

浙江农林大学学报, 2014, 31(1): 1–8

Journal of Zhejiang A & F University

doi:10.11833/j.issn.2095-0756.2014.01.001

## 酸雨与凋落物复合作用对柳杉种子萌发与幼苗生长的影响

邹翠翠<sup>1</sup>, 俞 飞<sup>1</sup>, 沈卫东<sup>2</sup>, 张珊珊<sup>1</sup>, 王俊龙<sup>1</sup>, 张汝民<sup>1</sup>, 侯 平<sup>1</sup>

(1. 浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 临安 311300; 2. 天目山国家级自然保护区管理局, 浙江 临安 311311)

**摘要:**采用培养皿法研究了不同 pH 值模拟酸雨、柳杉 *Cryptomeria fortunei* 凋落物水浸提液和酸雨浸提液对柳杉种子萌发和幼苗生长的影响, 并采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对柳杉凋落物水浸提液和酸雨浸提液的化学成分进行了分析。结果表明: ①酸雨和凋落物水浸提液处理均降低柳杉种子发芽率和发芽势, 凋落物酸雨浸提液处理柳杉种子发芽率和发芽势与对照差异显著( $P<0.05$ ), 说明酸雨增强了凋落物对柳杉种子萌发的抑制作用。②酸雨处理抑制柳杉幼苗根生长和根芽比, 而 pH 3.0 处理芽生长和生物量则显著减小( $P<0.05$ ); 50 g·L<sup>-1</sup> 凋落物水浸提液处理对柳杉幼苗芽和根的生长, 以及生物量和根芽比具有显著的抑制作用( $P<0.05$ ), 凋落物酸雨浸提液处理抑制作用呈极显著差异( $P<0.01$ )。③GC-MS 分析显示, 柳杉凋落物水浸提液和酸雨浸提液的主要成分是醇类、酚类、烷烯类和酯类等化合物, 占总量的 86.1%, 凋落物酸雨浸提液中鉴定出新的化合物包括 4 种酮类化合物和 2 个醇类, 占总量的 2.6%。图 4 表 1 参 30

**关键词:** 森林生态学; 柳杉; 凋落物; 酸雨; 化感物质; 种子萌发; 幼苗生长

中图分类号: S718.51 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2014)01-0001-08

## Combined effects of acid rain and litter on seed germination and seedling growth of *Cryptomeria fortunei*

ZOU Cuicui<sup>1</sup>, YU Fei<sup>1</sup>, SHEN Weidong<sup>2</sup>, ZHANG Shanshan<sup>1</sup>, WANG Junlong<sup>1</sup>, ZHANG Rumin<sup>1</sup>, HOU Ping<sup>1</sup>

(1. The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. Management Office, National Nature Reserve of Mount Tianmu, Lin'an 311311, Zhejiang, China)

**Abstract:** In order to understand the combined effects of acid rain and litter on the growth of *Cryptomeria fortunei*, we studied the effects of the acid rain, aquatic extract and acid rain extracts from litter on the seed germination and seedling growth of *C. fortunei* by using petri dishes culture method, and analyzed the chemical components of the extracts using GC-MS. Results showed that: (1) Both simulated acid rain and aquatic extracts reduced the seed germination rate and germination potential of *C. fortunei*. Under the effects of acid rain extracts the seed germination rate and germination potential were significantly different from the controlled ones ( $P<0.05$ ). It is indicated that acid rain enhanced the inhibition effect of allelochemicals from *C. fortunei* litter on its seed germination. (2) Acid rain declined the ratios of root to bud and root growth of *C. fortunei*. And acid rain (pH 3.0) significantly reduced the bud growth and biomass ( $P<0.05$ ). At 50 g·L<sup>-1</sup> the aquatic extracts significantly declined the root and bud growth, biomass and the ratios of root to bud ( $P<0.05$ ). The growth indicators are significantly different from effects of acid rain extracts with the controlled ones ( $P<$

---

收稿日期: 2013-01-10; 修回日期: 2013-04-16

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(Y3100361, Y305235); 浙江农林大学科研发展基金资助项目(2010FR058, 2008FR101)

作者简介: 邹翠翠, 从事植物生理生态研究。E-mail: zoucuicui168@163.com。通信作者: 侯平, 教授, 博士, 从事旅游生态学和恢复生态学等研究。E-mail: houpingg@263.net

0.01). (3) 42 secondary metabolic compounds were identified in the aquatic litter extract of *C. fortunei*. The major compounds of the aquatic litter extracts and acid rain litter extracts were alcohols, phenolics, betweenanenes and esters, which all together accounted for 86.1% of the total. And in acid rain extracts, of which the newly released compounds including 4 ketones and two alcohols, accounted for 2.6% of the total. [Ch, 4 fig. 1 tab. 30 ref.]

