

土壤有机磷分组方法的探讨

任 怡

(东北师范大学留日预校)

摘 要

本文以36个土壤样本的有机磷测定结果为依据,对Bowman—Cole法的基本原理和操作要点作了初步探讨,确认了该法的可靠性和可行性。认为其分组结果可作为土壤有机质和有效磷动力学研究的重要参数。

土壤磷的分组是研究土壤磷的形态分布、转化及其有效性的有力工具。自1957年张守敬和Jackson提出土壤无机磷分组方法以来,该方法在土壤无机磷的形态分布,磷肥施入土壤后的形态转化及其残效,不同形态土壤磷的有效性等方面已经获得了广泛地应用。随着土壤有机磷研究的深入,1978年Bowman和Cole首先提出了土壤有机磷分组方法,为人们全面地认识土壤整个磷素循环过程提供了新的途径。

Bowman—Cole法在土壤有机磷研究中的应用,使那些较易受环境条件影响,矿化速率较高,对土壤磷肥力影响较大的活性有机磷组分从稳定性较高的有机磷组分中划分开来,从而使人们对土壤有机磷的有效性有了一个新的认识。但由于该法分析步骤较繁琐,技术难度大,操作过程容易出现误差,某些关键步骤还不成熟等原因,限制了该法的广泛应用。为此我们在Bowman—Cole法分组流程图的基础上,对某些关键操作步骤作了一些摸索和改进,并结合土壤无机磷分组和全磷的测定(结果见表1),对该法的可行性和准确性作了进一步的探讨,以促进土壤有机磷分组方法早日臻于完善。

一、分组的基本原理和流程

与土壤无机磷分组方法一样,Bowman—Cole法分组的基本原理是利用不同化学提剂的特性,根据不同土壤有机磷组分对某些化学处理的反映和稳定性,将土壤中矿化速率有较大差异的不同有机磷组分大致划分开来。

Bowman—Cole法将土壤有机磷划分为四组:

1. 活性有机磷(0.5M NaHCO_3 可浸出的易矿化有机磷);
2. 中等活性有机磷(指能溶于1M H_2SO_4 而较易矿化的有机磷组分);
3. 中稳态有机磷(指溶于0.5N NaOH ,在pH 1—1.5的酸性条件下不发生沉淀而较难矿化的有机磷组分);
4. 高稳态有机磷(用0.5N NaOH 浸出后,在pH 1—1.5时产生沉淀而难矿化的有机磷组分)。

由土壤有机磷分组流程图看出:稳定性较低的活性有机磷和中等活性有机磷是用弱碱和稀酸浸提出来的,而用强碱浸提出来的组分则认为其稳定性较高。中稳态有机磷和高稳

(单位P_{mg}/100克土)

