

花椒 (*Zanthoxylum bungeanum*) 凋落物分解过程中 酚酸的释放及其浸提液对土壤化学性质的影响

梁晓兰^{1,2}, 潘开文^{1,*}, 王进闯¹

(1. 中国科学院成都生物研究所, 成都 610041; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要:应用分解网袋法研究了花椒凋落物分解过程中(0、10、30 d 和 60 d)酚酸的释放动态及凋落物浸提液对花椒林地土壤化学性质的影响。结果表明:花椒凋落物在分解过程中呈现出明显的毒性动态。凋落物分解的 60 d 中,凋落物残留量在前 30 d 内变化最大,30 d 后无显著变化;凋落物中酚酸含量随分解时间的延长,呈显著降低的趋势,且在分解 10 d 时,酚酸释放量最大。4 个分解动态的凋落物浸提液显著地改变了土壤好气性自生固氮菌、氨化细菌、好气性纤维素分解菌的数量和土壤 pH 值、酚酸含量、铵态氮、有效磷等化学性质。不同分解时间的凋落物浸提液均造成了土壤 pH 值的显著升高;分解 10 d 的凋落物浸提液对土壤铵态氮的含量具有显著的降低作用,对土壤好气性自生固氮菌和氨化细菌的生长均具有显著的促进作用,而对好气性纤维素分解菌的生长具有抑制作用;分解 60 d 的凋落物浸提液显著地降低了土壤酚酸含量,对土壤有效磷含量具有显著的升高作用,对好气性自生固氮菌的生长具有抑制作用,而对好气性纤维素分解菌的生长具有促进作用。

关键词:化感作用;花椒;凋落物分解;酚酸;土壤化学性质

文章编号:1000-0933(2008)10-4676-09 中图分类号:Q142,Q948 文献标识码:A

Releasing dynamics of phenolic acid during *Zanthoxylum bungeanum* litter decomposition and effects of its aqueous extract on soil chemical properties

LIANG Xiao-Lan^{1,2}, PAN Kai-Wen^{1,*}, WANG Jin-Chuang¹

1 Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

2 Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(10): 4676 ~ 4684.

Abstract: Releasing dynamics of phenolic acid during *Zanthoxylum bungeanum* litter decomposition (0, 10, 30 and 60 days) and the effects of its aqueous extract on soil chemical properties were investigated using the litter bag method. The results showed an occurrence of phytotoxicity with clear dynamic patterns during *Zanthoxylum bungeanum* litter decomposition. The change of remaining litter weight was the largest in the earlier 30 days during 60-day litter decomposition, and there was no significant difference in subsequent 30 days. The phenolic acid content of litter was significantly reduced with the decomposition time prolonging, and the releasing quantity of phenolic acid was the highest at the tenth day. The amounts of soil Aerobic azotobacter, Ammonifier and Aerobic cellulose-decomposer and the soil chemical

基金项目:中国科学院-乐山市院地科技合作资助项目;中国科学院西部之光联合学者资助项目;国家“十五”和“十一五”科技攻关资助项目(2006BAC01A15);中国科学院知识创新工程重大项目(KZCX2-XB2-02-01-03)

收稿日期:2007-07-05; **修订日期:**2007-12-14

作者简介:梁晓兰(1982 ~),女,山东省临沂市人,硕士生,主要从事植物生态学研究. E-mail: liangxl521@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: pankw@cib.ac.cn

Foundation item: This work was financially supported by the Linkage project of CAS and LeShan, the Talent Program in west China of CAS, National “Tenth Five-year Plan” and “Eleventh Five-Year Plan” Key Project (No. 2006BAC01A15), and National & CAS “Eleventh Five-year Plan” Key Project (No. KZCX2-XB2-02-01-03)

Received date:2007-07-05; **Accepted date:**2007-12-14

Biography: LIANG Xiao-Lan, Master candidate, mainly engaged in plant ecology. E-mail: liangxl521@163.com

properties such as pH, phenolic acid content, NH_4^+ -N and available phosphorus were significantly affected by the litter aqueous extract of four decomposition stages. The pH value in soil was significantly increased in litter aqueous extract of four decomposition stages. The NH_4^+ -N concentration was significantly decreased in soil amended with litter aqueous extract of 10-day decomposition which promoted the growth of Aerobic azotobacter and Ammonifier but inhibited the growth of Aerobic cellulose-decomposer. Available phosphorus concentration was significantly increased and phenolic acid content was significantly decreased in soil amended with litter aqueous extract of 60-day decomposition which inhibited the growth of Aerobic azotobacter but promoted the growth of Aerobic cellulose-decomposer.

Key Words: allelopathy; *Zanthoxylum bungeanum*; litter decomposition; phenolic acid; soil chemical properties

植物化感作用是指植物(含微生物)通过向环境中释放一些特殊的化学物质而对其他植物或微生物产生直接或间接的有害或有益的作用,这些特殊的化学物质叫做化感物质^[1]。化感物质一方面通过植物体释放产生^[2],另一方面通过植物地上和地下部分的残体分解产生^[3,4]。

植物凋落物分解是土壤物质循环和能量转换的主要途径,通过分解逐步把养分归还给土壤,因而分解过程和速率对土壤肥力有重要影响^[5]。但是,植物残体或凋落物分解过程中释放的化感物质也能抑制植物的生长和幼苗的更新^[3,6]。目前,国际上对于植物凋落物的化感作用进行了广泛的研究,研究表明,凋落物在分解过程中呈现出明显的毒性动态^[7~9]。一般来说,凋落物分解的初期表现出最严重的抑制效应,随着凋落物分解的继续其毒性慢慢降低,在分解的后期表现出明显的促进效应^[9,10]。Min 等研究表明:鼠茅凋落物浸提液的毒性随着分解时间的延长而增加,到分解的 60 d 达到最高值,以后逐渐降低^[11]。Bonanomi 等对大蒜茼草施用莎草植物、固氮植物、木本植物和草本植物群落的 25 种植物根和凋落物分解后的浸提液,发现这些浸提液显著地抑制了大蒜茼草根的生长,直到分解 90 d 以后,这种毒性作用才慢慢降低^[12]。植物的毒性动态与植物凋落物在分解过程中化感物质的浓度变化有关^[13,14],因为随着凋落物分解时间的延长,其分解过程中产生的化感物质,在土壤中经过一系列的物理、化学和生物过程的转变,使其化学组成和数量都发生了改变,从而增加或降低了凋落物分解过程中的毒性^[3,15,16]。