**Key words:** forest ecology; *Cryptomeria fortunei*; litter; acid rain; allelochemicals; seed germination; seedling growth

酸雨对生态系统的危害已成为举世瞩目的重大环境问题<sup>[1]</sup>, 而中国成为继欧洲和北美之后的第三大酸雨区<sup>[2]</sup>。研究发现, 酸雨是造成森林衰退的直接原因。酸雨能够抑制植物种子萌发与幼苗生长<sup>[3-5]</sup>。Park 等<sup>[6]</sup>研究发现模拟酸雨对鼠耳芥 *Arabidopsis thaliana* 种子萌发与根芽生长具有显著的抑制作用; 水稻 *Oryza sativa*, 小麦 *Triticum aestivum* 和油菜 *Brassica chinensis* var. *oleifera* 等 3 种植物对酸雨胁迫强度与胁迫时间的耐受性存在显著差异<sup>[7-8]</sup>。Ahmed 等<sup>[9]</sup>研究发现, 赤桉 *Eucalyptus camaldulensis* 调落物对黄豆树 *Albizia procera* 和银合欢 *Leucaena glauca* 种子萌发与幼苗生长均有抑制作用; 罗侠等<sup>[10]</sup>研究认为, 天山云杉 *Picea schrenkiana* 调落物提取液对自身种子萌发和幼苗生长具有自毒作用, 并且与提取液浓度呈正相关。有关酸雨和调落物复合作用对种子萌发与幼苗生长影响的报道甚少。柳杉 *Cryptomeria fortunei* 为常绿针叶乔木, 属国家一级保护树种, 浙江省临安市天目山国家级自然保护区是世界上最大的柳杉种群聚集地, 而临安市在 2006 年和 2007 年的酸雨发生率分别高达 85% 和 95%<sup>[11-12]</sup>。自 20 世纪 90 年代初期以来, 天目山的柳杉种群逐渐呈现出衰退的迹象。针对天目山柳杉林的研究主要集中在柳杉的病虫害防治<sup>[13-14]</sup>和蓄积量<sup>[15-16]</sup>等方面, 尚缺乏酸雨与柳杉调落物复合作用对柳杉天然更新影响方面的研究。因此, 我们以柳杉为供试树种, 模拟酸雨、柳杉调落物水浸提液和 pH 4.0 酸雨浸提液对柳杉种子萌发和幼苗生长的影响, 并采用气相色谱-质谱(GC-MS)技术分析鉴定了浸提液的化合物成分, 为阐明天目山柳杉天然更新困难和退化原因提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

供试柳杉调落物 2011 年 10 月采自天目山国家级自然保护区天然柳杉林, 调落物带回实验室自然风干后粉碎, 备用。柳杉种子由天目山国家级自然保护区管理局提供, 置于 4 ℃冰箱中保存。

### 1.2 研究方法

1.2.1 酸雨溶液的制备 根据浙江省临安市的酸雨监测分析资料及前人配置模拟酸雨的方法, 用浓硫酸和浓硝酸按摩尔比 4:1 配置母液, 并用蒸馏水分别稀释成 pH 3.0, pH 4.0 和 pH 5.6 模拟酸雨溶液。

1.2.2 柳杉调落物浸提液的制备 准确称取柳杉调落物干粉 10 g 2 份, 置于三角瓶中, 分别加入 100 mL 蒸馏水和 pH 4.0 模拟酸雨溶液, 在 25 ℃条件下浸提 48 h, 离心后过滤 2 次, 得到 100 g·L<sup>-1</sup> 的浸提液, 置于 4 ℃冰箱中备用。试验前将母液分别配置成 5 g·L<sup>-1</sup> 和 50 g·L<sup>-1</sup> 的处理液, 以蒸馏水作对照。

1.2.3 柳杉调落物浸提液化学成分分析 取 5 mL 柳杉调落物酸雨和水浸提液母液加入 2 mL 乙酸乙酯萃取, 吸取 1 μL 萃取液进样, 进行 GC-MS 分析。GC(7890A, Agilent Technologies Company)条件: 色谱柱 HP-5MS(30 m × 250 μm × 0.25 μm); 升温程序初始温度 50 ℃, 以 20 ℃·min<sup>-1</sup> 的速率升至 180 ℃, 保持 2 min, 再以 10 ℃·min<sup>-1</sup> 升到 250 ℃, 保持 10 min; 载气为氦气, 进样口温度 280 ℃。MS (5975C, Agilent Technologies Company)条件, 电离方式 EI; 电子能量 70 eV; 离子源温度 230 ℃; 四级杆温度 150 ℃; 传输线温度 250 ℃; 扫描质量范围 28~450。通过 NIST 2008 谱图库兼顾色谱保留时间定性, 采用峰面积表示物质含量。

1.2.4 柳杉种子萌发与幼苗培养 选取籽粒饱满、均匀一致的柳杉种子, 用 40 ℃的温水浸种 24 h, 再用质量浓度为 10 g·L<sup>-1</sup> 的高锰酸钾溶液消毒 15 min 后, 用蒸馏水反复冲洗 5~6 次。取 100 粒均匀置于垫有 2 层滤纸的培养皿(直径 15 cm, 105 ℃条件下消毒 2 h)中, 并加入 5 mL 相应浸提液, 对照加蒸馏水 5 mL, 设 3 次重复, 置于事先用乙醇进行消毒处理的恒温培养箱中培养。培养条件: 光照 14 h(25

℃)/黑暗10 h(20 ℃); 光强80  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 空气相对湿度为60%。处理组补充1  $\text{mL}\cdot\text{d}^{-1}$  相应浓度浸提液, 对照组补充1  $\text{mL}\cdot\text{d}^{-1}$  蒸馏水。

### 1.3 指标测定

1.3.1 种子萌发的测定 按照ISTA 1996《国际种子检验规程》(胚根突出种皮的长度为种子长度的一半即为发芽的种子), 每天统计种子发芽数。第15天统计种子发芽势, 第24天统计种子发芽率。

