

基于 ^{31}P -NMR的延边州东部两市苹果梨园土壤磷化合物变化

秦 博¹, 黄金凤¹, 徐同良¹, 谢修鸿², 梁运江¹

(1. 延边大学 农学院, 吉林 延吉 133002; 2. 长春大学 园林学院, 长春 130022)

摘 要:针对延边州东部和龙市和珲春市苹果梨园土壤,分别选取剖面点并进行挖掘,根据土壤物理状态划分土壤自然发生层,分层采集土壤样品,采用 ^{31}P -NMR核磁共振波谱法对果园不同土层土壤磷化合物变化趋势进行研究。结果显示:和龙、珲春两市苹果梨园土壤磷化合物组成均含有正磷酸盐、正磷酸单酯和焦磷酸盐,且正磷酸盐>正磷酸单酯>焦磷酸盐;与珲春苹果梨园相比,和龙苹果梨园的A层和AB层土壤含有磷酸二酯。随着土层深度增加,正磷酸盐所占磷化合物的比例总体呈升高趋势,两地最深层土壤的正磷酸盐比例均高达80%以上;与正磷酸盐相反,随着土层深度增加磷酸单酯所占磷化合物的比例呈减小的趋势。两地苹果梨园土壤磷化合物中,焦磷酸盐所占比例最大的土层均为AB层。磷酸单酯在和龙苹果梨园土壤中的丰富度明显高于珲春苹果梨园土壤。

关键词:苹果梨园;磷化合物; ^{31}P 核磁共振(^{31}P -NMR)波谱法

中图分类号:S 153.6

文献标志码:A

文章编号:1006-7167(2017)05-0017-04



Change of Soil Phosphorus Compound of Apple-pear Orchards in the East of Two Cities in Korean Autonomous Prefecture of Yanbian

QIN Bo¹, HUANG Jinfeng¹, XU Tongliang¹, XIE Xiuhong², LIANG Yunjiang¹

(1. College of Agriculture, Yanbian University, Yanji 133002, Jiling, China;

2. College of Landscape Architecture, Changchun University, Changchun 130022, China)

Abstract: Aiming at soil in apple-pear orchard of Hunchun city and Helong city in the east of Korean Autonomous Prefecture of Yanbian of Jilin Province, the authors mined soil profile in apple-pear orchard, collected soil samples from different soil genetic horizon according to soil properties. We studied the change trend of phosphorus compound in different horizons of orchard soil by ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). The results indicated that phosphorus compounds of orchard soil of Hunchun and Helong were composed of orthophosphate, orthophosphate monoester and pyrophosphate (orthophosphate > orthophosphate monoester > pyrophosphate). Compared with apple-pear orchard of Hunchun, the horizons of A and AB contained orthophosphate diester. With increasing of depth of soil horizon, the percentage of orthophosphate of phosphorus compound was increased as well. The percentage of orthophosphate was more than 80% in the deepest soil of the two orchards. In contrast with orthophosphate, by the increase on depth of soil horizon, the percentage of orthophosphate monoester to phosphorus compound reduced. The soil horizon with the most percentage of pyrophosphate was AB horizon in soil of the two apple-pear orchards in Hunchun and Helong. The abundance of orthophosphate monoester in soil of apple-pear orchard of Helong was significantly higher than that in Hunchun.

向为土壤与植物营养研究。

Tel.: 18243085665; E-mail: 675914667@qq.com

通信作者:梁运江(1972-),男,吉林前郭人,博士,副教授,硕士生导师,主要研究方向为土壤与植物营养研究。

Tel.: 13944709192; E-mail: lyjluo@ybu.edu.cn

收稿日期:2016-09-19

基金项目:国家自然科学基金项目(31460117);延边大学2016年创新创业训练计划项目(ydbksky2016114)

作者简介:秦 博(1992-),男,吉林白山人,硕士生,主要研究方

Key words: apple-pear orchard; phosphorus compounds; ^{31}P nuclear magnetic resonance (^{31}P -NMR); spectroscopy

0 引言

延边州地处北纬 $41^{\circ}59' \sim 44^{\circ}30'$ 的东北亚金三角地带,不仅有东北地区冷凉的天气特征,又因临近日本海而具有海洋性湿润气候的特点,形成了当地独特的低温且近似海洋性的大陆季风气候,主要表现为季风明显,春季干燥多风,夏季温热多雨,秋季凉爽少雨,冬季寒冷期长。由于独特的气候条件,形成了典型暗棕壤。全州星罗棋布大量苹果梨园,是亚洲最大的苹果梨生产基地。

