

DOI: 10.11766/trxb202110080469

李舜尧, 齐学敏, 陈美骅, 杨蔚, 孙凯, 李玉成. 人工腐殖化及产品在农业增产中的应用[J]. 土壤学报, 2023, 60(2): 345–354.

LI Shun Yao, QI Xuemin, CHEN Meihua, YANG Wei, SUN Kai, LI Yucheng. Promising Applications of Artificial Humification and Its Products in Agricultural Production[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023, 60(2): 345–354.

人工腐殖化及产品在农业增产中的应用*

李舜尧¹, 齐学敏², 陈美骅², 杨蔚¹, 孙凯^{2†}, 李玉成¹

(1. 安徽大学资源与环境工程学院, 合肥 230601; 2. 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036)

摘要: 腐殖质 (humic substance, HS) 作为农业生产中土壤养分组成的重要指标, 在维护土壤地力、碳储存、植物营养及生态环境稳定性等方面具有重大战略意义。然而, 由于 HS 的天然提取源不足, 导致 HS 市场供给需求逐年攀升。鉴于木质素与 HS 的结构相似, 能否采用人工腐殖化方法, 精准调控大分子木质素的氧化分解或其小分子衍生物的自由基耦合, 生成可媲美甚至超越商业 HS 作用和功效的类 HS 产品? 该创造性思路对实现我国农业连续增产增收具有极大的经济价值和应用前景。本文简述了天然 HS 的结构特征和多功能属性, 探讨了人工腐殖化的最新理念、方式和机理, 对比了人工腐殖化产物与天然 HS 的差异性, 并总结了人工腐殖化产品在农业实践中的潜在应用和价值, 旨在为研究者攻克木质素及其衍生物人工腐殖化的科技瓶颈提供理论支撑和技术指导。

关键词: 天然腐殖质; 人工腐殖化; 合成机理; 类腐殖质产品; 农业应用

中图分类号: S154.2 **文献标志码:** A

Promising Applications of Artificial Humification and Its Products in Agricultural Production

LI Shun Yao¹, QI Xuemin², CHEN Meihua², YANG Wei¹, SUN Kai^{2†}, LI Yucheng¹

(1. School of Resources and Environmental Engineering, Anhui University, Hefei 230601, China; 2. College of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: Humic substance (HS) is the major component of soil organic matter and chemically can be depicted as a collection of diverse, relatively low-molecular-mass components of organic molecules, forming dynamic associations and stabilized by hydrophobic interactions and hydrogen bonds on the nanometer scale. The physiological effects of HS are widely documented and summarized as a result of enhancing nutrient use efficiency, aiding assimilation of both macro and micronutrients, and stimulating plant growth by induction of carbon, nitrogen, and secondary metabolism. Based on the formation mechanism and multifunctional properties of natural HS, scientists have applied HS to extracellular electron transport, environmental repair, cellular stress, and plant growth promotion. However, due to the limited supply of natural extraction sources of HS such as lignite, weathered coal, and peat, the market supply-demand of HS is increasing year by year. Given that the molecular structures of lignin and its derivatives are similar to natural HS, it is important to ask the question of whether artificial humification methods

* 国家自然科学基金项目 (41907314) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 41907314)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: sunkai@ahau.edu.cn

作者简介: 李舜尧 (1993—), 女, 安徽合肥人, 博士, 讲师, 研究方向为环境微生物。E-mail: lishun Yao@ahu.edu.cn

收稿日期: 2021-10-08; 收到修改稿日期: 2022-02-14; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2022-04-20

can be used to accurately control the oxidative decomposition of large-molecular lignin and/or the radical coupling of its small-molecular derivatives to synthesize humic-like products. Another important factor to consider is whether the synthesized products can match and even surpass the effects and functions of commercial HS. This creative idea has great commercial value and application prospects for realizing a continuous increase in agricultural production and income in China. In this review, the sources, structure characteristics, and functional attributes of natural HS were briefly generalized. The latest concept, mode, and mechanism of artificial humification by the use of macromolecule lignin and its derived-small phenolics are discussed, and the differences between artificial humification products and natural HS are also compared. It is confirmed that both artificial humification products and natural HS have C, H, O, N, and S elements, but the content of N in natural HS is higher than that of artificial humification products. In addition, they both contain phenolic -OH, -COOH, and aromatic components. Compared with artificial humification products, natural HS has more aromatic structures, but fewer oxygen-containing groups. Moreover, the application values of artificial humification products in agricultural production were explored. The agronomic effects of artificial humification products are extremely significant. On the one hand, artificial humification products can ameliorate soil physicochemical properties, increase soil fertility and water-holding capacity. On the other hand, these humic-like products are also able to serve as plant nutrient pools for promoting crop growth and development, improving nutrient use efficiency and crop yield. Therefore, the practical applications of artificial humification products are of great significance for agricultural production. At present, artificial humification techniques such as chemical oxidation, hydrothermal reaction, bio-composting, Fenton reaction, and fungal laccase-catalyzed oxidation have displayed a great application potential in the precise control of humic-like substance synthesis. In particular, fungal laccase exhibits unique advantages in humic-like substance synthesis due to its dual mechanism of oxidative decomposition and radical coupling. The humification reactions induced by fungal laccase have the characteristics of high catalytic efficiency, simple and controllable operating conditions, low energy requirements, and environmental protection, thus can be used to synthesize a variety of humic-like products. Also, the advantages and disadvantages, process paths, and main control factors of these humic-like substance synthesis technologies are summarized. Hence, this study provides theoretical support and technical guidance for researchers to conquer the artificial humification of lignin and its derivatives and the technology bottleneck of its large-scale application.