1.3.2 生长指标的测定 发芽实验结束后, 采用刻度尺测量萌发后幼芽与幼根长度, 随机测量10株·处理 $^{-1}$ , 取其平均值即为幼芽与幼根生长。随机选择10株幼苗, 称鲜质量, 设3次重复·处理 $^{-1}$ 。

### 1.4 数据统计分析

试验数据采用SPSS 13.0软件最小显著差法(LSD)多重比较方法进行统计分析。发芽率和发芽势用以下公式计算: 发芽率( $P_G$ )=终发芽种子数/供试种子总数×100%; 发芽势( $E_G$ )=第15天发芽种子数/供试种子总数×100%。参照Williamson等<sup>[17]</sup>的化感效应指数( $I_R$ )进行化感效应分析。当 $T \geq C$ 时,  $I_R = 1 - C/T$ ; 当 $T \leq C$ 时,  $I_R = T/C - 1$ , 其中 $C$ 为对照值,  $T$ 为处理值。 $I_R > 0$ 为促进作用,  $I_R < 0$ 为抑制作用, 绝对值大小和作用强度一致。

## 2 结果分析

### 2.1 柳杉凋落物浸提液的成分及含量分析

通过GC-MS分析, 在凋落物水浸提液和凋落物酸雨浸提液(pH 4.0)中均发现了醇类、酚类、烷烯类、酯类、酮类和醛类等化合物(图1, 表1)。水浸提液中鉴定出42种化合物, 其中醇类化合物19种, 占总量的36.2%; 酚类化合物5种, 占总量的19.8%; 烷烯类化合物共7种, 占总量的15.7%; 酯类化合物共3种, 占总量的13.4%; 酮类化合物5种, 占总量的6.3%; 醛类化合物3种, 占总量的2.4%。酸雨浸提液中鉴定出48种化合物, 其中新提取化合物包括4种酮类化合物和2个醇类, 占了总量的2.6%。凋落物酸雨浸提液的总离子流比凋落物水浸提液的强。

### 2.2 不同处理对柳杉种子萌发的影响

酸雨、凋落物水浸提液和凋落物酸雨浸提液对柳杉种子萌发的影响具有明显差异(图2)。pH 5.6和pH 4.0酸雨对柳杉种子萌发无显著影响, pH 3.0酸雨处理显著降低柳杉种子发芽率( $P < 0.05$ ), 与对照相比降低了6.9%; 5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 凋落物水浸提液处理显著降低柳杉种子发芽率( $P < 0.05$ ), 比对照降低了15.6%, 且随着浸提液质量浓度的增大对柳杉种子发芽率的抑制作用加强; 5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 酸雨浸提液处理极显著降低柳杉种子发芽率( $P < 0.01$ ), 与对照相比降低了26.3%; pH 5.6酸雨处理对柳杉种子发芽势无显著影响, pH 4.0酸雨处理显著降低柳杉种子发芽势( $P < 0.05$ ), 与对照相比降低了16.8%。5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 凋落物水浸提液和凋落物酸雨浸提液处理均显著降低柳杉种子发芽势( $P < 0.05$ ), 分别比对照降低了17.8%和25.2%, 且随着浸提液质量浓度的增大对柳杉种子发芽势的抑制作用加强。

### 2.3 不同处理对柳杉幼苗生长的影响

pH 5.6和pH 4.0酸雨处理对柳杉幼苗芽生长无显著影响, pH 3.0显著抑制柳杉幼苗芽生长( $P < 0.05$ ), 与对照相比降低了10.2%(图3); 5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 凋落物水浸提液处理显著抑制柳杉幼苗芽生长( $P < 0.05$ ), 与对照相比降低了13.7%; 5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 酸雨浸提液处理极显著抑制柳杉幼苗芽生长( $P < 0.01$ ), 与对照相比降低了17.1%。pH 5.6酸雨处理对柳杉幼苗根生长影响不显著, pH 4.0和pH 3.0酸雨处理显著抑制柳杉幼苗根生长( $P < 0.05$ ), 分别比对照降低了15.9%和18.8%。5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 凋落物水浸提液和凋落物酸雨浸提液处

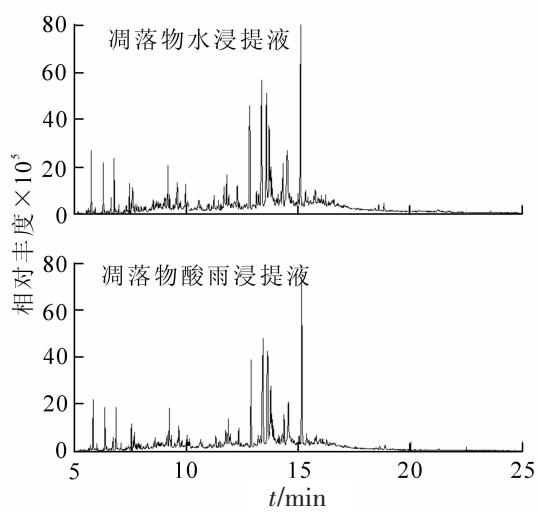


图1 柳杉凋落物浸提液的总离子流图

Figure 1 Total ion current of extract ingredients from litters of *Cryptomeria fortunei*

表1 柳杉凋落物水浸提液和酸雨浸提液成分分析

Table 1 Chemical components of aquatic and acid extracts from litter of *Cryptomeria fortunei*

