



韦赛君,张静,王翔,等.金钱松林挥发物季节性变化对空气负离子及微生物的影响[J].江西农业大学学报,2021,43(6):1316-1326.

WEI S J,ZHANG J,WANG X,et al.Effects of seasonal variation of volatiles in *Pseudolarix amabilis* forest on air anion and microorganism[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2021,43(6):1316-1326.

金钱松林挥发物季节性变化对空气负离子及微生物的影响

韦赛君¹,张 静¹,王 翔²,吕嘉欣¹,王 彬^{1*},高 岩¹,张汝民¹

(1.浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室,浙江 临安,311300;2.浙江省森林资源监测中心,浙江 杭州 310020)

摘要:【目的】金钱松(*Pseudolarix amabilis*)属于珍稀濒危保护物种,具有特殊的药用、观赏和历史价值,其枝叶富含挥发性有机物(volatile organic compounds, VOCs)。为明确自然条件下金钱松释放 VOCs 成分对空气负离子和微生物的影响。【方法】选择浙江天目山生长健康的金钱松人工林,采用动态顶空气体循环采集法和热脱附-气相色谱-质谱联用仪(TDS-GC-MS)技术,分析了近自然状态下金钱松枝叶 VOCs 和不同季节林内空气 VOCs 组分和含量;同时,采用森林康养监测系统(YZQ-308A)监测金钱松林内空气负离子含量,采用自然沉降法测定林内空气微生物的数量。【结果】金钱松释放 VOCs 的以 7 种酯类化合物(36.2%)和 11 种萜烯类化合物(29.5%)为主;其中的主要物质有乙酸叶醇酯(25.2%)、 α -蒎烯(11.8%)、3-己烯醇(5.1%)、水杨酸甲酯(4.6%)、石竹烯(4.1%)、瑟林烯(3.9%)、壬醛(3.2%)和柠檬烯(2.6%)等。金钱松林内空气 VOCs 相比于空旷地增加 α -蒎烯、柠檬烯、雪松烯、 α -柏木烯和柏木脑 5 种萜烯类物质以及辛醛、壬醛和癸醛等醛类物质,夏季 VOCs 组分和含量最多。林内空气负离子含量显著高于空旷地,空气负离子含量由高到低依次为夏季、秋季、春季;林内空气微生物数量明显比空旷地少,夏季降幅最大,细菌、真菌和放线菌降幅分别为 45.7% 和 48.3% 和 36.9% ($P < 0.05$);1% 时柠檬烯和石竹烯能显著抑制细菌生长,抑制率分别为 38.1% 和 23.0% ($P < 0.05$);醛类对细菌、真菌和放线菌都有抑菌作用,0.1% 的壬醛、0.5% 的辛醛和癸醛对细菌的抑制率分别为 14.3%、24.8% 和 42.6% ($P < 0.05$)。【结论】金钱松林内 VOCs 对空气微生物有抑制作用,同时能释放大量对人体有益的负离子,进一步证实了金钱松 VOCs 具有净化空气和抑菌作用,为园林植物配置以及森林康养提供科学的理论依据。

关键词:金钱松;植物挥发物;空气负离子;空气微生物;抑菌

中图分类号:S791.23 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-2286(2021)06-1316-11

Effects of Seasonal Variation of Volatiles in *Pseudolarix amabilis* Forest on Air Anion and Microorganism

WEI Saijun¹, ZHANG Jing¹, WANG Xiang², LYU Jiaxin¹,
WANG Bin^{1*}, GAO Yan¹, ZHANG Rumin¹

(1.State Key Laboratory of Subtropical Forest Cultivation, Zhejiang A&F University, Lin'an, Zhejiang 311300, China; 2.Zhejiang Forest Resources Monitoring Center, Hangzhou 310020, China)

收稿日期:2021-04-19 **修回日期:**2021-08-31

基金项目:国家自然科学基金项目(31470704)和浙江省省院合作项目(2018SY07)

Project supported by National Natural Science Foundation of China (31470704) and Zhejiang Provincial Cooperative Project (2018SY07)

作者简介:韦赛君, orcid.org/0000-0001-5918-0040, 1324208252@qq.com; *通信作者:王彬,高级实验师,主要从事植物生理生态研究, orcid.org/0000-0002-0136-0222, wangbin@zafu.edu。

Abstract: [Objective] *Pseudolarix amabilis* is a unique single genus coniferous plant in China and its branches and leaves are rich in volatile organic compounds. It is a rare and endangered protected species and has special medicinal, ornamental and historical values. These plant volatile organic compounds (VOCs) have many functions (VOCs), such as promoting growth and development, inhibiting microbial growth, and affecting urban ecological environment, etc. This study was understand the effects of VOCs components and stands of *P. amabilis* on air anion and microorganisms under natural conditions. [Method] Volatile organic compounds (VOCs) in the branches and leaves of the healthy plantations of *P. amabilis* in neary natural state and in the air of different seasons in West Tianmu Mountain (Zhejiang Province) were analyzed and identified by dynamic headspace gas cycle collection and thermal desorption system/gas chromatography/mass spectrometry (TDS-GC-MS). At the same time, the content of negative air ions in the forest was monitored by YZQ-308A forest health monitoring system, and the air microorganisms were measured by natural sedimentation method. [Result] The main components of VOCs released by *P. amabilis* were 7 esters (36.21%) and 11 terpenes (29.53%); among them, the main substances were cis-3-hexenyl acetate (25.2%), α -pinene (11.8%), 3-hexen-1-ol (5.1%), methyl salicylate (4.6%), caryophyllene (4.1%), selinene (3.9%), nonanal (3.2%), limonene (2.6%), etc. Compared with open field, there were five kinds of terpenes, such as α -pinene, limonene, cedrene, α -cedrene and cedrol, as well as aldehydes such as octanal, nonanal and decanal in the *Pseudolarix amabilis* forest, and the composition and content of VOCs were the most in summer. The content of air anion in *P. amabilis* forest was significantly higher than that in open field, and that in summer was higher than in autumn and spring. The number of microorganisms in the forest was significantly less than that in the open field, and the decrease in summer was the largest, the decreasing ranges of bacteria, fungi and actinomycetes were 45.71%, 48.33% and 36.88% respectively ($P < 0.05$). The growth of bacteria was significantly inhibited by limonene and caryophyllene at the concentration of 1%, the inhibition rates were 38.1% and 23.0%, respectively ($P < 0.05$); aldehydes had antibacterial effects on bacteria, fungi and actinomycetes. The inhibition rates of nonanal at the concentration of 0.1%, octanal and decanal at 0.5% were 14.3%, 24.8% and 42.6%, respectively ($P < 0.05$). [Conclusion] The above results showed that: the VOCs of *P. amabilis* have inhibitory effect on air microorganisms, and can release a large number of negative ions beneficial to human beings, which further confirms the air purification and bacteriostatic effect of VOCs from *P. amabilis*, and provides scientific theoretical basis for the configuration of garden plants and forest health.