Key words: Natural humic substance; Artificial humification; Synthesis mechanism; Humic-like substance products; Agricultural application

土壤有机质是评估农业环境质量的重要指标之一,对改良土壤理化性质、增强土壤肥力、促进土壤生态健康和可持续发展具有重大意义^[1]。腐殖质(HS)作为土壤有机质的关键组分,占土壤总有机质含量的50%~75%。土壤中HS的含量显著地影响土壤环境质量,其分子结构中的酚羟基、羧基、羰基等功能基团能通过多种桥键连接,与黏土矿物、金属离子、水合氧化物等发生反应,对土壤元素的固持与释放,以及土壤物理、化学和生物性质起着重要作用^[2-3]。例如,HS与黏土矿物会通过范德华力、氢键、静电引力或阳离子键桥等结合,产生土壤有机-无机复合体,促进土壤团聚体的形成和稳定。因此,向农业土壤中施加HS有助于提高土壤环境质量、促进作物生长发育。

我国在推动天然HS的综合开发利用中已确定

了其农学效应,即改良土壤、增效肥料、刺激生长、增强抗逆和改善品质^[4]。然而,从土壤、河流和煤炭等天然源提取的HS含量有限且受地域影响,无法满足我国庞大的市场供给需求。能否采用人工腐殖化方法,合成能媲美天然HS作用和功能的类HS产品?该创造性想法引起了学者的高度关注。本文简述了天然HS的来源、结构特点和功能属性,探讨了人工腐殖化技术如化学氧化、生物堆肥、芬顿反应和酶催化等最新理念、模式和路径,分析了人工腐殖化产物和天然HS的区别,并归纳了人工腐殖化产品在农业增产中的应用及价值。目前,通过大分子木质素及其衍生的小分子酚类合成类HS的人工腐殖化方法,在精准调控类HS产品的合成方面表现出巨大的商业价值,特别是真菌漆酶兼具氧化分解和自由基耦合的双重机制,在类HS的生物

合成中占据独到优势。明确这些类 HS 产品的合成工艺、技术路径和主控因子,有望为我国研究者攻克木质素及其衍生物人工腐殖化的科技瓶颈奠定理论基础并提供技术指导。

1 天然腐殖质

在全球尺度范围内,有机体生存与死亡过程中碳循环的动态演变导致天然 HS 的形成。HS 作为环境中一种分子式不规则的高分子异构有机聚合物,在微生物呼吸、外源物质转化和土壤肥力保持等方面扮演重要角色^[5]。目前,采用工业化手段从褐煤、风化煤和泥炭等天然煤炭源中提取的 HS 已被广泛用于农业、渔业、医药、环境修复和园艺等领域^[6-7]。但是,由于 HS 分子结构的复杂性和不确定性,研究者仍无法破译其结构与功能之间的内在联系。因

此,正确认识天然 HS 的化学结构和形成机理尤为关键。

1.1 腐殖质的结构特征

如图 1 所示,天然 HS 的分子结构主要以芳香环为核心骨架,并存在一定数量的环烷烃和含氮杂环,在 HS 的芳香环上还有大量含氧基团^[8]。可见,HS 是由两亲性(亲脂性和亲水性)化合物通过氢键、范德华力、库仑力和疏水作用等键合而成的异质超分子聚合物,其卷曲程度取决于酸度和离子强度。HS 在水溶液中可形成胶束,它的亲水基团暴露于分子外,而疏水基团则位于分子内。目前,光谱和色谱等技术的有效结合可用于构建 HS 的二维结构模型。同时,辅助计算机模拟有望实现 HS 从二维到三维空间结构的转化,更好地掌握 HS 的化学环境和分子间作用。HS 特殊的化学结构决定了它会在环境中稳定存在。

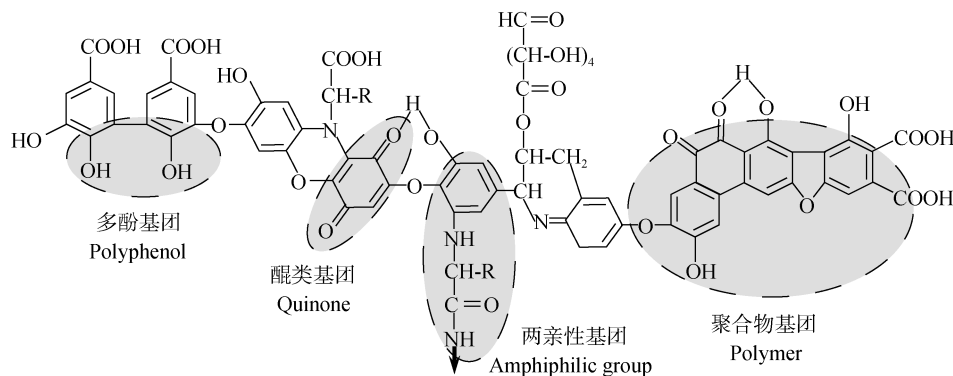


图 1 天然腐殖质 (HS) 的分子结构模型

Fig. 1 The molecular structure model of natural humic substance (HS)

1.2 腐殖质的形成机理和功能属性

HS 的分子结构中包含木质素单体、氨基酸、糖类、脂类和蛋白质等组分。已证实,微生物分解植物残体形成的小分子木质素片段可作为 HS 的原料和结构骨架。这些片段不仅能在土壤酶系的作用下转变为高分子自聚物,也可与氨基酸、糖类和脂类等生成共聚物。目前,研究者已提出多种 HS 的形成机理,如木质素、多酚和糖-胺缩合假说等^[9]。其中木质素假说认为,在土壤有机物腐殖化过程中,木质素和它的分解产物通过多种酶系催化或自身作用,与土壤矿物、金属离子和含氮化合物等发生一系列氧化聚合反应,形成超分子 HS 聚合物。该聚合物中的活性组分可充当胞外电子穿梭体、生物细胞应激和土

