

不同分子量风化煤腐殖酸对玉米植株主要代谢物的影响

周丽平, 袁亮, 赵秉强*, 李燕婷, 林治安

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

摘要:【目的】腐殖酸的分子量决定了其功能特性, 研究不同分子量腐殖酸对玉米生长发育的影响, 可为腐殖酸资源的高效利用提供理论依据。【方法】选用‘郑单 958’为供试玉米品种, 以霍格兰营养液为基础溶液进行水培试验。选择分子量为 > 50 kDa (HA_H)、10 kDa~50 kDa (HA_M) 和 < 10 kDa (HA_L) 三种腐殖酸, 添加量均为碳 10 mg/L, 以不添加腐殖酸为对照 (CK), 共四个处理。幼苗生长 20 d 后收获, 分为根、茎和叶样品, 烘干称重, 采用傅里叶变换红外光谱仪 (型号 VERTEX 70, 德国 Bruker 公司) 检测玉米植株根、茎和叶的光谱特征。

【结果】腐殖酸处理玉米根、茎和叶的干物质重较对照分别显著提高了 91.07%、89.27% 和 88.53%。三种腐殖酸处理, 以小于 10 kDa 分子量腐殖酸 (HA_L) 对玉米植株生长的促进作用最大, 根、茎和叶的干物质重分别提高了 143.14%、123.41% 和 150.54%, 其次为 10~50 kDa 分子量腐殖酸 (HA_M), 大于 50 kDa 分子量腐殖酸 (HA_H) 效果又次之。腐殖酸处理的玉米根系 FTIR 光谱在 3420 cm^{-1} 和 1655 cm^{-1} 波数附近的透射率均低于对照, 茎 FTIR 光谱在 3420 cm^{-1} 和 1655 cm^{-1} 波数附近的透射率均高于对照, 表明腐殖酸处理能增加玉米根系碳水化合物、蛋白质、多肽和氨基酸类物质的含量, 减少其在茎中的积累, 腐殖酸各处理玉米叶片在 3420、2920、1735、1655、1518、1380、1250 和 1050 cm^{-1} 波数附近的透射率均低于对照, 小于 10 kDa 分子量腐殖酸表现尤为明显。这表明不同分子量 (尤其是小于 10 kDa 分子量) 腐殖酸能够增加玉米叶片碳水化合物、脂类物质、蛋白质、多肽、氨基酸类物质和核酸等的含量。【结论】外源添加腐殖酸能够增加玉米干物质重, 引起玉米植株不同器官中碳水化合物、脂类物质、蛋白质、多肽、氨基酸类物质及核酸发生变化, 小分子量 (< 10 kDa) 的腐殖酸对玉米植株生长的促进作用大于大分子量的, 在生产中应尽量选择小分子腐殖酸产品, 以充分发挥其促生作用。

关键词: 玉米; 腐殖酸; 分子量; 傅里叶变换红外光谱仪; 风化煤

Contents of the main metabolites in maize affected by humic acids with different molecular weight derived from weathered coal

ZHOU Li-ping, YUAN Liang, ZHAO Bing-qiang*, LI Yan-ting, LIN Zhi-an

(Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Plant Nutrition and Fertilizer, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081, China)

Abstract: 【Objectives】The molecular weight of humic acid determines its function. The effect difference of humic acids with different molecular weight was studied in this paper, in order to provide theoretical basis for the efficient utilization of humic acid in China. 【Methods】A hydroponic experiment was carried out using Hoagland nutrition solution as the basic cultural liquid and maize cultivar of ‘Zheng Dan 958’ as material. Three kinds of humic acids with molecular weight of > 50 kDa (HA_H), 10 kDa to 50 kDa (HA_M) and < 10 kDa (HA_L) were separately added into the cultural solution in ratio of 10 mg C/L, and with no humic acid addition as control (CK). Maize seedlings were grown for 20 days, then harvested. The whole plant was divided into root, stem and leaf, dried and weighed. The fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) (Bruker VERTEX 70) was applied to detect the contents of the main chemical components. 【Results】The addition of humic acid could significantly improve the dry weight of maize root, stem and leaf, which was increased by 91.07%, 89.27% and

收稿日期: 2018-10-11 接受日期: 2018-11-12

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目 (2016YFD0200403) 资助。

联系方式: 周丽平 E-mail: zhouli ping@caas@126.com ; * 通信作者 赵秉强 E-mail: zhaobingqiang@caas.cn

