

# 外源香草醛对黄瓜幼苗生长及土壤微生物的影响

周新刚, 吴凤芝

(东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:**植物可以通过根系分泌、残茬降解等方式释放酚类化合物到土壤中,从而对自身或其它植物产生直接或间接的影响;但酚类化合物对土壤微生物的影响目前尚不十分清楚。该试验以“津绿3号”黄瓜品种为试材,通过外源添加在黄瓜连作体系中测得浓度的香草醛,研究了其对黄瓜幼苗生长及土壤微生物的影响。结果表明:外源香草醛影响了黄瓜幼苗生长及土壤微生物活性;在培养皿中,0.25~1.00 mmol/L 香草醛溶液处理显著抑制了黄瓜种子胚根伸长( $P<0.05$ );在土壤条件下,0.05~0.20  $\mu\text{mol/g}$  土香草醛处理显著抑制了黄瓜幼苗株高及叶面积( $P<0.05$ );同时,所有浓度的香草醛处理(0.02~0.20  $\mu\text{mol/g}$  土)均显著提高了土壤脱氢酶活性和土壤微生物生物量碳含量( $P<0.05$ );总之,外源香草醛能同时抑制黄瓜幼苗生长并促进土壤微生物活性。

**关键词:**黄瓜;自毒作用;香草醛;土壤微生物

**中图分类号:**S 642.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)01-0001-04

近年来,我国设施蔬菜作物连作障碍现象普遍发生,连作障碍已成为目前影响我国蔬菜产业可持续发展的一个重要瓶颈,连作障碍防治是今后相当长一段时间内我国蔬菜产业面临的一大难题<sup>[1]</sup>。黄瓜(*Cucumis sativus* L.)是我国设施栽培的第一大蔬菜作物,设施黄瓜连作障碍问题日益为人们所重视<sup>[2-3]</sup>。作物通过释放对自身有害的化感物质(自毒物质)而造成的自毒作用被认为是连作障碍发生的重要原因之一<sup>[4-5]</sup>。

研究表明,黄瓜根系分泌物和植株残茬具有自毒性<sup>[4]</sup>。前人已从黄瓜根系分泌物、根际土壤中鉴定出一些自毒物质,其中包括苯甲酸和肉桂酸的衍生物<sup>[4,6-7]</sup>。水培试验表明,这些酚类化合物会对黄瓜产生直接的毒害作用,例如抑制黄瓜根系的离子吸收、抑制光合作用、在根部产生氧化胁迫、抑制细胞周期基因表达等<sup>[8]</sup>。一般认为,来自活体植物或降解植株残体的这些酚类化合物在合适的浓度及条件下具有生物活性,是潜在的化感物质;同时,这些物质能够在土壤中积累,并对植物自身或其它植物产生伤害<sup>[8]</sup>。

在自然条件下,土壤微生物会使化感物质失去生物活性,在土壤条件下化感物质是否具有活性目前仍存在

争议<sup>[9-11]</sup>。土壤微生物能够影响土壤中化感物质的存在、可利用性和生物活性;同时,化感物质也是影响土壤生物学性状的重要因子<sup>[12-13]</sup>。一些研究表明,酚类化合物在体外能影响微生物(如尖镰孢菌、丁香假单胞菌)的生长<sup>[14-15]</sup>。但酚类物质对微生物在土壤中的影响尚不十分清楚。该研究通过向土壤中外源添加香草醛,研究其对黄瓜幼苗生长及土壤微生物的影响,以期从土壤微生物学角度进一步明确酚类化合物的自毒作用及其在连作障碍中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试黄瓜品种为“津绿3号”。试验土壤为东北农业大学园艺试验实习基地中未种植过黄瓜的黑土,其基本性状为有机质 3.67%,碱解氮 89.02 mg/kg,速效磷 63.36 mg/kg,速效钾 119.15 mg/kg,EC 值 0.33 mS/cm (1:2.5,w/v),pH 7.78(1:2.5,w/v)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 培养皿试验** 黄瓜种子用 2.5% NaClO 消毒后于 28℃ 黑暗中催芽。黄瓜种子胚根长 1 mm 左右时分散放于含有 2 层滤纸的 9 cm 直径培养皿中。然后加入 0.10、0.25、0.50、1.00 mmol/L 的香草醛溶液。溶液 pH 值用 0.1 mol/L NaOH 调至 7.0。以无菌蒸馏水作为对照。培养皿用 Parafilm 封口后于 25℃ 暗处培养。每处理 3 次重复,每次重复含有 5 个培养皿。10 d 后测定黄瓜胚根长度。

