



## 接种 AMF 和 DSE 对蛋白桑提质增产效应的影响

毕银丽<sup>1,2\*</sup>, 王茁优<sup>1</sup>, 全文智<sup>1</sup>, 杨帆<sup>3</sup>, 秦芳玲<sup>4</sup>

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

3 陕煤集团神木张家峁矿业有限公司, 陕西 榆林 719314

4 西安石油大学化学化工学院 陕西省油气田环境污染与储层保护重点实验室, 陕西 西安 710065

毕银丽, 王茁优, 全文智, 杨帆, 秦芳玲. 接种 AMF 和 DSE 对蛋白桑提质增产效应的影响. 微生物学报, 2022, 62(10): 4057–4070.

Bi Yinli, Wang Zhuoyou, Quan Wenzhi, Yang Fan, Qin Fangling. Effects of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophyte on the quality and yield of *Morus alba*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(10): 4057–4070.

**摘要:**【目的】探究丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhiza fungi, AMF)和深色有隔内生真菌(dark septate endophyte, DSE)对蛋白桑(*Morus alba*)产量及品质的影响。【方法】采用盆栽试验,以丛枝菌根真菌和深色有隔内生真菌为微生物处理菌剂,通过设置单接种 DSE、单接种 AMF 和联合接种 DSE+AMF 3 种不同微生物组合研究对蛋白桑生长、产量和品质等影响,探索微生物菌剂对生态饲料作物蛋白桑的经济潜力。【结果】与未接菌处理(CK)相比,3 种接菌处理均能显著促进蛋白桑地上部生长,提高地上部生物量,增加幅度为 156.4%–196.6%;接菌微生物提高了蛋白桑的光合速率,增加了植物叶片氮、磷、钾的累积,提高蛋白桑的产量。接种微生物会使蛋白桑叶粗蛋白含量提升,降低饲料纤维营养价值,从而综合改善蛋白桑品质。微生物处理能够显著增加蛋白桑的叶茎比,提升了蛋白桑叶片的比例,优化生长结构,不同微生物处理对蛋白桑叶片各饲用品质指标的影响较其相应茎部更为明显,可以根据桑叶和茎秆的蛋白含量进行合理搭配获得饲料不同品级,从整体水平上提升蛋白桑地上部植株的饲用品质。接种微生物均对蛋白桑饲用品质等级得到极大提升,显著降低了酸性洗涤纤维和中性洗涤纤维含量,降低幅度分别为 18.4%–34.6%

**基金项目:** 国家自然科学基金(51974326); 首都科技领军人才资助项目(Z1811000631802); 陕西省自然科学基金基础研究计划(2022JQ-436); 陕煤化集团重大资助项目(2018SMHKJ-A-J-03)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (51974326), by the Capital Science and Technology Leading Talent Project (Z1811000631802), by the Shaanxi Natural Science Foundation Program (2022JQ-436) and by the Shaanxi Coal Group Key Project (2018SMHKJ-A-J-03)

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-10-62339048; E-mail: ylb188@126.com

Received: 1 March 2022; Revised: 14 April 2022; Published online: 10 June 2022

和 41.0%–45.4%；接菌处理各蛋白桑的相对饲用价值范围在 220.0–241.5，显著提高 0.8–1.0 倍，且维生素 C 含量、含糖量和生物碱含量等均有增加。【结论】采用主成分分析方法，按照对蛋白桑产量和品质的综合影响大小的贡献排序，依次为：AMF+DSE>DSE>AMF>CK，DSE 可作为采煤沉陷区生物修复中经济作物蛋白桑的优选微生物菌剂，能促进蛋白桑的产量并提升品质。

**关键词：**蛋白桑；丛枝菌根真菌；深色有隔内生真菌；主成分分析；饲用品质

## Effects of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophyte on the quality and yield of *Morus alba*

BI Yinli<sup>1,2\*</sup>, WANG Zhuoyou<sup>1</sup>, QUAN Wenzhi<sup>1</sup>, YANG Fan<sup>3</sup>, QIN Fangling<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institute of Ecological Environment Restoration in Mine Area of West China, Xi'an University of Science and Technology, Xi'an 710054, Shaanxi, China

<sup>2</sup> Institute of Mine Ecological Environment Restoration, China University of Mining and Technology (Beijing), Beijing 100083, China

<sup>3</sup> Shennu Zhangjiamao Mining Co., Ltd., Shaanxi Coal Group, Yulin 719314, Shaanxi, China

<sup>4</sup> Key Laboratory of Shaanxi Province for Environmental Pollution Control and Reservoir Protection Technologies in Oil and Gas Field, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xi'an Shiyou University, Xi'an 710065, Shaanxi, China

**Abstract: [Objective]** To investigate the effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and dark septate endophyte (DSE) on the yield and quality of *Morus alba*. **[Methods]** Pot experiment was conducted, and AMF and DSE were used as bacteria agents for microbial treatment. The effects of AMF and DSE on the growth, yield, and quality of *M. alba* and the economic potential of microbial agents on the ecological feed crop *M. alba* were explored by setting up three different microbial combinations (DSE alone, AMF alone, and combined inoculation of DSE+AMF). **[Results]** Compared with the control check (CK), the three treatments with different bacteria agents significantly promoted the aboveground growth of *M. alba* and increased the aboveground biomass, with an increase range of 156.4%–196.6%. Microorganisms with the inoculation of bacteria enhanced the photosynthetic rate of *M. alba*, and increased the accumulation of nitrogen, phosphorus, and potassium of the leaves, thereby increasing the yield of *M. alba*. In addition, microorganisms with the inoculation of bacteria increased the crude protein content of leaves and reduced the nutritional value of feed fiber, thus comprehensively improving the quality of *M. alba*. Microbial treatments significantly increased the leaf-to-stem ratio of *M. alba*, and increased the proportion of leaves in *M. alba*, so as to optimize the growth structure. The effect of microbial treatments on the forage quality indexes of *M. alba* leaves was more significant than that of *M. alba* stems. Different grades of forage quality were obtained by rationally matching the protein content of leaves and stems, thus improving the overall forage quality of the aboveground part of *M. alba*. Microorganisms with the inoculation of bacteria greatly improved the forage quality of *M. alba*, and significantly reduced the content of acid detergent fiber and neutral detergent fiber by 18.4%–34.6% and 41.0%–45.4%, respectively. In terms of the *M. alba* with the inoculation of bacteria,

the relative forage value ranged from 220.0 to 241.5, significantly increasing by 0.8 to 1.0 times, and the content of vitamin C, sugar, and alkaloids increased as well. **[Conclusion]** By the principal component analysis, the order of the comprehensive effect of different bacteria agents on the yield and quality of *M. alba* was: AMF+DSE>DSE>AMF>CK. DSE, as the bacteria agent for microbial treatment, could optimize *M. alba*, the economic crops, in the bioremediation of coal mining subsidence areas, and promote the yield and quality of *M. alba*.

