

刘青, 刘明, 李忠佩, 仇存璞, 李鑫, 吴萌. 长期不同施肥处理下红壤水稻土有机质分子特征[J]. 土壤学报, 2026,
LIU Qing, LIU Ming, LI Zhongpei, QIU Cunpu, LI Xin, WU Meng. Molecular Characteristics of Organic Matter in Red Paddy
Soil Under Long-Term Different Fertilisation Treatments[J]. Acta Pedologica Sinica, 2026,

长期不同施肥处理下红壤水稻土有机质分子特征*

刘 青^{1,2}, 刘 明^{2,3}, 李忠佩^{2,3}, 仇存璞⁴, 李 鑫^{1†}, 吴 萌^{2,3†}

(1. 南京林业大学化学工程学院, 江苏省高效林产资源加工利用协同创新中心, 南京 210037; 2. 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; 3. 中国科学院大学, 北京 100049; 4. 镇江市高等专科学校,
江苏镇江 212028)

摘 要: 土壤有机质(SOM)的分子组成是理解农田生态系统碳循环过程的核心。然而, 在长期不同施肥模式
下, 针对农田土壤 SOM 分子组成演变规律的研究仍较缺乏。依托红壤稻田长期定位试验, 设置不施肥
(CK)、有机质循环(C)、化学氮磷钾肥(NPK)及化学氮磷钾肥+有机质循环(NPKC)四个处理,
采用傅里叶变换离子回旋共振质谱(FT-ICR MS)技术, 解析了长期不同施肥处理对 SOM 分子组成的调控
机制。结果表明: (1) 各施肥处理均显著提高了土壤有机碳(SOC)与全氮(TN)含量, 但 NPK 处理显
著提升了可溶性有机碳(DOC)和可溶性有机氮(DON)含量; (2) SOM 组分以碳氢氧(CHO)型化合
物为主(64.0%); (3) 与 CK 相比, 施肥(尤其是 NPKC)显著提高了脂质化合物的分布比例, 而 CK 富
集了更多源于植物的木质素类化合物; (4) 不同施肥处理改变了 SOM 的分子类别。具体而言, 脂质、单
宁、木质素和碳水化合物的分子组成在不同施肥处理中显著不同, 而稠环芳烃和不饱和烃化合物对施肥处
理的响应不显著。本研究阐明了长期施肥主要通过调控碳水化合物、单宁、脂质和木质素等关键组分, 重
塑了红壤水稻土 SOM 分子组成, 为施肥改变土壤有机质的分子类别提供了证据。

关键词: 傅里叶变换离子回旋共振质谱; 长期施肥; 红壤水稻土; 土壤有机质; 分子组成

中图分类号: O657.3

文献标志码: A

Molecular Characteristics of Organic Matter in Red Paddy Soil Under Long-Term Different Fertilisation Treatments

LIU Qing^{1,2}, LIU Ming^{2,3}, LI Zhongpei^{2,3}, QIU Cunpu⁴, LI Xin^{1†}, WU Meng^{2,3†}

(1. Jiangsu Co-Innovation Center of Efficient Processing and Utilization of Forest Resources, College of Chemical Engineering,
Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil
Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049,
China; 4. Zhenjiang College, Zhenjiang, Jiangsu 212028, China)

Abstract: 【Objective】The molecular composition of soil organic matter (SOM) is central to understanding carbon

*国家自然科学基金项目(42577349)、江苏高校“青蓝工程”项目(苏教师函〔2025〕16号)资助 Support by the National Natural
Science Foundation of China (No. 42577349) and Qinglan Project of Jiangsu Province of China (No. [2025]16)

†通讯作者 Corresponding author, E-mail: xli@njfu.edu.cn; mwu@issas.ac.cn

作者简介: 刘 青(1999—), 女, 江苏淮安人, 硕士研究生。E-mail: liuq1124@163.com

收稿日期: 2026-02-02; 收到修改稿日期: 2026-05-12; 网络首发日期(www.cnki.net): 2026-05-12

cycling in agroecosystems. However, how the SOM molecular composition evolves under long-term different fertilization regimes remains poorly understood. This study aimed to elucidate the regulatory mechanisms of long-term fertilization on SOM molecular composition in red soil paddy fields. **【Method】** Based on a long-term field experiment, four treatments were selected: no fertilizer (CK), organic matter recycling (C), chemical NPK fertilizers (NPK), and chemical NPK fertilizers plus organic matter recycling (NPKC). Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FT-ICR MS) was employed to analyze the molecular composition of SOM. **【Result】** (1) All fertilization treatments significantly increased soil organic carbon (SOC) and total nitrogen (TN) contents, while the NPK treatment specifically enhanced dissolved organic carbon (DOC) and dissolved organic nitrogen (DON) contents. (2) CHO-type compounds dominated the SOM composition, accounting for 64.0% of all identified molecular formulas. (3) Compared with CK, fertilization, especially NPKC, significantly increased the relative abundance of lipid-like compounds, whereas CK enriched more plant-derived lignin-like compounds. (4) Different fertilization treatments altered the molecular classes of SOM. Specifically, the molecular composition of lipids, tannins, lignins, and carbohydrates differed significantly among fertilization treatments, whereas the responses of condensed aromatics and unsaturated hydrocarbons to fertilization were not significant. **【Conclusion】** This study demonstrates that long-term fertilization reshapes the molecular composition of SOM in red soil paddy fields primarily by regulating key components, including carbohydrates, tannins, lipids. This and lignins, provides direct molecular evidence for fertilization-induced alterations in soil organic matter composition.

