西北林学院学报 2019,34(1):11-18
Journal of Northwest Forestry University

doi:10.3969/j.issn.1001-7461.2019.01.02

连栽杉木林地土壤对其无性系幼苗土壤酶活性和酚酸类物质含量的影响

罗红艳[1,3],陈潇潇[1,3],曹光球[1,3],陈爱玲[2,3],魏晓骁[1,3],叶义全[1,3]*

(1.福建农林大学 林学院,福建 福州 350002;2.福建农林大学 资源与环境学院,福建 福州 350002;
3.国家林业局 杉木工程技术研究中心,福建 福州 350002)

摘 要:探讨杉木在连栽杉木林土壤培养下,其优良无性系根际与非根际土壤酶活性以及根际和根尖酚类物质含量的变化特征及其相互关系,揭示杉木优良无性系对不同连栽代数土壤培养的响应机理,以不同连栽代数杉木人工林土壤为培养基质,栽植杉木无性系幼苗2 a后,采用抖落法取根际和非根际土壤测定相关酶活性和根际酚类物质含量,并剪取0~2 cm根尖测定酚酸类物质含量。结果表明,在杉木根际土壤和非根际土壤中的脲酶、蔗糖酶、过氧化氢酶及酸性磷酸酶活性总体上随连栽代数增加呈下降的变化趋势,而多酚氧化酶活性呈上升的变化趋势。杉木优良无性系根际土壤中共鉴定出11种酚类物质,其中阿魏酸、没食子酸和咖啡酸相对含量较高,是最主要的酚类物质。没食子酸相对含量随连栽代数增加而增多,阿魏酸含量表现为先降后升,但均高于对照,而咖啡酸则表现为先升后降,其含量均低于对照,且三者在三代林中的含量均高于一代林;杉木根尖中共鉴定出8种酚类物质,其中儿茶素、奎尼酸和山柰酚相对含量较高。儿茶素含量逐代下降,二代林和三代林中其含量均高于对照;山柰酚含量逐代增加,而不同连栽代数中其含量均低于对照;奎尼酸含量表现为先升后降,而不同连栽代数中其含量均高于对照。相关性分析表明,鞣花酸、奎尼酸与酸性磷酸酶呈显著负相关,龙胆酸与酸性磷酸酶呈极显著正相关,芦丁、龙胆酸与多酚氧化酶呈显著负相关,鞣花酸与多酚氧化酶呈显著正相关,没食子酸与脲酶呈显著负相关;槲皮素、芦丁和香草酸与脲酶呈显著正相关,对香豆酸和山柰酚与蔗糖酶呈显著正相关。综上所述,杉木连栽可能会通过改变杉木根尖和根际土壤中酚类物质的积累来影响土壤酶的活性,进而影响杉木对养分的吸收利用,最终导致杉木连栽障碍的发生。

关键词:杉木;连栽;酚酸类物质;土壤酶活;根际土壤

中图分类号:S791.27 **文献标志码**:A **文章编号**:1001-7461(2019)01-0011-08

Effects of Continuous Planting on Soil Enzyme Activities and Phenolic Acid Contents in Soil and Root Tips of *Cunninghamia lanceolata*

LUO Hong-yan[1,3],**CHEN Xiao-xiao**[1,3],**CAO Guang-qiu**[1,3],**CHEN Ai-ling**[2,3],**WEI Xiao-xiao**[1,3],**YE Yi-quan**[1,3]*

(1. *Forestry College of Fujian Agriculture and Forestry University*, *Fuzhou* 350002, *Fujian*, *China*;
2. *Resources and Environment College of Fujian Agriculture and Forestry University*, *Fuzhou* 350002, *Fujian*, *China*;
3. *Chinese Fir Engineering Technology Research Center*, *State Forestry Administration*, *Fuzhou* 350002, *Fujian*, *China*)

Abstract: The objectives of this study were to investigate the rhizospheric and non-rhizospheric soil enzyme activities, the changes of phenolic contents in rhizosphere and root tips and their relationships in different *Cunninghamia lanceolata* clones under various continuous cropping soil conditions, and to reveal the underlying mechanism of different *C. lanceolata* clones in response to various continuous cropping soils. Soils

收稿日期:2018-04-25 **修回日期**:2018-07-17
基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFD0600301)。
作者简介:罗红艳,女,在读硕士,研究方向:植物地理学。E-mail:849929985@qq.com
* **通信作者**:叶义全,男,讲师,博士,研究方向:植物逆境生理。E-mail:yeyiquan008@163.com