**1.2.2 幼苗试验** 将有 2 片子叶的黄瓜幼苗移植到含

**第一作者简介:**周新刚(1984-),男,博士,研究方向为设施蔬菜生理生态。E-mail:zxg2025@163.com.

**责任作者:**吴凤芝(1963-),女,博士,教授,研究方向为设施蔬菜生理生态。E-mail:fzwu2006@aliyun.com.

**基金项目:**黑龙江省教育厅科学技术研究资助项目(12531029)。

**收稿日期:**2014-09-11

有 150 g 土的营养钵中。黄瓜幼苗长至一叶一心时分别用 0.02、0.05、0.10、0.20  $\mu\text{mol/g}$  土的香草醛溶液隔天(每 48 h)处理<sup>[6,16]</sup>,共处理 5 次,施加香草醛的总量分别为 0.10、0.25、0.50、1.00  $\mu\text{mol/g}$  土。香草醛溶液 pH 值用 0.1 mol/L NaOH 调至 7.0。无菌蒸馏水作为对照。黄瓜幼苗置于温室中培养。每处理 3 次重复,每次重复 5 钵。第 1 次处理 10 d 后测定黄瓜幼苗株高、叶面积,并取土壤样品用于土壤酶及土壤微生物生物量碳含量。

### 1.3 项目测定

以常规方法测定株高(茎基部到植株生长最高处,米尺测定)和叶面积(打孔称重法)<sup>[17]</sup>。脱氢酶采用 TTC 染色法测定<sup>[18]</sup>,土壤微生物生物量碳含量的测定采用氯仿熏蒸法<sup>[19]</sup>。

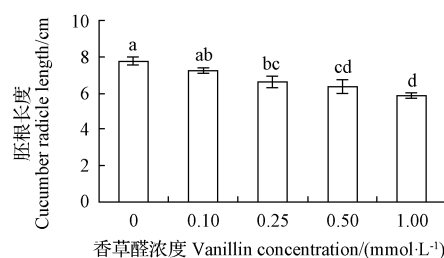
### 1.4 数据分析

数据处理采用 SAS 8.1 软件,用 one-way ANOVA 分析香草醛对黄瓜幼苗生长及土壤微生物各指标的影响,多重比较使用 Tukey's HSD 法( $P<0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 香草醛对黄瓜种子胚根伸长的影响

由表 1、图 1 可以看出,外源香草醛显著影响了黄瓜种子胚根伸长。随香草醛浓度的增加,黄瓜种子胚根长度逐渐降低,其中,0.10 mmol/L 香草醛溶液处理的黄瓜种子胚根长度与对照差异不显著,0.25~1.00 mmol/L 香草醛溶液处理的黄瓜种子胚根长度显著低于对照



注:图上不同字母代表差异达 0.05 显著水平(Tukey's HSD 法),下同。

Note: Values with different letters were significantly different between treatments at 0.05 level according to Tukey's HSD test. The same as below.

