

# 长期施用有机肥对黑土胡敏素结构特征的影响 ——固态 $^{13}\text{C}$ 核磁共振研究

张晋京<sup>1</sup>, 窦森<sup>1</sup>, 朱平<sup>2</sup>, 高洪军<sup>2</sup>, 宋祥云<sup>3</sup>, 王立春<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130118; <sup>2</sup>吉林省农业科学院农业环境与资源研究中心, 吉林公主岭 136100;

<sup>3</sup>南京农业大学农业资源与生态环境研究所, 南京 210095)

**摘要:**【目的】研究连作玉米农田长期施用有机肥(猪粪)对黑土胡敏素(HM)结构特征的影响,比较不同施肥量和施肥年限间的差异,为阐明HM在土壤肥力上的作用提供理论依据。【方法】以1980年建立的国家黑土肥力与肥料效益监测基地的长期肥料试验为平台,采集定位12年和25年的3个试验处理(①不施肥CK;②施低量有机肥,施猪粪 $30\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ ;③施高量有机肥,施猪粪 $60\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ )土样,在NaOH-Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>分离和HF-HCl脱灰处理的基础上,应用固态 $^{13}\text{C}$ 交叉极化魔角自旋核磁共振( $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR)方法对HM进行结构表征。【结果】与不施肥相比,施用有机肥后HM的有机碳含量增加,烷基C比例增加,烷氧C和芳香C比例下降,烷基C/烷氧C、脂族C/芳香C和疏水C/亲水C比值增加,上述规律性随有机肥施用量的提高和施用年限的延长表现得更加明显。不施肥处理随年限延长,HM的有机碳含量降低,而烷基C、烷氧C和芳香C比例以及烷基C/烷氧C、脂族C/芳香C和疏水C/亲水C比值均表现出与施肥处理相同的变化规律,但其变化幅度小于施肥处理。【结论】长期施用有机肥使土壤HM的结构向着烷基化和疏水性程度增加的方向发展,这对于土壤肥力的保持是有利的。

**关键词:** 胡敏素; 黑土; 长期施肥试验; 有机肥; 固态 $^{13}\text{C}$ 核磁共振

## Effect of Long-Term Application of Organic Fertilizer on Structural Characteristics of Humic in Black Soil ——A Solid-State $^{13}\text{C}$ NMR Study

ZHANG Jin-jing<sup>1</sup>, DOU Sen<sup>1</sup>, ZHU Ping<sup>2</sup>, GAO Hong-jun<sup>2</sup>, SONG Xiang-yun<sup>3</sup>, WANG Li-chun<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>College of Resource and Environmental Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118; <sup>2</sup>Center of Agricultural Environment and Resources, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, Jilin; <sup>3</sup>Institute of Resources, Ecosystem and Environment of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

**Abstract:** 【Objective】 In order to provide a theoretical basis for illustrating the role of humin (HM) in soil fertility, the structural characteristics of HM were studied after long-term application of organic fertilizer (pig manure) under continuous cultivation of corn in agricultural black soil, and the structural difference of HM was compared between different dosage and duration of organic fertilizer applied. 【Method】 The experiment was carried out based on a long-term fertilizer experiment of “Black Soil Fertility and Fertilizer Efficiency Long Term Monitoring Base (founded in 1980)” at Gongzhuling, Jilin Province, China. Soil (0-20 cm) was sampled at 1992 and 2005, respectively. The treatments included: CK (no fertilizer), O1 (low level of organic fertilizer at a dosage of  $30\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ ) and O2 (high level of organic fertilizer at a dosage of  $60\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ ). Soil HM were separated with NaOH-Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> mixture, and then dashed with HF-HCl mixture. Solid state  $^{13}\text{C}$  cross polarization magic angle spinning nuclear magnetic resonance ( $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR) spectroscopy was used to characterize the chemical structure of the HM isolates. 【Result】 Compared with CK, the organic carbon contents of HM increased after application of organic fertilizer; alkyl C also increased while

收稿日期: 2008-05-30; 接受日期: 2008-12-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(40471076; 40871107)、吉林农业大学博士后基金项目

