

# 微生物降解植物化感物质酚酸的研究进展

张春杨\*, 赵倩, 刘红, 王学, 马钦元\*

山东理工大学生命与医药学院, 山东 淄博 255049

张春杨, 赵倩, 刘红, 王学, 马钦元. 微生物降解植物化感物质酚酸的研究进展[J]. 微生物学通报, 2024, 51(2): 402-418.

ZHANG Chunyang, ZHAO Qian, LIU Hong, WANG Xue, MA Qinyuan. Research advances in microbial degradation of phenolic acids with allelopathic effects[J]. Microbiology China, 2024, 51(2): 402-418.

**摘要:**近年来,农作物连作障碍问题日益严重,给农业生产和可持续发展带来十分不利的影响。连作障碍成因复杂,其中植物化感物质酚酸的毒性作用是重要因素,而消除酚酸最经济、环保、有效的方法是生物防治法。本文综合阐述了利用微生物降解植物化感物质酚酸的菌株资源、酚酸底物范围和降解效果,进而分析论述了微生物降解主要酚酸阿魏酸、香草酸、丁香酸、原儿茶酸等的代谢途径、关键酶及分子机制,推进了对酚酸降解机制的系统认识。在此基础上,阐述了酚酸降解菌在优化作物根际微环境、缓解作物连作障碍及农业资源利用等方面的应用,提出了存在的问题和展望,为深入研究和开发应用微生物资源解决连作障碍等问题、促进现代农业可持续发展提供理论参考。

**关键词:**连作障碍; 酚酸; 微生物; 生物降解; 分子机制

## Research advances in microbial degradation of phenolic acids with allelopathic effects

ZHANG Chunyang\*, ZHAO Qian, LIU Hong, WANG Xue, MA Qinyuan\*

School of Life Sciences and Medicine, Shandong University of Technology, Zibo 255049, Shandong, China

**Abstract:** In recent years, continuous cropping obstacles have become increasingly serious, leading to adverse impacts on agricultural production and sustainable development. The causes of these obstacles are complex, in which phenolic acid toxicity is a key factor. The most economical, environmentally friendly, and effective method for removing phenolic acids is biological control. In this review, the microorganisms involved in phenolic acid degradation and their phenolic acid substrate ranges were investigated. The metabolic pathways, key enzymes, and molecular mechanisms of ferulic, vanillic, syringic, and protocatechuic acid degradation

资助项目: 山东省自然科学基金(ZR2021MC162, ZR2021MC063)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2021MC162, ZR2021MC063).

\*Corresponding authors. E-mail: ZHANG Chunyang, zhangcy@sdut.edu.cn; MA Qinyuan, Qyma@sdut.edu.cn

Received: 2023-07-19; Accepted: 2023-09-20; Published online: 2023-10-16

were reviewed, which enriched the knowledge of the degradation process. Furthermore, we discussed the application of phenolic acid-degrading microorganisms in improving crop rhizosphere and alleviating continuous cropping obstacles and presented the existing problems and prospects, aiming to provide a theoretical reference for further research and development. This review provides a knowledge base for the application of microbial resources in addressing continuous cropping obstacles and promoting the sustainable development of modern agriculture.

**Keywords:** continuous cropping obstacles; phenolic acids; microorganisms; biodegradation; molecular mechanism

随着社会经济的发展,农作物规模化种植越来越普遍,相伴而来的连作障碍(continuous cropping obstacles)问题日益严重。连作障碍是指连续在同一土壤上栽培同种或近缘作物引起的作物生长发育不良和产量、品质下降,以及极端情况下局部死苗、不发苗或发苗不旺等情况,这不仅影响了农作物的质量和产量,而且影响着农业生态安全和可持续发展<sup>[1-2]</sup>。导致农作物连作障碍的原因和机理复杂,主要与土壤养分下降和理化性质恶化、植物化感物质自毒作用和土壤微生物区系失衡等因素有关<sup>[1]</sup>。植物组织可以产生化感物质,通过残渣分解、根系渗出和地上部淋滤等方式释放,到达根际并在土壤中积累,进而产生化感作用(allelopathy);其中,对同种植物生长产生的抑制作用又称自毒作用(autotoxicity)<sup>[3-4]</sup>。化感物质自毒作用是引起连作障碍的重要因素<sup>[5]</sup>。

目前发现的化感物质包括酚酸、羟肟酸、其他有机酸和挥发性物质,其中以酚酸类化合物最为常见<sup>[6-8]</sup>。黄瓜(*Cucumis sativus*)、花生(*Arachis hypogaea*)、大豆(*Glycine max*)、三七(*Panax notoginseng*)、地黄(*Rehmannia glutinosa*)和草莓(*Fragaria ananassa*)等植物能产生化感物质酚酸,如香草酸(vanillic acid)、肉桂酸(cinnamic acid)、阿魏酸(ferulic acid)、对羟基苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid)、香豆酸(coumaric acid)、原儿茶酸(protocatechuic acid)、邻苯二甲酸

(phthalic acid)、丁香酸(syringic acid)和苯甲酸(benzoic acid)等<sup>[6]</sup>。土壤中积累的酚酸对易感植物、病原菌和根际微生态具有重要影响。酚酸可影响植物营养吸收、抑制光合作用、破坏暗呼吸和 ATP 合成、影响细胞分裂等,从而抑制植物生长<sup>[3,9]</sup>。李培栋等<sup>[10]</sup>研究发现,连作花生土壤中对羟基苯甲酸、香草酸和香豆酸的含量随着连作年限的增加而增加,酚酸不仅抑制花生生长发育,还增加花生发病率,可能是因为酚酸破坏花生细胞膜的完整而使病原菌入侵,从而影响花生生长,产生连作障碍。酚酸可影响土壤微生物区系组成和生理代谢,进而影响植物生长和健康<sup>[11-12]</sup>。酚酸还能诱导土源病原真菌的生长和毒素产生。例如,地黄的根际酚酸可以诱导致病菌尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)的菌丝生长和毒素 3-乙酰脱氧瓜萎镰菌醇、15-O-乙酰-4-脱氧瓜萎镰菌醇的产生<sup>[6]</sup>。在土壤中鉴定出的酚类化合物中,香草酸和阿魏酸对尖孢镰刀菌生长的刺激作用最大<sup>[6]</sup>。此外,人们发现单独的阿魏酸和丁香酸等能刺激尖孢镰刀菌产生镰刀酸,从而引发三七根腐病<sup>[5]</sup>。

去除酚酸对缓解连作障碍具有重要作用,目前去除酚酸的方法有客土、化学药剂处理、生物炭吸附、生物炭-化学氧化剂协同处理和微生物降解等<sup>[13-15]</sup>。与其他方法相比,微生物降解具有适用范围广、无化学污染、成本低、效果持久等优点,给农业生产带来新的生机<sup>[16-17]</sup>。

然而,近年来尚缺乏关于微生物降解酚酸的系统综述,因此,本文综述了利用微生物降解化感物质酚酸的研究进展,分析了酚酸降解菌资源及其降解酚酸的种类,论述了主要酚酸降解的分子机制,总结了酚酸降解菌在农业领域的应用,以期对连作障碍防治等提供参考和支持。

## 1 降解化感物质酚酸的微生物

土壤微生物在改变土壤环境方面发挥重要

作用并影响植物的生长发育和健康。筛选有效的酚酸降解菌是开发连作土壤改良菌剂的前提基础。目前发现降解酚酸的微生物包括种类繁多的细菌、真菌等,见表1。

### 1.1 降解酚酸的主要细菌

多类细菌可以降解酚酸。假单胞菌属(*Pseudomonas*)的细菌分解代谢能力很强,可以分解复杂程度不同的芳香族化合物,包括酚酸。分离自土壤的假单胞菌(*Pseudomonas*) HR199

表1 降解化感物质酚酸的微生物

Table 1 Microorganisms degrading allelopathic phenolic acids

Microorganisms	Phenolic acids degradation	References
<b>Bacteria</b>		
<i>Pseudomonas</i> sp., <i>P. putida</i>	Ferulic acid, vanillic acid, protocatechuic acid	[18-19]
<i>P. putida</i> , <i>P. huanensis</i>	Phthalic acid, ferulic acid, <i>p</i> -hydroxybenzoic acid, syringic acid	[20]
<i>P. putida</i>	Vanillic acid, <i>p</i> -hydroxybenzoic acid, ferulic acid, cinnamic acid	[21]
<i>P. fluorescens</i>	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	[22]
<i>Sphingobium</i> sp.	Ferulic acid, vanillic acid, syringic acid, protocatechuic acid	[23]
<i>Novosphingobium aromaticivorans</i>	<i>p</i> -coumaric acid, ferulic acid, <i>p</i> -hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, syringic acid, vanillic acid	[24]
<i>Streptomyces olivochromogenes</i>	Ferulic acid, cinnamic acid, benzoic acid, vanillic acid, <i>p</i> -hydroxybenzoic acid, <i>p</i> -hydroxycinnamic acid, protocatechuic acid	[25]
<i>Streptomyces canus</i>	Ferulic acid, <i>p</i> -hydroxybenzoic acid	[17]
<i>Arthrobacter</i> sp.	Ferulic acid	[26]
<i>Stenotrophomonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Ensifer</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Cupriavidus</i>	Cinnamic acid, <i>p</i> -hydroxybenzoic acid, 4-hydroxycoumarin, <i>p</i> -methoxybenzoic acid	[27]
<i>Sphingomonas caeni</i>	Benzoate, <i>p</i> -hydroxybenzoate, protocatechuate, vanillate	[28]
<i>Enterobacter hormaechei</i>	Coumaric acid	[29]
<i>Bacillus</i>	Benzoic acid, salicylic acid, <i>p</i> -hydroxybenzoic acid	[30]
<b>Fungi</b>		
<i>Endomycopsis</i> sp., <i>Asperigillus orazge</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>Oznyun</i> sp., <i>Papulaspora</i> sp.	Ferulic acid, <i>p</i> -hydroxybenzoic acid	[31]
<i>Aspergillus niger</i>	Ferulic acid, coumaric acid, gallic acid, protocatechuic acid	[32]
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid, vanillic acid, ferulic acid	[33]
<i>Basidiomycete yeast</i> sp., <i>Aspergillus oryzae</i>	Ferulic acid, benzoic acid, <i>p</i> -hydroxybenzoic acid, cinnamic acid	[34]
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid, vanillic acid, ferulic acid, benzoic acid, 3-phenylpropionic acid, cinnamic acid	[35]
<i>Penicillium daleae</i>	Ferulic acid, vanillic acid	[25]
<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid, vanillic acid, ferulic acid, <i>p</i> -coumaric acid, benzoic acid	[4]

