

# 不同微生物菌剂对三桠苦幼苗生长及根际土壤微生物多样性的影响\*

熊茜<sup>1</sup>, 曾焯<sup>2</sup>, 杨松<sup>3</sup>, 贾钰洁<sup>3</sup>, 林俐群<sup>3</sup>, 肖凤霞<sup>1</sup>

- 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006
- 深圳市中药制造业创新中心有限公司, 广东 深圳 518110
- 中国农业科学院深圳农业基因组研究所, 广东 深圳 518116

**摘要:** 三桠苦(*Melicope pteleifolia*)是中国传统的药用植物,是广东凉茶和三九胃泰颗粒等名优中成药的重要原料。本研究以三桠苦幼苗为材料,通过叶面喷施不同种类的微生物菌剂,探究幼苗生长发育及根际土壤微生物群落的变化。结果表明,微生物菌剂处理能显著提高三桠苦幼苗的株高、茎粗、壮苗指数及叶节数等指标,其中光合细菌菌剂(T2)处理效果最为突出。土壤微生物分析显示,施用复合EM菌(T1)、光合细菌菌剂(T2)或二者配施(T4)均能提高土壤OTU数量,而其他微生物菌剂则导致OTU数量降低。实验发现,三桠苦幼苗的根际土壤中变形菌门(Proteobacteria)为优势菌群,施用各菌肥后均能提高根际土壤中酸杆菌门(Acidobacteriota)的相对丰度。 $\alpha$ 多样性分析表明,T1、T2和T4处理下土壤微生物群落多样性更高,且该多样性与幼苗生长指标呈正相关。综上,T1、T2与T4可作为三桠苦苗期适宜的菌肥配施方案,其中酸杆菌门与拟杆菌门(Bacteroidota)可能在调节根际微生物群落、改善土壤肥力方面发挥重要作用。本研究为优化三桠苦栽培技术提供了理论依据。

**关键词:** 三桠苦;微生物菌剂;根际微生物;苗期

**中图分类号:** S14 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-0137(XXXX)XX-0001-09

## Effects of different microbial inoculants on seedling growth and rhizosphere soil microbial diversity of *Melicope pteleifolia*

Xiong Xi<sup>1</sup>, Zeng Ye<sup>2</sup>, Yang Song<sup>3</sup>, Jia Yujie<sup>3</sup>, Lin Liqun<sup>3</sup>, Xiao Fengxia<sup>1</sup>

- School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China
- Shenzhen Traditional Chinese Medicine Manufacturing Innovation Center Co., Shenzhen 518110, China
- Agricultural Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen 518116, China

**Abstract:** *Melicope pteleifolia* is a traditional medicinal herb in China and a vital raw material for renowned Chinese patent medicines such as Guangdong herbal tea and Sanjiu Weitai Granules. In the present study, *M. pteleifolia* seedlings were employed as experimental materials, and various types of microbial inoculants were foliar-sprayed to investigate the variations in seedling growth and development as well as rhizosphere soil microbial communities. The results demonstrated that microbial inocu-

\* 收稿日期: 2026-01-07

录用日期: 2026-04-29

网络首发日期: 2026-07-XX

基金项目: 广东云浮中医药(南药)产业创新团队项目(202301)

作者简介: 熊茜(1986年生),女;研究方向: 中药学;E-mail: xiongxi999@sina.com

通信作者: 肖凤霞(1973年生),女;研究方向: 中药学;E-mail: xfx92@gzucm.edu.cn

全文阅读



ZR20260010

lant treatments significantly enhanced the plant height, the stem diameter, the seedling vigor index, and the number of leaf nodes of *M. pteleifolia* seedlings, among which the treatment with photosynthetic bacterial inoculant (T2) exhibited the most remarkable effect. Soil microbial analysis revealed that the application of compound EM inoculants (T1), photosynthetic bacterial inoculant (T2), or their combined application (T4) could all increase the number of soil operational taxonomic units (OTUs), whereas other microbial inoculants resulted in a reduction in OTU abundance. It was observed that Proteobacteria was the dominant phylum in the rhizosphere soil of *M. pteleifolia* seedlings, and the application of all microbial inoculants elevated the relative abundance of Acidobacteriota in the rhizosphere soil.  $\alpha$  diversity analysis indicated that the diversity of soil microbial communities was higher under T1, T2, and T4 treatments, and this diversity was positively correlated with seedling growth indices. In conclusion, T1, T2, and T4 can serve as suitable microbial fertilizer application schemes for *M. pteleifolia* at the seedling stage, among which Acidobacteriota and Bacteroidota may play pivotal roles in regulating rhizosphere microbial communities and improving soil fertility. This study provides a theoretical foundation for optimizing the cultivation techniques of *M. pteleifolia*.

**Key words:** *Melicope pteleifolia*; microbial inoculants; rhizosphere microorganism; seedling stage

南药通常指中国岭南地区的中药材和民族医药,近些年的报道和研究非常多,以道地药材化橘红、广陈皮为粤八味典型代表,主要应用于中药饮片和食品加工等领域,主要供给医院、中药生产企业或食品加工厂,其品种繁多且缺乏统一标准,导致资源利用呈现出无序状态,进一步制约了其产业的健康发展(苏薇薇等,2025;廖彦等,2025)。由于近些年南药的规模化、规范化、产业化发展,另一味中药材受到广泛关注,即三桠苦。三桠苦[*Evodia lepta* (Spreng.) Merr.],是芸香科吴茱萸属乔木植物。因叶为三出复叶,呈三岔状,其味苦涩,因此又被民间俗称为三丫苦、三叉苦等。三桠苦始载于《岭南采药录》,在《全国中草药汇编》《广西中药志》《广西本草选编》《中药大辞典》《中国本草图录》《新华本草纲要》《实用中草药原色图谱》等均有记载。在我国广东、广西、海南等地有广泛的分布,茎、枝、叶皆可入药,常用于治疗风热感冒或风湿痹痛,在我国南方地区尤其受到重视(张勇,2010)。目前,三桠苦已经在感冒灵、三九胃泰颗粒、三金片等30多种成方制剂中得到广泛应用,同时,三桠苦也是广东凉茶的重要原料,具有较高的食用价值(曾焯等,2023)。

