

酸化猪炭对土壤中不同形态磷质量分数及相互转化的影响

王秋月^{1,2}, 杨兴¹, 何丽芝^{1,2}, 陆扣萍^{1,2}, 车磊³, 袁国栋^{4,5}, 王海龙^{1,2,5}

(1. 浙江农林大学 浙江省土壤污染生物修复重点实验室, 浙江 杭州 311300; 2. 浙江农林大学 环境与资源学院, 浙江 杭州 311300; 3. 湖州师范学院 工学院, 浙江 湖州 313000; 4. 中国科学院 烟台海岸带研究所, 山东 烟台 264003; 5. 广东大众农业科技股份有限公司, 广东 东莞 523169)

摘要: 通过培养试验, 采用修正的 Hedley 磷形态分级方法, 以不添加任何肥料处理为空白对照, 以施加未经处理的猪炭、过磷酸钙和钙镁磷肥处理为对比, 研究酸化猪炭对土壤中各形态磷质量分数及其相互转化的影响。结果表明: 与对照相比, 施用猪炭和酸化猪炭可使土壤电导率分别提高 24% 和 14%, 而对土壤 pH 值无显著影响。在施加量相同的情况下, 酸化猪炭提高土壤活性磷和中稳活性磷占全磷百分比的效果优于猪炭处理; 且与施磷量相同的过磷酸钙和钙镁磷肥处理无显著差异。与空白对照相比, 施用酸化猪炭、猪炭和 2 种磷肥均可以显著 ($P < 0.05$) 提高活性磷的质量分数, 且各处理之间对于活性磷质量分数的提高无显著差异; 中稳活性磷占总磷的百分比提高 36.2%~77.2%, 其提高程度为: 酸化猪炭 > 过磷酸钙 > 钙镁磷肥 > 猪炭; 非活性磷占总磷的百分比显著 ($P < 0.05$) 下降, 与活性磷和中稳活性磷所占比例均呈极显著 ($P < 0.01$) 负相关。施用酸化猪炭可以提高土壤中各形态磷的质量分数, 同时把土壤中非活性磷的比例维持在较低水平。施用酸化猪炭对土壤中各形态磷质量分数及转化影响的效果与 2 种化学磷肥无显著差异。在农业生产中, 经酸化处理的猪炭来替代过磷酸钙和钙镁磷肥具有潜在的可行性。图 7 表 2 参 45

关键词: 土壤学; 酸化; 猪炭; 土壤; 磷; 形态转化

中图分类号: S714.8; S156 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2018)03-0387-11

Concentration and fractionation of phosphorous in soils with acidulated pig biochar

WANG Qiuyue^{1,2}, YANG Xing¹, HE Lizhi^{1,2}, LU Kouping^{1,2}, CHE Lei³, YUAN Guodong^{4,5}, WANG Hailong^{1,2,5}

(1. Key Laboratory of Soil Contamination Bioremediation of Zhejiang Province, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. School of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 3. School of Engineering, Huzhou University, Huzhou 313000, Zhejiang, China; 4. Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, Shandong, China; 5. Guangdong Dazhong Agriculture Science Co. Ltd., Dongguan 523169, Guangdong, China)

Abstract: To determine the effect of addition of acidulated pig biochar on phosphorus (P) availability and fractionation in soils, an incubation experiment was carried out using a randomized complete block design having five treatments: an untreated control (ck), acidulated pig biochar, raw pig biochar, single superphosphate, and calcium magnesium phosphate, with three replications. Each amendment was mixed with soil at 0.1% (w/w) and placed in a plastic pot. Soil samples were taken from each pot after a 210-day incubation period to assess P fractionation using modified Hedley's sequential extraction procedures. A correlation analysis was also included. Results showed that, compared to ck, electrical conductivity (EC) of the soil increased ($P < 0.05$)

收稿日期: 2017-03-29; 修回日期: 2017-05-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21577131, 41401338); 浙江省重大科技专项(2015C03019); 东莞市引进创新科研团队项目(2014607101003)

作者简介: 王秋月, 从事土壤资源与生态环境研究。E-mail: kariwang@foxmail.com。通信作者: 王海龙, 教授, 博士, 博士生导师, 从事水土资源利用、土壤污染修复等研究。E-mail: hailong@zafu.edu.cn

with raw pig biochar (24%) and acidulated pig biochar treatments (14%), but there was no significant effect on soil pH. Compared to ck, with the same application rate acidulated biochar was more effective ($P < 0.05$) than pig biochar for improving the proportions of soil labile and moderately labile phosphorus; whereas, no significant differences in these P proportions between the acidulated biochar and the fertilizer treatments were found. Compared to ck, the percentage of labile P pools significantly ($P < 0.05$) increased in all treatments, but there were no significant differences between biochar and fertilizer treatments. In comparison with ck, moderately labile P pools increased ($P < 0.05$) in biochar (36.2%) and fertilizer treatments (77.2%) in the following order: acidulated pig biochar > superphosphate > calcium magnesium phosphate > raw pig biochar. The percentage of stable P pools decreased ($P < 0.05$) with addition of the amendments, and the proportion of the stable P pools was negatively correlated to the proportion of labile ($R^2=0.86$, $P < 0.01$) and moderately labile ($R^2=0.94$, $P < 0.01$) P pools. The acidulated pig biochar treatment significantly ($P < 0.05$) increased the concentration of all P fractions and maintained a relatively low proportion of stable P in the treated soil. In conclusion, with significant differences in soil P concentrations and fractionations between acidulated pig biochar and chemical P fertilizers treatments tested, it would be potentially viable to use acidulated pig biochar as an alternative P fertilizer and substitute for superphosphate and calcium magnesium phosphate in agricultural production. [Ch, 7 fig. 2 tab. 45 ref.]

Key words: soil science; acidulate; pig biochar; soil; phosphorus; fraction and transformation

