



# 黄土丘陵区代表性乔灌木植物凋落物关键代谢产物释放的室内模拟研究

张晓曦<sup>1,2</sup>, 胡嘉伟<sup>1</sup>, 胡漫<sup>1</sup>, 黄琰莹<sup>1</sup>, 王羿人<sup>1</sup>, 张蔓<sup>1</sup>

(1 延安大学 生命科学学院, 陕西延安 716000; 2 陕西省区域生物资源保育与利用工程技术研究中心, 陕西延安 716000)

**摘要:**凋落物源代谢产物在植物-土壤系统中发挥着重要生态作用, 该研究以黄土丘陵区刺槐、油松、沙棘、狗尾草和达乌里胡枝子等 5 种代表性乔灌木植物的凋落物为研究对象, 以土壤混水振荡沉淀后收集上清液的方式提取客土微生物, 通过均匀喷施上清液对凋落物进行接种, 并在室温(25 °C)恒湿(凋落物持水率维持在约 100%)条件下进行室内分解模拟, 研究该过程中 7 种代谢产物的降解和释放特征, 以期更深入地理解凋落物分解过程及其可能的后续生态学效应, 为林草生态系统管理提供依据。结果显示: (1) 150 d 的分解过程中, 5 种凋落物的木质素均呈分解前期(0~60 d)少部分降解(<30%)、后期趋于停滞的趋势; 水溶性酚、凝缩单宁和黄酮呈分解前期(0~30 d)快速释放大部分(>80%)、后期显著减缓的趋势; 萜类呈持续释放、甚至在试验后期明显加速的趋势; 可溶性糖和氨基酸的释放均呈现在短时间内快速释放、随后缓慢释放的趋势。总体而言, 除木质素呈慢速降解状态外, 其他代谢产物均呈超速释放状态。(2) 7 种代谢产物的年降解或释放速率总体均呈现沙棘和刺槐凋落物显著高于达乌里胡枝子、狗尾草和油松凋落物的规律( $P < 0.05$ )。(3) 木质素、凝缩单宁、萜类和黄酮的年降解或释放速率与其初始含量无显著相关性( $P > 0.05$ ), 而水溶性酚、可溶性糖和氨基酸的释放速率与其初始含量均呈显著正相关关系( $P < 0.05$ )。研究表明, 凋落物模拟分解过程中, 除木质素呈慢速降解状态外, 其他代谢产物均呈超速释放状态; 7 种代谢产物的年降解或释放速率普遍与凋落物初始氮和磷含量呈显著正相关关系。

**关键词:**凋落物分解; 代谢产物; 释放特征; 黄土丘陵区

中图分类号: Q948.1; S718.5      文献标志码: A

## Indoor Simulating Research of Key Plant Metabolites Release from the Litters of Typical Arboreal, Shrubby and Herbaceous Species in the Loess Hilly Region

ZHANG Xiaoxi<sup>1,2</sup>, HU Jiawei<sup>1</sup>, HU Man<sup>1</sup>, HUANG Yanying<sup>1</sup>, WANG Yiren<sup>1</sup>, ZHANG Man<sup>1</sup>

(1 College of Life Sciences, Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China; 2 Shaanxi Engineering and Technological Research Center for Conservation and Utilization of Regional Biological Resources, Yan'an, Shaanxi 716000, China)

**Abstract:** Litter-derived metabolites play important ecological roles in plant-soil systems. In this study, the litters of 5 typical arboreal, shrubby and herbaceous species, including *Robinia pseudoacacia*, *Pinus tabulaeformis*, *Hippophae rhamnoides*, *Setaria viridis* and *Lespedeza daurica*, in the hilly and gully region of the Loess Hilly Region were studied. Soil from a site that far from the litter sampling area was

收稿日期: 2022-06-19; 修改稿收到日期: 2023-04-08

基金项目: 国家自然科学基金(31800370); 国家大学生创新创业训练计划(202210719045); 延安大学科研计划(YDY2020-34); 陕西省大学生创新创业训练计划(S202110719106)

作者简介: 张晓曦(1990—), 男, 博士, 副教授, 主要从事森林养分循环及石油污染土壤修复等方面研究。E-mail: zhangxiaoxi712100@gmail.com

mixed with sterile water, fully shocked and precipitated, and the supernatant was used for inoculating litters. Then, based on an indoor-decomposition simulation under room temperature (25 °C) and constant humidity (the water-holding rate of litters was approximately 100%), and the degradation or release characteristics of 7 types of metabolite in this process were studied, aiming to get more deeply understand the decomposition process of litters and its subsequent ecological effects, and to provide scientific basis for the management of forest and grass ecosystems. The results indicated that: (1) during the decomposition process of 150 d, the lignin of 5 types of litter showed little degradation (<30%) in the early stage (0–60 d) and tended to stagnate in later stage; most (>80%) of water soluble phenolics, condensed tannins and flavones released rapidly in the early stage (0–30 d) of decomposition, but slowed down significantly in later stage. The release of terpenoids was continuous and even accelerated at the later stage during the experiment. The release of soluble sugars and amino acids showed a trend of rapid release in a short time and then slow release. In general, except for lignin, which degraded significantly slower during litter decomposition, all other metabolites exhibited an overspeed release trend. (2) The annual degradation or release rates of 7 types of metabolite were significantly higher in the litters of *H. rhamnoides* and *R. pseudoacacia* than in the those of *L. daurica*, *S. viridis* and *P. tabuliformis* ( $P < 0.05$ ). (3) The annual degradation or release rates of lignin, condensed tannins, terpenoids and flavones were not significantly correlated with their initial contents ( $P > 0.05$ ), while the annual release rates of water soluble phenolics, soluble sugars and amino acids were positively correlated with their initial contents ( $P < 0.05$ ). In conclusion, except for lignin, which degraded significantly slower during litter decomposition, all other metabolites exhibited an overspeed release trend; the annual degradation or release rates of almost all these 7 types of metabolite were positively correlated with the initial nitrogen and phosphorus contents of litter.