Key words: Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry; Long-term fertilization; Red paddy soil; Soil organic matter; Molecular composition

土壤有机质 (SOM) 是陆地生态系统最大的碳库, 其动态变化对全球碳循环的调控至关重要^[1]。稻田作为全球陆地碳封存的重要贡献者, 其中, 红壤水稻土因氧化还原交替显著、养分本底匮乏, 其 SOM 的积累与转化更易受以长期施肥为主的人为管理措施的调控^[2]。长期施肥不仅通过外源有机质输入直接补充碳、氮库, 还通过调节作物根系发育及分泌物组成, 间接驱动 SOM 的化学组成分异。传统的 SOM 研究多聚焦于碳、氮库容量的测定, 而现代土壤生物地球化学研究愈发关注分子层面的化学特征, 这是评估 SOM 稳定性及热力学特性的先决条件^[3-4]。

尽管核磁共振等技术能揭示 SOM 的官能团组成特征^[5-6], 但在精准识别复杂有机分子组成特异性上仍存在局限。针对该局限, 傅里叶变换离子回旋共振质谱 (FT-ICR MS) 技术凭借超高分辨率, 已广泛应用于解析环境样品在分子水平的异质性。已有研究证实, 该技术在解析土地利用、气候变化等因素下 SOM 分子演替规律方面具有独特优势^[7-8]。而 SOM 分子组成的分异本质上受微生物介导的碳转化过程调控, 其中, 微生物碳泵 (MCP) 是驱动土壤有机碳 (SOC) 长期固存的核心机制^[9]。

微生物通过同化与代谢将活性底物转化为微生物残体, 其与矿物表面络合可形成稳定的有机-矿物复合体^[10]。土壤碳氮比被认为是微生物残体对 SOM 储存贡献的关键决定因素, 氮有效性直接调控 MCP 的运转效能^[9]。氮素作为微生物合成生物量及胞外酶的关键限制因子, 其有效性的改变会直接调节微生物对复杂有机组分的降解策略与周转速率^[11]。在红壤水稻土这一具有强烈氧化还原交替过程的特殊稻田生态系统中, 不同施肥模式引发的碳氮耦合动态如何通过重塑 SOM 分子水平的组成分异, 进而调控 MCP 驱动的 SOC 固存, 目前仍缺乏直接的分子证据。

本研究依托长期定位试验, 利用 FT-ICR MS 技术, 旨在从分子水平揭示长期不同施肥模式下红壤水稻土 SOM 的组成分异规律, 并探讨施肥对脂质、单宁、木质素等关键分子类别的调控作用, 以此为红壤水稻土的肥力演变及碳封存机制提供分子层面的依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

本研究的长期施肥试验布设于中国科学院红壤生态实验站（位于江西省余江县刘家站，28°12'21"N，116°55'42"E）。该地区属于典型的亚热带季风性气候，年平均气温和年降水量分别为 17.8 °C 和 1 785 mm，全年无霜期长达 262 d，因其优越的水热条件与巨大的生产潜力，非常适于开展红壤生态系统相关研究。该长期定位施肥试验于 1990 年在本站启动。试验土壤为第四纪红黏土发育的红壤，采用“早稻-晚稻-冬闲”的种植模式。早稻通常在 4 月末至 5 月初进行移栽，并于 7 月下旬收获；晚稻则在 7 月底至 8 月初移栽，至 11 月初完成收获。

试验共设计了 9 种不同的施肥制度，采用随机区组设计，并设置 3 次重复，共计 27 个试验小区，每个小区面积为 30 m²。各小区之间通过水泥墙（地上部分高 15 cm，地下部分深 50 cm）实现物理隔离，均配备了独立的灌排系统。9 种施肥处理具体为：（1）对照（不施肥，CK）；（2）有机质循环（C）；（3）化学氮肥（N）；（4）化学氮肥 + 有机质循环（NC）；（5）化学氮磷肥（NP）；（6）化学氮磷钾肥（NPK）；（7）化学氮磷钾肥 + 有机质循环（NPKC）；（8）化学氮钾肥（NK）；（9）化学氮磷钾肥+1/2 秸秆还田（NPKS）。

施肥量在 1998 年进行了调整，1998 年之前每季每公顷 N 230 kg、P₂O₅ 68 kg、K₂O 84 kg；1998 年之后修改为 N 115 kg、P₂O₅ 68 kg、K₂O 42 kg。肥料种类分别为尿素（氮源）、钙镁磷肥（磷源）和氯化钾（钾源）。磷肥和钾肥均作为基肥在水稻种植前一次性施入；氮肥则按基肥与追肥 8:7 (m:m) 的比例分两次施用。本试验中有机质循环相关处理（C、NPKC）的有机肥为水稻秸秆 + 猪粪配施，水稻秸秆全部还田，同时每季每公顷施入 833 kg（干物质量）猪粪；非有机质循环处理小区的水稻秸秆在收获后均从田间移出。其中，猪粪（干基）基础理化性质为：总碳（TC）267 g·kg⁻¹，总氮（TN）21.2 g·kg⁻¹，总磷（TP）27.6 g·kg⁻¹，总钾（TK）18.1 g·kg⁻¹；秸秆基础理化性质为：TC 387 g·kg⁻¹，TN 9.9 g·kg⁻¹，TP 1.1 g·kg⁻¹，TK 31.0 g·kg⁻¹。

1.2 样品采集与处理

土壤样品于 2019 年晚稻收获后采集。本研究选取 CK、C、NPK 和 NPKC 4 个处理进行研究。每个小区内按五点法采集 0~15 cm 耕层土样，将同处理的 5 点土样等质量混合为一个复合样品，共计获得 12 份样本（4 处理×3 重复）。样品采集后立即置于放有冰袋的保温箱中，迅速送回实验室进行后续处理与分析。土壤采集后进行预处理，剔除沙砾、根系等可见杂质后过 2 mm 筛。样品均分为两份，一份置于阴凉通风处自然风干，用于测定土壤基本理化性质及有机氮组分；另一份保存于 -80 °C 冰箱，供后续使用。

1.3 样品测定

土壤样品的 SOC 含量采用重铬酸钾-硫酸容量法测定，TN 含量采用凯氏定氮法测定。使用全自动碳氮分析仪（Multi N/C 3100，耶拿，德国）测可溶性有机质（DOC）和可溶性有机氮（DON）含量，具体步骤是：取 5 g 研磨后样品，按 5:1 水土质量比加入 25 mL 超纯水，200 r·min⁻¹ 振荡 2 h，4 000 g 离心 5 min，收集上清液过 0.45 μm 醋酸纤维膜，所得滤液通过全自动碳氮分析仪测定 DOC 与 DON 浓度。

