

DOI: 10.5846/stxb202003230662

梁薇薇, 陈立新, 段文标, 李亦菲, 李少然, 于颖颖. 酚酸物质对红松种子萌发及苗木生长和生理特性的影响. 生态学报, 2021, 41(4): 1583-1592.
Liang W W, Chen L X, Duan W B, Li Y F, Li S R, Yu Y Y. Effects of phenolic acids on seed germination and seedling growth and physiological characteristics of *Pinus koraiensis*. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(4): 1583-1592.

酚酸物质对红松种子萌发及苗木生长和生理特性的影响

梁薇薇, 陈立新*, 段文标, 李亦菲, 李少然, 于颖颖

东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040

摘要:通过室内模拟试验, 阐明阔叶红松林中已测得含量较高的 3 种酚酸物质(苯甲酸、丁香酸和香草酸)对红松种子萌发及苗木生长的影响, 为探索阔叶红松林内化感作用机理及解决红松更新障碍问题提供科学依据。采用培养皿培养法及室内盆栽培养法, 以红松种子和 3 年生红松苗为试验对象, 设置不同浓度(2, 20, 200 mg/L)苯甲酸、丁香酸、香草酸处理液, 以蒸馏水为对照(CK), 进行红松种子萌发试验及红松苗木生长试验, 研究 3 种酚酸物质对红松种子发芽、苗木生长、光合色素、抗氧化酶活性、膜脂过氧化作用及渗透调节物质的影响。结果表明, (1)不同浓度 3 种酚酸均抑制红松种子萌发, 但酚酸浓度变化仅对红松种子发芽率影响差异显著。(2)3 种酚酸对红松苗木生长及物质积累抑制作用显著。浓度变化对红松苗株高及地径影响不显著, 对生物量、根干重和茎干重影响显著。(3)针叶叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量变化对酚酸处理反应一致, 20 mg/L 的 3 种酚酸均显著抑制光合色素产生, 而 200 mg/L 丁香酸溶液及 2 mg/L 香草酸溶液均显著促进叶绿素 a 和类胡萝卜素积累。(4)酚酸处理使红松苗针叶中 POD、CAT 活性降低, SOD 活性增加。针叶中 MDA 含量显著增加, 200 mg/L 丁香酸溶液处理组针叶 MDA 含量高于 CK 处理组 70.51%。(5)不同浓度苯甲酸溶液促进可溶性糖增加, 抑制可溶性蛋白增加; 不同浓度丁香酸溶液促进可溶性蛋白增加, 而不同浓度香草酸溶液抑制可溶性蛋白增加, 二者对可溶性糖含量影响受浓度变化影响显著。苯甲酸、丁香酸、香草酸影响红松种子萌发, 通过对红松苗光合色素、抗氧化酶活性及渗透调节物质的影响导致其生长受抑制, 生物量减少, 产生膜脂过氧化伤害。因此, 解决阔叶红松林内红松更新障碍问题时, 凋落物及土壤中酚酸物质的化感作用不容忽视。

关键词:酚酸; 红松; 种子萌发; 光合色素; 膜脂过氧化; 渗透调节

Effects of phenolic acids on seed germination and seedling growth and physiological characteristics of *Pinus koraiensis*

LIANG Weiwei, CHEN Lixin*, DUAN Wenbiao, LI Yifei, LI Shaoran, YU Yingying

School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: Through the relevant indoor simulation experiments, this research aims to clarify the effects of three phenolic acids (benzoic acid, syringic acid, and vanillic acid) with high content in broad-leaved *Pinus koraiensis* forest on the seed germination and seedling growth of *Pinus koraiensis*, so as to provide scientific basis for exploring the allelopathy mechanism of broad-leaved *Pinus koraiensis* forest and solving the problem of regeneration obstacle of *Pinus koraiensis*. The experiment adopts petri dish culture method and the indoor potted culture method. The *Pinus koraiensis* seeds and triennial *Pinus koraiensis* seedlings as experimental object were treated with different concentrations (2, 20, and 200 mg/L) of benzoic acid, syringic acid, vanillic acid solution, and distilled water was used as control. The germination experiment of *Pinus koraiensis* seed and the *Pinus koraiensis* seedling growth test were carried out to study the effects of three phenolic acids on

基金项目: 国家自然科学基金项目(31770656, 31670627)

收稿日期: 2020-03-23; 修订日期: 2020-11-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lxchen88@163.com

germination, seedling growth, photosynthetic pigment, antioxidant enzyme activity, membrane lipid peroxidation, and osmoregulation substances of *Pinus koraiensis* seeds. The results show that: (1) all the three phenolic acids with different concentrations had the effects of inhibiting germination of *Pinus koraiensis* seeds, but the change of phenolic acid concentration only had a significant difference in the germination rate of *Pinus koraiensis* seeds. (2) The three phenolic acids had significant inhibitory effects on the growth and substance accumulation of *Pinus koraiensis* seedlings. Phenolic acid concentration had no significant effect on plant height and root length, but had significant effect on biomass, root weight and stem weight. (3) The changes in the contents of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids in needles had same reaction to the phenolic acid treatment. All the three phenolic acids of 20 mg/L had significant inhibition on the production of photosynthetic pigments, while the syringic acid solution of 200 mg/L and the vanillic acid solution of 2 mg/L had significant effects on promoting the accumulation of chlorophyll a and carotenoids. (4) Phenolic acid treatment reduced the activity of peroxidase and catalase and increased the activity of superoxide dismutase. The content of malondialdehyde in needles was significantly increased, while the content of MDA in needles treated with 200 mg/L syringic acid group was 70.51% higher than that in control group. (5) Benzoic acid solutions of different concentrations could promote the increase of soluble sugar and inhibit the increase of soluble protein. Different concentrations of syringic acid could promote the increase of soluble protein, while different concentrations of vanillic acid could inhibit the increase of soluble protein. The concentration changes of both had a significant influence on the change of soluble sugar content. Benzoic acid, syringic acid, and vanillic acid affected the germination of *Pinus koraiensis* seeds, which led to growth inhibition, biomass reduction and membrane lipid peroxidation of *Pinus koraiensis* seedlings by affecting photosynthetic pigment, antioxidant enzyme activity and osmotic regulation substances. Therefore, allelopathy of phenolic acids in litter and soil should not be ignored when solving the problem of *Pinus koraiensis* regeneration in broad-leaved *Pinus koraiensis* forests.

