

DOI: 10.11766/trxb201612280235

# 长施马粪对暗棕壤团聚体腐殖质数量和质量的影响\*

关松<sup>1</sup> 窦森<sup>1, 2†</sup> 马丽娜<sup>1, 3</sup> 温晓辉<sup>1</sup> 周鑫<sup>4</sup> 刘金华<sup>1</sup>  
王研<sup>5</sup> 徐雅婧<sup>1</sup>

(1 吉林农业大学资源与环境学院, 吉林省商品粮基地土壤资源可持续利用重点实验室, 长春 130118)

(2 土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

(3 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 长春 130102)

(4 黑龙江省农业科学院黑河分院, 黑龙江黑河 164300)

(5 吉林农业大学工程技术学院, 长春 130118)

**摘要** 运用元素和红外光谱分析研究了暗棕壤长期施用马粪(每3年施肥1次)、施低量化肥和与马粪配施高量化肥对水稳性大团聚体(>2 mm和2~0.25 mm)、微团聚体(0.25~0.053 mm)和粉/黏粒粒级(<0.053 mm)中腐殖物质-胡敏酸(HA)的分布及其结构特征的影响,探讨施肥对农田土壤肥力的贡献及其团聚体的固碳机制。施用马粪和马粪配施高量化肥分别提高(49.06%)和降低(31.04%)了2~0.25 mm大团聚体比例,3种施肥措施均提高了土壤有机碳(SOC)数量,但对土壤HA数量影响不显著。不同施肥措施对不同粒级团聚体中HA的分子结构特征影响不同,3种施肥措施均降低了2~0.25 mm大团聚体HA的缩合度,芳香性增加;微团聚体HA缩合度降低,脂族性增强;施用马粪提高了粉/黏粒HA的缩合度和脂族性,马粪配施高量化肥提高了粉/黏粒HA的缩合度和芳香性,施用低量化肥,粉/黏粒HA缩合度下降,芳香性提高。因此,长施马粪提高了土壤SOC数量,促进2~0.25 mm大团聚体的形成,大团聚体中HA的稳定性提高,利于土壤固碳,而0.25~0.053 mm微团聚体和<0.053 mm粉/黏粒HA的活性增强,利于土壤肥力供给,这些团聚体是评估长施马粪对腐殖质质量产生影响的重要粒级。

**关键词** 马粪; 胡敏酸; 团聚体; 傅里叶变换红外光谱; 元素分析

**中图分类号** S153.62; S152.48 **文献标识码** A

土壤有机碳(SOC)的数量和化学组成受管理与施肥措施影响,传统土壤耕作下密集的种植引起SOC的矿化和退化,而减少耕作、施有机肥和植物残体还田会提高SOC的数量和质量。施入土壤的有机物料大部分被微生物分解,部分未被彻底分解成CO<sub>2</sub>的输入C通过腐殖化过程被转化成腐殖

物质<sup>[1]</sup>。SOC大约占全球土壤C的62%,其中至少有50%的SOC是腐殖物质,由难分解的化学成分构成,根据可提取腐殖物质在不同pH条件下的溶解度不同常被分组为富里酸和胡敏酸(HA)<sup>[2]</sup>。与富里酸相比,HA分子结构复杂,分子量较大,芳化度较高,富含脂肪族与芳香族的结构,能抗微生物

\* 国家自然科学基金项目(41571231)、吉林省科技发展计划项目(20170101162JC)和吉林省教育厅科学技术项目(JJKH20170313KJ)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 41571231), the Science and Technology Development Project of Jilin Province (No. 20170101162JC) and the Science and Technology Project of the Education Department of Jilin Province (No. JJKH20170313KJ)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: dousen1959@126.com

作者简介: 关松(1969—),女,辽宁抚顺人,博士,副教授,主要从事土壤环境与生物化学研究。E-mail: guansong8888@163.com

收稿日期: 2016-12-28; 收到修改稿日期: 2017-05-01; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-05-11

物分解<sup>[1]</sup>，在SOC固定、养分贮蓄和土壤结构的保持方面具有重要作用。

SOC被保护而免于分解是通过4个机制：（1）吸附在黏土上（化学保护），（2）进入团聚体内（物理保护），（3）转移和储存在地下，尤其是B层，（4）经过生物化学的转化产物（如：腐殖物质）能够抗微生物分解（生物化学保护）<sup>[3]</sup>。土壤团聚体是土壤的基本结构单位，有机质是团聚体形成的重要有机胶结物质<sup>[4]</sup>，由于具有不同孔隙数量和大小的团聚体微观结构的复杂性，减少了微生物可利用的基质、胞外酶和氧气，通过物理性保护有利于SOC的稳定与积累<sup>[5]</sup>。除了有机质被闭蓄在团聚体内得到物理保护外，有机质通过化学吸附到黏粒矿物表面以及有机质与矿物之间的多价阳离子桥的连接而使SOC稳定<sup>[6]</sup>。此外，土壤团聚体也是SOC通过生物化学转化机制形成腐殖物质的场所，腐殖物质富含各种官能团并与矿物表面相互作用，能抗微生物分解，是主要的固碳物质<sup>[7]</sup>。腐殖物质只有被禁锢在团聚体中，才能保持其持久性；反过来，由腐殖物质参与形成的团聚体会变得更加稳定，这可能是土壤固碳的最重要机制<sup>[8]</sup>。

土壤施用猪、牛等粪肥在增加SOC数量、养分有效性等方面的优越性已是众所周知<sup>[9-11]</sup>，猪粪有机质和N含量较高，碳氮比较小，易分解，牛粪有机质含量与猪粪相近，但低于马粪，其他养分含量接近马粪<sup>[12]</sup>，属迟效性肥料。而马粪的有机质和N、P、K养分含量均较高，施用马粪能增加养分有效性，养分淋滤相对减少<sup>[12-14]</sup>，腐殖物质的芳香性增强<sup>[15]</sup>。从植物营养角度出发，马粪是很有价值的资源，可作为肥料和土壤改良剂应用在农业土壤中<sup>[12]</sup>。结合土壤固碳机制，Brunetti等<sup>[16]</sup>和Mao等<sup>[17]</sup>研究了施用猪、牛粪土壤腐殖物质的化学组成变化，发现HA分子结构的芳香-C减少，甲氧基-C增加，富含非极性烷基化合物；朱姝等<sup>[18]</sup>和崔婷婷等<sup>[19]</sup>曾对施入玉米秸秆土壤及其团聚体中SOC以及腐殖质的数量及其结构特征展开了研究，但关于施用粪肥对土壤团聚体中SOC及其腐殖物质的数量和质量影响研究较少。