图 1 外源香草醛对黄瓜种子胚根伸长的影响

Fig. 1 Effect of exogenous vanillin on cucumber radicle elongation

( $P<0.05$ )。1.00 mmol/L 香草醛溶液处理的黄瓜种子胚根最短,比对照降低 24%。

### 2.2 香草醛对黄瓜幼苗株高和叶面积的影响

由图 2、表 1 可以看出,外源香草醛显著影响了黄瓜幼苗株高和叶面积。0.02~0.20  $\mu\text{mol/g}$  土香草醛处理的黄瓜幼苗株高均显著低于对照( $P<0.05$ ),但不同浓度香草醛处理之间差异不显著(图 2A)。

0.02  $\mu\text{mol/g}$  土香草醛处理的黄瓜幼苗叶面积与对照差异不显著,0.05~0.20  $\mu\text{mol/g}$  土香草醛处理的黄瓜幼苗叶面积显著低于对照( $P<0.05$ ) (图 2B)。0.20  $\mu\text{mol/g}$  土香草醛处理的黄瓜幼苗叶面积最小,比对照降低 26%。

表 1 外源香草醛对黄瓜种子胚根伸长、幼苗生长及土壤微生物影响的单因素方差分析

Table 1 One-way ANOVA analysis of effect of exogenous vanillin on cucumber radicle elongation, seedling growth and soil microorganism

	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value
胚根长度 Radicle length	4	1.62	22.47	$P<0.0001$
株高 Plant height	4	204.14	17.90	$P=0.0001$
叶面积 Leaf area	4	1 324.67	6.88	$P=0.0063$
土壤脱氢酶活性 Soil dehydrogenase activity	4	1.24	24.32	$P<0.0001$
土壤微生物生物量碳含量 Soil MBC content	4	3 178.18	67.55	$P<0.0001$

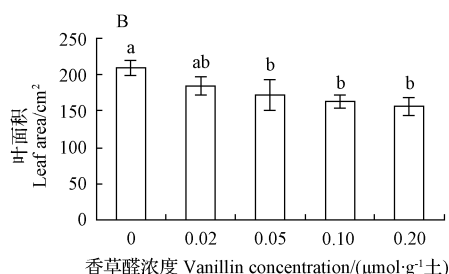
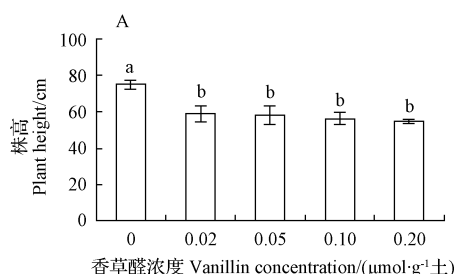


图 2 外源香草醛对黄瓜幼苗株高和叶面积的影响

Fig. 2 Effect of exogenous vanillin on cucumber seedling plant height and leaf area

### 2.3 香草醛对土壤微生物的影响

2.3.1 对土壤脱氢酶活性的影响 外源香草醛显著影响了土壤脱氢酶活性(表 1)。0.02~0.20  $\mu\text{mol/g}$  土香草醛处理的土壤脱氢酶活性均显著高于对照( $P<$

0.05),但不同浓度香草醛处理之间差异不显著(图 3)。0.20  $\mu\text{mol/g}$  土香草醛处理的土壤脱氢酶活性最高,是对照的 2.37 倍。

2.3.2 对土壤微生物生物量碳含量的影响 外源香草

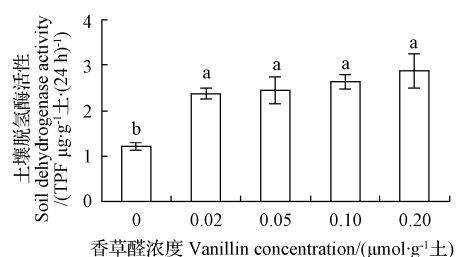


图3 外源香草醛对土壤脱氢酶活性的影响

Fig. 3 Effect of exogenous vanillin on soil dehydrogenase activity

醛显著影响了土壤微生物生物量碳含量(表1)。0.02~0.20 μmol/g 土香草醛处理的土壤微生物生物量碳含量均显著高于对照( $P<0.05$ );其中,0.10 μmol/g 土香草醛处理的土壤微生物生物量碳含量最高,是对照的1.54倍,并显著高于0.02、0.05 μmol/g 土处理( $P<0.05$ )(图4)。