88.53%, respectively, compared with the control. Among the three humic acids, the greatest promoting effect was obtained by HA_L, in which the dry weight of root, stem and leaf was increased by 143.14%, 123.41% and 150.54%, respectively; followed by HA_M and HA_H. The transmissivity of the FTIR spectrum with the wave lengths of 3420 cm⁻¹ and 1655 cm⁻¹ was lower in the humic acid treatments in the roots than that in the control, while those in stems were higher than in the control, indicating that humic acid could increase the content of carbohydrate, protein, polypeptide and amino acid in maize roots, and reduce their accumulation in stems. For the leaves treated with humic acid, the transmissivity of spectrum with wavelength of 3420, 2920, 1735, 1655, 1518, 1380, 1250 and 1050 cm⁻¹ in the humic acid treated leaves were all lower than those in the control, and those in HA_L were significantly lower than HA_M and HA_H. **【 Conclusions 】** Exogenous addition of humic acid can increase the dry biomass and change the contents of carbohydrates, lipids, proteins and nucleic acids in maize. Humic acid with molecular weight of < 10 kDa performs better than that having larger molecular weight. So small molecular humic acid should be considered for the effective use of humic acid products in the practical production.

Key words: maize; humic acid; molecular weight; FTIR; weathered coal

腐殖酸是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一类具有多种官能团的大分子有机弱酸混合物。植物木质素及其转化产物多糖、蛋白质、脂质和核酸等都是参与该过程的重要组分^[1]。因此,腐殖酸对植物生长发挥着重要作用^[2-4],研究表明,腐殖酸对植物生长发育的影响受分子量的影响较大。聚合程度低、分子量小的腐殖酸(< 3.5 kDa)更能提高根系 H⁺-ATP 酶的活性,以促进作物生长,这可能是因为小分子量腐殖酸易于被作物吸收,且含有较高含量的酸性官能团^[5-6]。也有研究表明,聚合程度高、分子量大的腐殖酸(> 3.5 kDa)能提高玉米根系 H⁺-ATP 酶活性,从而提高质子泵活力,此外,大分子量腐殖酸具有较好的残留效应^[7-8]。这些研究并未得到一致的结论。

目前,关于腐殖酸对玉米植株不同器官的碳水化合物、蛋白质和核酸等的相关研究多采用蒽酮比色法、Somogyi 法、考马斯亮蓝染色法和 PCR 法等^[9-12],这些方法制样过程复杂、样品用量多、测试时间长,不利于快速、大量地进行植株样品分析和测定。傅里叶变换红外光谱(FTIR)是一种主要基于化合物中极性键振动的结构分析技术,它可通过特征红外吸收峰以及标准谱图库检索对样品中碳水化合物、脂类和核酸等官能团进行定性和定量分析。该方法具有灵敏度高、制样方法简单、样品用量少、测试时间短等优点^[13-14]。前人已经将该技术用于作物养分胁迫、作物病虫害检测和吸附性能等的检测^[15-18],但鲜有研究用 FTIR 方法来检测腐殖酸处理下作物根、茎和叶各器官中主要代谢物的变化,而此方法若用于植株各器官的化学组分测定,可为高

效筛选腐殖酸材料提供方法,为腐殖酸材料的进一步高效利用提供技术支持。

综上所述,腐殖酸的分子量大小可影响植物体的生长发育,但利用 FTIR 方法研究腐殖酸处理下植物体内不同器官的化学组分变化,尚未见到文献报道。本研究以玉米郑单 958 为供试作物,以来源较广的风化煤腐殖酸为试验材料,利用 FTIR 技术对玉米植株不同器官的主要代谢物进行分析,以研究不同分子量风化煤腐殖酸对玉米生长的作用机理,从而为风化煤腐殖酸影响玉米生长与生理代谢的机理研究提供参考,并为风化煤腐殖酸的进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试夏玉米品种为郑单 958 (*Zea mays* L.)。供试风化煤来自内蒙古棋盘井煤矿(107°12'E、39°21'N,内蒙古自治区鄂尔多斯市),腐殖酸(HA)是采用 IHSS 标准方法从风化煤中提取^[19],提取率为 50.4%。供试腐殖酸的碳、氢、氧和氮含量分别为 47.0%、4.89%、1.04% 和 33.6%。