土壤施用有机肥后，测定腐殖物质的数量和性质常被认为是评价土壤有机质质量、熟化度和稳定性的良好指标<sup>[15]</sup>，而SOC的稳定机制是与其化学

结构组成以及团聚体的保护机制密切相关的<sup>[1]</sup>。本文通过元素组成和红外光谱分析研究了长期施用马粪、马粪配施高量化肥对暗棕壤团聚体中腐殖物质-HA的数量及其结构特征的影响，探讨暗棕壤施用马粪后不同粒径团聚体的固碳机制及其对农田土壤肥力的贡献。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 研究区概况

长期定位试验于黑龙江省黑河市农业科学院土壤肥料基地进行。研究区处于北纬47°42′至51°03′，东经124°45′至129°18′之间，属高纬寒地。作物生育5—9月期间气温较高，昼夜温差大，降雨集中，降雨量为350~450 mm，占全年降雨总量的75%，日照时数2 562~2 677 h，日照时间充足，有效积温可达1 950~2 300 °C，可以满足春小麦和大豆生长发育的要求。土壤类型为暗棕壤，相当于美国土壤系统分类的暗沃冷凉湿润雏形土（Humic crypts）。1979年试验开始时0~20 cm土壤有机质42.2 g kg<sup>-1</sup>，全氮2.23 g kg<sup>-1</sup>，全磷1.66 g kg<sup>-1</sup>，水解氮55.9 mg kg<sup>-1</sup>，速效磷8.10 mg kg<sup>-1</sup>，速效钾55.5 mg kg<sup>-1</sup>，pH 6.12，土壤质地为黏壤土<sup>[20]</sup>。2011年10月采样时，0~20 cm未施肥对照土壤有机质34.5 g kg<sup>-1</sup>，全氮2.20 g kg<sup>-1</sup>，全磷0.42 g kg<sup>-1</sup>，pH 5.70。

### 1.2 试验设计

试验设4个处理，分别为对照（CK）、马粪（M）、低量化肥（N1P1）和马粪配施高量化肥（M+N2P2）。供试肥料：氮肥为尿素，磷肥为过磷酸钙，有机肥为马粪（含有机质175 g kg<sup>-1</sup>，全氮5.80 g kg<sup>-1</sup>，全磷3.00 g kg<sup>-1</sup>，全钾2.40 g kg<sup>-1</sup>）。施肥量为，CK：不施肥；M：每3年于秋季施用1次，施入耕层0~20 cm，用量为15 000 kg hm<sup>-2</sup>；N1P1：纯N 37.5 kg hm<sup>-2</sup>+P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 37.5 kg hm<sup>-2</sup>；M+N2P2：马粪15 000 kg hm<sup>-2</sup>+纯N 150 kg hm<sup>-2</sup>+P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 150 kg hm<sup>-2</sup>。小区面积212 m<sup>2</sup>，每区8垄，垄长30 m，垄距70 cm，随机排列，3次重复。1979年起小麦-小麦-大豆轮作，1990年改为小麦-大豆轮作，小麦品种为“克旱9”，大豆品种为“黑河系列”（采样时为“黑河43号”）。2011年10月采集土壤样品，每个小区5点采样，混合，采样深

度为耕层0~20 cm。

### 1.3 团聚体分级

团聚体分级采用湿筛法<sup>[21]</sup>, 称取风干土样50 g, 置于孔径分别为2、0.25和0.053 mm组成的机械自动振荡套筛的最上层(筛子直径: 18 cm), 于室温下蒸馏水浸润5 min, 以30次 $\text{min}^{-1}$ 速度在蒸馏水中振荡2 min, 上下振幅为3 cm, 将筛上的团聚体冲洗到烧杯中, 获得>2和2~0.25 mm大团聚体, 0.25~0.053 mm微团聚体。<0.053 mm粉/黏粒粒级需在桶内沉降72 h, 虹吸弃去上清液后, 将团聚体转移至烧杯中。所获各级团聚体, 于50℃条件下烘干, 称重。

### 1.4 胡敏酸提取与纯化

HA提取(用于定量): 称取某一粒级团聚体土壤, 加入蒸馏水(土:水=1:10)70℃恒温振荡、离心、过滤, 除去水浮物, 再加入0.1 mol  $\text{L}^{-1}$  NaOH +  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  (土:液=1:10), 70℃恒温振荡1 h, 离心、过滤, 得到可提取腐殖物质(上清液), 用0.5 mol  $\text{L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$ 调节pH为1.0~1.5, 70℃下保温1~2 h, 静置24 h, 过滤, 沉淀为HA, 用温热的0.05 mol  $\text{L}^{-1}$  NaOH溶解HA后, 液体HA含碳量采用TOC-V CPH测定。

HA提取与纯化(用于定性): 称取某一粒级团聚体土壤, 加入蒸馏水振荡过滤除去水浮物, 加入0.1 mol  $\text{L}^{-1}$  NaOH+ $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  (土:液=1:10), 常温下振荡1 h, 静置24 h, 将提取液用虹吸法吸出。用2.5 mol  $\text{L}^{-1}$ 的HCl调节提取液至pH=1.5, 70℃下保温1~2 h, 静置24 h, 离心, 离心管中的残渣用0.1 mol  $\text{L}^{-1}$  NaOH溶解, 得到溶液即HA。将HA高速离心去除黏粒, 转入电渗析仪纯化, 然后通过旋转蒸发(50~60℃)浓缩后, 用ALPHA 1-4/2-4冷冻干燥机冻干, 制得HA纯样品, 用于HA的红外光谱及元素分析。

### 1.5 样品分析与测定

全土及团聚体内HA纯样品的C、H、N含量采用德国VARIO EL-III型元素分析仪测定, 应用CHN模式, O含量采用差减法计算。

傅里叶变换红外光谱(FTIR)采用KBr压片法测定(美国NICOLET EZ360红外光谱仪)。将待测HA纯化样品经红外灯干燥后, 粉碎研磨<2  $\mu\text{m}$ , 与KBr粉末以1:200的比例, 在玛瑙研钵中混磨后压片。扫描范围4 000~400  $\text{cm}^{-1}$ , 分辨率4  $\text{cm}^{-1}$ ,

