

陈海昊, 黎焱, 陈增明, 丁维新. 长期耕种下黑土脂肪酸含量与组成变化及其主控因素[J]. 土壤学报, 2026,
CHEN Haihao, LI Ye, CHEN Zengming, DING Weixin. Changes in Aliphatic Acids and Their Driving Factors in the Black Soils
Under Continuous Cultivation in Northeast China[J]. Acta Pedologica Sinica, 2026,

长期耕种下黑土脂肪酸含量与组成变化及其主控因素 *

陈海昊^{1,2,3}, 黎焱¹, 陈增明^{1,3†}, 丁维新^{1,3}

(1. 土壤与农业可持续发展全国重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 211135; 2. 中国科学院大学, 北京 101408;
3. 中国科学院大学南京学院, 南京 211135)

摘要: 脂肪酸被视为土壤有机质惰性最强的稳定组分, 其含量与组成可在分子尺度为评估土壤有机质的分解程度和累积特征提供依据。探明土壤脂肪酸中相对活跃的游离态组分的演变规律与驱动因素, 有助于深化对长期耕作下黑土有机质退化的理论认识。以三江平原百年耕种序列(5~100年)旱作黑土为研究对象, 探究土壤有机质衰减过程中游离态脂肪酸含量和组成的变化规律, 结合随机森林分析等揭示其关键影响因素与控制机制。结果表明, 长期耕种显著降低土壤游离态脂肪酸含量, 与开垦5年相比, 开垦100年下降了58.4%, 高于土壤有机碳(SOC)的降幅47.6%, 表明游离态脂肪酸对耕种扰动具有更高的敏感性。随着耕种年限增加, 短链脂肪酸占SOC的相对含量下降43.9%, 而长链脂肪酸占比则升高30.2%, 使得平均碳链长度显著增加。耕种100年后, 黑土中非饱和脂肪酸显著减少80.2%, 碳优势指数显著下降17.7%, 反映出植物源脂肪酸遭受了更为剧烈的分解损失。上述脂肪酸分子组成的变化共同证实, 在秸秆离田的传统管理模式下, 长期耕种黑土有机质分解程度不断加剧。相关性分析和随机森林模型表明, 短链脂肪酸主要由活性碳供给不足与微生物分解增强的共同驱动而快速损失, 而长链脂肪酸则因其较高的化学惰性及黏粒保护作用而被选择性保存。因此, 建议通过秸秆还田等外源有机物输入措施补充活性有机碳, 有助于缓解微生物对内源稳定碳库分解造成的有机质损失。

关键词: 游离态脂肪酸; 黑土; 微生物; 土壤有机碳; 耕种年限

中图分类号: S154.2

文献标志码: A

Changes in Aliphatic Acids and Their Driving Factors in the Black Soils Under Continuous Cultivation in Northeast China

CHEN Haihao^{1,2,3}, LI Ye¹, CHEN Zengming^{1,3†}, DING Weixin^{1,3}

* 中国科学院战略性先导科技专项(XDA28010302)、国家自然科学基金项目(42522710)、国家资助博士后研究人员计划项目(GZB20250571)资助 Supported by the Strategic Priority Research Program of Chinese Academy of Sciences (No. XDA28010302), the National Natural Science Foundation of China (No. 42522710), and the National Postdoctoral Researcher Funding Program (No. GZB20250571)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zmchen@issas.ac.cn

作者简介: 陈海昊(2003—), 男, 江苏连云港人, 硕士研究生, 研究方向为土壤有机质转化过程与稳定机制。E-mail: chenhaihao@issas.ac.cn

收稿日期: 2026-01-11; 收到修改稿日期: 2026-04-10; 网络首发日期(www.cnki.net): 2026-04-10

(1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Nanjing, Nanjing 211135, China)

Abstract: 【Objective】 Aliphatic acids are widely regarded as one of the most recalcitrant and stable components of soil organic matter, and their abundance and molecular composition provide molecular-level indicators for assessing the extent of soil organic matter decomposition and accumulation. Therefore, elucidating the dynamics and controlling factors of the relatively labile free aliphatic acid fraction in soils is therefore critical for advancing mechanistic understanding of soil organic matter degradation under long-term agricultural cultivation, particularly in the black soils. Thus, this study aimed to characterize changes in the content and composition of free aliphatic acids along a century-long cultivation chronosequence and to identify the key environmental drivers regulating their dynamics. 【Method】 Soil samples were collected from a 5–100 year dryland cultivation chronosequence in the Sanjiang Plain, Northeast China. Changes in the concentrations and molecular characteristics of free aliphatic acids during soil organic matter depletion were quantified. Random forest models were applied to assess the relative importance of soil physicochemical properties in regulating short-chain and long-chain aliphatic acids. 【Result】 The results show that long-term cultivation markedly reduced soil free aliphatic acid contents, with a 58.4% decline from 5 to 100 years after reclamation, substantially exceeding the decrease in SOC (47.6%). This indicates that free aliphatic acids are more sensitive to cultivation disturbance than bulk soil organic matter. Prolonged cultivation induced pronounced shifts in molecular composition, characterized by a 43.9% reduction in the relative contribution of short-chain aliphatic acids to SOC and a concurrent 30.2% increase in long-chain aliphatic acids, resulting in a significant increase in average chain length (ACL). After 100 years of cultivation, unsaturated aliphatic acids in black soils declined by 80.2%, accompanied by a significant decrease of 17.7% in the carbon preference index (CPI), indicating intensified decomposition losses of plant-derived aliphatic acids. Collectively, these molecular-level changes demonstrate a progressive enhancement of soil organic matter decomposition under conventional straw removal management in the Mollisols. Correlation analysis and random forest modeling further demonstrated that the rapid depletion of short-chain aliphatic acids was mainly driven by reduced availability of labile carbon substrates and enhanced microbial decomposition, whereas long-chain aliphatic acids were preferentially preserved due to their higher chemical recalcitrance and association with clay minerals. 【Conclusion】 Enhancing external organic matter inputs, such as through straw return, may help replenish labile carbon pools and mitigate the progressive loss of stable soil organic matter fractions. Overall, this study provides new molecular-level insights into cultivation-induced soil organic matter degradation and offers a scientific basis for the sustainable management and conservation of black soils.

Key words: Free aliphatic acids; Black soil; Microorganism; Soil organic carbon; Cultivation year

东北黑土区是我国重要的粮食生产基地, 贡献了全国粮食总产量的 1/4^[1]。然而, 自开垦以来持续的耕作利用加速了土壤有机质的消耗, 使黑土逐渐出现耕层变薄、结构退化和肥力下降等系列问题, 成为我国六大农业区中唯一表现为土壤有机质储量下降的区域^[2–3]。黑土有机质的衰减机制仍待深入探究, 仅依赖土壤有机碳 (SOC) 含量等传统指标已难以全面刻画黑土退化的本质过程, 有必要从分子层面揭示长期耕种下土壤有机质组分结构和稳定性的变化机制, 为黑土有机质衰减过程的理论认知和阻控技术研发提供更具针对性的科学依据。

脂肪酸 (Aliphatic acids) 是土壤有机质中一类脂肪族化合物的总称, 主要以酯态 (细胞膜磷脂)、聚酯态 (植物角质与栓质) 和游离/蜡质结合态三种形式存在^[4–5]。由于其结构稳定、不易被降解, 脂肪酸被视为土壤惰性碳库的重要组成部分, 在土壤有机质累积稳定

