

# 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

程 蕾<sup>1,2</sup> 林开森<sup>2,3</sup> 周嘉聪<sup>1,2</sup> 张秋芳<sup>1,2</sup> 曾晓敏<sup>1,2</sup> 纪宇骅<sup>1,2</sup> 郑 永<sup>1,2</sup>  
徐建国<sup>3</sup> 陈岳民<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>福建师范大学地理科学学院, 福州 350007; <sup>2</sup>湿润亚热带山地生态国家重点实验室培训基地, 福州 350007; <sup>3</sup>福建戴云山国家级自然保护区管理局, 福建泉州 362500)

**摘 要** 中国亚热带是受氮沉降影响最严重的地区之一. 土壤可溶性有机质 (DOM) 被认为是土壤有机质的重要指标, 氮沉降可能通过改变微生物活性导致土壤 DOM 质量和数量的变化. 本研究以亚热带毛竹林为研究对象, 设置对照、低氮和高氮 3 个水平, 进行为期 3 年的施氮处理, 探究氮添加对土壤 DOM 含量、光谱学特征和微生物胞外酶活性的影响. 结果表明: 与对照相比, 施氮后土壤 pH、可溶性有机碳、可溶性有机氮含量和芳香化指数无显著变化, 而腐殖化指数随施氮量的增加显著增加, 微生物酶活性也随着施氮量的增加呈现先升高后下降的趋势. 傅里叶红外光谱结果显示, 土壤 DOM 在 7 个区域的相似位置存在吸收峰, 其中, 1000~1260 cm<sup>-1</sup> 的吸收峰最强, 表明施氮处理后, 土壤中多糖类、醇类、羧酸类及酯类物质增加. 三维荧光光谱结果表明, 施氮处理后, 土壤 DOM 结构有显著改变, 表现在低分子物质如类蛋白质物质和微生物代谢产物减少, 而高分子物质如类腐殖质物质显著增加. 总的来说, 施氮使得土壤氮与微生物需求相适应, 促进微生物分解 DOM 中易降解的物质, 土壤 DOM 结构更加复杂, 短期氮沉降可能有利于土壤肥力的改善.

**关键词** 三维荧光; 氮沉降; 土壤可溶性有机质; 酶活性

**Effects of nitrogen deposition on the concentration and spectral characteristics of dissolved organic matter in soil in Moso bamboo plantations.** CHENG Lei<sup>1,2</sup>, LIN Kai-miao<sup>2,3</sup>, ZHOU Jia-cong<sup>1,2</sup>, ZHANG Qiu-fang<sup>1,2</sup>, ZENG Xiao-min<sup>1,2</sup>, JI Yu-huang<sup>1,2</sup>, ZHENG Yong<sup>1,2</sup>, XU Jianguo<sup>3</sup>, CHEN Yueh-min<sup>1,2\*</sup> (<sup>1</sup>*School of Geographical Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China*; <sup>2</sup>*Cultivation Base of State Key Laboratory of Humid Subtropical Mountain Ecology, Fuzhou 350007, China*; <sup>3</sup>*Daiyun Mountain National Nature Reserve Administration Bureau, Quanzhou 362500, Fujian, China*).

**Abstract:** The subtropical zone in China is one of the regions most affected by nitrogen deposition. Soil dissolved organic matter (DOM) is considered to be an important indicator of soil organic matter. Nitrogen deposition may alter the quality and quantity of soil DOM by changing soil microbial activity. In this study, we explored the effects of nitrogen addition on soil DOM content, its spectral characteristics and microbial extracellular enzyme activity in the Moso bamboo plantations by setting control (CT), low-nitrogen (LN), and high-nitrogen (HN) addition levels for three-year nitrogen addition. The results showed that there was no significant change in soil pH, dissolved organic carbon, dissolved organic nitrogen, and aroma index following nitrogen addition, while the humification index increased significantly, microbial enzyme activities increased first and then decreased with the increases of nitrogen addition. Fourier transform infrared spectroscopy results showed that

本文由海峡联合基金项目 (U1505233)、国家自然科学基金项目 (31670620) 和福建省科技厅项目 (2016R1032-2) 资助 This work was supported by the Strait Union Fund Project (U1505233), the National Natural Science Foundation of China (31670620) and the Fujian Provincial Department of Science and Technology Project (2016R1032-2).

2018-08-21 Received, 2019-04-08 Accepted.

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ymchen@fjnu.edu.cn

soil DOM had similar absorption peaks in seven regions, and that the absorption peaks of 1000 to 1260  $\text{cm}^{-1}$  were the strongest, indicating an enhanced amount of polysaccharides, alcohols, carboxyl acids, and esters after nitrogen addition. The results of three-dimensional fluorescence spectroscopy showed that soil DOM structure significantly changed following nitrogen addition, with a decrease in low-molecular substances such as protein-like substances and microbial metabolites and a significant increase in high-molecular substances such as humus-like substances. In general, nitrogen addition made soil nitrogen compatible with microbial requirements. Microorganisms decompose substances that were easily degraded in DOM. The structure of soil DOM was more complex after nitrogen addition. Therefore, short-term nitrogen deposition might be conducive to preserving soil fertility.

**Key words:** three-dimensional fluorescence spectra; nitrogen deposition; soil dissolved organic matter (DOM); enzyme activity.

20 世纪中叶以来,由于矿物燃料燃烧、化学肥料的生产和使用以及畜牧业的迅猛发展,导致大气氮素沉降持续增加<sup>[1]</sup>.全球氮模型预测结果表明,在未来几年,中国亚热带地区会成为受氮沉降影响最严重的地区之一<sup>[1]</sup>.由于碳、氮元素的高度耦合作用,氮沉降将会对陆地生态系统碳循环产生显著影响<sup>[2]</sup>.当前,关于氮沉降促进陆地生态系统碳吸存能力已取得一定共识<sup>[3-4]</sup>,然而这些结论仅是基于氮沉降提高植物净初级生产力的结果<sup>[5]</sup>.作为土壤有机质分解和形成的主要参与者,土壤微生物同样受到氮有效性的影响<sup>[6-7]</sup>.土壤微生物通过产生胞外酶,调控着土壤有机质分解及养分循环速率,而关于氮沉降对碳循环相关酶类的影响机制尚未明确,尤其是酚氧化酶和过氧化酶<sup>[8-9]</sup>.因此,氮沉降如何影响土壤有机质及胞外酶活性仍需进一步探究.