Keywords: *Pseudolarix amabilis*; volatile organic compounds; air anion; air microorganism; bacteriostasis

【研究意义】植物挥发性有机物(volatile organic compounds, VOCs)是一类小分子化合物,包括萜烯类化合物、脂肪酸衍生物、苯丙类、苯类和其他氨基酸衍生物四类等^[1],在植物的化学通讯、防御反应、生长繁殖、净化空气以及改善人体健康等方面起着重要作用^[2-3]。【前人研究进展】针叶树种主要释放萜烯类化合物,油松(*Pinus tabulaeformis*)释放 VOCs 中萜烯类化合物占 88.7%^[4]。这类物质在植物体内通过次生代谢途径合成后,储存于特殊的植物贮藏结构(如树脂管、腺体)^[5],小部分释放到环境中,但释放量会受到温度和光强的影响^[6-7]。植物 VOCs 可作为化学抗剂对抗叶表面或空气中的微生物,如萜类化合物(E)-橙花醇是茶树对抗病原菌的挥发性信号^[8]、薄荷精油能显著抑制金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)生物膜的形成^[9]、己烯醛能使尖孢炭疽病菌(*Colletotrichum acutatum*)失活^[10];研究证明针叶树挥发油具有抑菌和抗真菌作用,使针叶林内的空气微生物数量显著低于空旷地^[11]。植物在生长过程中释放的 VOCs 能促进空气离子化,增加森林中空气负离子(NAI)浓度^[12],且植物结构越复杂,NAI 浓度越高^[13]。同时 NAI 能利用其单极性离子的特征和带正电的颗粒物(PM)相互附着沉降,能有效降低颗粒物浓度,改善空气质量^[14],是衡量空气清洁度的指标之一。【本研究切入点】金钱松(*Pseudolarix amabilis*)是松科金钱松属的落叶乔木,目前对其研究大多集中在群落分布^[15]、生物学特性^[16]、遗传多样性^[17]、病理学^[18]和化学成分^[19]等领域,关于金钱松释放 VOCs 对空气微生物抑制作用方面的研究还未见报道。【拟解决的关键问题】本研究以金钱松为对

象,采用动态顶空采集法和热脱附-气相色谱-质谱(TDS-GC-MS)联用技术,分析了金钱松释放VOCs和春夏秋季林内空气VOCs组分和含量,并检测林内空气负离子浓度和空气微生物数量,揭示金钱松林释放VOCs的季节变化和抑菌效果,为金钱松生态学价值的利用和园林配置提供理论依据。

1 研究区自然条件与植被概况

研究区位于浙江省临安区天目山国家级自然保护区,其地理位置为 $30^{\circ}18'30''\sim 30^{\circ}24'55''\text{N}$, $119^{\circ}24'11''\sim 119^{\circ}28'21''\text{E}$,属于中亚热带湿润型季风气候,年平均气温 14°C ,年降水量达 $1\,390\sim 1\,870\text{ mm}$,太阳辐射 $4\,460\sim 3\,270\text{ MJ/m}^2$,相对湿度 $76\%\sim 81\%$ 。树种资源丰富,古树名木众多,植被从山麓到山顶垂直分布为常绿阔叶林、常绿阔叶混交林和落叶阔叶林,植被覆盖率达 95% 。

金钱松人工林面积约为 900 m^2 ,从中选择3个点进行实验,平均树高约为 9 m ,平均胸径 8 cm ,树龄为15年左右,郁闭度 $0.6\sim 0.8$;林下草本层高 $5\sim 80\text{ cm}$,盖度 $45\%\sim 60\%$,主要植被有吉祥草(*Reineckia carnea*)、络石(*Trachelospermum jasminoides*)和白茅(*Imperata cylindrica*)等。

2 材料与方法

2.1 供试树种

以自然状态下生长健康、长势良好的金钱松为研究对象,随机选取5棵生长情况基本相似的金钱松,每棵作为一个独立重复实验。对照为空旷地(待建停车场,地面植被已整修干净,呈裸露土地状,约 0.2 hm^2),无树木影响,选取5个点进行采样(图1)。



图1 采样点

Fig.1 Schematic diagram of sampling points

2.2 方法

2.2.1 VOCs采集及分析方法 单株VOCs采集:2019年5月,利用QC-2型大气采样仪,采用动态顶空套袋法对金钱松向阳面茂盛枝叶VOCs进行采集,采样气体循环流量为 100 mL/min ,采气时间 60 min 。采集后剪下枝叶,在烘箱 80°C 条件下干燥 6 h 后测定干质量。林内VOCs采集:2019年5月,7月,10月,利用QC-2型大气采样仪连接洁净硅胶管和装有吸附剂Tenax2GR(200 mg , $60\sim 80$ 目)的采样管连接玻璃漏斗对金钱松林内空气VOCs进行开放式采集,采集高度为 1.5 m ,采样气体循环流量为 100 mL/min ,采气时间 60 min 。VOCs成分分析采用热脱附-气相色谱-质谱联用仪(TDS-GC-MS)法。仪器正常工作条件参数设置参照Gao等^[11]的方法。

2.2.2 空气负离子测定 利用森林康养监测系统(YZQ-308A)测定空旷地(对照)和林内空气负离子,测定高度为 1.2 m 左右,在林内选取5个点,每个点在相互垂直的4个方向分别测定^[20],待仪器稳定后每个方向连续读取5个有效值,仪器每 2 min 读取一次,测定时间为 3 d ,每天观测时间为 $07:00\sim 19:00$,每 3 h 记录一次。

2.2.3 培养基和单体溶液的配制 按照沈萍^[21]的方法配制细菌培养基(牛肉膏蛋白胨培养基)、真菌培养基(马丁式培养基)和放线菌培养基(淀粉琼脂培养基)。根据金钱松叶片挥发物的种类,从中选择释放含量较高的6种单体,萜烯类和醛类各3种(α -蒎烯、柠檬烯、石竹烯、辛醛、壬醛和癸醛),配制浓度参考Gao等^[11]。在无菌条件下制备单体(sigma公司),在每个标准单体中加入2滴吐温-80,用无菌纯水稀释100倍、200倍和1 000倍浓度,与培养基混合,单体:培养基=1:9。

