

化感水稻 PI312777 苗期根系分泌物中 化学成分分析 *

何海斌 陈祥旭 林瑞余 林文雄** 何华勤 贾小丽 熊 君 沈荔花 梁义元
(福建农林大学 生物农药与化学生物学教育部重点实验室,福州 350002)

【摘要】 在接近自然栽培的田间土壤条件下,以无种植水稻秧苗的田间土壤为对照,采用循环法分别收集化感水稻品种 PI312777 (PI) 苗期 (3 ~ 4 叶) 根系分泌物和对照土壤溶液,经乙醚萃取,GC-MS 分析和仪器谱图库 (NIST98 & WILEY) 检索.结果表明,在水稻 PI 根系分泌物的乙醚萃取物中检测到 36 个化合物,其中萜类 9 个 (峰面积 10.97 %)、酚醌类 8 个 (5.87 %)、酯类 6 个 (10.68 %)、醛酮类 3 个 (1.44 %)、杂环类 4 个 (68.04 %)、醇类 2 个 (1.23 %)、醚类 2 个 (0.57 %) 和其他物质 2 个 (1.20 %).萜类之间、酚醌类之间的化合物结构具有明显的相似性.在对照土壤溶液的乙醚萃取物中检测到 39 个化合物,其中有 7 个化合物与水稻 PI 根系分泌物中化合物相同.此外,还讨论了水稻根系分泌物与对照土壤溶液之间物质的差异和各类物质的化感作用机理.

关键词 水稻 根系分泌物 化感作用 化感物质

文章编号 1001 - 9332 (2005) 12 - 2383 - 06 **中图分类号** Q948.12⁺21;S511 **文献标识码** A

Chemical components of root exudates from allelopathic rice accession PI312777 seedlings. HE Haibin, CHEN Xiangxu, LIN Ruiyu, LIN Wenxiong, HE Huaqin, JIA Xiaoli, XIONG Jun, SHEN Lihua, LIANG Yiyuan (Key Laboratory of Pesticide and Chemical Biology of Education Ministry, School of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2005, 16(12): 2383 ~ 2388.
In this study, allelopathic rice accession PI312777 seedlings were grown on a paddy soil under near natural condition, and their root exudates were collected by using circulation method, with the solution collected from no seedlings planted soil as the control. The ether extracts of the root exudates and soil solution were detected by GC-MS, and identified with the mass spectral database of NIST and WILEY Library. The results showed that there were 36 compounds in the rice root exudates, including 9 terpenoids (peak area 10.97 %), 8 phenols or quinones (5.87 %), 6 esters (10.68 %), 3 aldehydes or ketones (1.44 %), 4 heterocycles (68.04 %), 2 alcohols (1.23 %), 2 ethers (0.57 %), and 2 others (1.20 %). A distinctly similar structure was observed among the terpenoids and among the phenols or quinones. In the soil solution, 39 compounds were detected, and 7 of them were the same of the root exudates. The difference of the compounds in rice root exudates and soil solution, and the possible allelopathic mechanisms of these compounds were discussed in this paper.

Key words *Oryza sativa*, Root exudate, Allelopathy, Allelochemicals.

1 引 言

化感物质的分析与鉴定是水稻化感作用研究的一个重要方面,人们寄希望找到水稻自身分泌的并能抑制杂草的次生代谢物,以揭示水稻产生化感物质的代谢机理和作用机制,从中寻找出释放化感物质的调控基因,用于化感水稻的种质资源筛选鉴定、化感潜力评价、分子标记辅助选育抗草品种等.为此,开展水稻化感物质的分离与鉴定已成为世界各国研究的热点问题之一.台湾学者周昌弘等^[4]为解决水稻连作减产问题,最早开展了水稻自毒物质研究,结果表明,水稻残株腐解后产生较多的酚酸类物质,在土壤中残留积累能导致后茬水稻减产;酚酸类

物质进一步降解为无毒性的化合物,其降解程度受到光、温、水、时间等环境因素的影响. Hisashi 等^[16]在温室中用水培方法收集水稻品种 Koshihikari 的根系分泌物,获得了具有化感抑制活性的化合物 Momilactone B,证明了该物质可来自于稻壳和根系分泌物. Kim 等^[18]采用 3 种方法:1) 水稻用土培 + 营养液种植在温室中,45 d 后取叶、根,干燥、粉碎后用 80 % 甲醇浸提;2) 水稻种植在田间,取全植株冻干、粉碎后用 80 % 甲醇浸提;3) 水稻种子发芽后,在培养箱中用蒸馏水培养 4 d,取培养液为根系分泌

*国家自然科学基金项目 (30471028)、福建省科技厅重点项目 (K04038) 和福建省自然科学基金资助项目 (B0310011).