菌株和恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*) CSV86 菌株都可以降解阿魏酸、香草酸和原儿茶酸<sup>[18-19]</sup>。Wang 等<sup>[20]</sup>从土壤中筛选到 5 株有效降解邻苯二甲酸、阿魏酸、对羟基苯甲酸和丁香酸的假单胞菌属菌株,分别为恶臭假单胞菌(*P. putida*)菌株 7、8 和湖南假单胞菌(*Pseudomonas huanensis*)菌株 9-11,在液体条件下 36 h 以上 4 种酚酸的降解率分别为 83.63%-99.58%、85.73%-99.06%、99.42%、63.32%-66.35%,将降解效果最好的恶臭假单胞菌 7 和湖南假单胞菌 10 接种于土壤,能降低酚酸对百合(*Lilium brownii* var. *viridulum*)、西瓜(*Citrullus lanatus*)、杨树(*Populus* L.)和草莓幼苗生长的抑制作用,促进植物生长。张春杨等<sup>[21]</sup>以香草酸为底物从连作花生土壤中分离到一株酚酸降解菌 V-5,经鉴定为恶臭假单胞菌,该菌可以降解香草酸、对羟基苯甲酸、阿魏酸、肉桂酸和丁香酸等多种酚酸化合物,其中降解香草酸和对羟基苯甲酸的效果最好,5 d 的降解率分别达 99.93%和 99.85%,该菌具有较宽的酚酸底物范围,因而有较大的应用潜力。Zhu 等<sup>[22]</sup>从武夷岩茶连续种植 32 年的土壤中分离了一株对羟基苯甲酸降解菌 ZL22,经鉴定为荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*),该菌可以耐受高浓度(5 g/L)的对羟基苯甲酸,在最佳条件下 7 d 内可以全部降解,ZL22 在缓解连作障碍方面也具有较大潜力。鞘脂菌(*Sphingobium* sp.) SYK-6 是降解底物多样化的一株细菌,它是以木质素中的联苯化合物 5,5'-脱氧联香草酸为唯一碳源、从造纸厂废水中分离出来的木质素化合物降解菌,不仅可以降解联芳基化合物和芳醚,还可降解芳基化合物如阿魏酸、香草酸和丁香酸等酚酸<sup>[23]</sup>。分离自海岸平原亚表层沉积物的食芳烃新鞘脂菌(*Novosphingobium aromaticivorans*)可以分解香豆酸、阿魏酸、对羟基苯甲酸、原儿茶酸、

丁香酸和香草酸等酚酸<sup>[24]</sup>。刘云露<sup>[25]</sup>从黄连(*Coptis chinensis*)根际土壤中筛选的橄榄色链霉菌(*Streptomyces olivochromogenes*) A035 具有降解多种酚酸的能力,可降解利用阿魏酸、肉桂酸、苯甲酸、香草酸、对羟基苯甲酸、对羟基肉桂酸和原儿茶酸等;另外,A035 对土壤环境下的阿魏酸也具有降解效果,24 d 将土壤中的阿魏酸几乎完全降解,有效加快土壤中阿魏酸的降解速度。这表明它具有制备土壤酚酸降解菌剂的潜力。Wu 等<sup>[17]</sup>从连作黄瓜的根际土壤中分离到一株暗灰链霉菌(*Streptomyces canus*) GLY-P2,该菌可以降解黄瓜根际的阿魏酸和对羟基苯甲酸,研究表明 GLY-P2 对这两种酚酸的最佳降解条件为 40 °C、pH 7.0 和 0.2 g/L 的阿魏酸与对羟基苯甲酸混合物。李敏等<sup>[26]</sup>从连作西瓜土壤中分离筛选到一株阿魏酸降解菌 J6,经鉴定为节杆菌属(*Arthrobacter*)细菌,其降解体系在 0.30% NaCl 或 0.30% NaHCO<sub>3</sub> 单独存在以及 0.30% NaCl 和 0.30% NaHCO<sub>3</sub> 共存时,菌株 J6 的生长基本不受影响,在 9 h 内对阿魏酸的降解率可达 90%以上。杨焱<sup>[27]</sup>从黄芪(*Astragalus membranaceus*)根际土壤中筛选到 5 株酚酸降解菌,经鉴定分别为寡养单胞菌(*Stenotrophomonas* sp.) B7、假单胞菌 X1、链霉菌 R4、剑菌(*Ensifer* sp.) B6 和贪铜菌(*Cupriavidus* sp.) R3,它们可以降解肉桂酸、对羟基苯甲酸、4-羟基香豆素和对甲氧基苯甲酸,其中寡养单胞菌 B7 降解对羟基苯甲酸的效率最高,3 d 降解率可达 95%。Liu 等<sup>[28]</sup>从农药厂活性污泥中分离到一株酚酸降解菌 LB-2<sup>T</sup>,该菌为一个新种,命名为污泥鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas caeni*),该菌可以降解苯甲酸、对羟基苯甲酸、原儿茶酸和香草酸。此外,有的霍氏肠杆菌(*Enterobacter hormaechei*)、芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)等也可以降解酚酸化合物<sup>[29-30]</sup>。

## 1.2 降解酚酸的主要真菌

真菌也是酚酸的有效降解者。何绍江等<sup>[31]</sup>从杉木林土壤中分离筛选到 5 株高效解酚酸真菌：拟内孢霉(*Endomycopsis* sp.) F2、米曲霉(*Aspergillus oryzae*) F3、青霉(*Penicillium* sp.) F4、束丝霉(*Oznyun* sp.) F7 和团丝核菌(*Papulaspora* sp.) F15, 这 5 株菌对阿魏酸、对羟基苯甲酸都具有良好的降解作用, 菌株 F4 和 F3 作用 3 d、菌株 F2 和 F15 作用 5 d 能将 600 mg/L 的阿魏酸完全降解, 菌株 F7 的降解率为 91.3%, 菌株 F4、F3、F2、F7 作用 3 d 和菌株 F15 作用 4 d 能将 600 mg/L 的对羟基苯甲酸完全降解。来自印度中央食品技术研究院食品微生物学部菌种保藏中心的黑曲霉(*Aspergillus niger*) CFR 1105 能降解阿魏酸、香豆酸、没食子酸和原儿茶酸, 其中没食子酸和原儿茶酸在 96 h 可以被完全降解<sup>[32]</sup>。白腐真菌黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*) (河南农业大学生命科学学院实验室保藏) 对对羟基苯甲酸、香草酸及阿魏酸具有较高的降解率, 在摇瓶培养条件下, 8 d 时这 3 种酚酸的降解率均达到 99% 以上, 施入黄瓜连作土壤后, 土壤中这 3 种酚酸的含量都下降, 降解率达 54.46%, 修复处理后的黄瓜根部病害明显减轻, 表明施加黄孢原毛平革菌能够减轻黄瓜连作障碍<sup>[33]</sup>。王宗芹<sup>[34]</sup>从二代杨树人工林根际土壤中筛选出 4 株能较好降解阿魏酸、苯甲酸、对羟基苯甲酸和肉桂酸的降解菌, 经序列同源性分析, 鉴定其中 2 株为真菌, 分别为担子酵母(*Basidiomycete yeast* sp.) F2 和米曲霉(*Aspergillus oryzae*) F3, 其中米曲霉 F3 对肉桂酸的降解效果最好, 24 h 降解率达 94%。Chen 等<sup>[35]</sup>用分离自中药渣堆肥的哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*) SQR-T037 处理添加混合酚酸(4-羟基苯甲酸、香草酸、阿魏酸、苯甲酸、3-苯基丙酸和肉桂酸等)的马铃薯葡萄糖肉汤, 经过

170 h 的培养, 0.2 g/L 的混合酚酸可被菌株 SQR-T037 完全降解。刘云露<sup>[25]</sup>对黄连根际土壤中筛选到的真菌齿孢青霉(*Penicillium daleae*) F-0056 进行酚酸降解实验, 发现能有效分解培养液中的阿魏酸和香草酸; 菌株 F-0056 对土壤环境下的阿魏酸也具有降解效果, 作用 24 d 土壤中的阿魏酸几乎被完全分解。

Wang 等<sup>[4]</sup>从平菇菌糠中分离的平菇(*Pleurotus ostreatus*) P5 可以有效降解混合酚酸(含有对羟基苯甲酸、香草酸、阿魏酸、对香豆酸和苯甲酸), 在 400 mg/L 的浓度范围内培养 96 h, 混合酸可以被平菇 P5 完全降解, 降解率达 100%, 这说明利用大型真菌处理酚酸也可以取得很好的效果。这些菌株的发现丰富了降解酚酸类化感物质的微生物资源, 为深入研究、利用酚酸降解菌提供了理论依据和菌种支持。

## 2 微生物降解不同酚酸的分子机制

在微生物的作用下, 酚酸分子苯环上的取代基较易发生脱羧、氧化和羟基化等生化反应, 从而将大分子的酚酸降解转化为小分子的酚酸或其他含苯环的化合物<sup>[36]</sup>。本文主要对常见酚酸如阿魏酸、香草酸、丁香酸和原儿茶酸等的降解机制进行综述。