2.2.4 微生物的采集 微生物的采集分别在2019年5月、7月和10月,选择晴朗无风或微风的天气,10:00—13:00,采用自然沉降法^[22],在金钱松林内和空旷地各设5个采样点,将带有不同培养基的培养皿分别置于离地面1.2 m高和距离树干1.0 m的平板支架上,打开培养皿盖,暴露在空气中10 min,采集空气中自然漂浮的微生物(细菌、真菌和放线菌),采集完毕用无菌纸包裹每个培养皿。单体实验:将带有不同浓度单体培养基的培养皿,于空旷地各设5个采样点,采集方法同上。接菌的培养皿在恒温培养箱30 ℃条件下培养,细菌培养48 h后计数菌落、真菌和放线菌培养96 h后进行菌落统计。每个点的微生物连续采集3 d。

2.2.5 数据处理 通过分析获得VOCs的总离子流量色谱图,对比NIST 2008谱库,根据已报道的植物VOCs保留时间,并结合手工检索对VOCs各组分进行定性,然后选取特征离子进行进一步定量分析。金钱松单株释放VOCs的含量采用单位采样时间内每克植物枝叶释放出的VOCs特征离子峰峰面积进行定量。

$$\text{单株挥发物含量(峰面积} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{\text{该物质峰面积}}{\text{枝叶质量}}$$

微生物数量及抑菌率计算公式:

$$\text{微生物浓度(个} \cdot \text{m}^{-3}) = \frac{50\,000 \times N}{A \times T}$$

其中 N 为培养皿中菌落平均数(个); A 为培养皿的面积(cm^2); T 为打开培养皿皿盖的时间(min)。

$$\text{抑菌率} = \frac{(\text{对照菌数} - \text{处理菌数})}{\text{对照菌数}} \times 100\%$$

所有数据均为5次重复的平均值 $\pm$ 标准差。利用Origin9.0(Origin Lab公司,美国)数据处理系统进行数据统计、制图和方差分析。采用One-Way ANOVA对金钱松林和空旷地分别进行检验,并进行Tukey多重比较($P < 0.05$)。

3 结果与分析

3.1 金钱松叶片释放VOCs成分分析

将金钱松活体植株的VOCs进行TDS-GC-MS分析,得到总离子流图(图2)。从中鉴定出酯类、萜烯类、醛类、醇类、苯类和酚类等共29种化合物(表1),酯类化合物共7种,占总挥发物含量的36.2%;萜烯类11种,占29.5%;醛类4种,占7.6%;苯类2种,占8.3%;醇类2种,占5.5%。主要物质有乙酸叶醇酯(25.2%)、 α -蒎烯(11.8%)、3-己烯醇(5.1%)、水杨酸甲酯(4.6%)、石竹烯(4.1%)、瑟林烯(3.9%)、壬醛(3.2%)和柠檬烯(2.6%)等。

3.2 不同季节金钱松林空气VOCs分析

春、夏、秋季金钱松林共检测到8类27种化合物,主要有醛类、萜烯类、烷烃类、苯类和酯类等(表2)。金钱松林内空气VOCs与空旷地相比增加了 α -蒎烯、柠檬烯、雪松烯和 α -柏木烯等为主的萜烯类物质和辛醛、壬醛和癸醛为主的醛类物质。不同季节金钱松林内空气VOCs组分和含量存在差异(图3),夏季检

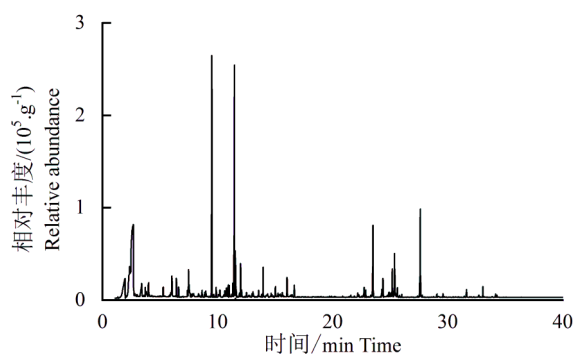


图2 金钱松叶片释放VOCs总离子流分析

Fig.2 TIC of VOCs in leaves of *P. amabilis*

测到27种化合物,主要有壬醛(5.5%)、癸醛(5.2%)、柠檬烯(4.9%)、己醛(3.5%)、二甲基辛醇(3.5%)和雪松烯(3.3%)等;春季检测到23种,主要为糠醛(8.8%)、丁酸丁酯(6.1%)和柠檬烯(4.4%)等;秋季检测到18种,主要为柠檬烯(8.0%)、癸醛(8.0%)、壬醛(7.7%)和辛醛(7.3%)等。总 VOCs 含量在夏季达到峰值,约为春季的5倍,是秋季的150倍左右。

表1 金钱松叶片释放 VOCs 的主要成分
Tab.1 The main components of VOCs from the leaf of *P. amabilis*

序号 No.	保留时间/min Retention time	挥发物 Volatile organic compounds	分子式 Molecular formula	峰面积/($\times 10^5 \cdot g^{-1}$) Peak area
1	5.24	甲苯 Toluene	C ₇ H ₈	12.98±15.35
2	5.98	己醛 Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	1.75±2.56
3	6.36	乙酸丁酯 Butyl acetate	C ₆ H ₁₂ O ₂	1.71±2.36
4	7.41	顺-3-己烯-1-醇 3-Hexen-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	14.96±9.16
5	9.42	α -蒎烯 α -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	34.89±15.89
6	9.82	茨烯 camphene	C ₁₀ H ₁₆	3.26±2.64
7	10.75	甲酸苯酯 Phenyl formate	C ₇ H ₆ O ₂	6.26±5.25
8	10.91	甲基庚烯酮 6-Methylhept-5-en-2-one	C ₈ H ₁₄ O	2.90±2.99
9	11.32	辛醛 Octanal	C ₈ H ₁₆ O	3.01±2.29
10	11.44	乙酸叶醇酯 cis-3-Hexenyl Acetate	C ₈ H ₁₄ O ₂	74.43±51.59
11	11.53	对二氯苯 Dichlorobenzene	C ₆ H ₄ Cl ₂	11.54±3.51
12	11.61	乙酸乙酯 Hexyl acetate	C ₈ H ₁₆ O ₂	2.40±2.67
13	11.98	柠檬烯 Limonene	C ₁₀ H ₁₆	7.74±6.20
14	12.09	桉树醇 Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	1.16±1.72
15	12.51	罗勒烯 Ocimene	C ₁₀ H ₁₆	2.62±3.62
16	13.95	壬醛 Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	9.35±4.62
17	15.04	樟脑 Camphor	C ₁₀ H ₁₆ O	1.05±1.45
18	16.04	萘 Naphthalene	C ₁₀ H ₈	16.65±9.68
19	16.38	水杨酸甲酯 Methyl Salicylate	C ₈ H ₈ O ₃	13.65±20.94
20	16.67	癸醛 Decanal	C ₁₀ H ₂₀ O	8.36±5.32
21	23.32	雪松烯 Cedrene	C ₁₅ H ₂₄	0.88±1.96
22	23.51	石竹烯 Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	11.99±6.57
23	24.37	甘香烯 Elixene	C ₁₅ H ₂₄	3.90±3.68
24	25.18	雅榄蓝烯 Eremophilene	C ₁₅ H ₂₄	5.26±4.90
25	25.39	瑟林烯 Selinene	C ₁₅ H ₂₄	11.42±10.35
26	25.63	榄香烯 Elemene	C ₁₅ H ₂₄	4.24±3.08
27	25.69	2,4-二特丁基苯酚 2,4-Di-tert-butylphenol	C ₁₄ H ₂₂ O	18.54±35.55
28	27.56	邻苯二甲酸二乙酯 Diethyl Phthalate	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	5.05±9.55
29	32.72	邻苯二甲酸酯 Diisobutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	3.47±5.29
总峰面积 Total peak area				295.43±39.59

