植物营养与肥料学报 2006,12(6): 845 - 849
Plant Nutrition and Fertilizer Science

酚酸化合物对土壤酶活性和土壤养分的影响

吕卫光[1,2], 沈其荣[1*], 余廷园[2], 诸海涛[2]
(1 南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏南京 210095;
2 上海市农业科学院环境科学研究所,上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201106)

摘要: 研究了酚酸化合物对连作西瓜土壤酶活性和土壤养分的影响。结果表明,添加外源酚酸入土刺激了土壤酶活性,土壤过氧化氢酶活性、脲酶活性均比对照提高,土壤呼吸强度增加,施入酚酸化合物 2 周时,500 mg/kg 浓度的苯丙烯酸和对羟基苯甲酸土壤呼吸强度分别比同期对照增加了 22.5% 和 20.0%;处理 4 周时,750 mg/kg 浓度的苯丙烯酸和对羟基苯甲酸脲酶活性分别比对照提高了 34.4% 和 29.0%。苯丙烯酸和对羟基苯甲酸类酚酸化合物降低了土壤碱解氮、速效磷、速效钾含量,有机质含量也降低,250 mg/kg 苯丙烯酸处理 2 周时,碱解氮、速效钾、速效磷和有机质含量分别比对照降低了 9.6%,18.4%,20.7% 和 11.0%。

关键词: 酚酸;连作;西瓜;土壤酶;土壤养分
中图分类号: S154.1　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1008-505X (2006)06-0845-05

The effect of added phenolic acids on soil enzyme activities and nutrients

LÜ Wei-guang[1,2], SHEN Qi-rong[1*], YU Ting-yuan[1], ZHU Hai-tao[1]
(*1 College of Resour. and Environ. Sci., Nanjing Agric. Univ., Nanjing 210095, China;*
2 Environ. Sci. Res. Inst., Shanghai AAS, Shanghai Key Lab. of Protected Hort. Tech., Shanghai 201106, China)

Abstract: Pot experiments were carried out to study the effects of added phenolic acids on soil enzyme activities and nutrients in watermelon continuous cropping soil. The results obtained are listed as follows. Hydrogen peroxidase, urease activities and respiration of the soil added with phenolic acids were higher than those of control. Soil respiration, for example, was increased by 22.5% and 20.0% two weeks after the addition of cinnamic acid and P-hydroxybenzoic acid (500 mg/kg) and urease activities were increased by 34.4% and 29.0% four weeks after the addition of the two phenolic acids (750 mg/kg). Soil available N, P, K and organic matter were decreased by the addition of the two phenolic acids. Thus, they were decreased by 9.60%, 18.4%, 20.7% and 11.0% with the addition of cinnamic acid (250 mg/kg), respectively.

Key words: phenolic acids; continuous cropping; watermelon; soil enzyme; soil nutrients

酚酸化合物是土壤中存在的一类重要的有机物质,目前研究认为,酚酸类物质是使作物产生连作障碍的重要因素之一。酚酸化合物通过残体分解、根系分泌等途径进入土壤,影响作物生长[1-7]。Partrick[8]指出,土壤中作物残体的腐解产生对作物生长发育具有抑制作用的酚酸类物质。马永清[9]、马瑞霞[10]等报道,小麦残体对玉米、小麦的生长有抑制作用,并采用 GS-MC 从中分离出戊酸、正己酸等酚酸类化合物。喻景权[11]则从豌豆根系分泌物中鉴定出苯甲酸、对羟基苯甲酸、香草酸、香豆酸等酚酸化合物,并证实其对豌豆幼苗生长产生抑制作用。Yu[12-13]从黄瓜残留根系分泌物的培养液中分离出苯甲酸、苯丙烯酸、阿魏酸、苯乙酸和咖啡酸等。杨广超实验证明[14],西瓜根茎叶残体水浸提液存在抑制西瓜种子发芽和生长的抑制物质,并从根茎叶中分离和鉴定出苯丙烯酸和对羟基苯甲酸等化合物。