与长期固持中发挥重要作用^[6]。脂肪酸的碳链分布特征可衍生出一系列分子指标^[7-8]，用于推断土壤有机质的来源及其分解程度，主要包括不饱和脂肪酸总量（ $C_{16:1+2}+C_{18:1+3}$ ）、平均碳链长度（Average chain length, ACL）、长链脂肪酸与短链脂肪酸的比值、碳优势指数（Carbon preference index, CPI）等。不饱和脂肪酸主要来源于新鲜植物和微生物，可降解性高，因此其相对含量通常随分解程度增强而降低^[9]。ACL 用于表征脂肪酸整体链长分布特征；一般认为，随着土壤有机质分解加剧，易降解的短链脂肪酸减少，而相对稳定的长链脂肪酸富集，使得 ACL 指数及长链脂肪酸/短链脂肪酸的比值升高^[7]。CPI 则反映脂肪酸的奇偶优势特征（偶数比奇数碳链），由于高等植物倾向于合成偶数碳链脂肪酸，植物来源脂肪酸通常具有较高的 CPI；然而随着土壤有机质分解与矿物结合，偶数优势特征逐渐减弱，导致 CPI 降低^[10]。这些分子组成指标的变化模式，本质上反映了脂肪酸在土壤中被微生物选择性降解以及矿物选择性吸附的过程，与其在土壤碳库中独特的稳定性密切相关。

相较于碳水化合物、氨基酸等易被快速矿化的活性组分，脂肪酸由于其疏水性烷基结构以及与矿物表面的吸附作用，通常能够在土壤中留存更长的时间^[10-11]。然而，与黑炭等物质组成的典型惰性碳库相比，脂肪酸仍可通过微生物 β -氧化等代谢途径被分解，其降解速率受环境条件（如温度、pH）与人为管理（如翻耕、施肥）的显著影响^[12-13]。已有研究表明，保护性耕作通过减少扰动和增加地表残留，可显著促进土壤表层脂肪酸积累^[14]；而在低温或酸性环境中，脂肪酸的保存时间亦显著延长^[8]。化学结构上的惰性特征使得脂肪酸既能在适宜条件下更易累积而长期固存，又可在耕作等影响下发生再活化、含量衰减和分子组成重构，尤其相对活跃的游离态脂肪酸^[15-16]。因此，游离态脂肪酸可有效表征介于活性库与稳定库的土壤有机质组分，其含量及组成变化能够揭示常规指标难以捕捉的土壤稳定碳库的渐进分解过程。尤其是黑土经历了短期快速开垦、土壤有机质持续下降过程中，游离态脂肪酸含量及分子结构可能发生系统性重构，可为黑土有机质衰减机制提供直接的分子尺度证据。然而，黑土中脂肪酸含量和组成目前少见报道，限制了对土壤有机质尤其是稳定碳库损失机制的深入认识，也制约了针对性保护与调控策略的制定。

本研究采用空间代时间方法，以东北三江平原典型旱作黑土区不同耕种年限农田为对象，分析土壤理化性质、有机质含量与活性，以及游离态脂肪酸含量与链长组成特征的变化规律，结合随机森林模型解析其主要影响因子。旨在揭示长期耕种下黑土游离态脂肪酸的含量下降速率与分子结构演变特征，并且识别土壤游离态脂肪酸量质变化的关键控制因子，进而从分子尺度提供深入认知黑土有机质损失机制的证据，为其黑土肥力衰减阻控与高效培育提供针对性的科学参考。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区在黑龙江省宝清县七星河乡（46°20'N，132°12'E），位于三江平原腹地，属寒温带大陆性季风气候，雨热同期，年均温为 4.6 °C，年均降水量 508 mm，降水集中于 6–8 月。土壤由第四纪黄土状母质发育而成，在美国 USDA 土壤分类系统中属 Mollisols（湿润软土纲），土壤发生分类为黑土。区域内农田为雨养旱地，主要作物为玉米（*Zea mays* L.），垄作种植（行距 65 cm、株距 20 cm），在 5 月初播种、10 月下旬收获；收获后作物秸秆全部移出农田，然后旋耕起垄。肥料以复合肥为主，年均施用量约为 N 200 kg·hm⁻²、P₂O₅ 75 kg·hm⁻²、K₂O 60 kg·hm⁻²。

在开垦利用前，该区域为天然湿地，优势植被为芦苇（*Phragmites australis*）和小叶章（*Deyeuxia angustifolia*）等 C₃ 植物。农业开发始于约 100 年前，并在 20 世纪 50 年代与 90

年代形成两次开垦高峰。由于开垦年限显著不同,而气候条件、土壤母质和耕作管理措施高度一致,该区自然形成了耕种时间为0~100年的空间序列,为揭示开垦历史特别是长期高强度利用下,黑土有机质退化过程提供了理想的试验样带^[17]。

1.2 土壤样品的采集与分析

研究选择耕种年限为5、20、30、65、85和100年农田,建立土壤有机质退化梯度黑土农田序列,每个耕种年限选取2块农田,因而共有12个农田作为研究样地。样地分布在方圆10 km内的同一景观单元,海拔范围为40~60 m,地形平坦,地貌特征及耕作管理措施一致。为减少施肥带来的影响,于2019年5月玉米播种施肥前采集土壤样品。在每个农田样地建立4个50 m×10 m的采样区块,每个区块随机选择15个点位,用直径为5 cm的土钻采集表层(0~20 cm)土壤样品,混匀为一个复合样品。样品冷藏运回实验室,去除植物碎屑后过2 mm筛后分为三部分,一部分风干用于常规理化性质测定,一部分保存于4℃用于土壤溶解性有机碳(DOC)和微生物生物量碳(MBC)测定。此外,在田间用环刀采集表层土样测定土壤容重(BD)。

土壤pH通过制备1:5土水比溶液测定。土壤有机碳(SOC)和全氮(TN)含量用碳氮分析仪(Vario Max CN, Elementar)测定。碳氮比(C/N)用SOC与TN含量比值计算。用去离子水浸提新鲜土壤、振荡后过0.45 μm滤膜,用碳氮分析仪(Multi N/C 3100, Analytik Jena)测定DOC含量。用2 mol·L⁻¹氯化钾以1:10土液比震荡浸提新鲜土壤,用流动分析仪(San++ System, Skalar Analytical BV)测定铵态氮和硝态氮含量,二者相加得土壤无机氮(SIN)含量。微生物生物量采用氯仿熏蒸浸提法测定。土壤质地用激光粒度分析仪测定。

1.3 脂肪酸的提取与测定

脂肪酸在土壤中的提取遵循相似相溶原则,即按照极性递增顺序,依次使用二氯甲烷、二氯甲烷:甲醇(体积比1:1)和纯甲醇进行提取^[18-19]。具体操作如下:称取过60目筛的冻干土壤于干净玻璃瓶中,加入二氯甲烷,超声后离心,收集上清液,转移到新的玻璃烧杯中。将上述二氯甲烷依次替换为二氯甲烷/甲醇混合溶液和纯甲醇,重复上述步骤。将3次提取所得上清液合并后,加入适量的正构十九烷酸(C₁₉)作为内标,用旋转蒸发仪将溶液完全蒸发。随后,用正己烷-甲醇混合溶液冲洗容器壁上残留的提取物,并将洗脱液转移至2 mL色谱瓶中,在-20℃条件下保存备用。在定量分析前,样品经氮气吹干后,与三甲基硅基三氟乙酰胺(BSTFA)和吡啶混合,在70℃下进行衍生,冷却后分析测定。