目前,关于氮沉降对土壤有机质的影响存在两种相反的理论<sup>[10]</sup>.“化学计量分解理论”认为,土壤碳氮比与微生物需求量相适应时,微生物活性最高,分解速率最大<sup>[11]</sup>.而“微生物氮挖掘理论”认为,微生物会利用不稳定碳获取能量来分解难分解的含氮有机物<sup>[12]</sup>.“化学计量分解理论”认为,有效氮含量较高(富氮条件)可能有助于土壤有机质(soil organic matter, SOM)分解,而“微生物氮挖掘理论”则认为,有效氮含量较低(氮限制条件)更有利于 SOM 分解<sup>[13]</sup>.

土壤可溶性有机质(dissolved organic matter, DOM)虽然占土壤有机质的比例<5%,但作为土壤有机质库中最为活跃的部分,在养分周转中起重要的桥梁作用<sup>[14]</sup>,是反映土壤有机质变化较灵敏的指标之一.DOM 主要组分由可溶性有机碳、氮构成,是森林土壤中碳氮元素重要的存在形式、运输载体<sup>[15-16]</sup>.目前,关于土壤 DOM 的研究主要集中在农田、湿地及温带森林生态系统<sup>[14,17]</sup>,多数研究表明,施氮会加剧土壤中的硝化作用,改变土壤环境,引起

DOM 分解速率下降<sup>[18]</sup>,使得土壤 DOM 含量增加<sup>[19-21]</sup>.也有研究表明,施氮导致毛竹林土壤中可溶性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)和(dissolved organic nitrogen, DON)淋失加剧<sup>[22]</sup>.氮添加对 DOM 数量的影响仍存在较大争议.此外,DOM 质量也是影响有机质积累的一个重要因素<sup>[23]</sup>.元晓春等<sup>[14]</sup>对亚热带杉木幼林土壤溶液 DOM 的研究表明,尽管氮沉降通过降低土壤溶液 pH,提高土壤对 DOM 吸附能力,减少 DOM 数量,但由于氮沉降抑制凋落物分解,使得木质素和纤维素类等难分解的大分子物质的累积<sup>[24]</sup>.研究 DOM 数量和质量的變化可以更好地反映气候变化对土壤有机质的影响<sup>[25]</sup>.随着室内化学分析手段的不断更新和发展,如今对 DOM 化学组成的分析取得了很大进步<sup>[14]</sup>.尤其以三维荧光技术为主,可以测出 DOM 中氨基酸类物质、蛋白质类物质、类溶解性微生物代谢产物、类富里酸物质和类腐殖酸物质的相对含量,成为当前研究的热点<sup>[26-27]</sup>.光谱学研究方法的引入有助于我们对施氮后土壤 DOM 的变化有更全面的了解.

毛竹林在中国占地面积达 443 万  $\text{km}^2$ ,占到全球竹林面积的 73.7%<sup>[28]</sup>,主要分布在中国亚热带地区,已成为中国非木材林产品最重要的来源<sup>[28-29]</sup>,更是世界上最重要的森林类型之一<sup>[30]</sup>.本研究以亚热带毛竹林为研究对象,设置对照(CT)、低氮(LN)和高氮(HN)3 个梯度,进行为期 3 年的施氮处理,通过测定土壤基本理化性质、DOM 的数量(DOC、DON 含量)、质量(光谱学特征)及胞外酶活性,探究氮沉降对土壤 DOM 的影响,以期揭示土壤微生物及有机质在氮沉降背景下的相互影响机制.

## 1 研究地区与研究方法

### 1.1 研究区概况

戴云山位于福建省泉州市德化县内,属于典型的

亚热带海洋性季风气候<sup>[29]</sup>.年平均气温20℃,其中,最冷月(1月)气温6.5~10.5℃,最热月(7月)气温23~27.5℃;年降水量为1700~2000 mm(主要集中在3—9月);年均雾日达220 d;年平均相对湿度80%.

## 1.2 试验设计与取样

2014年8月开始,在毛竹林内设置施氮样地,包括对照(CT)、低氮(LN)和高氮(HN)3种施氮处理,每个处理设置3个重复样区,共设置9块大小为3 m×10 m的样方,各样地之间间隔2 m作为缓冲带防止相互干扰.

施氮处理:在9块样方内,根据研究地实际大气氮沉降背景值<sup>[31]</sup>,设置0 kg N·hm<sup>-2</sup>·a<sup>-1</sup>(CT)、20 kg N·hm<sup>-2</sup>·a<sup>-1</sup>(LN)和40 kg N·hm<sup>-2</sup>·a<sup>-1</sup>(HN)3个水平,选用硝酸铵(分析纯)进行施氮处理.将每个处理样区所需施加的硝酸铵溶解于20 L去离子水中,用背式喷雾器人工均匀喷洒于各样区中,对照处理喷洒等量的去离子水.在每年生长季(3—9月)施肥,全年分7个月平均喷施.2017年9月在每个样方随机取5个点混合均匀,去除表面凋落物,将采集的表层土壤(0~15 cm)迅速带回实验室处理.去除石砾、碎屑以及植物根系,取一部分样品置于4℃冰箱中保存,用于测定土壤酶活性;一部分过2 mm土壤筛,取一部分鲜土用于提取DOM,另取一部分自然风干后测定土壤有机碳及全氮含量.

## 1.3 测定指标及方法

**1.3.1 土壤指标测定** 土壤碳和全氮用碳氮元素分析仪(Elementar Vario ELIII,德国)测定.土壤pH通过玻璃电极pH计(STARTER 300, OHAUS, 美国)测定,水土比为2.5:1.土壤矿质氮测定,称取5 g鲜土加入20 mL 2 mol·L<sup>-1</sup> KCl进行浸提,振荡离心后,上清液经定量滤纸过滤,用连续流动分析仪(Skalar san++, 荷兰)测定矿质氮含量<sup>[32]</sup>.

土壤可溶性有机碳氮测定,用去离子水浸提,水土比为2:1,振荡30 min后,以4000 r·min<sup>-1</sup>离心30 min,经0.45 μm滤膜抽滤,用总有机碳分析仪(TOC-VCPH/CPN, Shimadzu, 日本)测定滤液中可溶性有机碳含量,用连续流动分析仪测定滤液中的总氮(TN)、铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)和硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)含量,用公式: DON = TN - (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) - (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)<sup>[33]</sup>计算土壤可溶性有机氮含量.

