DOI：10.11766/trxb202203200122

吴梦琴，曹凑贵，刘天奇，李成芳. 长期有机无机氮肥配施对玉米-豇豆复种土壤团聚体碳含量和官能团分子结构的影响[J]. 土壤学报，2023，60（6）：1822–1831.

WU Mengqin，CAO Cougui，LIU Tianqi，LI Chengfang. Effect of Long-term Organic and Inorganic Nitrogen Fertilization on Carbon Content and Molecular Structure of Functional Groups in Soil Aggregates in Maize-cowpea Cropping Systems [J]. Acta Pedologica Sinica，2023，60（6）：1822–1831.

长期有机无机氮肥配施对玉米-豇豆复种土壤团聚体碳含量和官能团分子结构的影响*

吴梦琴，曹凑贵，刘天奇，李成芳†

（农业农村部长江中游作物生理生态与耕作重点实验室/华中农业大学植物科学技术学院，武汉 430070）

摘 要：通过设置无机氮肥（IF）、有机氮肥（OM）、有机无机氮肥配施（IF+OM）等 3 个不同氮肥处理，探究长期（9 年）施用不同氮肥对玉米-豇豆复种系统中土壤有机碳组分含量及官能团的影响，揭示土壤有机碳的积累规律。采用物理分组方法测定轻组颗粒有机碳（fPOC）、微团聚体内颗粒有机碳（iPOC）、微团聚体内粉黏粒有机碳（iSOC）和非闭蓄态粉黏粒有机碳（fSOC），并利用核磁共振波谱分析法测定土壤有机碳官能团结构。结果表明，与 IF 处理相比，OM 和 IF+OM 处理显著提高土壤团聚体平均重量直径（MWD）和几何平均直径（GMD），且 IF+OM 处理下该作用更明显。相比 IF 处理，IF+OM 处理明显提高了土壤有机碳、fPOC 和 iPOC 的含量，但对 iSOC 和 fSOC 的含量无明显影响。与 IF 处理相比，IF+OM 处理明显增加了烷基碳含量，但减少了芳香碳含量。路径分析表明，烷基碳/烷氧碳、疏水性、fPOC 和 iPOC 碳含量与有机碳含量之间存在密切联系。总之，长期 IF+OM 有利于产量提高，增加 fPOC 和 iPOC 碳含量，优化团聚体的结构，增强土壤稳定性，提高土壤碳固定，增加有机碳储量。

关键词：有机无机氮肥配施；团聚体碳；有机碳组分；分子结构

中图分类号：S153.6 **文献标志码：**A

Effect of Long-term Organic and Inorganic Nitrogen Fertilization on Carbon Content and Molecular Structure of Functional Groups in Soil Aggregates in Maize-cowpea Cropping Systems

WU Mengqin, CAO Cougui, LIU Tianqi, LI Chengfang†

(*Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Farming in the Middle Reaches of the Yangtze River, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, China /College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan* 430070, *China*)

* 湖北省重点研发计划项目（2021BBA224）和国家重点研发计划项目（2017YFD0301403）资助 Supported by the Key Research and Development Program of Hubei Province, China（No. 2021BBA224）and the National Key Research and Development Program of China（No. 2017YFD0301403）

† 通讯作者 Corresponding author，E-mail：lichengfang@mail.hzau.edu.cn

作者简介：吴梦琴（1998— ），女，湖北黄冈人，硕士研究生，主要从事农业生态学研究。E-mail：1914316264@qq.com

收稿日期：2022–03–20；收到修改稿日期：2023–01–20；网络首发日期（www.cnki.net）：2023–03–28

Abstract: 【**Objective**】Although many studies have reported the effects of long-term fertilizer application on soil organic carbon composition, molecular structure and functional group, few studies revealed the relationships between soil organic carbon, organic carbon composition and organic carbon functional groups under long-term fertilization conditions. Therefore, a field experiment with a maize-cowpea cropping rotation was conducted. The experiment included three treatments, i.e., organic nitrogen (N) fertilizer (OM), inorganic N fertilizer (IF), and the combination of organic and inorganic N fertilizers (IF+OM). The effect of long-term (9 years) N fertilizer applications on organic carbon composition and molecular structure of soil aggregates were studied to reveal the accumulative mechanism of soil organic carbon. 【Method】The soil was divided into 4 components by dry sieving method: >2 mm, 2–0.25 mm, 0.25–0.053 mm, and <0.053 mm, and then the mean weight diameter (MWD) and geometric mean diameter (GMD) were analyzed. The physical isolation method was used to measure free light particulate organic carbon (fPOC), intra-microaggregate particulate organic carbon (iPOC), silt-clay sized fraction organic carbon within microaggregates (iSOC) and free silt-clay sized fraction organic carbon (fSOC), and nuclear magnetic resonance spectroscopy was used to determine the functional group structure of soil organic carbon. 【Result】The results showed that compared with IF treatment and OM treatment, IF+OM treatment significantly enhanced maize and cowpea yields after 9 years of continuous N fertilization. Moreover, compared with IF treatment, OM and IF+OM treatments significantly increased MWD and GMD, and the effect was more obvious under IF+OM treatment. This study shows that fPOC was the main component of the soil organic carbon fraction, ranging from 21.0 to 29.8 $g \cdot kg^{-1}$. The combination of organic and inorganic N fertilizers significantly enhanced the contents of soil organic carbon, fPOC and iPOC by 30.0%, 41.9% and 23.5% relative to IF treatment, respectively, but had no significant effect on the contents of iSOC and iSOC. The type of N fertilizer significantly influenced the ratio of alkyl, alkoxyl and aromatic carbon, which in turn significantly influenced alkyl/alkoxyl carbon and aromaticity in the soil. Compared with IF treatment, the combination of organic and inorganic fertilizer N fertilizers significantly increased alkyl carbon contents, but decreased aromatic carbon. Multi-path analysis showed that the alkyl carbon/alkoxy carbon ratio, hydrophobicity, aromaticity, fPOC and iPOC carbon content were closely related to organic carbon content. 【Conclusion】In conclusion, long-term combined application of organic and inorganic N fertilizers results in increases in crop yields, promotes the transformation of soil fine aggregates to large aggregates, increases fPOC and iPOC contents, optimizes the structure of aggregates, enhances soil stability, and thus promotes soil carbon sequestration, increased organic carbon storage, and thus promotes soil carbon sequestration. These results reveal the improvement mechanism of long-term combined application of organic and inorganic N fertilizers on soil organic carbon content, which would provide a theoretical basis for improving cropland soil fertility and structure.

