DOI：10.11766/trxb202311160476 **CSTR： 32215.14.trxb202311160476**

元晓春，张晓晴，周茜，吴联钻，陈俊明，曾泉鑫，柏欣宇，李文周，陈岳民. 短期低氮添加改变黄山松土壤可溶性有机质的分子组成及稳定性[J]. 土壤学报，2025，62（2）：517–527.

YUAN Xiaochun, ZHANG Xiaoqing, ZHOU Qian, WU Lianzuan, CHEN Junming, ZENG Quanxin, BAI Xinyu, LI Wenzhou, CHEN Yuemin. Short-term Low Nitrogen Addition Alters the Molecular Composition and Stability of Soil Dissolved Organic Matter in a *Pinus taiwanensis* Forest[J]. Acta Pedologica Sinica，2025，62（2）：517–527.

短期低氮添加改变黄山松土壤可溶性有机质的分子组成及稳定性*

元晓春[1, 2]，张晓晴[2]，周　茜[1]，吴联钻[2, 3]，陈俊明[2]，曾泉鑫[2]，柏欣宇[2]，李文周[4]，陈岳民[2, 5†]

（1. 武夷学院旅游学院，福建武夷山 354300；2. 福建师范大学地理科学学院，福州　350007；3. 福建省自然资源厅，福州　350007；4. 福建师范大学福建省亚热带资源与环境重点实验室，福州　350007；5. 福建戴云山国家级自然保护区管理局，福建德化　362500）

摘　要：可溶性有机质（DOM）对环境变化高度敏感，其动态变化对理解全球变化情景下区域/全球碳循环至关重要。然而，氮沉降背景下土壤 DOM 分子特性如何变化尚不明确。采用尿素添加模拟野外氮沉降，在黄山松林设置了三个氮添加水平（0、40 和 80 $kg \cdot hm^{-2} \cdot a^{-1}$）。利用高分辨傅立叶变换离子回旋共振质谱（FT-ICR MS），探究了短期（三年）氮添加对 0～10 cm 土壤 DOM 分子组成及其稳定性的影响。FT-ICR MS 分析结果表明，DOM 分子主要集中在 250～400 Da，碳氢氧化合物占全部化合物的 50%以上。在 DOM 分子的八种类别中，木质素类分子在土壤 DOM 分子中占主导地位，其次是单宁类和缩合芳烃，而易分解的小分子（包括脂质、蛋白质和碳水化合物）的相对丰度较低。尽管氮添加未改变 DOM 含量和光学特性，但 DOM 的分子组成变化显著。相比于高氮处理，低氮处理显著降低了 DOM 中碳水化合物分子的相对丰度，降低幅度 73.33%。这可能主要归功于微生物生物量和水解酶活性的增加。此外，低氮添加下双键当量（DBE）显著增加，说明 DOM 的分子稳定性有所提升。皮尔森（Pearson）相关分析发现，DBE 与碳水化合物和蛋白质/氨基糖等小分子化合物呈显著的负相关，而与木质素及缩合芳烃等大分子的相关性不显著。这说明短期氮添加下 DOM 的分子稳定性可能取决于碳水化合物等易分解小分子的减少而非难分解分子的增加。综合而言，本研究为理解氮沉降下土壤 DOM 的行为提供了分子层面的新视角。

关键词：高分辨傅立叶变换离子回旋共振质谱；可溶性有机质；分子组成；分子稳定性；氮沉降

中图分类号：S714.5　　**文献标志码：**A

Short-term Low Nitrogen Addition Alters the Molecular Composition and Stability of Soil Dissolved Organic Matter in a *Pinus taiwanensis* Forest

YUAN Xiaochun[1, 2], ZHANG Xiaoqing[2], ZHOU Qian[1], WU Lianzuan[2, 3], CHEN Junming[2], ZENG Quanxin[2],

* 国家自然科学基金项目（32201532，32371846）和福建省自然科学基金项目（2020J01397，2020J01142）共同资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China（Nos. 32201532 and 32371846）and the Natural Science Foundation of Fujian Province，China（Nos. 2020J01397 and 2020J01142）

† 通讯作者 Corresponding author，E-mail：ymchen@ fjnu.edu.cn

作者简介：元晓春（1990—），女，福建南平人，博士，讲师，主要研究土壤碳循环与全球变化。E-mail：Yuanxc@wuyiu.edu.cn

收稿日期：2023–11–16；收到修改稿日期：2024–03–25；网络首发日期（www.cnki.net）：2024–06–24

BAI Xinyu[2], LI Wenzhou[4], CHEN Yuemin[2, 5†]

(1. *College of Tourism*, *Wuyi University*, *Wuyishan*, *Fujian* 354300, *China*; 2. *School of Geographical Sciences*, *Fujian Normal University*, *Fuzhou* 350007, *China*; 3. *Fujian Provincial Department of Natural Resources*, *Fuzhou* 350007, *China*; 4. *Fujian Provincial Key Laboratory for Subtropical Resources and Environment*, *Fujian Normal University*, *Fuzhou* 350007, *China*; 5. *Daiyun Mountain National Nature Reserve Administration Bureau*, *Dehua*, *Fujian* 362500, *China*)

Abstract: 【Objective】Dissolved organic matter (DOM) is highly sensitive to environmental changes, and its dynamic changes are crucial for understanding regional/global carbon cycling under global change scenarios. However, it is not yet clear how the characteristics of soil DOM molecules change under nitrogen deposition. This study aimed to investigate the response of DOM molecular composition and stability to nitrogen addition. 【Method】In this study, three nitrogen addition levels (0, 40, and 80 $kg \cdot hm^{-2} \cdot a^{-1}$) were conducted in a *Pinus taiwanensis* forest by using urea addition to simulate nitrogen deposition in the field. The effect of short-term (three years) nitrogen addition on the molecular composition of DOM and its stability was investigated using high-resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FT-ICR MS) . 【Result】The results of FT-ICR MS analysis revealed that DOM molecules were mainly concentrated in 250-400 Da, and CHO compounds accounted for more than 50% of all compounds. Of the eight types of DOM molecules, lignin-like molecules dominated all soil DOM molecules, followed by tannins and condensed aromatics, with the relative abundance of readily decomposable small molecules (including lipids, proteins, and carbohydrates) being low. There was no statistically significant change in the content and optical properties of DOM under nitrogen addition, but significant changes occurred in the properties and composition of DOM molecules. Compared to high nitrogen treatment, low nitrogen treatment significantly reduced the relative abundance of carbohydrate molecules in DOM by 73.33%. This may be largely attributed to the increase in microbial biomass and hydrolytic enzyme activities. Nitrogen addition did not change the nitrogen-containing compounds in DOM molecules, but reduced the sulfur-containing compounds. Furthermore, the average molecular weight and ratio of double bond equivalent to carbon atom number (DBE/C) , modified aromaticity index (AI_{mod}) , and aromaticity equivalent (Xc) of DOM molecule did not show significant changes under nitrogen addition. However, a significant increase in DBE values was observed under low nitrogen addition, indicating an improvement in the molecular stability of DOM. The improvement of DOM molecular stability may have a potential impact on soil carbon pool stability. Pearson's correlation analysis revealed that DBE values were significantly negatively correlated with small molecule compounds such as carbohydrates and proteins/amino sugars, while the correlation with large molecules such as lignin and condensed aromatics was not significant. Besides, nitrogen addition did not significantly change the difficult-to-decompose molecules such as lignin and condensed aromatic compounds in DOM. This suggests that the molecular stability of DOM under short-term nitrogen addition may depend on the removal of readily decomposable small molecules, such as carbohydrates, rather than the increment of refractory molecules.【Conclusion】Collectively, this study provides a new perspective at the molecular level for understanding the behavior of soil DOM under nitrogen deposition, and a reference for understanding the potential relationship between DOM molecules and soil carbon stability.