凋落物分解的同时释放的化感物质也显著影响着土壤理化性质。酚酸类物质现在被公认为化感物质。Batish 等研究表明,银胶菊凋落物中含有的酚酸类物质影响了土壤 pH 值、电导率、酚酸类物质含量等土壤化学性质以及土壤养分的有效性,从而影响了鹰嘴豆和萝卜幼苗的生长^[17]。Inderjit 通过使用油菜凋落物浸提液对水稻种子进行处理,发现浸提液中酚酸类物质影响了土壤微生物活动和土壤电导率、总酚含量以及氮的固定,从而对水稻幼苗的生长起到了抑制作用^[18]。可见,大多数的研究都侧重于凋落物在分解过程中的毒性对植物生长的影响所呈现出来的动态变化,而对土壤化学和生物学性质的影响的动态研究很少。加强这方面的研究将有助于理解凋落物分解过程中的化感动态对土壤养分循环和土壤质量的影响。

四川省阿坝州茂县,属于典型的干旱河谷地貌,环境恶劣。花椒(*Zanthoxylum bungeanum*)为芸香科落叶灌木或小乔木,抗干旱、耐瘠薄、根系发达、适应能力强,成为当地重要的经济作物。有研究证明,花椒具有化感作用并且花椒叶的浸提液抑制土壤微生物的生长,影响土壤酶的活性^[19,20]。花椒凋落物在长期的自然分解过程中,释放的化感物质可能使酚酸类物质在土壤中积累,造成“土壤中毒”^[19]。这样就需要了解凋落物在分解过程中化感物质酚酸释放的动态规律,进一步认识凋落物分解动态对土壤性质的影响。因此,本文在实验室培养的条件下,通过研究花椒凋落物的动态分解和酚酸的释放以及对土壤化学性质和土壤微生物生理类群的影响,阐明花椒凋落物分解释放酚酸类化感物质的规律和对土壤状况的影响,以期对花椒凋落物的处理措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 凋落物及供试土样的采集

花椒凋落物采集于四川省阿坝州茂县当地 10 年生大红袍花椒林(103°53'58"E,31°41'07"N)。凋落物收

集方法如下:用尼龙网做成半径为 0.5 m,深 20 cm 的圆锥形网兜。2006 年 9 月中旬在花椒林地中随机设置 10 个网兜,用铁丝和木棒固定好,10 月底收集网兜中的凋落物。将收集的凋落物在 40 °C 下烘至恒重,4 °C 冷藏保存。用于分解和室内培养的土壤取自于同一林地 0~20 cm 土层,土样经风干后过 2 mm 筛并充分混合均匀后备用,其基本理化性质:田间持水量为 28.9%,pH 值 5.99(土:水为 1:2.5),全氮含量为 0.97%,全磷含量为 0.048%,有机质含量为 2.92%,总酚含量为 161.99 mg·kg⁻¹,铵态氮和有效磷含量分别为 503.28 mg·kg⁻¹和 27.28 mg·kg⁻¹。

1.2 室内分解实验设计

将凋落物用剪刀剪成约 1 cm 大小,装入孔径为 1 mm 的尼龙网袋中,每个网袋中装入 6 g,分别放入 15 个盛有 1500 g 土壤的花盆中(直径 10 cm,高 20 cm)进行分解实验^[12]。每个盆中的土壤含水量调到田间持水量的(60±5)%^[21],然后将盆放入(20±1)°C 人工智能气候箱中培养^[21,22],在培养过程中每隔 3 d 称 1 次盆的重量,根据失重补充水分。在培养的第 10 天,第 30 天,第 60 天分别取出 5 个重复^[12],小心地去掉凋落物袋表面的泥土,然后在 40 °C 下烘干至恒重。

1.3 浸提液的制备及土样的处理

将分解 0 d(亦即未分解)、10、30 d 和 60 d 后烘干的凋落物放在锥形瓶中用蒸馏水混合,浓度为 50 g·L⁻¹(5%的干重),放在摇床上震荡 5 h,然后将悬浮液离心(4300 r·min⁻¹,10 min),通过 0.22-μm 孔径的滤纸过滤,得到浸提液母液,然后稀释,最后将溶液的浓度定为 50 g·L⁻¹和 25 g·L⁻¹两个浓度^[12]。

另外,将已经风干、过筛的土样分装于 36 个 250 ml 的塑料培养烧杯中,每个烧杯中装入土样 200 g,每个分解动态设置为 3 个处理^[18]:处理 1,对照,土样中浇灌蒸馏水 75 ml;处理 2,土样中浇灌浓度为 50 g·L⁻¹的浸提液 75 ml;处理 3,土样中浇灌浓度为 25 g·L⁻¹的浸提液 75 ml。每个处理 3 个重复,共有 4 个动态。每个分解动态的对照分别标记为:CK1、CK2、CK3、CK4;凋落物浸提液分别标记为:T1(分解 0 d,浓度为 50 g·L⁻¹)、T1'(分解 0 d,浓度为 25 g·L⁻¹);T2(分解 10 d,浓度为 50 g·L⁻¹)、T2'(分解 10 d,浓度为 25 g·L⁻¹);T3(分解 30 d,浓度为 50 g·L⁻¹)、T3'(分解 30 d,浓度为 25 g·L⁻¹);T4(分解 60 d,浓度为 50 g·L⁻¹)、T4'(分解 60 d,浓度为 25 g·L⁻¹)。然后将塑料烧杯放入人工智能气候箱中培养,温度控制在 20 °C,培养 36 h 以后分析土壤的化学性质^[17]。

