

· 药学基础 ·

3种微生物菌肥对川芎生长发育、产质量和镉富集的影响

张德林¹, 余星语¹, 喻文¹, 王梅¹, 任敏², 李先海¹, 刘薇¹, 李敏^{1*}

(1. 成都中医药大学西南特色中药资源国家重点实验室, 成都 611137;

2. 四川省中药材集团有限责任公司, 成都 610015)

[摘要] 目的:探究3种微生物菌肥对川芎生长发育、产质量和镉(Cd)富集的影响。方法:以川芎苓种为材料,在川芎主产区(彭州、眉山)开展田间试验,采收期采收样品,测定川芎农艺性状、产量;采用2020年版《中华人民共和国药典》记载方法分析浸出物、挥发油、阿魏酸含量;采用电感耦合等离子体-质谱法(ICP-MS)测定镉含量;采用差异显著性分析、相关性分析、聚类分析进行数据处理。结果:适宜浓度的3种微生物菌肥对川芎均具有促生作用。在产量和质量方面,金无踪(1.50吨/hm²) (1吨=1 000 kg,下同)和翠京元(1.5 L·hm²)处理后川芎增产0.92%~46.34%;翠京元(1.8 L·hm²)和神锄(15,30 kg·hm²)处理后川芎水溶性浸出物增加了0.06%~18.79%,其中翠京元(1.8 L·hm²)增加显著($P<0.01$);金无踪(0.75,1.50,2.25吨/hm²),神锄(15,45 kg·hm²),翠京元(1.2 L·hm²)处理后川芎醇溶性浸出物降低了3.51%~22.94%($P<0.01$);金无踪(1.50吨/hm²)和神锄(30 kg·hm²)处理后川芎阿魏酸质量分数降低了2.14%~30.56%;3种微生物菌肥对川芎挥发油含量影响较小。在Cd富集方面,金无踪(0.75,1.50,2.25吨/hm²),神锄(15,30,45 kg·hm²)和翠京元(1.2 L·hm²)处理后土壤Cd浓度增加了11.33%~76.36% ($P<0.01$);金无踪(0.75吨/hm²)和翠京元(1.8 L·hm²)处理后川芎Cd富集系数减小了2.58%~48.38%,Cd含量及Cd积累量分别降低了9.54%~25.96%,9.34%~18.88%。结论:3种微生物菌肥对川芎生长发育、物质积累及降低Cd含量有一定的积极作用,各指标受到产地和处理方法共同影响。综合各指标分析,金无踪(0.75,1.50吨/hm²)能较好地适应川芎根际土壤微生态环境,其在保障川芎药材产量的前提下能有效降低Cd含量。

[关键词] 川芎;微生物菌肥;生长发育;产量;品质;重金属;镉(Cd)富集

[中图分类号] S144;R282;R931;C37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)05-0124-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211768

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210702.1058.001.html>

[网络出版日期] 2021-07-02 15:51

Effect of Three Microbial Fertilizers on Growth, Yield, Quality and Cadmium Accumulation of Chuanxiong Rhizoma

ZHANG De-lin¹, YU Xing-yu¹, YU Wen¹, WANG Mei¹, REN Min², LI Xian-hai¹, LIU Wei¹, LI Min^{1*}

(1. State Key Laboratory of Southwest Specialty Chinese Medicine Resources,

Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China;

2. Sichuan TCM Group Co. Ltd., Chengdu 610015, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of three kinds of microbial fertilizers on the growth, yield, quality, and cadmium (Cd) accumulation of Chuanxiong Rhizoma (CX). **Method:** Taking CX seeds as materials, field experiments were carried out in the main producing areas, Pengzhou and Meishan. The samples were collected during the harvesting period, and the agronomic characters and yield were determined. The

[收稿日期] 20210420(021)

[基金项目] 国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项(2017YFC1701800);四川省科技厅科技计划项目(2018SZ0058, 2020YFS0303);成都中医药大学“杏林学者”提升计划项目(CXTD2018016)

[第一作者] 张德林,在读博士,从事中药品种、质量及资源开发研究,E-mail:zhangdelintcm@126.com

[通信作者] *李敏,教授,博士生导师,从事中药品种、质量及资源研究,Tel:028-61800237,E-mail:028limin@163.com

contents of extract, volatile oil, and ferulic acid were analyzed by the collection method of *Chinese Pharmacopoeia* (2020 edition). The content of Cd was determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). Data were processed by difference significance analysis, correlation analysis and cluster analysis. **Result:** Three kinds of microbial fertilizers with appropriate concentrations could promote the growth of CX. In terms of yield and quality, the treatment of Jinwuzong (1.50 ton/hm², 1 ton=1 000 kg, the same below) and Cuijingyuan (1.5 L·hm⁻²) could increase the yield of medicinal materials by 0.92%-46.34%, while Cuijingyuan (1.8 L·hm⁻²) and Shenchu (15, 30 kg·hm⁻²) could increase the water-soluble extract of CX by 0.06%-18.79%, of which Cuijingyuan (1.8 L·hm⁻²) was significantly increased ($P<0.01$). The alcohol-soluble extract of CX treated with Jinwuzong (0.75, 1.50, 2.25 ton/hm²), Shenchu (15, 45 kg·hm⁻²), and Cuijingyuan (1.2 L·hm⁻²) decreased significantly by 3.51%-22.94% ($P<0.01$). The content of ferulic acid in CX treated with Jinwuzong (1.50 ton/hm²) and Shenchu (30 kg·hm⁻²) decreased by 2.14%-30.56%. Three kinds of microbial fertilizers had little effect on the content of volatile oil in CX. In the aspect of Cd enrichment, the concentration of Cd in rhizosphere soil of CX was increased by 11.33%-76.36% ($P<0.01$) after the treatment of Jinwuzong (0.75, 1.50, 2.25 ton/hm²), Shenchu (15, 30, 45 kg·hm⁻²) and Cuijingyuan (1.2 L·hm⁻²). However, the Cd enrichment coefficient of CX reduced by 2.58%-48.38%, the Cd content and Cd accumulation of CX decreased respectively by 9.54%-25.96% and 9.34%-18.88% via Jinwuzong (0.75 ton/hm²) and Cuijingyuan (1.8 L·hm⁻²). **Conclusion:** Three kinds of microbial fertilizers have a certain positive effect on the growth, substance accumulation, and reduction of Cd content in medicinal parts of CX, and the changes of each index are affected by the producing area and treatment method. Based on the comprehensive analysis of various indicators, Jinwuzong (0.75, 1.50 ton/hm²) can better adapt to the rhizosphere soil micro-ecological environment of CX, it can effectively reduce the content of Cd on the premise of guaranteeing the yield and quality of CX.

