

O₃ 浓度升高及温度对麦田土壤酶活性及酚酸类物质含量的影响

李果梅^{1,2}, 王芟屹^{1,2}, 史奕¹, 陈欣¹

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 辽宁 沈阳 110016; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:近几年来,近地面臭氧浓度快速增加已经对农作物生长发育造成了很大的影响,引起国内外学者的广泛关注。设在沈阳市苏家屯区十里河镇沈阳农业生态系统国家野外站开顶式气室于 2006 年 5 月开始运行,本文通过开顶式气室(OTCs)研究了高浓度臭氧(浓度为 80 nmol·mol⁻¹)对春小麦不同发育时期(拔节期、抽穗期、灌浆期、成熟期)土壤过氧化氢酶、蔗糖酶和多酚氧化酶及土壤中酚酸类物质含量的影响。结果表明,在臭氧胁迫下土壤过氧化氢酶活性、蔗糖酶和多酚氧化酶活性均在小麦成熟期显著地高于 OTCs 对照(P<0.05)。经相关分析,O₃ 浓度升高条件下土壤酚类化合物总量与多酚氧化酶活性之间呈显著正相关关系(r=0.625, n=12, P=0.015),这充分说明酶的底物酚酸类物质的积累,导致了土壤多酚氧化酶活性增加。

关键词: 臭氧浓度升高;春小麦;土壤酶活性;酚酸类物质

中图分类号: Q945.78 文献标识码: A 文章编号: 1672-2043(2008)01-0121-05

Effects of Elevated Ozone and Temperature on Soil Enzymes Activities and Phenolic Compounds Content in Spring Wheat

LI Guo-mei^{1,2}, WANG Shu-yi^{1,2}, SHI Yi¹, CHEN Xin¹

(1. Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China;

2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In recent years the concentration of O₃ was increasing rapidly, which had a great effect on the growth of plant. The research on the impact of O₃ on plant has been already a key subject in the field of ecology. O₃ pollution induced more seriously adverse effect on plant. The impacts of elevated O₃ (80 nmol·mol⁻¹) on soil enzymes activity were studied in OTCs (open top chambers) during the whole growing period of spring wheat at experimental establishment in Shenyang in 2006. The results showed: the activity of soil catalase, polyphenol oxidase and invertase under elevated O₃ was higher than the control in OTC at the harvest stage (P<0.05), while at other periods the impacts were small. Phenolic compounds accumulated in the soil when the concentration of O₃ was elevated, which affected the activity of soil polyphenol oxidase, showing that the effect of O₃ on soil was accumulated for a long time.

Keywords: elevated ozone; spring wheat; soil enzymes activity; phenolic compounds

对流层中 O₃ 是由光化学反应产生的二次污染物,是温室气体和光化学烟雾的主要成分。近年来由于大量使用化石燃料、含 N 化肥,大气中 NO_x、VOCs 剧增,导致对流层中 O₃ 浓度日益提高,每年以 0.5%~2.5% 速率增长,预计到 2100 年对流层中 O₃ 浓度将增加 1 倍^[1-3]。在高层大气中,O₃ 保护层可以减少紫

外辐射,保护地球上的生物,但在近地面 O₃ 却给人类带来了很大的危害。它不仅是温室气体,还是最主要的光化学污染物^[1,2]。有研究表明,O₃ 浓度快速增加,已经对农作物生长发育及产量造成了很大的影响^[4-9],其直接影响陆地植物的光合作用,通过根系分泌及死亡输入土壤,从而对陆地生态系统产生深远影响^[10-12],因此研究 O₃ 浓度增加对土壤生态系统的影响是很有现实意义的。

土壤中所进行的一切生物化学过程都要有酶的

收稿日期: 2007-03-31

基金项目: 国家自然科学基金(30570348)