of different *C. lanceolata* plantations were used as the culture media. After planting the clonal seedlings of *C. lanceolata* for 2 years, the enzyme activities and phenolic substances in the rhizosphere and non-rhizosphere soils were determined by shaking off method, and the contents of phenolic substances in the rhizosphere were measured. The phenolic acid contents in root tips (0－2 cm) were determined. The results showed that the activities of urease, sucrase, catalase and acid phosphatase in the rhizosphere and non-rhizosphere soils generally decreased with the increase of successive generations, while opposite for polyphenol oxidase. A total of 11 phenolic compounds were identified in the rhizosphere soil, among which the relative contents of ferulic acid, gallic acid and caffeic acid were relatively high, and they were the major phenolic substances. The relative content of gallic acid increased with the increase of successive generations. The content of ferulic acid increased firstly and then decreased with the increase of successive generations, but both contents were higher than the control. However, it was opposite for caffeic acid. The relative contents of ferulic acid, gallic acid and caffeic acid in the 3rd generation were higher than those in the 1st generation. A total of 8 phenolic compounds were identified in the root tips, in which the contents of catechins, quinic acid and kaempferol were relatively higher as compared with other phenolic compounds. The content of catechins decreased gradually from the 1st to the 3rd generations. Moreover, the catechins contents in the 2nd and the 3rd generations were higher than the control. The content of kaempferol increased gradually from the 1st to 3rd generations, and its contents in different generations were lower than the control. The content of quinic acid rose firstly and then decreased, while the contents of quinic acid in different generations were higher than the control. Correlation analysis showed that significant and negative correlations were observed among ellagic acid, quinic acid and acid phosphatase, while gentisic acid was positively correlated with acid phosphatase. Rutin, gentisic acid were negatively correlated with polyphenol oxidase. Positive correlationship between ellagic acid and polyphenol oxidase was observed. Gallic acid was significantly and negatively correlated with urease. Quercetin, rutin, vanillic acid and urease were significantly and positively correlated, and *p*-coumaric acid, kaempferol and invertase showed positive correlation. The above findings suggested that the continuous-planting of *C. lanceolata* might affect the soil enzymes activities through altering the accumulation of phenolic acids in plant root tips and soil, which in turn affected the uptake and utilization of nutrients from soil, as a result, the growth of *C. lanceolata* was inhibited, and the continuous planting obstacle of *C. lanceolata* occurred.

Key words: *Cunninghamia lanceolata*; continuous planting; phenolic acid; soil enzyme activity; rhizosphere soil

杉木(*Cunninghamia lanceolata*)是我国重要的速生用材树种,因其具有材质优良和速生等特点,在我国南方地区广泛种植。长期林业生产实践表明,杉木人工林多代连栽引起的林分生产力下降已成为制约我国南方杉木人工林可持续经营的主要障碍因子[1]。因此,阐明连栽障碍机理已成为当前林业领域亟待解决的重要问题。早期关于杉木连栽障碍机理的研究大多数是从营林抚育措施、土壤酸化和林地养分亏缺等方面进行[1-2]。近年来越来越多研究相继表明,化感物质与杉木多代连栽引起的连栽障碍问题密切相关,杉木在连栽过程中通过不断在土壤中积累化感物质,从而对自身的生长产生抑制性的毒害作用[3-6]。酚类物质作为一类化感活性较强的物质,是杉木连栽地中最常见的,也是目前被普遍认为引起杉木自毒作用的主要化感物质[7-8]。酚类物质是植物重要的次生代谢产物,普遍存在于植物体内和土壤中。

前期研究表明,酚类物质不仅能够降低土壤中养分的有效性,抑制植物对养分的吸收利用,同时还能降低土壤中微生物的种群和数量[9]。此外,许多研究指出,随连栽代数的增加土壤中酚类物质的含量不断升高[4,10],因此一些研究者推测在杉木人工林多代连栽体系下,人工林减产效应与连栽土壤根际微环境发生变化有关,特别是根际土壤中酚类物质的积累,可能是导致杉木连栽障碍的重要因素之一。土壤中酚类物质含量的积累是一个复杂的过程,受多种因素影响,酚类物质能否积累达到致毒浓度并发生作用,与其在土壤中尤其是在根际土壤中迁移和转化等过程密切相关[2],而土壤酶对上述过程具有重要的影响。

土壤酶是土壤生态系统的重要组成部分,可直接参与土壤中物质的迁移转化与养分释放及固定等过程,同时还能较好地反映土壤生化活性的高低以及土壤中物质转化的强度与方向,被认为是评价土壤肥力和生物活性的最重要指标之一[11-12]。因此,许多研究者认为,土壤酶的活性及其功能的改变是土壤质量演变的关键过程[13],一些学者围绕杉木多代连栽对连栽地的土壤养分、土壤酶活性和土壤微生物等的影响展开了大量研究[13-17],研究结果对于揭示杉木多代连栽引起林分生产力下降的根际微生态环境的响应机制具有重要意义。但上述关于杉木连栽地土壤特性的研究,主要针对不同林龄或立地条件下,土壤酶活性和微生物等的变化。目前,关于不同连栽代数土壤培养的杉木幼苗对土壤酶活性、土壤酚类物质含量以及二者之间的相互关系,特别是关于根际土壤酶活性与土壤酚类物质含量的关系鲜见报道。本研究通过比较杉木不同连栽代数土壤培养的杉木幼苗根际与非根际土壤酶活性、酚类物质含量等方面的差异,探讨杉木不同连栽代数土壤培养的杉木幼苗根际土壤酶活性和酚类物质的变化规律及其相互关系,试图揭示导致杉木连作障碍的原因,为科学合理地制定相应经营措施提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料