壤改良剂等角色,在环境污染修复、动植物细胞刺激和土壤颗粒团聚等方面具有重要作用。

2 人工腐殖化的概念、方式和机理

天然 HS 的多功能属性和农学效应已在生产实践中得到广泛应用。但是,它们的含量有限且分布不均,难以满足我国庞大的市场供给需求^[10]。亟需采用人工腐殖化方法,合成可媲美天然 HS 特殊功能的类 HS 产品,以解决 HS 资源短缺问题。人工腐殖化是指在人为控制条件下,利用物理化学和生物学方法,诱导大分子木质素的氧化分解或其小分子衍生物的腐殖化聚合,生成具有类似于天然 HS 稳定化学

结构和多功能属性的复杂聚合物的过程^[11-12]。目前, 基于化学或生物反应器的人工腐殖化技术, 有望精准调控类 HS 产品的合成方式、路径及其分子结构和质量。

2.1 大分子木质素的氧化分解

木质素在分子结构上与 HS 相似, 暗示采用化学氧化法使大分子木质素氧化裂解, 有望形成具有天然 HS 相似结构和功能的类 HS 产品。该过程需要添加氧化剂, 在木质素聚合物结构中引入含氧官能团, 促进大分子木质素的氧化分解。例如, 在强碱性溶液中添加 H_2O_2 能将木质纤维素氧化水解成拥有类似 HS 活性基团和农学效应的水溶性产物。上述产品含有与天然 HS 相似的不稳定碳和稳定碳组合特征, 能刺激植物生长发育。此外, 反应过程中生成的木质素衍生物诱导的类赤霉素信号通路也与天然 HS 中酚结构的促生长机理相似^[13]。比较木质素衍生物和 HS 的结构差异, 有助于揭示这些衍生物是否进入生长素和赤霉素通路。然而, 木质素分解过程中会产生对植物有害的小分子酚类, 它们的去除成本较高。另一个弊端是木质素产生的类 HS 产品缺乏商用 HS 中无机组分。能否在木质素氧化裂解过程中添加无机组分, 使其形成的产物完全模仿商业 HS? 该工艺流程亟待研究者攻克。

生物堆肥法也可促使木质素氧化分解和腐殖

化, 产生具有类 HS 结构的溶解性低聚物, 该方法具有生态友好和成本低等优点^[14]。在堆肥期间接种高密度功能微生物, 能缩短堆肥周期、增加溶解性和含氧木质素衍生物的产量。其缺点是堆体中的混合材料会阻碍植物吸收养分, 因此需要从堆肥中分离出具有植物刺激作用的活性产品。真菌作为木质素腐殖化的主要参与者, 在木质素分解酶的作用下发生类芬顿反应, 产生活性氧, 导致木质素氧化裂解形成木质素衍生物。图 2 展示了漆酶-香草乙酮催化木质素氧化降解的途径, 该过程会生成多种小分子木质素低聚物。在漆酶氧化裂解木质素的启发下, 采用 H_2O_2 和 Fe^{2+} 诱发的芬顿反应也能降解木质素, 该过程通过氧结合和含铁无机物共沉积作用, 形成金属-有机配合物, 促进了种子萌芽和幼苗抵抗盐胁迫^[15]。可见, 芬顿反应调控的木质素腐殖化, 既能氧化裂解木质素, 还会增加类 HS 产品中无机组分。从成本效益角度考虑, 高级氧化驱动的人工腐殖化技术, 将木质素转变为溶解性产品的含量较低、分子尺寸较小, 但它们可直接渗透到组织中刺激植物生长。采用深度氧化法, 会生成较多的可溶性木质素衍生物, 但也产生了具有植物毒性的小分子酚类。能否通过设计新工艺和流程, 精准控制漆酶-介质体系的反应条件和产物质量, 将木质素完全降解为可溶性低聚物是实现其人工腐殖化的最佳途径。

