

## 不同海拔下青海草甸土中溶解性有机质的荧光光谱特征

杨威杉<sup>1,2,3</sup>, 李 猛<sup>4\*</sup>, 孙笑蕾<sup>2</sup>, 胡华玲<sup>4</sup>, 黄丽娟<sup>2</sup>

1. 中国科学院科技战略咨询研究院, 北京 100190

2. 中国科学院大学, 北京 100049

3. 生态环境部环境规划院, 北京 100012

4. 中国环境科学研究院环境基准与风险评估国家重点实验室, 北京 100012

**摘要** 溶解性有机质(DOM)是土壤中对气候变化较为敏感的组分,在重金属迁移转化、碳释放等土壤环境化学过程中占有重要地位。同时,青藏高原也是对气候变化最为敏感的地区之一。而应用荧光光谱来探究气候条件的变化对土壤DOM的影响,从而确定气候变化背景下DOM的环境化学行为方面的研究较少。通过采集青海板达山不同海拔高度下(2 800, 3 000, 3 300, 3 600和3 900 m)的草甸土,应用三维荧光-平行因子分析的方法测定土壤中DOM的荧光光谱,揭示草甸土中DOM的来源、组成和性质对不同海拔气候条件的响应特征。结果表明:海拔对土壤理化性质有重要影响。随海拔升高,土壤pH显著降低,而有机质的平均值则从6.32%提高至13.75%,但溶解性有机碳含量未有显著性变化。同时,海拔对DOM的来源与性质也产生影响。DOM的BIX指数随海拔升高而升高,表明:微生物源对高海拔土壤中DOM的贡献更高,可能是由于高海拔下的低温限制了植物残体等的分解和有机质的矿化。而FI指数(1.332~1.621)处于自生源特征值(FI=1.9)和陆生源特征值(FI=1.4)之间,表明:DOM的来源既有自生微生物活动产生,又有植物残体与根际分泌物等陆源的输入。但HIX指数在不同海拔土壤DOM中无显著性差异,说明:海拔的升高未显著改变DOM的腐殖化程度。平行因子分析的结果显示,在青海草甸土DOM中识别出6个有机组分(C1—C6),分别是:两个类胡敏酸组分(C2和C4)、两个类富里酸组分(C1和C3)、一个水溶微生物副产物(C5)和一个类蛋白组分(C6)。其中,类富里酸和类蛋白分别是DOM中占比最高(54.69%~59.78%)和最低(5.42%~8.47%)的组分,类胡敏酸则平均占DOM的25.08%。对不同海拔下DOM的有机组分进行主成分分析,结果显示:各海拔土壤DOM的样点基本分散开,这说明DOM的组成对海拔高度具有响应。类富里酸组分C3、类胡敏酸组分C4和类蛋白组分C6对各DOM组成差异的贡献最大。随海拔升高,C3和C6的相对比重显著升高,C4则显著降低。这说明高海拔的气候条件对类富里酸和类蛋白的生成有增强作用,但限制了类胡敏酸的产生。研究表明:不同海拔气候条件下,青海草甸土中DOM的来源、性质和组成均有重要差异,研究结果对评估青藏高原地区的土壤碳库,并为预测全球气候变化背景下DOM对土壤中重金属迁移转化和碳循环等环境化学行为的影响提供理论基础。

**关键词** 三维荧光光谱; 平行因子分析; 气候变化; 青藏高原; 土壤有机质

**中图分类号:** S153 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)05-1477-06

### 引言

溶解性有机质(DOM)是土壤中可水溶的一系列分子大小、结构、性质各异的有机连续统一体,一般来源于土壤风化、外源有机质输入、自身生物化学过程等。土壤DOM含

量虽较低,却是土壤中最为活跃的有机组分之一,可作为有机配位体,与重金属发生离子交换、络合等反应,在重金属的迁移转化过程中处于重要地位。同时,DOM可与矿物结合并稳定在土壤中,对土壤有机质的累积具有重要作用。土壤DOM常包含氨基酸、碳水化合物、类腐殖质等组分,而不同组分的DOM在土壤物质循环过程中的作用也因各组分

收稿日期: 2018-04-03, 修订日期: 2018-09-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(41701561)和中国博士后科学基金项目(2016M601095)资助