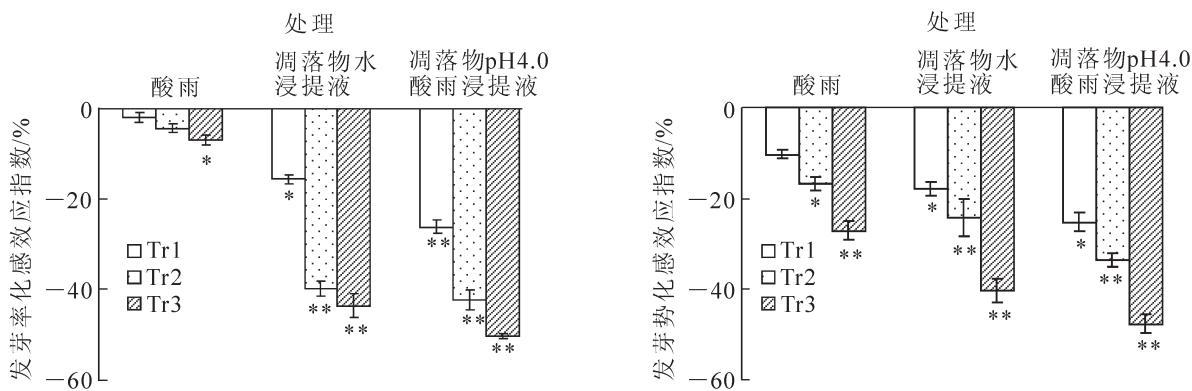
序号	t/min	化合物	分子式	相对含量/%	
				水浸提液	酸浸提液
1	5.76	苯酚 phenol	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O	2.74 ± 0.11	2.68 ± 0.12
2	6.30	苯甲醇 benzyl alcohol	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	2.21 ± 0.18	2.34 ± 0.16
3	6.65	2-壬烯-1-醇 2-nonyl-1-ol	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	0.72 ± 0.01	0.73 ± 0.07
4	6.79	愈创木酚 guajol	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	2.57 ± 0.03	2.50 ± 0.34
5	7.48	香芹酮 carvone	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	1.55 ± 0.15	1.68 ± 0.09
6	7.56	脱氢芳樟醇 hotrienol	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	0.70 ± 0.08	0.76 ± 0.14
7	7.61	邻苯二酚 pyrocatechol	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	1.56 ± 0.06	1.13 ± 0.07
8	8.20	马鞭烯酮 verbenone	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	0.89 ± 0.04	0.92 ± 0.14
9	8.50	香茅醛 citronellal	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.46 ± 0.05	0.50 ± 0.09
10	8.65	2-甲氧基-4-乙烯基苯酚 4-vinylguaiacol	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	0.80 ± 0.06	0.91 ± 0.04
11	8.71	乙基柠檬醛 ethyl citral	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O	0.50 ± 0.02	0.42 ± 0.02
12	8.87	1,8-松油二醇 terpin	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	0.48 ± 0.01	0.51 ± 0.21
13	9.07	蒎烯乙二醇醚 DHS activator	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	1.24 ± 0.11	1.15 ± 0.11
14	9.18	1,4-桉叶素 1,4-cineole	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	2.66 ± 0.21	2.76 ± 0.27
15	9.27	顺式氧化胡薄荷酮 cis-pulegone oxide	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	0.75 ± 0.03	0.79 ± 0.19
16	9.55	二氢香芹醇 dihydrocarveol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.90 ± 0.06	0.99 ± 0.14
17	9.60	4-松油醇 4-terpineol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1.68 ± 0.12	1.72 ± 0.14
18	9.75	丙烯醇 allethrolone	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	—	0.41 ± 0.04
19	9.98	十二烷二酸 dodecanedioic acid	C <sub>14</sub> H <sub>31</sub> N	1.17 ± 0.13	0.63 ± 0.32
20	10.08	异广藿香烷 isopatchoulane	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	0.59 ± 0.06	0.69 ± 0.07
21	10.57	环氧化马兜铃烯 aristolene epoxide	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1.09 ± 0.11	0.99 ± 0.12
22	10.65	榄香醇 elemol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	—	0.41 ± 0.09
23	11.26	二氢-α-紫罗兰酮 dihydro-α-ionone	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O	0.95 ± 0.03	1.11 ± 0.32
24	11.44	檀香醇 santalol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	0.62 ± 0.02	0.46 ± 0.11
25	11.70	柠檬烯-6-醇特戊酸酯 limonen-6-ol, pivalate	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	1.63 ± 0.11	1.49 ± 0.22
26	11.81	甲酸松油酯 terpinyl formate	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	2.14 ± 0.13	1.91 ± 0.12
27	11.91	蓝桉醇 globulol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1.30 ± 0.14	0.90 ± 0.11
28	12.17	柏木烯醇 cedrenol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	0.78 ± 0.02	—
29	12.29	长叶醛 longifolenaldehyde	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1.47 ± 0.13	1.37 ± 0.12
30	12.60	新郁金二酮 neocuridine	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	—	0.41 ± 0.03
31	12.84	落叶松醇 larixol	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	6.48 ± 1.01	6.30 ± 1.08
32	12.99	3-(十二烯基) 二氢-2,5-呋喃二酮 dodecenyl succinic anhydride	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	—	0.44 ± 0.03
33	13.15	异戊酸香叶酯 geranyl isovalerate	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	1.28 ± 0.32	1.27 ± 0.25
34	13.25	表蓝桉醇 epiglobulol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1.19 ± 0.41	1.01 ± 0.75
35	13.39	二乙酸-2-甲基间苯二酚 2-methylresorcinol, diacetate	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	12.16 ± 1.56	12.00 ± 1.63
36	13.58	1-胺甲基金刚烷 1-adamantanemethylamine	C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> N	9.92 ± 1.21	9.65 ± 1.12
37	13.71	β-桉叶醇 β-eudesmol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	6.95 ± 1.01	6.10 ± 1.04
38	13.78	喇叭烯醇 ledene alcohol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1.78 ± 0.58	1.63 ± 0.73
39	13.84	柏木烯醇 8-cedren-13-ol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1.46 ± 0.76	1.11 ± 0.65
40	14.10	愈创木烯 guaiiene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.57 ± 0.45	0.54 ± 0.05
41	14.19	紫堇酮 corymbolone	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	—	0.40 ± 0.04
42	14.24	斯巴醇 spathulenol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	0.64 ± 0.09	0.62 ± 0.21
43	14.32	异长叶烯 isolongifolene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	2.91 ± 0.81	2.80 ± 0.19