32次扫描重复, 扫描间隔为2  $\text{cm}^{-1}$ 。峰面积计算使用Omic Version 8.0软件包。

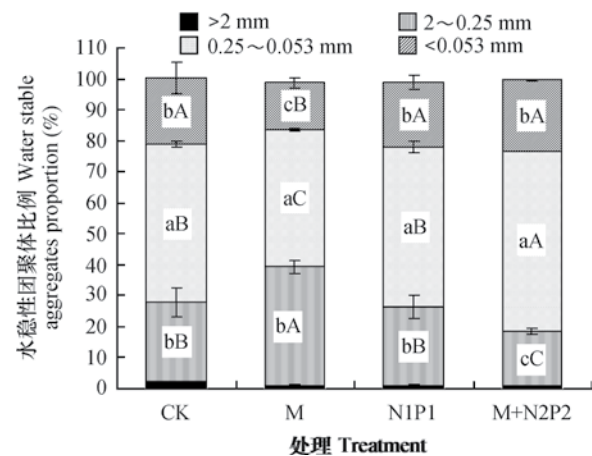
### 1.6 数据处理

数据采用Excel 2003和SPSS 17.0软件进行数据分析处理, 团聚体比例、SOC和HAC含量差异性分析采用单因素方差分析LSD方法进行5%水平的差异显著性分析。

## 2 结 果

### 2.1 暗棕壤团聚体组成和有机质数量

根据图1, 各处理土壤团聚体组成中, 均以0.25~0.053 mm微团聚体为主(44.21%~57.88%), 为优势粒级。>2 mm团聚体所占比例极少(0.12%~2.11%)。与CK相比, 马粪处理(M)2~0.25 mm大团聚体含量较CK高49.06%, 0.25~0.053 mm微团聚体和<0.053 mm粉/黏粒含量分别较CK低13.55%和28.95%。马粪配施高量化肥处理(M+N2P2)2~0.25 mm大团聚体含量较CK低31.04%, 0.25~0.053 mm微团聚体较CK高13.18%。施用低量化肥(N1P1)对暗棕壤团聚体组成无影响。



注: 大写字母表示相同粒级团聚体在不同施肥处理之间差异显著( $p < 0.05$ ); 小写字母表示在相同施肥处理中不同粒级团聚体之间差异显著( $p < 0.05$ )。下同 Note: Different upper case letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between treatments the same in aggregate fraction. Different lower case letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between aggregates different in size fractions. The same below

图1 土壤团聚体组成

Fig. 1 Soil aggregates composition

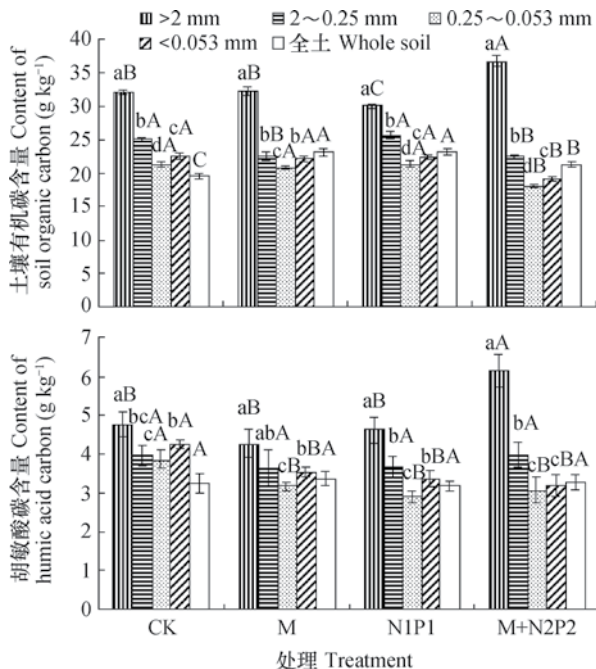


图2 土壤团聚体中有机碳和胡敏酸碳含量

Fig. 2 Contents of soil organic carbon and humic acid carbon in soil aggregates

由图2可知,与CK相比,M、N1P1和M+N2P2处理全土SOC较CK分别高出18.51%、18.66%和8.64%,差异显著( $p < 0.05$ ),施肥(无论是有机肥还是化肥)增加了土壤SOC数量,但对于土壤HA数量没有产生影响。不同粒级团聚体相比,各处理均表现为: SOC和HA含量在 $> 2$  mm大团聚体中最高,在 $0.25 \sim 0.053$  mm微团聚体中最少(图2)。不同处理之间相比,M+N2P2处理 $> 2$  mm大团聚体中SOC和HA含量高于其他处理,M、N1P1和M+N2P2处理中 $0.25 \sim 0.053$ 和 $< 0.053$  mm粒级中HA含量分别低于CK,表明不同处理之间相比,马粪配施高量化肥有利于 $> 2$  mm大团聚体中HA的形成,而施用马粪、低量化肥及马粪配施高量化肥则促进 $< 0.25$  mm微团聚体( $0.25 \sim 0.053$ 和 $< 0.053$  mm)中HA的分解。

## 2.2 暗棕壤团聚体中胡敏酸元素组成

鉴于图1中 $> 2$  mm团聚体含量仅为0.12%~2.11%,含量微小,以下研究仅针对 $2 \sim 0.25$  mm大团聚体、 $0.25 \sim 0.053$  mm微团聚体和 $< 0.053$  mm粉/黏粒进行研究。

在元素分析中,H/C、O/C的摩尔比值是表征腐殖物质缩合程度和氧化程度的指标,H/C和O/C的摩尔比值分别与缩合程度成反比和与氧化程度成正比<sup>[22]</sup>。

根据表1,对于CK, $< 0.053$  mm粉/黏粒HA的H/C摩尔比值最大,分别较 $2 \sim 0.25$ 和 $0.25 \sim 0.053$  mm团聚体高5.51%和7.83%。O/C摩尔比值随着团聚体粒级减小而减少, $2 \sim 0.25$  mm大团聚体O/C摩尔比值分别较 $0.25 \sim 0.053$ 和 $< 0.053$  mm高26.32%和36.36%(表1)。表明未施肥暗棕壤的各级团聚体之间相比, $< 0.053$  mm粉/黏粒组分HA的缩合度和氧化度最低,HA活性强; $2 \sim 0.25$  mm大团聚体HA的缩合度和氧化度较高, $0.25 \sim 0.053$  mm微团聚体HA缩合度最高,HA最稳定。