**通讯联系人.

2005 - 04 - 07 收稿,2005 - 07 - 13 接受.

物,所获液体经柱分离、纯化,获得具有化感抑制活性的多个分离组分,并用 GC-MS 研究了水稻品种 Kouketsumochi 的化感物质,结果表明,该品种化感物质主要是脂肪酸酯、醛酮、甾醇、苯的衍生物、胺等,未检测到酚酸类化感物质.通常认为酚酸类物质在植物化感作用中起重要作用^[17],但是在水稻化感物质的分离鉴定中则研究结果各异.Olofsdotter^[29]、孔垂华等^[21,22]也对水稻中的化感物质是否主要是酚酸类物质提出了质疑.此外,实验室研究结果与田间实际生长环境有差异也是化感作用物质受到质疑的焦点之一.王大力等^[37]对 41 份水稻品种进行了实验室和田间化感作用研究,发现在实验室中大部分对稗草 (*Echinochloa crus-galli*) 具有显著抑制作用的品种,在田间实验中没有显示其化感作用.水稻主要是通过根系分泌物释放化感物质^[28],而且水稻化感物质对稗草地下部(胚根长)的影响大于地上部(茎长)^[12].因此,研究自然栽培条件下化感水稻根系分泌物组成、代谢途径和作用机理,是将化感作用尽快应用于生产实践的重要环节.本研究在接近自然栽培的条件下,研究强化感水稻品种 PI312777 (PI) 苗期根系分泌物的物质组成,分析其中可能存在的化感物质类型、化合物结构,为促进水稻化感作用向田间应用发展提供理论依据.

2 材料与方法

2.1 水稻根系分泌物的收集与物质提取

供试水稻 (*Oryza sativa*) 为国内外公认的强化感水稻品种 PI312777^[5],分别以田间土壤(沙壤土,前作为水稻)为培养基,运用循环系统^[11]收集供试水稻苗期(3~4 叶)生长过程中的根系分泌物,循环装置上方用塑料棚遮盖以防止雨水对根系分泌物的冲洗,其余为田间自然条件.将预萌发的供试水稻品种播于秧盘中,待水稻苗长至 3 叶期时,移栽到装有田间土壤(5 kg)的培养盆中(30 cm × 30 cm × 15 cm),每盆等间距(5 cm × 5 cm)播 30 株水稻苗,共 5 盆.每个培养盆下接一塑料管到根系分泌物收集器中,收集器中的分泌物又循环回到培养盆中,每天添加 100 ml 蒸馏水补充挥发的水分,如此连续循环 5 d 后(4 叶期),收集 5 个培养盆中最后一次分泌物并混合在一起.将混合液用等体积乙醚萃取 3 次,合并萃取液,用旋转蒸发器于 40 °C 水浴中浓缩,浓缩液用于 GC-MS 分析测试.采用同样方法收集无种植水稻秧苗的田间土壤提取物为对照.实验于 2004 年 7~8 月份在福建农林大学农业生态研究所田间实验室中进行.实验期间温度:最低 25.5 °C、最高 33.0 °C,平均 28.5 °C.太阳辐射强度为 $6.02 \times 10^5 \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$.

2.2 GC-MS 分析

气相色谱-质谱仪为 Varian Saturn 3900/2100 (美国), DB-5 毛细管柱,30 m × 0.25 mm,0.25 μm (滤膜).测试条件为 1) 程序升温:60 °C 以 10 °C · min⁻¹ 升至 140 °C,保持 2 min,再以 15 °C · min⁻¹ 升至 220 °C,保持 2 min,再以 20 °C · min⁻¹ 升至 240 °C,保持 10 min.进样口温度 220 °C,载气:He(1 ml · min⁻¹);进样量为 1 μl. 2) 质谱条件:EI 电离方式,电子能量 70 eV;阱温:170 °C;阱外套温度:45 °C;传输线温度 220 °C;扫描范围 30~600 amu. 谱图库(NIST98 and WILEY)检索确定化合物,忽略未检出物质的峰面积.

3 结果与分析

3.1 对照土壤溶液中的化学成分

在对照土壤溶液的乙醚萃取物中检测出的 39 个物质中(详细数据未列出),其中有 3 个萜类(峰面积 26.62 %)、8 个酚醌类(9.37 %)、5 个酯类(5.53 %)、5 个醛酮类(10.53 %)、3 个杂环类(15.79 %)、3 个醇类(13.32 %),8 个烃类(7.75 %)和 4 个其他物质(11.09 %).萜类以柠檬烯二氧化物(Limonene dioxide, 22.31 %)为主,占总萜类的 83.81 %.杂环类以 1,3,5-Triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tri-2-propenyl-(13.11 %)为主,占总杂环的 83.03 %.

