

西瓜植株残体腐解过程中酚酸化合物的动态变化

吕卫光^{1,2} 杨广超² 刘 玲² 张春兰² 沈其荣² 李双喜¹ 郑宪清¹

(1. 上海市农业科学院 生态环境保护研究所, 上海市设施园艺技术重点实验室, 农业部上海农业环境与耕地
保育科学观测实验站, 上海 201403; 2. 南京农业大学 资源与环境科学学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 采用湿润好气培养法, 研究连作西瓜植株残体根、茎、叶腐解过程产生的自毒物质—酚酸化合物的动态变化。结果表明, 西瓜根、茎、叶残体腐解过程中均含有香豆酸、香草酸、阿魏酸等酚酸化合物。根和茎在腐解过程中产生的酚酸化合物主要是香豆酸和阿魏酸, 叶片主要是香豆酸和苯丙烯酸。3种器官中酚酸化合物总量表现为叶>茎>根。根、茎在腐解30 d时酚酸量达到高峰, 叶在腐解20~30 d时酚酸量最高; 到40~50 d时酚酸量很少, 基本稳定。

关键词: 西瓜; 连作障碍; 自毒物质; 酚酸化合物

中图分类号: S651.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)增刊-0154-04

Phenolic Acids in Decomposing Residues of Watermelon

LÜ Wei-guang^{1,2}, YANG Guang-chao², LIU Ling², ZHANG Chun-lan²,
SHEN Qi-rong², LI Shuang-xi¹, ZHENG Xian-qing¹

(1. Institute of Eco-Environment and Plant Protection, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai
Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai Scientific Observation and Experimental
Station for Agricultural Environment and Land Conservation, Ministry of Agriculture, Shanghai 201403, China;
2. College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Variation of phenolic acids during decomposition of residues of watermelon was studied by means of moist and aerobic cultivation. The results showed that watermelon residues of root, stem and leaf contained some kinds of phenolic acids such as p-coumaric, vanillic, ferulic acid. The contents of p-coumaric acid in root and stem were the highest, and followed by that of ferulic acid. The content of p-coumaric acid in leaf was the highest, followed by that of cinnamic acid. The total phenolic acids contents are in a decreasing order, leaf, stem and root. The total phenolic acids contained in the root and stem reached the maximum after 30 days of decomposition, while the leaf in 20-30 days. The total phenolic acids contents reached a stable and minimum state after 40-50 days.

Key words: Watermelon; Continuous cropping barrier; Autotoxic substance; Phenolic acid compound

在中国人多耕地面积少的地区, 由于种植西瓜经济效益好以及专业化生产和规模化发展, 导致了连作障碍日趋严重, 成为制约西瓜生产可持续发展的瓶颈。连作障碍的发生不仅同土壤传染性病害和土壤理化性状劣变有关, 也同由根系分泌物和残茬分解物等引起的自毒作用有关^[1-5]。西瓜是不耐连作的作物之一, 一些研究也证实了其残体水浸提液对其种子发芽和生长有抑制作用^[6-7]。酚酸化合物是最为普遍的一类自毒化合物^[8-9], 何光训^[10]指

出, 酚酸化合物可降低体内生长素氧化酶的活性, 导致生长素过多积累, 抑制植物生长。酚酸化合物过多积累, 将降低超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性, 抗性降低^[11-12]。有关西瓜残体是否存在自毒作用和酚酸化合物, 至今仍缺少有关直接证据, 更未能从中分离鉴定出抑制物质。本研究采用湿润好气培养法, 研究西瓜植株残体腐解过程产生的酚酸化合物种类、数量及其动态变化, 阐明西瓜产生连作障碍的自毒物质, 进一步确认西瓜产生连作障碍的机理, 以

收稿日期: 2012-08-25

基金项目: 国家科技部成果转化项目(2006GB23600454); 上海市科委成果转化项目(103919N1300)

作者简介: 吕卫光(1972-), 男, 山东鄄城人, 研究员, 博士, 主要从事设施土壤障碍机理与防治研究。

通讯作者: 沈其荣(1957-), 男, 江苏无锡人, 教授, 博士, 主要从事植物氮素营养和有机肥料的研究。

便为采用相应对策减轻西瓜连作障碍提供参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

西瓜残体(根、茎、叶)采自上海市南汇区西瓜地已经收获西瓜后的西瓜藤。

1.2 腐解试验

西瓜根、茎、叶残体经风干、磨细后过 20 目筛。取 5 g 样品于 200 mL 烧杯中,加 15 mL 水,搅拌均匀,保持通气,覆盖尼龙布,15 次重复,置于 30℃ 恒温培养 50 d。腐解过程中每隔 5 d 搅拌均匀,同时补足水分。于腐解后 10 20 30 40 50 d 提取、分析测定酚酸化合物的量^[8,13]。