**Key words:** litter decomposition; metabolites; release characteristics; the Loess Hilly Region

凋落物分解是自然植被体系中最关键的生态过程之一,直接控制着植物向土壤的物质归还以及土壤肥力的维持和有机质的积累,是生态系统物质循环研究的热点方向之一<sup>[1-2]</sup>。目前,对凋落物分解的研究主要集中于环境因素或植被自身状况改变对其的影响,以及凋落物分解的微生物学机制等方面<sup>[2-4]</sup>,而在测定指标选取上多倾向于在元素(特别是C、N和P等)或特定结构性化合物(特别是纤维素和木质素等)尺度上分析凋落物的物质释放<sup>[2, 5]</sup>,以及各种元素进入土壤后的转化和固持过程。然而,现有研究很少关注凋落物分解过程中其他代谢产物的释放或降解特性。

研究表明,凋落物含有化学特性和生物可利用性各异的多类初生或次生代谢产物,上述物质存在于凋落物中时或释放至土壤环境后均具有广泛的生态学影响<sup>[6]</sup>。首先,部分代谢产物的含量直接影响了凋落物的可分解性。例如可溶性糖可为分解者提供易利用的碳源和化学能,其含量的增加可显著提高凋落物的可分解性并刺激分解微生物的代谢活性<sup>[7-8]</sup>。相反地,酚类(含凝缩单宁、水溶性酚和黄酮)和萜类物质则往往对凋落物分解微生物具有直接生物毒性,并可通过化学结合沉淀途径抑制凋落物分解酶的活性<sup>[9-11]</sup>。而木质素作为植物细胞壁中

最难以降解的组分,强烈限制着分解初期微生物对凋落物结构的破坏、分解速率以及最终降解的程度<sup>[5, 12]</sup>。其次,部分次生代谢物(如酚类和萜类物质)具有潜在的化感效应,其随凋落物分解逐渐释放至土壤后,对植物自身、其他植物和微生物均可能产生明显的化感抑制,影响植物和微生物群落结构及其演替趋势<sup>[13-18]</sup>。此外,多种凋落物源代谢产物及其降解产物均参与了土壤有机质的形成、转化以及土壤肥力的构成。如研究表明可溶性糖、氨基酸、酚类物质以及木质素均直接或以中间降解产物的形式参与腐殖质的合成,酚类物质中的凝缩单宁是土壤难降解碳库的重要组成部分<sup>[19]</sup>;而氨基酸则是土壤可溶性有机氮的重要组成部分,可作为易利用氮源显著促进微生物和植物的生长<sup>[20-21]</sup>。由此可见,上述植物源代谢产物不仅可能通过影响凋落物的分解特征影响生态系统的物质循环等功能,同时也以直接淋溶或分解中间产物的形式影响系统中的植物生长、土壤形成、肥力维持乃至碳汇功能。因此,有必要在关注凋落物分解过程中关键元素释放的基础上,进一步对上述代谢产物的释放特征进行研究,以更为深入地了解凋落物分解的潜在生态学效应。

刺槐(*Robinia pseudoacacia*)和油松(*Pinus tabuliformis*)2种针阔叶树种均是中国黄土高原地

区人工植被恢复中广泛采用的树种,沙棘(*Hippophae rhamnoides*)、狗尾草(*Setaria viridis*)和达乌里胡枝子(*Lespedeza daurica*)是当地撂荒土地或林下植被演替过程中重要的灌草植物。上述植物在当地侵蚀防治、降水蓄持以及生态环境修复工作中均发挥了关键作用。作为评价林草地长期生态稳定性的重要途径之一,上述植物种凋落物的分解及养分释放过程已经得到广泛研究,而在其分解过程中,前述多种具有重要生态和生物学功能的代谢产物的降解或释放(此处后统称为释放)特征尚不清楚。因此,本研究以上述 5 种植物的当年凋落物为对象,在测定各类代谢产物初始含量的基础上,通过室内模拟试验研究其释放规律。研究结果可为从代谢产物含量及释放特征角度加深对凋落物分解过程的理解,并据此提出合理的营林管理措施提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品采集及处理

供试凋落物采集自陕西省安塞县纸坊沟流域(109°19'23"E,36°51'30"N),地处黄土高原丘陵沟壑区,海拔 1 068~1 309 m。属暖温带半干旱大陆性季风气候,年平均气温 8.8℃,年平均降水量 510 mm,年日照时数 2 300~2 400 h,≥10℃积温 3 282.7℃,无霜期 160 d。主要土壤类型为黄绵土,占土地面积的 95%以上。当地植被属森林草原区,分布有大面积的刺槐、油松、沙棘和柠条(*Cargana korshinskii*)等人工林,其余主要植物种为狼

牙刺(*Sophora davidii*)和黄刺玫(*Rosa xanthina*)等灌木和白羊草(*Bothriochloa ischaemum*)、铁杆蒿(*Artemisia gmelinii*)、狗尾草、达乌里胡枝子、披针叶苔草(*Carex lanceolata*)和茭蒿(*Artemisia giraldii*)等草本植物。

于 2020 年秋末在研究区选择林龄分别为 35 a 的刺槐人工林、15 a 沙棘人工林和 24 a 的油松人工林,在其中随机选择 10 株生长良好的树木,在树冠下设置 2 m×2 m 的凋落物收集器,通过打击树枝收集即将凋落的衰老叶片。另外,在刺槐林地边缘荒草地中设置 1 m×1 m 的样方 10 个,采用齐地刈割的方式收集狗尾草和达乌里胡枝子的立枯体(地上枯死部分)。采样后对所有凋落物均在各株或各样方内产生的凋落物中取等量充分混合,并将较长的叶柄或立枯体截成长 10 cm 的小段,在 65℃下烘干至恒重备用。凋落物具体基质质量指标见表 1。

为防止采样区域林草地土壤特有的化学和生物环境在分解过程中诱导产生“主场效应”而干扰试验结果,本研究使用客土微生物接种方式进行凋落物分解试验,供试土壤采集自远离研究区的农地。具体方法为:在采样农地内设置 1 个 0.5 m×0.5 m 的样方并采集全部 0~10 cm 的表层土壤,过 5 mm 筛去除动植物残体和其他杂质后充分混合,取足量使用冰盒运回实验室备用。

### 1.2 凋落物分解试验

将收集的 5 种凋落物均以每份 10 g 的规格分别置入紫外灭菌后的塑料制透气组培瓶中,每种凋

表 1 供试凋落物初始基质质量  
Table 1 Initial substrate quality of the tested litters

| 凋落物<br>Litter                          | 胡枝子<br><i>L. daurica</i> | 狗尾草<br><i>S. viridis</i> | 油松<br><i>P. tabulaeformis</i> | 沙棘<br><i>H. rhamnoides</i> | 刺槐<br><i>R. pseudoacacia</i> |
|----------------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| 碳 C/(mg/g)                             | 613.80±259.59a           | 482.58±54.18ab           | 274.18±18.73bc                | 201.55±14.50c              | 441.28±24.95ab               |
| 氮 N/(mg/g)                             | 18.72±4.24c              | 5.94±0.51e               | 12.65±1.48d                   | 42.55±1.35a                | 23.83±1.56b                  |
| 磷 P/(mg/g)                             | 2.99±0.09d               | 4.26±0.23b               | 1.42±0.19e                    | 5.44±0.09a                 | 3.54±0.26c                   |
| 可溶性糖 Soluble sugars/(mg/g)             | 2.96±0.02b               | 1.81±0.08c               | 2.59±0.30b                    | 2.91±0.31b                 | 4.58±0.11a                   |
| 氨基酸 Amino acids/(μg/g)                 | 0.86±0.23d               | 2.41±0.12c               | 1.22±0.16d                    | 21.40±0.52a                | 8.87±0.06b                   |
| 水溶性酚<br>Water soluble phenolics/(mg/g) | 5.65±0.13e               | 26.70±2.06b              | 18.64±0.06c                   | 35.19±0.61a                | 7.90±0.33d                   |
| 凝缩单宁<br>Condensed tannins/(mg/g)       | 13.42±2.05b              | 0.79±0.07d               | 41.81±2.90a                   | 10.84±0.75bc               | 8.72±0.40c                   |
| 黄酮 Flavones/(mg/g)                     | 43.27±2.62b              | 22.50±6.75c              | 60.74±6.76a                   | 36.38±3.87b                | 22.40±7.84c                  |
| 萜类 Terpenoids/(mg/g)                   | 7.69±0.92c               | 2.76±0.51c               | 69.66±1.62a                   | 25.94±4.92b                | 28.51±2.72b                  |
| 木质素 Lignin/(mg/g)                      | 171.00±1.82c             | 49.00±9.50d              | 291.00±11.83a                 | 222.00±24.49b              | 2215.67±16.52b               |