磷是植物生长发育的必需营养元素^[1], 植物对磷的吸收主要来源于土壤。中国农业土壤中虽然磷含量较高, 但大部分以难溶态存在, 农业经营中常常需要通过持续施用磷肥保持土壤“不缺磷”的状态。化学磷肥的当季利用率通常为 10%~20%^[2], 这造成磷肥的持续施用使土壤中磷大量积累, 而过剩的磷会随地表径流或水土流失等途径进入水体环境, 导致水体富营养化^[3]。生物质炭是由农林废弃生物质在高温缺氧条件下热解制成, 是一种新型、绿色的土壤改良剂。磷在生物质热解过程中基本被保留下来, 将生物质炭施入土壤后, 可释放磷并为植物所利用^[4]。生物质炭的施用可显著降低土壤对磷的吸附从而提高有效磷的含量^[5-6], 减少农田磷损失^[7]并为土壤微生物提供良好的生存环境^[8]。通过物理、化学等方法改性生物质炭, 可以进一步改善其表面结构和吸附能力^[9]。与原始生物质炭相比, 氯化铁改性后的生物质炭对土壤中有效磷的吸附作用有极大提高^[10]。冯兆滨等^[11]研究表明: 部分酸化磷矿粉可以提高低品位磷矿粉的有效利用率。目前, 利用强酸改性生物质炭进而改变其理化性质的相关研究较少, 利用酸化处理生物质炭对土壤磷含量及转化的研究更鲜见报道。此外, 以往对生物质炭的研究大多以植物源生物质炭为对象, 对动物源生物质炭的研究较少。据统计, 中国生猪出栏总数达 6.6 亿头·a⁻¹^[12], 按照生猪 3% 的正常死亡率, 产生的病死猪的数量约 2 000 万头·a⁻¹, 若处置不当, 则会产生一系列生态环境以及食品安全问题。随着养殖业的发展, 病死猪的数量必然会激增, 将病死猪通过热解炭化技术制成生物质炭突破了传统思维方式, 一方面生产成本低廉、处理效率较高(整猪投入热解炉, 无需粉碎), 可实现批量生产; 另一方面, 灭菌效果彻底, 杜绝了病死猪可能造成的病毒感染及环境污染等问题。热解炭化产生的猪炭含有较高的有机物质和养分, 可以作为土壤改良剂或者肥料加以利用。研究表明: 猪炭施用能够增加蔬菜的产量^[13], 减少温室气体二氧化碳和一氧化氮排放^[13], 降低土壤中氨挥发^[13-15]。YANG 等^[16]探讨了猪炭对土壤中重金属形态转化和烟草 *Nicotiana tabacum* 生长的影响, 发现可以有效降低土壤重金属的有效性, 而且土壤磷质量分数高达 8.3%。目前对于猪炭及其改性产物对土壤磷质量分数及其形态转化影响方面的研究仍处于空白阶段。因此, 本研究以病死猪为生物质原料, 在 650 °C 下热解制备初始生物质炭, 进而利用硝酸浸渍酸化得到改性的生物质炭。同时, 以未经处理的猪炭、过磷酸钙和钙镁磷肥为对比材料, 研究酸化猪炭对土壤磷质量分数及形态转化的作用, 并对比酸化猪炭与常规化学磷肥对土壤中磷形态转化的不同影响, 为利用生物质炭提高土壤磷有效性的可行性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤采自浙江省杭州市临安区湖塘下村(30°15'N, 119°42'E)蔬菜种植基地邻近的新垦空置地块。土壤类型为红壤, 黏土矿物以高岭石为主, 酸性, 盐基饱和度低。采集表层土(0~20 cm), 剔除土壤样品中的杂物, 风干过 2 mm 筛后备用。供试猪炭是利用热解装置将病死整猪在 650 °C 缺氧条件下热解炭化后磨碎成细小颗粒。准确称取 80.0 g 猪炭浸泡于 80.0 mL 体积分数为 65%~68% 的浓硝酸中搅拌均匀, 静置 7 d 后, 将固液混合态的酸化猪炭置于 65 °C 烘箱内烘干, 即得酸化猪炭。供试过磷酸钙(五氧化二磷质量分数 $\geq 12.0 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和钙镁磷肥(五氧化二磷质量分数 $\geq 12.0 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)均购自市场, 所有材料均研磨过 2 mm 筛后备用。供试土壤和试验材料的基本理化性质见表 1。

表 1 供试土壤和试验材料的基本化学性质

Table 1 Chemical properties of the soil and amendments used in the experiment

材料	$w_{\text{全磷}}/(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	pH 值(H_2O)	$\sigma/(\text{dS}\cdot\text{m}^{-1})$	$w_{\text{有机碳}}/(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$
供试土壤	0.099	5.0	0.3	0.5
猪炭	81.300	10.1	3.2	25.8
酸化猪炭	52.300	3.0	12.4	26.7
过磷酸钙	52.100	2.1	5.3	
钙镁磷肥	52.900	9.6	2.9	

1.2 试验设计

称取 1.5 kg 过筛土装入塑料盆(直径为 15 cm, 高为 13 cm), 以土壤中磷肥适宜施用量为参照, 分别将质量分数为 $1.0 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 用量($1.56 \text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$)的酸化猪炭、猪炭、过磷酸钙和钙镁磷肥与土壤样品混合均匀。以空白土壤为对照(ck), 共 5 个处理, 重复 3 次·处理⁻¹。按田间持水量的 70% 加入去离子水, 土壤隔 3 d 补水 1 次, 于 25 °C 下连续培养 210 d 后, 采集土壤样品, 风干后分别过 2.000 和 0.149 mm 筛进行检测分析。

1.3 生物质炭性质测定

根据国际生物质炭协会(IBC)标准方法^[17], 供试生物质炭的电导率(EC)和 pH 值均采用 $m(\text{固体}):m(\text{水})=1.0:20.0$, 充分搅拌并静置后分别用电导率仪(DDS-307 型, 上海虹益仪器仪表有限公司)和 FE20 型 pH 计测定。生物质炭的全磷质量分数用酸溶-钼锑抗比色法(700 nm)测定, 有效磷质量分数使用碳酸氢钠浸提法(Olsen 法)测定^[18], 碱度利用返滴定法^[16]测定。总碳质量分数用元素分析仪(Flash EA1112, Thermo Finnigan, 意大利)测定, 有机碳质量分数用总碳质量分数减去无机碳质量分数而得。比表面积(BET)通过比表面积分析仪(TristarII3020, Micromeritics Instrument Corporation, 美国)在 77 K 氮气条件下测定。利用电子扫描显微镜(Sirion-100, FEI, 波兰)观察 2 种生物质炭的孔隙结构, 并利用 X 射线能量色散谱仪(X-ray Energy Dispersive Spectrometry, EDS)测定其化学元素组成。

1.4 土壤性质及磷形态分析

土壤电导率按 $m(\text{土}):m(\text{水})=1.0:5.0$, 用电导率仪测定; pH 值采用 $m(\text{土}):m(\text{水})=1.0:2.5$, 用 pH 计测定。土壤全磷采用酸溶-钼锑抗法测定, 有机碳质量分数用重铬酸钾氧化外加加热法测定^[18]。

土壤磷形态分级采用 SUI 等^[19]修正的 TIESSSEN 等^[20]改进的 Hedley 磷分级方法。分别逐级加入去离子水, $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸氢钠溶液(pH 8.5), $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液, $1.0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 稀盐酸和 $12.0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓盐酸进行浸提实验。其中碳酸氢钠、氢氧化钠和浓盐酸提取态磷又分为无机态和有机态磷, 总磷质量分数用过硫酸钾在 121 °C 下消煮而得, 有机磷质量分数为总磷质量分数与无机磷质量分数之差。这样依次得到水溶态磷($\text{H}_2\text{O-P}$), 碳酸氢钠提取态磷($\text{NaHCO}_3\text{-Pi}$ 和 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$), 氢氧化钠提取态磷(NaOH-Pi 和 NaOH-Po), 稀盐酸提取态磷(Dil.HCl-Pi), 浓盐酸提取态磷(Conc.HCl-Pi 和 Conc.HCl-Po)和残留态磷(Residual-P)。各级磷质量分数均采用钼蓝比色法^[18]测定。