1.3 酚酸化合物的提取

按规定时间取不同处理 3 个重复终止腐解。在腐解样品中加入 50 mL 碱性甲醇(0.1 mol/L NaOH: 甲醇 = 3:7),振荡 1 h 后于 10 000 r/min 离心 20 min,取上清液,在 45℃ 下用旋转蒸发器除去甲醇,用稀盐酸(0.2 mol/L)调节 pH 值至 2.0 左右,在溶液中加入适量的无水硫酸钠脱水,加入 100 mL 乙醚,在 45℃ 水浴上蒸干乙醚,残渣用 5 mL 甲醇(重蒸)溶

解,经 0.45 μm 膜过滤后供 HPLC 测定用^[10]。

1.4 测定

用 Waters HPLC 仪测定,条件为: Waters 600 泵 2487 紫外检测器,德国 Merck 公司 Purospher STAR C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm 5 μm),柱温 30℃,流动相用乙腈: 13% HA_C = 17: 83,流速 0.8 mL/min,进样量 15 μL^[14-15]。

2 结果与分析

2.1 西瓜植株根、茎、叶中酚酸化合物

表 1 表明,西瓜植株残体中酚酸化合物总量及其种类因植株残体器官不同而异,相差较为明显。所测得的 4 种酚酸化合物(香豆酸、香草酸、阿魏酸、苯丙烯酸)总量,以叶片中最高,茎次之,根最少,其值分别是 71.1 21.2 5.9 μg/g(表 1)。酚酸总量相比,叶是茎的 3.4 倍,是根的 12.2 倍。4 种酚酸含量相比,以香豆酸含量最高。不同器官相比,亦是叶片中含量最高,茎次之,根最少。如香豆酸,叶片中含量为 28.7 μg/g,茎中为 10.1 μg/g,根中为 2.9 μg/g,阿魏酸、香草酸、苯丙烯酸与香豆酸类同(表 1)。

表 1 西瓜根、茎、叶中酚酸化合物含量

Tab. 1 The content of phenolic acids in root stem and leaf of watermelon

器官 Organs	香豆酸 P-coumaric acid		香草酸 Vanillic acid		阿魏酸 Ferulic acid		苯丙烯酸 Cinnamic acid		总量 Total sum
	含量 /(μg/g)	占总量/%	含量 /(μg/g)	占总量/%	含量 /(μg/g)	占总量/%	含量 /(μg/g)	占总量/%	
	Content	Rate	Content	Rate	Content	Rate	Content	Rate	
根 Root	2.9 ± 0.34	49.2	1.2 ± 0.06	20.3	1.8 ± 0.64	30.5	—	—	5.9
茎 Stem	10.1 ± 0.46	47.6	2.5 ± 0.57	11.8	6.7 ± 0.66	31.7	1.9 ± 0.07	8.9	21.2
叶 Leaf	28.7 ± 0.79	40.4	7.8 ± 0.41	11.1	12.7 ± 0.42	17.7	21.9 ± 0.57	30.8	71.1

每一种酚酸占酚酸总量之比,以香豆酸所占比例最高,阿魏酸次之,香草酸、苯丙烯酸较少。从表 1 可以看出,香豆酸占酚酸总量的 40.4% ~ 49.2%,阿魏酸占酚酸总量的 17.7% ~ 30.5%,香草酸占酚酸总量的 11.1% ~ 20.3%,苯丙烯酸占酚酸总量的 0 ~ 30.8%。苯丙烯酸在不同器官中含量差别很大:叶片中含量最高,苯丙烯酸含量占酚酸总量之比达到 30.8%,比阿魏酸量还高。茎次于叶,而根中则未检测到。

2.2 西瓜植株根、茎、叶腐解过程中酚酸化合物量的动态变化

根、茎、叶经微生物作用,在腐解过程中,不同组分都在进行矿质化作用。原有的酚酸化合物在多酚氧化酶的作用下被氧化成醌。木质素、纤维素等难溶性化合物逐步被分解产生各种有机酸,包括酚酸之类的化合物,新生成的酚酸也有可能被分解^[16]。

因此,根、茎、叶腐解过程中某一时刻的酚酸化合物的含量是木质素、纤维素等物质的腐解产物及新合成的酚酸化合物动态平衡的结果^[17-20]。因此,不同时刻酚酸化合物量存在一定的差异。