### 2.1 阿魏酸的降解机制

阿魏酸是目前发现分布很广泛的一种酚酸<sup>[25]</sup>。在已经获得的阿魏酸降解菌中, 发现有两种类型的阿魏酸侧链裂解方式。一种类型由非氧化脱羧酶催化, 其从阿魏酸侧链上消去一个碳形成 4-羟基-3-甲氧基苯乙烯; 另一种类型则从阿魏酸侧链上消去两个碳生成香草醛, 香草醛是一种有价值的香料, 因而该反应途径中涉及的酶成为人们关注的焦点<sup>[23]</sup>。参与侧链降解反应的两种酶已在

假单胞菌 HR199、恶臭假单胞菌 CSV86、恶臭假单胞菌 CFA 和拟无枝酸菌(*Amycolatopsis* sp.) ATCC 39116 等菌株<sup>[18-19,37-38]</sup>中被报道。其中,阿魏酰辅酶 A 合成酶(编码基因为 *fcs*)在 ATP 和  $Mg^{2+}$  存在的条件下催化辅酶 A (coenzyme A, CoA)转移到阿魏酸羧基上生成阿魏酰辅酶 A,后者被烯酰辅酶 A 水合酶/醛缩酶(阿魏酰辅酶 A 水合酶/裂解酶)(编码基因为 *ech*)转化生成 4-羟基-3-甲氧基苯基- $\beta$ -羟丙酰辅酶 A (4-hydroxy-3-methoxyphenyl- $\beta$ -hydroxypropionyl-CoA, HMPHP-CoA), HMPHP-CoA 进一步裂解生成香草醛和乙酰辅酶 A,香草

醛被香草醛脱氢酶氧化生成香草酸<sup>[23,37]</sup> (图 1A)。不同菌株中该反应途径的酶基因在基因组上成簇排列,如图 2 所示<sup>[19,38-39]</sup>。

鞘脂菌 SYK-6 也通过相似途径降解阿魏酸生成香草酸,然后进一步降解(图 3)<sup>[40-41]</sup>。有研究获得了 SYK-6 的一个 Tn5 突变体,它能在香草酸上生长而不能在阿魏酸上生长,此外分离了一个能补充阿魏酸突变体生长缺陷的粘粒克隆子,通过功能研究,鉴定了鞘脂菌 SYK-6 的阿魏酰辅酶 A 合成酶基因(*ferA*)和阿魏酰辅酶 A 水合酶/裂解酶基因(*ferB*)<sup>[40]</sup>。FerA 的阿魏酰

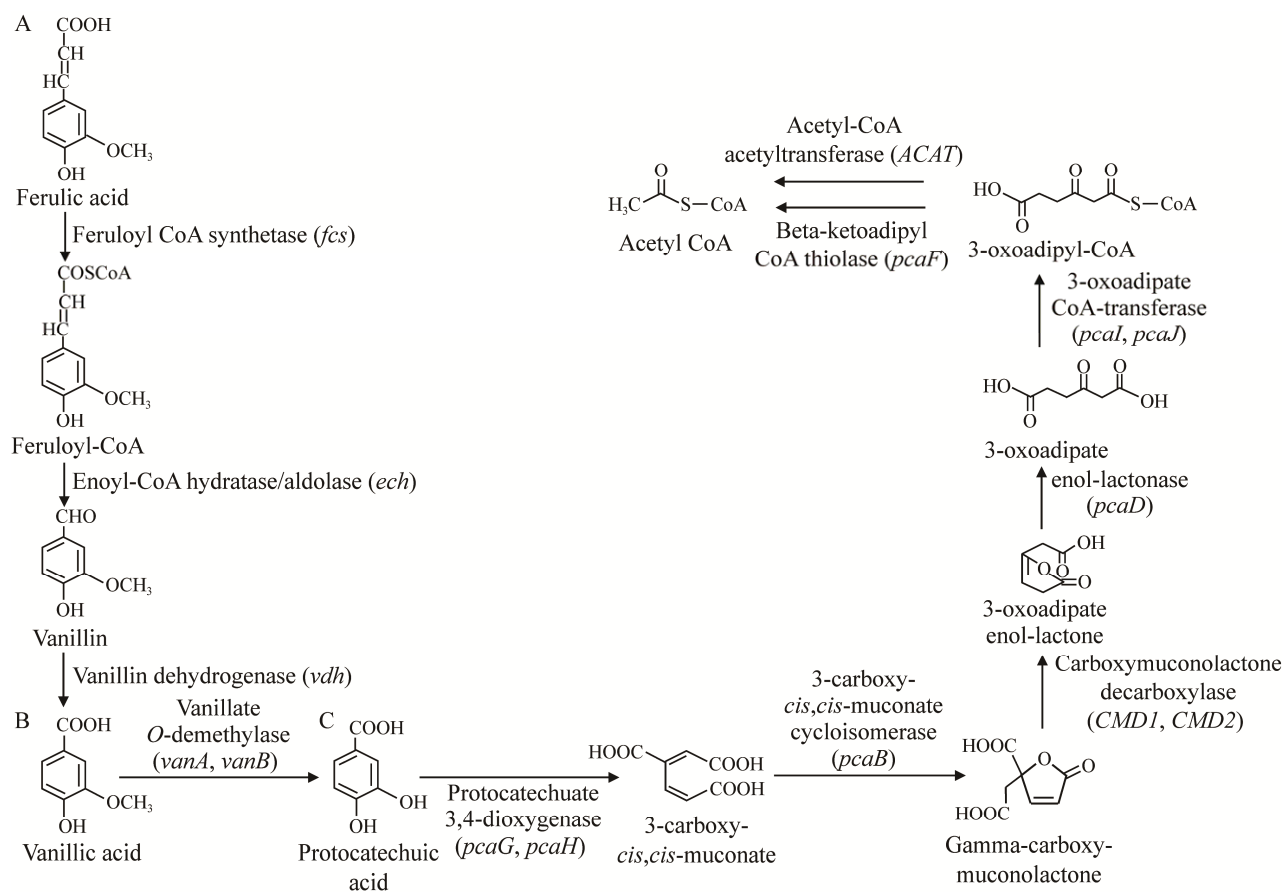


图 1 恶臭假单胞菌 CFA 阿魏酸及下游酚酸的降解途径<sup>[37]</sup> A: 阿魏酸降解. B: 香草酸降解. C: 原儿茶酸降解. 括号中是相应酶的编码基因

Figure 1 Degradation pathway of ferulic acid as well as the downstream phenolic acids in *Pseudomonas putida* CFA<sup>[37]</sup>. A: Ferulic acid degradation. B: Vanillic acid degradation. C: Protocatechuic acid degradation. The proposed gene(s) encoding respective enzymes are given in the parentheses.

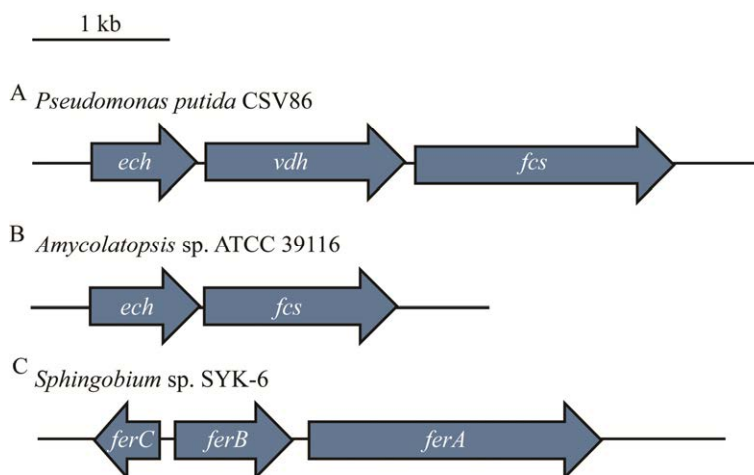


图 2 不同细菌阿魏酸降解基因的组织<sup>[19,38-39]</sup> A: 恶臭假单胞菌 CSV86. B: 拟无枝酸菌 ATCC 39116. C: 鞘脂菌 SYK-6. *ech*: 烯酰辅酶 A 水合酶/醛缩酶基因; *vdh*: 香草醛脱氢酶基因; *fcs*、*ferA*: 阿魏酰辅酶 A 合成酶基因; *ferB*: 阿魏酰辅酶 A 水合酶/裂解酶基因; *ferC*: MarR 型转录调控因子基因

Figure 2 Organization of ferulate catabolic genes in different bacteria<sup>[19,38-39]</sup>. A: *Pseudomonas putida* CSV86. B: *Amycolatopsis* sp. ATCC 39116. C: *Sphingobium* sp. SYK-6. *ech*: Gene coding enoyl-CoA hydratase/aldolase; *vdh*: Gene coding vanillin-dehydrogenase; *fcs*, *ferA*: Gene coding feruloyl-CoA synthetase; *ferB*: Gene coding feruloyl-CoA hydratase/lyase; *ferC*: Gene coding MarR-type transcriptional regulator.