作者简介: 李果梅(1983—),女,硕士研究生,主要从事大气变化对农作物次生代谢影响的研究。E-mail: guomei209@163.com

催化作用才能完成,酶能加速土壤中有有机物质的化学反应。土壤中各种酶的积累是由于土壤微生物、土壤动物和植物根系的生命活动的结果。其活性高低可反映土壤营养物质转化、能量代谢等过程能力的强弱,特别是转化酶、脲酶等。土壤酶作为土壤质量的一个指标,能够较敏感地反映出土壤质量在时间序列和各种不同条件下的变化^[13],间接地反映出大气O₃浓度增加对农田土壤系统的影响。大气O₃浓度升高主要通过以下几方面对土壤系统产生影响:(1)破坏叶片膜保护系统,改变膜的透性影响正常能量流的传递过程,最终导致光合速率下降,因此输入到土壤中的产物以及成分会随之改变。(2)O₃浓度增加,减小了叶片气孔导度,减少蒸腾,增加土壤中的水分含量,影响土壤中物理、化学过程。(3)大气O₃浓度增加,改变植物的生理机制,削弱了植物光合作用而促进了呼吸作用,改变碳在植物中的分配,也对土壤系统产生直接或间接的影响^[14,15]。因此,大气O₃浓度升高对植物代谢功能及土壤微生物的影响,均可能对在生态系统营养元素循环与周转中发挥着重要作用的土壤酶活性产生影响^[15]。

土壤中的酚酸类物质主要来源于植物体(包括地上部淋溶、根系分泌等)、土壤生物、外源有机物料及植物残体的分解等途径,尤其是在逆境下土壤生态系统中存在较多的一种次生代谢产物,具有很强的生物活性,已成为公认的化感物质,对作物生育和代谢具有明显的抑制效应,引起土壤微生物区系和土壤酶活性的变化^[16-18],因此,土壤中酚类物质含量和土壤酶活性具有一定的联系。

本研究采用田间开顶箱(OTC)试验,初步探讨了O₃浓度增加情况下多酚氧化酶活性、土壤过氧化氢酶、蔗糖酶及土壤酚类物质含量的变化,旨在分析O₃浓度增加对农田作物-土壤的影响,进一步分析其对农田生态系统的潜在影响,为大气O₃浓度升高条件下作物次生代谢对土壤质量演变研究提供初步科学依据。

1 研究区域概况和研究方法

1.1 研究区域概况

开顶箱(OTC)试验设在沈阳市苏家屯区十里河镇沈阳农业生态系统国家野外站(41°31'N,123°22'E)进行。试验站位于下辽河平原中部偏东,属暖温带半湿

润大陆性季风气候,四季分明,雨热同季,夏季炎热多雨,冬季寒冷干燥,年平均气温7~8℃,≥10℃活动积温3300~3400℃,年总辐射量为5392.2~5643.0 kJ·cm⁻²,无霜期147~164 d,年降水量650~700 mm。土壤类型为潮棕壤。

1.2 试验处理与分析方法

1.2.1 试验处理

农田开顶式气室OTC(open-top growth chamber)(直径3 m,高2.8 m),设有配套的通气、通风设备,温湿度传感器和辐射传感器及计算机数据分析与O₃监测自动控制系统。试验设置3个处理,分别为室外对照(自然条件下的对照,CK)、室内对照(自然O₃浓度,约30 nmol·mol⁻¹,CK+T)和O₃浓度增高(80 nmol·mol⁻¹,O₃+T),OTC室内温度比室外约高2~4℃。每1处理设置3个重复。

本试验供试小麦品种为辽春9号,于2006年4月2日称过2 mm筛田间鲜土5.5 kg放入花盆,每盆施入等量的肥料,分别为尿素0.8 g,二铵肥0.1 g。每盆播种20~30粒,三叶期每盆定苗20株,定苗后放入开顶式气室中。在2006年5月5日开始通气,小麦收获后通气结束,每天熏气7 h,9:00~16:00(雨天停止熏气),试验期内O₃浓度由计算机自动控制。水肥供应适量而充分,其他农田管理措施均相同,无病虫害及杂草的影响。

1.2.2 样品采集与测定方法

在小麦不同生长期分别采集土壤和植物样品,每次采集4盆,进行相关试验分析,其余保留到成熟期收获,进行生物量调查。采样时间分别为:2006年5月24日(拔节期)、6月6日(抽穗期)、6月16日(灌浆期)、6月26日(成熟期)。本试验采用高锰酸钾滴定法测定过氧化氢酶活性,邻苯二酚法比色法测定多酚氧化酶活性,3,5-二硝基水杨酸法测定蔗糖酶活性,土壤酚总量采用氨基安替比林比色法测定^[13,19]。