从表 2、图 1 可以看出,腐解的全过程中叶片的酚酸化合物含量最高,茎次之,根最少,分别占总酚酸量的 70% ~ 80%, 15% ~ 25%, 3% ~ 6%。即使在酚酸含量最低时,即腐解第 10 天和第 50 天时,叶片腐解产生的酚酸量仍分别是茎的 4.28 2.55 倍;是根的 28.09 25.71 倍。在酚酸含量达高峰时(腐解 30 d),叶片中酚酸含量分别是茎和根的 3.03 10.3 倍。

从不同残体腐解产生酚酸量的动态变化过程来看(图 1),随着腐解时间的延长,酚酸量逐渐增加。在腐解 20 ~ 30 d 时酚酸量达到高峰,40 d 以后酚酸量下降,50 d 后趋于平缓,其量甚微。根、茎、叶腐

解过程中产生的酚酸化合物高峰期亦不相同。叶片在腐解 20 ~ 30 d ,其值在 13.0 ~ 13.6 $\mu\text{g/g}$ 之间。根、茎的腐解高峰期比叶迟 10 d ,腐解 30 d 时达到高峰,酚酸化合物量分别为 1.32、4.49 $\mu\text{g/g}$ 。叶片产生的酚酸高峰值分别是腐解 10、50 d 的 2.31、

3.78 倍。茎腐解产生的酚酸高峰值分别是腐解 10、50 d 的 6.29、9.43 倍。根腐解产生的酚酸高峰值分别是腐解 10、50 d 的 3.25、3.18 倍。

从上述结果可以看出,叶片腐解过程中产生酚酸量的高峰期早于茎和根,高峰值大于根和茎。

表 2 西瓜根、茎、叶腐解过程中酚酸化合物量变化

Tab. 2 The content of phenolic acids during decomposition of watermelon's root, stem and leaf

腐解时间/d Decomposition time	根 Root		茎 Stem		叶 Leaf		总量/($\mu\text{g/g}$) Total sum
	含量/($\mu\text{g/g}$)	占总酚酸/%	含量/($\mu\text{g/g}$)	占总酚酸/%	含量/($\mu\text{g/g}$)	占总酚酸/%	
	Content	Rate	Content	Rate	Content	Rate	
10	0.21	2.8	1.38	18.5	5.9	78.8	7.49
20	0.48	3.1	1.96	12.7	13.0	84.2	15.44
30	1.32	6.8	4.49	23.1	13.6	70.1	19.41
40	0.62	5.7	2.52	23.2	7.7	71.0	10.84
50	0.14	2.7	1.41	27.4	3.6	69.9	5.15

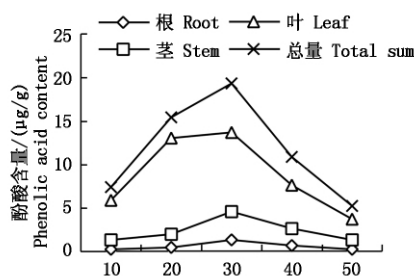


图 1 西瓜根、茎、叶腐解过程中酚酸化合物量的变化

Fig. 1 The phenolic acid content during decomposition of watermelon root, stem and leaf

2.3 西瓜植株根、茎、叶腐解过程中酚酸化合物种类及其动态变化

从图 2 可以看出,西瓜根、茎、叶残体腐解过程中产生的酚酸化合物种类、数量与原材料所含酚酸化合物种类、数量密切相关。凡残体中酚酸含量较高,或某种酚酸含量较高者,在腐解过程中生成的总

酚酸量和某一种酚酸量亦比较高。据表 1 可知,叶中香草酸、苯丙烯酸、香豆酸和阿魏酸含量比根、茎中高。所以,根、茎、叶腐解过程中亦产生香草酸、香豆酸和阿魏酸,其量亦为叶比茎高,几种酚酸量相比,香豆酸 > 阿魏酸 > 香草酸。叶片腐解后产生的苯丙烯酸的量较根、茎高,其含量是茎的 14.0 倍。根在腐解过程中均未检测到苯丙烯酸,不同残体腐解过程中产生的不同酚酸量的动态变化存在明显差异。叶片腐解过程中产生的酚酸量为香豆酸 > 苯丙烯酸 > 阿魏酸 > 香草酸。以最高值相比,香豆酸的高峰值是苯丙烯酸的 4.28 倍,阿魏酸的 1.11 倍,香草酸的 6.22 倍。其高峰期,香草酸、香豆酸、阿魏酸量在腐解 20 d 后达到高峰,苯丙烯酸的高峰期在腐解后 30 d,比其他酚酸晚 10 d 左右。50 d 以后几乎没有酚酸产生。