辅酶 A 合成酶活性只有在 CoA、Mg<sup>2+</sup>和 ATP 存在的条件下才能检测到; FerA 能以相似的速率转化阿魏酸、对香豆酸、咖啡酸和芥子酸; 阿魏酸、对香豆酸、咖啡酸和芥子酸分别通过 FerA 催化的 CoA 连接和 FerB 催化的水合裂解生成香草醛、对羟基苯甲醛、原儿茶醛和丁香醛<sup>[23]</sup>。此外, 该菌还具有一个 *ferB* 的同源基因 *ferB2*, *ferB2* 与 *ferB* 推导的氨基酸序列具有 49% 的相似性, *ferB2* 基因产物的底物特异性也与 FerB 类似<sup>[23]</sup>。这说明鞘脂菌降解阿魏酸有更充裕的酶基因保障。在基因组上, *ferAB* 基因存在于一个操纵子内<sup>[39-40]</sup>, 在 *ferB* 基因附近有一个调控基因 *ferC* (图 2C), 其编码产物 FerC 是 MarR 型调控蛋白, 可负调控 *ferBA* 操纵子的转录。

## 2.2 香草酸的降解机制

香草酸是大分子酚酸降解的初步产物, 也是植物连作障碍的主要化感酚酸之一<sup>[6,16,24]</sup>。在

香草酸降解机制研究中, 目前发现主要有两类香草酸脱甲基酶发挥作用。一类是两蛋白组分的香草酸脱甲基酶(VanA 和 VanB), 它是 IA 类加氧酶, 由含铁结合位点和 Rieske [2Fe-2S]簇的加氧酶、含黄素、[2Fe-2S]氧化还原中心的还原酶组成<sup>[42-43]</sup>。该酶将香草酸脱甲基为原儿茶酸(图 1B)<sup>[37]</sup>。假单胞菌的香草酸脱甲基酶由 VanA 和 VanB 组成, 其编码基因 *vanA* 和 *vanB* 串联在一起, 通过一个启动子共转录<sup>[19]</sup>。Priefert 等<sup>[42]</sup>将参与假单胞菌 HR199 (DSM 7063)转化香草醛为原儿茶酸的基因 *vdh*、*vanA* 和 *vanB* 分别鉴定为一个香草醛脱氢酶(Vanillin dehydrogenase, VDH)和一个香草酸脱甲基酶的两个亚基(VanA、VanB)的结构基因。在 pBluescript SK2 中克隆的 E230 片段可在大肠杆菌表达并将香草醛经由香草酸转化为原儿茶酸, 表明 *vdh*、*vanA* 和 *vanB* 在大肠杆菌中具有功能; 将 *vanA*、*vanB*



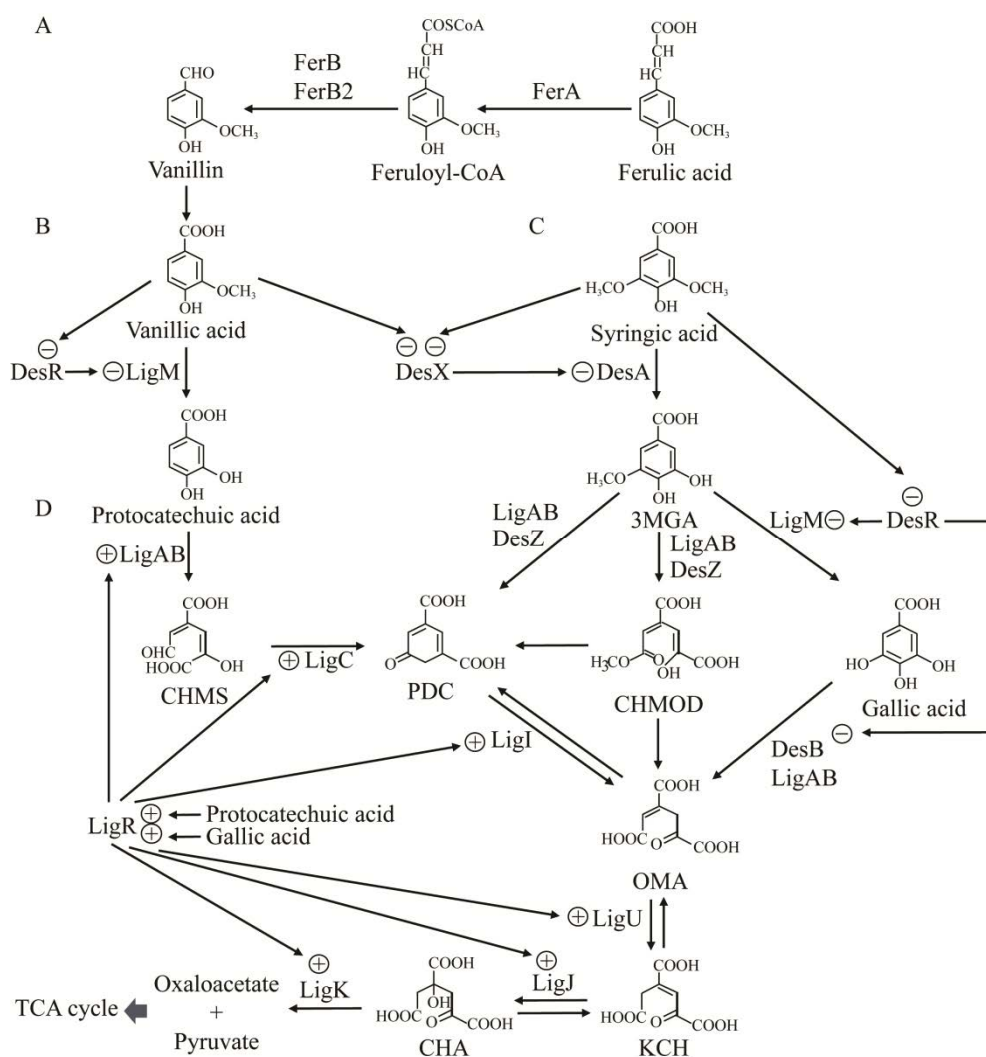


图3 鞘脂菌 SYK-6 对不同酚酸的降解途径和分子调控机制<sup>[40-41]</sup> A: 阿魏酸降解. B: 香草酸降解. C: 丁香酸降解. D: 原儿茶酸和其他相关酚酸的降解. FerA: 阿魏酰辅酶 A 合成酶; FerB、FerB2: 阿魏酰辅酶 A 水合酶/裂解酶; LigM: 香草酸/3MGA O-脱甲基酶; LigAB: 原儿茶酸 4,5-双加氧酶; LigC: 4-羧基-2-羟基粘糠酸-6-半醛脱氢酶; LigI: 2-吡喃酮-4,6-二羧酸水解酶; LigU: 4-草酰中糠酸  $\delta$ -异构酶; LigJ: 2-酮-4-羧基-3-己烯二酸水合酶; LigK: 4-羧基-4-羟基-2-氧代己二酸醛缩酶; DesA: 丁香酸 O-脱甲基酶; DesZ: 3MGA 3,4-双加氧酶; DesB: 没食子酸双加氧酶; DesX: IclR 型调控因子; DesR: MarR 型调控因子; LigR: LysR 型调控因子; TCA: 三羧酸

Figure 3 Degradation pathway and molecular regulation mechanisms of different phenolic acids in *Spingobium* sp. SYK-6<sup>[40-41]</sup>. A: Ferulic acid degradation. B: Vanillic acid degradation. C: Syringic acid degradation. D: Degradation of protocatechuic acid and other related phenolic acids. FerA: Feruloyl-CoA synthetase; FerB, FerB2: Feruloyl-CoA hydratase/lyase; LigM: Vanillate/3MGA O-demethylase; LigAB: PCA (protocatechuic acid) 4,5-dioxygenase; LigC: CHMS (4-carboxy-2-hydroxy-6-semialdehyde) dehydrogenase; LigI: PDC (2-pyrone-4,6-dicarboxylate) hydrolase; LigU: OMA (4-oxalomesaconate)  $\delta$ -isomerase; LigJ: KCH (2-keto-4-carboxy-3-hexenedioate) hydratase; LigK: CHA (4-carboxy-4-hydroxy-2-oxoadipate) aldolase; DesA: Syringate O-demethylase; DesZ: 3MGA 3,4-dioxygenase; DesB: Gallate dioxygenase; DesX: IclR-type regulator; DesR: MarR-type regulator; LigR: LysR-type regulator; TCA: Tricarboxylic acid.



和 *vdh* 转入不能利用香草酸和香草醛的真养产碱菌(*Alcaligenes eutrophus*)及其他假单胞菌, 结果使这些菌株获得了利用这些底物生长的能力, 充分确认了 VanA 和 VanB 的功能<sup>[42]</sup>。此外, 荧光假单胞菌 BF13、恶臭假单胞菌 CSV86、谷氨酸棒杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)等也具有 *vanAB* 基因, 该基因对香草酸降解有直接影响<sup>[19,44-45]</sup>。

如图 4 所示, 香草酸降解相关的基因成簇排列。假单胞菌的 *vanAB* 基因串联排列在一起, 如图 4A 所示。在谷氨酸棒杆菌 ATCC 13032 中, 发现有假定的香草酸转运蛋白基因 *vanK*, *vanK* 与香草酸脱甲基酶基因 *vanAB* 形成一个操纵子(*vanABK*)<sup>[45]</sup> (图 4B)。*vanABK* 操纵子的转录受转录调控因子 VanR 的负调控; *vanR* 位于 *vanA* 的上游, VanR 识别并结合 *vanR-vanA* 基

因间区的启动子区域, 香草酸可作为效应物阻止 VanR 与启动子区域的结合<sup>[45]</sup>。

与上述 *vanAB* 编码的脱甲基酶不同, 另一类香草酸脱甲基酶为四氢叶酸依赖的芳环 *O*-脱甲基酶, 该类酶存在于部分厌氧菌和好氧菌中<sup>[43,46]</sup>。研究发现鞘脂菌 SYK-6 和食芳烃新鞘脂菌具有四氢叶酸依赖的 *O*-脱甲基酶<sup>[43,46]</sup>。鞘脂菌 SYK-6 可以通过 *O*-脱甲基酶(*ligM*)将香草酸转化为原儿茶酸, 该酶由基因 *ligM* 编码, 不同于假单胞菌等 *vanAB* 两基因编码的脱甲基酶; *ligM* 下游是 C1 代谢相关的两个基因, 即 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因 *metF* 和假定的 10-甲酰四氢叶酸合成酶基因 *ligH*, 它们与 *ligM* 一起组成 *ligM-metF-ligH* 操纵子<sup>[23,43]</sup> (图 4C)。*LigM O*-脱甲基酶仅在四氢叶酸存在时才有活性, 此外, *ligM*

