

水稻化感作用及其分子生态学研究进展

林文雄^{1,2}, 何海斌^{1,2}, 熊 君^{1,2}, 沈荔花², 吴敏鸿²,
林瑞余^{1,2}, 何华勤^{1,2}, 梁义元², 李兆伟², 陈 婷²

(1. 生物农药与化学生物学教育部重点实验室, 2. 福建农林大学生命科学学院农业生态研究所 福州 350002)

摘要:综述了近年来国际上研究水稻化感作用的新进展, 比较分析了当前常用于室内评价水稻化感作用潜力的几种生物测试法的优缺点, 指出了琼脂迟播共培法是较为理想的室内生物测试法并已广泛应用于化感作用研究中。在此基础上, 分析了水稻化感作用的数量遗传特性及其 QTL 定位的研究现状; 阐明了水稻化感作用的遗传多样性及其分子生态特性; 并就当前普遍关注的焦点问题: 逆境条件(如低氮或高伴生杂草密度胁迫)常引起水稻化感作用潜力增大的生理过程与分子机制作了阐述。结合近年来应用差异蛋白组学和生物信息学的研究实例, 阐明了逆境引起水稻化感作用增强与其酚类合成代谢相关酶蛋白表达丰度增加, 萜类合成代谢相关酶蛋白表达丰度下降有关。就究竟什么是水稻的化感物质及其作用方式等问题作了分析与讨论, 指出水稻的化感抑草效应是其众多化感物质综合作用的结果, 应重视区分化感物质对靶标杂草的原生作用和进入土壤生态系统中经生物转化后的次生作用。根据当前植物化感作用研究的发展趋势, 阐明了进一步研究水稻化感作用的重点问题, 提出了水稻化感作用的根际生物学特性与分子生态学机制, 是未来国际上竞相角逐的重点研究领域, 并认为以现代系统生物学理论为指导, 运用基因组学、蛋白质组学和代谢组学等技术方法, 是揭示这一分子生态学过程与机制的重要技术选择和优先研究领域。

关键词:水稻; 化感作用; 性状遗传; 基因定位; 分子生态学

文章编号:1000-0933(2006)08-2687-08 **中图分类号:**Q948 **文献标识码:**A

Advances in the investigation of rice allelopathy and its molecular ecology

LIN Wen-Xiong^{1,2}, HE Hai-Bin^{1,2}, XIONG Jun^{1,2}, SHEN Li-Hua², WU Min-Hong², LIN Rui-Yu^{1,2}, HE Hua-Qin^{1,2}, LIANG Yi-Yuan², LI Zhao-Wei², CHEN Ting² (1. Key Laboratory of Biopesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, 2. Institute of Agroecology C/O School of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(8): 2687 ~ 2694.

Abstract: This article reviewed the recent advances in the investigation of rice allelopathy. The author discussed the advantages and limitations of several bioassay methods commonly used in laboratories for studying rice allelopathy. Relay seeding co-culture bioassay in agar (RSCA) is widely used in allelopathy research and perhaps the best method for laboratory bioassay. The author described the present status of quantitative genetics, QTL mapping, genetic diversity, and molecular ecological properties of allelopathy in rice. A discussion on the physiological process and its molecular mechanism of increased allelopathic potential in rice induced by the stress such as lower nitrogen supplies or higher densities of companion weed was also presented. Based on our proteomic studies, it appears that the increase in allelopathic potential of rice exposed to stresses is due to increased expression of enzymes involved in phenolic synthetic metabolism and decreased expression of enzymes associated with terpenoid synthetic metabolism. We also discussed the possible allelochemicals and their modes of action on the target weed. The inhibitory effect of allelopathic rice accessions on the target weed seems to be resulted from joint action of many allelochemicals with different cellular target sites. It is important to distinguish the primary effect of allelochemicals on the target weed from the secondary effect of allelochemicals when they are released into rhizosphere system and transformed by soil microorganism. Finally, the author

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30471028, 30070068, 30200170); 福建省重大科技资助项目(2002F012, K04038); 福建省自然科学基金资助项目(D0110012)

收稿日期:2005-10-25; **修订日期:**2006-05-01

作者简介:林文雄(1957~), 男, 福建人, 博士, 教授, 主要从事植物生理与分子生态学研究. E-mail: wenxiong181@163.com

Foundation item: The project was supported by The National Natural Science Foundation of China (No. 30471028, 30070068, 30200170), Scientific and Technological Program of Fujian (No. 2002F012, K04038) and The Natural Science Foundation of Fujian Province (No. D0110012)

Received date: 2005-10-25; **Accepted date:** 2006-05-01

Biography: LIN Wen-Xiong, Ph.D., Professor, mainly engaged in plant physiology and molecular ecology. E-mail: wenxiong181@163.com

highlighted the important issues critical to allelopathy studies in rice. Rhizosphere biological properties of allelopathy in rice and its mechanism are likely to be the key research areas worldwide. Recent development in systems biology and the systematic approaches such as genomics, proteomics and metabolomics would be expected to be used to reveal the process and its mechanism of molecular ecology on rhizospheric biology of allelopathy in rice.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); allelopathy; quantitative genetics; gene mapping; molecular ecology

利用作物的化感作用控制农田杂草被视为 21 世纪发展可持续农业的生物工程技术之一。作物的化感作用(Allelopathy)是指一种活体作物(供体)产生并通过挥发(Volatilization)、淋溶(Leaching)、分泌(Exudates)和分解(Decomposition)等方式向环境释放某些化学物质而影响周围其它植物(受体)的生长和发育的化学生态学现象^[1-3]。