作者简介: 杨威杉, 1984年生, 中国科学院科技战略咨询研究院博士研究生 e-mail: yangws@caep.org.cn

\* 通讯联系人 e-mail: limeng12b@mails.ucas.ac.cn

的分子结构与性质的不同而有差异<sup>[1-2]</sup>。探明 DOM 的组分及其来源、性质对研究 DOM 对土壤重金属迁移转化和碳固定具有重要的意义<sup>[3-4]</sup>。在气温、降雨等气候条件变化下,土壤有机质矿化速率、微生物活性均会受到强烈影响。DOM 由于其易于矿化、微生物利用,因而是土壤有机质中对气候变化最为敏感的指标之一<sup>[4]</sup>。但目前,在 DOM 有机组分的来源、组成和性质对气候变化进行响应的认识上尚不深入。

应用三维荧光光谱可以测定 DOM 中各天然有机化合物的荧光特征,从而识别出 DOM 中的有机组分,如:类富里酸、类胡敏酸、类蛋白等。目前,该方法已广泛应用于表征水体和土壤等环境中 DOM 的有机组成,并可探明其来源和性质<sup>[5]</sup>。人类活动(施肥、土壤改良、土地利用等)对土壤 DOM 影响的研究均表明:土壤 DOM 的来源和组成极易在土壤理化性质和微生物活性发生改变的情况下受到影响<sup>[6]</sup>。但应用荧光光谱来探明气候条件的变化对土壤 DOM 来源和性质影响的研究较少。本研究在对气候变化较为敏感的青藏高原地区选取青海达板山作为研究区,在不同海拔高度采集草甸土壤样品,应用三维荧光-平行因子分析的方法测定土壤中 DOM 的荧光光谱,探明 DOM 的来源、组成和性质对不同海拔气候条件的响应特征。研究结果将有助于提高对高寒土壤在气候变化下 DOM 的组成和转化上的认识,并有助于预测全球气候变化下 DOM 对土壤中重金属迁移转化和碳循环等环境化学行为的影响。

## 1 实验部分

### 1.1 研究区概况与样品采集

青海达板山地处青藏高原寒温湿润气候带,海拔约为 2 780~3 970 m,常年降雨量为 530~560 mm。南麓谷地(海拔为 2 780~2 980 m)年平均气温为 0.3 °C,海拔每升高 100 m,气温平均降低 0.53 °C。研究区的植被以蒿草属(*Kobresia*)为主,多保持原始状态,草甸土壤类型为黑钙土。

2017 年 8 月在达板山南麓五个海拔高度下(2 800, 3 000, 3 300, 3 600 和 3 900 m)采取表层土壤(0~20 cm)样品。在每个海拔高度下,沿等高线选取 5 个点位(坡度和坡向基本一致)分别采取一个土样。土样冷冻运送至实验室,去除草根、石砾后冻干,研磨、过 2 mm 筛用于土壤理化性质的测定。

### 1.2 土壤理化性质的测定与溶解性有机质的提取

土壤 pH、有机质、可溶盐分别采用电位法、重铬酸钾容

量法、电导法测定。土壤中 DOM 的提取参考文献[6]。取冻干土样 4 g 于离心管中,加入 40 mL 超纯水,通入氮气、密封后置于恒温震荡箱中在 25 °C、180 r·min<sup>-1</sup>下振荡提取 18 h。混合液在 8 000 r·min<sup>-1</sup>下离心 20 min,取上清液过 0.45 μm 玻璃纤维滤膜,滤液即为 DOM 溶液。采用总有机碳分析仪(Multi N/C 2100S,德国耶拿)测定 DOM 中的总有机碳(TOC)即可计算得到土壤中溶解性有机碳(DOC)含量。

### 1.3 三维荧光光谱表征

使用超纯水将 DOM 溶液的 TOC 浓度逐级调节至 10 mg·L<sup>-1</sup>,采用三维荧光光度计(F-7000,Hitachi,日本)测定 DOM 样品的三维荧光光谱。激发(Ex)和发射(Em)波长范围分别为 200~450 和 280~550 nm,间隔和狭缝宽度为 5 nm,扫描速度为 2 400 nm·min<sup>-1</sup>。所得荧光谱图应用 MatLab 的 Removescatter 工具箱去除散射后,再应用 DOMFluor 工具箱以平行因子分析法识别 DOM 的有机组分<sup>[7-8]</sup>,其特征峰的鉴定参考文献[9-10]。