Key words: High-resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry; Soluble organic matter; Molecular composition; Molecular stability; Nitrogen deposition

热带亚热带森林的土壤碳储量占陆地生态系统总土壤碳库的 1/3，其微小变化可导致大气 CO_2 浓度的巨大波动，对全球碳平衡至关重要[1]。全球变化，如人类活动导致的氮沉降量增加，仍然是森林生态系统的重大压力源[2]。目前，中国氮沉降量仍居世界高位水平，尤其在中国东、南地区[3]。随着氮沉降加剧，森林生态系统将先后出现生物多样性下降、土壤酸化和植物生长受抑制等生态问题，这可能会抵消长期以来氮沉降对森林生态系统碳储量的积极影响[4]。

可溶性有机质（DOM）是土壤有机质中生物利用性最高的活性组分之一，虽然其仅占土壤有机质很小的比例，但由于 DOM 对外界环境高度敏感，其动态变化对于理解全球变化情景下区域/全球碳循环至关重要[5]。尽管至今已开展大量氮沉降对 DOM 数量动态（浓度、通量）和化学性质的研究[6-8]，

然而由于技术手段的限制，目前氮沉降背景下土壤 DOM 分子的相关研究十分匮乏[9-10]。土壤 DOM 是高度复杂且不均匀的混合体，包含各种小分子（如，碳水化合物与蛋白质/氨基糖）、芳香性分子（如，多酚与缩合芳烃）和稳定性分子（如，木质素）[5]。相比于 DOM 数量和化学性质，其分子特性对有机碳积累的调控可能更为重要[11]。此外，氮沉降对土壤 DOM 分子特性的影响机制仍不清楚，例如，微生物如何与 DOM 分子相互作用[12]。因此，为揭示氮沉降下土壤 DOM 生态行为中的关键过程及机理，进一步探究 DOM 分子水平的信息是当前研究的必然趋势。

傅立叶变换离子回旋共振质谱仪（FT-ICR MS）的使用开启了有机质的分子时代，其可弥补光谱法不能提供分子组成信息的缺陷，高分辨率地判定 DOM 的分子式[13]。基于 FT-ICR MS 分析，Wang 等[14]在温带落叶林的研究表明，长期氮添加增加了缩合芳烃和芳香族化合物等难分解大分子。其主要原因在于氮添加会通过土壤酸化，诱导抗菌类物质进而抑制微生物生长和酶活性[15]。近期，Niu 等[9]在热带原始森林的研究进一步表明，长期氮添加会显著提高 DOM 平均分子量和芳香性，从而增强土壤碳库稳定性。尽管上述结果为氮添加下 DOM 分子组成的研究提供了基础数据，但均为长期氮添加下的研究，且目前在亚热带森林鲜见相关报道。

DOM 分子的稳定性可指示土壤有机质的潜在稳定性，通常使用双键当量（DBE）加以表征[12]。目前 DOM 分子稳定性与 DOM 分子组成之间的联系尚存争议。先前多数研究表明，氮添加会增加 DOM 的腐殖化程度[8, 16]。基于此，一种观点认为，氮添加会增强 DOM 分子稳定性，其与 DOM 中木质素等顽固分子密切相关[9]。而另一种观点则认为，DOM 库中碳水化合物等易分解物质减少是促进 DOM 分子稳定性的关键[17]。这是基于氮添加会促进碳水化合物的降解，对木质素等大分子存在抑制作用[15]。据此，为进一步探讨 DOM 分子稳定性与 DOM 分子组成之间的联系，了解亚热带森林土壤 DOM 分子组成对氮添加的响应，本研究选取亚热带黄山松为研究对象，通过野外添加试验，利用 FT-ICR MS 探究了短期氮添加对 DOM 分子组成及稳定性的影响。本研究假设：1）氮添加下随着 DOM 的平均分子量和芳香性增加，DOM 分子中的难分解分子化合物增加；2）难分解分子化合物与 DOM 的分子稳定性呈显著正相关。研究结果将对认识氮沉降背景下土壤 DOM 的分子生态行为以及理解 DOM 分子与土壤碳稳定性的潜在联系具有重要意义。

1　材料与方法

1.1　研究区概况

试验样地位于福建省泉州市的戴云山国家级自然保护区（25°38′7″N～25°43′40″N，118°5′22″E～118°20′15″E）。气候类型为亚热带海洋性季风气候，年均气温约为 15.6～19.5 ℃，年均降水量约为 1 700～2 000 mm，无霜期为 260 d。样地为 60 年以上林龄的黄山松纯林，林下植被以箬竹（*Indocalamus*）为主，占 80%以上。林分密度为 3 408 hm^{-2}，郁闭度为 0.59，平均树高 5.00 m，平均胸径 10.28 cm。土壤类型以山地红壤为主[18]。

1.2　试验设计与土壤样品采集

在黄山松纯林布设 12 块大小为 10 m × 10 m 的样方，各样方间隔 5 m 作为缓冲带。采用随机区组法，设置三个氮添加梯度：对照（CT，0 $kg·hm^{-2}·a^{-1}$（以 N 计，下同））、低氮（LN，40 $kg·hm^{-2}·a^{-1}$）和高氮（80 $kg·hm^{-2}·a^{-1}$），每个氮添加水平各 4 个重复。于 2018 年开始，以野外添加尿素的形式模拟氮沉降。氮添加时间为每年 3～9 月，每月进行一次。具体试验设计见先前的研究[16]。土壤样品于 2021 年 5 月采用不锈钢取土器（直径 2.5 cm）采集，采集深度为 0～10 cm。具体按照五点法采样，在每个样方内取 5 个土芯，去除石块和根系之后将其混合为一个土壤样品。土壤样品装入塑料自封袋，用冰袋保鲜带回实验室处理。将土壤样本过 2 mm 筛后保存于 4 ℃冰箱，用于本研究相关指标的测定。