采用课题组前期筛选的 1 年生杉木优良无性系组培苗作为试验材料。取样林分坐落于福建省南平市延平区王台镇溪后村,117°51′E、26°34′N,属南亚热带季风性半湿润-湿润气候,低山丘陵地貌,土壤质地为花岗岩发育的红壤,土层厚度>100 cm,表层稀疏。杉木一代林(1919 年营建)、连栽二代林(1996年在25年生一代林皆伐迹地上营建)、连栽三代林(1995 年在 25 年生连栽二代林皆伐迹地上营建)、对照楠木人工林(1974 年营建)造林地前身均为常绿阔叶林。在每种林分类型分别设 3 个 20 m×20 m 的样地,每木调查林分的生长情况(表 1);用 S 型采样法,每个样地均选 5 个样点,分别取 0～40 cm 土层的土壤(表 2),带回福建农林大学混合均匀后作为培养基质用于盆栽试验。

1.2　试验设计

在规格统一的花盆(28 cm×30 cm)中分别装楠木林土壤、杉木一代林土壤、杉木连栽二代林土壤和连栽三代林土壤作为培养基质,将大小(苗高 35～40 cm、基径 1.5～2.0 cm)基本一致的杉木幼苗种到花盆中,每盆种 3 株杉木幼苗,每盆为 1 个重复,共设置 3 个重复。培养地点为福建农林大学科技园 2 号实验室后院,培养时间为 2014 年 6 月至 2016 年 6 月,期间只进行正常的浇水、除草管理。

表 1　不同林分类型土壤立地条件及林分生长基本概况

Table 1　Characteristics of different forest types

性质	土壤种类			
	楠木林	杉木一代林	连栽二代林	连栽三代林
海拔/m	180	205	185	196
坡向	NW	NE	NW	NE
坡度/(°)	15	20	26	26
母岩	花岗岩	花岗岩	花岗岩	花岗岩
土壤类型	山地红壤	山地红壤	山地红壤	山地红壤
地貌部位	鞍部	鞍部	鞍部	鞍部
林龄/a	40	95	18	19
平均胸径/cm	26.4	33.5	12.1	11.5
平均树高/m	17.5	32.7	12.9	12.4
密度/(株·hm^{-2})	2 250	1 009	2 640	2 775
郁闭度/%	84	62	82	81

表 2　不同林分类型林土壤化学性质

Table 2　Chemical properties of the soil in different forest types　　g·kg^{-1}

性质	土壤种类			
	楠木林	杉木一代林	连栽二代林	连栽三代林
土壤 pH	4.41±0.02	3.97±0.02	3.92±0.01	3.84±0.02
全 C	24.53±0.12	20.19±2.18	17.83±1.96	15.21±1.82
全 N	2.71±0.13	1.80±0.03	1.75±0.02	1.71±0.03
全 P	0.59±0.01	0.23±0.03	0.30±0.01	0.32±0.02
全 K	20.67±0.44	25.63±0.56	21.16±0.53	25.58±0.85

注:数据为平均值±标准误。

培养结束后,将根系完整的杉木苗整体取出,采用抖落法取根际(采集直径<0.5 cm 的细根上附着的 1～2 mm 的土壤,连同细根一起装入袋中)与非根际(根区域内非附着于根际的土壤)土壤,风干后过筛并测定土壤酶活性[18];杉木根部用自来水冲洗干净后再用超纯水重复冲洗 3 遍擦干,用消毒处理的剪刀剪取根尖部位 0～2 cm 部分,放入垫有湿滤纸的塑封袋中置于 4℃冰箱中保存,用于测定相关指标。

1.3 测定方法

土壤脲酶活性采用尿素基质培养法[19]测定；蔗糖酶酶活性采用 8%的蔗糖溶液基质培养法[15]测定；酸性磷酸酶酶活值采用对硝基酚磷酸盐溶液(PNP)基质培养法[20]测定；多酚氧化酶以 3,4-dihydroxy 二羟-L-phenylalanine 苯基丙胺酸(DOPA)为培养基质[19]，酶活值用培养 24 h 后 0.5 g 土壤中消耗的苯基丙胺酸的毫克数表示；过氧化氢酶酶活性以 20 min 后每克土滴定所用的 0.1 mol·L^{-1}高锰酸钾毫升数表示[21]。根尖和根际土壤酚酸类物质用 LC-Q/TOF-MS(安捷伦，1290 Infinity LC，6530UHD and Accurate-Mass Q-TOF/MS)仪器测定。分离色谱柱为 C18 色谱柱(安捷伦，100 mm×2.1 mm，1.8 μm)。柱温为 40℃，进样量为 4 μL，自动进样器温度 4℃。流动相：A 为水＋0.1%甲酸，B 为乙腈＋0.1%甲酸，流速 0.35 mL·min^{-1}。洗脱梯度为：0 min，5%；1 min，5%；6 min，20%；9 min，50%；13 min，95%；15 min，95%。