采用腐殖化指数(HIX)、荧光指数(FI370)和生物指数(BIX)指示 DOM 的来源和性质等特征。其中,HIX 可代表 DOM 的腐殖化程度,BIX 可表征微生物源有机质与外源有机质的比例,FI370 则可指示 DOM 中腐殖酸的来源。其各自计算方法参考文献[10]。

### 1.4 统计分析

采用单因素方差分析检验不同海拔下土壤理化性质、DOM 荧光光谱特性的显著差异性(SPSS v22,IBM,美国)。应用主成分分析法检验不同海拔的土壤 DOM 中各组分的差异性(XLSTAT v2014,Addinsoft,美国)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 土壤基本理化性质

青海达板山草甸土 pH 值的范围为 7.67~8.28,平均为 7.99,土壤因此为弱碱性(表 1)。随海拔的升高,土壤 pH 显著降低,这与黄婷等<sup>[11]</sup>在云南曲靖的观察结果相一致。可溶盐范围为 0.04~0.12 μS·cm<sup>-1</sup>,相比低海拔土壤,较高海拔(3 600 和 3 900 m)土壤中含有显著较低的可溶盐( $p < 0.05$ )。土壤有机质为 6.15%~13.75%,平均为 9.59%。海拔越高,土壤有机质积累越高,这可能是因为:温度较高的低海拔地区,植物分解和有机质矿化速率更高。其中,DOC 含量为 0.21~0.26 mg·g<sup>-1</sup>,各海拔下土壤中 DOC 含量无显著差异性(表 1)。

表 1 土壤基本理化性质  
Table 1 Basic properties of soil

海拔/m	pH	可溶盐/(μS·cm <sup>-1</sup> )	有机质/%	溶解性有机碳/(mg·g <sup>-1</sup> )
2 800	8.25±0.03* a	0.10±0.01 a	6.32±0.24 d	0.21±0.01 a
3 000	8.10±0.01 b	0.08±0.01 a	8.05±0.12 c	0.21±0.01 a
3 300	8.08±0.16 bc	0.09±0.04 ab	9.38±0.57 b	0.22±0.01 a
3 600	7.91±0.13 c	0.06±0.01 b	11.02±0.48 a	0.23±0.01 a
3 900	7.72±0.08 d	0.04±0.01 b	11.95±1.64 a	0.24±0.01 a

注: \* 各指数以平均值±标准偏差表示,数值后的不同字母表示不同海拔高度下土壤水溶性有机质的荧光指数具有显著性差异( $p < 0.05$ )。

Note: \* Values are given as mean±standard error; Different letters represent significant differences along the altitudinal gradient.

2.2 草甸土中 DOM 的荧光光谱指数

对土壤样品中 DOM 进行三维荧光测定, 并计算其荧光光谱指数, 总结见表 2。草甸土中 DOM 的 HIX 值为 0.894~0.914, 不同海拔土壤 DOM 的 HIX 之间不存在显著差异性, 表明: 海拔的升高, 未导致土壤 DOM 腐殖化程度的变化。DOM 的 FI<sub>370</sub> 值分布在 1.332~1.621, 较低海拔(2 800~3 000 m)土壤的 FI<sub>370</sub> 值显著较低( $p < 0.05$ ), 这说明: 随海拔的降低, 土壤中微生物对 DOM 的贡献越小。FI<sub>370</sub> 基本处于自生源特征值(FI=1.9)和陆源特征值(FI=1.4)之间, 说明: DOM 的来源既有内部微生物活动产生, 又有植物残体、根际分泌物等的陆源输入<sup>[12]</sup>。土壤 DOM 的 BIX 范围为 0.528~0.691, 与大部分研究结果相一致<sup>[13]</sup>。而随海拔的升高, BIX 值也随之升高。这指示着: 高海拔土壤 DOM 中的微生物源相比陆源对 DOM 的贡献更高, 这可能是由于在高海拔地区, 气温较低导致植物残体分解较慢所致, 使得土壤中累积较多的有机质。这与高海拔土壤中有机质含量较高的结论相符。