脂肪酸的定量分析采用气相色谱-质谱联用仪(Trace 1310, Thermo Fisher Scientific),使用DB-5MS色谱柱(柱长30 m、内径0.25 mm、涂层0.25 μm)分离衍生物。色谱柱升温程序为:初始温度65℃恒定2 min,然后以6℃·min⁻¹升温至300℃保持15 min。载气为高纯氦气,流速为1.2 mL·min⁻¹。质谱检测器采用EI离子源,工作电压为70 eV,质量扫描范围50~650 Da。脂肪酸碳链长度主要根据质谱特征分子离子峰(*m/z*)及其在同系物序列中的规律性变化进行鉴定,相邻同系物*m/z*差值为28^[20]。同时结合气相色谱保留时间进行验证,随碳链延长,化合物在非极性柱上的保留时间规律性增加。最终通过与标准品及NIST质谱数据库谱图比对进行确认,仅当特征离子匹配度和保留时间一致时,方纳入后续分析。脂肪酸的定量以C₁₉作为定量内标进行定量。

非饱和脂肪酸含量为C_{16:1}、C_{18:1}与C_{18:2}的含量总和。脂肪酸的平均碳链长度ACL和碳优势指数CPI的计算公式如下:

$$ACL = \frac{\sum x_n \times n}{\sum x_n} \quad (1)$$

式中, x_n 指具有 n 个碳的脂肪酸, n 取值范围16~32。

$$CPI = \frac{1}{2} \times \left(\frac{\sum C_{20+22+24+26+28+30}}{\sum C_{19+21+23+25+27+29}} + \frac{\sum C_{20+22+24+26+28+30}}{\sum C_{21+23+25+27+29+31}} \right) \quad (2)$$

式中, $C_{20+22+24+26+28+30}$ 指 $C_{20}+C_{22}+C_{24}+C_{26}+C_{28}+C_{30}$ 。

1.4 数据分析

数据分析在 R 语言 v4.5.2 中进行。运用单因素方差分析 (ANOVA, $P<0.05$) 明确不同耕种年限土壤性质、脂肪酸含量与性质的差异显著性; 利用 Pearson 相关性 ($P<0.05$) 分析探究脂肪酸含量和性质与土壤理化因子的关系。为消除数值尺度差异的影响, 采用 scale 函数对不同碳链脂肪酸含量及 SOC 进行标准化处理 (均值为 0、方差为 1), 在此基础上进行不同碳链脂肪酸与 SOC 之间的线性回归分析。通过随机森林 (Random Forest 包, $P<0.05$, 设置树的数量为 1000^[21]) 评估各理化因子对于长链脂肪酸、短链脂肪酸和平均碳链长度变化的相对重要性 (均方误差, %IncMSE)。所有绘图用 “ggplot2 包” 完成。

2 结果

2.1 土壤理化性质的变化

随着耕种年限的增加, SOC 呈显著下降趋势 (表 1)。耕种 100 年农田 SOC 含量较耕种 5 年降低了 $20.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 降幅达 47.6%, 年均下降速率为 $0.21 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{a}^{-1}$ 。其中, 前 30 年下降最为迅速, 年均降速为 $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{a}^{-1}$; 而 30~100 年期间下降趋势明显减缓, 年均降速为 $0.11 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{a}^{-1}$ 。土壤 DOC 同样呈现显著下降趋势, 且下降速率快于 SOC (表 1)。耕种 100 年后, DOC 含量减少了 $37.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 降幅达 48.8%。与 DOC 不同, 土壤 MBC 含量随耕种年限显著增加 (表 1), 耕种 100 年后增加了 $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 较耕种 5 年土壤增幅达 170%。其中, 前 30 年增幅最为明显, 达 90.2%, 年均增加速率为 $3.72 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{a}^{-1}$; 30~100 年期间增幅放缓至 44.3%, 年均增加速率为 $1.24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{a}^{-1}$ 。

表 1 不同耕种年限黑土理化性质

Table 1 Physicochemical properties of Mollisols under different cultivation years

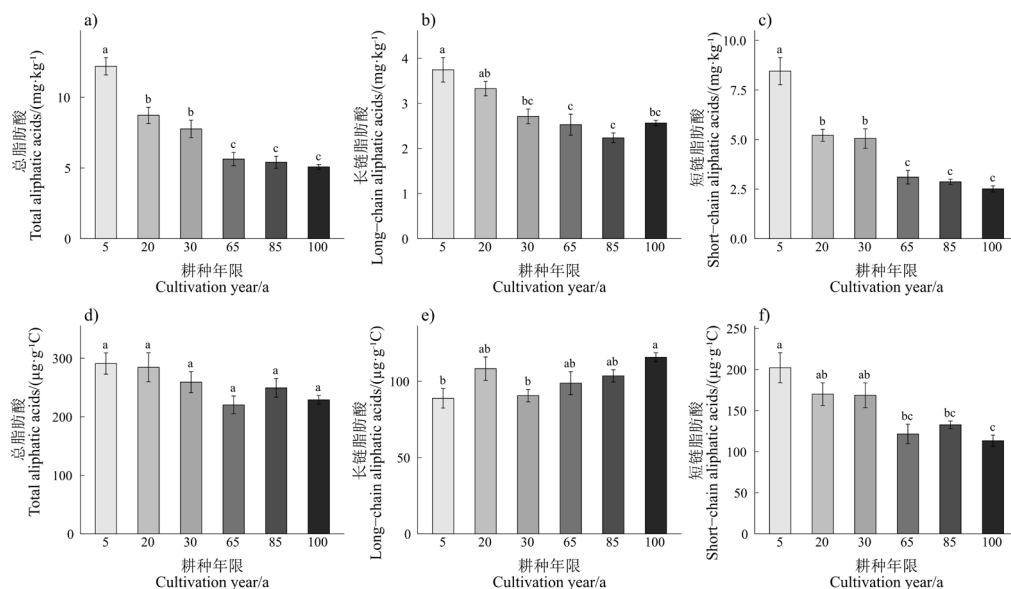
耕种年限 Cultivation year/a	pH	容重 Bulk density $/(g \cdot cm^{-3})$	黏粒 Clay/%	粉粒 Silt/%	砂粒 Sand/%
5	7.31±0.06a	1.00±0.02c	38.4±0.7c	43.2±0.9a	18.5±1.3a
20	6.17±0.06cd	1.09±0.02ab	51.0±0.9a	39.8±0.8ab	9.2±0.4c
30	6.42±0.06bc	1.04±0.02bc	44.5±1.4b	38.5±1.6b	17.0±1.1a
65	6.23±0.10bcd	1.06±0.02bc	47.4±0.4b	39.7±0.2ab	12.9±0.6bc
85	6.00±0.03d	1.16±0.02a	47.2±0.5b	38.2±0.8b	14.6±1.3ab
100	6.53±0.10b	1.03±0.01bc	46.1±0.6b	41.2±0.6ab	12.7±0.7bc
耕种年限 Cultivation year/a	微生物生物量碳 MBC $/(mg \cdot kg^{-1})$	溶解性有机碳 DOC $/(mg \cdot kg^{-1})$	土壤有机碳 SOC $/(g \cdot kg^{-1})$	C/N	土壤无机氮 SIN $/(mg \cdot kg^{-1})$
5	103±14c	76.8±2.4a	42.3±1.6a	12.8±0.1bc	7.60±1.2c
20	158±5bc	60.8±1.9b	31.1±1.0b	12.7±0.2c	41.8±2.7a
30	196±5b	56.6±2.1b	29.8±0.5b	14.8±0.2a	31.5±1.4b
65	257±18a	35.5±1.9c	25.4±0.7c	14.2±0.2ab	25.8±1.9b
85	257±11a	34.4±1.6c	21.6±0.3d	14.2±0.5ab	23.9±2.5b
100	283±24a	39.3±2.6c	22.2±0.3cd	14.7±0.6a	23.0±2.3b

注: 平均值±标准误; 同一列中无相同小写字母表示各耕种年限间差异显著 ($P<0.05$)。Note: Mean±SE; Different lowercase letters in the same column indicate significant difference among cultivation years ($P<0.05$).

