

酵素菌肥与生物炭对马铃薯叶片抗氧化特性影响

刘明庆¹, 张维荣², 卢娇娇², 许琳琳², 王梅², 张凯煜²

(1. 榆林市横山区农业技术推广中心, 陕西榆林 719000;

2. 榆林学院现代农学院, 陕西榆林 719000)

摘要:【目的】探究酵素菌肥与生物炭对马铃薯叶片抗氧化指标的影响。【方法】采用正常基肥及正常基肥的70%、80%、90%处理后, 分别加入酵素菌肥25kg/亩和生物炭150kg/亩, 用比色法测定马铃薯叶片抗氧化酶活性及巯基含量。【结果】采用正常基肥的80%, 施加酵素菌肥25kg/亩, 生物炭150kg/亩(JS80)处理下的多酚氧化酶和过氧化氢酶活性分别为300.39U/g和58.86U/g, 分别较CK显著增加了54.67%和42.83%。JS80处理下的葡萄糖氧化酶、过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性分别为395.52、0.48和1349.23U/g, 分别较CK显著增加了34.87%、54.84%和14.70%, 且JS80和JS90处理之间差异不显著, 均显著高于其他处理。JS80处理下的非蛋白质巯基和总巯基分别为4.03mmol/g和0.86 μ mol/g, 分别较CK显著增加了33.44%和48.28%。JS80处理下的叶片羟自由基清除率和总抗氧化能力分别为80.07%和101.36 μ mol/g, 分别较CK显著提高了62.91%和49.74%。【结论】在大田试验中, 可在采用80%基肥的基础上加入酵素菌肥和生物炭提高马铃薯叶片抗氧化酶活性及巯基含量, 为田间马铃薯化肥的减施提供科学依据。

关键词: 酵素菌肥; 生物炭; 马铃薯; 抗氧化

酵素菌是一种复合微生物菌群, 主要包含有益细菌、放线菌、酵母菌和丝状菌。酵素是酵素菌在活动过程中分泌的多种酶和活性物质, 例如尿素酶、糖化酶、氧化还原酶、纤维分解酶等。酵素菌肥是由酵素菌发酵, 加工处理后制作而成的多功能高效复合微生物制剂, 其不仅能抑制有害微生物生长, 提高无机肥料的效率, 激活营养元素, 改善土壤结构, 减少环境污染, 而且有利于提高农作物产量, 改善生长条件, 降低化肥的使用, 从而减少对环境危害。这主要是因为酵素菌肥含有作物生长发育所必需大量、中微量元素和有机质、有益活性微生物及微生物代谢产物^[1-2]。酵素菌是1940年由日本磐亚株式会社的微生物研究者发明的一种生物技术, 对农业发展有重要作用, 于1994年引进我国, 目前已在我国多个省份广泛使用^[1]。酵素菌技术是农作物研究的可持续技术, 将酵素菌与堆肥结合在一起, 可提高土壤中腐殖质, 使土壤保水保肥能力增加; 同时形成磷酸粒状肥, 大大提高作物对磷的吸收, 从而提高农作物品质^[3-4]。微

生物肥料的作用是通过增加土壤中各种有益微生物活菌的数量, 增加土壤的呼吸强度, 二氧化碳的排放量显著增加, 是农作物光合作用所需碳的主要来源之一。酵素菌肥是微生物肥料之一, 根据作物的不同, 可灵活选择适宜的肥料, 提高农作物生产效益^[5-6]。

生物炭具有高吸附能力、高比表面积、高微孔率和离子交换能力等特性, 应用广泛。施用生物炭会改变土壤的物理和化学性质, 影响作为载体在土壤中建立微生物的能力, 土壤微生物活性影响有机质分解、养分循环, 影响作物养分状况和生产能力, 通过生物炭可以提高土壤中微生物的活性。生物炭为土壤中的微生物提供了营养, 从而促进了土壤中微生物的生长。生物炭的应用影响了菌根真菌和其他土壤生物的功能和栖息地, 直接刺激了土壤质量和土壤健康。研究表明, 由新鲜沼气形成的生物炭通过调节对砷和铁离子的抑制, 对微生物群产生了有利的影响^[7]。生物炭对作物产量和生产力有积极的影响。它提高了作物的养分利用率和养分利用效率。据文献报道, 施用生物炭可提高果园土壤养分有效性, 改善土壤微生物环境, 促进根系生长, 有助于养分的利用, 从而提高产量^[8]。生物炭还可能消除或控制农田里的病虫害, 施用3%-5%的生物炭可以延缓真菌病原体和害虫的生长^[7, 9]。生物炭可以改善酸性土壤、保持土壤水分、增强土壤肥力和助力发展绿色可