1.2 试验设计

1.2.1 腐殖酸的分级 将腐殖酸样品(HA)采用超滤法按分子量 > 50 kDa、10~50 kDa 和 < 10 kDa 分为三个不同的级分,分别编号为 HA_H、HA_M 和 HA_L,基本元素特性如表 1。

1.2.2 溶液培养试验 试验在中国农业科学院农业资源与农业区划研究所人工气候室进行,白天温度为 28℃,夜间温度为 20℃,光照强度为 500

表 1 供试腐殖酸分子量、元素含量和摩尔比

Table 1 Molecular weight, elemental contents and mole ratios of the tested humic acids

处理 Treatment	分子量 Molecular weight	元素含量 Elemental content (%)				摩尔比 Atomic ratio		
		C	H	N	O	C/N	C/H	O/C
HA _H	>50 KDa	55.22	3.39	1.13	33.18	57.23	1.37	0.45
HA _M	10~50 KDa	48.70	3.66	0.96	38.89	59.07	1.12	0.60
HA _L	<10 KDa	35.31	3.08	0.67	41.47	61.42	0.96	0.88

$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。所用营养液为霍格兰营养液 [Ca(NO₃)₂·4H₂O 1.18 g/L、KNO₃ 0.51 g/L、MgSO₄·7H₂O 0.49 g/L、KH₂PO₄ 0.14 g/L、EDTA-Fe 0.036 g/L、H₃BO₃ 2.86 mg/L、MnCl₂·4H₂O 1.81 mg/L、ZnSO₄·7H₂O 0.22 mg/L、CuSO₄·5H₂O 0.08 mg/L、H₂MoO₄·4H₂O 0.09 mg/L]^[20]。试验设不添加腐殖酸 (CK) 和分别添加分子量 > 50 kDa(HA_H)、10~50 kDa(HA_M) 和 < 10 kDa(HA_L) 腐殖酸碳 10 mg/L 四个处理。

玉米种子经 70% 的酒精表面消毒 10 min，用蒸馏水洗净后，在蒸馏水中浸泡 24 h，转移至石英砂中，在 25℃ 下遮光环境中萌发 3 天，出苗后移入生长室。两叶一心时，精选出苗整齐的幼苗，去掉胚乳后移入盆钵中缓苗，每盆一株。缓苗营养液 pH 为 6.0 ± 0.5 (用 1 mol/L 的 NaOH 溶液和 1 mol/L 的 HCl 溶液调节营养液 pH)，2 天后换成完全营养液，每隔一天更换一次营养液。试验设 6 次重复，随机区组排列。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 干物质重 移苗 20 d 后，将玉米植株分为根、茎和叶，蒸馏水清洗后，于 105℃ 下杀青 30 min，65℃ 下烘干至恒重，称重。根冠比为根系干重与地上部干重的比值。

1.3.2 红外光谱分析 将烘干的玉米植株根、茎和叶磨碎后过 0.2 mm 筛，分别称取 1 mg 样品与 200 mg 溴化钾 (KBr)，放入玛瑙研钵中研磨均匀后进行压片，采用傅里叶变换红外光谱仪 (型号 VERTEX 70，德国 Bruker 公司) 检测玉米植株根、茎和叶的光谱特征 (波数范围为 400~4000 cm⁻¹，分辨率为 4 cm⁻¹，扫描次数为 32 次)。

1.4 数据处理与分析

试验数据采用 Excel 2003 和 Origin 9.0 软件进行处理和作图，采用 SAS 9.1 统计软件 Duncan 方法进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 腐殖酸处理对玉米干物质重的影响

添加腐殖酸可增加玉米根、茎和叶的干物质重，随着腐殖酸分子量的增加，各器官干物质重显著降低 (表 2)。与对照相比，腐殖酸处理的玉米根、茎和叶的干物质重的平均值分别提高了 91.07%、89.27% 和 88.53%。各腐殖酸处理之间比较，HA_L 处理的玉米根、茎和叶的干物质重最大，与对照相比，分别提高了 143.14%、123.41% 和 150.54%，其次为 HA_M 处理，HA_H 处理玉米的根、茎和叶的干物

表 2 添加不同分子量腐殖酸处理对玉米干生物量的影响

Table 2 Dry biomass of maize as affected by humic acids with different molecular weight