土壤微生物生物量碳、氮采用氯仿熏蒸-硫酸钾浸提法<sup>[34]</sup>,用总有机碳分析仪测定提取液中有机碳含量,用连续流动分析仪测定提取液中总氮含量.土壤微生物生物量碳(MBC)计算公式为:  $MBC = \Delta E_c /$

$k_c$ ,式中:  $\Delta E_c$  为熏蒸与未熏蒸土壤有机碳含量的差值;  $k_c$  为微生物碳的浸提系数,为0.45.土壤微生物生物量氮(MBN)的计算公式为:  $MBN = \Delta E_N / k_N$ ,式中:  $k_N$  为微生物氮的浸提系数,为0.54.

土壤酶活性参照 Saiya-Cork 等<sup>[35]</sup>提出的方法测定纤维素水解酶(CBH)、β-葡萄糖苷酶(βG)、多酚氧化酶(PHO)、过氧化物酶(PEO)活性,具体方法如下:取1 g新鲜土壤,加入125 mL的醋酸盐缓冲液(50 mmol·L<sup>-1</sup>, pH=5),用磁力搅拌器搅拌5 min使其均质化,待溶液澄清后用移液器取200 μL澄清液移于96孔微孔板.用伞形酮(MUB)作为标示底物测定水解酶活性,用L-二羟苯丙氨酸(DOPA)为底物标示氧化酶活性.微平板置于暗环境下经过20℃恒温培养后,用多功能酶标仪(SpectraMax M5, Molecular Devices, 美国)测定其荧光度(水解酶)或吸光度(氧化酶).

**1.3.2 光谱分析** 用紫外-可见分光光度计(UV-2450, 日本岛津)测定254 nm处的吸光度值.芳香化指数(AI)<sup>[36]</sup>计算公式如下:

$$AI = UV_{254} / C \times 100$$

式中:  $UV_{254}$  为254 nm处的吸光度值(cm<sup>-1</sup>);  $C$  为DOC浓度(mg·L<sup>-1</sup>).AI值可指示有机物芳化度,AI值越大,芳香性越强<sup>[37-38]</sup>.

用F-7000荧光分光光度计测定样品的荧光发射、同步荧光光谱.参数为激发光源:150 W 氙弧灯;PMT电压:700 V;信噪比>110;荧光发射和激发光谱狭缝宽度为5 nm,扫描速度为1200 nm·min<sup>-1</sup>,固定激发波长254 nm,荧光发射光谱波长范围为300~480 nm,荧光同步光谱范围250~500 nm.荧光发射光谱腐殖化指数(HIX<sub>em</sub>)的计算公式如下:

$$HIX_{em} = S_{435 \sim 480} / S_{300 \sim 345}$$

式中:  $S_{435 \sim 480}$  为发射光谱中波长435~480 nm的面积;  $S_{300 \sim 345}$  为发射光谱中波长300~345 nm的面积.

荧光同步光谱腐殖化指数(HIX<sub>syn</sub>)的计算公式如下:

$$HIX_{syn} = I_{460} / I_{345}$$

式中:  $I_{460}$  为同步光谱中波长460 nm处的荧光强度;  $I_{345}$  为同步光谱中波长345 nm处的荧光强度<sup>[25,39]</sup>.HIX值可用来表征DOM的腐殖化程度,HIX越大,说明DOM中分子构成越复杂,π-π共轭体系越大,腐殖类物质如缩合芳环和大分子化合物的含量越高<sup>[40]</sup>.

FTIR 光谱分析:用 Nicolet Magna FTIR 550 将1 mg 冷冻干燥的DOM样品与400 mg 干燥的溴化钾



表 1 红外吸收峰的主要归属<sup>[41-42]</sup>  
Table 1 Main attribution of infrared absorption peaks [41-42]

图谱区域 Spectral region	波数 Wave number ( $\text{cm}^{-1}$ )	主要归属 Main attribution
1	3300~4000	氢键中结合的-COOH、醇及苯酚中的-OH的伸缩振动,N-H的伸缩振动
2	2850~3000	脂肪族 C-H、C-H <sub>2</sub> 、C-H <sub>3</sub> 的伸缩振动
3	1625~1644	木质素中与芳香环相连的 C=O 伸缩振动以及有机羧酸盐 COO <sup>-</sup> 的反对称伸缩振动
4	1300~1475	饱和 C-H 面内的弯曲振动
5	1000~1260	多糖类、醇类、羧酸类及酯类 C-O 的伸缩振动
6	700~1000	烯烃双键上的 C-H 键面外摇摆震动
7	400~600	卤化物键 C-Br、C-I

研细混匀,在  $10\text{ t}\cdot\text{cm}^{-2}$  压强下压成薄片并维持 1 min,测定并记录其光谱,波谱扫描范围为  $400\sim4000\text{ cm}^{-1}$ <sup>[14]</sup>.表 1 为红外吸收峰的主要归属.

F-7000 荧光分光光度计测定样品的三维荧光光谱.三维荧光光谱测定带通(Bandpass):激发波长  $\lambda_{\text{Ex}}=5\text{ nm}$ ,发射波长  $\lambda_{\text{Em}}=5\text{ nm}$ ;响应时间设为自动( $0.1\text{ s}$ );扫描速度: $2400\text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$ ;扫描波长范围为: $\lambda_{\text{Ex}}=200\sim450\text{ nm}$ , $\lambda_{\text{Em}}=250\sim600\text{ nm}$ ;扫描光谱进行仪器自动校正.表 2 为三维荧光峰的主要归属.

1.4 数据处理

采用 Excel 2013 和 SPSS 21.0 软件对数据进行统计分析.采用单因素方差分析(one-way ANOVA)

表 2 三维荧光峰的主要归属<sup>[26]</sup>  
Table 2 Main attributions of the three-dimensional fluorescence peaks<sup>[26]</sup>

荧光谱峰区 Region of flourspar spectrum	激发波长/发射波长 $\lambda_{\text{Ex}}/\lambda_{\text{Em}}$ (nm)	荧光团 Fluorophore
I	200~250/280~330	色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸等类芳香族蛋白质
II	200~250/330~380	类芳香族蛋白质
III	200~250/380~550	类富里酸物质
IV	>250/280~380	类溶解性微生物代谢产物
V	>250/380~550	类腐殖酸物质

表 3 施氮对土壤理化性质的影响  
Table 3 Effects of nitrogen addition on physicochemical properties of the soil

处理 Treatment	pH	土壤有机碳 SOC ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	全氮 TN ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	碳氮比 C/N	可溶性有机碳 DOC ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	可溶性有机氮 DON ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	铵态氮 $\text{NH}_4^+$ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	硝态氮 $\text{NO}_3^-$ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
CT	4.66±0.19a	65.08±18.44a	4.65±1.18a	13.92±0.59a	96.77±11.83a	41.04±15.22a	72.39±15.25a	8.81±3.64b
LN	4.62±0.14a	59.50±10.62a	4.33±0.70a	13.75±0.80a	88.64±34.62a	33.03±4.52a	67.55±15.25a	12.60±2.53ab
HN	4.59±0.12a	63.72±12.29a	4.65±0.73a	13.66±0.50a	121.42±24.91a	46.55±10.05a	84.26±10.03a	16.98±3.65a

CT: 对照 Control; LN: 低氮 Low nitrogen; HN: 高氮 High nitrogen. 不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ ) Different small letters meant significant difference among different treatments at 0.05 level. 下同 The same below.