Key Words: phenolic acid; *Pinus koraiensis*; seed germination; photosynthetic pigment; membrane lipid peroxidation; osmoregulation

在森林生态系统中,酚酸类物质可作为植物参与竞争的直接或间接手段^[1],为其提供竞争优势。酚酸类物质是目前公认的化感物质^[2-3],可由植物挥发、淋溶、渗出和残渣的分解释放到环境中^[4],通过许多潜在机制,如对植物根系的导水性和养分吸收的影响,导致矿物成分的变化^[5],从而抑制植物生长,或者通过对植物光合作用、可溶性物质和抗氧化酶产生影响而导致植物生长受到抑制^[6-7]。有研究发现^[8-9],松树林内凋落物浸提液对松树种子萌发及幼苗生长有不同程度影响,其受凋落物浸提液浓度影响显著。

红松(*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc.)广泛分布于亚洲东部,是我国东北地区典型地带性顶极植被类型(针阔混交林)主要优势种和建群种。通过在凉水国家级自然保护区阔叶红松林内调查、观测及前期研究中发现,红松生长和更新受到不同程度地抑制。前期试验通过高效液相色谱法(HPLC)在阔叶红松林凋落物(椴树、红松、枫桦)及土壤中鉴定出13种酚酸类物质,其中苯甲酸、丁香酸、香草酸含量较高,因此,本试验假设这3种酚酸物质可作为化感物质影响红松生长更新。为验证所提假设,本试验通过室内模拟试验进行红松种子萌发和苗木盆栽试验,分析不同浓度3种酚酸溶液对红松种子发芽指标及红松苗生长指标和生理特性的影响,为探索阔叶红松林内化感作用机理及解决红松更新障碍问题提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2018年4月4日,于东北林业大学帽儿山实验林场取回低温窖藏并催芽的红松种子及3年生红松苗。其中,红松种子千粒重700 g,红松苗株高(22.0±3.8)cm,地径(5.1±0.8)mm。苯甲酸(BA;benzoic acid)、丁香酸(SA;syringic acid)和香草酸(VA;vanillic acid)购于上海源叶生物科技有限公司。

1.2 种子发芽试验

红松种子在蒸馏水中浸泡催芽 6 h 后, 用 10% 次氯酸钠溶液进行表面消毒 10 min, 用无菌蒸馏水漂洗数次, 然后用无菌去离子水冲洗 3 次后阴干。培养皿(直径 9 cm)及纱布于高压灭菌锅中高温高压灭菌 20 min, 将两层灭菌纱布铺在洁净培养皿内, 每培养皿中放入均匀饱满受体红松种子 15 粒。设苯甲酸、丁香酸、香草酸各 3 个浓度处理组(2、20、200 mg/L), 试验中所设 3 个浓度处理均以前期试验测定凋落物及土壤中实际酚酸物质浓度为参考选取, 以蒸馏水为对照(CK), 每组重复 3 次, 每培养皿内分别注入溶液 15 mL(处理液添加量基于种子周围没有水膜)。培养皿用灭菌纱布覆盖, 在 $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 恒温箱(1/1000 过氧乙酸消毒)中培养, 每天滴入 2 mL 相应溶液对纱布进行湿润以保持其湿度。种子置床后第一粒种子萌发时间作为种子发芽起始时间, 种子萌发标志以胚根突破种皮 1 mm 为标准, 于每天中午记录发芽数, 连续 3 d 没有种子萌发为止, 计算种子发芽率、发芽势、发芽指数。将发芽种子每天补充 2 mL 处理液, 直至种子脱壳, 利用毫米刻度尺测量种子胚轴长、胚根长。

1.3 苗木生长试验

蛭石与珍珠岩(高温高压灭菌 20 min)1:1 混合装入 200×250 mm 塑料盆中(至盆高 3/4 处), 将 3 年生红松苗移栽到盆中缓苗 15 d。试验前, 记录每株红松苗株高及地径(距地面 1 cm 处)位置, 盆栽试验于实验室(平均温度 25°C , 平均日长 12 h)自然光下进行, 用 2、20、200 mg/L 苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液进行浇灌, 对照(CK)浇灌等量蒸馏水, 每处理重复 5 盆, 每 10 d 浇灌 250 mL 相应溶液及 5 mL Hoagland 营养液, 并将托盘中流出液倒回盆内, 以确保各处理组土壤中酚酸含量与试验设计一致。在红松苗生长期, 根据基质湿度补充蒸馏水以防止水分胁迫, 直到试验结束。2018 年 10 月 15 日结束试验, 将红松苗整株收获, 进行生长指标(株高、地径、生物量)、光合色素(叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素)、抗氧化酶活性(过氧化物酶 POD、过氧化氢酶 CAT、超氧化物歧化酶 SOD)、膜脂过氧化指标(丙二醛 MDA)及可溶性渗透物质(可溶性糖、可溶性蛋白)含量测定。

1.4 测定方法

种子发芽势、发芽率、发芽指数按以下公式计算: 发芽势(%) = 前 4 d 种子发芽数/供试种子总数 $\times 100\%$ ^[10]; 发芽率(%) = 试验期间种子发芽数/供试种子总数 $\times 100\%$ ^[11]; 发芽指数 = $\sum G_t/T_t$ [12], 式中, G_t 为第 t 天发芽种子数, T_t 为发芽天数。光合色素含量采用分光光度法测定^[13]; 过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定, 过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法测定, 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法测定^[14]; 丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定^[15]; 可溶性糖含量采用硫酸-蒽酮显色法测定^[16]; 可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定^[17]。

1.5 数据统计分析

采用软件 SPSS 19.0 对红松种子发芽指标、红松苗生长指标及生理特性指标进行单因素方差分析(ANOVA)及多重比较(Duncan's test), 用 Sigmaplot 12.5 进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 不同浓度苯甲酸、丁香酸和香草酸溶液对红松种子萌发的影响