不同施肥处理与CK相比,M和M+N2P2处理 $< 0.053$  mm粉/黏粒HA的H/C摩尔比值分别较CK低4.48%和4.82%, $2 \sim 0.25$ 和 $0.25 \sim 0.053$  mm高于CK 6.05%~10.11%(表1),表明暗棕壤添加马粪和马粪配施高量化肥提高了 $< 0.053$  mm粉/黏粒HA的缩合度, $2 \sim 0.25$ 和 $0.25 \sim 0.053$  mm团聚体HA的缩合度降低,活性增强;N1P1处理3个粒级HA的H/C和N/C摩尔比值分别高于CK 7.20%~11.19%和3.19%~12.98%,表明低量化肥的施用使 $2 \sim 0.25$ 、 $0.25 \sim 0.053$ 和 $< 0.053$  mm团聚体HA分子的缩合度下降,含氮基团增加,活性增强。

## 2.3 暗棕壤团聚体中胡敏酸的红外光谱

腐殖物质红外光谱主要吸收峰的峰位及其归属为<sup>[22]</sup>:  $3400 \text{ cm}^{-1}$ 为 $\text{H}_2\text{O}$ 分子的-OH伸缩振动或氢键缔结, $2920$ 与 $2850 \text{ cm}^{-1}$ 为不对称与对称脂族C-H伸缩振动, $1720 \text{ cm}^{-1}$ 为羧基的C=O伸缩振动, $1620 \text{ cm}^{-1}$ 为芳香C=C伸缩振动, $1400 \text{ cm}^{-1}$ 为脂族C-H变形振动, $1230 \text{ cm}^{-1}$ 为酰胺、羧基中-OH的变形振动和C-O伸缩振动, $1034 \text{ cm}^{-1}$ 为多糖或类多糖物质的C-O伸缩与硅氧化合物的Si-O伸缩振动。采用Omic Version 8.0分析软件计算腐殖物质主要官能团的吸收峰峰面积,用某一峰的面积占特征峰面积的百分比(相对强度)来相对地反映该峰所对应的官能团的比例,并用 $2920/1720$ 和 $2920/1620$ 特征比值来反映腐殖质分子的脂族链炔碳/羧基碳和脂族链炔碳/芳香碳的比值。

就CK处理团聚体的HA红外光谱而言,不同粒级团聚体之间相比, $2 \sim 0.25$  mm大团聚体中HA的吸收峰在 $2920$ 、 $2850$ 和 $1720 \text{ cm}^{-1}$ 处伸缩振动较为强烈(图3),吸收峰的相对强度较高(表2),但在 $1620 \text{ cm}^{-1}$ 处吸收峰振动最弱(图3),峰强最低(表2),其 $2920/1620$ 特征比值最高

表1 土壤团聚体中胡敏酸的元素组成 (不含水分与灰分)

Table 1 Elemental composition of humic acid in soil aggregates (oven-dry and ash free basis)

处理 Treatment	团聚体粒级 Aggregates size fraction (mm)	C (g kg <sup>-1</sup> )	H (g kg <sup>-1</sup> )	N (g kg <sup>-1</sup> )	O (g kg <sup>-1</sup> )	摩尔比 Mole ratio		
						H/C	N/C	O/C
CK	2~0.25	544.7	75.84	49.43	330.1	1.671	0.0778	0.4545
	0.25~0.053	586.5	79.92	52.26	281.3	1.635	0.0764	0.3598
	<0.053	593.0	87.13	56.37	263.5	1.763	0.0815	0.3333
M	2~0.25	555.8	85.22	55.00	303.9	1.840	0.0848	0.4101
	0.25~0.053	568.6	82.18	58.87	290.3	1.734	0.0887	0.3829
	<0.053	556.8	78.14	52.33	312.7	1.684	0.0806	0.4212
N1P1	2~0.25	579.7	88.73	59.42	272.1	1.837	0.0879	0.3520
	0.25~0.053	582.5	88.26	58.01	271.2	1.818	0.0854	0.3492
	<0.053	577.1	90.88	56.65	275.3	1.890	0.0841	0.3578
M+N2P2	2~0.25	607.7	85.40	50.38	256.6	1.686	0.0711	0.3167
	0.25~0.053	563.4	83.55	54.39	298.7	1.780	0.0827	0.3977
	<0.053	575.1	80.44	55.82	288.6	1.678	0.0832	0.3763

(表 2), 分别较 0.25~0.053 和 <0.053 mm 粒级高 4.79 倍和 1.52 倍。<0.053 mm 粉/黏粒在 2 920、2 850 和 1 620 cm<sup>-1</sup> 处振动最强烈 (图 3), 吸收峰相对强度最高 (表 2), 0.25~0.053 mm 微团聚体在 2 920、2 850 cm<sup>-1</sup> 处峰强最低, 1 620 cm<sup>-1</sup> 处峰强较高 (表 2), 2 920/1 620 特征比值最小 (表

2)。表明未施肥暗棕壤中大团聚体 (2~0.25 mm) HA 的脂族链烃碳/芳香碳比值高于微团聚体 (0.25~0.053 mm) 和粉/黏粒 (<0.053 mm), 脂族性最高, 微团聚体 HA 的脂族链烃碳/芳香碳比值最小, 芳香性最强。

与 CK 相比, 对于 2~0.25 mm 大团聚体而

表2 土壤团聚体中胡敏酸红外光谱主要吸收峰的相对强度

Table 2 Relative intensity of the main absorption peaks in FTIR spectra of humic acid in soil aggregates

处理 Treatment	团聚体粒级 Aggregates size fraction (mm)	相对强度 Relative intensity (%)					比值 Ratio	
		2 920 cm <sup>-1</sup>	2 850 cm <sup>-1</sup>	1 720 cm <sup>-1</sup>	1 620 cm <sup>-1</sup>	1 034 cm <sup>-1</sup>	2 920/ 1 720	2 920/ 1 620
CK	2~0.25	15.64	3.93	7.86	7.95	64.62	1.99	1.97
	0.25~0.053	3.88	0.59	3.23	11.47	80.83	1.20	0.34
	<0.053	16.49	4.09	2.33	21.14	55.95	7.08	0.78
M	2~0.25	29.40	7.23	8.48	19.51	35.38	3.47	1.51
	0.25~0.053	6.36	1.30	2.01	17.53	72.82	3.16	0.36
	<0.053	43.59	11.49	9.38	14.66	20.87	4.65	2.97
N1P1	2~0.25	21.47	5.42	4.60	22.7	45.81	4.67	0.95
	0.25~0.053	11.27	2.57	3.01	19.91	63.25	3.74	0.57
	<0.053	7.87	1.74	2.32	19.02	69.05	3.39	0.41
M+N2P2	2~0.25	14.16	3.20	2.82	21.21	58.62	5.02	0.67
	0.25~0.053	10.53	2.37	3.22	18.21	65.68	3.27	0.58
	<0.053	18.47	3.68	1.67	44.51	31.67	11.06	0.41