作者简介: 张晋京(1972-), 男, 山西河曲人, 副教授, 博士, 研究方向为土壤化学。Tel: 0431-84532955; E-mail: zhangjinjing@126.com。通信作者窦森(1959-), 男, 吉林东丰人, 教授, 博士, 研究方向为土壤化学。Tel: 0431-84532851; E-mail: dousen@tom.com

O-alkyl C and aromatic C decreased; the ratios of alkyl C/ O-alkyl C, aliphatic C/ aromatic C and hydrophobic C/hydrophilic C all increased. The above change tendency was more obvious with the increase in the dosage and the duration of organic fertilizer applied. With the prolonged duration for the CK treatment, the organic carbon content of HM decreased. And the change tendency of alkyl C, O-alkyl C, aromatic C, alkyl C/ O-alkyl C ratio, aliphatic C/ aromatic C ratio and hydrophobic C/hydrophilic C ratio of HM from CK were all identical with that of HM from O1 and O2 with duration, but the change extents of theirs were lower in the CK treatment.

【Conclusion】The long-term application of organic fertilizer makes the HM structure tend to become more alkyl and hydrophobic, and thus is beneficial for maintaining soil fertility.

Key words: humin; black soil; long-term fertilization experiment; organic manure; solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR

## 0 引言

【研究意义】土壤有机质是土壤质量和健康的核心<sup>[1]</sup>, 作为其主体的腐殖物质在土壤肥力、生态环境和地球化学循环等方面都发挥着重要作用<sup>[2]</sup>, 而这些作用又与腐殖物质本身的结构组成密切相关<sup>[3]</sup>。在土壤腐殖物质三组分即胡敏酸(HA)、富啡酸(FA)和胡敏素(HM)中, HM是与无机矿物紧密结合<sup>[4]</sup>、在任何 pH 条件的水溶液中都不溶解的腐殖物质组分<sup>[5]</sup>。尽管 HM 占土壤有机碳、有机氮的绝大部分, 并且在土壤肥力上发挥着重要作用<sup>[5-6]</sup>, 但由于其本身不仅是化学结构十分复杂、组成很不均一的高分子有机化合物, 而且在整体上具有相当大的非溶解性, 这使得其研究比 HA、FA 更加困难, 因此目前对于 HM 结构组成的认识还十分有限。土壤培肥是提高土壤生产力和保障农业可持续发展的重要措施, 研究长期施肥条件下土壤 HM 结构组成的变化, 对于深入认识其肥力作用以及培肥机理都具有重要意义。【前人研究进展】关于长期施肥对土壤 HM 结构特征的影响, 目前仅见一篇报道, 即 Preston 等<sup>[7]</sup>利用固态  $^{13}\text{C}$  交叉极化魔角自旋核磁共振 ( $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR) 方法, 研究了长期施用化学氮肥对种植树木的森林土壤 HM 结构特征的影响。【本研究切入点】长期施用有机肥对土壤 HM 结构特征的影响, 目前尚未见报道。【拟解决的关键问题】以国家黑土肥力与肥料效益监测基地为平台, 应用固态  $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR 方法, 研究长期施用有机肥对种植玉米的农田土壤 HM 结构特征的影响, 为阐明其肥力作用和培肥机理提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验地点位于吉林省公主岭市的吉林省农业科学院国家黑土肥力与肥料效益监测基地 (43°30'23" N, 124°48'33.9" E, 220 m a.s.l.)。土壤类型为发育于黄土母质上的中层黑土, 相当于美国系统分类制中的黏

化黑软土 (Argaltoll)。长期定位试验从 1980 年开始, 试验前土壤 (0~20 cm) 的基本性质如下: 有机质 28.1  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 全氮 1.87  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 全磷 0.60  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 全钾 16.5  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 碱解氮 124  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 速效磷 9.13  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 速效钾 121  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。选取 3 个试验处理即 CK、O1 和 O2, 其中 CK 为不施肥, O1 为每年施猪粪 30  $\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$ , O2 为每年施猪粪 60  $\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。猪粪全部做底肥, 于春播前撒施地表。试验小区面积为 100  $\text{m}^2$ , 3 次重复, 随机排列, 供试作物为玉米。采样时间为 1992 年 5 月 1 日 (定位 12 年) 和 2005 年 4 月 21 日 (定位 25 年), 深度为 0~20 cm。