和 LSD 进行显著性检验( $\alpha=0.05$ ).采用 R(2.1.3.0)进行相关性分析.利用 Origin 9.0 软件绘图.图表中数据为平均值±标准差.

2 结果与分析

2.1 施氮对土壤理化性质的影响

由表 3 可以看出,不同施氮处理间,土壤 pH、SOC、TN、C/N、DOC、DON 和  $\text{NH}_4^+$  含量均无显著差异.施氮提高土壤  $\text{NO}_3^-$  含量,在 HN 处理下差异达到显著水平,为对照的 1.93 倍.

2.2 施氮对土壤微生物生物量碳、氮和酶活性的影响

HN 显著提高 MBC 含量,施氮处理对 MBN 含量无显著影响(表 4).4 种与碳循环相关的酶活性在 LN 处理下均达到最大值,分别为 CT 处理的 1.45、1.97、2.37 和 1.59 倍,仅  $\beta\text{G}$  酶未达到显著差异水平(表 5).

2.3 土壤 DOM 结构特征

2.3.1 施氮对土壤 DOM 芳香化指数和腐殖化指数的影响 由表 6 可以看出,AI 值和  $\text{HIX}_{\text{syn}}$  值不受施氮处理的影响.施氮显著提高  $\text{HIX}_{\text{em}}$  值,LN 和 HN 分别为 CT 的 1.74 和 1.37 倍.

2.3.2 施氮对土壤 DOM 荧光光谱特征的影响 各处理的发射荧光光谱所得到的峰型相似(图 1),土

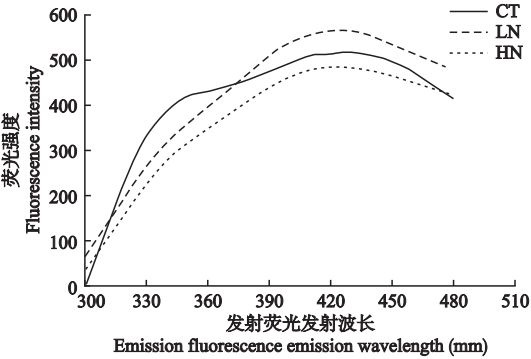


图 1 施氮处理下土壤 DOM 荧光发射光谱图  
Fig.1 Fluorescence emission spectra of soil DOM under N application.  
CT: 对照 Control; LN: 低氮 Low nitrogen; HN: 高氮 High nitrogen. 下同 The same below.

表 4 施氮对土壤微生物生物量的影响  
Table 4 Effects of nitrogen addition on soil microbial bio-mass

指标 Indicator	CT	LN	HN
微生物量碳 MBC ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	0.66±0.23b	0.64±0.19b	1.20±0.23a
微生物量氮 MBN ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	0.19±0.03a	0.16±0.03a	0.14±0.02a
MBC/MBN	3.46±1.09b	4.11±1.27b	8.36±1.23a

表 5 施氮对土壤微生物酶活性的影响  
Table 5 Effects of nitrogen addition on soil microbial en-  
zyme activities

指标 Indicator	CT	LN	HN
纤维素水解酶 CBH	2.87±0.69ab	4.15±0.70a	1.67±0.65b
$\beta$ -葡萄糖苷酶 $\beta\text{G}$	3.00±0.71a	5.91±2.04a	5.04±1.45a
多酚氧化酶 PHO	1.83±0.57b	4.34±0.88a	2.93±0.75ab
过氧化物酶 PEO	5.51±1.28b	8.74±2.12a	7.92±0.65ab

表 6 施氮对土壤芳香化及腐殖化指数的影响  
Table 6 Effects of nitrogen addition on soil aromatic and  
humic indices

指标 Indicator	CT	LN	HN
芳香化指数 AI ( $\text{L} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	0.27 ± 0.05a	0.30 ± 0.10a	0.23 ± 0.04a
腐殖化指数 HIX <sub>em</sub>	1.75 ± 0.09c	3.04 ± 0.39a	2.39 ± 0.35b
腐殖化指数 HIX <sub>syn</sub>	0.21 ± 0.07ab	0.33 ± 0.06a	0.20 ± 0.05b

壤 DOM 的波峰所对应的波长主要集中在 427~435 nm, LN 处理下, DOM 波峰所对应的波长最大. CT 在 352 nm 处出现波峰, 施氮处理后该波峰消失.

2.3.3 施氮对土壤 DOM 同步荧光光谱特征的影响

同步荧光光谱中, 3 种处理土壤 DOM 样品的特征峰主要有 3 个(图 2), 分别为: 1) 代表类蛋白质基团, 如芳香氨基酸等; 2) 代表芳香性脂肪族基团; 3)  $\lambda_{\text{Ex}}=450\sim453\text{ nm}$ , 代表木质素类基团<sup>[14]</sup>. 各处理产生特征峰的位置大致相同, 但相对峰面积不同. 总体

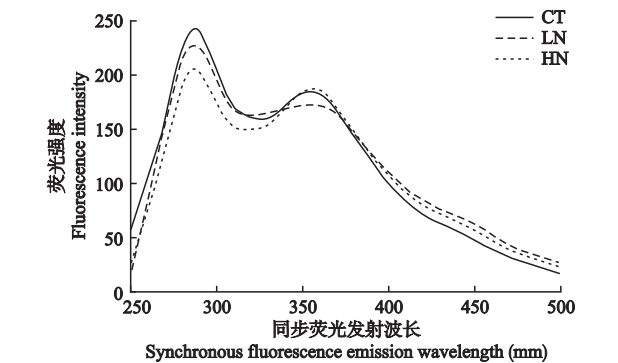


图 2 施氮处理下土壤 DOM 荧光同步光谱图  
Fig.2 Synchronous fluorescence spectra of soil DOM under N application.

上, CT 在  $\lambda_{\text{Ex}}=285\sim290\text{ nm}$  和  $349\sim381\text{ nm}$  两个波长附近的相对峰面积均较大. HN 在  $285\sim290\text{ nm}$  处峰面积最小, LN 在  $349\sim381\text{ nm}$  处峰面积最小.