1.5 数据分析

数据采用 Excel 2013 和 SPSS 17.0 软件进行处理、分析, 用单因素方差分析(one-way ANOVA)和

Duncan's 多重比较进行不同处理之间的显著性评价, 用 Pearson 相关系数进行不同形态磷之间的相关性检验, 用 Origin 8.0 软件做图。

2 结果与分析

2.1 酸化处理后猪炭的基本理化性质

猪炭(图 1A)比酸化猪炭(图 1B)具有更明显的孔隙结构和更高的比表面积(表 1), 可能是由于硝酸酸化过程中, 猪炭本身的孔隙结构被破坏或堵塞。对生物质炭进行 X 射线能谱分析, 可知猪炭(图 1C)及酸化猪炭(图 1D)均含有较多的碳、氧、磷、钾、钙、铁等元素, 矿质元素质量分数较高。其中猪炭磷和钙的质量分数分别高达 86.1 和 150.7 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 而酸化猪炭磷和钙分别为 36.0 和 85.4 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。该结果可能是酸化过程中部分元素溶于酸溶液所致。

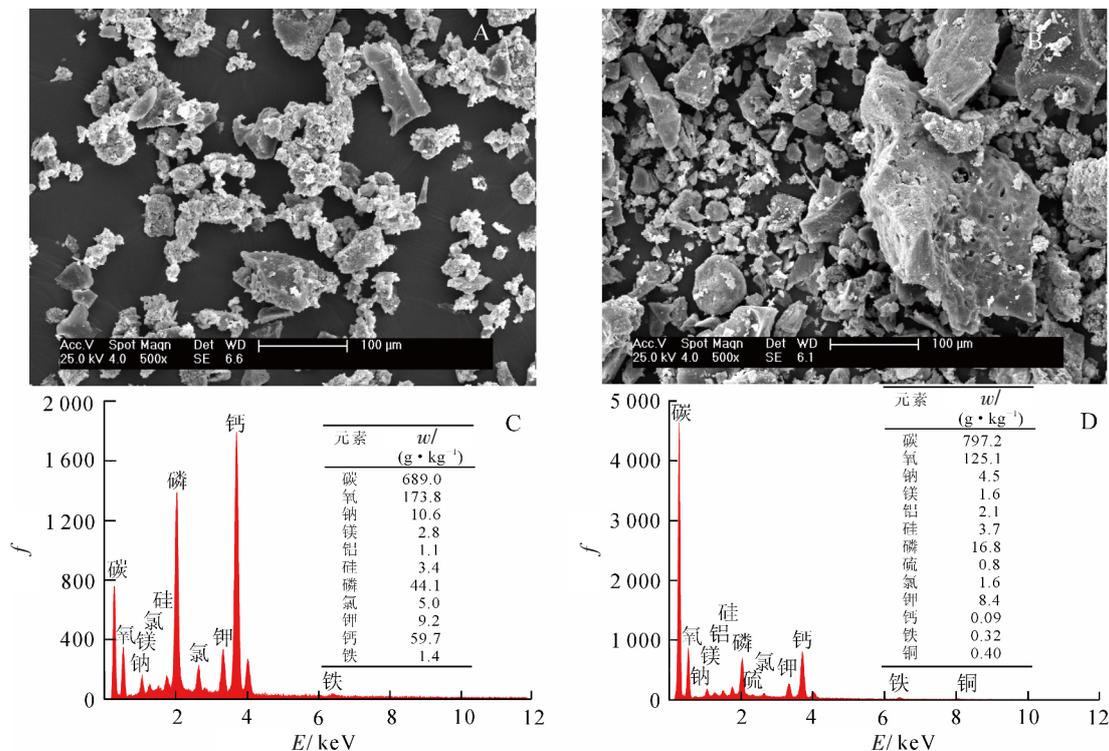


图 1 猪炭酸化处理后(A, C)后(B, D)的扫描电镜(SEM)和 X 射线能谱(EDS)图

Figure 1 Scanning electron microscope (SEM) and energy dispersive X-ray spectrometry (EDS) results of pig biochar (A, C) and acidulated pig biochar (B, D)

2.2 土壤电导率和 pH 值

由图 2A 可知: 不同处理对土壤电导率(EC)变化的影响不同。猪炭和钙镁磷肥处理下电导率较对照(ck)显著($P<0.05$)降低, 而酸化猪炭和过磷酸钙处理下电导率较对照分别提高了 24%和 14%。对于 2 个施炭处理, 酸化猪炭处理下比猪炭处理下电导率值提高了 34%。由图 2B 可知, 钙镁磷肥处理下土壤 pH 值显著($P<0.05$)提高, 高达 5.6, 其余各处理的 pH 值较对照均没有显著变化。由本试验可知: 1.0 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 施用量下, 猪炭和酸化猪炭处理下土壤电导率均有显著 ($P<0.05$) 变化, 其中酸化猪炭提高量较大, 两者 pH 值较对照均没有显著 ($P>0.05$) 变化, 猪炭处理较对照有升高趋势, 且显著 ($P<0.05$) 高于酸化猪炭处理。

2.3 土壤无机磷质量分数

由图 3 可知: 不同处理下土壤无机磷质量分数占总磷质量分数的 64.5%~74.1%, 是土壤中磷最主要的组成部分^[6]。其中, $\text{H}_2\text{O-P}$ 在无机磷总量中比例最低, 猪炭处理下土壤中 $\text{H}_2\text{O-P}$ 质量分数显著 ($P<0.05$) 高于其余各处理。 $\text{NaHCO}_3\text{-Pi}$ 在无机磷总量中占 6.3%~14.5%, 各处理均显著 ($P<0.05$) 高于对照。其中, 猪炭和酸化猪炭处理的 $\text{NaHCO}_3\text{-Pi}$ 质量分数分别是对照的 2.5 倍和 4.5 倍, 酸化猪炭处理与过磷

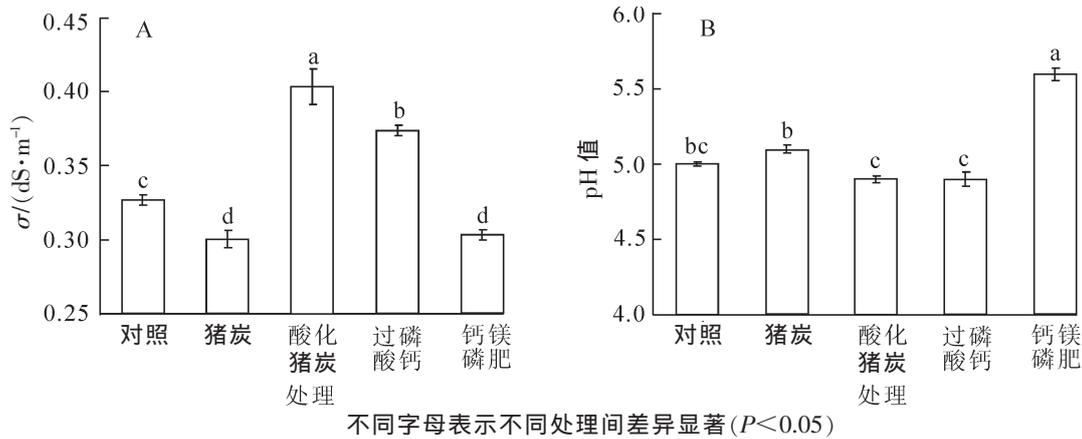


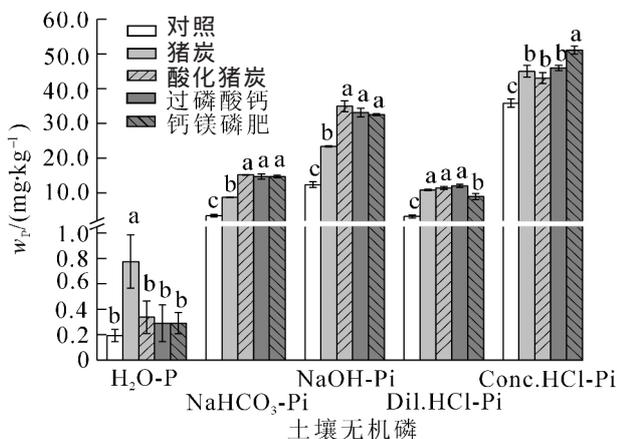
图 2 不同处理下土壤的电导率(A)和 pH 值(B)