三桠苦作为一种应用广泛的岭南药材,其人工栽培技术也备受人们关注。然而,随着农业现代化不断推进,化肥、农药的滥用导致土壤肥力逐年下降、微生物群落逐渐失衡等一系列环境问题限制了作物产量潜力发挥(武杞蔓等,2021)。由于三桠苦的植物学特性,其生长发育受土壤、光照、温度等环境因素影响较大,传统单品种种植的模式面临病虫

害频发、经济效益低下等问题,使用微生物菌剂的生态种植模式成为解决该问题的探索路径(许雷等,2020)。研究表明,微生物菌剂不仅能提高药用植物的产量,还能增强植物对养分的吸收能力,促进其生长。此外,微生物菌剂的使用减少了化肥的需求量,增加了土壤中微生物的数量,有助于形成稳定的微生物群落结构(王涛等,2011;余松灿等,2011;Abboud et al.,2013;王梦雅等,2018)。值得注意的是,土壤微生物群落组成的多样性和稳定性对于整个生态系统的平衡和植物的生长发育具有重要的意义,而随着测序技术的发展,对于微生物的检测变得越来越简单便捷。高通量测序技术比传统分离纯化的方法在质量、速度上快速提升。其中,微生物扩增子测序主要采用 Illumina 测序平台的 PE250 测序策略,针对微生物中 16S/18S/ITS 或者某种特定功能基因序列进行特异性扩增,并对扩增产物进行高通量测序,进而了解样本中微生物多样性、群落组成及丰度差异等信息。

此外,微生物菌剂还强化了氮、钾养分的吸收与积累,提升了土壤中的有机质含量,改善了土壤微生态环境和氮素循环,从而改善了植物的品质(石磊等,2011;于会丽等,2022)。鉴于微生物菌剂对药用植物有如此多的积极影响(张澳等,2023;石有太,2020;杨薇靖等,2023),本研究拟开展不同微生物菌剂对三桠苦苗期生长影响的田间区组试验,探索适合三桠苦苗期生长的最佳菌肥,了解微生物菌剂施用对土壤微生物群落的影响,以期为菌肥筛选、推进三桠苦产业化推广与规范化种植提供技术支撑和理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地点

试验区概况: 本试验于 2023 年 5 月进行, 试验区位于广东省深圳市大鹏新区鹏飞路 18 号广东省深圳市中国农业科学院深圳基因组研究所创新研究基地内, 东经 114°29'54", 北纬 22°36'20", 海拔 20 m。试验地为黏性土壤, 土壤肥力一致。

### 1.2 材料

**1.2.1 试验材料** 三桠苦种苗由华润三九医药股份有限公司提供, 种苗来源于广东省云浮市前锋三叉苦 GAP 种源基地, 采用营养杯育苗, 选取苗龄 1 月, 株高 10 cm 左右, 生长健壮、长势一致的杯苗进行实验。

**1.2.2 试验菌肥** 本研究使用 3 种不同类型的生物菌剂, 以复合肥 [ $m(N):m(P):m(K)=15:15:15$ ] 作为对照, 具体产品信息与实验处理的用法用量见表 1。复合 EM 菌种由山东益泰生物科技有限公司生产, 主要成分为乳酸菌、酵母菌、芽孢杆菌、光合细菌、放线菌等, 有效活菌数  $\geq 500$  亿/g; 光合细菌菌剂由沐阳县百丰农资经营部生产, 主要成分为沼泽红假单胞菌, 有效活菌数  $\geq 5$  亿/mL; 微生物菌剂由洛阳欧克生物科技有限公司生产, 主要成分为枯草芽孢杆菌、胶冻样类芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌等, 有效活菌数  $\geq 2$  亿/mL。

### 1.3 试验方案和测量指标

试验设计为田间小区试验, 小区大小为 2 m  $\times$  5 m, 每个小区放 20 个育苗托盘, 每个育苗托盘放置 36 杯杯苗, 用遮阳网覆盖整个地块, 并定期拔除杂草。

共设置 8 个处理: T1 为复合 EM 菌, T2 为光合细菌菌剂, T3 为微生物菌剂, T4 为复合 EM 菌+光合细菌菌剂 (50% T1 + 50% T2), T5 为光合细菌菌剂+微生物菌剂 (50% T2 + 50% T3), T6 为复合 EM 菌+光合细菌菌剂+微生物菌剂 (33% T1 + 33% T2 + 33% T3), T7 为复合 EM 菌+微生物菌剂 (50% T1 + 50% T3), CK 为复合肥 [ $m(N):m(P):m(K)=15:15:15$ ] 对照组。菌剂处理的用法用量见表 1, 各处理随机区组排列, 每个处理 3 个重复, 参照候选菌剂说明书中的活菌数调整配比 (使各处理加入的外源微生物数量大体保持一致), 每 15 d 施肥 1 次并根据实际情况进行调整, 不喷施防虫防病药剂, 其他田间管理措施同大田一致。根据测定的数据, 评估施用菌剂对三桠苦苗期生长的影响, 以评判不同菌剂的促生效果。

对苗期的三桠苦的株高、茎粗、叶节数、干物质质量每 30 d 测量 1 次。采用五点取样法, 每个实验组随机挑选 10 株进行测量取平均值。

### 1.4 土壤微生物扩增子测序

土壤取样: 使用土壤取样器取三桠苦根际表层 5~10 cm 的土壤, 每 3 株的根际土去除草根等杂质后混合均匀, 再使用四分法取土壤 5 g 作为 1 个生物学重复, 每组处理设置 3 组重复。取好的土壤液氮速冻后 -80 °C 保存, 干冰运输。

DNA 提取: 使用 E.Z.N.A™ MagBind Soil DNA 试剂盒 (Omega, M5635-02, USA) 进行土壤中微生物 DNA 提取, 然后使用 Qubit 4.0 (Thermo, USA) 测量 DNA 的浓度, 以确保提取了足够数量的高质量基因组 DNA。