2.3.4 施氮对土壤 DOM 傅里叶红外光谱特征的影响

各处理间, DOM 的红外光谱吸收峰位置基本一致, 主要出现在 7 个区域(表 1), 但透光度强弱有所差异(图 3). 其中,  $3300\sim4000$ 、 $1000\sim1200$ 、 $470\sim538\text{ cm}^{-1}$  处存在较强的吸收峰. 在 CT 和 LN 处理下,  $1000\sim1200\text{ cm}^{-1}$  附近存在一个强而宽的吸收峰. 而 HN 处理下, 在  $1000\sim1200\text{ cm}^{-1}$  处吸收峰变弱. 总体而言, 施氮处理使大多数的吸收峰都有所增强( HN 处理下  $912\text{ cm}^{-1}$  和  $470\sim538\text{ cm}^{-1}$  处吸收峰除外). LN 处理下, 土壤 DOM 吸收峰最强烈.

2.3.5 施氮对土壤 DOM 三维荧光的影响

根据 Chen 等<sup>[26]</sup> 提出的荧光区域积分法, 将图谱划分为 5 个区域(图 4). 土壤 DOM 荧光峰主要位于 3 个比较大的区域, 即 II 区( $\lambda_{\text{Ex}}$  和  $\lambda_{\text{Em}}$  分别在  $200\sim250$  和  $330\sim380\text{ nm}$ ) 的类芳香族蛋白质荧光峰 a、IV 区( $\lambda_{\text{Ex}}$  和  $\lambda_{\text{Em}}$  分别在  $250\sim280$  和  $280\sim380\text{ nm}$ ) 的类溶解性微生物代谢产物荧光峰 c 和 V 区( $\lambda_{\text{Ex}}$  和  $\lambda_{\text{Em}}$  分别在  $>250$  和  $380\sim550\text{ nm}$ ) 的类腐殖酸物质荧光峰 d. LN 处理下, c 峰面积减小, 而 HN 处理下的 a 峰和 c 峰完全消失.

2.4 土壤 AI、HIX 的相关性分析

由图 5 可以看出, HIX<sub>em</sub> 与 PEO 酶活性呈极显著正相关关系, 即 PEO 酶活性会随着腐殖化程度的提高而升高. HIX<sub>syn</sub> 与 DON 含量呈极显著负相关关系, 即土壤腐殖化程度会随 DON 含量的减少而增加. AI 值与 DOC 含量和 DOC/DON 均呈显著负相关关系, 即土壤芳香化程度会随 DOC 含量的减少而增加.

3 讨 论

3.1 施氮对 DOC 和 DON 含量的影响

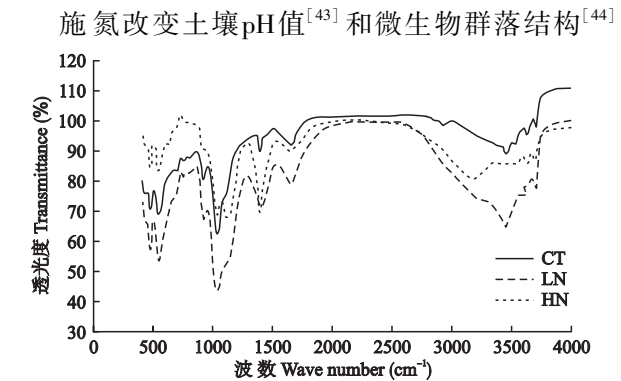


图 3 施氮处理下土壤 DOM 红外光谱  
Fig.3 Infrared spectra of soil DOM under N application.

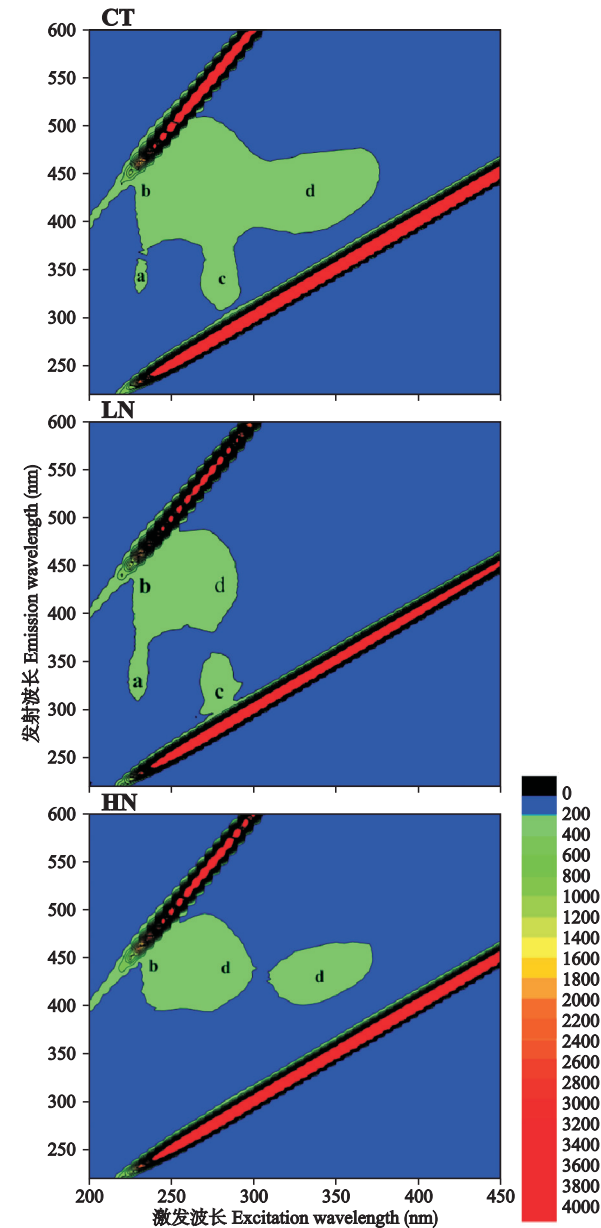


图 4 施氮处理下土壤 DOM 的三维荧光光谱  
**Fig.4** Three-dimensional fluorescence spectrum of soil DOM under N application.  
a) 类芳香族蛋白质 Aromatic protein; b) 类溶解性微生物代谢产物 Soluble microbial by-product-like; c) 类富里酸物质 Fulvic acid-like; d) 类腐殖酸物质 Humic acid-like.