磷是植果树生长发育必须的大量元素,不仅影响果树的产量也直接影响着果实的品质,对果树来说具有不可替代的作用。对于果树而言,在其进行机体重要生理过程光合作用的碳同化与光和磷酸化过程中,均有磷元素的直接参与,所以缺少磷元素势必会导致果树的光合作用不能进行^[1]。土壤磷素缺乏会导致作物减产,而过量的累积又会增加土壤磷素流失的风险^[2-3]。磷在土壤中的存在形态和化学行为会直接影响其对果树的有效性而一直受到人们的广泛关注^[4-6]。在自然界中磷的形态多种多样,按照其成键类型可分为正磷酸盐、磷酸单酯、磷酸二酯、焦磷酸盐、麟酸盐、多聚磷酸等磷化合物。20 世纪 80 年代,Newman 等^[7]首次利用 ^{31}P -NMR 技术分析了土壤提取物中不同形态磷化合物的分布情况,自此 ^{31}P -NMR 技术被广泛研究和利用。作为自然界中唯一丰度为 100% 的磷同位素, ^{31}P 是一种可用核磁共振技术分析含磷化合物结构的理想原子核。在实际的研究中,由于存在于不同官能团的原子核会因屏蔽效应不同而出现不同的化学位移值,因此通过分析 ^{31}P -NMR 波谱图上的化学位移值可以鉴别具有不同空间结构的有机或无机磷化合物^[8]。相比其他方法而言, ^{31}P -NMR 检测法具有高速、准确、分辨率高、无干扰等优势^[9],其在磷化合物鉴定方面的优势传统化学方法不可比拟,它能从复杂的土壤提取液中清楚地鉴定出不同形态的磷^[10]。我国对土壤磷化合物的研究不多,对果园土壤磷化合物的分析研究更是没有涉及,因此,本文以延边州两市苹果梨园土壤为试材,采用核磁共振技术鉴定磷化合物,研究果园磷化合物的变化趋势有助于弥补我国果园磷化合物研究的不足,为我国果园尤其是我国北方果园磷循环研究提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤取自吉林省延边州东部和龙市及珲春市

苹果梨园内,土壤类型为暗棕壤。随机选取苹果梨园中长势良好且健康的苹果梨树,避开果园施肥带,在距离树干 1 m 处设置剖面点,同时在苹果梨园区未种植苹果梨树的荒地或者农田设置为对照剖面点。深挖 1 m,根据土壤的颜色、质地、结构、松紧度、干湿度、根系分布等特征,分出土壤的发生层次,依次为 A 层、AB 层、B 层、BC 层。

1.2 测定方法

土壤样品预处理方法为:称取 4 g 土样,加入 40 mL 0.25 mol/L NaOH 和 0.05 mol/L Na_2EDTA 混合液^[11],在 20 ℃ 条件下振荡 16 h (振荡频率 200 r/min),在 10 000 r/min 冷冻离心机下离心 30 min (4 ℃)。上清液按 20:1 加入 0.11 mol/L NaHCO_3 + 0.11 mol/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 液 (BD 溶液) 水平振荡 10 min 后冷冻干燥至粉末状,冷藏待用。

上机前称取土壤浸提液冻干样品 300 mg,加入 1.5 mL 0.25 mol/L NaOH 重新溶解,在冷冻离心机上离心,条件设定为 4 ℃, 8 000 g, 5 min,取 0.6 mL 的上清液转移到 5 mm 的 NMR 管中,然后向 NMR 管中加入 0.05 mL D_2O ,摇匀待测。采用 ^{31}P -NMR 核磁共振波谱法,利用仪器 BRUKER AVANCE III HD 进行测定。采用 BRUKER 标准腔 5 mm 的 BBO 探头, ^{31}P 谱的脉冲 $P_1 = 13.90 \mu\text{s}$,脉冲功率 $P_{11} = 40 \text{ W}$, ^{31}P 的共振频率为 202.47 Hz,循环延迟 $d_1 = 2 \text{ s}$,扫描 20 000 次左右,测定温度为 296.2 K。所有 ^{31}P 化学位移均参照 85% 的正磷酸。