自 20 世纪 80 年代, Dilday 等^[4-6]首先在田间观察到部分水稻品种对杂草具有明显的抑制作用以来, 研究人员加强了对化感作用研究的国际间合作, 使人们逐渐对水稻化感作用的遗传^[7-12]、化感物质分离与鉴定^[13-17]、作用方式及其机制^[18-22]等方面有了较为深入的了解, 并取得了重要研究进展。我国在这一领域的研究起步较迟, 但近年来, 在各有关部门的支持下, 经过国内同行的共同努力, 也取得了令世人瞩目的研究成果。有关作物化感作用的研究进展, 国内外已有过不少的综述报道^[23-29]。本文结合作者的科研实践, 就近年来水稻化感作用及其分子生态学研究作系统综述和分析, 以供国内同行参考。

1 水稻化感作用潜力的评价方法

建立一套科学、适用的水稻化感潜力评价方法, 是获得合理、准确实验结果的前提。各国研究人员在进行水稻化感作用的种质资源筛选、遗传分析和 QTL 定位研究中, 分别采用了不同的生物测试方法, 当前常用的室内生物测试方法有:

水浸提生物测试法(Water extract bioassay); 植物箱生物测试法(Plant box bioassay); 迟播共培法(Relay seeding co-culture bioassay); 等隔离体积共培法(The equal-compartment-agar-method); 琼脂迟播共培法(Relay seeding co-culture bioassay in agar)^[30-34]。这几种近年来常用的室内生物测试法, 各有优点和不足。水浸提法简单易行, 但存在处理浓度和受体渗透压问题, 而且离体浸提物与自然分泌物有着本质上的区别。而后 4 种的生物测试法的共同特点是在活体下测试供体根系分泌物对受体植物生长的影响, 克服了水浸提法的不足, 但存在费用高, 易污染等问题。Wu 等^[28]认为理想的生物测试方法必须具备以下几个特点: 耗费低、快速、易操作、对靶标作物具有广泛的适应性、可重复性强及合理的数据统计方法等, 同时生物测试方法必须能敏感地区别作物品种间的化感作用潜力的差异。但目前还尚未有一种测试方法能全部满足以上要求。为此, Leather & Einhellig^[35]建议在进行化感作用品种筛选时, 为得到较为合理的结论, 有必要运用几种不同的生物测试方法同时对同一个品种进行化感作用潜力的评判。据此, 我们采用目前较为通用的三种简易筛选方法: 琼脂迟播共培法(Relay seeding co-culture bioassay in agar, RSCA)、石英沙迟播共培法(Relay seeding co-culture bioassay in silica, RSCS)和根系分泌物培养法(Culture in Root Exudation, CRE), 同时评价了 5 个水稻品种的化感作用表现(受体为稗草, 评价指标为根长和抑制率), 以期能建立一种合理而通用的水稻化感作用生物测试方法。这 3 种方法的共同特点是考虑供体植物根分泌物对受体根系的影响, 具有一定的可比性。其实验结果见表 1。

比较 3 种生物测试法的结果不难看出, 同一品种在不同生物测试法中表现有所差异, 如 Iguape Cateto 在 RSCA 法中 *IR* 值最大, 而在 CRE 法中 *IR* 值居第三位。PI312777 在 CRE 法中 *IR* 值最大, 而在 RSCS 法中 *IR* 值居第 3 位。但综合而言, 5 个水稻品种的化感抑草潜力在 3 种生物测试法中的平均表现为 Iguape Cateto (平均抑制率 46.17%) > PI312777 (45.27%) > IAC120 (35.60%) > Batatais (32.27%) > Lemont (-6.13%)。可见 Iguape Cateto 和 PI312777 的化感作用潜力最强, Lemont 最弱。经相关分析表明, 3 种生物测试方法分别对 5 个水稻品种的评价结果(X_1, X_2, X_3)与每个品种在 3 种方法中的平均值(Y)的相关程度, 以 RSCA 法最高, 达显著水平, 同时认为 RSCA 的评价结果与 3 种测试方法总体测试效果趋势一致。可见 RSCA 法是较为理想的方法, 因而近年来已被广泛应用于化感作用的生理生态与分子生物学研究之中。据此, 运用 RSCA 法先后对来自世

界各国的 600 多份化感水稻材料进行化感作用潜力评价,获得一些重要的研究材料,为系统开展化感作用的遗传生理与分子生态学研究奠定重要的基础^[34]。

表 1 在 3 种生物测试法中,5 个供试水稻品种的化感潜力表现^{*}

Table 1 The performance of allelopathic potential in 5 rice accessions tested by three different bioassay methods

生物测试法 Bioassay method	与不同化感潜力水稻品种共培下的稗草根长及抑制率 Root length and IRs of barnyardgrass by co-culture with different allelopathic rice accessions				
	PI312777	Lemont	IAC120	Batatais	Iguape Cateto
RSCA	1.90 (57.2)	3.92 (10.8)	2.35 (46.9)	2.31 (47.5)	1.83 (58.2)
CRE	1.30 (43.2)	3.03 (-33.4)	1.31 (42.6)	1.96 (13.5)	1.42 (38.2)
RSCS	0.74 (35.4)	0.85 (4.2)	3.45 (17.3)	1.89 (35.8)	1.73 (42.1)
根长平均值 Root length average	1.31	2.60	2.37	2.05	1.66
抑制率平均值 IR average	45.27	-6.13	35.60	32.27	46.17

* 括号内为抑制率,括号外为稗草根长 The data inside the parentheses was Inhibitor rate (IR) on barnyardgrass, outside was root length of barnyardgrass; IR = (CK-TR)/CK × 100, where CK refers to control in the monoculture of receiver barnyardgrass; TR, refers to the treatment in the coculture of rice with barnyardgrass

2 水稻化感作用的性状遗传与分子生物学特性

在建立了科学通用的室内生物测试法之后,所筛选的材料中,具有强化感作用潜力性状能否得以遗传,是化感作用研究最终走向生产实践的关键。近年来国内外学者作了大量的研究工作,并取得明显进展。