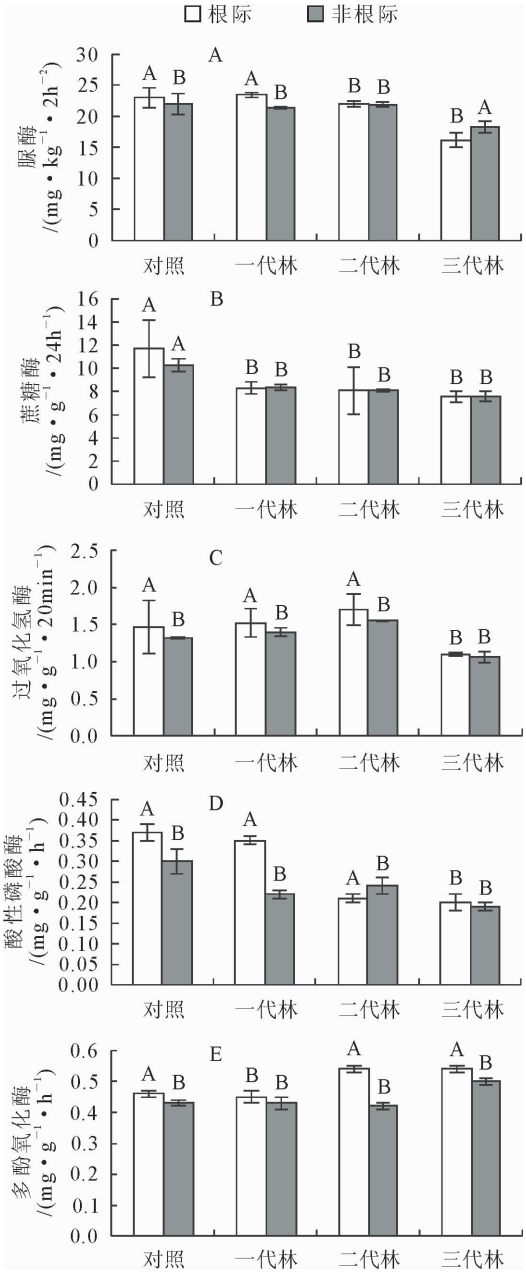
1.4 数据处理

根尖和根际土壤酚酸类物质利用从原始数据提取得到的二维矩阵中的相关信息在线数据库 metlin 中进行检索，获得相关的目标代谢物信息。运用 Excel 2010 对试验数据进行整理及绘图，试验数据均为 3 次重复取平均值±标准误表示，并用 SPSS 19.0 软件进行 LSD 多重比较分析($P<0.05$)和相关性分析。求每一个样本中的所有酚酸类物质相对峰面积的总和，再求每个样本中的每一种酚酸类物质相对峰面积占相对峰面积总和的百分比，即此酚酸物质占样本酚酸类物质的相对含量。

2 结果与分析

2.1 连栽地土壤对杉木优良无性系根际和非根际土壤酶活性的影响

土壤酶在土壤养分循环和物质转化过程中扮演着十分关键的角色，因此其活性是衡量土壤生物活性与肥力高低的重要指标之一[12]。不同连栽代数林地土壤培养的无性系杉木根际和非根际土壤酶活性见图 1。在根际土壤中(图 1A)，杉木脲酶活性随杉木连栽代数增加呈现出下降的变化趋势，除一代林脲酶活性＞对照外，二代林和三代林脲酶活性分别比对照下降了 4.31%和 29.67%($P<0.05$)；而在非根际土壤中(图 1A)，一代林与二代林脲酶活性与对照相比变化不显著，而三代林脲酶活性显著＜对照，较对照低 16.75%($P<0.05$)。上述结果表明，随培养土壤连栽代数增加，杉木根际和非根际的氮素转化能力被逐渐削弱。此外，一代林和二代林根际土壤中脲酶活性均＞非根际土壤，分别是非根际土壤的 1.1 倍和 1.02 倍，而在三代林非根际土壤中，脲酶活性则显著＞根际土壤，是后者的 1.13 倍。根际土壤中，蔗糖酶活性随连栽代数增加而呈下降的变化趋势(图 1B)，且一代林、二代林和三代林均分别显著＜对照($P<0.05$)，但不同连栽代数土壤之间、根际与非根际土壤之间的蔗糖酶活性差异均不显著($P>0.05$)，表明随培养土壤连栽代数的增加，杉木根际和非根际土壤中的生物活性和肥力逐渐下降。根际与非根际土壤中(图 1C)，过氧化氢酶



注：不同大写字母代表差异显著($P<0.05$)。

图 1 连栽障碍地杉木根际与非根际土壤酶活性分析

Fig. 1 Analysis of enzymatic activity in rhizosphere and non-rhizosphere soil under the continuous cropping obstacle of *C. lanceolata* superior clones

活性随培养土壤连栽代数的增加呈先增后降的变化趋势,一代林和二代林根际与非根际土壤中,过氧化氢酶活性均分别略>对照,差异不显著($P>0.05$),而三代林根际与非根际土壤过氧化氢酶活性均分别低于对照、一代林和二代林,且三代林根际土壤中,过氧化氢酶活性分别与对照和一代林差异显著($P<0.05$),非根际土壤三代林过氧化氢酶活性分别与对照、一代林、二代林和三代林差异不显著($P>0.05$)。且不同连栽代数根际土壤过氧化氢酶含量均>非根际,对照、杉木一代林和连栽二代林根际与非根际土壤之间过氧化氢酶活性的差异达显著水平($P<0.05$)。由图 1D 可见,根际土壤酸性磷酸酶活性随连栽代数增加呈下降的变化趋势,而非根际土壤酸性磷酸酶活性随连栽代数增加,先增强再降低,总体呈下降的变化趋势,表明随杉木连栽代数增加,杉木根际和非根际土壤中有机磷的矿化能力受到削弱。由图 1E 可见,根际和非根际土壤多酚氧化酶活性总体上表现出随连栽代数增加呈上升的趋势,且不同连栽代数根际土壤多酚氧化酶含量均>非根际,分别是非根际土壤的1.07、1.05、1.29 倍和 1.08 倍,且对照、二代林和三代林的根际与非根际土壤之间的多酚氧化酶含量差异水平显著($P<0.05$)。