言, 各施肥处理HA的吸收峰在2 920、2 850和1 620  $\text{cm}^{-1}$ 处, 峰形尖锐且伸缩振动均较CK强烈(图3), 2 920/1 620特征比值较CK减少了23.35%~70.56%(表2), 尽管施肥处理同时增加了2~0.25 mm团聚体HA的脂族链烃碳和芳香碳含量, 但2 920/1 620特征比值结果表明施肥降低了脂

族链烃碳/芳香碳的比值, 2~0.25 mm团聚体HA的芳香性增强。在1 034  $\text{cm}^{-1}$ 处, N1P1与M+N2P2处理较CK伸缩振动加强(图3), HA多糖增加。因此, 对于大团聚体(2~0.25 mm)而言, 3种施肥处理均增强了HA的芳香性, 低量化肥与高量化肥配施马粪增加了HA的多糖含量。

对于0.25~0.053 mm微团聚体, CK处理中, HA吸收峰在2 920、2 850、1 720和1 620  $\text{cm}^{-1}$ 处伸缩振动极弱(图3), 峰强极低(表2)。与CK相比, 3种施肥处理均显著加强了2 920、2 850和1 620  $\text{cm}^{-1}$ 处吸收峰的伸缩振动(图3), 峰强均增加(表2); 在1 034  $\text{cm}^{-1}$ 处吸收峰振动强于CK, 尤以M处理显著。2 920/1 720和2 920/1 620特征比值均较CK分别增加了1.63倍~2.12倍和5.88%~70.59%(表2)。3种施肥措施使微团聚体(0.25~0.053 mm)中HA的脂族性增强, 多糖含量增加。

对于<0.053 mm粉/黏粒而言, M处理在2 920、2 850和1 720  $\text{cm}^{-1}$ 处吸收峰伸缩振动较CK加强(图3), 峰强分别增加了1.64倍、1.81倍和3.02倍(表2), 1 620  $\text{cm}^{-1}$ 处吸收峰较CK振动减弱(图3)峰强减少了30.65%(表2), 2 920/1 620特征比值较CK增加了2.81倍(表2), 而N1P1与M+N2P2处理在1 620、1 034  $\text{cm}^{-1}$ 处吸收峰强振动加强(图3), 2 920/1 620特征比值较CK下降了47.44%(表2)。表明马粪的施用增加了粉/黏粒(<0.053 mm)中HA的脂族性, 而施用低量化肥及马粪配施高量化肥处理则显著提高了该粒级HA的芳香性和多糖含量。

### 3 讨论

#### 3.1 施肥对暗棕壤团聚体组成和有机质数量的影响

本研究表明, 暗棕壤团聚体组成以0.25~0.053 mm微团聚体为主(图1), 这应归因于耕作的结果<sup>[23]</sup>。暗棕壤长施马粪显著提高了2~0.25 mm大团聚体的比例(图1), 大量研究<sup>[24-26]</sup>已经表明, 施用有机肥能够促进>0.25 mm大团聚体的形成。关于长期施用化肥对土壤结构的影响研究结果不尽一致<sup>[25-26]</sup>, 本研究表明, 施低量化肥对暗棕壤团聚体组成无影响, 但马粪配施高量化肥使2~0.25 mm大团聚体减少, 0.25~0.053 mm微团聚体增加, 与贾伟<sup>[27]</sup>的研究一致, 或许归因于

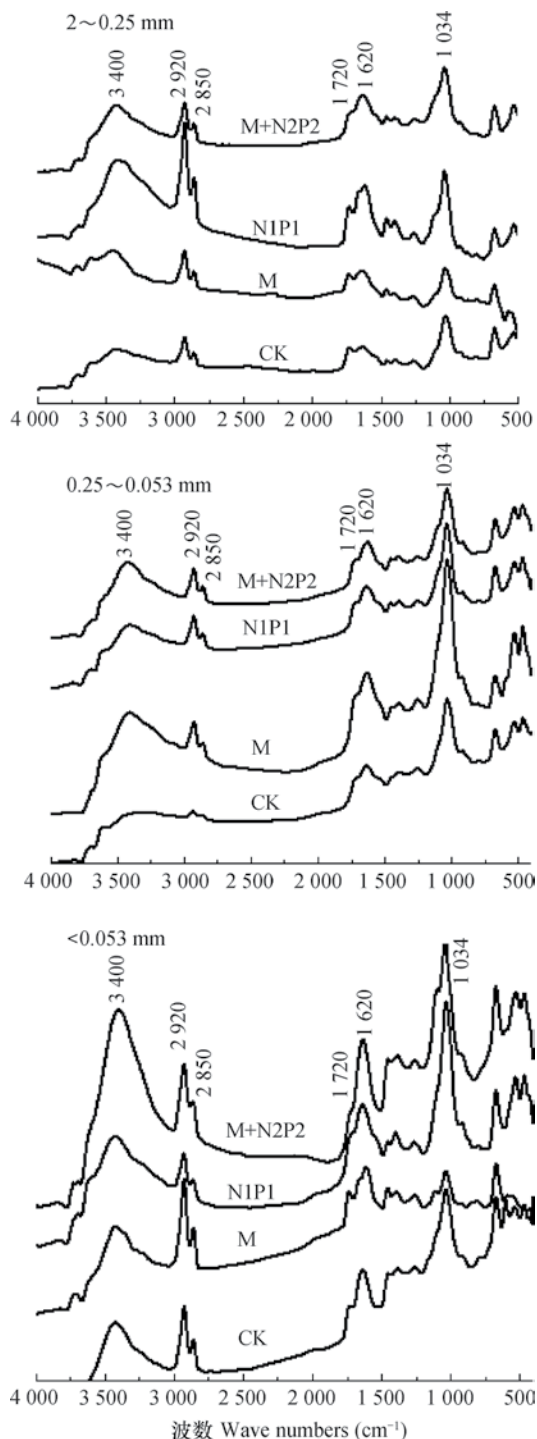


图3 土壤团聚体中胡敏酸的傅里叶变换红外光谱  
Fig. 3 FTIR spectra of humic acid in soil aggregates

高量施用化肥对大团聚体结构具有破坏作用。由于田间试验受土壤类型、气候、作物种类、化肥施量和耕作等多种因素的影响, 施用化肥对土壤结构影响如何, 还有待于进一步研究验证。

