

不同用量腐植酸对苹果幼苗生长及生长环境的影响

刘英浩¹, 李允¹, 高涵², 郭新送², 孟庆羽², 陈士更², 丁方军^{2*}, 王艳芳^{1*}

(1. 山东农业大学化学与材料科学学院, 山东 泰安 271018;

2. 农业农村部腐植酸类肥料重点实验室, 山东 泰安 271018)

摘要: 风化煤腐植酸含有多种活性官能团, 对农作物生长发育具有重要意义。将风化煤腐植酸施用于基质, 并研究不同用量风化煤腐植酸对苹果幼苗生长发育及生长环境的影响机制, 可为风化煤腐植酸资源在苹果栽培种植中高效利用和促进苹果幼树生长提供理论依据。温室条件下, 以 6 叶的 M9T337 苹果幼苗为试材, 外源添加不同添加量 (0、0.1、0.5、1.0、1.5 和 2.0 g/kg) 的腐植酸到基质中, 平衡一周后, 将长势一致的 6 叶苹果幼苗移栽至盆中, 研究腐植酸对苹果幼苗生物量、叶片抗氧化酶活性、叶绿素、基质酶活性、基质养分及微生物等的影响。结果发现: (1) 不同用量的腐植酸均可增加苹果幼苗的株高、干重和鲜重, 其中 1.5 g/kg 处理的效果最明显, 较对照组分别提高了 68.5%、70.6% 和 53.3%; (2) 腐植酸可提高叶片中抗氧化酶的含量并且降低丙二醛 (MDA) 的含量, 1.5 g/kg 处理苹果幼苗的超氧化物歧化酶 (SOD)、超氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 的含量分别比对照提高 219.9%、63.0%、361.4%, MDA 的含量下降了 54.4%; (3) 添加腐植酸可增加基质土壤中过氧化氢酶、蔗糖酶、脲酶和磷酸酶的含量, 1.5 g/kg 腐植酸处理分别比对照提高 37.0%、94.8%、46.5% 和 17.0%; (4) 随腐植酸添加量的增加, 对苹果幼苗生长的促进作用呈先升高后降低的变化, 以添加量为 1.5 g/kg 腐植酸对苹果幼苗的作用效果最明显。添加腐植酸可明显增加苹果幼苗的鲜重、干重和株高, 促进根系的生长, 并且有效提高幼苗的叶片酶活以及叶绿素含量, 基质土壤中的酶活性也有一定的提高。本试验条件下, 添加 1.5 g/kg 的腐植酸对苹果幼苗的生长促进作用最好。

关键词: 腐植酸; 苹果幼苗; 叶片酶; 基质酶

腐植酸是一类具有多种官能团的大分子有机弱酸混合物, 是由动植物遗骸经过微生物的分解和转化以及地球化学、物理的一系列变化过程而形成积累起来的。腐植酸广泛存在于低级别煤炭、土壤、水体及其沉积物、动物粪便、有机肥料、动植物残体等中。一些低热值的煤炭如泥煤、褐煤和风化煤腐植酸含量相对较高, 具有较好的开发利用价值^[1]。腐植酸中富含的活性官能团使腐植酸具有酸性、亲水性、界面活性、阳离子交换能力、络合作用及吸附分散能力, 这些特性使其对作物生长具有良好的促进作用。国外对于煤炭腐植酸的应用主要集中在泥

炭和褐煤方面, 对风化煤腐植酸的研究较少。施用腐植酸可显著提高富士苹果产量、改善作物品质^[2], 并且提高基质中有益细菌数量、降低有害真菌数量。周丽平等^[3]研究发现, 添加风化煤腐植酸可以增加玉米生物量、根冠比、根系活力和根系三苯基氯化四氮唑 (TTC) 还原总量, 从而促进玉米根系的生长发育, 其中添加 C 10 mg/L 的腐植酸对玉米根系生长的促进作用最明显。裴瑞杰等^[4]研究发现, 施用腐植酸可以促进夏玉米的生长发育, 有效改善夏玉米的农艺性状、提高夏玉米的产量。其中, 以常规施肥减氮 15%+ 腐植酸 3000 kg/hm² 处理效果最佳, 有效促进植株对氮素的累积和提高氮肥的利用率。刘美等^[5]研究发现, 施用腐植酸显著提高了番茄幼苗的株高、茎粗、根冠比和壮苗指数, 同时提高了根系活力和硝酸还原酶活性, 以及叶片各种光合色素含量。Liu 等^[6]使用腐植酸处理水稻种子, 发现其可以显著提高水稻对基质中汞污染等非生物胁迫的耐受能力, 并且在一定程度上促进植物中的汞转化, 显著提升

收稿日期: 2021-10-20; 录用日期: 2021-12-20

基金项目: 国家自然科学基金 (31801816); 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-27); 泰山学者资助项目 (NO.ts20190923); 山东省水果创新团队项目 (SDAIT-06-07)。