### 1.2 方法

1.2.1 土壤 HM 的分离和纯化方法 称取风干土样 10 g 于塑料离心管中, 加入 80 ml 蒸馏水, (25±2) °C 振荡 12 h, 取出后于 3 500 r/min 离心 15 min, 弃去上清液, 按此方法重复处理土样 2 次。接着加入 80 ml 0.025  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 也按同样方法重复处理土样 2 次。然后再加入 80 ml 含 5%  $\text{Na}_2\text{SO}_4\cdot 10\text{H}_2\text{O}$  的 0.1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NaOH}$ -0.1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  混合液, 仍用上述相同方法重复处理土样 8 次, 直至碱提取液颜色很淡时为止, 离心管中的剩余残渣即为 HM。将此 HM 依次用 0.5%、2.5%、5%、10%、20%、30% 和 40% (体积分数) 的 HF-HCl 混合液处理 7、7、11、6、4、2 和 1 次, 最后用蒸馏水洗至无  $\text{Cl}^-$  反应 ( $\text{AgNO}_3$  检验), 冷冻干燥, 磨细过 0.1 mm 筛。

1.2.2 土壤 HM 的分析方法 有机碳含量用元素分析仪 (Elementar Vario EL III) 测定, 灰分含量在 750 °C 加热 3 h 测定。固态  $^{13}\text{C}$  核磁共振波谱用瑞士 Bruker AV400 型核磁共振仪测定, 采用交叉极化魔角自旋 (CPMAS) 技术,  $^{13}\text{C}$  共振频率为 100.57 MHz, 魔角自旋频率为 5 kHz, 接触时间为 2 ms, 采样时间为 34 ms, 循环延迟时间为 5 s, 数据点为 2 048 个, 化学位移用外标 2, 2-二甲基-2-硅戊烷-5-磺酸钠 (DSS) 校正, 积分面积由仪器自动给出, 各类型碳相对含量用某化学位移区间积分面积占总面积的百分数表示, 旋转边带按 Conte 等<sup>[8]</sup>的方法修正。

## 2 结果与分析

### 2.1 HM 的化学分析

由表 1 可见, 采用本研究的方法, 所得 HM 的灰分含量为  $214.0\sim 466.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 质量提取率为  $0.49\%\sim 1.08\%$ , 有机碳含量为  $345.3\sim 514.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (HF-HCl

处理后) 和  $4.11\sim 10.8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (HF-HCl 处理前), 有机碳回收率为  $41.2\%\sim 53.2\%$ 。

与不施肥相比, 施用有机肥后 HM 的灰分含量降低, 质量提取率和有机碳含量增加。随有机肥施用量的提高和施用年限的延长, 上述规律性通常表现得更加明显, 而不施肥处理则随年限延长呈相反的变化。

表 1 土壤 HM 的灰分含量、质量提取率、有机碳含量和有机碳回收率

Table 1 Ash content, mass extraction rate, organic carbon (OC) content, and OC recovery rate of soil HM samples

处理 Treatment	灰分 Ash ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	质量提取率 Mass extraction rate (%)	HF-HCl 处理后有机碳 OC after HF-HCl treatment ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	HF-HCl 处理前有机碳 OC before HF-HCl treatment ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	有机碳回收率 OC recovery rate (%)
1992					
CK	349.0	0.86	430.4	6.96	53.2
O1	315.0	0.97	464.4	9.86	45.7
O2	285.3	0.90	494.1	8.84	49.4
2005					
CK	466.1	0.49	345.3	4.11	41.2
O1	257.2	1.04	503.0	10.8	48.4
O2	214.0	1.08	514.4	10.5	52.9

有机碳回收率 = [(质量提取率  $\times$  HF-HCl 处理后的 HM 有机碳) / HF-HCl 处理前的 HM 有机碳]  $\times 100$