注:同行不同字母表示供试凋落物间在 0.05 水平存在显著差异( $P<0.05$ )。下同  
Note: Different letters in the same row indicated significant differences among litters tested at 0.05 level ( $P<0.05$ ). The same as below

落物各制备 15 瓶,每 5 瓶捆扎为 1 组,用以在后续试验中模拟 3 个独立的分解过程(3 重复 $\times$ 每分解过程 5 次回收)。

根据 Chae 等<sup>[22]</sup>的方法,称取新鲜土样 10 g 与 1 L 灭菌蒸馏水充分混合,使用摇床以 180 r/min 的转速振荡土壤悬浊液 30 min 后使其静置沉淀。随后,在所有盛有凋落物的组培瓶中均匀喷入 10 g 土壤上清液(以预实验中达到凋落物湿润,且组培瓶内无明显积水的喷施量确定),用以模拟自然状态下土壤真菌和细菌对凋落物的侵入。喷洒上清液时,使用灭菌工具充分翻动凋落物,以使所有凋落物充分附着微生物且湿润程度近似。封盖后,称量每个微缩装置的质量并记录。将所有微缩装置单层随机放置于避光处,通过空调调节室温为 20~25 ℃,连续培养 150 d 终止。培养过程中,每 2 周称量 1 次组培瓶质量,根据微缩装置的实际失重值(测得的失重值减去预实验确定的凋落物失重值,平均约 1 g/2 周)均匀喷入灭菌蒸馏水,以在培养过程使所有凋落物的实际持水率基本维持 100%。

试验过程中,分别在凋落物分解开始后第 30 天、60 天、90 天、120 天和 150 天时回收凋落物。每次回收时,在每种凋落物的 3 组微缩装置中均各随机选择 1 瓶作为重复。所有凋落物回收后均在 65 ℃下烘干至恒重,随后粉碎并过 0.5 mm 筛备用。

### 1.3 指标测定

分别使用范氏洗涤法、福林酚比色法、香草醛—盐酸比色法、香草醛—冰乙酸比色法、亚硝酸钠—硝酸铝比色法、蒽酮比色法和茚三酮比色法测定凋落物分解残留物的木质素、水溶性总酚(以没食子酸计)、凝缩单宁(以儿茶素计)、萜类(以熊果酸计)、黄酮(以芦丁计)、可溶性糖和氨基酸(以亮氨酸计)含量<sup>[23-24]</sup>。对于未分解凋落物样品,使用硫酸—过氧化氢消化后,额外使用凯氏定氮法和钒钼黄比色法测定其氮、磷含量<sup>[25]</sup>。上述所有比色分析均使用多功能酶标仪完成,全氮分析使用全自动凯氏定氮仪完成。

### 1.4 数据处理

将每种凋落物每组 5 次回收时的残留量(或代谢产物的残留量)换算为质量残留率  $R$ ,使用 Olson 模型[公式(1)和(2)]进行拟合,并计算相应分解常数  $k$  和  $k'$ [公式(3)和(4),单位均为  $\text{a}^{-1}$ ],使用前者代表凋落物分解年分解速率,后者代表某一代谢产物的年降解或释放速率(部分代谢产物存在直接释放现象,后文中针对不同代谢产物的表述有所区分):

$$R = m_t / m_0 = e^{-kt} \quad (1)$$

$$R_m = m_t \cdot c_t / m_0 \cdot c_0 = e^{-k't} \quad (2)$$

$$k = -\ln(m_t / m_0) / t \quad (3)$$

$$k' = -\ln(m_t \cdot c_t / m_0 \cdot c_0) / t \quad (4)$$

式中: $R$  和  $R_m$  分别为凋落物质量和特定代谢产物的残留率(%); $t$  为分解时间; $m_t$  和  $m_0$  分别为分解  $t$  时刻和未分解时凋落物的质量残留(g); $c_t$  和  $c_0$  分别为分解  $t$  时刻和未分解时凋落物特定代谢产物的含量(mg/g 或  $\mu\text{g/g}$ )。

使用重复测量方差分析(repeated measures ANOVA)检测凋落物种类、分解时间以及两者交互效应对凋落物质量(或代谢产物)残留率影响的显著性,当 Mauchly's 球形检验的结果为  $P \geq 0.5$  时,对检验结果进行 Greenhouse-Geiser 校正。交互效应显著时,使用单因素方差分析(one-way ANOVA)检测每次回收时不同凋落物间质量(或代谢产物)残留率差异显著性。使用单因素方差分析检验凋落物间年分解速率、代谢产物分解或释放速率的差异,多重比较均使用最小显著差法(LSD),显著性检验水平为  $\alpha = 0.05$ 。所有统计学检验均使用 SPSS 23.0 软件完成,绘图使用 OriginPro 2019b 软件完成。

## 2 结果与分析

总体而言,供试凋落物的质量均呈现持续降低趋势(图 1)。凋落物种类、分解时间以及两者的交互作用均显著影响凋落物的质量损失( $P < 0.05$ )。除试验进行第 30 和 90 天时刺槐、沙棘和达乌里胡枝子凋落物的质量残留率显著低于油松和狗尾草凋落物外( $P < 0.05$ ),其他采样时间 5 种凋落物的质量残留率呈现类似规律,但除油松和沙棘外其他凋落物间的统计学差异通常不显著( $P > 0.05$ )。进一步使用 Olson 模型对凋落物分解速率的预测结果也表明沙棘凋落物的年分解速率最高,刺槐和胡枝子凋落物次之,狗尾草凋落物再次,而油松凋落物的年分解速率最低( $P < 0.05$ )。

凋落物次生代谢产物的降解和释放与其质量损失的规律并不完全一致,木质素和水溶性酚、凝缩单宁和黄酮等广义上的酚类次生代谢物均呈现在短时间(30~60 d)内快速降解或释放,随后明显趋缓的趋势,而萜类物质呈持续降解或释放、甚至在后期略有加速趋势(图 2, A—E)。但木质素的降解率始终显著低于同期凋落物质量损失(慢速降解状态),而其他次生代谢物均呈超速释放状态。