1.3　土壤性质和 DOM 含量及光谱分析

土壤 pH（土水比为 1∶2.5）采用玻璃电极（Starter 300，Ohaus，美国）测定。采用碳氮元素分析仪（Elementar Vario EL III，Elementar，德国）测定土壤全碳和全氮。土壤矿质氮（包括铵态氮和硝态氮）采用 KCl 浸提法[19]。土壤微生物生物量碳和微生物生物量氮采用氯仿熏蒸-浸提法[20]。参照 Saiya-Cork 等[21]的方法提取和测定 β-葡萄糖苷酶和纤维素水解酶。采用水浸提法[7]（土水比为 1∶4）

制备 DOM 溶液用于测定 DOM 含量和光学特征。可溶性有机碳采用有机碳分析仪（TOC-VCPH/CPN，Shimadzu，日本）测定。利用连续流动分析仪（Skalar san++，Skalar，荷兰）测定 DOM 溶液中的溶解性总氮和总溶解性无机氮，做差值计算后得到可溶性有机氮[7]。254 nm 和 268 nm 处的紫外吸光度采用紫外-可见光分光光度计（UV-2450，岛津，日本）测定。DOM 的荧光发射光谱采用荧光分光光度计（F-7000，日立，日本）测定。具体参数设置及 DOM 芳香化指数、疏水性指数和腐殖化指数的计算参考先前的研究方法[7]。

1.4 傅里叶变换离子回旋共振质谱（FT-ICR MS）分析

在进行 FT-ICR MS 分析之前，使用固相萃取法得到 DOM 样品[22]。使用配备电喷雾电离（ESI）接口的 Bruker Apex-Ultra 9.4T FT-ICR MS 仪器（Bruker Daltonik GmbH，Bremen，德国）测量所有 DOM 样品。DOM 样品在 ESI 负模式下被电离，检测的质荷比（m/z）范围为 200～800 Da。为提高信噪比（S/N）和动态范围，采用 2M 模式采集，谱图平均次数设置为 128。其他测试条件包括：源累积时间：0.0010 s；碰撞池累积时间：0.5 s；飞行时间：1.3 ms；电离电压：3 500/3 000 V；雾化气流速：2.0 L·min^{-1}；干燥气流速：5.0 L·min^{-1}；干燥气温度：200 ℃；四级杆 Q1：280 m/z。van Krevelen 图用于将指定的 DOM 分子分为八类[23]，包括①脂质；②蛋白质/氨基糖；③碳水化合物；④不饱和烃；⑤木质素；⑥单宁；⑦缩合芳香；⑧其他（不属于上述七类的化合物）。

1.5 DOM 分子特征值计算

通过质谱数据分析软件（Bruker Daltonics 4.2）的峰值选择器导出 m/z 值（S/N 阈值为 6）。通过多次校正质量轴，以消除可能的质量偏差[22]。将 FT-ICR MS 光谱的绝对峰值强度归一化得到相对峰值强度[24]。双键当量（DBE）代表一个分子中不饱和度加上环的总和，低 DBE 代表 DOM 稳定性较差，更容易发生转化反应[12]。双键当量和碳原子之比（DBE/C）、修正的芳香性指数（AI_{mod}）和芳度当量（Xc）均可用于芳香族和缩合芳香族化合物的识别和表征[13, 25-26]。AI_{mod} 反映 DOM 分子中 C=C 键的“密度”，通常 AI_{mod}>0.5 代表存在芳香结构，AI_{mod}>0.67 代表存在缩合芳香结构[25]；Xc≥2.5000 和 Xc≥2.7143 分别作为芳烃和缩合芳烃存在的明确最低标准[26]。碳的标准氧化态（NOSC）反映有机质分子的生物有效性[27]。CHO_x 指数用来描述 DOM 的碳降解潜力，其中 CHO_x=0 代表化合物中氢原子数是氧原子数的两倍，如葡萄糖和葡萄糖聚合物。CHO_x>0 代表化合物（如单宁酸）的氧化程度更高，而 CHO_x<0 代表化合物（如油酸）的还原程度更高[28]。相关指标的计算公式如下[12, 25-27]：

$$\mathrm{DBE} = 1 + \frac{2C - H + N}{2} \quad (1)$$

$$\mathrm{AI_{mod}} = \frac{1 + C - 0.5O - S - 0.5H - 0.5N}{C - 0.5O - S - N} \quad (2)$$

$$X_c = \frac{C - (H - C)}{DNE} \quad (3)$$

$$\mathrm{NOSC} = 4 - \frac{4C + H - 3N - 2O - 2S}{C} \quad (4)$$

$$\mathrm{CHO}_x = \frac{2O - H}{C} \quad (5)$$

式中，C、H、N、O 和 S 分别表示每个分子中碳、氢、氮、氧和硫原子的个数。

1.6 数据处理

采用 SPSS 26.0 和 R 4.1.1 对数据进行统计分析。采用单因素方差分析检验不同氮水平之间土壤性质、DOM 含量和光学特性、DOM 分子组成及分子特征值的差异显著性。采用 Origin 2018 和 R 4.1.1 进行作图。

2 结 果

2.1 氮添加对土壤性质和 DOM 含量及光学指标的影响

氮添加下土壤 pH 无显著变化（表 1）。土壤全碳、全氮和矿质氮含量有所增加，其中土壤全碳和矿质氮在高氮和低氮处理下均显著增加（P<0.05，表 1）。氮添加不改变纤维素水解酶的含量，但低氮处理显著增加了微生物生物量碳、微生物生物量氮和 β-葡萄糖苷酶的含量（P<0.05），且显著高于高氮处理。氮添加对土壤 DOM 含量（包括可溶性有机

表 1　氮添加下土壤性质和可溶性有机质（DOM）含量及光学指标

Table 1　Soil biochemical properties，dissolved organic matter（DOM）content，and optical indicators under nitrogen addition

