

香草醛和对羟基苯甲酸对杉木幼苗生理特性的影响*

陈龙池^{1**} 廖利平¹ 汪思龙¹ 黄志群¹ 肖复明²

(¹中国科学院沈阳应用生态研究所会同森林生态实验站, 沈阳 110016; ²江西省林业科学院, 南昌 330032)

【摘要】 采用盆栽模拟实验, 研究了不同浓度的香草醛和对羟基苯甲酸对杉木幼苗生理特性的影响. 结果表明, 当浓度为 10 mmol L⁻¹ 和 1 mmol L⁻¹ 时显著抑制了杉木幼苗的叶绿素含量、光合作用、根系活力等生理指标, 并且随着浓度的增加, 对生理活性的抑制作用增大. 其中, 用香草醛处理的杉木幼苗的净光合速率分别降低 37.0%、25.1%; 蒸腾速率分别降低 37.0%、20.3%; 气孔导度分别降低 46.8%、33.7%; 根系活力分别降低 78.8%、51.6%. 连栽杉木林土壤中积累的香草醛、对羟基苯甲酸等酚类化合物能够对杉木幼苗产生化感作用, 这是导致连栽杉木生产力降低的一个不可忽视的因素.

关键词 酚类物质 化感作用 净光合速率 蒸腾速率 气孔导度 根系活力

文章编号 1001-9332(2002)11-1291-04 **中图分类号** S154.2 **文献标识码** A

Effect of vanillin and P-hydroxybenzoic acid on physiological characteristics of Chinese fir seedlings. CHEN Longchi¹, LIAO Liping¹, WANG Silong¹, HUANG Zhiqun¹, XIAO Fuming² (*Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016;*²*Jiangxi Academy of Forestry, Nanchang 330032*). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2002, 13(10):1291~1294.

Effects of vanillin and P-hydroxybenzoic acid at different concentrations on physiological characteristic of Chinese fir seedlings were studied by potted experiment. The results showed that 10mmol L⁻¹ and 1 mmol L⁻¹ of two kinds of phenolics significantly reduced the content of chlorophyll, rate of photosynthesis and root activity, and that the higher the concentration of vanillin and P-hydroxybenzoic acid, the more the physiological activities was inhibited. By treatment with 1 and 10mmol L⁻¹ vanillin, Chinese fir seedlings reduced its photosynthesis rate 25.1% and 37.0%, transpiration rate 20.3% and 37.0%, stomata conductance 33.7% and 46.8% and root activity 51.6% and 78.8%, respectively. The results suggested that vanillin and P-hydroxybenzoic acid accumulated in the soil by continuous cropping of Chinese fir may have some allelopathic effect on the seedlings of Chinese fir and the effect is one of the factors leading to the low productivity of continuously cropped Chinese fir forest.

Key words Phenolics, Allelopathy, Net photosynthetic rate, Transpirational rate, Stomatal conductance, Activity of root system.

1 引 言

近年来许多林业工作者研究发现杉木化感作用是导致连栽杉木生产力降低的一个重要原因^[1, 2, 7, 8, 10]. 通过用不同代数杉木林土壤培养杉木幼树的实验发现杉木连栽不利于其幼树生长, 使杉木生物量减少 45%~50%, 而且杉木连栽还造成土壤有效养分下降 23%~28%^[13]. 酚类物质是引起杉木化感作用的一类主要的化感物质, 香草醛、对羟基苯甲酸等酚类物质是经常报道的酚类化感物质. 杉木采伐剩余根桩、凋落物、根系分解产物中含有香草醛、阿魏酸、对羟基苯甲酸、对羟基苯丙烯酸等酚类物质, 这些物质可以在土壤中不断积累, 影响下一代杉木的生长^[7, 8]. 外源香草醛会影响杉木种子的发芽率、幼苗生长和叶绿素含量^[10]. 同样, 外源阿魏酸和肉桂酸也能明显抑制杉木种子的发芽率、发芽势和幼苗的生长^[1]. 可见, 酚类化感物质对杉

木生长有着重要的影响, 杉木化感作用的研究对于提高连栽杉木生产力有着非常重要的意义.