[Keywords] Chuanxiong Rhizoma; microbial fertilizer; growth and development; yield; quality; heavy metals; cadmium (Cd) enrichment

川芎始载于《神农本草经》^[1-2],列为上品,是中医临床上常用的活血止痛药,被誉为“血中之气药”,具有活血行气、祛风止痛的功效,常用于胸痹心痛、月经不调、头痛、风湿痹痛等^[3]。川芎是著名的川产道地药材和重要的中草药出口品种,主产于四川,以四川都江堰、彭州、郫县等为道地,目前以彭州和眉山两地产量最大。市售川芎多为人工种植,其中90%以上产自四川^[4]。因高镉(Cd)富集特性、土壤Cd污染、化肥过量施用等问题,导致川芎药材品质下降、重金属Cd含量超标^[5]。据不完全统计,川芎Cd超标率高达87.99%^[6-7],给相关产品安全和产业健康发展带来了不利影响,因此,如何解决Cd超标成为当下川芎产业发展的关键问题之一。

农业上应对重金属超标的策略主要有农业生态修复、物理修复、生物修复等,这些方法因各自的局限,难以在生产中推广应用。微生物修复策略因其成本效益高、环境友好、降重金属效果突出而备受关注。通过向土壤中施入微生物菌肥来改善土壤生态结构、提高土壤肥力、促进作物生长发育、

提高作物抗性、降低重金属污染等是微生物修复有效策略之一^[8]。目前,微生物菌肥在中药材生产中已得到广泛应用。既往研究证实,含细黄链霉菌的菌肥能较好地适应延胡索根际土壤微生态环境,提升延胡索单株产量和延胡索乙素含量^[9];丛枝菌根真菌能增加黄花蒿对氮、磷、钾元素的吸收,提高叶片叶绿素、地上生物量、青蒿素和挥发油含量^[10];微生物菌肥神锄能提高马铃薯植株与块茎产量^[11],能显著降低稻米中Cd的含量^[12];在轻度重金属污染稻田施用微生物菌肥金无踪后能提高稻谷产量,并且降低Cd含量^[13]。虽已有大量研究表明微生物菌肥在中药材增产保质方面效果突出,但有关川芎微生物菌肥的应用研究尚未见报道。基于此,本研究拟从川芎Cd超标的实际问题出发,以川芎为试验材料,开展田间试验,以农艺性状、产量、浸出物、阿魏酸和Cd含量等为考察指标,综合评价不同微生物菌肥施用对川芎生长发育、产质量和Cd富集的影响,以为微生物肥料在川芎及其他药材生产上的应用提供科学依据,对促进川芎绿色种植、产业健康

可持续发展、保障药材品质 and 安全性具有重要意义。

1 材料

NexION350型电感耦合等离子体质谱仪(美国PE公司),MARS型微波消解仪(美国CEM公司),ULUP-IV-10T优普系列超纯水器(成都超纯科技有限公司),QUINTIX224-1CN型1/1万电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],1200系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),Kromasil C₁₈色谱柱(瑞典Akzo Nobel公司,4.6 mm×250 mm,5 μm)。

65%硝酸(德国CNW公司,批号UA440960),Cd元素标准溶液(中国计量科学研究院,批号GBW08612,质量浓度1 g·L⁻¹),铟(In)元素标准溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心,批号GSB04-1731-2004,质量浓度1 g·L⁻¹),30%过氧化氢(成都市科龙化工试剂厂,批号2018030801),调谐液(美国PE公司,Li,Be,Mg,Fe,In,Ce,Pb,U混合标准溶液,质量浓度1 μg·L⁻¹),阿魏酸对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号wkq18042309,纯度≥98%),金无踪复合微生物肥料(佛山金葵子植物营养有限公司,批号20180311),翠京元微生物菌剂(辽宁翠京元生态环境发展有限公司,批号20180320),神锄复合微生物肥(成都华宏生物科技有限公司,批号20180415),乙腈、磷酸为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 试验设计 试验地分别位于四川省彭州市敖平镇和眉山市永寿镇,敖平镇(E103°59′21.60″,N31°04′56.70″),属亚热带湿润气候,年均降水量为1 000 mm,年均气温16℃,土壤类型为沙壤土,土壤基本化学性质为pH 5.47,有机质32.5 g·kg⁻¹,全氮2.27 g·kg⁻¹,全磷0.92 g·kg⁻¹,全钾22.5 g·kg⁻¹;永寿镇(E103°51′02.80″,N29°55′45.51″),属亚热带湿润季风气候,年均降水量1 058 mm,年均气温17℃,土壤类型为黏土,土壤的基本化学性质为pH 7.53,有机质26.9 g·kg⁻¹,全氮2.76 g·kg⁻¹,全磷1.04 g·kg⁻¹,全钾18.4 g·kg⁻¹。2018年8月开展田间试验,以汶川县水磨镇(E103°24′52.76″,N30°54′7.60″)产川芎苓种为试验材料,采用单因素随机区组设计试验小区,共设置10个试验组,各重复3次,每个小区面积4 m²(2 m×2 m),见表1。正常播种,待川芎齐苗时选择阴天按处理方法兑水灌根处理川芎,按《中药材生产质量管理规范》要求统一田间管理。分别于2019年4月中旬(眉山)和5月中旬(彭州)采挖样

品,现场测定农艺性状后,去除杂质、洗净泥沙,干燥测产,粉碎过二或四号筛备用。采用抖根法收集根际土壤,阴干后过四号筛备用。所有药材样品经成都中医药大学中药鉴定教研室李敏教授鉴定为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* 的干燥根茎。

表1 微生物菌肥处理方法

Table 1 Treatment of microbial fertilizers

编号	微生物菌肥	用量	产品形态	主要微生物种类	有效活菌数
JWZ-1	金无踪复合微生物肥料	0.75吨/hm ²		枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、米曲霉	≥0.2亿个/g
JWZ-2		1.50吨/hm ²	粉剂		
JWZ-3		2.25吨/hm ²			
CJY-1	翠京元微生物菌剂	1.2 L·hm ⁻²		布氏乳杆菌	≥20亿个/mL
CJY-2		1.5 L·hm ⁻²	浓缩液		
CJY-3		1.8 L·hm ⁻²			
SC-1	神锄复合微生物肥	15 kg·hm ⁻²		地衣芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌	≥0.2亿个/g
SC-2		30 kg·hm ⁻²	粉剂		
SC-3		45 kg·hm ⁻²			
CK	-	-	-	-	-