Key words: Combination of organic and inorganic N fertilizer; Soil aggregate carbon; Organic carbon components; Molecular structure

土壤有机碳库作为全球陆地生态系统中最主要的碳库，在陆地碳循环中起着决定性作用[1]。研究表明，土壤有机碳含量在过去 200 年里约损失了 780 Pg[2]。农田土壤有机碳的过度消耗会破坏土壤团聚体的形成，降低土壤的结构稳定性，导致土壤退化，使作物的生产力下降[3]。提高有机碳的储量可遏止土壤退化，并减少温室气体的排放，有利于缓解全球变暖的问题。因此，提高土壤有机碳储量逐渐成为了各国学者的研究热点，探索有利于土壤固碳的环境友好型生产管理方式对实现农田土壤可持续发展具有至关重要的意义。

施肥通过影响土壤的物理、化学和生物性质影响土壤有机碳。目前已有大量施肥对土壤有机碳影响的报道，但研究结果并不一致。例如，Li 等[4]研究指出，与无机氮肥相比，有机氮肥和有机无机氮肥配施分别增加 83.0%和 42.3%的土壤有机碳含量。然而，Manjaiah 和 Dhyan[5]连续 26 年施肥试验表明，与有机肥相比，无机肥增加了玉米-小麦-豇豆系统土壤有机碳含量。相对于土壤有机碳，土壤有机碳组分更能直接反映土壤有机碳的动态变化过程[6]。因此，研究氮肥施用对土壤有机碳组分的影响，对揭示施肥对土壤有机碳的影响有重要意义。Tong 等[7]研究指出，连续 17 年的粪肥与无机肥配施或秸秆与无机肥配施能显著增加红壤有机碳总储量，且有机

碳组分的碳固存率表现为矿物结合态有机碳、轻组颗粒有机碳、 微团聚体内颗粒有机碳逐渐降低。邓文悦等[8]在红壤性水稻土进行连续 35 年的施肥研究，结果指出，长期施肥不仅明显提高土壤有机碳含量，而且显著增加游离活性碳库和物理保护碳库中有机碳含量，其中有机无机氮肥配施较单施无机肥的增加效果好。花可可等[9]研究长期施肥对土壤团聚体碳组分的影响，结果表明有机肥施用会促进外源有机碳向颗粒有机碳转化，从而增加土壤颗粒有机碳的储量。前人的研究主要集中于长期施肥对稻作系统土壤有机碳组分的影响[7-9]，缺乏长期施肥对玉米-豇豆复种系统土壤有机碳组分的研究，该种植系统下土壤有机碳库的影响机制尚不清楚。

土壤有机碳官能团反映土壤有机碳分子结构，决定着土壤微生物对有机碳的利用特性，进而影响土壤有机碳[10]。有研究发现，堆肥改良过的土壤有机碳官能团与未堆肥的土壤有显著性差异[11]。同时，添加有机肥和化肥均会提高土壤有机碳中烷基碳的比例[12]。有研究指出，连续 18 年长期添加有机肥可增加土壤颗粒有机质中烷基碳和芳香碳比例，但降低烷氧碳比例[13]。但是，也有研究表明，16 年连续施用化肥和 100 年连续施用有机肥对黏土和淤泥有机碳的化学结构影响不大[14]。郭素春等[15]利用固态 ^{13}C-核磁共振技术研究了潮土在长期施肥下土壤有机碳分子结构的变化，结果表明，与无机肥相比，有机肥降低烷基碳/烷氧碳比值，降低有机质分解程度。长期施肥对土壤有机碳官能团的影响不一致，因此需要进一步深入研究以明确长期施肥对土壤有机碳动态的影响。

虽然当前已有较多研究报道了长期施肥对土壤有机碳组分或者有机碳官能团的影响[8, 15]，但缺少研究长期氮肥施用下土壤有机碳及其组分与官能团结构的相互关系，因此，研究长期有机无机氮肥配施下农田土壤团聚体有机碳物理和化学特征的变化以及二者对土壤有机碳的影响，对于探明农田土壤有机碳循环、转化和保护具有极其重要的意义，也对践行我国碳中和战略具有重要意义。本文研究长期（9 年）有机无机氮肥施用对玉米-豇豆轮作土壤团聚体有机碳组分和化学分子结构特征的影响，探究土壤有机碳组分、有机碳分子结构与有机碳固存之间的关系，揭示长期有机氮肥和无机氮肥配施下土壤有机碳含量增加的机制，以期为改善农田土壤结构和肥力水平提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

本试验位于华中农业大学校内长期定位点，试验于 2013 年 3 月开始。试验田土壤类型为 Q3 沉积物发育的黄棕壤（淋溶土），质地为黏壤土。其土壤的基本理化性质见表 1。

表 1 试验地土壤基本理化性质

Table 1 Physicochemical properties of the experimental soil

土壤类型 Soil type	全氮 Total nitrogen/ ($g\cdot kg^{-1}$)	铵态氮 Ammonium nitrogen/ ($mg\cdot kg^{-1}$)	硝态氮 Nitrate nitrogen/ ($mg\cdot kg^{-1}$)	全磷 Total phosphorus/ ($g\cdot kg^{-1}$)	有效磷 Available phosphorus/ ($mg\cdot kg^{-1}$)	全钾 Total potassium/ ($g\cdot kg^{-1}$)	速效钾 Available potassium/ ($mg\cdot kg^{-1}$)	有机碳 Organic Carbon/ ($g\cdot kg^{-1}$)	pH	容重 Bulk density/ ($g\cdot cm^{-3}$)
黄棕壤①	1.15	6.63	3.68	0.39	8.83	8.67	80.28	10.56	7.03	1.13

①Yellow brown soil.