具体而言,凋落物种类、分解时间以及两者的交

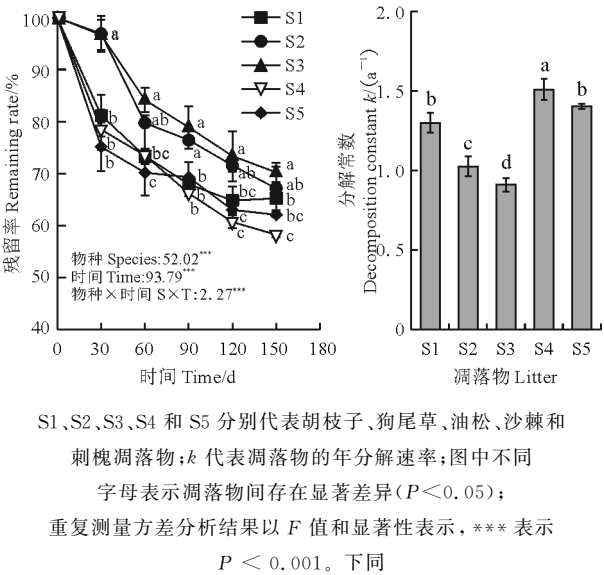


图1 凋落物的质量损失

S1, S2, S3, S4 and S5 represent the litter of *Lespedeza daurica*, *Setaria viridis*, *Pinus tabuliformis*, *Hippophae rhamnoides* and *Robinia pseudoacacia*, respectively;  $k$  represents the annual decomposition rate of litters; The different letters represent significant differences among litters; the results of repeated measures ANOVA were represented as the values of  $F$  and the significance, \*\*\* represents  $P < 0.001$ .

The same as below

Fig. 1 The mass loss of litters

互作用均显著影响凋落物的次生代谢物降解/释放 ( $P < 0.05$ ), 进一步的单因素方差分析表明, 试验全程中凋落物木质素的残留率总体呈现刺槐  $\approx$  沙棘  $<$  胡枝子  $\approx$  狗尾草  $\approx$  油松凋落物的规律 (图 2, A,  $P < 0.05$ ); 水溶性酚的残留率普遍呈现沙棘  $<$  狗尾草  $<$  刺槐  $<$  油松  $<$  胡枝子凋落物的规律 (图 2, B,  $P < 0.05$ ); 凝缩单宁和萜类物质的残留率普遍呈现油松和狗尾草凋落物显著高于其他 (特别是沙棘) 凋落物的规律 (图 2, C, D,  $P < 0.05$ ); 而不同凋落物间黄酮残留率的大小规律相对不明确, 但油松凋落物的残留率始终显著高于其他凋落物, 而沙棘和胡枝子凋落物的残留则通常最低 (图 2, E,  $P < 0.05$ )。对上述次生代谢物释放过程的拟合结果也获得了相似结果 (图 2, A<sub>1</sub>—E<sub>1</sub>), 即沙棘、刺槐和胡枝子凋落物次生代谢物的年降解或释放速率普遍显著高于狗尾草和油松凋落物。

凋落物初生代谢产物可溶性糖和氨基酸的降解和释放同样呈现在短时间 (30~60 d) 内快速释放, 随后缓慢释放的趋势 (图 3), 且同样呈超速释放状态。具体而言, 凋落物种类、分解时间以及两者的交互作用均显著影响凋落物 2 种初生代谢产物的释放

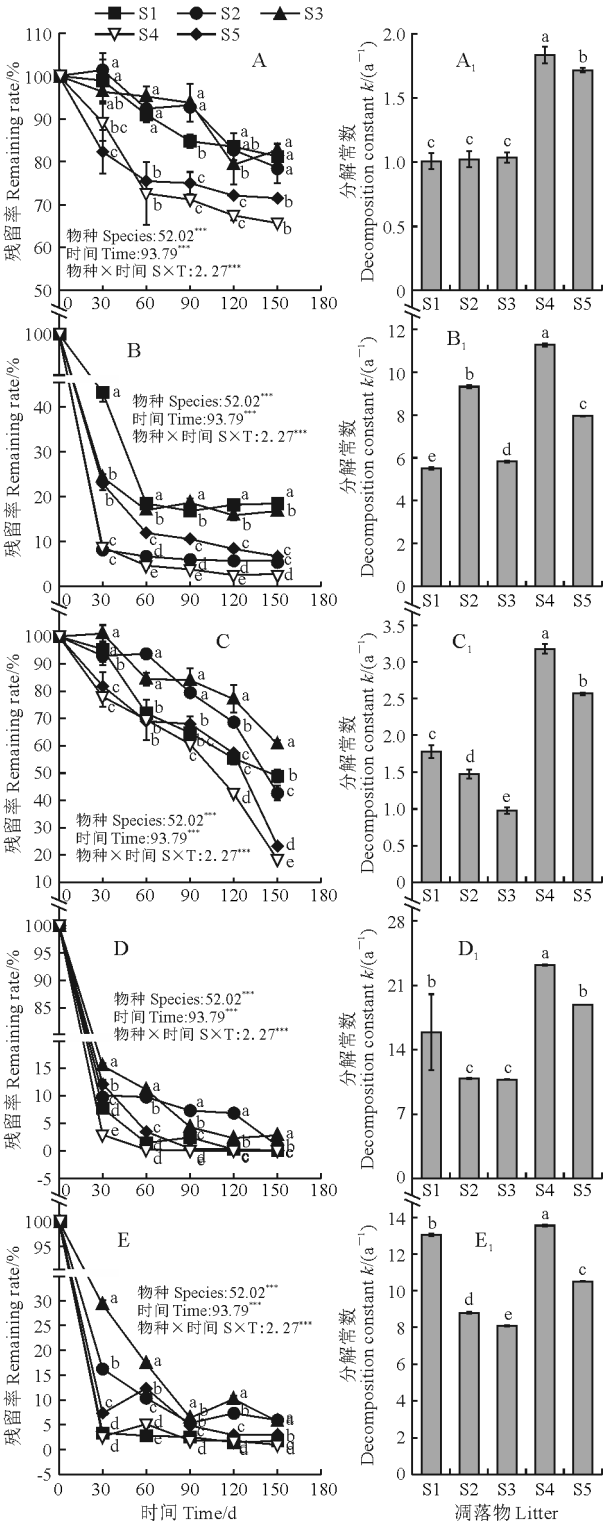
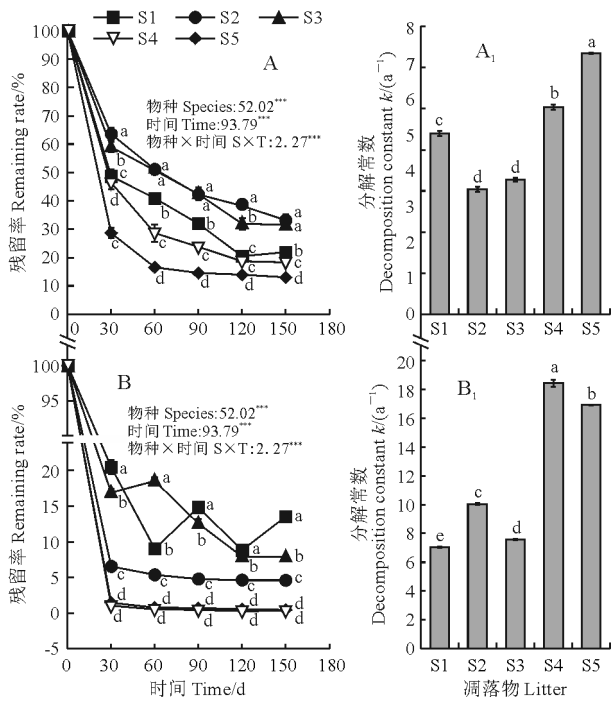


