的生长发育,降低了叶片木质化比例,表现出接种 DSE 处理蛋白桑叶片 ADF 和 NDF 含量均显著低于 CK 处理,而 RFV 显著高于 CK 处理^[35]。

研究表明,DSE 菌液叶面涂抹方式在蛋白桑提质增产方面优于根际接种处理,前者蛋白桑茎鲜重、叶鲜重、株高、冠幅均高于后者,这是因为植物体内 90% 的干物质累积,直接、间接来自叶片的光合作用。叶面涂抹处理菌液直接作用于叶片,菌液中营养物质可以直接被叶片吸收,同时降低蛋白桑茎叶比,优化蛋白桑生长结构,提高光合作用接触面积,提高蛋白桑叶片光合速率,促进叶片生长及生物量的累积,从而提升蛋白桑地上部整体的 RFV 值。而 DSE 根际接种是作用于植株根系,很难有效定殖于蛋白桑地上部分的器官中,对叶片叶绿素含量及潜在的光合速率影响低于 DSE 菌液叶面涂抹处理。

叶面涂抹 DSE 菌液具有在矿区生态修复的应用前景。一方面,DSE 菌液具备叶面肥的应用潜力。相较于土壤施肥,DSE 叶面施肥具有针对性强,施肥用量少,养分吸收运转效率高,产效显著等优点,适应于土壤环境干旱、低湿、过酸过碱等不良因素造成根系吸收作用受阻等境况^[36]。同时,DSE 菌液具有较强的黏性,能够很好地附着在植物叶片上,在植物叶片表面形成保护膜,减少采煤沉陷区恶劣环境对植物生长的创伤。基于上述 DSE 菌液的特性,采用无人机叶面施肥是一个较好的方式,该技术具有快速、高效、安全、人工成本低、工期短等优点,在地质条件恶劣的采煤沉陷区进行微生物复垦具有较大优势^[37]。另一方面,DSE 叶面涂抹促进蛋白桑对 C、N 元素的吸收,分别比根际接种处理显著提升 19.4%、19.5%,同时通过提高了蛋白桑叶绿素含量增加地上生物量,具有较强的固碳作用,对于实现绿色矿山高质量发展和我国“双碳”目标具有重要意义。此外,DSE 菌液叶面涂抹提升了蛋白桑叶片的饲用品质,提高矿区生态修复所产生的经济价值,达到“以修复实现复垦,以复垦创造产业,以产业发展经济,以经济回馈修复”的良性循环,从而加快矿区生态修复的进程^[4]。

4 结论

a. DSE 菌液叶面涂抹与根际接种均促进了蛋白

桑对 C、N、P 元素的吸收,增加了叶片叶绿素含量,提高了光合作用速率,促进了蛋白桑地上部分生长发育,并显著提升蛋白桑叶片的相对饲用品质,提升蛋白桑在矿区复垦中的生态和经济效益。

b. 相较于传统的根际接种,DSE 菌液叶面涂抹能够使 DSE 快速定殖于蛋白桑叶片,协同菌液的营养成分大大提高了蛋白桑的生物量,同时该方式具有养分吸收快、利用率高、见效快的特点,为采煤沉陷区生态复垦提供了一种新的微生物菌肥施用方式。

c. DSE 叶面涂抹促进蛋白桑对 C、N 元素的吸收,分别比根际接种处理显著提高 19.4%、19.5%,同时蛋白桑株高、冠幅、根茎叶生物量也得到显著提升,具有较强的固碳作用,对于实现绿色矿山高质量发展和我国“双碳”目标具有重要意义。

参考文献(References)

- [1] 钱鸣高,许家林,王家臣. 再论煤炭的科学开采[J]. 煤炭学报, 2018, 43(1): 1-13.
QIAN Minggao, XU Jialin, WANG Jiachen. Further on the sustainable mining of coal[J]. Journal of China Coal Society, 2018, 43(1): 1-13.
- [2] 雷少刚,卞正富. 西部干旱区煤炭开采环境影响研究[J]. 生态学报, 2014, 34(11): 2837-2843.
LIE Shaogang, BIAN Zhengfu. Research progress on the environment impacts from underground coal mining in arid western area of China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(11): 2837-2843.
- [3] 邓小芳. 中国典型矿区生态修复研究综述[J]. 林业经济, 2015, 37(7): 14-19.
DENG Xiaofang. China's typical mining area ecological restoration research review[J]. Forestry Economics, 2015, 37(7): 14-19.
- [4] 陈玉碧,黄锦楼,徐华清,等. 内蒙古半干旱生态脆弱矿区生态修复耦合机理与产业模式[J]. 生态学报, 2014, 34(1): 149-153.
CHEN Yubi, HUANG Jinlou, XU Huaqing, et al. The coupling mechanism and industrialization mode of ecological restoration in the weak semi arid mining area of Inner Mongolia[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(1): 149-153.
- [5] 李敏,李钢铁,张宏武,等. 平茬对3种苗木来源蛋白桑林地土壤理化性质的影响[J]. 中国农业科技导报, 2022, 24(1): 172-182.
LI Min, LI Gangtie, ZHANG Hongwu, et al. Effects of stubble on soil physical and chemical properties of three kinds of protein mulberry forest[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2022, 24(1): 172-182.
- [6] 杜周和,左艳春,严旭,等. 饲料桑生理活性物质及其饲用价值[J]. 草业学报, 2017, 26(10): 227-236.
DU Zhouhe, ZUO Yanchun, YAN Xu, et al. Physiological activation and feed value of mulberry for livestock and poultry[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2017, 26(10): 227-236.
- [7] 刘小明,曾玉华. 饲料中添加桑叶粉对蛋鸡产蛋性能和鸡蛋品