1.3 数据分析

根据各类磷化合物在 ^{31}P 核磁共振图谱上的位移显示:正磷酸盐化学位移在 $(6 \sim 8) \times 10^{-6}$;磷酸单酯化学位移在 $(3 \sim 6) \times 10^{-6}$;磷酸二酯化学位移 $(-1 \sim -2.5) \times 10^{-6}$;焦磷酸盐化学位移在 $(-5 \sim -2.5) \times 10^{-6}$ ^[7,12-13];单核苷酸化学位移在 $(4.78 \sim 4.32) \times 10^{-6}$;磷酸胆碱化学位移 4.05×10^{-6} ;鲨肌醇六磷酸化学位移在 4.14×10^{-6} ;肌醇六磷酸脂化学位移在 $(5.85 \sim 4.92) \times 10^{-6}$ 和 $(4.55 \sim 4.43) \times 10^{-6}$ ^[14-16] 等。使用 MestReNova 软件进行分析处理,确定磷化合物。

数据采用 SPSS 软件和 Excel 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 延边珲春苹果梨园磷化物分析

由图 1 可见,珲春果园磷化合物由正磷酸盐、酸磷单酯和焦磷酸盐组成。由图 2 可见,珲春果园土壤中磷化合物比例为正磷酸盐 > 酸磷单酯 > 焦磷酸盐。正

磷酸盐和磷酸单酯作为磷化合物的主要组成因素,两者之和超过了磷化合物总量的85%。

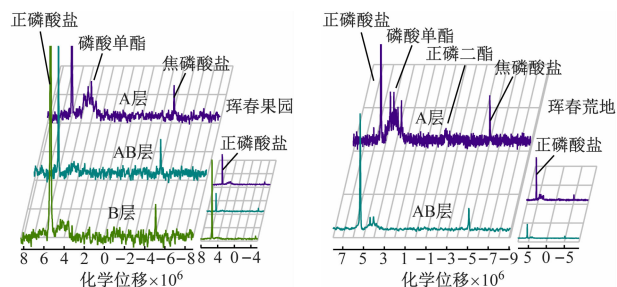


图1 珲春果园与荒地 ^{31}P 核磁共振图谱

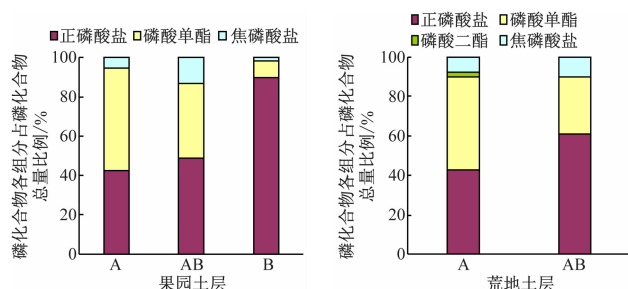


图2 磷化合物在不同土壤剖面中各组分占总磷的比例

图2显示,正磷酸盐的相对百分含量随着土壤层次的加深而增加,试验材料中最深层的珲春果园B层土壤,正磷酸盐所占磷化合物比例达到了近90%;与正磷酸盐相反,磷酸单酯所占比重的趋势却是随着土壤层次的加深而减少。核磁图谱中同一类磷化合物的峰的个数与该化合物的丰富度呈正相关。图1中果园 ^{31}P 核磁共振图谱显示,珲春果园A层土壤磷酸单酯类化合物出峰个数为8个,而AB层和B层分别为5个和4个,随着土层加深,磷酸单酯不仅所占百分比降低,其丰富度也下降。对比图1中果园附近的荒地土壤,挖掘与果园土壤同样深度仅出现到AB层。磷酸二酯在果园土壤中未测出,但在珲春荒地土壤的A层土壤中被检测到,占磷化合物总量的2.12%。珲春苹果梨园内,A层土壤中主要磷化合物为有机磷酸单酯,而其他层次则以正磷酸盐为主(见图2)。

2.2 延边和龙苹果梨园磷化合物分析

从图3可看出,和龙土壤检测出正磷酸盐、酸磷单酯、正磷酸二酯和焦磷酸盐4种磷化合物,且这四类磷化合物在土壤中含量如图4所示,为:正磷酸盐>酸磷单酯>焦磷酸盐>正磷酸二酯(见图4)。