**Keywords:** *Morus alba*; arbuscular mycorrhizal fungi; dark septate endophyte; principal component analysis; forage quality

蛋白桑(*Morus alba*)是一种多年生、广适性木本植物,具有抗干旱、耐严寒、耐贫瘠、抗风沙、生长迅速、抗沙埋能力强等特性。蛋白桑,又称为饲料桑,因其桑叶产量高、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(如类胡萝卜素、维生素、桑黄酮、槲皮素、桑多糖、生物碱等)<sup>[1]</sup>,是禽畜饲料的天然营养保健剂<sup>[2]</sup>。因此,作为动物的非常规饲料,在我国的畜牧业具有极大的开发潜力和应用价值<sup>[3]</sup>。

目前针对蛋白桑的研究主要集中于不同种植密度对饲料桑品质的影响<sup>[4]</sup>、不同品种的桑树的桑叶营养价值<sup>[5-6]</sup>,以及桑叶的药用成分<sup>[7]</sup>及对畜牧养殖方面的应用<sup>[2]</sup>。西部煤炭开采导致大量土地受损,生产力下降,既要高效土地复垦提高土地利用效率又要增加土地产出,蛋白桑的提质增产成为矿区土地复垦与生态修复的新关注点。近年来我国西部矿区采煤沉陷地利用菌根真菌等微生物技术进行大规模矿区土地复垦,已经取得较好的生态修复效应<sup>[8]</sup>,但对当地经济作物品质的研究鲜有报道。

丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhiza fungi, AMF)和深色有隔内生真菌(dark septate endophyte, DSE)是自然界植物根际分布广泛的两类内生真菌。大量研究表明,AMF和DSE均具有促进植物生长、改善营养运移、提高植物抗病性和抵御不良环境胁迫的功能,与其他土壤微生物

之间具有共生协同关系,可增加代谢物传递效率,改善土壤微环境,促进植物根际微生物活动,从而促进植物的生长发育<sup>[9-10]</sup>,提升植物果实中维生素C、可溶性糖、有机酸、可溶性蛋白等营养品质指标的含量<sup>[11]</sup>。目前,利用AMF与DSE促进蛋白桑增产并提升其品质的相关研究报道很少,本文通过室内盆栽实验,研究接种AMF、DSE及联合菌剂对蛋白桑生长和桑叶品质的影响,优选出促进蛋白桑生长及提升品质的微生物菌剂,为提升经济作物产量及品质提供理论依据和技术支持,具有重要的生态修复潜力与价值。利用有机生物技术提高饲草品质带动本地畜牧产业,具有较好的生态、经济和社会效应。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 供试基质

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的温室内进行。试验基质为河沙(2 mm筛),经高压蒸汽灭菌(121 °C, 2 h)以消除土著微生物。

#### 1.1.2 供试菌剂

AMF: 供试菌剂为AMF中的摩西管柄囊霉(*Funneliformis mosseae*, F.m),孢子密度为66个/g基质,由西安科技大学西部矿山生态环境修复研究院自主扩繁培养获得,该菌剂为含有菌根菌丝、

孢子和侵染根段的砂土混合物。DSE: 供试菌株属于链格孢属(*Alternaria*, sp.), 已于 2019 年 4 月 8 日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心, 保藏编号为 CGMCC No.17463, 是植物根系 DSE 常见的属之一<sup>[12]</sup>。DSE 菌剂的制备方法具体为: 将活化的 DSE 接种于 PDA 固体培养基, 于 28 °C 培养 7 d, 在菌落边缘打孔, 得到直径为 5 mm 的菌片; 将菌片接种至 150 mL MMN 液体培养基中, 恒温振荡培养(25 °C、160 r/min) 8 d, 即获得 DSE 菌剂(为发酵液与菌丝体的混合物)。

### 1.1.3 供试植物

供试蛋白桑品种为“杂交桂桑 12”。将大小相近的蛋白桑裸根种苗用无菌蒸馏水冲洗数遍, 种植于灭菌的河沙基质中进行育苗, 7 d 后蛋白桑苗抽芽。选取株高、冠幅、叶片数长势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。

### 1.1.4 供试盆钵

试验盆钵为直径 220 mm、高 320 mm 的花盆, 利用酒精进行表面消毒(10 min)。

## 1.2 施肥方法

供试花盆中每盆装灭菌河沙基质 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  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  和  $\text{KNO}_3$  作为基肥, 浇水至水分含量达基质最大持水量 70% 左右, 以保证各处理植株正常生长。

## 1.3 试验设计与管理

蛋白桑秧苗移栽第 4 周后进行微生物接种处理。试验设 4 个处理, 分别为: 加入等量灭活微生物菌剂的对照处理(CK)、根系穴施 AMF 菌剂 50 g (AMF)、根系穴施 DSE 菌剂 100 mL、根系穴施 DSE 菌剂 50 mL 和 AMF 菌剂 25 g (AMF+DSE), 每个处理设 3 次重复, 各处理随机排列。试验在温室中进行, 蛋白桑在生长期

间温度维持在 20–25 °C。每天光暗交替培养, 光照时间为 16 h, 用生物镉灯补充光照, 光照强度为 12 000–13 000 lx。培养基质的持水量维持在 40%–50% 之间(蛋白桑适合干旱地带, 过高的含水率会导致烂根等生理疾病)。试验周期为 80 d。

## 1.4 测定指标与方法

### 1.4.1 蛋白桑生长和产量品质的指标测定

用直尺测量各处理蛋白桑植株的株高、冠幅、叶宽和叶长等指标。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 °C 冰箱中冷藏保存, 用于植物叶片的各品质指标分析。称量干重。根据 Phillips 的方法<sup>[13]</sup>测定真菌侵染根系定殖状况。各处理的蛋白桑植株的根系样品用直尺测量长度, 其相应的根、茎、叶的称量鲜重质量, 在 105 °C 杀青 30 min, 并在 60 °C 烘至恒重, 称量干重。

### 1.4.2 蛋白桑植物养分及品质指标的测定

将烘干植物样品进行粉碎, 过筛(0.25 mm), 称取 50 mg 样品用锡纸包裹后进入元素分析仪(vario MACRO cube elementar)对植物的全氮(N)进行测定。称取粉碎过筛(0.25 mm)的烘干植物样品 0.1 g 置于 100 mL 的消煮管中, 采用  $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$  消煮法进行消煮, 运用 ICP (ICP-OES, Optima 5300DV, Perkin Elmer, Waltham, MA)对植物的全磷(P)、全钾(K)进行测定。采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量<sup>[14]</sup>, 用乙醇浸取法测定叶绿素<sup>[15]</sup>, 采用 2,6-二氯酚靛酚滴定法测定维生素 C (vitamin C)含量<sup>[16]</sup>, 用盐酸小檗碱比色法测总生物碱<sup>[7]</sup>。此外, 粗蛋白采用元素分析仪所测植物样品总氮含量计算得出。对烘干样品进行粉碎过筛(1 mm), 称取 0.5 g 样品放入 ringbio 滤袋, 采用范氏法<sup>[17]</sup>利用纤维素分析仪(Automatic Fiber Analyzer, R-2000)对其中性洗涤纤维(neutral detergent fiber, NDF, %)

酸性洗涤纤维(acid detergent fiber, ADF, %)进行测定, 结果以干物质为基础平均数表示。相对饲用价值(relative feeding value, RFV)、干物质采食量(plant dry matter intake, DMI, %)以及可消化干物质(plant digestible dry matter, DDM, %)按照张吉鹗<sup>[18]</sup>的方法计算: RFV=DMI×DDM/1.29; DMI=120/NDF; DDM=88.9-0.779×ADF。