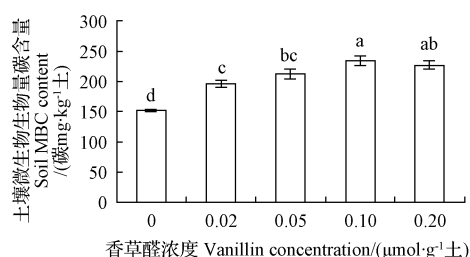


图4 外源香草醛对土壤微生物生物量碳含量的影响

Fig. 4 Effect of exogenous vanillin on soil MBC content

### 3 讨论与结论

前人研究表明,酚类化合物在施加到土壤中后会迅速被微生物利用,所以,该试验采用了 Shafer 等<sup>[16]</sup>的方法来维持香草醛在土壤中的浓度:用香草醛溶液隔天(每48 h)处理1次。化感物质对植物的影响是由其浓度决定的,多数酚类化合物的活性浓度一般为0.1~1.0 mmol/L<sup>[20]</sup>。在水培条件下,黄瓜根系分泌酚类化合物的速率约为0.01 μmol/d<sup>[4]</sup>。前期研究发现黄瓜连作体系中,黄瓜根际香草醛的浓度保持稳定,约为0.08 μmol/g 土<sup>[6]</sup>。因此,该试验向土壤中施加了0.02~0.20 μmol/g 土浓度的香草醛。但是,由于土壤环境的复杂性、土壤中有效酚类化合物测定方法的局限性,在根际植物根系及微生物周围的酚类化合物的真正浓度仍难以确定<sup>[10,12,21]</sup>。

一般认为酚类化合物是黄瓜等作物产生的自毒物质,会对植物自身产生毒害作用<sup>[8]</sup>。该研究发现,在土壤条件下,0.05~0.20 μmol/(g 土)的香草醛溶液对黄瓜幼苗生长有显著的抑制作用( $P<0.05$ ),这与前人研究结果一致。该试验中所用的香草醛溶液处理对黄瓜的

影响并不能完全模拟自然状态下土壤中酚类化合物的作用,因为化感物质与土壤中其它有毒或无毒物质会发生相互作用,从而加强或减弱潜在化感物质的毒性。例如,土壤中施加葡萄糖会降低 *p*-香豆酸抑制黄瓜生长的最低浓度<sup>[21]</sup>。黄瓜在生长过程中会分泌大量除酚类化合物以外的其它化合物,这些化合物也可能在连作土壤中积累,并与酚类化合物一起对黄瓜和土壤环境产生影响,这方面的研究还有待于进一步深入。

土壤微生物生物量碳作为土壤微生物评价指标,能反映土壤同化和矿化能力的大小,是土壤微生物活性大小的标志<sup>[22]</sup>。脱氢酶普遍存在于活体微生物中,土壤脱氢酶活性可以作为总土壤微生物活性的良好指标<sup>[6,18]</sup>。该试验结果表明,香草醛在其处理浓度范围(0.02~0.20 μmol/g 土)对土壤微生物活性具有刺激作用。酚类化合物处理后土壤脱氢酶活性和土壤微生物生物量碳均显著高于对照( $P<0.05$ )。马云华等<sup>[7]</sup>发现,酚类化合物在40~80 μmol/g 土浓度能提高土壤酶活性、增加土壤微生物数量。该结果与前人研究一致,说明酚类化合物在适合的浓度能促进土壤中土著微生物的生长<sup>[13,23]</sup>。同时,Blum 等<sup>[24]</sup>认为,酚类化合物对植物生长的抑制、微生物的促进作用不是植物和微生物之间对土壤营养竞争的原因。