结合图4中的和龙果园和荒地土壤可以看出:果园A至B层土壤正磷酸盐所占比例明显高于荒地相同土层土壤。和龙农田BC层土壤的正磷酸盐所占比例极高,达到97.82%。无论是果园土壤或是农田土壤,磷酸单酯所占磷化合物的比例的总体趋势都是随着土壤层次的加深而减小。果园A至B层磷酸单酯所占比例高于农田的A至B层。图3中果园 ^{31}P 核磁

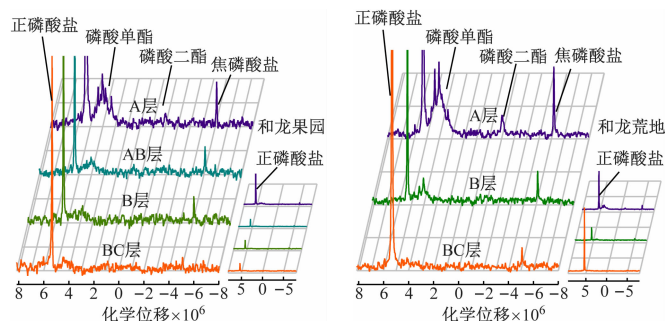


图3 和龙果园与荒地 ^{31}P 核磁共振图谱

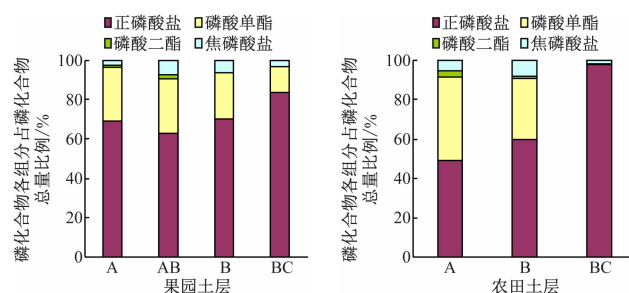


图4 磷化合物在不同土壤剖面中各组分占总磷的比例

共振图谱显示,和龙果园A层土壤磷酸单酯类化合物出峰个数为14个,AB层为11个,B层和BC层土壤均为7个。可见磷酸单酯的丰富度随着土壤层次的加深而呈现降低趋势。磷酸二酯是这四类磷化合物中唯一没有分布在所有层次中的磷化合物,从图4中看出,磷酸二酯只分布于果园AB及以上土层和农田B层及以上土层中,随着土壤深度增加而减少。作为和龙果园四类磷化合物中含量最少的化合物,即使在所占比例最大的农田土A层也只有3.2%。焦磷酸盐虽然在磷化合物中所占比例相对较少,但是无论果园土壤还是农田土,每个层次均有焦磷酸盐存在。焦磷酸盐所占磷化合物的比例的总体趋势是随着土壤层次的加深先增加后减少。

2.3 珲春苹果梨园与和龙苹果梨园磷化合物比例异同点分析

和龙苹果梨园与珲春苹果梨园的土壤中,均含有正磷酸盐、酸磷单酯和焦磷酸盐3种磷化合物,且3种磷化合物所占比例均为正磷酸盐>酸磷单酯>焦磷酸盐;两地土壤中磷酸单酯的比例都是随着土壤层次的加深而减少,且磷酸单酯的丰富度也在随着土层的加深而降低;两地土壤中焦磷酸盐所占比重最大的层次都是AB层土壤。

和龙苹果梨园土壤中磷化合物的丰富度高于珲春苹果梨园土壤,与珲春苹果梨园土壤相比,和龙苹果梨园土壤含有磷酸二酯,且存在于A和AB两个层次内。磷酸单酯是两地苹果梨园土壤中出峰较多的化合物,但是和龙果园土壤的磷酸单酯出峰个数明显高于珲春苹果梨园土壤,在AB层甚至高出2倍以上。

3 结 语

延边州东部两市和龙市和珲春市的苹果梨园土壤中均含有正磷酸盐、酸磷单酯和焦磷酸盐3种磷化合物,且3种磷化合物所占比例均为正磷酸盐>酸磷单酯>焦磷酸盐;不同的是地处北部的珲春市苹果梨园中未含有磷酸二酯,而南部的和龙市苹果梨园土壤的A层和AB层均含有磷酸二酯。磷酸单酯在和龙苹果梨园土壤中的丰富度明显高于珲春苹果梨园土壤,其中AB层更是高出2倍以上。