Figure 2 Electrical conductivity (EC) (A) and pH (B) of different treatments

酸钙、钙镁磷肥处理相比无显著差异。NaOH-Pi 在各形态无机磷中所占比例较高，为 22.5%~33.3%，其质量分数变化趋势与 $NaHCO_3\text{-Pi}$ 一致。其中，猪炭处理 NaOH-Pi 质量分数为 $23.40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，约为对照的 2 倍。酸化猪炭处理 NaOH-Pi 质量分数高达 $34.98 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，约为对照的 3 倍，而与过磷酸钙和钙镁磷肥处理无显著差异。Dil.HCl-Pi 质量分数为无机磷总量的 5.9%~12.3%，各处理均显著 ($P < 0.05$) 高于对照，其中，猪炭 ($10.91 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)，酸化猪炭 ($11.44 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和过磷酸钙 ($12.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 处理间无显著差异，约为对照 ($3.24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的 3.5 倍，而钙镁磷肥处理在所有处理中最低。Conc.HCl-Pi 在各形态无机磷中比例最高，为 41.0%~65.0%。猪炭 ($45.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)，酸化猪炭 ($43.03 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)，过磷酸钙 ($45.98 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 处理均显著高于对照 ($35.83 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)，而钙镁磷肥处理在所有施肥处理中最高，为 $51.09 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。总体而言，施炭处理下土壤中各形态无机磷均显著 ($P < 0.05$) 提高，与 2 个化学磷肥处理有相似的提高趋势。

2.4 土壤有机磷和残留态磷质量分数

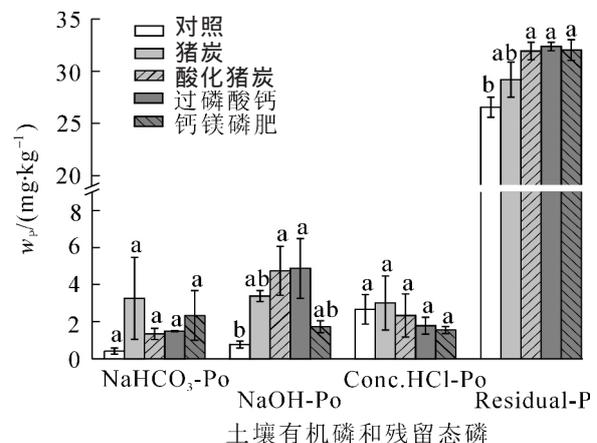
如图 4 所示：各处理下土壤有机磷质量分数均较低，有机磷质量分数占总磷的 0.5%~3.3%，各形态的有机磷质量分数均不超过 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。各施肥处理下 $NaHCO_3\text{-Po}$ 质量分数相比于对照均有提高的趋势，但效果不显著。对于 NaOH-Po 质量分数，酸化猪炭和过磷酸钙处理分别为 4.75 和 $4.87 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，比对照提高 5.1 和 5.3 倍，而猪炭处理和钙镁磷肥处理与对照没有显著差异。各处理下 Conc.HCl-Po 质量分数无显著差异，但有降低的趋势。土壤中 Residual-P 质量分数是总磷的 29.0%~31.0%，与对照相比各处理均显著提高，但处理间无显著性差异。总体上，酸化猪炭在提高土壤有机磷和残留态磷质量分数方面优于猪炭，且与 2 个化学磷肥处理无显著差异。



不同字母表示同一指标不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 不同处理下土壤无机磷的质量分数

Figure 3 Contents of inorganic phosphorus in the soils with different treatments



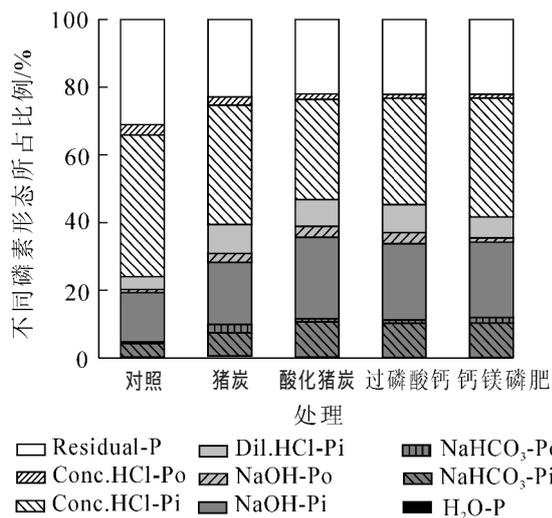
不同字母表示同一指标不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)

图 4 不同处理下土壤有机磷和残留态磷的质量分数

Figure 4 Contents of organic and residual phosphorus in the soils with different treatments

2.5 土壤中各形态磷百分比变化

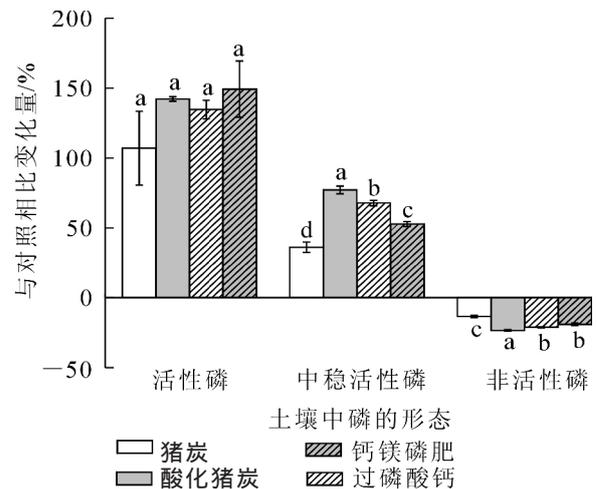
土壤磷可分为活性磷、中稳活性磷和非活性磷3种。活性磷包括 H_2O-P , $NaHCO_3-Pi$ 和 $NaHCO_3-Po$, 是植物可以有效利用的那部分磷; 中稳活性磷包括 $NaOH-Pi$ 和 $NaOH-Po$ 是植物的潜在磷源; 非活性磷包括 $Dil.HCl-Pi$, $Dil.HCl-Po$, $Conc.HCl-Pi$ 和 $Residual-P$, 一般不被植物吸收利用, 也不会被溶解释放。由图5可知: 与对照相比, 其他处理 $NaHCO_3-Pi$ 占总磷百分比均明显升高, 这与图3结果一致。此外, 活性磷百分比也明显提高, 相比对照提高 107.1%~149.3%, 4个处理之间的变化没有显著差异(图6)。添加生物质炭和化学磷肥后, 土壤中稳活性磷占总磷的百分比均有不同程度的提高, 较对照提高 36.2%~77.2%, 其提高程度为酸化猪炭>过磷酸钙>钙镁磷肥>猪炭。与中稳活性磷相反, 不同处理下各形态的非活性磷所占总磷百分比对照均有所下降, 其中酸化猪炭处理下降 23.5%, 显著($P<0.05$)高于猪炭(13.4%), 过磷酸钙(21.2%)和钙镁磷肥(19.2%)的下降量。



