

DOI: 10.5846/stxb201302210285

谢星光, 陈晏, 卜元卿, 戴传超. 酚酸类物质的化感作用研究进展. 生态学报, 2014, 34(22): 6417-6428.

Xie X G, Chen Y, Bu Y Q, Dai C C. A review of allelopathic researches on phenolic acids. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(22): 6417-6428.

酚酸类物质的化感作用研究进展

谢星光¹, 陈晏¹, 卜元卿², 戴传超^{1,*}

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏省微生物资源产业化工程技术研究中心,
江苏省微生物与功能基因组学重点实验室, 南京 210023; 2. 环境保护部南京环境科学研究所, 南京 210042)

摘要: 酚酸类物质是普遍存在于高等植物组织并与植物生长密切相关的次级代谢产物。几十年来, 人们对酚酸类化合物的认识逐渐加深, 但关于其在生物学、生态学以及农业上的作用机制仍不是很清楚。因此, 进一步了解这些生物分子将有助于生态系统的维持与保护。重点介绍了酚酸类物质的来源及化感作用, 微生物对酚酸类物质的降解机理, 代谢途径及相应分子水平的研究, 指出了酚酸类物质研究中存在的问题, 同时展望了酚酸类物质的研究方向与前景。

关键词: 酚酸; 化感物质; 化感作用; 生物降解; 微生物; 分子水平

A review of allelopathic researches on phenolic acids

XIE Xingguang¹, CHEN Yan¹, BU Yuanqing², DAI Chuanchao^{1,*}

1 Jiangsu Key Laboratory for Microbes and Functional Genomics, Jiangsu Engineering and Technology Research Center for Industrialization of Microbial Resources, College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China

2 Nanjing Institute of Environmental Sciences of the Ministry of Environmental Protection of PR China, Nanjing 210042, China

Abstract: Phenolic acids are secondary metabolites that are widely distributed in plant tissues and closely associated with plant growth. In recent decades, phenolic acids have been studied and knowledge of them has grown internationally, but the functions of phenolic acids in the fields of biology, ecology, and agriculture are still unclear. In natural and agro-ecosystems, phenolic acids could be released into the external environment in a variety of ways. As research on the roles of phenolic acids as allelochemicals has increased, it has been found that the effectiveness of their allelopathic activities mainly depends on its existing state and specific concentration *in vitro*. At present, both the ecological and economic problems caused by phenolic acids are attracting more attention from scholars; problems such as the weakening of ecosystem regenerative capacity, restraint of plant growth, soil microflora imbalances, soil fertility decay, decrease in crop yield and increased rates of plant diseases and insect pests. Effective measures for resisting the potential environmental impacts resulting from phenolic acids in natural and agro-ecosystems are urgently needed. Microorganisms are regarded as important decomposers of pollutants in the natural environment so it is important to screen for suitable microorganisms that play an important role in the degradation of phenolic acids and in relieving the negative influences resulting from phenolic acids produced by plants. This can be done under pure culture or field conditions. In addition, it has been found that applying varieties of selected microorganisms can have a positive effect on crop growth environments. Therefore, it is necessary to further explore the degradation mechanisms of phenolic acids by microorganisms and understand the steps, and the regulatory role, of key enzymes and genes during this process. Meanwhile, scientists also need to clarify the mechanisms of degradation of different phenolic acids by specific microorganisms at the molecular level, and create environmentally friendly strains that have the function of efficient degradation of phenolic acids in ecosystems. It is also necessary to explore how the

基金项目: 国家自然科学基金(31370507); 环境保护部行业公益项目(201009023); 江苏高教优势学科建设工程资助项目; 南京市科委工程中心创新能力提升项目(201105058)

收稿日期: 2013-02-21; 网络出版日期: 2014-03-17

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: daichuanchao@njnu.edu.cn

functional microorganisms relieve allelopathic autotoxicity caused by phenolic acids under complex ecological environments. This includes phenomena such as the concentration of effective allelochemicals directly reduced by highly efficient degradation and transformation of functional microorganisms, degradation of phenolic acids together with other environmental microorganisms, or comprehensive regulation of the activity and resistance of ecosystems to reducing the problems caused by phenolic acids in crops. We suggest that microorganisms play an important role in sustainable agricultural development and environmental protection. In addition, the diverse structures and functions of phenolic acids can be used to develop, and use, natural ecological reagents considered to be efficient and pollution free ecological pesticides. Hence, further comprehensive understanding of these biological molecules will contribute to maintenance and protection of whole ecosystems. In this review, the major sources and allelopathy of phenolic acids are introduced, and phenolic acid degradation mechanisms, metabolic pathways, and the corresponding studies of this at a molecular level are expounded. The current problems with the study of phenolic acid allelochemicals are also proposed. Finally, the trends and prospects in this field of research are also discussed.

Key Words: phenolic acids; allelochemical; allelopathy; biodegradation; microorganisms; molecular level

1937 年德国科学家 Molish 首次提出化感作用一词,并将其定义为所有植物(含微生物)之间的相互作用。之后,酚酸类物质作为植物促生、抗胁迫、色素、防御分子、信号分子和化感物质的研究逐渐引起人们的关注^[1]。近年来,酚酸被证明具有较强化感活性的研究却越来越多,并且已取得业内学者的一致认可^[2-5]。酚酸通常为芳香环上带有活性羧基的有机酸,是引起植物自毒作用的主要原因。许多研究表明,酚酸类物质能够通过多种途径对植物产生影响^[6-8]。随着世界人口增加、粮食及经济作物生产压力增大,植物化感作用已引起世界各国的关注。在农业生态系统,酚酸作为化感物质对次年作物生长和土壤活性具有破坏性的影响^[9-10]。在森林生态系统,酚酸类物质可能作为入侵植物参与竞争的直接或间接手段^[11-12],提供竞争优势。笔者就当前酚酸作为农业生态系统化感物质的研究趋势,在前人研究的基础上,主要从酚酸类物质的来源与作用机理、微生物对酚酸类物质的代谢机制、相应分子水平研究及其研究中存在的问题这四个方面来介绍酚酸类物质的研究进展。同时,就目前研究笔者推测,酚酸类物质可能是造成作物连作障碍与生态群落演替的相关因子,并且植物内生菌在其中可能扮演着重要的角色。

1 酚酸类物质的来源及其影响

1.1 酚酸类物质的生物合成及其释放途径

植物通过分泌小分子次级代谢产物来响应生物

和非生物胁迫,这些代谢产物通常来自异丙醇、苯丙烷、生物碱或是脂肪酸途径^[13]。酚酸类物质的生物合成主要通过莽草酸或丙二酸途径。在植物内生真菌、内生细菌的参与下,莽草酸介导的酚酸合成前体主要来自于糖酵解的简单碳水化合物和磷酸戊糖途径产生的芳香氨基酸,苯丙氨酸和色氨酸。与真菌、细菌相比,高等植物较少利用丙二酸途径合成酚酸类物质^[14]。图 1 概括了酚酸类物质主要的生物合成途径。

自然条件下酚酸类物质必须通过合适的途径才能进入到环境中,其释放途径是产生化感作用的重要环节,主要包括以下几条途径:(1)植物根系分泌:新根和未木质化的根是分泌这些物质的主要场所,研究表明多种作物根系可以分泌酚酸类物质^[15-19]。(2)植物残体和凋落物的降解:植物的枝、叶、花、果实残体在土壤中分解产生酚酸类物质,已有大量关于作物腐解产生酚酸类物质的研究^[20-21]。(3)植物向体外释放酚酸物质:刘春香等^[22]分析了新鲜黄瓜的挥发性成分验证这一来源。(4)雨雾从植物表面淋溶:雨雾淋溶是自然界酚酸进入环境的主要方式之一^[23]。在干旱和半干旱条件下,植物的活体部分或是凋落物通过释放和分解产生具有挥发性的化感物质。当雨量充沛或高湿度条件时,一些酚酸类物质通过雨雾、淋溶从植物表面转移到土壤中进而产生化感活性,这在土壤中就很难分辨此种酚酸类物质是植物挥发产生还是土壤微生物作用产生。(5)花粉传播:孙庚^[24]指出瑞香狼毒花粉的浸提液对周