#### 1.4.3 蛋白桑牧草品质分级标准

根据牧草干草质量市场分级标准<sup>[19]</sup>, 将酸性洗涤纤维(ADF)、中性洗涤纤维(NDF)含量从低到高分为特级、一级、二级、三级、四级, 将粗蛋白(CP)、干物质采食量(DMI)、可消化干物质(DDM)含量按照从高到低分为特级、一级、二级、三级、四级 5 个级别, 相对饲用价值(RFV)按照得分从高到低分为特级、一级、二级、三级、四级 5 个级别。故 ADF、NDF 含量越低则饲用等级更高, CP、DMI、DDM、RFV 则反之。

#### 1.5 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 单因素(one-way ANOVA)进行方差分析(Duncan 检验法), 显著性差异水平设置为  $P=0.05$ ; 运用 Origin 2018 64Bit 进行绘图。

利用模糊综合评价法对蛋白桑生长品质的原始数据进行标准化处理, 计算出各指标的隶属度函数值。正向指标的计算隶属度函数值<sup>[20]</sup>计算公式见式(1)。

$$x'_{ij} = \frac{x_{ij} - \text{Min}(x_j)}{\text{Max}(x_j) - \text{Min}(x_j)} \times \alpha + (1 - \alpha) \quad (1)$$

式中:  $x'_{ij}$  为隶属度函数值;  $x_{ij}$  为第  $i$  个处理的第  $j$  个指标原始数据值;  $\text{Min}(x_j)$  为第  $j$  个指标的最小值;  $\text{Max}(x_j)$  为第  $j$  个指标的最大值;  $\alpha$  为功效系数, 为避免隶属度函数值出现零,  $\alpha$  的范围选取(0, 1), 本文取  $\alpha=0.6$ 。

运用 IBM SPSS Statistics 21 对标准化后的蛋白桑生长和品质指标进行因子分析, 以各主成分对应的方差相对贡献率为权重, 对主成分得分和相应的权重进行线性加权求和的综合评价进行排序, 分析比较不同接菌处理对蛋白桑生长和品质各指标的影响。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对蛋白桑侵染率及其生长影响

从不同处理对蛋白桑侵染率及生长产生的影响(表 1)可以看出, 各微生物处理的蛋白桑菌根侵染均显著高于 CK 处理( $P<0.05$ ), 表明 DSE、AMF 和联合接种均可在蛋白桑根系进行侵染。不同微生物处理的蛋白桑菌根侵染率表现出一定的差异性: DSE 侵染率显著高于 AMF 或 AMF+DSE 处理, 表明 DSE 较 AMF 更优先侵染蛋白桑根系。AMF+DSE 接种蛋白桑的菌根侵染率较低。

表 1 不同处理对蛋白桑菌根侵染率和生长的影响

Table 1 Effects of different treatments on mycorrhizal infection rate and growth of *Morus alba*

Treatment	Colonization rate/%	Plant height/cm	Crown breadth/cm	Leaf width/cm	Leaf length/cm	Root length/cm
CK	0.00±0.00c	27.33±1.76b	15.93±1.97c	6.83±0.64a	8.03±0.94b	27.00±1.69b
AMF	31.48±4.90b	42.90±4.21a	28.50±2.12ab	9.53±2.27a	12.97±1.07a	32.57±1.89ab
DSE	77.78±6.42a	43.13±3.72a	24.10±1.08b	8.73±1.68a	13.23±0.81a	28.33±1.62b
AMF+DSE	27.78±5.56b	39.60±2.46a	32.33±1.41a	9.57±0.98a	12.07±0.99a	35.37±2.46a

The different small letters within the same column mean the significant difference ( $P<0.05$ ) of different treatments. Same as below.

与 CK 处理相比,各微生物处理可显著提高蛋白桑的株高、植株冠幅、叶长、叶宽及根系的长度(表 1)。对蛋白桑株高而言,微生物处理均可促进蛋白桑生长,增加幅度为 44.9%–57.8%;接种微生物蛋白桑植株的冠幅均显著高于 CK ( $P<0.05$ ),增加幅度为 0.5–1.1 倍,接种 AMF+DSE 显著高于 DSE,其他处理间则无显著差异;接种微生物蛋白桑叶片长增加 50.2%–64.7%,但不同微生物间无显著差异 ( $P<0.05$ );接种微生物比对照有增加,AMF+DSE 比对照蛋白桑根长增加显著。

## 2.2 不同处理对蛋白桑产量的影响

不同处理对蛋白桑产量影响存在差异(表 2),AMF 处理下蛋白桑的根干重显著高于其他处理 ( $P<0.05$ ),AMF 处理促进蛋白桑根系的生长效果最佳。AMF+DSE 处理蛋白桑根系干重较单接 AMF 显著减少 38.4%,可能是根系接种 DSE 与 AMF 存在侵染根系时竞争结合位点,消耗能量导致双接菌地下部干重降低,影响蛋白桑根系的生长。接种微生物处理较 CK 均可促进蛋白桑茎和叶的生长,相较 CK 处理茎干重提高 98.4%–134.4%,叶干重提高 2.2–2.8 倍,导致其相应的茎和叶干重及地上生物量与总生物量的明显增加,地上生物量增加幅度为 156.4%–196.6%。不同微生物处理对蛋白桑地上部产量高低影响顺序为: DSE>AMF+DSE>AMF>CK。

## 2.3 不同接菌处理对蛋白桑植株养分总积累量的影响

接种 AMF 与 DSE 可以促进植物对 N、P、K 等营养元素的吸收与累积<sup>[21–22]</sup>,不同微生物处理的蛋白桑营养物质累积效果不同(图 1),接菌地上部植物 N、P、K 总积累量比 CK 均显著提高,N 总积累量显著提高了 204.3%–248.1%、P 总积累量提高了 1.5–1.8 倍、K 总积累量显著提升了 2.4–2.5 倍,地下部具有同样的规律。接种 AMF 处理在植物 N、K 总积累量显著高于其他各处理。可见,接菌促进了蛋白桑地上和地下部植物的营养吸收,与干物质积累规律一致。

## 2.4 不同处理对蛋白桑叶片品质的影响

不同处理对蛋白桑叶片品质影响如表 3 所示,相较 CK 处理,微生物处理均促进了蛋白桑的可溶性糖、维生素 C、叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 ab、生物碱含量,可见,接种微生物均可显著提升蛋白桑植株品质。接种 DSE 蛋白桑叶片维生素 C、生物碱含量均最高,比 CK 分别提高 1.4 倍和 2.4 倍。接种 AMF 蛋白桑叶片可溶性糖含量最高,比 CK 提高 50.3%。接种 AMF+DSE 蛋白桑叶片叶绿素含量均高于 AMF 与 DSE 处理,但可溶性糖、维生素 C、生物碱含量较低。