1.2.3 数据统计

试验数据利用Excel 2003进行计算和分析,并采用SPSS 13.0进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 土壤过氧化氢酶对O₃浓度和温度变化的响应

过氧化氢酶是一种分布很广泛的酶,它能促进过氧化氢对化合物的氧化作用,破坏对生物体有毒的过氧化氢^[9]。分析表明,过氧化氢酶与农田土壤的有机碳、全氮和全磷含量有显著的相关性,因而测定土壤

过氧化氢酶活性可以了解土壤中碳氮物质的转化状况^[20]。

由图1可以看出,室外对照下土壤过氧化氢酶活性在春小麦生长前期呈上升趋势,峰值出现在灌浆期,然后趋于下降,抽穗期、灌浆期和成熟期分别比拔节期过氧化氢酶活性高4.8%、12.2%、7.0%。该结论与熊明彪^[21]所得结论一致。可能是由于小麦生育前期土温逐渐上升,根系迅速生长,根系活力增强,根分泌物逐渐增多,使得土壤过氧化氢酶活性增高,而后期酶活性逐渐下降,是由于作物生长逐渐转入成熟期,根系衰老、活力下降而导致根分泌物减少,因而酶活性下降。同时,到小麦生长后期,土壤中各种肥力下降,也可能导致酶活性的下降。土壤过氧化氢酶能够清除过氧化氢等毒性物质,因此,在小麦灌浆期该酶活性达到最高,清除毒害物质的能力最强,有助于春小麦更好地生长。

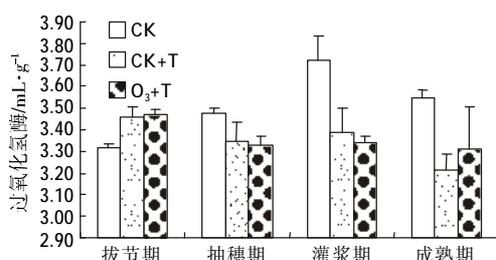


图1 O_3 浓度增加对过氧化氢酶活性的影响
Figure 1 Effect of elevated O_3 on catalase activity

由图1也可以看出开顶式气室对照中,在小麦生长初期土壤酶活性相对较高,而后逐渐降低,这可能是由于在试验初期(定苗到拔节期),气室中温度比室外高,约高2~4℃,提高了土壤酶活性。而到后期,由于室内气温过高,导致酶活性变化相对减小。在试验初期,开顶箱气室中温度为主要影响因子。

通过比较CK+T和 O_3 +T可以看出,在试验前期,高浓度 O_3 对土壤酶的影响不显著,但在小麦成熟期,高浓度 O_3 作用下土壤过氧化氢酶活性显著地高于开顶箱对照中酶活性, $P<0.05$ 。这可能是在环境胁迫下,植物受高浓度 O_3 的影响,间接地促进了土壤过氧化氢酶活性,这对防范 O_3 污染给农作物带来的负面效应具有积极意义^[22]。此外,过氧化氢酶还与有机质及微生物数量密切相关,王曙光等研究表明 O_3 浓度增加,作物生长后期根区土壤周围微生物数量减少,丛枝菌根数量下降,因此,影响土壤酶活性^[22]。

2.2 O_3 浓度增加对土壤多酚氧化酶、酚类物质累积及

相关关系的影响

众多的研究都指出,植物在高浓度 O_3 作用下会产生一些对自身不利的物质,主要是酚酸类物质,而多酚氧化酶是一种与土壤中酚类物质累积程度密切相关的酶^[19],因此,本试验研究高浓度 O_3 对土壤多酚氧化酶活性的影响是非常必要的。

由图2可以看出,在小麦整个生长期,多酚氧化酶活性呈现先降低后升高的趋势,在成熟期达到最大值。CK、CK+T、 O_3 +T处理下该酶活性在小麦成熟期比抽穗期分别高29.1%、30.1%、37.7%,差异极显著($P<0.01$)。这可能是小麦生长后期土壤中酚酸类物质大量积累^[23-26],而底物酚酸类物质的积累导致了土壤多酚氧化酶活性增加。这与张淑香、刘福德的研究结果一致^[26,27]。