1.2 试验设计

本试验采用随机区组设计，包括 3 个处理：无机氮肥处理（IF）、有机氮肥处理（OM）、有机无机氮肥配施处理（有机氮肥和无机氮肥各占总氮的 50%，IF+OM）。每个处理 4 次重复，小区面积为 6 m^2。试验采用玉米品种是“南粤 868”，豇豆品种是“裕丰海宝玉”（长条型）。每年 3 月初人工翻地整地，随后玉米点播（播种深度 3～5 cm），密度为每公顷 6 万株，6 月末收获；每年玉米季氮、磷、钾的施用量分别为 240 $kg\cdot hm^{-2}$（以 N 计，下同）、150 $kg\cdot hm^{-2}$（以 P_2O_5 计，下同）、210 $kg\cdot hm^{-2}$（以 K_2O 计，下同）；玉米在播种后、大喇叭口期和抽雄期进行灌溉。豇豆在

每年 7 月初进行点播，播种深度 2～3 cm，种植密度为每公顷 7.5 万株，于 9 月初收获；每年豇豆季氮、磷、钾肥施用量分别为 180 kg·hm^{-2}、90 kg·hm^{-2}、90 kg·hm^{-2}，豇豆仅在播种后进行一次灌溉。

对于无机氮肥处理，玉米季氮肥在播种期、喇叭口期、抽雄期按 4∶3∶3 施用，豇豆季氮肥在播种前与开花期按 5∶5 施用，所使用的氮肥类型为尿素（46% N）。对于有机氮肥处理，所有有机氮肥作为底肥一次性施用，使用的有机氮肥来自武汉合缘绿色生物有限公司生产的复合微生物有机肥（N∶P_2O_5∶K_2O=10%∶3%∶2%，活细胞数大于等于 2.1×10^8 g^{-1}）。对于有机无机氮肥配施处理，有机肥与无机肥所提供的氮量均为作物全生育期总施氮量的 1/2，所有氮肥作为基肥在播种前一次性施用。采用等量施肥的原则，各施肥处理不足的磷和钾用过磷酸钙（12% P_2O_5）和氯化钾（60% K_2O）补足。各处理两个季节的磷肥以及钾肥均作为基肥在播种前进行一次性施用。各个处理的具体施肥策略见表 2。

表 2　各处理具体施肥情况

Table 2　The specific fertilization situation of each treatment

处理 Treatment	玉米季肥料施用量 Fertilizer application rate for maize season/（kg·hm^{-2}）				豇豆季肥料施用量 Fertilizer application rate for cowpea season/（kg·hm^{-2}）			
	尿素 Urea	过磷酸钙 Calcium superphosphate	氯化钾 Potassium chloride	有机肥 Organic fertilizer	尿素 Urea	过磷酸钙 Calcium superphosphate	氯化钾 Potassium chloride	有机肥 Organic fertilizer
IF	522	1 250	350	0	391	750	150	0
OM	0	650	270	2 400	0	300	90	1 800
IF+OM	261	950	310	1 200	196	525	120	900

注：IF 为无机氮肥处理，OM 为有机氮肥处理，IF+OM 为有机无机氮肥配施处理。下同。Note：IF is inorganic nitrogen fertilizer treatment，OM is organic nitrogen fertilizer treatment，and IF+OM is organic and inorganic nitrogen fertilizer treatment. The same as below.

1.3　土壤样品采集与测定

2021 年 9 月豇豆收获后，每个小区随机选取 5 个样点用取土钻采集 0～20 cm 土层的土样，去除植物残根和石块后充分混匀，风干，过 10 mm 筛备用。

采用干筛法进行团聚体分级。具体方法如下：称取 100 g 风干土样，置于孔径顺序为 2 mm、0.25 mm 和 0.053 mm 套筛的最上层，用筛分仪（RETSCH AS 200，德国）分级。仪器振动频率为每分钟 300 次，振动 2 min 后按孔径顺序取样，分大于 2 mm、2～0.25 mm、0.25～0.053 mm 和小于 0.053 mm 四个粒级称重，并计算各个粒级的质量百分比。

采用物理分组法测定土壤团聚体有机碳组分。将上述团聚体分级后的样品按比例称取 50 g，置于 500 mL 离心管中，加入 150 mL 的 ZnBr（1.85 g·cm^{-3}），盖上塞子后上下颠倒 10 次。之后，用少量 ZnBr 将附着在管壁和塞子的物质冲洗至离心管内，静置 20 min，再离心 30 min，转速 2 500 r·min^{-1}；得到的上清液用 0.023 mm 筛过滤，重复操作 3 次，即获得轻组颗粒有机碳（fPOC）；然后加入去离子水进行离心，重复进行 3 次，以洗出残留的 ZnBr。将剩余的重组部分置于浸在去离子水中的 0.25 mm 筛，再放置 50 颗玻璃珠，在 120 r·min^{-1} 下轻微振荡，直至重组部分完全分散。留在 0.25 mm 筛网上的物质即为粗颗粒有机碳。随后样品通过 0.053 mm 筛，得到闭蓄态微团聚体（0.25～0.053 mm）和非闭蓄态粉黏粒有机碳（iSOC，<0.053 mm）。向闭蓄态微团聚体加入 0.5%六偏磷酸钠溶液，在摇床上摇动分散 18 h，再过 0.053 mm 筛，得到微团聚体内颗粒有机碳（iPOC，0.25～0.053 mm）和微团聚体内粉黏粒有机碳（iSOC，<0.053 mm）。所有组分在 60℃下烘干称重。将各个组分土壤样品磨细过 0.15 mm 筛后进行有机碳测定，有机碳含量测定用重铬酸钾外加热法。

采用核磁共振波谱分析测定土壤有机碳官能团分子结构。在核磁共振波谱分析之前，对土壤样品进行氢氟酸预处理。预处理过样品的 CP/MAS ^{13}C-NMR 光谱由配备 3.2 mm ^{13}C 三共振 MAS 探

