

化学氮肥有机替代条件下黑土 DOC 荧光光谱特征

张久明¹, 匡恩俊¹, 迟凤琴^{1*}, 刘亦丹⁴, 周宝库¹, 夏晓雨³,
王晓军¹, 孙磊¹, 常本超¹, 魏丹²

1. 黑龙江省农业科学院土壤肥料与环境资源研究所, 农业农村部黑土地保护与利用重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150086
2. 北京市农林科学院植物营养与资源环境研究所, 北京 100097
3. 黑龙江省农业科学院大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086
4. 东北农业大学资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150030

摘要 有机无机肥配施是实现土壤培肥、减少无机肥施用的有效措施。为探讨黑土区有机肥替代无机肥(氮肥)对土壤溶解性有机碳(DOC)含量及结构的影响,本研究采用有机肥不同比例替代化学氮肥,分析土壤 DOC 的含量及荧光光谱特征。结果表明, M(100%有机替代化学氮肥)处理土壤 DOC 显著高于其他处理,其含量为 325.97 mg·kg⁻¹。与 CK(不施肥)处理相比,各施肥处理荧光峰各波长均有不同程度蓝移,各处理土壤 DOC 的荧光指数(FI)分布在 1.54~1.59 范围内,腐殖化指数(HIX)均小于 0.85,表明 DOC 来源受自生源和陆生源共同作用的影响,土壤腐质化程度均较低。平行因子分析法分析识别出 3 个荧光组分,分别为 2 个腐殖质类组分(富里酸类物质和腐殖酸类物质)及 1 个类蛋白组分(类酪氨酸蛋白质物质)。各施肥处理 3 个组分荧光强度均高于 CK 处理,其中 M 和 M₂N₂(25%有机替代化学氮肥)处理下土壤 DOC 总荧光强度较高, C3 组分荧光强度以 M₂N₂ 处理最高,土壤 DOC 中 3 个有机组分的相对比重以荧光组分 C1 最高,接近 50%,表明该地区土壤中分子物质占有较大比例,施肥能够提高土壤腐质化程度,有利于土壤 DOC 固定,合理的有机肥配施化学氮肥能增加 DOC 的有效性,提升土壤供肥能力。

关键词 黑土; 有机无机肥配施; 可溶性有机碳; 三维荧光光谱

中图分类号: S143.6 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2022)09-2919-05

引言

在土壤各种各样的功能库中,土壤有机碳库是生态系统重要的组成部分。通常把在土壤中移动较快、不稳定、易氧化、易分解、易矿化,其形态和空间位置对植物和微生物有较高活性的这部分碳库称为活性碳库^[1]。根据土壤活性碳库特点,土壤活性有机碳常用溶解性有机碳、轻组有机碳、易氧化有机碳、微生物量碳、颗粒有机碳等不同形式来表征。土壤溶解性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)是指溶解于土壤水、且能通过 0.45 μm 微孔滤膜的有机态碳,是土壤有机碳中最活跃的组成部分^[2]。影响土壤活性有机碳含量与组成的因素有很多,目前学者多从土地管理措施如耕作、施有机肥和化肥改变土壤 pH 值等方面探讨对其含量影响^[3]。

本研究采用现代荧光分析技术原理,探讨有机肥替代化学氮素后土壤 DOC 荧光特性参数的变化特征,基于平行因子分析法和荧光光谱分析土壤 DOC 荧光组分特征,研究结果为黑土区化肥减施及农田地力提升提供科学依据。

1 实验部分

1.1 试验地概况及设置

试验区位于于黑龙江省嫩江黑土保育试验站内(125°27'5"N, 49°33'35"E)。该地区平均气温为-0.3℃,年降水量为 450 mm,无霜期为 115 d,有效积温为 2 150℃,属中温带大陆性季风气候;试验地土壤类型为厚层粘底黑土,供试土壤基本理化性质详见表 1。