总之,该研究初步证实了香草醛在合适浓度(0.02~0.20 μmol/g 土)可以抑制黄瓜幼苗生长,同时促进土壤微生物活性、提高土壤微生物生物量碳含量。土壤微生物是土壤中物质循环的主要动力,同时也是土壤有效养分的储备库,农业系统的生产力在很大程度上依赖于土壤微生物的作用。另外,土壤微生物,尤其是有益微生物,在促进植物生长、提高植物抗病性等方面也起到重要作用<sup>[25]</sup>。同时,土壤微生物菌群的变化能影响植物的生长发育<sup>[26]</sup>。因此在土壤条件下,酚类化合物除了对植物会产生直接伤害外,也可能通过改变土壤微生物菌群来影响植物生长。例如,酚类化合物可能通过抑制土壤氮素转化微生物及其酶活性、刺激土传病原菌生长繁殖或增强其致病性、影响菌根真菌或固氮菌而对植物产生不利影响<sup>[13,27-29]</sup>。关于这一点有待进一步研究证实。

### 参考文献

- [1] 喻景权. “十一五”我国设施蔬菜生产和科技进步及其展望[J]. 中国蔬菜, 2011(2): 11-23.
- [2] Zhou X, Yu G, Wu F. Effects of intercropping cucumber with onion or garlic on soil enzyme activities, microbial communities and cucumber yield[J]. European Journal of Soil Biology, 2011, 47: 279-287.
- [3] Zhou X, Gao D, Liu J, et al. Changes in rhizosphere soil microbial communities in a continuously monocropped cucumber (*Cucumis sativus* L.) system[J]. European Journal of Soil Biology, 2014, 60: 1-8.
- [4] Yu J Q, Matsui Y. Phytotoxic substances in the root exudates of Cucu-

