

红树林单宁的研究进展

Studies on tannins of mangroves-a review

林益明, 向平, 林鹏

(厦门大学 生命科学学院, 福建 厦门 361005)

中图分类号: Q948.885.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2005)03-0059-05

1 植物单宁的概念及性质

植物单宁 (vegetable tannin), 又称植物多酚 (plant polyphenol) 是一类广泛存在于植物体内的多元酚化合物, 在维管植物中的含量仅次于纤维素、半纤维素和木质素, 主要存在于植物的皮、根、叶、果中, 含量可达 20%^[1, 2]。作为皮革的一种传统鞣剂, 单宁一般指的是相对分子质量为 500~3 000 的多酚^[3, 4]。Haslam^[5]提出了植物多酚这一术语, 它包括了单宁及相关化合物 (如单宁的前体化合物和单宁的聚合物)。根据化学结构的不同, 植物多酚分为水解单宁 (鞣酸酯类多酚) 和缩合单宁 (黄烷醇类多酚或原花色素)。前者主要是鞣酸及其衍生物与多元醇以酯键或醚键形成, 可细分为鞣单宁和鞣花单宁两类; 后者主要是羟基黄烷醇类单体的缩合物, 单体间以 C—C 键相连^[6]; 缩合单宁和水解单宁之间的这种结构的差异引起了这 2 种化合物在植物体内的功能的不同^[7]。

在被子植物中, 单宁具有潜在的提供源信息的潜力, 这与木质素和角质是互补的^[8]。例如单子叶植物不能被木质素的结构所分开, 仅仅能被角质略微分开, 一种缩合单宁的单体 (*ent-epicatechin*), 只特异地存在单子叶植物中的, 并且含原天竺葵的聚合物在单子叶植物中的分布比在双子叶植物中的分布要更普遍^[9]。相反, 水解单宁仅仅在双子叶植物中发现^[10, 11], 这易与单子叶植物相区别; 单宁相关的化合物也能用来区分被子植物和裸子植物。如黄烷醇主要是在被子植物中发现的。除此以外, 缩合单宁的二、三聚合物在被子植物中的出现包含了更多种类依赖的分类学信息^[5]。

在维管束植物含量最丰富的组分中, 单宁是

继纤维素、半纤维素和木质素之后, 排第 4。在快速循环中的叶 (包括针叶) 中, 单宁的含量高达 20%^[1, 12]。因而, 除作为潜在的生物标记物外, 单宁还大量地存在于有机物的特性, 包括颜色、收敛性和反应性。单宁与蛋白质结合的能力称之为收敛性或涩性。单宁与生物碱和多糖也可发生与单宁-蛋白质结合相似的复合反应。收敛性是单宁多种生理活性的基础。如多种红树植物的民间药用, 很大程度上与红树植物单宁含量较高有关^[13]。Miyamoto 分析了单宁的结构及其抗肿瘤之间的关系, 表明单宁的抗肿瘤活性与其收敛性相关。

植物单宁的多元酚结构赋予其一系列独特的化学性质。单宁与蛋白质的结合是其最重要的特征。在过去, 对单宁研究的兴趣来源于单宁的反应过程中与蛋白氮结合的能力。从地球化学循环角度, 单宁对氮的潜在结合与对氮的固定是十分有意义和有趣的。例如, 在红树林沼泽, 在沉积物和浸没的叶子中氮的固定机制 (外生氮的结合到有机物中) 还是一个未被了解的过程^[2], 单宁的研究也许会对这个关键的过程提供一个线索。

2 植物单宁测定的方法

在植物多酚的应用及相关领域, 多酚的含量或纯度测定是非常重要的也是最常遇到的问题^[14, 15]。例如, 植物中鞣剂的单宁含量决定了其使用质量;

收稿日期: 2003-06-09; 修回日期: 2003-08-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40376026)

作者简介: 林益明 (1967-), 男, 博士, 教授, 主要从事植物生态学及红树林湿地生态学研究, E-mail: linym@xmu.edu.cn

而高粱、豆类中多酚的含量影响着其营养价值；木材、农作物中多酚含量与其抗虫、抗病菌有关，在食品中有时要求一定量的多酚以保持恰当的风味。所有这些关系到植物多酚含量的测定，因此如何快速、简便、准确地测定出各类样品中多酚的含量更是急需解决的问题^[16]。