注:1吨=1 000 kg(下同)。

2.2 农艺性状分析 采样时挖起全株,采用卷尺测定川芎植株株高、冠幅,观察记录分蘖数,采用电子天平测定地上部分和地下部分鲜重,计算根冠比,公式为根冠比=地下部分鲜重/地上部分鲜重。

2.3 药材产量 采样时挖起全株,去掉非药用部分,快速洗净,晾干表面水分称量川芎根茎鲜重后,置电热鼓风干燥箱55℃烘干至恒重,冷却后称定质量,以小区单位面积产量计算药材产量,公式为药材产量=小区药材产量(kg)/4 m²×10 000 m²/hm²×1 000吨/kg。

2.4 成分分析 挥发油参照2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)(四部)通则2204挥发油测定法乙法测定^[1],醇溶性浸出物、阿魏酸含量参照2020年版《中国药典》(一部)“川芎”项下方法测定^[1],水溶性浸出物参照2020年版《中国药典》(四部)通则2201项下的热浸法测定^[1]。

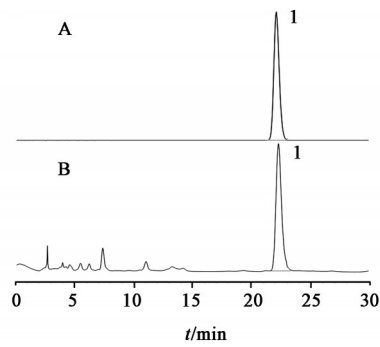
2.5 重金属Cd分析 川芎药材Cd含量及土壤Cd浓度分析参照文献方法进行测定,富集系数=植物无机元素含量/土壤背景值^[14]。采用单因子污染指数法评价川芎和土壤Cd污染程度,公式为P_i=C_i/S_i,式中P_i为污染因子i的单因子污染指数,C_i为污染因子i的实测值,S_i为污染因子i的评价标准,根据P_i数值大小划定污染等级,即P_i≤1.0表示安全,1.0<P_i≤

2.0表示轻度污染, $2.0 < P_i \leq 3.0$ 表示中度污染, $P_i > 3.0$ 表示重度污染。

2.6 统计分析 实验数据应用 Microsoft Excel 2019 进行整理计算, 采用 R 4.0.4 软件对数据进行相关性分析、聚类分析和方差分析 (Tukey HSD 检验) 并作图。参照《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准》^[15] 评价川芎安全性。参照《土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准 (试行)》^[16] 分析土壤 Cd 污染程度。

2.7 阿魏酸^[1]及Cd元素的线性考察 以阿魏酸质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=27.89X+1.15$ ($r=0.9999$), 线性范围 $10\sim 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。以 Cd 元素标准溶液质量浓度为横坐标, 3 次仪器响应的平均值为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=0.0030X-0.2134$ ($r=0.9999$), 线性范围 $1.00\sim 100.00\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 检测限 $0.01\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 定量限 $0.03\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 符合 2020 年版《中国药典》的要求。见图 1。

2.8 微生物菌肥对川芎农艺性状的影响 3 种微生物菌肥对川芎农艺性状的影响见图 2, 3。由图 2 可知, 与 CK 比较, 眉山不同处理川芎株高增加了 6.02%~18.05%, 其中 JWZ-1, JWZ-3, CJY-2, CJY-3, SC-2, SC-3 处理川芎后明显增加 ($P<0.05$, $P<0.01$); CJY-2, CJY-3 处理川芎后冠幅显著增加 ($P<0.01$), 分别增加了 27.81%, 16.97%; CJY-2, SC-2 处理川芎

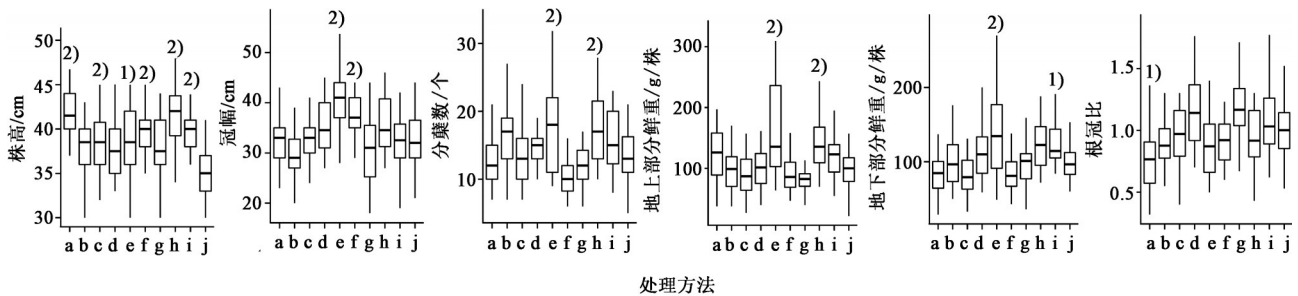


A. 对照品; B. 供试品; 1. 阿魏酸

图 1 川芎 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of Chuanxiong Rhizoma

后分蘖数和地上部分鲜重显著增加 ($P<0.01$); CJY-2, SC-3 处理川芎后地下部分鲜重明显增加 ($P<0.05$, $P<0.01$), 分别增加了 44.32%, 28.91%; CJY-1, SC-1, SC-3 处理川芎后根冠比分别增加了 16.31%, 17.24%, 7.04%。由图 3 可见, 彭州 JWZ-1~3, SC-3 处理川芎株高较 CK 增加了 0.81%~18.71%, 其中 JWZ-3 增加显著 ($P<0.01$); JWZ-1, JWZ-2 处理川芎后冠幅较 CK 分别增加了 6.27%, 3.06%; 与 CK 比较, 各处理川芎分蘖数增加了 4.38%~72.44%, 其中 JWZ-1 增加显著 ($P<0.01$); JWZ-1 处理川芎后地上部分鲜重较 CK 增加了 11.76%; JWZ-1, JWZ-2 处理川芎后地下部分鲜重较 CK 分别增加了 20.23%, 1.53%; JWZ-1, CJY-1, SC-1~3 处理川芎后根冠比较 CK 增加了 1.74%~19.43%, 其中 JWZ-1 增加最多。



与 CK 比较 ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ (图 3~8 同); a. JWZ-1; b. JWZ-2; c. JWZ-3; d. CJY-1; e. CJY-2; f. CJY-3; g. SC-1; h. SC-2; i. SC-3; j. CK (图 3~7 同)

图 2 不同微生物菌肥处理眉山川芎后的农艺性状比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=30$)