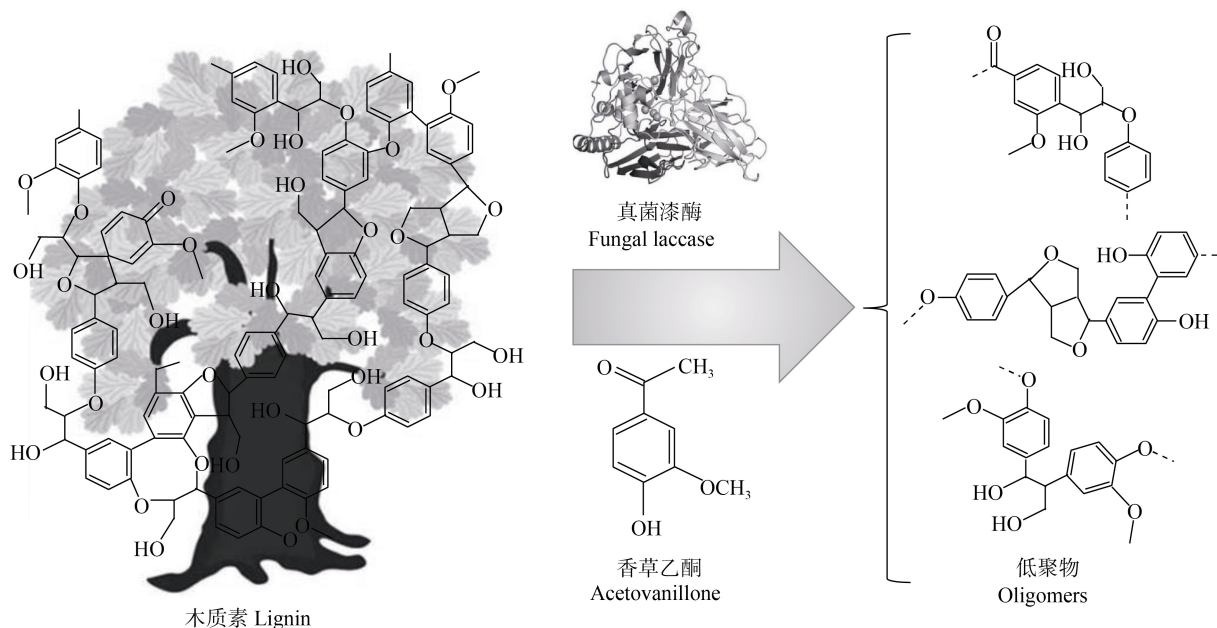


图 2 漆酶-香草乙酮体系催化木质素氧化降解的途径

Fig. 2 Oxidative decomposition of lignin catalyzed by laccase-acetovanillone

2.2 小分子木质素衍生物的自由基耦合

结合天然 HS 的结构特性和形成机理, 采用人工诱导的自由基耦合反应, 也有望将木质素衍生的具有不同侧链的小分子酚类等转化为高分子共聚物^[16]。这些聚合物是基于 π - π 相互作用的小分子低聚物重新组装形成的, 而超分子结构的产生是否仅仅是小分子酚类自由基聚合的结果仍有待探索。能否通过筛选多功能木质素衍生的小分子酚类等化合物, 利用人工腐殖化驱动的 C—C、C—O—C 或 C—N—C 耦合途径, 合成能媲美天然 HS 的类 HS 产品? 该前沿性想法的关键是找出木质素衍生的酚类等单体, 并明确它们聚合成类 HS 产品的人工腐殖化模式。目前, 已有研究者将木质素催化热解形成多种小分子酚类, 再利用胞外酶将这些酚类重新聚合成类 HS。然而, 如何最大限度地提高整个过程的转化效率极其重要。与大分子木质素氧化分解形成类 HS 产品的方法相比, 采用小分子酚类等物质的聚合反应更容易将含氮官能团和类脂类长链烷基引入类 HS 产品中, 其弊端是难以引入金属和矿物组分。

真菌漆酶 (laccase, EC 1.10.3.2) 是一类胞外含铜多酚氧化酶, 可催化多种酚类和非酚类底物的自由基耦合, 生成高度交联的复杂大分子 C—C、C—O—C 或 C—N—C 共聚物^[17]。漆酶诱导腐殖化反应具有催化速率高、操作简单可控、低碳节能、绿色环保等特点, 能将小分子木质素衍生物合成多种多样的类 HS 产品^[18-19]。例如, 在木质素生物堆肥的高温阶段, 漆酶会将木质素衍生的愈创木酚转化为类 HS 聚合物。Cha 等^[16]报道表明, 云芝 (*Trametes versicolor*) 漆酶能催化木质素衍生的邻苯二酚和香草酸共聚合, 生成具有多种功能基团的类 HS 生物有机肥; 该生物有机肥显著地促进了拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 种子的发芽率和幼苗的耐盐性。Li 等^[20]研究也证实, 云芝漆酶可诱导 17 β -雌二醇 (E2) 和小分子酚类化合物的腐殖化, 生成高度交联的显色聚合沉淀产品。这些聚合产品不仅有效地降低了 E2 和酚类污染物的生物毒性, 也有望作为类 HS 有机肥, 促进小萝卜 (*Raphanus sativus* L.) 幼苗的盐耐受性和生长发育 (图 3)。Yoon 等^[21]比较了漆酶催化 5 种芳香族单体形成的类 HS 产品对植物生长和抗病性的影响, 结果表明, 由 L-3,4-二羟基苯丙氨酸、香草酸-邻苯二酚或二羟基萘合成的人工腐殖化产品具有植物促生长作用, 且前两种单

体酚形成的聚合产品也能提高植物抗病性相关蛋白 PR-1 的基因表达, 从而刺激植物对生物胁迫作出防御反应。显然, 通过改进工艺流程和反应条件, 合理调控真菌漆酶驱动的腐殖化模式和路径对促进木质素衍生的小分子酚类等物质的氧化聚合作用十分明显, 揭示该过程中形成的类 HS 产品的促进植物生长发育、增强植物抗病性等生态学意义有助于探寻 HS 的新生物功能。

3 人工腐殖化产物与天然腐殖质的区别

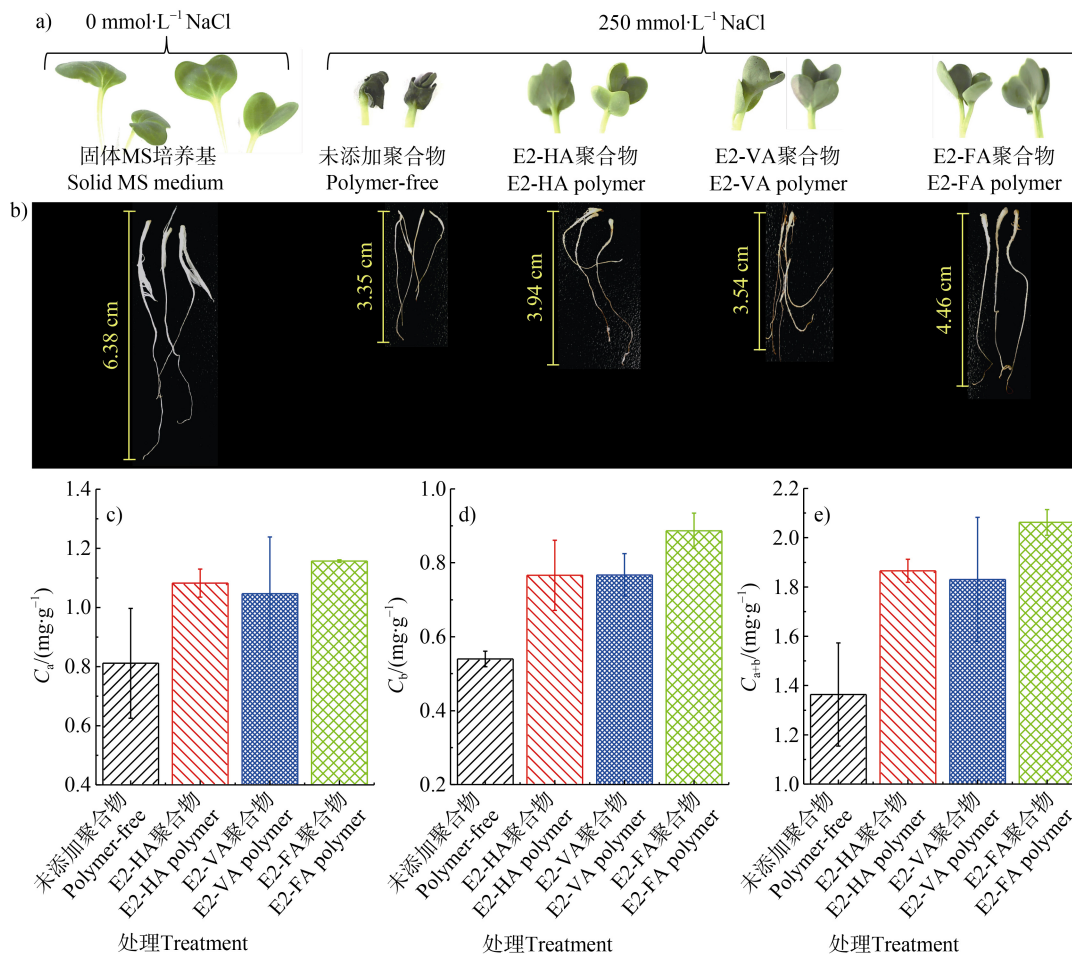
采用人工腐殖化模拟天然腐殖化过程, 制备类 HS 产品, 在构建资源循环利用体系、解决天然 HS 资源短缺问题和引导相关产业链发展等方面具有重大战略意义。人工腐殖化的理念、模式和作用机制与天然腐殖化反应类似, 明确两者间的共性和差异有望丰富人工腐殖化产品在农业生产实践中的应用^[11-12, 16]。

