

T/GRM

中关村绿色矿山产业联盟团体标准

T/GRM 102—2024

深色有隔内生真菌胞外代谢物应用技术规 程

Technical Specification for Application of Dark Septate Endophytes Extracellular
Metabolites

2024 - 12 - 23 发布

2024 - 12 - 24 实施

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
3.1 深色有隔内生真菌 dark septate endophytes	1
3.2 胞外代谢物 extracellular metabolite	1
3.3 植物生长刺激素 plant biostimulants	1
3.4 生态修复 ecological remediation	1
3.5 水剂 aqueous agent	1
3.6 粉剂 powder	1
4 技术要求	2
4.1 产品规格	2
4.2 技术原理	2
4.3 施用方式	2
4.4 施用要求	2
4.5 生物性能	3
5 检验方法	3
5.1 植物根系发育	3
5.2 植物光合作用	3
5.3 植物生长能力	3
5.4 微生物检测	3
5.5 土壤养分检测	3
6 安全与环保要求	3
7 包装、标识、运输和贮存	3
7.1 包装	4
7.2 标识	4
7.3 运输	4
7.4 贮存	4

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

为使我国矿区生态修复菌剂的应用技术走上科学化，规范化轨道，指导矿区微生物复垦工程建设，促进矿区生态环境的恢复与可持续发展，特制定《深色有隔内生真菌胞外代谢物应用技术规程》标准。本标准主要规定了深色有隔内生真菌胞外代谢物的范围、术语和定义、技术要求、检验方法、安全与环保要求和包装、标识、运输和贮存。

本文件由中关村绿色矿山产业联盟提出并归口。

本文件起草单位：中国矿业大学（北京）矿山生态修复研究院、西安科技大学西部矿山生态环境修复研究院、天山实验室、北京合生元生态环境工程技术有限公司。

本文件主要起草人：毕银丽、彭苏萍、王淑惠、解琳琳、张延旭、王坤、全文智、肖礼、武超、柯增鸣、白雪蕊

深色有隔内生真菌胞外代谢物应用技术规程

1 范围

本标准规定了由深色有隔内生真菌胞外代谢物的范围、术语和定义、技术要求、检验方法、安全与环保要求和包装、标识、运输和贮存。

本标准适用于矿山废弃地改良、矿区复垦与生态恢复、低产田提质、盐碱地改良及其他土壤改良用途。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/Z 41358-2022 土壤健康综合表征的生物测试方法

GB/Z 41359-2022 土壤质量 呼吸曲线法测定土壤微生物区系的丰度和活性

GB/T 42363-2023 土壤质量 土壤理化分析样品的预处理

GB/T 42487-2023 土壤质量 土壤硝态氮、亚硝态氮和铵态氮的测定 氯化钾溶液浸提流动分析法

GB/T 42490-2023 土壤质量 土壤与生物样品中有机碳含量与碳同位素比值、全氮含量与氮同位素比值的测定 稳定同位素比值质谱法

GB 36600-2018 土壤环境质量 建设用地土壤污染风险管控标准（试行）

GB/T 40226-2021 环境微生物宏基因组检测 高通量测序法

GB/T 41727-2022 农用微生物菌剂功能评价技术规程

GB/T 41728-2022 微生物肥料质量安全评价通用准则

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 深色有隔内生真菌 dark septate endophytes

一类定殖于宿主植物根表皮、皮层，甚至维管束组织细胞内和细胞间隙，形成深色有隔菌丝和微菌核特征结构的内生真菌。

3.2 胞外代谢物 extracellular metabolite

活菌在代谢过程中产生并分泌到细胞外的低分子量物质。

3.3 植物生长刺激素 plant biostimulants

一种生物来源的配制产品，它可以提高植物生产力，这是由于成分复合物的新颖或新兴特性，而不是作为已知必需植物营养素存在的唯一结果、植物生长调节剂或植物保护化合物。

3.4 生态修复 ecological remediation

在生态学原理指导下，以生物修复为基础，结合各种物理修复、化学修复以及工程技术措施，通过优化组合，使之达到最佳效果和最低耗费的一种综合的修复方法。

3.5 水剂 aqueous agent

深色有隔内生真菌胞外代谢物与培养液或水均匀混合在一起制成的一种剂型。

3.6 粉剂 powder

深色有隔内生真菌胞外代谢物冻干后粉碎制成的一种剂型。

4 技术要求

4.1 产品规格

该产品来自于深色有隔内生真菌生长指数期的胞外代谢物，浓度为10–20 g/L，pH值为4.5–7.0，粘度为100–500 cp，生长素含量10–25 mg/L。

4.2 技术原理

深色有隔内生真菌胞外代谢物以氨基酸，肽和类似物为主，还包括有机氧化合物、脂质和类脂质分子、有机杂环化合物、苯丙烷和聚酮化合物等11种化合物。深色有隔内生真菌产生具有生物活性的代谢物有利于提高宿主植物的营养有效性。深色有隔内生真菌胞外代谢物作为植物生物刺激素，改善植物生理代谢过程和根系形态，增强植物养分吸收和养分利用率，促进植物生长。深色有隔内生真菌胞外代谢物主要影响植物碳水化合物代谢，脂类代谢，还有包括苯丙素类合成、玉米素合成等次级代谢途径。在矿区生态修复过程中，利用深色有隔内生真菌胞外代谢物促进植物生长发育具有很大开发潜力。

