

腐植酸促进植物生长的机理研究进展

张水勤^{1,2}, 袁亮¹, 林治安¹, 李燕婷¹, 胡树文², 赵秉强^{1*}

(1 农业部植物营养与肥料重点实验室/中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081;

2 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100193)

摘要:【目的】腐植酸在我国农业生产中发挥了重要作用, 许多研究证实, 腐植酸具有促进植物生长的功能, 本文从腐植酸刺激植物根系生长、调控土壤与肥料养分转化及肥料利用率和影响土壤微生物和酶活性方面, 系统总结了国内外施用腐植酸促进植物生长的途径, 阐述了腐植酸对植物生长促进作用的机理, 旨在梳理腐植酸促进植物生长机理的研究现状, 为腐植酸的进一步研究和应用提供参考依据。【主要进展】1) 腐植酸能够对植物产生类似生物刺激素的效应。它能够提高植物根系 H^+ -ATP 酶等的活性、刺激植物根伸长和侧根生长点的增加, 从而增加根系活力及植物根系与土壤养分的接触面积, 增加植物对养分的吸收; 2) 逆境胁迫下, 腐植酸能够通过调节植物体内的新陈代谢并改善植物生长环境, 缓解甚至消除逆境胁迫对植物的伤害, 从而促进植物生长; 3) 腐植酸能够通过与氮素、磷素和钾素发生结合效应, 与磷酸盐产生竞争效应和对钾离子的吸附作用固持与活化土壤与肥料中的养分, 提高土壤肥料有效性和缓释性能, 提高肥料利用率, 从而促进植物生长; 4) 腐植酸还能够影响土壤中与养分转化相关的酶活性和微生物群落结构及数量, 在活化养分的同时, 保蓄养分, 降低养分的损失, 为植物生长保障持久的养分供应; 5) 腐植酸对植物生长的促进效应受腐植酸结构特征、添加量和供试植物种类等因素的影响。【建议与展望】由于技术手段的限制和研究技术的差异, 人们对腐植酸促进植物生长机理的认识还不够系统和深入, 因此, 腐植酸的基本特征、影响腐植酸作用的主控因子、土壤-植物系统中腐植酸促进植物生长的主要途径和腐植酸对土壤功能性微生物等的影响都将成为未来研究的重要方向。

关键词: 腐植酸; 植物生长; 根系; 抗逆性; 养分转化

Advances in humic acid for promoting plant growth and its mechanism

ZHANG Shui-qin^{1,2}, YUAN Liang¹, LIN Zhi-an¹, LI Yan-ting¹, HU Shu-wen², ZHAO Bing-qiang^{1*}

(1 Key Laboratory of Plant Nutrition and Fertilizer, Ministry of Agriculture/Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 2 College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: 【Objectives】Humic acid plays an important role in Chinese agricultural production. Many research results have showed that humic acid could prompt plant growth. In this study, the researches on humic acid for prompting plant growth were systematically summarized, and the mechanism was focused on stimulating roots growth, regulating nutrition transformation, and affecting microbial activity. According to review of the research status of humic acid prompting plant growth, we aimed to provide the references for the further researches and application of humic acid at last. 【Major advances】1) Humic acid produces effects on plant like biostimulants. In detail, humic acid can improve H^+ -ATPase activity of roots, simulate root elongation and the increase of lateral root points, which is conducive to the increase of root activity, as well as the expansion of the contact area between roots and soil nutrition. 2) Humic acid regulates the metabolism of plant and improves the environment of plant growth under stress. Based on this, the abiotic and biotic stress is eliminated and the plant is

收稿日期: 2016-06-27 接受日期: 2016-09-10

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2016YFD0200402); 国家自然科学基金项目(31601827); 中央级公益性科研院所专项基金项目(IARRP-2014-5)资助。

作者简介: 张水勤(1988—), 女, 河南新密人, 博士研究生, 主要从事新型肥料研究。E-mail: shuiqin08@163.com

* 通信作者 E-mail: zhaobingqiang@caas.cn

prevented from the injury, which is conducive to plant growth. 3) Humic acid reacts with nitrogen, phosphorus and potassium, and new compounds are synthesized. In addition, humic acid has competition effects with phosphate, and adsorption effects with potassium ions. All the effects are beneficial to immobilize and activate the nutrients in soil and fertilizer. Thus, the availability and the sustainable release of the nutrients in soil and fertilizer are enhanced, and plant growth is prompted. 4) Humic acid also plays an important role in regulating soil enzyme activities related to soil or fertilizer nutrition transformation, and microbial community structure and biomass. Owing to the regulation, the nutrition is activated in soil, and the goal of nutrition preservation is achieved. Therefore, it is ensured that plant growth can get permanent nutrient supply. 5) The promotion of humic acid on plant growth is affected by the structural characteristics, addition amounts of humic acid, and crop species.

【 Suggestions and expectations 】 The limited technology and the discrepancy of researches impede deeper and systematic research in the mechanism of humic acid prompting plant growth. Therefore, the future study will focus on the basic characteristics of humic acid, the dominating factor analysis of humic acid action, the principal pathway of humic acid prompting plant growth in soil-plant systems, and the effect of humic acid on soil functional microorganism.

Key words: humic acid; plant growth; root system; stress resistance; nutrition transformation

腐植酸是动植物残体和微生物细胞等经微生物分解和转化, 以及一系列地球化学过程形成和累积的一类成分复杂的天然有机高分子混合物^[1-2]。它在自然界中具有广泛的来源与分布。以 humic acid (腐植酸) 为检索词, 对 Web of Science 数据库中 1996~2015 年间收录的文献进行统计分析 (检索时间为 2016 年 4 月 19 日), 发现腐植酸在农业领域研究的发文量为 588, 占有所有研究的 15.50%, 位居所有研究领域第四位, 可见, 农业是腐植酸应用的重要领域之一。我国对腐植酸有组织的研究工作始于上世纪 50 年代末期。上世纪 60 年代, 全国掀起了使用腐植酸肥料和利用腐植酸改良土壤的热潮; 70 年代, 国务院在 1974 年和 1979 年两次发文 (110 号和 200 号), 全面推动了我国对腐植酸的综合开发利用, 确认了腐植酸在农业上“改良土壤, 增效肥料, 刺激生长, 增强抗逆, 改善品质”五大作用^[3-4]。国内外大量研究证实, 腐植酸具有促进植物生长、提高植物产量的作用, 如玉米施用腐植酸后能显著降低从种植到抽雄和抽丝时间, 显著增加作物高度和单位面积产量^[5-6]; 小麦施用腐植酸能促进根系伸展和生物量的增加^[7-8]; 水稻施用腐植酸能显著增加株高、分蘖数、千粒重、秸秆和籽粒产量^[9-10]。同时, 腐植酸还具有提高肥料利用率、改善作物品质的作用, 如提高玉米/小麦/水稻氮磷钾肥利用率^[8, 11-13]; 改善莴苣/油菜/洋葱/番茄等的品质, 降低体内硝酸盐含量^[14-17]; 降低草莓白粉病、灰霉病和烂果病的发病率^[18]。Trevisan 等^[19]认为, 腐植酸能够通过改善土壤结构、

提高土壤肥力、影响养分吸收和根系构型对植物生理产生有益的影响。大量研究证实, 腐植酸通过调控“植物-土壤-肥料”系统促进植物生长, 具体方式及主要作用机理如图 1 所示, 即主要包括四个方面: 1) 通过直接作用于植物 (尤其是植物根系) 而影响根系生长及其对养分的吸收^[20-22]; 2) 通过调控植物活性氧系统和细胞膜渗透性、改善植物生长环境增强植物抗逆性^[23-24]; 3) 通过调控土壤及肥料的养分形态而影响植物的养分供应^[14, 25]; 4) 通过影响土壤微生物群落结构及土壤酶活性而影响土壤中及肥料施用后养分形态^[26-27]。鉴于此, 本文基于以上四个方面内容对已有研究进行总结, 系统分析腐植酸促进植物生长的机理, 旨在启发引导对腐植酸的系统研究, 从而为腐植酸资源高效利用和科学开发提供理论与技术支撑。

1 腐植酸通过刺激植物根系生长及其对养分的吸收而促进植物生长

1.1 腐植酸对植物根系生长及其对养分吸收的刺激作用

1.1.1 腐植酸对植物根系生长的刺激作用 腐植酸对植物根系生长的刺激作用是其对植物生长促进作用的最初动力^[28]。腐植酸对植物根系生长的刺激效应主要体现在促进根长度和根数量增加方面。Dobbss 等^[29]研究表明, 腐植酸处理下, 番茄侧根数量的增加幅度达 150%~264%, 而侧根长度的增加幅度更多, 达 405%~2280%。这种作用的产生主要是由于腐植