不同浓度 3 种酚酸溶液均抑制红松种子萌发, 其发芽率、发芽势及发芽指数均显著低于 CK ($P < 0.05$)。酚酸溶液浓度变化对红松种子发芽势及发芽指数影响差异均不显著, 对发芽率影响差异显著 ($P < 0.05$), 其中, 20 mg/L BA、VA 溶液和 200 mg/L SA 溶液对红松种子发芽抑制效果强于其他浓度处理组, 发芽率仅为 64.45%、57.78% 和 53.33% (表 1)。

不同浓度 3 种酚酸对红松种子胚轴长及胚根长影响差异不显著。红松种子胚根受 3 种酚酸溶液影响强于胚轴, 其中, BA 浓度 2 mg/L、20 mg/L 时促进胚根生长, 200 mg/L 时抑制胚根生长, 不同浓度 SA 溶液均促进胚根生长, 而 VA 溶液对胚根影响表现为低浓度抑制, 高浓度促进(图 1)。

表1 不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松种子发芽指标的影响

Table 1 Effects of different concentration of BA, SA, VA solution on germination index of *Pinus koraiensis* seeds

酚酸 Phenolic acid	浓度 Concentration/(mg/L)	发芽率 Germination percentage/%	发芽势 Germination potential/%	发芽指数 Germination index
CK	0	86.7±0.0a	48.9±3.9a	5.1±0.2a
BA	2	77.8±3.9b	35.6±3.9b	3.9±0.5b
	20	64.5±3.9de	31.1±7.7bc	4.0±0.4b
	200	73.3±6.7bc	26.7±6.7bc	3.8±0.7b
	200	73.3±6.7bc	26.7±6.7bc	3.8±0.7b
SA	2	68.9±3.9cd	22.2±7.7c	3.7±0.4b
	20	75.6±3.9bc	26.7±0.0bc	4.4±0.9ab
	200	53.3±6.7f	22.2±3.9c	3.4±0.4b
	200	53.3±6.7f	22.2±3.9c	3.4±0.4b
VA	2	64.5±3.9de	26.7±6.7bc	3.7±1.0b
	20	57.8±3.9ef	31.1±7.7bc	3.4±0.5b
	200	64.5±3.9de	28.9±7.7bc	3.6±0.9b
	200	64.5±3.9de	28.9±7.7bc	3.6±0.9b

同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); CK: 对照组 control; BA: 苯甲酸 benzoic acid; SA: 丁香酸 syringic acid; VA: 香草酸 vanillic acid

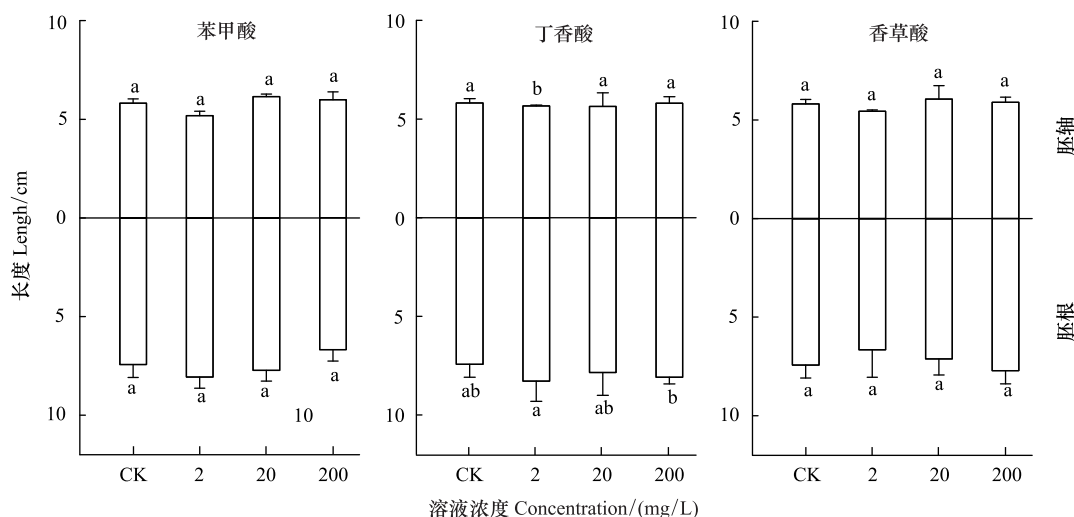


图1 不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松种子胚轴长、胚根长的影响

Fig. 1 Effects of different concentration of BA, SA, VA solution on hypocotyl length and radicle length of *Pinus koraiensis* seeds

不同小写字母表示同种酚酸不同浓度间差异显著 ($P < 0.05$); CK: 对照组 control; BA: 苯甲酸 benzoic acid; SA: 丁香酸 syringic acid; VA: 香草酸 vanillic acid

2.2 不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松苗生长指标的影响

各处理组株高、地径、生物量增加量均低于 CK, 表明不同浓度 BA、SA 和 VA 溶液对红松苗生长 (株高、地径) 及物质积累 (生物量) 具有抑制作用。酚酸浓度变化对红松苗株高和地径影响差异均不显著, 但对生物量、根干重和茎干重影响差异均显著 ($P < 0.05$)。其中, VA 溶液对红松苗株高抑制作用强于其他处理组, SA 溶液对地径抑制作用强于其他处理组。200 mg/L BA 溶液对红松苗生物量增加抑制作用强于其他处理组。20 mg/L BA 溶液抑制红松苗地上部分生长, 而促进地下部分物质积累。BA 溶液各处理组根茎比均高于 CK。2 mg/L、20 mg/L SA 溶液和 VA 溶液处理组根茎比低于 CK, 200 mg/L 处理组高于对照 (表 2)。

2.3 不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松苗针叶光合色素含量的影响

BA、SA 和 VA 溶液处理红松苗对其针叶叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素均有一定影响。其中, 不同浓度 BA 溶液处理红松苗后, 针叶叶绿素 a 含量均低于 CK, 且含量差异显著 ($P < 0.05$)。SA 溶液对针叶叶绿素 a 含量影响为中、低浓度抑制, 高浓度促进, 而 VA 溶液作用与之相反。不同浓度 BA 溶液处理红松苗后, 其针