1.4 指标测定方法

1.4.1 土壤物理、化学性质测定方法

土壤含水量(质量法,GB 7883287);土壤 pH 值(水浸,GB 7859287);土壤有机质(重铬酸钾法,GB 9834288);总酚含量(福林(Folin-Ciocalteu)比色法)^[23];有效磷(盐酸-硫酸浸提-钼锑抗比色法,GB 7853-87);铵态氮(氯化钾浸提-靛酚蓝比色法)^[24]。

1.4.2 凋落物分解速率

凋落物分解速率采用 Olson 的指数模型预估:

$$x/x_0 = e^{-kt}$$

式中, x 为凋落物残留量, x_0 为凋落物初始生物量, t 为时间(a), k 为参数(a⁻¹)^[25]。

1.4.3 浸提液分析

pH 值(6173R 型台式酸度计);总酚含量(福林(Folin-Ciocalteu)比色法)^[23];有效磷(盐酸-硫酸浸提-钼锑抗比色法,GB 7853-87);铵态氮(氯化钾浸提-靛酚蓝比色法)^[24];有机质(重铬酸钾法,GB 9834288)。

1.4.4 微生物分析

好气性自生固氮菌采用改良阿须贝无氮培养基;氮化细菌采用牛肉膏蛋白胨氮化培养基;好气性纤维素分解菌采用赫奇逊氏培养基^[23]。

1.5 数据处理

采用 SPSS(12.0)统计软件进行单因素方差、LSD 和相关性分析($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 花椒凋落物的分解速率及其酚酸含量的变化

花椒凋落物在分解的 30 d 以前分解系数无显著差异为 5.90 a^{-1} 左右,分解 10 d 和 30 d 时的残留量与对照相比都具有显著差异;凋落物分解到 30 d 以后分解系数变小,分解 60 d 时下降到了 3.23 a^{-1} ,分解 60 d 与分解 30 d 时的凋落物残留量无显著差异(表 1)。

凋落物分解 10 d 时,酚酸释放量为 $2.77 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,在 4 个分解动态中达到最大。随着分解时间的延长,酚酸释放量与 10 d 时相比显著降低(表 1)。

以上结果说明,花椒凋落物分解在时间上呈现一定的动态,并且凋落物在分解 10 d 左右酚酸释放量最大,30 d 左右重量变化最大。

表 1 4 个分解动态后凋落物残留量及酚酸含量的变化

Table 1 Remaining litter weight and Phenolic acid content of *Zanthoxylum bungeanum* litter after four decomposition stages

分解时间(d) Decomposition time	凋落物残留量(g) Remaining litter weight	分解系数 $K(\text{a}^{-1})$ Decomposition coefficient	凋落物中酚酸含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) Phenolic acid content
0	$6.0 \pm 0.0\text{a}$	0	$4.26 \pm 0.03\text{a}$
10	$5.1 \pm 0.2\text{b}$	$5.90 \pm 1.28\text{a}$	$1.49 \pm 0.00\text{b}$
30	$3.7 \pm 0.0\text{c}$	$5.88 \pm 0.10\text{a}$	$0.94 \pm 0.00\text{c}$
60	$3.5 \pm 0.2\text{c}$	$3.23 \pm 0.23\text{b}$	$0.86 \pm 0.01\text{d}$

表中数值为平均值 $\pm \text{SE}(n=3)$, 数值后的字母为进行 LSD 多重比较时在 $\alpha = 0.05$ 水平上的差异显著性,同一列中不同字母表示差异显著
The data in the table indicates means $\pm \text{SE}(n=3)$; The letter after the number stands for significant difference at $\alpha = 0.05$ level respectively in the process of LSD multiple comparisons, that are not followed by the same letter in the same row mean significantly different; 下同 The same below

表 2 4 个分解动态后凋落物浸提液的化学性质

Table 2 Chemical characteristics of *Zanthoxylum bungeanum* litter aqueous extract after four decomposition stages

分解时间(d) Decomposition time	浸提液 Aqueous extract	pH	TP ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$\text{NH}_4^+\text{-N}$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	TOC ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
0	T1	$7.67 \pm 0.03\text{c}$	$212.89 \pm 2.17\text{a}$	$26.44 \pm 0.80\text{a}$	$11.96 \pm 0.97\text{d}$	$4.38 \pm 0.13\text{a}$
10	T2	$7.89 \pm 0.05\text{b}$	$74.69 \pm 0.20\text{b}$	$8.45 \pm 0.41\text{c}$	$244.93 \pm 1.09\text{a}$	$1.08 \pm 0.09\text{b}$
30	T3	$8.07 \pm 0.05\text{a}$	$47.11 \pm 0.38\text{c}$	$10.37 \pm 0.14\text{b}$	$161.13 \pm 0.46\text{b}$	$0.52 \pm 0.14\text{c}$
60	T4	$8.09 \pm 0.01\text{a}$	$42.77 \pm 0.64\text{d}$	$9.44 \pm 0.14\text{bc}$	$82.38 \pm 0.76\text{c}$	$0.44 \pm 0.09\text{c}$