处理 Treatment	生物量 Biomass (g/plant, DW)				根冠比 Root/shoot
	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	总 Total	
CK	0.26 ± 0.02 d	0.34 ± 0.03 d	0.77 ± 0.09 c	1.37 ± 0.10 d	0.23 ± 0.03 a
HA _H	0.31 ± 0.02 c	0.47 ± 0.24 c	0.88 ± 0.06 c	1.66 ± 0.05 c	0.23 ± 0.03 a
HA _M	0.53 ± 0.02 b	0.71 ± 0.07 b	1.53 ± 0.10 b	2.77 ± 0.14 b	0.24 ± 0.01 a
HA _L	0.62 ± 0.05 a	0.76 ± 0.05 a	1.92 ± 0.15 a	3.30 ± 0.20 a	0.23 ± 0.01 a
HA 平均 Average	0.49	0.65	1.44	2.58	0.23

注 (Note): 同列数值后不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters in a column mean significant difference among treatments at the 5% level.

质重与对照相比, 其提高幅度最小。

2.2 玉米根 FTIR 分析

腐殖酸处理下玉米植株主要基团及其 FTIR 的峰值位置见表 3。

腐殖酸处理和对照处理的根系红外光谱的特征峰位置基本相同, 但透射率不同 (图 1)。腐殖酸 (尤其是低分子量腐殖酸) 处理的玉米根系红外光谱在 3420 cm^{-1} 和 1655 cm^{-1} 波数附近的透射率明显低于对照, 由此可知, 添加腐殖酸可有效增加玉米根系碳水化合物、蛋白质、多肽和氨基酸类物质的含量, 其中, 添加低分子量腐殖酸效果最佳。

2.3 玉米茎 FTIR 分析

由图 2 可知, 腐殖酸处理和对照处理玉米茎的

红外光谱特征峰对应的波数基本相同。所有腐殖酸处理玉米茎的红外光谱在 3420 cm^{-1} 和 1655 cm^{-1} 波数附近的透射率均高于对照处理, 低分子量腐殖酸表现尤为明显。这表明, 腐殖酸 (尤其是低分子量腐殖酸) 处理减少了碳水化合物、蛋白质、多肽和氨基酸类物质在玉米茎部的积累。另外, HA_H 和 HA_M 处理在 1250 cm^{-1} 波长附近的透射率要高于对照处理, 而 HA_L 处理在 1250 cm^{-1} 波长附近的透射率低于空白对照, 这表明 HA_H 和 HA_M 处理减少了核酸在玉米茎部的积累, HA_L 处理增加了玉米茎部核酸的含量。

2.4 玉米叶 FTIR 分析

由图 3 可知, 所有处理玉米叶的红外光谱在 3420 、 2920 、 1735 、 1655 、 1518 、 1380 、 1250 和

表 3 主要功能团、来源及其 FTIR 的峰值

Table 3 Resource and wave length of main functional groups

功能团 Group	峰值 (cm^{-1}) Wave length	来源 Source
-OH、-NH	3420	糖类碳水化合物 Carbohydrate ^[21]
饱和甲基 C-H	2920	酯类化合物 Ester compound ^[21-23]
C=O、N-H	1750~1500	蛋白、多肽、氨基酸 Protein, peptide, amino acid ^[24-25]
C-H	1380	蛋白质 Protein ^[25-26]
P=O	1250	核酸 Nucleic acid ^[26-28]
C-O-C	1050	纤维素、多糖 Cellulose, polysaccharides ^[26-29]

