

茉莉酮酸甲酯对水稻化感物质的诱导效应

孔垂华^{1,2}, 胡 飞¹, 张朝贤³, 徐效华²

(1. 华南农业大学 热带亚热带生态研究所, 广州 510642; 2. 南开大学 元素有机化学国家重点
实验室, 天津 300071; 3. 中国农业科学研究院植物保护研究所, 北京 100094)

摘要:在室内和田间条件下, 外源茉莉酮酸甲酯均能显著地诱导水稻化感物质的合成, 而且这种诱导效应与施用茉莉酮酸甲酯的浓度和诱导时间显著相关。0.4 mmol/L 浓度和处理后 48 h, 茉莉酮酸甲酯对水稻化感物质的诱导效应最强。同样, 不同的水稻品种对茉莉酮酸甲酯的诱导响应也有显著差异。水稻化感品种 PI312777 和丰华占在茉莉酮酸甲酯的诱导下能很快合成大量的化感物质, 而水稻非化感品种华粳籼的化感物质的含量虽也有所增加, 但达不到能显示化感作用的浓度。进一步实验证明: 茉莉酮酸甲酯在处理 48h 后虽能诱导水稻品种合成大量的化感物质, 但这一诱导效应并不能长期维持。研究揭示: 水稻化感物质的合成可在外部因子的作用下动态变化, 这对揭示和充分利用水稻的化感作用机制有重要意义。

关键词:水稻; 化感物质; 茉莉酮酸甲酯; 诱导效应; 动态变化

Inducible effects of methyl jasmonate on allelochemicals from rice

KONG Chui-Hua^{1,2}, HU Fei¹, ZHANG Chao-Xian³, XU Xiao-Hua² (1. *Institute of Tropical and Subtropical Ecology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China*; 2. *State Key Laboratory of Elemento-Organic Chemistry, Nankai University, Tianjin, 300071, China*; 3. *Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, 100094, China*). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(2): 177~180.

Abstract: Methyl jasmonate is a signaling molecule that is mediated through air between plants. It plays important role in activating self-defensive system and induces secondary metabolites production in plants. One of the most important defensive systems in allelopathic rice varieties against associated weeds is to produce and release allelochemicals. Therefore, inducible effects by methyl jasmonate on rice allelochemicals production were investigated under both laboratory and field conditions. The results demonstrated that rice allelochemicals (m-arabinose-pentadecanoyl-resorcinol, m-arabinose-pentadecanoyl-8-resorcinol, 7-xylose-luteolin, 3-glucose-hydroxymaic acid and 3-glucose-7-methoxy-hydroxamic acid) productions were elicited by exogenously applied methyl jasmonate in rice leaves. This inducible effect was dose-dependent and inducible period-dependent. The application of 0.4 mmol/L methyl jasmonate effectively induced to synthesize significant amounts of allelochemicals in allelopathic rice plants in the laboratory and field. The levels of allelochemicals increased rapidly in methyl jasmonate-elicited rice leaves and reached maximum values in 48h after treatments. Furthermore, the inducible response to allelochemical production depended on different rice varieties. Allelopathic rice varieties, PI312777 and Fenghuazhan, could be induced to synthesize a large amount of allelochemicals by methyl jasmonate at different concentrations. However, allelochemicals amounts of non-allelopathic Huajingxian were slightly increased and could not reach the levels to express its allelopathic potential. In addition, the inducible effects by methyl jasmonate on rice allelochemicals also were time-dependent and could not be maintained for a long period. As a result, rice allelochemical production began 12h after treatment with methyl jasmonate and required 48h for obtaining a maximum accumulation, and then allelochemical amounts were gradually

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30070130); 国家“十五”科技攻关计划资助项目(2001BA509B07); 广东省自然科学基金重点资助项目(021045)

收稿日期:2003-04-09; **修订日期:**2003-07-14

作者简介:孔垂华(1962~), 男, 安徽省铜陵市人, 博士, 研究员, 主要从事化学生态学研究。E-mail: chkong@scau.edu.cn

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 30070130), The National “Tenth Five-year Plan” Key Program of Science and Technology (No. 2001BA509B07), The Key Project of Natural Science Foundation of Guangdong Province, China (No. 021045)

Received date: 2003-04-09; **Accepted date:** 2003-07-14

Biography: Kong Chui-Hua, Ph.D., Professor, primarily engaged in the chemical ecology. E-mail: chkong@scau.edu.cn

reduced. The results showed that the accumulation of rice allelochemicals in response to exogenous methyl jasmonate was dynamic, and the allelochemical production in rice plant could be triggered by exogenously applied methyl jasmonate. This finding suggests that allelochemical elicitation by exogenously applied methyl jasmonate is worthwhile in future study for the understanding of allelopathic rice variety against associated weeds.