- 质的影响[J]. 湖南农业科学, 2011(11): 132–133.
- LIU Xiaoming, ZENG Yuhua. Effects of adding mulberry–leaf powder to feed on laying performance of layers and egg quality[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2011(11): 132–133.
- [8] 吴萍, 厉宝林, 李龙, 等. 日粮中添加桑叶粉对黄羽肉鸡生长性能、屠宰性能和肉品质的影响[J]. 中国家禽, 2007, 29(7): 13–15.
- WU Ping, LI Baolin, LI Long, et al. Effect of dietary mulberry powder on growth performance, slaughter performance and meat quality of yellow–feather broilers[J]. China Poultry, 2007, 29(7): 13–15.
- [9] 黄黔. 我国食物供需格局变化和光温水资源战略配置[J]. 草业学报, 2010, 19(2): 1–6.
- HUANG Qian. Changes of food supply–demand pattern and strategic allocation of sunlight warmth and water resources in China[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2010, 19(2): 1–6.
- [10] 毕银丽. 丛枝菌根真菌在煤矿区沉陷地生态修复应用研究进展[J]. 菌物学报, 2017, 36(7): 800–806.
- BI Yinli. Research advance of application of arbuscular mycorrhizal fungi to ecological remediation in subsided land of coal mining areas[J]. Mycosystema, 2017, 36(7): 800–806.
- [11] ADDY H D, PIERCEY M M, CURRAH R S. Microfungal endophytes in roots[J]. Canadian Journal of Botany, 2005, 83(1): 1–13.
- [12] RONDINA A B L, SANZOVO A W D S, GUIMARAES G S, et al. Changes in root morphological traits in soybean co–inoculated with Bradyrhizobium spp. and Azospirillum brasilense or treated with A. brasilense exudates[J]. Biology and Fertility of Soils, 2020, 56: 537–549.
- [13] GUNATILAKA A A L. Natural products from plant–associated microorganisms: Distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence[J]. Journal of Natural Products, 2006, 69(3): 509–526.
- [14] WANI Z A, ASHRAF N, MOHIUDDIN T, et al. Plant–endophyte symbiosis, an ecological perspective[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(7): 2955–2965.
- [15] NASEEM H, AHSAN M, SHAHID M A, et al. Exopolysaccharides producing rhizobacteria and their role in plant growth and drought tolerance[J]. Journal of Basic Microbiology, 2018, 58(12): 1009–1022.
- [16] FORS R O, SAGGIN J O J, CARNEIRO M A C, et al. Selection of arbuscular mycorrhizal fungi for sugarcane in four soils with the presence of dark septate endophytes[J]. Acta Scientiarum: Agronomy, 2019, 42: e42477.
- [17] 毕银丽, 解琳琳. 丛枝菌根真菌与深色有隔内生真菌生态修复功能与作用[J]. 微生物学报, 2021, 61(1): 58–67.
- BI Yinli, XIE Linlin. Functions of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes in ecological restoration[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(1): 58–67.
- [18] 毕银丽, 申慧慧. 西部采煤沉陷地微生物复垦植被种群自我演变规律[J]. 煤炭学报, 2019, 44(1): 307–315.
- BI Yinli, SHEN Huihui. Effect of micro–reclamation on different planted forest on the vegetation self–succession in the western mining subsidence area[J]. Journal of China Coal Society, 2019, 44(1): 307–315.
- [19] SURENDIRAKUMAR K, CHONGTHAM I, PANDEY R R, et al. Arbuscular mycorrhizal and dark septate endophytic fungal symbioses in Parkia timoriana (DC.) Merr. and Solanum betaceum Cav. plants growing in North East India[J]. Vegetos, 2021, 34: 761–774.
- [20] BI Yinli, XIAO Li, SUN Jinhua. An arbuscular mycorrhizal fungus ameliorates plant growth and hormones after moderate root damage due to simulated coal mining subsidence: A microcosm study[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26(11): 11053–11061.
- [21] ZHU Qiang, ZHANG Min, MA Qiang. Copper–based foliar fertilizer and controlled release urea improved soil chemical properties, plant growth and yield of tomato[J]. Scientia Horticulturae, 2012, 143: 109–114.
- [22] GIUSEPPE C, LORI H, MAURIZIO R, et al. Biostimulant action of protein hydrolysates: Unraveling their effects on plant physiology and microbiome[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 2202.
- [23] 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): 158–161.
- [24] 靳丰璐, 陈利青, 张晋丽, 等. 不同光照强度对糜子叶色黄化突变体幼苗的影响[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2021, 41(5): 26–34.
- JIN Fenglu, CHEN Liqing, ZHANG Jinli, et al. Effects of different illumination intensities on yellow leaf mutant seedlings of broomcorn millet[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2021, 41(5): 26–34.
- [25] 王红林, 左艳春, 周晓康, 等. 高密度草本化栽培对饲料桑全株产量及品质的影响[J]. 草业科学, 2020, 37(5): 952–962.
- WANG Honglin, ZUO Yanchun, ZHOU Xiaokang, et al. Influence of high planting density herbal cultivating on yield and quality of whole–plant mulberry (Morus alba)[J]. Prataculturae Sinica, 2020, 37(5): 952–962.
- [26] 王红林, 左艳春, 严旭, 等. 刈割高度与施氮量对饲料桑全株产量及营养品质的影响[J]. 草业学报, 2021, 30(11): 203–211.
- WANG Honglin, ZUO Yanchun, YAN Xu, et al. Effect of cutting height and nitrogen fertilizer rate on yield and nutritive value of whole–plant mulberry (Morus alba)[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2021, 30(11): 203–211.
- [27] 张吉鹏. 反刍家畜粗饲料品质评定的指标及其应用比较[J]. 中国畜牧杂志, 2006, 42(5): 47–50.
- ZHANG Jikun. Quality evaluation parameters of ruminant coarse fodder and their application comparison[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2006, 42(5): 47–50.
- [28] 王双明, 杜麟, 宋世杰. 黄河流域陕北煤矿区采动地裂缝对土壤可蚀性的影响[J]. 煤炭学报, 2021, 46(9): 3027–3038.
- WANG Shuangming, DU Lin, SONG Shijie. Influence of mining ground fissures on soil erodibility in northern Shaanxi coal mining area of Yellow River Basin[J]. Journal of China Coal Society, 2021, 46(9): 3027–3038.
- [29] 毕银丽, 彭苏萍, 王淑惠. 西部煤矿区深色有隔内生真菌修复