收稿日期: 2005-07-06　　**修改稿收到日期**: 2006-02-16
基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字 2001-5-15);农业部重大国际合作项目资助。
作者简介: 吕卫光(1972—),男,山东鄄城人,副研究员,在职博士研究生,主要从事设施土壤障碍机理与防治。* 通讯作者

这些化合物抑制了西瓜生长,降低了西瓜根系活性和改变了细胞超微结构。但对于酚酸化合物对连作西瓜土壤酶活性影响研究报道不多,为进一步揭示西瓜连作障碍和自毒作用的机制,本试验通过采用外加酚酸入土研究酚酸化合物对西瓜生长及土壤酶活性和土壤养分的影响,为证明自毒作用是西瓜连作障碍因素提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

盆栽试验用土壤为黄泥土,采自上海市南汇区西瓜田。其基础肥力碱解氮、速效磷、速效钾含量分别为 96.8、45.4 和 400 mg/kg,有机质含量为 21.6 g/kg,pH 7.94(水:土为 5:1)。供试的酚酸化合物为对羟基苯甲酸,苯丙烯酸;西瓜品种为早佳 8424。

两种酚酸浓度分别按 0、250、500、750 mg/kg 浓度加入土壤中混匀,每盆装土 600 g,6 次重复。将西瓜种子用 1%次氯酸钠消毒 30 min,洗净后用水浸泡种子 6 h,然后将种子捞出放入 28℃的恒温箱内催芽,待种子露白后挑选发芽一致的种子直接播于盆钵土壤中,每钵播 2 粒种子。土壤采样以处理第 2 天采样计时,每 2 周采样一次,日常管理。

1.2 测定项目与方法

土壤过氧化氢酶测定采用容量法[15]。取 2 g 过 1 mm 的风干土样,置于 100 mL 的塑料管中,注入 40 mL 蒸馏水和 5 mL 0.3% H_2O_2,另设对照,将管塞紧,振荡 20 min 后,注入 5 mL 3 mol/L H_2SO_4 以终止反应,将瓶中内容物过滤,用 0.1 mol/L $KMnO_4$ 溶液滴定至微红色,土壤过氧化氢酶活性以每克土壤消耗 0.1 mol/L $KMnO_4$ 的毫升数(对照与试验测定的差)表示。

脲酶活性测定采用扩散法[15]。取 2 g 过 1 mm 的风干土样于扩散皿外室,加 pH 6.7 磷酸盐缓冲液 3 mL 和 2 滴甲苯,在扩散皿内室加含有 2%硼酸的定氮指示剂 2 mL 以吸收外室产生的 NH_3,然后在皿边缘涂上碱性甘油,再向皿的外室土壤中加 5 mL 10%尿素溶液,盖严玻璃片后转动扩散皿,放在 37℃恒温箱中培养 24 h,用标准硫酸滴定皿中硼酸液至紫红色终点,以每千克土壤中消耗 NH_3-N 的毫克数表示。

土壤呼吸强度测定采用直接吸收法[16]。称取 20 g 土壤放入密闭瓶中,加入 2 mL 20%的葡萄糖溶液,同时放入盛有 20 mL 0.1 mol/L 的 NaOH 小烧杯,密封后放入 25 ℃的恒温箱内培养 48 h,用标准硫酸滴定。

土壤理化性状测定参照文献[17]。

2 结果与分析

2.1 酚酸化合物对土壤过氧化氢酶活性的影响

过氧化氢酶是重要的氧化还原酶,其可酶促作物营养代谢过程中产生的过氧化氢的分解,从而防止过氧化氢对生物体的毒害作用,过氧化氢酶活性大小也反映了土壤生态环境的胁迫程度[18-20]。结果(表 1)显示,连作土壤中施加两种外源酚酸化合物均刺激了土壤中过氧化氢酶活性,处理初期和 2 周后,过氧化氢酶活性以 500 mg/kg 浓度处理效果显著,而高浓度 750 mg/ kg 处理时酶活性比 500 mg/kg 处理略低。高浓度酚酸加入土壤后与 500 mg/kg 浓度处理相比,对过氧化氢酶活性反而有了一定的抑制作用,这可以从处理 4 周过氧化氢酶活性的变化看出。经过一段时间处理后,土壤中的酚酸化合物一部分被分解、固定或转化,以使土壤中酚酸浓度降低,所以处理 4 周时酶活性高浓度酚酸处理过氧化氢酶活性比低浓度处理高。