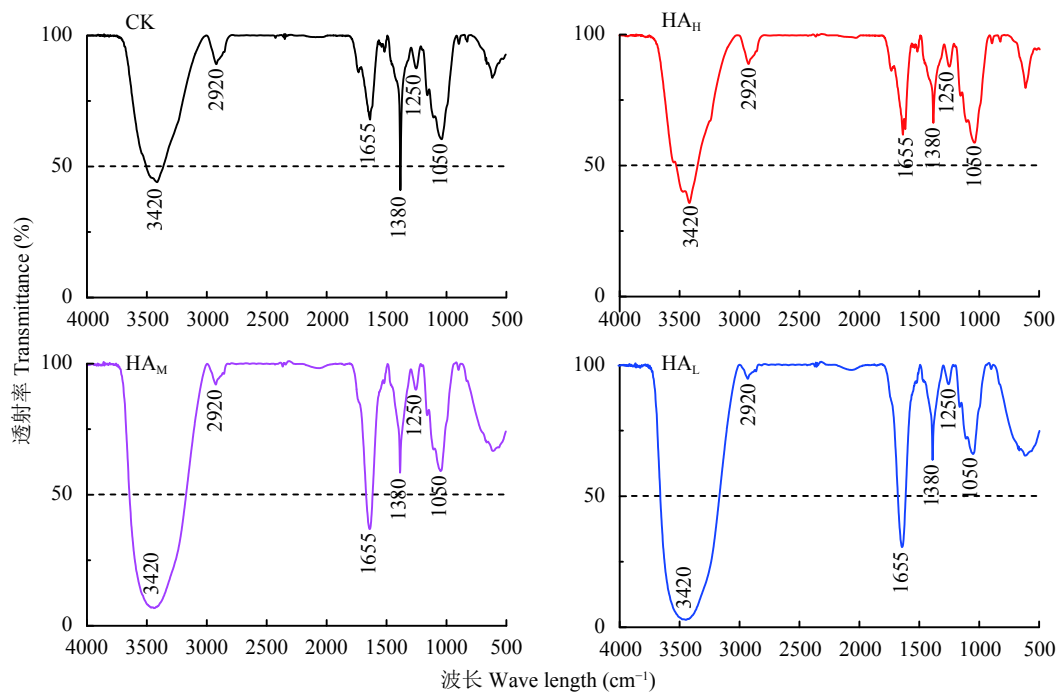


图 1 不同分子量腐殖酸处理玉米根系 FTIR 光谱图

Fig. 1 FTIR spectra of maize roots under treatments of humic acids with different molecular weight

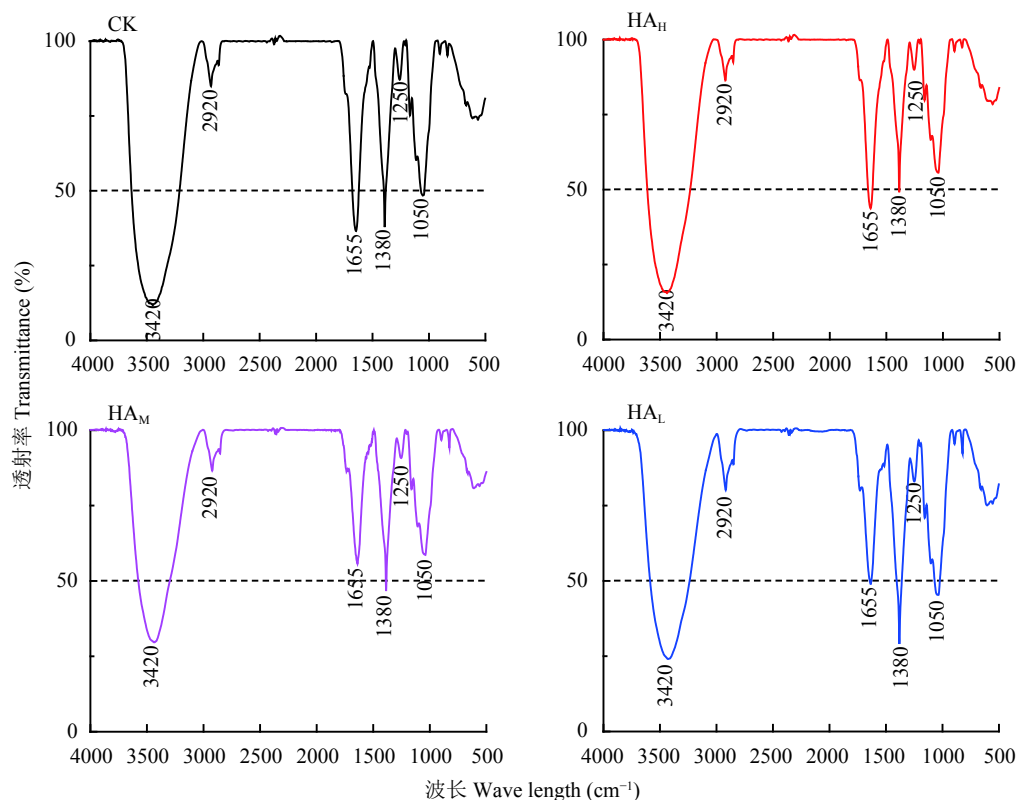


图 2 不同分子量腐殖酸处理玉米茎 FTIR 光谱图

Fig. 2 FTIR spectra of maize stems under treatments of humic acids with different molecular weight