2.2 花椒凋落物浸提液对土壤化学性质的影响

由表 2 可以看出,每个分解动态的凋落物浸提液均呈碱性,并且随着凋落物分解时间的延长,其浸提液的 pH 值显著升高。4 个分解动态的凋落物浸提液中,T1 含有较高的酚酸(TP)含量 $212.89 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、有效磷含量 $26.44 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和有机碳含量 $4.38 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,但是铵态氮含量最低 $11.96 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;T2 含有较高的铵态氮含量 $244.93 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

从花椒凋落物分解的 4 个动态来看,每一个动态的浸提液对土壤 pH 值都有显著影响,不同程度地造成了土壤 pH 值的升高,并且高浓度的浸提液对土壤 pH 值的影响更大。与其它分解动态的浸提液相比,T1、T1' 对土壤 pH 值的影响最大,T1 使土壤 pH 值升高到了 6.55,比对照高 0.75(表 3)。

由表 3 可以看出,与土壤总酚含量为 $168.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的对照 CK4 相比,T4、T4' 分别使土壤总酚含量显著地降低为 $153.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $141.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,T4' 对总酚含量的降低作用最显著为 15.8%,其他分解动态的凋落物浸提液对土壤总酚含量没有显著的影响。与土壤有效磷含量为 $27.28 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的对照 CK4 相比,T4、T4' 分别使土壤有效磷的含量显著地升高为 $28.87 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $28.66 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,T4 使有效磷的含量升高了 5.8%,其它分解动态的浸提液对土壤有效磷的含量没有显著的影响。对照 CK1 的土壤铵态氮含量为 $502.61 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,与对照相比,T1 使土壤铵态氮的含量显著地降低为 $465.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,降低了 7.4%,其它动态的浸提液对土壤铵态氮的含量没有显著的影响。与对照相比,4 个分解动态的凋落物浸提液对土壤有机质的含量

没有造成显著影响。

表 3 4 个分解动态后凋落物浸提液对土壤化学性质的影响

Table 3 Effects of *Zanthoxylum bungeanum* litter aqueous extract on soil chemical characteristics after four decomposition stages

分解时间(d) Decomposition time	处理 Treatment	PH	OM(%)	TP (mg·Kg ⁻¹)	PO ⁻ -P (mg·Kg ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N (mg·Kg ⁻¹)
0	CK1	5.80 ± 0.12c	2.92 ± 0.05a	177.47 ± 11.35a	27.99 ± 0.32a	502.61 ± 13.15a
	T1'	6.27 ± 0.06b	2.97 ± 0.03a	156.01 ± 16.74a	28.62 ± 1.32a	482.32 ± 5.33ab
	T1	6.55 ± 0.08a	3.03 ± 0.02a	157.17 ± 7.56a	30.25 ± 0.86a	465.57 ± 3.21b
10	CK2	5.83 ± 0.00b	2.90 ± 0.11a	165.74 ± 1.09a	29.01 ± 1.06a	509.17 ± 14.45a
	T2'	5.90 ± 0.17a	2.79 ± 0.10a	167.13 ± 21.46a	29.33 ± 0.53a	512.11 ± 15.64a
	T2	5.85 ± 0.25ab	2.90 ± 0.17a	175.44 ± 22.17a	28.55 ± 0.50a	479.27 ± 10.94a
30	CK3	6.05 ± 0.26b	2.90 ± 0.11a	192.29 ± 10.37a	28.20 ± 0.30a	516.11 ± 0.00a
	T3'	6.15 ± 0.21a	2.81 ± 0.05a	194.47 ± 12.45a	29.05 ± 0.23a	513.95 ± 2.94a
	T3	6.22 ± 0.23a	2.92 ± 0.02a	200.60 ± 5.51a	29.97 ± 0.86a	517.70 ± 9.55a
60	CK4	6.01 ± 0.00b	2.40 ± 0.12a	168.57 ± 2.19a	27.28 ± 0.00b	519.10 ± 0.00a
	T4'	6.09 ± 0.04b	2.40 ± 0.09a	141.93 ± 2.13b	28.66 ± 0.19a	522.50 ± 1.47a
	T4	6.18 ± 0.06a	2.41 ± 0.11a	153.20 ± 3.42c	28.87 ± 0.23a	538.85 ± 19.78a

OM, 有机质 Organic matter; TP, 总酚含量 Total phenolics

2.3 花椒凋落物分解过程中浸提液对土壤微生物生理群的影响

用浸提液处理后,土壤中好气性纤维素分解菌的数量动态变化明显,总体上呈先降低后增加的趋势(表4)。对照 CK1 中好气性纤维素分解菌的数量较高为每克土壤 5.5×10^4 CFU,而与对照相比,T1、T1'使好气性纤维素分解菌的数量分别显著地降低为每克土壤 1.2×10^4 和 3.7×10^4 CFU,T1 对其抑制率较高为 78.8%。相反,与对照 CK3 和 CK4 相比,T3、T3'和 T4、T4'对好气性纤维素分解菌的生长具有显著的促进作用,T3'、T4'的促进率更高,分别达到了 99.8% 和 108.7%。T2、T2'对好气性纤维素分解菌的数量没有显著的影响。

表 4 4 个分解动态后凋落物浸提液对土壤微生物生理群的影响

Table 4 Effects of *Zanthoxylum bungeanum* litter aqueous extract on soil microbial flora after four decomposition stages