3.2 水稻 PI 根系分泌物中的化学成分

在水稻 PI 根系分泌物的乙醚萃取物中检测出 36 个化合物(表 1),其中有 9 个萜类(峰面积 10.97 %)、8 个酚醌类(5.87 %)、6 个酯类(10.68 %)、3 个醛酮类(1.44 %)、4 个杂环类(68.04 %)、2 个醇类(1.23 %)、2 个醚类(0.57 %)和 2 个其他物质(1.20 %).

结构分析表明,9 个萜类均为含氧萜类化合物(图 1),其中 5 个为环状含氧单萜(峰面积 7.67 %),均可看成是柠檬烯的氧化产物,3 个为含羟基的倍半萜(2.33 %),1 个为不饱和倍半萜醛(0.97 %).8 个酚醌类化合物的结构均为单苯环的酚、醌和它们的酯(图 2).6 个酯类化合物以反丁烯二酸酯和邻苯二甲酸酯为主,占酯类总量的 88.3 %.没有检测到常见的酚酸类物质.值得注意的是,检测到占物质总量 68.04 %的杂环(图 3),以苯并噻唑类为主,占杂环类总量的 96.09 %.杂环未见具有化感抑草活性的报道,在进一步的生物测试之前尚不能确定是否为化感物质.高含量的杂环是否会对根系分泌物总体的化感作用产生影响、如何影响(增强或减弱),有待进一步研究验证.

表 1 水稻 PI312777 根系分泌物乙醚萃取物中的化合物
Table 1 Compounds identified from ether extracts of the PI312777 roots exudates grown in soil

物质类别 Sort of compounds	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	分子式 Formula	峰面积 Peak area (%)
萜 类 Terpenoid	8. 947	Carvone oxide ,cis -	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	1. 32
	10. 145	5- Isopropenyl-2- methyl-7-oxabicyclo [4 ,1 ,0]heptan-2-ol	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	1. 23
	10. 205	Limonene dioxide	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	1. 23
	11. 339	Limonene oxide	C ₁₀ H ₁₆ O	3. 87
	11. 665	Benzofuran ,octahydro-6- methyl-3- methylene-	C ₁₀ H ₁₆ O	0. 02
	14. 791	Humulan- ,1 ,6- diene-3-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	0. 45
	15. 397	Longiborneol	C ₁₅ H ₂₆ O	0. 70
	15. 524	Cedrol	C ₁₅ H ₂₆ O	1. 18
	18. 991	2 ,6 ,9 ,11-Dodecatetraenal ,2 ,6 ,10-trimethyl- , (E ,E ,E)-	C ₁₅ H ₂₂ O	0. 97
	10. 342	Phenol ,2- (1 ,1- dimethylethyl)- 4- methyl-	C ₁₁ H ₁₆ O	1. 13
酚 醌类 Phenol and quinone	12. 148	2 ,6- di- t- Butyl-4- hydroxy-4- methyl-2 ,5- cyclo hexadien- 1- one	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	1. 67
	12. 446	2 ,6- di- t- Butyl-4- methylene-2 ,5- cyclohexadiene- 1- one	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	0. 07
	13. 065	Butylated hydroxytoluene	C ₁₅ H ₂₄ O	0. 20
	13. 127	Phenol ,2 ,4- bis (1 ,1- dimethylethyl)-	C ₁₄ H ₂₂ O	0. 21
	18. 403	3 ,5- di- t- Butyl-4- hydroxybenzaldehyde	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	1. 09
	21. 316	7 ,9- di- t- Butyl-1- oxaspiro (4 ,5) decar-6 ,9- diene-2 ,8- dione	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	0. 82
	21. 746	Methyl 3- (3 ,5- di- t- butyl-4- hydroxyphenyl) propionate	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	0. 68
	10. 542	2- Butenoic acid ,2- methyl- ,3- hexenyl- ester , (E ,Z)	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	0. 17
酯 类 Ester	13. 705	2- Oxepanone ,7- hexyl-	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	0. 34
	13. 750	3 ,4 ,6- Trimethyl-4- hydroxyhept-5- enoic acid lactone	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0. 74
	14. 447	Fumaric acid ,ethyl 2- (2- methyl enecyclopropyl) propyl ester	C ₁₃ H ₁₈ O ₄	2. 56
	20. 394	1 ,2- Benzenedicarboxylic acid ,bis (2- methylpropyl) ester	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	3. 79
	22. 272	Dibutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	3. 08
	13. 426	4- Hydroxy-4- (4 ,6- dimethylcyclohex-3- enyl) butan-2- one	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0. 33
	16. 506	2- Pentanone ,4- cyclohexylidene-3 ,3- diethyl	C ₁₅ H ₂₆ O	0. 63
	20. 130	4- (2- Methylcyclohex-1- enyl)- but-2- enal	C ₁₁ H ₁₆ O	0. 48
醛 酮类 Aldehyde and ketone	8. 264	1 ,2- Benzisothiazole	C ₇ H ₅ NS	28. 30
	8. 563	Benzothiazole	C ₇ H ₅ NS	0. 04
	16. 292	1 ,3 ,5- Triazine-2 ,4 ,6 (1 H ,3 H ,5 H)- trione ,1 ,3 ,5- tri-2- propenyl-	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₃	2. 59
	17. 068	2 (3 H)- Benzothiazolone	C ₇ H ₅ NOS	37. 11
醇 类 Alcohol	11. 481	(1R ,3S ,7S)- Tricyclo ^[5.4.0.0(1.3)] undecan-3-ol	C ₁₁ H ₁₈ O	0. 55
	14. 635	2- Methyl-4- (2 ,6 ,6- trimethylcyclohex-2- enyl) but-3- en-2- ol	C ₁₄ H ₂₄ O	0. 68
醚 类 Ether	4. 710	Pentane ,1 ,1- diethoxy-	C ₉ H ₂₀ O ₂	0. 22
	14. 105	4- Isopropyl-3- methoxymethylene-1 ,1- dimethyl- cyclohexane	C ₁₃ H ₂₄ O	0. 35
其 它 Other	3. 787	Benzenamine ,4 ,4 - methylenebis [2- methyl-]	C ₁₅ H ₁₈ N ₂	0. 44
	4. 540	Methoxy phenyl oxime	C ₈ H ₉ NO ₂	0. 76