表中数据为平均数±标准差。
The data was average ± standard.

3.3 不同季节空气负离子变化

金钱松林内空气负离子含量有明显的季节变化(图4)。林内空气负离子含量夏季最高,春季最低,夏季比春季增加了35.9%($P<0.05$),比秋季增加了23.5%($P<0.05$),春季与秋季之间差异不显著。金钱松林内空气负离子含量显著高于空旷地,林内含量在春、夏、秋季分别比空旷地增加了39.1%、72.3%和61.6%($P<0.05$)。

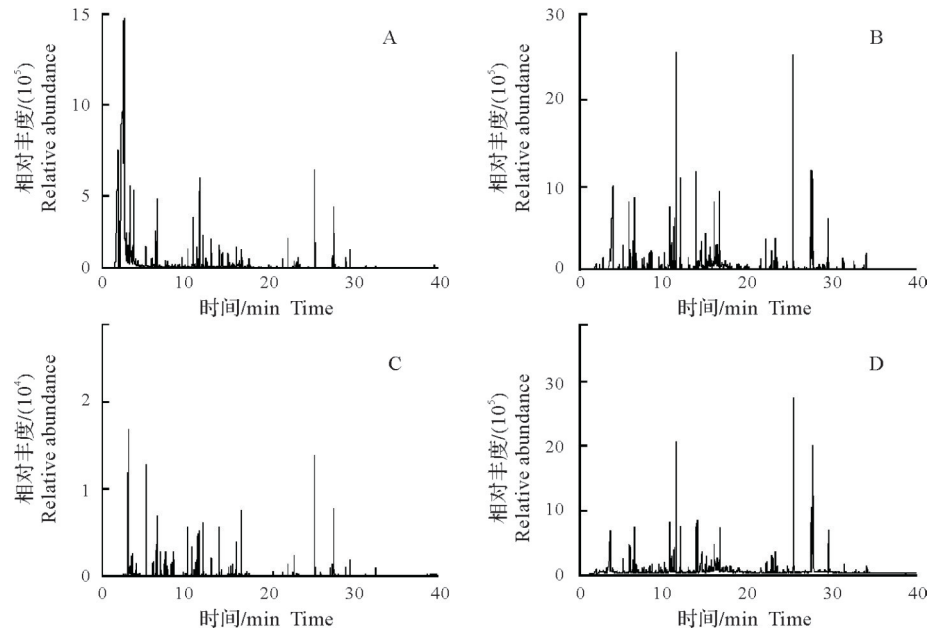
表 2 不同季节金钱松林空气 VOCs 成分变化
Tab.2 Changes of VOCs in air of *P. amabilis* forest in different seasons

序号 No.	保留时间/min Retention time	挥发物 Volatile organic compounds	分子式 Molecular formula	峰面积×10 ⁶ Peak area			
				空旷地(夏季) Summer in open area	春季 Spring	夏季 Summer	秋季 Autumn
1	5.26	甲苯 Toluene	C ₇ H ₈	10.65±0.26	1.70±0.23	5.48±0.38	0.16±0.06
2	5.95	己醛 Hexanal	C ₆ H ₁₂ O		0.13±0.00	15.65±0.59	0.04±0.06
3	6.34	乙酸丁酯 Butyl acetate	C ₆ H ₁₂ O ₂	9.26±2.18	4.27±0.45	7.17±0.77	—
4	6.78	糠醛 Furfural	C ₅ H ₄ O ₂		7.18±0.33	4.70±0.05	—
5	8.35	环己酮 Cyclohexanone	C ₆ H ₁₀ O	1.92±0.14	0.09±0.01	4.75±0.36	—
6	8.57	水芹醛 Heptanal	C ₇ H ₁₄ O		—	5.54±0.00	0.10±0.14
7	9.46	α-蒎烯 α-Pinene	C ₁₀ H ₁₆	—	1.79±0.08	3.56±0.98	—
8	10.16	苯甲醛 Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	7.82±1.12	3.48±0.10	7.09±0.33	0.24±0.01
9	10.74	甲酸苯酯 Phenyl formate	C ₇ H ₆ O ₂	13.33±2.25	5.33±0.57	29.86±3.16	0.22±0.01
10	10.92	甲基庚烯酮 6-Methylhept-5-en-2-one	C ₈ H ₁₄ O	5.21±0.10	—	6.22±0.19	—
11	11.33	辛醛 Octanal	C ₈ H ₁₆ O		2.30±0.24	10.45±0.60	0.21±0.03
12	11.53	对二氯苯 Dichlorobenzene	C ₆ H ₄ Cl ₂	16.97±0.79	9.84±0.71	56.57±1.40	0.23±0.03
13	11.99	柠檬烯 Limonene	C ₁₀ H ₁₆	—	3.61±0.28	21.60±0.31	0.23±0.03
14	12.00	异辛醇 Ethylhexanol	C ₈ H ₁₈ O	12.91±1.91	—	—	—
15	12.99	苯乙酮 Acetophenone	C ₈ H ₈ O	2.99±0.21	3.17±0.10	1.61±0.57	0.11±0.02
16	13.96	壬醛 Nonanal	C ₉ H ₁₈ O		2.63±0.29	24.59±1.71	0.22±0.01
17	14.60	2-乙基己酸 2-Ethylhexanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	16.57±5.60	2.26±0.31	35.45±11.06	—
18	15.03	樟脑 Camphor	C ₁₀ H ₁₆ O		1.86±0.06	11.27±0.76	0.09±0.01
19	16.05	萘 Naphthalene	C ₁₀ H ₈	15.70±0.40	2.96±0.17	26.09±0.68	0.22±0.02
20	16.36	二甲基辛醇 Dimethyloctanol	C ₁₀ H ₂₂ O	—	—	15.56±2.45	—
21	16.67	癸醛 Decanal	C ₁₀ H ₂₀ O		2.51±0.36	23.23±0.44	0.23±0.01
22	22.19	丁酸丁酯 Butyl butanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	—	4.94±0.14	9.17±0.94	0.09±0.02
23	22.88	十四烷 Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	21.01±9.23	2.23±0.14	6.20±0.95	0.14±0.02
24	23.31	雪松烯 Cedrene	C ₁₅ H ₂₄	—	2.58±0.18	14.83±4.56	0.04±0.01
25	23.33	α-柏木烯 α-Cedrene	C ₁₅ H ₂₄	—	—	6.46±1.74	—
26	25.39	十五烷 Pentadecane	C ₁₅ H ₃₂	72.41±34.86	13.26±0.62	70.20±13.94	0.28±0.02
27	27.80	柏木脑(+)-cedrol	C ₁₅ H ₂₆ O	—	0.85±0.03	6.44±1.35	—
28	29.60	十七烷 Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	10.64±0.40	2.41±0.02	15.29±3.36	0.04±0.01
总峰面积 Total peak area				217.39±43.25	81.38±11.40	445.02±52.38	2.87±0.32