2.1 水稻化感作用的数量遗传与基因定位

Dilday 等最早开展水稻化感作用的遗传研究,他采用具有化感作用潜力的水稻品种 PI312777 与不具化感作用潜力的水稻品种 Lemont 进行杂交,运用经典遗传方法研究化感作用性状的遗传规律,提出了水稻化感作用是由多基因控制的数量遗传性状^[4]。研究证实了该性状的遗传特性,提出了利用作物杂种优势与化感作用相结合的技术选育抗草杂交稻组合的观点,并通过多系杂交配组,转育成功强化感杂交水稻,证明了这一技术路线的可行性^[34]。近年来国际上许多学者纷纷开展这一数量性状的 QTL 定位研究,取得了明显进展,为确立分子标记辅助选育强化感抗草品种的技术体系奠定了重要的研究基础。

Jensen 等^[37]运用强化感作用品种与弱化感作用品种构建的重组自交群体(RILs)进行 QTL 定位。该群体包含 250 个重组自交系,其亲本为 IAC165(强化感作用)和 CO39(弱化感作用)。取其中标记较为完整的 121 个重组自交系进行化感作用的表型 QTL 定位试验。在试验中,运用迟播共培法(The relay seeding coculture bioassay method)进行化感作用潜力比较。所构建的连锁图谱含 140 个 DNA 标记,涵盖水稻所有的 12 条染色体,平均标记点的距离为 14cM。研究发现与水稻化感作用相关的主效应 QTLs 位点分别位于 2、3 和 8 染色体上,能解释 6.9%~12%的所有表型变异。可见解释表型变异率较低,这可能与分子标记及其优化有关。

Enaba 等^[38]采用水浸提生物测试法(Water extract bioassay method)为化感作用潜力评价手段,利用强化感作用品种 PI312777 与弱化感作用品种 Rexmont 的杂交后代 F2 代为材料,进行化感作用的 QTL 定位。结果发现有 7 个 QTL 位点位于第 1、3、5、6、7、11 和 12 染色体上,且位于第 6 染色体上的 QTL 具有最大的化感作用效应,能解释 16.1%的表型变异。其他 6 个的 QTL 能解释 9.4%~15.1%范围的表型变异。然而水稻化感作用性状属多基因控制的数量遗传性状,因此采用 F2 代遗传群体进行 QTL 定位,有其局限性,这可能是造成该研究的 QTL 解释表型变异较低的主要原因。

曾大力、钱前等^[12]利用窄叶青 8 号和京系 17(这两个品种的化感作用潜力高低未得到国际公认)构建的 DH 群体,用水浸提生物测试法(Water extract bioassay method)评判各品种的化感作用潜力,检测到 4 个水稻化感作用的主效应 QTL 分别定位在 3、9、10 和 12 染色体上。徐正浩等^[39]也利用一套重组自交系及其含有 168 个分子标记的遗传图谱,构建包括采用迟播共培法(The relay seeding co-culture bioassay method)进行化感作用 QTL 分析,结果只检测到 1 个与化感作用有关的主效应基因 QTL,并把该 QTL 定位于第 7 条染色体上,解释了

32.30%的表型变异。同时又检测到 6 对上位性 QTLs,解释了 47.83%的表型的变化,两类 QTLs 位点解释 80.13%的表型变异,可见解释变异高,是一种特例。

Lee 等^[40],以 Sathi × Nonganbeo 杂交二代(F_2)为遗传群体、稗草为化感作用受体植物,采用再生法对水稻 F_2 代群体的化感作用潜力进行生物测试,在此基础上运用 SSR 分子标记法进行化感作用的 QTL 分析,结果得到了 9 个与化感作用有关的 QTLs 分别定位在染色体 1、2、3、4、5、8、9 和 12 染色体上,其中定位于第 1 和第 5 染色体上的 2 个 QTLs 对化感作用的贡献率最大,解释了 36.5%的表型变异。

本研究小组也运用国际公认的化感水稻 Dular 和非化感水稻 Lemont 杂交产生的后代经一粒传选育而成的一套含 123 个稳定株系的重组自交系(RIL)群体及其亲本为供体,并以稻田主要杂草稗草为受体,采用琼脂迟播共培法以受体根系抑制率为指标,分析其群体的频率分布。在此基础上,运用 SSR 分子标记技术,构建了一个含 98 个分子标记覆盖 12 个连锁群的遗传图谱,并检测到 5 个与化感作用有关的 QTLs 分别位于 1、1、5、9、9 号染色体上,解释了 23.97%、15.21%、13.89%、18.63%和 6.64%的遗传变异。各自对表型的贡献率分别为 11.83%、7.51%、6.86%、8.20%和 3.28%。然而这些 QTLs 究竟是通过何种生化途径,实现化感作用,需要通过图位克隆或分子克隆的方法才能深入阐明该 QTLs 的功能,但实现精细定位确实费功费时。近年来,首次运用功能蛋白质组学分析技术研究 PI312777 水稻化感作用的基因定位问题,结果认为与化感有关的基因分别位于水稻的染色体 4、7、8 和 12 上的特定克隆位点,并认为该基因功能其编码与合成酚类和萜类化合物的关键酶蛋白(PAL, HMGR 等)有关^[11,34],首次把 QTLs 位点与功能蛋白联系在一起,为进行分子克隆奠定了基础。

由上可见,各学者间对化感水稻的 QTL 定位的位点数多数不同,究其原因有二:一是各学者在研究中所采用的研究材料各不相同(供受体不同);二是对水稻化感作用潜力的评价方法(生物测试法)不同,导致对个体化感作用潜力的评判可能发生偏差,从而影响 QTL 定位的准确性。因此建立科学、通用的生物测试方法十分重要。

2.2 水稻化感作用的遗传生态与分子机制

水稻化感作用的遗传和 QTL 定位研究都反复证明,该性状具数量遗传特性,易受环境条件所调控,因而研究水稻化感作用的遗传生态与分子机制是深入理解化感作用特性的重要内容,这也是第四届国际化感作用大会的中心议题之一^[34]。