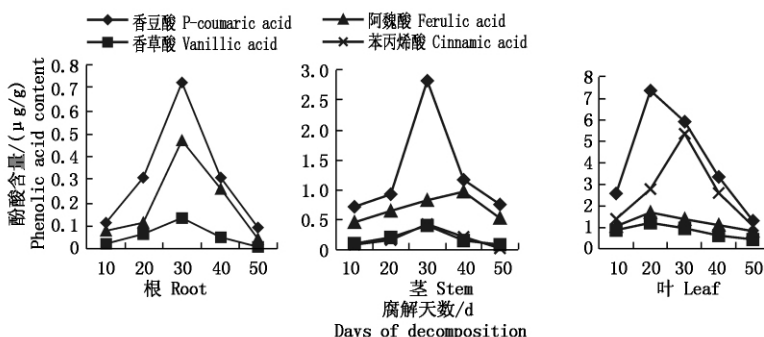


图 2 西瓜根、茎、叶腐解过程中酚酸化合物含量的变化

Fig. 2 Variation of phenolic acid content during decomposition of watermelon root, stem and leaf

茎腐解过程中产生的酚酸量与叶略有差异: 香豆酸 > 阿魏酸 > 香草酸 > 苯丙烯酸。以最高值相比,香豆酸的高峰值是苯丙烯酸的 6.61 倍,阿魏酸的 3.44 倍,香草酸的 6.93 倍。产生酚酸的高峰期为腐解后的 30 d,比叶片落后 10 d。

根腐解过程中产生的酚酸种类和高峰期不同于

叶和茎。只产生香豆酸、阿魏酸和香草酸,无苯丙烯酸。产生酚酸的高峰期与茎基本相同,在腐解后 30 d,也比叶落后 10 d 左右。酚酸量为香豆酸 > 阿魏酸 > 香草酸。以高峰值相比,香豆酸含量是阿魏酸的 1.53 倍,香草酸的 5.54 倍。

3 讨论

酚酸物质是最为普遍的一类化学他感物质^[10-21]。Shind^[9]指出,作物残体产生的酚酸物质能很快地从土壤表面淋溶下去,对作物生长发育产生抑制作用,导致作物减产。水稻秸秆腐解产物可释放大量的酚酸物质并抑制幼苗生长^[10]。Chou^[22]、Wang^[23]等证明甘蔗连作会释放出酚酸物质,抑制植株生长,形成连作障碍。杉木枝条腐解产物抑制杉木种子发芽^[2]。Yu等^[24-26]认为番茄、黄瓜等根系分泌物中含有酚酸化合物,抑制了番茄、黄瓜生长和养分吸收,是产生连作障碍的因素之一。

西瓜是不耐连作的瓜果蔬菜作物之一。关于自毒作用(Allelopathy)是否在西瓜连作障碍中起到一定作用,国内外报道较少。Yang^[6]、Zou^[7]等报道西瓜植株根、茎、叶水浸提液处理种子,其发芽率都受到不同程度的抑制,在相同浓度下,叶水浸提液抑制种子萌发和幼苗生长的浓度大于根和茎。作者经高效液相色谱分析,证明西瓜植株残体—根、茎、叶在腐解过程中产生香草酸、香豆酸、阿魏酸和苯丙烯酸等酚酸化合物。酚酸化合物种类与含量和原材料中纤维素、半纤维素、木质素及原酚酸化合物含量有关^[13]。若原材料中易分解物质多,酚酸化合物含量较高,那么,腐解过程中产生的酚酸化合物也就高。本研究中,叶片中难分解的木质素含量比根、茎中低,易分解的纤维素、半纤维素比根、茎中高。同时,叶片中原酚酸化合物总量分别是根、茎的11.2、2.4倍,所以,叶片在腐解过程中产生的酚酸量也比根、茎高,产生酚酸的高峰期也提前10 d左右。叶片中含有较多的苯丙烯酸,其量是茎的11倍。在腐解产物中苯丙烯酸量也是茎的10倍左右。酚酸化合物对作物生长和养分吸收有很强的抑制作用,苯丙烯酸用量达到0.25 mmol/L时将影响种子发芽和幼苗生长,随着处理浓度增加,根系养分吸收减少,质膜透性增强,养分外渗速率加快^[11-12]。作物长期连作,酚酸化合物在作物根际积累增加,抑制作物生长,因此,西瓜自身残体分解、根系分泌产生酚酸化合物等自毒物质是抑制西瓜生长,产生连作障碍的重要因素之一。搞清西瓜残体腐解产生自毒物质的规律,设法减轻西瓜自毒作用,是减轻西瓜连作障碍的重要策略。

参考文献:

- [1] 张学伟,黄学森,古勤生,等.西瓜连作障碍及其防治方法[J].中国西瓜甜瓜,1993(2):21-23.
- [2] 林思祖,黄世国,曹光球.杉木自毒作用研究[J].应用生态学报,1999,10(6):661-664.