围物种的有性繁殖产生抑制作用。推测自然条件下酚酸类物质也有可能通过此途径释放。(6) 土壤微生物作用: 土壤中微生物可以利用酚酸作为碳源和能量^[25], 在限制性条件下酚酸可为固氮菌提供碳

源^[26]。土壤微生物是酚酸化感活性能否表现的決定因素, 也就是说微生物既能降低也可以放大酚酸的毒性。

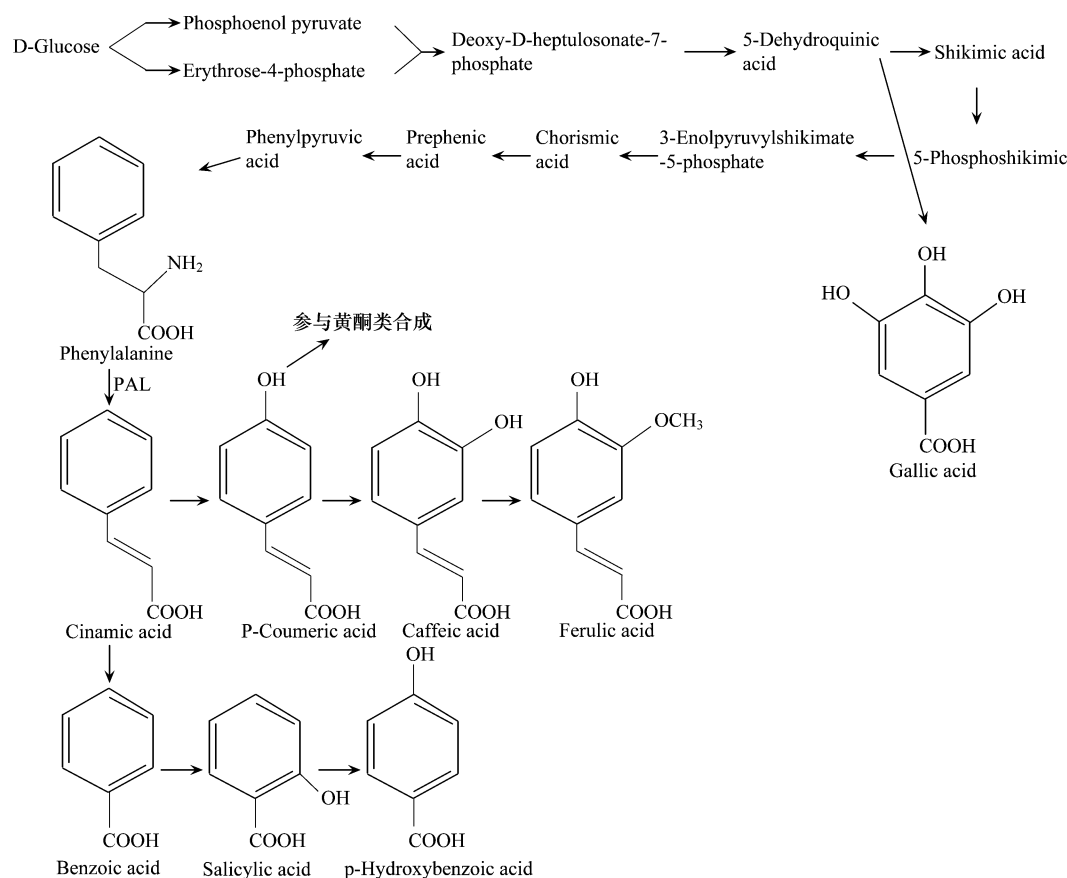


图1 酚酸生物合成途径概括

Fig.1 Summarized phenolic acids biosynthetic pathway^[14]

1.2 酚酸类物质的化感作用

1.2.1 酚酸类物质对种子萌发与植株生长的影响

酚酸类物质影响作物生长发育的典型表现为抑制种子的萌发, 其主要原因是抑制种子萌发所需的关键酶类。柚木叶浸提液中酚酸类物质对莎草种子的发芽具有显著影响^[27]。Yan 等^[28]从 *Merremia umbellata* subsp. *orientalis* 分离出 8 种酚酸, 结果表明这八种酚酸对拟南芥种子萌发具有较强的抑制活性。对羟基苯甲酸、香草酸和香豆酸对花生发芽有显著的影响, 这种影响效应与酚酸物质的种类及浓度有关^[29]。

现已证明酚酸类物质对植物生长有抑制作用。当香豆酸的浓度 ≥ 0.25 mmol/L 时, 可以显著中断大豆根的伸长^[30]。酚酸类物质对花生幼苗地下部的

干鲜重均表现出“低促高抑”的特点^[29]。在自然界中, 常看到蕨类茂盛的地方没有其它草本植物的生长, 主要原因是蕨类枯死枝叶中含有阿魏酸和咖啡酸等酚酸类物质, 雨水冲刷后到土壤中进而抑制其它植物的生长^[31]。

1.2.2 酚酸类物质对土壤微生物活性的影响

Blum^[32]指出, 土壤微生物类群分布与土壤酚酸的种类和浓度以及无机养分有一定的关系。另外, Sparling 等^[33]认为人为添加酚酸可以改变土壤微生物量和活性。酚酸类物质与土壤微生物活性变化有着密切的关系, 通过改变土壤的理化性质, 促进一些微生物生长的同时也抑制其它一些相应土壤微生物的活性。Qu 等^[34]研究表明酚酸类物质可以显著的影响土壤中微生物的生物量、多样性和群落结构, 选

择性的增强土壤中特殊的微生物种类。研究指出地黄(*Rehmannia glutinosa*)连作两年后土壤总酚酸含量与对照相比显著增加,同时运用宏蛋白质组学系统鉴定了连续种植体系中根际土壤不同蛋白的表达量,结果表明地黄连续种植导致根际酚酸类物质积累进而引起土壤微生物生态环境的改变^[35-36]。随着花生连作年限的增加,土壤中对羟基苯甲酸、香草酸和香豆酸含量增加,但土壤花生根际细菌和放线菌的数量明显减少,真菌数量增多,土壤微生物区系发生改变^[29]。西瓜根系分泌物中的酚酸类物质可以促进尖孢镰刀菌孢子的形成和萌发,而水稻根系分泌物中的酚酸类物质能抑制尖孢镰刀菌孢子的形成和萌发^[37]。

1.2.3 酚酸类物质对农业生产的影响

近年来,无论是粮食、油料、蔬菜、药材、还是园艺植物,连作障碍越来越引起人们的关注,连作障碍使植物产量下降,抗逆性降低,其中酚酸类物质在土壤中积累是引起作物连作障碍的主要原因^[38]。不同种类植物连作,分泌酚酸的种类和数量存在差异,因而对土壤条件和微生物群落结构影响不同,并且连作土壤微生物区系变化与酚酸类物质有着极其密切的关系。

对植物直接毒害:酚酸类物质通过影响细胞膜的通透性、矿质元素吸收、光合作用、植物激素、蛋白质和 DNA 合成等多种途径来影响植物生长。Hao 等^[39]研究表明,阿魏酸是西瓜根系分泌物的主要成分,其根系分泌物对西瓜和莴苣幼苗有显著的抑制作用,并且这种作用随着根系分泌物浓度的增加而增大。黄瓜根系分泌物中含有苯甲酸、对羟基苯甲酸等 10 种毒性化感物质,当黄瓜根系分泌酚酸达到一定浓度时就会抑制黄瓜生长^[6]。水培添加阿魏酸、香草酸、香草醛和对羟基苯甲酸,研究 4 种酚酸对地黄生长的影响,结果表明,经过酚酸处理,地黄幼苗 SOD(超氧化物歧化酶)和 POD(过氧化物酶)活性先升高后下降,MDA(丙二醛)含量升高,抑制地黄生长,推测酚酸可能是造成地黄连作障碍的潜在物质^[40]。