2.2.1 化感水稻的遗传多态性 前人研究结果表明^[23,34],具有化感作用的水稻种质资源所占比例较小,约 3%~5%,其农艺性状表现各异,因而认为化感性状与产量等农艺性状不存在紧密连锁,这为人们进行遗传重组,选育化感抑草高产品种提供重要的试验依据。而造成这种特异资源所占比例较小的缘故,有人认为是人类长期选择压力造成化感性状丢失造成的,因而认为从地方品种或原始野生种中较易找到强化感作用种质资源^[41,42]。但从开发利用看,化感作物虽然形态特征表现多态性,但其遗传分化关系前人研究很少涉及。据此,本研究小组运用现代分子标记技术率先开展化感作用遗传多态性研究^[34,43],结果认为化感作用的遗传分化十分复杂,基本上,地理近缘,遗传距离小的强化感水稻归为一类,推断它们为相同的等位化感基因;但也有部分地理近缘,遗传距离小,化感潜力却差异较大的水稻被归为一类,认为是引种导致的;从中也发现一些分布在不同类的遗传距离大,地理远缘的强化感水稻,因而推断它们可能是非等位的化感基因,这为进行杂交亲本的选择与配组,培育强化感水稻的基因聚合品种提供决策依据^[34]。

2.2.2 水稻化感作用的发育遗传特性 现代发育遗传学已探明,在生物个体的不同发育阶段,基因是按一定的时空秩序有选择地表达的。由于数量性状的表现是一个动态过程,涉及基因型与环境互动、遗传信息表达与调控各个重要环节,所以深入探明复杂数量性状随时空动态变化的遗传生态学机制是倍受生态学家重视的问题。本研究小组的研究结果表明^[9,10,34],水稻在生长发育的不同叶龄期化感作用潜力是不同的,控制化感作用基因的表达也不同;进一步运用现代发育遗传学研究方法研究了水稻在不同发育阶段化感作用性状的动态遗传特征,结果认为^[9,10],控制水稻不同叶龄期化感作用的加性效应基因与显性效应基因呈交替表达趋势,合理

地解释了在化感作用研究过程中普遍存在的间断性表型表现的遗传原因,为开展水稻化感作用品种选育与栽培管理,提供重要的科学依据。

2.2.3 水稻化感作用的逆境生理与分子生态特性环境胁迫会引起作物化感作用潜力发生变化,已被国内外学者所证实。WU, Einhellig 等的研究都指出作物化感物质的产生与释放均受外部环境条件的影响,且逆境胁迫能调节基因表达,加快化感物质的合成,并促进化感物质从作物内部释放到外部环境中^[11,19,28]。Kim 等^[8,29]研究表明,化感作用水稻经 UV-B 胁迫处理后与未经处理相比,其合成的酚类化感物质的关键酶 PAL 和 CA4H 的基因启动早,酶活性峰值高,且到达时间明显提前。同时他们的研究还发现,当化感水稻与不同密度的伴生杂草(稗草)共培养时,其化感作用潜力随着稗草密度的加大而明显增强。如何解释这一分子生态特性,已成为国际上研究的新热点。前人在植物对环境胁迫(生物因子如草食动物、昆虫、菌等,非生物因子如营养、水分等)的防御(适应)策略与机制的生态学研究中,提出了一些颇有借鉴意义的假说^[44-52]。然而,这些假说主要是在研究木本植物与草食动物、昆虫以及微生物之间相互作用的化学生态学关系中提出的,每种假说都有实验依据的支持,但也存在不足之处。这些假说是否符合植物与植物之间的相互作用关系,尚需要大量的实验依据。而环境胁迫引起化感作用潜力变化的生理机制究竟符合哪一假说,更深层次的试验验证未见报道。本研究小组自行设计了化感-竞争分离生测法(Allelopathy and Competition Separation-based bioassay, ACS)^[53],并运用现代差异蛋白质组学技术研究了水稻在不同氮素条件下抑草能力变化的分子生理过程与机制,结果表明在稻/稗共生系统中,不同化感潜力水稻干扰伴生杂草生长的生态对策不同。具有化感作用的水稻在 N 素胁迫(资源短缺)下,主要通过提高化感抑草能力而抑制伴生杂草生长的生存策略,而不具化感作用的水稻主要通过加大对环境资源竞争力度从而影响伴生杂草生长的生存对策^[25]。本试验进一步证明了水稻化感作用存在的真实性,有力地回答了“究竟是化感作用还是资源竞争”这个国际上一直争论的焦点问题。运用差异蛋白组学方法,进一步研究表明^[34],随供氮水平下降,化感水稻叶片中的合成酚类化合物的一些关键酶蛋白表达丰度增强,而合成萜烯类化合物的关键酶蛋白表达丰度减弱,对根系的差异蛋白组学分析结果也得到类似的结果。因而认为逆境引起的化感作用潜力增强与酚类合成代谢增强有关,在这一过程中,水杨酸(SA)及其衍生物起着重要的化学识别,信号传导和基因表达调控的作用。首次从蛋白组(proteome)水平上揭示了这一生理现象的分子机制。

3 水稻化感作用的根际生物学特性

近年来,有不少研究发现^[54-59],植物化感作用是一个极其复杂的根际生物学过程,涉及到供受体植物之间、供受体植物与土壤微生物之间以及微生物生理类群之间的化学识别与信号转导等,已成为世界各国竞相角逐的重要研究领域。