1.4 土壤有机质提取和 FT-ICR MS 样品检测

有机质组分的分子组成采用电喷雾-傅里叶变换离子回旋共振质谱（ESI FT-ICR MS）进行测定。土壤有机质的提取：首先，取 2 g 过 2 mm 筛的样品，加入 10 mL 超纯水，在 200 r·min⁻¹ 转速下振荡 2 h，随后在 4 000 g 离心力下离心 5 min，收集上清液经 0.45 μm 滤膜过滤后转移至玻璃管中进行冻干。接着，向离心后的沉淀中加入 10 mL 甲醇与二氯甲烷的混

合溶液(体积比 1:1), 涡旋混匀 10 s 后, 同样在 $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下振荡 2 h, 离心后取上清液经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 有机相滤膜过滤, 滤液用高纯氮气吹干。最后, 将上述水相和有机相两步提取所获的干燥物, 分别用 1 mL 甲醇复溶, 涡旋混匀后合并, 得到最终的质谱分析样品。

在进行质谱分析之前, 先用 20 mL 甲醇(色谱纯)清洗苯乙烯-二乙烯基苯聚合物固相萃取柱(PPL), 然后用 20 mL 酸化超纯水($\text{pH}=2$)进行活化。将样品溶液上样, 使其在重力作用下过柱, 再用 20 mL 酸化超纯水冲洗杂质, 氮气吹干后, 最终用 10 mL 甲醇洗脱并收集目标组分。

ESI FT-ICR MS 分析在配备 9.4 T 超导磁体和 Apollo II 电喷雾离子源的 Bruker Apex Ultra 质谱仪上进行。质谱分析时, 样品中加入氘代硬脂酸作为内标, 并通过注射泵以 $180\text{ }\mu\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ 的流速注入离子源。离子源极化电压设置为 4.0 kV, 毛细管入口和出口电压分别为 4.5 kV 和 320 V。质谱扫描的质量范围设置为 150~800 Da, 六极杆离子累积时间为 0.001 s。为提升信噪比, 每个样品的质谱图由连续叠加 128 次扫描得到。

1.5 质谱数据处理

原始 FT-ICR MS 谱图首先经 Bruker Daltonics Data Analysis 5.0 软件处理, 转化为包含质荷比(m/z)值的质谱峰列表。为确保数据的准确性与一致性, 质谱仪在测定前采用国际腐殖酸协会提供的苏万尼河富里酸(SRFA)标准样品, 在负离子模式下进行了严格的质量校准。

分子式的归属基于课题组自主研发的质谱数据处理程序(CUPPEC HRMS Viewer, DOI: 10.1021/jasms.4c00442)完成。在 150~1 000 Da 的质量范围内, 设定了严格的元素筛选阈值: 12C (1~50)、1H (1~100)、16O (1~50)、14N (0~4) 和 32S (0~2), 并规定质量误差阈值须在 ± 1.0 毫道尔顿(mDa)以内, 信噪比(S/N)大于等于 4。为进一步优化分子式分配的准确性, 本研究对公式计算实施了以下约束条件: 氢碳比(H/C)小于等于 2.2, 氧碳比(O/C)小于等于 1.2, 氮碳比(N/C)小于等于 0.5, 并要求双键当量(DBE)必须为整数值, 同时针对偶电子离子遵循氮规则。此外, 本研究采用同系物系列推演方法对分子式分配进行了二次验证, 以确保结果的唯一性与科学性。

后续数据统计环节进一步对分子特征进行了精细化筛选: 仅保留在所有样本中重复出现至少 2 次的质谱峰。为避免电离竞争引起的信号强度偏差, 统计分析中将原始峰强度转换为二进制表达形式(1 表示检出, 0 表示未检出)。最后, 基于鉴定出的分子式, 统计每个化合物中碳(C)、氢(H)、氧(O)、氮(N)、磷(P)、硫(S)元素的原子数目。为系统可视化所有鉴定分子的化学特征, 本文绘制了 van Krevelen 图, 其中横轴为 O/C 原子比, 纵轴为 H/C 原子比。参考相关文献^[12]: (1) 脂质(Lipids): O/C 0~0.3, H/C 1.5~2.0; (2) 蛋白质/氨基糖(Protein/Amino sugar): O/C 0.3~0.67, H/C 1.5~2.2, 且 $\text{N/C} \geq 0.05$; (3) 碳水化合物(Carbohydrates): O/C 0.67~1.2, H/C 1.5~2.4; (4) 不饱和烃(Unsaturated hydrocarbons): O/C 0~0.1, H/C = 0.7~1.0; (5) 木质素(Lignins): O/C 0.1~0.67, H/C 0.7~1.5, 且 $\text{AI} < 0.67$; (6) 单宁(Tannins): O/C 0.67~1.2, H/C 0.5~1.5, 且 $\text{AI} < 0.67$; (7) 稠环芳烃(Condensed aromatics): O/C 0~0.67, H/C 0.2~0.7, 且 $\text{AI} \geq 0.67$; (8) 其他(Others): 未归入上述分组的分子。

1.6 数据统计分析

基础理化性质数据经 Microsoft Excel 2021 初步整理预处理, 采用 SPSS 27.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 评估不同施肥处理对土壤有机质各组分含量的影响, 组间差异显著性采用邓肯新复极差法检验, 显著性水平 $P < 0.05$ 。

所有图表均在 R 4.5.1 中绘制, 土壤有机质分子水平分析均基于 FT-ICR MS 高分辨质谱数据构建的 0/1 二元表达矩阵(1 为分子检出, 0 为未检出)开展: 利用 microeco 程序包计算分子丰富度指数(Molecular richness), 表征 SOM 分子种类总数; 基于该矩阵构建 Jaccard