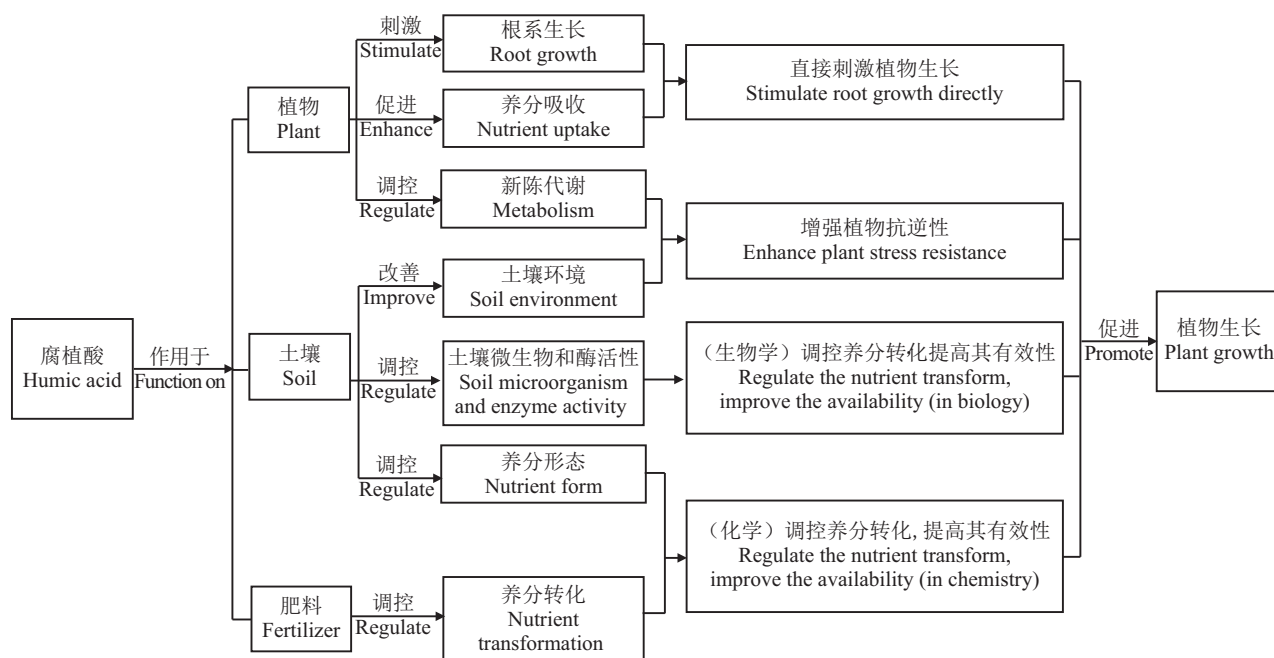


图 1 腐植酸促进作物生长的主要途径及机理

Fig. 1 Main approaches and mechanisms of humic acid prompting plant growth

酸作用于植物后, 植物表现出类似添加低剂量或大量外源生长素的刺激反应^[22], 这跟腐植酸含有细胞刺激肽类等有机生物刺激素有关, 因此, 施用后能够提升植物生物化学活性, 对根系产生类似生长素的作用, 刺激植物内生细胞刺激肽类和植物生长素的增加, 引起细胞质膜渗透性能的改变, 促进植物蛋白的合成和细胞的生长, 从而促进植物根系生长和产量的增加^[30-33]。腐植酸对植物根系的刺激作用使植物根系中与蔗糖代谢、苹果酸酶、ATP 酶、细胞支架蛋白质相关的基因出现了差异性表达^[21, 34], 其中, H^+ -ATP 酶基因的差异性表达对作物根系生长影响最大。研究表明, 腐植酸能够促进玉米根系中 H^+ -ATP 酶编码基因亚型 *Mha2* 的表达^[35], 能够作为质膜上 H^+ -ATP 酶诱导因子提高细胞活性, 诱导质膜表面 H^+ -ATP 酶数量的增加, 酸化非原质体, 从而使细胞壁松弛, 允许细胞伸长^[36-38]; 同时, H^+ -ATP 酶活性的增加也使电化学质子梯度增加, 促进了通过第二运输系统进行的质子跨膜运输, 进而改善了植物的营养^[39-40], 刺激植物根系生长。此外, 腐植酸能够通过刺激拟南芥根毛细胞的负调控子基因 *WEREWOLF* 和 *GLABRA2* 的下调, 促使根形态发生重塑, 增加根吸收面积, 改变根系细胞分化^[41]; 腐植酸还能促进玉米侧根有丝分裂位点增加, 抑制 ATP 的水解和 H^+ 的运输^[21]。

Trevisan 等^[42]研究表明, 在腐植酸施用 30 min 内

能够刺激生长素诱导拟南芥中基因 *IAA19* 的表达, 这与生长素对植物刺激的效应相似; 然而, 在其作用 2 h 后, 该基因却没有表现出与生长素刺激相一致的恢复至基准水平, 这可能是由于腐植酸除了具有生长素类似的调控效应外, 还具有其他效应。

1.1.2 腐植酸对植物根系吸收养分的促进作用 腐植酸对植物根系养分吸收的促进作用主要表现在对硝酸盐的吸收上。一方面腐植酸能够促进植物根系中与硝酸盐吸收同化相关的基因的表达。Tomasi 等^[43]和 Quaggiotti 等^[35]研究表明, 在低分子量腐植酸作用下, 玉米根系中与硝酸盐吸收相关的基因 (*NRT2.1* 和 *MHA2*) 与硝酸盐同化基因 (*NRI*) 均表现出了上调表达。另一方面, 腐植酸能够通过调节植物根系体内环境, 刺激植物对硝酸盐的吸收。腐植酸能够通过降低根细胞质膜表面的 pH, 中和 NO_3^- 作为氮源所产生的碱, 抑制 H^+/NO_3^- 的同向转移^[44]; 腐植酸 (尤其是小分子量腐植酸) 对质膜上分离的 H^+ -ATP 酶活性的刺激作用, 决定了电化学质子梯度的增加^[30, 38], 从而促进了植物根系对 NO_3^- 的吸收, 最终促进了植物对氮的吸收。因此, 腐植酸能够通过调控硝酸盐的吸收、同化和转移促进植物对硝态氮的吸收。此外, 腐植酸还能促进大麦和燕麦幼苗对 SO_4^{2-} 和 K^+ 等养分离子的吸收^[45-47]。

腐植酸也能作为营养物质被植物体所吸收。腐植酸 (尤其是小分子量的腐植酸) 很容易到达高等植

物细胞质膜,且部分被植物所吸收^[20, 48-51];李京淑等^[52]和仪明光等^[53]通过使用氚标记的腐植酸钠开展砂培试验,也观察到了腐植酸钠可以通过根或茎的切面进入植物体。

1.2 腐植酸对植物根系生长及其养分吸收刺激作用的影响因素

腐植酸对植物根系生长及其养分吸收刺激作用效果与腐植酸的添加量、来源、分子量大小、聚合程度高低和供试植物的种类有关。

1.2.1 腐植酸对植物根系生长促进作用的影响因素

Berbara 和 García^[54]通过水稻根系施用不同浓度腐植酸,发现水稻根系施用适量浓度的腐植酸后产生一定量的活性氧促进了水稻的生长和侧根的形成,然而,施用高浓度的腐植酸提高了活性氧含量,导致脂质过氧化,从而对水稻根系的生长产生不良影响;Zandonadi 等^[38]和 Canellas 等^[55]研究认为,聚合程度低分子量小的腐植酸活性较高,能够刺激玉米根系质膜 H^+ -ATP 酶的活性和玉米根系生长,且对玉米根区面积的促进作用是聚合程度高的大分子量腐植酸的两倍;而聚合程度高分子量大的腐植酸对液泡膜 H^+ 泵、玉米根系生长和玉米根系微粒体中 H^+ -ATP 酶活性的刺激作用强于聚合程度低分子量小的腐植酸^[38, 56];Jindo 等^[57]认为,污泥堆肥和不堆肥产生的腐植酸样品均能促进玉米根系生长,提高玉米维管束中质子泵活性,且堆肥处理强于不堆肥,这是由于堆肥产生的腐植酸样品含有更多的羧基,且具有更强的疏水特性,能够产生更好的形态学和生物化学效应。此外,相同的腐植酸作用于不同的植物也有不同的响应。腐植酸及其分级物质作用于拟南芥幼苗时,根系表现出主根变短、诱导侧根生长等类似于大量添加外源生长素刺激的反应;然而,作用于玉米幼苗时,根系则表现出主根和侧根均有增长的类似于添加低剂量的外源生长素刺激的效应^[22]。