基金项目: 中央奖补资金项目(2019cjcyyjbzj-06); 榆林学院2023年研究生创新基金项目(2023YLXCX18)。

作者简介: 刘明庆, 本科, 主要从事植保植检、农技推广工作。

通讯作者: 王梅, 副教授, 博士, 主要从事农作物病虫害防治研究。Email: mmeiwang@126.com

持续农业；同时，可以修复污染环境、净化水质、抑制温室效应等^[10-11]。本试验采用正常基肥及正常基肥（70%，80%，90%）处理下分别加入酵素菌肥及生物炭对马铃薯叶片多酚氧化酶（PPO）、过氧化氢酶（CAT）、葡萄糖氧化酶（GOD）、过氧化物酶（POD）、超氧化物歧化酶（SOD）、非蛋白质巯基含量、总巯基含量、羟自由基清除能力、T-AOC等含量的测定。本研究为榆林马铃薯种植肥料实施提供一定理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验地点及材料

供试马铃薯叶片采自陕西省榆林市榆阳区现代农业科技示范园区（109°48′29″E，38°22′49″N），供试马铃薯品种为“冀张薯226”。多酚氧化酶（PPO，BC0195-100T/48S）、过氧化氢酶（CAT，BC0205-100T/96S）、葡萄糖氧化酶（GOD，BC0695-100T/96S）、过氧化物酶（POD，BC0095-100T/96S）、超氧化物歧化酶（SOD，BC0175-100T/48S）、非蛋白质巯基（BC1435-100T/48S）、总巯基含量（BC1375-100T/48S）、羟自由基清除能力（BC1325-100T/96S）和总抗氧化能力（T-AOC，BC1315-100T/96S），以上检测试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司。马铃薯专用复合肥（12-19-16-撒可富，总养分≥47%），由中国-阿拉伯化肥有限公司生产。二铵（磷酸二铵，总养分≥57%），由云南祥丰化肥股份有限公司生产。

1.2 试验设计

正常基肥的施肥（CK）：底肥亩用量为马铃薯专用复合肥亩用量120kg、二铵亩用量20kg，6月25日追肥马铃薯专用复合肥亩用量40kg、硝酸钾亩用量30kg、硝酸钙每亩用量20kg、尿素亩用量10kg；7月22日喷施叶面肥为液体微量元素亩用量200ml，多元微肥亩用量200g；底肥施用量是正常施肥的70%、80%和90%，且酵素菌肥亩用量为25kg，简称为J70、J80和J90。底肥施用量是正常施肥的70%、80%和90%，且酵素菌肥亩用量为25kg，生物炭亩用量为150kg，分别简称为JS70、JS80和JS90。于马铃薯花期后期（9月1日）进行采样，采摘由上到下，第三分枝叶片，带回实验室-20℃保存备用。

1.3 试验方法

PPO、CAT、GOD、POD、SOD、非蛋白质巯基、总巯基含量、羟自由基清除能力和T-AOC含量测定，根据检测试剂盒说明书进行操作。采用比色法分别在410、240、500、470、560、310、412、536和593nm下测定其吸光值，根据公式计算酶活。

1.4 结果统计与分析

使用SPSS19.0进行数据统计分析。采用Duncan's multiplerangetest方法进行差异显著性分析，显著性水平为 $P < 0.05$ 。结果表示为平均值±标准误。