表 1 菌剂处理信息表<sup>1)</sup>

Table 1 Information table for fungicide treatment

处理	菌剂	技术指标	成分说明	用量
T1	复合 EM 菌种 (固体)	有效活菌数 $\geq 500$ 亿/g	乳酸菌、酵母菌、芽孢杆菌、光合细菌、放线菌	20 g/20 L 水 (稀释 1000 倍)
T2	光合细菌菌剂 (液体)	有效活菌数 $\geq 5$ 亿/mL	沼泽红假单胞菌	30 mL/15 L 水 (稀释 500 倍)
T3	微生物菌剂 (固体)	有效活菌数 $\geq 2$ 亿/mL	枯草芽孢杆菌、胶冻样类芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌	25 g/20 L 水 (稀释 800 倍)
T4	复合 EM 菌+光合细菌菌剂	同 T1、T2	同 T1、T2	50% T1+50% T2
T5	光合细菌菌剂+微生物菌剂	同 T2、T3	同 T2、T3	50% T2+50% T3
T6	复合 EM 菌+光合细菌菌剂+微生物菌剂	同 T1、T2、T3	同 T1、T2、T3	33% T1+33% T2+33% T3
T7	复合 EM 菌+微生物菌剂	同 T1、T3	同 T1、T3	50% T1+50% T3
CK	复合肥	$m(N):m(P):m(K)=15:15:15$	同 T1、T2	150 g/20 L 水

1) 所有处理的菌剂均使用喷施方法, 15 d/次, 每个小区 10 L 菌剂。

16S rRNA 基因 PCR 扩增: 针对细菌 16S rRNA 基因的 V3-V4 高变区设计引物

341F: CCTACGGGNGGCWGCAG;

805R: GACTACHVGGGTATCTAATCC),

进行 PCR 扩增, PCR 反应条件: 94 °C, 3 min → (94 °C, 30 s → 45 °C, 20 s → 65 °C, 30 s) 5 → (94 °C, 20 s → 55 °C, 20 s → 72 °C, 30 s) 20 → 72 °C, 5 min → 10 °C, ∞。第 1 轮 PCR 结束后, 引入 Illumina 桥式 PCR 兼容引物进行第 2 轮扩增, PCR 反应条件: 95 °C, 3 min → (94 °C, 20 s → 55 °C, 20 s → 72 °C, 30 s) 5 → 72 °C, 5 min → 10 °C, ∞。

文库质控及测序: 使用 Hieff NGS™ DNA 选择珠 (Yeasen, 10105ES03, 中国) 去除扩增子产物中的游离引物和引物二聚体。然后通过  $w=2\%$  琼脂糖凝胶电泳检测文库大小, 使用 Qubit 3.0 荧光定量仪进行文库浓度测定, 所有样本按照质量百分比 1:1 等量混合。测序使用 Illumina MiSeq 系统 (Illumina MiSeq, USA), 根据制造商的说明进行。

### 1.5 数据统计分析

在植株表型统计中, 用 Excel 制作图表并初步对测量的性状数据进行整理, 用 SPSS 26.0、GraphPad Prism 10.1.2、QIIME 2 (2019.4) 和 R 语言对性状数据和微生物多样性指数进行相关性分析并作图。

在微生物检测中, 为评估样本的充分性, 构建操作分类单元 (OTU, operational taxonomic unit) 观

测数的稀疏曲线, 并利用 Mothur 软件 (3.8.31 版) 计算  $\alpha$  多样性指数。OTU 稀疏曲线和等级丰度曲线在 R (3.6.0 版本) 中绘制。为了估计样品的微生物群落多样性, 我们对两组采用  $t$  检验计算样本内  $\alpha$  多样性, 多组比较采用 ANOVA 检验。这些分析使用 R vegan 软件包 (版本 2.5-6) 进行可视化, 最后样本间距离以散点图的形式呈现。使用 STAMP (2.1.3 版本) 和 LefSe (1.1.0 版本) 进行差异比较, 以识别组间丰度差异显著的特征。使用 SparCC (1.1.0 版本) 计算群落/OTU 之间的相关系数和  $P$  值, 使用 R corrrplot 软件包 (0.84 版本) 绘制相关矩阵热图。

## 2 结果与分析

三桠苦的营养生长是影响产量的重要因素之一, 由于整株都可以入药, 因此主要探究不同微生物菌剂施用对三桠苦各农艺性状的影响。

### 2.1 不同微生物菌剂对三桠苦株高、茎粗和叶节数的影响

在一般情况下, 施肥有助于植物生长。特别是在施用微生物菌剂的情况下, 三桠苦幼苗在生长期表现出显著的形态变化 (图 1)。具体来说, 与对照组相比, 微生物菌剂的施用显著促进了三桠苦幼苗的株高、茎粗和叶节数的增长 (图 2)。在所有处理中, T2 处理下的这 3 个农艺性状均达到了最大值, 表明使用微生物菌剂的三桠苦幼苗的各项生长指标优于常规对照。

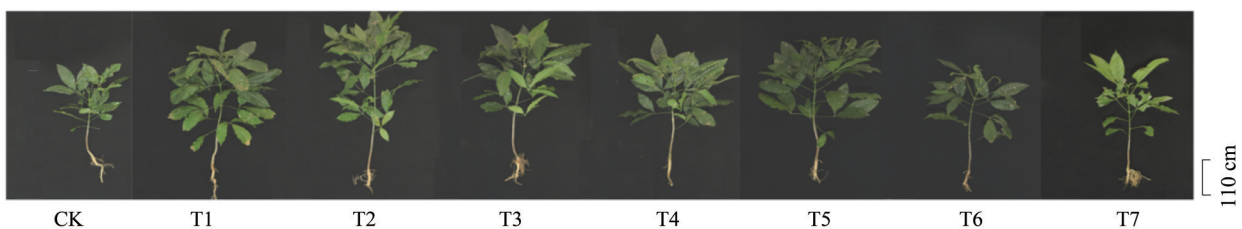


图 1 不同菌肥处理下三桠苦表型对比

Fig. 1 Comparison of phenotypes of *E. leptae* under different bacterial fertilizer treatments