1.2.2 腐植酸对植物根系养分吸收刺激作用的影响因素 腐植酸对植物根系养分吸收的促进作用受其浓度、异质性和分子量大小的影响。Maggioni 等^[46]研究表明,中间浓度腐植酸对燕麦根系 K^+ 和 SO_4^{2-} 吸收的促进效果明显优于过低或过高浓度的腐植酸处理。Albuzio 等^[45]研究表明,异质性高且未分级的腐植酸对大麦吸收硝酸盐的促进作用显著高于分级所得的异质性低的样品;而在分级所得的腐植酸中,大分子量 (> 10000 D) 和小分子量 (< 9000 D) 的腐植酸对大麦吸收硝酸盐的促进效果均强于中间分子量 ($9000 \sim 10000$ D) 的腐植酸。也有研究认为,小分子

量组分能够显著刺激植物根系对 NO_3^- 的吸收,然而大分子量腐植质需要暴露在硝酸盐溶液中很长时间才能表现出较低的刺激作用^[20, 58];Nardi 等^[50]则认为,只有小分子量的腐植酸组分才能增加植物根系对 NO_3^- 的吸收,大分子量的腐植酸却无此作用。

植物对腐植酸的吸收因腐植酸的分子量而异。研究认为,小分子量的腐植酸组分(最大分子量小于 3500 D)容易到达高等植物细胞质膜,且被部分吸收^[20, 48-50];而大分子量的腐植酸组分(最小分子量大于 3500 D)只能与细胞壁发生接触,且不能被吸收^[31]。然而,也有文献报道,大分子量的腐植酸也并非完全不能被植物所吸收,只是其进入根系的数量低于小分子腐植酸^[52-53];Vaughan 等^[51]通过比较等添加量 ($10 \sim 250$ mg/L) 条件下豌豆根系对小分子量腐植酸(富里酸)和大分子量腐植酸(胡敏酸)的吸收作用,发现,豌豆根系对富里酸和胡敏酸均具有吸收作用,但对富里酸的吸收量是胡敏酸吸收量的两倍以上。因此,很多研究者认为,小分子量组分是腐植酸中最具活性的部分,它更易被植物所吸收,且对植物根系生长和养分离子的吸收具有更好的刺激效应^[48-50]。尽管如此,大分子量的腐植酸组分也因能够调控植物根系生长而具有较强的生物活性^[29, 38],同时,大分子量的腐植酸处理诱导更高的根分化且刺激了与植物生长和分化相关的新陈代谢过程中酶的活性^[49, 59]。

大多数研究认为,对植物根系生长、养分吸收和激素类活性影响的诸多因素中最为有效的腐植酸组分具有最多酸性基团和最小分子量的特征,即腐植酸对植物的刺激效应与其结构及分子量大小有关,而与脂肪族和芳香族含量等表征其聚合程度的指标关系不大^[20, 31, 35, 60]。然而,也有研究认为低分子量腐植酸之所以成为影响其作用的主要因素与其具有较高含量的芳香族、羧基的和酚基的官能团结构密不可分^[20, 48-50];此外,Canellas 等^[22]认为腐植酸的特定生物活性分子含量对根系生长和形态的生理影响大于其分子量大小的影响。因此,对于影响腐植酸作用于植物的关键因素仍需进一步研究。

腐植酸对植物生长的促进作用,不仅表现在对植物根系生长及根系对养分的吸收方面,其对植物地上部生长也表现出一定的促进作用。Jannin 等^[61]通过将生长一周的油菜幼苗移入含有腐植酸(有机碳 100 mg/L)的霍格兰营养液中进行培养,对植物根系和地上部与碳、氮和硫转化相关的基因进行测定,发现与不添加腐植酸的处理相比,腐植酸处理 3 天

时, 地上部差异性表达基因数量为 720, 是根系 (366) 的两倍; 且施用 30 天时, 地上部有 102 个基因呈现出差异性表达, 而根系中的基因均检测不到差异性表达。硝酸还原酶、天冬酰胺合成酶、柠檬酸合成酶、异柠檬酸脱氢酶和苹果酸脱氢酶是玉米叶片中参与氮素转化与运输和有机酸合成的重要酶类, 腐植酸能够刺激其编码基因的表达, 从而促进玉米的氮素吸收和氨基酸代谢, 进而促进其生长^[62]。腐植酸还能通过诱导玉米叶片中参与次生代谢的重要酶类 (苯基丙氨酸脱氨酶和络氨酸解氨酶) 基因的表达来促进植物生长^[63]。Mora 等^[64]研究表明, 不同浓度的腐植酸均能促进黄瓜地上部生长, 这一效果在小麦、玉米和辣椒上也得到了证实^[65-67], 产生这种影响的机理可能是腐植酸对根系 H^+ -ATP 酶活性和硝酸盐在根部-地上部分布的影响, 从而引起根部-地上部中一定的细胞激肽类、多肽和脱落酸分布的变化, 进而影响地上部生长。

2 腐植酸通过增强植物抗逆性促进植物生长

2.1 腐植酸对逆境胁迫下植物生长及代谢的影响

腐植酸能够缓解生物和非生物胁迫对植物生长的影响, 改善植物形态生理特征, 对逆境胁迫下植物的生长具有保护机制, 在植物生态安全性中具有预防氧化应激的重要作用^[23, 68-69]。大量研究表明, 水分、温度、盐分和重金属等逆境胁迫下, 腐植酸通过刺激植物各器官中蛋白质和酶的合成, 增强植物体内过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶等与活性氧代谢相关的酶活性, 并降低植物体内丙二醛和质膜透性, 调节植物体内的活性氧含量, 减轻膜脂的过氧化程度, 使植物保持较快的生长速度, 从而保持了细胞膜的渗透性能, 增强了植物对干旱、寒冷、盐分和重金属等的抗性^[23-24, 70-72]。除了上述作用与功能, García 等^[73]认为腐植酸还能够修饰水稻根系中液泡膜水通道内在蛋白基因 *OsTIP* 的表达, 以增强水稻抵抗水分胁迫的能力。同时, 物理作用也是腐植酸增强植物对水分胁迫抗性的重要方面。García 等^[74]研究表明, 腐植酸添加后能够在植物根系表面、根系表皮细胞和新生根毛中形成腐植酸凝聚体, 降低了根系的渗透系数, 增强其抗干旱能力。

腐植酸对植物抗逆性的改变不仅体现在对植物形态及生理特征的改变, 还能够通过改变植物生长环境来增强植物的抗逆性。盐分胁迫条件下, 施用腐植酸肥料能够降低土壤介质的电导率, 促进挪威

枫和银杏幼苗的生长, 提高其叶绿素含量^[75]; 腐植酸能够增加土壤团聚体含量、土壤紧实性、持水能力、阳离子交换能力, 促进植物生长^[24]; 此外, 干旱胁迫下, 植物根系分泌的有机酸能够对腐植酸胶体产生局部破坏作用, 使其释放出个体生长调节分子, 这些分子足够小, 以至于能够穿透细胞壁基质进入细胞膜, 从而影响基因的表达和酶的活性^[76]。

生物胁迫下, 腐植酸增强植物抗逆作用主要体现在其对植物致病菌的抑制作用方面。研究证实, 腐植酸不仅能够降低土壤真菌链格孢菌 *Alternaria alternata*、大刀镰刀菌 *Fusarium colmorum* 和尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 分生孢子的存活率, 还能够抑制分生孢子菌丝的伸长, 且对分生孢子繁殖的抑制为其主要作用方式^[77-78]。通过以上作用的发挥, 腐植酸显著降低了根须病的发病率。

2.2 逆境胁迫下腐植酸对植物作用的影响因素

逆境胁迫下, 腐植酸对植物的作用大小受胁迫程度高低、腐植酸添加量、腐植酸结构等因素的影响^[23, 72, 78]。腐植酸对植物抗逆性的影响因逆境胁迫程度的高低而异。腐植酸可缓解土壤中轻度 Cd 污染, 显著抑制小麦幼苗对 Cd 的吸收, 促进小麦幼苗干物质积累及其对 Cu、Zn、Fe、Mn 等微量营养元素的吸收和积累; 随 Cd 污染程度加重, 腐植酸对植株 Cd 吸收的抑制能力减弱, 并对 Cu、Zn、Fe、Mn 等微量营养元素吸收产生不同影响^[72], 因此, 逆境条件下, 植物受逆境胁迫的程度影响腐植酸的作用效果。腐植酸对植物抗逆性的影响还受其添加浓度高低的影响。用浓度为 0~500 $\mu\text{g/mL}$ 的腐植酸对干旱胁迫下玉米浸种, 发现浸种后的玉米幼苗活性氧系统增强, 膜脂过氧化程度降低, 且对玉米抗旱性的促进效应随浸种腐植酸浓度的增加而愈加显著^[79]。而 García 等^[23]则认为, 水分胁迫下, 随着腐植酸施用量 (HA 34 和 46 mg/L) 的增加, 植物的生长速度和含水量增长加快, 但是, 对水稻抗氧化防御系统的酶活性并没有表现出明显的差异。通过盆栽试验, 研究叶面喷施浓度为 20、40、60、80 和 100 mg/L 的腐植酸对高温胁迫下掌叶半夏幼苗生长生理指标及次生代谢的调控效应, 发现喷施 60 mg/L 的腐植酸处理对高温胁迫下掌叶半夏幼苗叶片的调控效应最好, 最为有效地减轻了夏季高温对掌叶半夏幼苗叶片的伤害、延缓衰老、提高幼苗抗热性, 促进生长、延长生长期^[80]。可见, 腐植酸添加量并非越多越好, 而是有一个适宜的浓度, 且过量的腐植酸施用甚至增加了番茄感染根腐病原菌的可能性, 提高