处理 Treatment	pH	TC/（mg·kg^{-1}）	TN/（mg·kg^{-1}）	MN/（mg·kg^{-1}）	MBC/（mg·kg^{-1}）
CT	4.40（0.06）a	37.13（2.00）b	2.20（0.28）b	19.95（1.38）c	806.20（77.08）b
LN	4.41（0.05）a	48.56（1.49）a	2.40（0.23）ab	26.40（2.47）b	1041.60（31.57）a
HN	4.45（0.09）a	49.38（1.25）a	3.05（0.13）a	38.38（1.52）a	789.10（66.89）b

处理 Treatment	MBN/（mg·kg^{-1}）	βG/（nmol·g^{-1}·h^{-1}）	CBH/（nmol·g^{-1}·h^{-1}）	DOC/（mg·kg^{-1}）	DON/（mg·kg^{-1}）
CT	63.20（8.40）b	29.30（5.66）b	2.40（0.47）a	157.15（7.20）a	9.04（0.70）a
LN	91.01（4.63）a	36.01（2.53）a	1.80（0.17）a	169.28（9.37）a	12.85（0.91）a
HN	71.50（1.75）b	26.60（4.69）b	2.01（0.56）a	135.98（9.52）a	9.94（0.98）a

处理 Treatment	SUV_{254}/（L·mg^{-1}·m^{-1}）	SUV_{268}/（L·mg^{-1}·m^{-1}）	HIX
CT	7.60（0.13）a	6.98（0.12）a	4.95（0.50）a
LN	7.44（0.29）a	6.31（0.18）a	5.32（0.30）a
HN	7.50（0.33）a	6.57（0.26）a	3.07（0.43）a

注：TC：全碳；TN：全氮；MN：矿质氮；MBC：微生物生物量碳；MBN：微生物生物量氮；βG：β-葡萄糖苷酶；CBH：纤维素水解酶；DOC：可溶性有机碳；DON：可溶性有机氮；SUV_{254}：芳香化指数；SUV_{268}：疏水性指数；HIX：腐殖化指数。表中数据为均值（标准误），n=4。CT：对照；LN：低氮；HN：高氮。同列不同小写字母代表氮处理之间存在显著差异（P<0.05）。下同。

Note：TC：total carbon；TN：total nitrogen；MN：Mineral nitrogen；MBC：Microbial biomass carbon；MBN：Microbial biomass nitrogen；βG：β-1，4-glucosidase；CBH：Cellobiohydrolase；DOC：Dissolved organic carbon；DON：Dissolved organic nitrogen；SUV_{254}：Aromatization index；SUV_{268}：Hydrophobicity index；HIX：Humification index. The data in the table is the mean（standard error），n=4. CT：Control；LN：Low nitrogen；HN：High nitrogen. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences（P<0.05）. The same as below.

碳和可溶性有机氮）以及光学特性（包括芳香化指数、疏水性指数和腐殖化指数）均无显著影响。

2.2　氮添加下土壤 DOM 分子特征和组成

DOM 分子主要集中在 250～400 Da（图 1）。相比于对照，氮添加下 DOM 分子的相对强度在 270～320 Da 有所降低（图 1）。DOM 分子具有较高的双键当量和碳原子数之比（0.55～0.56）、芳度当量（2.73～2.77 左右）和碳的标准氧化态（0.1 左右）及较低的修正的芳香性指数（0.37～0.40）（表 2）。氮添加下 DOM 的分子数、相对分子量以及碳原子和各原子之间的比值（O/C、H/C 和 N/C）均无显著的变化，但硫原子和碳原子数之比在低氮处理下降低 40%。碳的标准氧化态在氮添加下几乎无变化。双键当量、修正的芳香性指数和芳度当量在低氮处理下增加，在高氮处理下降低。低氮处理下双键当量显著高于对照和高氮（P<0.05），增加幅度分别为 3.2%和 4.5%。此外，相比于对照，低氮处理下碳降解潜力有所增加，且同为正值；而高氮处理下碳降解潜力为负值。

通过 FT-ICR MS 分析，一共鉴别有 73 335 个 DOM 分子。van Krevelen 图显示，所有的 DOM 分子按照物质组成被分为八个类别（图 2a～图 2c）。柱状图显示，就元素组成而言，DOM 分子主要以碳氢氧化合物为主，占全部类别的 50%以上，其次为碳氢氧氮和碳氢氧硫化合物，而碳氢氧氮硫化合物最少（图 2d）。氮添加未改变碳氢氧、碳氢氧氮和碳氢氧氮硫化合物的相对含量，但碳氢氧硫化合物在低氮处理下降低了 36.91%（图 2d）。在八个类别中，DOM 分子主要以木质素为主要成分，其次为单宁和缩合芳烃。DOM 中木质素的相对含量在对照、低氮和高氮处理下分别占总化合物相对含量的 58.58%、60.27%和 59.56%。DOM

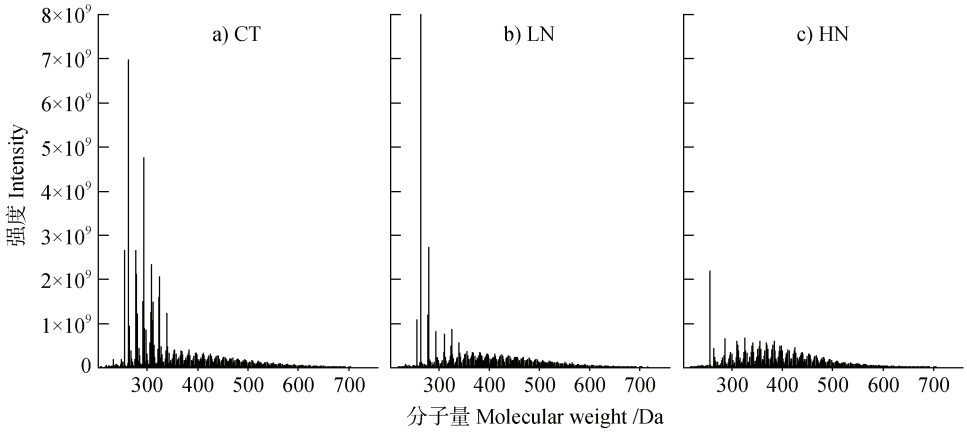


图 1 氮添加下可溶性有机质（DOM）分子的质谱图

Fig. 1 Mass spectra of dissolved organic matter（DOM）molecules under nitrogen addition

表 2 氮添加下 DOM 分子组成特征的强度加权平均值（wa）

Table 2 Strength weighted average（wa）of DOM molecular composition characteristics under nitrogen addition