对植物间接毒害:植物生长发育既受控于内部信号,又取决于土壤提供充足的矿质营养。因此,在许多环境下,土壤可用的营养元素是约束植物生长的关键因素^[41]。目前已经认可,土壤养分与化感效

应之间存在相互关系。Baziramakenga 等^[42]指出酚酸类化感物质可以显著干扰大豆对 P、K、Mg、Mn 等矿质元素的吸收,并且降低植株根和茎的生物量。王兴祥等^[38]在研究江西红壤时指出:花生连作酚酸积累从而导致土壤偏酸,造成病原真菌数量增加,进而改变土壤微生物群落结构,抑制花生生长,增加发病率。土壤中肉桂酸和香草醛的浓度随着茄子连作年限的增加而增多,当肉桂酸和香草醛的浓度分别为 1 mmol/L 和 4 mmol/L 时会促进茄子枯萎病的发生,增加病原菌的侵染。因此,高浓度的肉桂酸和香草醛增加了茄子的自毒作用和感染疾病的风险^[43]。同时,有学者证明酚酸与土壤贫瘠有关^[38]。

2 酚酸类物质化感作用机制

2.1 酚酸类物质间的互作效应

研究表明酚酸类物质的化感潜力是所有酚酸综合作用的结果^[44-45]。Olofsdotter 等^[46]指出,植物在自然状态下释放酚酸类物质的浓度尚不能起到抑草作用,而化感抑草效果则是由包括酚酸类物质在内的所有化感物质间的互作效应引起的。Rimando 等^[47]研究表明,水稻根系浸提物中的化感活性成分基本上都是酚酸类物质,并且发现任何单一成分的酚酸其作用潜力都无法合理解释水稻田间的抑草效果,这些结果都暗示着酚酸类物质间存在着互作效应。何华勤等^[44]在探究几种酚酸类物质的互作效应时指出,酚酸类物质间的增效或拮抗的互作效应与各因子在化合物中的浓度水平密切相关,如水杨酸在浓度<0.14 mmol/L 时,对对羟基苯甲酸表现增效作用,当浓度>0.14 mmol/L 时则表现为拮抗作用。并且在一定范围内,水杨酸对肉桂酸都有拮抗作用,而肉桂酸在浓度为 0.14 mmol/L 时对水杨酸表现出拮抗作用,同时指出香草酸与肉桂酸的作用效果都是增效的。由此表明,自然界中酚酸所展现的化感作用是多种酚酸相互作用的结果。

2.2 酚酸类物质影响植物生理的作用机制

酚酸类物质可以增加细胞膜通透性,导致细胞内容物外流和诱导脂质过氧化,最终抑制植物生长或组织坏死^[48]。酚酸类物质也可以抑制植物对矿质营养元素的吸收,如黄瓜根系分泌物中的苯丙烯酸、对羟基苯甲酸可以显著抑制黄瓜根系对 K^+ 、 NO_3^- 和 $H_2PO_4^-$ 的吸收^[49]。Vaughan 等^[50]指出酚酸类物

质可以抑制豌豆主根和侧根的延伸、细胞分裂、改变形态结构,从而干涉植株的正常生长。酚酸类物质对植物呼吸作用的影响主要是削弱了植物对氧的吸收能力,而影响植物光合作用则是降低了叶绿素的含量和光合速率。Alsaadawi 等^[51]报道 10^{-4} mol/L, 5×10^{-4} mol/L 和 10^{-4} mol/L 丁香酸,咖啡酸,原儿茶酸能够显著降低豇豆幼苗叶绿素含量。另外高浓度的酚酸还可以抑制叶绿素的正常积累进而造成短缺^[52-53]。酚酸类物质可以降低植物生理活性,具体表现在苯甲酸能够影响吲哚乙酸和赤霉素的降解过程^[54]。另外,在梨中水杨酸可以抑制乙烯的合

成^[55]。多数酚酸类物质会减少 DNA 和 RNA 的完整性以及通过阻碍氨基酸的运输来抑制蛋白质的合成^[54-56]。近年来,研究植物中酚酸影响特定酶的活性和功能越来越多,如绿原酸、咖啡酸抑制磷酸化酶活性,单宁可抑制过氧化物酶、过氧化氢酶和纤维素酶活性^[57]。除上述酚酸对酶活性的影响,Politycka 等^[58]指出一定浓度的香草酸和香子兰酸可以影响 POD 和 PAL (苯丙氨酸解氨酶) 的活性。Batish 等^[59]报道了在 1 mmol/L 咖啡酸处理下,可以显著抑制绿豆下胚轴蛋白酶活性。图 2 概括了酚酸类物质影响植物生理的作用机制。

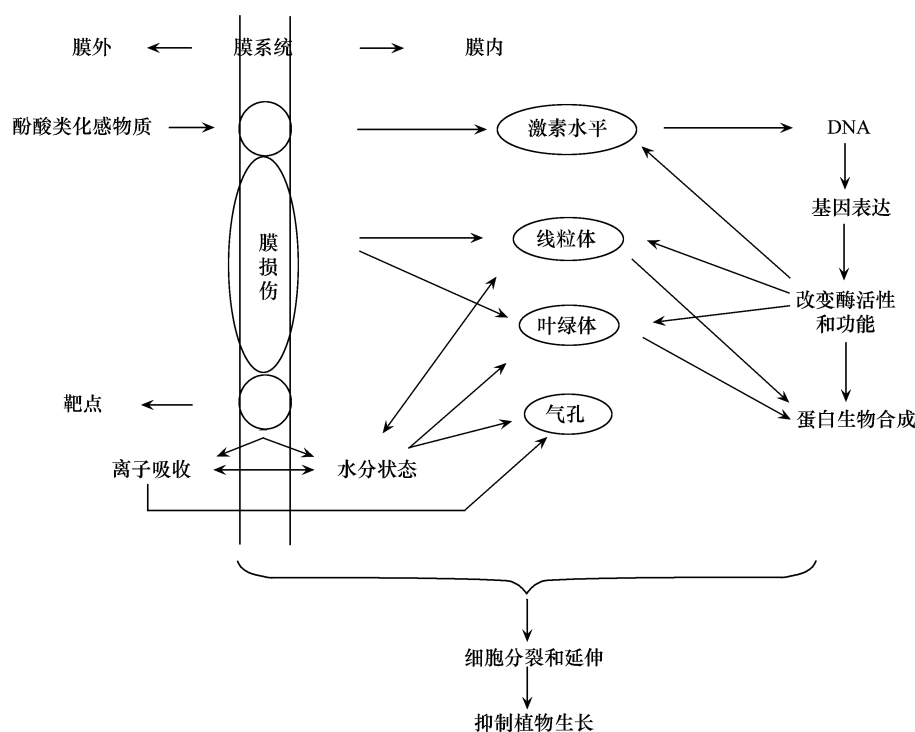


图 2 酚酸类物质作用机制^[49]

Fig.2 Mechanism of phenolic acids^[49]

3 微生物对酚酸类物质的降解及分子机理研究

3.1 微生物对酚酸类物质的降解

自然条件下,酚酸类物质进入到土壤以后,在土壤吸附作用下会形成 3 种形态:完全束缚态,可逆束缚态和自由态,其中可逆束缚态和自由态在土壤中才是真正具有化感活性的化感物质,因为酚酸类物质在阈值范围内并不能产生化感活性,必须积累到一定水平才能对目标植物产生毒性。Dalton 等^[60]指出土壤对酚酸的可逆吸收,可能是酚酸逃避微生物降解的有效措施,因为游离酚酸在大多数土壤中存

在时间较短, Dalton 还假设土壤对酚酸的“保护”有利于酚酸在土壤中积累到有毒水平。同时当酚酸类物质进入到环境以后,其保留时间、被利用情况和化感活性都会受到微生物的影响。许多情况下,土壤中微生物降解或者转化酚酸决定着其化感作用的存在方式与表达^[61]。另外,特殊的微生物群体可以降解酚酸使其失去化感活性,通常情况下被认为是土壤的自我解毒功能。但是在某些情况下,酚酸降解产物的化感活性可能会变得更强,因此,这往往是检测土壤中酚酸类化感物质持续性和毒性的难题。