了番茄根腐病的发病率^[81]。因此,逆境条件下,腐植酸添加量影响其对植物抗逆性的作用效果,且存在最适宜的添加浓度。

除添加量之外,腐植酸所具有的烷基、羧基和羰基等官能团也是其抵抗逆境胁迫的关键作用因素,甚至有研究认为这些官能团的作用大于添加量^[74, 79]。Loffredo 等^[79]研究表明,腐植酸对植物枯萎病致病菌尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 的抑制效应与其羧基官能团性质和含量相关。Gholami 等^[82]也认为结构不同的胡敏酸与富里酸消除盐分对车前草的伤害效果不同,且胡敏酸的作用效果强于富里酸。

3 腐植酸通过调控土壤与肥料中的养分转化促进植物生长

3.1 腐植酸调控土壤与肥料中的养分转化,提高其有效性

以腐植酸 (humic acid, HA) 与主要肥料养分 (nitrogen/phosphorus/potassium, N/P/K) 为检索词,对 1996~2015 年间 Web of Science 数据库收录的发文量进行统计 (检索时间 2016 年 4 月 19 日),得到如图 2 所示雷达图。由图 2 可知,近 20 年发文量逐渐增加,可见研究人员对腐植酸与养分尤其是氮素的交互作用的关注度逐年增加。大量研究证实,腐植酸因具有较多的酸性功能基团和较大的阳离子交换量,能够作为土壤调理剂改善土壤理化性质,增强土壤保蓄养分离子的能力^[83-84];且能够通过与氮素、磷素和钾素的结合效应^[85-88]、与磷酸盐的竞争效应^[14, 89]和对钾离子的吸附作用^[90-91]固持与活化肥料中

的养分,提高肥料有效性和缓释性能,从而提高肥料利用率。因此,腐植酸能够与土壤与肥料中的养分发生作用,调控土壤与肥料中养分形态转化,提高其利用效率,进而促进植物生长。

3.1.1 腐植酸对土壤与肥料中养分形态的调控 腐植酸对土壤中的养分形态具有调控效应。腐植酸能够与磷酸盐竞争土壤矿物表面的吸附位点,降低土壤矿物对磷酸盐的吸附;与土壤中的钙离子发生结合作用及与 Ca-P 发生作用,减少 Ca-P 沉淀的生成,提高土壤与肥料中磷素的有效性^[14, 89, 92]。Olk 和 Cassman^[90]研究表明,腐植酸具有结合土壤中钾离子、增强其抗土壤吸附的能力,从而认为其具有调控土壤钾素有效性和防固定的潜力。此外,腐植酸因具有较多的酸性基团,施用后可降低土壤 pH,从而提高土壤中微量元素 (Zn、Mn、Fe、Cu) 的有效性^[93]。

腐植酸对肥料中的养分形态具有调控效应。腐植酸能够通过自身的羧基和酚羟基与尿素的酰胺基作用生成腐植酸-脲络合物,该物质具有较高的稳定性,能够抑制尿素分解、提高氮素利用效率,实现尿素的长效缓效^[84-85, 94]。同时,腐植酸能够通过非生物作用固定肥料中的铵态氮,并形成以吡啶和吡咯^[86]、酰胺-缩氨酸结构^[27, 87]等为代表的化学物质与结合形式。腐植酸中所含的羟基官能团能够与磷酸一铵通过阳离子的桥接作用发生复合反应,生成水溶性的腐植酸磷和腐铵磷^[88],提高了磷肥的有效性。腐植酸还能够吸附与固定肥料中的钾素或与肥料中的钾素反应,生成以胶体化合物形式存在的腐植酸钾,它不易随水流失,提高了钾肥的缓释性能^[88, 91]。

3.1.2 腐植酸能够提高土壤与肥料中养分的有效性 腐植酸能够提高肥料养分的有效性。施用添加胡敏酸和富里酸的尿素后,土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的累积量明显高于普通尿素处理^[3];而 Suntari 等^[10]则通过开展土壤培养试验,进一步研究发现,腐植酸尿素肥料能够在水稻种植后第 28 和 42 天分别提高土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的含量。腐植酸与磷肥一起施用后土壤中速效磷含量显著高于普通磷肥处理,且土壤对磷的固定率比普通磷肥降低 7.32%^[95]。

腐植酸能够降低肥料施用后土壤与肥料中养分的损失。腐植酸主要组分胡敏酸和富里酸的 pH 分别为 1.89~2.27 和 1.14~1.20,施用于土壤后,造成土壤 pH 短暂降低,从而缓解甚至抑制了施肥区域尿素的水解,进而降低了尿素的氨挥发损失^[25, 27]。同时,腐植酸还通过短暂降低土壤 pH,降低土壤中氨的挥发损失^[84]。Reeza 等^[25]研究发现,土壤中施用了添加

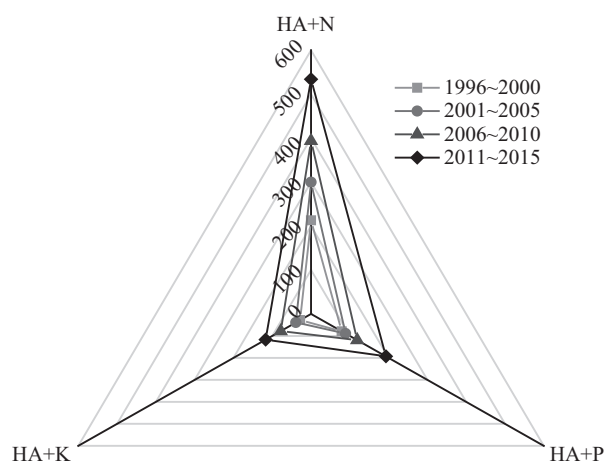


图 2 1996~2015 年 Web of Science 收录的腐植酸与氮、磷和钾作用研究的发文量

Fig. 2 The published papers of humic acid and N, P and K in Web of Science from 1996 to 2015

胡敏酸和富里酸的尿素后, 氨挥发量较普通尿素处理显著降低了 12.92%~20.12%; Yusuff 等^[96]进一步证实腐植酸与尿素混合施用在培养初期 (0~10 天) 氨挥发量显著低于单施尿素处理 ($P < 0.05$), 但随后高于单施尿素处理。因此, 腐植酸与尿素混合施用能够在初期抑制氨挥发并在后期将保蓄在土壤中的氨缓慢释放, 从而提高氮肥利用率^[8, 11]。此外, 腐植酸施用还能够降低水稻土中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 随农田排水的损失量^[9]。

因此, 腐植酸能够通过调控土壤与肥料中养分的形态, 提高肥料施用后土壤与肥料中养分的有效性和降低土壤与肥料中的养分损失, 提高肥料利用率和土壤供肥能力, 促进植物生长^[97]。

3.2 腐植酸调控土壤与肥料养分的影响因素

腐植酸对土壤与肥料养分的调控效应受腐植酸种类、官能团和添加量等因素的影响。腐植酸的种类和来源不同, 导致其对土壤与肥料养分的调控效应存在差异。不同产地的腐植酸对小白菜各生育期土壤氮磷钾含量的影响存在显著的差异^[98]; 腐植酸的组分胡敏酸和富里酸对氨均有一定的固定作用, 且与氨结合的位点基本一致, 但富里酸对氨的固定量大于胡敏酸^[86], 这可能是由于腐植酸的羧基和羟基在固定氨方面起着最主要的作用, 而这些基团在富里酸中具有更广泛的分布^[99-101]。腐植酸某些特定的官能团与尿素、铵根离子、磷酸盐和钾离子均能够发生结合反应, 因此, 腐植酸结合位点数量的多少影响腐植酸对土壤和肥料养分的调控效果^[88]。腐植酸的添加量对土壤养分的调控效果也不相同。一方面, 腐植酸添加量影响土壤中养分的释放率。Bama 等^[102]研究表明, 土壤中 N、P 和 K 的释放与腐植酸的添加量呈线性相关关系。另一方面, 腐植酸的添加量对肥料施用后养分的转化影响存在差异, 腐植酸施用量达到一定水平后, 对土壤固定态磷才具有激活效应^[103]。Yusuff 等^[96]研究表明, 腐植酸添加量越大, 其对尿素氨挥发的抑制效果越强。刘增兵等^[104]的研究结果与此一致。此外, 环境 pH 影响腐植酸与磷酸盐的竞争吸附效应。低 pH 条件下, 腐植酸与磷酸盐对针铁矿、三水铝矿和土壤上的吸附位点具有更强的竞争效应^[105]。