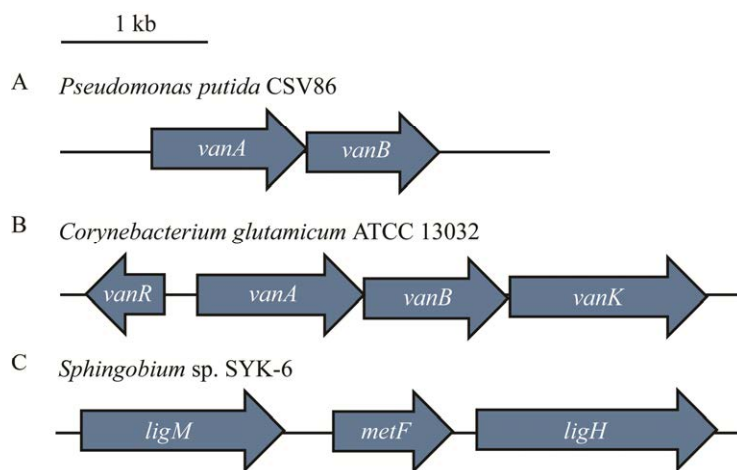


图 4 不同细菌香草酸降解基因的组织<sup>[19,23,45]</sup> A: 恶臭假单胞菌 CSV86. B: 谷氨酸棒杆菌 ATCC 13032, 根据文献<sup>[45]</sup>和基因组序列数据(登录号为 NC\_003450)绘制而成. C: 鞘脂菌 SYK-6. *vanA*、*vanB*: 编码香草酸 *O*-脱甲基酶两个亚基的基因; *vanR*: PadR 样转录调控因子基因; *vanK*: 假定的香草酸转运蛋白基因; *ligM*: 香草酸/3MGA *O*-脱甲基酶基因; *metF*: 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因; *ligH*: 假定的 10-甲酰四氢叶酸合成酶基因

Figure 4 Organization of vanillate catabolic genes in different bacteria<sup>[19,23,45]</sup>. A: *Pseudomonas putida* CSV86. B: *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032, drawn based on literature<sup>[45]</sup> and genome sequence data (NC\_003450). C: *Sphingobium* sp. SYK-6. *vanA*, *vanB*: Genes encoding two subunits of vanillate *O*-demethylase; *vanR*: Gene encoding PadR-like transcriptional regulator; *vanK*, Gene encoding a putative vanillate transporter; *ligM*: Gene encoding vanillate/3MGA *O*-demethylase; *metF*: Gene encoding 5,10-methylene-H<sub>4</sub>folate reductase; *ligH*: Gene encoding a putative 10-formyl-H<sub>4</sub>folate synthetase.

的活性受负调控蛋白 DesR 的调控<sup>[41]</sup>。LigM 不仅能催化香草酸脱甲基生成原儿茶酸, 还能催化 3-O-甲基没食子酸(3-O-methylgallate, 3MGA) 脱甲基生成没食子酸; ligM 突变体转化香草酸的能力明显下降, 该突变体完全丧失了 3MGA O-脱甲基酶活性<sup>[43]</sup>。鞘脂菌 SYK-6 中香草酸降解的分子机制见图 3B。

### 2.3 丁香酸的降解机制

丁香酸可以被四氢叶酸依赖的 O-脱甲基酶 (DesA) 转化为 3-O-甲基没食子酸。在鞘脂菌 SYK-6 中, 丁香酸通过 DesA 催化的反应脱甲基生成 3-O-甲基没食子酸, 后者进一步被 LigM 转化成没食子酸, 没食子酸环被没食子酸双加氧酶 DesB 裂解<sup>[41,43]</sup>。desA 突变体在丁香酸上生长缺陷, ligM 突变体转化香草酸的能力下降, desA、ligM 双突变体完全丧失了转化香草酸的能力, 表明 DesA 负责丁香酸的降解, 此外也有助于香草酸降解<sup>[43]</sup>。desA、ligM 和 desB 的转录受丁香酸和香草酸的诱导, 而 ligM 和 desB 的转录受 MarR 型转录调控因子 DesR 的负调控, 香草酸和丁香酸是解除 DesR 阻遏的效应物(图 3C), DesR 不参与 desA 的调控<sup>[41]</sup>。desA、desB 和 desR 基因分散于基因组中<sup>[47]</sup>。通过分析位于 desA 下游的 IclR 型转录调控因子 desX, 明确了 desA 转录调控体系; 对一个 desX 突变体的反转录定量 PCR 分析表明, desA 的转录受 DesX 负调控; 相反地, DesX 不参与 ligM 和 desB 的调控<sup>[41]</sup>。

在食芳烃新鞘脂菌中, LigM 与香草酸和 3-O-甲基没食子酸的脱甲基相关, DesA 与丁香酸和香草酸的脱甲基相关<sup>[46]</sup>, 这些与鞘脂菌 SYK-6 的脱甲基机制相似。

### 2.4 原儿茶酸及其他相关酚酸的降解机制

原儿茶酸在芳香族化合物的降解中起着重要作用, 它是很多类芳香族化合物降解的核心

中间产物, 同时也是农作物化感酚酸之一<sup>[6,46]</sup>。截至目前发现原儿茶酸可以通过 3 种方式裂解开环, 分别由三类原儿茶酸双加氧酶 (protocatechuate dioxygenase, PCD) 催化。第一种方式通过 2,3 位开环, 由原儿茶酸 2,3-双加氧酶 (2,3-PCD) 催化生成 5-羧基-2-羟基粘糠酸-6-半醛<sup>[48]</sup>, 该途径仅在个别属如类芽孢杆菌 (*Paenibacillus*) 中报道。第二种方式为 3,4 位开环(图 1C), 由原儿茶酸 3,4-双加氧酶 (3,4-PCD) 催化生成 3-羧基-顺,顺粘糠酸 (3-carboxy-cis,cis-muconate), 然后逐步降解生成小分子化合物。该方式存在较普遍, 如革兰阴性菌假单胞菌、寡养单胞菌、玫瑰杆菌 (*Rosebacter*) 等属<sup>[19,49]</sup>, 此外在革兰阳性菌如拟无枝酸菌<sup>[38]</sup>、红球菌 (*Rhodococcus*)<sup>[50]</sup> 等属中也发现原儿茶酸可通过 3,4-PCD 催化开环, 拓宽了人们对该途径存在种属的认识。第三种方式为 4,5 位开环(图 3D), 由原儿茶酸 4,5-双加氧酶 (4,5-PCD) 催化生成 4-羧基-2-羟基粘糠酸-6-半醛 (4-carboxy-2-hydroxymuconate-6-semialdehyde, CHMS), 然后逐步降解。鞘脂菌、新鞘脂菌、食酸菌 (*Acidovorax*) 等属的革兰阴性菌和假节杆菌 (*Pseudarthrobacter*) 等属的革兰阳性菌则通过 4,5 位开环<sup>[46,51-53]</sup>。

近些年关于原儿茶酸及相关酚酸的降解机制在鞘脂菌属的研究较深入。鞘脂菌中香草酸和丁香酸分别被 O-脱甲基酶转化为原儿茶酸和 3MGA; 原儿茶酸通过 4,5-开环途径进一步降解, 而 3MGA 通过多种途径降解, 其中 4,5-PCD (LigAB)、3MGA 3,4-双加氧酶 (DesZ)、3MGA O-脱甲基酶和没食子酸双加氧酶 (DesB) 参与降解(图 3D)<sup>[41,54]</sup>。在降解过程中, 原儿茶酸被 4,5-PCD (LigAB) 催化裂解生成 CHMS, 后者异构化形成分子内半缩醛, 并被 CHMS 脱氢酶 (LigC) 氧化为 2-吡喃酮-4,6-二羧酸 (2-pyrone-

4,6-dicarboxylate, PDC), PDC 经 PDC 水解酶 (LigI) 水解成 4-草酰中糠酸(4-oxalomesaconate, OMA), OMA 经 OMA  $\delta$ -异构酶(LigU)转化为 2-酮-4-羧基-3-己烯二酸(2-keto-4-carboxy-3-hexenedioate, KCH), 后者经 KCH 水合酶(ligJ)转化成 4-羧基-4-羟基-2-氧代己二酸(4-carboxy-4-hydroxy-2-oxoadipate, CHA), CHA 经 CHA 醛缩酶(LigK)裂解生成丙酮酸和草酰乙酸, 然后进入三羧酸循环(图 3D), 该途径酶的表达受 LysR 型调控蛋白 LigR 的正调控<sup>[41]</sup>。至此, 酚酸化合物完全降解为小分子化合物并通过三羧酸循环被细菌有效利用。

原儿茶酸代谢基因通常成簇排列(图 5)。鞘

脂菌 SYK-6 原儿茶酸 4,5-裂解途径的代谢基因在染色体上分布于一个基因簇, 如图 5A 所示<sup>[51]</sup>。在该簇中, 中间为调控蛋白 LigR 的基因, 两侧分别为 *ligJABC* 操纵子和 *ligKUI* 操纵子, 这两个操纵子都受 LigR 的正调控, 即 LigR 可激活操纵子上各基因的表达, LigR 可以识别原儿茶酸和没食子酸为效应物<sup>[41,47,54]</sup>。鞘脂菌 SYK-6 中 LigB、LigC 和 LigI 的基因破坏导致在香草酸上生长缺陷, 表明 LigAB、LigC 和 LigI 对降解香草酸也至关重要<sup>[23]</sup>。食酸菌 T1 的原儿茶酸 4,5-裂解途径基因也成簇排列(图 5B), 包括 *ligJKIABC*, 各基因的功能与鞘脂菌 SYK-6 一致<sup>[52]</sup>, 但该菌尚未揭示调控蛋白的基因。