图2 凋落物次生代谢物的降解和释放

$k$  represents the annual degradation or release rates of litters;

A—E represent lignin, water soluble phenolics, condensed tannins, terpenoids and flavones, respectively

Fig. 2 The degradation or release of the secondary metabolites of litters

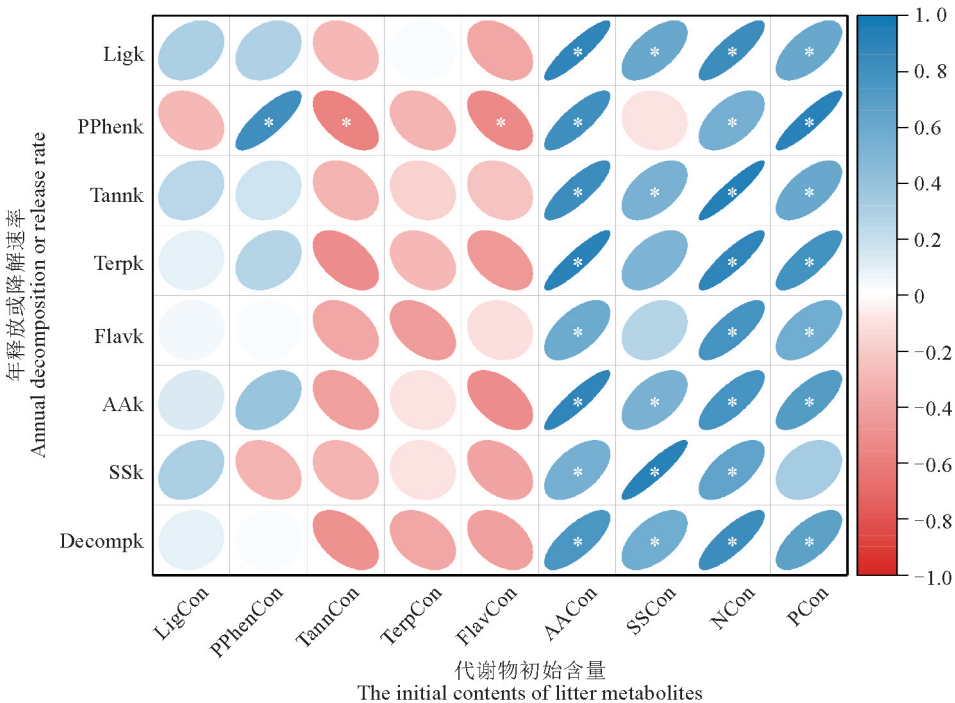


A和B分别代表可溶性糖和氨基酸  
图3 凋落物初生代谢物的释放

A and B represent soluble sugars and amino acids, respectively  
Fig. 3 The release of the primary metabolites of litters

( $P<0.05$ )。进一步的单因素方差分析表明,试验全程中凋落物可溶性糖的残留率普遍呈现刺槐<沙棘<油松≈狗尾草≈油松凋落物的规律(图3,A, $P<0.05$ ),而氨基酸的残留率则普遍呈现刺槐≈沙棘<狗尾草的趋势,油松和胡枝子凋落物氨基酸残留率始终显著高于前三者,但两者之间的大小关系随实验进行频繁转变(图3,B, $P<0.05$ )。对上述2种初生代谢物释放过程的拟合结果(图3,A<sub>1</sub>—B<sub>1</sub>)也表明沙棘和刺槐凋落物初生代谢物的年降解或释放速率显著高于其他3种凋落物。

Pearson 相关分析结果(图4)表明,次生代谢物中仅广义酚类代谢物的年释放速率与其自身含量显著相关( $P<0.05$ ),其中水溶性酚呈正相关,而凝缩单宁和黄酮类则均呈负相关;初生代谢物的年释放速率则均与其自身含量呈显著正相关( $P<0.05$ )。所有代谢物中,仅氨基酸的含量与其他所有物质的释放速率显著正相关( $P<0.05$ ),可溶性糖含量仅与木质素、单宁、氨基酸和其自身的年释放速率正相关( $P<0.05$ );但凋落物氮磷含量则与所有代谢物的年释放速率显著正相关( $P<0.05$ )。



\*,  $P<0.05$ ; Lig,PPhen,Tann,Terp,Flav,AA,SS 和 Decomp 分别代表木质素、水溶性酚、凝缩单宁、萜类、黄酮、氨基酸、可溶性糖和分解, $k$  代表年降解或释放速率,Con 代表初始含量

图4 凋落物代谢产物初始含量与其年降解或释放速率的关系

\*,  $P<0.05$ ; Lig, PPhen, Tann, Terp, Flav, AA, SS and Decomp represent lignin, water soluble phenolics, condensed tannins, terpenoids and flavones, amino acids, soluble sugars and decomposition, respectively,  $k$  represents the annual decomposition or release rate, Con represents the initial contents

Fig. 4 Relations between the initial contents of litter metabolites and their annual degradation or release rates

3 讨论与结论

研究结果表明,5 种供试凋落物的前期分解过程均呈现质量持续降低,但在 30~60 d 期间分解更快而后期相对减缓的现象,这与前人获取的普遍结果<sup>[26]</sup>一致。然而,考虑具体代谢产物释放时,每次回收时木质素的降解率普遍显著低于对应时期的质量损失率,且呈现短暂快速损失后降解速率(后续表述中“年降解或释放速率”均根据实际情况缩略为降解速率或释放速率)明显降低的趋势,这与 He 等<sup>[27]</sup>的研究结果类似。其原因是凋落物在分解开始时含有丰富的非结构性碳水化合物、蛋白质和纤维素等,因此微生物在分解、突破凋落物的部分木质素外壳后优先利用上述物质<sup>[28]</sup>。而在前述物质大量损耗后,仅有限类群的微生物如白腐真菌和放线菌能够适应贫养环境,并具有分泌相关降解酶(漆酶、木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶)的能力<sup>[29]</sup>,因此使得木质素在随后的降解速率十分有限。