综上, 腐植酸对肥料及土壤养分有效性的调控是其降低土壤 pH、活化与固持土壤与肥料养分、减少土壤与肥料养分损失和结合土壤肥料等作用的综合结果, 且具体效果因腐植酸种类、官能团数量和添加量等因素而异。

4 腐植酸通过调控土壤微生物及酶活性促进作物生长

4.1 腐植酸对土壤酶活性的影响

腐植酸是土壤腐殖质的重要组成成分, 具有稳定的碳形态, 对土壤微生物的生物活性具有重要的作用^[30, 106]; 同时, 腐植酸还能够通过调控土壤微生物及酶活性, 为植物根系的生长和肥料养分的保蓄提供良好的生长环境来实现其促进作物生长的作用。腐植酸施用能够影响土壤酶的活性。腐植酸对脲酶的作用是其影响土壤酶的重要方面。研究认为, 腐植酸能够在加入初期抑制土壤脲酶活性, 降低尿素水解速度, 从而减少水解产物氨的挥发; 而加入后期却能够稳定脲酶活性, 使尿素继续以相对稳定的速度转化成氨, 供给植物生长^[107-108], 而腐植酸之所以能够抑制脲酶活性, 一方面是因为腐植酸中大量不饱和键可以有效防止脲酶中的活性官能团 (巯基, $-\text{SH}$) 氧化, 另一方面腐植酸还能螯合土壤中脲酶巯基的抑制剂 (Cu^{2+} 和 Hg^{2+})^[109]。此外, 腐植酸对其他酶类的影响有: 在含大量有机质的土壤中, 腐植酸能够强烈抑制脲酶、酸性磷酸酶和 N-乙酰氨基葡萄糖苷酶等的活性^[26]; 而彭正萍等^[15]研究表明, 向种植油菜的潮褐土中施用腐植酸复合肥, 较普通复合肥更能提高土壤碱性磷酸酶活性和过氧化氢酶活性, 从而活化土壤中的磷素, 提高有效磷含量; 此外, 刘兰兰等^[110]通过小区试验证实, 腐植酸具有提高土壤酸性磷酸酶和蔗糖酶活性的作用; Sellamuthu 和 Govindaswamy^[111]的研究则进一步认为, 腐植酸和肥料配合施用对土壤中过氧化氢酶、脱氢酶和碱性磷酸酶活性具有提高效果, 且随着腐植酸添加量 ($10\sim 40\text{ kg/hm}^2$) 的增加, 效果先增强后减弱。

4.2 腐植酸对土壤微生物结构和数量的影响

腐植酸还能够影响土壤中微生物的数量和多样性。Sellamuthu 和 Govindaswamy^[111]研究表明, 肥料和腐植酸配合施用增加了甘蔗种植条件下根际土壤中细菌、真菌和放线菌数量, 且随着腐植酸添加量 ($10\sim 40\text{ kg/hm}^2$) 的增加, 各种微生物数量均呈现先增加后降低的趋势, 30 kg/hm^2 的腐植酸与肥料配合施用条件下, 微生物的数量最多; 刘兰兰等^[103]和杨云马等^[112]的研究结果与此一致, 且认为腐植酸对不同种类的微生物作用效果不同, 其中, 对细菌的影响最大, 真菌次之, 对放线菌的影响最小; Dong 等^[27]研究表明, 褐煤腐植酸能够通过降低土壤中尿素向

氨的水解速度和缓冲土壤 pH 等作用来抑制氨化细菌、氨化古菌等微生物群落组成和数量的改变, 缓冲尿素施用对土壤中细胞多样性和总量的影响, 从而降低氨被氧化成亚硝酸和硝酸的速度, 以及降低通过反硝化转化成氮气造成的损失, 最终能够使更多的氮为植物所吸收利用, 对于植物生长和作物增产均具有重要的意义。

腐植酸对土壤微生物的影响受腐植酸种类的影响。Bhardwaj 和 Gaur^[113]研究表明, 胡敏酸和富里酸均能明显促进固氮菌生长, 提高固氮菌的固氮能力, 且以富里酸的提高效果更为显著, 对固氮菌数量的影响大于其对固氮能力的影响。

此外, 腐植酸含有能够提高土壤肥力和增加土壤养分有效性的大多数元素, 能够促进作物生长、增加作物产量^[114]; 腐植酸还能够通过增加细胞呼吸和细胞膜对养分的吸收, 提高作物二磷酸核酮氧合酶/羧化酶活性, 增加植物光合活性, 提高豆科作物的生物固氮等, 从而促进作物生长、增加作物产量^[115-117]。

5 研究展望

腐植酸可通过直接刺激植物根系生长和养分吸收、增强植物抗逆性、间接调控土壤与肥料中养分的有效性和影响土壤微生物数量结构和酶活性等调控养分转化促进植物生长; 同时, 腐植酸对植物生长的促进作用受腐植酸来源、组成、结构、浓度、植物种类等影响, 因此, 对腐植酸促进植物生长主要途径的研究和影响腐植酸作用发挥主控因子的研究显得十分有必要。

近些年来, 人们对于腐植酸的研究, 无论是在研究技术、研究方法上都在逐步发展, 然而, 随着对腐植酸应用目标要求的逐渐提高和研究内容的逐渐深入, 现有的研究内容已不能满足未来发展的需求, 还需要从以下几个方面实现突破:

1) 腐植酸基本特征的研究。尽管国内外对腐植酸结构与组成的研究已有相当长的历史, 但具有高度异质性的腐植酸仍然是研究的热点与难点, 因此, 利用新的技术手段, 如核磁共振等对腐植酸的结构和组成等进行表征和分析仍需进一步开展。

2) 影响腐植酸作用的主控因子研究。在研究腐植酸基本特征的基础上, 对影响腐植酸作用的因子进行分析, 探究腐植酸作用的主控因子, 为腐植酸的深入研究和活化改性提供理论依据。

3) 土壤-植物系统中, 腐植酸促进植物生长的主

要途径研究。当前对腐植酸促进植物生长的途径研究手段存在不一致性, 如腐植酸对根系生长的刺激作用多采用水培的方法^[20-22], 对土壤微生物和土壤酶的调控作用多采用室内恒温培养的方法^[27], 而对土壤养分有效性的影响则多是田间试验的结果^[25], 因此, 缺乏系统的研究来综合比较腐植酸对植物生长的促进作用, 从而分析土壤-植物系统中, 腐植酸促进植物生长的主要途径。

4) 腐植酸对土壤功能性微生物等的影响研究。腐植酸能够影响土壤微生物结构, 但目前多数研究仅停留在对微生物数量的研究层面, 未进一步深入, 而对功能性微生物的研究有助于探究腐植酸促进土壤中养分转化的机理, 为腐植酸的利用提供重要的理论支持。

参 考 文 献:

- [1] 郑平. 煤炭腐植酸的生产和应用[M]. 化学工业出版社, 1991.
Zheng P. The production and application of coal humic acid[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1991.
- [2] Stevenson F J. Humus chemistry: genesis, composition, reactions[M]. New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 1994.
- [3] 曾完成. 让腐植酸水溶肥普惠全人类[J]. 腐植酸, 2014, (4): 2-6.
Zeng X C. Make humic acid water soluble fertilizer favour human[J]. Humic Acid, 2014(4): 2-6.
- [4] 刘梅堂, 王天雷, 程瑶, 等. 中国泥炭褐煤资源及发展腐植酸钾产业潜力[J]. 地学前缘, 2014, 21(5): 255-266.
Liu M T, Wang T L, Cheng Y, *et al.* Peat and brown coal resources in China and its potential for developing potassium humate fertilizer[J]. Earth Science Frontiers, 2014, 21(5): 255-266.
- [5] Celik H, Katkat A V, Barış Bülent A, *et al.* Effects of humus on growth and nutrient uptake of maize under saline and calcareous soil conditions[J]. Žemdirbystė (Agriculture), 2010, 97(4): 15-22.
- [6] El-Mekser H K A, Mohamed Z E O M, Ali M A M. Influence of humic acid and some micronutrients on yellow corn yield and quality[J]. World Applied Sciences Journal, 2014, 32(1): 1-11.
- [7] 薛世川, 刘秀芬, 邓景华. 施用腐植酸复合肥对小麦抗旱防衰能力的影响及其机理[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(1): 139-141.
Xue S C, Liu X F, Deng J H. Effect and mechanism of humic acid compound fertilizer on the drought- and senility- resistant of wheat[J]. Chinese Journal of Eco-agriculture, 2006, 14(1): 139-141.
- [8] 袁亮, 赵秉强, 林治安, 等. 增值尿素对小麦产量、氮肥利用率及肥料氮在土壤剖面中分布的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(3): 620-628.
Yuan L, Zhao B Q, Lin Z A, *et al.* Effects of value-added urea on wheat yield and N use efficiency and the distribution of residual N in soil profiles[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2014, 20(3): 620-628.
- [9] Osman E A M, El-Masry A A, Khatab K A. Effect of nitrogen fertilizer sources and foliar spray of humic and/or fulvic acids on yield and quality of rice plants[J]. Advances in Applied Science