作者简介: 刘英浩 (1997-), 硕士研究生, 研究方向为农业分析化学。E-mail: shannongliuyinghao@163.com。

通讯作者: 王艳芳, E-mail: wyanfang@sdaa.edu.cn; 丁方军, E-mail: dfj401@163.com。

了水稻的鲜重、干重以及作物产量。腐植酸的施用可有效提高蚕豆对基质中钾的利用效率,增强基质阳离子交换量(CEC)以及基质有机质含量,改善基质质量,增加养分的有效性和吸收,从而增加蚕豆的产量^[7]。在研究 C 200 和 500 mg/L 的堆肥污泥腐植酸和褐煤腐植酸对番茄根系生长的影响时,发现 C 500 mg/L 的堆肥污泥腐植酸和褐煤腐植酸处理的根干重均明显高于 C 200 mg/L 的处理^[8]。前人对于腐植酸的研究多集中于玉米^[9]、生姜^[10]、甘薯^[11]等作物,关于风化煤腐植酸的用量及其对多年生植物苹果幼苗生长的影响鲜有报道。本研究以来源较广、储量较大的风化煤腐植酸为试验材料,研究不同添加量的风化煤腐植酸对苹果幼苗生长的影响,从而为风化煤腐植酸资源在农业中的优化利用提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试苹果幼苗为 M9T337,是荷兰木本苗木植物苗圃检测服务中心从 M9 选出来的脱毒 M9 矮化砧木优系,比 M9 矮化程度大 20%,易压条繁殖,生长整齐,片略小,易萌发二次枝,有更好的苗圃性状。具有结果早、产量高、品质好等优点,是世界苹果生产发展的趋势。本试验所用 M9T337 幼苗购于山东惠农园艺科技有限公司。

供试风化煤腐植酸来自山东农大肥业科技有限公司。

所用基质为春风园林绿化服务中心生产的育苗基质,主要成分是泥炭、木薯渣、腐熟植物秸秆、蛭石、珍珠岩、食用菌棒,其有机质含量 $\geq 45\%$,pH 5.8 ~ 6.5,EC 1.0 ~ 1.5 mS/cm。

1.2 试验设计

试验在山东农业大学园艺学院温室内进行,白天温度为 28℃,夜间温度为 20℃,光照强度为 500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

试验共设置 6 个处理,分别为不添加腐植酸对照(CK),添加 0.1 g/kg 腐植酸(HA1)、0.5 g/kg 腐植酸(HA2)、1.0 g/kg 腐植酸(HA3)、1.5 g/kg 腐植酸(HA4)和 2.0 g/kg 腐植酸(HA5)。

将基质拌匀以后装盆,分别以不同浓度的腐植酸溶液浇透,随后称重法保持含水量 60%,平衡 1 周后,将长势一致的苹果幼苗移栽到处理好的盆中,每个处理 5 次重复,每盆定植 2 株苹果幼苗进

行盆栽试验。

1.3 样品测定

苹果幼苗生长 30 d 后,取样测定相关指标。取基质土壤时去除表层与盆周围土,过 2 mm 筛,一部分基质土壤放入 4℃ 冰箱,用于测定微生物数量;一部分基质土壤置于通风处风干,用于测定基质土壤酶活性。在取基质的同时,每处理取幼苗 3 株,洗净带回实验室测定相关指标。

1.3.1 生物量测定

苹果幼苗用自来水洗净,并擦干其表面水分,称量鲜重;于 105℃ 下杀青 30 min,65℃ 下烘干至恒重,称量干重。

1.3.2 根系形态指标测定

取植株根系,蒸馏水洗净后,利用平板扫描仪扫描得到根系扫描图片,图片利用 WinRhizo 根系分析软件处理分析,获得苹果幼苗根系形态指标。

1.3.3 叶片抗氧化酶活性及丙二醛含量测定

超氧化物酶(POD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛含量测定参考赵世杰等^[12]的方法进行。

1.3.4 叶绿素含量测定

取 0.2 g 叶片精确称重,记为 W(g),加 95% 酒精和少量 SiO_2 及 CaCO_3 研磨。过滤之后将匀浆倒入 25 mL 的棕色容量瓶中,用无水乙醇定容。利用 UV762 紫外/可见分光光度计测量定容后的提取液在 649 和 665 nm 波长下的吸光度 D 值^[12]。

1.3.5 基质土壤养分测定

速效氮磷钾的测定在鲍士旦^[13]方法的基础上进行优化测量。

硝态氮含量:测基质土壤中加入 KCl 溶液,振荡过滤后,测量滤液 220 到 275 nm 的吸光度。

铵态氮含量:向待测基质土壤中加入 KCl 溶液,振荡后过滤,滤液中加入苯酚和次氯酸钠溶液,静置 1 h 后在 625 nm 处比色。

有效磷含量:向待测基质土壤中加入 NaHCO_3 溶液,振荡后吸取滤液,在滤液中加入蒸馏水和钼锑抗试剂,静置后在 880 nm 波长下比色。

速效钾含量:待测基质土壤中加入中性醋酸铵溶液,静置后溶液与钾标准溶液在火焰光度计上进行测定。

1.3.6 基质土壤酶活性测定

脲酶活性采用比色法测定,以 24 h 后 1 g 基质土壤中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的质量(mg)表示。过氧化氢酶活性采用容量法测定,以 1 g 基质土壤消耗的 0.1 mol/L

高锰酸钾的毫升数表示。磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法测定,以 24 h 后 1 g 基质土壤中 P_2O_5 的毫克数表示。蔗糖酶活性采用比色法测定,以 24 h 后 1 g 基质中葡萄糖的质量 (mg) 表示^[14]。

1.3.7 基质土壤微生物数量测定

基质土壤可培养细菌和真菌数量的测定采用平板稀释法^[15]。细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基,真菌采用 PDA 培养基。