收稿日期: 2021-03-19, 修订日期: 2021-10-19

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFD1500204), 黑龙江省农业科学院杰出青年基金项目(2021JCQN004), 国家大豆产业体系项目(CARS-04), 国家自然科学基金项目(41771284), 黑龙江省农业科学院“农业科技创新跨越工程”项目(HNK2019CX13)资助

作者简介: 张久明, 1980 年生, 黑龙江省农业科学院土壤肥料与环境资源研究所副研究员 e-mail: zjm_8049@163.com

* 通讯作者 e-mail: fqchi2013@163.com

表 1 土壤基本化学性质

Table 1 Basic chemical properties of soil

有机质/ (g · kg ⁻¹)	全氮/ (g · kg ⁻¹)	全磷/ (g · kg ⁻¹)	全钾/ (g · kg ⁻¹)	碱解氮/ (mg · kg ⁻¹)	速效磷/ (mg · kg ⁻¹)	速效钾/ (mg · kg ⁻¹)
41.2	2.2	1.6	29.0	188.9	23.0	201.0

试验设 5 个施肥处理：(1)不施肥处理(CK)；(2)100% 有机替代化学氮肥(M)；(3)50% 有机替代化学氮肥(N₁M₁)；(4)25% 有机替代化学氮肥(N₂M₂)；(5)化学氮肥处理(N)。试验采用随机区组设计，每个小区面积 24 m²，3 次重复。商品有机肥养分含量为 N 5.05%，P₂O₅ 2.75%，K₂O 1.5%，有机质含量为 31.2%。全量化学氮肥用量为当地小麦种植常规施用量，化肥分别为尿素、过磷酸钙和硫酸钾(表 2)。根据有机肥氮素含量和化学氮肥处理氮素用量计算确定有机肥替代化肥氮素量，100% 有机替代化学氮肥(M)处理、50% 有机替代化学氮肥(N₁M₁)处理和 25% 有机替代化学氮肥(N₂M₂)处理有机肥用量分别为 1 500，750 和 375 kg · hm⁻²。各处理磷、钾肥(化肥+有机肥)用量相同，为各施肥处理中施入有机肥中磷、钾元素替代量与化肥磷、钾含量之和。有机无机肥均于播种前一次性施入。

表 2 各处理氮肥、磷肥、钾肥和有机肥施用量

Table 2 Application amount of N, P₂O₅, K₂O and organic fertilizer in each treatment

处理	有机肥/ (kg · hm ⁻²)	氮肥/ (kg · hm ⁻²)	磷肥/ (kg · hm ⁻²)	钾肥/ (kg · hm ⁻²)
CK	0	0	0	0
M	1 500	0	33.75	15.00
M ₁ N ₁	750	37.50	54.37	26.25
M ₂ N ₂	375	56.25	64.69	31.87
N	0	75.00	75.00	37.50

1.2 土样采集和试验方法

1.2.1 土样采集

2019 年 9 月 10 日小麦收获期采集 0~20 cm 表层土壤样品，采用蛇形取样法，每个小区采集 5 个样点。土样混合均匀后采用四分法留取分析样品，所采集样品自然风干后过分样筛(孔径 2 mm)，常温保存备用。

1.2.2 可溶性有机碳测定

土壤 DOC 采用去离子水震荡过滤提取法测定，故又称可溶性有机碳测定。称取 3 g 通过 60 目筛的风干土样于 50 mL 离心管中，加入 30 mL 去离子水，摇匀，置于往复震荡机中，以 250 r · min⁻¹ 转速震荡 1 h，随后在离心机中以 10 000 r · min⁻¹ 转速转 15 min，上清液过 0.45 μm 滤膜，滤液采用 Analytikjena multi N/C 2100 仪测定。

1.2.3 荧光特性测定^[4]