2.3 DOM 的荧光光谱特征

对达板山土壤 DOM 进行三维荧光测定和平行因子分

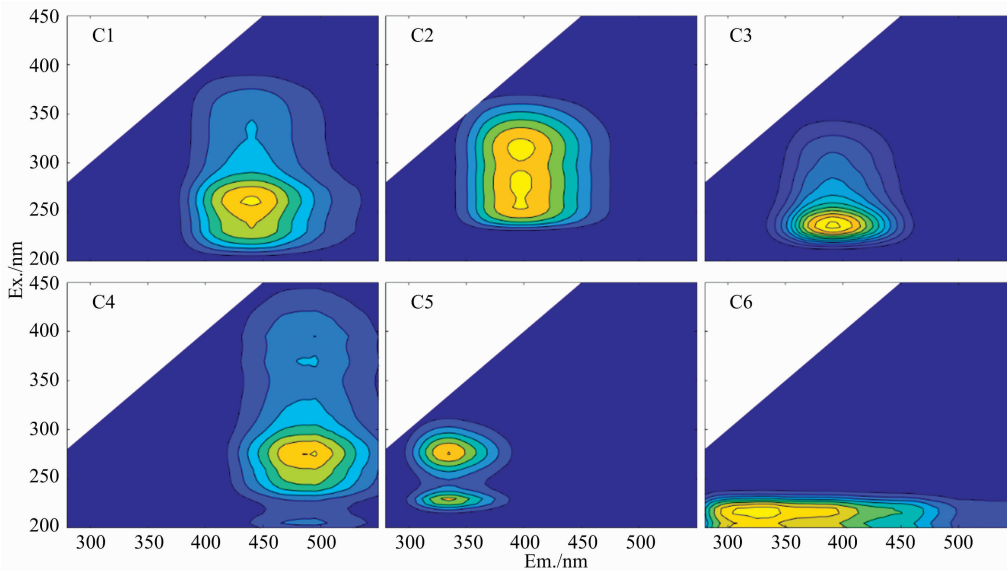


图 1 溶解性有机质的有机组分  
Fig. 1 Compositions of dissolved organic matter by 3D-EEM and PARAFAC

对 DOM 中各有机组分的荧光强度和相对比重进行统计分析, 见图 2。结果显示: 类富里酸组分(C1 和 C3)占 DOM 的比重最高(54.69%~59.78%), 平均为 57.03%。类蛋白组分 C6 的比重最低, 其范围为 5.42%~8.47%, 平均为 7.03%。类胡敏酸组分(C2 和 C4)则平均占 DOM 的 25.08%。随海拔的升高, C1, C2, C3 和 C6 组分的荧光强度增加, DOM 总荧光强度也增加, 但 C4 和 C5 组分的荧光强度未显著性提高。这表明: 海拔升高, 土壤 DOM 中类富里酸组分(C1 和 C3)、类胡敏酸组分 C2 和类蛋白组分 C6 均增强。而其中, C1, C4 和 C5 组分的相对比重随海拔升高而降低, C3 和 C6 则随之升高。这可能指示了: 较高海拔有利于

析, 结果表明: 土壤 DOM 中识别出 6 个有机组分(C1—C6, 如图 1 所示)。其中, C1(440/260 nm)和 C3(380/235 nm)组分为类富里酸, C2(400/310 nm)和 C4(480/275 nm)组分鉴定为类胡敏酸, C5(335/275 nm)组分为水溶微生物副产物, C6(325/220 nm)组分为类蛋白<sup>[14-15]</sup>。

表 2 溶解性有机质的荧光光谱指数

Table 2 Fluorescence indices of dissolved organic matter

海拔 /m	腐殖化指数 HIX	荧光指数 FI <sub>370</sub>	生物指数 BIX
2 800	0.905±0.004 a	1.401±0.038 c	0.555±0.038 c
3 000	0.904±0.004 a	1.470±0.028 b	0.588±0.030 b
3 300	0.904±0.014 a	1.540±0.064 a	0.621±0.038 ab
3 600	0.908±0.006 a	1.533±0.057 a	0.627±0.049 a
3 900	0.906±0.003 a	1.558±0.043 a	0.650±0.023 a

注: \* 各指数以平均值±标准偏差表示, 数值后的不同字母表示不同海拔高度下土壤水溶性有机质的荧光指数具有显著性差异( $p < 0.05$ )。

Note: \* Values are given as mean±standard error; Different letters represent significant differences along the altitudinal gradient.