除木质素外,本研究测定的其他次生代谢物均呈明显的超速降解/释放状态。其中,萜类物质快速释放的原因可能是其作为一类重要的化感物质,某些植物叶片生活期间就具有相应的分泌结构(如腺毛和分泌腔),从而使其在叶片凋落后能以挥发方式直接释放<sup>[30-32]</sup>。如 Isidorov 等<sup>[33]</sup>的研究表明欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)凋落物萜烯类物质的挥发速率可达  $7.5\ \mu\text{g}/[\text{g}(\text{凋落物干重})\cdot\text{h}]$ 。同时,微生物也可直接降解凋落物的萜类物质,使其含量快速降低<sup>[34]</sup>。值得注意的是,除胡枝子外所有凋落物的萜类释放均呈现在试验后期加速释放的趋势,其原因可能是该类物质在水中的溶解度较低,因此部分萜类的释放同时受到凋落物组织结构的限制<sup>[30-31]</sup>。如挥发性较差的倍半萜需要在凋落物分解程度较高、充分暴露的条件下才能达到一定的释放速率<sup>[31]</sup>,因此仅在凋落物组织的木质素(如油松凋落物)或蜡质外壳(如狗尾草凋落物)充分破坏后才能快速释放。

相较于以上两种次生代谢物,水溶性酚、凝缩单宁和黄酮等广义上的酚类物质则均呈在 30~60 d 内快速释放绝大部分,而后期释放速率急剧降低甚至停滞的现象,这与 Santonja 等<sup>[35]</sup>报道凋落物酚类物质在分解 6 个月内释放了 80% 的研究结果相似。其原因是水溶性酚和黄酮具有较高的溶解度,因此在分解初期即可能由于补水时的淋溶大量损失。对于凝缩单宁而言,尽管其溶解度和生物可利用性有

限,但仍有部分微生物(如曲霉属、青霉属真菌和根瘤属细菌)能够分泌单宁酶,从而对其具有高效的降解能力<sup>[36-38]</sup>。根据直接观察鉴定以及前期研究的高通量测序结果,曲霉属真菌是供试凋落物在这一分解阶段的绝对优势真菌类群<sup>[39]</sup>,在油松凋落物以及以刺槐和狗尾草为主的混合凋落物中的相对丰度可达 25%~82%。因此,供试凋落物中凝缩单宁的快速释放可能与生物分解作用密切相关。然而,前人研究表明凋落物定殖微生物的群落往往随分解进行存在显著的演替现象<sup>[40]</sup>。随着上述关键属相对丰度的改变,凋落物单宁的释放必然受到影响。在本研究的同期工作中笔者已经观察到根瘤属细菌相对丰度在刺槐和狗尾草为主的混合凋落物的分解过程中呈现显著降低趋势(尚未发表)。类似的关键单宁降解微生物类群丰度的改变可能同样发生于本研究的凋落物分解过程中,从而导致其后期释放减缓。当然,上述推测尚需在后续研究中配合扩增子测序等手段加以验证。

相对于 5 种次生代谢物,供试凋落物中的可溶性糖的释放并非呈现急剧释放后停滞或持续释放的趋势,而是表现为初期快速释放后速率逐渐减缓,这与蔡丹等<sup>[28]</sup>发现凋落物可溶性糖含量在 30 d 内即降低至最低值的现象有所差异。其原因可能是可溶性糖本身能够在短期内随对凋落物的补水溶解释放,另外在凋落物分解初期占据优势地位的糖真菌<sup>[40]</sup>类群也导致了分解初期凋落物可溶性糖的快速损失。然而,前人研究表明糖真菌通常在短期内即被以纤维素降解功能为主的类群取代<sup>[40]</sup>,这可能也是导致可溶性糖降解速率衰减的主要因素之一。当然,凋落物分解过程中其他形态的非结构性有机碳(如淀粉)可分解形成可溶性糖,因此使凋落物在短期内仍然能保持一定的可溶性糖含量。对于氨基酸而言,在多数供试凋落物中其含量在短时间内即降低绝大部分,甚至几乎完全损失。其原因可能是这类物质本身含量较低(较其他代谢物低若干个数量级),且容易被微生物快速转化利用(如硝化作用)和溶出释放<sup>[41]</sup>。

总体而言,供试凋落物间同类代谢产物的释放速率普遍存在显著差异,这与前人研究结果<sup>[30, 42-43]</sup>类似。其原因首先可能是尽管本研究测定的多数代谢物可通过淋溶和挥发快速释出,但均在一定程度上受到凋落物组织结构破坏程度的限制<sup>[31]</sup>。鉴于木质素是植物组织外壳中最关键的保护性物质之一,而阔叶树种、针叶树种和草本植物木质素的基本

单元存在一定的差异,凋落物间分解和代谢产物释放速率的不同可能是由不同木质素组成单元的化学特性和结构决定的微生物可利用性、而非单纯的木质素含量控制的<sup>[42]</sup>。本研究未发现木质素含量与凋落物分解速率或 7 种代谢物的释放速率具有直接的相关性也支持了上述观点。另外,凋落物关键养分(如氮磷和氨基酸)和易利用碳源(如可溶性糖)的供应能力也决定了分解者是否能够快速获取足够的养分和能量完成其增殖和降解木质素其他难降解物质的分解过程,间接或直接调控其释放。本研究中上述元素和代谢物含量与 5 种次生代谢物释放速率间的相关性也证实了上述推测。更重要的是,由于植物间叶片结构、化学防御机制以及凋落物基质质量特征(表 1)的不同,其上定殖的初始微生物群落、该群落的分解能力以及群落后续演替和功能变化方向存在明显差异<sup>[44-45]</sup>。即使在凋落物基质质量始终被相同建群种主导的人工林中,林地凋落物定殖真菌和细菌的群落组成及其木质纤维素分解能力也随基质质量的小幅变化而呈现显著改变,并最终影

响凋落物的分解和酚类物质释放特性<sup>[23]</sup>。类似地,本研究中不同凋落物中的定殖微生物必然存在差异,从而导致代谢产物释放特征的不同。需要补充说明的是,不同凋落物间特定类型代谢物的释放规律并非在试验全过程中保持一致。其原因可能是本研究中测定的代谢物均是以大类整体为单位,而凋落物间同类代谢物的组成差异以及主要释放途径随分解进行的变化均十分复杂。以萜类物质为例,有研究表明在地中海松(*Pinus halepensis*)凋落物以释放倍半萜烯为主,而同属的意大利松形松(*P. pinea*)凋落物以释放单萜类为主<sup>[30]</sup>;地中海松凋落物分解前期以释放松油烯为主,而在后期则以释放蒎烯为主<sup>[31]</sup>。上述萜类物质具体种类及其特性(挥发性和可降解性)以及在凋落物中的含量和贮存形态的不同可能是导致在特定时期某种凋落物的萜类释放率显著高于其他凋落物,但随分解进行则呈相反趋势的关键原因。在水溶性酚、凝缩单宁和其他代谢物的降解/释放过程中,上述现象也可能通过类似的机制解释,其具体机制有待深入研究阐明。

参考文献:

[1] WANG H, LIU S, WANG J, *et al.* Mixed-species plantation with *Pinus massoniana* and *Castanopsis hystrix* accelerates C loss in recalcitrant coniferous litter but slows C loss in labile broadleaf litter in southern China[J]. *Forest Ecology and Management*, 2018, 422: 207-213.