Fig. 2 Comparison of agronomic characters of Chuanxiong Rhizoma from Meishan treated with different microbial fertilizers ($\bar{x}\pm s$, $n=30$)

2.9 微生物菌肥对川芎药材产质量的影响 微生物菌肥对川芎药材产质量的影响见图 4, 5。结果发现在药材产量方面, JWZ-2, CJY-1, CJY-2, SC-1~3 处理后, 眉山川芎增产 3.40%~46.34%, 其中 CJY-1, CJY-2, SC-2, SC-3 较 CK 增产显著 ($P<0.01$), 产量为 5.67~6.65 吨/hm²; JWZ-1, JWZ-2, CJY-2 处理后, 彭州川芎分别增产 22.41%, 0.92%, 3.51%。与 CK 比较, CJY-3, SC-1, SC-2 处理后, 眉山川芎水溶性浸出

物含量增加, 其中 CJY-3 增加显著 ($P<0.01$), 其余处理川芎水溶性浸出物有不同程度的降低。不同处理眉山川芎的醇溶性浸出物质量分数 28.44%~35.31%, 符合 2020 年版《中国药典》川芎项下规定最低限量 (12.0%); 与 CK 比较, 各处理川芎的醇溶性浸出物显著降低 ($P<0.01$)。不同处理眉山川芎的阿魏酸质量分数 0.16%~0.20%, 符合 2020 年版《中国药典》川芎项下规定最低限量 (0.10%); 与 CK 相比,

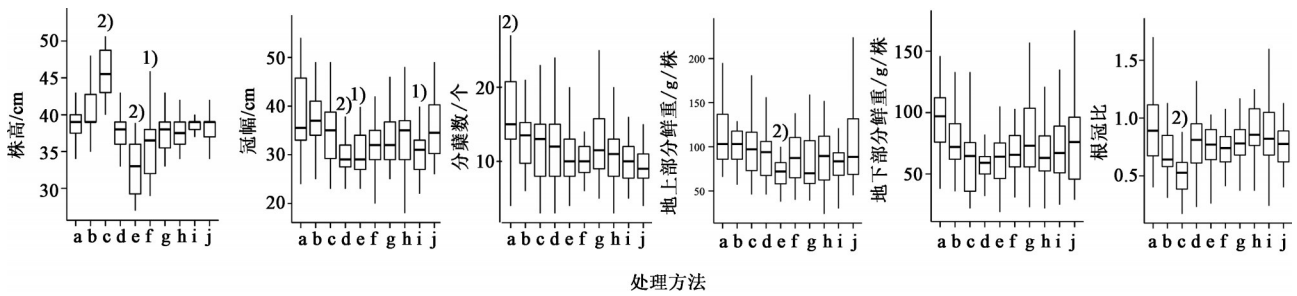


图3 不同微生物菌肥处理彭州川芎后的农艺性状比较($\bar{x}\pm s, n=30$)

Fig. 3 Comparison of agronomic characters of Chuanxiong Rhizoma from Pengzhou treated with different microbial fertilizers ($\bar{x}\pm s, n=30$)

JWZ-1, JWZ-3, CJY-2, CJY-3, SC-1, SC-3 处理能显著提高川芎阿魏酸含量,增加了 5.88%~11.76%($P<0.01$)。除 CJY-1, SC-3 外,其余处理彭州川芎的水溶性浸出物较 CK 提高 0.87%~18.79%,其中 CJY-3 增加显著($P<0.01$)。不同处理彭州川芎的醇溶性浸出物质量分数 22.51%~33.31%,符合标准,与 CK 比

较, CJY-2, CJY-3 处理川芎的醇溶性浸出物质量分数分别增加了 14.04%, 2.72%($P<0.01$)。不同处理彭州川芎的阿魏酸质量分数 0.13%~0.21%,符合 2020 年版《中国药典》的规定,但不同处理川芎的阿魏酸含量较 CK 有不同程度的降低。不同处理方式下川芎的挥发油含量较 CK 无显著变化。

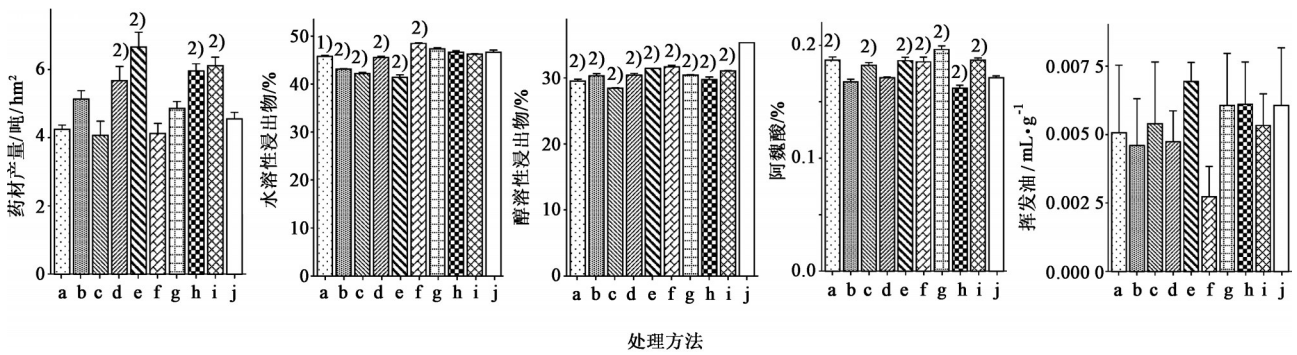


图4 不同微生物菌肥处理眉山川芎后的产量和质量比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 4 Comparison of yield and quality of Chuanxiong Rhizoma from Meishan treated with different microbial fertilizers ($\bar{x}\pm s, n=3$)