不同字母表示同一指标不同处理间差异显著 ($P<0.05$)

图5 不同处理下各形态磷占总磷质量分数的百分比

Figure 5 Percentage of various fractions P accounts for total P in the soils with different treatments



不同字母表示同一指标不同处理间差异显著 ($P<0.05$)

图6 与对照相比各处理下不同磷形态变化

Figure 6 Change of P fractions in soil with different amendments compared to control

2.6 土壤各形态磷占总磷百分比之间的相关性

用不同形态磷占总磷的百分比做相关性分析, 若任意2种形态磷百分比之间呈负相关关系, 则说明这2种形态的磷之间可以相互转化^[21]。由表2可知: H_2O-P 和 $NaHCO_3-Po$ 与其余各形态磷之间均没有显著相关性; $NaHCO_3-Pi$ 与 $Conc.HCl-Pi$, $Residual-P$; $NaOH-Pi$ 与 $Conc.HCl-Pi$, $Conc.HCl-Po$, $Residual-P$; $NaOH-Po$ 与 $Conc.HCl-Pi$ 之间均呈显著($P<0.01$)负相关, 这表明土壤磷形态的转化主要发生在活性磷($NaHCO_3-Pi$)与非活性磷($Conc.HCl-Po$ 和 $Residual-P$), 中稳活性磷($NaOH-Pi$ 和 $NaOH-Po$)与非活性磷($Conc.HCl-Po$ 和 $Residual-P$)之间。由图7可见: 土壤中非活性磷与活性磷、中稳活性磷之间存在显著($P<0.01$)负相关。这说明添加不同材料后, 土壤中的稳定形态磷仍然保持比较低的比例。

3 讨论

3.1 不同处理对土壤电导率和 pH 的影响

土壤电导率包含了反映土壤性质的丰富信息, 是衡量土壤肥力的参考指标之一。通常可以通过测定土壤电导率来估测土壤盐分含量^[22-23]。本研究发现: 将酸化猪炭和过磷酸钙加入土壤后, 土壤电导率显著提高, 这可能是由于猪炭在酸化过程中引入了大量的硝酸根离子(NO_3^-), 过磷酸钙中含有较多的硫酸根离子(SO_4^{2-}), 施入土壤后盐分含量升高, 从而引起电导率提高。本试验中, 除钙镁磷肥处理土壤 pH 值显著提高外, 其余各处理较对照均无显著变化。钙镁磷肥的施用可以提高土壤 pH 值且与施用量呈正相关^[24]。YANG 等^[16]研究表明: 在酸性土壤中添加质量分数为 25.0 和 50.0 $g \cdot kg^{-1}$ 的猪炭均可显著提高土壤的 pH 值。本研究施用 1.0 $g \cdot kg^{-1}$ 猪炭后, 土壤 pH 值有升高趋势, 主要是因为生物质炭本身具有较

表 2 土壤中不同形态磷之间的相关性分析

Table 2 Correlation coefficients among different fractions P in the soils

不同形态磷	NaHCO ₃ -Pi	NaHCO ₃ -Po	NaOH-Pi	NaOH-Po	D.HCl-Pi	C.HCl-Pi	C.HCl-Po	Residual-P
H ₂ O-P	-0.264	0.172	-0.120	-0.141	0.296	0.104	0.277	-0.145
NaHCO ₃ -Pi		0.001	0.930**	0.422	0.590	-0.859**	-0.505	-0.875**
NaHCO ₃ -Po			-0.111	0.168	0.157	-0.096	-0.339	0.170
NaOH-Pi				0.243	0.565*	-0.786**	-0.557**	-0.847**
NaOH-Po					0.627**	-0.693**	0.003	-0.463
D.HCl-Pi						-0.781*	-0.195	-0.802**
C.HCl-Pi							0.253	-0.798**
C.HCl-Po								0.477

说明：* 代表在 0.05 水平上相关显著；** 代表在 0.01 水平上相关显著

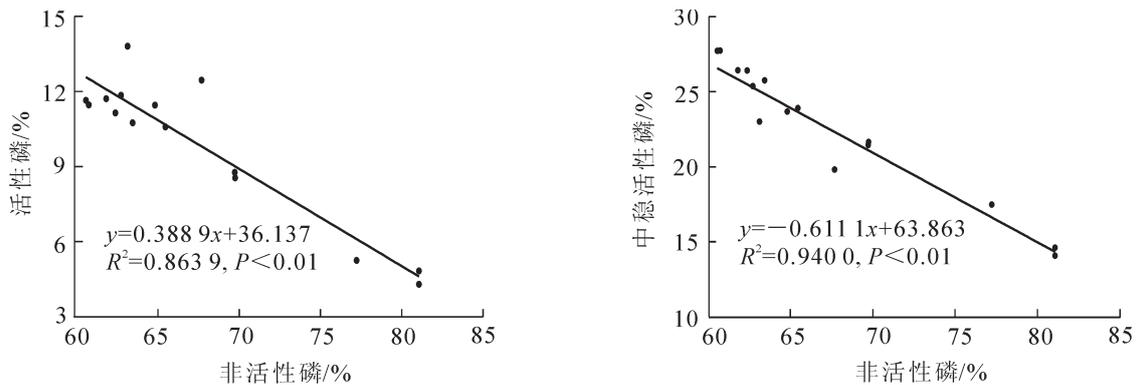


图 7 不同形态磷所占总磷百分比之间的相关性

Figure 7 Correlation between the percentages of different P fractions in soil

大的碱度，含有较多的盐基离子和碱性物质^[25]。猪炭经硝酸浸渍处理后，其表面的碱性官能团被中和，所以酸化猪炭处理下 pH 值较猪炭处理低。研究表明：土壤电导率与磷在土壤中的空间分布变化具有一定联系，在评估土壤中不同形态磷质量分数时可以提供一些参考^[26]，土壤 pH 值可以通过改变离子的种类、强度及微生物活动而间接对土壤中磷形态的转化造成影响^[27]。