无论施用马粪还是化肥均提高了SOC数量(图2), 施有机肥能提高SOC数量<sup>[1, 24-26]</sup>, 苗淑杰等<sup>[24]</sup>的研究结果也表明施用NPK化肥能提高SOC数量, 与本研究一致。这或许是施化肥能促进作物产量增加, 相应的提高进入土壤的生物量, 从而增加SOC。>2 mm大团聚体中SOC与HA含量分别较其他团聚体高16.98%~103.6%和12%~100%, 在微团聚体中含量最低(图2), 按照Tisdall和Oades<sup>[4]</sup>关于土壤团聚体结构的多级形成理论, 微团聚体和粉/黏粒在不同来源的有机胶结物质(也包括来源于作物残体的粗颗粒有机质)的作用下胶结形成大团聚体, 随着团聚体粒级增加, SOC增加。在农田耕作系统中, 进入土壤的凋落物或植物根系分泌物等有机物质更多的是被团聚进入到大团聚体中, 新鲜有机物能频繁地参与到大团聚体形成过程中<sup>[28]</sup>。因此, 通常大团聚体比微团聚体包含较高的土壤有机质, 在生物化学转化作用下, >2 mm大团聚体更有利于HA的形成。有研究表明, 在>2 mm大团聚体中, 来自于<sup>14</sup>C麦秸转化形成的HA-<sup>14</sup>C高于其他粒级团聚体<sup>[29]</sup>。需要提及的是, <0.053 mm粒级由粉粒与黏粒组成, 具有较大的比表面积和较高的永久表面电荷, 能够吸附和稳定有机碳<sup>[30]</sup>, 因此, <0.053 mm粉/黏粒中SOC和HA含量高于0.25~0.053 mm微团聚体。

有研究<sup>[15]</sup>认为, 马粪及其堆肥成分是以腐殖化化合物为特征, 但本研究中, 长期施用马粪对暗棕壤HA数量没有产生显著影响(图2), 或许归因于, 一是施用马粪数量(15 000 kg hm<sup>-2</sup>)和低频率(3年施肥1次); 二是不排除“激发效应”的产生。Tian等<sup>[28]</sup>室内培养研究表明, 在土壤团聚体中加入<sup>14</sup>C标记葡萄糖, 随着葡萄糖数量增加, “激发效应”增加, 一方面, 马粪分解转化形成“新的”HA, 另一方面, 马粪的添加“刺激”了土壤原有“老的”HA分解, 分解损耗的HA能被新形成的HA弥补。也有相似的研究发现, 施用液体猪粪3~4年(每年1次), 尽管持续施肥, 但因长期矿化, 腐殖物质总体减少<sup>[17]</sup>; 而秸秆深还土壤HA含量虽有高于对照土壤的趋势, 但差异也不显著<sup>[19]</sup>。

### 3.2 施肥对暗棕壤团聚体胡敏酸结构的影响

对于未施肥(CK)暗棕壤而言, 不同粒级团聚体间相比, 大团聚体(2~0.25 mm)HA的缩合度较低, 氧化度最高(表1), 脂族性最强, 羧基含量最高(表2), 微团聚体(0.25~0.053 mm)HA的缩合度最高(表1), 芳香性最强(表2)。反映了未施肥暗棕壤中微团聚体HA最“老”, 稳定。

添加粪肥除了提高土壤肥力外, 能显著引起土壤物理、化学和生物学性质的变化, 尤其是反复添加<sup>[12]</sup>。暗棕壤施用马粪后, 与CK相比, 大团聚体HA的缩合度下降(表1), 脂族链炔碳、芳香碳和羧基碳含量增加, 脂族链炔碳/芳香碳特征比值较CK减少(表2), 芳香性提高; 微团聚体HA的缩合度下降, 脂族链炔碳和芳香碳含量增加, 羧基碳减少, 脂族链炔碳/芳香碳特征比值提高, 微团聚体HA的脂族性较CK有所发展, HA活性增加; 施用马粪对粉/黏粒(<0.053 mm)粒级HA的脂族链炔碳和羧基碳含量的增加、芳香碳含量的减少以及脂族性发展的影响更为显著。Simonetti等<sup>[1]</sup>研究了施用44年粪肥土壤大团聚体HA分子结构中, 烷基碳和芳香碳含量增加, 烷氧碳减少; 微团聚体中, 烷基碳和烷氧碳减少, 芳香碳增加; 粉/黏粒中, 烷基碳减少, 烷氧碳和芳香碳增加, 关于大团聚体和微团聚体的HA分子结构特征研究与本研究结果相似, 但关于对粉/黏粒粒级HA结构产生的影响与本研究结果相反。而Chen和Chiu<sup>[31]</sup>报道在土壤有机质中烷基碳的含量随着粒径的减小而增加, Lützow等<sup>[32]</sup>认为粉/黏粒有机质以富含脂族化合物为特征, 与本研究相似。

暗棕壤施用低量化肥和马粪配施高量化肥增加了大团聚体和粉/黏粒HA的芳香性, 羧基碳减少(表2), 但微团聚体HA的脂族性和多糖含量增加, 同时, 化肥的施用有利于HA分子结构中多糖的形成。Simonetti等<sup>[1]</sup>研究表明, 黏质土壤长期施用化肥, 大团聚体和粉/黏粒中烷基碳和烷氧碳减少, 芳香碳增加; 微团聚体中烷基碳和烷氧碳增加, 芳香碳减少, 与本研究相似。

## 4 结 论

暗棕壤长期施用马粪显著提高了2~0.25 mm大团聚体的比例, 马粪配施高量化肥使2~0.25 mm

大团聚体减少, 0.25~0.053 mm微团聚体增加。施用马粪提高了SOC数量, 但对土壤HA数量影响不显著。长施马粪对土壤团聚体中HA分子结构产生影响, 未施肥暗棕壤2~0.25 mm大团聚体HA的缩合度较低, 脂族性最强, 0.25~0.053 mm微团聚体HA的缩合度和芳香性最高, HA最“老”, 稳定性最强。施用马粪, 2~0.25 mm大团聚体HA的芳香性增强, HA更稳定, 对于土壤固碳有重要作用, 0.25~0.053 mm微团聚体和粉/黏粒粒级HA的缩合度分别表现为下降和提高, 但脂族性均增加, 活性提高, 有利于土壤肥力供给。从土壤固碳角度, 土壤团聚体对SOC能提供物理保护, 团聚体中腐殖物质的形成也有助于SOC的生物化学保护机制, 鉴于本研究施用马粪对HA数量影响不显著, 在现有研究基础上, 今后研究应考虑粪肥施用的合适数量和施用频率, 以及对腐殖物质其他组分如富里酸和胡敏素展开研究。