处理 Treatment	NM	C	m/z	O/C	H/C	N/C	S/C
CT	6278（38.84）a	20.17（0.17）a	437.11（3.26）a	0.52（< 0.001）a	1.05（0.03）a	0.03（< 0.001）a	0.005（< 0.001）a
LN	5607（840.85）a	20.49（0.32）a	438.30（2.73）a	0.51（0.02）a	1.00（0.01）a	0.03（< 0.001）a	0.003（< 0.001）a
HN	6450（127.70）a	20.12（0.14）a	434.52（2.07）a	0.51（< 0.001）a	1.04（0.01）a	0.03（< 0.001）a	0.004（< 0.001）a

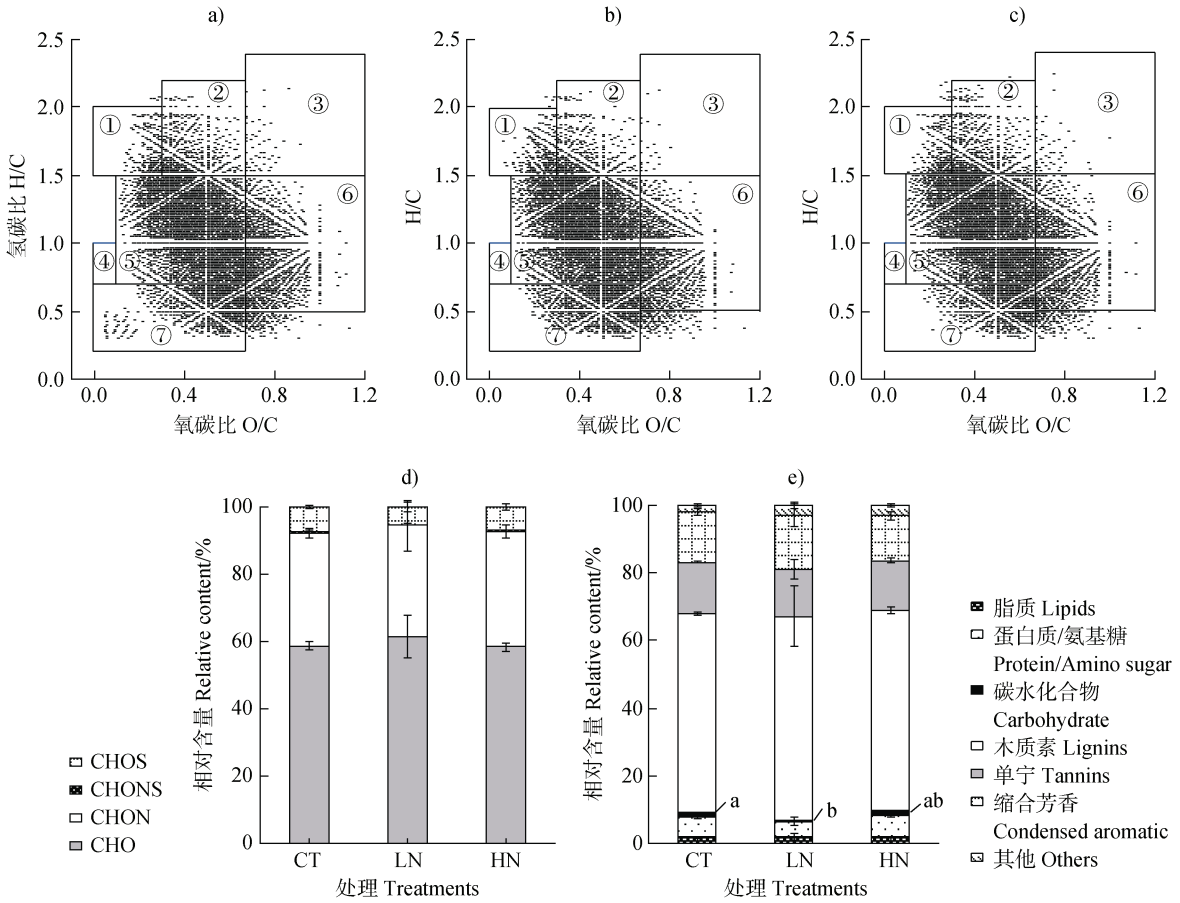
处理 Treatment	DBE	AI_{mod}	DBE/C	Xc	NOSC	CHO_X
CT	11.05（0.12）b	0.38（0.01）a	0.56（0.00）a	2.76（0.03）a	0.11（0.03）a	0.01（0.03）a
LN	11.41（0.09）a	0.40（0.02）a	0.56（0.01）a	2.77（0.03）a	0.11（0.04）a	0.03（0.03）a
HN	10.91（0.10）b	0.37（0.01）a	0.55（< 0.001）a	2.73（0.03）a	0.10（0.02）a	-0.01（0.02）a

注：NM：分子数；C：碳原子数；m/z：相对分子量；O/C：氧原子和碳原子数之比；H/C：氢原子和碳原子数之比；N/C：氮原子和碳原子数之比；S/C：硫原子和碳原子数之比；DBE：双键当量；AI_{mod}：修正的芳香性指数；DBE/C：双键当量和碳原子数之比；Xc：芳度当量；NOSC：碳的标准氧化态；CHO_X：碳降解潜力。下同。Note：NM：Number of molecules；C：The number of carbon atoms；M/z：Relative molecular weight；O/C：The ratio of oxygen and carbon atoms number；H/C：The ratio of hydrogen and carbon atoms number；N/C：The ratio of nitrogen and carbon atoms number；S/C：The ratio of sulfur and carbon atoms number；DBE：Double bond equivalent；AI_{mod}：Modified aromaticity index；DBE/C：The ratio of double bond equivalent to carbon atoms number；Xc：Aromaticity equivalent；NOSC：Standard oxidation state of carbon；CHO_X：Carbon degradation potential. The same as below.

分子中无不饱和烃化合物，蛋白质/氨基糖和碳水化合物的相对含量较低（图 2e）。低氮处理下蛋白质/氨基糖和碳水化合物的相对含量的降低幅度分别为 36.44%和 73.33%，其中碳水化合物的相对含量在低氮处理下显著降低（P<0.05），此外，氮添加对其他 DOM 分子类别的相对含量均无显著影响（图 2e）。

2.3 氮添加下土壤 DOM 分子组成与特征的关系

通过 Pearson 相关分析，探究了 DOM 分子组成与分子特征值之间的联系（图 3）。按元素分类的 DOM 组成和按物质分类的 DOM 组成存在显著的联系。例如，碳氢氧氮和碳氢氧化合物与脂质、木质素和缩合芳香均呈显著的正相关（P<0.05）。蛋白质/氨基糖与碳氢氧硫和碳氢氧氮化合物呈显著正相关，与碳氢氧氮硫化合物呈显著负相关（P<0.05）。双键当量与芳度当量、碳的标准氧化态和碳降解潜力值均呈正相关，其与修正的芳香性指数存在显著的正相关（P<0.05）。同时，双键当量与蛋白质/氨