## 2.5 接菌对蛋白桑饲用品质的影响

不同微生物处理对蛋白桑叶、茎、地上部分饲用品质影响结果表明(表 4),与 CK 相比,

表 2 不同处理对蛋白桑各部位产量的影响

Table 2 Effects of different treatments on the yield of *Morus alba*

Treatment	Dry weight of root/g	Dry weight of stem/g	Dry weight of leaf/g	Above ground biomass/g	Total biomass/g	Leaf/stem weight ratio
CK	2.26±0.27b	0.61±0.17b	0.56±0.43b	1.17±0.59b	3.44±0.85b	0.72±0.11b
AMF	4.66±0.33a	1.21±0.28a	1.79±0.43a	3.00±0.65a	7.65±0.49a	1.52±0.35a
DSE	2.98±0.40b	1.33±0.07a	2.15±0.28a	3.47±0.26a	6.45±0.24a	1.63±0.25a
AMF+DSE	2.89±0.37b	1.44±0.14a	1.87±0.14a	3.31±0.27a	6.19±0.54a	1.31±0.08a

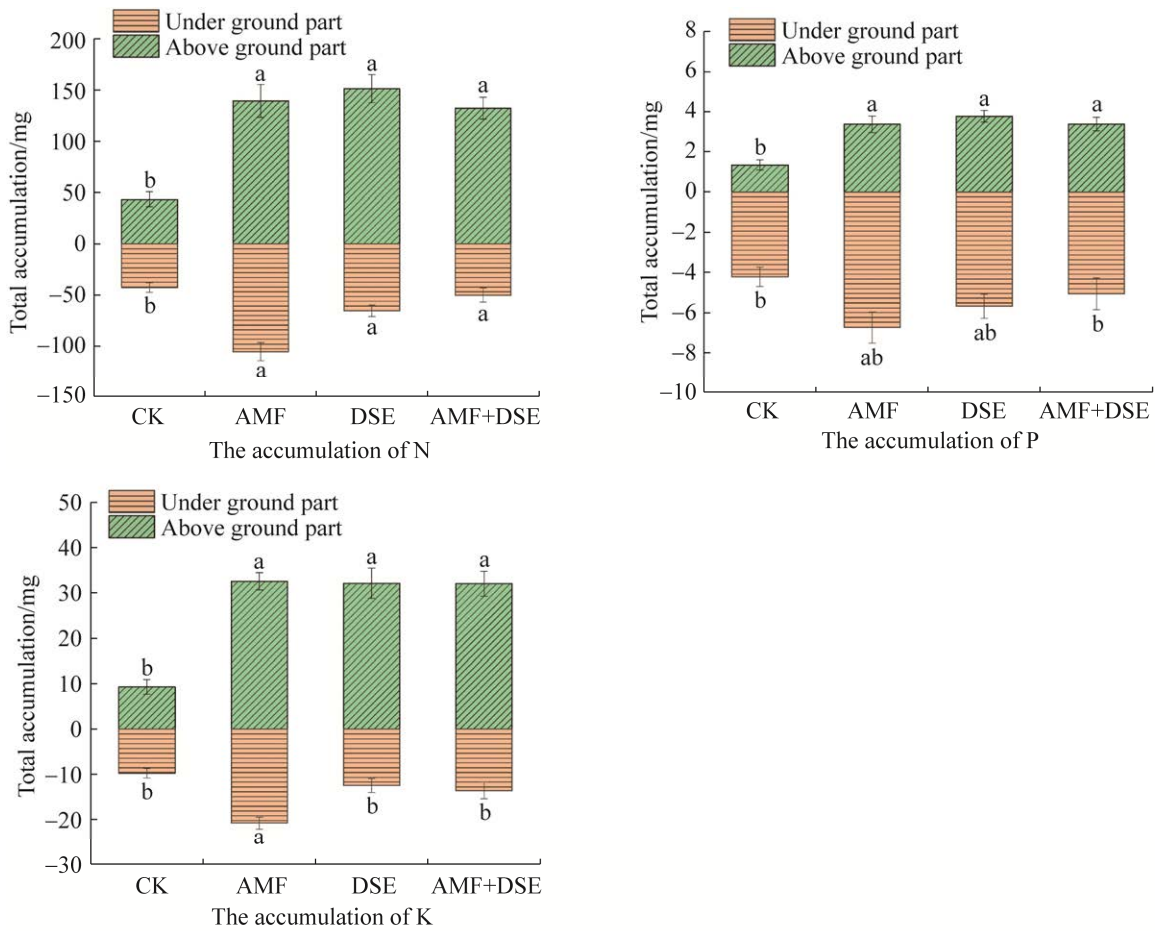


图 1 不同处理对蛋白桑植株地上地下部分养分总积累量的影响

Figure 1 Effects of different treatments on total nutrient accumulation of *Morus alba* plant. Different lowercase letters in the graph indicate significant differences between treatments ( $P < 0.05$ ). Same below.

表 3 不同处理对蛋白桑叶片品质的影响

Table 3 Effects of different treatments on quality of *Morus alba* leaf

Treatment	Soluble sugar content/(g/100 g)	Vitamin C content/(mg/g)	Chlorophyll a/(mg/g)	Chlorophyll b/(mg/g)	Chlorophyll ab/(mg/g)	Alkaloid/(mg/g)
CK	7.61±0.11c	1.51±0.03b	0.85±0.08b	0.49±0.05b	1.34±0.12b	2.95±0.59c
AMF	11.51±0.25a	1.57±0.06b	1.27±0.18a	0.74±0.18ab	2.01±0.31a	3.95±0.01b
DSE	9.76±0.25b	2.14±0.16a	1.22±0.06a	0.83±0.02ab	2.05±0.08a	6.83±0.10a
AMF+DSE	9.64±0.20b	1.88±0.16ab	1.40±0.03a	0.88±0.07a	2.28±0.04a	4.11±0.07b

微生物处理可促进蛋白桑叶片和地上部的植株粗蛋白(CP)含量增加,降低中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)含量,说明接种微生物提高了蛋白桑营养品质。

蛋白桑粗蛋白 CP 含量均表现为叶片>地上部>茎(表 4)。与 CK 相比,接种 AMF、DSE 和 AMF+DSE 处理显著提高了蛋白桑叶片和地上部的 CP 含量,各微生物处理叶部是相应 CK

表 4 不同处理对蛋白桑植株各部位饲用品质的影响

Table 4 Effects of different treatments on feeding quality of different parts of *Morus alba* plant

Index	Part	Treatment			
		CK	AMF	DSE	AMF+DSE
CP/%	Leaf	27.46±0.36c	30.79±0.41b	32.92±0.10a	31.52±0.34b
	Stem	17.54±0.28a	17.94±0.10a	18.00±0.04a	16.42±0.46b
	Above ground	21.01±1.14b	25.45±0.54a	27.15±0.47a	24.98±0.16a
NDF/%	Leaf	38.97±0.51a	26.58±1.22c	25.50±0.35c	31.81±1.53b
	Stem	52.70±1.09b	53.83±0.44b	54.11±0.50ab	56.23±0.33b
	Above ground	47.77±2.24a	37.75±2.22bc	36.53±0.72c	42.43±0.65ab
ADF/%	Leaf	36.73±0.84a	20.07±1.04b	21.67±0.86b	21.56±1.84b
	Stem	39.67±1.51bc	37.04±0.86c	43.18±1.36ab	44.17±0.51a
	Above ground	38.74±1.32a	27.21±0.83c	29.83±0.81bc	31.29±1.21b