距离矩阵, 通过 *vegan* 程序包进行主坐标分析 (PCoA), 可视化不同处理间分子组成差异; 采用 *vegan* 程序包进行置换多元方差分析 (PERMANOVA, 置换 9999 次), 分别检验不同施肥处理对 SOM 整体化学组成及单宁、脂质、木质素等各化合物组分子组成的影响显著性, 统计并计算各分析对应的决定系数 R^2 、 F 统计量及显著性 P 值, 显著性水平 $P < 0.05$; 基于该矩阵筛选特异性分子标志物, 定义为目标处理组至少 1 个重复检出且其他处理组所有重复均未检出的分子, 结合 van Krevelen 图解析各处理特有分子的化学空间分布特征^[13]。

PERMANOVA 分析中, R^2 表示不同施肥处理对 SOM 整体或各化合物组分子组成变异的解释率, F 为组间方差与组内方差的比值, 用于反映不同施肥处理组间分子组成的差异程度。

2 结果

2.1 长期施肥处理对土壤碳和氮含量的影响

如表 1 所示, 单因素方差分析表明, 不同施肥处理对土壤 DOC、DON、TN 和 SOC 含量均存在显著影响 ($P < 0.05$)。施肥显著促进了 SOC 和 TN 的积累。与 CK 相比, C、NPK 及 NPKC 处理的 SOC 和 TN 含量均显著提高 ($P < 0.05$)。其中, NPKC 处理的提升幅度最大, 其 SOC 和 TN 含量分别上升至 $13.37 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $1.53 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 较 CK 分别增加了 37.8% 和 43.0%。与 CK 相比, 仅有 NPK 处理提升了 DOC 和 DON 的含量 ($P < 0.05$), 其余施肥处理虽有增加趋势, 但未达显著水平。

表 1 长期不同施肥处理对红壤水稻土碳、氮含量的影响

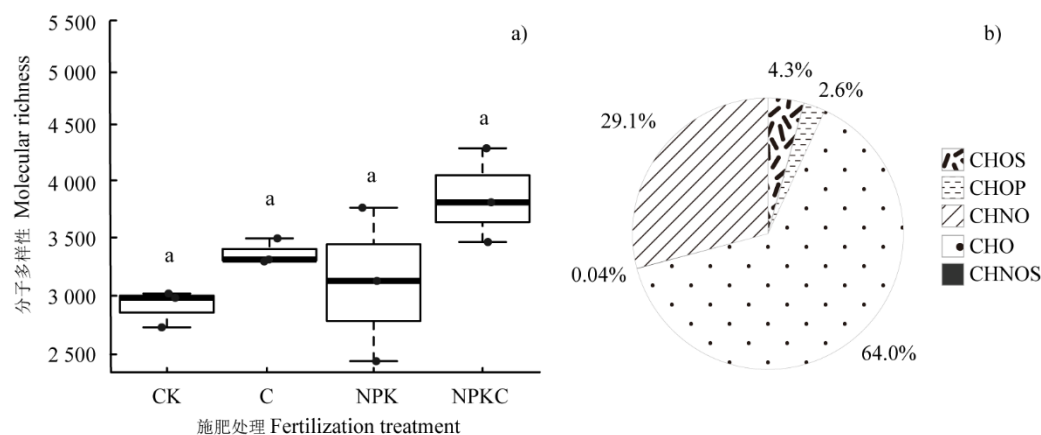
Table 1 Effects of long-term fertilization treatments on the contents of carbon and nitrogen in red paddy soils

施肥处理 Fertilization treatment	土壤有机碳 SOC/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全氮 TN/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	可溶性有机碳 DOC/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	可溶性有机氮 DON/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
CK	9.70±0.53b	1.07±0.02b	231.0±31.1b	6.81±0.84b
C	12.23±0.49a	1.36±0.04a	334.0±32.5ab	9.88±1.96ab
NPK	13.00±1.93a	1.49±0.21a	433.3±152.3a	11.59±3.22a
NPKC	13.37±1.29a	1.53±0.08a	332.0±21.1ab	10.91±2.26ab

注: CK: 不施肥对照; C: 有机质循环; NPK: 化学氮磷钾肥; NPKC: 化学氮磷钾肥 + 有机质循环。数据均以“平均值 ± 标准差” ($n=3$) 的形式表示。同列数据后不同小写字母表示不同施肥处理之间存在显著性差异 (单因素方差分析及邓肯多重比较检验, $P < 0.05$)。下同。Note: CK: Control (no fertilizer applied); C: organic matter recycling; NPK: chemical nitrogen, phosphorus, and potassium fertilizers; NPKC: chemical nitrogen, phosphorus, and potassium fertilizers + organic matter recycling. Data are presented as “mean ± standard deviation” ($n=3$). Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between fertilization treatments (one-way ANOVA and Duncan’s multiple range test, $P < 0.05$). The same below.

2.2 长期施肥处理下 SOM 的分子多样性及主要化合物组成特征

在本研究中, 利用 FT-ICR MS 技术在 SOM 组分中共检测出 5330 个 SOM 分子, 各施肥处理间的分子多样性 (即 SOM 分子的数量) 无显著差异 ($P > 0.05$, 图 1a)。按照 SOM 分子的元素组成进行分组, 结果表明, 碳氢氧 (CHO) 型分子数量占比最高 (64.0%), 其次分别为碳氢氮氧 (CHNO) 型 (29.1%)、碳氢氧硫 (CHOS) 型 (4.3%)、碳氢氧磷 (CHOP) 型 (2.6%) 和碳氢氮氧硫 (CHNOS) (<0.1%) 型化合物 (图 1b)。



注: CHOS、CHONS、CHON、CHO 和 CHONS 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。Note: Molecular compounds composed of CHOS, CHONS, CHON, CHO, and CHONS elements are, respectively, hydrocarbon-oxygen-sulfur compounds, hydrocarbon-oxygen-nitrogen-sulfur compounds, hydrocarbon-oxygen-nitrogen compounds, and hydrocarbon-oxygen compounds.