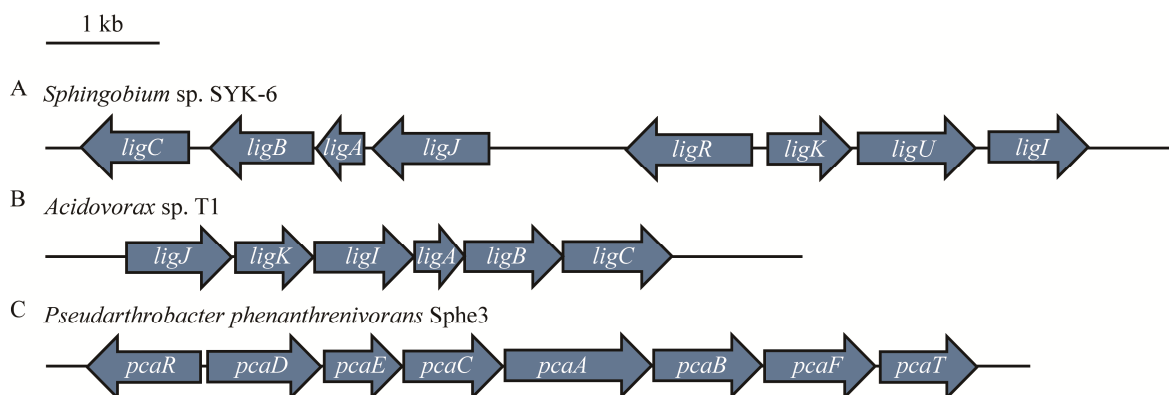


图 5 不同微生物原儿茶酸 4,5-裂解途径代谢基因的组织<sup>[51-53]</sup> A: 鞘脂菌 SYK-6. B: 食酸菌 T1. C: 食菲假节杆菌 Sphe3. *pcaR*: 假定的转录调控基因; *ligR*: 转录调控基因; *pcaD*、*ligJ*: OMA 水合酶基因; *pcaE*、*ligK*: CHA 醛缩酶基因; *pcaC*、*ligI*: PDC 水解酶基因; *pcaA*: PCA 4,5-双加氧酶基因; *ligA*: PCA 4,5-双加氧酶  $\alpha$ -亚基基因; *ligB*: PCA 4,5-双加氧酶  $\beta$ -亚基基因; *pcaB*、*ligC*: CHMS 脱氢酶基因; *pcaF*: 假定的氧化还原酶/芳醇脱氢酶样蛋白基因; *pcaT*: ABC 型钼酸盐转运系统基因; *ligU*: 4-草酰中糠酸互变异构酶基因

Figure 5 Organization of catabolic genes from the protocatechuate (PCA) 4,5-cleavage pathway in different microorganisms<sup>[51-53]</sup>. A: *Sphingobium* sp. SYK-6. B: *Acidovorax* sp. T1. C: *Pseudarthrobacter phenanthrenivorans* Sphe3. *pcaR*: Putative transcriptional regulatory gene; *ligR*: Transcriptional regulatory gene; *pcaD*, *ligJ*: OMA hydratase gene; *pcaE*, *ligK*: CHA aldolase gene; *pcaC*, *ligI*: PDC hydrolase gene; *pcaA*: PCA 4,5-dioxygenase gene; *ligA*:  $\alpha$ -subunit of PCA 4,5-dioxygenase gene; *ligB*:  $\beta$ -subunit of PCA 4,5-dioxygenase gene; *pcaB*, *ligC*: CHMS dehydrogenase gene; *pcaF*: Gene encoding putative oxidoreductase, aryl-alcohol dehydrogenase like protein; *pcaT*: Gene encoding ABC-type molybdate transport system; *ligU*: 4-oxalomesaconate tautomerase gene.

食菲假节杆菌 (*Pseudarthrobacter phenanthrenivorans*) Sphe3 中原儿茶酸也通过 4,5-裂解途径降解, 相关基因组成和排列如图 5C 所示, 包括 *pcaRDECABFT*; 其中 *pcaR* 为转录调控蛋白基因, 其表达受菲和原儿茶酸的诱导; *pcaD*、*pcaE*、*pcaC*、*pcaB* 分别与鞘脂菌 SYK-6 的 *ligJ*、*ligK*、*ligI*、*ligC* 的功能相同, 编码中间代谢途径的酶; *pcaF* 编码假定的氧化还原酶/芳醇脱氢酶样蛋白; *pcaT* 编码 ABC 型钼酸盐转运蛋白<sup>[53]</sup>。值得一提的是, 食菲假节杆菌 Sphe3 的 PCA 4,5-双加氧酶是由单个基因 *pcaA* 编码的, 不同于鞘脂菌、食酸菌等典型的 PCA 4,5-双加氧酶, 后者是由 *ligA* 编码的 PCA 4,5-双加氧酶  $\alpha$ -亚基和 *ligB* 编码的 PCA 4,5-双加氧酶  $\beta$ -亚基共同构成的, 但由 *pcaA* 编码的 PcaA 蛋白具有对应典型异二聚体 PCA 4,5-双加氧酶  $\alpha$ -亚基和  $\beta$ -亚基的区域, 该酶除了能转化原儿茶酸, 还能转化没食子酸<sup>[53]</sup>。这体现了不同种属遗传基因组成的差异和功能的多样性。

对于酚酸降解机制的阐明为深入开发酚酸降解菌资源和进一步用于农业土壤改良、连作障碍防治、生产高值产品等提供了科学依据, 具有重要的应用价值<sup>[55-56]</sup>。

### 3 酚酸降解菌在农业领域的应用

#### 3.1 优化植物根际微环境

对土壤微生物群落的积极管理是改善土壤条件、抑制有害菌、提高作物生产力十分有前景的方向<sup>[55]</sup>。将非致病性酚酸降解菌开发为土壤改良菌剂可以降解酚酸、改善土壤的生态结构、优化根际微环境。Chen 等<sup>[35]</sup>将降解酚酸的哈茨木霉 SQR-T037 用于连作黄瓜土壤, 结果发现 SQR-T037 能降解黄瓜根系分泌的多种酚酸, 种植 45 d 后, 4-羟基苯甲酸的降解率为 88.8%, 香草酸为 90%, 苯甲酸为 95%, 阿魏

酸、3-苯丙酸和肉桂酸的降解率为 100%; 盆栽试验中, 施用 SQR-T037 可显著降低黄瓜枯萎病发病指数, 提高黄瓜植株干重, 这主要归因于 SQR-T037 对连作黄瓜土壤中黄瓜根系分泌物酚酸的降解和化感胁迫的缓解。Wu 等<sup>[17]</sup>将降解酚酸的暗灰链霉菌 GLY-P2 接种于黄瓜种植土壤, 可以降解土壤中的阿魏酸和对羟基苯甲酸; 此外, 菌株 GLY-P2 改变了土壤细菌的丰富度、多样性和群落组成, 提高了根际土壤中磷酸酶、过氧化氢酶、脲酶和蔗糖酶的活性, 并能激活叶片抗氧化酶、促进植株生长, 这表明应用可降解化感物质酚酸的有益微生物, 是解决土壤连作问题的有效途径。此外, 植物源性酚酸被相关微生物分解, 也有助于增强土壤有机碳分解和碳循环<sup>[57]</sup>, 减轻土壤酸化问题、改善根际微环境, 从而促进种植业更好发展。

#### 3.2 缓解作物连作障碍

目前缓解连作障碍的方法包括多个方面, 主要有改进耕作方式、使用化学消毒剂、利用生物防治等, 其中生物防治是最经济、环保、高效的方式<sup>[3,58-59]</sup>。由于连作土壤中酚酸的积累对土壤微环境和农作物健康均具有不利影响, 是导致连作障碍的主要原因, 因此, 利用有益菌降解酚酸减轻酚酸对植物的化感抑制作用、缓解连作障碍成为现代农业的研究热点。

从生物防治的角度出发, 人们不断研究和开发有益降解菌株, 逐步在作物上进行应用并取得了良好的效果。例如, 黄孢原毛平革菌对黄瓜连作土壤酚酸具有较好的降解作用, 可修复连作障碍土壤, 应用该菌后对黄瓜根结线虫及枯萎病有显著的抑制作用<sup>[33]</sup>。Wang 等<sup>[4]</sup>拓宽了防治方法, 将拮抗镰刀菌的解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) B2 和降解酚酸的平菇 P5 联合应用于黄瓜, 结果发现能显著降低黄瓜镰刀菌枯萎病的发病指数, 促进黄瓜幼苗的

生长,效果优于单独使用一种菌,这表明联合应用两类菌对抑制镰刀菌枯萎病并促进连作条件下黄瓜幼苗的生长更具有前景。杨焱<sup>[27]</sup>将5种酚酸降解菌(寡养单胞菌 B7、假单胞菌 X1、链霉菌 R4、剑菌 B6、贪铜菌 R3)和4种防治黄芪根腐病的细菌[嗜麦芽糖寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)、放射型根瘤菌 (*Rhizobium radiobacter*)、牛群苍白杆菌 (*Ochrobactrum pecoris*)、克什米尔小陌生菌 (*Advenella kashmirensis*)]接种于羊粪有机肥中发酵制成微生物有机肥,将微生物有机肥、普通有机肥分别添加于连作一年的黄芪土壤中,发现二者的添加均可促进黄芪生长,但微生物有机肥处理植株高、根长和干重分别比对照提高了32.6%、44.3%和32.3%,应用效果良好。