具体而言, 微生物菌剂的施用有效提升了植株的高度。其中, 以 T2 处理的三桠苦株高最为突出, 平均高度达到 52 cm。各处理的株高增长率也以 T2 为最高, 为 4.91%, 且其增长顺序依次为 T2 > T4 > T5 > T7 > T1 > T6 > T3 > CK。同样地, 在茎粗方面, T2 处理同样显示出最优效果, 平均茎粗为 8.56 mm, 增长率最高为 3.06%, 增长顺序为 T2 > T4 > T6 > T5 > T7 > T1 > T3 > CK。至于叶节数, T2 处理同样位居首位, 平均叶节数为 10.9, 增长率最高为

1.70%, 增长顺序为 T2 > T4 > T5 > T7 > T1 > T3 > T6 > CK。综合来看, 使用微生物菌剂比传统对照方法更能够培养出健壮的幼苗。在 T2 处理下, 三桠苦幼苗的株高、茎粗和叶节数分别提升至对照组的 188.41%、155.64% 和 134.57%。

### 2.2 不同微生物菌剂对三桠苦根冠比和壮苗指数的影响

根冠比是衡量植物根系与地上部分相对大小的一个指标, 它反映了植物对资源获取策略的一种

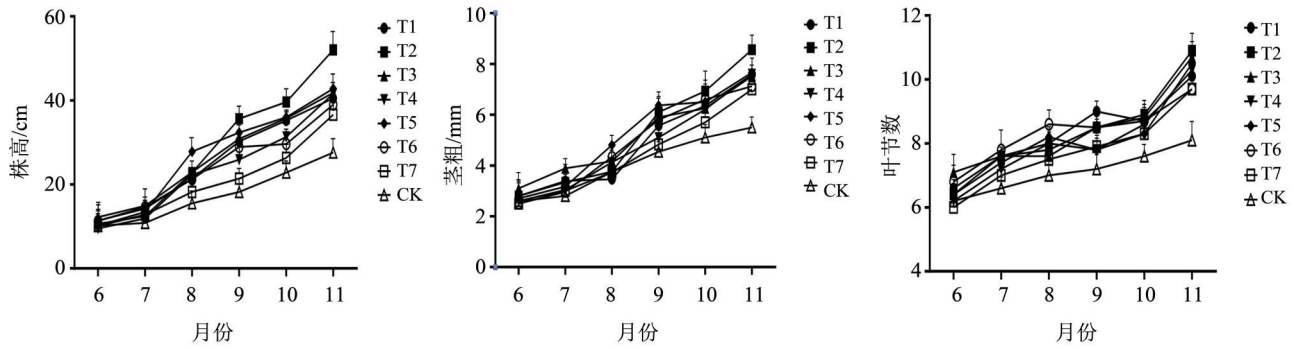


图2 不同菌肥处理下三桠苦株高、茎粗及叶节数的变化

Fig. 2 Changes in plant height, stem diameter, and number of leaves of *E. leptander* different bacterial fertilizer treatments

平衡。一般而言,较高的根冠比表明植物的根系较为发达,这通常与较强的养分吸收能力相关联。相反,较低的根冠比则意味着植物的地上部分(冠层)较为茂盛,这有助于进行更有效的光合作用。在不同菌肥处理下,三桠苦苗期的根冠比并没有明显的差异(图3)。各个处理组以及对照组的根冠比值主要集中在0.2~0.25之间。这表明,虽然微生物菌剂对三桠苦的生长有一定的促进作用,但它并没有显著改变三桠苦苗期的根冠比。尽管微生物菌剂能够促进三桠苦的整体生长,但它对植物根系和地上部分的相对发展影响不大,或者其影响在观测期内尚未显现出来。这样的发现对于理解微生物菌剂如何影响植物生长及其生理结构具有一定的意义,并且为进一步优化施肥策略提供了基础数据。

在传统的育苗过程中,评价秧苗的健壮程度往往依赖于单一的指标,如株高、茎粗和叶片颜色。然而,这些单一指标并不能全面反映秧苗的整体质量,有时会导致对秧苗实际健康状况的误判。为了更准确地评估秧苗的幼苗健壮程度,研究者引入了壮苗指数这一复合指标,它综合了多个单一指标的信息,从而提供了一个更全面的评估方法。可看到,与对照组(CK)相比,不同菌肥处理下的三桠苦幼苗的壮苗指数有了明显的提升(图4)。特别是在T2和T1处

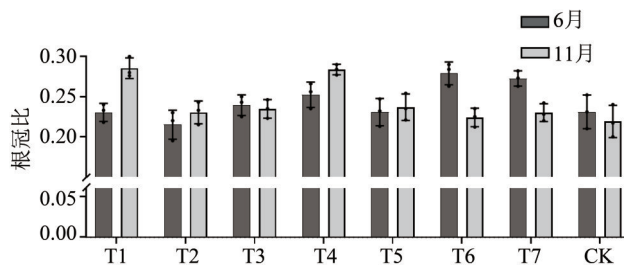


图3 不同菌肥处理下三桠苦苗期根冠比变化

Fig. 3 Changes in root-shoot ratio of *E. leptander* during seedling stage under different bacterial fertilizer treatments

理下,壮苗指数的增长最为明显,分别达到了12.33和11.79(见图4)。这表明,使用微生物菌剂能够有效促进三桠苦幼苗的整体生长质量,使其更加健壮。

### 2.3 三桠苦各生长指标与壮苗指数的相关性分析

为了进一步判断不同生长指标之间的内在联动规律,本研究对生长指标进行跨处理皮尔逊相关分析,不同微生物菌剂处理下三桠苦各生长指标的相关性分析结果如表2所示:三桠苦的株高与茎粗、叶节数均呈现极显著正相关( $P < 0.01$ ),相关系数分别达到0.929和0.787;茎粗与叶节数同样呈现极显著正相关( $P < 0.01$ ),相关系数为0.819。而根冠比、壮苗指数与株高、茎粗、叶节数之间无显著相关性。