肉桂酸等酚类化感物质能抑制黄瓜幼苗对 NO₃⁻、SO₄²⁻、K⁺、Ca²⁺、Fe²⁺ 等离子的吸收^[12]. 香草酸和阿魏酸等酚类物质能强烈地抑制多种作物叶片的光合同化速率^[4, 5]. 香草酸能够影响植物体内的一些生理过程, 如细胞分裂、蛋白质合成、酶活性、光呼吸, 不利于植物幼苗的生长^[4, 11]. 但是, 目前酚类化感物质对杉木化感作用的研究还只是停留在对杉木种子发芽率和幼苗生长的影响上面, 仅对杉木化感作用现象进行了描述^[1, 7, 8, 10], 尚缺乏酚类物质对杉木生理特性影响的研究, 更没有对杉木化感作用机制进行深入研究和探讨. 为此, 本文通过施加各种不同浓度的香草醛和对羟基苯甲酸两种酚类物

* 中国科学院知识创新工程资助项目 (KZCX2-406).

** 通讯联系人.

2001-11-28 收稿, 2002-04-26 接受.

质处理盆栽杉木幼苗,研究酚类物质对杉木幼苗叶绿素含量、光合作用及根系活力等生理特性的影响,为进一步揭示酚类物质对杉木幼苗化感作用机制提供新的资料和依据。

2 材料与方法

2.1 材料来源

供实验的杉木幼苗来自湖南省会同县广坪镇四叉路苗圃,植株为根系健壮、生长均匀、良好的一年生杉木幼苗,平均苗高为 14.7cm。供盆栽的土壤取自湖南省会同县广坪镇中国科学院会同森林生态实验站林场木荷纯林。土壤养分状况为: $\text{NO}_3\text{-N}$ 4.65 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 24.74 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、有效 P 0.796 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、有效 K 137.29 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、有机质 4.77%。

2.2 外源酚类物质添加液及对对照液的配制

将 15.2g 香草醛和 13.8g 对羟基苯甲酸分别溶于 1ml 乙醇(分析纯),用乙醇定容至 100 ml 的容量瓶中,配制成 1000 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的待用酚类物质母液,置于冰箱中待用。用母液配置成 10、1、0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的酚类物质溶液,同时使各浓度溶液中乙醇浓度保持一致(乙醇浓度为 1%)。吸取 1ml 乙醇倒入 100ml 的容量瓶中用蒸馏水定容得到 1% 的乙醇溶液,以此溶液为对照。

2.3 实验方法

将土壤过筛,剔除大的石块,再以土沙比为 2:1 的比例与细沙混匀后待装盆。从购得的杉木幼苗中选取生长均匀的植株 35 株,分成 7 组,并使每组杉木平均苗高都相等,然后栽植在口径为 30cm、深为 25cm 的花盆内。待到杉木幼苗复苏后开始施加酚类物质溶液,每一组为一个处理,共 7 个处理(也即每个处理 5 次重复),每个处理分别施加 100ml 不同浓度的酚类物质溶液和对照液。每隔半个月施加一次,在生长过程中根据盆内土壤的湿度适当浇水。培养 6 个月后收获,测量杉木幼苗叶绿素含量、净光合速率、蒸腾速率、气孔导度以及根系活力等生理指标,其中净光合速率、蒸腾速率、气孔导度用 CF301PS 便携式 CO_2 气体光合作用测定仪测定;根系活力用 -萘胺氧化法测定,叶绿素用混合法测定^[3],

分析仪器为 UV-1601 紫外分光光度计。

2.4 数据处理

所有数据都进行单因素方差分析和 student-t 检验。

3 结果与分析

3.1 对叶绿素含量的影响

不同浓度的香草醛和对羟基苯甲酸都降低了杉木幼苗叶绿素 a、b 含量,并且随着浓度的升高,这种趋势更加明显,其中浓度为 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的两种酚类物质对叶绿素的抑制作用最大(图 1)。其原因是香草醛和对羟基苯甲酸可能对杉木幼苗产生化感作用,抑制了叶绿素的合成,减少了植物体内叶绿素的含量。而马越强等^[10]用水培法研究发现抑制杉木幼苗叶片叶绿素合成的香草醛溶液的浓度为 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (约 0.66 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。土壤中含有多种微生物和氧化酶,这些物质能分解土壤中的香草醛等酚类物质;土壤中的高分子粘胶物质还对酚类物质产生亲和作用,能够阻滞土壤中酚类物质向根际区域的运移;同时,土壤的理化状况也不同于水溶液,多种因素的综合作用,必然导致土壤中香草醛等酚类物质的致毒临界浓度比水培液中的高。