是造成 DOM 数量变化的主要原因。pH 影响土壤 DOM 的吸附、解吸附过程,对其溶解性有直接影响<sup>[45]</sup>。pH 在 4~5 时,土壤对 DOC 的吸附量最大,而在较高或较低 pH 下,土壤对 DOC 的吸附量均下降<sup>[46]</sup>。通常情况下,施氮酸化土壤,然而本研究中,施氮处理并未改变土壤 pH 值,这可能是导致 DOM 含量无显著差异的主要原因。施氮对土壤的酸化程度主要与生态系统类型、原土壤 pH 值、氮沉降速率、持续时间以及施氮类型有关<sup>[47]</sup>。在全球尺度上,

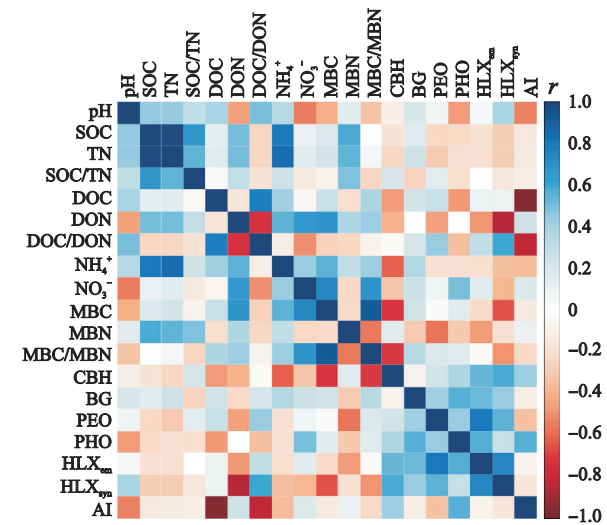


图 5 土壤芳香化指数(HIX)、腐殖化指数(AI)与各指标的相关分析  
**Fig.5** Correlation analysis of HIX and AI in the soil with indicators.

SOC: 土壤有机碳 Soil organic carbon; TN: 全氮 Total nitrogen; DOC: 可溶性有机碳 Dissolved organic carbon; DON: 可溶性有机氮 Dissolved organic nitrogen;  $\text{NH}_4^+$ : 铵态氮 Ammonium nitrogen;  $\text{NO}_3^-$ : 硝态氮 Nitrate; MBC: 微生物生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN: 微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen; CBH: 纤维素水解酶 Cellulolytic enzyme;  $\beta\text{G}$ :  $\beta$ -葡萄糖苷酶  $\beta$ -glucosidase; PEO: 过氧化物酶 Peroxidase; PHO: 多酚氧化酶 Polyphenol oxidase.

氮沉降使陆地生态系统土壤 pH 下降 0.26 个单位,其中,草地土壤的下降趋势最大,为 0.49,而森林土壤仅为 0.15<sup>[47]</sup>。并且,当土壤 pH 值处于 3~4 时,土壤 pH 对于氮添加较不敏感,这与土壤的缓冲机制有关<sup>[48]</sup>。本试验样地为森林生态系统,对照组的 pH 值为 4.66,接近于不敏感区间,并且考虑到施氮时间为 3 年,因此施氮后土壤 pH 无显著变化。

本研究中,施氮处理对土壤 DON 和  $\text{NH}_4^+$  含量无显著影响,而 HN 处理下,  $\text{NO}_3^-$  含量显著增加(表 2)。这可能是由于 HN 处理下硝化细菌的丰度显著提高,进而促进土壤中  $\text{NO}_3^-$  含量<sup>[49]</sup>。Fang 等<sup>[50]</sup>对亚热带森林土壤溶液的采集发现,DON 是氮富集地区氮损失的主要途径,其通量显著大于温带森林。当土壤中有效氮含量较高时,无论是硝化还是反硝化作用都容易形成化学性质极为活泼的中间产物  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  容易进一步与土壤有机质发生反应而形成 DON<sup>[51-52]</sup>。本研究中 DON 含量在施氮处理间无显著差异,这可能受到土壤异质性的影响。

### 3.2 施氮对 DOM 性质的影响

不同施氮处理下土壤 DOM 的傅里叶红外光谱吸收带谱出现的位置均相似(图 3),但吸收强度有所差异。对照在归属于脂肪族 C-H、C-H<sub>2</sub>、C-H<sub>3</sub> 的伸缩振动的 2923  $\text{cm}^{-1}$  处出现了小而尖的吸收峰,但在



施氮处理中该吸收峰消失,归属于醇及苯酚的伸缩振动( $3300\sim4000\text{ cm}^{-1}$ )和饱和 C-H 面内的弯曲振动( $1380\text{ cm}^{-1}$ )强度均有所增强,此外,所有处理最强吸收峰均出现在 $1000\sim1260\text{ cm}^{-1}$ 处,此归属多糖类、醇类、羧酸类及酯类 C-O 的伸缩振动.说明施氮后可能将脂肪族物质转化为木质素、胺类物质、羧酸类物质、醇类物质和苯酚类、芳香族物质,LN 处理会使这种转化过程更强烈.元晓春等<sup>[14]</sup>通过负压法对亚热带杉木人工林土壤溶液 DOM 的研究结果表明,施氮可能通过增加土壤溶液中胺类物质的含量,从而增加土壤溶液腐殖化程度.

本研究中, $\lambda_{\text{ex}}285\sim290\text{ nm}$ 处波峰随着施氮量的增加而下降(图2),即施氮导致类蛋白质物质减少.荧光发射光谱图中波长较短、荧光强度较大的峰,表征 DOM 中存在分子结构较简单、缩合度较低的易分解物质;而缩合度较高的难分解有机物在荧光发射光谱图中主要表现为波长较长、荧光强度较小的峰<sup>[53]</sup>.本研究波峰向长波方向移动,土壤腐殖化程度变高,其腐殖化程度(HIX)为 $\text{LN}>\text{HN}>\text{CT}$ .从三维荧光光谱进一步分析 DOM 组分的差异,结果表明,LN 处理使土壤中结构简单的蛋白质、微生物代谢产物和类腐殖酸物质含量均显著增加,而 HN 处理下土壤中结构简单的类蛋白质物质和类溶解性微生物代谢产物完全消失,只剩下结构复杂的类腐殖酸物质(图4).LN 处理下,PEO 和 PHO 酶活性达到最强,表明 LN 促进土壤中芳香类化合物的分解,而分解后的非芳香类物质经过复杂的腐殖化过程可提高土壤腐殖化程度.Waldrop 等<sup>[53]</sup>的研究也表明,施氮导致进入土壤的植物凋落叶含量增加,参与木质素分解的 PEO 和 PHO 酶活性提高,而 PEO 和 PHO 酶又会参与到土壤腐殖质的合成中<sup>[54-55]</sup>,影响到土壤腐殖化程度.