- Research, 2013, 4(4): 174–183.
- [10] Suntari R, Retnowati R, Soemarno S, *et al.* Determination of urea-humic acid dosage of vertisols on the growth and production of rice[J]. AGRIVITA, Journal of Agricultural Science, 2015, 37(2): 185–192.
- [11] 陈振德, 何金明, 李祥云, 等. 施用腐殖酸对提高玉米氮肥利用率的研究[J]. 中国生态农业学报, 2007, 15(1): 52–54.
- Chen Z D, He J M, Li X Y, *et al.* Studies on increasing N utilizing efficiency in maize by applying humic acid[J]. Chinese Journal of Eco-agriculture, 2007, 15(1): 52–54.
- [12] 李志坚, 林治安, 赵秉强, 等. 增效磷肥对冬小麦产量和磷素利用率的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2013, 19(6): 1329–1336.
- Li Z J, Lin Z A, Zhao B Q, *et al.* Effects of value-added phosphate fertilizers on yield and phosphorus utilization of winter wheat[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2013, 19(6): 1329–1336.
- [13] 孙克刚, 和爱玲, 杜君, 等. 腐植酸有机肥在水稻上的增产效果研究[J]. 腐植酸, 2015, (6): 15–20.
- Sun K G, He A L, Du J, *et al.* Studies on effects of humic acid organic fertilizer in rice[J]. Humic Acid, 2015(6): 15–20.
- [14] Cimrin K M, Yilmaz I. Humic acid applications to lettuce do not improve yield but do improve phosphorus availability[J]. Acta Agriculturae Scandinavica (Section B: Soil & Plant Science), 2005, 55(1): 58–63.
- [15] 彭正萍, 薛世川, 孙志梅, 等. 腐植酸复合肥对油菜品质及生理指标的影响[J]. 河北农业大学学报, 2001, 24(1): 24–27.
- Peng Z P, Xue S C, Sun Z M, *et al.* Study the effect of humic acid (HA) compound fertilizer on the quality and physiologic index of rape[J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2001, 24(1): 24–27.
- [16] 何生丽, 徐万里, 马海刚, 等. 施用腐植酸肥料对洋葱产量和品质的影响[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(6): 1178–1181.
- He S L, Xu W L. The impact of humic acid fertilizer on yield and quality of onion[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2010, 47(6): 1178–1181.
- [17] 马海刚, 徐万里, 何生丽, 等. 腐植酸肥料在加工番茄上施用的肥效及对品质的影响[J]. 新疆农业科学, 2009, 46(4): 772–775.
- Ma H G, Xu W L, He S L, *et al.* Effect of humic acid fertilizer on applied fertilizer and quality of processing tomato[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2009, 46(4): 772–775.
- [18] 刘继培, 刘唯一, 周婕, 等. 施用腐植酸和生物肥对草莓品质、产量及土壤理化性状的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2014, 31(6): 513–520.
- Liu J P, Liu W Y, Zhou X, *et al.* Effects of applying humic acids and bio-fertilizer on the qualities and yields of strawberry and soil agrochemical characters[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2014, 31(6): 513–520.
- [19] Trevisan S, Francioso O, Quaggiotti S, *et al.* Humic substances biological activity at the plant-soil interface: from environmental aspects to molecular factors[J]. Plant Signaling & Behavior, 2010, 5(6): 635–643.
- [20] Piccolo A, Nardi S, Concheri G. Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1992, 24(4): 373–380.
- [21] Canellas L P, Olivares F L, Okorokova-Façanha 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, 2002, 130(4): 1951–1957.
- [22] Canellas L P, Piccolo A, Dobbss L B, *et al.* Chemical composition and bioactivity properties of size-fractions separated from a vermicompost humic acid[J]. Chemosphere, 2010, 78(4): 457–466.
- [23] García A C, Berbara R L L, Farias L P, *et al.* Humic acids of vermicompost as an ecological pathway to increase resistance of rice seedlings to water stress[J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(13): 3125–3134.
- [24] Muscolo A, Sidari M, Attinà E, *et al.* Biological activity of humic substances is related to their chemical structure[J]. Soil Science Society of America Journal, 2007, 71(1): 75–85.
- [25] Reeza A A, Ahmed O H, Majid N M N A, *et al.* Reducing ammonia loss from urea by mixing with humic and fulvic acids isolated from coal[J]. American Journal of Environmental Sciences, 2009, 5(3): 420–426.
- [26] Allison S D. Soil minerals and humic acids alter enzyme stability: implications for ecosystem processes[J]. Biogeochemistry, 2006, 81(3): 361–373.
- [27] Dong L, Córdova-Kreylos A L, Yang J, *et al.* Humic acids buffer the effects of urea on soil ammonia oxidizers and potential nitrification[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(8): 1612–1621.
- [28] Calvo P, Nelson L, Kloepper J W. Agricultural uses of plant biostimulants[J]. Plant and Soil, 2014, 383(1–2): 3–41.
- [29] Dobbss L B, Medici L O, Peres L E P, *et al.* Changes in root development of *Arabidopsis* promoted by organic matter from oxisols[J]. Annals of Applied Biology, 2007, 151(2): 199–211.
- [30] Pinton R, Cesco S, Iacoletti G, *et al.* Modulation of NO_3^- uptake by water-extractable humic substances: involvement of root plasma membrane H^+ -ATPase[J]. Plant and Soil, 1999, 215(2): 155–161.
- [31] Nardi S, Pizzeghello D, Muscolo A, *et al.* Physiological effects of humic substances on higher plants[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(11): 1527–1536.
- [32] Zhang X, Ervin E H. Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance[J]. Crop Science, 2004, 44(5): 1737–1745.
- [33] El-Ghamry A M, El-Hai K M A, Ghoneem K M. Amino and humic acids promote growth, yield and disease resistance of faba bean cultivated in clayey soil[J]. Australian Journal of Basic Applied Sciences, 2009, 3(2): 731–739.
- [34] Carletti P, Masi A, Spolaore B, *et al.* Protein expression changes in maize roots in response to humic substances[J]. Journal of Chemical Ecology, 2008, 34(6): 804–818.
- [35] Quaggiotti S, Ruperti B, Pizzeghello D, *et al.* Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.)[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(398): 803–813.
- [36] Hager A, Debus G, Edel H G, *et al.* Auxin induces exocytosis and the rapid synthesis of a high-turnover pool of plasma-membrane H^+ -ATPase[J]. Planta, 1991, 185(4): 527–537.