在小麦成熟期多酚氧化酶活性高于OTC对照,达到显著水平($P<0.05$),说明高浓度 O_3 促进了土壤多酚氧化酶的活性。

其实土壤酚类化合物总量与多酚氧化酶活性二者存在相辅相成的关系,本文结果证实(图3),在 O_3 浓度升高条件下,土壤酚类化合物总量在小麦生长后期明显升高,与土壤中多酚氧化酶活性升高有很大关

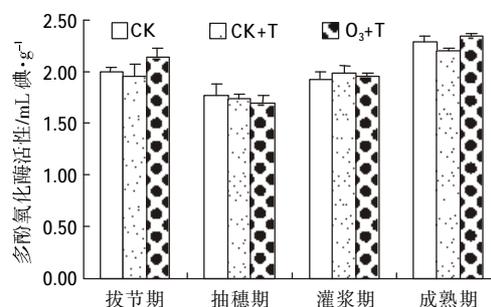


图2 O_3 浓度增加对多酚氧化酶活性的影响
Figure 2 Effect of elevated O_3 on polyphenol oxidase activity

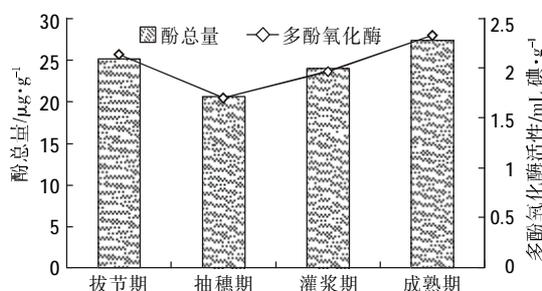


图3 O_3 浓度升高条件下土壤酚类化合物总量与多酚氧化酶活性之间关系

Figure 3 Correlation of soil phenolic compounds and polyphenol oxidase activity under elevated O_3

系,因为多酚氧化酶专一性很强,它的活性高会阻碍有机质矿化过程中产生的酚类中间产物进一步合成腐殖质,导致土壤中酚类化合物的积累^[28],经相关分析($r=0.625, n=23, P=0.015$),存在显著相关关系。

2.3 O₃浓度增加对土壤蔗糖酶的影响

转化酶是表征土壤生物学活性的重要酶,参与土壤碳水化合物的转化,如蔗糖酶,使蔗糖水解成葡萄糖和果糖,成为植物和微生物能够利用的营养物质,特别对以植物残体形式进入土壤的碳水化合物的生物化学转化起重要作用^[29,30]。

由图4可以看出,小麦在整个生长期,从拔节期到抽穗期的营养生长时期,蔗糖酶活性呈上升趋势,并在抽穗期达到最高值;但在灌浆期土壤蔗糖酶活性急剧下降,各处理酶活性分别比抽穗期降低60.8%、65.9%、66.3%,差异达到极显著水平($P<0.01$),并在成熟期趋于稳定。可能是由于小麦在抽穗期后,光合产物向麦穗里转运,加剧了根系和微生物对土壤养分的竞争,使土壤蔗糖酶底物受限,因而酶活性急剧下降。而陈光升等研究指出,多酚氧化酶活性与养分含量呈负相关关系^[31],在土壤蔗糖酶底物受限条件下,本文的结果恰恰是在小麦生长后期多酚氧化酶活性明显升高,是否也与土壤蔗糖酶底物有关?在O₃浓度升高条件下,这两种酶与养分之间关系还有待进一步研究。