林文雄等^[34]以化感水稻 PI312777 和非化感水稻 Lemont 为材料,分别测定了不同的水稻叶龄期(3~7 叶期)根际微生物区系变化及根际土壤酶活性。结果表明:化感水稻明显影响了土壤根际微生物群落多样性及相关酶活性。化感水稻 PI31277 根际细菌、放线菌、固氮菌的数量高于非化感水稻 Lemont,而真菌的数量低于非化感水稻 Lemont,说明化感水稻 PI312777 对绝大多数的细菌、放线菌、固氮菌的生长有促进作用,对一些真菌生长有抑制作用。进一步分析表明,化感水稻 PI312777 对氨化细菌、好气性固氮菌、好气性纤维素分解菌、硫化细菌、亚硝酸细菌、硝酸细菌生长具有促进作用;而对反硫化细菌、反硝化细菌生长有抑制作用。此外化感水稻 PI312777 根系的分泌物对脲酶、磷酸酶、蔗糖酶的活性具有促进作用,而对过氧化氢酶则呈抑制作用,造成上述不同水稻根系生物学差异的原因及其分子机理有待研究。近年来,运用 T-RFLP 技术并结合现代生物信息学的方法研究化感水稻对土壤微生物多样性的影响,取得了丰富的研究信息,克服了传统方法只能用于分析占土壤微生物种类及其总量约 10% 的可培养微生物群落的不足。

4 水稻化感物质及其作用方式

关于水稻化感物质的代谢途径,至今没有直接的研究报道,但从已有的差异蛋白组学研究结果可以推测该过程涉及两个次生代谢途径,其一是莽草酸或乙酸丙二醛途径,其二是异戊二烯途径^[34]。但水稻化感物质

究竟是哪一种,至今研究结论各异。有的学者认为是来自于莽草酸或乙酸丙二醛的酚类化合物为化感物质,但近年来也有学者认为酚类化合物不是化感物质,并认为萜类和黄酮类可能是化感物质^[15-17,26,34,60]。理由是酚类物质达到抑制作用的有效浓度较高,在自然条件下很难达到这个浓度,而萜类等物质呈化感抑制作用的有效浓度相对较低。然而,采用循环系统收集并比较了来自土壤和沙子两种培养基质的化感水稻(PI312777)和非化感水稻(Lemont)的根系分泌物,结果发现在两种水稻根系分泌物中,均有萜类、酚醌类、酯类、醛酮类、杂环类、醇类、醚类等次生化合物,其中完全相同的物质占 60.4%,而且非化感水稻分泌物中的化合物的种类及数量明显高于化感水稻的根系分泌物^[16,34]。可见,两种水稻代谢途径基本相似,但化感作用潜力的强弱并不与次生代谢物的种类及其数量成正比,显然是各种化合物综合作用的结果。运用正交旋转回归设计方法研究上述 3 种主要物质,即萜类、酚醌类、酯类化合物在自然浓度之下和之上的互作效应,结果表明,因子之间存在着增效或拮抗(减弱)的化感作用。因此,想从中找到一个具有环境稳定的强化感物质显然是十分困难甚至是不可能的。多数研究表明,在生物和非生物因子逆境胁迫下,水稻化感作用增强,对此,运用差异蛋白组学的方法,从蛋白组水平研究不同逆境条件对上述两种水稻的影响,结果发现逆境诱发化感水稻抗性增强,酚类合成代谢急剧上升,萜类合成代谢明显下降(是 C、N 资源交叉竞争的结果)^[34],同时运用 GC-MS 和 LC-MS 分析手段研究不同条件下上述两种水稻水培液的化学成分及其作用效果,结果验证了该化学生态学的现象及其作用机制。可见,酚类不是化感物质是有条件的。近年来,美国学者 Vivanco 及其研究小组综合运用生理学、生物化学、细胞学和基因组学的方法与技术研究了外来入侵物种矢车菊属(*Centaurea maculosa*)对本地植物的影响^[54-58],结果发现矢车菊的分泌物中含有一种多酚化合物即消旋儿茶素(racemic catechin)是化感物质,他们运用活体细胞荧光染色法检测该物质的作用方式及其分子机理,发现了该化感物质在自然浓度下能激发受体根系分生组织产生大量活性氧(ROS)及其化学波,并由此导致钙信号传递的级联反应,从而引起全基因组水平基因表达的改变,最后引起受体细胞的程序性死亡(PCD),成果发表在《Science》上后引起极大的反响。因此,究竟什么是水稻化感物质至今仍是争论的焦点,以往单靠分离天然药物的方法分离鉴定化感物质的方法有其局限性,应该采用我国中药学的理论和方法综合考虑根系分泌物的原生作用和经过土壤根际生态系统的迁移变化规律并由此产生的次生作用。据此运用抖落法研究不同根系土壤的化感作用活性,结果发现^[34],粘着在根系表面的土壤其化感抑草活性>离根系极近的根际土壤>离根系较远的根外土壤,可见土壤的种类及其微生物对化感活性是有影响的。2005 年在澳大利亚召开的第 4 届化感作用大会上,不少学者针对化感物质在土壤当中的迁移变化规律提出了许多新的研究思路与方法,并取得重要进展^[61,62]。Weidenhamer^[67]以二甲基硅氧烷聚合物(polydimethylsiloxan-based materials, PDMS)为材料制造一种生物模拟提取膜(biomimetic extraction)进行原位收集与监测土壤中主要高粱化感物质(sorgoleone)的动态变化。Rinu 等^[63-69]还提出了运用代谢组学的理论与方法并借助 FTIR、NMRESI-MS、GC-MS、LC-MS 及现代生物信息学技术分析根系土壤的化学成分及其代谢途径,以深化理解植物与植物、植物与微生物、微生物与微生物之间的化学关系,为揭示水稻化感物质在根际生态系统中的行为规律及作用机制提供了借鉴。