- [37] Frías I, Caldeira M T, Pérez-Castañeira J R, *et al.* A major isoform of the maize plasma membrane H⁺-ATPase: characterization and induction by auxin in coleoptiles[J]. *The Plant Cell Online*, 1996, 8(9): 1533–1544.
- [38] 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(6): 1583–1595.
- [39] Sze H. H⁺-translocating ATPases: advances using membrane vesicles[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1985, 36(1): 175–208.
- [40] Morsomme P, Boutry M. The plant plasma membrane H⁺-ATPase: structure, function and regulation[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2000, 1465(1): 1–16.
- [41] Schmidt W, Santi S, Pinton R, *et al.* Water-extractable humic substances alter root development and epidermal cell pattern in *Arabidopsis*[J]. *Plant and Soil*, 2007, 300(1–2): 259–267.
- [42] Trevisan S, Pizzeghello D, Ruperti B, *et al.* Humic substances induce lateral root formation and expression of the early auxin-responsive IAA19 gene and DR5 synthetic element in *Arabidopsis*[J]. *Plant Biology*, 2010, 12(4): 604–614.
- [43] Tomasi N, Monte R, Rizzardo C, *et al.* Effects of water-extractable humic substances on molecular physiology of nitrate uptake in two maize inbred lines with different nitrogen use efficiency[A]. *The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVII*[C]. California: eScholarship, University of California, 2009.
- [44] Raven J A, Smith F A. Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation[J]. *New Phytologist*, 1976, 76(3): 415–431.
- [45] Albuzio A, Ferrari G, Nardi S. Effects of humic substances on nitrate uptake and assimilation in barley seedlings[J]. *Canadian Journal of Soil Science*, 1986, 66(4): 731–736.
- [46] Maggioni A, Varanini Z, Nardi S, *et al.* Action of soil humic matter on plant roots: Stimulation of ion uptake and effects on (Mg²⁺ K⁺) ATPase activity[J]. *Science of the Total Environment*, 1987, 62(87): 355–363.
- [47] Nardi S, Concheri G, Dell'Agnola G, *et al.* Nitrate uptake and ATPase activity in oat seedlings in the presence of two humic fractions[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1991, 23(9): 833–836.
- [48] Nardi S, Pizzeghello D, Muscolo A, *et al.* Effects of forest humus on biological activity in roots of *Pinus sylvestris* related to chemical humus fraction characteristics[J]. *Fresenius Environmental Bulletin*, 1998, 7(3–4): 203–208.
- [49] Nardi S, Pizzeghello D, Reniero F, *et al.* Chemical and biochemical properties of humic substances isolated from forest soils and plant growth[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2000, 64(2): 639–645.
- [50] Nardi S, Pizzeghello D, Gessa C, *et al.* A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(3): 415–419.
- [51] Vaughan D, Malcolm R E. Soil organic matter and biological activity[M]. Berlin: Springer Netherlands, 1985: 37–75.
- [52] 李京淑, 杨琇, 仪明光, 等. 氚标记硝基腐植酸(NHA)及其进入植物体的研究(I)[J]. *原子能农业应用*, 1982, (4): 33–39.
- [53] Li J S, Yang X, Yi M G, *et al.* Tritium labelled NHA and its uptake by plant (I)[J]. *Application of Atomic Energy in Agriculture*, 1982(4): 33–39.
- [54] 仪明光, 李京淑, 杨琇, 等. 氚标记硝基腐植酸(NHA)[J]. *原子能科学技术*, 1982, 16(5): 535–538.
- [55] Yi M G, Li J S, Yang X, *et al.* Tritium labelled NHA[J]. *Atomic Energy Science and Technology*, 1982, 16(5): 535–538.
- [56] Berbara R L L, García A C. Physiological mechanisms and adaptation strategies in plants under changing environment[M]. New York: Springer, 2014: 297–319.
- [57] Canellas L P, Zandonadi D B, Busato J G, *et al.* Bioactivity and chemical characteristics of humic acids from tropical soils sequence[J]. *Soil Science*, 2008, 173(9): 624–637.
- [58] Canellas L P, Façanha A R. Chemical nature of soil humified fractions and their bioactivity[J]. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2004, 39(3): 233–240.
- [59] Jindo K, Martim S A, Navarro E C, *et al.* Root growth promotion by humic acids from composted and non-composted urban organic wastes[J]. *Plant and Soil*, 2012, 353(1–2): 209–220.
- [60] Sessi E, Nardi S, Gessa C. Effects of low and high molecular weight humic substances from two different soils on nitrogen assimilation pathway in maize seedlings[J]. *Humic Substances in the Environment*, 2000, 2(1/4): 39–46.
- [61] Nardi S, Carletti P, Pizzeghello D, *et al.* Biophysico-chemical processes involving natural nonliving organic matter in environmental systems[M]. New Jersey: John Wiley & Sons Inc. 2009: 305–339.
- [62] Muscolo A, Sidari M, Francioso O, *et al.* The auxin-like activity of humic substances is related to membrane interactions in carrot cell cultures[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2007, 33(1): 115–129.
- [63] Jannin L, Arkoun M, Ourry A, *et al.* Microarray analysis of humic acid effects on *Brassica napus* growth: Involvement of N, C and S metabolisms[J]. *Plant and Soil*, 2012, 359(1–2): 297–319.
- [64] Vaccaro S, Ertani A, Nebbioso A, *et al.* Humic substances stimulate maize nitrogen assimilation and amino acid metabolism at physiological and molecular level[J]. *Chemical & Biological Technologies in Agriculture*, 2015, 2(1): 1–12.
- [65] Schiavon M, Pizzeghello D, Muscolo A, *et al.* High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolism in maize (*Zea mays* L.)[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2010, 36(6): 662–669.
- [66] Mora V, Bacaicoa E, Zamarreño A M, *et al.* Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2010, 167(8): 633–642.
- [67] Eyheraguibel B, Silvestre J, Morard P. Effects of humic substances derived from organic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(10): 4206–4212.
- [68] Çimrin K M, Türkmen Ö, Turan M, *et al.* Phosphorus and humic acid application alleviate salinity stress of pepper seedling[J].

- African Journal of Biotechnology, 2013, 9(36): 5845–5851.
- [67] Tahir M M, Khurshid M, Khan M Z, *et al.* Lignite-derived humic acid effect on growth of wheat plants in different soils[J]. Pedosphere, 2011, 21(1): 124–131.
- [68] Aydin A, Kant C, Turan M. Humic acid application alleviate salinity stress of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants decreasing membrane leakage[J]. African Journal of Agricultural Research, 2012, 7(7): 1073–1086.
- [69] Peymaninia Y, Valizadeh M, Shahryari R, *et al.* Relationship among morpho-physiological traits in bread wheat against drought stress at presence of a leonardite derived humic fertilizer under greenhouse condition[J]. International Research Journal of Applied and Basic Science, 2012, 3(4): 822–830.
- [70] 金平, 刘山莉. 腐殖酸与水稻抗冷性的研究初探[J]. 东北农业大学学报, 1997, 28(1): 90–93.
- Jin P, Liu S L. Effect of humic acid on rice to chilling injury[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 1997, 28(1): 90–93.
- [71] 郭伟, 于立河. 腐植酸浸种对盐胁迫下小麦萌发种子及幼苗生理特性的影响[J]. 麦类作物学报, 2012, 32(1): 90–96.
- Guo W, Yu L H. Effect of seed soaking with humic acid on soluble sugar accumulation and allocation in germinated wheat seed under salt stress[J]. Journal of Triticeae Crops, 2012, 32(1): 90–96.
- [72] 马建军, 邹德文, 吴贺平, 等. 腐植酸钠对镉胁迫小麦幼苗生物效应的影响[J]. 中国生态农业学报, 2005, 13(2): 91–93.
- Ma J J, Zou D W, Wu H P, *et al.* Biological effect of sodium humate on the Cd-stressed wheat seedlings[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2005, 13(2): 91–93.
- [73] García A C, Santos L A, Izquierdo F G, *et al.* Vermicompost humic acids as an ecological pathway to protect rice plant against oxidative stress[J]. Ecological Engineering, 2012, 47(5): 203–208.
- [74] García A C, Santos L A, Izquierdo F G, *et al.* Potentialities of vermicompost humic acids to alleviate water stress in rice plants (*Oryza sativa* L.)[J]. Journal of Geochemical Exploration, 2014, 136(1): 48–54.
- [75] Marosz A. Effect of fulvic and humic organic acids and calcium on growth and chlorophyll content of tree species grown under salt stress[J]. Dendrobiology, 2009, 62(1): 47–53.
- [76] Asli S, Neumann P M. Rhizosphere humic acid interacts with root cell walls to reduce hydraulic conductivity and plant development[J]. Plant and Soil, 2010, 336(1–2): 313–322.
- [77] Moliszewska E, Pisarek I. Influence of humic substances on the growth of two phytopathogenic soil fungi[J]. Environment International, 1996, 22(5): 579–584.
- [78] Loffredo E, Berloco M, Casulli F, *et al.* In vitro assessment of the inhibition of humic substances on the growth of two strains of *Fusarium oxysporum*[J]. Biology and Fertility of Soils, 2007, 43(6): 759–769.
- [79] 张小冰, 邢勇, 郭乐, 等. 腐植酸钾浸种对干旱胁迫下玉米幼苗保护酶活性及MDA含量的影响[J]. 中国农学通报, 2011, 27(7): 69–72.
- Zhang X B, Xing Y, Guo L, *et al.* Effects of soaking with potassium humate on the activity of protective enzymes and the level of MDA of maize seedlings under drought stress[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(7): 69–72.
- [80] 王乾, 王康才, 崔志伟, 等. 腐植酸对高温胁迫下掌叶半夏生长生理特性及块茎次生代谢的影响[J]. 西北植物学报, 2013, 33(9): 1845–1850.
- Wang Q, Wang K C, Cui Z W, *et al.* Effect of humic acid on tubers secondary metabolism and growth physiological of *Pinellia pedatisecta* under high temperature stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2013, 33(9): 1845–1850.
- [81] Yigit F, Dikilitas M. Effect of humic acid applications on the root-rot diseases caused by *Fusarium* spp. on tomato plants[J]. Plant Pathology Journal, 2008, 7(2): 179–182.
- [82] Gholami H, Samavat S, Ardebili Z O. The alleviating effects of humic substances on photosynthesis and yield of *Plantago ovate* in salinity conditions[J]. International Research Journal of Applied & Basic Sciences, 2013, 4: 1683–1686.
- [83] Scheuerell S J, Mahaffee W F. Compost tea as a container medium drench for suppressing seedling damping-off caused by *Pythium ultimum*[J]. Phytopathology, 2004, 94(11): 1156–1163.
- [84] Tan K H. Humic matter in soil and the environment: principles and controversies[M]. Florida: CRC Press, 2014.
- [85] 梁宗存, 武丽萍, 成绍鑫. 煤中腐植酸与尿素作用机理及其反应产物的组成结构研究[J]. 腐植酸, 1996, (3): 8–10.
- Liang Z C, Wu L P, Cheng S X. Study on the action mechanism of humic acids derived from coal and urea & the composition and structure of reaction products[J]. Humic Acid, 1996(3): 8–10.
- [86] Thorn K A, Mikita M A. Ammonia fixation by humic substances: a nitrogen-15 and carbon-13 NMR study[J]. Science of the Total Environment, 1992, 113(1): 67–87.
- [87] Knicker H, Lüdemann H D, Haider K. Incorporation studies of NH_4^+ during incubation of organic residues by ^{15}N -CPMAS-NMR-spectroscopy[J]. European Journal of Soil Science, 1997, 48(3): 431–441.
- [88] 王玲玲. 腐植酸复合肥料的研制与应用[D]. 北京: 北京交通大学硕士论文, 2007.
- Wang L L. Preparation and application of HA compound fertilizer[D]. Beijing: MS Thesis of Beijing Jiaotong University, 2007.
- [89] Antelo J, Arce F, Avena M, *et al.* Adsorption of a soil humic acid at the surface of goethite and its competitive interaction with phosphate[J]. Geoderma, 2007, 138(1): 12–19.
- [90] Olk D C, Cassman K G. Reduction of potassium fixation by two humic acid fractions in vermiculitic soils[J]. Soil Science Society of America Journal, 1995, 59(5): 1250–1258.
- [91] 刘方春, 邢尚军, 刘春生, 等. 褐煤腐植酸对钾的吸附特性研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(8): 27–31.
- Liu F C, Xing S J, Liu C S, *et al.* Characteristics of adsorption of K^+ on humic acid extracted from brown coal[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2006, 22(8): 27–31.
- [92] 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(12): 600–608.
- [93] Sharif M, Khattak R A, Sarir M S. Effect of different levels of