2.2 酚酸化合物对土壤脲酶活性的影响

脲酶是一种酰胺酶,能促进尿素和有机物分子中碳氢键的水解。由于土壤中存在着能生成脲酶的微生物,因此,往土壤中添加能促进微生物活动的有机物质能使土壤中的脲酶活性增强[21]。表 1 看出,与对照相比,施入酚酸后土壤脲酶活性都有不同程度的增加,处理 4 周时,750 mg/kg 浓度的苯丙烯酸和对羟基苯甲酸脲酶活性分别比对照提高了 34.4%和 29.0%,但以苯丙烯酸对土壤脲酶的刺激性最强。

2.3 酚酸化合物对土壤呼吸强度的影响

表 1 还看出,土壤施入酚酸后土壤呼吸强度增加。施入酚酸化合物 2 周时,500 mg/kg 浓度的苯丙烯酸和对羟基苯甲酸土壤呼吸强度分别比同期对照增加了 22.5%和 20.0%。处理 4 周时,分别比对照增加了 16.9%和 15.7%。酚酸是土壤中普遍存在的一类有机化合物,它同样在土壤中进行着分解和转化。添加酚酸化合物后刺激了土壤微生物活性,因为大量新鲜有机物介入,增加了能源物质,促使土壤中微生物大量繁殖。

表1　酚酸化合物对土壤过氧化氢酶、脲酶活性和土壤呼吸强度的影响

Table 1　Effects of phenolic acids on soil hydrogen peroxidase, urease activities and soil respiratory intensity

采样日期 Sampling date	CK	苯丙烯酸 Cinnamic acid(mg/kg)			对羟基苯甲酸 P-hydroxybenzoic acid(mg/kg)		
		250	500	750	250	500	750
过氧化氢酶 Hydrogen peroxidase(0.1mol/L $KMnO_4$ mL/g)							
2005.04.21	9.02 b	9.90 a	10.12 a	10.05 a	9.63 ab	10.02 a	9.98 a
2005.05.04	9.06 b	9.17 ab	9.67 a	9.53 ab	9.12 b	9.40 b	9.45 b
2005.05.18	8.90 c	9.07 bc	9.30 ab	9.42 a	8.62 d	9.05 bc	9.45 a
脲酶 Urease(NH_3-N mg/kg)							
2005.04.21	97.21 d	101.20 cd	109.43 b	116.82 a	98.32 d	118.82 a	104.50 bc
2005.05.04	87.89 d	111.70 b	112.77 b	127.86 a	100.36 c	101.21 c	110.10 b
2005.05.18	101.25 f	123.27 cd	125.80 c	136.10 a	106.95 e	119.32 d	130.57 b
呼吸强度 Respiratory intensity (CO_2 mg/g)							
2005.04.21	0.77 d	0.90 bc	0.98 a	0.92 b	0.85 c	0.93 ab	0.90 bc
2005.05.04	0.80 c	0.92 b	0.98 a	0.98 a	0.92 b	0.96 ab	0.92 b
2005.05.18	0.83 d	0.90 c	0.97 a	0.94 b	0.93 b	0.96 a	0.97 a

注(Note)：每行中不同字母表示差异达5%显著水平 Different letters in the same column indicate significant at 5% level.