2 结果与分析

2.1 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥对马铃薯叶片主要抗氧化酶活性的影响

由表1知，J70处理下马铃薯叶片PPO活性为116.78U/g，较CK显著降低了39.87%；J80和J90处理下马铃薯叶片PPO的活性分别为251.71和264.51U/g，较CK显著提高29.61%和36.20%。JS80和JS90处理下马铃薯叶片PPO活性分别为300.39和306.18U/g，较CK显著提高54.67%和57.65%。J80和J90处理下马铃薯叶片CAT活性分别为51.97和54.12U/g，显著高于CK和J70，较CK提高了26.11%和31.33%。JS80和JS90处理下马铃薯叶片CAT的活性分别为58.86和63.65U/g，显著高于CK和JS70，较CK提高了42.83%和54.45%。J70处理下马铃薯叶片GOD活性为257.01U/g，较CK处理显著降低12.36%；J80和J90处理下马铃薯叶片GOD活性分别为355.91和377.14U/g，较CK显著提高了21.36%和28.60%。JS80和JS90处理下马铃薯叶片GOD活性分别为395.52和390.88U/g，较CK显著提高了34.87%和33.29%。J70和J80处理下马铃薯叶片POD活性分别为0.29和0.42U/g，与CK处理之间差异不显著；J90处理下马铃薯叶片POD活性为0.46U/g，较CK显著提高了48.39%。JS80和JS90处理下马铃薯叶片POD活性分别为0.48和0.51U/g，显著高于CK和JS70，较CK提高54.84%和64.52%。J80和J90处理下马铃薯叶片SOD活性分别为1304.44和1332.69U/g，显著高于CK和J70，较CK提高了10.89%和13.30%。JS80和JS90处理下马铃薯叶片SOD的活性分别为1349.23和1361.96U/g，显著高于CK和JS70，较CK提高了14.70%和15.78%。

表1 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥对马铃薯叶片PPO、CAT、GOD、POD、SOD活性的影响

处理	PPO (U/g)	CAT (U/g)	GOD (U/g)	POD (U/g)	SOD (U/g)
CK	194.21c	41.21c	293.26d	0.31cd	1176.29e
J70	116.78d	32.13d	257.01e	0.29d	1194.14de
J80	251.71b	51.97b	355.91c	0.42bc	1304.44c
J90	264.51b	54.12b	377.14b	0.46b	1332.69b
JS70	182.24c	35.93cd	297.91d	0.34c	1216.11d
JS80	300.39a	58.86ab	395.52a	0.48ab	1349.23ab
JS90	306.18a	63.65a	390.88a	0.51a	1361.96a

注：数据为三次试验的平均值，不同的小写字母代表活性之间有显著性差异性 (P<0.05)。

2.2 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥对马铃薯叶片非蛋白质巯基含量的影响

由图1知，J70处理下马铃薯叶片非蛋白质巯基含量为2.91mmol/g，与CK处理之间差异不显著；J80和J90处理下马铃薯叶片非蛋白质巯基含量分别为3.55和3.19mmol/g，二者差异不显著，但均显著高于CK和J70，较CK处理分别提高了17.55%和27.15%。JS70处理下马铃薯叶片非蛋白质总巯基含量与CK处理差异不显著；JS80和JS90处理下马铃薯叶片非蛋白质巯基含量分别为4.03和4.16mmol/g，显著高于CK和JS70，分别较CK提高33.44%和34.44%，且JS80和JS90处理之间无显著差异。

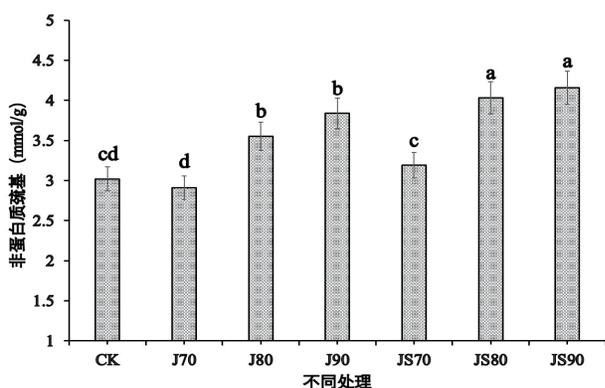


图1 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥对马铃薯叶片非蛋白质巯基含量的影响

注：数据为三次试验的平均值，不同的小写字母代表活性之间有显著性差异性 (P<0.05)，下同。

2.3 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥对马铃薯叶片总巯基含量的影响

由图2知，J70处理下马铃薯叶片总巯基含量与

CK处理之间无显著差异性；J80和J90处理下马铃薯叶片总巯基含量分别为0.76μmol/g和0.83μmol/g，二者差异不显著，较CK处理分别显著提高了31.03%和43.10%。JS70、JS80和JS90处理下马铃薯叶片总巯基含量分别为0.65μmol/g、0.86μmol/g和0.90μmol/g，较CK处理分别显著提高了12.07%、48.28%和55.17%，JS80和JS90处理之间差异不显著，均显著高于JS70。