- lignitic coal derived humic acid on growth of maize plants[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2002, 33(19–20): 3567–3580.
- [94] 程亮, 徐丽, 侯翠红, 等. 低温条件下纳米腐殖酸-尿素配合物的制备及表征[J]. 化工学报, 2015, 66(7): 2725–2736.
- Cheng L, Xu L, Hou C H, *et al.* Preparation and characterization of nanoscale humic acid-urea complex under low temperature conditions[J]. CIESC Journal, 2015, 66(7): 2725–2736.
- [95] 李志坚, 林治安, 赵秉强, 等. 增值磷肥对潮土无机磷形态及其变化的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2013, 19(5): 1183–1191.
- Li Z J, Lin Z A, Zhao B Q, *et al.* Effects of value-added phosphate fertilizers on transformation of inorganic phosphorus in calcareous soils[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2013, 19(5): 1183–1191.
- [96] Yusuff M T M, Ahmed O H, Majid N M A. Effect of enhancing urea-humic acid mixture with refined acid sulphate soil[J]. American Journal of Applied Sciences, 2009, 6(11): 1892–1896.
- [97] Böhme M, Lua H. Influence of mineral and organic treatments in the rhizosphere on the growth of tomato plants[A]. International Symposium Growing Media and Plant Nutrition in Horticulture[C]. Cáceres: Acta Horticulturae, 1996.
- [98] 李冉, 封朝晖. 不同产地的腐植酸对小白菜养分利用的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2011, (1): 59–63.
- Li R, Feng Z H. Effects of humic acid from different areas on nutrients utilization of Chinese cabbage[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2011(1): 59–63.
- [99] Mato M C, Olmedo M G, Mendez J. Inhibition of indoleacetic acid-oxidase by soil humic acids fractionated on Sephadex[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1972, 4(4): 469–473.
- [100] Malcolm R E, Vaughan D. Humic substances and phosphatase activities in plant tissues[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1979, 11(3): 253–259.
- [101] Pflug W, Ziechmann W. Inhibition of malate dehydrogenase by humic acids[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1981, 13(4): 293–299.
- [102] Bama K S, Selvakumari G, Santhi R, *et al.* Effect of humic acid on nutrient release pattern in an Alfisol (*Typic Haplustalf*)[J]. Madras Agricultural Journal, 2003, 90: 665–670.
- [103] 王斌, 马兴旺, 许咏梅, 等. 腐植酸对灰漠土棉田土壤无机磷形态的影响[J]. 新疆农业科学, 2007, 44(3): 312–317.
- Wang B, Ma X W, Xu Y M, *et al.* Effects of humic acids on inorganic phosphorus forms in gray desert soil and soil of cotton field[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2007, 44(3): 312–317.
- [104] 刘增兵, 赵秉强, 林治安. 腐植酸尿素氨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.
- Liu Z B, Zhao B Q, Lin Z A. Ammonia volatilization characteristics and related affecting factors of humic acid urea[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(1): 208–213.
- [105] Sibanda H. Competitive adsorption of humus acids and phosphate on goethite, gibbsite and two tropical soils[J]. European Journal of Soil Science, 1986, 37(2): 197–204.
- [106] Tate III R L. Micelles, subunits, and the Mediterranean sun[J]. Soil Science, 1999, 164(11): 775–776.
- [107] 董莲华. 褐煤腐植酸结合氮的机理及其对土壤氨氧化菌的影响[D]. 北京: 中国农业大学博士论文, 2009.
- Dong L H. The mechism of nitrogen incorporation into lignite humic acid and the effect on soil ammonium oxidizer[D]. Beijing: PhD Thesis of China Agricultural University, 2009.
- [108] 李作梅, 刘兰兰, 史春余, 等. 腐植酸肥料对生姜土壤脲酶活性及氮素吸收的影响[J]. 中国蔬菜, 2009, (4): 44–47.
- Li Z M, Liu L L, Shi C X, *et al.* Effects of humic acid fertilizer on urease activity in ginger growing soil and nitrogen absorption of ginger[J]. Chinese Vegetable, 2009(4): 44–47.
- [109] Dong L H, Yang J S, Yuan H L, *et al.* Chemical characteristics and influences of two fractions of Chinese lignite humic acids on urease[J]. European Journal of Soil Biology, 2008, 44(2): 166–171.
- [110] 刘兰兰, 史春余, 梁太波, 等. 腐植酸肥料对生姜土壤微生物量和酶活性的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(11): 6136–6141.
- Liu L L, Shi C X, Jiang T B, *et al.* Microbial and enzyme activity in response to humic acid in soil with a ginger crop[J]. Acta Elcologica Sinica, 2009, 29(11): 6136–6141.
- [111] Sellamuthu K M, Govindaswamy M. Effect of fertiliser and humic acid on rhizosphere microorganisms and soil enzymes at an early stage of sugarcane growth[J]. Sugar Tech, 2003, 5(4): 273–277.
- [112] 杨云马, 薛世川, 夏凤召, 等. 腐植酸复合肥对土壤微生物量的影响[J]. 华北农学报, 2007, 22(S2): 187–189.
- Yang Y M, Xue S C, Xia F Z, *et al.* Effect of the humic acid fertilizer on quantity of microorganism in the soil[J]. Acta Agriculturae Boreali Sinica, 2007, 22(S2): 187–189.
- [113] Bhardwaj K K R, Gaur A C. The effect of humic and fulvic acids on the growth and efficiency of nitrogen fixation of *Azotobacter chroococcum*[J]. Folia Microbiologica, 1970, 15(5): 364–367.
- [114] Akhtar K, Shah S N M, Ali A, *et al.* Effects of humic acid and crop residues on soil and wheat nitrogen contents[J]. American Journal of Plant Sciences, 2014, 5: 1277–1284.
- [115] Delfine S, Tognetti R, Desiderio E, *et al.* Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2005, 25(2): 183–191.
- [116] Puglisi E, Fragoulis G, Ricciuti P, *et al.* Effects of a humic acid and its size-fractions on the bacterial community of soil rhizosphere under maize (*Zea mays* L.)[J]. Chemosphere, 2009, 77(6): 829–837.
- [117] Haghighi S, Nejad T S, Lack S. Effect of biological fertilizer of humic acid on metabolic process of biological nitrogen fixation[J]. Life Science Journal-Acta Zhengzhou University Overseas Edition, 2011, 8(3): 43–48.