Key words: *Oryza Sativa*; allelochemical; methyl jasmonate; inducible effect; dynamic change

文章编号:1000-0933(2004)02-0177-04 中图分类号:Q946,Q948,S314 文献标识码:A

一些作物及其相关品种对伴生杂草具有化感抑制作用^[1]。水稻(*Oryza sativa* L.)是世界主要粮食作物之一,其资源中也有少数品种(系)具有化感特性,揭示并充分利用水稻内在的化感作用机制有利于在生态安全条件下的稻田杂草控制,因此,近年水稻化感作用在国内外得到广泛的研究^[2,3]。由于水稻化感品种(系)的化感作用是通过合成并释放化学物质而实现的,这样,水稻化感物质一直是这一研究领域的中心问题之一^[4~6]。然而,大多数研究仍局限在水稻化感物质的确证、分离和结构鉴定等方面,较少考虑水稻化感物质在环境因子、尤其是生物因子作用下的动态变化。事实上,水稻化感品种在不同生育时期和生长条件下能合成和释放不同浓度的化感物质,而且化感物质的合成和释放可以被伴生杂草诱导^[7]。

茉莉酮酸及其衍生物是一类在许多植物体中自然存在的信息化合物^[8],在伤害条件下,它们往往能激活植物自身的化学防御系统^[9]。挥发性的茉莉酮酸甲酯现已被证明是植物种间和种内化学通讯物质,它能在空气媒介中传播并诱导植物合成化学防御物质^[10,11]。已有研究发现:外源茉莉酮酸能诱导水稻叶片中抗菌物质的合成^[12,13]。这样,有理由推测茉莉酮酸甲酯也可能诱导水稻化感物质的合成和释放。因此,研究茉莉酮酸甲酯对水稻化感物质的诱导效应,对揭示水稻化感作用机制有重要价值。

1 材料与方法

1.1 实验材料和仪器

受试水稻为 PI312777、丰华占和丰华粳 3 个品种,其中 PI312777 为对水稻伴生杂草有强化感抑制作用材料,目前已不再种植;丰华占为选育的化感抑制作用品种,目前已通过省级品种审定,正在大面积推广;丰华粳为目前在华南地区大面积种植的商业品种,但无化感抑制作用。

茉莉酮酸甲酯购自美国 Aldrich 公司,实验所用的其它化学品均为市售色谱纯或分析纯试剂。实验所用高效液相色谱仪(HPLC)为 HP-1100 型。

1.2 诱导效应的室内和田间处理

1.2.1 室内处理 在直径 7cm、高 10cm 的塑料杯中放入 150g 干燥并过 50 目筛的稻田土(取自田间实验地),分别播入受试水稻种子 5 粒,加水后放置在温室。待水稻萌发出苗后,每杯间苗至 1 株并继续生长至 6 叶期(水稻萌发和生长期除补充水分外,不进行任何处理)。对 3 个受试水稻品种的 6 叶期幼苗,处理喷施试验设定浓度的茉莉酮酸甲酯,对照则喷施相同量的蒸馏水。各种处理和对照的 6 叶期水稻幼苗分别放入不同的培养箱中生长至实验设定的取样时间。培养箱中的 6 叶期水稻幼苗在 28±1℃、相对湿度 80%和连续光照条件下生长;处理所用的茉莉酮酸甲酯浓度分别为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5mmol/L;取样时间分别为处理后的 12、24、36、48、60、72h。上述每个浓度和时间处理和相应的对照实验均重复 3 次。

1.2.2 田间处理 在广州市华南农业大学教学实验农场分别选取两块相隔 30m 的实验地块。每块实验地设 9 个 1m×3m 的小区,每 3 个小区播种 1 种受试水稻品种,播种密度为 30 株/m²。实验地土壤肥力中等(有机质 17.7±0.5g/kg;全 N 1.89±0.07g/kg;全 P 0.28±0.03g/kg;全 K 9.8±0.3g/kg)。各小区水稻萌发和生长按常规的水稻育秧水平管理,实验时间为 2002 年 9 月。各小区水稻生长至 6 叶期,处理地块的 9 个小区喷施 0.4mmol/L 浓度的茉莉酮酸甲酯,对照地块的 9 个小区喷施相同量的水,48h 后分别从各处理和对照小区取样。