1.4 数据处理

利用 SPSS 21.0 进行处理间差异显著性分析 ($\alpha=0.05$), 利用 Origin 进行作图。图表中数据均为平均值 $\pm$ 标准误。

2 结果与分析

2.1 不同用量腐植酸对苹果幼苗生物量的影响

不同用量的腐植酸对苹果幼苗生物量的影响如表 1 所示。添加腐植酸处理的幼苗生物量明显比 CK 处理的幼苗生物量高,在腐植酸处理中,HA4 处理的效果最为显著,株高、鲜重和干重分别比 CK 提高 68.5%、70.6% 和 53.3%,说明腐植酸对苹果幼苗的生长具有明显的促进作用,但随着腐植酸浓度增高,这种促进效果呈先上升后下降的趋势。

表 1 不同处理对苹果幼苗生物量的影响

处理	株高 (cm)	鲜重 (g)	干重 (g)
CK	6.60 $\pm$ 0.33d	1.43 $\pm$ 0.02f	0.45 $\pm$ 0.01e
HA1	6.61 $\pm$ 0.11d	1.48 $\pm$ 0.03e	0.46 $\pm$ 0.01e
HA2	8.24 $\pm$ 0.26c	1.54 $\pm$ 0.03d	0.48 $\pm$ 0.01d
HA3	9.47 $\pm$ 0.11b	1.67 $\pm$ 0.01c	0.53 $\pm$ 0.01c
HA4	11.12 $\pm$ 0.15a	2.44 $\pm$ 0.02a	0.69 $\pm$ 0.01a
HA5	9.33 $\pm$ 0.07b	2.18 $\pm$ 0.05b	0.66 $\pm$ 0.01b

注: CK—不添加腐植酸; HA1—添加 0.1 g/kg 腐植酸; HA2—添加 0.5 g/kg 腐植酸; HA3—添加 1.0 g/kg 腐植酸; HA4—添加 1.5 g/kg 腐植酸; HA5—添加 2.0 g/kg 腐植酸。同列不同字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。下同。

2.2 不同用量腐植酸对苹果幼苗根系形态的影响

由数据显示基质土壤中添加适宜浓度的腐植酸可增加苹果幼苗根系的总根长、总根数量、根体积和根表面积 (表 2)。根系形态指标随着添加腐植酸浓度的增加呈先升高后下降的趋势。各腐植酸处理中,HA4 处理的幼苗根系数增加最为明显,与 CK 相比,HA4 处理苹果幼苗的总根长、根表面积、根平均直径、根体积、总根数量分别提高了 75.7%、90.7%、25.0%、73.9%、142.7%。

表 2 不同处理对苹果幼苗根系的影响

处理	总根系长 (cm)	根表面积 (cm^2)	根平均直径 (mm)	根体积 (cm^3)	总根数量
CK	170.1 $\pm$ 12.1f	20.5 $\pm$ 1.2f	0.12 $\pm$ 0.01b	0.23 $\pm$ 0.01c	398.0 $\pm$ 30.9e
HA1	173.7 $\pm$ 10.6e	23.8 $\pm$ 1.4e	0.14 $\pm$ 0.02a	0.26 $\pm$ 0.02ab	418.0 $\pm$ 37.9d
HA2	181.2 $\pm$ 13.3d	31.2 $\pm$ 3.5b	0.15 $\pm$ 0.01a	0.36 $\pm$ 0.03a	427.0 $\pm$ 38.4c
HA3	188.1 $\pm$ 14.9c	24.5 $\pm$ 2.1d	0.13 $\pm$ 0.01b	0.25 $\pm$ 0.02bc	219.0 $\pm$ 32.3f
HA4	298.8 $\pm$ 20.6a	39.1 $\pm$ 2.7a	0.15 $\pm$ 0.03a	0.40 $\pm$ 0.02a	966.0 $\pm$ 67.5a
HA5	196.4 $\pm$ 18.8b	28.0 $\pm$ 4.8c	0.12 $\pm$ 0.01b	0.31 $\pm$ 0.01c	504.0 $\pm$ 43.3b

2.3 不同用量腐植酸对苹果幼苗叶片酶活性以及丙二醛含量的影响

腐植酸能提高苹果幼苗叶片的抗氧化酶活性,降低丙二醛含量,且随着腐植酸浓度的增加效果呈先增大后减小的趋势 (图 1)。其中 HA4 处理的效果较其他处理的效果好,与 CK 处理相比,HA4 处理的 SOD、POD 和 CAT 活性分别提高了 219.9%、63.0% 和 361.4%,丙二醛含量相比 CK 降低了 54.4%,其他处理也不同程度地促进苹果幼苗叶片的抗氧化酶活性,降低丙二醛含量。适当浓度的腐

植酸处理可以提高抗氧化酶活性,防止活性氧的过度积累,从而促进幼苗的生长。

2.4 不同用量腐植酸对苹果幼苗叶绿素含量的影响

HA4 处理提高苹果幼苗叶片的叶绿素含量效果明显,其他处理也可提高叶绿素含量 (图 2)。HA4 处理叶片的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量分别较 CK 处理提高 219.9% 和 221.3%。而叶绿素 a 与叶绿素 b 的比值变化幅度不大,叶绿素 a 与叶绿素 b 加和的变化趋势与单独的变化趋势一致。这说明,腐植酸的添加促进了叶片中叶绿素含量的增加。