土壤无机磷和有机磷分组及全磷、有效磷测定

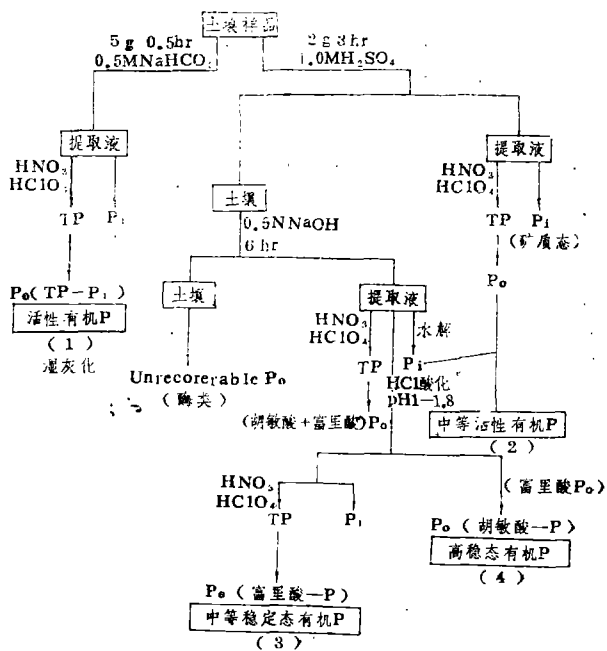
表1

组别 序号	H ₂ O-P	Al-P	Fe-P	C ₁ -P	C-P	L-P	ML-P	MR-P	H-P	ΣP	全磷	ΣP/全P	有效P	ΣPi/全P	ΣPo/全P
1	0.069	1.875	3.772	16.39	5.834	0.02	6.41	3.09	0.48	37.89	41.70	0.91	0.82	0.74	0.26
2	0.083	1.603	2.556	17.01	7.045	0.01	7.56	3.03	0.38	39.28	41.90	0.94	0.66	0.57	0.43
3	0.111	2.301	3.389	17.79	6.027	0.05	6.35	3.56	0.16	39.74	45.30	0.88	0.99	0.75	0.25
4	0.097	1.648	3.222	16.81	5.278	0.05	5.43	3.25	0.38	36.17	42.50	0.85	0.71	0.75	0.25
5	0.111	1.932	3.333	17.08	6.611	0.11	6.49	4.59	0	40.26	43.10	0.93	0.95	0.72	0.28
6	0.083	1.794	3.611	5.69	5.862	0.88	10.26	4.33	1.22	33.73	42.00	0.80	0.97	0.51	0.49
7	0.083	1.793	4.333	4.51	8.056	0.09	6.45	7.04	3.52	35.88	43.10	0.83	0.86	0.52	0.52
8	0.097	2.102	5.556	4.93	7.528	1.05	8.93	6.37	3.80	40.36	42.00	0.96	1.34	0.50	0.50
9	0.153	3.267	4.944	9.91	8.639	0.66	7.57	8.50	2.15	45.79	50.50	0.91	1.66	0.59	0.41
10	0.278	1.147	8.833	6.94	3.334	0.82	7.82	6.84	1.73	43.75	53.60	0.82	3.43	0.47	0.53
11	0.069	1.278	4.444	4.24	4.694	0.87	6.67	6.78	1.18	30.22	42.30	0.71	0.83	0.49	0.51
12	0.125	1.648	3.611	5.49	6.945	0.89	6.86	5.84	1.78	33.19	52.50	0.63	0.90	0.54	0.46
13	0.278	5.109	2.722	19.93	8.445	0.38	9.25	5.38	0.47	51.96	60.50	0.86	1.06	0.71	0.29
14	0.139	2.869	2.278	20.14	6.111	0.26	5.31	8.36	1.57	47.04	57.20	0.82	1.10	0.67	0.33
15	0.222	4.318	2.833	20.69	7.194	0.19	5.33	9.04	1.05	50.87	57.50	0.88	1.98	0.69	0.31
16	0.403	6.193	3.778	22.43	7.756	0.09	8.86	9.48	1.78	63.75	62.80	0.97	3.19	0.67	0.33
17	0.139	3.580	2.333	21.39	5.778	0.23	7.21	7.46	1.70	49.82	60.10	0.83	1.32	0.67	0.33
18	0.139	3.864	2.444	21.42	10.54	0.29	10.00	7.05	1.33	56.08	62.90	0.93	1.47	0.67	0.33
19	0.125	2.869	1.556	21.81	4.652	0.26	8.69	5.63	1.97	47.56	60.60	0.78	1.54	0.65	0.35
20	0.167	3.807	2.667	20.63	6.917	3.19	9.79	8.37	0	52.54	50.90	1.03	1.10	0.65	0.35
21	0.208	4.773	3.556	21.25	4.403	0.15	9.54	4.46	2.20	50.94	58.30	0.87	2.10	0.67	0.33
22	0.306	4.429	1.278	22.36	6.139	0.13	10.19	4.17	1.63	50.63	58.40	0.87	1.22	0.68	0.32

组别 序号	H ₂ O-P	Al-P	Fe-P	Ca-P	O-P	L-P	ML-P	MR-P	H-P	ΣP	全磷	ΣP/全P	有效P	ΣPi/全P	ΣPo/全P
23	0.184	3.324	1.444	21.60	8.611	0.20	6.68	6.14	1.33	59.52	57.20	0.87	1.06	0.71	0.29
24	0.111	2.244	1.778	22.57	6.347	0.15	6.19	7.03	1.50	47.92	53.30	0.84	0.79	0.69	0.31
25	0.208	3.665	1.883	23.54	5.764	0.14	7.79	7.64	3.30	53.94	60.30	0.89	1.65	0.65	0.35
26	0.083	2.102	1.500	21.67	5.556	0.27	6.00	7.22	0.92	45.32	56.60	0.80	0.84	0.68	0.32
27	0.139	2.784	1.722	21.84	6.083	0.17	4.69	7.62	0.82	45.97	61.00	0.75	1.21	0.71	0.29
28	0.153	1.705	1.111	21.60	5.222	0.31	6.40	5.68	1.20	43.38	53.80	0.81	0.73	0.69	0.31
29	0.250	3.352	1.667	23.06	5.764	0.41	5.70	7.37	1.93	49.50	59.70	0.83	1.27	0.69	0.31
30	0.125	2.244	1.667	20.63	6.374	0.29	6.13	6.70	3.40	47.76	55.50	0.88	0.87	0.65	0.35
31	0.333	4.891	3.000	22.68	7.277	0.17	9.41	4.83	0.13	52.15	61.00	0.85	2.09	0.72	0.28
32	0.097	3.097	2.833	19.40	5.014	0.23	9.70	7.41	0.42	48.20	63.71	0.76	1.37	0.63	0.37
33	0.181	4.205	2.883	21.39	5.862	0.42	8.41	5.96	1.53	50.85	63.23	0.80	1.77	0.68	0.32
34	0.375	5.653	3.500	20.56	5.306	0.30	8.19	5.73	2.40	52.10	68.56	0.76	2.73	0.68	0.32
35	0.167	4.432	3.555	20.69	4.736	0.31	8.58	6.12	0.92	49.61	62.23	0.80	1.98	0.68	0.32
36	0.097	3.381	2.444	20.14	5.022	0.42	8.98	7.07	0.75	48.30	63.06	0.77	1.28	0.64	0.36
\bar{x}	0.167	3.081	3.000	17.75	6.297	0.32	7.61	6.26	1.77	46.27	54.80	0.85	1.38	0.65	0.35