使用超纯水将 DOC 溶液稀释至约 15 mg · L⁻¹，以备荧光测定。荧光光谱的测定采用日立 F-7000 荧光光度计。设置激发光源 450 W 氙弧灯，光电倍增管(PMT)电压为 700 V，激发波长(Ex)扫描范围：200~490 nm，带宽 10 nm；发射波长(Em)扫描范围：250~550 nm，带宽 5 nm，扫描速度：

1 200 nm · min⁻¹。平行因子(PARAFAC)分析时，应消除水分子的散射，消除拉曼散射对荧光数据的影响。

1.3 数据分析

采用 Matlab 软件绘制三维荧光图谱，并进行 PARAFAC 分析；Origin 2019b 软件计算荧光指数(FI)^[5]：Em/Ex=370/450 和 500 nm；生物指数(BIX)：Em/Ex=310/380 和 420~435 nm 和腐殖化指数(HIX)^[6]：Em/Ex=254/435~480 和 300~345 nm。采用 Microsoft Excel 2007 进行数据计算及图表绘制，采用 SPSS 19.0 软件完成差异及相关性分析。

2 结果与讨论

2.1 土壤可溶性有机碳含量

由图 1 可知，M 处理土壤 DOC 显著高于其他处理，其含量为 325.97 mg · kg⁻¹，其次是 M₂N₂ 处理和 N 处理，其含量分别为 307.83 和 307.60 mg · kg⁻¹，M 处理土壤 DOC 含量较 M₂N₂ 处理和 N 处理增加了 5.89% 和 5.97%，处理之间差异显著($p < 0.05$)。M₁N₁ 处理和 CK 处理最低，M 处理土壤 DOC 含量较 M₁N₁ 处理和 CK 增加了 7.34% 和 7.33%，土壤 DOC 含量在各处理中含量大小顺序为 M > M₂N₂ > N > CK > M₁N₁。

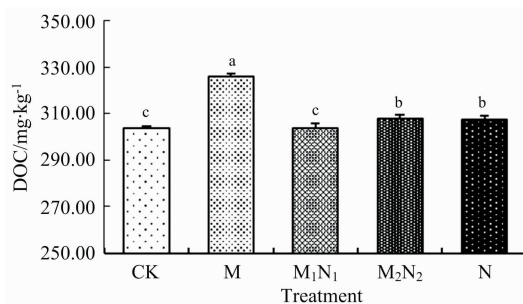


图 1 不同处理下土壤 DOC 含量

Fig. 1 Soil DOC content under different treatments

2.2 土壤 DOC 三维荧光图谱特征的变化

由图 2 可见，各处理的土壤 DOC 三维荧光区域被划分为 5 部分，区域荧光积分百分比均为 V > III > IV > II > I，处理之间差异显著。Helms 研究表明，不同区域代表不同的物质组成，区域 I 代表类酪氨酸蛋白质类物质(tyrosine-like protein)，Ex/Em=(200~250)/(200~330) nm；区域 II 代表类色氨酸芳香蛋白质类物质(tryptophan-like protein)，Ex/Em=(200~250)/(330~380) nm；区域 III 代表富里酸类物质(fulvic acid-like)，Ex/Em=(200~250)/(380~600) nm，由荧光效率高、分子量小的有机物质产生；区域 IV 代表

溶解性微生物代谢产物(soluble microbial metabolites), $Ex/Em=(250\sim600)/(200\sim380)$ nm; 区域 V 代表腐殖酸类物质(Humic-like), $Ex/Em=(250\sim600)/(380\sim600)$ nm, 由结构较为稳定、分子量大的有机物质产生^[7]。本研究各施肥处理在 I 和 IV 区域荧光积分百分比变化趋势相同, 均为 $M > CK > M_1N_1 > N > M_2N_2$ 处理; 区域 II 和 III 积分百分比以 CK 处理和 M_2N_2 处理最高, 分别为 4.21 和 21.13, 显著高于 N 和 M 处理; 区域 V 积分百分比以 N 处理最高为 66.23, 各处理的积分百分比随化学氮肥施用量的增加而增加。