叶叶绿素 b 含量均低于 CK 且含量差异不显著。20 mg/L SA 溶液抑制针叶叶绿素 b 产生,其他浓度处理组针叶叶绿素 b 含量与 CK 差异均不显著;中浓度 VA 溶液对针叶叶绿素 b 抑制作用强于其他浓度。不同浓度 BA 溶液处理组针叶类胡萝卜素含量均低于 CK,且浓度变化对其含量影响差异显著($P<0.05$)。SA 溶液对针叶类胡萝卜素含量影响为中、低浓度抑制,高浓度促进,而 VA 溶液为中、低浓度促进,而高浓度抑制。20 mg/L SA 溶液对叶绿素 a、叶绿素 b 影响强于其他处理组,其含量仅为 CK 的 56.47%、62.07%。20 mg/L BA、SA 和 VA 均对类胡萝卜素影响强于其他处理组,其含量分别为 CK 的 57.14%、61.90%、57.14% (表 3)。

表 2 不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松苗生长指标的影响

Table 2 Effects of different concentration of BA, SA, VA solution on growth index of *Pinus koraiensis* seedlings

酚酸 Phenolic acid	浓度 Concentration/ (mg/L)	株高增加量 Plant height/mm	地径增加量 Basal diameter/mm	生物量增加量 Biomass/mg	根干重增加量 Root dry weight/ (mg/株)	茎干重增加量 Stem dry weight/ (mg/株)	根/茎 Root/stem
CK	0	3.94±0.73a	1.14±0.13a	8.25±0.32a	1.97±0.17b	6.28±0.23a	0.314±0.03e
BA	2	2.64±0.59abc	0.90±0.29ab	4.73±0.21e	1.27±0.13cd	3.46±0.26e	0.370±0.06d
	20	2.04±0.94bc	0.59±0.48bc	7.93±0.17b	2.23±0.07a	5.70±0.17b	0.392±0.02cd
	200	2.94±1.73ab	0.56±0.38bc	2.76±0.48i	0.90±0.05e	1.87±0.09g	0.482±0.05a
SA	2	2.16±0.70bc	0.28±0.23c	2.92±0.20hi	0.58±0.04f	2.34±0.17h	0.250±0.01f
	20	2.40±0.58bc	0.31±0.18c	6.36±0.11c	1.32±0.05c	5.05±0.07c	0.262±0.01f
	200	2.42±1.95bc	0.41±0.21c	3.05±0.07h	0.96±0.06e	2.09±0.07i	0.458±0.04ab
VA	2	2.00±0.37bc	0.44±0.11c	4.19±0.05f	0.93±0.04e	3.25±0.07f	0.286±0.02ef
	20	1.42±0.28c	0.62±0.14bc	5.95±0.10d	1.30±0.06c	4.65±0.14d	0.278±0.02ef
	200	2.16±0.40bc	0.83±0.14ab	3.85±0.22j	1.15±0.13d	2.69±0.09j	0.426±0.03bc

表 3 不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松苗光合色素的影响

Table 3 Effects of different concentration of BA, SA, VA solution on photosynthetic pigments of *Pinus koraiensis* seedlings

酚酸 Phenolic acid	浓度 Concentration/(mg/L)	叶绿素 a Chlorophyll a/(mg/g)	叶绿素 b Chlorophyll b/(mg/g)	类胡萝卜素 Carotenoid/(mg/g)
CK	0	0.85±0.01b	0.29±0.01a	0.21±0.01b
BA	2	0.73±0.03d	0.25±0.01b	0.18±0.01cd
	20	0.60±0.01e	0.25±0.01b	0.12±0.001e
	200	0.79±0.04c	0.25±0.01b	0.19±0.01c
SA	2	0.83±0.02b	0.30±0.01a	0.17±0.01cd
	20	0.48±0.01j	0.18±0.01d	0.13±0.003e
	200	0.92±0.01a	0.29±0.01a	0.24±0.004a
VA	2	0.92±0.01a	0.29±0.01a	0.24±0.03a
	20	0.51±0.02f	0.21±0.02c	0.12±0.01e
	200	0.74±0.03d	0.25±0.01b	0.18±0.01cd

2.4 不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松苗针叶抗氧化酶系统及膜脂过氧化的影响

不同浓度 BA 和 VA 溶液对红松苗针叶 POD 活性影响显著($P<0.05$),不同浓度 SA 溶液对 POD 活性影响不显著。BA 溶液随浓度升高对 POD 活性抑制作用减弱,而 SA 溶液随浓度升高对 POD 活性抑制作用增强。不同浓度 3 种酚酸溶液对 CAT 活性影响整体与对 POD 活性影响一致。3 种酚酸溶液对 SOD 活性影响除 200 mg/L BA 溶液抑制其活性外,其余各处理组均增加 SOD 活性,其中 BA 各浓度处理组针叶 SOD 活性显著高于 CK,2 mg/L BA 溶液对 SOD 活性促进作用强于其余处理组,且高于 CK 组 SOD 活性 13.6% (图 2)。

不同浓度 BA、SA 和 VA 溶液均显著增加红松苗针叶 MDA 含量,MDA 含量随 BA 溶液浓度增加表现为先增加后降低,20 mg/L BA 溶液对针叶 MDA 合成的促进作用强于 2 mg/L 和 200 mg/L。MDA 含量随 SA 和 VA 溶液浓度增加而增加,200 mg/L SA 对 MDA 合成的促进作用高于其他处理组,且高于 CK 组 MDA 含量