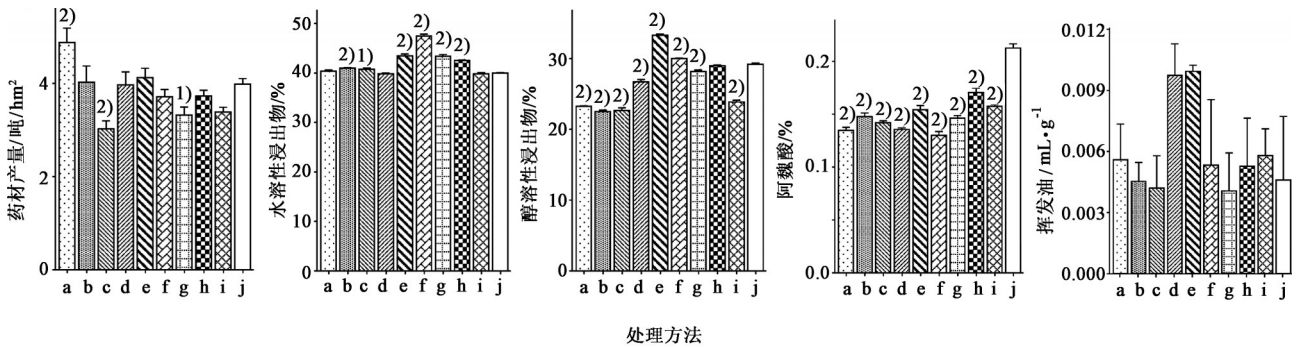


图5 不同微生物菌肥处理彭州川芎后的产量和质量比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 5 Comparison of yield and quality of Chuanxiong Rhizoma from Pengzhou treated with different microbial fertilizers ($\bar{x}\pm s, n=3$)

2.10 微生物菌肥对川芎 Cd 富集的影响 微生物菌肥不仅对作物生长发育、产量和品质产生影响,还能通过改变土壤性质及土壤中重金属元素形态,影响作物对重金属的吸收和转运。微生物菌肥处理后土壤 Cd 浓度,土壤 P_{Cd} , 川芎 Cd 含量,川芎 P_{Cd} , 富集系数及川芎 Cd 积累量均发生了不同程度的变化,见图 6,7。结果发现 JWZ-1~3, CJY-1, SC-1~3 处

理后两地土壤 Cd 质量分数升高 11.33%~76.36%($P<0.01$); CJY-2, CJY-3 处理后眉山土壤 Cd 质量分数分别升高了 30.00%, 14.55%($P<0.01$),但彭州土壤 Cd 质量分数分别降低了 10.97%, 9.25%($P<0.05$)。

《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准》规定 Cd 质量分数不得超过 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 不同方式处理后,眉山、彭州川芎根茎 Cd 质量分数分别为 0.170~

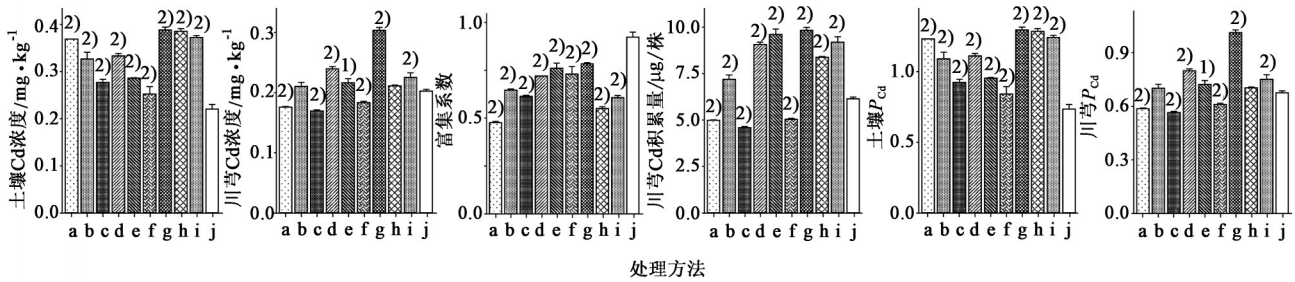


图6 不同微生物菌肥处理眉山川芎及其根际土壤中Cd富集差异比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 6 Comparison of Cd enrichment in Chuanxiong Rhizoma from Meishan and its rhizosphere soil treated with different microbial fertilizers ($\bar{x}\pm s, n=3$)

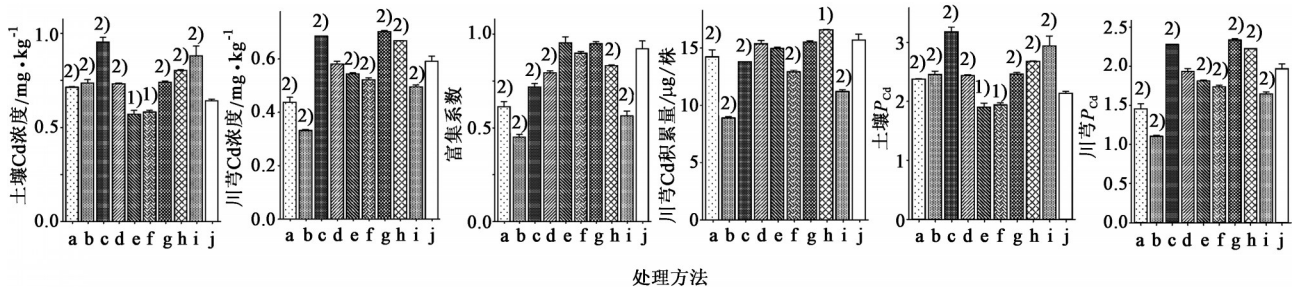


图7 不同微生物菌肥处理彭州川芎及其根际土壤中Cd富集差异比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 7 Comparison of Cd enrichment in Chuanxiong Rhizoma from Pengzhou and its rhizosphere soil treated with different microbial fertilizers ($\bar{x}\pm s, n=3$)

0.304, 0.332~0.701 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 其中眉山川芎除 SC-1 外均符合标准规定, 而彭州川芎 Cd 含量均超过标准限量, 总合格率 45%。JWZ-1, JWZ-3, CJY-3 处理后, 眉山川芎 Cd 含量较 CK 分别降低了 13.16%, 16.28%, 9.54%, 且差异具有统计学意义 ($P<0.01$)。不同处理眉山川芎 Cd 富集系数较 CK 减小 15.16%~48.38% ($P<0.01$), 其中 JWZ-1, SC-2 降低最多, 分别降低了 48.38%, 40.43%。JWZ-1, JWZ-3, CJY-3 处理后, 眉山川芎 Cd 积累量较 CK 显著降低 ($P<0.01$), 分别降低 18.88%, 25.19%, 18.03%。JWZ-1, JWZ-2, CJY-2, CJY-3 和 SC-3 处理后, 彭州川芎 Cd 质量分数降低了 7.90%~43.85% ($P<0.01$), 其中 JWZ-2 降低 Cd 含量效果最佳。JWZ-1~3, CJY-1, SC-2, SC-3 处理后, 彭州川芎 Cd 富集系数较 CK 减小 9.77%~51.08% ($P<0.01$), 其中 JWZ-2, SC-3 降低最多, 分别降低了 51.08%, 38.87%。与 CK 比较, JWZ-1~3, CJY-3, SC-3 处理后彭州川芎 Cd 积累量显著降低, 降低 9.34%~43.36% ($P<0.01$), 其中 JWZ-2 处理后川芎 Cd 积累量降低最多。