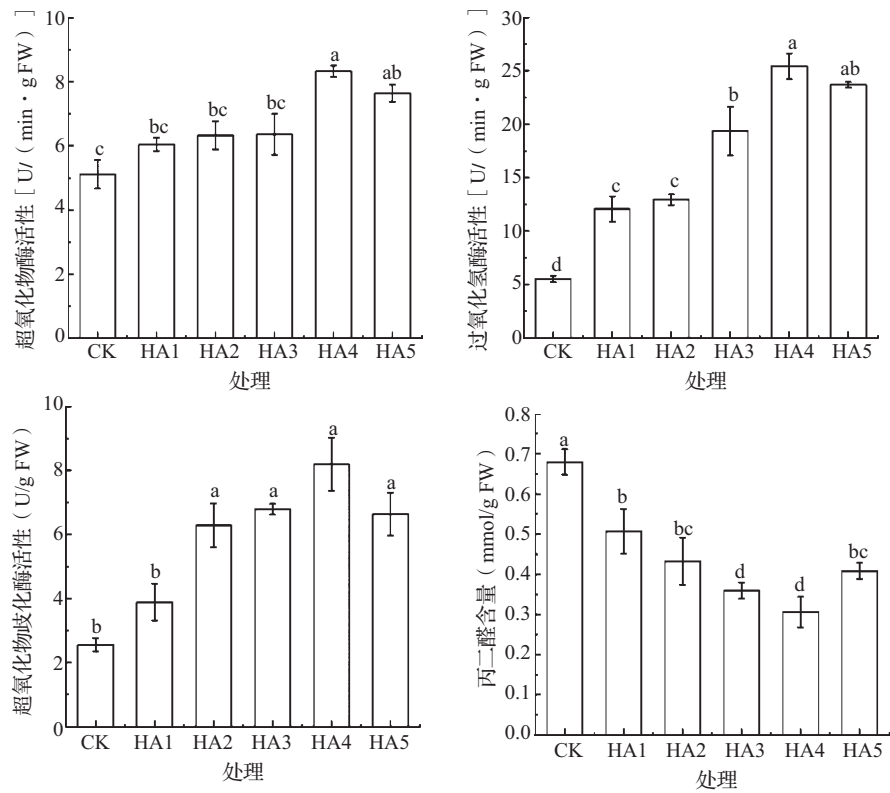


图 1 不同处理对苹果幼苗叶片酶活性以及丙二醛含量的影响

注：不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。下同。

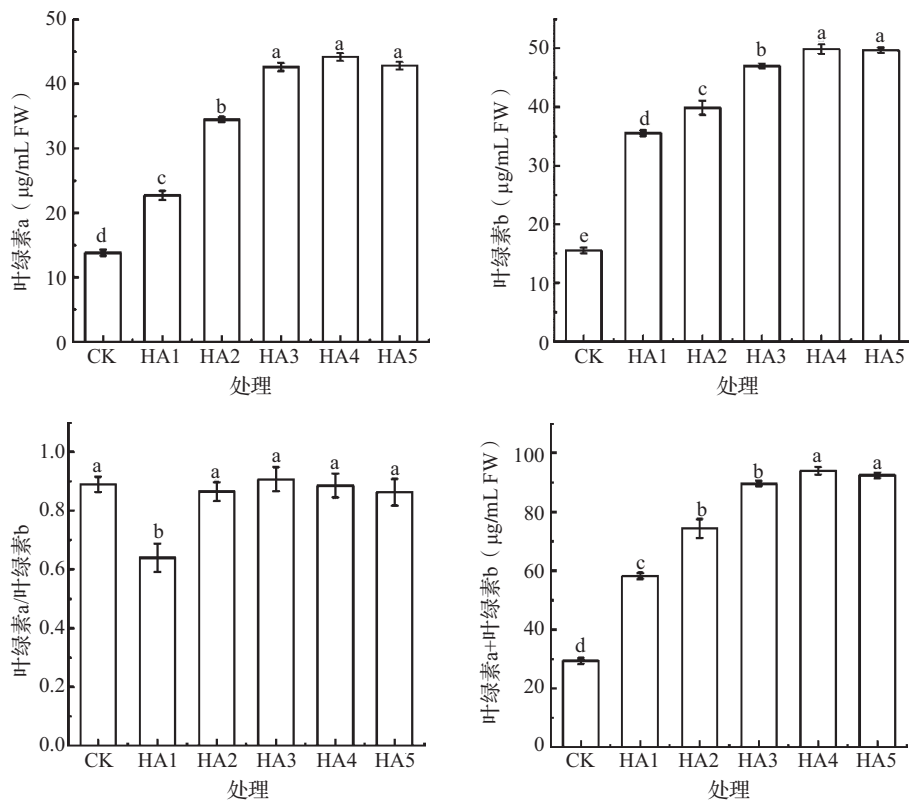


图 2 不同处理对苹果幼苗叶绿素含量的影响

2.5 不同用量腐植酸对基质土壤养分的影响

由表 3 可以看出, 腐植酸处理的确态氮含量明显均低于 CK, CK 的确态氮含量在所有处理中最高, 且随着腐植酸含量的增加, 确态氮含量有下降的趋势。这可能是因为 HA4 处理的幼苗长势突出, 对基质土壤中的氮元素需求最大, 从而导致基质土壤中的确态氮明显低于其他处理。与 CK 相比, 加入腐植酸处理的铵态氮含量没有显著差

表 3 不同处理对基质土壤元素含量的影响 (mg/kg)