OC recovery rate = [(mass extraction rate  $\times$  OC of HM after HF-HCl treatment) / OC of HM before HF-HCl treatment]  $\times 100$

### 2.2 HM 的固态 $^{13}\text{C}$ 核磁共振波谱分析

下图为 HM 的固态  $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR 波谱, 可划分为 4 个主要的共振区, 即烷基 C 区 ( $0\sim 50\text{ ppm}$ )、烷氧 C 区 ( $50\sim 110\text{ ppm}$ )、芳香 C 区 ( $110\sim 160\text{ ppm}$ ) 和羰基 C 区 ( $160\sim 200\text{ ppm}$ )。各共振区的主要吸收峰及其归属如下: 烷基 C 区中, 可以在  $21\sim 22$ 、 $25\sim 26$ 、 $31$ 、 $33$  和  $43\sim 44\text{ ppm}$  观察到吸收峰, 它们分别

为与芳环相连的  $\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2$ 、无定型  $(\text{CH}_2)_n$  长链 C、晶型  $(\text{CH}_2)_n$  长链 C 和支链烷基 C<sup>[9]</sup>, 其中以  $25\sim 26\text{ ppm}$  的吸收峰最为明显; 烷氧 C 区中,  $54\sim 55\text{ ppm}$  为甲氧基 C 的吸收,  $61\sim 62$ 、 $72\sim 75$ 、 $83\sim 87\text{ ppm}$  为碳水化合物 C 的吸收,  $103\sim 105\text{ ppm}$  为双烷氧 C 的吸收<sup>[10-11]</sup>, 其中  $61\sim 62$  和  $72\sim 75\text{ ppm}$  又可分别归属为碳水化合物中伯醇和仲醇基 C 的吸收<sup>[12]</sup>; 芳香 C 区中,

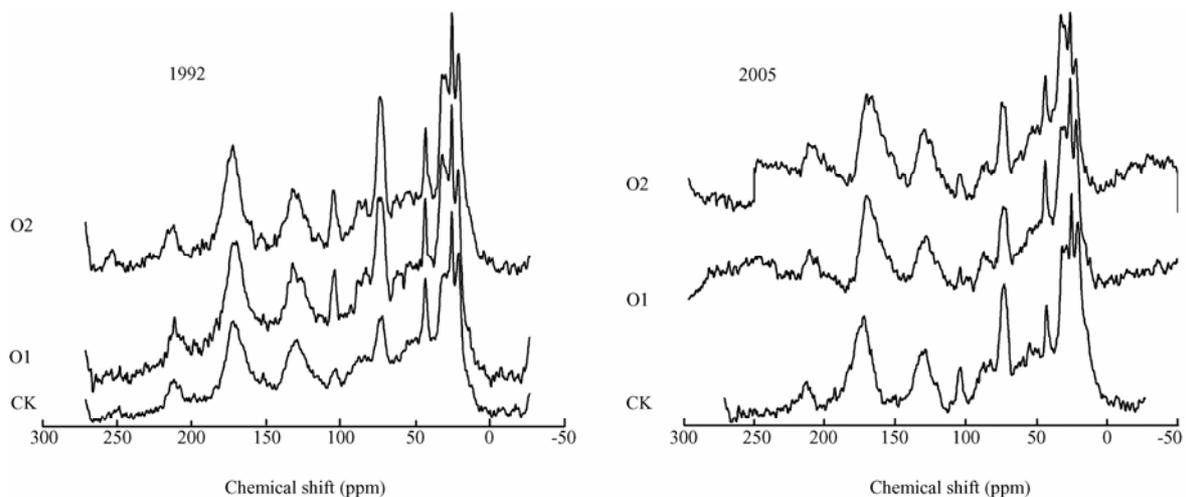


图 土壤 HM 的  $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR 波谱图

Fig.  $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR spectra of soil HM samples