以 Cd 为污染因子计算单因子污染指数, 根据 P_c 数值大小划定污染等级, 结果显示, 两地 JWZ-1 和 CJY-3 处理川芎的 P_{Cd} 较 CK 显著降低 ($P<0.01$), SC-1 处理川芎的 P_{Cd} 较 CK 显著升高 ($P<0.01$)。眉山 SC-1 处理川芎为轻度污染, 其余处理川芎为安全级别。

彭州 JWZ-3, SC-1, SC-2 处理川芎为中度污染, 其余处理川芎为轻度污染。两地 JWZ-1~3, CJY-1, SC-1~3 处理土壤的 P_{Cd} 较 CK 显著升高 ($P<0.01$), 眉山 JWZ-3, CJY-2, CJY-3 处理土壤为安全级别, 其余处理土壤为轻度污染。彭州 JWZ-3 处理土壤为重度污染, CJY-2, CJY-3 处理土壤为轻度污染, 其余处理土壤为中度污染。

2.11 相关性分析 川芎各指标相关性分析见图 8。结果表明分蘖数、地上部分鲜重、地下部分鲜重、根冠比、药材产量、水溶性浸出物、醇溶性浸出物、阿魏酸含量、土壤 Cd 浓度、川芎 Cd 含量、富集系数、川芎 Cd 积累量、土壤 P_{Cd} 及川芎 P_{Cd} 与产地呈显著相关关系。根冠比、醇溶性浸出物、阿魏酸含量、富集系数与处理方法显著正相关。分蘖数、地上部分鲜重、地下部分鲜重、根冠比、药材产量、水溶性浸出物、醇溶性浸出物和阿魏酸含量均与土壤 Cd 浓度、川芎 Cd 含量显著负相关。

2.12 聚类分析 为进一步明确产地和处理方法对川芎各指标的影响, 利用 R 4.0.4 软件绘制热图并进行聚类分析, 见图 9。通过横向聚类反映各指标的关系, 纵向聚类反映产地和处理方法之间的关系, 并以热图颜色的深浅反映各样品指标标准化值大小。结果显示, 在指标方面分为两类, 土壤 Cd 浓度、挥发油含量、富集系数、川芎 Cd 含量、川芎 Cd 积累

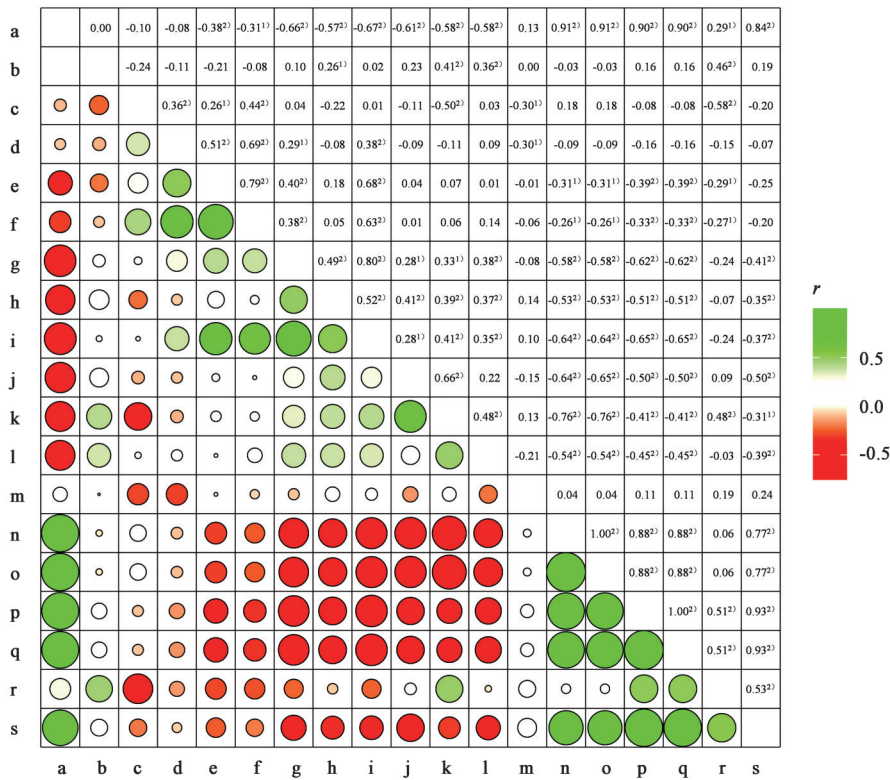


图8 不同微生物菌肥处理川芎后评价指标的相关性分析

Fig. 8 Correlation analysis of indexes of Chuanxiong Rhizoma treated with different microbial fertilizers

量、土壤 P_{Cd} 和川芎 P_{Cd} 聚为一类,其他指标聚为一类;在产地和处理方法方面,分为眉山和彭州两类,而眉山将 CJY-2 处理聚为一类,其他处理聚为一类,彭州将 JWZ-1~3 和 SC-3 处理聚为一类,其他处理聚为一类。整体来看,彭州样品在土壤 Cd 浓度、川芎 Cd 含量、川芎 Cd 积累量、挥发油含量、富集系数、土壤 P_{Cd} 和川芎 P_{Cd} 方面高于眉山样品,而在水溶性浸出物、醇溶性浸出物、根冠比、阿魏酸含量、株高、冠幅、地上部分鲜重、地下部分鲜重、分蘖数、药材产量方面低于眉山样品,说明产地和处理方法均对各指标有影响。