处理	硝态氮	铵态氮	有效磷	速效钾
CK	10.60 ± 0.18a	6.24 ± 0.06bc	17.34 ± 0.25c	79.72 ± 1.09e
HA1	8.90 ± 0.40a	4.81 ± 0.14d	22.09 ± 0.37a	93.28 ± 2.37d
HA2	4.55 ± 0.56b	6.03 ± 0.30bc	22.09 ± 0.10a	97.37 ± 0.36c
HA3	0.41 ± 1.94b	7.47 ± 0.03a	23.12 ± 0.12a	94.11 ± 0.25d
HA4	0.55 ± 0.53b	5.72 ± 0.24c	22.94 ± 0.22a	109.44 ± 1.43a
HA5	1.08 ± 1.11b	6.69 ± 0.14b	20.99 ± 0.30b	102.72 ± 0.96b

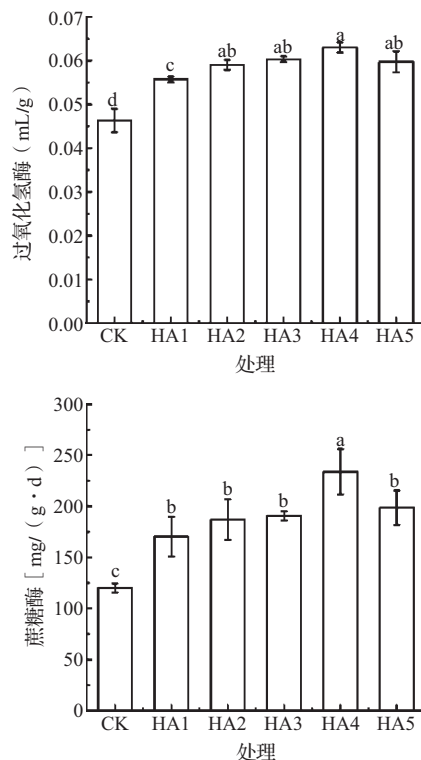


图 3 不同处理对基质酶活的影响

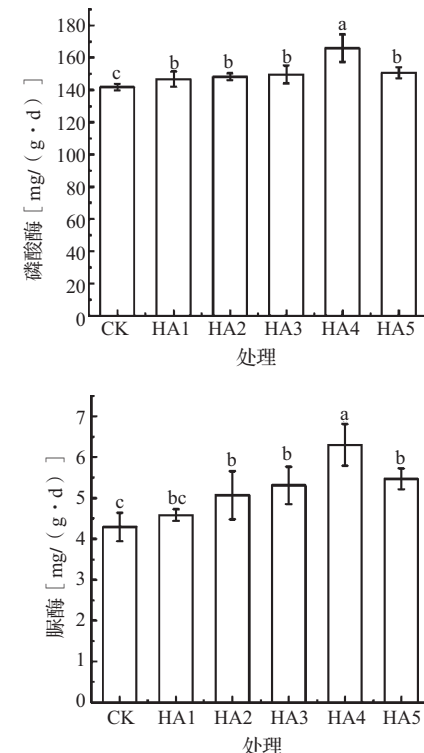
2.7 不同用量腐植酸对基质土壤微生物数量的影响

不同处理对基质土壤微生物数量的影响如表 4 所示。随着基质土壤中腐植酸添加量的增加, 真菌数量有减少的趋势, HA4 处理的真菌数量最少。其

异, 这说明腐植酸对铵态氮的影响不大。加入腐植酸处理的有效磷含量均明显高于 CK, 不同含量之间区别不明显, 但腐植酸处理有效磷含量平均高于 CK 28.3%, 这表明腐植酸对基质土壤的有效磷含量有提高作用。加入腐植酸处理的速效钾含量明显高于 CK, 在所有处理中 HA4 的含量最高, 比 CK 提高了 38.6%, 说明腐植酸对速效钾含量有促进作用。

2.6 不同用量腐植酸对基质土壤酶活性的影响

与 CK 相比, 添加腐植酸后苹果幼苗定植的基质中, 过氧化氢酶、磷酸酶、蔗糖酶和脲酶的活性均有明显提高 (图 3)。在所有处理中, HA4 处理的基质土壤酶活性最高, 相比 CK, 过氧化氢酶、磷酸酶、蔗糖酶和脲酶的活性分别提高了 37.0%、17.0%、94.8% 和 46.5%。其中磷酸酶活性的增长幅度较小。当腐植酸浓度升高至 2.0 g/kg 时, 基质土壤酶活却小于低浓度的处理。



余处理真菌数量均与 CK 有较大差距。添加腐植酸可增加基质中放线菌和细菌的数量, 改变基质土壤中细菌/真菌值, 使基质土壤中的细菌/真菌值增加。

表4 不同处理对基质微生物量的影响

处理	真菌数量 ($\times 10^3$ CFU/g)	放线菌数量 ($\times 10^4$ CFU/g)	细菌数量 ($\times 10^5$ CFU/g)	细菌 / 真菌
CK	52.67 $\pm$ 3.71a	1.00 $\pm$ 0.01d	2.67 $\pm$ 0.88a	5.03 $\pm$ 1.71b
HA1	40.00 $\pm$ 2.52b	10.00 $\pm$ 0.58b	4.33 $\pm$ 0.67a	10.70 $\pm$ 1.07ab
HA2	34.33 $\pm$ 2.03b	6.67 $\pm$ 0.33c	3.33 $\pm$ 1.45a	9.28 $\pm$ 3.63ab
HA3	38.67 $\pm$ 0.67b	10.00 $\pm$ 0.58b	6.33 $\pm$ 1.20a	16.32 $\pm$ 2.93ab
HA4	14.33 $\pm$ 0.88c	12.67 $\pm$ 0.88a	2.00 $\pm$ 0.00a	14.06 $\pm$ 0.84ab
HA5	22.00 $\pm$ 1.00c	4.33 $\pm$ 1.53c	5.00 $\pm$ 1.00a	22.97 $\pm$ 5.19a