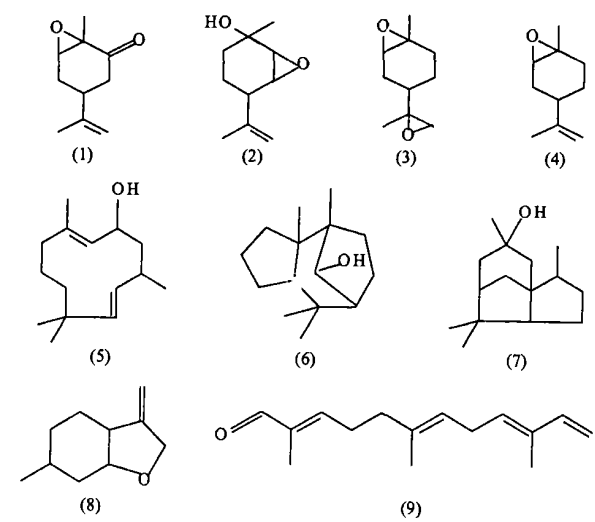


图 1 PI312777 土培的根系分泌物乙醚萃取物中萜类化合物结构
Fig.1 Terpenoids of ether extracts from the PI312777 root exudates grown in soil.
1) Carvone oxide ,cis - ; 2) 5- Isopropenyl-2- methyl-7-oxabicyclo [4 ,1 ,0] heptan-2-ol ;3) Limonene dioxide ;4) Limonene oxide ;5) Humulan- ,1 ,6- diene-3-ol ;6) Longiborneol ;7) Cedrol ;8) Benzofuran ,octahydro-6- methyl-3- methylene- ;9) 2 ,6 ,9 ,11-Dodecatetraenal ,2 ,6 ,10-trimethyl- , (E ,E ,E)- .

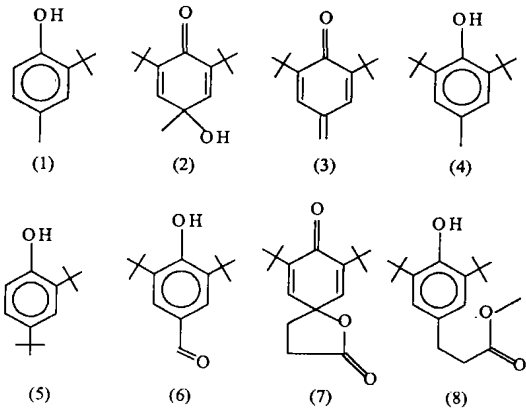


图 2 PI312777 土培的根系分泌物乙醚萃取物中酚醌类化合物结构
Fig.2 Phenols or quinones of ether extracts from the PI312777 root exudates grown in soil.
1) Phenol ,2- (1 ,1- dimethylethyl)- 4- methyl- ; 2) 2 ,6- di- t- Butyl-4- hydroxy-4- methyl-2 ,5- cyclohexadien- 1- one ;3) 2 ,6- di- t- Butyl-4- methylene-2 ,5- cyclohexadiene- 1- one ;4) Butylated hydroxytoluene ;5) Phenol ,2 ,4- bis (1 ,1- dimethylethyl)- ; 6) 3 ,5- di- t- Butyl-4- hydroxybenzaldehyde ;7) 7 ,9- di- t- Butyl-1- oxaspiro (4 ,5) decar-6 ,9- diene-2 ,8- dione ;8) Methyl 3- (3 ,5- di- t- butyl-4- hydroxyphenyl) propionate .