3.2 不同处理对土壤中不同形态磷质量分数的影响

将有机或无机外源磷肥施入土壤后可显著提高各形态磷含量^[28]，其中仅有少量磷可被植物直接吸收，绝大部分以缓效态和难溶态(HCl-P 和 Residual-P)存在^[29]。H₂O-P 是土壤中活性最高的磷组分，但一般测定值较小^[30]；施用猪炭可显著提高土壤中的 H₂O-P，一方面可能是因为猪炭处理本身磷素施入量高于其他处理，另一方面可能是因为猪炭含有更加丰富的孔隙结构，施入土壤后可以为微生物提供良好的生活环境^[31]，微生物作用可使土壤中难以被植物利用的有机磷向易被植物利用的 H₂O-P 转化^[32]。NaHCO₃-P 主要是吸附在土壤表面活性较强的无机磷和易于快速矿化分解的有机磷^[33]。其中，NaHCO₃-Pi 较高，可能是 H₂O-P 向较稳定的 NaHCO₃-P 转化^[34]，也可能是由于酸性土壤中难以被植物利用的磷向更易被植物吸收利用的无机磷转化所致^[35]。NaOH-P 主要是与土壤铁铝氧化物及腐殖质等通过吸附作用结合在一起的磷，是植物的潜在磷源^[29]。本研究以南方红壤为对象，其有机质质量分数较低，且因脱硅富铝化与生物富集作用影响，土壤中有较高的铁和铝^[36]，因此易与铁和铝化合物结合的 NaOH-Pi 质量分数较高^[33]，而易与腐殖酸结合的 NaOH-Po 质量分数较低。各处理与对照相比土壤中 NaOH-Pi 质量分数均显著提高。相关性分析结果表明，土壤中 NaOH-Pi 与 NaHCO₃-Pi 的质量分数呈显著正相关，可能是由于土壤中 NaOH-P 库对活性磷具有补充作用，在磷供应中具有缓冲效果^[37]。土壤中 HCl-P 和 Residual-P 呈显著负相关，可能由于 HCl-P 和 Residual-P 转化为 NaOH-Pi^[29]。研究表明：随着腐熟鸡粪、解磷菌肥和复合肥的施入，土壤中 HCl-Pi 和 HCl-Po 较对照均显著升高，且质量分数随施肥量的增加而增加^[38]，而 Residual-P 质量分数也随施肥时间和施用量逐渐升高^[29]。NEGASSA 等^[39]研究表明：磷肥的外源添加形式对土壤中磷组分比例变化的影响不大。本研究中，施用酸化猪炭对各磷形态的影响与相同施磷量下 2 种

化学磷肥处理相比差别不大,从某种意义上讲,可以用酸化猪炭来替代过磷酸钙和钙镁磷肥的施用。

3.3 不同处理对土壤中磷形态转化的影响

各处理均可显著提高土壤活性磷和中稳活性磷的质量分数,降低非活性磷的质量分数,该结果与LI等^[29]研究一致。相关性分析表明,非活性磷所占总磷百分比与活性磷和中稳活性磷所占百分比均呈显著负相关,这说明将2种生物质炭和2种化学磷肥施入土壤后,非活性磷被活化而转化为活性磷和中稳活性磷^[21]。酸化猪炭处理下中稳活性磷的增加量和非活性磷的降低量均显著高于2种化学磷肥和猪炭处理,一方面可能是因为酸化猪炭的施用可以提高土壤中解磷微生物的数量,解磷微生物分泌的有机酸可与土壤中钙离子(Ca^{2+}),铁离子(Fe^{3+})和铝离子(Al^{3+})等发生螯合或络合作用,从而将难溶态磷酸盐转化为可溶态^[40]。另一方面,酸化猪炭的施用可能会提高土壤中磷酸酶尤其是酸性磷酸酶的活性,进而促进磷的活化^[29,41]。高比表面积的沸石可以通过吸附 Ca^{2+} , Fe^{3+} 和 Al^{3+} 等阳离子活化磷矿粉^[42],羧基、酚羟基等活性官能团会与难溶的磷酸盐发生络合反应^[29],生物质炭具有巨大的比表面积、丰富的孔隙结构和含氧官能团,这些特殊性质使它对磷活化也具有一定促进作用。生物质炭还可以通过改变土壤电导率和pH值等基本理化性质影响磷的分布和转化。谢莹等^[27]研究表明:土壤无机磷和残留态磷质量分数与电导率显著正相关。本研究中,土壤电导率与中稳活性磷质量分数显著正相关($R^2=0.611$, $P<0.05$),可能由于土壤盐度通过调节微生物种类和活性影响土壤中磷的分解和释放速率,从而提高中稳活性磷的质量分数^[43]。此外,土壤pH值对磷形态的变化具有一定影响,一方面是因为pH值升高可提高土壤表面可变负电荷,降低磷吸附,进而提高土壤有效磷质量分数^[44];另一方面可能是由于pH值升高,土壤中氢氧根离子(OH^-)可以与被束缚的磷酸二氢根(H_2PO_4^-)竞争吸附点位,从而释放磷^[45]。

4 结论

施用猪炭和酸化猪炭均可显著($P<0.05$)提高土壤电导率,其中酸化猪炭提高量较大,而两者pH值较对照均没有显著变化。施用酸化猪炭和猪炭后土壤中各形态无机磷均显著($P<0.05$)提高,且与2个化学磷肥处理有相似的提高趋势。另外,酸化猪炭在提高土壤有机磷和残留态磷质量分数方面优于猪炭,且与2个化学磷肥处理无显著差异。土壤中各个形态磷质量分数随各种含磷添加物的施入均有所提高,施用酸化猪炭对中稳活性磷比例的提高和非活性磷比例的降低效果均明显优于猪炭和化学磷肥处理。酸化猪炭对土壤中磷的活化效果优于猪炭,这表明生物质炭的酸化过程对提升土壤磷素含量具有较好效果。综上所述,在施磷量相同的情况下,酸化猪炭对土壤磷含量的提高效果堪比化学磷肥,说明用酸化猪炭来替代过磷酸钙和钙镁磷肥的施用具有可行性。这不仅可以消除病死猪处理不当对生态环境可能造成的危害,还可以改善土壤肥力,减少化肥施用量。

5 参考文献

- [1] WILLIAMS A, BÖRJESSON G, HEDLUND K. The effects of 55 years of different inorganic fertiliser regimes on soil properties and microbial community composition [J]. *Soil Biol Biochem*, 2013, **67**(1): 41 – 46.
- [2] 孙倩倩, 王正银, 赵欢, 等. 定位施肥对紫色菜园土磷素状况的影响[J]. *生态学报*, 2012, **32**(8): 2539 – 2549.
SUN Qianqian, WANG Zhengyin, ZHAO Huan, *et al.* Effect of site-specific fertilization on soil phosphorus in purple garden soil [J]. *Acta Ecol Sin*, 2012, **32**(8): 2539 – 2549.
- [3] 刘方, 黄昌勇, 何腾兵, 等. 长期施肥下黄壤旱地磷对水环境的影响及其风险评估[J]. *土壤学报*, 2003, **40**(6): 838 – 844.
LIU Fang, HUANG Changyong, HE Tengbing, *et al.* The environmental impact of phosphorus on water by a long-term applying fertilizer P in the upland fields of yellow soil areas and its risks evaluation [J]. *Acta Pedol Sin*, 2003, **40**(6): 838 – 844.
- [4] ENDERS A, HANLEY K, WHITMAN T, *et al.* Characterization of biochars to evaluate recalcitrance and agronomic performance [J]. *Bioresour Technol*, 2012, **114**(3): 644 – 653.
- [5] MORALES M M, COMERFORD N, GUERRINI I A, *et al.* Sorption and desorption of phosphate on biochar and biochar-soil mixtures [J]. *Soil Use Manage*, 2013, **29**(3): 306 – 314.