5 结语与展望

综上所述,建立一个准确有效、简单易行的生物测试法,是水稻化感作用研究的前提,而阐明水稻化感作用潜力产生的过程与机制,是化感作用走向生产应用的关键。水稻化感作用性状的遗传分析及 QTL 定位,证实了化感作用这种数量性质易被环境条件所调节的遗传本质。但是以往研究都是从表型性状来推断化感作用的遗传行为及化学机制,缺乏必要的分子证据来阐明供体与受体植物间存在的化学生态学关系。因而化感作用仍然未得到当代学术界的广泛接受。除上述原因外,关键问题还有:(1)很难设计一个十全十美的田间试验,以证实由供体植物生产的一种化学物质能抑制临近受体植物;(2)虽然在供体根际周围存在较高浓度的化感物质,但从供体根际周围运输到受体根系表面,很难保证达到影响受体植物的有效作用浓度。即使能够达到,但由于供、受体植物的长期共存,可能存在着协同进化的现象,因而必然影响其作用浓度和作用效果。尽管如此,Dilday 通过杂交育种与强化选择的方法,获得了强化感水稻高产品种,并在田间观察到了杂草抑制

圈,证实了化感作用的存在和用它进行安全除草的可行性^[70]。因此,深入揭示这一化学信号传递的分子生态学过程与机制,是推进化感作用研究走向深入的关键。近年来,包括作者在内的国内外许多学者,运用现代系统生物学技术,如基因组学、蛋白质组学和代谢组学等方法^[34,71~74],研究在非生物因子(低磷、低氮、UV-B 辐射等)和生物因子(伴生杂草)胁迫下,化感作用的基因表达与调控的分子生态学及根际生物学过程,并取得重要进展,预示着十分诱人的发展前景。

References:

- [1] Rice E L. Allelopathy. 2nd ed. New York: Academic Press Inc, 1984.
- [2] Putnam A R, Weston L A. Adverse impact of allelopathy in agricultural systems. In: Putnam AR, Tang CS, eds. The Science of Allelopathy. New York: John Wiley and Sons, 1986. 43 ~ 56.
- [3] Reigosa M J, Sanchez-Moreiras A, Gonzalez. Ecophysiological approach in allelopathy. Critical Reviews in Plant Sciences, 1999,18(5):577 ~ 608.
- [4] Dilday R H, Yan W G, Moldenhauer K A K, et al. Allelopathic activity in rice for controlling major aquatic weeds. In: M. Olofsdotter ed. Allelopathy in Rice. Manila, Philippines: IRRI, 1998, 7 ~ 26.
- [5] Dilday R H, Nastasi P, Smith R J Jr. Allelopathic observation in rice (*Oryza sativa* L.) to ducksalad (*Heteranthera limosa*). Proceedings of the Arkansas Academy of Sciences, 1989,43:21 ~ 22.
- [6] Dilday R H, Lin J, Yan M. Identification of allelopathy in the USDA-ARS rice germplasm collection. Aust J of Exp Agric, 1994,34:907 ~ 910.
- [7] Jensen L B, Olofsdotter M, Courtois B. Genetic control of allelopathy in rice (*Oryza sativa* L.). In: Kim K U, Shin D H, eds. Rice Allelopathy. Taegu, Korea: Kyungpook National University, 2000.27 ~ 40.
- [8] Shin D H, Kim K U, Sohn D S, et al. Regulation of gene expression related to allelopathy. In: K.U.Kim ed. Rice Allelopathy. Taegu: Ililsa Press, Korea, 1999.109 ~ 124.
- [9] Lin W X, Dong Z H, Chen X X, et al. Analysis on dynamic heterosis for allelopathy in rice under different environment conditions. Agricultural Sciences in China, 2003,2(7):707 ~ 714.
- [10] He H Q, Shen L H, Xiong J, et al. Conditional genetic effect of allelopathy in rice (*Oryza sativa* L.) under different environment conditions. Plant Growth Regulation, 2004,44:211 ~ 218.
- [11] He H Q, Lin W X, Liang Y Y, et al. Analyzing the molecular mechanism of crop allelopathy by using differential proteomics. Acta Ecologica Sinica, 2005,25(12):3141 ~ 3145.
- [12] Zeng D L, Qian Q, Teng S, et al. Genetic analysis on rice allelopathy. Science Bulletin, 2003, 48(1):70 ~ 73.
- [13] Hisashi K N, Takeshi I, Noriko S, et al. Isolation and identification of a potent allelopathic substance in rice root exudates. Physiol Plant, 2002,115: 401 ~ 405.
- [14] Kim K W, Kim K U. Searching for rice allelochemicals. In: Kim K U, Shin D H, eds. Rice Allelopathy. Taegu, Korea: Kyungpook National University, 2000.83 ~ 95.
- [15] He H B, He H Q, Lin W X, et al. Differential analysis on terpenoids extracted from root exudates in different allelopathic rice accessions. Chin J Appl Ecol, 2005,16(4):732 ~ 736.
- [16] He H B, Lin W X, Chen X X, et al. The differential analysis on allelochemicals extracted from root exudates in different allelopathic rice accessions. In: Haper J D I, An M, Kent J H. eds. Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base" Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 517 ~ 520.
- [17] Kong C H, Xu X U, Liang W J, et al. Non-phenolic allelochemicals in root exudates of an allelopathic rice variety and their identification and weed-suppressive activity. Acta Ecologica Sinica, 2004,24(7):1317 ~ 1322.
- [18] Einhellig F A. Mechanism of action of allelochemicals in allelopathy. ACS Symp. Ser, 1995,582:96 ~ 116.
- [19] Einhellig F A. Interactions involving allelopathy in cropping system. Agron J, 1996, 88:886 ~ 893.
- [20] Lin W X, He H Q, Guo Y C, et al. Rice allelopathy and its physiobiochemical characteristics. Chin J Appl Ecol, 2001,12(6): 871 ~ 875.
- [21] Lin W X, Kim K U, Shin D H. Rice allelopathic potential and its modes of action on Barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli* L.). Allelopathy J. 2000,7 (2):215 ~ 224.
- [22] Kong C H, Xu T, Hu F. Allelopathy and its inducement mechanism under environment stress. Acta Ecologica Sinica, 2000,20(5): 549 ~ 853.
- [23] Wang D L. The review of rice allelopathy. Acta Ecologica Sinica, 1998,18(3):326 ~ 334.
- [24] Dong Z H, Lin W X. Current status and prospects of allelopathy research in agriculture. CJEA., 2001,9(1):80 ~ 83.
- [25] He H Q, Dong Z H, Lin W X, et al. New advance of research on allelopathy in rice (*Oryza sativa* L.). Res Agri Mod, 2002, 23(2):140 ~ 143.
- [26] Kong C H, Hu F, Chen X H, et al. Assessment and utilization of allelopathic crop varietal resources. Sci Agric Sin, 2002, 35(9): 1159 ~ 1164.
- [27] Olofsdotter M, Jensen L B, Courtois B. Improving crop competitive ability using allelopathy—an example from rice. Plant Breed, 2002. 121:1 ~ 9.
- [28] WU H, Pratley J, Lemerle D, et al. Crop cultivars with allelopathy capability. Weed Research, 1999,39:171 ~ 180.
- [29] Kim K U, Shin D H, Lee I J, et al. Rice Allelopathy in Korea. In: Kim K U, Shin D H, eds. Rice Allelopathy. Taegu, Korea: Kyungpook National University, 2000.49 ~ 82.
- [30] Ebana K, Yan W, Dilday R H, et al. Variation in allelopathic effect of rice with water soluble extracts. Agron J, 2001,93:12 ~ 16.
- [31] Bertin C, Paul R N, Duke S O, et al. Laboratory assessment of the allelopathic effects of fine leaf fescues. J Chem Ecol, 2003, 29(8):1919 ~ 1937.
- [32] Fujii Y, Shibuya, Yasuda T. Method for screening allelopathic activities by using the logistic function (Richards' function) fitted to lettuce seed germination and growth curves. Weed Reserch, Japanese, 1990, 35:353 ~ 361.
- [33] Navarez D, Olofsdotter M. Relay seeding procedures as screening methods in allelopathy research. In: H Brown et al eds. Proc. of the 2nd International Weed Control Conference, 1996. 1285 ~ 1290.
- [34] Lin W X. Allelopathy in Rice. Xiamen: Xiamen University Press, China, 2005.
- [35] Leather G R, Einhellig F A. Mechanisms of allelopathic action in bioassay. ACS Symp Ser, 1985,268, 197 ~ 205.
- [36] Lin W X, Kim K U, Liang K J, et al. Hybrid rice with allelopathy. In: Kim K U, Shin D H, eds. Rice Allelopathy. Taegu, Korea: Kyungpook National University, 2000.49 ~ 56.
- [37] Jensen L B, Courtois B, Shen L S, et al. Locating genes controlling allelopathic effects against barnyardgrass in upland rice. Agronomy J, 2001,93:21 ~ 26.
- [38] Ebana K, Yan W, Dilday R H, et al. Analysis of QTL associated with the allelopathic effect of rice using water-soluble extracts. Breeding Science, 2001, 51:47 ~ 51.
- [39] Xu Z H, He Y, Cui S R, et al. Gene mapping on rice allelopathy against barnyardgrass. Chin J Appl Ecol, 2003, 14(12): 2258 ~ 2260.
- [40] Lee S B, Seo K I, Koo J H, et al. QTLs and molecular markers associated with rice allelopathy. In: Haper J D I, An M, Kent J H. eds. Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base". Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 505 ~ 507.
- [41] Putnam A R, Duke W B. Biological suppression of weeds: evidence for allelopathy in accessions of cucumber. Science, 1974, 185:370 ~ 372.
- [42] Putnam A R, Duke W B. Allelopathy in agroecosystem. Annual Review of Phytopathology, 1978,16:431 ~ 451.
- [43] Lin W X, He H Q, Chen X X, et al. Use of ISSR molecular marker approach to estimate genetic diversity in rice and barley allelopathy. In: Haper J. D. I, An M., Kent J. H. eds. Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base". Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 168 ~ 174.