3.3 水稻 PI 根系分泌物与对照土壤溶液的化学成分比较

水稻 PI 根系分泌物与对照土壤溶液的物质类型基本相同,但在化合物化学成分与相对含量上存在差异.对照土壤溶液中有 31 个(占总量 57.77 %)化合物在水稻 PI 根系分泌物中未检出.水稻 PI 根系分泌物中有 28 个(占总量 91.43 %)化合物在对照土壤溶液中未检出.两者之间有 8 个相同的化合物,相对含量占 PI 根系分泌物提取物和土壤溶液提取物总量的 8.57 %和 42.23 % (下同),分别是 1 个萜类(Limonene dioxide), (占 1.23 %和 22.31 %),5 个酚醌类,占 3.99 %和 3.75 %;1 个杂环(1,3,5-Triazine-2,4,6 (1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tri-2-propenyl),占 2.59 %和 13.11 %,1 个甲氧基苯肟(Methoxy phenyl oxime),占 0.76 %和 3.06 %,说明水稻根系分泌物的成分主要来自于水稻自身的生长过程,少量来自于土壤本底物质.

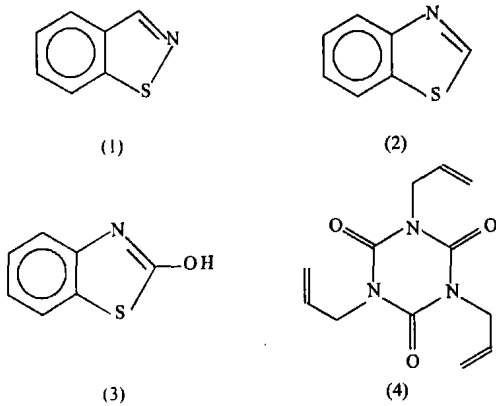


图3 PI312777 土培的根系分泌物乙醚萃取物中杂环类化合物结构
Fig.3 Heterocycle of ether extracts from the PI312777 root exudates grown in soil.
1) 1,2-Benzisothiazole; 2) Benzothiazole; 3) 2(3H)-Benzothiazolone; 4) 1,3,5-Triazine-2,4,6 (1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tri-2-propenyl.

4 讨 论

4.1 对照土壤溶液与水稻 PI 根系分泌物中的化学成分差异

研究结果表明,种植在土壤中的水稻根系分泌物化学成分与未种植水稻的对照土壤溶液的化学成分有较大差异.水稻 PI 苗期根系分泌物中 91.43 %的物质是在种植过程中产生的,其中水稻根系、土壤微生物是重要的影响因子. Flores 等^[9]认为,植物根系除了传统意义上的机械支撑和水分、养分传输外,还要完成诸如各种化合物的合成、聚集和分泌之任务.通过分泌各种的化合物,根系可以调节根区附近

的土壤微生物类群,鼓励有益生物共生、改变土壤理化性质,进而阻止与之竞争物种的生长^[27]. 本研究小组在近期对水稻根系土壤微生物的研究中(结果待发表)发现,种植水稻的土壤微生物类群与未种植水稻的对照土壤微生物类群有很大差异,而且种植不同化感潜力水稻品种的微生物类群也存在很大差异.因此水稻根系与微生物之间的相互作用对水稻根系分泌物的组成有重要的影响.有些研究者对入侵植物的根系分泌物和根际微生态系统做了比较系统的研究^[1,2,35,36],认为植物根系与相邻的入侵植物之间存在着对空间、水分、矿质营养以及包括真菌、细菌在内的土壤生物的竞争,而根系分泌物可能是根系与土壤以及生物体之间相互作用的激发者和操纵者,从而在根-根、根-微生物之间起到积极作用.