由于植物多酚与黄酮类、蒽醌类、简单酚和木质素等在植物体内共存并且性质相近，其本身更是一类结构和性质都极为相似的混合物，并且多酚性质较为活泼，很容易发生缩合或者降解，因此对其进行精确定量比较困难，特别是分离提纯的方法对其进行“绝对”的定量测定是不可能的。目前虽然有数十种多酚的定量方法，但这些方法都是相对的、有局限性的，几乎没有一种可以通用的测定方法。最常用的几种方法为：Folin-Denis (FD)法、Prussian Blue (PB)法、香草醛法、正丁醇-盐酸法、Bovine Serum Albumin (BSA)沉淀法^[4, 15, 17]。

测定植物样品中的总酚含量，可采用FD法（或改进的FC法）和PB法^[18]；如果测定缩合单宁含量，可采用香草醛法和正丁醇-盐酸法^[14, 19]；香草醛法和正丁醇法联合起来，可用于测定缩合单宁的聚合度，在不能用复杂的波谱技术测定的情况下，可用这种方法粗略确定缩合单宁的分子质量，它特别适用于比较植物不同生长期缩合单宁的含量；当测定由多酚涩味性所带来的生物活性及相关特性时，可采用BSA沉淀法；当需要着重了解样品中具有捕捉自由基、络合金属离子等生物活性的多酚含量时，可相应采取还原法或络合法等测定方法对多酚进行定量^[4, 6, 15-17, 20]。

在实际测定中，不同方法的测定结果通常具有较大的差异。经常采取几种不同的方法对同一样品进行测定，从而对样品所含的总酚、特定结构的酚、单宁与非单宁酚含量得到一个综合的表征和认识。对于特定的体系，可以将总酚量近似看成单宁量，尤其在比较同一类样品时较为合适^[4]。

植物多酚含量的测定中最为关键的一步是多酚的提取。提取时样品的状况和提取条件都可能导致多酚量的很大变化。植物原料的贮存、干燥、粉碎，提取溶剂、温度都可能改变多酚的化学结构和提取效率，从而改变了多酚的化学、物理化学和生物活性，使测定值与真实情况有很大出入^[21, 22]。当测定植物原料中多酚和单宁的含量时，贮存通常使提取率降低；因此尽可能采取新鲜材料，首先应采取短时间（2~5 min.）的水蒸气加热，使样品中多

酚氧化酶PPO等酶丧失活性，避免对原料成分的改变，否则应对样品进行干燥后才能短时间的贮存，最好是冷冻干燥，避免高温。样品提取前需要粉碎成粉末，最适合的尺寸在100目左右。水虽然是植物多酚的良好溶剂，但并非最适合多酚的提取，有机溶剂和水的复合体系（有机溶剂占50%~70%）最适合多酚的提取，有机溶剂的提取顺序为：丙醇<乙醇<甲醇<丙酮<四氢呋喃。其中应用最多的是丙酮-水体系^[3, 4, 15]。

3 红树植物单宁含量、组成及其分布

目前，我国红树植物的单宁含量尚缺乏全面系统的测定。现有的资料主要是从鞣料开发利用的角度对我国主要的红树植物树皮的单宁含量所作的测定^[23]。

红树植物的单宁含量随植物种类的不同而不同，真红树的树皮的单宁含量，通常在1%~30%之间，有开发利用的价值。但白骨壤除外，单宁含量仅0.3%；红树植物单宁的含量与植物种类、树龄、产地、生态环境的关系，以及在植物体内不同部位的分布规律，都还无系统的分析研究。