说明: H₂O-P: 土壤水溶性磷 Al-P: 土壤磷酸铝盐类 Fe-P: 土壤磷酸铁盐类 Ca-P: 土壤磷酸钙盐类 O-P: 土壤闭蓄态磷

L-P: 土壤活性有机磷 ML-P: 土壤中稳定有机磷 MR-P: 土壤中中等稳定有机磷 H-P: 土壤高稳定有机磷



土壤有机磷分级分析流程示意图

HClO₄ (二级)、浓H₂SO₄ (二级)。

调pH用试剂：2、6-二硝基酚、0.5 N H₂SO₄、2 N NaOH。

比色用试剂：7.5 N、6.5 N 硫酸铝锑抗混合显色剂、磷标准液。

(二) 操作步骤

1. 土壤有效磷的测定 (第一步)

称取经过 1 mm 筛土样 2.5g (精确到 0.01g)，加入 50 mL 0.5M NaHCO₃ 溶液 (pH8.5)，振荡 30 分钟，立即过滤。然后吸取上述滤液 10 mL，加 7.5N 硫酸铝锑抗混合显色剂 5 mL，充分摇匀，加水定容至 50 mL，摇匀。30 分钟后比色，比色时须同时做空白测定。

磷标准曲线的绘制：分别吸取 5 ppm 磷标准液 0、1、2、3、4、5 mL，各加入 0.5M NaHCO₃ 10 mL 和 7.5N 硫酸铝锑抗混合显色剂 5 mL，定容至 50 mL，然后同待测液一样进行比色。

结果计算：土壤有效磷 $P_{ppm} = \text{显色液ppm} \times \frac{\text{浸提液体积}}{\text{称样重}} \times \frac{\text{显色液体积}}{\text{吸取液体积}}$

2. 土壤有机活性磷的测定 (第二步)

吸取 0.5 M NaHCO₃ 浸提液 10 mL，缓缓加入 4 滴浓硫酸，轻轻摇匀，至无气泡后加 20 滴 72% HClO₄，消化在 200℃ 以上电沙浴或电炉上加热，当开始出现白烟时，盖上表面皿，直至溶液转变为无棕色或黄色，呈淡绿色或无色透明时为止，并冷却到去掉表面皿无白烟冒出为止。溶液不要蒸干，否则会造成试验误差。将冷却液转入 50 mL 量瓶中。

调 pH、显色、比色、配制标准液均与第一步相同。

结果计算：土壤有机活性磷 $P_{ppm} = \text{第二步测定值} - \text{第一步测定值}$

态有机磷的提取和划分实质上与土壤富里酸及胡敏酸的浸提分离方法类似。所以有时也将二者分别称为胡敏酸态有机磷和富里酸态有机磷。

二、分析试剂和操作步骤

(一) 分析试剂

浸提剂：0.5N

NaHCO₃、1 M H₂SO₄、

0.5N NaOH。

消煮氧化剂：72%

3. 土壤无机磷的测定(第三步)

称取1mm筛土样1g(精确到0.001g),加入1M H₂SO₄50mL,连续振荡3小时,过滤,必须连同全部土样一起置于滤纸上。过滤完毕,将盛土样的漏斗置于另一三角瓶中,再将用硫酸浸提土样的三角瓶内所剩下的土粒冲洗至盛土样的滤纸上,接着淋洗土样和滤纸数次。滤纸上的土样让其适当干燥,不要丢掉(因为以后还要加碱浸提继续测定稳定性有机磷)。然后吸取上述滤液5mL,置于50mL刻度试管中,加2N NaOH 5mL。