4.2 水稻根系分泌物中化感物质与作用机制

实验结果表明,在接近实际种植方式下的水稻 PI 根系分泌物中含有具有化感作用的萜类、酚醌类和脂肪酸酯类物质^[26]. 萜类物质的化感作用研究多集中在植物的挥发油中.一般认为,萜类物质挥发性强而在水中的溶解度较低,但是近年来的研究表明^[10,38],萜类在水中的溶解度远在它们显示其生物活性的浓度之上,而且含氧萜类的水溶性比一般的碳氢萜类高 2~3 倍,足以起到化感抑制作用.水稻根系分泌物中含有萜类物质的报道较少^[11],黎华寿等^[23]在香茅根的萃取物中,用 GC-MS 检测到 4 种倍半萜、7 种含氧倍半萜,我们也在水稻 PI 的根系分泌物乙醚萃取物中检测到较多的萜类,均以含氧形式存在.这与 PI 具有强化感潜力的特性相符合^[5],因而在植物根和根系中存在萜类物质是可能的.萜类物质在较低浓度下能显示抑草活性^[26],因此其化感作用值得今后研究中予以重视.萜类物质化感作用方式和机理的研究相对较少,据报道^[19],萜类物质可通过影响植物的呼吸作用、改变营养循环速率而对植物的生长产生不利影响.一些单萜化感物质加入土壤中,能使土壤中的无机氮水平显著减少,而 N 资源的缺乏会导致植物产生大量的酚酸类物质,因而萜类化合物的存在会导致植物产生大量的酚酸类物质,反之亦然^[19]. 萜类物质与酚酸类物质之间存在互相促进分泌、协同作用的可能性,需要进行物质间互作效果的研究给予证实.长期以来,认为酚酸类物质在化感作用中起到主导作用^[17],尤其是在水稻秸秆还田、残株分解和水稻连作的自毒作用中^[2,4,31,39]. 我们在水稻 PI 的根系分泌物乙醚

萃取物中没有检测到常见的酚酸类物质如香豆酸、阿魏酸、苯甲酸及其衍生物等,只有总含量相对较低的酚醌类物质,与近期的一些研究结果相符合^[18,21,22],因而酚酸类物质是否在水稻化感作用中起到主导作用需要进一步研究.前人研究认为,酚酸类主要通过破坏受体膜的功能^[7,8,24]、改变受体生长激素吲哚乙酸 (IAA) 水平^[24,33,34]、抑制受体 ATP 酶活性^[3]、干扰植物呼吸代谢^[8]、影响植物对营养元素的吸收^[7,8]等作用方式起化感作用.脂肪酸酯是一类潜在的化感物质,但一般要在较高的浓度下起化感作用^[26,31].此外,脂肪酸酯也可能在环境作用下通过水解形成酸类物质而起作用.

植物化感作用是各种化感物质综合作用的结果^[68,30]. Rimando 等^[32]从化感水稻 Taiwan Native 1 (TN1) 的根系浸提物中分离得到的单成分化感物质都不能合理解释 TN1 的田间抑草效应.林文雄等^[24]研究表明,水稻的化感作用潜力高低并非都与每一种酚类化合物含量的高低呈正相关,可能是酚类化合物之间存在相互作用.何华勤等^[13]采用正交旋转回归试验,对化感作用研究中常见的 5 种酚酸化合物(水杨酸、对羟基苯甲酸、肉桂酸、香草酸和阿魏酸)进行物质间的互作效应研究,发现酚酸间的互作是拮抗还是增效取决于各化合物在混合物中的浓度.孔垂华等^[20]在胜红蓟的化感物质研究中发现胜红蓟中无活性的化合物也会对混合物的化感作用效果产生影响,并认为任何一种化感物质都可能影响植物的许多基本代谢过程和生长调节系统,任何一种化感物质对植物的作用机制都与化感物质的浓度有关,低浓度促进高浓度抑制是普遍现象^[19].因此,进一步研究水稻化感作用,需要全面系统地分析代谢产物的组成、作用机制、物质间的互作关系以及化感物质在自然环境下的变化规律,并通过代谢途径的调控来研究最佳化感作用物质组合及其作用机理.林文雄等^[25]运用差异蛋白质组学和分子标记的方法,研究了化感水稻响应伴生稗草胁迫的分子机制与基因定位,阐明了化感物质代谢与莽草酸、异戊二烯等代谢途径中关键酶苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、过氧化物酶 (POD)、-羟基-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMG R) 的基因调控表达紧密相关.何水林、林文雄等^[14,15]研究表明,外源水杨酸、EGTA 和 La³⁺ 可诱导调控萜类物质代谢的关键酶二萜环化酶的基因表达.因而可以通过关键酶对代谢产物的调控,使水稻通过自身分泌的代谢产物来抑制伴生杂草,从而减少化学除草剂的使用,实现农业生产的

可持续健康管理.