不同施肥处理三维荧光图谱中除 N 处理的特征峰不明

显外, 其他处理位于 $Ex/Em=260\sim270/420\sim440$ nm 附近显示两个特征峰, 其特征峰为类腐殖酸物质。其激发波长 (Ex)/发射波长(Em)增大, 即为红移, 反之则为蓝移。与 CK 处理(Peak A 峰值: $Ex/Em=240/430$ nm; Peak C 峰值: $Ex/Em=270/440$ nm)相比, M 处理(Peak A 峰值: $Ex/Em=240/420$ nm; Peak C 峰值: $Ex/Em=260/430$ nm)类腐殖酸物质荧光峰在激发、发射波长处发生不同程度蓝移。M₁N₁($Ex/Em=260/430$ nm)、M₂N₂($Ex/Em=260/430$ nm)、N($Ex/Em=270/430$ nm)处理类腐殖酸物质荧光峰在激发、发射波长处同样发生不同程度蓝移。

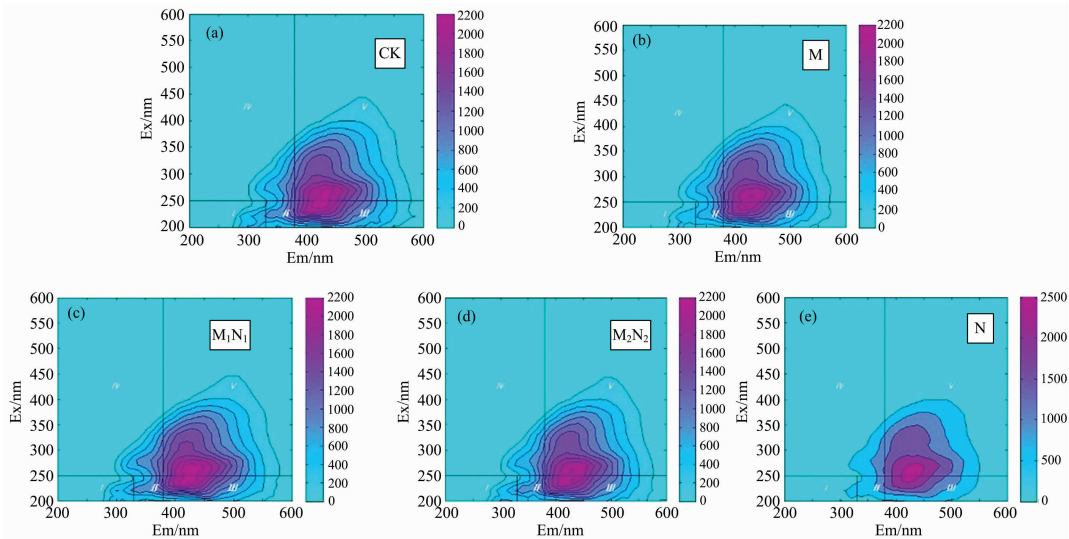


图 2 DOC 三维荧光图谱

(a): CK 处理; (b): M 处理; (c): M₁N₁ 处理; (d): M₂N₂ 处理; (e): N 处理

Fig. 2 Three-dimensional fluorescence spectra of DOC

(a): CK; (b): M; (c): M₁N₁; (d): M₂N₂; (e): N treatments

2.3 土壤 DOC 荧光光谱指数分析

采用 FI, BIX 和 HIX 表征不同有机肥替代化学氮肥比例土壤 DOC 的来源特征和腐殖化程度。FI 可反映腐殖质来源, BIX 衡量自生源有机质在所测物质中的相对百分比大小, HIX 表征有机质腐殖化程度^[8]。如表 3 所示, 各处理土壤 DOC 的 FI 分布在 1.54~1.59 范围内, 介于陆生源特征值(1.4)与自生源特征值(1.9)之间, 表明 DOC 来源受自生源和陆生源共同作用的影响, 既来自于土壤中本身, 亦有外源有机物料新近产生。各处理土壤 DOC 的 BIX 范围在 0.67~0.69, 即具有较小的自生源特性。本试验各处理土壤 DOC 的 HIX 分布在 0.80~0.84 范围内, 表明其有机质的腐殖化程度不高(HIX<1.5), 处理之间比较, M 和 M₂N₂ 处理下土壤腐质化程度相对较高。