在特异性酶参与下,微生物降解酚酸类物质在苯环断裂时一般具有相似的 3 种代谢途径,一条途径是邻苯二酚 2,3-双加氧酶途径,即间位裂解途径。另一条途径是由邻苯二酚 1,2 双加氧酶起始反应的,即邻位裂解反应。还有一条途径是龙胆酸代谢途径。

几十年来,研究者们已分离到多种能降解酚酸类物质的微生物,这些微生物主要包括:(1)外界环境微生物:如假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)、醋酸钙不动杆菌(*Acinetobacter calcoaceticus*)、红球菌(*Rhodococcus*)、根瘤菌(*Rhizobia*)、节杆菌(*Arthrobacter*)、芽孢杆菌(*Bacillus*)、洋葱伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia cepaciaps*)、白腐真菌(*Phanerochaete*)、黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)、头孢霉属(*Cephalosporium*)、青霉菌(*Penicillium*)、链霉菌(*Streptomyces*)、假丝酵母菌(*Candida*)等;(2)内生菌类:拟茎点霉(*Phomopsis*)、支顶孢属(*Acremonium* sp.)、镰刀菌(*Fusarium* sp.)等(3)肠道微生物:酪黄肠球菌(*Enterococcus casseliflavus*)、狄氏拟杆菌(*Bacteroides distasonis*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis* PDG-1)、迟缓埃格特菌(*Eggerthella lenta*)、消化链球菌(*Peptostreptococcus* sp. SDG-1)等。

外界环境微生物作用:一方面是从环境中筛选具有酚酸降解特性的微生物。Zhang 等^[62]用香豆酸作为唯一碳源从土壤中分离出 4 种微生物,结果表明这 4 种微生物对香豆酸、阿魏酸和对羟基苯甲酸有高效的降解作用。目前报道只有假单胞菌属可以利用没食子酸作为唯一碳源生长^[63];另一方面是通过微生物手段对农业生态环境与可持续发展提供保护。土壤中酚酸类物质的积累是作物产生自毒作用的主要原因。李华炜等^[64]在探索连作障碍中酚酸类物质的生物降解时发现,黄孢原毛平革菌分泌的胞外酶系对香草酸、阿魏酸和对羟基苯甲酸有显著的降解功能,黄孢原毛平革菌与 3 种酚酸培养 3d 后,这 3 种酚酸的平均降解率分别为 98.39%、97.88%和 58.20%。徐淑霞等^[65]将黄孢原毛平革菌制成菌剂施入连作 7a 的黄瓜土壤中,土壤中这 3 种酚酸含量都有所降低,降解率为 54.46%。为此,选择特定的微生物对酚酸积累污染地区的生态保护和农业可持续发展具有重要意义。

植物内生菌作用:本文将植物内生菌定义为植

物内生细菌、内生真菌和内生放线菌的总称。因为,目前关于内生菌降解酚酸的报道较少,笔者就本课题组的研究提出可能存在争议的看法。本课题组先前从重阳木茎内皮分离到 1 株内生真菌 *Phomopsis liquidambari*。发现其在体外环境下,可以利用 4-羟基苯甲酸作为唯一碳源和能量生长,并且最大降解率达到 99%^[66]。同时在土壤中对 *Phomopsis liquidambari* 进行跟踪,我们发现其在土壤中可以存活 30 d 之久,并且可以明显加快土壤中凋落物的降解^[67],这与前人研究一致^[68-69]。土壤中酚酸类物质大部分来源于木质素的分解。因此我们推测,内生菌普遍存在于植物组织中,刚掉落的植物凋落物中含有大量的内生菌,凋落物脱离植物落到地表也伴随着植物内生菌脱离宿主进入土壤环境,部分内生菌在土壤中进行营腐生生活,势必可能会利用酚酸类化感物质作为能源生长。药用植物含有大量活性成分,但其内部内生菌群也十分丰富,一方面内生菌群在药用植物体内必须耐受高浓度的药物成分,另一方面推测这些内生菌群也有可能介导活性化合物的合成与分解机制。茅苍术是江苏省道地药材,其体内积累大量挥发性药物成分,同时茅苍术体内含有与拟茎点霉属相似的菌群。当茅苍术凋落物进入土壤,一方面内生菌群可能调节土壤微生物区系发生改变,另一方面内生菌群可能有选择的在土壤中分解小分子有机酸。因此,设计实验,茅苍术与花生间作同时添加内生真菌,并取得显著效果^[70]。近期还发现,内生真菌 *Phomopsis liquidambari* 在凋落物存在下对吡啶的降解率达到 99.1%^[71]。这些研究结果将为内生菌在体外缓解作物连作障碍及降解含氮杂环等污染物提供新的视角。

肠道微生物作用:酚酸,广泛存在于食物中,特别是在水果、蔬菜和饮品(咖啡、啤酒、白酒和果酒)^[72]。曾报道根据饮食习惯不同,人每天摄入的酚酸量大约为 200 mg。近年来,人们对酚酸越来越重视,主要原因是其在食物中有较高的浓度、较强的生物学特性,并且容易被肠道吸收^[73]。肠道中存在着多样的酚酸降解菌群。因为肠道菌群存在于特殊的厌氧环境,目前较难在外界环境中应用,但是其作为一类潜在的研究对象已经引起广泛的关注。在这里,我们有必要关于肠道微生物对酚酸的降解进行简单概述:肠道中的酚酸主要来源于黄酮类裂解和

食物释放。Couteau 等^[74]在厌氧条件下通过含有绿原酸的基础培养基筛选肠道细菌,结果表明,筛选的肠道细菌包括很多已经鉴定的细菌,并在人类的肠道内可以大量水解绿原酸。另外,肠道酯酶在酯化酚酸裂解中扮演着重要角色。在肠道菌群作用下咖啡酸大量减少,并产生大量 4-乙基邻苯二酚。阿魏酸通过肠道细菌代谢生成 3-羟基苯丙酸,但随后代谢情况目前仍不清楚^[75]。

3.2 微生物对酚酸类物质降解的分子机理

就目前而言,国内外在研究酚酸类物质降解上多数只局限于对高效降解菌株的筛选,研究较多的是多种微生物对酚酸类物质降解率的作用。很少有关于微生物降解酚酸类物质的关键基因与关键酶的作用的报道。对于土壤中酚酸类物质降解是特定微生物区系的共同作用,每种酚酸都通过特定的代谢途径进行降解,关于土壤中降解酚酸类物质微生物基因的多样性和降解关键酶基因的微生物来源也很少有人报道。

酚酸降解酶研究:小分子酚酸降解途径通常涉及到酚酸脱羧酶、羟化酶和加氧酶的共同作用。脱羧酶的作用主要使小分子酚酸脱羧生成乙烯基邻苯二酚、乙烯基苯酚、乙烯基愈创木酚和邻苯二酚等代谢产物^[76]。在已报道的研究中,乙烯基较不稳定,通常在加氧酶的作用下直接被氧化成醛基,紧接着氧化成羧基,苯环上有甲氧基的会脱去甲基变成羟基,最终生成类似于原儿茶酸的中间代谢产物^[77]。接着在微生物作用下,原儿茶酸脱羧成邻苯二酚。再选择性通过上述两条加氧酶途径进行开环,产物进入三羧酸循环等代谢途径^[66]。上述多种酶系催化的反应详细步骤只在某些酚酸上发生,但是微生物对任何酚酸物质的降解都是在不同的时间里通过表达不同酶类进行调控的。

酚酸降解基因研究:自然界酚酸类物质能否被完全降解,大部分主要取决于苯环断裂的难易程度。目前关于酚酸苯环直接裂解的研究未见报道,但是在微生物作用下多数酚酸都会转化成苯酚类中间代谢产物。因此,探究苯酚降解关键酶和关键基因的调控与表达对酚酸降解基因的研究具有至关重要的作用。好氧菌将苯酚及其衍生物氧化为邻苯二酚的单加氧酶是苯酚羟化酶,它是苯酚降解的一个关键酶。迄今为止,已克隆多组分苯酚羟化酶基因簇。