- 机理与生态应用模式[J]. 煤炭学报, 2022, 47(1): 460–469.
- BI Yinli, PENG Suping, WANG Shuhui. Restoration mechanism and ecological application model of dark septate endophytic fungi in western mining area[J]. Journal of China Coal Society, 2022, 47(1): 460–469.
- [30] LI Xia, HE Xueli, HOU Lifeng, et al. Dark septate endophytes isolated from a xerophyte plant promote the growth of *Ammodiptanthus mongolicus* under drought condition[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 7896.
- [31] MONICA I F D, SAPARRAT M C N, GODEAS A M, et al. The co-existence between DSE and AMF symbionts affects plant P pools through P mineralization and solubilization processes[J]. *Fungal Ecology*, 2015, 17: 10–17.
- [32] YAKTI W, KOVACS G M, VAGI P, et al. Impact of dark septate endophytes on tomato growth and nutrient uptake[J]. *Plant Ecology & Diversity*, 2018, 11(5/6): 637–648.
- [33] SASSE J, MARTINOIA E, NORTHE T. Feed your friends: Do plant exudates shape the root microbiome?[J]. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(1): 25–41.
- [34] 魏勇, 吴茜茜, 李应德, 等. AM真菌和根瘤菌对紫花苜蓿生长及其营养价值的影响[J]. 草业科学, 2020, 37(6): 1115–1123.
- WEI Yong, WU Xixi, LI Yingde, et al. Effects of an arbuscular mycorrhizal fungus and rhizobium on the growth and nutritional value of *Medicago sativa*[J]. *Pratacultural Science*, 2020, 37(6): 1115–1123.
- [35] 孙艳梅, 张前兵, 苗晓茸, 等. 解磷细菌和丛枝菌根真菌对紫花苜蓿生产性能及地下生物量的影响[J]. 中国农业科学, 2019, 52(13): 2230–2242.
- SUN Yanmei, ZHANG Qianbing, MIAO Xiaorong, et al. Effects of phosphorus-solubilizing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on production performance and root biomass of alfalfa[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(13): 2230–2242.
- [36] 沈德军. 农作物叶面施肥的意义、机理及技术要点[J]. *安徽农学通报*, 2012, 18(12): 111.
- SHEN Dejun. Significance, mechanism and technical points of crop foliar fertilization[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2012, 18(12): 111.
- [37] 刘壮. 无人机在矿山生态修复工程中的应用: 以会昌县背坑矿为例[J]. 中国高新科技, 2022(14): 153–156.
- LIU Zhuang. Application of unmanned aerial vehicle in mine ecological restoration project: Taking Huichang County Beikeng Mine as an example[J]. *China High and New Technology*, 2022(14): 153–156.

(责任编辑 周建军)