2.2 长期耕种下土壤脂肪酸含量与特征变化

总脂肪酸、长链脂肪酸 ($C_{20} \sim C_{32}$) 与短链脂肪酸 ($C_{16} \sim C_{18}$) 在土壤中的含量变化如图 1a~图 1c 所示, 三者变化范围分别为 $5.07 \sim 12.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $2.24 \sim 3.74 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $2.51 \sim 8.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 均随耕种年限延长呈显著下降趋势。以耕种 5 年黑土为对比, 百年耕种后, 三者含量降幅由高到低依次为短链脂肪酸 (70.3%)、总脂肪酸 (58.4%)、长链脂肪酸 (31.6%), 短链脂肪酸损失速率最大。然而, 从占 SOC 的相对含量来看, 三者则表现出不同的变化规律

(图 1d–图 1f)。脂肪酸占 SOC 的相对含量呈总体下降趋势，耕种 100 年后累计下降约 21.3%。短链脂肪酸占 SOC 的相对含量下降更为显著，累计降幅达 43.9%，其中前 65 年下降速率较快（降幅为 39.8%，平均下降速率为 $1.34 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{a}^{-1}\text{C}$ ），而后 35 年趋缓（降幅仅为 6.78%），整体呈波动式递减特征。相反，长链脂肪酸占 SOC 相对含量呈显著升高趋势（增幅为 30.2%），虽存在年度波动（如耕种 20 年时显著升高，第 30 年短暂回落），但 30~100 年持续上升（年均增加 $0.36 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{C}$ ），至耕种 100 年达最高值（ $116 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{C}$ ）。



注：图中误差线为标准误；不同小写字母表示各耕种年限间差异显著（ $P < 0.05$ ）。下同。Note: Error bars represent the standard error. Different lowercase letters indicate significant difference among cultivation ages ($P < 0.05$). The same below.

图 1 不同耕种年限黑土总脂肪酸、长链脂肪酸和短链脂肪酸的含量（a–c）以及占土壤有机碳的相对含量（d–f）

Fig. 1 Contents (a–c) and relative proportions to soil organic carbon (d–f) of total, long-chain, and short-chain aliphatic acids in the Mollisols under different cultivation years

长链脂肪酸与短链脂肪酸含量的比值随耕种年限增加而显著升高（图 2a），变化范围为 0.44~1.02，耕种 100 年较耕种 5 年增幅超过 130%。ACL 亦随耕种年限增加而显著增加（图 2b），在耕种 100 年后较第 5 年增加约 8.77%。与此相反，CPI 呈逐渐下降趋势（图 2c），至耕种 100 年时降幅达 17.7%。非饱和脂肪酸含量随着耕种年限增加也呈显著下降趋势，耕种 100 年较耕种 5 年下降了 80.2%（图 2d）。

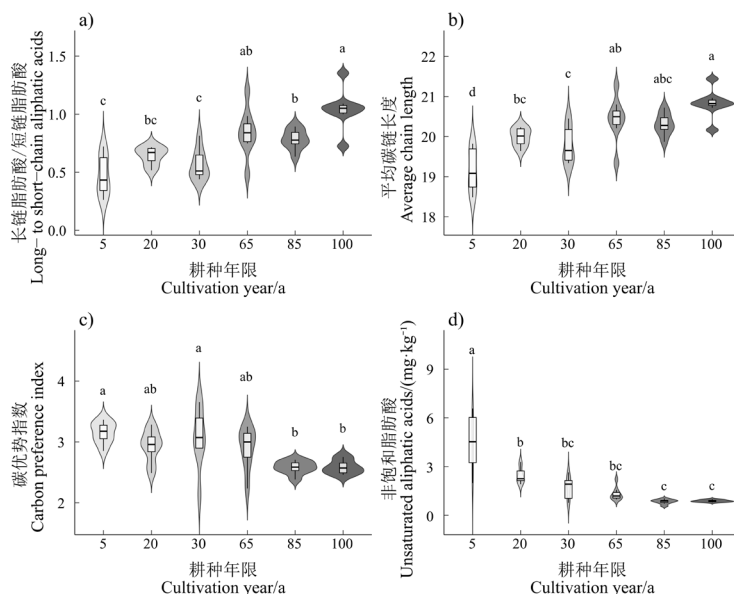


图 2 不同耕种年限黑土长链脂肪酸/短链脂肪酸的比值 (a)、平均碳链长度 (b)、碳优势指数 (c) 和非饱和脂肪酸含量 (d)

Fig. 2 Ratios of long- to short-chain aliphatic acids (a), average chain length (b), carbon preference index (c), and unsaturated aliphatic acid contents (d) in the Mollisols under different cultivation years

总脂肪酸相对含量和 CPI 随 SOC 含量变化表现一致 (图 3a、图 3d)，二者均随 SOC 含量降低而显著下降。相比之下，长链脂肪酸与短链脂肪酸相对含量比值和 ACL 呈现相反的变化趋势 (图 3b、图 3c)，二者均表现为在 SOC 下降过程中持续升高。

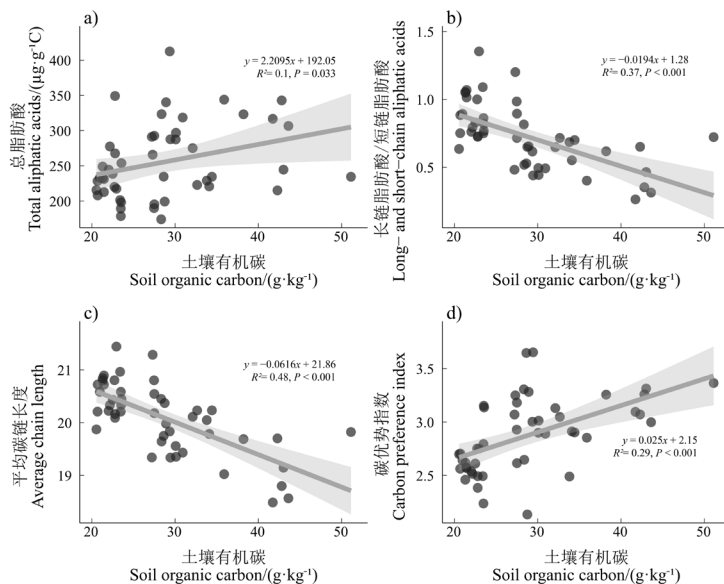


图 3 黑土总脂肪酸相对含量 (a)、长链脂肪酸/短链脂肪酸比值 (b)、平均碳链长度 (c) 与碳优势指数 (d) 与 SOC 含量的关系

Fig. 3 Relationships between SOC content and total aliphatic acids content (a), the ratio of long- to short-chain aliphatic acids (b), average chain length (c), carbon preference index (d) in the Mollisols