该相关性特征在全部处理组中均稳定呈现,表明微生物菌剂对三桠苦苗期的促生作用表现为地上部分营养生长的协同促进,未出现株高异常增长但茎粗、叶节数不足的徒长现象,株高增长始终伴随茎粗提升与叶节数增加,与前述T2、T4等处理组多生长指标同步优于对照组的结果相印证。根冠比与其

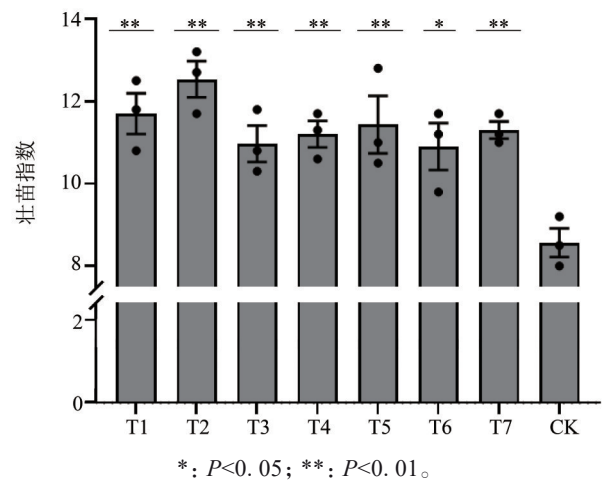


图4 不同菌肥处理下三桠苦苗期壮苗指数变化

Fig. 4 Changes in seedling robustness index under different bacterial fertilizer treatments during the seedling stage of *E. leptander*

表2 三桠苦各生长指标与壮苗指数相关性分析

Table 2 Correlation analysis between various growth indices and seedling quality index of *E. leptta*

指标	株高	茎粗	叶节数	根冠比	壮苗指数
株高	1				
茎粗	0.929**	1			
叶节数	0.787**	0.819**	1		
根冠比	0.014	0.105	0.000	1	
壮苗指数	0.043	-0.043	-0.241	-0.285	1

\*\*表示在  $P < 0.01$  水平上显著相关。

他生长指标无显著相关性,与2.2节中各处理根冠比稳定在0.2~0.25、无显著组间差异的结果一致,说明微生物菌剂对三桠苦地上部分与地下根系的促进作用同步,未改变苗期生物量资源分配策略。壮苗指数为校正株高与茎粗比值的复合指标,其与形态指标无显著相关性说明该指标可独立反映幼苗干物质积累效率,T1、T2处理下壮苗指数的显著优势为独立于株高、茎粗等形态指标的增益效应。

#### 2.4 不同微生物菌剂对三桠苦根际土壤 OTU 数量的影响

OTU 数量是反映土壤微生物物种丰富度的基础指标,不同微生物菌肥处理对三桠苦根际土壤 OTU 数量具有显著影响(图5)。其中 T1 处理土壤 OTU 数量最多,显著高于 CK ( $P < 0.05$ ),其次为 T4、T2,;而 T3、T5、T6、T7 处理的 OTU 数量均显著低于 CK ( $P < 0.05$ ),表明单一施用复合 EM 菌、光合细菌菌剂,或二者配施,可显著提高根际土壤微生物物种丰富度,而添加以芽孢杆菌属为核心的微生物菌剂(T3),无论单一施用还是与其他菌肥配施,均会降低土壤微生物物种丰富度。

OTU 物种分布花瓣图显示(图6),所有样本中共有核心 OTU 3 357 个,表明不同菌剂处理下三桠苦根际土壤存在核心微生物群落;CK 中独有的 OTU 数量最多(2 144 个),T1、T4 处理的独有 OTU 数量次之,T5、T6、T7 处理的独有 OTU 数量最少。表明添加微生物菌剂(T3)的配比处理,会显著降低根际土壤微生物的特有物种数量,导致群落结构单一化,而 T1、T2、T4 处理则能在维持核心群落的基础上,增加特有物种数量,丰富微生物群落结构。

#### 2.5 $\alpha$ 多样性分析

$\alpha$  多样性是指局部均匀生境下的物种在丰富度、多样性和均匀度等方面的指标,也被称为生境内多样性。对于每一个实验组,使用软件 QIIME2

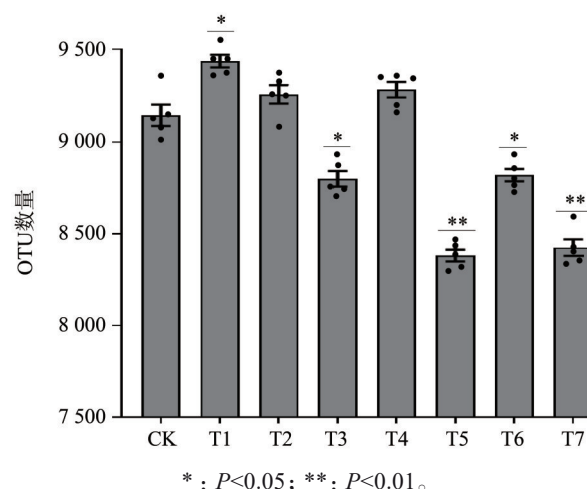


图5 不同菌肥处理下土壤中 OTU 数量

Fig. 5 Number of OTUs in soil under different bacterial fertilizer treatments

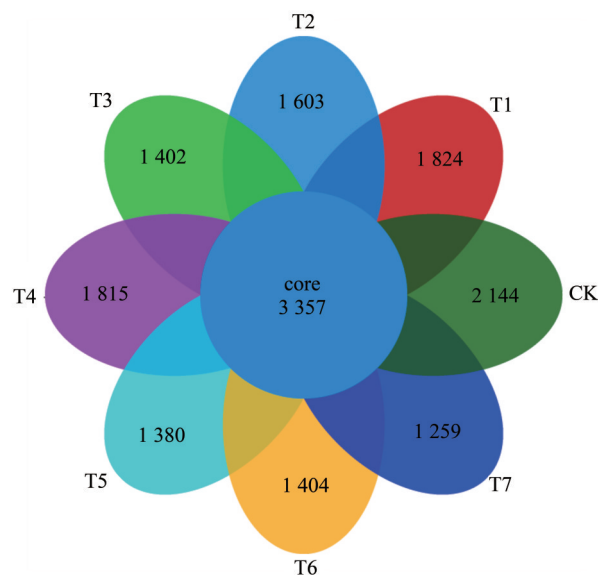


图6 不同菌肥处理后 OTU 水平下的物种分布花瓣图

Fig. 6 Petal diagram of species distribution at the OTU level after different bacterial fertilizer treatments