说明：“—”表示未检测到物质。

表1 (续)

序号	<i>t/min</i>	化合物	分子式	相对含量/%	
				水浸提液	酸浸提液
44	14.52	桉油烯醇 spathulenol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	7.40 ± 0.79	7.94 ± 0.98
45	15.12	邻苯二甲酸二丁酯 dibutyl phthalate	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	10.51 ± 2.01	12.07 ± 1.97
46	15.33	丁香烷 clovane	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	1.18 ± 0.61	0.98 ± 0.21
47	15.56	氧化石竹烯 epoxycaryophyllene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	0.47 ± 0.13	0.48 ± 0.18
48	15.70	水菖蒲酮 shyobunone	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	-	0.50 ± 0.04
49	15.76	韦得醇 widdrol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	0.94 ± 0.07	0.87 ± 0.05

说明: “-”表示未检测到物质。

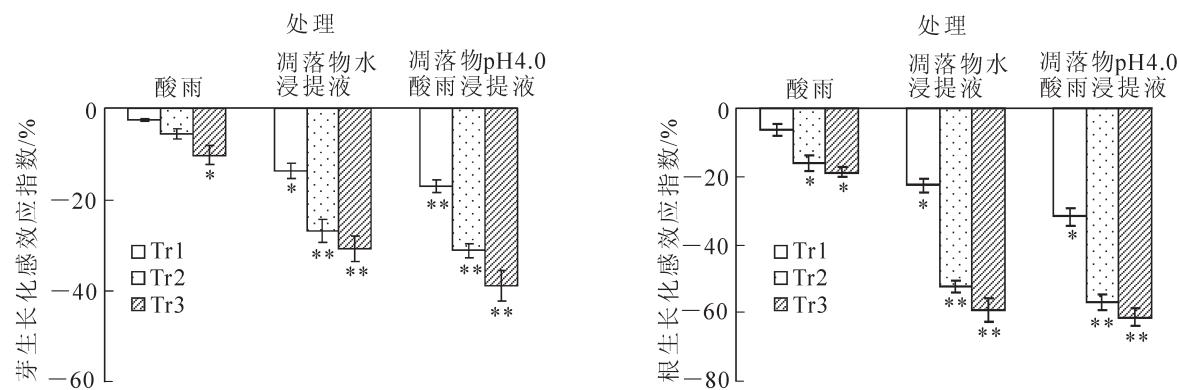


酸雨处理: Tr1, Tr2和Tr3分别表示pH 5.6, 4.0, 3.0; 凋落物水浸提液处理和凋落物pH 4.0酸雨浸提液处理: Tr1, Tr2和Tr3分别表示浸提液质量浓度为5, 50, 100 g·L<sup>-1</sup>; \*表示差异显著(*P*<0.05), \*\*表示差异极显著(*P*<0.01)。

图2 不同处理对柳杉种子萌发的影响

Figure 2 Effects of different treatments on the seed germination of *Cryptomeria fortunei*

理均显著抑制柳杉幼苗根生长(*P*<0.05), 分别比对照降低了22.7%和31.9%, 并且随着浸提液质量浓度的增大对柳杉芽和根生长的抑制作用加强。



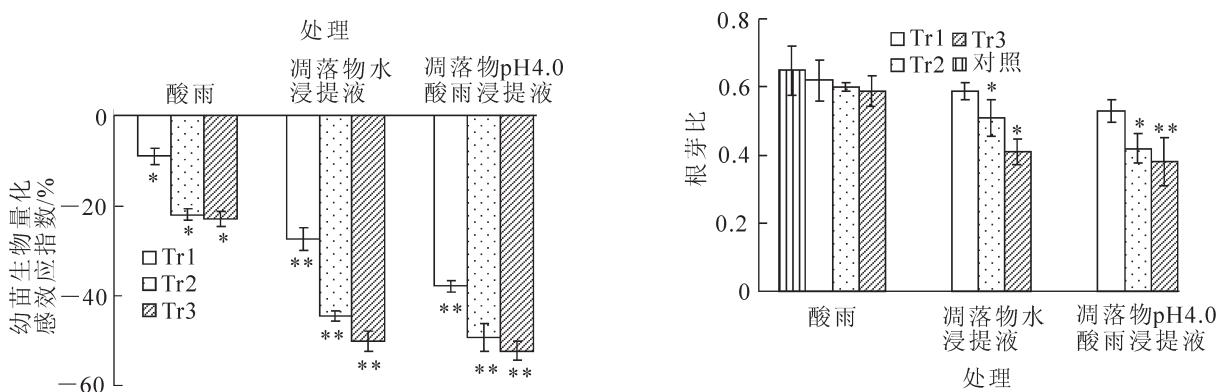
酸雨处理: Tr1, Tr2和Tr3分别表示pH 5.6, 4.0, 3.0; 凋落物水浸提液处理和凋落物pH 4.0酸雨浸提液处理: Tr1, Tr2和Tr3分别表示浸提液质量浓度为5, 50, 100 g·L<sup>-1</sup>; \*表示差异显著(*P*<0.05), \*\*表示差异极显著(*P*<0.01)。