水稻在 6 叶期合成和释放的化感物质量达到最大值^[7],因此,室内和田间处理均选择在水稻的 6 叶期进行。

1.3 水稻化感物质的测定

1.3.1 取样方法 室内取样是从水稻单株上取 10mg 鲜叶,用 5ml 甲醇在冰箱里(5℃)浸提 12h。浸提液用 N₂ 吹干后加 1ml 的 1:1 蒸馏水和甲醇(v/v)混合溶剂溶解,样品溶液经 0.5μm 过滤头后供 HPLC 分析。

田间取样是从小区中随机选 10 株水稻幼苗,每株取 100mg 鲜叶,鲜叶混合后加 50ml 甲醇在冰箱里(5℃)浸提 12h,吸取浸提液上层清液 10ml,N₂ 吹干后加 1ml 的 1:1 蒸馏水和甲醇(v/v)溶液溶解,样品溶液经 0.5μm 过滤头后供 HPLC 分析。所有室内和田间取样均依据实验设计,每个相同处理取样 3 次,每次代表 1 个重复。

1.3.2 化感物质含量测定^[6] 样品化感物质的含量测定在 HP-1100 型 HPLC 仪上采用 C18 反相柱(Hypersil 25mm×4.0mm, 5μm)和 1%乙酸水溶液混合溶剂为流动相进行梯度测定。测试条件:在 1.5ml/min 流速下,先以 10%乙腈 3min,再以 50%乙腈 17min。进样量为 30μl,紫外检测波长 320nm。根据 5 种化感物质特征保留时间和色谱峰面积进行定量分

析,并换算出 5 种化感物质的总含量。定量回归方程 $Y=0.1334c-0.0686$, 相关系数 r 为 $0.9971(n=5)$, 最低检测浓度不小于 $50\mu\text{g/ml}$ 。

所有测试数据均采用 SPSS10.0 软件进行统计分析。

2 结果分析

2.1 茉莉酮酸甲酯对水稻化感物质的诱导效应

前期研究证实^[6]:间阿拉伯糖甙十五烷基苯酚、间阿拉伯糖甙十五烯-8-苯酚、木糖甙木犀草素、葡萄糖甙羟基脲酸和葡萄糖甙甲基脲酸 5 个化合物为水稻化感物质(图 1)。当水稻经用不同浓度的茉莉酮酸甲酯处理 48h 后,3 个受试水稻品种植株中的化感物质含量均增加,表明茉莉酮酸甲酯能够诱导水稻化感物质的合成。而且茉莉酮酸甲酯对水稻化感物质的诱导效应强度与其浓度成正比关系, 0.4mmol/L 浓度的茉莉酮酸甲酯可以最大限度地诱导水稻化感物质的合成(图 2)。

经茉莉酮酸甲酯处理的水稻品种除了 5 个化感物质的含量增加,还出现几个新的物质。这表明茉莉酮酸甲酯也可以诱导水稻合成其它种类的次生物质,这些次生物质的结构和功能需要进一步研究与评价。

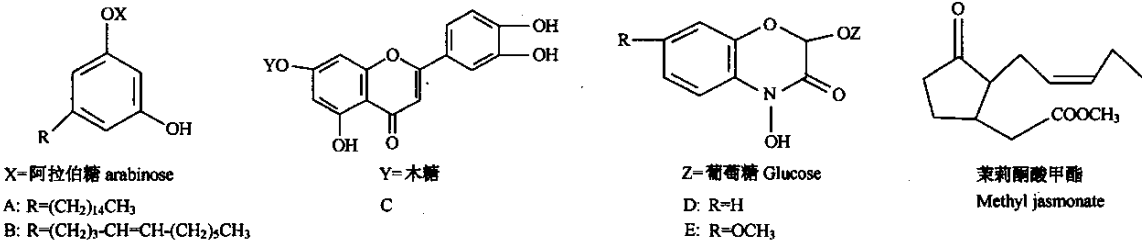


图 1 水稻化感物质和茉莉酮酸甲酯的结构

Fig.1 Structures of methyl jasmonate and rice allelochemicals

A: 间阿拉伯糖甙十五烷基苯酚 m-arabinose-pentadecanyle-resorcinol; B: 间阿拉伯糖甙十五烯-8-苯酚 m-arabinose-pentadecenyl-8-resorcinol; C: 木糖甙木犀草素 7-xylose-luteolin; D: 葡萄糖甙羟基脲酸 3-glucose-hydroxamic acid; E: 葡萄糖甙甲基脲酸 3-glucose-methoxy-hydroxamic acid