3.1 元素组成和官能团差异

先前的研究^[20, 22-23]已证实, 人工腐殖化产品和天然 HS 分子的元素组成和功能基团存在明显的相似性。例如, Yang 等^[24]采用元素组成分析和傅立叶红外光谱 (FTIR) 技术测定了人工腐殖化产品和来源于黑土的天然 HS 样品, 结果表明, 人工腐殖化产品和天然 HS 中均含有 C、H、O、N 和 S 等元素, 其中天然 HS 中的 N 含量是人工腐殖化产品的 3.56 倍以上。此外, 两者均含有 (酚)-OH、-COOH、-CH₃、-CH₂ 和 C-H 基团和芳香组分^[25]。与人工腐殖化产品相比, 天然 HS 具有较多的芳香结构, 但含氧基团相对较少^[24]。

3.2 化学结构差异

核磁共振 (NMR) 和热解-质谱等技术已被广泛用于揭示 HS 的化学结构特性。如图 4a 所示, 人工腐殖化产品和天然 HS 的 ¹³C-NMR 图谱包含 4 个化学区域: 脂肪族碳、含氧脂肪族碳、芳香碳和羧基/羰基碳。芳香碳区域的差异结合主要的甲氧基信号, 表明木质素组分是两者合成的关键芳香结构^[11, 24, 26]。羧基/羰基碳区域的差异, 暗示天然 HS 的羧基含量高于人工腐殖化产品。热解-质谱中的“指纹图谱”显示人工腐殖化产品和天然 HS 具有高度的相似性, 其典型峰可分为蛋白质峰、多糖峰、木质素峰和以脂质为基础的峰 (图 4b)。此外, 在两者的分子结



注: HA 表示腐殖酸; VA 表示香草酸; FA 表示阿魏酸; C_a、C_b 和 C_{a+b} 分别表示叶绿素 a、b 和 a+b 含量。Note: HA represents humic acid; VA represents vanillic acid; FA represents ferulic acid; C_a, C_b, and C_{a+b} respectively indicate the levels of chlorophyll a, b, and a+b.

图3 人工腐殖化产品对小萝卜幼苗盐耐受性和叶绿素含量的影响^[20]

Fig. 3 Effects of artificial humification products on salt tolerance and chlorophyll content of radish seedlings^[20]

构中也检测到一些具有代表性的吡咯、吡啶和其他含氮化合物片段^[24]。与人工腐殖化产品 (5.96%) 相比,天然 HS 样品中释放的含氮化合物较多 (7.34%)。

4 人工腐殖化产品在农业增产中的应用

我国有机肥施用比例从 1949 年的 99.9% 显著下降至 2007 年的 23%。化肥的过量施用和营养元素的失衡导致土壤板结、地力下降和环境污染等问题日益凸显。鉴于天然 HS 资源的短缺,通过人工腐殖化技术合成的类 HS 产品,有望模拟天然 HS 的功能属性和农学效应,作为“绿色肥料”施用于农田。该思路 and 想法不仅有助于利用人工腐殖化产品替代农用化肥、规避农业环境污染,也能有效地扩大类

HS 商业市场的供给需求。人工腐殖化产品的农学效应极其显著^[12]:一方面,类 HS 产品能改善土壤理化性质,增加土壤肥力和持水性能;另一方面,类 HS 产品也可充当作物营养库和水库,促进作物生长发育、提高作物产量和农业效益。因此,施用人工腐殖化产品对于改善土壤理化性质、促进植物生长具有重要意义。

4.1 提高土壤肥力

在半干旱和地中海气候的农业土壤中,由于周期性湿润和干燥的影响,导致土壤团聚体的稳定性降低。人工腐殖化制备的类 HS 产品有利于土壤颗粒的聚集和稳定,可作为土壤改良剂,增加土壤孔隙率、促进水分运动、维持土壤养分含量^[27]。一方面,类 HS 产品属于亲水胶体^[28],会胶结土壤黏粒、