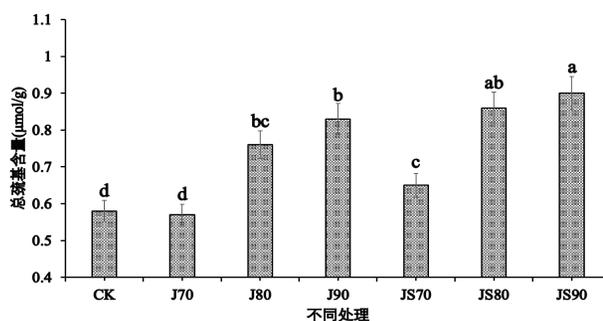


图2 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥对马铃薯叶片总巯基含量的影响

2.4 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥对马铃薯叶片羟自由基清除能力的影响

由图3知，J70处理下马铃薯叶片的羟自由基清除率为32.12%，较CK处理显著降低了34.64%。J80和J90处理下马铃薯叶片的羟自由基清除率分别为63.21%和71.97%，二者差异不显著，较CK处理分别显著提高了28.61%和46.43%。JS70处理下马铃薯叶片的羟自由清除率与CK处理之间差异不显著；JS80和JS90处理下马铃薯叶片的羟自由基清除率分别为80.07%和95.43%，显著高于CK处理和JS70，较CK处理显著提高62.91%和94.16%。

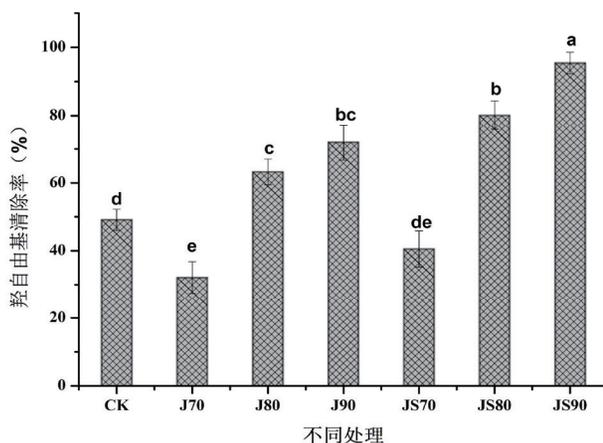


图3 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥对马铃薯叶片羟自由基清除能力的影响

2.5 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥对马铃薯叶片T-AOC含量的影响

由图4知, J70处理下马铃薯叶片T-AOC显著低于CK处理; J80处理下马铃薯叶片T-AOC为82.36 $\mu\text{mol/g}$, 与CK处理之间差异不显著; J90处理下马铃薯叶片T-AOC为90.15 $\mu\text{mol/g}$, 较CK处理显著提高了33.18%。JS80和JS90处理下马铃薯叶片T-AOC分别为101.36 $\mu\text{mol/g}$ 和106.27 $\mu\text{mol/g}$, 显著高于CK和JS70, 较CK处理显著提高49.74%和56.99%, 且JS80和JS90处理之间差异不显著。

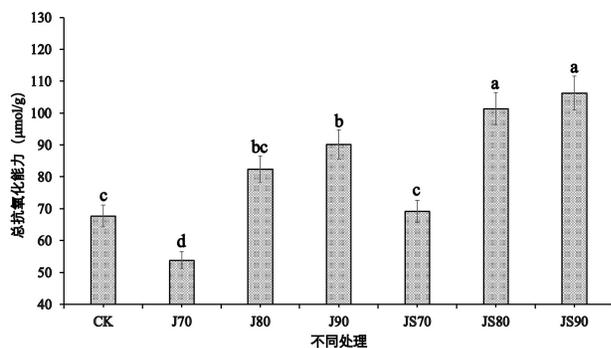


图4 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥对马铃薯叶片T-AOC含量的影响

3 结果与讨论

榆林地区是我国马铃薯的主要产区之一, 马铃薯也是榆林地区的一大地方特色, 是榆林地区人们的主要收入来源之一^[12]。为明确酵素菌肥和生物炭替代部分化肥对马铃薯叶片抗氧化特性的影响, 本试验采用正常基肥及正常基肥的70%、80%、90%的处理下, 分别加入酵素菌肥与生物炭, 测定马铃薯叶片PPO、CAT、GOD、POD、SOD、非蛋白质巯基含量、总巯基含量、羟自由基清除能力、T-AOC等含量, 结果表明, 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥有助于马铃薯叶片抗氧化能力的提升, 同时改善当地的土壤肥力, 使得马铃薯品质和产量得到提高, 与前人研究一致, 施加酵素菌肥和生物炭可有效提高作物产量^[13-14]。