图3 不同处理对柳杉幼苗生长的影响

Figure 3 Effects of different treatments on seedling growth of *Cryptomeria fortunei*

## 2.4 不同处理对柳杉幼苗生物量的影响

酸雨、凋落物水浸提液和凋落物酸雨浸提液均显著降低柳杉幼苗生物量(图4)。pH 5.6酸雨处理显著降低柳杉幼苗生物量(*P*<0.05), 与对照相比降低了9.0%, 且随着pH值的降低抑制强度增大; 5 g·L<sup>-1</sup>



酸雨处理: Tr1, Tr2和Tr3分别表示pH 5.6, 4.0, 3.0; 调落物水浸提液处理和调落物pH 4.0酸雨浸提液处理: Tr1, Tr2和Tr3分别表示浸提液质量浓度为5, 50, 100 g·L<sup>-1</sup>; \*表示差异显著( $P < 0.05$ ), \*\*表示差异极显著( $P < 0.01$ )。

图4 不同处理对柳杉幼苗生物量的影响

Figure 4 Effects of different treatments on biomass of *Cryptomeria fortunei*

调落物水浸提液和调落物酸雨浸提液处理均极显著降低柳杉幼苗生物量( $P < 0.01$ ), 分别比对照降低了27.4%和37.8%, 且随着浸提液质量浓度的增大对柳杉幼苗生物量的抑制作用加强。酸雨处理对柳杉幼苗的根芽比无显著影响。50 g·L<sup>-1</sup> 调落物水浸提液和调落物酸雨浸提液处理均显著抑制柳杉幼苗根芽比( $P < 0.05$ ), 分别比对照减少了0.14和0.23, 且随着浸提液质量浓度增大对柳杉根芽比的抑制作用加强。

### 3 讨论与结论

发芽率是反映种子质量优劣的重要指标, 而发芽势反映了种子的活力状况。这2个指标是反映环境胁迫对植物种子萌发影响程度的重要指标, 而生长指标可以更直观地显示植物幼苗受环境胁迫的程度。大量研究<sup>[18-21]</sup>表明: 酸雨和化感作用对植物种子萌发过程、幼苗和根系的生长发育有抑制作用。本研究结果表明: 酸雨和调落物水浸提液处理使柳杉种子发芽率和发芽势降低, 这可能是由于酸雨制约种子储藏物质分解、运输及细胞增殖和新器官的构建<sup>[22-24]</sup>, 而柳杉调落物中的酚酸等化感物质抑制了种子萌发时所需的关键酶类<sup>[25-26]</sup>。酸雨和调落物水浸提液处理使柳杉幼苗根生长和芽生长均受到不同程度的抑制作用, 降低了柳杉幼苗生物量和根芽比。这可能是由于酸和化感物质抑制种子保护酶的活性, 破坏了细胞的正常结构, 造成细胞代谢异常, 影响了胚的正常发育, 加剧植物细胞的质膜过氧化<sup>[27-28]</sup>。酸雨和调落物复合作用对柳杉种子发芽率和发芽势以及芽生长、根生长、根芽比和幼苗生物量的抑制效果比酸雨和调落物水浸提液增强, 其原因可能是酸雨增强了调落物次生代谢物质的释放<sup>[29]</sup>, 从而使调落物化感物质的种类和数量增多。

本研究表明: 柳杉调落物水浸提液和酸雨浸提液的主要化学物质为醇类、酚类、烷烯类、酯类、酮类和醛类等化合物, 调落物酸雨浸提液中鉴定出的新提取化感物质包括4种酮类化合物和2个醇类, 占了总量的2.6%, 与其他植物的化感物质相类似<sup>[30]</sup>, 高质量浓度时不仅降低受试植物种子的发芽率和发芽势, 同时还减少幼苗根生长和芽生长, 降低植物幼苗的生物量。大多数化感物质具有广谱性作用机制, 能够影响生物的许多生理生化过程, 柳杉调落物水浸提液中以二乙酸-2-甲基间苯二酚含量最高, 酸雨浸提液中以邻苯二甲酸二丁酯含量最高, 很可能是影响柳杉调落物自毒作用的主要化感物质。

综上所述, 本研究证实: 酸雨增强了柳杉调落物浸提液的化感强度, 加强了柳杉调落物的自毒作用, 调落物酸雨浸提液化感物质种类和含量的增加也证明了这点。此外, 本研究通过GC-MS分析, 进一步检测出更多的柳杉调落物化感物质成分, 对柳杉调落物自毒作用产生的影响在整个柳杉天然更新中所占的比例究竟有多大有了更明确的估计, 为酸雨干扰下柳杉调落物对柳杉天然更新影响机制提供依据。