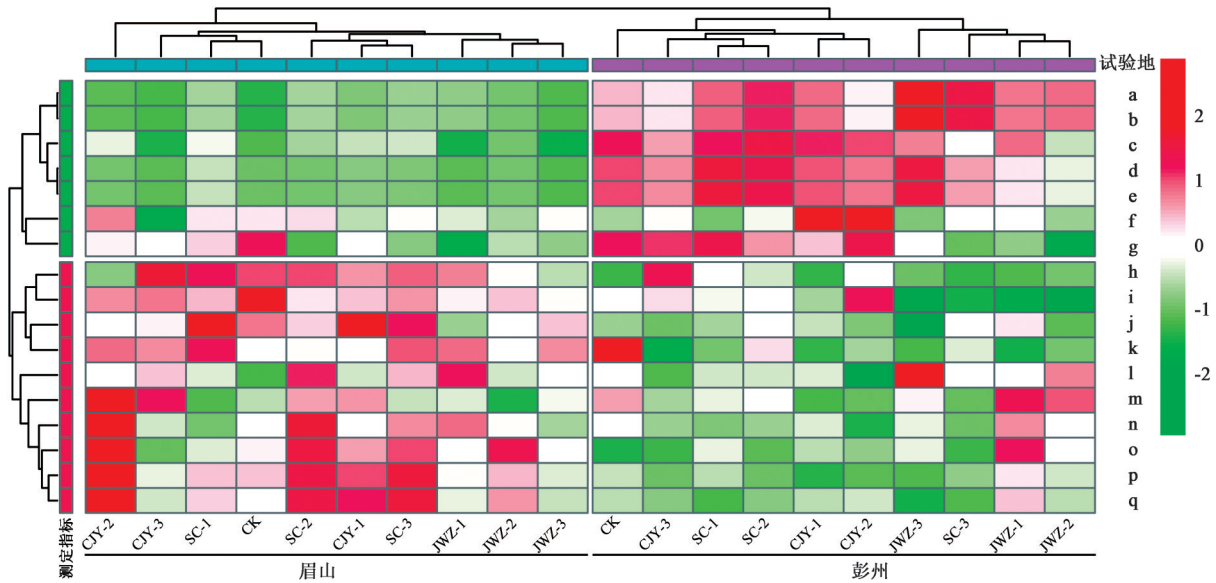
3 讨论

植物生长发育所需的水分和营养物质主要通过根系从土壤中吸收而来,而土壤微生物能够将土壤中难以被植物直接利用的物质加以分解或转化,使其更易被植物吸收,有利于植物的生长发育^[17]。适宜的微生物施入土壤后,土壤微生态环境发生改变,使其更适于植物生长,同时增强植物的抗逆性,促进植物生长发育^[18]。秦亚芬等^[19]报道复合菌剂对小麦萌发和幼苗的生长发育均有促进作用。枯草芽孢杆菌能促进拟南芥、小麦、生菜生长的作

用^[20],提高党参的发芽、根长、分枝、叶面积^[21]。嗜盐芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌和复合菌能显著促进紫花苜蓿、柠条生长及增产^[22]。本文发现金无踪主要通过增加川芎株高、冠幅、分蘖数、地上及地下部分鲜重,促进川芎植株生长;而翠京元和神锄主要通过增加川芎分蘖数和根冠比,进而促进川芎植株生长。总而言之,上述3种微生物菌肥主要通过影响川芎分蘖、物质分配和积累来促进川芎生长发育。

微生物不仅有促生作用,还能提高作物产量和品质。据报道,解淀粉芽孢杆菌能增加藜麦鲜质量和干质量^[23],枯草芽孢杆菌能提高党参的生物量和叶绿素含量^[21],丛枝菌根真菌可以改变甜罗勒油中单糖烯醇和苯丙酸的含量^[24]。本文研究发现适宜浓度的金无踪和翠京元对川芎增产效果明显,并且一定浓度的翠京元和神锄能增加川芎水溶性浸出物,说明翠京元和神锄能促进川芎根茎部位水溶性物质的积累。

川芎作为常用大宗药材和重要的出口品种,因 Cd 超标问题严重,其品质和安全性备受关注,如何解决川芎 Cd 超标问题成为目前川芎产业发展的首要问题。土壤重金属污染问题是一个世界性难题,



a. 土壤 Cd 浓度; b. 土壤 P_{Cd} ; c. 川芎 Cd 积累量; d. 川芎 Cd 含量; e. 川芎 P_{Cd} ; f. 挥发油含量; g. 富集系数; h. 水溶性浸出物; i. 醇溶性浸出物; j. 根冠比; k. 阿魏酸含量; l. 株高; m. 冠幅; n. 地上部分鲜重; o. 分蘖数; p. 地下部分鲜重; q. 药材产量
图 9 不同微生物菌肥处理川芎后评价指标的聚类分析

Fig. 9 Clustering analysis of indexes of Chuanxiong Rhizoma treated with different microbial fertilizers

其中尤以土壤 Cd 污染最为突出。当前土壤重金属污染处理方法有物理、化学、生物方法等,但均不同程度地存在着投资大、能耗高、操作困难、易产生二次污染等缺点,难以应用于生产实践。微生物修复具有成本低、环境友好等特点,可在一定程度上带来经济效益和生态效益,是一种较理想的重金属污染修复方法,也为解决川芎 Cd 超标提供更多的可行性和可能性^[25]。本文研究发现,金无踪、神锄及低浓度的翠京元施用后增加川芎根际土壤 Cd 浓度,低浓度金无踪和高浓度翠京元降低川芎根茎 Cd 含量, Cd 富集系数及根茎 Cd 积累,推测可能是降低了川芎根际土壤中有效 Cd 含量进而影响到川芎根茎对 Cd 的吸收和积累。

《土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准(试行)》规定水旱轮作地 $pH \leq 5.5$ 时, Cd 的筛选值和管控值分别为 $0.3, 1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; $6.5 < pH \leq 7.5$ 时, Cd 的筛选值和管控值分别为 $0.3, 3.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。本文研究发现,金无踪 ($0.75, 1.50, 2.25 \text{ 吨}/\text{hm}^2$),神锄 ($15, 30, 45 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$)及翠京元 ($1.2 \text{ L} \cdot \text{hm}^{-2}$)施用后导致川芎根际土壤 Cd 浓度显著升高,不同处理眉山土壤 ($pH 7.53$)的 Cd 质量分数 $0.277 \sim 0.388 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,除金无踪 ($2.25 \text{ 吨}/\text{hm}^2$)为 $0.277 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 外其他处理土壤 Cd 浓度均高于筛选值,但远低于管控值;不同处理彭州土壤 ($pH 5.47$)Cd 质量分数 $0.714 \sim 0.954 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,均高于筛选值低于管控值。上述措施均可能增加土壤污染风险,应采取相应的安全利用措施。

相关性分析后发现,川芎农艺性状,物质积累,药材产量、质量和 Cd 含量等均与产地显著相关,说明产地对川芎植株生长、物质积累和 Cd 富集影响显著,进一步揭示道地产区对药材产质量的重要性。根冠比、醇溶性浸出物、阿魏酸含量、富集系数与处理方法显著正相关,说明适宜微生物菌肥的施用会促进川芎光合物质的向地运输和积累,增加川芎根茎脂溶性物质和次生代谢产物阿魏酸的合成与积累,降低根茎 Cd 含量。川芎植株分蘖数、地上部分鲜重、地下部分鲜重、根冠比、药材产量、水溶性浸出物、醇溶性浸出物和阿魏酸含量与土壤 Cd 浓度、川芎 Cd 含量显著负相关,说明较高的土壤 Cd 浓度和根茎 Cd 含量不利于川芎植株的生长和物质积累。