分解时间(d) Decomposition time	处理 Treatment	A	B	C
0	CK1	5.5 ± 0.4a	1.1 ± 0.0b	2.1 ± 0.2b
	T1'	3.7 ± 0.5b	3.3 ± 0.0a	10.5 ± 0.9a
	T1	1.2 ± 0.4c	3.7 ± 0.7a	11.1 ± 1.8a
10	CK2	4.4 ± 0.5a	1.2 ± 0.1a	3.2 ± 0.4b
	T2'	4.3 ± 1.1a	1.3 ± 0.2a	5.4 ± 0.7ab
	T2	3.8 ± 0.3a	3.2 ± 1.3a	8.4 ± 2.4a
30	CK3	4.3 ± 0.3b	1.3 ± 0.2a	2.9 ± 1.0a
	T3'	8.5 ± 0.6a	1.1 ± 0.5a	3.3 ± 1.1a
	T3	7.9 ± 0.7a	1.3 ± 0.4a	3.4 ± 0.9a
60	CK4	2.2 ± 0.4b	0.6 ± 0.2a	6.3 ± 0.5a
	T4'	4.6 ± 0.8a	0.4 ± 0.2a	2.6 ± 0.2c
	T4	4.2 ± 0.3a	0.7 ± 0.3a	4.8 ± 0.5b

A: 好气性纤维素分解菌 Aerobic cellulose-decomposer ($\times 10^4$ CFU·g⁻¹ soil); B: 氨化细菌 Ammonifier ($\times 10^7$ CFU·g⁻¹ soil); C: 好气性自生固氮菌 Aerobic azotobacter ($\times 10^5$ CFU·g⁻¹ soil)

对照 CK1 中土壤氨化细菌的数量较低为每克土壤 1.1×10^7 CFU,而与对照相比,T1、T1'使土壤氨化细菌的数量分别显著地增加为每克土壤 3.7×10^7 CFU 和 3.3×10^7 CFU,T1 的促进增幅较大为 236.4%;与对照相比,其余 3 个动态的凋落物浸提液对土壤氨化细菌的数量没有显著影响(表 4)。

4 个动态的凋落物浸提液处理后,土壤中好气性自生固氮菌的数量呈先增加后减少的趋势。除 T3、T3' 对好气性自生固氮菌数量没有显著影响外,与对照相比,T1、T1' 和 T2 使好气性自生固氮菌的数量分别显著地增加了 401% ~ 426% 和 158.7%;T4、T4' 使固氮菌的数量显著地减少了 24.2% ~ 58.8% (表 4)。

3 讨论

3.1 花椒凋落物的分解速率、酚酸含量及其浸提液化学性质的变化

凋落物的分解有 3 个过程:淋溶过程、自然粉碎过程和代谢过程,3 个同时发生的过程使凋落物的重量发生变化^[26]。Berg 等认为凋落物分解主要分两个阶段:分解前期是受养分含量控制的,属于营养控制阶段,凋落物分解较快;分解后期则受木质素和全纤维素/木质素支配,属于纤维素控制阶段,凋落物分解较慢^[27]。因此,本实验中,凋落物分解的 30 d 以前属于营养控制阶段,分解速率相对较快,随着时间的推移而分解速率逐渐降低。这主要是由于在淋溶、粉碎、代谢这 3 个同时发生的分解过程中,易溶、易分解的物质在开始较短的时间内迅速分解,剩下的相对较难分解的物质使凋落物随着时间的变化趋向相对稳定^[26]。

植物残株在分解过程中普遍存在着释放化感物质的动态模式,Bonanomi 等对 25 种植物进行实验,结果表明:90% 的供试植物释放植物毒素,并且在有氧条件下植物释放化感物质的量迅速下降^[12]。本实验中,花椒凋落物在分解的同时,其中含有的酚酸物质在在有氧条件下被土壤微生物降解或转化而释放到土壤中,并且凋落物中酚酸释放量随凋落物的分解速率的降低而降低。在凋落物分解到第 10 天时,酚酸释放量达到最大值,此时凋落物的毒性也最大,以后其毒性会逐渐降低。

随着凋落物分解时间的延长,其酚酸含量逐渐降低,因此,凋落物浸提液的 pH 值显著增加。凋落物浸提液中铵态氮的含量总体上呈增加的趋势,特别是在凋落物分解的 10 d 和 30 d 时,铵态氮的含量增加幅度较大;有效磷的含量总体上呈显著降低的趋势,但在分解 30 d 时凋落物有效磷的含量却高于分解 10 d 时有效磷的含量。其原因可能是由于在这两个动态中凋落物分解速率大,分解过程中碳水化合物等物质的丢失大于氮、磷的丢失^[28]。凋落物分解的后期,其分解速率降低,氮、磷的含量基本上趋于稳定或者是呈慢慢降低的趋势。

3.2 花椒凋落物浸提液对土壤微生物主要生理类群的影响

土壤中物质的分解、吸收、转化均是靠微生物各专一的生理类群完成的。土壤氮的来源一方面通过施肥,一方面通过土壤中氨化细菌分解土壤中的动植物残体中的蛋白质转化成氨,再由硝化菌类将氨转化成硝酸盐以及土壤中自生固氮菌将大气中游离氮再转化成硝酸盐供植物吸收利用。凋落物 50% 以上是由纤维素组成的,分解纤维素是由纤维素菌完成的,通过纤维素的分解,为土壤提供丰富的碳资源。因此分析这些土壤微生物生理类群对了解土壤中物质转化和土壤生产力有一定的指导作用。

Inderjit 研究表明,与未处理的土壤相比,油菜凋落物浸提液中的酚酸类化感物质显著地抑制了土壤中固氮菌等细菌的生长^[18]。但是由于凋落物浸提液含有很容易被某些微生物利用的水溶性碳水化合物,当浸提液加入土壤后,这些水溶性的碳水化合物作为额外的能源被微生物吸收和利用,最终刺激微生物的生长,而酚酸类化感物质对微生物的抑制作用会被这种促进作用所掩盖^[29]。因此,在凋落物分解的前期,T1、T1' 和 T2、T2' 中的水溶性碳水化合物含量较高,为好气性自生固氮菌和氨化细菌提供了生长繁殖所需要的能源物质,促进了它们的生长,从而掩盖了酚酸等化感物质对它们生长的抑制作用。在凋落物分解后期,T3、T3' 和 T4、T4' 中水溶性碳水化合物的含量降低,加入土壤的浸提液中的酚酸等化感物质对微生物的生长表现出了抑制作用,使土壤好气性自生固氮菌的数量显著降低。