### 参考文献:

- [1] MENZA F C, SEIP H M. Acid rain in Europe and the United States: an update [J]. *Environ Sci Policy*, 2004, 7(4):

- 253 – 265.
- [2] CURNUTT J L. Host-area specific climatic-matching: similarity breeds exotics [J]. *Biol Conserv*, 2000, **94**(3): 341 – 351.
- [3] 李荣生, 胡哲生, 时忠杰. 模拟酸雨对蕹菜种子发芽的影响[J]. 农业环境保护, 2001, **20**(5): 355 – 356.  
LI Rongsheng, HU Zhesheng, SHI Zhongjie. Effect of simulated acid rain on germination of seed of *Ipomoea aquatica* Forsk [J]. *J Agro-Environ Sci*, 2001, **20**(5): 355 – 356.
- [4] 彭彩霞, 彭长连, 林桂珠, 等. 模拟酸雨对农作物种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2003, **11**(4): 400 – 404.  
PENG Caixia, PENG Changlian, LIN Guizhu, et al. Effects of simulated acid rain on seed germination and seedling growth of three crops [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2003, **11**(4): 400 – 404.
- [5] 聂呈荣, 陈思果, 温玉辉, 等. 模拟酸雨对花生种子萌芽及幼苗生长的影响[J]. 中国油料作物学报, 2003, **25**(1): 34 – 36.  
NIE Chengrong, CHEN Siguo, WEN Yuhui, et al. Effect of acid rain on seed germination and seedling growth of peanut [J]. *Chin J Oil Crop Sci*, 2003, **25**(1): 34 – 36.
- [6] FAN Houbao, WANG Yihong. Effects of simulated acid rain on germination, foliar damage, chlorophyll contents and seedling growth of five hardwood species growing in China [J]. *For Ecol Manage*, 2000, **126**(3): 321 – 329.
- [7] 黎华寿, 聂呈荣, 胡永刚. 模拟酸雨对杂交稻常规稻野生稻影响的研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, **23**(2): 284 – 287.  
LI Huashou, NIE Chengrong, HU Yonggang. Effects of simulated acid rain on hybrid, common and wild rice varieties [J]. *J Agro-Environ Sci*, 2004, **23**(2): 284 – 287.
- [8] 周青, 曾庆玲, 黄晓华, 等. 3类抗性种子萌发对酸雨胁迫响应[J]. 生态学报, 2004, **24**(9): 2029 – 2036.  
ZHOU Qing, ZENG Qingling, HUANG Xiaohua, et al. Effects of acid rain on seed germination of various acid-fast plant [J]. *Acta Ecol Sin*, 2004, **24**(9): 2029 – 2036.
- [9] AHMED R, HOQUE A T M R, HOSSAIN M K. Allelopathic effects of leaf litters of *Eucalyptus camaldulensis* on some forest and agricultural crops [J]. *J For Res*, 2008, **19**(5): 19 – 24.
- [10] 罗侠, 潘存德, 黄闽敏, 等. 天山云杉凋落物提取液对种子萌发和幼苗生长的自毒作用[J]. 新疆农业科学, 2006, **43**(1): 1 – 5.  
LUO Xia, PAN Cunde, HUANG Minmin, et al. Autotoxicity of *Picea schrenkiana* litter aqueous extracts on seed germination and seedling growth [J]. *Xinjiang Agric Sci*, 2006, **43**(1): 1 – 5.
- [11] 张明如, 俞益武, 赵明水, 等. 天目山国家级自然保护区柳杉群落空气负离子浓度日变化特征[J]. 浙江林学院学报, 2009, **26**(5): 701 – 707.  
ZHANG Mingru, YU Yiwu, ZHAO Mingshui, et al. Diurnal changes in the negative ion concentration of the air for two *Cryptomeria fortunei* communities of National Nature Reserve of Mount Tianmu [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2009, **26**(5): 701 – 707.
- [12] 牛彧文, 顾骏强, 康丽莉. 浙江省酸雨污染特征研究[C]//中国气象学会. 中国气象学会2008年年会大气环境监测、预报与污染物控制分会场论文集. 北京: 中国气象学会, 2008: 572 – 575.
- [13] 龚小峰, 朱云峰, 刘亮, 等. 柳杉瘤病病原菌鉴定[J]. 浙江农林大学学报, 2011, **28**(2): 339 – 342.  
GONG Xiaofeng, ZHU Yunfeng, LIU Liang, et al. Causal agent of *Cryptomeria fortunei* gall disease [J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 2011, **28**(2): 339 – 342.
- [14] 蔡国贵. 柳杉毛虫高毒力白僵菌 Bbd3 菌株的筛选及应用[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2006, **30**(1): 105 – 108.  
CAI Guogui. Screening and application study of *Beauveria bassiana* Bbd3 strain with high virulence to *Dendrolimus houi lajonquiere* [J]. *J Nanjing For Univ Nat Sci Ed*, 2006, **30**(1): 105 – 108.
- [15] LU Baowang, MATSUI T, MATSUSHITA Y I, et al. Effect of pretreatment with acetic acid aqueous solution on carbonization of Sugi (*Cryptomeria japonica* D. Don) wood [J]. *Chem Ind For Prod*, 2003, **54**(2): 33 – 36.
- [16] 李晓玲, 小林功, 黑田尚宏, 等. 日本柳杉髓心方材高频真空干燥试验[J]. 北京林业大学学报, 2005, **27**(增刊): 42 – 46.  
LI Xiaoling, ISAO Kobayashi, KURODA N, et al. Radio frequency/vacuum drying tests on Japanese Sugi [J]. *J*