128~132 ppm 主要是被羧基或羧甲基取代的芳香 C 以及与 O、N 等取代基间位的连 H 芳香 C 的吸收<sup>[12]</sup>, 而 150 ppm 附近的小吸收峰则为酚基 C 的信号; 羰基 C 区中, 主要的信号出现在 170~172 ppm, 为羧酸、酯和酰胺 C 的吸收<sup>[12]</sup>。另外, 在 211~213 ppm 也观察到有信号存在, 主要是由羰基 C 产生的旋转边带的吸收, 而脂族 C 和芳香 C 对于旋转边带的贡献通常可以忽略不计<sup>[13-14]</sup>。

尽管 <sup>13</sup>C CPMAS NMR 波谱由于一些技术上的原因(如不同类型 C 的 CP 效率不同以及自旋边带的影响等等)在定量方面尚存在困难, 但用于腐殖物质组分中不同类型 C 的半定量比较被证明是可行的<sup>[11]</sup>。由表 2 可见, 土壤 HM 中烷基 C 的平均比例(48.9%)最高, 其次为烷氧 C(23.1%)和羰基 C(19.2%), 而芳香 C 的平均比例(8.74%)最低。与不施肥相比, 施用有机肥后 HM 中烷基 C 的比例增加, 烷氧 C 和芳香 C 的比例降低, 羰基 C 的比例总体呈增加趋势。随有机肥施用量的提高, HM 中烷基 C 的比例增加, 烷氧 C 和芳香 C 的比例降低, 羰基 C 的比例在定位 12 年时有所降低而定位 25 年时则增加。与施肥 12 年时

相比, 施肥 25 年时 HM 的烷基 C 比例较高, 烷氧 C 和芳香 C 比例较低, 羰基 C 比例当施低量有机肥时下降而施高量有机肥时则增加; 不施肥处理随年限延长, HM 中烷基 C、烷氧 C 和芳香 C 的比例也表现出与施有机肥处理相同的变化规律, 同时羰基 C 的比例略有降低, 但烷基 C、烷氧 C 和芳香 C 的变化幅度(分别为 35.4%、12.1%和 52.8%)都小于施有机肥处理的变化幅度(分别为 53.5%~42.2%、29.3%~64.4%和 63.3%~87.9%)。

上述不同类型 C 相对比例的变化, 导致 HM 的脂族 C/芳香 C、烷基 C/烷氧 C 和疏水 C/亲水 C 比值也产生了规律性的变化。从表 2 可以看到, 与不施肥相比, 施用有机肥后 HM 的脂族 C/芳香 C、烷基 C/烷氧 C 和疏水 C/亲水 C 比值均增加, 同时随有机肥施用量的提高和施用年限的延长进一步增加。不施肥处理随年限延长, HM 的脂族 C/芳香 C、烷基 C/烷氧 C 和疏水 C/亲水 C 比值也表现出与施有机肥处理相同的变化规律, 但它们的增加幅度(分别为 140.0%、53.6%和 18.6%)都小于施有机肥处理的增加幅度(分别为 226.6%~767.2%、117.4%~299.5%和 57.7%~67.9%)。

表 2 土壤 HM 中不同类型 C 的分布

Table 2 Distribution of different C types from <sup>13</sup>C CPMAS NMR spectra of soil HM samples

处理 Treatment	烷基 C Alkyl C (%)	烷氧 C O-alkyl C (%)	芳香 C Aromatic C (%)	羰基 C Carbonyl C (%)	脂族 C/芳香 C Aliphatic C/Aromatic C	烷基 C/烷氧 C Alkyl C/O-alkyl C	疏水 C/亲水 C Hydrophobic C/Hydrophilic C
1992							
CK	35.0	31.3	15.6	18.1	4.25	1.12	1.02
O1	38.9	27.0	13.3	20.8	4.96	1.44	1.09
O2	46.4	25.0	10.1	18.6	7.08	1.86	1.30
2005							
CK	47.4	27.5	7.36	17.7	10.2	1.72	1.21
O1	59.7	19.1	4.88	16.3	16.2	3.13	1.83
O2	66.0	8.89	1.22	23.8	61.4	7.43	2.05
均值 Mean	48.9	23.1	8.74	19.2	17.3	2.78	1.42

脂族 C/芳香 C=(烷基 C+烷氧 C)/芳香 C; 疏水 C/亲水 C=(烷基 C+芳香 C)/(烷氧 C+羰基 C)