- [6] 武玉, 徐刚, 吕迎春, 等. 生物炭对土壤理化性质影响的研究进展[J]. 地球科学进展, 2014, **29**(1): 68 – 79.
WU Yu, XU Gang, LÜ Yingchun, *et al.* Effects of biochar amendment on soil physical and chemical properties: current status and knowledge gaps [J]. *Adv Earth Sci*, 2014, **29**(1): 68 – 79.
- [7] XU Gang, SUN Junnan, SHAO Hongbao, *et al.* Biochar had effects on phosphorus sorption and desorption in three soils with differing acidity [J]. *Ecol Eng*, 2014, **62**(1): 54 – 60.
- [8] 张杰. 秸秆、木质素及生物炭对土壤有机碳氮和微生物多样性的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
ZHANG Jie. *Effects of Incorporation of Straw, Lignin and Biochar on Organic Carbon, Nitrogen and Microbial Diversity* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015.
- [9] 车晓冬, 丁竹红, 胡忻, 等. 微波加热硝酸氧化改性稻壳基生物炭对 Pb() 和亚甲基蓝的吸附作用[J]. 农业环境科学学报, 2016, **35**(9): 1773 – 1780.
CHE Xiaodong, DING Zhuhong, HU Xin, *et al.* Sorption and co-sorption of methylene blue and Pb() onto rice husk-based biochars modified by nitric acid via microwave heating [J]. *J Agro-Environ Sci*, 2016, **35**(9): 1773 – 1780.
- [10] 蒋旭涛, 迟杰. 铁改性生物炭对磷的吸附及磷形态的变化特征[J]. 农业环境科学学报, 2014, **33**(9): 1817 – 1822.
JIANG Xutao, CHI Jie. Phosphorus adsorption by and forms in Fe-modified biochar [J]. *J Agro-Environ Sci*, 2014, **33**(9): 1817 – 1822.
- [11] 冯兆滨, 刘秀梅, 刘光荣, 等. 2 种改性磷矿粉的制备与表征[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, **14**(4): 792 – 796.
FENG Zhaobin, LIU Xiumei, LIU Guangrong, *et al.* Preparation and testing of two kinds of modified phosphorite powder [J]. *Plant Nutr Fert Sci*, 2008, **14**(4): 792 – 796.
- [12] 李俊柱. 中国大型规模化猪场有多少[J]. 今日畜牧兽医, 2010(7): 26.
LI Junzhu. How many industrialized pig farm in China [J]. *Today Anim Husb Vet Med*, 2010(7): 26.
- [13] 郭茜, 陆扣萍, 胡国涛, 等. 死猪炭和竹炭对大棚菜地土壤理化性质和蔬菜产量的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2017, **34**(2): 244 – 252.
GUO Xi, LU Kouping, HU Guotao, *et al.* Greenhouse soil properties and vegetable yield with dead pig and bamboo biochars [J]. *J Zhejiang A&F Univ*, 2017, **34**(2): 244 – 252.
- [14] 陆扣萍, 郭茜, 胡国涛, 等. 竹炭和猪炭对空心菜-小青菜轮作土壤 N₂O 和 CO₂ 排放的影响[J]. 环境科学学报, 2017, **37**(4): 1547 – 1554.
LU Kouping, GUO Xi, HU Guotao, *et al.* Effects of bamboo and pig biochars on soil N₂O and CO₂ emissions in *Lpomoa aquatica* Forsk-*Brassica chinensis* rotation system [J]. *Acta Sci Circumst*, 2017, **37**(4): 1547 – 1554.
- [15] 陆扣萍, 郭茜, 胡国涛, 等. 猪炭和竹炭的理化特性差异及其对菜地土壤氨挥发的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2017, **34**(4): 647 – 655.
LU Kouping, GUO Xi, HU Guotao, *et al.* Physiological and biochemical characteristics of pig versus bamboo biochars their effects on ammonia volatilization in greenhouse vegetable production [J]. *J Zhejiang A&F Univ*, 2017, **34**(4): 647 – 655.
- [16] YANG Xing, LU Kouping, McGROUTHER K, *et al.* Bioavailability of Cd and Zn in soils treated with biochars derived from tobacco stalk and dead pigs [J]. *J Soils Sed*, 2017, **17**(3): 751 – 762.
- [17] International Biochar Initiative. Standardized product definition and product testing guidelines for biochar that is used in soil [EB/OL]. 2012. <http://www.biochar-international.org/characterizationstandard>.
- [18] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 1999.
- [19] SUI Yaobing, THOMPSON M L, SHANG Chao. Fractionation of phosphorus in a Mollisol amended with biosolids [J]. *Soil Sci Soc Am J*, 1999, **63**(5): 1174 – 1180.
- [20] TIESSEN H, MOIR J. Characterization of available P by sequential extraction [M]//CARTER M R. *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Chelse: Lewis Publisher, 1993: 75 – 86.
- [21] 滕泽琴, 李旭东, 韩会阁, 等. 土地利用方式对陇中黄土高原土壤磷组分的影响[J]. 草业学报, 2013, **22**(2): 30 – 37.
TENG Zeqin, LI Xudong, HAN Huige, *et al.* Effects of land use patterns on soil phosphorus fractions in the Longzhong part of the Loess Plateau [J]. *Acta Pratac Sin*, 2013, **22**(2): 30 – 37.