## 4 展望

近年来,农作物连作障碍问题严重,防治连作障碍最经济、最环保且最有效的方法是生物防治法。截至目前生物防治法已取得了较大进展,不仅筛选了许多有价值的降解菌资源,还对重要降解菌进行了深入研究或应用,这对开发微生物菌剂、降解连作土壤酚酸、减轻植物连作障碍、开发利用农业资源等具有重要的支持作用。然而研究中仍存在一些薄弱之处:(1)对许多已发现的酚酸降解菌的认识还不充分,尚未揭示其降解途径、代谢基因和调控机制。目前降解酚酸4-羟基香豆素和对甲氧基苯甲酸的微生物已分离到<sup>[27]</sup>,然而这两种酚酸的降解途径尚未知晓。(2)目前大部分研究还在实验室阶段,应用于连作农田的酚酸降解菌种类较少,其土壤改良效果尚未充分体现。值得一提的是,由于土壤中酚酸的多样性,能降解多种酚酸的微生物具有更大的应用潜力,目前已有降解菌降解多种酚酸的报道,这为酚酸降解

菌的进一步开发应用提供了条件。(3)对酚酸降解菌的生物安全性还需要更多实验进行研究和评估,确定为非病原菌的降解菌才适合逐步开发应用。(4)对降解菌的其他生物学特性、环境条件对其的影响及土壤定殖能力还需要更多的研究。今后可以在以上方面深入开展机制研究和相关应用研究。随着人们对酚酸化感物质认识的增多、酚酸降解菌资源和降解机制的不断揭示、连作土壤试验效果的积累,利用有益菌株降解酚酸化合物,从多个层面改良土壤、防治连作障碍、促进农业可持续发展、生产高值酚酸转化产品等会成为热点,并将取得长足的进步。

## REFERENCES

- [1] 杨建忠,官会林,刘大会,孙玉琴,韦美丽,王勇.三七连作障碍发生机理及消减技术研究[J].北方园艺,2016(14):160-163.  
YANG JZ, GUAN HL, LIU DH, SUN YQ, WEI ML, WANG Y. Study on mechanism of Sanqi (*Panax notoginseng* F. H. Chen) replant failure and its alleviation technology[J]. Northern Horticulture, 2016(14): 160-163 (in Chinese).
- [2] QIAO YJ, GU CZ, ZHU HT, WANG D, ZHANG MY, ZHANG YX, YANG CR, ZHANG YJ. Allelochemicals of *Panax notoginseng* and their effects on various plants and rhizosphere microorganisms[J]. Plant Diversity, 2020, 42(5): 323-333.
- [3] CHANG XH, WANG Y, SUN JG, XIANG HB, YANG Y, CHEN SW, YU J, YANG CL. Mitigation of tobacco bacteria wilt with microbial degradation of phenolic allelochemicals[J]. Scientific Reports, 2022, 12: 20716.
- [4] WANG HW, CAI XR, XU M, TIAN F. Enhanced biocontrol of cucumber *Fusarium* wilt by combined application of new antagonistic bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* B2 and phenolic acid-degrading fungus *Pleurotus ostreatus* P5[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 700142.
- [5] ZHAO YM, CHENG YX, MA YN, CHEN CJ, XU FR, DONG X. Role of phenolic acids from the rhizosphere soils of *Panax notoginseng* as a double-edge sword in the occurrence of root-rot disease[J]. Molecules, 2018, 23(4): 819.

- [6] WU LK, WANG JY, HUANG WM, WU HM, CHEN J, YANG YQ, ZHANG ZY, LIN WX. Plant-microbe rhizosphere interactions mediated by *Rehmannia glutinosa* root exudates under consecutive monoculture[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 15871.
- [7] 田给林, 毕艳孟, 孙振钧, 张潞生. 酚酸类物质在作物连作障碍中的化感效应及其调控研究进展[J]. 中国科技论文, 2016, 11(6): 699-705.  
TIAN GL, BI YM, SUN ZJ, ZHANG LS. Progress in allelopathic effect and regulation of phenolic acids for continuous cropping obstacle system[J]. China Science paper, 2016, 11(6): 699-705 (in Chinese).
- [8] QIAO B, LI CY, LIANG CY, LI X, TIAN M, LI Q, ZHAO CJ, FU YJ. Determination of phenolic acids in *Rehmannia glutinosa* rhizosphere using a new method of microdialysis-HPLC[J]. South African Journal of Botany, 2022, 148: 387-395.
- [9] LI XY, LEWIS EE, LIU QZ, LI HQ, BAI CQ, WANG YZ. Effects of long-term continuous cropping on soil nematode community and soil condition associated with replant problem in strawberry habitat[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 30466.
- [10] 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[J]. 生态学报, 2010, 30(8): 2128-2134.  
LI PD, WANG XX, LI YL, WANG HW, LIANG FY, DAI CC. The contents of phenolic acids in continuous cropping peanut and their allelopathy[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(8): 2128-2134 (in Chinese).
- [11] CHEN MN, LI X, YANG QL, CHI X, PAN L, CHEN N, YANG Z, WANG T, WANG M, YU SL. Dynamic succession of soil bacterial community during continuous cropping of peanut (*Arachis hypogaea* L.)[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e101355.
- [12] JIN X, WU FZ, ZHOU XG. Different toxic effects of ferulic and *p*-hydroxybenzoic acids on cucumber seedling growth were related to their different influences on rhizosphere microbial composition[J]. Biology and Fertility of Soils, 2020, 56: 125-136.
- [13] 涂玉婷, 黄继川, 吴雪娜, 廖伟杰, 彭智平. 生物炭-过氧化钙复合颗粒缓解番茄幼苗酚酸化胁迫效应的研究[J]. 中国农学通报, 2021, 37(8): 39-47.  
TU YT, HUANG JC, WU XN, LIAO WJ, PENG ZP. Effects of biochar-calcium peroxide composite particles on benzoic acid allelochemical stress to tomato seedlings[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(8): 39-47 (in Chinese).
- [14] JIANG WT, CHEN R, ZHAO L, QIN L, FAN H, CHEN XM, WANG YF, YIN C, MAO Z. Chemical fumigants control apple replant disease: microbial community structure-mediated inhibition of *Fusarium* and degradation of phenolic acids[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 440: 129786.
- [15] ZHOU C, MA ZY, LU XM, ZHU L, WANG JF. Phenolic acid-degrading consortia increase *Fusarium* wilt disease resistance of *Chrysanthemum*[J]. Agronomy, 2020, 10: 385.
- [16] BAO LM, LIU YY, DING YF, SHANG JJ, WEI YL, TAN Y, ZI FT. Interactions between phenolic acids and microorganisms in rhizospheric soil from continuous cropping of *Panax notoginseng*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 791603.
- [17] WU FH, SHI QH, WANG XJ, SUN ZT, WANG WY, LI X, GUO LY, BAI JG. *Streptomyces canus* GLY-P2 degrades ferulic and *p*-hydroxybenzoic acids in soil and affects cucumber antioxidant enzyme activity and rhizosphere bacterial community[J]. Plant and Soil, 2019, 436(1): 71-89.
- [18] OVERHAGE J, PRIEFERT H, STEINBÜCHEL A. Biochemical and genetic analyses of ferulic acid catabolism in *Pseudomonas* sp. strain HR199[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(11): 4837-4847.
- [19] MOHAN K, PHALE PS. Carbon source-dependent inducible metabolism of veratryl alcohol and ferulic acid in *Pseudomonas putida* CSV86[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83(8): e03326-16.
- [20] WANG Y, ZHANG W, ZHANG Z, WANG W, XU S, HE X. Isolation, identification and characterization of phenolic acid-degrading bacteria from soil[J]. Journal of Applied Microbiology, 2021, 131(1): 208-220.
- [21] 张春杨, 于春雨, 高金山. 花生土壤酚酸降解菌的分离和鉴定[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(5): 93-95, 99.  
ZHANG CY, YU CY, GAO JS. Isolation and identification of a phenolic acids-degrading bacterium from peanut soil[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2020, 48(5): 93-95, 99 (in Chinese).
- [22] ZHU B, JIA X, HAI X, ZHANG Y, LI Q, YE J, ZHANG Q, LI Q. Screening and identification of *p*-hydroxybenzoic acid-degrading strain ZL22 from Wuyi tea continuous cropping soil[J]. Microbiology, 2022, 91: 727-734.
- [23] MASAI E, KATAYAMA Y, FUKUDA M. Genetic and biochemical investigations on bacterial catabolic pathways for lignin-derived aromatic compounds[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2007,