调pH、显色、比色均与第一步相同。

磷标准曲线的绘制:分别吸取5ppm磷标准液0、1、2、3、4、5mL,各加入5mL 1M H₂SO₄,5mL 2N NaOH,定容至50mL,然后同待测液一样进行调pH、显色、比色。

结果计算同第一步。

4. 土壤有机中度活性磷的测定(第四步)

吸取1M H₂SO₄浸提液10mL,加72% HClO₄20滴消化,消化的方法与第二步相同。

调pH、显色、比色均与第一步相同。

若土壤有机中度活性磷含量很高,则须重新消化稀释后再进行测定。即将消化液定量地转入50mL容量瓶中,再稀释至刻度。稀释后吸取10mL置于50mL刻度试管中。

标准曲线绘制与第三步方法相同。

结果计算:土壤有机中度活性磷P_{ppm} = 第四步测定值 - 第三步测定值

5. 土壤碱浸提液有机中度活性磷的测定(第五步)

将第三步盛有土壤的滤纸置于100mL三角瓶中,加0.5N NaOH 50mL,连续振荡6小时。吸取此滤液5mL,加0.5N H₂SO₄5mL,按第一步方法调pH、显色、比色。

磷标准曲线绘制:分别吸取5ppm磷标准液0、1、2、3、4、5mL,各加入5mL 0.5N NaOH,5mL 0.5N H₂SO₄,再同第一步方法调pH、显色、比色。

结果计算:本步骤测定结果,实际上是在0.5N NaOH溶液的条件下,部分有机磷被水解而产生的无机磷值。这部分无机磷值包括0.5M NaHCO₃可浸提出的有机活性磷值,又包括较易被碱水解的有机中度活性磷值,故本步骤的测定值应减去第二步的测定值,其差值再加入到土壤有机中度活性磷值中去。

6. 土壤有机稳定性磷的测定(第六步)

吸取0.5N NaOH浸提液5mL置于50mL烧杯中,加8滴浓H₂SO₄,消化土壤浸提液中的有机磷。消化方法与第二步相同。

调pH、显色、比色均与第一步相同。

标准曲线绘制与第五步相同。

结果计算:这部分的测定值减去第五步测定值即等于有机稳定性磷值,即包括有机中度稳定性磷值和有机高度稳定性磷值。

7. 土壤有机中度稳定性磷的测定(第七步)

吸取0.5N NaOH浸提液20mL,逐滴加入浓H₂SO₄,并轻轻摇动,以聚凝胡敏酸凝胶,直至溶液开始出现混浊(这一现象在pH 2—3时可看到),再多加几滴浓H₂SO₄即

可, 然后, 在不超过80℃的烘箱中, 加热30分钟, 放置过夜, 以便完全沉淀胡敏酸凝胶。

过滤、吸取清亮液 5 mL, 加 4 滴浓 H_2SO_4 , 72% $HClO_4$ 20 滴消化, 消化方法与第二步相同。

调 pH、显色、比色均与第一步相同。

标准曲线绘制与第五步相同。

结果计算: 这部分的测定值减去第五步测定值的差值即为土壤有机中度稳定性磷值, 也即富啡酸态有机磷值。

8. 土壤有机高度稳定性磷的结果计算

土壤有机稳定性磷测定值减去有机中度稳定性磷值即等于土壤高度稳定性磷值, 也即胡敏酸态磷值。

三、结果讨论及注意事项

从表 1 可以看出, 土壤无机磷和有机磷分组浸出的各组磷量之和 (ΣP) 平均占全磷 (实际测定结果) 的 85—90% 左右。这说明除个别样本浸出的各组磷之和偏高或偏低外, 我们采用的土壤无机磷和有机磷分组方法可以将土壤磷按其性质、形态的差异大致划分开来。土壤有机磷分组方法是可行的。分组结果可以为土壤有机质的矿化作用、微生物和酶活性的动力学研究提供重要的参考依据。

从土壤有机磷各组之和占全磷百分量 (30—50% 左右) 可以看出, 土壤有机磷是土壤磷的重要组成部分, 是土壤磷素循环中的重要一环。土壤有机磷的矿化分解和同化固定都不可避免地影响土壤有效磷的水平。从表 2 土壤各组磷间的相关分析可以看出, 土壤活性有机磷和有效磷呈显著负相关 ($r = -0.493^*$)。这可能因为土壤活性有机磷的矿化可以提高有效磷的水平所致。而土壤中等活性有机磷与全磷呈极显著正相关 ($r = 0.610^{**}$)