(2019.4)和R将检测的菌群微生物多样性数据绘制成箱线图,以直观地展示不同样本组之间的 $\alpha$ 多样性差异(图7)。Chao1、Observed\_species 指数方面,T1、T2、T4 处理高于 CK 及其他菌肥处理;Shannon 指数方面,T2、T4 处理显著高于 CK ( $P < 0.05$ ),Simpson 指数则与之相反;Pielou 指数方面,T1、T2、T4 处理显著高于其他处理 ( $P < 0.05$ )。综合来看,T1、T2、T4 处理下三桠苦根际土壤微生物群落的丰富度、多样性与均匀度均显著更高,而 T3、T5、T6、T7 处理的 $\alpha$ 多样性指数均处于较低水平,与 OTU 数量的变化趋势一致。结合幼苗生长指标可知,土

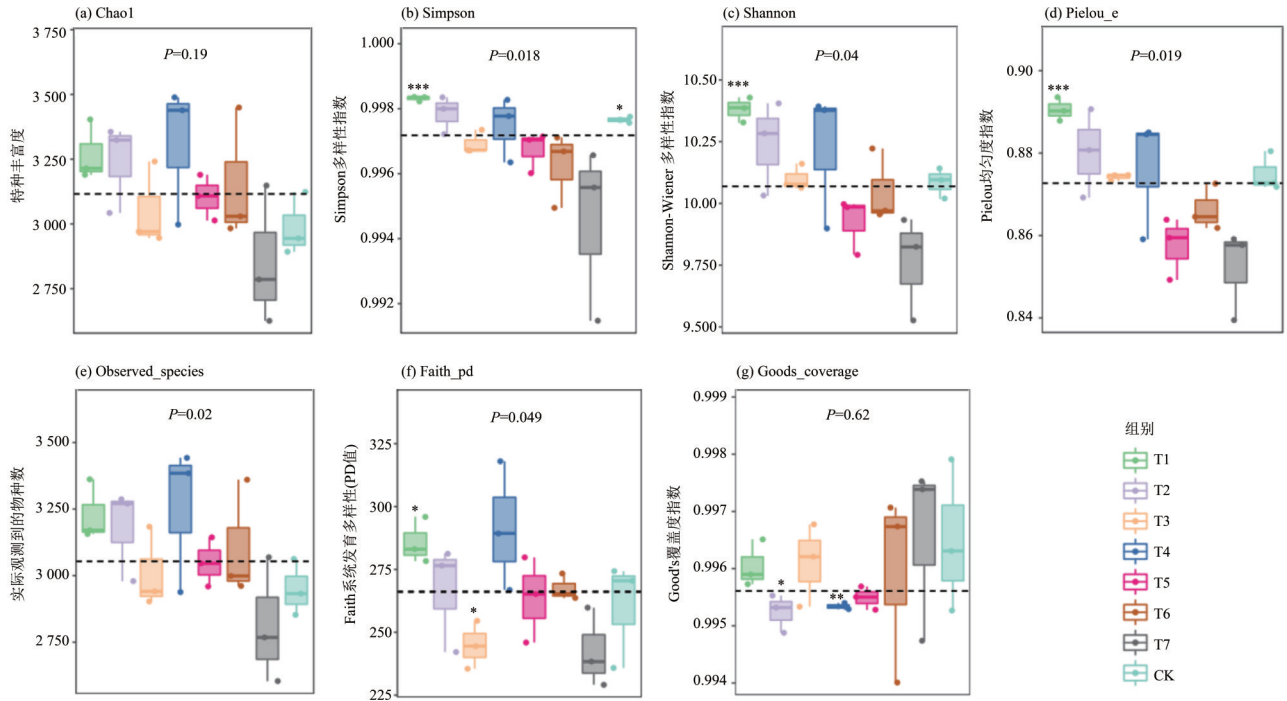


图7 不同菌肥处理下土壤微生物α多样性指数的分组箱线图

Fig. 7 Boxplot of soil microbial α diversity index grouped under different bacterial fertilizer treatments

壤微生物 α 多样性与三桠苦苗期生长指标呈正相关——微生物多样性越高的处理, 幼苗的株高、茎粗、壮苗指数等指标越优, 表明丰富、稳定的根际微生物群落是促进三桠苦苗期生长的重要土壤微生物生态基础。

### 2.6 菌肥施用对三桠苦根际土壤中微生物群落结构的影响

为了进一步观测不同处理下三桠苦根际土壤中群落变化的情况, 本研究将在所有样本中丰度占比均小于一定比例(1%)的物种归为 others, 其余的作为优势物种进行分析, 并制作优势物种相对丰度

柱状图(图8)。结果显示在所有样本中, 均是变形菌门(Proteobacteria)相对丰度最高, 表明变形菌门为土壤中的优势菌群。另外发现, 施用菌肥后的处理组均在放线菌门(Acidobacteriota)的丰度相对CK有了提高。OTU数量较高的T1和T4处理在拟杆菌门(Bacteroidota)的丰度上高于其他处理, 分别为6.9%和6.5%。同时还发现, 施用微生物菌剂后的土壤中酸杆菌门(Acidobacteriota)的丰度均出现了下降, 下降幅度最大的是T<sub>2</sub>, 达6.3%。添加微生物菌剂(T3)的处理(T5、T6、T7), 其优势菌门的相对丰度无显著特征, 且部分优势菌门丰度低于CK。

