

Identifiering och kvantifiering av olika organiska P-former i jordar från bördighetsförsök

Faruk Djodjic, Joakim Ahlgren och Lennart Mattsson, SLU

Bakgrund

Övergödningen (eutrofiering) är det allvarligaste hotet mot livsmiljön i svenska havsområden. I synnerhet tillförseln av fosfor (P) har en negativ påverkan på ekosystem i såväl söt- som bräckvatten (Boesch et al., 2006). Dessa övergödningssprocesser pågår även i inlandet där i första hand ett stort antal mindre sjöar är drabbade. Jordbruksmark är den enskild största källa av P till våra hav, sjöar och vattendrag (Brandt med fl., 2008).

I marken finns både oorganiska och organiska P-former och bägge är viktiga P-källor till växterna (Brady, 1990). Organiskt bunden fosfor i marken varierar mellan 30 och 65 % (Harison, 1987) och utgör därmed en stor del av markens totala fosforinnehåll (Turner et al, 2005). Det är inte ovanligt att mer än 50 % av den totala P i marken består av organisk bunden P (Brady, 1990). Organisk fosfor kan omvandlas till oorganiskt fosfat genom enzymatiska reaktioner (mineralisering, t ex Quiquampoix och Mousain 2005) eller tas upp av mikroorganismer direkt (Frossard m. fl., 2000). Därmed är den organiska P poolen aktiv i processer som påverkar både växtupptag och P förluster. McDowell och Monaghan (2002) studerade olika P former i utlakningsvatten från lysimetrar. De rapporterar att löst organiskt P stod för 67 % (ingen bearbetning) och 80 % (bearbetad jord) av total löst P. Bestämning av löst organisk fosfor i jord och vätskeprov har dock inte varit rutin och vår kunskap om organisk fosfor i jord, växter, organiska gödselmedel och utlakningsvatten är begränsad.

Bergström med fl. (2007) konstaterar att den organiska andelen av P måste beaktas i större utsträckning i framtiden för att öka vår kunskap kring fosforomsättning och utlakning. I samma rapport identifieras ett stort forskningsbehov kring organiska fosforföreningars tillgänglighet för transport och nedbrytning. Så vitt vi vet finns det inga studier gjorda i Sverige för att försöka identifiera och kvantifiera olika former av organisk P i svenska jordar. Ivarsson (1989) har genom stegvis fraktionering fördelat fosforfraktionerna mellan olika oorganiska pooler och två organiska fraktioner men utan att identifiera enskilda grupper av P-föreningar. Det finns dock metoder för att separera och identifiera olika former av organisk P i marken, och en av de mer välanvända är ^{31}P kärnmagnetisk resonans (^{31}P -NMR) (t ex Frossard med fl 2000). NMR började användas för miljöstudier på 60-talet och dom första ^{31}P -NMR studierna utfördes i början på 80-talet, på extrakt av jordprover (Newman och Tate, 1980). Sedan dess har ett antal internationella studier använt tekniken för att studera P i jordar och andra naturliga prover (t ex Condron et al. 1990, Bedrock et al. 1994; Makarov et al. 1995; Cade-Menun et al. 2000; Turner et al. 2003), men tekniken har i Sverige endast använts på sediment (t ex Ahlgren et al, 2005; 2006).

NMR tekniken baseras på att visa element fungerar som dipoler när de placeras i ett magnetiskt fält, och om då en radiofrekvenspuls läggs på vinkelrätt mot det magnetiska fältet kommer elementets egna magnetiska vektor i förlängningen ge upphov till en signal som är beroende av elementets omgivning, dvs hur molekylerna ser ut. Detta innebär att det med ^{31}P NMR är möjligt att identifiera och kvantifiera en rad olika grupper av fosforföreningar, både organiska och oorganiska. Exempel på typer av föreningar som brukar gå att identifiera är fosfatmonoestrar, fosfatdiestrar, polyfosfater och pyrofosfater. Ofta går det att urskilja olika undergrupper av dessa och ibland även individuella föreningar som t ex inositol hexafosfat.

³¹P NMR har visat sig vara en mycket användbar teknik för att undersöka organiska fosforföreningar och hur dessa påverkar sin omgivning.