处理的 1.1–1.2 倍，地上部是 CK 处理的 1.2–1.3 倍。

接种微生物蛋白桑叶及地上部位的 NDF 均显著低于 CK，其中叶片和地上部分别降低 18.4%–34.6% 和 11.2%–23.5%。接种处理蛋白桑茎中的 NDF 含量则高于 CK 处理，增加幅度较小，可见，作为饲料采收蛋白桑可将桑叶和茎秆分开采收，按照品级要求进行合理搭配。

接种微生物处理蛋白桑叶片及地上部分的 ADF 均显著低于 CK 处理 ( $P < 0.05$ )，其中叶部和地上部分别降低 41.0%–45.4% 和 19.2%–29.8%；接种 AMF 蛋白桑地上部的 ADF 低于其他两个

接种处理，对蛋白桑品质改善更有利；AMF+DSE 处理蛋白桑茎秆的 ADF 高于 CK 处理。茎秆和桑叶可以合理搭配获得不同蛋白桑饲料品级。

## 2.6 不同处理对蛋白桑植株不同部位的相对饲用价值的影响

与 CK 相比(表 5)，不同微生物处理可促进蛋白桑叶片和地上部的植株干物质采食量 (DMI)、可消化干物质 (DDM) 和相对饲用价值 (RFV) 的增加，不同接种处理对各指标的影响显著性不同，DMI、DDM、RFV 指标的增加有利于蛋白桑饲用品质的提升。

表 5 接种微生物对蛋白桑相对饲用价值 (RFV)、干物质采食量 (DMI) 以及可消化干物质 (DDM) 的影响  
Table 5 Changes of relative feeding value (RFV), dry matter intake (DMI) and digestible dry matter (DDM) of *Morus alba* under different treatments

Index	Part	Treatment			
		CK	AMF	DSE	AMF+DSE
DMI/%	Leaf	3.27±0.07b	6.01±0.30a	5.56±0.23a	5.65±0.52a
	Stem	2.28±0.05a	2.23±0.02a	2.22±0.02ab	2.13±0.01b
	Above ground	2.64±0.16b	4.42±0.11a	4.28±0.25a	4.15±0.35a
DDM/%	Leaf	60.29±0.66b	73.26±0.81a	72.02±0.67a	72.10±1.43a
	Stem	58.00±1.18ab	60.04±0.67a	55.27±1.06bc	54.49±0.40c
	Above ground	58.72±1.03c	67.71±0.65a	65.67±0.63ab	64.53±0.94b
RFV	Leaf	152.90±5.06b	341.60±20.42a	310.50±15.79a	317.24±36.08a
	Stem	102.54±4.04a	103.79±1.97a	95.06±2.63ab	90.16±1.09b
	Above ground	120.98±9.26b	241.45±7.18a	228.50±16.55a	220.00±24.00a



不同处理的桑叶中 DMI、DDM 和 RFV 均最高, 而且以 AMF 处理桑叶值最高, 分别为 6.0%、73.3%、341.6%。接种微生物处理桑叶相较于 CK, DMI 显著提升接近 1 倍、DDM 提升了 19.1%–22.5%、RFV 显著提升 1.0–1.2 倍, 不同微生物处理无显著性差异。接种微生物比 CK 地上部分 DMI 显著提升了 0.57–0.67 倍、DDM 显著提升 10.2%–15.7%、RFV 显著提高近 1 倍。DDM 中 AMF 处理显著高于其他各处理, 其他各处理间无显著性差异。

表 5 分析可知, CK 处理的蛋白桑, 除粗蛋白 CP 含量相对较高处于特级标准, 其余指标皆处于二级标准, 说明蛋白桑本身具有较高的饲喂价值。接种 AMF 和 DSE 均可将 ADF、NDF、CP、RFV、DDM 提升到特级标准。AMF+DSE 处理将 NDF、ADF、DDM 提升到一级标准, 将 RFV 提升到特级标准。可能是接种 AMF、DSE 和 AMF+DSE 联合处理均能增加植物叶绿素含量(表 3), 促进光合作用, 优化蛋白桑植株结构比例, 降低植物叶茎比(表 2), 因 ADF、NDF 含量在叶片部位比茎秆较低, 因而影响饲用品质的提升, 可以根据桑叶和茎秆比例来调整蛋白桑饲料的品级。

目前 RFV 是相对广泛应用的一个粗饲料评定指数<sup>[23]</sup>, 分析不同处理条件下蛋白桑相对饲用价值(RFV)的优劣排名为: AMF>DSE>AMF+DSE>CK。

### 2.7 接菌处理对蛋白桑品质影响的主成分分析

对地上部总量 NDF、地上部总量 ADF、地上部总量粗蛋白、维生素 C、可溶性糖、叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素 ab 含量、生物碱含量、株高、冠幅、地上生物量等 12 个指标进行主成分分析, 由主成分的特征值及贡献率(图 2)可知, 前 3 个的主成分的积累贡献率已达到了

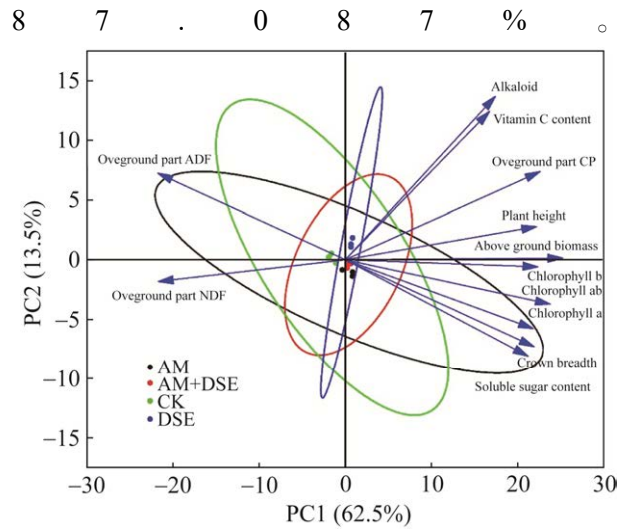


图 2 蛋白桑第 1、第 2 主成分二维排序  
Figure 2 Scatter plot based on the PC1 and PC2.

符合主成分分析法贡献率累积和>80%的要求, 因此对于其他主成分而言, 蛋白桑产量和品质采用这 3 个主成分指标可较好地替代上述 12 种指标。

由提取平方和载入矩阵(表 6)可知, 地上部生物量、叶绿素 ab 含量、叶绿素 b、叶绿素 a 是影响主成分 1 的主要特征向量, 可溶性糖、生物碱、维生素 C 含量是影响主成分 2 的主要特征向量, 当可溶性糖、生物碱、维生素 C 含量高时, 第 2 主成分较大, 地上总量 NDF、可溶性糖、地上总量 ADF 含量是影响主成分 3 的主要特征向量, 当地上部总量 NDF、可溶性糖、地上部总量 ADF 含量较高时, 第 3 主成分较大。

第 1 主成分叶绿素与地上生物量作为主要指标, 叶绿素作为植物光合作用的主要器官, 是光合作用强弱的直观指标<sup>[24]</sup>, 故主成分 1 可以反映蛋白桑生长、光合的理化特性, 一定程度上反映了蛋白桑产量特性。生物碱、维生素 C、可溶性糖均对人类及动物具有较高的营养药用价值, 故第 2 主成分主要反映了蛋白桑营养成分的累积特性。ADF、NDF 含量均是牧草饲