表中数据为平均数±标准差;“—”表示未检测到;表中数据为平均数±标准差。
The data was average ± standard;“—” means no detection;The data was average ± standard.

3.4 金钱松林内空气微生物季节变化

随着季节的变化,金钱松林内微生物数量有一定的波动(图 5)。春季林内细菌数量最少,秋季最多,春季比秋季降低了 31.2%(*P*<0.05);真菌和放线菌数量均在夏季最少,分别比秋季降低了 34.0% 和 20.7% (*P*<0.05),放线菌夏季数量比春季降低了 15.9% (*P*<0.05)。空旷地细菌数量在春、夏、秋季有一定的变化,春季最少,与夏季相比降低了 16.2% (*P*<0.05);真菌和放线菌数量在春、夏、秋季无显著差异。金钱松林内微生物数量与空旷地相比明显下降,夏季的下降幅度最大,细菌、真菌和放线菌分别降低了 45.7%、48.3% 和 36.9% (*P*<0.05);夏季细菌降幅比春季多 5.9%,比秋季多 23.5%;真菌降幅比春季多 19.5%,比秋季多 29.4%;放线菌降幅比春季多 23.4%,比秋季多 19.7%。

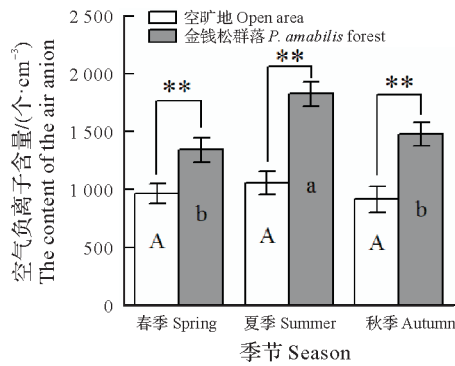


A:春季;B:夏季;C:秋季;D:空旷地夏季。

A: Spring B: Summer C: Autumn D: Summer in open area.

图3 不同季节金钱松林空气VOCs成分总离子流分析

Fig.3 TIC of VOCs in air of *P. amabilis* forest in different seasons

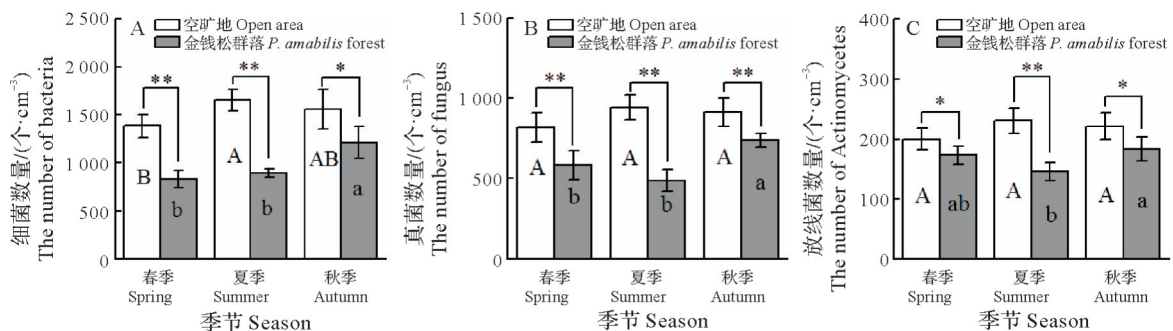


不同大写字母表示空旷地空气微生物不同季节间的差异显著性,不同小写字母表示金钱松林空气微生物不同季节间的差异显著性。根据Tukey多重比较($P < 0.05$), $*P < 0.05$; $**P < 0.01$; ns: 不显著。

Different capital letters indicate the difference significance of air microorganism in open area in different seasons, and different lowercase letters indicate the difference significance of air microorganism in *P. amabilis* forest in different seasons. According to Tukey multiple comparison ($P < 0.05$), $*P < 0.05$; $**P < 0.01$; ns: not significant.

图4 不同季节空气负离子含量变化

Fig.4 Seasonal variation of negative ion content



不同大写字母表示空旷地空气微生物不同季节间的差异显著性,不同小写字母表示金钱松林空气微生物不同季节间的差异显著性。根据Tukey多重比较($P < 0.05$), $*P < 0.05$; $**P < 0.01$; ns: 不显著。

Different capital letters indicate the difference significance of air microorganism in open area in different seasons, and different lowercase letters indicate the difference significance of air microorganism in *P. amabilis* forest in different seasons. According to Tukey multiple comparison ($P < 0.05$), $*P < 0.05$; $**P < 0.01$; ns: not significant.