为进一步量化不同碳链长度的脂肪酸对长期耕种扰动的响应差异，本研究在对各碳链长度脂肪酸含量及 SOC 含量进行标准化处理基础上，建立二者之间的线性回归关系，并以回归斜率作为衡量脂肪酸对耕种扰动响应程度的定量指标 (图 4a)。结果表明，回归斜率

与脂肪酸碳链长度呈显著负相关关系（图 4b），即随着碳链长度的增加，脂肪酸含量随 SOC 含量下降而减小的幅度逐渐减弱，表明长链脂肪酸对长期耕种扰动的敏感性较低，而短链脂肪酸表现出更高的响应程度。

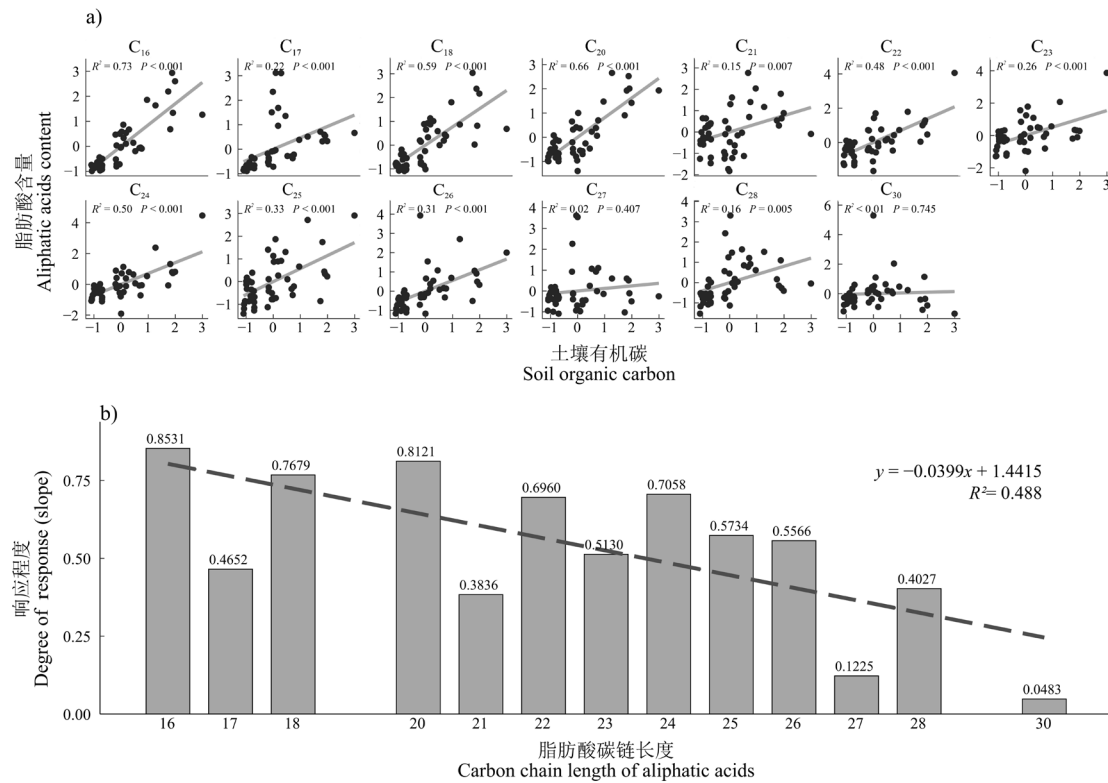


图 4 黑土不同碳链长度的脂肪酸与 SOC 含量的关系 (a) 以及对长期耕种的响应程度 (b)

Fig. 4 Relationships between aliphatic acids with different carbon chain lengths and SOC content (a), and their responses to long-term cultivation (b) in the Mollisols

2.3 长期耕种下脂肪酸变化的驱动因素

相关分析表明（图 5），脂肪酸的含量及分子特征与 SOC、DOC 和 MBC 存在显著相关关系。长链脂肪酸含量、短链脂肪酸含量及其与 SOC 的比值均与 SOC 和 DOC 呈显著正相关，而与 MBC 呈显著负相关。相比之下，长链脂肪酸占 SOC 的比值则可能受到黏粒含量的影响，表现出与 SOC 相反的相关性趋势。

为进一步揭示耕种年限影响脂肪酸组成变化的潜在机制，采用随机森林（Random Forest）模型，评估不同土壤因子对长链脂肪酸与短链脂肪酸含量的相对重要性（图 6）。综合随机森林结果与相关性分析可知（图 6），长链脂肪酸占 SOC 的比值主要受 SOC 和黏粒含量的共同调控，其中 SOC 表现为负向关系，而黏粒含量则呈正向关系。短链脂肪酸含量及其与 SOC 比值的变异主要由 SOC、DOC 和 MBC 解释，前两者均表现为正向驱动，而 MBC 则表现为负向驱动。而长链脂肪酸含量的主要驱动因子与短链脂肪酸相似，其变化的主要趋势表现为 SOC、DOC 的负向驱动以及 MBC 的正向驱动。

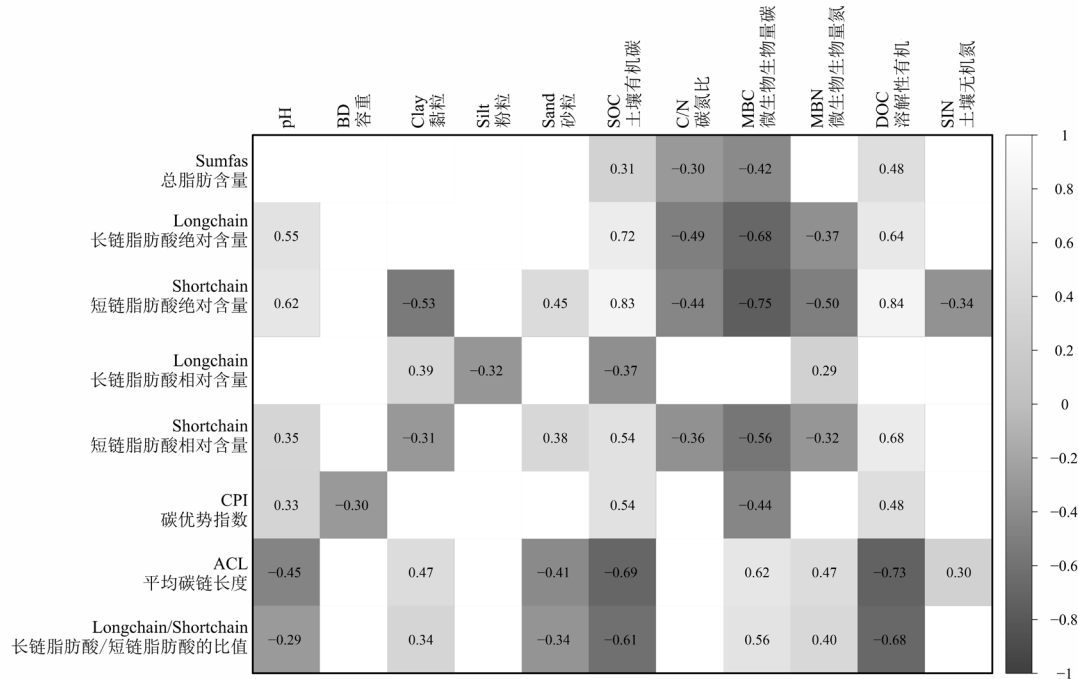


图 5 黑土脂肪酸含量和分子特征与土壤环境因子的相关关系

Fig. 5 Relationships between aliphatic acid content and molecular characteristics and soil environmental factors in the Mollisols