注：①～⑧代表 DOM 分子的类别，包括①脂质；②蛋白质/氨基糖；③碳水化合物；④不饱和烃；⑤木质素；⑥单宁；⑦缩合芳香；⑧其他。CHOS、CHONS、CHON 和 CHO 代表 C、H、O、N 和 S 元素组成的分子化合物，分别为碳氢氧硫、碳氢氧氮硫、碳氢氧氮和碳氢氧化合物。下同。Note：①-⑧ represent the categories of DOM molecules, including：① lipids；② Protein/amino sugar；③ Carbohydrates；④ Unsaturated hydrocarbons；⑤ Lignin；⑥ Tannins；⑦ Condensed aromatic；⑧ Other. CHOS，CHONS，CHON，and CHO represent molecular compounds composed of different elements，namely carbon-hydrogen-oxygen-sulfur，carbon-hydrogen-oxygen-nitrogen-sulfur，carbon-hydrogen-oxygen-nitrogen，and carbon-hydrogen-oxygen compounds. The same as below.

图 2　不同氮水平下 DOM 分子的 van Krevelen 图（a～c）、DOM 分子按元素组成分类的加权平均相对含量（d）及按物质类别分类的加权平均相对含量（e）

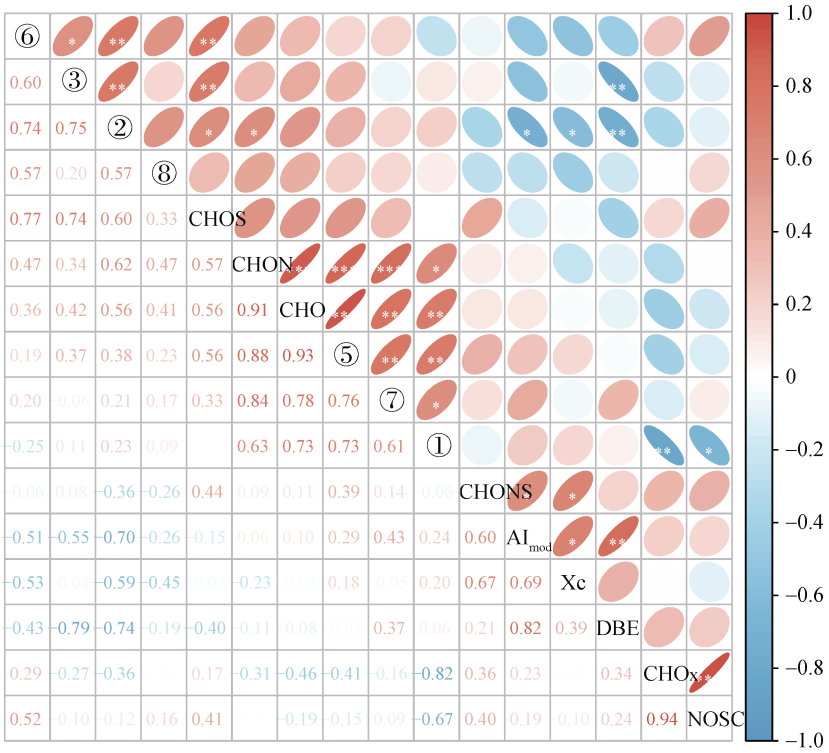
Fig. 2　Van Krevelen diagram of DOM molecular（a-c），weighted average relative content of DOM molecule classified by element composition（d），and weighted average relative content of DOM molecule classified by substance category（e）at different nitrogen levels

基糖和碳水化合物呈显著的负相关（$P<0.05$），而与木质素和缩合芳香无显著的相关性。

3　讨　论

先前研究报道，土壤 DOM 以难分解的腐殖质组分为主[16]，这在本研究中得到了分子层面的进一步验证。本研究发现，木质素、缩合芳烃化合物在数以万计的 DOM 分子中占主导地位（图 2）。尽管 DOM 容易被微生物利用，但这些难分解化合物（木质素、缩合芳烃）的量远大于易分解的碳水化合物和蛋白质。类似地，在高山海拔、农田土壤以及水体和湖泊沉积物等的研究中也发现 DOM 分子中木质素类含量最高[16, 29-30]。作为最难降解的物质之一，木质素是衡量土壤有机质稳定性的主要指标[31]。木质素等植物源有机质对土壤 DOM 的贡献颇大，这进一步强调了 DOM 对土壤碳库稳定的重要性。

三年氮添加下 DOM 的含量和光学特性在统计上均无显著的变化，但在 DOM 分子特性和组成上发生了显著的变化（表 2，图 2）。这与 Wang 等[32]



注：星号代表两指标之间存在显著的相关性，*P<0.01；** P<0.05；*** P<0.001。Note：The asterisk represents a significant correlation between two indices，*P<0.05；**P<0.01；*** P<0.001.

图 3 DOM 分子组成与其分子特征值的皮尔森相关

Fig. 3 Pearson correlation between DOM molecular composition and its molecular characteristic value

的研究结果类似，该研究强调了氮添加对 DOM 分子的影响高于其对 DOM 含量的影响。多数研究表明，由于土壤酸化或抗菌类物质会抑制土壤微生物生长和氧化酶活性，氮添加会促进 DOM 中难分解物质生成[15, 32]。然而，本研究并未发现 DOM 分子中的难分解化合物（木质素及缩合芳烃等）增加，却发现碳水化合物在低氮处理下显著降低（图 1）。这与本研究的假设并不相符，但与北美东部森林的一项研究结果[15]类似。可能的原因在于短期氮添加未导致土壤 pH 降低（表 1）；加之，氮添加下带来的氮资源，在短期内有利于微生物生长和土壤水解酶分泌[16, 33]。在本研究中，低氮显著增加了土壤微生物生物量和 β-葡萄糖苷酶（表 1），这说明低氮添加促进了微生物对 DOM 中碳水化合物的利用和/或葡萄糖等水解反应的发生。不同的是，高氮添加未改变土壤微生物生物量和水解酶活性（表 1），因此其对 DOM 分子组成并无显著的影响。尽管 DOM 定义为可溶性物质，但其中仍然含有小部分不溶性或疏水性物质[34]。在本研究中，含硫化合物（CHOS）与 S/C 在低氮添加下分别降低 36.91%和 40%（图 2，表 2）。这可能是由于低氮促进了微生物对 DOM 的利用。当微生物在大量挖掘 DOM 中可利用资源时，这些不溶性或疏水性物质将从 DOM 中脱离出来。这部分脱离的物质可能为含硫杂环化合物、硫代醛等含硫化合物，从而导致碳氢氧硫化合物与 S/C 降低。此外，先前研究表明，氮添加会增加 DOM 中含氮化合物[35]。但本研究中 DOM 分子中含氮化合物（CHON 和 CHONS）无显著变化（图 1），这与 DON 含量趋势一致（表 1）。可能原因在于氮添加促进了微生物对氮素的利用，将添加的氮转化为微生物生物量氮。本研究中氮添加下微生物生物量氮增加（表 1）可以支持该观点。