2.2　连栽地土壤对杉木优良无性系根际土壤酚类物质相对含量的影响

不同连栽代数土壤培养的杉木根际土壤酚类物质的相对含量见图 2。利用液质联用技术从连栽地杉木根际土壤中鉴定出 11 种酚类物质,不同连栽代数土壤培养的杉木根际土壤酚类物质相对含量表现出不同的累积规律,其中相对含量较高的是阿魏酸、没食子酸和咖啡酸。值得注意的是,在这 3 种相对含量较高的酚酸中,只有没食子酸的相对含量是随着杉木连栽代数的增加而显著增大,二代林和三代林分别是对照的 1.17 倍和 2.83 倍,表明其可能对连栽引起的土壤退化具有重要影响。

2.3　连栽地土壤对杉木优良无性系根尖酚类物质相对含量的影响

由图 3 可知,利用液质联用技术,从不同连栽代数土壤中生长的杉木根尖中鉴定出 8 种酚类物质,其中奎尼酸、儿茶素和山奈酚的相对含量较高,而其他 5 种酚类物质的相对含量较低,且在不同连栽代数土壤培养的杉木根尖中差异不明显。奎尼酸的相对含量随连栽代数的增加呈先升高后下降的趋势,在不同连栽代数土壤培养的杉木根尖中,奎尼酸的相对含量分别是对照的 1.87 倍、2.98倍和 3.75 倍。杉木根尖山奈酚的相对含量随连栽代数的增加呈上升的变化趋势,但不同连栽代数土壤培养的杉木根尖中,山奈酚的相对含量均分别较对照低 64.22%、38.99%和 7.79%。儿茶素的相对含量随连栽代数的增加呈下降的变化趋势,除一代林中相对含量>对照外,二代林和三代林中其含量均<对照,但其在不同连栽代数土壤培养的杉木根尖中仍是相对含量最高的酚类物质。

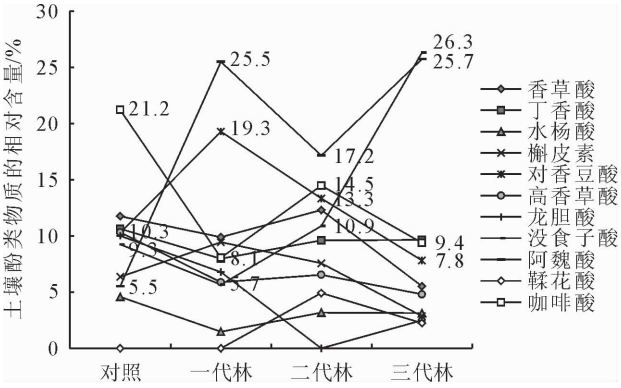


图 2　连栽障碍地杉木优良无性系根际土壤酚酸类物质鉴定

Fig. 2　Identification of phenolic acids in rhizosphere soils under the continuouscropping obstacle of *C. lanceolata* superior clones

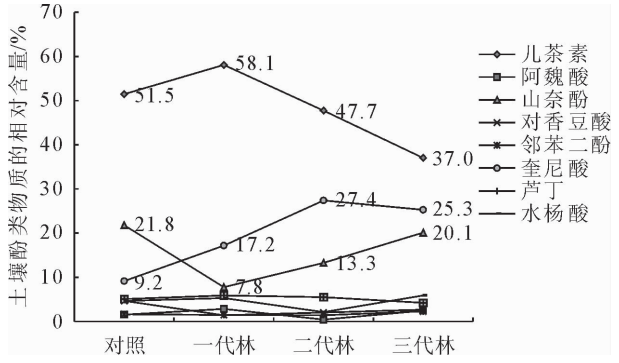


图 3　连栽障碍地杉木优良无性系根尖酚酸类物质相对含量

Fig. 3　Identification of phenolic acids in in root tips under the continuous cropping obstacle of *C. lanceolata* superior clones

2.4　连栽地土壤杉木根尖酚酸类物质含量与土壤酶活相关性分析

为进一步研究杉木根尖酚类物质的相对含量与土壤酶活性的相互关系,将连栽土壤杉木根尖酚类物质的相对含量与土壤酶活性的相关性进行分析(表 3),根尖酚类物质相对含量与土壤酶之间的关系各不相同:其中水杨酸与过氧化氢酶活性、芦丁与多酚氧化酶以及奎尼酸与酸性磷酸酶均呈显著负相关;芦丁与脲酶,对香豆酸、山奈酚均与蔗糖酶呈显著正相关,其余杉木根尖酚类物质含量与土壤酶活

性之间的相关关系均不显著。

2.5 连栽土壤杉木根际土壤酚酸类物质含量与土壤酶活相关性分析

除了根尖酚类物质外，同样对根际土壤中酚类物质的相对含量与土壤酶活性的相关关系进行了分析(表 4)，杉木根际土壤中酚类物质含量与土壤酶活性之间的相关程度各异：其中鞣花酸与多酚氧化酶呈极显著正相关，而与酸性磷酸酶呈极显著负相关。没食子酸与脲酶呈极显著负相关；龙胆酸与酸性磷酸酶呈极显著正相关，而与多酚氧化酶呈极显著负相关；槲皮素与脲酶呈极显著正相关；香草酸与脲酶呈显著正相关，杉木根际其余酚类物质含量与土壤酶活性之间的相关关系均不显著。