2.2 水稻对茉莉酮酸甲酯的诱导响应

3 个受试水稻品种都能在茉莉酮酸甲酯的诱导下合成更多的化感物质,但不同的水稻品种对茉莉酮酸甲酯的诱导响应有显著差异。强化感品种 PI312777 在很低浓度茉莉酮酸甲酯诱导下,很快合成大量的化感物质;另一化感特性品种丰华占合成化感物质的量则随茉莉酮酸甲酯的浓度增加而平稳增加;而无化感特性的华梗粳则被诱导合成的化感物质质量有限,即使在高浓度茉莉酮酸甲酯的诱导下,华梗粳合成的化感物质质量尚达不到 PI312777 和丰华占被诱导前的水平(图 2)。此结果表明水稻化感品种,能在茉莉酮酸甲酯的诱导下合成高浓度的化感物质以增强其化感潜力,而水稻非化感品种即使在高浓度茉莉酮酸甲酯的诱导下,其合成化感物质的量也达不到显示化感作用的水平。

进一步实验发现:水稻对茉莉酮酸甲酯的诱导响应还与被诱导的时间有关。水稻被 0.4mmol/L 浓度的茉莉酮酸甲酯诱导后,其化感物质的含量随时间延长而增加,48h 后达到最大值,随后逐渐降低(表 1)。这说明茉莉酮酸甲酯对水稻化感物质的诱导效应有时间限制,即茉莉酮酸甲酯虽能诱导水稻合成更多的化感物质,但这一诱导效应不能长时间维持。

2.3 田间条件下水稻对茉莉酮酸甲酯的诱导响应

室内处理条件下,茉莉酮酸甲酯能显著地诱导水稻化感物质合成。若这种诱导效应能在田间自然状态下实现,这将意味着能够使用外源茉莉酮酸甲酯增强水稻的化感能力。田间实验证实: 0.4mmol/L 浓度的茉莉酮酸甲酯也能显著地诱导水稻合成更多的化感物质,只是诱导效应的强度有所减弱(图 3)。这可能是由于田间条件下喷施的茉莉酮酸甲酯的有效浓度降低所致。同样,在田间条件下水稻化感品种 PI312777 和丰华占合成化感物质的量远远超出非化感品种华梗粳。

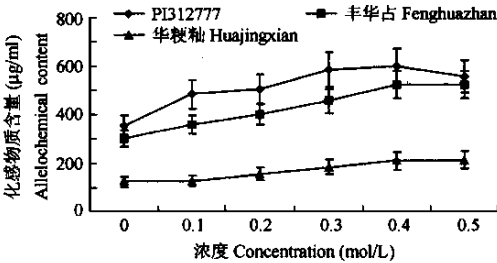


图 2 水稻化感物质含量和茉莉酮酸甲酯浓度的关系

Fig.2 Relations between rice allelochemicals contents and methyl jasmonate concentrations

所有含量均为 5 个化感物质的总量并均在茉莉酮酸甲酯处理后 48h 进行测定 All contents were the total amounts of five allelochemicals and determination were conducted in 48h after treatments with methyl jasmonate

表 1 水稻化感物质含量和茉莉酮酸甲酯诱导时间的关系 *
Table 1 Relation between rice allelochemical content and inducible time of methyl jasmonate

时间 Time (h)	PI312777	丰华占 Fenghuazhan	华粳籼 Huajingxian
12	322.5±10.9a	299.4±10.9a	133.8±10.1a
24	436.4±20.4b	311.2±21.6a	140.6±11.5a
36	514.6±40.6c	474.3±47.3b	184.3±16.7b
48	599.8±50.6d	523.8±53.7c	207.8±15.4c
60	524.5±48.6c	456.5±41.8b	135.6±8.9a
72	425.6±39.4b	300.2±25.5a	122.5±9.7a

* 化感物质含量均为总量 Allelochemical contents were the total amounts(μg/ml),茉莉酮酸甲酯浓度为 0.4mmol/L Concentration of methyl jasmonate was 0.4mmol/L

3 讨论

研究证实,不论在室内还是在田间条件下,外源茉莉酮酸甲酯均能显著地诱导水稻化感物质的合成,而且这种诱导效应与茉莉酮酸甲酯的浓度和诱导时间显著相关。而且,不同的水稻品种对外源茉莉酮酸甲酯的诱导响应也有显著的差异。实验还发现,茉莉酮酸甲酯除了诱导水稻化感物质的合成,也诱导水稻合成其它的次生物质,这些次生物质是新的化感物质还是有其它的生态功能值得进一步探讨。