[2] 贾丙瑞. 凋落物分解及其影响机制[J]. *植物生态学报*, 2019, 43(8): 648-657.

JIA B R. Litter decomposition and its underlying mechanisms [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2019, 43(8): 648-657.

[3] 肖文娅, 关庆伟. 干扰对森林凋落物分解影响的研究现状及展望[J]. *生态环境学报*, 2018, 27(5): 983-990.

XIAO W Y, GUAN Q W. Status and prospect of the studies of disturbance effects on litter decomposition in forest ecosystems[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2018, 27(5): 983-990.

[4] 张中发, 王 微. 基于 web of science 的国际凋落物分解研究进展[J]. *南方林业科学*, 2021, 49(1): 48-54.

ZHANG Z F, WANG W. International research progress in the litter decomposition based on web of science[J]. *South China Forestry Science*, 2021, 49(1): 48-54.

[5] 李 勋, 张 艳, 覃 宇, 等. 马尾松与乡土阔叶树种凋落叶木质素降解的混合效应[J]. *热带亚热带植物学报*, 2022, 30(1): 19-30.

LI X, ZHANG Y, QIN Y, *et al.* Mixed effects on lignin degradation in the litter leaves of *Pinus massoniana* and native broad-leaved tree species[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2022, 30(1): 19-30.

[6] 康根丽, 杨玉盛, 司友涛, 等. 马尾松与芒萁鲜叶及凋落物水溶性有机物的溶解特征和光谱学特征[J]. *热带亚热带植物学报*, 2014, 22(4): 357-366.

KANG G L, YANG Y S, SI Y T, *et al.* Soluble and spectral characteristics of DOM in leaching solution from leaves and litter-fall of *Pinus massoniana* and *Dicranopteris dichotoma*[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2014, 22(4): 357-366.

[7] 雷秋霜, 杨秀虹, 方志文, 等. 森林新近凋落叶溶出 DOM 的性质及其对菲增溶作用的影响[J]. *生态环境学报*, 2014, 23(1): 170-177.

LEI Q S, YANG X H, FANG Z W, *et al.* Characteristics of fresh leaf litter-derived dissolved organic matter and its capacity to enhance the apparent water solubility of phenanthrene [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2014, 23(1): 170-177.

[8] 胡 仪, 吴福忠, 吴秋霞, 等. 三个亚热带森林优势种凋落物非结构性碳水化合物含量的季节动态[J]. *生态学报*, 2022, 42(5): 1 901-1 910.

HU Y, WU F Z, WU Q X, *et al.* Seasonal variations of non-structural carbohydrates in fresh litters of three dominant tree species in subtropical forests [J]. *Acta Ecologica Sinica*,

2022, **42**(5): 1 901-1 910.

[9] 卢玉鹏, 许纪元, 张晓曦, 等. 林下药用植物淋出物对红桦和杜仲枯落物分解及土壤酶活性的影响[J]. 植物生态学报, 2017, **41**(6): 639-649.

LU Y P, XU J Y, ZHANG X X, *et al.* Effects of leachate from understory medicinal plants on litter decomposition and soil enzyme activities of *Betula albosinensis* and *Eucommia ulmoides*[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2017, **41**(6): 639-649.

[10] FAN D, FAN K, YU C, *et al.* Tea polyphenols dominate the short-term tea (*Camellia sinensis*) leaf litter decomposition[J]. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 2017, **18**: 99-108.

[11] ZHANG X, LEI H, CHONG Y, *et al.* Do silvi-medicinal plantations affect tree litter decomposition and nutrient mineralization? [J]. *Sustainability*, 2019, **11**(18): 5 138.

[12] 闫鹏飞, 展鹏飞, 王 行, 等. 滇西北高原湿地植物凋落物在不同分解界面的质量衰减及其微生物驱动[J]. 西北植物学报, 2019, **39**(4): 712-721.

YAN P F, ZHAN P F, WANG H, *et al.* Mass attenuation of plant litter and its microbial driving from a wetland of northwestern Yunnan Plateau, China[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, **39**(4): 712-721.

[13] 陈法霖, 张 凯, 向 丹, 等. 桉树凋落物对土壤微生物群落的影响: 基于控制实验研究[J]. 土壤学报, 2019, **56**(2): 432-442.

CHEN F L, ZHANG K, XIANG D, *et al.* Impacts of litter decomposition of *Eucalyptus* on soil microbial community: A microcosm study[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, **56**(2): 432-442.

[14] MANCINI A, PUCCIARELLI S. Antibiotic activity of the antioxidant drink effective Microorganism-X (EM-X) extracts against common nosocomial pathogens: An *in vitro* study[J]. *Natural Product Research*, 2018, **34**(11): 1 575-1 580.

[15] ADAMCZYK B, *et al.* Tannins can slow-down but also speed-up soil enzymatic activity in boreal forest[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 107: 60-67.

[16] CHOMEL M, GUITTONNY-LARCHEVÊQUE M, FERNANDEZ C, *et al.* Plant secondary metabolites: A key driver of litter decomposition and soil nutrient cycling[J]. *Journal of Ecology*, 2016, **104**(6): 1 527-1 541.

[17] 宗文贞, 郭家昊, 贾云龙, 等. 单宁在植物-土壤氮循环中作用的研究进展[J]. 草业学报, 2020, **29**(7): 174-183.

ZONG W Z, GUO J H, JIA Y L, *et al.* Advances in research on the roles of tannins in plant-soil nitrogen cycling [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2020, **29**(7): 174-183.

[18] 平晓燕, 王铁梅. 植物化感作用的生态学意义及在草地生态系统中的研究进展[J]. 草业学报, 2018, **27**(8): 175-184.

PING X Y, WANG T M. Ecological significance of plant allelopathy and progress in allelopathy research in grassland ecosystems[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2018, **27**(8): 175-184.

[19] ZHANG X, LIU Z, LIU X, *et al.* Relationship between soil humus dissimulation, soil biological and chemical properties, and leaf litter characteristics in pure forests[J]. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2016, **28**(9): 616.

[20] 储 成, 程 谊, 曹亚澄, 等. 土壤可溶性有机氮测定方法研究进展[J]. 土壤, 2021, **53**(3): 449-457.

CHU C, CHENG Y, CAO Y C, *et al.* Advances in determination of soil dissolved organic nitrogen[J]. *Soils*, 2021, **53**(3): 449-457.

[21] 马庆旭, 朱双双, 泮尧坤, 等. 土壤氨基酸生物有效性及其环境调控研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2020, **26**(10): 1 899-1 908.

MA Q X, ZHU S S, PAN W K, *et al.* The bioavailability of soil amino acids and the regulation mechanism by environmental factors: A review[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, **26**(10): 1 899-1 908.