图 1 不同施肥处理土壤有机质 (SOM) 中化合物分子多样性 (a) 及分组比例 (b)

Fig.1 Molecular richness (a) and grouping ratio (b) of soil organic matter (SOM) compounds under different fertilization treatments

基于化合物生化组分分类, SOM 分子可划分为 8 个类别的化合物组 (图 2)。脂质和木质素是 SOM 分子的主要组成类别。其中, 脂质 (33.4%~35.9%) 相对丰度占比最高, 其次为木质素 (31.7%~32.3%)、碳水化合物 (10.7%~12.7%) 和蛋白质/氨基酸 (6.0%~6.6%)。此外, 未能分组的其他类化合物占比为 12.3%~13.0%, 而稠环芳香类、单宁类和不饱和烃类数量较少, 总占比不足 SOM 化合物总数的 5%。

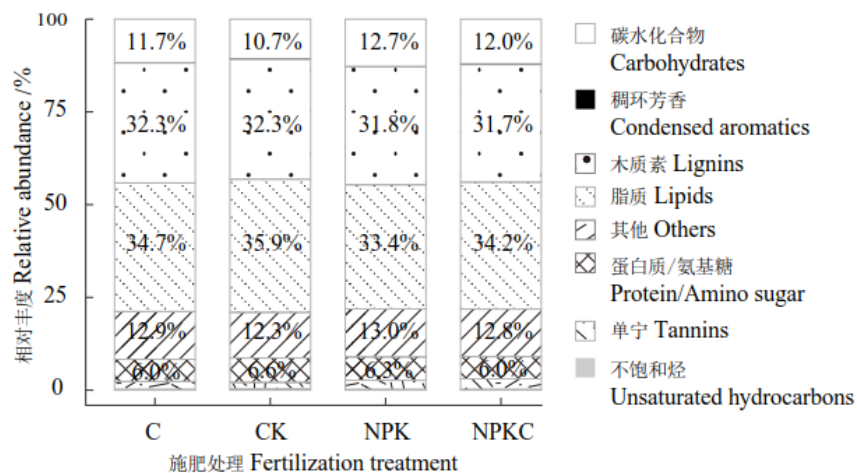


图 2 不同施肥处理 SOM 中不同化合物组的数量占比

Fig. 2 The proportion of different compound groups of SOM under different fertilization treatments

2.3 不同施肥处理下 SOM 分子组成的差异及其特异性响应

基于 Jaccard 距离的主坐标分析 (PCoA) 表明, 不同施肥处理的 SOM 分子组成具有显著差异, 样本按处理明显聚类 ($R^2 = 0.4041$, $P < 0.05$, 图 3)。

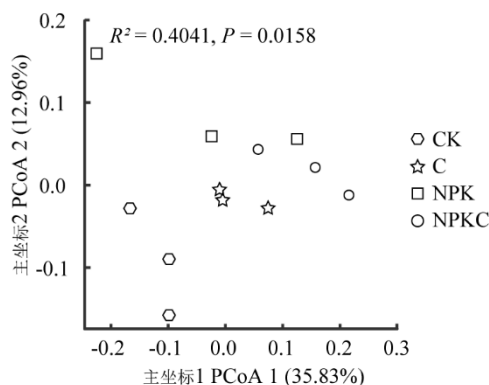


图 3 不同施肥处理 SOM 化合物分子的主坐标分析 (PCoA)

Fig.3 Principal coordinate analysis (PCoA) of SOM molecules under different fertilization treatments

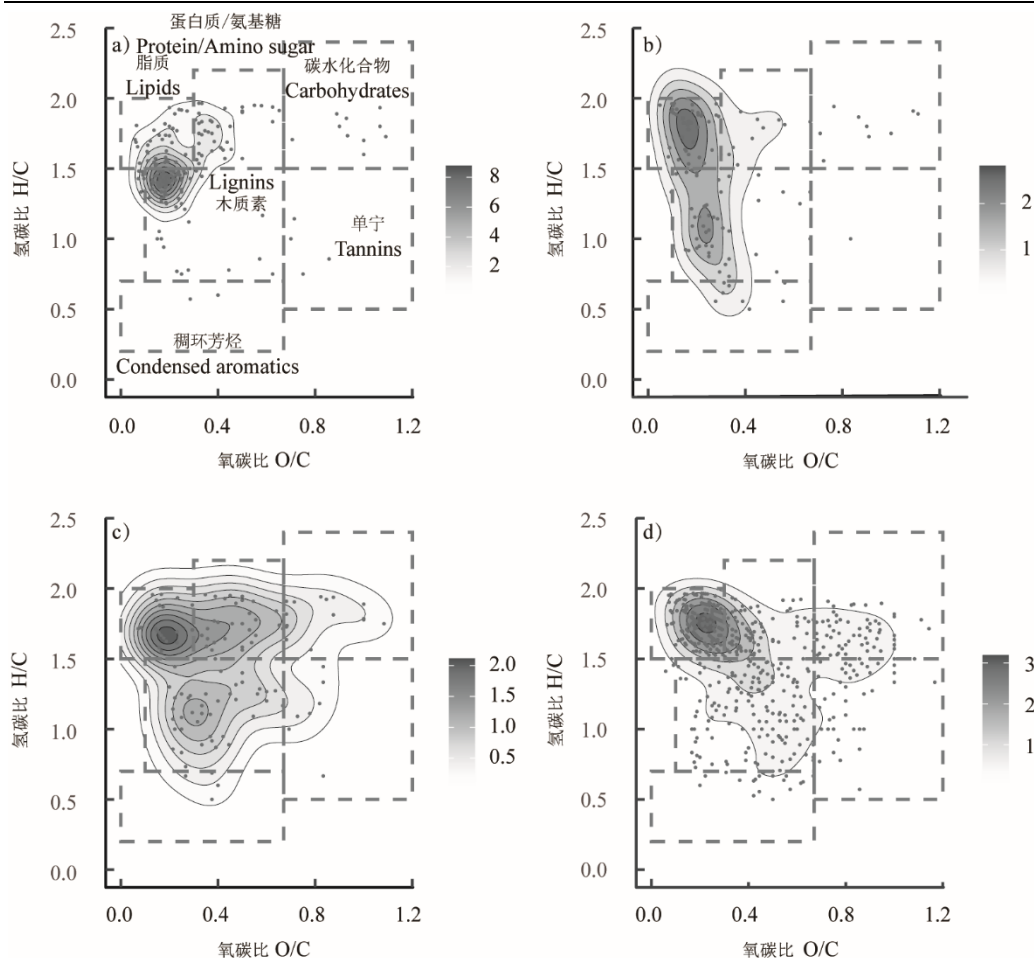
PERMANOVA 分析进一步证实,施肥不仅显著改变了 SOM 的整体化学组成($R^2 = 0.404$, $P = 0.0174$),更显著重塑了特定化合物组的分子组成(表 2)。其中,单宁、脂质、木质素和碳水化合物对施肥的响应最为敏感($R^2 = 0.410 \sim 0.468$, $P < 0.05$),而稠环芳烃和不饱和烃响应较弱($P > 0.05$)。