Aliphatic C/Aromatic C=(Alkyl C+O-alkyl C)/Aromatic C; Hydrophobic C/Hydrophilic C=(Alkyl C+Aromatic C)/(O-alkyl C+ Carbonyl C)

### 3 讨论

#### 3.1 长期施用有机肥对土壤 HM 化学特征的影响

表 1 中, 与不施肥相比, 施用有机肥后土壤 HM 的有机碳含量增加, 说明施用有机肥有利于 HM 的形成和积累, 这与已有的研究结果一致<sup>[15-16]</sup>。另外, 在

相同的提取条件下, 施用有机肥后 HM 的灰分含量较低, 说明施用有机肥使土壤中形成了更多有机形态的 HM, HF-HCl 处理后 HM 有机碳含量和质量提取率的增加也证实了这一点。

虽然使用 HF-HCl 有可能改变 HM 的结构组成, 但这一处理对于降低灰分含量以及富集有机碳, 进而

提高  $^{13}\text{C}$  NMR 分析时的分辨率是十分必要的<sup>[17]</sup>, 因此也是目前最普遍采用的纯化 HM 的方法。从表 1 看到, 真正以有机形态存在的 HM 的数量是很少的, 在本试验条件下的质量提取率平均仅约为 0.89%。同时, 尽管经过了反复的 HF-HCl 处理, HM 的灰分含量仍在  $200\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  以上, 而且纯化过程导致 HM 中部分有机碳的损失, 应用本方法的有机碳回收率为 41.2%~53.2%。而 Preston 等<sup>[7]</sup>研究中的贫有机态和富有机态 HM 组分(粗 HM 经 HF 处理后的两种物理分组组分)的有机碳回收率分别为 14.2%~60.2%和 10.9%~60.3%, 回收率的差异可能与 HF 的处理浓度不同有关, 通常更浓的 HF 导致更低的有机碳回收率<sup>[7,18]</sup>。但使用低浓度 HF 处理的不利之处在于, 难以有效去除 HM 中的无机矿物, 所获得的 HM 仍然具有很高的灰分含量, 如 Preston 等<sup>[7]</sup>用 3.5% HF 处理后, 即使富有机态 HM 部分的有机碳含量也仅为  $13.9\sim 55.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 而本研究中则达到了  $345.3\sim 514.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 从而保证了核磁共振谱图具有更高的分辨率。然而也有研究表明, 不同浓度 HF 对土壤有机碳损失的影响不显著<sup>[19]</sup>。总的来看, HM 难于纯化确实是限制其主要原因之一, 寻找更为有效的处理方法仍然是今后 HM 研究的重要内容。

### 3.2 长期施用有机肥对土壤 HM 结构特征的影响

典型的 HM 包含有烷基 C、烷氧 C、双烷氧 C、芳香 C 以及羧酸、酯和酰胺 C<sup>[7]</sup>。本研究的  $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR 波谱(图)显示, 黑土 HM 也具有上述典型 HM 的结构特征, 其中 26 ppm 处的强吸收峰表明 HM 烷基结构中含有较多的  $\text{CH}_2$  官能团。

脂族 C/芳香 C 比值可以用来反映腐殖物质分子结构的复杂程度, 该比值越高表明腐殖物质中芳香核结构越少、脂肪族侧链越多、缩合程度越低, 分子结构越简单。本研究中 HM 脂族 C/芳香 C 比值的变化(表 2)表明, 长期施用有机肥使 HM 的脂族性增强、芳香性降低, 分子结构趋于简单化。

烷基 C/烷氧 C 比值反映了腐殖物质烷基化程度的高低。一般认为, 烷基 C 来源于植物生物聚合物(如角质、木栓质、蜡质)和微生物代谢产物, 是难以降解的稳定有机碳组分<sup>[12,20]</sup>, 而烷氧 C 则相对易于分解<sup>[12]</sup>, 因此通常用烷基 C/烷氧 C 比值作为有机碳分解程度的指标<sup>[20]</sup>。本研究中烷基 C/烷氧 C 比值的变化(表 2)表明, 与不施肥相比, 施用有机肥后 HM 的烷基化程度增加, 有机碳分解程度较高, 难分解有机碳的比例增多, 其原因可能是由于有机肥的增产作用使得更多