有研究表明,固氮菌与纤维素分解菌存在着典型的互生关系,后者为前者提供丰富的碳源,前者为后者提供氮营养。而本实验中,各个分解动态的凋落物浸提液处理过的土壤中,与其它两种微生物生理菌群相比,好气性纤维素分解菌的数量较少,并与好气性自生固氮菌的数量变化趋势相反。纤维素分解菌以真菌为主,也包括一些放线菌和细菌,而酚酸等化感物质能够显著地抑制真菌的生长^[30,31]。凋落物浸提液中含有的酚酸能够抑制纤维素分解菌的生长,但是其中含有的铵态氮又可以作为纤维素分解菌生长所必须的氮营养从而促

进它们的生长。与其它分解动态的凋落物浸提液相比,分解 0 d 的凋落物浸提液 T1、T1' 中含有最高浓度的酚酸和最低浓度的铵态氮,从而显著地抑制了好气性纤维素分解菌的生长;而分解 10 d 的凋落物浸提液 T2、T2' 中酚酸含量显著降低,但是铵态氮含量却最高,这也可能是导致用 T2、T2' 处理后土壤好气性纤维素分解菌数量无显著变化的原因。分解 30 d 和 60 d 的凋落物浸提液中酚酸含量显著降低,而铵态氮含量升高,因此,浸提液中酚酸对好气性纤维素分解菌的抑制作用被铵态氮对其生长的促进作用所掩盖,从而表现为显著地促进了好气性纤维素分解菌的生长。以上原因可能是导致该实验条件下,好气性自生固氮菌和好气性纤维素分解菌的生长无显著相关的主要原因。土壤中的纤维素分解菌是碳素主要的转化菌^[32],花椒凋落物分解后期,好气性纤维素分解菌数量显著增加,加速了土壤的碳素循环,可为植物生长提供丰富的碳源。

3.3 花椒凋落物浸提液对土壤化学性质的影响

总体而言,四个分解动态的不同浓度的凋落物浸提液显著改变了土壤的化学性质,但是对土壤有机质的含量没有显著的影响。酚酸显著地影响了土壤养分循环,并且通过影响养分的释放而影响土壤养分的循环速率^[33]。

4 个分解动态的凋落物浸提液均使土壤 pH 值不同程度地升高,这可能是由于本来呈现微碱性的浸提液与偏酸性的土壤相互作用以后使土壤 pH 值升高^[34]。有研究证明,酚酸物质在酸性土壤中更容易表现出化感作用^[35]。由本实验的结果看,与其他浸提液处理后的土壤相比,T2 使土壤 pH 值在 4 个动态处理中最低,使该土壤更容易产生化感作用。这说明凋落物在分解 10 d 左右时对土壤的毒性最大,这与 Bonanomi 等的研究结果一致^[12]。

凋落物不同的分解动态,其浸提液对土壤酚酸含量的影响不同。由于微生物的分布类群与酚酸浓度和种类有密切的关系^[36],土壤中固有的酚酸物质是比较稳定的^[37],外源酚酸物质进入土壤后,当酚酸高于一定浓度时对土壤微生物的活性产生抑制作用,从而抑制了微生物对土壤酚酸物质的转化^[38]。因此,前 3 个动态的凋落物浸提液对土壤酚酸含量没有显著影响。低浓度的酚酸物质为根际微生物提供了能源和碳源,当其进入土壤后可以很快被土壤中的有机质吸附或被微生物利用或分解,从而加速酚酸物质的转化^[35,36],所以低浓度酚酸含量的浸提液 T4' 显著地降低了土壤酚酸含量。由于酚酸是众多化感物质中的重要一类^[39],因此,随着花椒凋落物分解时间的延长,其毒性作用会慢慢降低。

微生物的生理类群在土壤微生态环境中发挥着重要的作用,在物质转化中具有特定的功能。固氮菌和氨化细菌均属于氮素转化菌,直接参与无机氮、有机氮的转化过程,与氮素循环密切相关。凋落物分解前两个动态的浸提液促进了土壤好气性自生固氮菌和氨化细菌的生长,但是土壤中铵态氮的含量与对照相比却显著地降低,这可能是由于微生物对氮的固持作用加强^[40],或者是浸提液中的化感物质使土壤中的硝化作用增强,从而加快了土壤氮素的代谢和利用。随着凋落物的分解,土壤酚酸含量显著降低,而土壤有效磷含量显著升高,这是由于土壤中低浓度的酚酸对微生物活性产生了一定的促进作用,使得土壤磷酸酶的活性增强,有利于土壤有机磷向无机磷转化^[31,41],加速了有机磷的循环,提高了磷的有效性。

研究表明,化感物质对土壤有机碳的影响依赖于化感物质与土壤微生物的关系。若化感物质能够作为微生物碳源,可增加微生物的活性,减少土壤有机碳;若化感物质作为微生物抑制剂,土壤有机碳则增加^[42]。银胶菊凋落物分解过程中释放的高浓度酚酸抑制了土壤微生物的活动,提高了土壤有机碳的含量^[17]。但是本实验中各个分解动态的凋落物浸提液对土壤有机质含量都没有显著的影响,这可能是由于各个分解动态的凋落物浸提液对各种土壤微生物的影响不同,有抑制作用也有促进作用,从而导致土壤有机质含量没有发生显著的变化。另一方面可能是由于本实验为室内培养实验,实验进行的时间较短,导致处理后土壤有机质含量没有发生显著的变化。