4.3 萃取与检测方法

本实验采用中等极性溶剂乙醚为萃取剂,萃取物虽不能代表根系分泌物中的所有物质(尤其是在物质的相对含量方面),但是萃取方法是根据各种物质在乙醚中的分配率规律,因此即使水溶性较高的物质在乙醚中的分配率较低,一般也能达到 GC-MS 的检测范围,从一个侧面反映出分泌物中的物质组成.孔垂华等^[22]认为 LC-MS 是对作物根系分泌物研究最合适的仪器,但因没有谱图库供参考,因此难度大、费用高.采用田间种植方式收集的根系分泌物成分复杂,往往会有几十个、上百个检测峰,而且许多是未知物.这些粗提物立即用 LC-MS 检测鉴定是不现实的,因而用 GC-MS 作前期检测分析,可以快速给出物质种类,然后再对具有潜在价值的化感物质进行针对性的 LC-MS 鉴定.这可能是目前比较方便和可行的研究手段.

参考文献

- Bais HP, Park SW, Weir TL, et al. 2004. How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends Plant Sci*, **9**(1): 26 ~ 32
- Bais HP, Vepachedu R, Gilroy S, et al. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion: From molecules and genes to species interactions. *Science*, **301**: 1377 ~ 1380
- Balke NE. 1985. Effects of allelochemicals on mineral uptake and associated physiological processes. *ACS Symp Ser*, **268**: 161 ~ 178
- Chou CH, Lin HJ. 1976. Autotoxication mechanism of *Oryza sativa*. Phytotoxic effects of decomposing rice residues in soil. *J Chem Ecol*, **2**: 353 ~ 367
- Dilday RH, Mattice JD, Moldenhauer KA. 2000. An overview of rice allelopathy in the USA. In: Kim KU, Shin DH, eds. Rice Allelopathy. Taegu, Korea: Kyungpook National University. 15 ~ 26
- Einhellig FA. 1987. Interaction among allelochemicals and other stress factors of plant environment. *ACS Symp Ser*, **330**: 343 ~ 357
- Einhellig FA. 1985. Effects of allelopathic chemicals on crop productivity. *ACS Symp Ser*, **276**: 109 ~ 130
- Einhellig FA. 1995. Mechanism of action of allelochemicals in allelopathy. *ACS Symp Ser*, **582**: 96 ~ 116
- Flores HE, Vivanco JM, Loyola-Vargas VM. 1999. "Radicle" biochemistry: The biology of root-specific metabolism. *Trends Plant Sci*, **4**: 220 ~ 226
- Gu W-X(谷文祥), Duan S-S(段舜山), Luo S-M(骆世明), et al. 1998. Ecological characteristic of terpenoids and their allelopathic effects to plants. *J South Chin Agric Univ* (华南农业大学学报), **19**(4): 108 ~ 112 (in Chinese)
- He H-B(何海斌), He H-Q(何华勤), Lin W-X(林文雄), et al. 2005. Differential analysis on terpenoids extracted from root exudates in different allelopathic rice accessions. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **16**(4): 732 ~ 736 (in Chinese)
- He H-Q(何华勤), Lin W-X(林文雄). 2001. Preliminary studies on allelopathic potential in rice. *Chin J Ecol Agric* (中国生态农业学报), **9**(2): 47 ~ 49 (in Chinese)
- He H-Q(何华勤), Liang Y-Y(梁义元), Jia X-L(贾小丽), et al. 2004. Weed suppressive effect of phenolic acids. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **15**(12): 2342 ~ 2346 (in Chinese)
- He S-L(何水林), Lin W-X(林文雄), Chen R-K(陈如凯). 2001. Effect of EGTA and La³⁺ on induction of sesquiterpene cyclase gene expression in leaves of *Capsicum annuum* by several abiotic elicitors. *China J Appl Ecol* (应用生态学报), **12**(2): 272 ~ 274 (in Chinese)