叶绿素 a、b 在植物光合作用过程中起到十分关键的作用,叶绿素 a 具有收集和转化光能的作用,叶绿素 b 具有收集光能的作用。两种酚类物质能抑制叶绿素 a、b 的含量,即酚类物质抑制了叶绿素对光能的收集和转化,减少了光合作用所必需的能量,削弱了能量的转换,减弱了杉木光合效率,从而能够影响干物质的合成,降低杉木的生产力。

3.2 对光合作用的影响

不同浓度的香草醛和对羟基苯甲酸也影响了杉木幼苗的光合作用,降低了净光合速率、蒸腾速率、气孔导度等生理指标,抑制杉木幼苗的光呼吸,随着

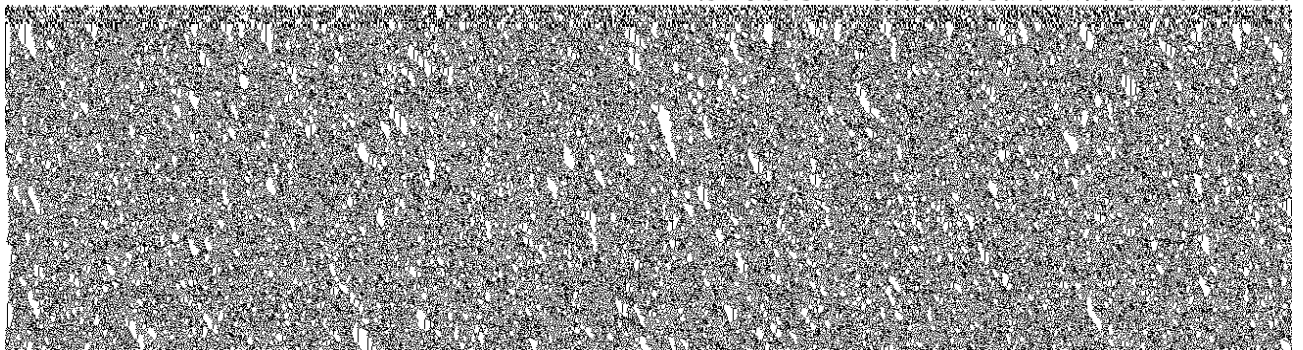


图 1 香草醛和对羟基苯甲酸对杉木幼苗叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effect of vanillin and P-hydroxybenzoic acid on chlorophyll contents of Chinese fir seedlings

香草醛 Vanillin, . 对羟基苯甲酸 P-hydroxybenzoic acid; a) 叶绿素 a Chlorophyll a, b) 叶绿素 b Chlorophyll b, c) 叶绿素总量 Total chlorophyll.

浓度的增加,这种抑制作用增强(表1)。当香草醛浓度为 10mmol L^{-1} 和 1mmol L^{-1} 时,杉木幼苗的光合作用指标与对照的光合作用指标差异极显著 ($P < 0.01$),其中净光合速率分别比对照降低 37.0%、25.1%;蒸腾速率分别比对照降低 37.0%、20.3%;气孔导度分别比对照降低了 46.8%、33.7%。同样, 10mmol L^{-1} 和 1mmol L^{-1} 的对羟基苯甲酸也极显著地抑制了杉木幼苗的光合作用。

据报道,阿魏酸、咖啡酸和香草醛等化感物质通过降低植物叶片的光合作用、叶绿素含量和气孔导度等生理指标而抑制植物的叶面积的增加和叶片伸长^[5,6]。杉木凋落物分解的或根系分泌向土壤中释放的香草醛等酚类化合物,能够对杉木显示化感作用,抑制叶绿素含量和光合作用,导致杉木光合作用减弱、有效光合面积下降,光合作用生产的少量碳水化合物很难满足幼苗高速生长的需求,使得杉木生长受到阻碍^[10],这是导致连栽杉木生产力降低的一个重要原因。

表1 香草醛和对羟基苯甲酸对杉木幼苗光合作用的影响
Table 1 Effect of vanillin and P-hydroxybenzoic acid on photosynthesis of Chinese fir seedling