Syfte

Förutom det allmänna behovet för att identifiera och kvantifiera organiska P former är det också viktigt att utvärdera hur odlingsmetoder och i synnerhet gödslingsnivåer och gödslingstyper påverkar sammansättningen och omsättningen av organiskt P. Därför har vi i detta projekt tagit jordprover i fastliggande växtnäringsförsök med olika gödslingsstrategier och etablerade P-nivåer i marken. I försöken ingår två odlingsystem, ett med och ett utan vall. I det förra bortförs skörderesterna och stallgödsel används, i det senare återförs alla skörderester och handelsgödsel används. Vid varje försök finns fyra P gödslingsnivåer. Därmed kan vi genom detta projekt förbättra vår kunskap om skillnader i sammansättning av olika organiska P former mellan:

1. Fyra olika jordar
2. Fyra olika P gödslingsnivåer
3. Två olika växtföljder inklusive skillnader mellan effekterna av stall- och handelsgödseln

Metodik

Vid avdelningen för växtnäringslära pågår sedan många år försök med tillförsel av P i bestämda mängder och vid fastlagda tidpunkter. Fyra av dessa försöksplatser ansågs lämpliga för detta projekt: Vreta Kloster (silty clay loam), Högåsa (loamy sand), Fjärdingslöv (sandy loam) och Kungsängen (clay). Egenskaperna hos dessa jordar är väl dokumenterade (Börling med fl., 2001; Carlgren och Mattsson, 2001; Djodjic med fl., 2004; Kirchmann, 1991; Kirchmann med fl., 1999).

Följande provtagningsschema användes:

Antal	Led	Beskrivning	Variabel
4	Platser	Vreta Kloster, Högåsa, Kungsängen, Fjärdingslöv	Jordartsskillnader
2	Växtföljder	Med och utan vall (stallgödsel)	Gödselslag
4	P led	0 P, P ersättning, P ersättning + 15 (20) kg P/ha samt P ersättning + 30 kg P/ha	P-status i marken samt gödselgiva
2	Samrutor	Upprepningsrutor	Statistisk säkerhet
Sammanlagt 4 platser * 2 växtföljder * 4 P led * 2 samrutor = 64 prover			

Under våren 2009 provtogs alla ovan nämnda platser och behandlingar (64 prover sammanlagt).

De hämtade jordproverna torkades, mortlades och siktades genom en 2mm sikt innan de extraherades med en blandning av 0.5M NaOH och 0.1M EDTA (1:1) i 16h. Till 100ml extraktionslösning användes 5g torkad jord. Efter avslutad extraktion centrifugerades lösningen och extraktet frystorkades. 0.75g av det frystorkade provet löstes sedan i 0.9ml 1M NaOH och 0.1ml 0.1M EDTA. Detta gav en uppkoncentrering av provet på ca 30ggr, vilket är en nödvändighet för att få tillräckligt höga slutgiltiga P halter i provet för noggranna NMR-analyser.

P-NMR analyserna utfördes på en Bruker DRX-400 NMR, med ca 32000 transienter per prov (8h), och utvärderades med Bruker Topspin 1.3.

Under 2009 och 2010 analyserades sammanlagt 64 prover. Förutom NMR-analyser utfördes också analyser av total P i jordextrakten med ICP-AES.