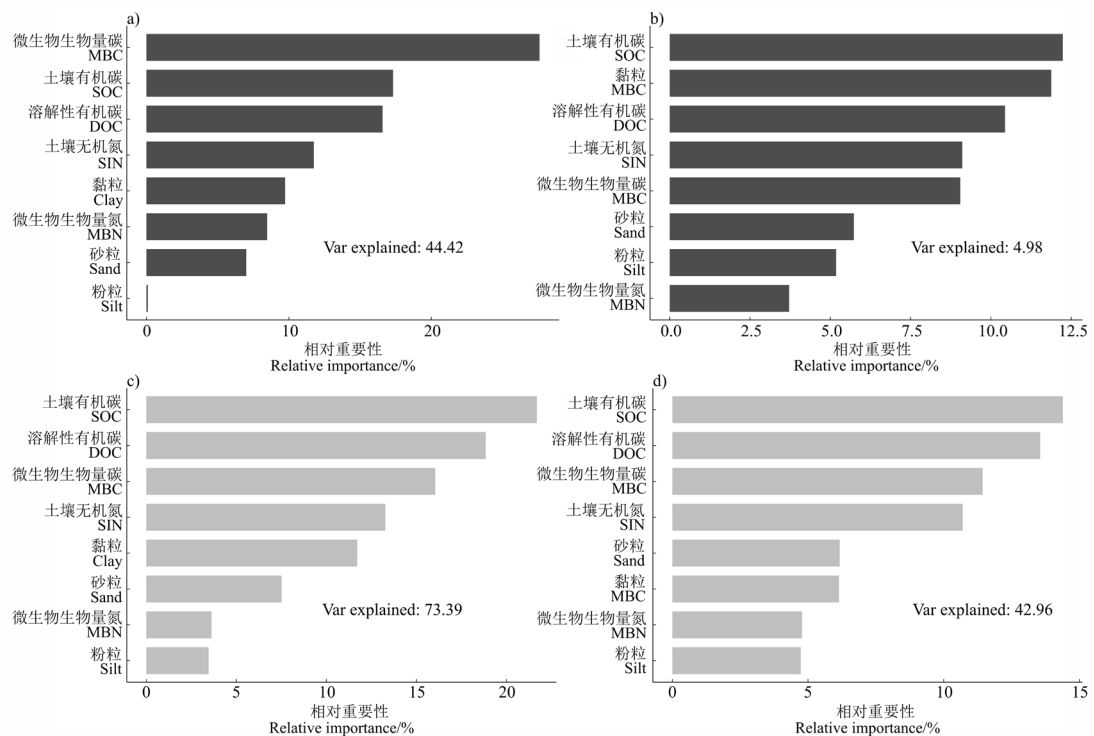


图 6 不同因子对黑土长链脂肪酸和短链脂肪酸的含量 (a, c) 以及占 SOC 比例 (b, d) 的相对重要性

Fig. 6 Relative importance of different factors on the contents of long-chain and short-chain aliphatic acids (a, c) and their ratios to SOC (b, d) in the Mollisols

3 讨论

3.1 长期耕种下黑土游离态脂肪酸的变化规律

本研究证实,在耕种年限达到 100 年后,伴随着 SOC 含量的持续下降,黑土游离态脂肪酸含量显著下降 58.4% (图 1a),降幅明显高于土壤有机质 (47.6%)。通常认为具有烷基碳链的脂肪酸是稳定的难降解组分,常被用于表示土壤有机质的累积与稳定性,其周转速率与木质素等物质相当甚至更长^[22–25]。对青藏高原草地土壤有机质不同组分转化速率的分析发现,长链脂肪酸的周转时间明显高于木质素^[26]。还有研究发现,烷基碳含量比例高的有机物显示出较低的分解速率,难以被微生物快速降解^[27]。作为脂肪酸中相对活跃的组分,游离态脂肪酸具有更高的转化速率,因而可以提供土壤有机质稳定库容周转损失的有力证据^[28]。本研究发现,在长期耕种导致黑土肥力退化过程中,游离态脂肪酸具有显著高于 SOC 的下降幅度,显示其在耕作扰动条件下难以保持稳定。对法国长期矿物施肥的农田研究表明,连续耕种导致土壤游离态脂质含量下降约 42%,表现出较土壤有机质更快的衰减趋势^[29],与本研究结果一致。在加拿大安大略省淋溶土上的研究也发现,耕种处理下土壤游离态脂质含量较免耕处理减少了 45%^[20]。因此,在农业利用下,土壤游离脂肪酸对耕作扰动具有更高的敏感性,其变化幅度超过土壤有机质含量,从而更能清晰地反映农田土壤有机质的损失过程。

研究进一步发现,长期耕种下黑土游离态脂肪酸组成发生显著的链长分化,短链脂肪酸占土壤有机质的相对含量持续下降,长链脂肪酸则显著升高 (图 1e-图 1f);耕种 100 年后,两者比值显著增加了 1.3 倍 (图 2a),平均碳链长度 (ACL) 随之持续增加 (图 2b)。在缺乏团聚体和矿物保护的游离态条件下,脂肪酸的转化主要取决于自身的分子结构特征,特别是碳链长度,直接决定了其生物有效性及微生物的利用偏好^[30–32]。短链脂肪酸主要源于微生物活动,包括对植物凋落物蜡质的水解以及自身合成与残体释放,可能链接更多的羧基基团,具有较好的水溶性与移动性,是微生物偏好的可以低能耗利用的碳源^[33–36],因而具有更高的分解速率和更短的周转时间。而长链脂肪酸主要源于植物角质层和表皮蜡,疏水烃链较长且分子间作用力强,具有较强的疏水性和化学惰性^[37–40],微生物可利用性低,因而可能在土壤有机质周转过程中得以选择性保存。同样地,在德国小麦连作农田中也发现与本研究的相同规律,经过四年耕种,土壤中短链脂肪酸减少幅度大于长链脂肪酸,使 ACL 增加^[7]。

此外,植被变化改变外源有机物输入也是黑土脂肪酸链长分布变化的一个重要影响因素。在黑土开垦前,湿地以 C₃ 植物 (如小叶章、芦苇) 为主,开垦后种植 C₄ 作物玉米。研究表明^[41–42],C₄ 植物蜡质与角质层中长链脂肪酸的比例和绝对链长均显著高于 C₃ 植物。本研究结果显示,较开垦初期 (耕种 5 年),耕种 100 年长链脂肪酸占总脂肪酸比例由 30.5% 增加至 50.5% (图 1),从湿地短链脂肪酸占主导逐渐变为农田长链脂肪酸占主导地位。这一植被转换提升了长链脂肪酸的外源输入通量,部分贡献了 ACL 的延长。然而,本研究中长链脂肪酸含量并未出现显著累积 (图 1b),其与 SOC 的比值升高主要源于短链脂肪酸的快速损失,表明长期耕种条件下脂肪酸链长分化仍以选择性保存过程为主,而非外源输入增加导致的。