用品质重要的指标<sup>[25]</sup>, 因此是第 3 主成分主要反映了蛋白桑的饲用品质特性。

将这些品质指标综合, 按得分值排名(表 7): AMF+DSE>DSE>AMF>CK。

可以看出, 通过从 3 种不同角度对 12 个指标进行综合系统分析, 接种 AMF+DSE 对提升蛋白桑综合品质效果最佳。

### 3 讨论

#### 3.1 微生物处理对蛋白桑产量及品质的提升

近年来 AMF 和 DSE 被广泛证实能与宿主互惠共生, 可促进宿主植物对有机和无机营养的吸收利用, 植物在生长发育过程中能与适宜真菌形成良好共生关系, 增加植株的根长、生物量以及果实产量, 并提升宿主植物的品质<sup>[22,26-27]</sup>。

表 6 不同微生物处理蛋白桑生长品质提取平方和载入矩阵

Table 6 Different microbe treatment *Morus alba* growth quality extraction square and loading matrix

Index	PC1 (63%)	PC2 (14%)	PC3 (11%)
Above ground biomass	0.920	0.006	0.185
Chlorophyll ab	0.867	-0.19	0.381
Chlorophyll b	0.824	0.375	-0.345
Chlorophyll a	0.815	-0.030	0.482
Plant height	0.810	0.141	0.233
Crown breadth	0.799	-0.372	0.041
Overground part ADF	0.796	-0.295	0.248
Soluble sugar content	-0.794	0.367	0.375
Vitamin C content	-0.792	-0.093	0.519
Overground part NDF	0.773	-0.413	-0.429
Overground part CP	0.636	0.697	-0.190
Alkaloid	0.611	0.633	0.215

表 7 综合得分和排名

Table 7 Composites scores and rankings

Treatment	Y1	Y2	Y3	Y	Sorts
AMF	0.77	-0.12	0.29	0.49	3
DSE	0.76	-0.39	0.70	0.50	2
AMF+DSE	0.98	-0.46	0.34	0.59	1
CK	0.65	-0.59	0.31	0.36	4

有研究表明, 在曲芒发草根系中, 存在 AMF 向 DSE 为主导的方向演变<sup>[28]</sup>。也有研究发现在水稻生长过程中, 发现 AMF 与 DSE 在不同生长时期侵染率呈先上升后下降趋势<sup>[29]</sup>, 可能存在 AMF 与 DSE 对蛋白桑根系侵染率存在一定竞争结合位点作用, 且前者对后者的影响作用更为显著。同样单接种 AMF 与 AMF+DSE 双接种, 均能显著提升玉米叶片叶绿素和玉米产量根长等<sup>[30]</sup>。AMF 与 DSE 单接种与联合接种均能有效提升植物品质产量, 这与本文试验结果相似, 可见, 接种微生物促进根长发育, 增加叶片长、宽和株高, 刺激了蛋白桑生长发育。

植物通过吸收土壤矿物营养参与自身生理活动维持生长。研究表明, 接种 AMF 与 DSE 可以促进植物对 N、P、K 等营养元素的吸收与累积<sup>[21-22]</sup>, 植物叶片中 N 元素作为合成叶绿素的主要营养元素, 同时与 P、K 元素参与合成的众多辅酶结合, 共同合成叶绿素<sup>[31]</sup>。接种微生物均可提升地上部位的 N、P、K 含量, 从而提升了植物叶绿素含量<sup>[11,24]</sup>, 促进植物生长。本文通过接种不同微生物, 提高了蛋白桑叶茎比, 使蛋白桑叶片所占比例增加, 从而最大程度促进蛋白桑光合速率, 提升了蛋白桑地上和地下部植物的营养吸收(与干物质积累规律一致)。可能是接种微生物, 形成共生后菌丝发育帮助根系吸收更多的营养, 提高了蛋白桑根系的 N、P、K 元素的累积, 从而促进地上部分营养物质的累积, 提升蛋白桑生长及增加产量, 这与吴群英<sup>[21]</sup>和王凯博等<sup>[32]</sup>的结果相同。影响蛋白桑产量的微生物作用大小为: DSE>AMF+DSE>AMF>CK。蛋白桑中含有大量的营养成分, 可溶性糖能作为生物效用调节剂, 能够提高生物的生理功能, 维生素 C 可以促进胶原蛋白合成, 增加抗体应激能力, 提高免疫力, 生物碱具有显著降低血糖的功能<sup>[1]</sup>, 这些指标能够显著提升作

物综合品质。接种 AMF 与 DSE 可以提升高粱<sup>[33]</sup>、香橙<sup>[11]</sup>、草莓<sup>[34]</sup>等植物的可溶性糖、维生素、有机酸、生物碱含量<sup>[32-34]</sup>, 这与本文结果相一致。接种微生物处理较 CK 均提升了蛋白桑可溶性糖、维生素、生物碱等含量, 促进蛋白桑品质的提升。

### 3.2 接种微生物对蛋白桑饲用品质的改善

大量研究表明, AMF 与 DSE 可以促进植物生长及各种营养元素的累积<sup>[21-22]</sup>, 从而提高植株粗蛋白(CP), CP 作为动物重要的能量来源, CP 含量越高, 饲用品质越高。接种丛枝菌根真菌降低紫花苜蓿的 ADF 与 NDF<sup>[25]</sup>, 植物生长发育较好, 减弱体内木质化, 降低 NDF 和 ADF 含量<sup>[35]</sup>, 提升 RFV 的含量。接菌处理比 CK 可提升植物营养物质的累积, 增加粗蛋白含量, 降低蛋白桑植物木质化, 显著降低蛋白桑叶片与全株的 ADF 和 NDF 含量。纤维素含量越低动物消化率越低, 饲用品质越高<sup>[4]</sup>, 故不同接种处理均可提高蛋白桑的饲用品质。不同等级的牧草质量对市场价格有很大影响, 通过牧草干草质量市场分级标准<sup>[19]</sup>, 对蛋白桑品质进行分级, 根据试验结果表明, 各处理的相对饲用价值(RFV)优劣排名为 AMF>DSE>AMF+DSE>CK, 故各微生物处理均能促进蛋白桑饲用品质的提升及 RFV 等级的提升。

综上所述, 接种微生物处理会使蛋白桑粗蛋白含量提升, 降低饲料纤维营养价值, 从而综合改善蛋白桑品质。不同微生物处理对蛋白桑叶片各饲用品质指标的影响较其相应茎部更为明显。微生物处理能够显著增加蛋白桑的叶茎比, 提升了蛋白桑叶片的比例, 优化生长结构, 从整体水平上提升各处理蛋白桑地上部植株的饲用品质, 可以根据桑叶和茎秆的蛋白含量进行合理搭配获得饲料不同品级。

近年来, 主成分分析等分析方法被广泛应用

于植物产量及品质的研究, 大大提高了指标的筛选和分类的效率<sup>[36]</sup>。运用主成分分析对复杂因子进行降维, 降低多个指标信息冗余, 提取关键性指标, 将多个指标转化为少量且互不影响的独立因子进行分析<sup>[37]</sup>, 证明单接种 DSE 处理提升蛋白桑品质最佳, 单接种 AMF 效果次之, 联合接种 AMF+DSE 相对较差, 可能 AMF 与 DSE 菌存在一定竞争结合位点相互拮抗消耗能量, 降低菌丝侵染率, 从而影响蛋白桑综合品质的提升。