PPO是一种广泛存在于植物体内的含铜氧化酶, 能使一元酚和二元酚氧化产生醌, 而醌自发聚合并与蛋白质的氨基酸残基侧链基团反应, 参与酶促褐变反应过程^[15]。CAT广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 是最主要的H₂O₂清除酶, 在活性氧清除系统中具有重要作用^[16]。本研究通过酵素菌肥和生物

炭替代部分化肥的基础上, 基肥用量适当减少10%–30%, 尤其是JS80处理后马铃薯叶片PPO和CAT活性分别为300.39和58.86U/g, 分别较CK处理显著提高了54.67%和42.83%, 这与张凯焯等^[17]的研究结论一致, 施加BN菌肥可以有效提高马铃薯PPO和CAT活性。GOD、POD和SOD广泛存在于动物和植物中, GOD催化葡萄糖氧化生成葡萄糖酸, 并产生H₂O₂, 是生物体中产生活性氧的代谢途径之一^[18]; POD可催化过氧化氢氧化酚类和胺类化合物, 具有消除过氧化氢和酚类、胺类毒性的双重作用^[19]; SOD催化超氧化物阴离子发生歧化作用, 生成H₂O₂和O₂^[20]。JS80处理后马铃薯叶片GOD、POD和SOD活性分别为395.52、0.48和1349.23U/g, 均显著高于CK处理, 这与卢娇娇等^[21]的研究结论一致, 施加枯草芽孢杆菌后可有效增加马铃薯叶片抗氧化酶活性。植物受到不良环境因子或病虫害的侵染后体内产生大量的活性氧自由基, 过量的活性氧自由基可加速植物衰亡, 而植物体内抗氧化相关酶可清除体内的活性氧自由基^[22]。生物体内巯基主要包括非蛋白质巯基和蛋白质巯基, 巯基化合物在体内具有重要的解毒功能, 对生物体的自我调节具有非常重要的生理意义^[23]。JS80处理后马铃薯叶片非蛋白质巯基、总巯基和T-AOC含量较CK处理均显著增加, 结果表明, 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥可有效提高马铃薯中抗氧化酶活性, 与迟青山^[24]的研究结果一致, 生物炭与微生物相互作用对农作物生长产生积极影响。王其传等^[25]研究发现, 酵素菌活菌剂能显著地增加甜瓜生长速度及改善品质。土壤是植物的重要养分来源。近年来, 我国土壤退化现象非常严重, 尤其是农田土壤板结现象较为严重。由于长期单一施用氮磷钾化肥, 再加机械化操作如无人机喷施除草剂, 以及投入塑料制品过多等, 使土壤的可耕性变得较差^[26]。可以通过施加有机肥和微生物菌肥等改善土壤理化性质。酵素菌肥作为绿色安全肥料含有大量有益微生物及微生物代谢物质, 丰富了土壤中微生物群落多样性, 而生物炭为微生物提供了一个较好的环境。因此, 酵素菌肥和生物炭替代部分化肥可有效改变土壤理化性质。

4 结论

在施用正常基肥80%的条件下, 施加酵素菌肥(25kg/亩)与生物炭(150kg/亩), 马铃薯叶片抗氧

化酶活性均显著增加,尤其在基肥浓度相同的情况下效果优于只施加酵素菌肥;JS80处理下对马铃薯叶片抗氧化酶PPO、CAT、GOD、POD和SOD活性及非蛋白质巯基和总巯基含量较CK均显著增加;同时,JS80处理下对马铃薯叶片羟自由基清除能力和总抗氧化能力分别为80.07%和101.36 $\mu\text{mol/g}$,均显著高于CK处理。因此,在大田试验中可选用JS80代替正常基肥,这为马铃薯化肥减施提供了科学依据。