低氮添加下双键当量显著增加（表 2），说明低氮提高了 DOM 的分子稳定性。近期 Niu 等[9]在热带原始森林的研究表明，随着氮添加下 DOM 中难分解物质的增加，DOM 的平均分子量和芳香性显著提高。但本研究中氮添加下 DOM 的芳香化指数（SUV_{254}）和腐殖化指数（HIX）、难分解化合物（木

质素及缩合芳烃等）、平均分子量和芳香性（双键当量和碳原子数之比、修正的芳香性指数和芳度当量）均无显著变化（图 1，表 2），这与本研究的假设不符。通过皮尔森相关分析发现，双键当量与木质素及缩合芳烃等大分子化合物无显著的相关性，但与碳水化合物和蛋白质/氨基糖等小分子化合物呈显著的负相关（图 3）。这说明 DOM 的分子稳定性可能与碳水化合物和蛋白质/氨基糖等小分子有关。碳水化合物和蛋白质/氨基糖等小分子化合物是 DOM 中生物利用度最高的不稳定组分。先前研究曾报道，易分解有机质的去除有助于提升 DOM 的稳定性[30，36]。Lee 等[36]通过生物培养实验具体观察了 DOM 腐殖化指数的动态，发现其动态变化最初归因于微生物优先利用非芳香或少芳香分子，而非腐殖化组分。Xu 和 Guo[37]在室内实验中也发现微生物优先利用碳水化合物等不稳定组分。除碳水化合物分子外，本研究还发现低氮添加下蛋白质/氨基糖类分子降低了 36.44%（图 1）。因此，与木质素和缩合芳香族成分相比，可溶性碳水化合物、蛋白质/氨基糖等小分子有机质的减少，可能是促进 DOM 分子稳定性的主要原因。尽管多数研究呼吁从跟踪木质素等大分子的动态来了解环境变化对土壤碳库稳定性的影响，但本研究发现，碳水化合物等小分子对 DOM 分子稳定性同样重要，尤其是在短期环境变化下，因为其对外界因素反应十分灵敏。碳水化合物等物质是土壤有机质和土壤微生物变化的重要指标，例如氨基糖、可溶性碳和淀粉等。因此，在未来研究中环境变化下土壤易分解成分（碳水化合物和蛋白质）尚需持续关注。

4　结　论

本研究中，相比于 DOM 数量和光学特性，氮添加下 DOM 在分子水平的变化更加显著。与以往研究不同，本研究中发现短期（三年）氮添加下 DOM 中木质素、缩合芳烃化合物等难分解的分子并未显著变化，而碳水化合物分子显著降低，尤其在低氮处理下。这可能与低氮（40 $kg \cdot hm^{-2} \cdot a^{-1}$）添加促进微生物利用碳水化合物和/或酶促反应下葡萄糖等碳水化合物的降解有关。相比于高氮（80 $kg \cdot hm^{-2} \cdot a^{-1}$）处理，低氮添加下 DOM 分子稳定性增强，这将对土壤碳库稳定性产生积极的潜在影响。此外，DOM 分子稳定性提升主要取决于碳水化合物等易分解物的减少，而非芳香性大分子的积累。综合而言，本研究从分子层面揭示了黄山松土壤 DOM 对氮沉降的响应，为理解氮沉降下土壤 DOM 的分子化学和行为提供了有利的策略。

参考文献（References）

[1] Malhi Y. The carbon balance of tropical forest regions, 1990–2005[J]. Current Opinion in Environmental Sustainability, 2010, 2(4): 237—244.

[2] Gurmesa G A, Wang A, Li S L, et al. Retention of deposited ammonium and nitrate and its impact on the global forest carbon sink[J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 880.

[3] Wen Z, Wang R Y, Li Q, et al. Spatiotemporal variations of nitrogen and phosphorus deposition across China[J]. Science of the Total Environment, 2022, 830: 154740.

[4] Wu Z D, Ma S F, Lu J Y, et al. Responses of soil organic carbon components to long-term nitrogen addition in the *Stipa baicalensis* meadow steppe[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023, 60(5): 1520—1530. [武振丹，马尚飞，卢俊艳，等. 贝加尔针茅草甸草原土壤有机碳组分对长期氮素添加的响应[J]. 土壤学报，2023，60（5）：1520—1530.]

[5] Kalbitz K, Solinger S, Park J H, et al. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: A review[J]. Soil Science, 2000, 165(4): 277—304.

[6] Jiao H Z, Li H, Chen H, et al. Effects of soil warming and nitrogen addition on soil dissolved organic matter of *Cunninghamia lanceolata* plantations in subtropical China[J]. Acta Pedologica Sinica, 2020, 57(5): 1249—1258. [焦宏哲，李欢，陈惠，等. 增温、施氮对中亚热带杉木林土壤可溶性有机质的影响 [J]. 土壤学报，2020，57（5）：1249—1258.]

[7] Yuan X C, Chen Y M, Yuan S, et al. Effects of nitrogen deposition on the concentration and spectral characteristics of dissolved organic matter in soil solution in a young *Cunninghamia lanceolata* plantation[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(1): 1—11. [元晓春，陈岳民，袁硕，等. 氮沉降对杉木人工幼林土壤溶液可溶性有机物质浓度及光谱学特征的影响[J]. 应用生态学报，2017，28（1）：1—11.]

[8] Wang D, Zhao P, Xiang R, et al. Nitrogen fertilization overweighs intercropping in promotion of dissolved organic carbon concentration and complexity in potato-cropped soil[J]. Plant and Soil, 2021, 462(1/2): 273—284.

[9] Niu G X, Yin G G, Mo X H, et al. Do long-term high nitrogen inputs change the composition of soil dissolved organic matter in a primary tropical forest? [J] Environmental Research Letters, 2022, 17(9): 095015.

[10] Chen L M，Wu Y Y，Li C S，et al. Molecular characteristics of soil dissolved organic matter in response to decomposition of organic fertilizers from different sources[J]. Acta Pedologica Sinica，2023，60（4）：1101—1112. [陈丽铭，吴月颖，李财生，等. 土壤溶解性有机质分子特征对不同来源有机肥分解的响应[J]. 土壤学报，2023，60（4）：1101—1112.]