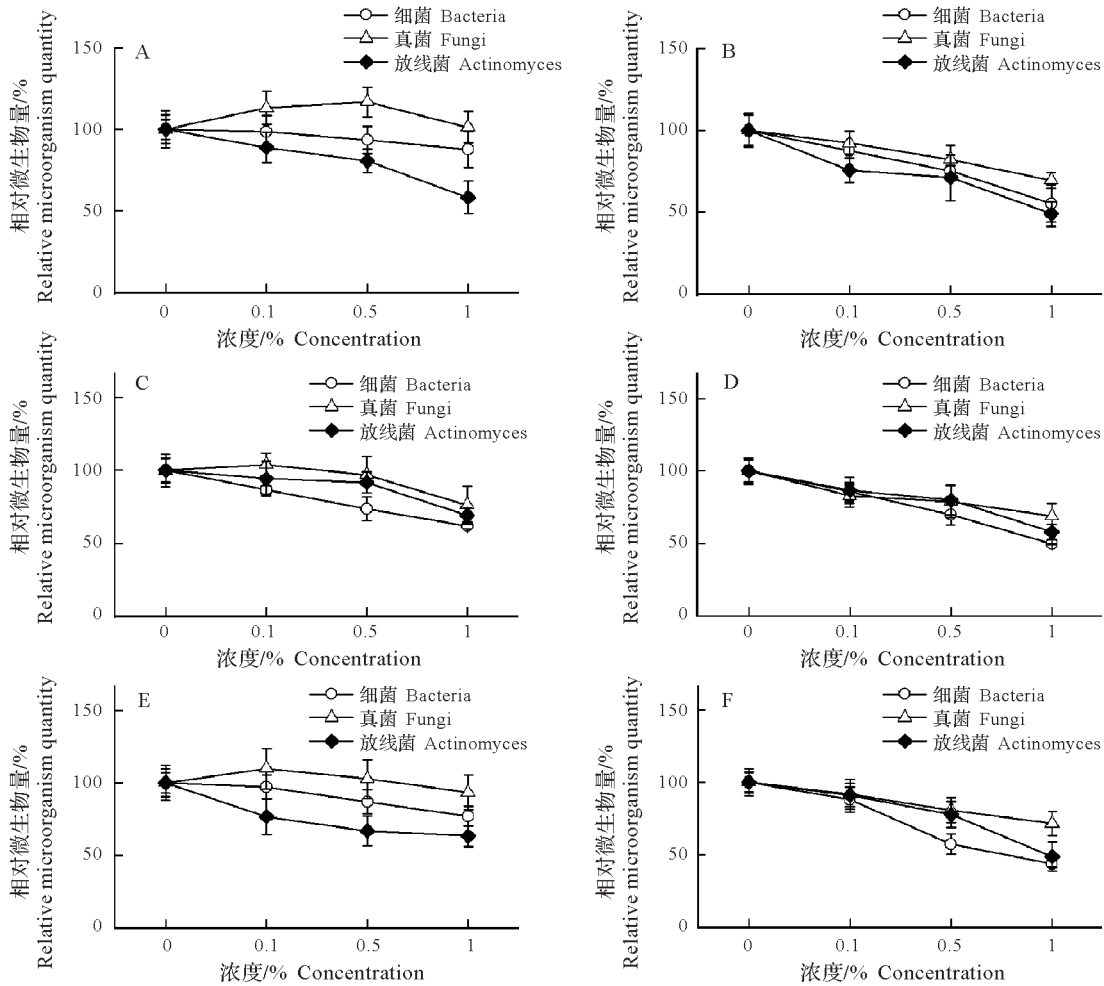
图5 不同季节金钱松林空气微生物的数量变化

Fig.5 The quantity change of air microorganism in *P. amabilis* forest in different seasons

3.5 单体对空气微生物的影响

单体对空气微生物有一定的抑制作用(图 6),1%时柠檬烯和石竹烯能显著抑制细菌生长,抑制率分别为 38.1% 和 23.0%($P<0.05$);0.1% 时 3 种萜烯均能促进真菌的生长,随着体积分数升高,呈现出抑制作用;1% 时 α -蒎烯和柠檬烯对放线菌抑制率分别为 41.7% 和 30.6%($P<0.05$),0.1% 时石竹烯对放线菌的抑制率为 23.3%($P<0.05$)。0.1% 时壬醛对细菌的抑制率为 14.3%($P<0.05$),0.5% 时辛醛和癸醛对细菌的抑制率分别为 24.8% 和 42.6%($P<0.05$);0.5% 时辛醛和壬醛对真菌的抑制率分别为 17.9% 和 21.1%($P<0.05$),1% 时癸醛对真菌抑制率为 28.5%($P<0.05$);0.1% 时辛醛对放线菌抑制率为 24.4%($P<0.05$),1% 时壬醛和癸醛对放线菌的抑制率分别为 42.2% 和 51.1%($P<0.05$)。

6 种单体中,醛类对微生物的抑制作用比萜烯更为明显,柠檬烯和石竹烯能抑制细菌生长;低浓度下萜烯类对真菌有促进作用;石竹烯对放线菌有明显的抑制作用;醛类对 3 种菌都有显著抑制作用。



A: α -蒎烯; B: 柠檬烯; C: 石竹烯; D: 辛醛; E: 壬醛; F: 癸醛。

A: α -Pinene; B: Limonene; C: Caryophyllene; D: Octanal; E: Nonanal; F: Decanal.

图 6 单体对空气微生物的抑制作用

Fig.6 Inhibition of airborne microorganisms by monomer compounds

4 讨论

植物挥发物是一类小分子次生代谢产物,可以作为生长发育的调控信号,也是抵御胁迫、保护自身的重要物质^[2],是植物进化过程中对自然环境适应的结果^[23]。不同树种释放的 VOCs 成分和含量均有差异,毛白杨(*Populus tomentosa*)、栓皮栎(*Quercus variabilis*)和色木槭(*Acer mono*)等阔叶树主要释放异戊二烯^[24],而侧柏(*Platycladus orientalis*)和油松等针叶树主要释放单萜类化合物。Aydin 等^[25]研究以 7 种松属(*Pinus*)、4 种刺柏属(*Juniperus*)和 4 种其他树种为例的针叶树种,发现其平均单萜类释放率约为 69%。

已有研究发现金钱松叶片挥发油成分中主要为萜烯类物质,其中 α -蒎烯和石竹烯含量最多^[26]。植物VOCs的合成和释放受到温度和光照的影响,Jardine等^[7]研究发现植物叶片中单萜排放来源于光合作用,VOCs在黑暗中几乎停止排放,在中午排放速率达到峰值^[6]。本研究金钱松叶片释放的VOCs以酯类(乙酸叶醇酯)和萜烯类物质为主,与前人研究结果有所差异,可能是采集方法不同所致。金钱松林内VOCs与空旷地相比增加萜烯类和醛类物质,这些物质主要由金钱松枝叶释放;林内夏季VOCs含量显著高于春秋两季,可能是夏季光照强,金钱松处于生长旺季,光合速率快,为VOCs的合成提供能量和碳源^[27];同时温度升高会显著提高VOCs合成酶的活性^[28];其次金钱松合成萜烯类化合物储存于树脂管中,其角质层通透性随着温度升高而增加,释放大量的VOCs^[29]。