- [44] McKey D. Adaptive patterns in alkaloid physiology. *American Naturalist*, 1974, 108: 305 ~ 320.
- [45] McKey D. The distribution of secondary compounds within plants. In: Rosenthal G A, Janzen D H, eds. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. New York: Academic Press, 1979. 55 ~ 133.
- [46] Bryant J P, Chapin III F S, Klein D R. Carbon/nutrient balance of boreal plant in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, 1983, 40(3): 357 ~ 368.
- [47] Tuomi J, Niemilä P, Chapin III F S, *et al.* Defensive responses of trees in relation to their carbon/nutrient balance. In: Mattson W J, Levieux J, Bernard D C, eds. *Mechanisms of woody plant defenses against insects: search for pattern*. New York: Springer, 1988. 57 ~ 72.
- [48] Haukioja E, Ossipov V, Koricheva J, *et al.* Biosynthetic origin of carbon-based secondary compounds: cause of variable responses of woody plants to fertilization? *Chemoecology*, 1998, 8: 133 ~ 139.
- [49] Herms D A, Mattson W J. The dilemma of plant: to grow or defend. *Quart Rev Biol*, 1992, 67: 283 ~ 335.
- [50] Lorio P L Jr. Growth-differentiation balance relationships in pines affect their resistance to bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). In: Mattson W J, Levieux J, Bernard D C, eds. *Mechanisms of woody plant defenses against insects: search for pattern*. New York: Springer, 1988. 73 ~ 92.
- [51] Coley P D, Bryant J P, Chapin III F S. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*, 1985, 230: 895 ~ 899.
- [52] de Jung T J. Why fast-growing plants do not bother about defence. *Oikos*, 1995, 74(3): 545 ~ 548.
- [53] Xiong J, Lin W X, Zhou J J, *et al.* Studies on biointerference between barnyardgrass and rice accessions at different nitrogen regimes. In: Haper J D I, An M, Kent J H eds. *Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base"*. Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 501 ~ 504.
- [54] Bais H P, Vepachedu R, Gilroy S, *et al.* Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions. *Science*, 2003, 301: 1377 ~ 1380.
- [55] Vivanco J M, Bais H P, Stermitz F R, *et al.* Biogeographical variation in community response to root allelochemistry: novel weapons and exotic invasion. *Ecology Letters*, 2004, 7: 285 ~ 292.
- [56] Walker T S, Bais H P, Grotewold E, *et al.* Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiology*, 2003, 132: 44 ~ 51.
- [57] Bais H P, Park S W, Weir T L, *et al.* How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science*, 2004, 9(1): 26 ~ 32.
- [58] Weir T L, Park S W, Vivanco J M. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Current Opinion in Plant Biology*, 2004, 7: 472 ~ 479.
- [59] McCully M. The rhizosphere: the key functional unit in plant/soil/microbial interactions in the field. implications for the understanding of allelopathy effects. In: Haper J. D. I, An M., Kent J. H. eds. *Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base"*. Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 43 ~ 49.
- [60] Xu M M, Prieix S, Wilderman P R, *et al.* Elucidating biosynthesis of the rice allelochemical/ phytoalexin momilactone B. In: Haper J. D. I, An M., Kent J. H. eds. *Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base"*. Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 218 ~ 222.
- [61] Fujii Y, Furubayashi A, Hiradate S, *et al.* Rhizosphere soil method: a new bioassay to evaluate allelopathy in the field. In: Haper J. D. I, An M., Kent J. H. eds. *Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base"*. Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 490 ~ 492.
- [62] Weidenhamer J D. Measurement of allelochemical dynamics in the rhizosphere. In: Haper J. D. I, An M., Kent J. H. eds. *Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base"*. Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 101 ~ 104.
- [63] Rinu G, Luis A J M, Jones D G, *et al.* Advancing our understanding of allelopathy through metabolomics. In: Haper J. D. I, An M., Kent J. H. eds. *Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base"*. Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 197 ~ 200.
- [64] Kopka J. Current challenges and developments in GC-MS based metabolite profiling technology. *Journal of Biotechnology*, 2006.
- [65] Fridman E, Pichersky E. Metabolomics, genomics, proteomics, and the identification of enzymes and their substrates and products. *Plant Biology*, 2005, 8: 242 ~ 248.
- [66] Lee J S, Fernie A R. Regulation of metabolic networks: Understanding metabolic complexity in the systems biology era. *New Phytologist*, 2005, 168: 8 ~ 24.
- [67] Dunn W B, Ellis D I. Metabolomics: Current analytical platforms and methodologies. *Trends in Analytical Chemistry*, 2005, 24(4): 285 ~ 294.
- [68] Lee T, Duran A L, Kebrom T H, *et al.* Biomarker metabolites capturing the metabolite variance present in a rice plant developmental period. *BMC Plant Biology*, 2005, 5: 8.
- [69] Sumner L W, Mendes P, Dixon R A, *et al.* Plant metabolomics: large-scale phytochemistry in the functional genomics era. *Phytochemistry*, 2003, 62: 817 ~ 836.
- [70] Dilday R H, Mattice J D, Moldenhauer K A. An overview of rice allelopathy in the USA. In: Kim K U, Shin D H eds. *Rice Allelopathy*. Taegu, Korea, Kyungpook National University, 2000. 15 ~ 26.
- [71] Duke S O, Baerson S R, Pan Z Q, *et al.* Genomic approaches to understanding allelochemical modes of action and defenses against allelochemicals. In: Haper J. D. I, An M., Kent J. H. eds. *Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base"*. Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 107 ~ 113.
- [72] Pickett J A, Birkett M A, Toby J A, *et al.* cis-Jasmone as allelopathic agent through plant defence induction. In: Haper J. D. I, An M., Kent J. H. eds. *Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base"*. Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 122 ~ 127.
- [73] Baerson S R, Cook D, Dayan F E, *et al.* The use of functional genomics to advance allelopathic science—investigating sorgoleone biosynthesis as an example. In: Haper J. D. I, An M., Kent J. H. eds. *Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base"*. Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia, 2005. 191 ~ 196.
- [74] Wishart D S. Metabolomics: The principles and potential applications to transplantation. *American Journal of Transplant*, 2005, 5: 2814 ~ 2820.
- [75] Ogünseinan O A. Soil Proteomics: Extraction and Analysis of Proteins from Soils. Heidelberg, Germany: Springer, 2005.