参考文献

- [1] 冯蕾,赵运林,彭姣,等.酵素菌微生物在农业生产中的应用进展[J].现代农业科技,2016(1):220-223.
- [2] 颜倍友,董彦华,苏建党.酵素菌肥的研究及其应用效果[J].杂粮作物,2001,21(2):39-41.
- [3] 张群.植物酵素制备关键技术研究[J].食品与生物技术学报,2020,39(10):112.
- [4] 金光辉,孙秀梅,李风云,等.酵素菌肥在马铃薯生产中的应用效果研究[J].中国马铃薯,1999,13(2):3-5.
- [5] 王丽霞,郭二虎,张艾英,等.微生物肥对谷田土壤环境及产量的影响[J].安徽农业科学,2018,46(24):97-99.
- [6] 朱元芳,徐永清,陈芾葳,等.EM菌生物有机肥对马铃薯脱毒苗生产微型薯的影响[J].湖北农业科学,2020,59(20):46-50.
- [7] 黄锋,张福建,李林茹,等.生物炭技术在改良连作土壤中的应用研究进展[J].长江蔬菜,2023(24):27-31.
- [8] 范声浓,王烁衡,于良君,等.生物炭对枞果根系生长、土壤养分和微生物群落的影响[J].云南农业大学学报(自然科学),2022,37(4):692-702.
- [9] 刘金灵,张亚茹,王宇光,等.生物炭对土壤微生物影响的研究进展[J].中国农学通报,2023,39(26):60-66.
- [10] 虎灵,魏晶晶,王慧春.生物炭在农业生产和环境保护方面的应用现状[J].青海草业,2019,28(3):26-30.
- [11] 勾芒芒,屈忠义,王凡,等.生物炭施用对农业生产与环境效应影响研究进展分析[J].农业机械学报,2018,49(7):1-12.
- [12] 杨进荣.榆林地区马铃薯生产现状及增产技术[J].陕西农业科学,1999,45(5):27-28.
- [13] 廖欣,王忍,张印,等.酵素菌剂与有机肥配施对水稻产量、品质和土壤养分的影响[J].江苏农业科学,2023,51(14):95-101.
- [14] 张婉婷.木霉菌和生物炭配施对西瓜秧苗质量和抗逆性的影响[D].沈阳:沈阳农业大学,2020.
- [15] 张琪,刘军红.枸杞多酚氧化酶研究进展[J].安徽农业科学,2022,50(15):16-18.
- [16] 刘聪,邓宇宏,刘选明,等.过氧化氢酶在植物生长发育和胁迫响应中的功能研究进展[J].生命科学研究,2023,27(2):128-138.
- [17] 张凯煜,刘馨月,亢福仁,等.BN菌肥对马铃薯叶片抗氧化特性及其品质的影响[J].榆林学院学报,2023,33(5):33-37.
- [18] 夏超,邓露.葡萄糖氧化酶的作用机理及其在动物生产中的研究进展[J].饲料研究,2023,46(18):165-169.
- [19] 徐阳,辛嘉英,王雨晴,等.过氧化物酶及其模拟物在食品分析中的应用研究进展[J].食品安全质量检测学报,2021,12(21):8494-8500.
- [20] 魏婧,徐畅,李可欣,等.超氧化物歧化酶的研究进展与植物抗逆性[J].植物生理学报,2020,56(12):2571-2584.
- [21] 卢娇娇,刘明庆,王寒,等.枯草芽孢杆菌与生物炭对马铃薯叶片抗氧化特性的影响[J].江西农业学报,2022,34(8):36-40.
- [22] 耿兵婕,叶苗苗,陈研,等.外源6-BA和 KH_2PO_4 对花后受渍小麦根系抗氧化酶和无氧呼吸酶活性的影响[J].浙江农业学报,2023,35(10):2275-2285.
- [23] 闫沛沛,王婷,张丹,等.巯基类荧光探针的研究进展[J].有机化学,2019,39(4):916-928.
- [24] 迟青山.生物炭与细菌微生物互作对小白菜生长的影响及益生菌的分离表征[D].沈阳:沈阳农业大学,2020.
- [25] 王其传,祁红英,何光近.酵素菌对网纹甜瓜产量和品质的影响[J].农资科技,2004(1):15-17.
- [26] 郭振,汪怡珂,卢垟杰,等.耕地土壤板结原因和改良途径研究进展——以贵州地区为例[J].天津农业科学,2018,24(12):87-90.