4.3 施用方式

4.3.1 粉剂拌种

将代谢物粉剂和种子充分混匀，必要时将种子喷湿后混合，即拌即播，拌种后的种子当天用完，适用于条播、撒播或大面积机播。

4.3.2 水剂拌种

将胞外代谢物溶液和种子充分混匀，至种子相互间不粘连为宜，拌种后的种子当天用完，适用于条播、撒播或大面积机播。

4.3.3 灌根法

将胞外代谢物溶液或粉剂直接施于植物根部，促进植物根系发育。这种方法适用于低产田提质、灌溉条件较好的矿区。

4.3.4 叶面涂抹法

将胞外代谢物用刷子，均匀涂抹在植物叶片表面，宜少量多次涂抹，有利于促进养分快速吸收。

4.3.5 叶面喷施法

喷施胞外聚合雾滴宜细小、喷施应均匀，喷洒在植物生长旺盛的上部叶片和叶的背面，有利于吸收。这种方法适用于地势不平地区，利用无人机进行喷施。

4.3.6 与内生真菌混施法

将胞外代谢物与菌根真菌/深色有隔内生真菌混拌匀后施入植物根部，为内生真菌提供良好生存环境，便于内生真菌与植物根系更好共生，加速生态快速稳定建植与稳定生长发育。

4.3.7 与肥料混施法

将胞外代谢物与有机肥或无机肥混合后施用，利用其保水保肥特性，提高养分利用率和土壤结构的稳定性。该方法适用于需同步提高肥力的低产田提质和矿山废弃地改良。

4.4 施用要求

4.4.1 应根据需要确定深色有隔内生真菌胞外代谢物的施用时期、次数及数量

参考当地物候期，可应用于植被种植前的基肥，也可应用于植物生长期的追肥。根据不同适合的施用方式确定用量。

4.4.2 应避免在高温或强降雨天施用

4.5 生物性能

4.5.1 促进植物根系发育

胞外代谢物能够提高植物根体积和根系活力，改善根系结构和促进养分吸收。

4.5.2 提高植物养分吸收

胞外代谢物中的肽类、黄酮类化合物等可以作为化学信号调节植物的养分吸收过，提高植物养分吸收能力和养分利用效率。

4.5.3 提高植物光合作用效率

胞外代谢物作为叶面肥，有利于提高植物叶片蒸腾速率、净光合速率、胞间二氧化碳浓度和气孔导度。

4.5.4 改善土壤养分循环

胞外代谢物可以作为有机碳源，提高土壤酶活性，促进土壤中营养元素的转化与循环，增加土壤养分的有效性。

4.5.5 促进土壤微生物活性

胞外代谢物提供了丰富的碳源，作为微生物的营养来源，能够促进土壤中微生物群落的生长和活性，从而有助于提高土壤的生物学活性，提升土壤肥力，增加菌群的生物多样性。

5 检验方法

5.1 植物根系发育

埋设根管监测植物根系发育情况，测定指标包括根直径、根尖数、细根长。

5.2 植物光合作用

测定植物叶绿素含量，参照GB/T 41727-2022农用微生物菌剂功能评价技术规程执行；通过植物光合仪监测植物光合作用参数，包括蒸腾速率、净光合速率、胞间CO₂浓度和气孔导度。

5.3 植物生长能力

测定植物盖度、植株干重、根干重和根冠比，参照GB/T 41727-2022农用微生物菌剂功能评价技术规程执行。

5.4 微生物检测

测定土壤有益微生物种群结构与数量，参照GB/T 40226-2021环境微生物宏基因组检测 高通量测序法的规定执行。参照GB/Z 41358-2022 土壤健康综合表征的生物测试方法、GB/Z 41359-2022 土壤质量呼吸曲线法测定土壤微生物区系的丰度和活性。

5.5 土壤养分检测

参照GB/T 42363-2023 土壤质量 土壤理化分析样品的预处理，GB/T 42487-2023 土壤质量 土壤硝态氮、亚硝态氮和铵态氮的测定 氯化钾溶液浸提流动分析法和GB/T 42490-2023土壤质量 土壤与生物样品中有机碳含量与碳同位素比值、全氮含量与氮同位素比值的测定 稳定同位素比值质谱法。

6 安全与环保要求

符合环境保护相关法规要，不含有害病原微生物或重金属，符合土壤安全标准，参考GB/T 41728-2022 微生物肥料质量安全评价通用准则。

7 包装、标识、运输和贮存

7.1 包装

根据不同产品剂型选择适当的包装材料、容器、形式和方法，以满足菌剂产品包装的基本要求。产品包装中应有产品使用说明书，在使用说明书中标明使用范围、方法，用量及注意事项等内容。

液态菌剂可使用无菌塑料瓶灌装；粉剂产品可使用无菌塑料管包装，或者根据用量独立包装成胶囊，装在瓶内，内置干燥剂防潮。

7.2 标识

产品外包装需明确标注生产日期、保质期、批次、成分含量、贮存条件及适用领域。

7.3 运输

运输过程中有遮盖物，防止雨淋、日晒及高温。保证产品轻装轻卸，避免包装破损。严禁与对微生物菌剂有毒、有害的其他物品混装、混运。

7.4 贮存

液态菌剂应冷藏贮存（2-8℃）。粉剂和胶囊型产品应贮存在阴凉、干燥、通风的库房内，应避免高温、高湿等不良条件的影响。