3.4 结语

总之,花椒凋落物在分解过程中,酚酸的动态释放以及凋落物的浸提液显著地改变了土壤的微生态环境和土壤化学性质。在花椒凋落物分解的一个月内,酚酸释放总量达到最大,对土壤的“毒性”也最大,抑制了

土壤纤维素分解菌的生长,降低了土壤铵态氮的含量,但随着凋落物的继续分解,其毒性慢慢降低,凋落物分解到2个月左右时,加速了土壤有机磷和碳素的循环。根据酚酸的释放动态以及对土壤化学性质的动态影响,可以对花椒凋落物的分解采取一定的人为措施,比如将凋落物收集起来堆肥1个月左右以后,再将凋落物归还土壤让其继续分解,以降低其分解的初期对土壤的毒性作用。这样既可以大大降低土壤“中毒”的危害,又可以促进土壤养分循环,从而提高花椒产量。本实验属于室内培养实验,时间较短,花椒凋落物在自然条件下分解的过程中化感物质长期的释放动态以及对土壤酶等化学性质和氮、磷等养分循环的影响有待于进一步深入研究。

References:

- [1] Kong C H, Hu F. Allelopathy and its application. Beijing: China Agriculture Press, 2001. 1—168.
- [2] Bais H P, Vepachedu R, Gilroy S, *et al.* Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions. *Science*, 2003, 301(5638): 1377—1380.
- [3] Blum U, Shafer S R, Lehman M E. Evidence for inhibitory allelopathic interactions involving phenolic acids in field soils: concepts vs an experimental model. *Critical Reviews in Plant Science*, 1999, 18(5): 673—693.
- [4] Singh H P, Batish D R, Kohli R K. Autotoxicity: concept, organisms and ecological significance. *Critical Reviews in Plant Science*, 1999, 18(6): 757—772.
- [5] Zhou C Y. Litter's roles in forest ecosystem and its research progress. *Journal of Hubei Agricultural College*, 2003, 23(2): 140—145.
- [6] Van der Putten W H, Peters B A M, Van der Berg M S. Effect of litter on substrate conditions and growth of emergent macrophytes. *New Phytologist*, 1997, 135: 527—537.
- [7] Patrick Z A, Toussoun T A, Snyder W C. Phytotoxic substances in arable soils associated with decomposition of plant residues. *Phytopathology*, 1963, 53: 152—161.
- [8] Chou C H, Lin H J. Autointoxication mechanism of *Oryza sativa*. I. Phytotoxic effects of decomposing rice residues in soil. *Journal of Chemical Ecology*, 1976, 2: 353—367.
- [9] Mason-Sedun W, Jessop R S. Differential phytotoxicity among species and cultivars of the genus *Brassica* to wheat. II. Activity and persistence of water-soluble phytotoxins from residues of the genus *Brassica*. *Plant and Soil*, 1988, 107: 69—80.
- [10] An M, Johnson I, Lovett J. Mathematical modeling of allelopathy: I. Phytotoxicity caused by plant residues during decomposition. *Allelopathy Journal*, 1996, 3: 33—42.
- [11] Min A, Partley J E, Haig T. Phytotoxicity of *Vulpia* residues: I. Investigation of aqueous extracts. *Journal of Chemical Ecology*, 1997, 23(8): 1979—1995.
- [12] Bonanomi G, Sicurezza M G, Caporaso S, *et al.* Phytotoxicity dynamics of decaying plant materials. *New Phytologist*, 2006, 169: 571—578.
- [13] Chou C H, Patrick Z A. Identification and phytotoxic activity of compounds produced during decomposition of corn and rye residues in soil. *Journal of Chemical Ecology*, 1976, 2: 369—387.
- [14] Tang C S, Waiss Jr A C. Short-chain fatty acids as growth inhibitors in decomposing wheat straw. *Journal of Chemical Ecology*, 1978, 4: 225—232.
- [15] An M, Pratley J E, Haig T. Phytotoxicity of *Vulpia* Residues. IV. Dynamics of allelochemicals during decomposition of *Vulpia* residues and their corresponding phytotoxicity. *Journal of Chemical Ecology*, 2001, 27(2): 395—409.
- [16] Makino T, Takahashi Y, Sakurai Y, *et al.* Influence of soil chemical properties on adsorption and oxidation of phenolic acids in soil suspension. *Soil Science and Plant Nutrition*, 1996, 42(4): 867—879.
- [17] Batish D R, Singh H P, Pandher J K, *et al.* Phytotoxic effect of *Parthenium* residues on the selected soil properties and growth of chickpea and radish. *Weed Biology and Management*, 2002, 2(2): 73—78.
- [18] Inderjit. Experimental complexities in evaluating the allelopathic activities in laboratory bioassays: a case study. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38: 256—262.
- [19] Wang J C, Pan K W, Wu N, *et al.* The study on varietal differences in allelopathic potential of Chinese prickly ash. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(7): 1591—1598.
- [20] Li K, Pan K W, Wang J C, *et al.* Effects of *Zanthoxylum bungeanum* leaf extract on soil microbe quantity and enzyme activities. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(9): 1649—1654.
- [21] Maithani K, Arunachalan A, Tripathi R S, *et al.* Influence of leaf litter quality on N mineralization in soils of subtropical humid forest re-growths. *Biology and Fertility of Soils*, 1998, 27(1): 44—50.
- [22] Yoshiyuki Y, Miura S, Kohzu A. Effects of forest type and stand age on litterfall quality and soil N dynamics in Shikoku district, southern Japan. *Forest Ecology and Management*, 2004, 202: 107—117.