Hsu等^[24]通过对来自秋茄树皮中的缩合单宁的酸催化苜硫醇硫解，应用色谱和¹H-NMR、¹³C-NMR对秋茄树皮中的缩合单宁（包括单体）进行了结构的研究，不仅发现有原天竺葵定（propelargonidin）二聚物、原花青定（procyanidin）三聚物这些与其他物种共有的原花色素（缩合单宁），还发现了2种新的原花色素二聚物：秋茄素（kandelins）A-1、A-2，和4个三聚物：秋茄素B-1、B-2、B-3、B-4，他们聚合链上最上端是一个苯丙基取代的黄烷-3-醇（金鸡纳因）。以苜硫醇-醋酸对秋茄素B-1进行完全硫解时，生成表儿茶素、儿茶素-4 β -苜硫醇及金鸡纳因I_a-4 β -苜硫醇。金鸡纳因（cinchonans）含于红金鸡纳树皮内^[2]。对秋茄素B-1进行局部硫解时，在反应产物中能找到原花青定B-2及金鸡纳因II_a-4 β -苜硫醇。在秋茄树皮中含有的黄烷三醇有：阿福豆素（afzelechin）、儿茶素（catechin）、表儿茶素（epicatechin）和醌儿茶素（galocatechin）。Hernes等^[2]对采自巴哈马群岛的大红树叶单宁进行酸催化降解，然后用GS-NMR对其进行分析，发现组成大红树叶单宁的黄烷醇单元有：儿茶素、表儿茶素、醌儿茶素、阿福豆素、表阿福豆素、表醌儿茶素和醌酸。在该文献中没有提到在大红树叶的单宁的组成单元

中有金鸡纳因。

4 单宁与红树植物的抗盐适应

红树林是分布在热带亚热带海岸潮间带的木本植物群落。单宁对红树植物的重要性表现在其所处的特殊的物理环境、化学环境和生物环境等各方面都有生态适应意义^[25, 26]。在红树林海滩, 低潮带的盐度可达 20~35, 即使在高潮带, 一般也有 5~15。红树林采取拒盐性、泌盐性和聚盐性 3 种机制适应高盐度环境, 其中以依靠单宁的聚盐性抗盐机制是最重要的机制^[25]。红树林区共生着许多鸟类、昆虫; 潮间带分布着许多甲壳动物、软体动物; 海水中存在许多微生物。在这样的环境中, 较高的单宁含量为红树植物提供了自我保护的能力。在红树植物与外界接触的界面—树皮和果皮往往单宁含量最高, 形成一个有效的保护层^①。由于单宁有涩味, 避免或减轻了动物的直接啃食, 红树植物白骨壤易受病虫害, 可能与其单宁含量较低有关。同时, 单宁有抑制微生物活动、杀灭病原菌的效能, 增强了红树植物的抗病能力和抗海水腐蚀的能力。

在红树植物繁殖体的发育过程中, 单宁同样起重要的作用。未成熟的果实, 如海桑、老鼠簕的果实, 单宁含量高, 避免了动物的啃食。特别是显胎生植物, 其胚轴的外皮单宁含量很高, 减轻了鸟类的啄食和昆虫的危害。更重要的是, 在种子传播过程中, 胚轴能漂洋过海行程数百海里, 存活数月, 正是富含单宁使其不受海水腐蚀和海洋动物的啃食, 保证种质得以广泛传播。

5 红树林单宁的地球化学循环

红树林具有高归还率和高分解率的特性, 凋落物的分解过程是红树林生态系统的物流和能流的关键环节, 红树林凋落物富含单宁, 单宁的降解无疑对其分解过程, 进而对生态系统的物流和能流产生影响^[25]。红树植物凋落叶进入水生环境的 N 固定是被经常注意, 但还未被人们所了解的现象。单宁与 N 的相互关系 (特别是与基本氨基酸的关系) 是研究 N 固定的一个关键领域, 通过单宁的分子结构、氨基酸的数据和 ¹³C-NMR 的数据, 提供凋落物腐殖化过程 N 固定的分子水平的研究证据^[2]。

当维管束植物材料在水环境的分解过程中, 研究者一直认为最初的淋溶阶段伴随着 N 含量的减少, 而研究表明, 淋溶过程伴随着 N 含量绝对增高^[1, 27, 28], N 增高来源的困惑在以下水环境中