总体趋势来看,两地正磷酸盐的比例都是随着土壤层次的加深而升高,但是磷酸单酯的比例及其丰富度却随着土壤层次的加深呈现降低的趋势;两地土壤中焦磷酸盐所占比重最大的层次都是AB层土壤。

果树对磷肥的吸收主要是无极正磷酸盐类,对于珲春果园表层土无机正磷酸盐比例偏低的情况来看,建议其适当追加无机磷肥,或者调整施肥比例。

参考文献 (References):

- [1] 霍启光. 动物磷营养与磷源[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2002.
- [2] Dougherty W, Fleming N K, Cox J W, *et al.* Phosphorus transfer in surface runoff from intensive pasture systems at various scales: a review[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2004, 33: 1973-1988.
- [3] Xavier F A S, Oliveira T S, Andrade F V, *et al.* Phosphorus fractionation in a sandy soil under organic agriculture in Northeastern Brazil[J]. *Geoderma*, 2009, 151(3): 417-423.
- [4] 孙桂芳,金继运,石元亮. 土壤磷素形态及其生物有效性研究进展[J]. *中国土壤与肥料*, 2011(2): 1-9.
- [5] Liang Yunjiang, Fu Minjie, Liu Huan, *et al.* Effects of freezing and thawing on soil phosphorus of protective farmland[J]. *ICEEP*, 2013(4): 19-21.
- [6] 王非非,梁运江,谢修鸿,等. 珲春苹果梨园不同土壤剖面有机磷分布特征[J]. *北方园艺*, 2016(6): 156-159.
- [7] Newman R H, Tate K R. Soil phosphorus characterization by ^{31}P nuclear magnetic resonance[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1980(11): 835-842.
- [8] Cade-Menun B J. Characterizing phosphorus in environmental and agricultural samples by ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. *Talanta*, 2005, 66(2): 359-371.
- [9] Turnrr B L. Optimizing phosphorus characterization in animal manures by solution phosphorus- ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2004, 33(2): 757-766.
- [10] Tumer B L. Haygarth P M. Phosphatase activity in temperate pasture soils: Potential regulation of labile organic phosphorus turnover by phosphodiesterase activity[J]. *Science of the Total Environment*, 2005, 344(1-3): 27-36.
- [11] Cademenun B, Liu C W. Solution phosphorus- ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy of soils from 2005 to 2013: A review of sample preparation and experimental parameters[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2013, 78: 19-37.
- [12] Hawkes G E, Powlson D S, Randall E W, *et al.* A ^{31}P nuclear magnetic resonance study of the phosphorus species in alkali extracts of soils from long-term field experiments[J]. *European Journal of Soil Science*, 1984, 35(1): 35-45.
- [13] Cademenun B, Preston C M. A comparison of soil extraction procedures for ^{31}P NMR spectroscopy[J]. *Soil Science*, 1996, 161(11): 770-785.
- [14] Turner B L, Mahieu N, Condon L M. Phosphorus- ^{31}P nuclear magnetic resonance spectral assignments of phosphorus compounds in soil NaOH-EDTA extracts[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2003, 67(2): 497-510.
- [15] Lookman R, Grobet P, Merckx R, *et al.* Application of ^{31}P and ^{27}Al MAS NMR for phosphate speciation studies in soil and aluminium hydroxides: Promises and constraints[J]. *Geoderma*, 1997, 80(3-4): 369-388.
- [16] Turner B L, Richardson A E. Identification of scyllo-inositol phosphates in soil by solution phosphorus- ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2004, 68(3): 802-808.

· 名人名言 ·

科技是国家强盛之基,创新是民族进步之魂。自古以来,科学技术就以一种不可逆转、不可抗拒的力量推动着人类社会向前发展。十六世纪以来,世界发生了多次科技革命,每一次都深刻影响了世界力量格局。从某种意义上说,科技实力决定着世界政治经济力量对比的变化,也决定着各国各民族的前途命运。

——摘自习近平《在中国科学院第十七次院士大会、中国工程院第十二次院士大会上的讲话》(2014)