处理 Treatment	浓度 Concentration (mmol L^{-1})	净光合速率 Net photosynthetic rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	蒸腾速率 Transpiration rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	气孔导度 Stomatal conductance ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
对照 CK	-	2.27 ± 0.05	0.560 ± 0.007	14.41 ± 0.60
	0.1	2.02 ± 0.04 **	0.548 ± 0.011 *	12.31 ± 0.21 **
香草醛 Vanillin	1	1.70 ± 0.03 **	0.446 ± 0.010 **	9.56 ± 0.72 **
	10	1.43 ± 0.04 **	0.353 ± 0.009 **	7.66 ± 0.47 **
对羟基苯甲酸 P-hydroxybenzoic acid	0.1	2.15 ± 0.18	0.551 ± 0.016	13.60 ± 0.46 *
	1	1.67 ± 0.10 **	0.438 ± 0.020 **	9.45 ± 0.68 **
	10	1.40 ± 0.04 **	0.364 ± 0.007 **	7.76 ± 0.49 **

数据为平均值 ±SD(n=5) Data are mean value ±SD(n=5), * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.下同 The same below.

3.3 对根系活力的影响

不同浓度的香草醛和对羟基苯甲酸都抑制了杉木幼苗的根系活力,并且随着浓度的增加抑制作用增大,说明这两种酚类物质对杉木幼苗根系也产生化感作用,能够降低根系活力。

在不同浓度香草醛处理下,杉木幼苗根系活力分别比对照降低 33.1%、51.6%、78.8%,且在浓度为 1mmol L^{-1} 时根系活力与对照之间的差异就达到极显著水平 ($P < 0.01$),在 0.1mmol L^{-1} 时达到显著水平 ($P < 0.05$)。同样,在不同浓度对羟基苯甲酸处理下,杉木幼苗根系活力分别比对照降低 6.2%、48.9%、65.4%,而且 10mmol L^{-1} 对羟基苯甲酸对根系活力的抑制作用达到差异极显著水平, 1mmol L^{-1} 对羟基苯甲酸对根系活力的抑制作用达到差异显著水平(表2)。

表2 香草醛和对羟基苯甲酸对杉木幼苗根系活力的影响
Table 2 Effect of phenolics on activity of root system of Chinese fir seedlings

处理 Treatment	浓度 Concentration (mmol L^{-1})	根系活力 Activity of root system ($\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$)
对照 CK	-	51.94 ± 5.92
	0.1	34.76 ± 7.80 *
香草醛 Vanillin	1	25.12 ± 5.53 **
	10	11.06 ± 4.45 **
对羟基苯甲酸 P-hydroxybenzoic acid	0.1	48.73 ± 6.23
	1	26.56 ± 10.76 *
	10	17.96 ± 3.69 **

根系活力是泛指根的吸收能力、合成代谢等,根系活力的大小与吸收作用的强弱有着直接的关系,根系活力大则吸收作用强,反之,根系活力小则吸收作用弱。香草醛和对羟基苯甲酸降低杉木幼苗的根系活力,也即减弱了杉木根系的吸收作用。吸收作用的减弱必然导致杉木对土壤中养分吸收量减少,尤其是对有效 N 吸收量的减少,从而使得杉木缺乏快速生长所必需的大量营养元素,致使杉木营养不良、生产力下降。马祥庆等^[9]的研究结果表明,随着栽植代数的增加,杉木林乔木层养分积累及养分利用效率均呈逐代递减趋势,表现为 3 代 < 2 代 < 1 代。Yu JQ 等^[12]用肉桂酸处理黄瓜幼苗,结果发现肉桂酸能够抑制黄瓜幼苗对 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 等离子的吸收。由此可见,香草醛和对羟基苯甲酸等酚类物质对杉木根系活力的抑制作用也是连栽杉木生产力低的一个重要因素。

4 讨 论

香草醛对杉木幼苗多种生理特性的影响十分显著。 10mmol L^{-1} 和 1mmol L^{-1} 香草醛对杉木幼苗各种生理指标的影响都达到差异极显著水平, 0.1mmol L^{-1} 香草醛对部分生理指标产生显著的抑制作用。同样,对羟基苯甲酸对盆栽杉木幼苗的生长和生理特性都产生显著影响, 10mmol L^{-1} 对羟基苯甲酸对杉木幼苗各种生理指标的影响都达到差异极显著水平, 1mmol L^{-1} 对羟基苯甲酸显著抑制了部分生理指标。这是由于香草醛和对羟基苯甲酸两种酚类物质能够抑制杉木的生理活性,从而对杉木产生化感作用。

两种酚类物质显著抑制杉木幼苗的根系活力、净光合速率、蒸腾速率、气孔导度、叶绿素含量等生理指标,导致杉木幼苗对土壤中有效养分吸收量减少、有效光合面积下降、吸收和转化的物质和能量降低,使得杉木幼苗缺乏快速生长所必需的物质和能量,生长速度减慢,生产力下降。