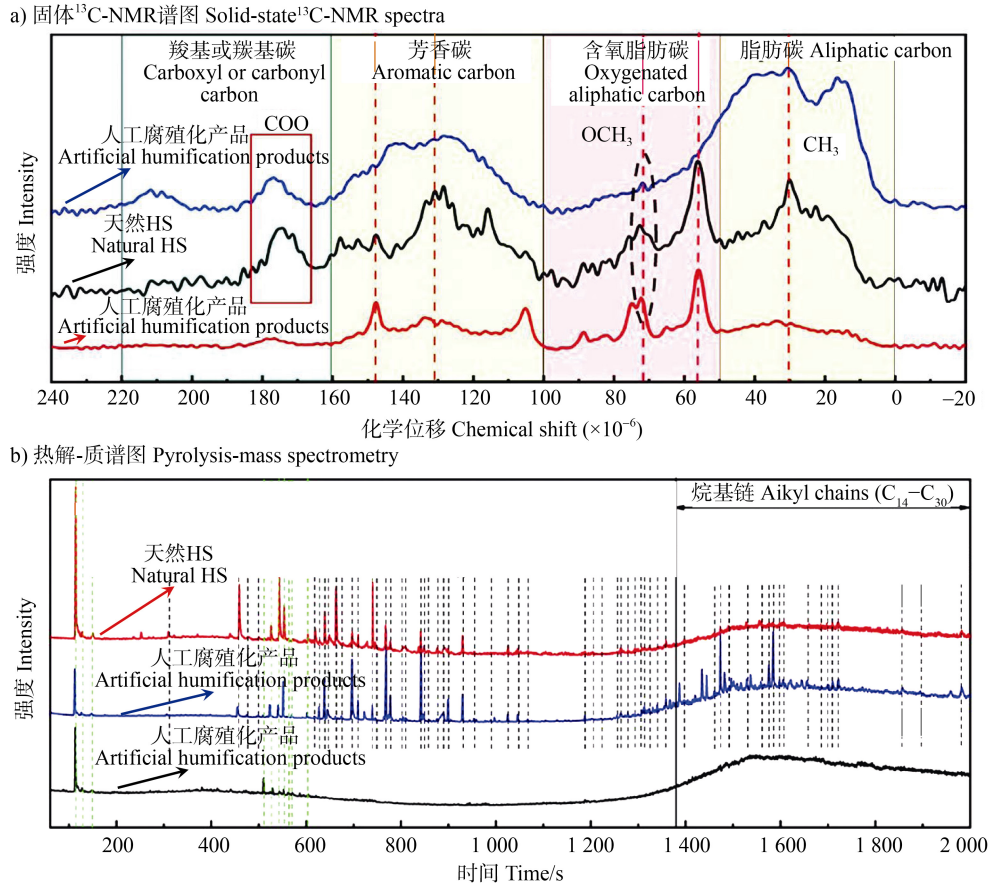


图 4 人工腐殖化产品和天然 HS 的组成和结构差异^[24]

Fig. 4 Differences in composition and structure between artificial humification products and natural HS^[24]

增加土壤孔隙率。因此，水分子能填充在类 HS 产品的微孔隙中并形成氢键，从而构成稳定的网络结构。此外，植物微量元素养分如铜 (Cu)、锌 (Zn)、铁 (Fe) 和锰 (Mn) 等可通过螯合作用固定在类 HS 产品中，且类 HS 分子结构中存在的负电荷和偶极子能有效地防止上述含金属植物养分的浸出。

4.2 刺激植物生长发育

聚合程度低、分子量小的类 HS 产品活性较高，可通过根切面渗透至植物内部并向茎叶迁移，该过程参与植物相关基因调控子和功能蛋白的表达，刺激了植物生长发育^[21, 29]。图 5 揭示了类 HS 产品促进植物生长的作用机制，主要包括：(1) 类 HS 产品诱捕微生物产生的植物激素类似物，开启刺激植物生长的多种途径^[11-12, 29]；(2) 类 HS 产品中不稳定碳和稳定碳的平衡分布，其中不稳定碳有助于植物生成新根系，稳定碳有利于促使根系伸长；(3) 类 HS 产品中酚类和羧酸等基团具有植物促生长作用。它们能诱导多种膜蛋白的物理互作，引起植物

体内细胞信号的变化及盐分和营养的流动，进而刺激植物生长。此外，类 HS 产品的负电荷属性，会降低根细胞膜表面 pH，避免由植物摄取硝酸根离子 (NO_3^-) 过程中引起的根细胞膜碱性化，从而加速根系吸收养分的速率。

类 HS 产品对植物生长发育的刺激作用主要表现为促进种子萌芽、加速根系发育、增加生物量以及提高植物对盐和活性氧胁迫的耐受性^[16, 20-21]。例如，类 HS 产品可增加植物细胞膜的渗透率、促进植物对营养的吸收和积累^[30]。类 HS 产品诱导的植物刺激途径依赖于特定的分子系统和信号通路，这可能与类 HS 中多酚结构的非特异结合相关。此外，类 HS 产品能通过调控与植物 K^+ 转运体、磷脂酶和 H^+ -ATP 酶等相关基因和蛋白的表达，改良植物的生长环境^[12-13]。如添加类 HS 产品有利于植物根系中 H^+ -ATP 酶编码基因亚型 *Mha2* 的表达，导致细胞壁松弛、细胞伸长。土壤中金属和矿物等无机物也可影响类 HS 产品对植物的刺激作用。例如，Fe 与类