本文研究对象为混合型微生物菌肥,研究结果显示,以枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、米曲霉为有效菌种的复合微生物菌肥金无踪的施用对川芎生长发育、产量及降 Cd 效果有积极作用,但其使用后会提高土壤 Cd 含量,增加土壤污染风险,推测与金无踪基质高 Cd 含量有关。而关于枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、米曲霉 3 种微生物对川芎生长发育和 Cd 富集影响的机制尚不清晰。川芎种植历史悠久、栽培技术成熟,目前关于川芎肥料方面的研究主要在探究化肥或化肥与有机肥最佳配比方面,且已找到较优配比^[26]。既往研究证实川芎生产过程中添加生石灰可提高土壤 pH 和降低土壤 Cd 有效性,降低川芎药材中 Cd 含量^[4,6,16]。在现有研究基础上,

结合川芎不同生长发育时期的营养需求特征确定施肥的次数、用量及最适的比例;通过对不同时期的农艺性状测定及最终药材的Cd含量,开发一种川芎降Cd的专用肥料,可为解决川芎Cd污染问题提供更多的可能性。

4 结论

3种微生物菌肥主要通过影响川芎分蘖、物质分配和积累来促进川芎生长发育;适宜浓度的金无踪和翠京元能增加川芎产量,降低川芎Cd含量;适宜浓度的金无踪和神锄能减少川芎Cd积累量和Cd富集系数,但也会导致土壤Cd浓度升高和川芎醇溶性浸出物的降低。不同处理川芎挥发油含量较CK无显著变化。综合分析,金无踪在两地表现均较好且效果基本一致,金无踪(0.75, 1.50吨/hm²)能较好地适应川芎根际土壤微生态环境,其在保障川芎药材产量的前提下能有效降低Cd含量。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:42-43.

[2] 佚名. 神农本草经[M]. 孙冯翼,辑. 呼和浩特:内蒙古人民出版社,2006.

[3] 张廷模,马逾英,曾南,等. 川芎[J]. 中药与临床, 2010,1(2):6-11.

[4] 贾敏如. 川芎、川白芷生产质量管理规范GAP的研究[M]. 成都:四川科学技术出版社,2007.

[5] 廖雪梅,陈媛媛,陶珊,等. 川芎重金属镉污染现状及降镉策略研究进展[J]. 河南农业科学, 2020, 49(10):1-11.

[6] 张德林,张思荻,杨海燕,等. 基于土壤Cd污染对川芎产量和品质的影响研究[J]. 中药材,2019,42(6): 1228-1230.

[7] 何畅. 从英国禁令分析中药出口欧盟的重金属超标问题及对策[J]. 中草药,2016,47(10):1820-1824.

[8] KHADIJEH B, RAOUF S S, ALIREZA P, et al. Effects of bio fertilizer and nano Zn-Fe oxide on physiological traits, antioxidant enzymes activity and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress[J]. J Plant Interact, 2017, 12(1):381-389.

[9] 熊春霞,张静,蒋费涛,等. 不同微生物菌肥处理对延胡索产量和品质的影响[J]. 南方农业学报,2020,51(5):1159-1168.

[10] 黄京华,谭钜发,揭红科,等. 丛枝菌根真菌对黄花蒿生长及药效成分的影响[J]. 应用生态学报,2011,22(6):1443-1449.

[11] 杜友萍. 神锄复合微生物菌剂对马铃薯产量的影响[J]. 现代农业科技,2015(16):142-143.

[12] 王晓云,李智强,李越. 复合微生物肥晚稻降镉田间试验研究[J]. 四川化工,2018,21(4):49-51.

[13] 杨俊杰,何定国,何定荣,等. 金无踪对轻度重金属污染稻田稻米重金属降污效果评价[J]. 佛山科学技术学院学报:自然科学版,2014,32(1):27-31.

[14] 张德林,陈蓉,喻文,等. 基于不同川芎种质资源对4种重金属富集特性的研究[J]. 中药材,2019,42(2): 279-284.

[15] 中华人民共和国商务部. 中华人民共和国外贸行业标准(WM/T 2—2004):药用植物及制剂外贸绿色行业标准[S]. 2005.

[16] 中华人民共和国生态环境部,国家市场监督管理总局. 中华人民共和国国家标准(GB 15618—2018):土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准(试行)[S]. 北京:中国环境出版集团,2018.

[17] 张世缘. 土壤微生物在促进植物生长方面的作用[J]. 生物化工,2017,3(1):54-56.

[18] RAMAKRISHNA W, YADAV R, LI K. Plant growth promoting bacteria in agriculture: two sides of a coin [J]. Appl Soil Ecol, 2019, 138: 10-18.

[19] 秦亚芬,张杰. 液体复合微生物菌剂对小麦萌发及生长的影响[J]. 上海农业学报,2016,32(1):47-51.

[20] LEE S, TRINH C S, LEE W J, et al. *Bacillus subtilis* strain L1 promotes nitrate reductase activity in *Arabidopsis* and elicits enhanced growth performance in *Arabidopsis*, lettuce, and wheat [J]. J Plant Res, 2020, 133(2):231-244.

[21] WU Y N, FENG Y L, PARE P, et al. Beneficial soil microbe promotes seed germination, plant growth and photosynthesis in herbal crop *Codonopsis pilosula* [J]. Crop Pasture Sci, 2016, 67(1):91-98.

[22] 王涛,邓琳,何琳燕,等. 微生物菌剂对砒砂岩土壤的改良作用[J]. 中国环境科学,2020,40(2):764-770.

[23] 徐瑛,郭晓农,蔡德育. 解淀粉芽孢杆菌11B91对藜麦生长影响的初探[J]. 大麦与谷类科学,2019, 36(5):10-14.

[24] PRASAD A, KUMAR S, KHALIQ A, et al. Heavy metals and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can alter the yield and chemical composition of volatile oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) [J]. Biol Fert Soils, 2011, 47(8):853-861.

[25] 陈小攀,冯秀娟. 微生物对重金属元素作用机理综述[J]. 有色金属科学与工程,2012,3(3):56-59.

[26] 梁琴,陈兴福,李瑶,等. 化肥与有机肥配施对川芎产量的影响[J]. 中药材,2015,38(10):2015-2020.

[责任编辑 刘德文]