- 15 He S-L(何水林), Lin W-X(林文雄), Chen R-K(陈如凯). 2002. Induction of sesquiterpene cyclase gene expression and antioxidant enzymes regulated by exogenous salicylic acid in leaves of *Cap-sicum annuum*. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **13**(5): 569 ~ 572 (in Chinese)
- 16 Hisashi KN, Takeshi I, Noriko S, et al. 2002. Isolation and identification of a potent allelopathic substance in rice root exudates. *Physiol Plant*, **115**: 401 ~ 405
- 17 Inderjit KM. 1996. Plant phenolics in allelopathy. *Bot Rev*, **62**: 186 ~ 202
- 18 Kim KW, Kim KU. 2000. Searching for rice allelochemicals. In: Kim KU, Shin DH, eds. Rice Allelopathy. Taegu, Korea: Kyung-pook National University. 83 ~ 95
- 19 Kong C-H(孔垂华), Hu F(胡 飞). 2001. Allelopathy and Its Application. Beijing: China Agricultural Press. 125 ~ 191 (in Chinese)
- 20 Kong C-H(孔垂华), Xu X-H(徐效华), Chen J-J(陈建军), et al. 2002. Allelopathy of *Ageratum conyzoides*. Transformation of main allelochemical in the soil. *Acta Ecol Sin* (生态学报), **22**(8): 1185 ~ 1195 (in Chinese)
- 21 Kong C-H(孔垂华), Xu X-H(徐效华), Hu F(胡 飞), et al. 2002. Using specific secondary metabolites as markers to evaluate allelopathic potentials of rice varieties and individual plants. *Chin Sci Bull* (科学通报), **47**(3): 203 ~ 206 (in Chinese)
- 22 Kong C-H(孔垂华), Xu X-H(徐效华), Liang W-J(梁文举), et al. 2004. Non-phenolic allelochemicals in root exudates of an allelopathic rice variety and their identification and weed-suppressive activity. *Acta Ecol Sin* (生态学报), **24**(7): 1317 ~ 1322 (in Chinese)
- 23 Li H-S(黎华寿), Huang J-H(黄京华), Zhang X-Y(张修玉), et al. 2005. Allelopathic effects of *Cymbopogon citratus* volatile and its chemical components. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **16**(4): 763 ~ 767 (in Chinese)
- 24 Lin W-X(林文雄), He H-Q(何华勤), Guo Y-C(郭玉春), et al. 2001. Rice allelopathy and its physiobiochemical characteristics. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **12**(6): 871 ~ 875 (in Chinese)
- 25 Lin WX, He HQ, Shen LH, et al. 2004. A proteomic approach to analyzing rice allelopathy on barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli* L.). In: Fischer T, Turner N, Angus J, eds. Handbook and Abstracts(4th International Crop Science Congress). The Regional Institute Ltd., Australia: 179 (The full paper are on line at www.regional.org.au)
- 26 Macias FA. 1995. Allelopathy in search for natural herbicide model. *A CS Symp Ser*, **582**: 310 ~ 329
- 27 Nardi S, Concheri G, Pizzeghello D, et al. 2000. Soil organic matter mobilization by root exudates. *Chemosphere*, **5**: 653 ~ 658
- 28 Olofsdotter M, Jensen LB, Courtois B. 2002. Improving crop competitive ability using allelopathy - An example from rice. *Plant Breeding*, **121**: 1 ~ 9
- 29 Olofsdotter M, Malou R, Artemio M, et al. 2002. Why phenolic acids are unlikely primary allelochemicals in rice. *J Chem Ecol*, **28**(1): 229 ~ 242
- 30 Reigosa MJ, Sanchez-Moreiras A, Gonzalez L. 1999. Ecophysiological approach in allelopathy. *Crit Rev Plant Sci*, **18**(5): 577 ~ 608
- 31 Rice EL. 1984. Allelopathy. 2nd edition. New York: Academic Press Inc. 1 ~ 50
- 32 Rimando AM, Olofsdotter M, Dayan FE, et al. 2001. Searching for rice allelochemicals: An example of bioassays-guided isolation. *Angew Chem Int Ed Engl*, **40**: 16 ~ 20
- 33 Roshchina VV, Roshchina VD. 1993. The Excretory Function of Higher Plant. New York: Springer-Verlag. 213 ~ 215
- 34 Takao M, Akazawa T, Fukuchi S. 1970. Enzymic mechanism of starch breakdown in germination rice seeds. α -amylase. *Plant Physiol*, **46**: 650 ~ 654
- 35 Vivanco JM, Bais HP, Stermitz FR, et al. 2004. Biogeographical variation in community response to root allelochemistry: Novel weapons and exotic invasion. *Ecol Letters*, **7**: 285 ~ 292
- 36 Walker TS, Bais HP, Grotewold E, et al. 2003. Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiol*, **132**: 44 ~ 51
- 37 Wang D-L(王大力), Ma R-X(马瑞霞), Liu X-F(刘秀芬). 2000. A preliminary study on the allelopathic activity of rice germplasm. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), **33**(3): 94 ~ 96 (in Chinese)
- 38 Weidenhamer JD, Macias FA, Fischer NH, et al. 1993. Just how insoluble are monoterpenes? *J Chem Ecol*, **19**: 1799 ~ 1807
- 39 Young CC, Zhu TL, Waller GR. 1989. Phytotoxic potential of soils and wheat straw in rice rotation cropping systems of subtropical Taiwan. *Plant Soil*, **120**: 95 ~ 101

作者简介 何海斌,男,1965年生,副教授,硕士生。主要从事植物化学与化学生态学研究,发表论文 10 余篇。E-mail: alexhbb@163.com