Resultat och diskussion

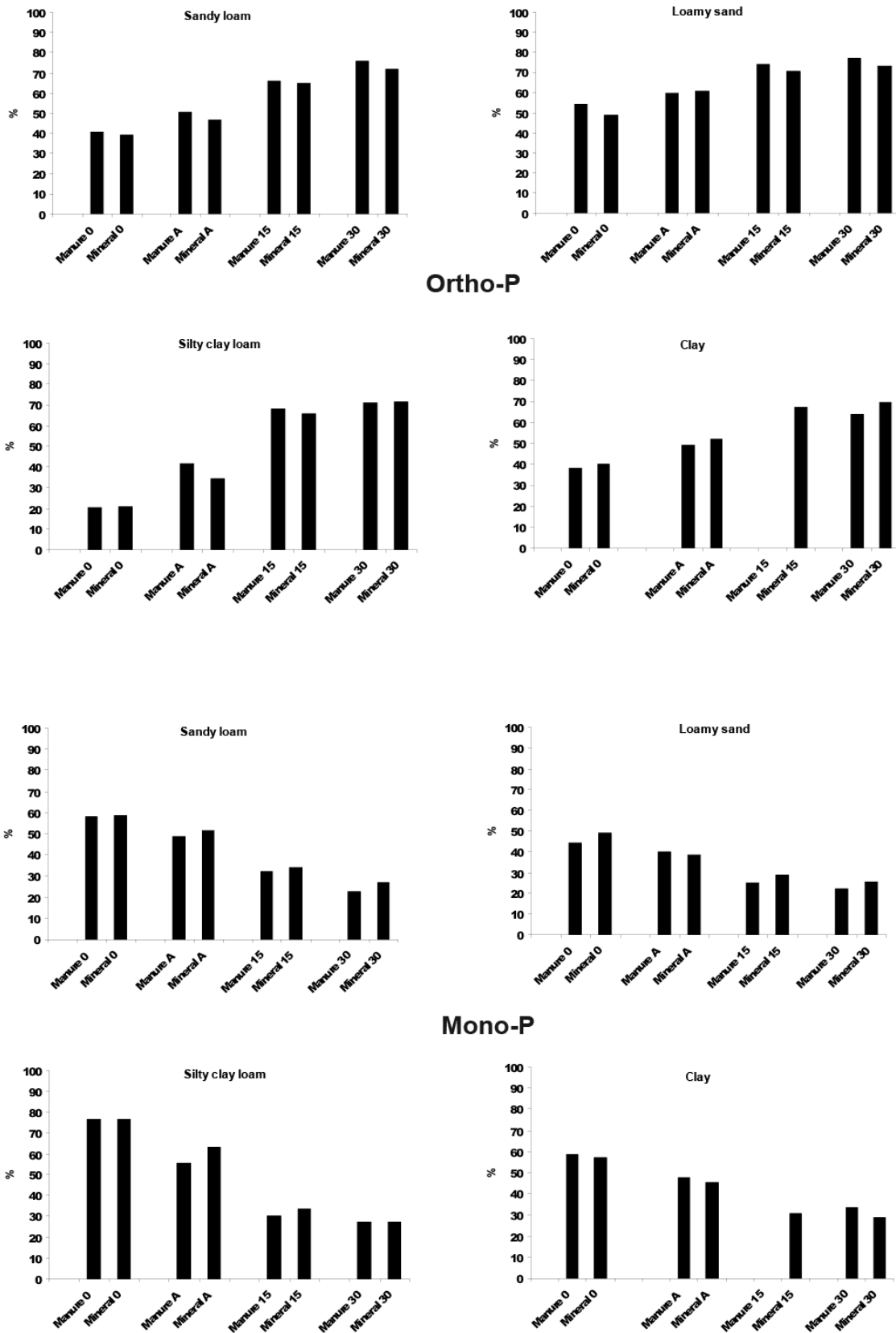
Resultaten visar att när gödsel inte har tillförts till jorden föreligger en majoritet av den extraherade fosfor som fosfat-monoestrar (Mono-P, 40-80 %), vilket är en tämligen refraktär form av föreningar som inte nödvändigtvis är direkt tillgänglig för växter och mikroorganismer. Övrig P i dessa prover förelåg till största del som ortofosfat (Ortho-P, 20-60 %), samt pyrofosfat (Pyro-P, 1-4 %). Dessa är, i motsats till monoestrarna, P former som är direkt tillgängliga. Intressant att notera är att det är tämligen stor skillnad mellan jordarna när det gäller andelen Mono-P kontra Ortho-P vid ogödslade förhållanden. Lägst andel Mono-P hade jorden från Högåsa (loamy sand, 40-55 %) och högst jorden från Vreta (silty clay loam, 70-80 %). Denna skillnad mellan de olika jordtyperna utjämnades dock vid gödseltillsats.

Redan vid tillsats av P motsvarande ersättningsnivån hade fördelningen mellan de påvisade grupperna av P föreningar förändrats till att Ortho-P var den generellt dominerande fraktionen i alla jordar. Andelen av Ortho-P vid ersättningsnivå låg i allmänhet mellan 50-60 %. Vid ytterliggare tillsats av gödsel förstärktes denna skillnad mellan de två dominerande fraktionerna, och vid den högsta ersättningsnivån (+30) utgjorde Ortho-P över 70 % av den totala extraherade fosfor i alla jordar. Andelen Mono-P sjönk motsvarande i samtliga jordar.

Pyro-P utgjorde generellt en liten andel av den totala fosfor, och stod för mellan 0 och 4 % i samtliga jordar och gödselgivor. Trots denna låga andel motsvarar dessa värden ca 15-60 kg P/ha, och med tanke på tillgängligheten hos denna förening kan detta påverka P omsättningen i jordbruksmarken, och därmed följaktligen både P upptaget och förlusterna.