2.4　酚酸化合物对土壤养分的影响

表2结果看出，苯丙烯酸和对羟基苯甲酸对土壤中养分含量均产生一定影响，它们降低了土壤中碱解氮、速效磷、速效钾含量，也降低了土壤有机质含量。苯丙烯酸和对羟基苯甲酸对土壤养分的影响尤以低浓度处理时养分降低程度最为明显，250 mg/kg苯丙烯酸处理2周时，碱解氮、速效钾、速效磷和有机质含量分别比对照降低了9.6%，18.4%，20.7%，11.0%；250 mg/kg对羟基苯甲酸处理分别比对照降低了9.0%，15.8%，16.9%，5.0%。处理4周时，酚酸处理土壤的有效养分和有机质含量与对照相差不大，其原因可能是土壤微生物已将酚酸分解或转化，或被土壤固定，使其毒性降低。施加苯丙烯酸、对羟基苯甲酸类化合物对土壤pH影响不明显。

表2　酚酸化合物对土壤养分的影响

Table 2　Effect of phenolic acids on soil nutrients

处理 Treatments (mg/kg)		采样时期 Sampling date														
		2005.04.21					2005.05.04					2005.05.18				
		pH	OM (g/kg)	AN (mg/kg)	AP (mg/kg)	AK (mg/kg)	pH	OM (g/kg)	AN (mg/kg)	AP (mg/kg)	AK (mg/kg)	pH	OM (g/kg)	AN (mg/kg)	AP (mg/kg)	AK (mg/kg)
CK	0	7.9	21.6	96.8a	45.4a	400.0a	7.8a	21.9	96.8a	44.4a	380.0a	7.7	20.9	85.1b	40.8ab	410.0a
苯丙	250	7.9	19.9	88.5ab	32.5b	220.0c	7.4d	19.5	87.5b	35.2c	310.0b	7.5	19.3	85.0b	37.4b	410.0a
烯酸	500	7.9	20.5	79.2b	33.0b	240.0c	7.6bc	20.0	85.0d	40.5b	320.0b	7.7	19.9	85.1b	37.4b	425.0a
CA	750	7.8	21.5	88.0ab	34.6b	325.0b	7.6bc	21.0	90.5bc	42.5ab	330.0b	7.7	20.4	88.0ab	37.2b	415.0a
对羟基	250	7.9	20.4	96.8a	35.4b	245.0c	7.5cd	20.8	88.1cd	36.9c	320.0b	7.7	19.4	90.8a	39.0ab	320.0c
苯甲酸	500	7.9	21.6	85.1b	41.0a	295.0b	7.7ab	20.7	95.8a	44.0a	325.0b	7.7	20.1	88.0ab	36.2b	305.0c
PHA	750	7.8	21.4	96.8a	41.5a	300.0b	7.7ab	20.4	93.9ab	44.1a	320.0b	7.7	20.7	90.5a	43.6a	350.0b

注(note)：CA—Cinnamic acid；PHA—P-hydroxybenzoic acid；OM—有机质 Organic matter；AN—碱解氮 Available N；AP—速效磷 Available P；AK—速效钾 Available K.每列中不同字母表示差异达5%显著水平 Different letters in the same column indicate significant at 5% level.

3　讨论

添加外源酚酸入土刺激了土壤酶活性，土壤过氧化氢酶活性、脲酶活性均比对照提高，土壤呼吸强度增加。袁光林[20]报道，不同化感物质4-叔丁基苯甲酸(4-t-BA)，阿魏酸(FA)，苯甲醛(BH)及在不同浓度处理时对土壤脲酶活性均有一定的刺激作用，我们的研究结果与此相同。化感物质对酶影响的机理目前尚不清楚，化感物质对酶和呼吸强度的影响可能原因是化感物质进入土壤后，影响了土壤

微生物区系变化,导致土壤微生物细胞内酶,胞间酶比例失调或改变酶的构象,增强了酶活性和土壤呼吸强度。本试验表明,酚酸处理初期土壤过氧化氢酶活性和土壤呼吸强度都有所增加,但以 500 mg/kg 处理时增加最为明显,而高浓度 750 mg/kg 处理时反而比 500 mg/kg 处理时降低,其原因是高浓度酚酸处理对微生物产生一定的抑制作用,随处理时间延长,酚酸化合物被逐渐分解,浓度降低的时候,其土壤酶活性和呼吸强度又有升高的趋势。