如 *Comamonas testosteroni* TA441 菌中苯酚降解基因簇 *aphKLMNOP QBCEFGHJI*,其中 *aphKLMNOPQB* 编码苯酚羟化酶基因和间位裂解酶邻苯二酚 2,3-双加氧酶, *aphCEFGHJI* 编码间位代谢途径^[78]。*Acinetobacter calcoaceticus* PHEA-2 的苯酚羟化酶基因簇 *mphKLMNOP*,下游为编码苯甲酸降解途径相关酶的基因簇^[79]。并且一般情况下,苯酚降解基因簇结构上高度保守,苯酚羟化酶一般都由 6 个亚基组成,分别有苯酚降解基因的 *KLMNOP* 基因编码。研究指出,苯酚羟化酶基因均受基因调控表达,并且这些调控基因编码的调控蛋白都属于 XylR/DmpR 调控蛋白家族,目前发现的苯酚降解正调控基因大约有 10 个。

现阶段研究中,也有学者对酚酸降解途径的关键酶进行纯化、分析,并对关键酶基因进行克隆、定位和表达。Huang 等^[80]从 *Candida guilliermondii* 纯化出酚酸脱羧酶,并指出酶的分子量为 20 KDa,是一种二聚体脱羧酶,在 Mg^{2+} 的刺激下具有更强的活性。通过对 *Enterobacter* sp. Px6-4 中 FADase (阿魏酸脱羧酶)基因在大肠杆菌中的克隆、测序和表达,Gu 等^[81]指出编码 FADase 的基因(*fad*)有 507 个氨基酸组成,编码蛋白有 168 个氨基酸残基组成。并且转录调节因子 PadR 位于 *fad* 基因的上游。高晓莉等^[82]在探究酚酸类物质的龙胆酸降解途径时指出,编码代谢 3-羟基苯甲酸至丙酮酸的基因已被定位 8 kb 的 DNA 片段上,并且可以高效表达以及产生相应的酶活。Yoshida 等^[83]在好氧细菌 *Rhizobium* sp. strain MTP-10005 中鉴定出龙胆酸代谢途径所涉及的基因簇。这个基因簇由 *graDAFCBEK* 基因、*graA*、*graB*、*graC* 和 *graD* 组成。酶学研究表明,*graD*、*graA*、*graC* 和 *graB* 主要编码间苯三酚羟化酶 (EC 1.14.13.x) 中的还原酶 (GraD) 和加氧酶 (GraA) 部分,以及编码 maleylacetate 还原酶 (GraC) (EC 1.3.1.32) 和偏苯三酚 1,2-双加氧酶 (GraB) (EC 1.13.11.37)。生物信息学分析表明 *graE*、*graR* 和 *graK* 基因主要编码一个未知功能蛋白 (GraE),一个转录调控因子 (GraR) 和一个苯甲酸盐运输蛋白 (GraK)。对龙胆酸脱羧酶基因 *graF* 进行定量 PCR,探究以龙胆酸作为唯一碳源条件下其 mRNA 的最大表达量。基因 *graDAFCBE* 反转录 PCR 表明这些基因簇转录单个 mRNA 分子,并且其基因的表达主要受龙胆酸诱

导。Chen 等^[66]指出内生真菌 B3 在降解 4-羟基苯甲酸时,4-羟基苯甲酸羟化酶,3,4-二羟基苯甲酸脱羧酶,邻苯二酚 1,2-双加氧酶都是降解代谢所需的关键酶。

酚酸类物质的降解需要复杂酶系的共同作用,每一种酶在降解途径中都有特定的功能,在目前的研究中对多种酚酸降解酶如羟化酶、加氧酶、脱羧酶等基因克隆与表达已有较多的研究,并对降解途径基因簇的分析也越来越变得详细。国内外的研究已经深入到双加氧酶的结构与功能研究、相关基因的起源于改造、定量与表达、反应机理的研究等。但是就目前科学水平而言,通过分子手段在基因或者酶水平上来说清楚酚酸类物质降解的每一个细节比较困难,尤其是对于大田试验来说,酚酸类物质降解是微生物的多重作用,又因为降解酚酸的基因大多数是位于细菌染色体之外的质粒上,由于质粒水平转移或是遗传元件的转移机制等,使得探究降解基因的确切来源仍是不严格的,因此现阶段对于酚酸降解微生物多样性研究以及降解基因的微生物来源仍是比较棘手的问题。

4 酚酸类物质研究存在的问题

4.1 酚酸类物质是否为化感物质

多年来,酚酸类物质是否为化感物质一直被质疑。主要因为田间条件下酚酸类物质的浓度要显著低于实验室条件下抑制种子萌发和幼苗生长的浓度。举个例子,在实验室条件下抑制牵牛花幼苗生物量的 20%,需要对香豆酸的浓度为 $0.13 \mu\text{mol/g}$ 土壤,但是目前已知在田间条件下对香豆酸的最大浓度 $<0.03 \mu\text{mol/g}$ 土壤^[84]。有学者认为土壤中游离酚酸含量很低,在土壤半衰期较短,土壤较强的吸附作用迫使酚酸直接作用减弱^[85]。Olofsdotter 等^[46]指出酚酸通常被认为是假定的化感物质,并且水稻所释放的单一酚酸类物质的浓度不足以起到化感抑草的作用。实际上,实验室条件下主要探究的是单一酚酸的化感作用,但是当复合酚酸作用时对植物的影响更大^[29]。因此,本人认为酚酸类物质为化感物质并具有较强的化感活性,只是在田间条件下很难采取有效的措施确定其化感作用浓度,使得很多学者对酚酸是否为化感物质产生怀疑。

4.2 酚酸类物质研究面临的困难

酚酸类物质的应用研究具有很大的潜能,但在

土壤中的转化却存在着复杂性。因此,对其研究还存在着许多困难。一般认为酚酸类物质从植物分泌之后,在土壤中经过物理过程和化学过程的变化,在此期间还可能会受到土壤微生物的多重作用,因此对于多种酚酸类物质难以辨别是植物最初分泌出来的还是受到土壤微生物作用转化而来的。实验室条件下对于酚酸类物质的研究相对比较容易,但大田环境下的实验却存在着众多困难,因为大田实验中面临的是众多不确定的因素以及环境因子的干扰。我们知道酚酸类物质除具有化感作用外还具有其它的一些作用,这就很难辨别其专一效应与非专一性效应,如多种植物可以分泌一些酸类物质,这些酸类物质大多是有利于对无机营养物质以及微量元素的吸收,如果像其它实验一样,将这些酸类物质作用于植物可能会产生化感作用而将其分为化感物质,这样做显然是不正确的,因为大多数酸类物质都可以抑制植物的生长。作物产生的酚酸类物质虽然具有抑制杂草的作用,但是我们也发现这些酚酸类物质同样对作物产生抑制作用,这样就限制了酚酸类物质的全面应用。作物在不同的发育阶段产生的酚酸种类和浓度都不相同,高浓度的酚酸类物质对作物产生抑制,但是在某一浓度下酚酸类物质对于植物的生长有促进作用,实际应用中对这一临界值的控制比较困难。同时多种酚酸之间的互作效应使得对其化感活性的研究变得更加困难。Rice 曾指出有些化感物质的作用不具有直接性,这种特点称为隐蔽性,这些化感物质可能与土壤中微生物交织在一起,通过潜在的病原菌或是腐生动物发挥其作用。对于土壤生态系统而言,化感作用受微生物基因型的影响也很大,土壤中复杂的基因多样性对于研究关键基因的作用也比较困难。

5 展望

在今后的研究中,酚酸类物质的研究将向多方向发展,但最基本的仍是继续寻找植物产生的酚酸类化感物质,并且鉴定、纯化,探究这些次级代谢产物的特性,是否对植物具有专一性,采用同位素标记方法,追踪其在生物体内的合成途径、自然环境中存在状态以及与受体植物、微生物和生态系统相互作用的整个过程。现阶段分离和鉴定新的酚酸类物质仍是一个重要的方面,因为酚酸类物质不仅可以指