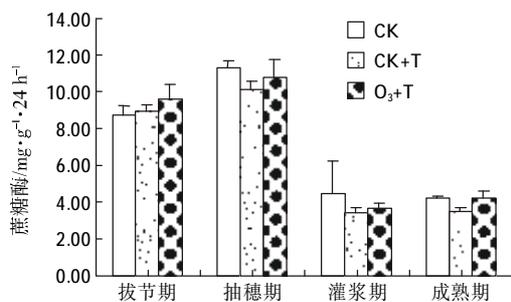


图4 O₃浓度增加对蔗糖酶活性的影响

Figure 4 Effect of elevated O₃ on invertase activity

由图4中CK+T和O₃+T比较可以看出,在高浓度O₃作用下,小麦各生育期土壤酶活性均高于OTCs对照,经统计分析,仅在成熟期差异显著($P<0.05$)。说明O₃对作物的负面作用间接地引起了蔗糖酶活性的变化,但其对地下过程的影响是一个长期积累的过程^[31],因此,在植物成熟期土壤酶活性才具有明显的变化。有研究报道,O₃浓度的增加促进了根系分泌物的形成,从而引起根区土壤微生物的影响,这样势必

导致土壤酶活性的改变^[31]。相关研究也表明高浓度O₃对土壤呼吸、土壤微生物等都有一定的影响。此外,可能O₃对农田土壤酶活性的影响与土壤水分条件也具有一定的相关性^[31,32],其关系有待进一步探讨。

3 小结

(1)在小麦整个生长期,室外对照处理中过氧化氢酶活性先升高后降低,在灌浆期达到最大值。这是在小麦生长后期,土壤肥力下降导致过氧化氢酶活性降低。同时随着作物生长逐渐转入成熟期,根系衰老、活力下降而导致根分泌物减少,因此,提供的微生物底物不足,也影响了酶的活性。

在开顶箱处理中,小麦生长前期,气室中温度是主要影响因子,较强地促进了过氧化氢酶活性,而O₃的作用不显著。在成熟期,高浓度O₃作用下土壤过氧化氢酶活性显著地高于开顶箱对照中酶活性($P<0.05$)。

(2)根区土壤多酚氧化酶活性呈现先降低后升高的趋势,在小麦生长成熟期达到最大值。小麦生长后期土壤养分含量很低,导致多酚氧化酶活性增高,二者呈负相关关系。

大气O₃浓度增加,根区土壤酚类物质累积量增多,刺激多酚氧化酶活性增加,在小麦生长成熟期O₃对作物伤害最大,土壤多酚氧化酶活性达到最大值。此外,实验得出,在O₃浓度增加情况下,小麦生长后期土壤酚总量升高,变化趋势和土壤多酚氧化酶活性相一致。二者呈显著正相关关系, $r=0.625, n=12, P=0.015^{**}$ 。

(3)土壤蔗糖酶活性与土壤养分显著相关,小麦灌浆期和成熟期时土壤养分缺乏而导致蔗糖酶活性显著下降。

在高浓度O₃作用下,小麦各生育期土壤酶活性均高于室内对照,经统计分析,仅在成熟期差异显著($P<0.05$)。

实验表明,高浓度O₃通过对植物的作用,间接地影响了土壤酶的活性。因此,其对地下过程的影响是一个长期积累的过程,所以有关O₃的累积效应有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] IPCC. Third Assessment Report—Climate change 2001: The Scientific Basis[M]. Cambridge UK: Cambridge University Press, 2001.
- [2] Ashmore M R, Bell J N B. The role of ozone in global change[J]. *Ann Bot*, 1991, 67: 39–48.
- [3] Hertstein V, Grunhage L, Jayer H J. Assessment of past, present and fu-