表 3 根尖酚酸类物质和酶活性相关性分析

Table 3 Correlation analysis of phenolic acids compounds in rhizosphere soil with enzymatic activity

酚酸类物质	脲酶	蔗糖酶	过氧化氢酶	酸性磷酸酶	多酚氧化酶
水杨酸	−0.532	−0.1	−0.722**	−0.055	−0.005
芦丁	0.680*	0.359	0.045	0.558	−0.615*
奎尼酸	−0.449	−0.557	−0.308	−0.642*	0.56
邻苯二酚	−0.222	−0.388	−0.272	−0.185	0.04
对香豆酸	0.063	0.801**	−0.211	0.407	−0.325
山奈酚	0.313	0.688*	−0.249	0.489	−0.376
阿魏酸	0.129	−0.033	−0.292	0.45	−0.548
儿茶素	0.117	−0.102	0.525	0.004	0.016

注：* 表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关，** 表示在 0.01 水平(双侧)上极显著相关。下同。

表 4 根际土酚酸类物质和酶活性相关性分析

Table 4 Correlation analysis of phenolic acids compounds in rhizosphere soil with enzymatic activity

酚酸类物质	脲酶	蔗糖酶	过氧化氢酶	酸性磷酸酶	多酚氧化酶
咖啡酸	0.238	0.48	0.175	0.246	−0.06
鞣花酸	−0.292	−0.407	0.169	−0.854**	0.846**
阿魏酸	−0.347	−0.446	−0.273	−0.353	0.221
没食子酸	−0.764**	−0.346	−0.406	−0.536	0.576
龙胆酸	0.433	0.546	0.002	0.834**	−0.851**
高香草酸	0.208	0.118	0.319	0.314	−0.07
对香豆酸	0.535	−0.138	0.508	0.378	−0.552
槲皮素	0.826**	0.23	0.528	0.475	−0.501
水杨酸	0.066	0.484	−0.346	−0.005	0.037
丁香酸	0.017	0.249	−0.377	−0.069	−0.009
香草酸	0.634*	0.248	0.514	0.294	−0.345

3 结论与讨论

作为土壤生态系统的重要组成部分，土壤酶在土壤养分循环与物质转化过程中扮演着十分关键的角色[12]，能够反映土壤质量在各种不同条件下或时间序列的变化[21]，且活性受多种因素影响。研究表明土壤酶的活性与根系分泌物、植物残体和凋落物数量等密切相关[18,22]。姜岳忠[19]等研究发现，在土壤中添加外源酚酸，随着酚类物质浓度的提高，土壤中的脲酶和酸性磷酸酶活性显著下降。陆茜[20]研究也表明，在土壤中添加外源酚酸后，除了过氧化氢酶外，其余酶活性均显著低于对照，且随着酚酸浓度的提高，土壤中的脲酶、蔗糖酶和酸性磷酸酶活性均显著降低。因此，杉木连栽地土壤酶活性随连栽代数的增加而降低，可能与连栽地土壤中酚类物质的积累有关。植物残体和凋落物在腐解进入土壤过程中能够提高土壤酶的活性，胡亚林[23]等研究证实杉木凋落物的数量与土壤酶活性呈显著正相关关系。然而，由于杉木属常绿针叶树种，枝叶常年不易掉落，导致林下凋落物种类单一，且数量少，因此不同连栽代数杉木人工林地凋落物的量可能也是影响土壤酶活性的原因之一。

酚类物质作为植物的次生代谢产物能显著抑制植物的生长，因此，杉木人工林连栽引起土壤中酚类物质的积累，被认为是导致杉木人工林生产力衰退的关键因素之一[1-9]。本试验对杉木连栽土壤根际提取液进行 HPLC-MS 分析表明，杉木连栽土壤中鉴定出的 11 种酚类物质表现出不同的累积规律。鞣花酸在不同连栽代数土壤中相对含量＞对照，而在二代林和三代林土壤中没食子酸、鞣花酸、水杨酸、丁香酸和咖啡酸的相对含量均＞一代林土壤；随着连栽代数增加，相对含量逐渐降低的酚类物质包括对香豆酸、龙胆酸和槲皮素。除阿魏酸外，鉴定出的其余酚类物质种类与前人的研究结果并不一致。

导致不一致的原因有很多,提取测定的方法差异是一个重要因素,不同的提取和鉴定方法会对结果产生重大影响,例如曹光球[24]利用气质联用(GC-MS)技术,从根际土壤中鉴定的自毒物质主要是邻羟基苯甲酸、邻羟基苯甲酸甲酯、苯甲醛以及异丁酸香叶酯等。而 C. H. Kong[25]等通过分部萃取利用质谱、傅里叶红外光谱以及核磁共振技术,从杉木根际土壤中鉴定出新的自毒物质环二肽。其次,试验条件不同也可能是导致鉴定结果出现差异的原因之一,前人研究均是直接从不同连栽地中进行原位取样分析,而本试验是将土壤取回处理 2 a 后再进行测定。此外,土壤中酚类物质的迁移、转化和积累过程十分复杂,如自身挥发、氧化和微生物降解等,因此土壤中酚类物质的变化是一个动态过程[26]。本研究中,根尖和根际土壤的酚类物质种类和含量的显著差异也从侧面证实了这一点。结果表明除了阿魏酸、水杨酸和对香豆酸外,根尖分泌的其他 5 种酚类物质均无法在根际土壤中检测到,该结果显示,在自然条件下,根际土壤中积累的酚类物质可能并不全是植物根系分泌的产物,也可能是凋落物在微生物或其他因素作用下形成的降解产物。