3.2 长期耕种下黑土游离态脂肪酸链长分布变化的驱动因素

通过随机森林模型揭示短链与长链脂肪酸的差异化影响因素。结果表面,不同链长脂肪酸的分解和保存并非统一过程,而是存在明显的生物、物理分异机制。短链脂肪酸主要受微生物代谢活动的驱动而快速衰减;长链脂肪酸则主要受黏土矿物吸附保护的调控,分解速率较慢,表现出更高的稳定性。

短链脂肪酸的变化主要由 DOC 正向效应与 MBC 负向效应所解释, 这表明其含量下降主要受控于活性底物供应和微生物作用^[43]。长期耕作下, 新鲜植物残体输入大幅减少 (非饱和脂肪酸含量锐减 80.2%, 图 2d), 造成土壤活性碳库 (如 DOC) 持续亏损。然而, 湿地开垦为农田后改善了土壤通气条件^[44-45], 使土壤微生物量得以快速增长并维持在较高水平 (表 1), 从而加剧了土壤碳源快速减少与微生物代谢维持需求之间的供需矛盾。伴随土壤有机质衰减, 碳限制条件下, 使微生物群落通过分泌胞外酶^[46-47], 分解原本较为稳定的脂肪酸组分以维持代谢需求。由于短链脂肪酸易利用, 从而在耕作过程中发生优先损失, 表现出对长期耕种高度敏感的特征 (图 4b)。因此, 短链脂肪酸的快速损失表明了微生物在“碳饥饿”胁迫下, 为维持生存而对土壤内源碳库进行的加速矿化分解过程。

与短链脂肪酸不同, 长链脂肪酸主要受土壤黏粒的正向调控。由于长链脂肪酸具有较强的疏水性, 且能够通过范德华力或配位交换吸附于黏粒表面^[48-50], 在一定程度上减少了微生物接触和水解^[38]。然而, 本研究发现黑土中长链脂肪酸含量依然呈下降趋势 (图 1b); 表明在长期耕种且缺乏有效保护措施下, 土壤中长链脂肪酸仍被微生物分解利用 (图 6a)。碳优势指数 (CPI) 显著降低, 反映出植物源偶数碳长链脂肪酸受到日益增强的微生物再加工与改造作用^[51]。但是, 在土壤黏粒吸附等作用下长链脂肪酸降解速率较慢, 从而在土壤有机质库中表现出比短链脂肪酸相对富集的特征 (图 1e)。随机森林模型对长链脂肪酸占 SOC 相对含量较低的解释率 (图 6b) 就可能受这一稳定机制影响。因此, 与短链脂肪酸相比, 长链脂肪酸受到黏土矿物吸附保护以及自身的疏水性与化学惰性控制, 可在土壤有机质衰减过程中保持相对稳定。

4 结论

伴随耕种年限延长黑土游离态脂肪酸不断下降, 损失速率高于 SOC, 表明其对耕作扰动更为敏感, 可能是指示土壤有机质退化过程的重要分子标志物。并且脂肪酸分子结构发生重构, 表现为非饱和脂肪酸与碳优势指数下降, 而平均碳链长度升高, 这共同证实了在秸秆离田的传统模式下黑土有机质分解程度不断增强。其机制在于短链脂肪酸可能在活性碳不足条件下被微生物优先利用并快速损失, 而长链脂肪酸因黏粒矿物保护、疏水性及其化学惰性表现出相对稳定性。因此, 为实现黑土有机质衰减阻控, 未来应通过秸秆还田等措施补充活性有机碳, 以缓解微生物对内源稳定碳库的分解压力, 从而减缓本底有机质的分解损失并实现肥力恢复。

参考文献 (References)

- [1] Han X Z, Zou W X. Research perspectives and footprint of utilization and protection of black soil in Northeast China[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(6): 1341-1358. [韩晓增, 邹文秀. 东北黑土地保护利用研究足迹与科技研发展望[J]. *土壤学报*, 2021, 58(6): 1341-1358.]
- [2] Zhang J B, Sun B, Zhu J J, et al. Black soil protection and utilization based on harmonization of mountain-river-forest-farmland-lake-grassland-sandy land ecosystems and strategic construction of ecological barrier[J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2021, 36(10): 1155-1164. [张佳宝, 孙波, 朱教君, 等. 黑土地保护利用与山水林田湖草沙系统的协调及生态屏障建设战略[J]. *中国科学院院刊*, 2021, 36(10): 1155-1164.]
- [3] Zhao Y C, Wang M Y, Hu S J, et al. Economics- and policy-driven organic carbon input enhancement dominates soil organic carbon accumulation in Chinese croplands[J]. *PNAS*, 2018, 115(16): 4045-4050.
- [4] Feng X J, Xu Y P, Jaffé R, et al. Turnover rates of hydrolysable aliphatic lipids in Duke Forest soils determined by compound specific ¹³C isotopic analysis[J]. *Organic Geochemistry*, 2010, 41(6): 573-579.

- [5] Zocatelli R, Lavrieux M, Disnar J R, et al. Free fatty acids in Lake Aydat catchment soils (French Massif Central): Sources, distributions and potential use as sediment biomarkers[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2012, 12(5): 734-748.
- [6] Wiesenberg G L B, Schwarzbauer J, Schmidt M W I, et al. Source and turnover of organic matter in agricultural soils derived from *n*-alkane/*n*-carboxylic acid compositions and C-isotope signatures[J]. *Organic Geochemistry*, 2004, 35(11/12): 1371-1393.
- [7] Wiesenberg G L B, Dorodnikov M, Kuzyakov Y. Source determination of lipids in bulk soil and soil density fractions after four years of wheat cropping[J]. *Geoderma*, 2010, 156(3/4): 267-277.
- [8] Dai G H, Zhu S S, Liu Z G, et al. Distribution of fatty acids in the alpine grassland soils of the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Scientia Sinica: Terrae*, 2016, 46(6): 756-766. [戴国华, 朱珊珊, 刘宗广, 等. 青藏高原高寒草地土壤中脂肪酸的分布特征[J]. *中国科学: 地球科学*, 2016, 46(6): 756-766.]
- [9] Moucaw J, Fustec E, Jambu P, et al. Decomposition of lipids in soils: Free and esterified fatty acids, alcohols and ketones[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1981, 13(6): 461-468.
- [10] Kolattukudy P E. Chemistry and biochemistry of natural waxes[M]. Amsterdam: Elsevier Scientific Pub. Co., 1976.
- [11] Li J J, Huang J H, Xie S C. Plant wax and its response to environmental conditions: An overview[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(2): 565-574. [李婧婧, 黄俊华, 谢树成. 植物蜡质及其与环境的关系[J]. *生态学报*, 2011, 31(2): 565-574.]
- [12] Otto A, Simpson M J. Degradation and preservation of vascular plant-derived biomarkers in grassland and forest soils from western Canada[J]. *Biogeochemistry*, 2005, 74(3): 377-409.
- [13] Leuthold S J, Soong J L, Even R J, et al. Decadal persistence of grassland soil organic matter derived from litter and pyrogenic inputs[J]. *Nature Geoscience*, 2025, 18(3): 226-231.
- [14] Gao Q Q, Wang L H, Fang Y Y, et al. Conservation agriculture boosts topsoil organic matter by restoring free lipids and lignin phenols biomarkers in distinct fractions[J]. *Soil and Tillage Research*, 2025, 248: 106463.
- [15] Waraho T, Cardenia V, Rodriguez-Estrada M T, et al. Prooxidant mechanisms of free fatty acids in stripped soybean oil-in-water emulsions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(15): 7112-7117.
- [16] Choe E, Min D B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2006, 5(4): 169-186.
- [17] Li Y, Chen Z M, Wagg C, et al. Soil organic carbon loss decreases biodiversity but stimulates multitrophic interactions that promote belowground metabolism[J]. *Global Change Biology*, 2024, 30(1): e17101.
- [18] Otto A, Shunthirasingham C, Simpson M J. A comparison of plant and microbial biomarkers in grassland soils from the Prairie Ecozone of Canada[J]. *Organic Geochemistry*, 2005, 36(3): 425-448.
- [19] Feng X J, Simpson M J. The distribution and degradation of biomarkers in Alberta grassland soil profiles[J]. *Organic Geochemistry*, 2007, 38(9): 1558-1570.
- [20] Dinel H, Monreal C M, Schnitzer M. Extractable lipids and organic matter status in two soil catenas as influenced by tillage[J]. *Geoderma*, 1998, 86(3/4): 279-293.
- [21] Li C J, Ran M, Song L Y, et al. Temperature effects on cropland soil particulate and mineral-associated organic carbon are governed by agricultural land-use types[J]. *Geoderma*, 2024, 448: 116942.
- [22] Huang Y S, Bol R, Harkness D D, et al. Post-glacial variations in distributions, ^{13}C and ^{14}C contents of aliphatic hydrocarbons and bulk organic matter in three types of British acid upland soils[J]. *Organic Geochemistry*, 1996, 24(3): 273-287.
- [23] Bull I D, Nott C J, van Bergen P F, et al. Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted classical experiments—VI. The occurrence and source of organic acids in an experimental grassland soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32(10): 1367-1376.
- [24] Naafs D F W, van Bergen P F, Boogert S J, et al. Solvent-extractable lipids in an acid andic forest soil; variations with depth and season[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36(2): 297-308.
- [25] Dai G H, Ma T, Zhu S S, et al. Large-scale distribution of molecular components in Chinese grassland soils: The influence of input and decomposition processes[J]. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 2018, 123(1): 239-255.
- [26] Jia J, Liu Z G, Haghipour N, et al. Molecular ^{14}C evidence for contrasting turnover and temperature sensitivity of soil organic