- ture impacts of ozone and carbon dioxide on crop yields [J]. *Atmos*, 1995, 29 (16): 2031–2039.
- [4] 王春乙, 白月明, 郑昌玲, 等. CO₂ 和 O₃ 浓度倍增对作物影响的研究进展[J]. *气象学报*, 2004, 62(5): 875–881.
- [5] 金明红, 冯宗炜. 臭氧对冬小麦叶片膜保护系统的影响[J]. *生态学报*, 2000, 20(4): 444–447.
- [6] 郭建平, 高素华. 土壤水分对冬小麦影响机制研究[J]. *气象学报*, 2003, 61(4): 501–506.
- [7] 周广胜, 王玉辉, 白莉萍, 等. 陆地生态系统与全球变化相互作用的研究进展[J]. *气象学报*, 2004, 62 (5): 692–707.
- [8] 王守荣, 达庆利, 黄凤喜. 中国农业受灾与成灾面积预测研究[J]. *气象学报*, 2003, 61 (1): 106–115.
- [9] Wang Chunyi, Bai Yueming, Guo Jianping, et al. Impacts of ozone concentration changes on crops and vegetables in China [J]. *ACTA Meteor Sinica*, 2004, 18(1): 105–116.
- [10] 黄 辉, 王春乙, 白月明, 等. O₃ 与 CO₂ 浓度倍增对大豆叶片及其总生物量的影响研究[J]. *中国生态农业学报*, 2005, 13(4): 52–55.
- [11] 董文霞, 陈宗懋. 大气臭氧浓度升高对植物及其昆虫的影响[J]. *生态学报*, 2006, 26(1): 3878–3884.
- [12] Yang W Q, Wang K Y. Advances on soil enzymology [J]. *Chinese Journal Applied Environment and Biology*, 2002, 8(5): 564–570.
- [13] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986. 249–251.
- [14] Yong-Ki Lee, Sang Mok Kim, Sanghwa Han. Ozone-induced inactivation of antioxidant enzymes[J]. *Biochimie*, 2003, 85: 947–952.
- [15] Pierre D. Effects of ozone on the carbon metabolism of forest trees plant physiology [J]. *Biochem*, 2001, 39: 729–742.
- [16] Yu J Q, Matsui Y. Phytotoxic substances in root exudates of cucumber [J]. *Chem Col*, 1994, 20(1): 21–31.
- [17] Inclan R, Gimeno B S. Compensation processes of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) to ozone exposure and drought stress[J]. *Environmental Pollution*, 2005, 137: 517–524.
- [18] 白月明, 王春乙. 大豆对臭氧、二氧化碳及其复合效应的响应[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(3): 545–549.
- [19] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京: 科学出版社, 1987. 266–270.
- [20] 何念祖. 浙江省几种水稻土的酶活性及其与土壤肥力的关系[J]. *浙江农业大学学报*, 1986, 12(1): 43–47.
- [21] 熊明彪. 小麦生长期土壤养分与土壤酶活性变化及其相关性研究[J]. *水土保持学报*, 2003, 17(4): 27–30.
- [22] 王曙光, 冯兆忠. 大气臭氧浓度升高对丛枝菌根 (AM) 及其功能的影响[J]. *环境科学*, 2006, 27(9): 1872–1877.
- [23] Wu Yue-xuan, Andreas von Tiedemann. Impact of fungicides on active oxygen species and antioxidant enzymes in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to ozone[J]. *Environmental Pollution*, 2002, 116: 37–47.
- [24] Sinsabaugh R L, et al. Soil microbial activity in a Liquidambar plantation unresponsive to CO₂-driven increases in primary production[J]. *Applied Soil Ecology*, 2003, 24: 263–271.
- [25] Manninen Anne-Marja, et al. The role of low-level ozone exposure in chemical quality and insect herbivore performance on Scots pine seedlings [J]. *Global Change Biology*, 2000, 6(1): 111–121.
- [26] 张淑香, 高子勤, 刘海玲. 连作障碍与根际微生态研究: III. 土壤酚酸类物质及其生物学效应[J]. *应用生态学报*, 2000, 11(5): 741–744.
- [27] 刘福德, 姜岳忠, 刘颜泉. 连作 1–107 杨树无性系苗圃地的土壤酶活性特征[J]. *中国水土保持科学*, 2005, 3(2): 119–124.
- [28] Penuealas J, et al. Variety of response of plant phenolic concentration[J]. *Exp Bio*, 1996, 47(302): 1463–1467.
- [29] 严昶升. 土壤肥力研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1988. 263–269.
- [30] Inclan R, Gimeno B S. Compensation processes of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) to ozone exposure and drought stress[J]. *Environment Pollution*, 2005, 137: 517–524.
- [31] 陈 展, 王效科. 臭氧对生态系统地下过程的影响[J]. *生态学杂志*, 2007, 26(1): 121–125.
- [32] 陈光升, 钟章成, 齐代华. 缙云山常绿阔叶林土壤酶活性与土壤肥力的关系[J]. *四川师范学院学报*, 2002, 23(1): 19–23.