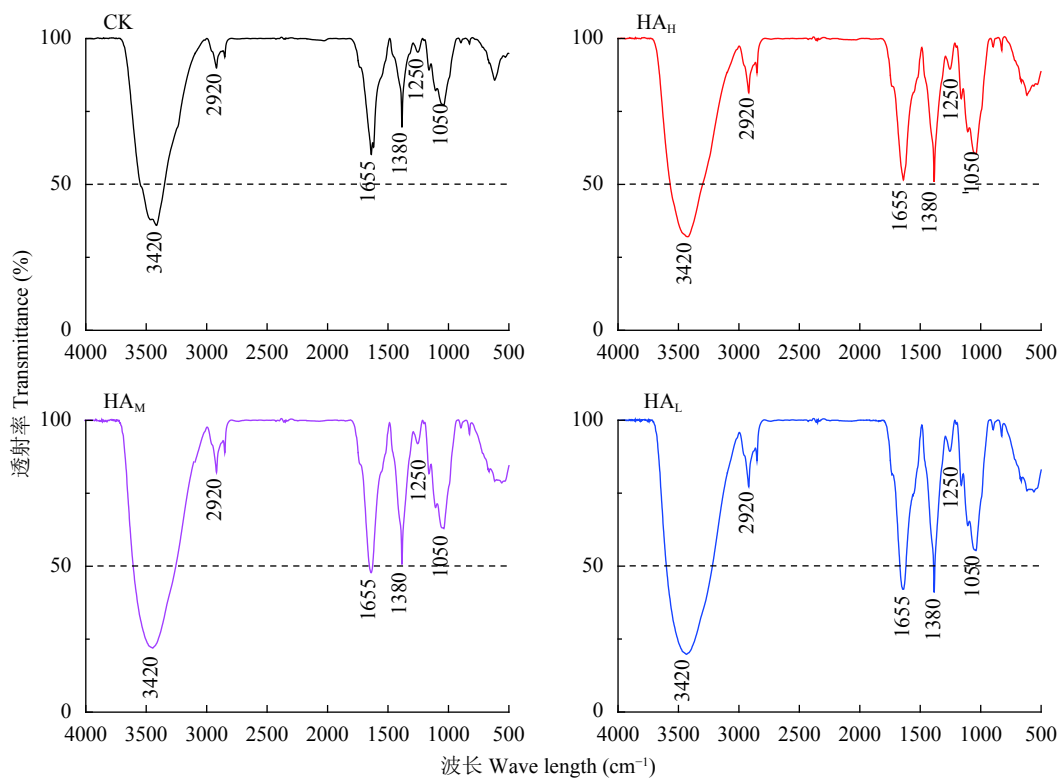


图 3 不同分子量腐殖酸处理玉米叶 FTIR 光谱图

Fig. 3 FTIR spectra of maize leaf under treatments of humic acids with different molecular weight

1050 cm^{-1} 波数附近均有特征峰, 腐殖酸各处理玉米叶的红外光谱在以上各波长处的透射率均低于对照处理, 这说明, 腐殖酸处理能够增加玉米叶片碳水化合物、酯类物质、蛋白质、多肽、氨基酸类物质和核酸等的含量。各腐殖酸处理之间比较, HA_I 处理在各波长处的透射率均为最低, 这说明小分子量腐殖酸处理更容易增加玉米叶片的碳水化合物、酯类物质、蛋白质类物质和核酸等的含量。

3 讨论与结论

外源添加腐殖酸可促进玉米植株的生长发育, 增加玉米根、茎和叶的干物质重。这主要是因为腐殖酸含有多种活性官能团, 使其具有酸性、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^[30-32], 从而促进作物根系对养分的吸收利用, 并调控植物生长发育的原生代谢和次生代谢过程。另外, 腐殖酸本身就是一种天然有机高分子混合物, 可为植物的生长发育提供营养。还有研究表明, 腐殖酸能够发挥生长素活性, 促进 H^+ 泵作用, 降低细胞壁的 pH 值, 激活细胞壁上的 pH 敏感酶和蛋白质, 使细胞壁疏松, 以使植物生长^[33]。