进行探究, 包括海岸盐沼^[29~33]、红树林^[1, 31~34]、溪^[35]、河^[28, 36]。绝大多数调查者都推崇微生物作用的 N 固定, 而直接的分子或同位素证据却没有。许多研究表明, 分解物中与微生物生物量直接相关的 N 仅占总 N 的小部分。N 在分解残留物中存在的主要形式有植物蛋白、微生物蛋白和植物成分与微生物成分结合而成的复杂含 N 缩合物^[37]。Rice^[31], Rice 等^[33], Poutanen 等^[38], Melillo 等^[28], Harrison^[37] 都认为, 凋落物分解中 N 含量的提高是一种生物物理化学过程, 微生物产生胞外酶, 这些酶引起诸如多酚化合物和木质纤维等大分子的降解, 降解后的部分产物 (如“反应性酚类物质”) 与含 N 化合物 (主要来自微生物) 缩合, 这种降解—缩合过程贯穿于整个分解期, 最终形成富含 N、稳定而不易被分解的大分子化合物, 从而导致分解残留物中 N 含量的相对量或绝对量的提高。Bradley 等^[39] 研究认为, 缩合单宁通过结合和隐蔽有机 N 而减少了矿化 N 的非生物循环。Odum 等曾经研究发现, 陆地、淡水和河口维管植物分解叶总 N 中高达 30% 的 N 为非蛋白 N, 并认为这些 N 以难分解、稳定的几丁质或腐殖酸类化合物形式存在。Bradley 等^[39] 研究表明缩合单宁对腐殖质中 N 循环有负效应。对红树林湿地凋落物分解过程中 N 含量提高机理的探讨, 将成为进一步开展红树林凋落物分解研究的努力方向。

红树林湿地代表了一种重要的连接陆地和海洋的生态系统。掉落红树叶是一种重要的对于河口食物网提供碳、氮和其他营养的重要的来源。应用液态的 ¹³C-NMR (碳 13-核磁共振) 和 Folin—Denis 分析, Benner 等^[1] 对大红树 (*Rhizophora mangle*) 研究表明, 大量的大红树叶的碳是存在于单宁中。

Hernes 等^[2] 认为, 关于单宁的生物地球化学循环的进展就好像 30 年前对木质素的研究一样。它们的相似性很大的: 都是酚类、都是聚合物、都是维管束植物所特有; 并且都已经对天然产物进行了很好的研究。但是它们的差异也是十分明显的: 木质素的聚合物以任意方式高度分支, 而单宁大分子则通常对应于它们的功能, 靠着一些已经推测的锁—钥匙的机制高度地结构化^[7]; 木质素在木材组织中占主导, 而单宁则通常在叶片 (包括针叶) 里面含量丰富; 而且, 木质素是相当稳定的, 而单宁趋向于许多反应, 这后一点是非常重要的: 单宁在某种程度上可

① 林益明等, 福建九龙江口红树植物单宁的提取条件及其含量测定 (待发表)

以提供一个潜在的去研究有机物质反应过程, 而这是木质素, 即结构性多糖做不到的^[30]。

6 红树林单宁的化感作用

单宁还是一种重要化感作用物质, 化感作用对红树植物群落的种类组成以及群落演变都具有重要的生态意义。单宁是一种能与蛋白质和其他化合物形成交联能力的酚化合物。许多森林植物都产生叶单宁, 这种单宁凌乱地渗出到森林地面上, 进而影响凋落物的降解率、腐殖质的形成、N的循环和最终的植物营养。Schimel 等^[40]从 *Populus balsamifera* L. 中分离出次生代谢物质 (小分子质量的酚和单宁), 并且发现小分子质量的酚促进土壤的呼吸而单宁却抑制土壤的呼吸。一些陆地森林研究表明, *Kalmia* 属植物可能通过产生单宁而影响腐殖质中营养的循环而引起云杉生长的非生物性阻碍^[41]; *Kalmia* 属植物控制的地域是引起松类植物幼苗生长抑制的原因^[39, 42]。

在环境胁迫下, 植物通过释放化感作用物质的方式抑制周围其它植物的生长, 从而增强其对养分、水分的竞争力; 另一方面, 某些化感物质 (如酚类、酸类物质) 有助于吸收 N、P 以及金属离子等营养成分^[43, 44], 提高抗逆性等生理作用 (如多胺的增加, 能显著提高植物的抗寒力), 从而增加植物在逆境条件下的相对竞争力, 对其他植物产生间接的抑制作用, 后者更可能是环境胁迫条件下, 植物化感物质增多, 化感作用增强的主要原因。

7 结语

实际上, 由于单宁的测定具有分析上的挑战性, 大量的关于单宁的文献集中在天然产物的单宁分子结构研究, 而关于单宁在红树植物的代谢过程及其在沉积物中的地球化学循环研究是红树林研究的前沿领域, 国际上正开始相关研究。开展红树林此领域的研究不仅具有重要的理论意义, 而且对红树林区的渔业和水产养殖业也具有特别重要的实践价值。