- 71(1): 1-15.
- [24] WEILAND F, KOHLSTEDT M, WITTMANN C. Guiding stars to the field of dreams: metabolically engineered pathways and microbial platforms for a sustainable lignin-based industry[J]. *Metabolic Engineering*, 2022, 71: 13-41.
- [25] 刘云露. 黄连土壤微生物多样性及其酚酸降解菌筛选与降解机制[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2019.
- LIU YL. Microbial diversity and degradation mechanism of phenolic acid degradation microbes in soil of *Coptis chinensis*[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2019 (in Chinese).
- [26] 李敏, 王桂莲, 马璐, 张琇. 节杆菌(*Arthrobacter* sp.) 降解阿魏酸的效能[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(5): 1550-1559.
- LI M, WANG GL, MA L, ZHANG X. Degradation of ferulic acid by *Arthrobacter* sp.[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(5): 1550-1559 (in Chinese).
- [27] 杨焱. 微生物肥料对黄芪连作障碍的缓解作用[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2022.
- YANG Y. The alleviating effect of microbial fertilizer on replant problem of *Astragalus*[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2022 (in Chinese).
- [28] LIU B, WAN YY, CHEN E, HUANG MZ, CHEN XL, NI HY, HE J. *Sphingomonas caeni* sp. nov., a phenolic acid-degrading bacterium isolated from activated sludge[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2023, 116(7): 687-695.
- [29] 刘紫英, 杜贵勇, 傅苒馨, 刘小林. 草莓自毒物质对香豆酸降解菌的筛选及其降解效果研究[J]. *宜春学院学报*, 2022, 44(12): 1-5.
- LIU ZY, DU GY, FU RX, LIU XL. Study on the screening degrading bacteria and degradation effect *p*-coumaric acid in strawberry autotoxin[J]. *Journal of Yichun University*, 2022, 44(12): 1-5 (in Chinese).
- [30] 王洁, 王蓓蓓, 尚方剑, 苏兰茜, 赵少官, 洪珊, 赵青云. 香草兰酚酸类自毒物质降解菌的筛选和鉴定及其抑菌效果[J]. *热带生物学报*, 2022, 13(6): 595-604.
- WANG J, WANG BB, SHANG FJ, SU LX, ZHAO SG, HONG S, ZHAO QY. Screening, identification and antimicrobial activity of microbial strains degrading autotoxic phenolic acids in the rhizosphere of vanilla[J]. *Journal of Tropical Biology*, 2022, 13(6): 595-604 (in Chinese).
- [31] 何绍江, 毛新国, 李传涵. 杉木解酚菌的研究[J]. *应用生态学报*, 2001, 12(3): 344-346.
- HE SJ, MAO XG, LI CH. Phenolic acid degradation fungi screened from successive plantation site of Chinese fir[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(3): 344-346 (in Chinese).
- [32] HEGDE S, KAVITHA S, VARADARAJ MC, MURALIKRISHNA G. Degradation of cereal bran polysaccharide-phenolic acid complexes by *Aspergillus niger* CFR 1105[J]. *Food Chemistry*, 2006, 96(1): 14-19.
- [33] 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[J]. *应用生态学报*, 2008, 19(11): 2480-2484.
- XU SX, ZHANG SM, YOU XY, JIA XC, WU K. Degradation of soil phenolic acids by *Phanerochaete chrysosporium* under continuous cropping of cucumber[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(11): 2480-2484 (in Chinese).
- [34] 王宗芹. 杨树人工林连作酚酸生物降解的研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2010.
- WANG ZQ. Study on the biodegradation of phenolic acids accumulated on the replanted *Populus*[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2010 (in Chinese).
- [35] CHEN LH, YANG XM, RAZA W, LI JH, LIU YX, QIU MH, ZHANG FG, SHEN QR. *Trichoderma harzianum* SQR-T037 rapidly degrades allelochemicals in rhizospheres of continuously cropped cucumbers[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89: 1653-1663.
- [36] 李敏, 张丽叶, 张艳江, 朱娟娟, 马海军. 酚酸类自毒物质微生物降解转化研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2019, 14(3): 72-78.
- LI M, ZHANG LY, ZHANG YJ, ZHU JJ, MA HJ. Review on the microbial biodegradation and metabolism of autotoxic phenolic acids[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2019, 14(3): 72-78 (in Chinese).
- [37] ZHANG Y, CHEN CX, FENG HP, WANG XJ, ROESSNER U, WALKER R, CHENG ZY, AN YQ, DU BH, BAI JG. Transcriptome profiling combined with activities of antioxidant and soil enzymes reveals an ability of *Pseudomonas* sp. CFA to mitigate *p*-hydroxybenzoic and ferulic acid stresses in cucumber[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 522986.
- [38] MEYER F, NETZER J, MEINERT C, VOIGT B, RIEDEL K, STEINBÜCHEL A. A proteomic analysis

- of ferulic acid metabolism in *Amycolatopsis* sp. ATCC 39116[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(14): 6119-6142.
- [39] KASAI D, KAMIMURA N, TANI KT, UMEDA S, ABE T, FUKUDA M, MASAI EJ. Characterization of FerC, a MarR-type transcriptional regulator, involved in transcriptional regulation of the ferulate catabolic operon in *Sphingobium* sp. strain SYK-6[J]. FEMS Microbiology Letters, 2012, 332(1): 68-75.
- [40] MASAI EJ, HARADA K, PENG X, KITAYAMA H, KATAYAMA Y, FUKUDA M. Cloning and characterization of the ferulic acid catabolic genes of *Sphingomonas paucimobilis* SYK-6[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(9): 4416-4424.
- [41] ARAKI T, TANATANI K, KAMIMURA N, OTSUKA Y, YAMAGUCHI M, NAKAMURA M, MASAI E. The syringate *O*-demethylase gene of *Sphingobium* sp. strain SYK-6 is regulated by DesX, while other vanillate and syringate catabolism genes are regulated by DesR[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86(22): e01712-20.
- [42] PRIEFERT H, RABENHORST J, STEINBÜCHEL A. Molecular characterization of genes of *Pseudomonas* sp. strain HR199 involved in bioconversion of vanillin to protocatechuate[J]. Journal of Bacteriology, 1997, 179(8): 2595-2607.
- [43] ABE T, MASAI E, MIYAUCHI K, KATAYAMA Y, FUKUDA M. A tetrahydrofolate-dependent *O*-demethylase, LigM, is crucial for catabolism of vanillate and syringate in *Sphingomonas paucimobilis* SYK-6[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(6): 2030-2037.
- [44] CIVOLANI C, BARGHINI P, RONCETTI AR, RUZZI M, SCHIESSER A. Bioconversion of ferulic acid into vanillic acid by means of a vanillate-negative mutant of *Pseudomonas fluorescens* strain BF13[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(6): 2311-2317.
- [45] MORABBI HERAVI K, LANGE J, WATZLAWICK H, KALINOWSKI J, ALTENBUCHNER J. Transcriptional regulation of the vanillate utilization genes (*vanABK* operon) of *Corynebacterium glutamicum* by VanR, a PadR-like repressor[J]. Journal of Bacteriology, 2015, 197(5): 959-972.
- [46] PEREZ JM, KONTUR WS, GEHL C, GILLE DM, MA YJ, NILES AV, UMANA G, DONOHUE TJ, NOGUERA DR. Redundancy in aromatic *O*-demethylation and ring opening reactions in *Novosphingobium aromaticivorans* and their impact in the metabolism of plant derived phenolics[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2021, 87(8): e02794-20.
- [47] ARAKI T, UMEDA S, KAMIMURA N, KASAI D, KUMANO S, ABE T, KAWAZU C, OTSUKA Y, NAKAMURA M, KATAYAMA Y, FUKUDA M, MASAI E. Regulation of vanillate and syringate catabolism by a MarR-type transcriptional regulator DesR in *Sphingobium* sp. SYK-6[J]. Scientific Reports, 2019, 9: 18036.
- [48] KASAI D, FUJINAMI T, ABE T, MASE K, KATAYAMA Y, FUKUDA M, MASAI E. Uncovering the protocatechuate 2,3-cleavage pathway genes[J]. Journal of Bacteriology, 2009, 191(21): 6758-6768.
- [49] GUZIK U, HUPERT-KOCUREK K, SAŁEK K, WOJCIESZYŃSKA D. Influence of metal ions on bioremediation activity of protocatechuate 3, 4-dioxygenase from *Stenotrophomonas maltophilia* KB2[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2013, 29(2): 267-273.
- [50] LI C, ZHANG CY, SONG GL, LIU H, SHENG G, DING ZF, WANG ZL, SUN Y, XU Y, CHEN J. Characterization of a protocatechuate catabolic gene cluster in *Rhodococcus ruber* OA1 involved in naphthalene degradation[J]. Annals of Microbiology, 2016, 66: 469-478.
- [51] KAMIMURA N, TAKAHASHI K, MORI K, ARAKI T, FUJITA M, HIGUCHI Y, MASAI EJ. Bacterial catabolism of lignin-derived aromatics: new findings in a recent decade: update on bacterial lignin catabolism[J]. Environmental Microbiology Reports, 2017, 9(6): 679-705.
- [52] CHU CW, LIU B, LI N, YAO SG, CHENG D, ZHAO JD, QIU J, YAN X, HE Q, HE J. A novel aerobic degradation pathway for thiobencarb is initiated by the TmoAB two-component flavin mononucleotide-dependent monooxygenase system in *Acidovorax* sp. strain T1[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83(23): e01490-17.
- [53] TSAGOIANNIS E, VANDERA E, PRIMIKYRI A, ASIMAKOULA S, TZAKOS AG, GEROTHANASSIS IP, KOUKKOU AI. Characterization of protocatechuate 4,5-dioxygenase from *Pseudarthrobacter phenanthrenivorans* Sphe3 and *in situ* reaction monitoring in the NMR tube[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(17): 9647.
- [54] KAMIMURA N, TAKAMURA K, HARA H, KASAI D, NATSUME R, SENDA T, KATAYAMA Y, FUKUDA

- M, MASAI E. Regulatory system of the protocatechuate 4,5-cleavage pathway genes essential for lignin downstream catabolism[J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(13): 3394-3405.
- [55] ZHU BT, LI YP, RENSING C, YE JH, QIU JL, LI QJ, WU LK, LU QX, LIN Y, JIA XL. Improvement of phenolic acid autotoxicity in tea plantations by *Pseudomonas fluorescens* ZL22[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 458: 131957.
- [56] OTSUKA Y, ARAKI T, SUZUKI Y, NAKAMURA M, KAMIMURA N, MASAI E. High-level production of 2-pyrone-4,6-dicarboxylic acid from vanillic acid as a lignin-related aromatic compound by metabolically engineered fermentation to realize industrial valorization processes of lignin[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 377: 128956.
- [57] WILHELM RC, DeRITO CM, SHAPLEIGH JP, MADSEN EL, BUCKLEY DH. Phenolic acid-degrading *Paraburkholderia* prime decomposition in forest soil[J]. *ISME Communications*, 2021, 1: 4.
- [58] RAZA W, LING N, ZHANG RF, HUANG QW, XU YC, SHEN QR. Success evaluation of the biological control of *Fusarium* wilts of cucumber, banana, and tomato since 2000 and future research strategies[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2017, 37(2): 202-212.
- [59] HAN LJ, WANG ZY, LI N, WANG YH, FENG JT, ZHANG X. *Bacillus amyloliquefaciens* B1408 suppresses *Fusarium* wilt in cucumber by regulating the rhizosphere microbial community[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 136: 55-66.