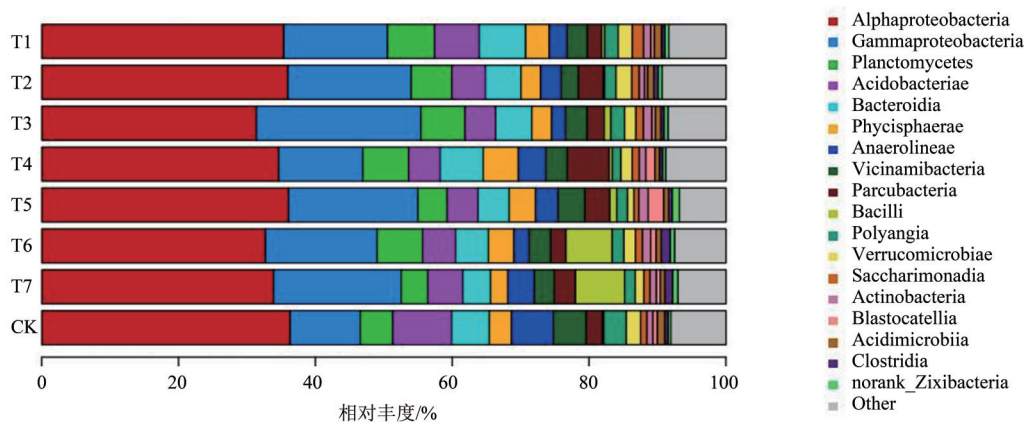


图8 不同菌肥处理下土壤微生物相对丰度柱状图

Fig. 8 Bar graph of relative abundance of soil microorganisms under different bacterial fertilizer treatments

## 3 讨论

### 3.1 微生物菌剂对三桠苦苗期生长的促生效应

化肥的过量施用是导致土壤质量衰退、药用植物品质下降的重要原因,而微生物菌剂可通过调节根际微生态环境、提高土壤肥力,实现药用植物的绿色优质生产,是农业可持续发展的重要方向(曾艳等,2016)。本研究的结果进一步证实了生物菌肥在提升三桠苦苗期品质方面的积极作用。通过观察株高、茎粗、叶节数、根冠比和壮苗指数这几个直观的生长状况指标,我们发现施用生物菌肥能够显著促进三桠苦幼苗的生长,这与以往的研究结果是一致的(刘均霞等,2016;宋以玲等,2018),证实了微生物菌剂在药用植物栽培中的应用价值。

生物菌肥对植物生长调节的促进作用与改善植物根际土壤微生物的群落结构有重要关系,根际微生物是评价土壤肥力、土壤质量的重要指标,作为植物根际环境的重要组成部分在维持土壤结构、促进有机质分解和积累、促进养分循环、维持生态系统稳定等方面发挥重要功能(Hermans et al., 2016)。有研究发现,土壤微生物的多样性越高,土壤微生物生态系统越复杂,功能就越稳定(任嘉红等,2016)。本研究中,光合细菌菌剂(T2)是三桠苦苗期最优的促生菌肥,复合EM菌与光合细菌菌剂配施(T4)次之,这与两种菌肥的功能特性相关:光合细菌菌剂的核心成分沼泽红假单胞菌可通过光合作用固定空气中的氮素,分泌植物生长促进物质(如生长素、细胞分裂素),直接促进植物生长;复合EM菌含乳酸菌、酵母菌、放线菌等多种有益菌群,可协同改善土壤理化性质,提高养分利用率,与光合细菌菌剂配施时,二者功能互补,进一步提升促生效果。

### 3.2 微生物菌剂对三桠苦根际微生物群落结构的调控作用

根际微生物群落的多样性与稳定性是土壤肥力的重要标志。本研究发现T1、T2、T4处理下土壤微生物的OTU数量、 $\alpha$ 多样性均显著更高,且与三桠苦苗期生长指标呈正相关,表明丰富、稳定的根际微生物群落是菌肥促生的重要机制。变形菌门(Proteobacteria)作为三桠苦根际土壤的核心优势菌门,其丰度高、适应性强,可参与土壤氮、磷等养分的循环转化,为幼苗生长提供养分;酸杆菌门(Acidobacteria)在所有菌肥处理中均显著富集,该菌门多为寡营养菌,可分解土壤中的难溶性有机质,改善土壤微生态环境,与拟杆菌门(Bacteroidetes)协同提高土壤肥力。

### 3.3 叶面喷施菌肥调控根际微生物群落的作用路径分析

本研究采用农业生产中通用的常规叶面喷施方式施用微生物菌肥,未设置根区阻隔措施,喷施过程中菌液自然淋落至根际土壤是根际微生物群落变化的主要驱动因素,次要路径为叶面菌剂诱导的植物系统信号调控。本研究喷施操作采用农用手持喷雾器,雾滴粒径控制为150~250  $\mu\text{m}$ ,喷施距离叶片30~40 cm,参考农田喷施作业相关研究,该操作模式下约20%~30%的喷施液会自然滴落至植株根际区域,可向根际输入足量活性菌剂。淋落至根际土壤的活菌可直接定殖于根表与根际微环境,通过生态位竞争、分泌物互作等方式改变原有微生物群落结构,本研究中不同菌剂处理的根际群落特征存在显著差异,且酸杆菌门、拟杆菌门等优势功能菌的丰度变化与对应喷施菌剂的核心活性组分功能高度吻合,直接印证了淋落路径的主导作用。除核心的淋落直接作用外,叶面定殖的有益菌可诱导植物产生系统性生长/防御信号,轻度调控根系分泌物的组分与分泌量,对根际微生物群落的定向富集起到辅助强化作用,是该调控过程的次要补充路径。本研究采用与大田栽培一致的喷施操作,无额外的隔离措施,研究结论更贴合三桠苦实际生产场景,具备直接的推广应用价值。