对杉木连栽土壤氧化代谢能力的研究结果表明,三耕土中香草醛的氧化代谢能力比头耕土高,为头耕土的 143%,这说明三耕土中香草醛的含量比头耕土中的高。通过杉木凋落物分解、根系分泌等行为,杉木林土壤中可能积累大量的香草醛等酚类化合物,这些物质能够对杉木起化感作用,即使在很低的浓度(0.1 mmol L^{-1})也会影响杉木幼苗的生理特性,抑制杉木幼苗的正常生长。

杉木林土壤中的酚类物质不仅仅包括香草醛和对羟基苯甲酸,还含有多种其他酚类物质。目前,对这些酚类物质与周围环境之间以及各种物质之间的相互关系还不明了,因此,今后应进一步探讨杉木林土壤中酚类化感物质的种类和浓度,研究这些物质对杉木的临界毒害浓度及其之间的相互作用关系,更深入地了解杉木林土壤中酚类物质的化感作用机制,为深入了解杉木化感作用的问题提供基本数据,从而可以有针对地为地解决杉木连栽地力衰退问题提供理论依据。

参考文献

- 1 Cao G-Q(曹光球), Lin S-Z(林思祖), Huang S-G(黄世国). 2001. Effect of the ferulic acid and cinnamic acid on the germination of Chinese-fir seeds. *J Plant Resour Environ* (植物资源与环境学报), **10**(2): 63~64 (in Chinese)
- 2 Chen C-Y(陈楚莹), Zhang J-W(张家武), Zhou C-L(周崇莲), et al. 1990. Researches on improving the quality of forest land and the productivity of artificial *Cunninghamia lanceolata* stands. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **1**(2): 97~106 (in Chinese)
- 3 Chen F-M(陈福明), Chen S-W(陈顺伟). 1984. Researches on contents of chlorophyll in mixture way. *Zhejiang For Sci Technol* (浙江林业科技), (1): 19~23 (in Chinese)
- 4 Du Y-J(杜英君) and Jin Y-H(靳月华). 1999. Simulations of allelopathy in continuous cropping soybean. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **10**(2): 209~212 (in Chinese)
- 5 Einbhlilig FA, et al. 1970. Effects of scopoletin on growth, CO_2 exchange rates, and concentration of scopoletin, scopolin and chlorogenic acids in tobacco, sunflower, and pogweed. *Bull Torrey Bot*, **97**: 22~33
- 6 Einbhlilig FA, et al. 1979. Effects of three phenolic acids on chlorophyll content and growth of soybean and grain sorghum seedlings. *J Chem Ecol*, **4**: 425~436
- 7 Huang Z-Q(黄志群), Liao L-P(廖利平), Wang S-L(汪思龙), et al. 2000. Dynamics of phenolics content of Chinese fir stump-roots and the rhizosphere soil and its allelopathy. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **11**(2): 190~192 (in Chinese)
- 8 Huang Z-Q, Terry Haig and Wang S-L, et al. 2002. Autotoxicity of Chinese fir on seed germination and seedling growth. *Allelopathy J*, **9**(2): 51~59
- 9 Ma X-Q(马祥庆) and Fan S-H(范少辉). 2000. A comparative study on nutrient accumulation and distribution of different generations of Chinese fir plantations. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **11**(4): 501~506 (in Chinese)
- 10 Ma Y-Q(马越强), Liao L-P(廖利平), Yang Y-J(杨跃军), et al. 1998. Effect of vanillin on the growth of Chinese-fir (*Cunninghamia lanceolata*) seedlings. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **9**(2): 128~132 (in Chinese)
- 11 Rice EL. 1984. Allelopathy (2nd ed). New York: Academic Press Inc.
- 12 Yu JQ and Matsui Y. 1997. Effects of root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals on ion uptake by cucumber seedlings. *J Chem Ecol*, **23**(3): 817~827
- 13 Zhang J-W(张家武), Deng S-J(邓仕坚), Liao L-P(廖利平), et al. 1994. Influence of repeatedly planting soil on *Cunninghamia lanceolata* sapling growth. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **5**(3): 241~244 (in Chinese)

作者简介 陈龙池,男,1976年生,硕士。主要从事化学生态学、根系生态学和森林生态学研究。E-mail:lcchen76@163.net