头的 Bruker Avance Ⅲ 800 MHz 高分辨核磁共振波谱仪（Bruker Corporation，瑞士）收集，收集超过 20 000 次扫描数据，采集参数为磁场强度 18.8 T、共振频率 100.59 MHz、旋转频率 5 000 Hz、接触时间 1 ms、采集时间 10 ms 和循环延迟时间 1 ms。通过积分计算各个区域的峰面积以定量分析特定功能基团的相对含量。

1.4 产量测定

在每年玉米成熟时，收获整个小区玉米果穗，按 14%籽粒含水量折算产量。豇豆从豆荚符合商业采收标准开始采收，直至豇豆成熟。

1.5 计算方法

$$\text{平均重量直径（MWD）}=\sum_{i=1}^{n} x_i m_i \quad (1)$$

$$\text{几何平均直径（GMD）}=\exp\frac{\sum_{i=1}^{n} m_i \log x_i}{\sum_{i=1}^{n} m_i} \quad (2)$$

式中，n 为筛子数；x_i 为第 i 级团聚体平均直径，mm；x_1=6 mm；m_i 为第 i 个筛子中团聚体质量百分比，%。

$$\text{疏水性}=\frac{\text{烷基碳}+\text{酚基碳}+\text{芳香碳}}{\text{烷氧碳}+\text{羧基碳}+\text{羰基碳}+\text{缩醛碳}} \quad (3)$$

$$\text{芳香度}=\frac{\text{芳香碳+酚基碳}}{\text{烷氧碳}+\text{烷基碳}+\text{芳香碳}+\text{酚基碳}+\text{缩醛碳}} \quad (4)$$

1.6 数据处理与分析

试验结果均以 4 次重复的平均值和标准差来表示。采用 SPSS 26.0 对数据进行单因素方差分析（One-way ANOVA），采用最小显著差异法（LSD）法进行显著性水平检验（P<0.05）。利用 AMOS 7.0 软件进行路径分析，该方法用以分析烷基碳/烷氧碳、疏水性、芳香度、fPOC 含量、iPOC 含量与 SOC 之间的相关关系，通过卡方（χ^2）、概率水平（P）、比较拟合指数（CFI）、拟合优度（GFI）和渐进均方根误差（RSMEA）等指标验证方法的总体拟合度。

2 结 果

2.1 作物产量的变化

氮肥施用显著影响玉米与豇豆产量（表 3）。2013 年各施肥处理间豇豆产量无显著性差异，其他年份玉米与豇豆产量均表现出 IF+OM 处理显著高于 IF 和 OM 处理。此外，除了 2017 年外，IF 和 OM 处理作物产量差异不显著。

2.2 土壤团聚体分布及其稳定性变化

土壤团聚体主要以 2～0.25 mm 团聚体为主，占土壤总质量的 39.1%～56.3%；其次是大于 2 mm 团

表 3 不同氮肥类型下作物产量的变化

Table 3 Changes in crop yields under different N fertilization treatments /（t·hm^{-2}）

年份	玉米 Maize			豇豆 Cowpea		
Years	IF	OM	IF+OM	IF	OM	IF+OM
2013	4.2±0.2b	4.0±0.4b	4.7±0.3a	9.8±2.1a	10.1±1.1a	12.5±1.2a
2014	4.1±0.3b	3.8±0.2b	5.2±0.3a	10.2±1.5b	9.7±2.1b	13.7±1.4a
2015	4.0±0.2b	3.9±0.2b	5.5±0.5a	10.8±2.0b	8.9±2.2b	14.3±1.9a
2016	4.2±0.4b	4.0±0.3b	5.6±0.5a	11.2±1.5b	10.2±2.3b	14.9±1.1a
2017	3.1±0.3c	4.3±0.4b	5.3±0.2a	12.1±1.4b	13.0±1.1ab	15.1±1.2a
2018	4.6±0.5b	4.0±0.3b	5.8±0.4a	11.8±1.5b	10.1±0.9b	15.4±1.1a
2019	4.7±0.5b	4.9±0.2b	5.5±0.2a	13.2±1.1b	11.9±0.7b	16.2±1.7a
2020	5.1±0.5b	4.6±0.5b	6.2±0.5a	12.9±1.5b	11.8±1.3b	16.4±1.4a
2021	5.2±0.4b	4.8±0.2b	6.1±0.4a	11.8±1.1b	10.8±1.7b	16.5±1.6a

注：同行不同字母表示同种作物不同施肥处理间在 5%水平上差异显著。Note: Different letters in a line mean significant differences at P<0.05.

聚体，占土壤总质量的 17.3%～32.3%；0.25～0.053 mm 和小于 0.053 mm 团聚体所占比例最小（表 4）。在连续 9 年施肥后，氮肥类型显著影响土壤各粒级团聚体的分布（表 4）。与 IF 处理相比，IF+OM 和 OM 处理显著增加了大于 2 mm 团聚体的质量比例，增幅为 40.5%～86.7%。与 IF 处理相比，OM 和 IF+OM 处理 2～0.25 mm 团聚体质量分数显著降低 14.6%～30.6%。3 个处理间 0.25～0.053 mm 和小于 0.053 mm 粒径团聚体质量分数差异不显著。不同施肥处理间土壤团聚体 MWD 和 GMD 存在显著差异，均表现为：IF+OM > OM > IF。

2.3　土壤有机碳组分含量变化

长期氮肥施用显著影响土壤有机碳及其组分的分布（表 5）。与 IF 处理相比，OM 和 IF+OM 处理有机碳含量显著提高了 14.0%和 30.0%。各处理中土壤有机碳组分含量最高的是 fPOC，其次是 iPOC，iSOC 和 fSOC 最小。与 IF 处理相比，IF+OM 处理 fPOC 和 iPOC 含量分别提高了 41.9%和 23.5%。3 个处理间 iSOC 和 fSOC 含量无明显差异。