## 4 结论

接种微生物不仅能提高经济作物生长的生态效益, 而且可提升作物的品质, 为后续有机绿色的可持续发展奠定基础, 也为微生物复垦技术提升经济作物产量和品质提供了一种新的思路和方法。

(1) 接菌微生物提高了蛋白桑的光合速率, 增加了植物叶片氮、磷、钾的累积, 促进蛋白桑的生长, 提高蛋白桑的产量。影响蛋白桑产量的微生物作用大小为: DSE>AMF+DSE>AMF>CK。

(2) 接种微生物均使蛋白桑饲用品质等级得到极大提升, 显著降低酸性洗涤纤维(ADF)、中性洗涤纤维(NDF)含量并促进粗蛋白(CP)、可溶性糖、维生素 C、生物碱等指标的增加。不同微生物对蛋白桑相对饲用价值(RFV)的贡献排名为: AMF>DSE>AMF+DSE>CK。

(3) 主成分分析对产量特性、饲用品质特性、营养成分累积综合评价, 微生物作用从高到低为: AMF+DSE>DSE>AMF>CK。接种 DSE 可作为提升蛋白桑品质的优选微生物。

## 参考文献

- [1] 杜周和, 左艳春, 严旭, 周晓康, 刘彬斌, 吴建梅, 刘俊凤, 寇晶, 陈义安, 张剑飞. 饲料桑生理活性物

- 质及其饲用价值. 草业学报, 2017, 26(10): 227–236.
- Du ZH, Zuo YC, Yan X, Zhou XK, Liu BB, Wu JM, Liu JF, Kou J, Chen YA, Zhang JF. Physiological activation and feed value of mulberry for livestock and poultry. *Acta Prataculturae Sinica*, 2017, 26(10): 227–236. (in Chinese)
- [2] 吴萍, 厉宝林, 李龙, 赵东伟, 王强, 蒲俊华, 赵晶, 刘学贤, 高玉时. 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. 中国家禽, 2007, 29(7): 13–15.
- Wu P, Li BL, Li L, Zhao DW, Wang Q, Pu JH, Zhao J, Liu XX, Gao YS. Effect of dietary mulberry powder on growth performance, slaughter performance and meat quality of yellow-feather broilers. *China Poultry*, 2007, 29(7): 13–15. (in Chinese)
- [3] 黄黔. 我国食物供需格局变化和光温水资源战略配置. 草业学报, 2010, 19(2): 1–6.
- Huang Q. Changes of food supply-demand pattern and strategic allocation of sunlight, warmth and water resources in China. *Acta Prataculturae Sinica*, 2010, 19(2): 1–6. (in Chinese)
- [4] 王红林, 左艳春, 周晓康, 严旭, 寇晶, 蒲军, 张浩仁, 杜周和. 高密度草本化栽培对饲料桑全株产量及品质的影响. 草业科学, 2020, 37(5): 952–962.
- Wang HL, Zuo YC, Zhou XK, Yan X, Kou J, Pu J, Zhang HR, Du ZH. Influence of high planting density herbal cultivating on yield and quality of whole-plant mulberry (*Morus alba*). *Pratacultural Science*, 2020, 37(5): 952–962. (in Chinese)
- [5] 李娜, 贾漫丽, 李季生, 甄占萱, 何向金, 孟庆伟, 李雅静, 杨贵明. 适宜动物饲料化利用的北方桑树品种筛选及收获技术研究. 蚕业科学, 2019, 45(1): 17–23.
- Li N, Jia ML, Li JS, Zhen ZX, He XJ, Meng QW, Li YJ, Yang GM. Screening of mulberry varieties for animal feed utilization in north China and their harvesting techniques. *Science of Sericulture*, 2019, 45(1): 17–23. (in Chinese)
- [6] 杨静. 饲料桑粉的营养价值评定及在生长育肥猪日粮中的应用研究. 河北农业大学硕士学位论文, 2014.
- [7] 曹美琪. 新资源蛋白桑叶片主要药效成分及其体外降糖活性评价研究. 北京中医药大学硕士学位论文, 2020.
- [8] 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. 煤炭学报, 2019, 44(1): 307–315.
- Bi YL, Shen HH. Effect of micro-reclamation on different planted forest on the vegetation self-succession in the western mining subsidence area. *Journal of China Coal Society*, 2019, 44(1): 307–315. (in Chinese)
- [9] 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. 微生物学报, 2021, 61(1): 58–67.
- Bi YL, Xie LL. Functions of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes in ecological restoration. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(1): 58–67. (in Chinese)
- [10] Surendirakumar K, Chongtham I, Pandey RR, Muthukumar T. Arbuscular mycorrhizal and dark septate endophytic fungal symbioses in *Parkia timoriana* (DC.) Merr. and *Solanum betaceum* Cav. plants growing in northeast India. *Vegetos*, 2021, 34(4): 761–774.
- [11] 李果果, 刘金华, 宋娟, 李铭燕, 李冬萍, 刘升球, 张金莲, 陈廷速. 不同丛枝菌根真菌促进资阳香橙幼苗生长研究. 云南农业大学学报: 自然科学, 2021, 36(6): 1022–1027.
- Li GG, Liu JH, Song J, Li MY, Li DP, Liu SQ, Zhang JL, Chen TS. Research on arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of Ziyang Xiangcheng seedling. *Journal of Yunnan Agricultural University: Natural Science*, 2021, 36(6): 1022–1027. (in Chinese)
- [12] Shadmani L, Jamali S, Fatemi A. Isolation, identification, and characterization of cadmium-tolerant endophytic fungi isolated from barley (*Hordeum vulgare* L.) roots and their role in enhancing phytoremediation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2021, 52(3): 1097–1106.
- [13] Phillips JM. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 1970, 55(01): 5–13.
- [14] 王伟. 不同大豆品种对低钾胁迫的生物学响应及耐性机制研究. 沈阳农业大学博士学位论文, 2008.
- [15] 靳丰璐, 陈利青, 张晋丽, 王俊杰, 李红英, 韩渊怀, 张彬. 不同光照强度对糜子叶色黄化突变体幼苗的影响. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2021, 41(5): 26–34.
- Jin FL, Chen LQ, Zhang JL, Wang JJ, Li HY, Han YH, Zhang B. Effects of different illumination intensities on yellow leaf mutant seedlings of broomcorn millet. *Journal of Shanxi Agricultural University: Natural Science Edition*, 2021, 41(5): 26–34. (in Chinese)
- [16] 陈思奇, 顾苑婷, 王霖岚, 肖仕芸, 杜勃峰, 丁筑红.