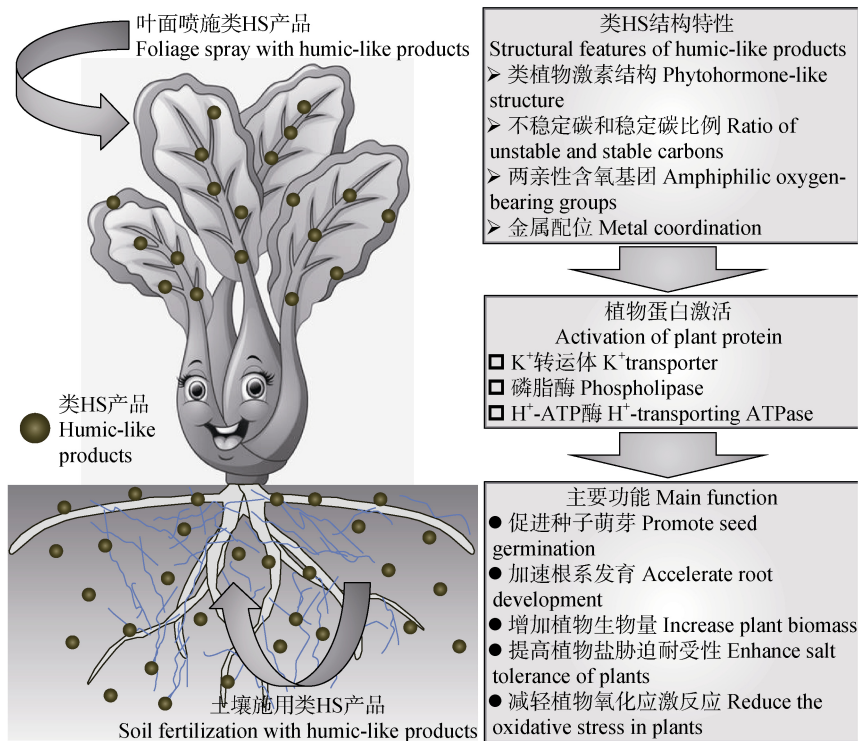


图5 类HS产品刺激植物生长的作用机制

Fig. 5 Mechanisms of plant growth promotion by humic-like substance products

HS产品的络合作用会导致类HS分子构象重排，这种结构重组反过来又能改变类HS与蛋白质的结合能力，进而引发不同的植物刺激途径^[31]。

4.3 增强植物抗病性

HS分子结构中的含氧活性基团拥有杀菌作用，可缓解甚至消除病原菌对有机体的迫害^[32]。例如，酚基能清除自由基，提高植物抗氧化能力；羧基在碱性条件发生去质子化，具有抗氧化和抗炎性能；醌基产生的活性氧有助于植物伤口愈合，减低病原菌感染。人工合成的类HS产品的化学结构和活性基团与天然HS相似，它们也有望提高植物对病原菌的生物胁迫作用，分析原因可能与类HS产品的施加浓度、化学结构、元素组成和功能基团含量等密切相关。已有研究^[21]选择了两种有机组成最符合O/C和H/C比率的类HS产品，探讨它们对丁香假单胞杆菌番茄致病变种（*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000）的抑制作用，结果表明，施加8.6 mg·L⁻¹的类HS产品能有效地降低该病原菌对拟南芥的致病效果，促使植株生长出较多的绿叶。此外，类HS产品中羧基、羟基和醌基的C=O结构也会抑制病原菌分生孢子菌丝的生长，其中羧基有较强的杀菌能力^[29]。

5 结论与展望

天然HS具有多功能属性，在农业增产中扮演重要角色。一方面，HS直接刺激植物根系生长和养分吸收，增强植物生长和抗逆性；另一方面，HS间接调控土壤养分转化，影响土壤微生物种群数量和酶活性，促进植物生长。但是，煤炭等天然源的HS含量有限，已无法满足当前的市场供给量。采用人工腐殖化方法，可精准调控大分子木质素的氧化分解或其小分子衍生物的自由基耦合，生成类HS产品。它们与天然HS具有相似的元素组成、功能基团和化学结构，并有望媲美商业HS的作用和功效，解决天然HS资源短缺问题。真菌漆酶被誉为“绿色催化剂”，兼具氧化分解和自由基耦合的双重机制，在人工腐殖化产品的生物合成中占有重要地位。

当前，我国学者在漆酶诱导人工腐殖化反应中已取得显著性成果，对人工合成类HS产品的研发也正在逐步推进。如何突破人工腐殖化的科技瓶颈，实现类HS产品的大规模生产和农业应用？国内外相关工作人员仍需从以下几个方面入手：（1）明确真菌漆酶或化学氧化剂催化大分子木质素氧化裂解和小分子酚类物质自由基耦合形成人工腐殖化产品

的具体过程和主要路径; (2) 由于类 HS 产品具有高度异质性, 采用同步辐射显微断层成像技术(CT)和软 X 射线谱学等新技术揭示人工腐殖化产品的形态和化学信息十分重要; (3) 探讨影响人工腐殖化产品合成路径和作用功效的主控因子, 为深入研究类 HS 的合成途径和活化改性提供数据支撑; (4) 在植物层面, 明确人工腐殖化产品对相关基因和蛋白表达的影响, 澄清类 HS 产品促进植物生长发育的分子机制; (5) 在土壤微生物层面, 研究人工腐殖化产品促进土壤养分形态转化的作用机理, 为类 HS 产品在农艺领域中大规模应用奠定理论基础。

参考文献 (References)