苯丙烯酸和对羟基苯甲酸类酚酸化合物降低了土壤碱解氮、速效磷、速效钾含量,有机质含量也降低,在低浓度处理时差异尤为明显。这与陈龙池[21]报道的土壤添加酚酸化合物降低土壤有效氮、速效钾和有机质含量结果一致,而与本试验酚酸化合物降低土壤速效磷含量结果却相反,这可能与土壤类型、土壤养分状况、试验培养条件等有关。Chapin[22]研究表明,土壤中的酚醛类化合物降低了土壤中的某些养分含量,造成了土壤养分的亏缺;Inderjit[23]认为,土壤中酚醛类物质影响了土壤中的微生物的活性,从而影响了土壤中的养分含量;Harpper[24]认为,施加酚醛类物质后提高了土壤中微生物的活性,促进了土壤有机质的矿化,降低了土壤中有机质的含量。我们的试验结果显示,酚酸化合物降低了土壤养分,与苯丙烯酸和对羟基苯甲酸等化感物质入土壤后促进或抑制了某些土壤酶或微生物的活性关系密切。在低浓度酚酸化合物处理时,虽然对西瓜生长影响不大,但当土壤中存在高浓度酚酸类自毒化合物时会使土壤腐殖质性质变差、结构简化,土壤结构恶化,造成养分及水分胁迫,抑制西瓜生长,使西瓜产生自毒作用。

参考文献:

[1] 吴凤芝,赵凤艳. 根系分泌物与连作障碍[J]. 东北农业大学学报,2003,34(1):114-118.
Wu F Z, Zhao F Y. Study on root exudates and continues cropping obstacle[J]. J. of Northeast Agric. Univ., 2003, 34(1): 114-118.

[2] 吕卫光,张春兰,袁飞,等. 有机肥减轻连作对黄瓜自毒作用的机制[J]. 上海农业学报,2002,18(2):52-56.
Lü W G, Zhang C L, Yuan F *et al*. Mechanism of organic manure relieving the autotoxicity to continuous cropping cucumber [J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2002, 18(2): 52-56.

[3] 吴凤芝,赵凤艳,马凤鸣. 酚酸物质及其化感作用[J]. 东北农业大学学报,2001,32(4):402-407.
Wu F Z, Zhao F Y, Ma F M. Phenolic acid substances and allelopathy mechanisms [J]. J. of Northeast Agric. Univ., 2001, 32(4): 402-407.

[4] 马祥庆,刘爱琴,黄宝龙. 杉木人工林自毒作用研究[J]. 南京林业大学学报,2000,24(1):12-16.
Ma Q X, Liu A Q, Huang B L. A study on self-poisoning effects of chinese fir plantation [J]. J. of Nanjing Forestry Univ., 2000, 24(1): 12-16.

[5] 林思祖. 杉木自毒作用研究[J]. 应用生态学报,1999,10(6):661-664.
Lin S Z. Autointoxication of chinese fir[J]. Chinese J. of Applied Ecology, 1999, 10(6): 661-664.

[6] 甄文超,曹克强,代丽,等. 连作草莓根系分泌物自毒作用的模拟研究[J]. 植物生态学报,2004,28(6):828-832.
Zhen W C, Cao K Q, Dai L *et al*. Simulation of autotoxicity of strawberry root exudates under continuous cropping [J]. Acta Phytoecologica Sinica, 2004, 28(6): 828-832.

[7] 吕卫光,张春兰,袁飞,等. 化感物质抑制连作黄瓜生长的作用机理[J]. 中国农业科学,2002,35(1):106-109.
Lü W G, Zhang C L, Yuan F *et al*. Mechanism of allelochemicals inhibiting continuous cropping cucumber growth [J]. Scientia Agricultural Sinica, 2002, 35(1): 106-109.

[8] Patrick Z A. Phytotoxic substance associtied with decomposition of in soil plant residues [J]. Soil Sci., 1971, 111(1): 13-19.