matter components[J]. Ecology Letters, 2023, 26(5): 778-788.

[27] Chen Z M, Xu Y H, Castellano M J, et al. Soil respiration components and their temperature sensitivity under chemical fertilizer and compost application: The role of nitrogen supply and compost substrate quality[J]. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 2019, 124(3): 556-571.

[28] Waraho T, McClements D J, Decker E A. Impact of free fatty acid concentration and structure on lipid oxidation in oil-in-water emulsions[J]. Food Chemistry, 2011, 129(3): 854-859.

[29] Wiesenberg G L B. Input and turnover of plant-derived lipids in arable soils[D]. Cologne: Universität zu Köln, 2004.

[30] Churchward C P, Alany R G, Snyder L A S. Alternative antimicrobials: The properties of fatty acids and monoglycerides[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2018, 44(5): 561-570.

[31] Wolfrum S, Marcus J, Touraud D, et al. A renaissance of soaps? - How to make clear and stable solutions at neutral pH and room temperature[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2016, 236: 28-42.

[32] Arnould A, Perez A A, Gaillard C, et al. Self-assembly of myristic acid in the presence of choline hydroxide: Effect of molar ratio and temperature[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2015, 445: 285-293.

[33] Liu M Y, Lu Y B, Xue G Y, et al. Role of short-chain fatty acids in host physiology[J]. Animal Models and Experimental Medicine, 2024, 7(5): 641-652.

[34] Ofiti N O E, Zosso C U, Soong J L, et al. Warming promotes loss of subsoil carbon through accelerated degradation of plant-derived organic matter[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2021, 156: 108185.

[35] Kim C H, Park J, Kim M. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids, T cells, and inflammation[J]. Immune Network, 2014, 14(6): 277.

[36] Bridson J N. Lipid fraction in forest litter: Early stages of decomposition[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1985, 17(3): 285-290.

[37] Man M L, Gregorich E G, Beare M H, et al. Distinct dynamics of plant- and microbial-derived soil organic matter in relation to varying climate and soil properties in temperate agroecosystems[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2023, 361: 276-287.

[38] Mukherjee K, Bhattacharyya S, Peralta-Yahya P. GPCR-based chemical biosensors for medium-chain fatty acids[J]. ACS Synthetic Biology, 2015, 4(12): 1261-1269.

[39] Cao Y J, Zhang X. Production of long-chain hydroxy fatty acids by microbial conversion[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(8): 3323-3331.

[40] van Bergen P F, Nott C J, Bull I D, et al. Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted Classical Experiments—IV. Preliminary results from a study of the effect of soil pH on organic matter decay[J]. Organic Geochemistry, 1998, 29(5/6/7): 1779-1795.

[41] Zhou Y P, Stuart-Williams H, Grice K, et al. Allocate carbon for a reason: Priorities are reflected in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of plant lipids synthesized via three independent biosynthetic pathways[J]. Phytochemistry, 2015, 111: 14-20.

[42] Wiesenberg G L B, Schwark L. Carboxylic acid distribution patterns of temperate C3 and C4 crops[J]. Organic Geochemistry, 2006, 37(12): 1973-1982.

[43] Griepentrog M, Eglinton T I, Hagedorn F, et al. Interactive effects of elevated CO_2 and nitrogen deposition on fatty acid molecular and isotope composition of above- and belowground tree biomass and forest soil fractions[J]. Global Change Biology, 2015, 21(1): 473-486.

[44] Dou S, Li K, Guan S. A review on organic matter in soil aggregates[J]. Acta Pedologica Sinica, 2011, 48(2): 412-418. [窦森, 李凯, 关松. 土壤团聚体中有机质研究进展[J]. 土壤学报, 2011, 48(2): 412-418.]

[45] Keiluweit M, Wanzek T, Kleber M, et al. Anaerobic microsites have an unaccounted role in soil carbon stabilization[J]. Nature Communications, 2017, 8: 1771.

[46] Canarini A, Fuchslueger L, Schnecker J, et al. Soil fungi remain active and invest in storage compounds during drought independent of future climate conditions[J]. Nature Communications, 2024, 15: 10410.

[47] Marseille F, Disnar J R, Guillet B, et al. *n*-Alkanes and free fatty acids in humus and A1 horizons of soils under beech, spruce

- and grass in the Massif-Central (Mont-Lozère), France[J]. *European Journal of Soil Science*, 1999, 50(3): 433-441.
- [48] Kopittke P M, Dalal R C, Hoeschen C, et al. Soil organic matter is stabilized by organo-mineral associations through two key processes: The role of the carbon to nitrogen ratio[J]. *Geoderma*, 2020, 357: 113974.
- [49] Chaplot V, Cooper M. Soil aggregate stability to predict organic carbon outputs from soils[J]. *Geoderma*, 2015, 243/244: 205-213.
- [50] Clemente J S, Gregorich E G, Simpson A J, et al. Comparison of nuclear magnetic resonance methods for the analysis of organic matter composition from soil density and particle fractions[J]. *Environmental Chemistry*, 2012, 9(1): 97-107.
- [51] Kolattukudy P E, Espelie K E. Chemistry, biochemistry, and function of suberin and associated waxes//Rowe J W. *Natural products of woody plants: Chemicals extraneous to the lignocellulosic cell wall*[M]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1989: 304-367.

(责任编辑: 卢 萍)