- [3] 喻景权,松井久佳.豌豆根系分泌物自毒作用的研究[J].园艺学报,1999,26(3):175-179.
- [4] 韩丽梅,王树起,鞠会艳,等.大豆根分泌物的鉴定及其化感作用的初步研究[J].大豆科学,2000,19(2):119-125.
- [5] 周志红,骆世明,牟子平.番茄(*Lycopersicon*)的化感作用研究[J].应用生态学报,1997,8(4):445-449.
- [6] 杨广超,吕卫光,沈其荣,等.西瓜的自毒作用研究 I.西瓜根、茎、叶的水和酒精浸提液对其种子发芽的影响[J].上海农业学报,2004,20(3):82-85.
- [7] 邹丽芸,喻景权.西瓜植株水浸提物对西瓜种子萌发的影响[J].浙江农业科学,2004,4:181-182.
- [8] 麻生未雄.稻わら堆肥の腐熟にともなうフュノール物質の变动と水稻幼植物によるバイオアツマイ[J].日本土壤肥料杂志,1994,65(3):321-325.
- [9] Shind H, Kuwatsuka S. Behaviour of phenolic substances in the decaying process of plant III. Degradation of phenolic acids[J]. Soil Sci Plant Nutr, 1975, 21: 227-238.
- [10] 何光训.土壤酚类物质引起植物中毒的植物生理原因[J].浙江林学院学报,1992,9(3):339-344.
- [11] 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.
- [12] 王倩,李晓林.苯甲酸和肉桂酸对西瓜幼苗生长及枯萎病发生的作用[J].中国农业大学学报,2003,8(1):83-86.
- [13] 朱林,张春兰,沈其荣,等.稻草等有机物料腐解过程中酚酸类化合物的动态变化[J].土壤学报,2001,38(4):471-475.
- [14] 阮维斌,赵紫娟,薛健,等.高效液相色谱法检测与化感现象相关的5种酚酸[J].应用与环境微生物学报,2001,7(6):609-612.
- [15] 刘江云,杨学东,徐丽珍,等.天然酚酸类化合物的反相高效液相色谱分析[J].色谱,2002,20(3):245-248.
- [16] 何光训.连栽杉木林地土壤肥力退化的症结[J].浙江林学院学报,2002,19(1):100-103.
- [17] 于天仁,陈志诚.土壤发生中的化学过程[M].北京:科学出版社,1984:174-185.
- [18] A D 麦克拉伦.土壤生物化学[M].北京:农业出版社,1984:174-185.
- [19] E W 腊塞尔.土壤条件与植物生长[M].北京:科学出版社,1979:206-211.
- [20] 张福锁.根分泌物及其在植物营养中的作用[J].北京农业大学学报,1992,18(4):353-356.
- [21] 袁飞,张春兰,沈其荣.酚酸物质对连作黄瓜根际微生物类群的影响[J].中国农业科学,2004,37(4):545-551.
- [22] Chou C H, Leu L L. Allelopathic substances and activities of *delonix regia* raf[J]. Chem Ecol, 1992(18):353-367.
- [23] Wang T S C, Kao M M, Li S W. The exploration and improvement of the yield decline of monoculture sugarcane in Taiwan [J]//Chou C H. Tropical Plant Inst, of Bot Acad Sinica, Monogr Taipei, Taiwan, 1984(5):1-9.
- [24] Yu J Q, Matsui Y. Extraction and identification of phytotoxic substances accumulated in the nutrient solution for the hydroponic culture of tomato [J]. Soil Sci and Plant Nutri, 1993, 39: 691-700.
- [25] Yu J Q, Lee S, Matsui Y. Effects of the addition of activate charcoal on the growth of tomato plants grown by hydroponics [J]. Soil Sci Plant Nutri, 1993, 39: 13-22.
- [26] Yu J Q, Matsui Y. Phytotoxic substances in root exudates of cucumber (*cucumis sativus* L.) [J]. Chemical Ecology, 1994, 20: 21-31.