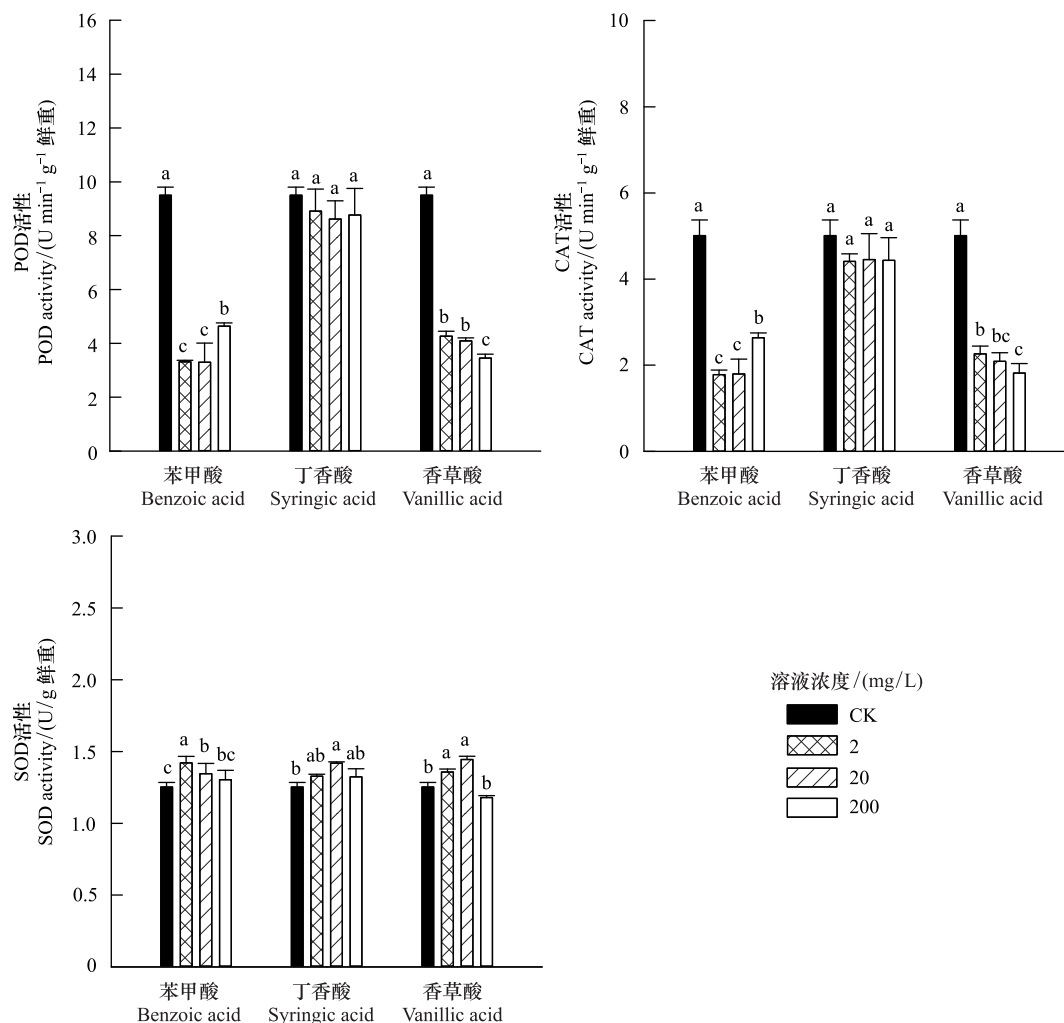


图2 不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松苗抗氧化酶活性的影响

Fig.2 Effects of different concentration of BA, SA, VA solution on the antioxidant enzyme activity of *Pinus koraiensis* seedlings

不同小写字母表示同种酚酸不同浓度间差异显著 ($P < 0.05$); 下同; POD: 过氧化物酶 peroxidase; CAT: 过氧化氢酶 catalase; SOD: 超氧化物歧化酶 superoxide dismutase

70.51% (图3)。

2.5 不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松苗针叶渗透调节物质的影响

不同浓度 VA 溶液、SA 和 VA 混合溶液对红松苗针叶可溶性糖及可溶性蛋白含量影响显著 (图4)。针叶可溶性糖含量随 BA 溶液浓度升高而逐渐增加, 而可溶性蛋白含量为 CK>200 mg/L>2 mg/L>20 mg/L。SA 溶液处理红松苗后, 针叶可溶性糖含量为 20 mg/L>2 mg/L>CK>200 mg/L, 可溶性蛋白含量均高于 CK。VA 处理红松苗后, 针叶可溶性糖含量为 20 mg/L>CK>2 mg/L>200 mg/L, 可溶性蛋白含量为 CK>2 mg/L>200 mg/L>20 mg/L。其中, 200 mg/L BA 对针叶可溶性糖含量产生的促进作用显著强于其他处理组, 而 200 mg/L VA 溶液对针叶可溶性糖含量产生的抑制作用明显强于其他处理组。

3 结论与讨论

3.1 酚酸物质影响种子萌发

酚酸类物质对种子萌发的影响是通过复杂的生化过程介导实现的。已有大量研究表明, 酚酸抑制种子发芽^[18-21]。本实验结果与前人研究一致, BA、SA、VA 溶液均对种子萌发存在抑制作用, 且对种子萌发的抑制作

用强于对胚轴及胚根长的影响。向日葵 (*Helianthus annuus* L.) 叶片水提物通过抑制白芥 (*Sinapis alba* L.) 种子内肽链内切酶和异柠檬酸裂解酶活性, 干扰种子内部储存蛋白质和脂肪酸降解, 进而阻碍种子对 O_2 的吸收, 抑制 ATP 产生, 从而干扰种子能量代谢, 最终抑制种子萌发^[22]。激素在种子萌发中发挥重要作用, 不同激素协同或拮抗调控着植物生长发育^[23-25]。Shu 等^[26]和 Holdsworth 等^[27]研究表明, 赤霉素促进种子萌发, 而脱落酸抑制种子萌发。Muscolo 等^[28]研究了不同森林土壤中提取的低分子酚类物质对落叶松 (*Pinus laricio*, Poiret, spp. *calabrica*) 种子萌发及其萌发过程中呼吸酶和磷酸戊糖氧化途径酶活性的影响, 发现所有酚酸对落叶松萌发均有抑制作用, 且种子萌发受抑制与糖酵解酶和氧化磷酸戊糖途径酶的活性密切相关。由此可见, BA、SA、VA 溶液对红松种子萌发的影响可以通过抑制胚胎生长、破坏细胞结构、干扰种子中活性氧的产生和积累、影响种子萌发过程中酶活性和代谢途径、打破种子内源激素平衡等多种途径来实现。

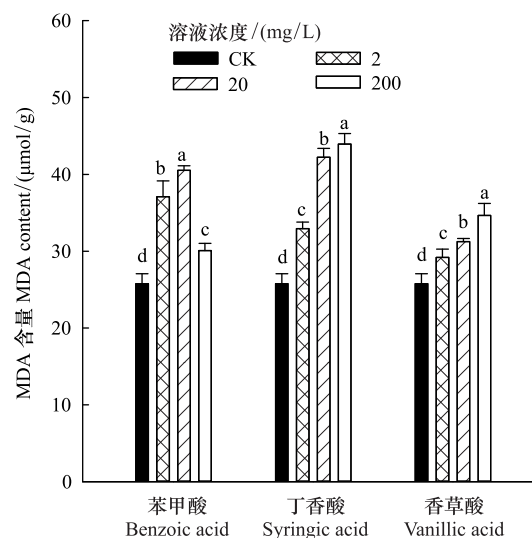


图3 不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松苗 MDA 含量的影响

Fig. 3 Effects of different concentration of BA, SA, VA solution on the MDA content of *Pinus koraiensis* seedlings