- [1] Adamczyk B, Sietiö O M, Straková P, et al. Plant roots increase both decomposition and stable organic matter formation in boreal forest soil[J]. *Nature Communications*, 2019, 10 (1): 3982.
- [2] García A C, van Tol de Castro T A, Santos L A, et al. Structure-property-function relationship of humic substances in modulating the root growth of plants: A review[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2019, 48 (6): 1622—1632.
- [3] Baveye P C, Wander M. The (bio) chemistry of soil humus and humic substances: Why is the “new view” still considered novel after more than 80 years?[J]. *Frontiers in Environmental Science*, 2019, 7: 27.
- [4] Yu J W, Huang W, Li Y C, et al. Effects of ecological comprehensive planting and breeding patterns on soil physical and chemical properties and humus in paddy fields[J]. *Journal of Biology*, 2020, 37 (3): 81—85. [余经纬, 黄巍, 李玉成, 等. 稻田生态综合种养模式对土壤理化性质及腐殖质的影响[J]. *生物学杂志*, 2020, 37 (3): 81—85.]
- [5] Wang J K, Xu Y D, Ding F, et al. Process of plant residue transforming into soil organic matter and mechanism of its stabilization: A review[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, 56 (3): 528—540. [汪景宽, 徐英德, 丁凡, 等. 植物残体向土壤有机质转化过程及其稳定机制的研究进展[J]. *土壤学报*, 2019, 56 (3): 528—540.]
- [6] Shah Z H, Rehman H M, Akhtar T, et al. Humic substances: Determining potential molecular regulatory processes in plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 263.
- [7] Jindo K, Olivares F L, da Paixão Malcher D J, et al. From lab to field: Role of humic substances under open-field and greenhouse conditions as biostimulant and biocontrol agent[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 426.
- [8] Yang Z, Kappler A, Jiang J. Reducing capacities and distribution of redox-active functional groups in low molecular weight fractions of humic acids[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50 (22): 12105—12113.
- [9] Guo X X, Liu H T, Wu S B. Humic substances developed during organic waste composting: Formation mechanisms, structural properties, and agronomic functions[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 662: 501—510.
- [10] Zheng Y Y, Zhang J B, Tan J, et al. Chemical composition and structure of humus relative to sources[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, 56 (2): 386—397. [郑延云, 张佳宝, 谭钧, 等. 不同来源腐殖质的化学组成与结构特征研究[J]. *土壤学报*, 2019, 56 (2): 386—397.]
- [11] Lee J G, Yoon H Y, Cha J Y, et al. Artificial humification of lignin architecture: Top-down and bottom-up approaches[J]. *Biotechnology Advances*, 2019, 37 (8): 107416.
- [12] Yang F, Tang C, Antonietti M. Natural and artificial humic substances to manage minerals, ions, water, and soil microorganisms[J]. *Chemical Society Reviews*, 2021, 50 (10): 6221—6239.
- [13] Savy D, Canellas L, Vinci G, et al. Humic-like water-soluble lignins from giant reed (*Arundo donax* L.) display hormone-like activity on plant growth[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2017, 36 (4): 995—1001.
- [14] Spaccini R, Cozzolino V, di Meo V, et al. Bioactivity of humic substances and water extracts from compost made by ligno-cellulose wastes from biorefinery[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 646: 792—800.
- [15] Jeong H J, Cha J Y, Choi J H, et al. One-pot transformation of technical lignins into humic-like plant stimulants through Fenton-based advanced oxidation: Accelerating natural fungus-driven humification[J]. *ACS Omega*, 2018, 3 (7): 7441—7453.
- [16] Cha J Y, Kim T W, Choi J H, et al. Fungal laccase-catalyzed oxidation of naturally occurring phenols for enhanced germination and salt tolerance of *Arabidopsis thaliana*: A green route for synthesizing humic-like fertilizers[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65 (6): 1167—1177.
- [17] Sun K, Li S Y, Si Y B, et al. Advances in laccase-triggered anabolism for biotechnology applications[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2021, 41 (7): 969—993.
- [18] Chen M Y, Waigi M G, Li S Y, et al. Fungal laccase-mediated humification of estrogens in aquatic ecosystems[J]. *Water Research*, 2019, 166: 115040.
- [19] Xu J Q, Jiang Z W, Li M Q, et al. A compost-derived thermophilic microbial consortium enhances the humification process and alters the microbial diversity during composting[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 243: 240—249.

- [20] Li S Y, Hong D, Chen W J, et al. Extracellular laccase-activated humification of phenolic pollutants and its application in plant growth[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 802: 150005.
- [21] Yoon H Y, Jeong H J, Cha J Y, et al. Structural variation of humic-like substances and its impact on plant stimulation : Implication for structure-function relationship of soil organic matters[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 725: 138409.
- [22] Liu Q Z, Liu J, Hong D, et al. Fungal laccase-triggered 17 β -estradiol humification kinetics and mechanisms in the presence of humic precursors[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 412: 125197.
- [23] Yang T, Hodson M E. Investigating the use of synthetic humic-like acid as a soil washing treatment for metal contaminated soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 647: 290—300.
- [24] Yang F, Zhang S S, Cheng K, et al. A hydrothermal process to turn waste biomass into artificial fulvic and humic acids for soil remediation[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 686: 1140—1151.
- [25] da Silva L S, Constantino I C, Bento L R, et al. Humic extracts from hydrochar and Amazonian Anthrosol: Molecular features and metal binding properties using EEM-PARAFAC and 2D FTIR correlation analyses[J]. *Chemosphere*, 2020, 256: 127110.
- [26] Khatami S, Deng Y, Tien M, et al. Lignin contribution to aliphatic constituents of humic acids through fungal degradation[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2019, 48 (6): 1565—1570.
- [27] Yang F, Antonietti M. The sleeping giant: A polymer view on humic matter in synthesis and applications[J]. *Progress in Polymer Science*, 2020, 100: 101182.
- [28] Yang F, Du Q, Sui L, et al. One-step fabrication of artificial humic acid-functionalized colloid-like magnetic biochar for rapid heavy metal removal[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 328: 124825.
- [29] Savy D, Brostaux Y, Cozzolino V, et al. Quantitative structure-activity relationship of humic-like biostimulants derived from agro-industrial byproducts and energy crops[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 581.
- [30] Villain-Gambier M, Bourven I, Guibaud G, et al. Influence of proteins and humic-like substances from soluble microbial products on membrane bioreactor fouling under normal and stress conditions[J]. *Process Biochemistry*, 2019, 78: 140—147.
- [31] Zhang X M, Zong Y, Xu L Q, et al. Enhanced abiotic integrated polyphenol-Maillard humification by Mg/Fe layered double hydroxide (LDH): Role of Fe (III) -polyphenol complexation[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 425: 130521.
- [32] Lieke T, Meinelt T, Hoseinifar S H, et al. Sustainable aquaculture requires environmental-friendly treatment strategies for fish diseases[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, 12: 943—965.

(责任编辑: 陈荣府)