- [23] Xu G H, Zheng H Y. The handbook of analyse means to edaphon. Beijing: Agriculture Publishing House, 1986. 110—208.
- [24] Sun H L, Liu G S. Soil physical and chemical analysis & description of soil profiles. In: Sun H L, Liu G S eds. Standards methods for observation and analysis in Chinese Ecosystem Research Network. Beijing: Standards Press of China, 1996. 34—35.
- [25] Olson J S. Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. Ecology, 1963, 44: 323—331.
- [26] Yu Y W, Wu J S. Dynamics and Decomposition Characteristics of Litter of Evergreen Broad-Leaved Forest with *Schima Superba*. Journal of Soil and Water Conservation, 2004, 18 (2): 63—65.
- [27] Berg B, Muller M, Wessen B. Decomposition of red clover (*Trifolium pratense*) rots. Soil Biology and Biochemistry, 1987, 19: 589—594.
- [28] Bocoek K L. Changes in the amounts of dry matter, nitrogen, carbon and energy in decomposing woodland leaf litter in relation to the activities of the soil fauna. Journal of Ecology, 1964, 52: 273—284.
- [29] Mao J, Yang L Z, Shi Y M, et al. Crude extract of *Astragalus mongholicus* root inhibits crop seed germination and soil nitrifying activity. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38: 201—208.
- [30] Du G J, Zhang Q R, Hong X L, et al. Study on soil microbiota and its Biochemical Properties and physical chemistry dropties of *cunninghamia lanceolata* succession cultivation stand. Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology, 1995, 15 (5): 14—20.
- [31] Hu K H, Luo Q G, Wang S H, et al. Effects of Allelopathic rice on rhizosphere microbial flora and enzyme activity. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17 (6): 1060—1064.
- [32] Zhang C B, Jin Z X, Shi S D. The ecological distribution of different bacterial physiological groups in several forest soils in the Tiantai Mountain. Acta Phytocologica Sinica, 2002, 26 (3): 269—274.
- [33] Appel H M. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. Journal of Chemical Ecology, 1993, 19: 1521—1552.
- [34] Mekki A, Dhoubi A, Sayadi S. Polyphenols dynamics and phytotoxicity in a soil amended by olive mill wastewaters. Journal of Environmental Management, 2007, 84: 134—140.
- [35] Wu F Z, Zhao F Y, Ma F M, et al. Phenolic acid substances and Allelopathy mechanisms. Journal of Northeast Agricultural University, 2001, 32 (4): 402—407.
- [36] Li S T, Zhou J M, Wang H Y, et al. Phenolic acids in plant-soil-microbe system: a review. Pedosphere, 2002, 12 (1): 1—14.
- [37] Blum U, Dalton B R, Shann J R. Effects of various mixtures of ferulic acid and some of its microbial metabolic products on cucumber leaf expansion and dry matter in nutrient culture. Journal of Chemical Ecology, 1985, 11 (3): 619—641.
- [38] Xue C Y, Wu F Z, Wang H C, et al. The summary of reciprocity between phenolic acids and soil microorganism. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2005, 3: 45—47.
- [39] An M, Haig T, Pratley J E. Phytotoxicity of *vulpia* residues II: separation, identification, and quantitation of allelochemicals from *Vulpia myuros*. Journal of Chemical Ecology, 2000, 26 (6): 1465—1476.
- [40] Stark J M and Hart S C. High rates of nitrification and nitrate turnover in undisturbed coniferous forests. Nature, 1997, 385: 61—64.
- [41] Xue L, Wu M, Xu Y, et al. Soil nutrients and microorganisms in soils of typical plantations in south china. Acta Pedologica Sinica, 2005, 42 (6): 1017—1023.

参考文献:

- [1] 孔垂华, 胡飞. 植物化感作用(相生相克)及其应用. 北京: 中国农业出版社, 2001. 1~168.
- [5] 周存宇. 凋落物在森林生态系统中的作用及其研究进展. 湖北农学院学报, 2003, 23 (2): 140~145.
- [19] 王进闯, 潘开文, 吴宁, 等. 花椒品种间化感效应的差异. 生态学报, 2005, 25 (7): 1591~1598.
- [20] 吕可, 潘开文, 王进闯, 等. 花椒叶浸提液对土壤微生物数量和土壤酶活性的影响. 应用生态学报, 2006, 17 (9): 1649~1654.
- [23] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册. 北京: 农业出版社, 1986. 110~208.
- [24] 孙鸿烈, 刘光崧主编. 土壤理化分析与剖面描述-中国生态系统研究网络观测与分析标准方法. 北京: 中国标准出版社, 1996. 34~35.
- [26] 俞益武, 吴家森. 木荷林凋落物的归还动态及分解特性. 水土保持学报, 2004, 18 (2): 63~65.
- [30] 杜国坚, 张庆荣, 洪兴利, 等. 杉木连栽林地土壤微生物区系及其生化特性和理化性质的研究. 浙江林业科技, 1995, 15 (5): 14~20.
- [31] 胡开辉, 罗庆国, 汪世华, 等. 化感水稻根际微生物类群及酶活性变化. 应用生态学报, 2006, 17 (6): 1060~1064.
- [32] 张崇邦, 金则新, 施时迪. 浙江天台山几种林型下土壤细菌生理群生态分布的特征. 植物生态学报, 2002, 26 (3): 269~274.
- [35] 吴凤芝, 赵凤艳, 马凤鸣, 等. 酚酸物质及其化感作用. 东北农业大学学报, 2001, 32 (4): 402~407.
- [38] 薛成玉, 吴凤芝, 王洪成, 等. 浅论酚酸与土壤微生物之间的相互作用. 黑龙江农业科学, 2005, 3: 45~47.
- [41] 薛立, 吴敏, 徐燕, 等. 几个典型华南人工林土壤的养分状况和微生物特性研究. 土壤学报, 2005, 42 (6): 1017~1023.
- [42] 倪广艳, 彭少麟. 外来入侵植物化感作用与土壤相互关系研究进展. 生态环境, 2007, 16 (2): 644~648.