MDA: 丙二醛 malondialdehyde

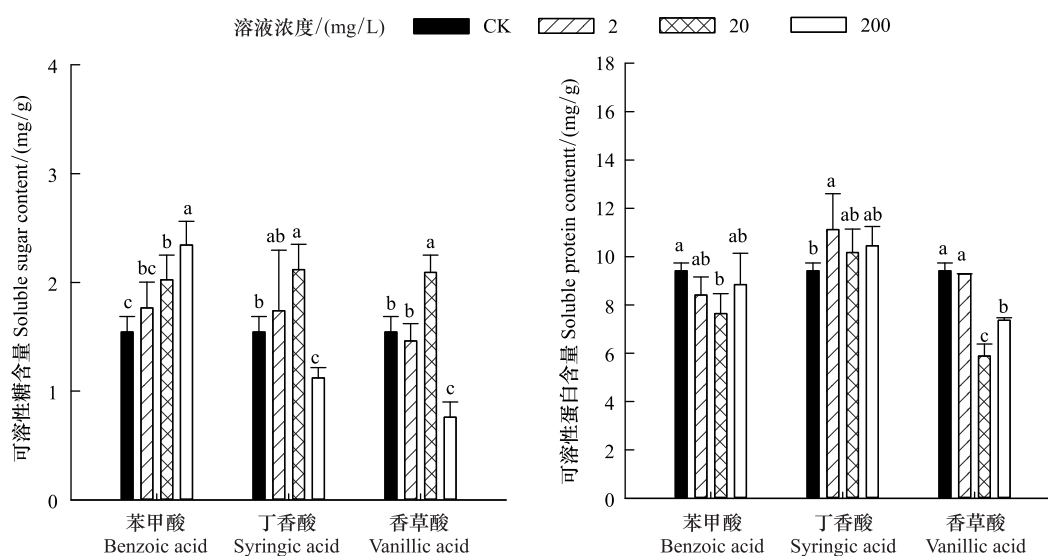


图4 不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松苗可溶性物质含量的影响

Fig. 4 Effects of different concentration of BA, SA, VA solution on the soluble matter content of *Pinus koraiensis* seedlings

3.2 酚酸物质影响幼苗生长及生理特性

已知化感物质通过改变植物代谢过程而导致植物生长减缓^[29-30]。其中, 酚酸类物质可影响植物体内吲哚乙酸 (IAA) 浓度, 调节参与 IAA 合成或分解的酶的活性, IAA 通过改变细胞壁伸展性和通透性引起细胞分裂, 因此, 酚酸类物质可以在完整植株茎伸长、细胞分裂及分化过程中发挥调控作用, 引起植物生物量积累的变化^[16]。Bi 等^[31]研究 9 种酚类化合物对西洋参 (*Panax quinquefolius* L.) 幼苗根茎生长的抑制作用, 其中水杨酸、肉桂酸、香豆酸、香草酸、丁香酸均能显著抑制其幼苗根茎生长。本试验中, 不同浓度 3 种酚酸均可导致红松苗生物量积累减少, 其中, SA、VA 溶液对红松苗株高及地径的抑制强于 BA, BA 溶液对地下部分物质积

累的抑制作用弱于其他处理组。同时,不同浓度酚酸溶液处理红松苗使针叶叶绿素 a、叶绿素 b 及类胡萝卜素含量出现不同程度减少。叶片光合色素在植物光合作用中发挥极为重要的作用,其含量降低将导致光能吸收及传递受阻,最终引起光合速率下降^[32]。Nimbal 等^[33]研究认为,化感物质能有效抑制光系统 II 中电子受体 QA 和 QB 之间的电子传递,进而影响光合作用。Baziramakenga 等^[6]研究结果表明,低浓度苯甲酸和肉桂酸可以增加大豆(*Glycine max* (Linn.) Merr.)叶绿素含量,而高浓度则产生相反效果。叶绿素含量与植物生物量积累密切相关^[34],叶片叶绿素含量降低会限制光合速率和光合产物的积累,从而降低植物的总生长量^[22,35],因此,红松苗针叶叶绿素含量减少是导致红松苗生物量积累受抑制的原因之一。

不同浓度 3 种酚酸处理红松苗后,其针叶中 POD、CAT 活性受到显著抑制,SOD 活性增加。SOD 清除植物体内超氧化物阴离子并产生 H_2O_2 ^[36],POD 和 CAT 将红松苗体内过多 H_2O_2 清除从而降低活性氧的毒害作用^[37-38],但由于酚酸处理使红松苗体内抗氧化系统酶活性发生改变致使其不能保持原有正常水平,从而破坏了活性氧产生与清除之间的平衡^[39-41]。活性升高的 SOD 将 O_2^- 转化为 H_2O_2 时,活性下降的 POD、CAT 无法清除大量累积的 H_2O_2 以确保红松苗体内活性氧代谢系统的平衡,导致过量 H_2O_2 累积在红松苗体内加剧了膜脂过氧化,使膜结构和功能遭到破坏,引起一系列生理生化代谢紊乱,导致伤害发生,对红松苗机体形成氧化损伤,作为渗透调节物质的可溶性糖及可溶性蛋白含量升高正是 3 种酚酸对红松苗机体氧化损伤结果的体现。MDA 作为氧化伤害和脂质过氧化的主要产物,具有很强的毒性,可抑制蛋白质合成或导致酶活性丧失^[42]。因此,从 MDA 含量显著增加也可看出不同浓度苯甲酸、丁香酸、香草酸溶液对红松苗产生较大程度伤害,红松苗因氧化损伤致使其生长受抑制,生长状况变差。由此可知,苯甲酸、丁香酸、香草酸通过破坏红松苗体内抗氧化系统而抑制红松苗生长。