的作物残体进入土壤, 提高了土壤微生物活性, 对 HM 中烷氧 C 的利用程度增加, 使烷基 C 相对富集, 导致烷基 C/烷氧 C 比值增加, 从而有助于提高土壤有机碳的稳定性。看来, 对于本身就比较稳定的 HM 组分而言, 有机肥施用进一步提高了其稳定性。HM 中烷基 C/烷氧 C 比值的增加, 虽然不利于土壤肥力的进一步发挥, 但对于土壤肥力的保持是有利的。Preston 等<sup>[7]</sup>的研究表明, 长期施用氮肥使土壤 HM 的烷基 C/烷氧 C 比值降低, 这说明施用氮肥可能降低了土壤有机碳的稳定性, 但也可能与 HM 的分离方法、土壤类型等不同有关。

疏水 C/亲水 C 比值能够反映腐殖物质疏水程度的大小, 与土壤有机碳和团聚体的稳定性密切相关, 通常该比值越大则土壤有机碳和团聚体的稳定性也越高<sup>[21-22]</sup>; 另外, 还有研究认为该比值与腐殖物质本身的生理活性有关<sup>[23]</sup>。本研究中 HM 疏水 C/亲水 C 比值的变化(表 2)表明, 长期施用有机肥导致其疏水程度增加, 土壤有机碳和团聚体稳定性增强, 与上述烷基 C/烷氧 C 比值所反映的规律性一致。由于紧密结合态有机质<sup>[24]</sup>或 HM<sup>[22]</sup>主要控制小粒级微团聚体的形成, 因此可以认为施用有机肥对于提高小粒级微团聚体的稳定性是有利的, 而微团聚体中有机碳的转化率<sup>[25]</sup>可能也与 HM 的高稳定性有着直接的关系。

## 4 结论

4.1 与不施肥相比, 施用有机肥后 HM 的有机碳含量增加, 烷基化程度提高, 疏水程度增强, 分子结构趋于简单, 并随有机肥施用量和施用年限延长表现得更加明显, 这对于增强土壤有机碳和团聚体的稳定性是有利的, 从而有利于土壤肥力的保持。

4.2 不施肥处理随年限延长, HM 的有机碳含量降低, 烷基化程度和疏水程度的变化与施有机肥处理相同, 同时分子结构也趋于简单, 但相应的变化幅度小于施有机肥处理。

致谢: 感谢中国科学院长春应用化学研究所景凤英老师在固态  $^{13}\text{C}$  核磁共振测定上给予的帮助。

## References

- [1] Liu X, Herbert S J, Hashemi A M, Zhang X, Ding G. Effects of agricultural management on soil organic matter and carbon transformation—a review. *Plant, Soil and Environment*, 2006, 52: 531-543.