NAI产生的天然能量来源包括宇宙射线、紫外线辐射、雷暴和闪电等自然电晕放电、瀑布冲击(勒纳德效应)和植物来源等^[14]。森林中NAI的产生主要是通过绿色植物冠层和叶尖的放电以及光合作用的光电效应^[12],一些植物的针状叶形有助于空气电离产生负电荷,另外在紫外线作用下植物叶片发生光电效应,使NAI浓度增加。NAI能促进植物生长,在电荷作用下能吸附、沉降空气颗粒物,还能减少空气中微生物的数量^[14]。本研究金钱松林内NAI浓度显著高于空旷地,与冯鹏飞等^[30]研究结果一致,群落结构越复杂,NAI浓度越高,由高到低依次为乔灌木、乔灌木、乔木、灌木、乔木、灌木、草和无植被区^[13];金钱松林内NAI浓度在夏季达到峰值,可能是夏季降水增多,整体湿度大,原子核凝结半径和结合速率增加导致离子迁移率的降低,当NAI和水分子结合形成负离子团时,其寿命也更长^[14];同时夏季强烈光照和高温条件为金钱松叶片的光电效应提供能量,NAI浓度随着温度和光强的升高而增加^[31-32];其次有研究证明游憩林VOCs总量与NAI浓度同步变化,酯类物质与NAI浓度呈显著正相关^[12],本研究金钱松VOCs中酯类含量较高,对NAI的形成有促进作用。

植物通过释放VOCs来抑制空气中微生物的生长或者是加速附着在颗粒物表面细菌的沉降,最终达到改善空气质量的效果。毛地黄钟柳花(*Penstemon digitalis*)通过释放芳樟醇来保护花组织免受微生物的破坏^[33];樟子松(*Pinus sylvestris*)释放的萜烯类和五角枫(*Acer truncatum*)释放的醛类物质对空气中细菌的生长有明显抑制作用^[34-35],在夏季抑菌作用最强^[34]。本研究发现金钱松林内空气微生物数量显著低于空旷地,夏季数量低于其他两季,可能是金钱松林具有的萜烯类和醛类物质有效抑制了空气微生物的生长,而且夏季金钱松释放的VOCs含量最多,抑菌效果好。有研究发现5种针叶树浸提液对空气微生物有抑制作用,并通过单体实验证明柠檬烯、 β -蒎烯、壬醛、癸醛和苯甲醛是主要抑菌物质^[11]。为了确定金钱松林VOCs中具体抑菌物质,从林内VOCs特有的物质和金钱松释放VOCs中选取含量较高的6种单体进行微生物的抑制实验,3种萜烯中,柠檬烯和石竹烯对细菌有显著抑制作用,在高浓度下能抑制真菌生长;3种醛类对细菌、真菌和放线菌均有显著抑制作用,单体浓度越高,抑制作用越强。因此金钱松释放的VOCs中柠檬烯、石竹烯、辛醛、壬醛和癸醛可能是对林内空气微生物起抑制作用的主要物质。

综上所述,金钱松释放的萜烯类和醛类化合物对空气微生物有抑制作用,同时金钱松释放的VOCs能促进空气离子化,形成大量NAI,夏季林内VOCs和NAI含量均高于其他季节,微生物数量明显减少,可能是VOCs和NAI共同作用产生抑菌效果,从而提高林内空气质量。由此可见,在未来园林配置以及森林城市建设过程中,不仅要考虑植物的观赏性,还要结合其释放的VOCs成分和抑菌性,关注其保健方面的研究。

参考文献 References:

- [1] ŠIMPRAGA M, TAKABAYASHI J, HOLOPAINEN J K. Language of plants: where is the word? [J]. Journal of integrative plant biology, 2016, 58(4): 343-349.
- [2] 邓晓军, 陈晓亚, 杜家纬. 植物挥发性物质及其代谢工程[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 3(1): 11-18.
DENG X J, CHEN X Y, DU J W. Plant volatiles and their metabolic engineering [J]. Journal of plant physiology and molecular biology, 2004, 30(1): 11-18.
- [3] MAO G X, CAO Y B, YANG Y, et al. Additive benefits of twice forest bathing trips in elderly patients with chronic heart failure [J]. Biomedical and environmental sciences, 2018, 31(2): 159-162.

- [4] CHEN J, BI H, YU X, et al. Influence of physiological and environmental factors on the diurnal variation in emissions of biogenic volatile compounds from *Pinus tabulaeformis* [J]. Journal of environmental sciences (China), 2019(7): 102-118.
- [5] ZULAK K G, BOHLMANN J. Terpenoid biosynthesis and specialized vascular cells of conifer defense [J]. Journal of integrative plant biology, 2010, 52(1): 86-97.
- [6] LLUSIA J, PENUELAS J, GUENTHER A, et al. Seasonal variations in terpene emission factors of dominant species in four ecosystems in NE Spain [J]. Atmospheric environment, 2013, 70: 149-158.
- [7] JARDINE K J, ZORZANELLI R F, GIMENEZ B O, et al. Development of a portable leaf photosynthesis and volatile organic compounds emission system [J]. MethodsX, 2020, 7: 100880.
- [8] CHEN S L, ZHANG L P, CAI X M, et al. (E)-Nerolidol is a volatile signal that induces defenses against insects and pathogens in tea plants [J]. Horticulture research, 2020(1): 2152-2166.
- [9] KANG J M, JIN W Y, WANG J F, et al. Antibacterial and anti-biofilm activities of peppermint essential oil against *Staphylococcus aureus* [J]. LWT, 2019, 101: 639-645.
- [10] ARROYO F, MORENO J, DAZA P, et al. Antifungal activity of strawberry fruit volatile compounds against *Colletotrichum acutatum* [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2007, 55(14): 5701-5707.
- [11] GAO Y, JIN Y J, LI H D, et al. Volatile organic compounds and their roles in bacteriostasis in five conifer species [J]. Journal of integrative plant biology, 2005, 47(4): 499-507.
- [12] 郭二果, 王成, 鄧光发, 等. 城市森林生态保健功能表征因子之间的关系 [J]. 生态学杂志, 2013, 32(11): 2893-2903.
- GUO E G, WANG C, QIE G F, et al. Relationships between the factors reflecting ecological health function of urban forests [J]. Chinese journal of ecology, 2013, 32(11): 2893-2903.
- [13] 李陈贞, 甘德欣, 陈晓莹. 不同生态环境条件对空气负离子浓度的影响研究 [J]. 现代农业科学, 2009, 16(5): 174-176.
- LI C Z, GAN D X, CHEN X Y, et al. Different ecological conditions on the concentration of aeronegative ions research [J]. Modern agricultural sciences, 2009, 16(5): 174-176.
- [14] JIANG S Y, MA A, RAMACHANDRAN S. Negative air ions and their effects on human health and air quality improvement [J]. International journal of molecular sciences, 2018, 19(10): 2966-2985.
- [15] 王晨晖, 潘夏莉, 毛忠, 等. 浙江天目山金钱松群落特征及其物种多样性研究 [J]. 中国园艺文摘, 2017, 33(3): 53-59.
- WANG C H, PAN X L, MAO Z, et al. Study on characters and species biodiversity of *Pseudolarix amabilis* (Nelson) Rehd. community in Tianmushan of Zhejiang [J]. Chinese horticultural abstracts, 2017, 33(3): 53-59.
- [16] 张文秀, 张丽, 寇一翻, 等. 中国濒危植物金钱松转录组测序及生物信息学分析 [J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(4): 761-772.
- ZHANG W X, ZHANG L, KOU Y X, et al. Transcriptome sequencing and bioinformatic analysis of *Pseudolarix amabilis*, an endangered gymnosperm in China [J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2019, 41(4): 761-772.
- [17] 高燕会, 樊明亮, 骆文坚, 等. 濒危树种金钱松 RAPD 体系的建立和遗传多样性分析 [J]. 浙江农林大学学报, 2011, 28(5): 815-822.
- GAO Y H, FAN M L, LUO W J, et al. RAPD analysis of genetic diversity for *Pseudolarix amabilis*: a critically endangered plant [J]. Journal of Zhejiang A & F university, 2011, 28(5): 815-822.
- [18] ZHANG H, LI J C, LUO H, et al. Pseudolaric acid B exhibits anti-cancer activity on human hepatocellular carcinoma through inhibition of multiple carcinogenic signaling pathways [J]. Phytomedicine, 2019, 59: 152759.
- [19] ZHAO X T, YU M H, SU S Y, et al. Cycloartane triterpenoids from *Pseudolarix amabilis* and their antiviral activity [J]. Fitoterapia, 2020, 171: 112229.
- [20] 吴楚材, 郑群明, 钟林生. 森林游憩区空气负离子水平的研究 [J]. 林业科学, 2001, 37(5): 75-81.
- WU C C, ZHENG Q M, ZHONG L S. A study of the aeronegative ion concentration in forest recreation area [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2001, 37(5): 75-81.
- [21] 沈萍. 微生物学实验 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1999.
- SHEN P. The guide book for microbiology experiments [M]. Beijing: Higher Education Publishing Company, 1999.
- [22] 谢慧玲, 李树人, 袁秀云, 等. 植物挥发性分泌物对空气微生物杀灭作用的研究 [J]. 河南农业大学学报, 1999, 33(2): 127-133.
- XIE H L, LI S R, YUAN X Y, et al. Study on the disinfection of plant volatile secretion to the microorganism content in the air [J]. Journal of Henan agricultural university, 1999, 33(2): 127-133.