土壤有机磷分组在有机磷的测定原理上与浸提法测有机磷全量一样, 是利用浸提液中氧化消煮前后测定的磷量之差来计算有机磷含量的。因此有机磷的测定首先是浸提剂的

表 2 土壤各组磷间的相互单相关系数及显著性检验

组 别	H_2O-P	Al-P	Fe-P	Ca-P	O-P	L-P	ML-P
H_2O-P	1	0.348**	0.434	0.219	0.233	-0.243	0.420
Al-P		1	0.765**	-0.069	0.362	-0.324	0.603**
Fe-P			1	-0.345	0.235	-0.276	0.377
Ca-P				1	-0.379	-0.337	-0.113
O-P					1	0.081	0.231
L-P						1	-0.193
ML-P							1
MR-P							
H-P							
IP							
OP							
TP							
AP							

续表 2

组 别	MR-P	H-P	IP	OP	TP	AP
H ₁ D-P	0.032	0.033	0.753**	0.439	3.284**	0.669**
Al-P	0.108	-0.084	0.873**	0.629**	0.845**	0.782**
Fe-P	0.369	-0.115	0.634**	0.580*	0.674**	0.724**
Ca-P	0.003	0.446	0.048	0.068	0.061	0.179
O-P	0.230	-0.317	0.669**	0.262	0.548*	0.086
L-P	-0.133	-0.118	-0.309	-0.335	-0.353	-0.495*
ML-P	-0.389	-0.064	0.488*	0.645**	0.610**	0.324
MR-P	1	-0.104	0.286	0.325	0.331	0.366
H-P		1	-0.084	0.304	0.086	0.194
IP			1	0.649**	0.936**	0.706**
OP				1	0.871**	0.666**
TP					1	0.757**
AP						1

说明 :IP: 土壤无机磷 OP: 土壤有机磷 TP: 土壤全磷 AP: 土壤有效磷

选择, 对浸提剂的要求是既能最大量地浸提出需要的有机磷组分, 又不能过多地引起有机磷的水解, 避免造成更大的误差。其次消煮氧化是测定准确与否的关键, 既要做到消化完全, 又不能造成磷的溅失或污染, 否则将造成很大试验误差。温度要逐渐升高, 氧化剂加入量要根据有机质含量由少到多分几次加入。氧化剂过少不易消化完全, 过多则在调酸时需要大量的碱来中和, 容易出现误差。另外, 用离心代替过滤有时能避免滤纸吸附磷造成磷的损失。

四、小 结

我们对36个土壤样本的有机磷分组测定, 以Bowman—Cole法的分组流程为基础, 通过逐渐摸索改进, 36个样本的测定误差均在允许的范围之内。结合张守敬的无机磷分组, 我们用H₂SO₄—HClO₄法测定了土壤全磷。两种分组浸提测定的磷量之和平均为全磷的85—90%左右。测定结果说明Bowman—Cole法在测定结果上是可靠的, 方法上是可行的, 分组结果可作为土壤有机质矿化作用、微生物和酶活性及有效磷动力学研究的重要参数。

EXILORATION OF THE FRACTIONAL METHOD OF SOIL ORGANIC PHOSPHORUS

Ren Yi

(*Preparatory school of student studying in Japan, Northeast Normal University*)

ABSTRACT

The principle of Bowman-Cole method for fractionation of soil organic Phosphorus and main points in analysis were discussed and explored in this paper. According the result of studying from 36 soil samples, the method is reliable and feasible. The data obtained from it can be used as parameters in studying the mineralization of organic matter and the dynamics of available phosphorus.

(上接第23页)

DETERMINATION OF COLD RESISTANCE OF SOMATIC CELL CALLUS IN RICE

Jin Runzhou

(*Rice Research Institute, Jilin Academy of
Agricultural Sciences*)

ABSTRACT

The callus cultures of somatic cell tissues from mature embryos and juvenile spikes (0.5~1.0 cm) of 30 rice varieties with different cold resistance were examined. The results showed that different genotypical callus had obvious difference in callus growth rate and plantlet regenerative rate. And the differences relatively stabilized in continuous culturing. The plantlet regenerative rates of calli from mature embryo were lower and not correlated with cold resistance of those varieties at 15°C. But plantlet regenerative rates of calli from juvenile spikes were higher and the positive correlation between callus growth rate and cold resistance of those rice varieties were significant. Thus, the callus growth rates of callus cultures developed at 15°C for 25 days present as a morphological index to determine cold resistance of rice varieties and this might be suggested as a way for determining cold resistance of rice varieties.