3 讨论

3.1 风化煤腐植酸对苹果幼苗的影响

腐植酸对植物根系生长有明显的刺激作用。根系作为植物体活跃的吸收器官和合成器官,其生长情况和活力水平直接影响地上部分的生长和营养状况及产量水平^[14],试验中添加腐植酸的处理,明显增加了苹果幼苗的生物量,促进幼苗根系发展(表1、表2),这可能与腐植酸增加苹果幼苗根系的根系活力,促进苹果幼苗对营养物质的吸收利用,维持植物旺盛代谢有关。腐植酸对植物生长的刺激作用与浓度密切相关,浓度过高,对根系的生长有明显的抑制作用,高添加量的风化煤腐植酸对玉米的生长有明显的抑制作用^[16]。适宜浓度是腐植酸促进苹果幼苗根系生长的关键,本研究也证明了这一点。试验处理 HA4 (1.5 g/kg) 添加量的腐植酸对苹果幼苗的生物量(表1)、叶片中抗氧化酶活性(图1)及根系生长的促进作用最为显著,当腐植酸添加量达到 2.0 g/kg 时,苹果幼苗的株高、鲜重、干重及叶片中的抗氧化酶活性明显下降,总根长、根体积、根表面积等指标均开始受到限制。腐植酸结构和成分十分复杂,其对植物生长的影响除了受浓度的影响,还受官能团、成分、分子量和来源的影响,腐植酸结构中的羧基和羟基官能团在腐殖物质活性方面起主要作用^[17-19];基质土壤、蚯蚓粪和污泥中的腐植酸对玉米根系的影响作用主要受分子量和聚合程度的影响^[20]。黄腐酸能降低亚硒酸盐对植物种子萌发、胚胎发育、生长等方面的抑制作用^[21]。腐植酸和表面活性剂有相似的生理功能,能改善细胞膜脂质发生相变的程度,增加膜的流动性和渗透功能^[22]。腐植酸的降解产物可被植物细胞利用,水稻可利用腐植酸的降解物合成蛋白质和 DNA^[23]。添加不同量的腐植酸就伴随引

入了不同含量的官能团和成分,但是腐植酸对苹果幼苗作用效果的不同是否归因于官能团和成分的含量仍有待确定。

3.2 风化煤腐植酸对基质环境的影响

腐植酸能促进土壤微生物的活动,增加土壤微生物的数量。施入腐植酸后,土壤中的放线菌、纤维素分解细菌、氨氧化细菌和固氮菌等繁殖加快,微生物总量增加,有益微生物的活动加强^[24]。腐植酸对蛋白水解微生物和反硝化微生物的淀粉体有刺激作用,并具有穿过微生物膜和生物浓缩物的能力^[25]。本试验中,添加腐植酸后,基质土壤中细菌及放线菌数量大幅增加,真菌数量减少,明显增大了基质的细菌/真菌值(表4),这说明基质中添加腐植酸会改变基质微生物的结构,使基质土壤环境逐渐趋于作物生长的“细菌型”土壤环境,从而利于苹果幼苗的生长。

腐植酸是含有多种含氧活性官能团的高分子有机胶体,在改良土壤结构、培肥地力等方面起着重要作用。在土壤中施加的腐植酸可以与铵结合形成腐植酸铵,有效减少氮的损失,提高氮素的转化^[26],促进作物对氮素的吸收利用。随着腐植酸的添加,土壤中有效磷的含量有一定提升,这可能是因为腐植酸对土壤中的磷素具有一定的活化激发效果^[27],通常土壤中 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 很难溶于水,而加入腐植酸发生反应后所形成的磷酸氢盐和磷酸二氢盐都溶于水,容易被农作物吸收^[28]。胡敏酸能促进甜菜根薄片膜上的离子载体蛋白对 PO_4^{3-} 等的吸收,抑制对 Cl^- 的吸收^[21]。腐植酸能防止磷素被土壤中的铁、铝、钙固定,提高磷素在土壤中的移动性。在土壤中腐植酸胶体带负电荷,可以在 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 等表面形成一层膜,使这类阳离子与 PO_4^{3-} 隔离开来,减少了它们之间结合而形成难溶盐的机会,使磷肥效力得以提高^[29]。因此,腐植酸被认为是一种土壤磷素增效剂,可以有效提高土壤磷素的含量。腐植酸可以与钾结合形成腐植酸钾^[30],减少钾素的损失。腐植酸可防止土壤晶体对 K^+ 的固定,在土壤中添加 0.7% 的腐植酸,20 d 内反复干湿后,钾的防固率可达 100%,腐植酸与钾肥配伍使用,可减轻长期使用硫酸钾、氯化钾遗留的阴离子对土壤造成的毒害作用^[31]。土壤中的微量元素多为无效状态,镁、硼、铁、钼、锌等能与腐植酸侧链上的官能团螯合,使其由难溶或不溶态转化为水溶态,从而提高微量元素的有效