土壤 DOM 中类富里酸组分 C3, 类腐殖酸组分 C2 和类蛋白组分 C6 的生成。

为进一步分析海拔对 DOM 组成的影响, 对 DOM 各组分进行主成分分析(图 3)。结果表明: PC1 解释了各海拔下 DOM 组成差异的 80.69%。沿 PC1, 各海拔下 DOM 样点基本分散开, C1—C6 组分的差异均对 DOM 样点分散有贡献。而其中, C3, C4 和 C6 组分对样点分散的贡献最大。这说明: 随海拔升高, 土壤 DOM 的组成差异显著, C2, C3 和 C6 组分的比重增加, 这与各样点间差异性检验的结果相符, 也表明了土壤 DOM 中各组分对海拔升高的差异性响应。气候条件向增温等方向的转化有利于 DOM 中类富里酸组分 C1 和

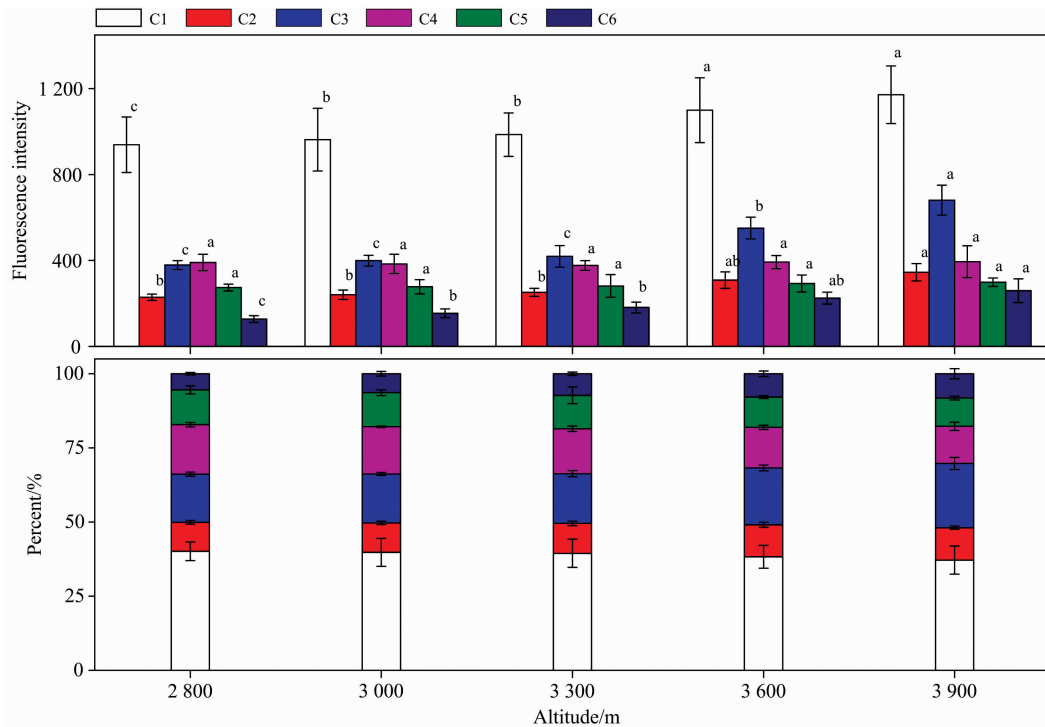


图 2 溶解性有机质中各组分的荧光强度和相对比重

Fig. 2 Fluorescence intensity and relative percent of each composition in dissolved organic matter