表 2 不同施肥处理对 SOM 不同化合物组分子多样性的影响(基于置换多元方差分析,PERMANOVA)

Table 2 Effects of different fertilization treatments on the molecular richness of different SOM compound groups (based on permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)

化合物组 Compound groups	分子数量 Molecular numbers	R^2	F	P
整体组成 Overall composition	5 330	0.404	1.81	0.015 5
单宁类 Tannins	164	0.468	2.34	0.011 9
脂质类 Lipids	1 748	0.421	1.94	0.018 0
木质素类 Lignins	1 691	0.410	1.85	0.022 3
其他类 Others	740	0.368	1.55	0.034 7
碳水化合物类 Carbohydrates	617	0.421	1.94	0.048 5
蛋白/氨基糖类 Proteins/Amino sugars	327	0.346	1.41	0.068 4
稠环芳烃类 Condensed aromatics	25	0.296	1.12	0.296 6
不饱和烃类 Unsaturated hydrocarbons	18	0.267	0.97	0.512 9

利用 van Krevelen 图对各处理组特异性分子的化学空间分布进行可视化分析(图 4),不同施肥处理下特异性分子的分布模式存在明显分异。CK 处理中特异性分子主要集中分布于木质素与脂质类化合物的特征区域,为该处理的核心分布类型。C 处理中特异性分子在脂质类化合物特征区域呈高密度分布,同时在木质素类化合物特征区域也有明显分布。NPK 处理中特异性分子主要集中于脂质类化合物特征区域,并向木质素类特征区域延伸。而 NPKC 处理的特异性分子在脂质类化合物特征区域呈高密度分布。



注：图中虚线框为不同化合物类别的特征区域：脂质类（O/C 0~0.4，H/C 1.0~2.0）、木质素类（O/C 0.2~0.8，H/C 0.5~1.5）、蛋白质/氨基糖类（O/C 0.4~1.2，H/C 1.5~2.5）、碳水化合物类（O/C 0.4~1.2，H/C 1.5~2.5）、单宁类（O/C 0.6~1.2，H/C 0.5~1.5）、稠环芳烃类（O/C 0~0.3，H/C 0~0.7）。颜色梯度代表分子密度分布，颜色越深表示分子聚集密度越高。Note: The dashed boxes in the figure indicate the characteristic regions for different compound categories: lipids (O/C 0~0.4, H/C 1.0~2.0), lignin (O/C 0.2~0.8, H/C 0.5~1.5), proteins/ glycosaminoglycans (O/C 0.4~1.2, H/C 1.5~2.5), carbohydrates (O/C 0.4~1.2, H/C 1.5~2.5), tannins (O/C 0.6~1.2, H/C 0.5~1.5), polycyclic aromatic hydrocarbons (O/C 0~0.3, H/C 0~0.7). The color gradient represents the molecular density distribution; the darker the color, the higher the molecular aggregation density.

图4 不同施肥处理（a. CK, b. C, c. NPK, d. NPKC）下 SOM 特异性分子的 van Krevelen 图

Fig. 4 Van Krevelen diagrams of SOM-specific molecules under different fertilization treatments (a. CK, b. C, c. NPK, d. NPKC)

3 讨论

3.1 长期不同施肥对土壤碳、氮含量的影响

本研究结果发现，施肥处理显著提升了 SOC 和 TN 的含量（表 1）。SOC 和 TN 作为相对稳定的碳、氮库，其积累主要源于长期外源碳、氮的持续输入及微生物的残体转化途径^[14]。然而，值得注意的是，除 NPK 处理显著提升了 DOC 和 DON 含量外，C 和 NPKC 处理的 DOC 和 DON 含量较 CK 并无显著变化（ $P > 0.05$ ）。该现象产生的原因可能是施用有机肥的处理，活性碳、氮库具有较高的周转特征。DOC 和 DON 作为 SOM 中的活性碳库，其表观库容受有机质降解输入与微生物同化消耗的动态平衡调控^[15-16]。前人研究表明，长期有机

物料的投入 (C 和 NPKC 处理) 虽增加了总碳输入, 但也可能强烈激发了土壤微生物的整体活性 (即正激发效应), 高度繁荣的微生物群落具备极高的碳利用效率 (CUE), 导致新生成的 DOM 一旦释放即被迅速同化并转化为稳定固相 (如微生物残体碳), 因而表现出 “高通量、极短停留时间” 的稳态基线特征^[14]。相比之下, NPK 由于缺乏直接的外源碳补充, 迫使微生物依赖难以快速代谢的原生有机质, 在碳受限状态下其对碳的同化利用效率通常受到抑制^[17]。同时, 无机养分的长期施用显著促进了作物的生长与根系发育, 导致大量富含 DOC 的根系分泌物输入土壤, 当短期的输入量超过了受碳饥饿胁迫微生物的消耗速率时, 最终表现出宏观上 DOC 和 DON 的显著富集^[18]。因此, 长期施肥对活性碳、氮库的提升通常不如稳定碳、氮库显著, 这与近年来多项长期定位试验的观测结果^[19]一致。