2.4　土壤有机碳官能团变化

对于 IF 和 OM 处理，土壤芳香碳和羰基碳的含量高；而 IF+OM 处理烷基碳的含量最高，其次是烷氧碳、芳香碳、羧基碳以及羰基碳。酚基碳的含量在 3 个处理均最低。不同氮肥施用显著影响土壤有机碳官能团的分布（表 6）。与 IF 处理相比，IF+OM 和 OM 处理烷基碳含量分别显著增加了 120.6%和 39.8%。与 IF 处理相比，IF+OM 处理增加了烷氧碳含量，但降低了芳香碳含量。各处理间羧基碳、缩醛碳、羟基碳和酚基碳无显著差异。3 个处理间烷基碳/烷氧碳和芳香度存在显著性差异，其中烷基碳/烷氧碳大小表现为：IF+OM>OM> IF，而芳香度反之。各处理间疏水性无显著差异，但是与 IF 处理相比，OM 和 IF+OM 处理疏水性呈增加的趋势。

2.5　土壤有机碳与有机碳组分和官能团结构的关系

通过结构方程模型揭示有机组分和官能团结构与有机碳之间的关系（图 1），该模型决定系数为 0.83，卡方为 55.77，概率水平为 0.528，比较拟合指数为 0.963、拟合优度为 0.936，渐进均方根误差为 0.01，说明该模型整体拟合效果良好。路径分析表明，土壤有机碳组分和官能团结构与有机碳之间存在密切相关（图 1）。有机碳含量与 fPOC、iPOC

表 4　不同氮肥类型下土壤团聚体质量分数和稳定性变化

Table 4　Changes in soil aggregate mass fraction and stability under different N fertilization treatments

处理 Treatment	>2 mm/%	2～0.25 mm/%	0.25～0.053 mm/%	<0.053 mm/%	平均重量直径 MWD/mm	几何平均直径 GMD/mm
IF	17.3 ± 1.7c	56.3 ± 4.0a	12.7 ± 1.3a	13.7 ± 1.3a	1.69 ± 0.06c	0.70 ± 0.03c
OM	24.3 ± 1.8b	48.1 ± 3.4b	13.0 ± 1.1a	14.6 ± 1.4a	2.02 ± 0.07b	0.75 ± 0.02b
IF+OM	32.3 ± 2.4a	39.1 ± 3.7c	13.7 ± 1.2a	14.9 ± 1.1a	2.40 ± 0.10a	0.84 ± 0.02a

注：同列不同字母表示在 5%水平上差异显著。下同。Note：Different letters in the same column mean significant difference at $P<0.05$. The same as below.

表 5　不同氮肥类型下土壤有机碳及其组分含量

Table 5　Contents of soil organic carbon and its components under different N fertilization treatments /（$g \cdot kg^{-1}$）

处理 Treatment	SOC	fPOC	iPOC	iSOC	fSOC
IF	15.0±2.3b	21.0±1.5c	13.6±1.3b	12.3±1.4a	11.8±1.2a
OM	17.1±1.9ab	26.1±1.8b	15.8±1.6ab	11.7±1.2a	12.2±1.2a
IF+OM	19.5±2.0a	29.8±2.1a	16.8±1.6a	12.1±1.3a	11.6±1.3a

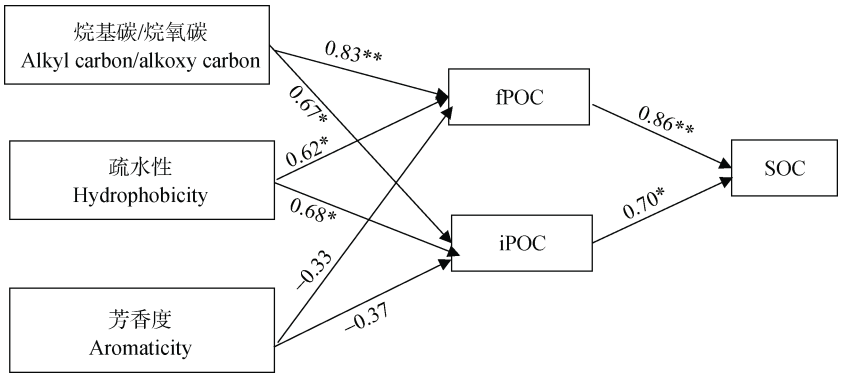
注：SOC：土壤有机碳，fPOC：轻组颗粒有机碳，iPOC：微团聚体内颗粒有机碳，iSOC：微团聚体内粉黏粒有机碳，fSOC：非闭蓄态粉黏粒有机碳。下同。Note：SOC：soil organic carbon，fPOC：free light particulate organic carbon，iPOC：intra-microaggregate particulate organic carbon，iSOC：silt-clay sized fraction organic carbon within microaggregates，fSOC：free silt-clay sized fraction organic carbon. The same as below.

表 6 不同氮肥类型下土壤有机碳化学官能团的相对比例

Table 6 Relative proportions of chemical functional groups of soil organic carbon under different N fertilization treatments

处理①	烷基碳② /%	烷氧碳③ /%	芳香碳④ /%	羧基碳⑤ /%	缩醛碳⑥ /%	羰基碳⑦ /%	酚基碳⑧ /%	烷基碳/烷氧碳⑨	疏水性⑩	芳香度⑪
IF	9.7±1.5c	9.8±1.5b	27.3±3.8a	13.5±2.0a	10.0±1.6a	26.1±8.4a	3.7±1.2a	0.99±0.01c	0.69±0.12a	0.51±0.04a
OM	13.6±2.0b	11.4±1.9b	22.6±3.3a	15.3±2.2a	10.1±1.7a	22.7±9.1a	4.5±1.0a	1.19±0.03b	0.69±0.11a	0.44±0.04b
IF+OM	21.4±3.0a	17.4±2.6a	17.4±2.6b	14.7±2.5a	9.7±1.6a	15.3±11.0a	4.3±1.1a	1.23±0.01a	0.76±0.14a	0.31±0.03c

①Treatment，②Alkyl carbon，③Alkoxy carbon，④Aromatic carbon，⑤Carboxyl carbon，⑥Carboxyl carbon，⑦Carbonyl carbon，⑧Phenolic carbon，⑨Alkyl carbon/alkoxy carbon，⑩Hydrophobicity，⑪Aromaticity.



注：箭头上的数字表示路径系数大小，* P<0.05，** P<0.01。Note：The numbers on the arrows are path coefficients。*and** represents P<0.05 and P<0.01.