导农业生产,而且具有广泛的应用价值,例如作为杀虫剂、食品添加剂、信号分子、防御分子以及人体抗氧化剂^[14,74,86],但事实上在已确定的酚酸类物质中真正具有应用价值的很少,所以鉴定新的酚酸类物质并探索其潜在的应用价值具有重要的作用。目前,实验室中酚酸类物质的研究多数还只局限于单一因素作用于受试植物,而自然环境中是多种物质混合在一起,多种物质之间存在着复杂相互转化的过程,在未来的研究中需要探索酚酸类物质释放到土壤中后期受到环境产生的影响,并且对酚酸类物质的基因调控、产生、释放及作用机制做进一步探讨。同时研究酚酸类物质的化感活性一定要将植物释放的酚酸种类和数量同时考虑,尤其要注意酚酸类化感物质之间的协同、拮抗和加和等相互作用。

连作障碍机理的研究,是农业生态文明建设可持续生产的热点之一。现阶段连作障碍各因子间的相互关系等问题也将是今后研究的新热点。在此,我们提出自己的一些想法:我们通常可以看到自然界很多野草每年在同一片地方都生长的很茂盛,完全没有“连作障碍”的趋势,这不禁让我们思考其中的原由是什么?对此,依据本课题组的研究我们推测这可能与植物固有的内生菌群有关,正是自然界植物中含有特性的内生菌群,才使植物免受“连作障碍”的干扰。Zhao 等^[87]指出,脱落酸(ABA)随着种群的演替逐渐积累。早期演替的植物对 ABA 的敏感性会引起这类植物物种在之后的演替中随着环境 ABA 含量的升高而失去竞争优势,后期演替物种则因能忍受高浓度 ABA 取代早期演替植物的物种,从而说明 ABA 在群落演替中扮演着重要的角色。ABA 是小分子有机酸,同为小分子有机酸的酚酸类物质,在生态系统群落演替中是否也有着一席之地呢,还需要后续的研究去探索。

就目前的研究成果来看,酚酸类物质的降解机制研究尚浅。随着分子生物学的发展,运用分子手段对酚酸类物质的降解过程进行研究,全面深入的探究酚酸类物质的降解过程,并进一步探究酚酸类物质降解关键基因与关键酶的重要作用。如今,在全球生态环境下,二氧化碳含量的升高影响植物的光合作用、种子萌发和幼苗的生长,研究表明二氧化碳浓度的升高还会影响水稻根系的分泌物,虽然这方面的研究尚浅,但二氧化碳浓度的升高并伴随着

气温的上升是否会对酚酸类物质的特性产生影响,具有化感特性的植物其优良的性状是否会发生改变,以及植物酚酸类物质的变化又将怎样反作用于生态系统,这些问题都有待于进一步的研究。季节性反常变化,环境的复杂变化使得对酚酸类物质的研究也日趋变得复杂,因此,未来酚酸类物质的研究应考虑全球环境变化的因素。

References:

- [1] Makoi J H J R, Ndakidemi P A. Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. *African Journal of Biotechnology*, 2007, 6(12): 1358-1368.
- [2] Wu H W, Haig T, Pratley J, Lemerle D, An M. Allelochemicals in wheat (*Triticum aestivum* L.): cultivar difference in the exudation of phenolic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(8): 3742-3745.
- [3] Carlsen S C K, Kudsk P, Laursen B, Mathiasen S K, Mortensen A G, Fomsgaard I S. Allelochemicals in rye (*Secale cereale* L.): Cultivar and tissue differences in the production of benzoxazinoids and phenolic acids. *Natural Product Communications*, 2009, 4(2): 199-208.
- [4] Gao L, Guo P. Research progress on the inhibitory effects of phenolic acid allelochemicals on algae. *Technology of Water Treatment*, 2012, 38(9): 1-4.
- [5] Wu H W, Haig T, Pratley J, Lemerle D, An M. Allelochemicals in wheat (*Triticum aestivum* L.): variation of phenolic acids in shoot tissues. *Journal of Chemical Ecology*, 2001, 27(1): 125-135.
- [6] Yu J Q, Matsui Y. Effects of root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals on ion uptake by cucumber seedling. *Journal of Chemical Ecology*, 1997, 23(3): 817-827.
- [7] Ye S F, Yu J Q, Peng Y H, Zheng J H, Zou LY. Incidence of Fusarium wilt in *Cucumis sativus* L. is promoted by cinnamic acid, an autotoxin in root exudates. *Plant and Soil*, 2004, 263(1): 143-150.
- [8] Schutter M E, Sandeno J M, Dick R P. Seasonal, soil type, and alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 34(6): 397-410.
- [9] Rice E L. Allelopathy. Norman, Oklahoma: Academic Press Inc, 1984.
- [10] Singh H P, Batish D R, Kohli R K. Allelopathy in Agroecosystems: an overview. *Journal of Crop Production*, 2001, 4(2): 1-41.
- [11] Callaway R M, Aschehoug E T. Invasive plants versus their new and old neighbors: A mechanism for exotic invasion. *Science*, 2000, 290(5491): 521-523.
- [12] Ridenour W M, Callaway R M. The relative importance of allelopathy in interference: the effects of an invasive weed on a