- Beijing For Univ*, 2005, **27**(supp): 42 – 46.
- [17] WILLIAMSON G B, RICHARDSON D. Bioassays for allelopathy: measuring treatment responses with independent controls [J]. *J Chem Ecol*, 1988, **14**(1): 181 – 187.
- [18] 樊后保, 黄玉梓, 李燕燕. 模拟酸雨对杉木种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 江西农业大学学报, 2005, **27**(6): 875 – 879.  
FAN Houbao, HUANG Yuzi, LI Yanyan. Effects of simulated acid rain on seed germination and seedling growth of *Cunninghamia lanceolata* [J]. *Acta Agric Univ Jiangxi*, 2005, **27**(6): 875 – 879.
- [19] ZHANG Rumin, ZUO Zhaojiang, GAO Peijun, et al. Allelopathic effects of VOCs of *Artemisia frigida* Willd. on the regeneration of pasture grasses in Inner mongolia [J]. *J Arid Environ*, 2012, **87**(20): 212 – 218.
- [20] 王瑞龙, 翁洁, 宋圆圆, 等. 模拟酸雨对外来入侵植物三叶鬼针草生长及化感作用的影响 [J]. 生态环境学报, 2010, **19**(12): 2845 – 2849.  
WANG Ruilong, WENG Jie, SONG Yuanyuan, et al. Effects of simulated acid rain on seedling growth and allelopathic potential of invasive alien species *Bidens pilosa* L.[J]. *Ecol Environ Sci*, 2010, **19**(12): 2845 – 2849.
- [21] 缪丽华, 王媛, 高岩, 等. 再力花地下部水浸提液对几种水生植物幼苗的化感作用[J]. 生态学报, 2012, **32**(14): 4488 – 4495.  
MIAO Lihua, WANG Yuan, GAO Yan, et al. The allelopathy of aquatic rhizome and root extract of *Thalia dealbata* to seedling of several aquatic plants [J]. *Acta Ecol Sin*, 2012, **32**(14): 4488 – 4495.
- [22] 俞飞, 侯平, 宋琦, 等. 柳杉凋落物自毒作用研究[J]. 浙江林学院学报, 2010, **27**(4): 494 – 500.  
YU Fei, HOU Ping, SONG Qi, et al. Autotoxicity of *Cryptomeria fortunei* litter [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2010, **27**(4): 494 – 500.
- [23] 王丽红, 黄晓华, 周青. 水稻、小麦油菜种子萌发 POD 与 CAT 对酸雨胁迫的响应[J]. 环境科学, 2005, **26**(6): 123 – 125.  
WANG Lihong, HUANG Xiaohua, ZHOU Qing. Response of POD and CAT during seeds of rice, wheat and rape germination on acid rain stress [J]. *Environ Sci*, 2005, **26**(6): 123 – 125.
- [24] 陶丽华, 杨国栋, 周青. 不同水稻品种种子萌发对酸雨胁迫的响应[J]. 农业环境科学学报, 2006, **25**(3): 566 – 569.  
TAO Lihua, YANG Guodong, ZHOU Qing. Responses of seed germination of different varieties of rice to the acid rain stress [J]. *J Agro-Environ Sci*, 2006, **25**(3): 566 – 569.
- [25] 王明道, 陈红歌, 刘新育, 等. 地黄对芝麻的化感作用及其化感物质的分离鉴定[J]. 植物生态学报, 2009, **33**(6): 1191 – 1198.  
WANG Mingdao, CHEN Hongge, LIU Xinyu, et al. Isolation and identification of allelochemicals from *Rehmannia glutinosa* that affect *Sesamum indicum* [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2009, **33**(6): 1191 – 1198.
- [26] FUJII Y, SHIBUYA T, NAKATANI K, et al. Assessment method for allelopathic effect from leaf litter leachates [J]. *Weed BiolManage*, 2004, **4**(1): 19 – 23.
- [27] 万开元, 陈防, 陶勇, 等. 杨树对莴苣的化感作用[J]. 东北林业大学学报, 2009, **37**(1): 21 – 22.  
WAN Kaiyuan, CHEN Fang, TAO Yong, et al. Allelopathy of *Populus* sp. to *Lactuca sativa* [J]. *J Northeast For Univ*, 2009, **37**(1): 21 – 22.
- [28] 张汝民, 王玉芝, 侯平, 等. 几种牧草幼苗对冷蒿茎叶水浸提液化感作用的生理响应[J]. 生态学报, 2010, **30**(8): 2197 – 2204.  
ZHANG Rumin, WANG Yuzhi, HOU Ping, et al. Physiological responses to allelopathy of aquatic stem and leaf extract of *Artemisia frigida* in seedling of several pasture plants [J]. *Acta Ecol Sin*, 2010, **30**(8): 2197 – 2204.
- [29] 廖周瑜, 彭少麟. 酸雨对外来植物入侵的影响[J]. 生态环境, 2007, **16**(2): 639 – 643.  
LIAO Zhouyu, PENG Shaolin. Effects of acid rain on the invasion of non-native plants [J]. *Ecol Environ*, 2007, **16**(2): 639 – 643.
- [30] KUBANEK J, HAY M E, BROWN P J, et al. Lignoid chemical defenses in the fresh water macrophyte *Saururus cernuus* [J]. *Chemoecology*, 2001, **11**(1): 1 – 8.