[22] CHAE H M, CHOI S H, LEE S H, *et al.* Effect of litter quality on needle decomposition for four pine species in Korea [J]. *Forests*, 2019, **10**(5): 371.

[23] ZHANG X, WANG L, ZHOU W, *et al.* Changes in litter traits induced by vegetation restoration accelerate litter decomposition in *Robinia pseudoacacia* plantations[J]. *Land Degradation & Development*, 2022, 33: 179-192.

[24] 郭佩瑶, 邓斯颖, 张艺帆, 等. 不同光质对红花檵木愈伤组织生长及黄酮类物质含量的影响[J]. 西北植物学报, 2022, **42**(1): 118-126.

GUO P Y, DENG S Y, ZHANG Y F, *et al.* Effect of different light quality on callus growth and flavonoids content of two *Loropetalum chinense* plants[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, **42**(1): 118-126.

[25] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.

[26] 朱蔚娜, 张国龙, 张璞进, 等. 大针茅草原 6 种主要植物叶凋落物和根系分解特征与功能性状的关系[J]. 植物生态学报, 2021, **45**(6): 606-616.

ZHU W N, ZHANG G L, ZHANG P J, *et al.* Decomposition characteristics of leaf litters and roots of six main plant species and their relationships with functional traits in *Stipa grandis* steppe [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2021, **45**(6): 606-616.

[27] HE M, ZHAO R, TIAN Q, *et al.* Predominant effects of litter chemistry on lignin degradation in the early stage of leaf litter decomposition[J]. *Plant and Soil*, 2019, **442**(1): 453-469.

[28] 蔡 丹, 杨秀虹, 雷秋霜, 等. 华南典型树种凋落叶的野外分解和溶解性有机质溶出动态[J]. 应用生态学报, 2016, **27**(9): 2 823-2 830.

CAI D, YANG X H, LEI Q S, *et al.* Field decomposition and dissolved organic matter release dynamics in leaf litter of typical trees in South China[J]. *Chinese Journal of Applied*

*Ecology*, 2016, **27**(9): 2 823-2 830.

[29] 郑秀成, 陈泽裕, 陈国庆, 等. 烟草废弃物中的难降解有机物的微生物降解研究进展[J]. 微生物学报, 2020, **60**(12): 2 650-2 663.

ZHENG X C, CHEN Z Y, CHEN G Q, *et al.* Progress in microbial degradation of refractory organics in tobacco waste [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, **60**(12): 2 650-2 663.

[30] VIROS J, FERNANDEZ C, WORTHAM H, *et al.* Litter of Mediterranean species as a source of volatile organic compounds[J]. *Atmospheric Environment*, 2020, 242: 117 815.

[31] VIROS J, SANTONJA M, TEMIME-ROUSSEL B, *et al.* Volatilome of Aleppo Pine litter over decomposition process [J]. *Ecology and Evolution*, 2021, **11**(11): 6 862-6 880.

[32] 王 露, 赵天祚, 蔡 明. 植物腺毛中防御物质的合成与调控及转运研究进展[J]. 西北植物学报, 2021, **41**(2): 338-347.

WANG L, ZHAO T Y, CAI M. Advances in synthesis, regulation and transportation of defensive substances produced in plant glandular trichomes[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, **41**(2): 338-347.

[33] ISIDOROV V A, SMOLEWSKA M, PURZYŃSKA-PU-GACEWICZ A, *et al.* Chemical composition of volatile and extractive compounds of pine and spruce leaf litter in the initial stages of decomposition[J]. *Biogeosciences*, 2010, **7**(9): 2 785-2 794.

[34] 吴 婷, 夏传俊, 赵 娟. 森林凋落叶分解过程中单萜烯排放研究进展[J]. 地球科学进展, 2012, **27**(7): 717-724.

WU T, XIA C J, ZHAO J. Review on emission of monoterpenes during the decomposition of leaves litter in forest ecosystem [J]. *Advances in Earth Science*, 2012, **27**(7): 717-724.

[35] SANTONJA M, BOUSQUET-MÉLOU A, GREFF S, *et al.* Allelopathic effects of volatile organic compounds released from *Pinus halepensis* needles and roots[J]. *Ecology and Evolution*, 2019, **9**(14): 8 201-8 213.

[36] 王晓东, 胡海滨, 麦康森, 等. 土壤中单宁和植酸降解菌的筛选、鉴定及液态发酵研究[J]. 水产学报, 2016, **40**(10): 1 634-1 642.

WANG X D, HU H B, MAI K S, *et al.* Screening and identification of tannic acid and phytic acid degradative microorganisms from soil and the submerged fermentation study[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, **40**(10): 1 634-1 642.

[37] PRIGIONE V, SPINA F, TIGINI V, *et al.* Biotransformation of industrial tannins by filamentous fungi[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, **102**(24): 10 361-10 375.

[38] 申家豪, 郑娟善, 梁泽毅, 等. 植物单宁的微生物降解及其调控反刍动物瘤胃发酵的研究进展[J]. 动物营养学报, 2022, **34**(5): 2 798-2 811.

SHEN J H, ZHENG J S, LIANG Z Y, *et al.* Research progress on microbial degradation of plant tannins and their regulation of rumen fermentation in ruminants [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, **34**(5): 2 798-2 811.

[39] ZHOU W, ZHANG S, WANG L, *et al.* Applicability of the microbial inoculation method in the study on litter decomposition[J]. *Taiwania*, 2021, **66**(3): 364-373.

[40] GULATI S, CHITRALEKHA P, PANDIT M A, *et al.* Diversity, succession and seasonal variation of phylloplane mycoflora of *Leucaena leucocephala* in relation to its leaf litter decomposition[J]. *Journal of Fungi*, 2022, **8**(6): 608.

[41] WANG L, CHEN Y, ZHOU Y, *et al.* Environmental conditions and litter nutrients are key determinants of soluble C, N, and P release during litter mixture decomposition[J]. *Soil and Tillage Research*, 2021, 209: 104 928.

[42] OSONO T. Ecology of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition[J]. *Ecological Research*, 2007, **22**(6): 955-974.

[43] 刘莎茜, 杨 瑞, 侯春兰, 等. 贵州山区生态茶园不同凋落物木质素、纤维素分解特征[J]. 茶叶科学, 2021, **41**(5): 654-668.

LIU S Q, YANG R, HOU C L, *et al.* Decomposition characteristics of lignin and cellulose in different litters of ecological tea gardens in mountainous areas of Guizhou[J]. *Journal of Tea Science*, 2021, **41**(5): 654-668.

[44] TENNAKOON D S, KUO C H, PURAHONG W, *et al.* Fungal community succession on decomposing leaf litter across five phylogenetically related tree species in a subtropical forest[J]. *Fungal Diversity*, 2022, 115: 73-103.

[45] FANIN N, LIN D, FRESCHET G T, *et al.* Home-field advantage of litter decomposition: from the phyllosphere to the soil[J]. *New Phytologist*, 2021, 231: 1 353-1 358.

(编辑:潘新社)