[9] 马永清,毛仁钊,刘孟雨,等. 小麦秸秆的生化他感效应[J]. 生态学杂志,1993,12(5):36-38.
Ma Y Q, Mao R Z, Liu M Y *et al*. Allelopathic effects of wheat straw [J]. Chinese J. of Ecology, 1993,12(5): 36-38.

[10] 马瑞霞,刘秀芬,袁光林,等. 小麦根区微生物分解小麦残体产生的化感物质及其生物活性的研究[J]. 生态学报,1996,12(6):633-637.
Ma R X, Liu X F, Yuan G L *et al*. Study on allelochemicals in the process of wheat straw by microorganisms and their bioactivity[J]. Acta Ecologica Sinica, 1996, 12(6): 633-637.

[11] 喻景权,松井佳久. 豌豆根系分泌物自毒作用的研究[J]. 园艺学报,1999,26(3):175-179.
Yu J Q, Matsui Y. Autointoxication of root exudates in pisum sativus [J]. Acta Horticulturae Sinica, 1999, 26(3): 175-179.

[12] Yu J Q, Matsui Y. Effects of root exudates of cucumber and allelopathicals on the ion uptake by cucumber seeding [J]. Chem. Ecol., 1997, 23, 817-827.

[13] Yu J Q. Extraction and identification of phytotoxic substances accumulated in the nutrient solution for the hydroponic culture of tomato [J]. Soil Science Plant Nutr., 1993, 39: 691-700.

[14] 杨广超. 西瓜自毒作用研究[D]. 南京农业大学硕士学位论文,2004.
Ynag G C. The study on watermelon autointoxication [D]. Master dissertation, Nanjing Agric. Univ., 2004.

[15] 史长青. 重金属污染对水稻土酶活性的影响[J]. 土壤通报,1995,26(1): 34.
Shi C Q. The effect of heavy metal contamination on rice soil enzyme [J]. Chinese J. of Soil Sci., 1995, 26(1): 34.

[16] 蔡玉祺,王珊龄,蔡道基. 甲基异柳磷等四种农药对土壤呼吸的影响[J]. 农村生态环境,1992(3):36-40.
Cai Y Q, Wang S L, Cai D J. Effects of isofenphos-methyl and

other three pesticides on soil respiration and their evaluation [J]. Rural of Eco - environment. 1992(3): 36-40.

[17] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社,2000. 146-226.
Lu R K. Analytical methods for soil and agricultural chemistry [M]. Beijing: China Agricultural Scientech Press, 2000. 146-226.

[18] 张桂山,贾小明,马晓航. 山东棕壤重金属污染土壤酶活性的预警研究[J]. 植物营养与肥料学报,2004,10(3) : 272-276.
Zhang G S, Jia X M, Ma X H. The warning research of soil enzyme activities on heavy metal - contamination of brown earth in Shandong [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2004, 10(3): 272-276

[19] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京:科学出版社,1987,267-281.
Zhou L K. Soil enzymes[J]. Beijing: Science press, 1987, 267-281.

[20] 袁光林,马瑞霞,刘秀芬,等. 化感物质对土壤脲酶活性的影响[J]. 环境科学,1998,19(2):55-57.
Yuan G L, Ma R X, Liu X F *et al*. Effects of allelochemicals on uricase activity [J]. Envir. Sci., 1998, 19(2): 55-57.

[21] 陈龙池,廖利平,汪思龙,等. 外源毒素对林地土壤养分的影响[J]. 生态学杂志,2002,21(1):19-22.
Chen L C, Liao L P, Wang S L *et al*. Effect of exotic toxin on the nutrition of woodland soil [J]. Chinese J. of Ecology, 2002, 21(1): 19-22.

[22] Chapin F S. New cog in the nitrogen cycle [J]. Nature, 1995, 377: 199-200.

[23] Inderjit A U. Effect of phenolic compounds on selected soil properties [J]. Forest Ecology and Management, 1997, 92: 11-18.

[24] Harpper J L. Population biology of plants [M]. London: Academic Press, 1977.