参考文献:

- [1] Benner R, Weliky K, Hedges J I. Early diagenesis of mangrove leaves in a tropical estuary: Molecular-level analyses of natural sugars and lignin-derived phenols [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1990, 54: 1991-2001.
- [2] Hernes P J, Benner R, Cowie G L, et al. Tannin diagenesis in mangrove leaves from a tropical estuary: A novel molecular approach[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2001, 65:3 109-3 122.
- [3] 孙达旺. 植物的单宁化学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1992.
- [4] 石碧, 狄莹. 植物多酚[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [5] Haslam E. Plant Polyphenols-Vegetable Tannins Revisited [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1989.
- [6] Hemingway R W, Karchesy J J. Chemistry and Significance of Condensed Tannins[M]. New York and London: Plenum Press, 1989.
- [7] Zucker W V. Tannins: Does structure determine function? An ecological perspective[J]. *Am Nat*, 1983, 121:335-365.
- [8] Goni M A, Hedges J I. Potential applications of cutin-derived CuO reaction products for discriminating vascular plant sources in natural environments[J]. *Geochim Cosmochim Acta*, 1990, 54:3 073-3 081.
- [9] Ellis C J, Foo L Y, Porter L J. Enantiomerism: A characteristic of the proanthocyanidin chemistry of the monocotyle-donae[J]. *Phytochemistry*, 1983, 22:483-487.
- [10] Okuda T, Yoshida T, Hatano T. Hydrolyzable tannins and related polyphenols[J]. *Prog Ch Org Nat Prod*, 1995, 66:1-117.
- [11] Salminen J P, Ossipov V, Haukioja E, et al. Seasonal variation in the content of hydrolysable tannins in leaves of *Betula pubescens*[J]. *Phytochemistry*, 2001, 57:15-22.
- [12] Hedges J I, Weliky K. Diagenesis of conifer needles in a coastal marine environment[J]. *Geochim Cosmochim Acta*, 1989, 53:2 659-2 673.
- [13] 林鹏, 傅勤. 中国红树林环境生态及经济利用[M]. 北京: 高等教育出版社, 1995.
- [14] Waterman P G, Mole S. Analysis of phenolic plant metabolites[M]. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994.
- [15] Mueller-Harvey I. Analysis of hydrolysable tannins [J]. *Animal Science and Technology*, 2001, 91: 3-20.
- [16] Hernes P J, Hedges J I. Tannin geochemistry of natural systems: Method development and application. Ph.D. thesis[M]. Seattle, WA: University of Washington, 1999.
- [17] Schofield P, Mbugua D M, Pell A N. Analysis of condensed tannins: a review[J]. *Animal Science and Technology*, 2001, 91:21-40.
- [18] Hyder P W, Fredrickson E L, Estell R E, et al. Distribution and concentration of total phenolics, condensed tannins, and nordihydroguaiaretic acid (NDGA) in creosotebush (*Larrea tridentata*) [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2002,30: 905-912.
- [19] Giner-Chavez B, Van Soest P J, Robertson J B, et al. A method for isolating condensed tannins from crude