基于平行因子分析法对土壤 DOC 样品三维荧光光谱矩阵数据进行解析, 土壤 DOC 主要为 3 个荧光组分。各处理荧光组分和荧光峰类型见表 4, 荧光组分的三维荧光光谱见图 3。组分 C1(240(320)/410 nm), C2(270(360)/470 nm)和 C3(220(280)/330 nm)均包含两个激发峰和一个发射峰。C1 分别代表紫外光区类富里酸和可见光区类富里酸, 都属于类腐殖物质; C2 同样属于腐殖酸类物质, 主要指胡敏酸; C3

为类酪氨酸蛋白质类物质。

表 3 土壤 DOC 荧光光谱指数

Table 3 Fluorescence spectrum indices of soil DOC

处理	FI ₃₇₀	BIX	HIX
CK	1.55±0.01 b	0.67±0.02 c	0.83±0.01 bc
M	1.58±0.01 a	0.68±0.01 bc	0.84±0.01 ab
M ₁ N ₁	1.54±0.03 b	0.69±0.02 bc	0.83±0.01 bc
M ₂ N ₂	1.58±0.02 a	0.67±0.01 c	0.84±0.01 a
N	1.58±0.01 a	0.69±0.01 b	0.82±0.02 c

注: CK: 不施肥; M: 有机肥替代 100% 氮肥; M₁N₁: 有机肥替代 50% 化学氮肥; M₂N₂: 有机肥替代 25% 化学氮肥; N: 100% 化学氮肥表中数值均为平均值±标准差; a, b, c: 表示不同处理间差异达 0.05 显著水平

对土壤 DOC 中 3 个有机组分的荧光强度进行分析(表 5), 结果表明, 土壤 DOC 中 3 个有机组分的相对比重以 C1 最高, 接近 50%, 表明该地区土壤中小分子物质占有较大比例。不同处理土壤 DOC 的 C1 组分荧光强度以 M 处理最高(1 990.7±76.1) R. U, 其次是 N 处理, M 和 N 处理 C1 组分荧光强度较 CK 处理分别提高 14.4% 和 8.1%, 处理之间

差异显著 ($p < 0.05$)。各处理 C2 组分荧光强度变化趋势同 C1 组分相似, 以 M 处理 C2 组分荧光强度最高为 1 357.3 R. U, 较 CK 处理提高了 23.8%, 显著高于其他处理。C3 组分中 M_2N_2 处理为 872.0 R. U, 显著高于其他处理; CK 和 N

处理 C3 组分荧光强度最低, 分别为 669.4 和 680.2 R. U。各处理总组分荧光强度显示, M 处理土壤 DOC 荧光强度为 4 095.5 R. U, 其次是 M_2N_2 处理为 3 824.1 R. U, 显著高于其他处理。

表 4 DOC 荧光组分特征

Table 4 Characteristics of different component identified

组分($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$)/nm	基本描述	参考峰($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$)/nm	荧光峰类型
C1 240(320)/410 nm	紫外光区类富里酸	(230~260 nm)/(380~460 nm)	峰 A
	可见光区类富里酸	(290~330 nm)/(370~420 nm)	峰 M
C2 270(360)/470 nm	类腐殖质(胡敏酸)	(230~260 nm)/(380~460 nm)	峰 A
		(320~360 nm)/(420~460 nm)	峰 C
C3 220(280)/330 nm	类酪氨酸(类蛋白质)	(270~280 nm)/(320~330 nm)	峰 B
		(220~230 nm)/(320~330 nm)	峰 D