### 3.4 三桠苦苗期生长指标与形态特征相关性的应用价值

三桠苦苗期生长指标的相关性分析表明,株高、茎粗、叶节数间呈极显著正相关( $P < 0.01$ ),且菌肥的作用靶点主要为地上部(茎、叶),这与三桠苦苗期以地上部营养生长为主的生长特性相契合。该相关性结果为三桠苦苗期菌肥筛选提供了高效评价指标——可将株高、茎粗作为快速筛选指标,减少测定工作量,提高菌肥筛选效率。

另外,在测量的过程中我们发现,三桠苦幼苗长至约12 cm时,主茎基部出现木质化现象。这种木质化随着植株的生长逐渐从基部向上延伸,其颜色转变为灰绿色,且表皮上出现了纵向的纹路,这些纹路随着木质化的进展逐渐变得更加明显。当三桠苦的株高达到35 cm时,茎部的粗壮程度有了显著的增加,三桠苦横向生长明显,这使植株的结构变得更加坚固。同时,在该阶段顶部叶节的位置开始长出侧枝,这些侧枝与叶子的生长位置相对应,且呈现出对生的状态,这是三桠苦植株生长发育的一个特征。这些结果提供了三桠苦幼苗

生长过程中形态变化的具体描述,对于理解其生长习性和制定相应的栽培管理措施具有一定的参考价值。

## 4 结 论

本研究通过 7 种不同配比微生物菌剂的筛选,系统分析了菌肥对三桠苦苗期生长及根际土壤微生物多样性的影响。结果表明,微生物菌剂可显著促进三桠苦苗期生长,其中光合细菌菌剂促生效果最优,复合 EM 菌与光合细菌菌剂配施次之,芽孢杆菌属菌剂促生效果相对较弱;三桠苦苗期株高、茎粗、叶节数间呈极显著正相关,菌肥促生作用具有地上部协同性,株高、茎粗可作为苗期菌肥筛选的

快速评价指标。复合 EM 菌、光合细菌菌剂及二者配施可显著提升根际微生物丰富度与  $\alpha$  多样性,丰富根际群落结构,芽孢杆菌属菌剂处理则会降低微生物多样性;变形菌门为三桠苦根际土壤核心优势菌门,所有菌肥处理均可显著提高酸杆菌门相对丰度,酸杆菌门与拟杆菌门是根际微生态调节、土壤肥力改善的核心功能类群。综上,复合 EM 菌、光合细菌菌剂及二者配施为三桠苦苗期适宜菌剂施用方案,可作为其规范化栽培的推荐菌剂,本研究为三桠苦规范化栽培与产业化推广提供了理论依据与技术支撑,后续可围绕菌剂施用参数优化、分子调控机制开展深入研究,为三桠苦优质高产栽培提供更全面的技术支持。

### 参考文献:

- 廖彦,余振兴,曾嘉琳,等,2025.新会青柑皮中辛弗林含量及其健康风险评估[J].中山大学学报(自然科学版中英文),64(6):7-15.
- 刘均霞,甘果,黄黔芳,2016.有机无机肥配合施用对辣椒产量及根际土壤养分含量的影响[J].农业开发与装备,(9):93+100.
- 任嘉红,李浩,刘辉,等,2016.吡咯伯克霍尔德氏菌 JK-SH<sub>007</sub> 对杨树根际微生物数量及功能多样性的影响[J].林业科学,52(5):126-133.
- 石磊,王军,陈云,2021.化肥减量配施生物菌肥对色素辣椒生长的影响[J].新疆农业科学,58(5):854-865.
- 石有太,马河滨,张运晖,等,2020.不同叶面肥在当归育苗上的应用效果[J].中兽医医药杂志,39(6):51-55.
- 宋以玲,于建,陈士更,等,2018.化肥减量配施生物有机肥对油菜生长及土壤微生物和酶活性影响[J].水土保持学报,32(1):352-360.
- 苏薇薇,李沛波,吴灏,等,2025.中山大学南药资源的开发与利用:以化橘红为例[J].中山大学学报(自然科学版中英文),64(6):1-6.
- 王梦雅,符云鹏,贾辉,等,2018.不同菌肥对土壤养分、酶活性和微生物功能多样性的影响[J].中国烟草科学,39(1):57-63.
- 王涛,乔卫花,李玉奇,等,2011.轮作和微生物菌肥对黄瓜连作土壤理化性状及生物活性的影响[J].土壤通报,42(3):578-583.
- 枸杞蔓,张金梅,李玥莹,等,2021.有益微生物菌肥对农作物的作用机制研究进展[J].生物技术通报,37(5):221-230.
- 许雷,魏伟锋,马庆,等,2020.三叉苦生态种植模式现状分析及建议[J].中国现代中药,22(3):405-408+418.
- 杨薇靖,令鹏,王兴政,等,2023.生物菌肥部分替代化肥在党参上的应用研究[J].寒旱农业科学,2(2):168-172.
- 于会丽,徐变变,徐国益,等,2022.生物有机肥对苹果幼苗生长、生理特性以及土壤微生物功能多样性的影响[J].中国农学通报,38(1):32-38.
- 余松灿,王循睿,马铭,等,2021.多糖微生物菌液对油菜吸收养分和土壤氮磷淋失的影响[J].中国土壤与肥料,(5):245-251.
- 曾艳,李征,张静涵,等,2016.不同施肥类型下设施农业土壤质量的累积特征[J].江苏农业科学,44(6):465-469.
- 曾焯,马庆,孙楷填,等,2023.不同生长年限对三叉苦种子及药材质量的影响[J].中南农业科技,44(1):3-5.
- 张澳,李彪,何舒,等,2023.施用微生物菌剂对林下三七品质的影响[J].中国农学通报,39(25):54-63.
- 张勇.三叉苦的研究进展[J].中药材,2010,33(9):1516-1518.
- Abboud M A A, Ghany T M A, And M M A, 2014. Role of biofertilizers in agriculture: A brief review [J]. Mycopath, 11(2): 95-101.
- Hermans S, Buckley H, Case B, et al, 2016. Bacteria as emerging indicators of soil condition [J]. Appl Environ Microbiol, 83(1): e02826-e02816.

(责任编辑 张 冰)