关于水稻化感物质,长期以来普遍认为是酚酸和脂肪酸类^[4],但这一结论已被许多研究所修正^[5]。作者前期的研究也证实^[6]了水稻化感物质是糖甙间羟基苯酚、黄酮和羟基脂肪酸,而不是酚酸和脂肪酸,但这些水稻化感物质通过根分泌到环境中能在微生物和酸性媒介的作用下降解成酚酸和脂肪酸。本研究进一步发现水稻化感物质及其次生物质在外部因子的作用下是可以发生动态变化的,水稻次生物质在外部因子作用下的动态变化必然会导致其化感作用或其它功能的变化。

已有研究发现^[12,13]:水稻在病原菌的伤害下,其体内的茉莉酮酸及其衍生物含量会增加。事实上,不论在室内还是在自然条件下,许多植物在伤害下其体内的茉莉酮酸往往会形成易挥发的茉莉酮酸甲酯而释放到体外,邻近植物接受到茉莉酮酸甲酯信号后会迅速合成相应的化学防御物质^[11]。水稻在伤害条件下是否也能向体外释放茉莉酮酸甲酯值得进一步研究。

References:

[1] Kong C H, Hu F, Chen X H, *et al.* Assessment and utilization of allelopathic crop varietal resources. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, **35**:1159~1164.

[2] Wang D L. A review on allelopathy of rice. *Acta Ecologica Sinica*, 1998, **18**:326~334.

[3] Kim K U, Shin D H eds. *Rice Allelopathy*. Taegu (Korea): Kyungpook National University, 2000.

[4] Rimando A M, Olofsdotter M, Dayan E E, *et al.* Searching for rice allelochemicals; An example of bioassay-guided isolation. *Agron. J.*, 2001, **93**:16~20.

[5] Olofsdotter M, Rebulanan M, Madrid A. Why phenolic acid are unlikely primary allelochemicals in rice? *J. Chem. Ecol.*, 2002, **47**:839~842.

[6] Kong C H, Xu X, Hu F, *et al.* Using specific secondary metabolites as markers to evaluate allelopathic potential of rice varieties and their individual plants. *Chinese Science Bulletin*, 2002, **47**:839~842.

[7] Kim K U, Shim D H, Lee I J, *et al.* Rice allelopathy in Korea. In: Kim K U and Shim D H eds. *Rice allelopathy*. Taegu(Korea): Kyungpook National University,2000. 57~82.

[8] Boss W F and Morre D J eds. *Second Messengers in Plant Growth and Development*. New York; Liss, 1989. 181~212.

[9] Farmer E E. New fatty acid-based signals; A lesson from the plant world. *Science*, 1997, **276**:912~913.

[10] Farmer E E. Surface to air signals. *Nature*, 2001, **411**:854~856.

[11] Karban R, Baldwin I T, Baxter K J, *et al.* Communication between plants; Induced resistance in wild tobacco plants following clipping of neighboring sagebrush. *Oecologia*, 2000, **125**:66~71.

[12] Rakwal R, Tamogami S and Kodama O. Role of jasmonic acid as a signaling molecule in copper chloride-elicited rice phytoalexin production. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1996, **60**:1046~1048.

[13] Tamogami S, Rakwal R and Kodama O. Phytoalexin production elicited by exogenously applied jasmonic acid in rice leaves is under the control of cytokinins and ascorbic acid. *FEBS Letters*, 1997, **412**:61~64.

参考文献:

[1] 孔垂华,胡飞,陈雄辉,等.作物化感品种资源的评价利用.中国农业科学,2002,35:1159~1164.

[2] 王大力.水稻化感作用研究综述.生态学报,1998,18:326~334.

[6] 孔垂华,徐晓华,胡飞,等.利用特征次生物质为标记评价水稻品种和单植株的化感潜力.科学通报,2002,47:203~206.

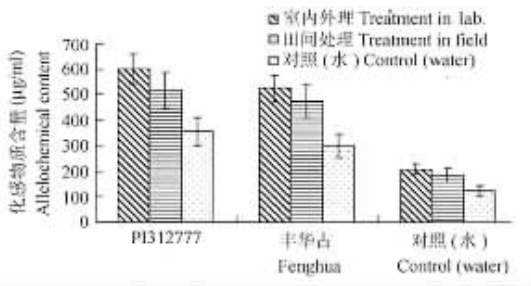


图 3 水稻对茉莉酮酸甲酯的诱导响应
Fig. 3 Inducible response of rice on methyl jasmonate
茉莉酮酸甲酯浓度为 0.4mmol/L,化感物质含量均为 5 个化感物质的总量并均在茉莉酮酸甲酯处理 48h 后进行测定 Concentration of methyl jasmonate was 0.4mmol/L, allelochemicals contents were the total amounts of five allelochemicals and determinations were conducted in 48h after treatments