酚酸胁迫条件下,植物细胞会通过积累渗透调节物质(如可溶性糖、可溶性蛋白等),以调节细胞内渗透势、维持水分平衡及细胞膜正常结构^[43]。可溶性糖不仅作为细胞的代谢能源和结构组成成分,还是调节植物生长发育过程中的各种信号^[44]。糖信号途径与胁迫途径相互作用,以调节植物的代谢反应^[45-46]。可溶性糖含量的波动是化感胁迫过程中常见的现象^[47]。而由于蛋白质相对合成速率减小,现有可溶性蛋白质大量分解为游离氨基酸,用于调节渗透压并提供代谢能源,从而造成可溶性蛋白含量降低^[48-49]。本试验中,不同浓度 BA、SA、VA 溶液对可溶性糖及可溶性蛋白含量影响显著,其中,红松苗为平衡 3 种浓度 BA 溶液及 20 mg/L SA 和 VA 溶液的化感胁迫作用而积累可溶性糖,使可溶性糖含量增加,而红松苗为调节不同浓度 BA、VA 溶液对其产生的化感作用,导致红松苗针叶中可溶性蛋白含量减少。不同浓度酚酸溶液对红松种子萌发及苗木生长的影响存在较大差异性,可能是由于红松在不同生育时期对酚酸感应程度不同造成。

本试验证实了先前提出的假设,即 BA、SA、VA 在阔叶红松林生态系统中可能作为化感物质影响红松种子萌发及苗木生长。而在自然生态环境中,化感作用是化感物质综合作用的结果,因此,研究化感物质间的化感综合效应及设计合理的野外实验,对进一步正确了解影响阔叶红松林中的化感作用机理及解决红松更新障碍问题具有更重要的意义。

参考文献(References):

- [1] Ridenour W M, Callaway R M. The relative importance of allelopathy in interference: the effects of an invasive weed on a native bunchgrass. *Oecologia*, 2001, 126(3): 444-450.
- [2] John J, Sarada S. Role of phenolics in allelopathic interactions. *Allelopathy Journal*, 2012, 29(2): 215-230.
- [3] 王延平, 王华田. 植物根分泌的化感物质及其在土壤中的环境行为. *土壤通报*, 2010, 41(2): 501-507.
- [4] Li Z H, Wang Q, Ruan X, Pan C D, Jiang D A. Phenolics and plant allelopathy. *Molecules*, 2010, 15(12): 8933-8952.
- [5] Inderjit, Bhowmik P C. Sorption of benzoic acid onto soil colloids and its implications for allelopathy studies. *Biology and Fertility of Soils*, 2004, 40(5): 345-348.
- [6] Baziramakenga R, Simard R R, Leroux G D. Effects of benzoic and cinnamic acids on growth, mineral composition, and chlorophyll content of soybean. *Journal of Chemical Ecology*, 1994, 20(11): 2821-2833.
- [7] Zhu W, Liu J W, Ye J L, Li G H. Effects of phytotoxic extracts from peach root bark and benzoic acid on peach seedlings growth, photosynthesis,

- antioxidance and ultrastructure properties. *Scientia Horticulturae*, 2017, 215: 49-58.
- [8] Garnett E, Jonsson L M, Dighton J, Murnen K. Control of pitch pine seed germination and initial growth exerted by leaf litters and polyphenolic compounds. *Biology and Fertility of Soils*, 2004, 40(6): 421-426.
- [9] 陈立新, 李少博, 乔璐, 步凡, 段文标. 凋落物叶和土壤浸提液对红松种子萌发及幼苗生长的影响. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 2016, 40(2): 81-87.
- [10] Niakan M, Saberi K. Effects of *Eucalyptus* allelopathy on growth characters and antioxidant enzymes activity in phalaris weed. *Asian Journal of Plant Sciences*, 2009, 8(6): 440-446.
- [11] Sun Q X, Sun L Y, Feng S C, Guo S F. Effect of La^{3+} on seed germination and seedling growth of *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Rare Earths*, 2018, 36(8): 898-902.
- [12] Li R X, He J X, Xie H G, Wang W X, Bose S K, Sun Y Q, Hu J E, Yin H. Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 126: 91-100.
- [13] Porra R J, Thompson W A, Kriedemann P E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents; verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1989, 975(3): 384-394.
- [14] Liang Y C, Chen Q, Liu Q, Zhang W H, Ding R X. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Plant Physiology*, 2003, 106(10): 1157-1164.
- [15] Li C, Han L B, Zhang X Z. Enhanced drought tolerance of tobacco overexpressing *OjERF* Gene is associated with alteration in proline and antioxidant metabolism. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2012, 137(2): 107-113.
- [16] Bano C, Amist N, Sunaina, Singh N B. UV-B radiation escalate allelopathic effect of benzoic acid on *Solanum lycopersicum* L. *Scientia Horticulturae*, 2017, 220: 199-205.
- [17] Zhu L W, Cao D D, Hu Q J, Guan Y J, Hu W M, Nawaz A, Hu J. Physiological changes and *sHSPs* genes relative transcription in relation to the acquisition of seed germination during maturation of hybrid rice seed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(5): 1764-1771.
- [18] Dorning M, Cipollini D. Leaf and root extracts of the invasive shrub, *Lonicera maackii*, inhibit seed germination of three herbs with no autotoxic effects. *Plant Ecology*, 2006, 184(2): 287-296.
- [19] 杨延杰, 王晓伟, 赵康, 陈宁, 林多. 邻苯二甲酸对萝卜种子萌发、幼苗叶片膜脂过氧化及渗透调节物质的影响. *生态学报*, 2013, 33(19): 6074-6080.
- [20] Yu H Y, Liang H B, Shen G M, Sampietro, Diego A S, Gao X X. Effects of allelochemicals from tobacco root exudates on seed germination and seedling growth of tobacco. *Allelopathy Journal*, 2014, 33(1): 107-119.
- [21] 陈锋, 孟永杰, 帅海威, 罗晓峰, 周文冠, 刘建伟, 杨文钰, 舒凯. 植物化感物质对种子萌发的影响及其生态学意义. *中国生态农业学报*, 2017, 25(1): 36-46.
- [22] Kupidłowska E, Gniazdowska A, Stępień J, Corbineau F, Vinel D, Skoczowski A, Janeczko A, Bogatek R. Impact of sunflower (*Helianthus annuus* L.) extracts upon reserve mobilization and energy metabolism in germinating mustard (*Sinapis alba* L.) seeds. *Journal of Chemical Ecology*, 2006, 32(12): 2569-2583.
- [23] Shu K, Meng Y J, Shuai H W, Liu W G, Du J B, Liu J, Yang W Y. Dormancy and germination: how does the crop seed decide? *Plant Biology*, 2015, 17(6): 1104-1112.
- [24] Shu K, Chen Q, Wu Y R, Liu R J, Zhang H W, Wang P F, Li Y L, Wang S F, Tang S Y, Liu C Y, Yang W Y, Cao X F, Serino G, Xie Q. ABI4 mediates antagonistic effects of abscisic acid and gibberellins at transcript and protein levels. *The Plant Journal*, 2016, 85(3): 348-361.
- [25] Linkies A, Leubner-Metzger G. Beyond gibberellins and abscisic acid: how ethylene and jasmonates control seed germination. *Plant Cell Reports*, 2012, 31(2): 253-270.
- [26] Shu K, Zhang H W, Wang S F, Chen M L, Wu Y R, Tang S Y, Liu C Y, Feng Y Q, Gao X F, Xie Q. ABI4 regulates primary seed dormancy by regulating the biogenesis of abscisic acid and gibberellins in arabidopsis. *PLoS Genetics*, 2013, 9(6): e1003577.
- [27] Holdsworth M J, Bentsink L, Soppe J J W. Molecular networks regulating *Arabidopsis* seed maturation, after-ripening, dormancy and germination. *New Phytologist*, 2008, 179(1): 33-54.
- [28] Muscolo A, Panuccio M R, Sidari M. The effect of phenols on respiratory enzymes in seed germination. *Plant Growth Regulation*, 2001, 35(1): 31-35.
- [29] Cruz-Ortega R, Ayala-Cordero G, Anaya A L. Allelochemical stress produced by the aqueous leachate of *Callicarpa acuminata*: effects on roots of bean, maize, and tomato. *Physiologia Plantarum*, 2002, 116(1): 20-27.
- [30] Batish D R, Lavanya K, Singh H P, Kohli R K. Root-mediated allelopathic interference of nettle-leaved goosefoot (*Chenopodium murale*) on wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2007, 193(1): 37-44.