性^[31]。风化煤腐植酸的施用提高了氮、磷、钾等基质土壤营养元素含量,对促进苹果幼苗生长具有重要作用。本试验中,添加腐植酸后基质土壤中氮素减少,磷素、钾素增加(表3),这与前人的研究结果一致^[9, 11, 27]。

土壤酶主要来源于土壤中动物、植物根系和微生物的细胞分泌物以及其残体的分解物,是土壤的组成成分之一,参与土壤中的众多代谢过程。土壤酶活性包括已积累于土壤中的酶活性,也包括正在增殖的微生物向土壤释放的酶活性。土壤酶活性与有机质含量具有显著的正相关性,添加腐植酸可以有效地减少土壤中盐分含量,提高有机质的含量^[32];同时,腐植酸可络合重金属离子而减少重金属离子在土壤中的迁移^[33],这两种作用都能有效提高基质酶活性。本试验中,腐植酸的添加使得基质土壤中微生物生长繁殖所需的碳源与氮源得到补充,从而增加了基质土壤微生物的数量,提高了微生物的活性,进而提高包括土壤酶在内的分泌物量^[34],增强基质土壤酶活性。脲酶和蔗糖酶的活性受土壤C/N值的影响^[35],土壤C/N值低则促进这两种酶的活性。本试验中添加腐植酸,基质土壤中脲酶与蔗糖酶活性提高的原因之一可能是腐植酸的添加降低了基质土壤C/N值(图3)。

4 结论

添加风化煤腐植酸可以增加苹果幼苗的生物量,以及根系的总根长、总根数量、根体积、根表面积和根平均直径,改善其根系形态,从而促进苹果幼苗的生长发育,同时,风化煤腐植酸可以通过提高叶片中SOD、POD、CAT等抗氧化酶的含量,降低丙二醛的含量,提高幼苗的抗氧化性。本试验条件下,添加1.5 g/kg的腐植酸对苹果幼苗生长的促进作用最明显。

参考文献:

- [1] Luciano P C, Alessandro P, Leonardo B D, et al. Chemical composition and bioactivity properties of size-fractions separated from a vermicompost humic acid [J]. *Chemosphere*, 2009, 78 (4): 457-466.
- [2] 陈倩,李秉毓,张鑫,等. 腐植酸分次施用明显提高富士苹果产量、品质和氮素利用率[J]. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26 (4): 757-764.
- [3] 周丽平,袁亮,赵秉强,等. 不同用量风化煤腐植酸对玉米根系的影响[J]. *中国农业科学*, 2019, 52 (2): 285-292.
- [4] 裴瑞杰,袁天佑,王俊忠,等. 施用腐植酸对夏玉米产量和氮效率的影响[J]. *中国农业科学*, 2017, 50 (11): 2189-2198.
- [5] 刘美,王秀峰,谷端银,等. 育苗基质添加腐植酸促进番茄穴盘苗生长改善生理特性[J]. *植物营养与肥料学报*, 2016, 22 (6): 1636-1644.
- [6] Liu Y, Zhi L, Zhou S, et al. Effects of mercury binding by humic acid and humic acid resistance on mercury stress in rice plants under high Hg/humic acid concentration ratios [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27 (15): 18650-18660.
- [7] Ding Z, Ali E F, Almarai Y A, et al. Effect of potassium solubilizing bacteria and humic acid on faba bean (*Vicia faba* L.) plants grown on sandy loam soils [J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2021, 21 (1): 791-800.
- [8] Azcona I, Pascual I, Aguirreolea J, et al. Growth and development of pepper are affected by humic substances derived from composted sludge [J]. *Journal of Plant Nutrition & Soil Science*, 2011, 174 (6): 916-924.
- [9] 李军,袁亮,赵秉强,等. 腐植酸尿素对玉米生长及肥料氮利用的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23 (2): 524-530.
- [10] 梁太波,王振林,刘兰兰,等. 腐植酸尿素对生姜产量及氮素吸收、同化和品质的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2007, 13 (5): 903-909.
- [11] 王振振,张超,史春余,等. 腐植酸缓释钾肥对土壤钾素含量和甘薯吸收利用的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2012, 18 (1): 249-255.
- [12] 赵世杰,刘华山,董新纯. *植物生理学实验指导* [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 1998.
- [13] 鲍士旦. *土壤农化分析* [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [14] 关松荫. *土壤酶及其研究法* [M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [15] 王雨净,肖明. *微生物学实验* [M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [16] Canellas L P, Olivares F L, Okorokova A L, et al. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots [J]. *Plant Physiology*, 2000, 130 (4): 1951-1957.
- [17] Malcolm R E, Vaughan D. Effects of humic acid fractions on invertase activities in plant tissues [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1979, 11 (1): 65-72.
- [18] Pflug W. Inhibition of Malate Dehydrogenase by Humic Acids [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1981, 13 (4): 293-299.
- [19] Mato M C, Olmedo M G, Méndez J. Inhibition of indoleacetic acid-oxidase by soil humic acids fractionated on sephadex [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1972, 4 (4): 469-473.
- [20] Zandonadi D B, Canellas L P, Façanha A R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted