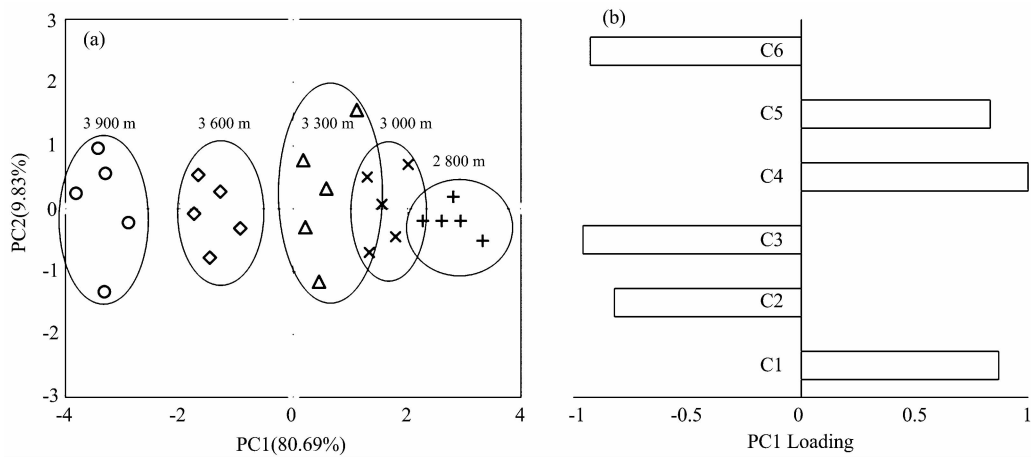


图 3 溶解性有机质中各组分的 principal 成分分析

(a): 得分图; (b): 载荷图

Fig. 3 Principal component analysis for compositions of dissolved organic matter

(a): Score plot; (b): Loading sector

类胡敏酸组分 C4 的生成, 并可能使得土壤微生物活性增强, 并增加其对土壤 DOM 的贡献。

### 3 结 论

通过三维荧光-平行因子法分析不同海拔下青海草甸土中 DOM 的荧光特征, 得到如下结论:

(1) 海拔对土壤理化性质有重要影响。随海拔升高, 土壤 pH 显著降低, 而有机质则增高。青海草甸土中 DOM 主

要来源于陆源输入和自生微生物活动, 随海拔升高, 微生物源的相对贡献增加;

(2) DOM 中含有 6 个有机组分: 两个类胡敏酸组分、两个类富里酸组分、一个水溶微生物副产物和一个类蛋白组分。其中, 类富里酸和类蛋白分别是 DOM 中占比最高和最低的组分;

(3) DOM 的组成对海拔高度具有响应。类富里酸组分 C3、类胡敏酸组分 C4 和类蛋白组分 C6 对各 DOM 组成差异的贡献最大, 高海拔的气候条件对这类富里酸和类蛋白的生

成有增强作用,但限制了类胡敏酸的产生。研究结果对评估 适应性提供理论基础。  
青藏高原地区的土壤碳库,并为揭示 DOM 应对气候变化的

## References

- [ 1 ] WANG Yuan-yuan, QI Dan-hui, LIU Wen-sheng, et al(王元元, 齐丹卉, 刘文胜, 等). *Acta Botanica Boreali—Occidentalia Sinica*(西北植物学报), 2016, 36(1): 70.
- [ 2 ] Kaiser Klaus, Kalbitz Karsten. *Soil Biology & Biochemistry*, 2012, 52: 29.
- [ 3 ] Yang Li-yang, Han Dae-ho, Lee Bo-mei, et al. *Chemosphere*, 2015, 127: 222.
- [ 4 ] Gao Jiakai, Liang Chenglong, Shen Guangzhu, et al. *Chemosphere*, 2017, 176: 108.
- [ 5 ] ZI Yuan-yuan, KONG Fan-long, XI Min, et al(訾园园, 孔范龙, 郗敏, 等). *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2016, 27(12): 3871.
- [ 6 ] Li Gang, Khan Sardar, Ibrahim Muhammad, et al. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 348: 100.
- [ 7 ] Li Wentao, Chen Shiyu, Xu Zixiao, et al. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48: 2603.
- [ 8 ] GONG Xue-yong, ZHANG Hong-zhi, HOU Chao, et al(巩学勇, 张宏志, 侯超, 等). *Chinese Journal of Analytical Chemistry*(分析化学), 2016, 44(10): 1533.
- [ 9 ] HE Wei, BAI Ze-lin, LI Yi-long, et al(何伟, 白泽林, 李一龙, 等). *Acta Scientiae Circumstantiae* (环境科学学报), 2016, 36(2): 359.
- [ 10 ] LI Lei, LI Zhong-pei, LIU Ming, et al(李磊, 李忠佩, 刘明, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis*(光谱学与光谱分析), 2017, 37(2): 577.
- [ 11 ] HUANG Ting, ZHOU Ji-heng, LI Qiang, et al(黄婷, 周冀衡, 李强, 等). *Chinese Journal of Soil Science*(土壤通报), 2015, 46(1): 105.
- [ 12 ] WANG Qi-lei, JIANG Tao, ZHAO Zheng, et al(王齐磊, 江韬, 赵铮, 等). *Environmental Science*(环境科学), 2015, 36(3): 879.
- [ 13 ] WANG Yu-lai, SUN Ji-liang, YANG Chang-ming, et al(王育来, 孙即梁, 杨长明, 等). *Journal of Agro-Environment Science*(农业环境科学学报), 2013, 32(12): 2413.
- [ 14 ] HUANG Ting-lin, FANG Kai-kai, ZHANG Chun-hua, et al(黄廷林, 方开凯, 张春华, 等). *Environmental Science*(环境科学), 2016, 37(9): 3394.
- [ 15 ] Marta Pérez-Rodríguez, Ingrid Horák-Terra, Luis Rodríguez-Lado, et al. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2016, 168: 65.