- [23] 阎秀峰,王洋,李一蒙.植物次生代谢及其与环境的关系[J].生态学报,2007,27(6):2554-2562.
YAN X F, WANG Y, LI Y M. Plant secondary metabolism and its response to environment[J]. Acta ecologica Sinica, 2007, 27(6): 2554-2562.
- [24] 花圣卓,陈俊刚,余新晓,等.温带典型森林树种的萜烯类化合物排放及其与环境要素的相关性[J].林业科学,2016,52(11):19-28.
HUA S Z, CHEN J G, YU X X, et al. Correlation between terpenes emission from typical forest tree species and environmental elements in temperate zone[J]. Scientia silvae Sinicae, 2016, 52(11): 19-28.
- [25] AYDIN Y M, YAMAN B, KOCA H, et al. Biogenic volatile organic compound (BVOC) emissions from forested areas in Turkey: determination of specific emission rates for thirty-one tree species[J]. The science of the total environment, 2014, 490: 239-253.
- [26] 胡文杰,高捍东.金钱松叶片挥发油成分的GC-MS分析[J].浙江农林大学学报,2014,31(4):654-657.
HU W J, GAO H D. Chemical components of volatile oil from the leaves of *Pseudolarix amabilis* using GC-MS[J]. Journal of Zhejiang A&F university, 2014, 31(4): 654-657.
- [27] 许燕,李双江,袁相洋,等.北方常见绿化树种BVOCs排放特征及其与光合作用参数的相关性[J].环境科学,2020,41(8):3518-3526.
XU Y, LI S J, YUAN X Y, et al. Emission characteristics of biogenic volatile compounds (BVOCs) from common greening tree species in northern China and their correlations with photosynthetic parameters[J]. Environmental science, 2020, 41(8): 3518-3526.
- [28] VELIKOVA V, PINELLI P, LORETO F. Consequences of inhibition of isoprene synthesis in *Phragmites australis* leaves exposed to elevated temperatures[J]. Agriculture, ecosystems & environment, 2005, 106(2): 209-217.
- [29] HOLOPAINEN J K, GERSHENZON J. Multiple stress factors and the emission of plant VOCs[J]. Trends in plant science, 2010, 15(3): 176-184.
- [30] 冯鹏飞,于新文,张旭.北京地区不同植被类型空气负离子浓度及其影响因素分析[J].生态环境学报,2015,24(5):818-824.
FENG P F, YU X W, ZHANG X. Variations in negative air ion concentrations associated with different vegetation types and influencing factors in Beijing[J]. Ecology and environment sciences, 2015, 24(5): 818-824.
- [31] WANG Y F, NI Z B, WU D, et al. Factors influencing the concentration of negative air ions during the year in forests and urban green spaces of the Dapeng Peninsula in Shenzhen, China[J]. Journal of forestry research, 2020, 31(6): 2537-2547.
- [32] WANG J, LI S H. Changes in negative air ions concentration under different light intensities and development of a model to relate light intensity to directional change[J]. Journal of environmental management, 2009, 90(8): 2746-2754.
- [33] BURDON R C F, JUNKER R R, SCOFIELD D G, et al. Bacteria colonising penstemon digitalis show volatile and tissue-specific responses to a natural concentration range of the floral volatile linalool[J]. Chemoecology, 2018, 28(1): 11-19.
- [34] 郭阿君,王志英,邹丽.樟子松挥发性有机物释放动态及其抑菌作用[J].东北林业大学学报,2014,(4):115-118.
GUO A J, WANG Z Y, ZOU L. Release variation of volatile compounds from *Pinus sylvestris* var. *mongolica* Litv. and their effects on bacteriostasis[J]. Journal of northeast forestry university, 2014, 42(4): 115-118.
- [35] 张风娟,李继泉,徐兴友,等.皂荚和五角枫挥发性物质组成及其对空气微生物的抑制作用[J].园艺学报 2007,34(4):973-978.
ZHANG F J, LI J Q, XU X Y, et al. The volatiles of two greening tree species and the antimicrobial activity[J]. Acta horticulturae Sinica, 2007, 34(4): 973-978.