不同分子量 (尤其是 $< 10 \text{ kDa}$ 分子量) 腐殖酸能够增加玉米根系碳水化合物、蛋白质、多肽和氨基酸类物质的含量, 减少其在茎中的积累, 增加玉米叶片碳水化合物、酯类物质、蛋白质、多肽、氨基酸类物质和核酸等的含量, 从而促进玉米的生长发育。这可能是因为, 腐殖酸 (尤其是小分子量腐殖酸) 可上调或下调某些基因, 并通过复杂的转录网络影响植物的原生代谢过程, 以影响不同器官蛋白质、碳水化合物和脂肪等的含量^[5, 34]。

小分子量 ($< 10 \text{ kDa}$) 腐殖酸能更好地促进玉米的生长发育。这可能是因为小于 10 kDa 分子量腐殖酸因分子量低且含较高含量的羧基和酚羟基, 因而具有更好的金属络合能力, 从而改善了营养物同化和玉米代谢能力^[35]。另外, 腐殖酸本身就具有营养功能, $< 10 \text{ kDa}$ 分子量腐殖酸更易于进入植物体内, 促进植物生长。而大分子量 ($> 50 \text{ kDa}$) 腐殖酸可能因具有较多稳定的结构和成分, 有更好的残留效应^[36]。Piccolo 等的研究表明, 只有小分子量腐殖酸表现出了类激素活性, 并且分子量越小, 类激素活性越大。此外, 低分子量腐殖酸具有较高含量的酸性官能团, 因此可促进植物的生长发育^[5], 这一结论也解释了本研究结果, 值得进一步研究。

总之, 利用 FTIR 技术可揭示腐殖酸处理下玉米植株中不同器官组分的变化。腐殖酸处理能够增加玉米根系碳水化合物、蛋白质、多肽和氨基酸类物质的含量, 减少其在茎中的积累, 增加玉米叶片碳水化合物、酯类物质、蛋白质、多肽、氨基酸类物质和核酸等的含量, 低分子量腐殖酸表现尤为明显。

参 考 文 献:

- [1] 郑平. 煤炭腐植酸的生产和应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 1991, 28.
Zheng P. Production and application of coal humic acid [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1991, 28.
- [2] 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 & Fertilizer, 2014, 20(3): 620-628.
- [3] 李军, 袁亮, 赵秉强, 等. 磷肥中腐植酸添加比例对玉米产量、磷素吸收及土壤速效磷含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(3): 641-648.
Li J, Yuan L, Zhao B Q, *et al.* Effect of adding humic acid to phosphorous fertilizer on maize yield and phosphorus uptake and soil available phosphorus content[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2017, 23(3): 641-648.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] Nardi S, Carletti P, Pizzeghello D, *et al.* Biological activities of humic substances[A]. Senesi N, Xing B S, Pan M H. Biophysico-chemical processes involving natural nonliving organic matter in environmental systems[M]. Wiley-Interscience, 2009, 2: 309-335.
- [8] 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.
- [9] Wilson G, Al-Hamdani S. Effects of chromium (VI) and humic substances on selected physiological responses of *Azollacaroliniana*[J]. *American Fern Journal*, 1997, 87(1): 17-27.
- [10] Vaughan D, MacDonald I R. Some effects of humic acid on cation uptake by parenchyma tissue[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1976, 8(5): 415-421.
- [11] 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.
- [12] 刘继培, 刘唯一, 周婕, 等. 施用腐植酸和生物肥对草莓品质、产量及土壤农化性状的影响[J]. *农业资源与环境学报*, 201, 5(1): 54–59. Liu J P, Liu W Y, Zhou J, *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*, 2015, (1): 54–59.
- [13] 翁诗甫. 傅里叶变换红外光谱分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016. Weng S F. Fourier transform infrared spectrum analysis [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010.
- [14] Dokken K M, Davis L C, Marinkovic N S. Use of infrared microspectroscopy in plant growth and development[J]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2005, 40(4): 301–326.
- [15] 王盛锋, 刘云霞, 高丽丽, 等. 缺锌玉米植株的傅立叶变换红外光谱研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(4): 1005–1011. Wang S F, Liu Y X, Gao L L, *et al.* Fourier transform infrared spectral analysis of maize (*Zea mays*) plants under zinc deficiency stress[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20(4): 1005–1011.
- [16] 柴阿丽, 李宝聚, 石延霞, 等. 基于傅里叶变换红外光谱的黄瓜褐斑病早期检测[J]. *光谱学与光谱分析*, 2011, 31(6): 1506–1509. Chai A L, Li B J, Shi Y X, *et al.* Early detection of corynesporaspot on cucumber leaves based on FTIR spectroscopy[J]. *Spectroscopy & Spectral Analysis*, 2011, 31(6): 1506–1509.
- [17] 欧全宏, 赵兴祥, 周湘萍, 等. 稻瘟病、玉米锈病和蚕豆锈病叶的傅里叶变换红外光谱研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2012, 32(9): 2389–2392. Ou Q H, Zhao X X, Zhou X P, *et al.* Research on rice blast, corn and broad bean rust leaves by FTIR spectroscopy[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2012, 32(9): 2389–2392.
- [18] 王梦, 段德超, 徐辰, 等. 茶树根细胞壁不同组分对铅的吸附性能及其功能团的傅里叶红外光谱学研究[J]. *生态学报*, 2015, 35(6): 1743–1751. Wang M, Duan D C, Xu C, *et al.* Adsorption ability of cell wall (CW) components in roots of tea plant (*Camelliasinensis* L.) to Pb and FTIR spectra of their functional groups[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(6): 1743–1751.
- [19] Garcia-Mina J M. Stability, solubility and maximum metal binding capacity in metal-humic complexes involving humic substances extracted from peat and organic compost[J]. *Organic Geochemistry*, 2006, 37(12): 1960–1972.
- [20] 毛达如, 申建波. 植物营养研究方法[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2011. Mao D R, Shen J B. Research methods of plant nutrition [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2011.
- [21] Dziuba B, Babuchowski A, Nałęcz D, *et al.* Identification of lactic acid bacteria using FTIR spectroscopy and cluster analysis[J]. *International Dairy Journal*, 2007, 17(3): 183–189.
- [22] Jackson M. Biomembrane structure from FTIR spectroscopy[J]. *Spectrochimica Acta*, 1993, 15: 53–69.
- [23] Hesse M, Meier H, Zeeh B. Spectroscopic methods in organic chemistry[M]. Thieme Medical Publishers, 2008.
- [24] Salzmann D, Handley R J, Müller-Schärer H. Functional significance of triazine-herbicide resistance in defense of *Senecio vulgaris* against a rust fungus[J]. *Basic and Applied Ecology*, 2008, 9(5): 577–587.
- [25] 孙素琴, 周群, 陈建波. 中药红外光谱分析与鉴定[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010. Sun S Q, Zhou Q, Chen J B. Infrared spectrum analysis and identification of traditional Chinese medicine[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010.
- [26] Nelson W H. Modern techniques for rapid microbiological analysis[M]. New York: VCH Publishers, 1991. 75–76.
- [27] Zeroual W, Choisy C, Doglia S M, *et al.* Monitoring of bacterial growth and structural analysis as probed by FT-IR spectroscopy[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1994, 1222(2): 171–178.
- [28] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京: 中国石化出版社, 2000. Lu W Z. Modern near infrared spectroscopic techniques [M]. Beijing: China Petrochemical Press, 2000.
- [29] Wong P T, Wong R K, Caputo T A, *et al.* Infrared spectroscopy of exfoliated human cervical cells: evidence of extensive structural changes during carcinogenesis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1991, 88(24): 10988–10992.
- [30] 韦良开, 李瑞, 潘杰, 等. 腐植酸类物质的生物学功能及其在畜禽养殖中的应用[J]. *中国饲料*, 2017, (14): 10–14. Wei L K, Li R, Pan J, *et al.* Biological function of humic acid substances and its application in livestock production[J]. *China Feed*, 2017, (14): 10–14.
- [31] Canellas L P, Piccolo A, Dobbbs 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.
- [32] Wang G S, Hsieh S T, Hong C S. Destruction of humic acid in water by UV light-catalyzed oxidation with hydrogen peroxide[J]. *Water Research*, 2000, 34(15): 3882–3887.
- [33] Hager A. Role of the plasma membrane H⁺-ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects[J]. *Journal of Plant Research*, 2003, 116(6): 483–505.
- [34] Trevisan S, Botton A, Vaccaro S, *et al.* Humic substances affect Arabidopsis physiology by altering the expression of genes involved in primary metabolism, growth and development[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2011, 74: 45–55.
- [35] Muscolo A, Sidari M, Nardi S. Humic substance: relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings[J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2013, 129: 57–63.
- [36] Malcolm R E, Vaughan D. Humic substances and phosphatase activities in plant tissues[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1979, 11(3): 253–259.