图 1 有机碳组分、官能团碳与土壤有机碳的路径分析

Fig. 1 Multi-path analysis between organic carbon fractions，functional group carbon and total organic carbon

含量呈显著正相关关系，且与 fPOC 含量达到极显著水平。烷基碳/烷氧碳和疏水性对 fPOC 和 iPOC 的含量均有显著正向影响，烷基碳/烷氧碳对 fPOC 含量的贡献最大，达到 0.83。芳香度与 fPOC、iPOC 含量呈负相关关系。

3 讨 论

3.1 长期不同氮肥施用下作物产量的变化

本研究结果指出，与单施氮肥处理（IF 和 OM 处理）相比，IF+OM 处理下作物产量显著提高（表 3）。单施无机氮肥肥效快，不稳定，易导致氮素损失，不利于作物后期生长发育[16]。而单施有机肥养分释放速度较慢，不能及时提供作物生长所需的氮素[17]，也不利于作物增产。有机无机氮肥配合施用能增加土壤的氮素供应能力，有利于作物对氮素的吸收和利用，降低了氮肥损失，提高了氮素利用率[18]。此外，长期施用有机肥能增加土壤有机质含量，提高土壤微生物的丰富度以及活性，促进了作物对土壤矿物养分的吸收[19]，因此提高了作物产量。本研究各作物产量 IF 和 OM 处理间无明显差异（表 3），而以往研究大多认为单施有机氮肥的作物产量要低于单施无机氮肥[5, 16]，可能与本研究是一个长期试验有关。单施有机氮肥产量稍低，主要是有机氮肥肥效释放缓慢，养分提供不能及时满足作物生长的需要[17]。但长期连续施有机肥可提高土壤氮素的有效性，增强土壤肥力（表 5），改良土壤结构（表 4），满足了作物生长对养分的需求[19]。

3.2 长期不同氮肥施用对土壤团聚体及其稳定性的影响

本研究结果表明，添加有机肥能促进土壤 2～0.25 mm 团聚体向大于 2 mm 团聚体转化，显著增加 MWD 和 GMD，改善土壤结构（表 4）。一方面，施加有机肥可增加土壤有机质的含量，有机质在微生物的分解作用下，产生大团聚体形成所必需的有机无机胶结物质[9]，从而促进土壤中初级颗粒黏合形

成大团聚体，改善土壤的结构和稳定性。另一方面，有机肥施入土壤后，直接为土壤生物提供外来碳源，有益于作物根系和土壤中真菌以及动物的生长，促进土壤大团聚体内部颗粒有机质形成，增强大团聚体的稳定性[20]。高会议等[20]研究也表明有机肥和有机无机配施会增加土壤中大团聚体的含量，进而增加 MWD 和 GMD。因此，施用有机肥能改善土壤结构，提高土壤稳定性，且配施无机肥较单施的效果更好。

3.3　长期不同氮肥施用对土壤有机碳组分的影响

fPOC 是未受保护的土壤有机碳库，可直接供土壤微生物利用，具有高活性的有机碳，能对农业措施快速响应[21]。本研究结果显示，与 IF 处理相比，IF+OM 和 OM 处理 fPOC 含量分别增加了 41.0%和 19.5%（表 5）。一方面，添加有机肥直接增加土壤有机质，为微生物提供更多的能量与物质，从而加速土壤有机碳的矿化和植物残枝落叶的腐解，使得进入土壤碳循环的活性有机碳增加[22]；另一方面，有机无机氮肥配施能促进作物生长（表 3），增加土壤中作物残体和根系的数量，为 fPOC 提供更多的来源。安婷婷等[23]研究表明，施用有机肥能增加地上部分生物量和地下部残茬输入量，改变残茬质量，改善作物根系结构和农田土壤小气候，从而提高 fPOC 含量。寇智瑞等[22]研究也表明，连续 5 年有机无机氮肥配施能将 fPOC 含量提高 19.6%～73.9%。

iPOC 是闭蓄在土壤团聚体间的一种有机碳。由于受物理保护，iPOC 被微生物分解的几率降低[21]。本研究表明，与 IF 处理相比，IF+OM 处理显著增加了 iPOC 含量（表 5）。长期有机无机肥配施，显著增加土壤大团聚体的比例，改善团聚体结构（表 4），加强对土壤有机碳的物理保护，从而促进 iPOC 积累[13]。本研究还指出，iPOC 含量在 IF 与 OM 处理间无显著差异（表 5）。虽然有机肥施用能直接增加土壤有机碳源，提高微团聚体有机碳的含量，但是有机肥施用能增强微生物活性，促进微团聚体内有机碳的分解作用[24]，最终有机碳矿化量抵消了其增加量，导致 IF 与 OM 处理间 iPOC 含量差异不显著。

iSOC 性质稳定，难于利用，是土壤中惰性有机碳组分。王雪芬等[25]长期施肥研究表明，土壤 iSOC 组分含量在有机氮肥、无机氮肥、有机无机氮肥配施处理间无显著差异，与本研究结果（表 5）一致。有研究[26]表明，惰性有机碳需要 50～3 000 年进行周转，在短期内土壤利用改变对惰性有机碳不产生影响。本试验仅进行 9 年，因此，各处理间 fSOC 的含量无显著差异（表 5）。然而，王西和等[27]在灰漠土的研究发现，相较于无机氮肥，长期有机无机氮肥配施显著增加土壤粉黏粒组分中有机碳的积累，这与本研究结果（表 5）相反，可能是由于试验中有机氮肥类型和施用量不同导致的：本研究中有机肥施用量为 2.1 $t \cdot hm^{-2}$，前者研究有机肥的施用量为羊粪 60 $t \cdot hm^{-2}$。曹寒冰等[24]研究表明土壤有机碳的固定速率随着有机碳投入量的增加而增加。