- [31] Bi X B, Yang J X, Gao W W. Autotoxicity of phenolic compounds from the soil of American ginseng (*Panax quinquefolium* L.). *Allelopathy Journal*, 2010, 25(1): 115-121.
- [32] Li X G, Meng Q W, Jiang G Q, Zou Q. The susceptibility of cucumber and sweet pepper to chilling under low irradiance is related to energy dissipation and water-water cycle. *Photosynthetica*, 2003, 41(2): 259-265.
- [33] Nimbal C I, Pedersen J F, Yerkes C N, Weston L A, Weller S C. Phytotoxicity and distribution of sorgoleone in grain sorghum germplasm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 45(4): 1343-1347.
- [34] Ghosh P K, Ramesh P, Bandyopadhyay K K, Tripathi A K, Hati K M, Misra A K, Acharya C L. Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping systems in vertisols of semi-arid tropics. I. Crop yields and system performance. *Bioresource Technology*, 2004, 95(1): 77-83.
- [35] Kaya C, Ashraf M, Dikilitas M, Tuna A L. Alleviation of salt stress-induced adverse effects on maize plants by exogenous application of indoleacetic acid (IAA) and inorganic nutrients - A field trial. *Australian Journal of Crop Science*, 2013, 7(2): 249-254.
- [36] Scandalios J G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2005, 38(7): 995-1014.
- [37] Lee T M, Lin Y H. Changes in soluble and cell wall-bound peroxidase activities with growth in anoxia-treated rice (*Oryza sativa* L.) coleoptiles and roots. *Plant Science*, 1995, 106(1): 1-7.
- [38] Ashraf M. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*, 2009, 27(1): 84-93.
- [39] Bai R, Ma F W, Liang D, Zhao X. Phthalic acid induces oxidative stress and alters the activity of some antioxidant enzymes in roots of *Malus prunifolia*. *Journal of Chemical Ecology*, 2009, 35(4): 488-494.
- [40] Ahmad P, Jaleel C A, Salem M A, Nabi G, Sharma S. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2010, 30(3): 161-175.
- [41] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(9): 405-410.
- [42] 王艳芳, 潘凤兵, 张先富, 王鹏, 陈学森, 沈向, 毛志泉. 土壤中不同酚酸类物质对平邑甜茶幼苗光合及生理特性的影响. *林业科学*, 2015, 51(2): 52-59.
- [43] 陈绍莉, 周宝利, 蔺姗姗, 李夏, 叶雪凌. 肉桂酸和香草醛对嫁接茄子根系生长及生理特性的影响. *应用生态学报*, 2010, 21(6): 1446-1452.
- [44] Rosa M, Prado C, Podazza G, Interdonato R, González J A, Hilal M, Prado F E. Soluble sugars: metabolism, sensing and abiotic stress: a complex network in the life of plants. *Plant Signaling & Behavior*, 2009, 4(5): 388-393.
- [45] Ho S L, Chao Y C, Tong W F, Yu S M. Sugar coordinately and differentially regulates growth- and stress-related gene expression via a complex signal transduction network and multiple control mechanisms. *Plant Physiology*, 2001, 125(2): 877-890.
- [46] Tran L S P, Nakashima K, Shinozaki K, Shinozaki K Y. Plant gene networks in osmotic stress response: from genes to regulatory networks. *Methods in Enzymology*, 2007, 428: 109-128.
- [47] Gill P K, Sharma A D, Singh P, Bhullar S S. Changes in germination, growth and soluble sugar contents of *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds under various abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, 2003, 40(2): 157-162.
- [48] 杨梅, 林思祖, 黄燕华, 曹光球. 邻羟基苯甲酸胁迫对不同杉木无性系叶片膜质过氧化及渗透调节物质的化感效应. *西北植物学报*, 2006, 26(10): 2088-2093.
- [49] 岳建建, 张军林, 慕小倩, 袁龙刚, 张蓉, 徐敏. 泽漆化感机理的初步研究. *西北农业学报*, 2007, 16(5): 246-249.