### 3.3 酶活性与 DOM 数量和质量之间的关系

相关分析结果表明,PEO 酶活性会随着腐殖化程度的提高而升高.LN 处理下,PEO 和 PHO 等酶活性达到最大值.表明 LN 处理通过提高土壤有效氮含量,促进微生物对土壤有机质进行分解,进而造成其 DOC 含量较低.同时,由于氧化酶和水解酶的作用,LN 处理下,被分解的物质经过腐殖化过程而形成腐殖化程度高的有机物质.尽管本地区氮水平较高,但由于毛竹高速生长的特点,微生物在与其养分竞争中处于不利地位<sup>[55]</sup>,LN 处理可能刚好满足了微生物的需求,土壤 C/N 与微生物需求相匹配,因此,本研究结果更符合“化学计量分解理论”.

## 4 结 论

DOM 是土壤中重要的有机组分,是土壤肥力的重要指示剂.氮沉降对亚热带毛竹林土壤 DOM 含量无显著影响,这可能主要是亚热带地区土壤本身就偏酸性,短期施氮对土壤 pH 无显著影响,土壤吸附作用变化不明显造成的.然而,施氮显著改变了 DOM 结构,施低氮使得土壤氮与微生物需求相适应,土壤微生物活性较高,分解了 DOM 中易降解的物质,并通过分泌大量的氧化酶,将 DOC 和 DON 转化成类腐殖酸类物质.本试验样区氮沉降模拟试验还需持续进行,以便更好地探究土壤 DOM 对氮沉降的长期响应,为探究氮沉降条件下亚热带毛竹林土壤的碳源碳汇问题提供理论依据.

## 参考文献

- [1] Galloway JN, Townsend AR, Erisman JW, *et al.* Transformation of the nitrogen cycle: Recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 2008, **320**: 889-892
- [2] Tatenos M, Chapin FS. The logic of carbon and nitrogen interactions in terrestrial ecosystems. *American Naturalist*, 1997, **149**: 723-744
- [3] LeBauer DS, Treseder KK. Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology*, 2008, **89**: 371-379
- [4] Xia JY, Wan SQ. Global response patterns of terrestrial plant species to nitrogen addition. *New Phytologist*, 2008, **179**: 428-439
- [5] Liu LL, Greaver GL. A global perspective on below-ground carbon dynamics under nitrogen enrichment. *Ecology Letters*, 2010, **13**: 819-828
- [6] Xu XF, Schimel JP, Janssens JM, *et al.* Global pattern and controls of soil microbial metabolic quotient. *Ecological Monographs*, 2017, **87**: 429-441
- [7] Cotrufo MF, Wallenstein MD, Boot CM, *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? *Global Change Biology*, 2013, **19**: 988-995
- [8] And KT, Farrell RL. Enzymatic combustion: The microbial degradation of lignin. *Annual Review of Microbiology*, 1987, **41**: 465
- [9] Zhou J-C (周嘉聪), Liu X-F (刘小飞), Zheng Y (郑永), *et al.* Effects of nitrogen deposition on soil microbial biomass and enzyme activities in *Castanopsis carlesii* natural forests in subtropical regions. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2017, **37**(1): 127-135 (in Chinese)
- [10] Craine JM, Morrow C, Fierer N. Microbial nitrogen limitation increases decomposition. *Ecology*, 2007, **88**:

- 2105–2113
- [11] Hessen DO, Agren GI, Anderson TR, *et al.* Carbon sequestration in ecosystems: The role of stoichiometry. *Ecology*, 2004, **85**: 1179–1192
  - [12] Moorhead DL, Sinsabaugh RL. A theoretical model of litter decay and microbial interaction. *Ecological Monographs*, 2006, **76**: 151–174
  - [13] Chen R, Senbayram M, Blagodatsky S, *et al.* Soil C and N availability determine the priming effect: Microbial N mining and stoichiometric decomposition theories. *Global Change Biology*, 2014, **20**: 2356–2367
  - [14] Yuan X-C (元晓春), Chen Y-M (陈岳民), Yuan S (袁 硕), *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. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2017, **28**(1): 1–11 (in Chinese)
  - [15] Kalbitz K, Solinger S, Park JH, *et al.* Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: A review. *Soil Science*, 2000, **165**: 277–304
  - [16] Mchale MR, Myron MJ, Nell JJ, *et al.* Nitrogen solutes in an Adirondack forested watershed: Importance of dissolved organic nitrogen. *Biogeochemistry*, 2000, **48**: 165–184
  - [17] Xu XF, Han L, Luo XB, *et al.* Effects of nitrogen addition on dissolved  $N_2O$  and  $CO_2$ , dissolved organic matter, and inorganic nitrogen in soil solution under a temperate old-growth forest. *Geoderma*, 2009, **151**: 370–377
  - [18] Pu X-T (蒲晓婷). Effects of Simulated Warming and Nitrogen Deposition on Soil Respiration and SOM in Soil Solution. PhD Thesis. Fuzhou: Fujian Normal University, 2016 (in Chinese)
  - [19] Pregitzer KS, Zak DR, Burton AJ, *et al.* Chronic nitrate addition dramatically increase the export of carbon and nitrogen from northern hardwood ecosystems. *Biogeochemistry*, 2004, **68**: 179–197
  - [20] Fröberg M, Grip H, Tipping E, *et al.* Long-term effects of experimental fertilization and soil warming on dissolved organic matter leaching from a spruce forest in Northern Sweden. *Geoderma*, 2013, **200**: 172–179
  - [21] Tu L-H (涂利华), Hu T-X (胡庭兴), Zhang J (张健), *et al.* Effects of simulated nitrogen deposition on soil active carbon pool and root biomass in *Neosinocalamus affinis* plantation, Rainy Area of West China. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2010, **30**(9): 2286–2294 (in Chinese)
  - [22] Zhao FL, Sun HF, Li Q, *et al.* Effect of nitrogen deposition on soil dissolved organic carbon and nitrogen in moso bamboo plantations strongly depend on management practice. *Forests*, 2017, **8**: 452
  - [23] Zsolnay A, Baigar E, Jimenez M, *et al.* Differentiating with fluorescence spectroscopy the source of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere*, 1999, **38** 1: 45–50
  - [24] Zhou S-X (周世兴), Huang C-D (黄从德), Xiang Y-B (向元彬), *et al.* Effects of simulated nitrogen deposition on lignin and cellulose degradation of foliar litter in natural evergreen broad-leaved forest in Rainy Area of Western China. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2016, **27**(5): 1368–1374 (in Chinese)
  - [25] Liu Z (刘 翥), Yang Y-S (杨玉盛), Zhu J-M (朱锦懋), *et al.* Effects of forest conversion on quantities and spectroscopic characteristics of soil dissolved organic matter in subtropical China. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2015, **35**(19): 6288–6297 (in Chinese)
  - [26] Chen W, Westerhoff P, Leenheer JA, *et al.* Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology*, 2003, **37**: 5701–5710
  - [27] Huang Z-C (黄泽春), Chen T-B (陈同斌), Lei M (雷 梅). Environmental effects of dissolved organic matters in terrestrial ecosystems: A review. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2002, **22**(2): 259–269 (in Chinese)
  - [28] Song X, Zhou G, Jiang H, *et al.* Carbon sequestration by Chinese bamboo forests and their ecological benefits: Assessment of potential, problems, and future challenges. *Environmental Reviews*, 2011, **19**: 418–428
  - [29] Song X, Chen X, Zhou G, *et al.* Observed high and persistent carbon uptake by Moso bamboo forests and its response to environmental drivers. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2017, **247**: 467–475
  - [30] FAO. Global Forest Resources Assessment 2010: Main Report. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2010
  - [31] Yuan L (袁 磊), Li W-Z (李文周), Chen W-W (陈文伟), *et al.* Characteristics of nitrogen deposition in Daiyun Mountain National Nature Reserve. *Environmental Science* (环境科学), 2016, **37**(11): 4142–4146 (in Chinese)
  - [32] Huang ZQ, Wan XH, He ZM, *et al.* Soil microbial biomass, community composition and soil nitrogen cycling in relation to tree species in subtropical China. *Soil Biology & Biochemistry*, 2013, **62**: 68–75
  - [33] Jones DL, Willett VB. Experimental evaluation of method to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, **38**: 991–999
  - [34] Vance ED, Brooks PC, Jenkinson DS. An extraction method for measuring soil microbial biomass. *Soil Biology & Biochemistry*, 1987, **19**: 703–707
  - [35] Saiya-Cork KR, Sinsabaugh RL, Zak DR. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, **34**: 1309–1315
  - [36] Saadi I, Borisover M, Armon R, *et al.* Monitoring of effluent DOM biodegradation using fluorescence, UV and DOC measurements. *Chemosphere*, 2006, **63**: 530–539
  - [37] Weishaar JL, Aiken GR, Bergamaschi BA, *et al.* Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator



- of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environmental Science and Technology*, 2003, **37**: 4702–4708
- [38] Yuan X-C (元晓春), Lin W-S (林伟盛), Pu X-T (蒲晓婷), *et al.* Effects of forest regeneration patterns on the quantity and chemical structure of soil solution dissolved organic matter in a subtropical forest. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2016, **27** (6): 1845–1852 (in Chinese)
- [39] Kalbitz K, Geyer W, Geyer S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances; A reflection of land use history in a fen area. *Biogeochemistry*, 1999, **47**: 219–238
- [40] Bu XL, Ding J, Wang L, *et al.* Biodegradation and chemical characteristics of hot-water extractable organic matter from soils under four different vegetation types in the Wuyi Mountains, southeastern China. *European Journal of Soil Biology*, 2011, **47**: 102–107
- [41] Kaiser K, Zech W. Natural organic matter sorption on different mineral surfaces studied by DRIFT spectroscopy. *Sciences of Soils*, 1997, **2**: 71–74
- [42] Du T-F (杜廷发). Chinese English Contrast Organic Spectral Analysis. Changsha: National University of Defense Technology Press, 2001 (in Chinese)
- [43] Evans C, Goodale C, Caporn S, *et al.* Does elevated nitrogen deposition or ecosystem recovery from acidification drive increased dissolved organic carbon loss from upland soil? A review of evidence from field nitrogen addition experiments. *Biogeochemistry*, 2008, **91**: 13–35
- [44] Waldrop M, Zak D. Response of oxidative enzyme activities to nitrogen deposition affect soil concentrations of dissolved organic carbon. *Ecosystems*, 2006, **9**: 921–933
- [45] Molina R, Moreno S, Vieira-Coelho A, *et al.* Is a universal model of organic acidity possible: Comparison of the acid/base properties of dissolved organic carbon in the boreal and temperate zones. *Environmental Science & Technology*, 2003, **37**: 1726–1730
- [46] Pisani O, Frey SD, Simpson AJ, *et al.* Soil warming and nitrogen deposition alter soil organic matter composition at the molecular-level. *Biogeochemistry*, 2015, **123**: 391–409
- [47] Tian DS, Niu SL. A global analysis of soil acidification caused by nitrogen addition. *Environmental Research Letters*, 2015, **10**: 024019
- [48] Bowman WD, Cleveland CC, Halada L, *et al.* Negative impact of nitrogen deposition on soil buffering capacity. *Nature Geoscience*, 2008, **1**: 767–770
- [49] Zhong Y, Yan WM, Shangguan ZP. Impact of long-term N additions upon coupling between soil microbial community structure and activity, and nutrient-use efficiencies. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, **91**: 151–159
- [50] Fang Y, Zhu W, Gundersen P, *et al.* Large loss of dissolved organic nitrogen from nitrogen-saturated forests in subtropical China. *Ecosystems*, 2009, **12**: 33–45
- [51] Dail BD, Davidson EA, Chorover J. Rapid abiotic transformation of nitrate in an acid forest soil. *Biogeochemistry*, 2001, **54**: 131–146
- [52] Fitzhugh RD, Lovett GM, Venterea RT. Biotic and abiotic immobilization of ammonium, nitrite, and nitrate in soils developed under different tree species in the Catskill Mountains, New York, USA. *Global Change Biology*, 2010, **9**: 1591–1601
- [53] Waldrop MP, Zak DR, Sinsabaugh RL, *et al.* Nitrogen deposition modifies soil carbon storage through changes in microbial enzymatic activity. *Ecological Applications*, 2004, **14**: 1172–1177
- [54] Liu JG, Zhang W, Li YB, *et al.* Effects of long-term continuous cropping system of cotton on soil physical-chemical properties and activities of soil enzyme in Oasis in Xinjiang. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, **42**: 725–733
- [55] Saiya-Cork KR, Sinsabaugh RL, Zak DR. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, **34**: 1309–1315

---

作者简介 程 蕾,女,1993 年生,硕士.主要从事生态学研究. E-mail: 969666455@qq.com

责任编辑 杨 弘

---