Trenderna för de relativa andelarna av de dominerande P fraktionerna Ortho-P och Mono-P med ökad gödselgiva visas i fig 1.

Vad gäller de faktiska halterna av P är det tydligt att total extraherbar P (TeP) ökar med ökad gödsling i samtliga jordar. Generellt stiger TeP med 2-3 ggr från ogödslade förhållanden till de starkast gödslade förhållandena. De faktiska halterna varierar med jordtypen och är lägst i Fjärdingslöv (sandy loam), där TeP gick från ungefär 150 µg P/g jord till strax över 400 µg P/g jord. Högst TeP halter uppmättes i jorden från Högåsa (loamy sand), där halterna steg från 350 µg P/g jord till närmare 800 µg P/g jord. Den stora orsaken till denna ökning av TeP är en ökning av Ortho-P i samtliga jordar. Denna ökning motsvarar helt ökningen i TeP, och Ortho-P går i det lägsta fallet (Fjärdingslöv) från 50 µg P/g jord till 300 µg P/g jord. Även när det gäller Ortho-P återfinns de högsta halterna i Högåsa, där denna fraktion ökar från 150 µg P/g jord vid ogödslade förhållanden till närmare 600 µg P/g jord vid den högsta gödslingsnivån.



Figur 1. Trender i relativ andel av Ortho-P respektive Mono-P med ökad gödseltillsats.

Till skillnad från Ortho-P påverkas inte halterna av Mono-P eller Pyro-P av tillsatt P i form av gödsel. Mono-P halterna i jordarna är desamma oavsett gödslingstillsatts, och varierar dessutom inte nämnvärt mellan de olika jordarna. Undantaget är jorden från Fjärdinglöv, där Mono-P halterna generellt ligger något lägre än hos övriga jordar, med halter på ca 100 µg P/g jord. I de övriga jordarna ligger Mono-P halterna mellan 160 och 180 µg P/g jord, oavsett gödselgiva. Pyro-P halterna uppmättes till mellan 3 och 9 µg P/g jord oavsett jordtyp och gödselgiva.

Vidare bör det påpekas att det inte går att påvisa någon skillnad mellan användning av stall- respektive handelsgödsel, och inte heller någon inverkan av vall, på fördelningen av P föreningar i jorden, vare sig i relativa siffror eller uppmätta halter.

Sammanfattningsvis märks en tydlig förändring av sammansättningen av fosforföreningar i de undersökta jordarna vid tillsatts av gödsel. Utan gödsling föreligger en majoritet av fosfor som tämligen otillgängliga organiska P föreningar, men redan vid gödsling som motsvarar den mängd P som förloras naturligt varje år förändras denna bild. En ökad mängd gödsling ökar sedan den relativa andelen P i tillgänglig form, vilken vid den högsta undersökta gödslingsmängden kan uppgå till över 80 % av det totala P innehållet. Det totala extraerbara P innehållet i jordarna ökar 2-3 ggr vid tillsatts av gödsel, och de uppmätta halterna verkar till viss del bero av jordtyp, där jorden med den grövsta partikelstorleken har de lägsta halterna, både före och efter gödsling. Den stora skillnaden i TeP före och efter gödsling beror till största del på en motsvarande ökning av Ortho-P fraktionen i jordarna med ökad gödseltillsatts. Ortho-P ökade generellt 2-6 ggr vid gödsling, från som lägst 50 µg P/g jord till som mest ca 800 µg P/g jord. Den andra dominerande P fraktionen i jordproverna, Mono-P, påverkades däremot inte av gödsling och låg konstant mellan 100 och 180 µg P/g jord oberoende av jordtyp och gödselgiva.

Resultaten av denna studie presenterades på den 6:e internationella P workshopen i Sevilla, Spanien i september 2010. Resultaten sammanställs också i ett manuskript ämnat för vetenskaplig publicering och detta manuskript bifogas som en bilaga.