相关性研究结果表明,酚类物质对土壤酶活性的影响是一个综合且复杂的调控过程,在这一过程中,哪种酚类物质起主要调控作用还有待进一步研究。本研究还表明,杉木根际土壤与非根际土壤中,除了多酚氧化酶活性随着杉木连栽代数的增加而不断升高外,脲酶、蔗糖酶、过氧化氢酶和酸性磷酸酶总体上表现出与多酚氧化酶活性相反的变化趋势。这与前人关于不同连栽代数林地直接取样测定的土壤酶活性的变化规律基本一致。张其水[27]等研究指出,不同连栽代数土壤酶活性基本表现为一代林>二代林>三代林。杨玉盛[28]等报道,在杉木连栽地土壤中,除了接触酶活性变化不明显外,其他土壤酶活性变化均随连栽代数的增加而显著下降,尤其在根际土壤中酶活性下降更为明显。王延平[29]等在杨树(*Populus*)连作研究中也发现,在非更替连作过程中,除了多酚氧化酶,其余土壤酶活性均随连栽代数的增加而大幅降低。

上述结果表明,连栽代数对土壤根际微生态环境具有显著的负调控作用,即随着连栽代数的增加土壤的生化活性显著降低。杉木不同连栽代数土壤酶活性的这种变化趋势,必然会影响土壤有机质和养分的周转,从而最终导致杉木连栽障碍的发生。

参考文献:

[1] 陈龙池,汪思龙,陈楚莹. 杉木人工林衰退机理探讨[J]. 应用生态学报,2004,15(10):1953-1957.
CHEN L C,WANG S L,CHEN C Y. Degradation mechanism of Chinese fir plantation[J]. Chin. J. Appl. Ecol.,2004,15(10):1953-1957. (in Chinese)

[2] 陆茜,张金池. 化感作用在水土保持生物措施治理中的应用研究[J]. 江西农业大学学报,2013,35(6):1333-1340.
LU Q,ZHANG J C. Review on allelopathy in the application of biological measures of soil and water conservation management[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis,2013,35(6):1333-1340. (in Chinese)

[3] 黄志群,廖利平,汪思龙. 几种伴生树种对杉木的化感效应[J]. 应用生态学报,2000,11(2):216-218.
HUANG Z Q,LIAO L P,WANG S L. Allelopathic effect of several associated tree species on Chinese fir[J]. Chin. J. Appl. Ecol.,2000,11(2):216-218. (in Chinese)

[4] 马祥庆,刘爱琴,黄宝龙. 杉木人工林自毒作用研究[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2000,24(1):12-16.
MA X Q,LIU A Q,HUANG B L. A study on self-poisoning effects of Chinese fir plantation[J]. Journal of Nanjing Forestry University:Natural Sciences Edition,2000,24(1):12-16. (in Chinese)

[5] 杜玲,曹光球,林思祖,等. 杉木根际土壤提取物对杉木种子发芽的化感效应[J]. 西北植物学报,2003,23(2):323-327.
DU L,CAO G Q,LIN S Z,*et al*. Allelo pathie effeet of extraetor of Chinese—fir rhizos phere soil on germination of Chinese — firseed[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica,2003,23(2):323-327. (in Chinese)

[6] 汪思龙,陈龙池,廖利平,等. 几种化感物质对杉木幼苗生长的影响[J]. 应用与环境生物学报,2002,8(6):588-591.
WANG S L,CHEN L C,LIAO L P,*et al*. Efeects of three kinds of allelochemicals on growth of Chinese fir seedlings[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology,2002,8(6):588-591. (in Chinese)

[7] HUANG Z Q,LIAO L P,WANG S L,*et al*. Allelopathy of phenolics from decomposing stump-roots in replant Chinese fir woodland[J]. Journal of Chemical Ecology,2000,26(9):2211-2219.

[8] HUANG Z Q,HAI G T,WANG S L,*et al*. Autotoxicity of Chinese fir on seed germination and seedling growth[J]. Allelopathy Journal,2002,9(2):187-193.

[9] 李红军,周国英,吴毅,等. 杉木人工林化感作用研究综述[J]. 中南林业科技大学学报,2013 (1):31-34.
LI H J,ZHOU G Y,WU Y,*et al*. Research advances on allelopathy of *Cunninghamia lanceolata* plantation[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2013 (1):31-34. (in Chinese)

[10] 姜培坤,徐秋芳. 杉木林地和根际土壤酚类物质分析[J]. 浙江林业科技,2000,20(5):1-4.