与 IF 处理相比，IF+OM 处理提高了土壤有机碳含量（表 5），其原因可能与烷基碳/烷氧碳的比值有关。研究表明，烷基碳/烷氧碳、疏水性与土壤有机碳含量呈正相关关系（图 1），并且烷基碳/烷氧碳越大，有机碳的腐殖化程度越高，越有利于有机碳抵抗微生物分解，从而使更多有机碳被土壤固定[15]。路径分析表明，fPOC、iPOC 含量与有机碳含量呈显著正相关（图 1），说明本研究中土壤固定的碳主要成分是 fPOC 和 iPOC，长期有机无机氮肥配施会提高土壤团聚体中未受保护和受物理保护的有机碳组分的含量。Liu 等[28]研究也表明，有机碳与 fPOC、iPOC 的含量呈显著正相关关系。戴齐[29]研究表明，fPOC 对土壤有机碳有显著增强的作用，iPOC 对土壤有机碳有间接增强作用。

3.4　长期不同氮肥施用对土壤有机碳官能团的影响

本研究表明，与 IF 处理相比，OM 和 IF+OM 处理显著提高了烷基碳和烷氧碳的比例，降低芳香碳的比例，对土壤其他有机碳官能团比例无显著影响（表 6）。有机肥可增加根系分泌物的含量，加速土壤中微生物对木质素和其他物质的分解，从而产生了大量的烷基碳和烷氧碳[28]。OM 和 IF+OM 处理烷基碳/烷氧碳比值均显著高于 IF 处理（表 6），这是由于有机碳对烷基碳增幅较烷氧碳增幅大所致。施入有机肥可提高土壤微生物活性，促进微生物对烷氧碳的利用，因此烷基碳相对富集[15]。

疏水性是衡量土壤有机碳和团聚体稳定性的指标。疏水性越高表明土壤有机碳和团聚体的稳定性越高[15]。本研究中各处理的疏水性无显著性差异（表 6），可能是 OM 和 IF+OM 处理的烷基碳和烷氧

碳比例均显著增加导致的。芳香性作为评估有机碳分子结构复杂性的指标，芳香度越低说明有机碳含有更少的芳香核结构，化学结构缩合程度愈低，结构愈简单[30]。本研究发现，各处理芳香性表现为：IF>OM>IF+OM（表 6），说明有机无机氮肥配合施用导致土壤有机碳分子结构更简单，土壤有机碳更稳定。与 IF 和 OM 处理相比，IF+OM 处理土壤具有更高的疏水性和烷基碳/烷氧碳比值，更低的芳香性（表 6），表明 IF+OM 促进土壤烷基化，使土壤有机碳腐殖化程度增加，抗分解性更强，从而提高土壤化学稳定性，促进有机碳固定和储存。

4 结 论

持续 9 年氮肥施用后，IF+OM 处理相对于 IF 和 OM 处理显著提高了玉米与豇豆产量。同时，与 IF 处理相比，OM 和 IF+OM 处理显著增加土壤中大于 2 mm 的团聚体含量、GMD 和 WMD，改善了土壤结构性和稳定性，且 IF+OM 改善效果更好；IF+OM 处理提高了烷基碳/烷氧碳比值，增加了有机质稳定性，提高了 iPOC 和 fPOC 含量，最终提高了土壤固碳能力与有机碳含量。

参考文献（References）

[1] Witzgall K, Vidal A, Schubert D I, et al. Particulate organic matter as a functional soil component for persistent soil organic carbon[J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 4115.

[2] Lal R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security[J]. Science, 2004, 304(5677): 1623—1627.

[3] Yang Y H, Wu J C, Zhao S W, et al. Effects of long-term super absorbent polymer and organic manure on soil structure and organic carbon distribution in different soil layers[J]. Soil & Tillage Research, 2021, 206(7): 104781.

[4] Li J, Wen Y C, Li X H, et al. Soil labile organic carbon fractions and soil organic carbon stocks as affected by long-term organic and mineral fertilization regimes in the North China Plain[J]. Soil & Tillage Research, 2018, 175: 281—290.

[5] Kanchikerimath M, Singh D. Soil organic matter and biological properties after 26 years of maize–wheat–cowpea cropping as affected by manure and fertilization in a Cambisol in semiarid region of India[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2001, 86(2): 155—162.

[6] He W, Wang H, Han F, et al. Effect of long-term application of organic manure expanding organic carbon fractions in fluvo-aquic soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2020, 57(2): 425—434. [何伟, 王会, 韩飞, 等. 长期施用有机肥显著提升潮土有机碳组分[J]. 土壤学报, 2020, 57(2): 425—434.]

[7] Tong X G, Xu M G, Wang X J, et al. Long-term fertilization effects on organic carbon fractions in a red soil of China[J]. Catena, 2014, 113: 251—259.

[8] Deng W Y, Liu K L, Tian J, et al. Effects of long-term fertilization on distribution of carbon and nitrogen in different functional soil organic matter fractions in paddy soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2017, 54(2): 468—479. [邓文悦, 柳开楼, 田静, 等. 长期施肥对水稻土不同功能有机质库碳氮分布的影响[J]. 土壤学报, 2017, 54(2): 468—479.]

[9] Hua K K, Zhu B, Yang X L, et al. Effects of long-term different fertilization on soil aggregates and organic carbon fractions on sloping upland of purple soil[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(10): 167—174. [花可可, 朱波, 杨小林, 等. 长期施肥对紫色土旱坡地团聚体与有机碳组分的影响[J]. 农业机械学报, 2014, 45(10): 167—174.]

[10] Li N, Sheng M, You M Y, et al. Advancement in research on application of ^{13}C NMR techniques to exploration of chemical structure of soil organic matter[J]. Acta Pedologica Sinica, 2019, 56(4): 796—812. [李娜, 盛明, 尤孟阳, 等. 应用 ^{13}C 核磁共振技术研究土壤有机质化学结构进展[J]. 土壤学报, 2019, 56(4): 796—812.]

[11] Spaccini R, Sannino D, Piccolo A, et al. Molecular changes in organic matter of a compost-amended soil[J]. European Journal of Soil Science, 2009, 60(2): 287—296.

[12] Wang Q J, Huang Q W, Zhang L, et al. The effects of compost in a rice–wheat cropping system on aggregate size, carbon and nitrogen content of the size–density fraction and chemical composition of soil organic matter, as shown by ^{13}C CP NMR spectroscopy[J]. Soil Use and Management, 2012, 28(3): 337—346.