3.2 施肥对 SOM 分子组成的影响

对 FT-ICR MS 数据的多元统计分析进一步证实, 长期施肥并未显著改变 SOM 的整体分子多样性 (Molecular richness, 图 1), 而是对其分子组成结构进行了重塑, 其中脂质、单宁、木质素和碳水化合物的分子组成在施肥水平下均存在显著差异 (表 2)。这些化合物通常属于易受生物干预的植物残体前体或微生物代谢中间产物, 其转化轨迹对底物可获得性、微生物群落激发效应极为敏感, 构成了施肥驱动 SOM 化学异质性演变的核心组分^[20]。与之形成对比的是, 稠环芳烃和不饱和烃化合物对施肥的响应不显著 (表 2)。这种抗性一方面源于这些化合物极高的结构稳定性, 稠环芳烃等分子主要来自黑碳等难降解前体物质, 或源于火烧等历史非生物热缩合转化过程, 本身即处于土壤有机质热力学稳定序列的顶端^[21], 表现出极强的化学惰性。另一方面, 结合本研究 FT-ICR MS 的鉴定结果 (表 2), 稠环芳烃和不饱和烃的分子数量仅占总鉴定分子的极小比例 (不足 1%)。在复杂的农田基质中, 常规的养分输入与生物学响应难以对此类大分子群体进行重组。这进一步证实, 长期施肥对 SOM 分子组成结构的重塑具有强烈的靶向性和类别选择性, 主要驱动易转化及高丰度组分的周转, 而对低丰度且结构稳定的惰性组分影响极其有限^[22]。

3.3 长期不同施肥对 SOM 化合物组成差异的影响

尽管理化指标证实了长期施肥对红壤水稻土碳库的提升作用, 但难以揭示碳库动态变化背后的分子组成变化。使用 FT-ICR MS 检测 SOM 分子多样性和组成, 结合 van Krevelen 图可视化分析结果表明, 施肥显著重塑了特异性分子的化学空间分布特征 (图 4)。NPKC 处理的特异性分子高度集中在脂质类化合物特征区域, 而 CK 处理的特异性分子在木质素类化合物特征区域呈现更高的聚集密度。

NPKC 处理中脂质的富集途径是多方面的。一方面施肥促进植物生长及根系分泌物的释放, 为土壤注入富含脂质的初始底物^[23]。另一方面, 养分的改善极大刺激了微生物的生长代谢^[24], 加速了脂肪酸、磷脂等微生物源脂质化合物的合成与周转。更重要的是, 不可忽视外源有机肥 (畜禽粪便和秸秆) 本身即含有大量源自动植物残体和微生物的初级脂质成分, 长期施用直接构成了脂质类大分子积累的物质基础^[25]。此外, 施肥改变的土壤矿物表面性质也能通过有机矿物复合作用, 增加对脂质分子的物理化学保护^[26]。相反, CK 处理中木质素类化合物高度富集, 这不仅受限于木质素 (植物细胞壁的主要成分) 本身的化学难降解性^[27], 更与寡营养条件下微生物分解策略的适应性转变密切相关。在 CK 长期不施肥的养分限制环境中, 微生物通常倾向于优先利用易降解的碳源以维持基本生存。分解复杂的木质素多聚物需要消耗大量氮源来合成胞外氧化酶 (如木质素过氧化物酶), 这种高能耗的代谢途径在养分贫乏期受到严重抑制^[28-29]。因此, 微生物分解策略的改变导致木质素类物质在土壤中被 “选择性保留”, 进而表现出相对丰度的显著富集。该结论进一步深化了 Lei 等^[30]关于外源碳输入重塑土壤有机分子组成的观点。

4 结 论

本研究基于长期定位试验, 结合 FT-ICR MS 技术, 从分子水平系统揭示了不同施肥模式对红壤水稻土 SOM 分子组成的调控机制。主要结论如下, 长期不同施肥均显著提升了 SOC 和 TN 的含量, 但 DOC 和 DON 对施肥的响应存在差异, 仅 NPK 处理显著增加了 DOC 和 DON。长期施肥显著重塑了 SOM 的分子组成, 驱动了 SOM 在分子层面的分异, 相对于不施肥处理 (CK) 富集了难降解的植物源木质素类化合物, 长期施肥 (尤其是 NPKC 处理) 大量富集了脂质类化合物, 并显著改变了碳水化合物、单宁和木质素类化合物的数量, 主导了 SOM 分子的演变规律。综上所述, 长期不同施肥显著改变了脂质类、木质素类、碳水化合物类及单宁类等关键分子组分, 进而驱动了土壤有机质分子组成的整体分异。本研究结果为进一步理解施肥管理下红壤水稻土有机碳库的分子演变特征提供了实证依据。

参考文献 (References)

- [1] Lal R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security[J]. *Science*, 2004, 304(5677): 1623-1627.
- [2] Yao R Q, Fu H R, Liu X, et al. Meta-analysis of the accumulation and stabilisation of particulate and mineral-associated organic carbon by fertilization[J]. *Soil and Tillage Research*, 2026, 255: 106770.
- [3] Saqilafu, Chen L N, Has, et al. Study on desorption of soil mineral-bound organic matter and its influencing factors[J]. *Ecology and Resources*, 2025(6): 11-13. [萨其拉夫, 陈丽娜, 哈斯, 等. 土壤矿物结合态有机质的解吸及影响因素研究[J]. *生态与资源*, 2025(6): 11-13.]
- [4] Wu M, Lugato E, Li P F, et al. Bacterial richness enhances the thermostability of soil organic matter via a long-term trade-off between molecular diversity and thermodynamic stability[J]. *Nature Food*, 2025, 6(11): 1032-1041.
- [5] Sun Z Y, Guo Y J, Xu Y J. Application and progress of nuclear magnetic resonance and infrared spectra in the study of the mechanism of ionic liquid-catalyzed reaction of CO₂ with 2-aminobenzonitrile[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2025, 45(10): 2711-2719. [孙中远, 郭昱君, 许映杰. 核磁共振波谱和红外光谱在研究离子液体催化 CO₂ 与邻氨基苯腈反应机理的应用及进展[J]. *光谱学与光谱分析*, 2025, 45(10): 2711-2719.]
- [6] Tang Q F, Wang J M, Li Q M, et al. Comparison and application of test methods for microplastics in farmland soil[J]. *China Measurement & Test*, 2022, 48(10): 145-151. [汤庆峰, 王佳敏, 李琴梅, 等. 农田土壤中微塑料测试方法比较及应用研究[J]. *中国测试*, 2022, 48(10): 145-151.]
- [7] Liu Y C, Wang H, Schindlbacher A, et al. Soil respiration related to the molecular composition of soil organic matter in subtropical and temperate forests under soil warming[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2025, 201: 109661.
- [8] Yang Z T, Ohno T, Singh B. Effect of land use change on molecular composition and concentration of organic matter in an oxisol[J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, 58(23): 10095-10107.
- [9] Li Z X, Liu X B, Chen G, et al. Enhancing soil organic carbon stabilization by coupling microbial-mineral carbon pumps in agroecosystem[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2025, 40: 104431.
- [10] Schmidt M W I, Torn M S, Abiven S, et al. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property[J]. *Nature*, 2011, 478(7367): 49-56.
- [11] Zhang M L, Zhang L Y, Li J, et al. Nitrogen-shaped microbiotas with nutrient competition accelerate early-stage residue decomposition in agricultural soils[J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 5793.
- [12] Qiu C P, Feng Y Z, Wu M, et al. NanoFe₃O₄ accelerates methanogenic straw degradation by improving energy metabolism[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 292: 121930.
- [13] Lu K J, Liu Z F. Molecular level analysis reveals changes in chemical composition of dissolved organic matter from south Texas Rivers after high flow events[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2019, 6: 673.
- [14] Xia M M, Li P F, Liu J, et al. Long-term fertilization promotes the microbial-mediated transformation of soil dissolved organic