- mis sativus* L. [J]. Journal of Chemical Ecology, 1994, 20: 21-31.
- [5] Singh H P, Batish D R, Kohli R K. Autotoxicity: Concept, organisms and ecological significance[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 1999, 18: 757-772.
- [6] Zhou X, Yu G, Wu F. Soil phenolics in a continuously mono-cropped cucumber (*Cucumis sativus* L.) system and their effects on cucumber seedling growth and soil microbial communities [J]. European Journal of Soil Science, 2012, 63: 332-340.
- [7] 马云华, 王秀峰, 魏珉, 等. 黄瓜连作土壤酚酸类物质积累对土壤微生物和酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(11): 2149-2153.
- [8] Inderjit, Duke S O. Ecophysiological aspects of allelopathy [J]. Planta, 2003, 217: 529-539.
- [9] Zhu X, Zhang J, Ma K. Soil biota reduce allelopathic effects of the invasive *Eupatorium adenophorum* [J]. PLoS One, 2011(6): e25393.
- [10] Inderjit, Pollock J L, Callaway R M, et al. Phytotoxic effects of (±)-catechin *in vitro*, in soil, and in the field [J]. PLoS One, 2008(3): e2536.
- [11] Kaur H, Kaur R, Kaur S, et al. Taking ecological function seriously: soil microbial communities can obviate allelopathic effects of released metabolites [J]. PLoS One, 2009(4): e4700.
- [12] Cipollini D, Rigsby C M, Barto E K. Microbes as targets and mediators of allelopathy in plants [J]. Journal of Chemical Ecology, 2012, 38: 714-727.
- [13] Zhou X, Wu F. *p*-Coumaric acid influenced cucumber rhizosphere soil microbial communities and the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* Owen [J]. PLoS One, 2012(7): e48288.
- [14] Bais H P, Prithiviraj B, Jha A K, et al. Mediation of pathogen resistance by exudation of antimicrobials from roots [J]. Nature, 2005, 434: 217-221.
- [15] Lanoue A, Burlat V, Henkes G J, et al. *De novo* biosynthesis of defense root exudates in response to *Fusarium* attack in barley [J]. New Phytologist, 2010, 185: 577-588.
- [16] Shafer S R, Blum U. Influence of phenolic acids on microbial populations in the rhizosphere of cucumber [J]. Journal of Chemical Ecology, 1991, 17: 369-389.
- [17] 陶洪斌, 林杉. 打孔称重法与复印称重法和长宽校正法测定水稻叶面积的方法比较[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(3): 496-498.
- [18] Tabatabai M A. Soil enzymes [M]// Weaver R W, Angle J R, Bottomley P S. Methods of Soil Analysis. Madison: Soil Society of America, 1994: 775-833.
- [19] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1987, 19: 703-707.
- [20] Piotrowski J, Morford S, Rillig M. Inhibition of colonization by a native arbuscular mycorrhizal fungal community via *Populus trichocarpa* litter, litter extract, and soluble phenolic compounds [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40: 709-717.
- [21] Blum U. Allelopathic interactions involving phenolic acids [J]. Journal of Nematology, 1996, 28: 259-267.
- [22] 何振立. 土壤微生物量及其在养分循环和环境质量评价中的意义 [J]. 土壤, 1997, 29(2): 61-69.
- [23] Qu X H, Wang J G. Effect of amendments with different phenolic acids on soil microbial biomass, activity, and community diversity [J]. Applied Soil Ecology, 2008, 39: 172-179.
- [24] Blum U, Staman K L, Flint L J, et al. Induction and/or selection of phenolic acid-utilizing bulk-soil and rhizosphere bacteria and their influence on phenolic acid phytotoxicity [J]. Journal of Chemical Ecology, 2000, 26: 2059-2078.
- [25] Philippot L, Raaijmakers J M, Lemanceau P, et al. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere [J]. Nature Reviews Microbiology, 2013(11): 789-799.
- [26] Lau J A, Lennon J T. Evolutionary ecology of plant-microbe interactions: soil microbial structure alters selection on plant traits [J]. New Phytologist, 2011, 192: 215-224.
- [27] Ye S, Yu J, Peng Y, et al. Incidence of *Fusarium* wilt in *Cucumis sativus* L. is promoted by cinnamic acid, an autotoxin in root exudates [J]. Plant and Soil, 2004, 263: 143-150.
- [28] 母容, 潘开文, 王进闯, 等. 阿魏酸、对羟基苯甲酸及其混合液对土壤氮及相关微生物的影响 [J]. 生态学报, 2011, 31(3): 793-800.
- [29] Bever J D, Platt T G, Morton E R. Microbial population and community dynamics on plant roots and their feedbacks on plant communities [J]. Annual Review of Microbiology, 2012, 66: 265-283.

## Effect of Exogenous Vanillin on Cucumber Seedling Growth and Soil Microorganisms

ZHOU Xin-gang, WU Feng-zhi

(College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

**Abstract:** Phenolic compounds, which enter soil as a result of root exudation and residue decomposition, can directly and indirectly affect the growth of their own or other plants. However, the effect of phenolic compounds on soil microorganisms are still not clear. In the present study, taking 'Jinlyu No. 3' cucumber as material, the effect of exogenous vanillin at the concentration detected in a continuously monocropped cucumber system were investigated. The results showed that exogenous vanillin significantly affected cucumber seedling growth and soil microbial activity ( $P < 0.01$ ). In the Petri dish experiment, vanillin significantly inhibited cucumber radicle elongation at concentration of 0.25 to 1.00 mmol/L ( $P < 0.05$ ). In the soil, vanillin significantly inhibited cucumber plant height and leaf area at concentration of 0.05 to 0.20  $\mu\text{mol/g}$  soil ( $P < 0.05$ ). Meanwhile, all concentrations of vanillin applied (0.02 to 0.20  $\mu\text{mol/g}$  soil) significantly increased soil dehydrogenase activity and soil MBC content ( $P < 0.05$ ). Overall, the results showed that vanillin could inhibit cucumber seedling growth, and promote soil microbial activity and soil MBC content.

**Keywords:** *Cucumis sativus* L.; autotoxicity; vanillin; soil microorganisms