- native bunchgrass. *Oecologia*, 2001, 126(3): 444-450.
- [13] Dixon R A. Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 2001, 411(6839): 843-847.
- [14] Mandal S M, Chakraborty D, Dey S. Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant Signaling & Behavior*, 2010, 5(4): 359-368.
- [15] Staman K, Blum U, Louws F, Robertson D. Can simultaneous inhibition of seedling growth and stimulation of rhizosphere bacterial populations provide evidence for phytotoxin transfer from plant residues in the bulk soil to the rhizosphere of sensitive species? *Journal of Chemical Ecology*, 2001, 27(4): 807-829.
- [16] Sene M, Dore T, Pellissier F. Effect of phenolic acids in soil under and between rows of a prior sorghum (*Sorghum bicolor*) crop on germination, emergence, and seedling growth of peanut (*Arachis hypogea*). *Journal of Chemical Ecology*, 2000, 26(3): 625-637.
- [17] Seal A N, Pratley J E, Haig T, An M. Identification and quantitation of compounds in a series of allelopathic and non-allelopathic rice root exudates. *Journal of Chemical Ecology*, 2004, 30(8): 1647-1662.
- [18] Bekkara F, Jay M, Viricel M R, Rome S. Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of Two *Vicia faba* cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudates. *Plant and Soil*, 1998, 203(1): 27-36.
- [19] Cochran V L, Elliott L F, Papendick R I. The production of phytotoxins from surface crop residues. *Soil Science Society of America Journal*, 1977, 41(5): 903-908.
- [20] Han L M, Wang S Q, Ju H Y, Yan X, Yan F, Yang Z M. Identification and allelopathy on the decomposition products from soybean stubs. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 20(5): 771-778.
- [21] Li Y B, Zhang Q, Wan C X, Gong M F, Zhang L L. Allelopathy and chemical constituents of decomposing products from cotton stalk. *Cotton Science*, 2009, 21(6): 497-502.
- [22] Liu C X, He Q W, Liu Y M. Head-space solid phase microextraction and GC-MS analysis of fragrance of cucumber. *Acta Horticulturae Sinica*, 2002, 29(6): 581-583.
- [23] Hyder P W, Fredrickson E L, Estell M E, Lucero M E. Transport of phenolic compounds from leaf surface of creosotebush and tarbush to soil surface by precipitation. *Journal of Chemical Ecology*, 2002, 28(12): 2475-2482.
- [24] Sun G, Luo P, Wu N. Pollen allelopathy of *Stellera chamaejasme* on pollen germination and seed set of main species in a High-frigid Meadow on the Eastern Qinghai-Tibetan Plateau. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(16): 4369-4375.
- [25] Kefeli V I, Kalevitch M V, Borsari B. Phenolic cycle in plants and environment. *Journal of Cell Molecular Biology*, 2003, 2(1): 13-18.
- [26] Chan Y K. Utilization of simple phenolics for dinitrogen fixation by soil diazotrophic bacteria. *Plant and Soil*, 1986, 90(1-3): 141-150.
- [27] Kole R K, Karmakar P R, Poi R, Mazumdar D. Allelopathic inhibition of teak leaf extract: a potential pre-emergent herbicide. *Journal of Crop and Weed*, 2011, 7(1): 101-109.
- [28] Yan J, Bi H H, Liu Y Z, Zhang M, Zhou Z Y, Tan J W. Phenolic Compounds from *Merremia umbellata* subsp. *orientalis* and their allelopathic effects on arabidopsis seed germination. *Molecules*, 2010, 15(11): 8241-8250.
- [29] Li P D, Wang X X, Li Y L, Wang H W, Liang F Y, Dai C C. The contents of phenolic acids in continuous cropping peanut and their allelopathy. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(8): 2128-2134.
- [30] Zanardo D I L, Lima R B, Ferrarese M L L, Bubna G A, Filho O F. Soybean root growth inhibition and lignification induced by *p*-coumaric acid. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 66(1): 25-30.
- [31] Peng S L, Shao H. Research significance and foreground of allelopathy. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(5): 780-786.
- [32] Blum U, Shafer S R. Microbial populations and phenolic acids in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1988, 20(6): 793-800.
- [33] Sparling G P, Ord B G, Vaughan D. Changes in microbial biomass and activity in soils amended with phenolic acids. *Soil Biology and Biochemistry*, 1981, 13(6): 455-460.
- [34] Qu X H, Wang J G. Effect of amendments with different phenolic acids on soil microbial biomass, activity, and community diversity. *Applied Soil Ecology*, 2008, 39(2): 172-179.
- [35] Wang H B, Zhang Z X, Li H, He H B, Fang C X, Zhang A J, Li Q S, Chen R S, Guo X K, Lin H F, Wu L K, Lin S, Chen T, Lin R Y, Peng X X, Lin W X. Characterization of metaproteomics in crop rhizospheric soil. *Journal of Proteome Research*, 2010, 10(3): 932-940.
- [36] Wu L K, Wang H B, Zhang Z X, Lin R, Zhang Z Y, Lin W X. Comparative metaproteomic analysis on consecutively *Rehmannia glutinosa*-monocultured rhizosphere soil. *PLoS One*, 2011, 6(5): e20611.
- [37] Hao W Y, Ren L X, Ran W, Shen Q R. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Plant and Soil*, 2010, 336(1-2): 485-497.
- [38] Wang X X, Zhang T L, Dai C C. Advance in mechanism and countermeasures of peanut succession monocropping obstacles. *Soils*, 2010, 42(4): 505-512.
- [39] Hao Z P, Wang Q, Christie P, Li X L. Allelopathic potential of watermelon tissues and root exudates. *Scientia Horticulturae*, 2007, 112(3): 315-320.
- [40] Wu Z W, Wang M D, Liu X Y, Chen H G, Jia X C. Phenolic compounds accumulation in continuously cropped *Rehmannia glutinosa* soil and their effects on *R. glutinosa* growth. *Chinese Journal of Ecology*, 2009, 28(9): 660-664.
- [41] Dakora F D, Phillips D A. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant and Soil*, 2002, 245(1): 35-47.
- [42] Baziramakenga R, Simard R R, Leroux G D. Effects of benzoic and cinnamic acids on growth, mineral composition, and

- chlorophyll content of soybean. *Journal of Chemical Ecology*, 1994, 20(11): 2821-2833.
- [43] Chen L L, Zhou B L, Lin S S, Li X, Ye X L. Accumulation of cinnamic acid and vanillin in eggplant root exudates and the relationship with continuous cropping obstacle. *African Journal of Biotechnology*, 2011, 10(14): 2659-2665.
- [44] He H Q, Shen L H, Song B Q, Guo Y C, Liang Y Y, Liang K J, Lin W X. Interactive effects between allelochemical substitutes. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(5): 890-894.
- [45] Blum U. Allelopathic interactions involving phenolic acids. *The Journal of Nematology*, 1996, 28(3): 259-267.
- [46] Olofsdotter M, Rebulanan M, Madrid A, Dali W, Navarez D, Olk D C. Why phenolic acids are unlikely primary allelochemicals in rice. *Journal of Chemical Ecology*, 2002, 28(1): 229-242.
- [47] Rimando A M, Olofsdotter M, Dayan F E, Duke S O. Searching for rice allelochemicals. *Agronomy Journal*, 2001, 93(1): 16-20.
- [48] Li Z H, Wang Q, Ruan X, Pan C D, Jiang D A. Phenolics and plant allelopathy. *Molecules*, 2010, 15(12): 8933-8952.
- [49] Lü W G, Zhang C L, Yuan F, Peng Y. Mechanism of allelochemicals inhibiting continuous cropping cucumber growth. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35(1): 106-109.
- [50] Vaughan D, Ord B. Influence of phenolic acids on morphological changes in roots of *Pisum sativum*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1990, 52(3): 289-299.
- [51] Alsaadawi I S, Ai-Hadithy S M, Arif M B. Effects of three phenolic acids on chlorophyll content and ions uptake in cowpea seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 1986, 12(1): 221-227.
- [52] Yang C M, Lee C N, Chou C H. Effects of three allelopathic phenolics on chlorophyll accumulation of rice (*Oryza sativa*) seedlings; I. Inhibition of supply-orientation. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 2002, 43(4): 299-304.
- [53] Einhellig F A, Rasmussen J A. Effects of three phenolic acids on chlorophyll content and growth of soybean and grain sorghum seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 1979, 5(5): 815-824.
- [54] He H Q, Lin W X. Studies on allelopathic physiobiochemical characteristics of rice. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2001, 9(3): 56-57.
- [55] Leslie C A, Romani R. Inhibition of ethylene biosynthesis by salicylic acid. *Plant Physiology*, 1998, 88(3): 833-837.
- [56] Baziramakenga R, Leroux G D, Simard R R. Effects of benzoic and cinnamic acids on membrane permeability of soybean roots. *Journal of Chemical Ecology*, 1995, 21(9): 1271-1285.
- [57] Rice E L. Allelopathy. New York: Academic Press, 1974: 353-353.
- [58] Politycka B. Phenolics and the activities of phenylalanine ammonia-lyase, phenol- β -glucosyltransferase and β -glucosidase in cucumber roots as affected by phenolic allelochemicals. *Acta Physiologiae Plantarum*, 1998, 20(4): 405-410.
- [59] Batish D R, Singh H P, Kaur S, Kohli R K, Yadav S S. Caffeic acid affects early growth, and morphogenetic response of hypocotyl cuttings of mung bean (*Phaseolus aureus*). *Journal of Plant Physiology*, 2008, 165(3): 297-305.
- [60] Dalton B R. Physicochemical and biological processes affecting the recovery of exogenously applied ferulic acid from tropical forest soils. *Plant and Soil*, 1989, 115(1): 13-22.
- [61] Inderjit. Soil microorganisms: An important determinant of allelopathic activity. *Plant and Soil*, 2005, 274(1-2): 227-236.
- [62] Zhang Z Y, Pan L P, Li H H. Isolation, identification and characterization of soil microbes which degrade phenolic allelochemicals. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 108(5): 1839-1849.
- [63] Nogales J, Canales A, Barbero J J, Serra B, Pingarron J M, Garcia J L, Diaz E. Unravelling the gallic acid degradation pathway in bacteria: the *gal* cluster from *Pseudomonas putida*. *Molecular Microbiology*, 2011, 79(2): 359-374.
- [64] Li H W, Zhao X Y, Li P K. Research on biodegradation effect to phenolic acid in even cook obstacles. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(18): 168-173.
- [65] Xu S X, Zhang S M, You X Y, Jia X C, Wu K. Degradation of soil phenolic acids by *phanerochaete chrysosporium* under continuous cropping of cucumber. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(11): 2480-2484.
- [66] Chen Y, Peng Y, Dai C C, Ju Q. Biodegradation of 4-hydroxybenzoic acid by *Phomopsis liquidambari*. *Applied Soil Ecology*, 2011, 51: 102-110.
- [67] Chen Y, Dai C C, Wang X X, Zhang B, Ju Q. Effects of endophytic fungus (*phomopsis* sp.) on decomposition of plant (*Atractylodes lancea* (Thunb) DC) litters and activity of degrading enzymes in soil. *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 47(3): 537-544.
- [68] Koide K, Osono T, Takeda H. Colonization and lignin decomposition of *Camellia japonica* leaf litter by endophytic fungi. *Mycoscience*, 2005, 46(5): 280-286.
- [69] Osono T, Hirose D. Effects of prior decomposition of *Camellia japonica* leaf litter by an endophytic fungus on the subsequent decomposition by fungal colonizers. *Mycoscience*, 2009, 50(1): 52-55.
- [70] Dai C C, Xie H, Wang X X, Li P D, Li Y L, Zhang T L. The effects of intercropping with medicinal plants and addition of endophytic fungi on soil microflora and peanut yield. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(8): 2105-2111.
- [71] Chen Y, Xie X G, Ren C G, Dai C C. Degradation of N-heterocyclic indole by a novel endophytic fungus *Phomopsis liquidambari*. *Bioresource Technology*, 2013, 129: 568-574.
- [72] Clifford M N. Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1999, 79(3): 362-372.
- [73] Piazzon A, Vrhovsek U, Masuero D, Mattivi F, Mandoj F, Nardini M. Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and of the acyl glucuronide of ferulic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(50): 12312-12323.
- [74] Couteau D, McCartney A L, Gibson G R, Williamsom G, Faulds C B. Isolation and characterization of human colonic bacteria able