- matter[J]. Communications Earth & Environment, 2025, 6: 114.
- [15] Wang S Z, Chen W X, Heal K V, et al. Vegetation restoration shapes soil organic matter chemistry and microbial processes[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2025, 211: 109970.
- [16] Chen L, Hao X Y, Ma X Z, et al. Changes of soil organic carbon and its structure in rhizosphere of black soil under long-term fertilization[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2022, 38(8): 72-78. [陈磊, 郝小雨, 马星竹, 等. 黑土根际土壤有机碳及结构对长期施肥的响应[J]. 农业工程学报, 2022, 38(8): 72-78.]
- [17] Sun X D, Zhang C Y, Liu K L, et al. Long-term manure application enhances carbon use efficiency in soil aggregates by regulating microbial communities in cropland[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2025, 210: 109945.
- [18] Li Z P, Zhang T L, Chen B Y. Dynamics of soluble organic carbon and its relation to mineralization of soil organic carbon[J]. Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(4): 544-552. [李忠佩, 张桃林, 陈碧云. 可溶性有机碳的含量动态及其与土壤有机碳矿化的关系[J]. 土壤学报, 2004, 41(4): 544-552.]
- [19] Wu X C, Li Z P, Zhang T L. Long-term effect of fertilization on organic carbon and nutrients content of paddy soils in red soil region[J]. Ecology and Environment, 2008, 17(5): 2019-2023. [吴晓晨, 李忠佩, 张桃林. 长期不同施肥措施对红壤水稻土有机碳和养分含量的影响[J]. 生态环境, 2008, 17(5): 2019-2023.]
- [20] Liu X, Tang S, Tou C Y, et al. Opposite roles of plant quality and soil exoenzymes in regulation of litter carbon transfer to fungal and bacterial necromass[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2025, 210: 109940.
- [21] Feng X J. Study on toxic effects and threshold of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on *Lepidoptera leucocephala* in different soils[D]. Nanjing: Nanjing University of Information Science & Technology, 2023. [冯献捷. 不同土壤中多环芳烃(PAHs)对白符跳虫的毒性效应及阈值研究[D]. 南京: 南京信息工程大学, 2023.]
- [22] Cotrufo M F, Wallenstein M D, Boot C M, et al. The Microbial Efficiency-Matrix Stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: Do labile plant inputs form stable soil organic matter?[J]. Global Change Biology, 2013, 19(4): 988-995.
- [23] Jiang Y H, Lin X Q, Wang H B, et al. Evaluation of fertilization on microbial assembly, metabolites of root exudates and rhizosphere soil in tea plant[J]. Scientia Horticulturae, 2024, 338: 113812.
- [24] Wu Z W, Zhang Y Y, Fan Y C, et al. Decadal manure substitution reshapes microbial communities to drive plant and microbial carbon accumulation in soil carbon fractions[J]. Geoderma, 2025, 463: 117581.
- [25] Dang H Y, Wang Z H. Organic fertilizer application in wheat production of China: History, bottleneck, and strategy[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2025, 31(1): 12-31. [党海燕, 王朝辉. 我国麦田有机肥施用: 研究历史、瓶颈与解决策略[J]. 植物营养与肥料学报, 2025, 31(1): 12-31.]
- [26] You Y M, Zhao M H, Wang L R, et al. Different fertilizers regulated the microbiome and metabolism of *Pinus koraiensis* to promote nutrient cycling[J]. Industrial Crops and Products, 2025, 232: 121334.
- [27] Yang J K, Ren Y N, Huang S M, et al. Medium molecular weight carbon fractions of DOM: Driving soil microbial community differentiation and soil organic carbon sequestration[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2025, 389: 109688.
- [28] Jiang M J, Cao T T, Jiang Y Y, et al. High-throughput screening and identification of lignin-degrading bacteria in rhizosphere of different types of *Phyllostachys edulis*[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2025, 53(9): 48-54. [江明君, 曹婷婷, 蒋迎楹, 等. 不同类型毛竹根际木质素降解菌的高通量筛选与鉴定[J]. 东北林业大学学报, 2025, 53(9): 48-54.]
- [29] Mooshammer M, Wanek W, Zechmeister-Boltenstern S, et al. Stoichiometric imbalances between terrestrial decomposer communities and their resources: Mechanisms and implications of microbial adaptations to their resources[J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5: 22.
- [30] Lei X, Shen Y T, Zhao J N, et al. Root exudates mediate the processes of soil organic carbon input and efflux[J]. Plants, 2023, 12(3): 630.

(责任编辑: 陈荣府)