#### 参考文献

- [ 1 ] Simonetti G, Francioso O, Nardi S, et al. Characterization of humic carbon in soil aggregates in a long-term experiment with manure and mineral fertilization. *Soil Science Society of America Journal*, 2012, 76: 880—890
- [ 2 ] Pramanik P, Kim P J. Fractionation and characterization of humic acids from organic amended rice paddy soils. *Science of the Total Environment*, 2014, 466/467: 952—956
- [ 3 ] Sarkhot D V, Comerford N B, Jokela E J, et al. Aggregation and aggregate carbon in a forested southeastern coastal plain spodosol. *Soil Science Society of America Journal*, 2007, 71: 1779—1787
- [ 4 ] Tisdall J M, Oades J M. Organic matter and water stable aggregates in soils. *European Journal of Soil Science*, 1982, 33 ( 2 ) : 141—163
- [ 5 ] Zhao J S, Chen S, Hu R G, et al. Aggregate stability and size distribution of red soils under different land uses integrally regulated by soil organic matter, and iron and aluminum oxides. *Soil & Tillage Research*, 2017, 167: 73—79
- [ 6 ] O'Brien S L, Jastrow J D. Physical and chemical protection in hierarchical soil aggregates regulates soil carbon and nitrogen recovery in restored perennial grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 61: 1—13
- [ 7 ] Albert U I, Antonio F P, Burrow D. Effects of potassium humate on aggregate stability of two soils from Victoria, Australia. *Geoderma*, 2005, 125: 321—330
- [ 8 ] 潘根兴, 周萍, 李恋卿, 等. 固碳土壤学的核心科学问题与研究进展. *土壤学报*, 2007, 44 ( 2 ) : 327—337  
Pan G X, Zhou P, Li L Q, et al. Core issues and research progresses of soil science of C sequestration ( In Chinese ). *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44 ( 2 ) : 327—337
- [ 9 ] Guo L Y, Wu G L, Li Y, et al. Effects of cattle manure compost combined with chemical fertilizer on topsoil organic matter, bulk density and earthworm activity in a wheat - maize rotation system in Eastern China. *Soil & Tillage Research*, 2016, 156: 140—147
- [ 10 ] Udoma B E, Nugaa B O, Adesodun J K. Water-stable aggregates and aggregate-associated organic carbon and nitrogen after three annual applications of poultry manure and spent mushroom wastes. *Applied Soil Ecology*, 2016, 101: 5—10
- [ 11 ] Long G Q, Jiang Y J, Sun B. Seasonal and inter-annual variation of leaching of dissolved organic carbon and nitrogen under long-term manure application in an acidic clay soil in subtropical China. *Soil & Tillage Research*, 2015, 146: 270—278
- [ 12 ] Parvage M M, Ulén B, Kirchmann H. Nutrient leaching from manure amended topsoils ( Cambisols and Histosols ) in Sweden. *Geoderma Regional*, 2015, 5 ( 8 ) : 209—214
- [ 13 ] Ding J L, Jiang X, Ma M C, et al. Effect of 35 years inorganic fertilizer and manure amendment on structure of bacterial and archaeal communities in black soil of northeast China. *Applied Soil Ecology*, 2016, 105 ( 4 ) : 187—195
- [ 14 ] Qiu S J, Gao H J, Zhu P, et al. Changes in soil carbon and nitrogen pools in a Mollisol after long-term fallow or application of chemical fertilizers, straw or manures. *Soil & Tillage Research*, 2016, 163 ( 7 ) : 255—265
- [ 15 ] Daouk S, Hassouna M, Gueye-Girardet A, et al. UV/Vis characterization and fate of organic amendment fractions in a dune soil in dakar, senegal. *Pedosphere*, 2015, 25 ( 3 ) : 372—385
- [ 16 ] Brunetti G, Plaza C, Clapp C E, et al. Compositional and functional features of humic acids from organic amendments and amended soils in Minnesota, USA. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39: 1355—1365
- [ 17 ] Mao J D, Olk D C, Fang X W, et al. Influence of animal manure application on the chemical structures of soil organic matter as investigated by advanced solid state NMR and FTIR spectroscopy. *Geoderma*, 2008, 146: 353—362