- 刺梨不同干燥模型建立及综合品质分析. 食品科学, 2020, 41(3): 47–54.
- Chen SQ, Gu YT, Wang LL, Xiao SY, Du BF, Ding ZH. Drying modeling and comprehensive quality analysis of *Rosa roxburghii* trutt fruit. *Food Science*, 2020, 41(3): 47–54. (in Chinese)
- [17] 王红林, 左艳春, 严旭, 周晓康, 寇晶, 杨希智, 郭俊英, 蒲军, 张浩仁, 杜周和. 刈割高度与施氮量对饲料桑全株产量及营养品质的影响. 草业学报, 2021, 30(11): 203–211.
- Wang HL, Zuo YC, Yan X, Zhou XK, Kou J, Yang XZ, Guo JY, Pu J, Zhang HR, Du ZH. Effect of cutting height and nitrogen fertilizer rate on yield and nutritive value of whole-plant mulberry (*Morus alba*). *Acta Prataculturae Sinica*, 2021, 30(11): 203–211. (in Chinese)
- [18] 张吉鹏. 反刍家畜粗饲料品质评定的指标及其应用比较. 中国畜牧杂志, 2006, 42(5): 47–50.
- Zhang JK. Quality evaluation parameters of ruminant coarse fodder and their application comparison. *Chinese Journal of Animal Science*, 2006, 42(5): 47–50. (in Chinese)
- [19] 陈谷, 齐晓, 郇建辉. 美国商业应用中的牧草质量及质量标准; 中国草学会饲料生产委员会第 15 次饲草生产学术研讨会, 中国江苏常州, F, 2009.
- Chen G, Qi X, Tai JH. Forage quality and quality standards for commercial use in the United States; The 15th Symposium on Forage Production, Feed Production Committee of Chinese Grassland Society, Changzhou, China, F, 2009. (in Chinese)
- [20] 张朝阳, 许桂芳. 利用隶属函数法对 4 种地被植物的耐热性综合评价. 草业科学, 2009, 26(2): 57–60.
- Zhang ZY, Xu GF. Comprehensive evaluation of heat tolerance of four ground covering plants by subordinate function values analysis. *Pratacultural Science*, 2009, 26(2): 57–60. (in Chinese)
- [21] 吴群英, 马少鹏, 毕银丽, 高雅坤, 周会丽, 张龙杰. 陕北采煤沉陷区接种菌根对豌豆生长与品质的影响. 湖北农业科学, 2021, 60(8): 32–35, 49.
- Wu QY, Ma SP, Bi YL, Gao YK, Zhou HL, Zhang LJ. Effect of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and quality of pea in subsidence area of coal mining in northern Shaanxi. *Hubei Agricultural Sciences*, 2021, 60(8): 32–35, 49. (in Chinese)
- [22] Yakti W, Kovács GM, Vági P, Franken P. Impact of dark septate endophytes on tomato growth and nutrient uptake. *Plant Ecology & Diversity*, 2018, 11(5/6): 637–648.
- [23] 陈谷, 郇建辉. 牧草质量及质量标准; 首届中国奶业大会, 中国山东青岛, F, 2010.
- Chen G, Tai JH. Forage quality and quality standards; The First China Dairy Industry Conference, Qingdao, China, F, 2010. (in Chinese)
- [24] Berthelot C, Leyval C, Foulon J, Chalot M, Blaudez D. Plant growth promotion, metabolite production and metal tolerance of dark septate endophytes isolated from metal-polluted poplar phytomanagement sites. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, 92(10): fiw144.
- [25] 魏勇, 吴茜茜, 李应德, 王晓瑜, 常生华, 段廷玉. AM 真菌和根瘤菌对紫花苜蓿生长及其营养价值的影响. 草业科学, 2020, 37(6): 1115–1123.
- Wei Y, Wu XX, Li YD, Wang XY, Chang SH, Duan TY. Effects of an arbuscular mycorrhizal fungus and *Rhizobium* on the growth and nutritional value of *Medicago sativa*. *Pratacultural Science*, 2020, 37(6): 1115–1123. (in Chinese)
- [26] Thangavelu M, Raji M. Arbuscular mycorrhizal and dark septate endophyte fungal associations in *Asparagus*. *Turkish Journal of Botany*, 2016, 40(6): 662–675.
- [27] Song Z, Bi Y, Zhang J, Gong Y, Yang H. Arbuscular mycorrhizal fungi promote the growth of plants in the mining associated clay. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 113–121.
- [28] Huusko K, Ruotsalainen AL, Markkola AM. A shift from arbuscular mycorrhizal to dark septate endophytic colonization in *Deschampsia flexuosa* roots occurs along primary successional gradient. *Mycorrhiza*, 2017, 27(2): 129–138.
- [29] Chakraborty K, Banik S, Debnath A, Das AR, Das P. Arbuscular mycorrhiza and dark septate endophyte fungal associations of *Oryza sativa* L. under field condition: colonization features and their occurrence. *Plant Science Today*, 2019, 06(1): 63–70.
- [30] He YM, Fan XM, Zhang GQ, Li B, Li TG, Zu YQ, Zhan FD. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes on maize performance and root traits under a high cadmium stress. *South African Journal of Botany*, 2020, 134: 415–423.
- [31] Evans JR, Terashima I. Effects of nitrogen nutrition on electron transport components and photosynthesis in Spinach. *Functional Plant Biology*, 1987, 14(1): 59–68.
- [32] 王凯博, 上官周平. 黄土丘陵区燕沟流域典型植物叶片 C、N、P 化学计量特征季节变化. 生态学报, 2011, 31(17): 4985–4991.

- Wang KB, Shanguan ZP. Seasonal variations in leaf C, N, and P stoichiometry of typical plants in the Yangou watershed in the loess hilly gully region. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(17): 4985–4991. (in Chinese)
- [33] Zhang Q, Gong M, Yuan J. Dark septate endophyte improves drought tolerance in sorghum. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2017, 19(1): 53–60.
- [34] 吴建新, 王幼珊, 左强, 张淑彬, 邹国元. 接种丛枝菌根真菌对草莓基质育苗生长及果实品质的影响. *北方园艺*, 2011(15): 49–50.  
Wu JX, Wang YS, Zuo Q, Zhang SB, Zou GY. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and quality of strawberry. *Northern Horticulture*, 2011(15): 49–50. (in Chinese)
- [35] 孙艳梅, 张前兵, 苗晓茸, 刘俊英, 于磊, 马春晖. 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. *中国农业科学*, 2019, 52(13): 2230–2242.
- Sun YM, Zhang QB, Miao XR, Liu JY, Yu L, Ma CH. Effects of phosphorus-solubilizing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on production performance and root biomass of alfalfa. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(13): 2230–2242. (in Chinese)
- [36] 黄宁馨, 丁士勇, 刘睿, 鲁群, 朱和平. 主成分分析法优选枸杞乳酸菌发酵饮品发酵剂. *农业工程学报*, 2021, 37(7): 286–292.  
Huang NX, Ding SY, Liu R, Lu Q, Zhu HP. Optimizing lactic acid bacteria starter culture for wolfberry juice fermentation using principal component analysis. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2021, 37(7): 286–292. (in Chinese)
- [37] 林海明, 刘照德, 詹秋泉. 因子分析综合评价应该注意的问题. *数理统计与管理*, 2019, 38(6): 1037–1047.  
Lin HM, Liu ZD, Zhan QQ. Issues that should be noted on factor analysis for comprehensive evaluation. *Journal of Applied Statistics and Management*, 2019, 38(6): 1037–1047. (in Chinese)