- [2] MacCarthy P. The principles of humic substances. *Soil Science*, 2001, 166: 738-751.
- [3] Hayes M H B, MacCarthy P, Malcolm R L, Swift R S. *Humic Substances. II. In Search of Structure*. New York: A Wiley-interscience Publication, 1989.
- [4] Stevenson F J. *Humic Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. New York: John Wiley & Sons, 1994.
- [5] Rice J A. Humin. *Soil Science*, 2001, 166: 848-857.
- [6] 张晋京, 窦 森. 土壤胡敏素研究进展. *生态学报*, 2008, 28(3): 1229-1239.
- Zhang J J, Dou S. Advances in soil humin research. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28 (3): 1229-1239. (in Chinese)
- [7] Preston C M, Newman R H. A long-term effect of N fertilization on the  $^{13}\text{C}$  CPMAS NMR of de-ashed soil humin in a second-growth Douglas-fir stand of coastal British Columbia. *Geoderma*, 1995, 68: 229-241.
- [8] Conte P, Piccolo A, van Lagen B, Buurman P, de Jager P A. Quantitative differences in evaluating soil humic substances by liquid- and solid-state  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy. *Geoderma*, 1997, 80: 339-352.
- [9] 李 丽, 冉 勇, 盛国英, 傅家谟, 彭平安, 黄伟林. 泥炭土连续碱抽提腐殖酸的分子结构特征. *分析化学*, 2002, 30(11): 1303-1307.
- Li L, Ran Y, Sheng G Y, Fu J M, Peng P A, Huang W L. Molecular structure characterization of humic acids progressively extracted from a peat soil. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2002, 30(11): 1303-1307. (in Chinese)
- [10] Mathers N J, Xu Z H. Solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy: characterization of soil organic matter under two contrasting residue management regimes in a 2-year-old pine plantation of subtropical Australia. *Geoderma*, 2003, 114: 19-31.
- [11] Chen C R, Xu Z H, Mathers N J. Soil carbon pools in adjacent natural and plantation forests of subtropical Australia. *Soil Science Society of America Journal*, 2004, 68: 282-291.
- [12] Dou S, Zhang J J, Li K. Effect of organic matter applications on  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of humic acids of soil. *European Journal of Soil Science*, 2008, 59: 532-539.
- [13] Piccolo A, Conte P. Comments on "modern analytical studies of humic substances" by Hatcher et al. *Soil Science*, 2003, 168: 73-74.
- [14] Conte P, Spaccini R, Piccolo A. State of the art of CPMAS  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy applied to natural organic matter. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2004, 44: 215-223.
- [15] 张晋京, 张大军, 窦 森, 宋祥云. 田间定位施肥对土壤腐殖质组分数与特性的影响. *土壤通报*, 2006, 37(6): 1243-1246.
- Zhang J J, Zhang D J, Dou S, Song X Y. Effects of field located fertilization on the content and characteristics of soil humus fractions. *Chinese Journal of Soil Science*, 2006, 37(6): 1243-1246. (in Chinese)
- [16] Adani F, Genevini P, Ricca G, Tambone F, Montoneri E. Modification of soil humic matter after 4 years of compost application. *Waste Management*, 2007, 27: 319-324.
- [17] Preston C M, Hempfling R, Schulten H R, Schnitzer M, Trofymow J A, Axelson D E. Characterization of organic matter in a forest soil of coastal British Columbia by NMR and pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Plant and Soil*, 1994, 158: 69-82.
- [18] Gélinas Y, Baldock J A, Hedges J I. Demineralization of marine and freshwater sediments for CP/MAS  $^{13}\text{C}$  NMR analysis. *Organic Geochemistry*, 2001, 32: 677-693.
- [19] Rumpel C, Rabia N, Derenne S, Quenea K, Eusterhues K, Kögel-Knabner I, Mariotti A. Alteration of soil organic matter following treatment with hydrofluoric acid (HF). *Organic Geochemistry*, 2006, 37: 1437-1451.
- [20] Ussiri D A N, Johnson C E. Characterization of organic matter in a northern hardwood forest soil by  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy and chemical methods. *Geoderma*, 2003, 111: 123-149.
- [21] Piccolo A, Mbagwu J S C. Role of hydrophobic components of soil organic matter in soil aggregate stability. *Soil Science Society of America Journal*, 1999, 63: 1801-1810.
- [22] Spaccini R, Mbagwu J S C, Conte P, Piccolo A. Changes of humic substances characteristics from forested to cultivated soils in Ethiopia. *Geoderma*, 2006, 132: 9-19.
- [23] Nardi S, Muscolo A, Vaccaro S, Baiano S, Spaccini R, Piccolo A. Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and krebs cycle in maize seedlings. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39: 3138-3146.
- [24] 关连珠, 张伯泉, 颜 丽. 不同肥力黑土、棕壤微团聚体组成及其胶结物质的研究. *土壤学报*, 1991, 28(3): 260-267.
- Guan L Z, Zhang B Q, Yan L. Composition of microaggregate and cementing substances in black soils and brown forest soils with different fertility levels. *Acta Pedologica Sinica*, 1991, 28 (3): 260-267. (in Chinese)
- [25] Six J, Elliott E T, Paustian K. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 2099-2103.