- plasmalemma and tonoplast H^+ pumps activation [J]. *Planta*, 2007, 225: 1583–1595.
- [21] Liu C, Cooper R J, Bowman D C. Humic acid application affects photosynthesis, root development, and nutrient content of creeping bentgrass [J]. *Hortscience*, 1998, 33 (6): 1023–1025.
- [22] Marco A, Simone C D, Raglione M, et al. Influence of soil characteristics on the clastogenic activity of maleic hydrazide in root tips of *Vicia faba* [J]. *Mutation Research Genetic Toxicology*, 1995, 344 (1–2): 5–12.
- [23] Wang W H, Bray C M, Jones M N. The fate of ^{14}C -labelled humic substances in rice cells in culture [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1999, 154 (2): 203–211.
- [24] 毕军, 夏光利, 毕研文, 等. 腐植酸生物活性肥料对冬小麦生长及基质微生物活性的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11 (1): 99–103.
- [25] Kulikova N A, Perminova I V, Badun G A, et al. Estimation of uptake of humic substances from different sources by *Escherichia coli* cells under optimum and salt stress conditions by use of tritium-labeled humic materials [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2010, 76 (18): 6223–6230.
- [26] 刘增兵, 赵秉强, 林治安. 腐植酸尿素氮挥发特性及影响因素研究 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2010, 16 (1): 208–213.
- [27] 李军, 袁亮, 赵秉强, 等. 磷肥中腐植酸添加比例对玉米产量, 磷素吸收及基质速效磷含量的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23 (3): 641–648.
- [28] Perassi I, Borgnino L. Adsorption and surface precipitation of phosphate onto $CaCO_3$ -montmorillonite: effect of pH, ionic strength and competition with humic acid [J]. *Geoderma*, 2014, 232–234: 600–608.
- [29] Bedrock C N, Cheshire M V, Shand C A. The involvement of iron and aluminum in the bonding of phosphorus to soil humic acid [J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2008, 28 (11–12): 961–971.
- [30] 王汝娟, 王振林, 梁太波, 等. 腐植酸钾对食用甘薯品种钾吸收、利用和块根产量的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2008, 14 (3): 520–526.
- [31] 程扶玖, 杨道麒, 吴庆生. 腐植酸对小麦抗旱性的生理效应 [J]. *应用生态学报*, 1995, 4: 363–367.
- [32] 王相平, 杨劲松, 张胜江, 等. 改良剂施用对于旱盐碱区棉花生长及基质性质的影响 [J]. *生态环境学报*, 2020, 29 (4): 757–762.
- [33] 钟世霞, 徐玉新, 骆洪义, 等. 超声波活化风化石腐植酸对小白菜吸收 Pb、Cd 和基质酶活性影响 [J]. *水土保持学报*, 2012, 26 (6): 185–189, 193.
- [34] 庞荔丹, 婷婷, 张宇飞, 等. 玉米秸秆配氮还田对基质酶活性、微生物量碳含量及基质呼吸量的影响 [J]. *作物杂志*, 2017, (1): 107–112.
- [35] 孙海燕, 牡丹凤, 马倩, 等. 秸秆还田条件下尿素与腐植酸配施对玉米养分吸收, 基质养分及酶活性的影响 [J]. *中国基质与肥料*, 2021 (3): 102–109.

Effects of different additions of humic acid on apple seedlings and substrate environment

LIU Ying-hao¹, LI Yun¹, GAO Han², GUO Xin-song², MENG Qing-yu², CHEN Shi-geng², DING Fang-jun^{2*}, WANG Yan-fang^{1*} (1. College of Chemistry and Material Science, Shandong Agricultural University, Tai'an Shandong 271018; 2. Key Laboratory of Humic Acid Fertilizer, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the Peoples's Republic of China, Tai'an Shandong 271018)

Abstract: Weathered coal humic acid has multiple active functional groups. To study the influence of different amounts of weathered coal humic acid on the growth and development of apple seedlings, a pot experiment was carried out. To provided a theoretical basis for the efficient utilization of weathered coal humic acid resources in increasing the production and quality of apple plant. The apple seedlings were M9T337. All the seedlings with the same growth were transplanted into the substrate pot to equilibrate for one week, and the humic acid was added at different amounts (0, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 g/kg). Their effects on apple seedling biomass, leaf enzymes, chlorophyll, substrate enzymes, substrate nutrition and other conditions were studied. The results showed that: (1) Different amounts of humic acid increased the plant height, dry weight and fresh weight of apple seedlings. Among them, the 1.5 g/kg treatment had the most obvious effects. Compared with the control group, 1.5 g/kg treatment increased by 68.5%, 70.6% and 53.3%, respectively. (2) Humic acid increased the content of antioxidant enzymes in leaves and reduced the content of malondialdehyde. The content of SOD, POD and CAT in apple seedlings treated with 1.5 g/kg increased by 219.9%, 63.0% and 361.4%, respectively, compared with the control. The content of MDA decreased by 54.4%. (3) The addition of humic acid increased the contents of catalase, invertase, urease and phosphatase in the substrate soil, which increased by 37.0%, 94.8%, 46.5% and 17.0%, respectively, in the 1.5 g/kg humic acid treatment compared with the control. (4) With the increase of humic acid, the effect of promoting the growth of apple seedlings increased first and then decreased. The mass ratio of 1.5 g/kg humic acid had the most obvious effect on apple seedlings. The addition of humic acid significantly increased the fresh weight, dry weight and plant height of apple seedlings, promoted the growth of roots, and effectively increased the leaf enzyme activity and chlorophyll content of the seedlings, and the substrate enzyme activities also had certain increases. Under the experimental conditions, the humic acid with a mass fraction of 1.5 g/kg had the best effect on the growth of apple seedlings.

Key words: humic acid; apple seedlings; leaf enzymes; substrate enzyme