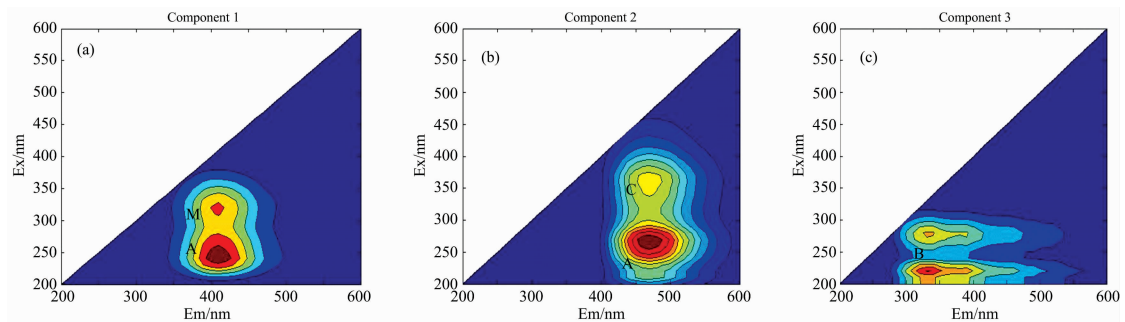


图 3 土壤 DOC 荧光组分

(a): 组分 1; (b): 组分 2; (c): 组分 3

Fig. 3 Fluorescent components of soil water-soluble organic carbon

(a): Component 1; (b): Component 2; (c): Component 3

表 5 土壤 DOC 中各有机组分的荧光强度

Table 5 Fluorescence intensity of organic components of soil DOC

处理	Component 1	Component 2	Component 3	总组分荧光强度和
CK	1 739.66 ± 37.21 c	1 096.18 ± 31.58 c	669.40 ± 30.89 c	3 505.23 ± 79.34 c
M	1 990.73 ± 76.09 a	1 357.25 ± 59.43 a	747.48 ± 35.80 b	4 095.46 ± 99.01 a
M_1N_1	1 711.72 ± 80.63 c	1 109.99 ± 48.05 c	706.81 ± 39.73 bc	3 528.51 ± 166.34 c
M_2N_2	1 752.59 ± 71.38bc	1 199.48 ± 46.48 b	872.03 ± 49.62 a	3 824.10 ± 145.19 b
N	1 879.71 ± 72.00 ab	1 216.34 ± 57.14 b	680.24 ± 14.69 c	3776.28 ± 125.89 b

注: 同表 3

3 结论

(1) 本试验条件下研究表明, 有机无机肥配施各处理土壤 DOC 三维荧光图谱中荧光峰各波长较 CK 处理均有不同程度蓝移, M_2N_2 处理土壤 DOC 荧光结构较 CK 处理变化最大, 说明土壤 DOC 中腐殖质含量增加。

(2) 各处理土壤 DOC 的 FI 分布在 1.54~1.59 范围内, 说明 DOC 来源受自生源和陆生源共同作用的影响, 既来自于土壤中自身, 亦有外源有机物料新近产生。M 处理与 M_2N_2 处理土壤 DOC 的 HIX 相对较高, 表明腐质化程度最

高, 同时也说明适量的有机肥配施化学氮肥能够增加土壤碳储量。

(3) 平行因子分析(PARAFAC)法分析绘制荧光图谱结果表明, 不同施肥处理对土壤中 DOC 的影响不同, 合理的有机肥配施化学氮肥提高土壤中类蛋白组分含量, 增加 DOC 的有效性, 提升土壤供肥能力。 M_2N_2 处理 C3 组分较高, 代表类蛋白(类酪氨酸类物质)为小分子物质占有较大比例, 表明施肥能够提高土壤腐质化程度, 有利于土壤 DOC 固定。基于土壤 DOC 荧光光谱特性分析可知, 有机肥替代无机氮肥 75% (M_2N_2 处理)为最佳有机无机肥配比。