- [18] 朱姝, 窦森, 陈丽珍. 秸秆深还对土壤团聚体中胡敏酸结构特征的影响. 土壤学报, 2015, 52 (4): 747—758  
Zhu S, Dou S, Chen L Z. Effect of deep application of straw on composition of humic acid in soil aggregates (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2015, 52 (4): 747—758
- [19] 崔婷婷, 窦森, 杨轶囡, 等. 秸秆深还对土壤腐殖质组成和胡敏酸结构特征的影响. 土壤学报, 2014, 51 (4): 718—725  
Cui T T, Dou S, Yang Y N, et al. Effect of deep applied corn stalks on composition of soil humus and structure of humic acid (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2014, 51 (4): 718—725
- [20] 崔喜安, 仇建飞, 窦森. 长期定位施肥对暗棕壤肥力及作物产量的影响. 吉林农业大学学报, 2011, 33 (5): 545—550  
Cui X A, Qiu J F, Dou S. Effects of long-time fertilization on crop yield and soil nutrients of dark brown earth (In Chinese). *Journal of Jilin Agricultural University*, 2011, 33 (5): 545—550
- [21] Cambardella C A, Elliott E T. Carbon and nitrogen distribution in aggregates from cultivated and native grassland soils. *Soil Science Society of America Journal*, 1993, 57 (4): 1071—1076
- [22] 窦森. 土壤有机质. 北京: 科学出版社, 2010: 116, 153, 329, 340, 344  
Dou S. Soil organic matter (In Chinese). Beijing: Science Press, 2010: 116, 153, 329, 340, 344
- [23] Bongiovanni M D, Lobartini J C. Particulate organic matter, carbohydrate, humic acid contents in soil macro- and microaggregates as affected by cultivation. *Geoderma*, 2006, 136 (3/4): 660—665
- [24] 苗淑杰, 周连仁, 乔云发, 等. 长期施肥对黑土有机碳矿化和团聚体碳分布的影响. 土壤学报, 2009, 46 (6): 1068—1075  
Miao S J, Zhou L R, Qiao Y F, et al. Organic carbon mineralization and carbon contribution in aggregates as affected by long-term fertilization (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2009, 46 (6): 1068—1075
- [25] Du Z L, Wu W L, Zhang Q Z, et al. Long-term manure amendments enhance soil aggregation and carbon saturation of stable pools in North China Plain. *Journal of Integrative Agriculture*, 2014, 13 (10): 2276—2285
- [26] Xin X L, Zhang J B, Zhu A N, et al. Effects of long-term (23 years) mineral fertilizer and compost application on physical properties of fluvo-aquic soil in the North China Plain. *Soil and Tillage Research*, 2016, 156: 166—172
- [27] 贾伟. 我国粪肥养分资源现状及其合理利用分析. 北京: 中国农业大学, 2014  
Jia W. Studies on the evaluation of nutrient resources derived from manure and optimized utilization in arable land of China (In Chinese). Beijing: China Agricultural University, 2014
- [28] Tian J, Pausch J, Yu G R, et al. Aggregate size and their disruption affect  $^{14}\text{C}$ -labeled glucose mineralization and priming effect. *Applied Soil Ecology*, 2015, 90: 1—10
- [29] Guan S, Dou S, Chen G, et al. Isotopic characterization of sequestration and transformation of plant residue carbon in relation to soil aggregation dynamics. *Applied Soil Ecology*, 2015, 96: 18—24
- [30] 刘满强, 胡锋, 陈小云. 土壤有机碳稳定机制研究进展. 生态学报, 2007, 27 (6): 2642—2650  
Liu M Q, Hu F, Chen X Y. A review on mechanisms of soil organic carbon stabilization (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27 (6): 2642—2650
- [31] Chen J S, Chiu C Y. Characterization of soil organic matter in different particle size fractions in humid subalpine soils by CP/MAS  $^{13}\text{C}$ NMR. *Geoderma*, 2003, 117: 129—141
- [32] Lützw M I, Kögel-Knabner K, Ekschmitt E, et al. Stabilization of organic matter in temperate soils: Mechanisms and their relevance under different soil conditions— A review. *European Journal of Soil Science*, 2006, 57: 426—445

## Effects of Long-term Application of Horse Manure on Quantity and Quality of Humic Substance in Aggregates of Dark Brown Soil

GUAN Song<sup>1</sup> DOU Sen<sup>1, 2†</sup> MA Lina<sup>1, 3</sup> WEN Xiaohui<sup>1</sup> ZHOU Xin<sup>4</sup> LIU Jinhua<sup>1</sup>  
WANG Yan<sup>5</sup> XU Yajing<sup>1</sup>

(1 Key Laboratory of Sustainable Utilization of Soil Resources in the Commodity Grain Bases of Jilin Province, College of Resource and Environmental Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

(2 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(3 Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130102, China)

(4 Heihe Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Heihe, Heilongjiang 164300, China)

(5 College of Engineering and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**Abstract** 【Objective】 Contributions of long-term fertilization to soil fertility and carbon sequestration mechanism of aggregates in dark brown soil were explored. 【Method】 A long-term field experiment was established to study effects of fertilization on contents and composition of humic substance—humic acid (HA) in aggregates of dark brown soil, using element analysis and Fourier transformed infrared (FTIR) spectra. The experiment was designed to have four treatments in fertilization regime, i.e. no fertilizer (CK); horse manure (M) (once 3 year<sup>-1</sup>); low-level chemical nitrogen and phosphorus fertilizers (N1P1); and horse manure combined with high-level chemical nitrogen and phosphorus fertilizer (M+N2P2). Soil samples collected from the treatments were wet-sieved for macroaggregates (> 2 mm and 2~0.25 mm), microaggregates (0.25~0.053 mm) and silt/clay fraction (<0.053 mm). 【Result】 The soil aggregates in the dark brown soil were composed mainly of microaggregates, which were the lowest in content of soil organic carbon (SOC) and HA, while macroaggregates (> 2 mm) the highest. Long-term application of horse manure significantly increased the proportion of macroaggregates (2~0.25 mm) or by 49.06% in Treatment M, but decreased by 31.04% in Treatment M+N2P2. Treatment N1P1 did not have much effect on aggregates composition. Application of either horse manure or chemical fertilizers increased SOC content, but did not have much impact on content of HA. In Treatment CK, HA in macroaggregates (2~0.25 mm) was quite lower in condensation degree, but the highest in oxidation degree and aliphaticity, while HA in microaggregates the highest in condensation degree, aromaticity, “age” and stability. Compared with Treatment CK, all the other treatments (i.e., M, N1P1, M+N2P2) reduced the condensation degree, increased the contents of aliphatic hydrocarbon carbon (C) and aromatic-C and enhanced aromaticity as the result of decreased ratio of aliphatic hydrocarbon-C to aromatic-C (aliphatic hydrocarbon-C/aromatic-C ratio) in the HA in macroaggregates, while reducing the condensation degree and increasing the contents of aliphatic hydrocarbon-C, and aromatic-C, and the ratio of aliphatic hydrocarbon-C/aromatic-C, and hence aliphaticity of the HA in microaggregates. In the experiment field, molecular structure of HA of silt/clay fractions varied with the treatment. Compared with CK, Treatment M increased aliphatic hydrocarbon-C and reduced aromatic-C in content and as a result, increased aliphatic hydrocarbon-C/aromatic-C ratio, condensation degree and aliphaticity of the HA. In Treatment M+N2P2, the HA in aggregates of silt/clay fractions increased in condensation degree and aromaticity as the result of increased content of aromatic-C

and decreased aliphatic hydrocarbon-C/aromatic-C ratio. Moreover in Treatment N1P1, the HA in aggregates of silt/clay fractions decreased in condensation degree, aliphatic hydrocarbon-C and aromatic-C contents and aliphatic hydrocarbon-C/aromatic-C ratio, and as a result, increased in aromaticity. **【Conclusion】** Long-term application of horse manure increases the content of SOC, promotes formation of 2 ~ 0.25 mm macroaggregates, contributes favorably to stabilization of the HA in macroaggregates, thus helping carbon sequestration. In addition, it also enhances activity of the HA in microaggregates (0.25 ~ 0.053 mm) and aggregates of silt/clay fractions (< 0.053 mm), which contributes to soil fertility supply. These aggregates can be used as important indicators for evaluating effects of long-term application of horse manure on quality of humic substance in the soil.

**Key words** Horse manure; Humic acid; Aggregates; Fourier transformed infrared spectra; Element analysis

(责任编辑: 卢 萍)