## Fluorescence Spectral Characteristics of Dissolved Organic Matter in Meadow Soils in Qinghai under Different Altitudes

YANG Wei-shan<sup>1,2,3</sup>, LI Meng<sup>4\*</sup>, SUN Xiao-lei<sup>2</sup>, HU Hua-ling<sup>1</sup>, HUANG Li-juan<sup>2</sup>

1. Institutes of Science and Development, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3. Chinese Academy for Environmental Planning, Beijing 100012, China

4. State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China

**Abstract** Dissolved Organic Matter (DOM) is a component that is sensitive to climate change in soil and plays an important role in environmental chemical behaviors such as transportation and transformation of heavy metals and carbon release. Meanwhile, the Qinghai-Tibet Plateau is one of the most sensitive region to climate change all over the world. However, few researches are focusing on the application of fluorescence spectroscopy to ascertain the impact of climate change on soil DOM and to reveal the response of environmental chemical behaviors of DOM to climate change. In this study, fluorescence spectral characteristics of DOM in meadow soils in Daban Mountain, Qinghai, under different altitudes (2 800, 3 000, 3 300, 3 600 and 3 900 m) was determined by using three-dimensional fluorescence spectroscopy and parallel factor analysis to reveal the response of the sources, compositions and properties of DOM to climatic conditions at different altitudes. The results showed that altitude had an important influence on the physical and chemical properties of the soil. With the increase of altitude, the soil pH decreased significantly, while the average organic matter increased from 6.32% to 13.75%. However, there was no significant change in the content

of dissolved organic carbon at different altitudes. Additionally, altitude also had an impact on the origin and nature of DOM. The BIX index of DOM increased with the rise of altitude, indicating a more contribution to DOM in high-altitude soils by microbial sources, which may be due to a lower decomposition of plant residues and the mineralization of organic matter induced by low temperature at high altitudes. The FI index (1.332~1.621) was found to be lower than the eigenvalue indicating an autogenous source (FI=1.9) and the one indicating a terrestrial source (FI=1.4), showing that the DOM not only derived from the autogenous microbial activity, but also terrestrial input, such as plant residue and root exudates. However, the HIX index had no significant difference in soil DOM at different altitudes, indicating that elevation of altitude did not significantly change the degree of DOM humification. The results of parallel factor analysis showed that there were six organic components (C1—C6) in the DOM of meadow soil in Qinghai; which are two humic acid components (C2 and C4), two fulvic acid components (C1 and C3), and one water-soluble microbial by-product (5) and one protein-like component (6). Among them, fulvic acid-like and protein-like were the components with the highest proportion (54.69%~59.78%) and the lowest proportion (5.42%~8.47%) of DOM, respectively, while humic acids accounted for an average of 25.08% of DOM. The principal component analysis of the organic components in DOM at different altitudes showed that the samples of DOM at different altitudes were basically dispersed, indicating that the composition of DOM was responsive to altitude. The fulvic acid-like component (C3), the humic acid-like component (C4) and the protein-like component (C6) contributed the most to the differences in DOM compositions. With the increasing altitude, the relative proportions of C3 and C6 increased significantly, while the C4 decreased significantly. This indicated that the climate conditions at high altitude enhanced the production of fulvic acid and protein, but limited the production of humic acids. It could be concluded that the source, nature and composition of DOM in meadow soils of Qinghai have significant differences under different altitude conditions. And the results may provide theoretical basis for the assessment of soil carbon pool in Qinghai-Tibet Plateau and for the prediction of the transportation and transformation of heavy metals and carbon cycle under global climate change.

**Keywords** Three-dimensional fluorescence spectroscopy; Parallel factor analysis (PARAFAC); Climate change; Qinghai-Tibet Plateau; Soil organic matter

(Received Apr. 3, 2018; accepted Sep. 12, 2018)

\* Corresponding author