References

- [1] SHEN Hong, CAO Zhi-hong, HU Zheng-yi(沈宏, 曹志洪, 胡正义). Chinese Journal of Ecology(生态学杂志), 1999, 18(3): 32.
- [2] Kalbitz K, Solinger S, Park J H, et al. Soil Science, 2000, 165(4): 277.
- [3] YU Wan-tai, MA Qiang, ZHAO Xin, et al(宇万太, 马强, 赵鑫, 等). Chinese Journal Ecology(生态学杂志), 2007, 26(12): 2013.
- [4] LI Yan, BAI Yang, WEI Dan, et al(李艳, 白杨, 魏丹, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2021, 41(11): 3518.
- [5] Li S Y, Li M, Wang G X, et al. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 2019, 6(1): 20.
- [6] Gao X T, Tan W B, Zhao Y, et al. Environmental Science and Technology, 2019, 53: 3653.
- [7] Helms J R, Stubbins A, Ritchie J D, et al. Limnology and Oceanography, 2008, 53(3): 955.
- [8] Li S Y, Li M, Wang G X, et al. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 2019, 6(1): 20.

Fluorescence Spectrum Characteristics of DOC in Black Soil Under Organic Substitution of Chemical Nitrogen Fertilizer

ZHANG Jiu-ming¹, KUANG En-jun¹, CHI Feng-qin^{1*}, LIU Yi-dan⁴, ZHOU Bao-ku¹, XIA Xiao-yu³, WANG Xiao-jun¹, SUN Lei¹, CHANG Ben-chao¹, WEI Dan²

1. Institute of Soil, Fertilizer and Environmental Resources, Key Laboratory of Black Soil Protection and Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Harbin 150086, China
2. Institute of Plant Nutrition and Environmental Resources, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China
3. Soybean Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China
4. College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

Abstract The combined application of organic and inorganic fertilizer is an effective measure to improve soil fertility and reduce the application of inorganic fertilizer. In order to investigate the effect of organic fertilizer instead of inorganic fertilizer (nitrogen fertilizer) on the content and structure of DOC in black soil area, different proportions of organic fertilizer instead of chemical nitrogen fertilizer were used to analyze the content and fluorescence spectrum characteristics of DOC. The results showed that the content of DOC in M treatment was $325.97 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, which was significantly higher than that in other treatments. Compared with CK treatment, the fluorescence peak wavelength of each fertilization treatment decreased to different degrees. DOC's fluorescence index (FI) ranged from 1.54 to 1.59, and the humification index (Hix) of DOC in all treatments was less than 0.85, indicating that soil DOC was affected by both authigenic and terrestrial sources, and the degree of soil humification was low. A parallel factor analysis identified three fluorescent components: two humus components (fulvic acid like substance and humic acid like substances) and one protein like component (tyrosine like protein substance). The fluorescence intensity of the three components in each fertilization treatment was higher than that in the CK treatment. Among them, the total fluorescence intensity of soil DOC under M and M_2N_2 treatments were higher, and the fluorescence intensity of the C3 component under M_2N_2 treatment was the highest. The relative proportion of three organic components in soil DOC was the highest in C1 (close to 50%), indicating that small molecular substances accounted for a large proportion in the soil. The application of fertilizer can improve the degree of soil humification, which was conducive to the fixation of soil DOC. And the reasonable application of organic fertilizer combined with chemical nitrogen fertilizer can increase the availability of DOC and improve the ability of soil fertilizer supply.

Keywords Black soil; Combined application of organic and inorganic fertilizers; Dissolved organic carbon; Three-dimensional fluorescence spectroscopy

(Received Mar. 19, 2021; accepted Oct. 19, 2021)

* Corresponding author