Referenser

- Ahlgren, J., Tranvik, L., Gogoll, A., Waldebäck, M., Markides, K. & E. Rydin. 2005. Depth attenuation of biogenic phosphorus compounds in lake sediment measured by ³¹P NMR. *Environ. Sci. Technol.* 39: 867-872.
- Ahlgren, J., Reitzel, K., Tranvik, L., Gogoll, A. & E. Rydin. 2006. Degradation of organic phosphorus compounds in anoxic Baltic Sea sediments; a ³¹P NMR study. *Limnology and Oceanography*. 51(5): 2341-2348
- Bedrock, C. N., M. V. Cheshire, J. A. Chudek, B. A. Goodman & C. A. Shand. 1994. Use of P-31-Nmr to Study the Forms of Phosphorus in Peat Soils. *Science of the Total Environment* 152: 1-8.
- Bergström, L., Djodjic, F., Kirchmann, H., Nilsson, I. & Ulén, B. 2007. Phosphorus from farmland to water. Report Food 21, no. 4/2007. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Boesch, D., Hecky, R., O'Melia, C., Schindler, D. & Seitzinger, S. 2006. Eutrophication of the Swedish Seas. SNV Report 5509, 68 pp.

- Brady, N. C.: 1990, *The Nature and Properties of Soils*, 10th Ed., Macmillan Publishing Company, New York.
- Brandt, M., Ejhed, H., & Rapp, L. 2008. Näringsbelastning på Östersjön och Västerhavet 2006. Underlag till Sveriges PLC5-redovisning till HELCOM. Naturvårdsverket Rapport 5815. 43 s.
- Börling, K., Otabbong, E. & Barberis, E. 2001. Phosphorus sorption in relation to soil properties in some cultivated Swedish soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 59, 39-46
- Cade-Menun, B. J., S. M. Berch, C. M. Preston and L. M. Lavkulich. 2000. Phosphorus forms and related soil chemistry of Podzolic soils on northern Vancouver Island. A comparison of two forest types. *Canadian Journal of Forest Research*. 30: 1714-1725.
- Carlgren, K. & Mattsson, L. 2001. Swedish soil fertility experiments. *Acta Agriculturae Scandinavica*.
Soil Plant Sciences 51: 49–76.
- Condon, L. M., M. R. Davis, R. H. Newman and I. S. Cornforth. 1996. Influence of conifers on the forms of phosphorus in selected New Zealand grassland soils. *Biology and Fertility of Soils*. 21: 37-42.
- Djordjic, F., Börling, K. & Bergström, L. 2004. Phosphorus leaching in relation to soil type and soil phosphorus content. *Journal of Environmental Quality* 33, 678-684.
- Frossard, E., Condon, L.M., Oberson, A., Sinaj, S., & Fardeau, J.C. 2000. Processes governing phosphorus availability in temperate soils. *Journal of environmental quality* 29:15-23.
- Ivarsson, K. 1989. Large amounts of soil phosphorus – difficult for the plant to utilize. Dissertation. Department of soil sciences, Swedish university of agricultural sciences, Uppsala.
- Kirchmann, H. 1991. Properties and classification of soils of the Swedish long-term fertility experiments—I. Sites at Fors and Kungsängen. *Acta Agric. Scand.* 41, 227–242.
- Kirchmann, H., Eriksson, J. & Snäll, S. 1999. Properties and classification of soils of the Swedish long-term fertility experiments—I. sites at Ekebo and Fjärdingslöv. *Acta Agric. Scand. Soil Plant Sci.* 49, 25–38.
- Makarov, M. I., G. Guggenberger, H.G. Alt and W. Zech. 1995. Phosphorus status of Eutric Cambisols polluted by P-containing immissions: results of ^{31}P NMR spectroscopy and chemical analysis. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*. 158: 293-298.
- McDowell, R.W., & Monaghan, R.M. 2002. The potential for phosphorus loss in relation to nitrogen fertiliser application and cultivation. *New Zealand journal of agricultural research* 45:245-253.
- Newman, R. H. & K. R. Tate. 1980. Soil phosphorus characterisation by ^{31}P nuclear magnetic resonance. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 11: 835-842.
- Quiquampoix, H. and D. Mousain. 2005. Enzymatic Hydrolysis of Organic Phosphorus. In: Turner, B.L., E. Frossard and D.S. Baldwin (eds.). *Organic phosphorus in the environment*. CABI publishing. Chapter 5.
- Turner, B. L., E. Frossard & D. S. Baldwin. 2005. *Organic phosphorus in the environment*. CABI publishing.
- Turner, B. L., N. Mahieu & L. M. Condon. 2003. Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectral assignments of phosphorus compounds in soil NaOH-EDTA extracts. *Soil Science Society of America Journal* 67: 497-510.
- Turner, B. L., N. Mahieu, and L. M. Condon. 2003. Quantification of myo-inositol hexakisphosphate in alkaline soil extracts by solution ^{31}P NMR spectroscopy and spectral deconvolution. *Soil Science*. 168: 469-478.