[11] Shen Y，Benner R. Reply to comment：Controls on turnover of marine dissolved organic matter-testing the null hypothesis of purely concentration-driven uptake[J]. Limnology and Oceanography，2022，67（3）：680—683.

[12] Hu H Y，Umbreen S，Zhang Y L，et al. Significant association between soil dissolved organic matter and soil microbial communities following vegetation restoration in the Loess Plateau[J]. Ecological Engineering，2021，169：106305.

[13] Zhang X X，Han J R，Zhang X R，et al. Application of Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry to characterize natural organic matter[J]. Chemosphere，2020，260：127458.

[14] Wang J J，Bowden R D，Lajtha K，et al. Long-term nitrogen addition suppresses microbial degradation，enhances soil carbon storage，and alters the molecular composition of soil organic matter[J]. Biogeochemistry，2019，142（2）：299—313.

[15] Bowden R D，Wurzbacher S J，Washko S E，et al. Long-term nitrogen addition decreases organic matter decomposition and increases forest soil carbon[J]. Soil Science Society of America Journal，2019，83（S1）：S82—S95.

[16] Yuan X C，Cui J Y，Wu L Z，et al. Relationship between soil bacterial communities and dissolved organic matter in a subtropical *Pinus taiwanensis* forest after short-term nitrogen addition[J]. Forest Ecology and Management，2022，512：120165.

[17] Ogawa H，Amagai Y，Koike I，et al. Production of refractory dissolved organic matter by bacteria[J]. Science，2001，292（5518）：917—920.

[18] Yuan X C，Cui J Y，Lin K M，et al. Responses of soil dissolved organic matter to nitrogen addition and its correlation with bacterial communities in *Pinus taiwanensis* forest[J]. Chinese Journal of Applied Ecology，2021，32（11）：4085—4094. [元晓春，崔琚琰，林开淼，等. 黄山松土壤可溶性有机质对氮添加的响应及其与细菌群落的关联[J]. 应用生态学报，2021，32（11）：4085—4094.]

[19] Cheng L，Lin K M，Zhou J C，et al. Effects of nitrogen deposition on the concentration and spectral characteristics of dissolved organic matter in soil in Moso bamboo plantations[J]. Chinese Journal of Applied Ecology，2019，30（5）：1754—1762. [程蕾，林开淼，周嘉聪，等. 氮沉降对毛竹林土壤可溶性有机质数量与光谱学特征的影响[J]. 应用生态学报，2019，30（5）：1754—1762.]

[20] Brookes P C，Powlson D S，Jenkinson D S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil[J]. Soil Biology & Biochemistry，1982，14（4）：319—329.

[21] Saiya-Cork K R，Sinsabaugh R L，Zak D R. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil[J]. Soil Biology & Biochemistry，2002，34（9）：1309—1315.

[22] Ma C，Fu X L，Xu Z J，et al. Design of comprehensive experimental teaching for analyzing dissolved organic matter based on ESI FT-ICR MS[J]. Experimental Technology and Management，2023，40（8）：203—208，241. [马超，付晓丽，徐占杰，等. 基于 ESI FT-ICR MS 分析可溶性有机质综合实验教学设计[J]. 实验技术与管理，2023，40（8）：203—208，241.]

[23] Ohno T，Parr T B，Gruselle M C I，et al. Molecular composition and biodegradability of soil organic matter：A case study comparing two new England forest types[J]. Environmental Science & Technology，2014，48（13）：7229—7236.

[24] Li Y，Xu C，Zhang W L，et al. Response of bacterial community in composition and function to the various DOM at river confluences in the urban area[J]. Water Research，2020，169：115293.

[25] Koch B P，Dittmar T. From mass to structure：An aromaticity index for high-resolution mass data of natural organic matter[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry，2006，20（5）：926—932.

[26] Yassine M M，Harir M，Dabek-Zlotorzynska E，et al. Structural characterization of organic aerosol using Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry：Aromaticity equivalent approach[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry，2014，28（22）：2445—2454.

[27] LaRowe D E，van Cappellen P. Degradation of natural organic matter：A thermodynamic analysis[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta，2011，75（8）：2030—2042.

[28] Mann B F，Chen H M，Herndon E M，et al. Indexing permafrost soil organic matter degradation using high-resolution mass spectrometry[J]. PLoS One，2015，10（6）：e0130557.

[29] Pan B Z，Liu S W，Wang Y Y，et al. FT-ICR-MS combined with fluorescent spectroscopy reveals the driving mechanism of the spatial variation in molecular composition of DOM in 22 plateau lakes[J]. Environmental Research，2023，232：116272.

[30] Zhang Y L，Heal K V，Shi M J，et al. Decreasing molecular diversity of soil dissolved organic matter related to microbial community along an alpine elevation gradient[J]. Science of the Total Environment，2022，

818：151823.

[31] Angst G，Mueller K E，Nierop K G J，et al. Plant- or microbial-derived? A review on the molecular composition of stabilized soil organic matter[J]. Soil Biology & Biochemistry，2021，156：108189.

[32] Wang J J，Liu Y N，Bowden R D，et al. Long-term nitrogen addition alters the composition of soil-derived dissolved organic matter[J]. ACS Earth and Space Chemistry，2020，4（2）：189—201.

[33] Xiao W，Chen X，Jing X，et al. A meta-analysis of soil extracellular enzyme activities in response to global change[J]. Soil Biology & Biochemistry，2018，123：21—32.

[34] Yuan X C，Cui J Y，Lin K M，et al. Effects of nitrogen addition on the concentration and composition of soil-based dissolved organic matter in subtropical *Pinus taiwanensis* forests[J]. Journal of Soils and Sediments，2022，22（7）：1924—1937.

[35] Wang Y H，Liu Y N，Chu R K，et al. Characterization of sequentially extracted soil organic matter by electrospray ionization and atmospheric pressure photoionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry[J]. ACS Earth and Space Chemistry，2022，6（9）：2142—2148.

[36] Lee Y K，Lee M H，Hur J. A new molecular weight（MW）descriptor of dissolved organic matter to represent the MW-dependent distribution of aromatic condensation：Insights from biodegradation and pyrene binding experiments[J]. Science of the Total Environment，2019，660：169—176.

[37] Xu H C，Guo L D. Intriguing changes in molecular size and composition of dissolved organic matter induced by microbial degradation and self-assembly[J]. Water Research，2018，135：187—194.

（**责任编辑：**陈荣府）