[13] Zhou P, Pan G X, Spaccini R, et al. Molecular changes in particulate organic matter (POM) in a typical Chinese paddy soil under different long‐term fertilizer treatments[J]. European Journal of Soil Science, 2010, 61(2): 231—242.

[14] Bierke A, Kaiser K, Guggenberger G. Crop residue management effects on organic matter in paddy soils-The lignin component[J]. Geoderma, 2008, 146(1/2): 48—57.

[15] Guo S C, Yu H Y, Zhu X Z, et al. Effect of long-term fertilization on molecular structure of organic carbon in soil aggregates in fluvo-aquic soil [J]. Acta Pedologica

Sinica，2013，50（5）：922—930. [郭素春，郁红艳，朱雪竹，等. 长期施肥对潮土团聚体有机碳分子结构的影响[J]. 土壤学报，2013，50（5）：922—930.]

[16] Zheng F X，Dong S T，Liu P，et al. Effects of combined application of manure and chemical fertilizers on ammonia volatilization loss and yield of winter wheat[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer，2017，23（3）：567—577. [郑凤霞，董树亭，刘鹏，等. 长期有机无机肥配施对冬小麦籽粒产量及氨挥发损失的影响[J]. 植物营养与肥料学报，2017，23（3）：567—577.]

[17] Yang X M，Li G H，Li G C，et al. Effects of combined application of chemical fertilizer with manure on yield and nitrogen use efficiency of winter wheat in cinnamon soil on North China Plain[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China，2014（4）：48—52. [杨晓梅，李桂花，李贵春，等. 有机无机配施比例对华北褐土冬小麦产量与氮肥利用率的影响[J]. 中国土壤与肥料，2014（4）：48—52.]

[18] Hou H Q，Ji J H，Liu X M，et al. Effect of long-term combined application of organic and inorganic fertilizers on rice yield，nitrogen uptake and utilization in red soil area of China [J]. Soils，2020，52（4）：758—765. [侯红乾，冀建华，刘秀梅，等. 不同比例有机肥替代化肥对水稻产量和氮素利用率的影响[J]. 土壤， 2020，52（4）：758—765.]

[19] Edmeades D C. The long-term effects of manures and fertilisers on soil productivity and quality：A review[J]. Nutrient Cycling in Agroecosystems，2003，66（2）：165—180.

[20] Gao H Y，Guo S L，Liu W Z，et al. Effect of fertilization on organic carbon distribution in various fractions of aggregates in caliche soils[J]. Acta Pedologica Sinica，2010，47（5）：931—938. [高会议， 郭胜利，刘文兆，等. 不同施肥处理对黑垆土各粒级团聚体中有机碳含量分布的影响[J]. 土壤学报，2010，47（5）：931—938.]

[21] Liu H，Tong X G，Xu Y M，et al. Evolution characteristics of organic carbon fractions in gray desert soil under long-term fertilization[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science，2010，16（4）：794—800.[刘骅，佟小刚，许咏梅，等. 长期施肥下灰漠土有机碳组分含量及其演变特征[J]. 植物营养与肥料学报，2010，16（4）：794—800.]

[22] Kou Z R，Zhou X B，Xu C，et al. Effects of combination application of organic and inorganic fertilizers on organic carbon fractions in tobacco-planting yellow soil [J]. Soils，2020，52（1）：195—201. [寇智瑞，周鑫斌，徐宸，等. 有机无机肥配施对黄壤烟田有机碳组分的影响[J]. 土壤，2020，52（1）：195—201.]

[23] An T T，Wang J K，Li S Y，et al. Effects of manure application on organic carbon in aggregates of black soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology，2008，19（2）：369—373. [安婷婷，汪景宽，李双异，等. 施用有机肥对黑土团聚体有机碳的影响[J]. 应用生态学报，2008，19（2）：369—373.]

[24] Cao H B，Xie J Y，Hong J P. Variation characteristics of organic carbon fractions within macroaggregates under long-term different fertilization regimes in the reclaimed soil[J]. Journal of China Coal Society，2021，46（3）：1046—1055. [曹寒冰，谢钧宇，洪坚平. 长期不同施肥复垦土壤大团聚体中各有机碳组分的变化特征[J]. 煤炭学报，2021，46（3）：1046—1055.]

[25] Wang X F，Hu F，Peng X H，et al. Effects of long-term fertilization on soil organic carbon pools and their turnovers in a red soil[J]. Acta Pedologica Sinica，2012，49（5）：954—961. [王雪芬，胡锋，彭新华，等. 长期施肥对红壤不同有机碳库及其周转速率的影响[J]. 土壤学报，2012，49（5）：954—961.]

[26] Falloon P D，Smith P. Modelling refractory soil organic matter[J]. Biology and Fertility of Soils，2000，30（5/6）：388—398.

[27] Wang X H，Yang J Y，Wang Y P，et al. Characteristics of organic carbon and stability of aggregates in grey desert soil under long-term fertilization measures[J]. Soils and Fertilizer Sciences in China，2021（6）：1—8. [王西和，杨金钰，王彦平，等. 长期施肥措施下灰漠土有机碳及团聚体稳定性特征[J]. 中国土壤与肥料，2021（6）：1—8.]

[28] Liu T Q，Guo L J，Cao C G，et al. Long-term rice-oilseed rape rotation increases soil organic carbon by improving functional groups of soil organic matter[J]. Agriculture，Ecosystems & Environment，2021，319：107548.

[29] Dai Q. Mechanism of the changes in aggregate-stability and corresponding cementing material caused by fertilization regimes in red paddy-soils[D]. Changsha：Hunan Agricultural University，2018.[戴齐. 施肥措施改变后红壤性水稻土团聚体稳定性及其胶结物变化的作用机制[D].长沙：湖南农业大学，2018.]

[30] Han X X，Li Q F，Wang J C. Responses of soil organic carbon components and microbial communities to organic management[J]. Chinese Journal of Tropical Crops，2022，43（8）：1728—1737. [韩兴秀，李勤奋，王进闯. 土壤有机碳组分和微生物群落对有机管理的响应[J]. 热带作物学报，2022，43（8）：1728—1737.]

（**责任编辑**：陈荣府）