- [22] 袁大刚, 张甘霖. 不同土地利用条件下的城市土壤电导率垂直分布特征[J]. 水土保持学报, 2010, **24**(4): 171 – 176.
YUAN Dagang, ZHANG Ganlin. Vertical distribution characterization of electrical conductivity of urban soil under different land use type [J]. *J Soil Water Conserv*, 2010, **24**(4): 171 – 176.
- [23] 吴迪, 张卓栋, 陈思宇, 等. 基于 EC-Probe 仪器的土壤盐分原位测定及其在河北坝上地区的应用研究[J]. 中国农学通报, 2015, **31**(16): 201 – 206.
WU Di, ZHANG Zhuodong, CHEN Siyu, *et al.* Using the EC-probe instrument for in-situ soil salinity measurement and its application in bashang region of Hebei Province [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2015, **31**(16): 201 – 206.
- [24] 曹仁林, 霍文瑞, 何宗兰, 等. 钙镁磷肥对土壤中镉形态转化与水稻吸镉的影响[J]. 重庆环境科学, 1993, **16**(6): 6 – 9.
CAO Renlin, HUO Wenrui, HE Zonglan, *et al.* Effect of calcium magnesium phosphate fertilizer on chemical forms and translocations of cadmium up-taking by rice in soil [J]. *Chongqing Environ Sci*, 1993, **16**(6): 6 – 9.
- [25] 刘晶晶, 杨兴, 陆扣萍, 等. 生物质炭对土壤重金属形态转化及其有效性的影响[J]. 环境科学学报, 2015, **35**(11): 3679 – 3687.
LIU Jingjing, YANG Xing, LU Kouping, *et al.* Effect of bamboo and rice straw biochars on the transformation and bioavailability of heavy metals in soil [J]. *Acta Sci Circumst*, 2015, **35**(11): 3679 – 3687.
- [26] MOTAVALLI P P, UDAWATTA R P, BARDHAN S. Apparent soil electrical conductivity used to determine soil phosphorus variability in poultry litter-amended pastures [J]. *Am J Exp Agric*, 2013, **3**(1): 124 – 141.
- [27] 谢莹, 肖蓉, 崔圆, 等. 黄河三角洲天然和恢复盐沼土壤磷分布特征[J]. 湿地科学, 2015, **13**(6): 735 – 743.
XIE Ying, XIAO Rong, CUI Yuan, *et al.* Distributions characteristics of phosphorus in soils of natural and restored salt marshes in the Yellow River Delta [J]. *Wetland Sci*, 2015, **13**(6): 735 – 743.
- [28] WALDRIP H M, HE Zhongqi, ERICH M S. Effects of poultry manure amendment on phosphorus uptake by ryegrass, soil phosphorus fractions and phosphatase activity [J]. *Biol Fert Soil*, 2011, **47**(4): 407 – 418.
- [29] LI Liang, LIANG Xinqiang, YE Yushi, *et al.* Effects of repeated swine manure applications on legacy phosphorus and phosphomonoesterase activities in a paddy soil [J]. *Biol Fert Soil*, 2015, **51**(2): 167 – 181.
- [30] 王波, 邓艳萍, 肖新, 等. 不同节水水稻作模式对土壤理化特性和土壤酶活性影响研究[J]. 水土保持学报, 2009, **23**(5): 219 – 222.
WANG Bo, DENG Yanping, XIAO Xin, *et al.* Effect of water-saving rice cultivation patterns on soil physical and chemical characteristics and soil microbial activity [J]. *J Soil Water Conserv*, 2009, **23**(5): 219 – 222.
- [31] 李松昊, 何冬华, 沈秋兰, 等. 竹炭对三叶草生长及土壤细菌群落的影响[J]. 应用生态学报, 2014, **25**(8): 2334 – 2340.
LI Songhao, HE Donghua, SHEN Qiulan, *et al.* Effects of bamboo charcoal on the growth of *Trifolium repens* and soil bacterial community structure [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2014, **25**(8): 2334 – 2340.
- [32] 武玉. 生物炭对土壤中磷的形态转化以及有效性的影响[D]. 烟台: 中国科学院, 2015.
WU Yu. *Influence of Biochar Addition on Phosphorus Transformation and Bioavailability in Soil* [D]. Yantai: Chinese Academy of Sciences, 2015.
- [33] WANG Guoping, LIU Jingguang, WANG Jinda, *et al.* Soil phosphorus forms and their variations in depressional and riparian freshwater wetlands (Sanjiang Plain, Northeast China) [J]. *Geoderma*, 2006, **132**(1): 59 – 74.
- [34] KASHEN M A, AKINREMI O O, RACZ G J. Phosphorus fractions in soil amended with organic and inorganic phosph [J]. *Can J Soil Sci*, 2004, **84**(1): 83 – 90.
- [35] REDDY K R, KADLEC R H, FLAIG E, *et al.* Phosphorus retention in streams and wetlands: a review [J]. *Crit Rev Environ Sci Technol*, 2010, **29**(1): 83 – 146.
- [36] 王晓旭. 浙江省典型土壤的发生学性质与系统分类研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
WANG Xiaoxu. *Genetic Characteristics and Taxonomic Classification of the Representative Soils in Zhejiang Province* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [37] 谢英荷, 洪坚平, 韩旭, 等. 不同磷水平石灰性土壤 Hedley 磷形态生物有效性的研究[J]. 水土保持学报, 2010, **24**(6): 141 – 144.
XIE Yinghe, HONG Jianping, HAN Xu, *et al.* Study on soil bioavailability of the hedley P forms in calcareous soil

- with different phosphorus level [J]. *J Soil Water Conserv*, 2010, **24**(6): 141 – 144.
- [38] 吴文丽. 施用 3 种肥料对不同复垦年限土壤 Hedley 磷形态及玉米产量的影响[D]. 太原: 山西农业大学, 2015.
- WU Wenli. *Effect of Three Kinds of Fertilizer Application on Hedley Phosphorus Forms and Yield of Corn in the Reclaimed Soil of Different Years* [D]. Taiyuan: Shanxi Agricultural University, 2015.
- [39] NEGASSA W, LEINWEBER P. How does the hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: a review [J]. *J Plant Nutr Soil Sci*, 2009, **172**(3): 305 – 325.
- [40] 宋建利, 石伟勇. 磷细菌肥料的研究和应用现状概述[J]. 化肥工业, 2005, **32**(4): 18 – 20.
- SONG Jianli, SHI Weiyong. Study of phosphorus bacterial fertilizer and present status of their use [J]. *J Chem Fert Ind*, 2005, **32**(4): 18 – 20.
- [41] YANG Xing, LIU Jingjing, McGROUTHER K, *et al.* Effect of biochar on the extractability of heavy metals (Cd, Cu, Pb, and Zn) and enzyme activity in soil [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2016, **23**(2): 974 – 984.
- [42] 魏静, 周恩湘, 张桂银, 等. 不同活化剂对磷矿粉的活化作用[J]. 河北农业大学学报, 2001, **24**(1): 13 – 15.
- WEI Jing, ZHOU Enxiang, ZHANG Guiyin, *et al.* Study on effect of different activators to phosphate rock [J]. *J Agric Univ Hebei*, 2001, **24**(1): 13 – 15.
- [43] 刘文龙, 谢文霞, 赵全升, 等. 胶州湾芦苇潮滩土壤碳、氮和磷分布及生态化学计量学特征[J]. 湿地科学, 2014, **12**(3): 362 – 368.
- LIU Wenlong, XIE Wenxia, ZHAO Quansheng, *et al.* Spatial distribution and ecological stoichiometry characteristics of carbon, nitrogen and phosphorus in soil in *Phragmites australis* tidal flat of Jiaozhou Bay [J]. *Wetland Sci*, 2014, **12**(3): 362 – 368.
- [44] 马良, 徐仁扣. pH 和添加有机物料对 3 种酸性土壤中磷吸附-解吸的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2010, **26**(6): 596 – 599.
- MA Liang, XU Renkou. Effects of regulation of pH and application of organic material on adsorption and desorption of phosphorus in three types of acid soils [J]. *J Ecol Rural Environ*, 2010, **26**(6): 596 – 599.
- [45] 张彬, 方芳, 陈猷鹏, 等. 三峡水库消落区土壤理化特征及磷赋存形态研究[J]. 环境科学学报, 2012, **32**(3): 713 – 720.
- ZHANG Bin, FANG Fang, CHEN Youpeng, *et al.* Phosphorus speciation and physical-chemical characteristics in the soils of water-level-fluctuating zone in the central district of Three Gorges Reservoir area [J]. *Acta Sci Circumst*, 2012, **32**(3): 713 – 720.