- to hydrolyse chlorogenic acid. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, 90(6): 873-881.
- [75] Aura A M. Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon. *Phytochemistry Reviews*, 2008, 7(3): 407-429.
- [76] Sánchez-Maldonado A F, Schiebel A, Gänzle M G. Structure-function relationships of the antibacterial activity of phenolic acids and their metabolism by lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 2011, 111(5): 1176-1184.
- [77] Karmakar B, Vohra R M, Nandanwar H, Sharma P, Gupta K G, Sobti R C. Rapid degradation of ferulic acid via 4-vinylguaiacol and vanillin by a newly isolated strain of *Bacillus coagulans*. *Journal of Biotechnology*, 2000, 80(3): 195-202.
- [78] Arai H, Ohishi T, Chang M Y, Kodu T. Arrangement and regulation of the genes for *meta*-pathway enzymes required for degradation of phenol in *Comamonas testosteroni* TA44L. *Microbiology*, 2000, 146(7): 1707-1715.
- [79] Xu Y, Chen M, Zhang W, Lin M. Genetic organization of genes encoding phenol hydroxylase, benzoate 1, 2-dioxygenase alpha subunit and its regulatory proteins in *Acinetobacter calcoaceticus*. *Current Microbiology*, 2003, 46(4): 235-240.
- [80] Huang H K, Tokashiki M, Maeno S, Onaga S, Taira T, Ito S. Purification and properties of phenolic acid decarboxylase from *Candida guilliermondii*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2012, 39(1): 55-62.
- [81] Gu W, Li X M, Huang J W, Duan Y Q, Meng Z H, Zhang K Q, Yang J K. Cloning, sequencing, and overexpression in *Escherichia coli* of the *Enterobacter* sp. Px6-4 gene for ferulic acid decarboxylase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89(6): 1797-1805.
- [82] Gao X L, Zhou N Y. Gentisate pathway in Aromatic catabolism. *Microbiology*, 2003, 30(3): 81-85.
- [83] Yoshida M, Oikawa T, Obata H, Abe K, Mihara H, Esaki N. Biochemical and genetic analysis of the γ -Resorcyate (2, 6-dihydroxybenzoate) catabolic pathway in *rhizobium* sp. strain MTP-10005: Identification and functional analysis of its gene cluster. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(5): 1573-1581.
- [84] Blum U, Wentworth T R, Klein K, Worsham A D, King L D, Gerig T M, Lyu S W. Phenolic acid content of soils from wheat-no till, wheat-conventional till, and fallow-conventional till soybean cropping systems. *Journal of Chemical Ecology*, 1991, 17(6): 1405-1068.
- [85] Blum U. Effects of microbial utilization of phenolic acids and their phenolic acid breakdown products on allelopathic interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 1998, 24(4): 685-708.
- [86] Gomes C A, Cruz T G D, Andrade J L, Milhazes N, Borges F, Marques M P M. Anticancer activity of phenolic acids of natural or synthetic origin: A structure-activity study. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2003, 46(25): 5395-5401.
- [87] Zhao H B, Peng S L, Chen Z Q, Wu Z M, Zhou G Y, Wang X, Qiu Z J. Absciscic acid in soil facilitates community succession in three forests in China. *Journal of Chemical Ecology*, 2011, 37(7): 785-793.

参考文献:

- [20] 韩丽梅, 王树起, 鞠会艳, 阎雪, 阎飞, 杨振明. 大豆根茬腐解产物的鉴定及化感作用的初步研究. *生态学报*, 2000, 20(5): 771-778.
- [21] 李艳宾, 张琴, 万传星, 龚明福, 张利莉. 棉秆腐解物的化感作用及其主要化学成分分析. *棉花学报*, 2009, 21(6): 497-502.
- [22] 刘春香, 何启伟, 刘扬岷. 黄瓜香气成分的顶空固相微萃取气质联用分析. *园艺学报*, 2002, 29(6): 581-583.
- [24] 孙庚, 罗鹏, 吴宁. 瑞香狼毒对青藏高原东原部高寒草甸主要物种花粉萌发和种子结实的花粉化感效应. *应用生态学报*, 2010, 30(16): 4369-4375.
- [29] 李培栋, 王兴祥, 李奕林, 王宏伟, 梁飞燕, 戴传超. 连作花生土壤中酚酸类物质的检测及其对花生的化感作用. *生态学报*, 2010, 30(8): 2128-2134.
- [31] 彭少麟, 邵华. 化感作用的研究意义及发展前景. *应用生态学报*, 2001, 12(5): 780-786.
- [38] 王兴祥, 张桃林, 戴传超. 连作花生土壤障碍原因及消除技术研究进展. *土壤*, 2010, 42(4): 505-512.
- [40] 吴宗伟, 王明道, 刘新育, 陈红歌, 贾新成. 重茬地黄土壤酚酸的动态积累及其对地黄生长的影响. *生态学杂志*, 2009, 28(9): 660-664.
- [44] 何华勤, 沈荔花, 宋碧清, 郭玉春, 梁义元, 梁康迳, 林文雄. 几种化感物质替代物间的互作效应分析. *应用生态学报*, 2005, 16(5): 890-894.
- [49] 吕卫光, 张春兰, 袁飞, 彭宇. 化感物质抑制连作黄瓜生长的作用机理. *中国农业科学*, 2002, 35(1): 106-109.
- [54] 何华勤, 林文雄. 水稻化感作用的生理生化特性研究. *中国生态农业学报*, 2001, 9(3): 56-57.
- [64] 李华玮, 赵绪永, 李鹏坤. 作物连作障碍中酚酸类物质的生物降解研究. *中国农学通报*, 2011, 27(18): 168-173.
- [65] 徐淑霞, 张世敏, 尤晓颜, 贾新成, 吴坤. 黄孢原毛平革菌对黄瓜连作土壤酚酸物质的降解. *应用生态学报*, 2008, 19(11): 2480-2484.
- [67] 陈晏, 戴传超, 王兴祥, 张波, 鞠群. 施加内生真菌拟茎点霉 (*Phomopsis* sp.) 对茅苍术凋落物降解及土壤降解酶活性的影响. *土壤学报*, 2010, 47(3): 537-544.
- [70] 戴传超, 谢慧, 王兴祥, 李培栋, 李奕林, 张桃林. 间作药材与接种内生真菌对连作花生土壤微生物区系及产量的影响. *生态学报*, 2010, 30(8): 2105-2111.
- [82] 高晓莉, 周宁一. 芳香烃分解代谢的龙胆酸途径. *微生物学通报*, 2003, 30(3): 81-85.