- plant extracts with trivalent ytterbium[J]. **J Sci. Food Agric**, 1997, 74:359-368.
- [20] Makkar H P S, Gamble G, Becker K. Limitation of the butanol-hydrochloric acid-iron assay for bound condensed tannins[J]. **Food Chemistry**, 1999, 66: 129-133.
- [21] Palmer B, Jones R J, Wina E, *et al.* The effect of sample drying conditions on estimates of condensed tannin and fibre content, dry matter digestibility, nitrogen digestibility and PEG binding of *Calliandra calothyrsus*[J]. **Animal Feed Science and Technology**, 2000, 87: 29-40.
- [23] Chavan U D, Shahidi F, Naczk M. Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents[J]. **Food Chemistry**, 2001, 75: 509-512.
- [24] 王宗训. 中国资源植物利用手册[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1989.
- [25] Hsu F L, Nonaka G I, Nishioka I. Tannins and related compounds. XXXI. Isolation and characterization of proanthocyanidins in *Kandelia candel* (L) [J]. **Druce Chem Pharm Bull**, 1985, 33: 3 142-3 152.
- [26] Lin P, Fu Q. Environmental Ecology and Economic Utilization of Mangroves in China[R]. China Higher Education Press Beijing and Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2000.
- [27] Kovacs J M. Assessing mangrove use at the local scale [J]. **Landscape and Urban Planning**, 1999, 43: 201-208.
- [28] Fell J W, Master I M. The association and potential role of fungi in mangrove detrital systems[J]. **Bot Mar**, 1980, 23: 257-263.
- [29] Melillo J M, Naiman R J, Aber J D, *et al.* Factors controlling mass loss and nitrogen dynamics of plant litter decaying in northern Streams[J]. **Bull Mar Sci**, 1984, 35: 341-356.
- [30] White D S, Howes B L. Nitrogen incorporation into decomposing litter of *Spartina alterniflora*[J]. **Limnol Oceanogr**, 1994, 39: 133-140.
- [31] Benner R, Fogel M L, Sprague E K. Diagenesis of belowground biomass of *Spartina alterniflora* in salt-marsh sediments[J]. **Limnol Oceanogr**, 1991, 36: 1 358-1 374.
- [32] Rice D L. The detritus nitrogen problem: new observations and perspectives from organic geochemistry [J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1982, 9: 153-162.
- [33] Rice D L, Tenore K R. Dynamics of carbon and nitrogen during the decomposition of detritus derived from estuarine macrophytes[J]. **Estuar Coast Shelf**, 1981, 13: 681-690.
- [34] Rice D L, Hanson R B. A kinetic model for detritus nitrogen: Role of the associated bacteria in nitrogen accumulation[J]. **Bull Mar Sci**, 1984, 35: 326-340.
- [35] Zieman J C, Macko S A, Mills A L. Role of sea grasses and mangroves in estuarine food webs: Temporal and spatial changes in stable isotope composition and amino acid content during decomposition[J]. **Bull Mar Sci**, 1984, 35: 380-392.
- [36] Qualls R G. The role leaf litter nitrogen immobilization in the nitrogen budget of a swamp stream[J]. **J Environ Qual**, 1984, 13: 640-644.
- [37] Bowden W B. Nitrification, nitrate reduction, and nitrogen immobilization in a tidal freshwater marsh sediment [J]. **Ecology**, 1986, 67: 88-99.
- [38] Harrison P G. Detrital processing in seagrass systems: a review of factors affecting decay rates, remineralization and detritivory[J]. **Aquat Bot**, 1989, 23: 263-288.
- [39] Poutanen E L, Morris R J. A study of the formation of high molecular weight compounds during the decomposition of a field diatom population[J]. **Estuar Coast Shelf Sci**, 1983, 17: 189-196.
- [40] Bradley R L, Titus B D, Preston C P. Changes to mineral N cycling and microbial communities in black spruce humus after additions of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and condensed tannins extracted from *Kalmia angustifolia* and balsam fir [J]. **Soil Biology & Biochemistry**, 2000, 32: 1 227-1 240.
- [41] Schimel J P, Van Cleve K, Cates R G, *et al.* Effects of balsam poplar (*Populus balsamifera*) . tannins and low molecular weight phenolics on microbial activity in taiga floodplain soil: implications for changes in N cycling during succession[J]. **Canadian Journal of Botany**, 1996, 74: 84-90.
- [42] Kuiters A T. Role of phenolic substances from decomposing forest litter in plant-soil interactions[J]. **Acta Botanica Neerlandica**, 1990, 39: 329-348.
- [43] Bradley R L, Titus B D, Fyles J W. Nitrogen acquisition and competitive ability of *Kalmia angustifolia* L., paper birch (*Betula papyrifera* Marsh) and black spruce (*Picea mariana* (Mill.)B.S.P.) Seedlings grown on different humus forms[J]. **Plant and Soil**, 1997, 195: 209-220.
- [44] Chapin F S III. New cog in the nitrogen cycle[J]. **Nature**, 1995, 377: 199-200.
- [45] Northup R R, Zengshou Y, Daligren R A, *et al.* Polyphenol control of nitrogen release from pine litter[J]. **Nature**, 1995, 377: 227-229.

(本文编辑: 张培新)