[11] 颜路明,郭祥泉. 盐碱胁迫对香樟幼苗根际土壤酶活性的影响[J]. 土壤,2017,49(4):733-737.
YAN L M,GUO X Q. Effect of salinity-alkalinity stress on the rhizosphere soil enzyme activity of camphor seedlings[J]. Soils,2017,49(4):733-737. (in Chinese)

[12] 陈闳竣,李传涵. 土壤酶活性作为杉木林地土壤肥力指标的可行性研究[J]. 林业科技通讯,1995,12:28-30.

[13] 刘丽,徐明恺,汪思龙,等.杉木人工林土壤质量演变过程中土壤微生物群落结构变化[J].生态学报,2013,33(15):4692-4706.
LIU L,XU M K,WANG S L,*et al*. Effect of different *Cunninghamia lanceolata* plantation soil qualities on soil microbial community structure[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(15):4692-4706.(in Chinese)

[14] 李延茂,胡江春,张晶,等.杉木连栽土壤微生物多样性的比较研究[J].应用生态学报,2005,16(7):1275-1278.
LI Y M,HU J C,ZHANG J,*et al*. Microbial diversity in continuously planted Chinese fir soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2005,16(7):1275-1278.(in Chinese)

[15] 刘顺,刘喜帅,朱新传,等.陈山红心杉土壤养分,酶活性的根际效应及肥力评价[J].植物营养与肥料学报,2017,23(2):492-501.
LIU S,LIU X S,ZHU X Z,*et al*. Rhizosphere effects of nutrients and enzyme activities of *Cunninghania lanceolata* and soil fertility assessment[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer,2017,23(2):492-501.(in Chinese)

[16] 覃祚玉,邓小军,宋贤冲,等.广西杉木连栽幼林根际与非根际土壤特性研究[J].湖北林业科技,2017 (2):10-13.

[17] 张家武,邓仕坚,廖利平,等.杉木连栽土壤对其幼树生长的影响[J].应用生态学报,1994,5(3):241-244.

[18] 赵颖,史晓爽,周连仁,等.土壤样品风干后对土壤酶活性的影响[J].东北农业大学学报,2011,42(11):126-129.
ZHAO Y,SHI X S,ZHOU L R,*et al*. Effect of air-drying on enzyme activities of soil samples[J]. Northeast Agricultural University,2011,42(11):126-129.(in Chinese)

[19] 姜岳忠,王延平,王华田.连作杨树人工林地力衰退研究[M].北京:中国林业出版社,2015:144-145.

[20] 陆茜.杨树连栽对根际土壤环境演变的影响及其自毒效应研究[D].南京:南京林业大学,2016.

[21] 李正昀,王舒,张扬,等.施加解磷菌剂对油茶根际微生物和土壤酶活性的影响[J].西北林学院学报,2018,33(1):188-192.
LI Z Y,WANG S,ZHANG Y,*et al*. Effects of different phosphate-solubilizing bacteria on rhizosphere microorganism and enzyme activities of camellia oleifera[J]. Journal of Northwest Forestry University,2018,33(1):188-192.(in Chinese)

[22] 秦永建,牛庆霖,贾波,等.滨海盐碱地刺槐林土壤水盐、酶及养分动态[J].西北林学院学报,2017,32(5):13-17.
QIN Y J,NIU Q L,JIA B,*et al*. Dynamic characteristics of soil properties in a *robinai pseudoacacia* precipitation on coastal saline [J]. Journal of Northwest Forestry University,2017,32(5):13-17.(in Chinese)

[23] 胡亚林,汪思龙,黄宇,等.凋落物化学组成对土壤微生物学性状及土壤酶活性的影响[J].生态学报,2005,25(10):2662-2668.
HU Y L,WANG S L,HUANG Y,*et al*. Effects of litter chemistry on soil biological property and enzymatic activity [J]. Acta Ecologica Sinica,2005,25(10):2662-2668.(in Chinese)

[24] 曹光球.杉木自毒作用及其与主要混交树种化感作用的研究[D].福建:福建农林大学,2006.

[25] KONG C H,CHEN L C,XU X H,*et al*. Allelochemicals and activities in a replanted Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook) tree ecosystem[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2008,56(24):11734-11739.

[26] 林开敏,叶发茂,林艳,等.酚类物质对土壤和植物的作用机制研究进展[J].中国生态农业学报,2010,18(5):1130-1137.
LIN K M,YE F M,LIN Y,*et al*. Research advances of phenolic functional mechanisms in soils and plants[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture,2010,18(5):1130-1137.(in Chinese)

[27] 张其水,俞新妥.杉木连栽林地混交林土壤酶的分布特征的研究[J].福建林学院学报,1989,9(3):256-262.

[28] 杨玉盛,邱仁辉,俞新妥,等.杉木连栽土壤微生物及生化特性的研究 [J].生物多样性,1999,7(1):1-7.
YANG Y S,QIU R H,YU X T,*et al*. Study on soil microbes and biochemical activity in the continuous plantations of *Cunninghamia lanceolata*[J]. Biodiversity Science,1999,7(1):1-7.(in Chinese)

[29] 王延平,王华田,谭秀梅,等.杨树人工林品种更替连作与非更替连作根际效应的比较[J].生态学报,2010,30(5):1379-1389.
WANG Y P,WANG H T,TAN X M,*et al*. Comparison on rhizosphere effect of cultivar alternation and non-alternation continuous cropping poplar (*Populus deltoids*) plantation[J]. Acta Ecologica Sinica,2010,30(5):1379-1389.(in Chinese)