参考文献:

- [11] 何华勤, 林文雄, 梁义元, 等. 应用差异蛋白质组学方法分析作物化感作用的分子机理. *生态学报*, 2005, 25(12): 3141 ~ 3145.
- [12] 曾大力, 钱前, 滕胜, 等. 水稻化感作用的遗传分析. *科学通报*, 2003, 48(1): 70 ~ 73.
- [15] 何海斌, 何华勤, 林文雄, 等. 不同化感水稻品种根系分泌物种酚类化合物的差异分析. *应用生态学报*, 2005, 16(4): 732 ~ 736.
- [17] 孔垂华, 徐效华, 梁文举, 等. 水稻化感品种根分泌物中非酚酸类化感物质的鉴定与抑草活性. *生态学报*, 2004, 24(7): 1317 ~ 1322.
- [20] 林文雄, 何华勤, 郭玉春, 等. 水稻化感作用及其生理生化特性的研究. *应用生态学报*, 2001, 12(6): 871 ~ 875.
- [22] 孔垂华, 徐涛, 胡飞. 环境胁迫下植物化感作用及其诱导机制. *生态学报*, 2000, 20(5): 849 ~ 853.
- [23] 王大力. 水稻化感作用研究综述. *生态学报*, 1998, 18(3): 326 ~ 334.
- [24] 董章杭, 林文雄. 作物化感作用研究现状与展望. *中国生态农业学报*, 2001, 9(1): 80 ~ 83.
- [25] 何华勤, 董章杭, 林文雄, 等. 水稻化感作用研究新进展. *农业现代化研究*, 2002, 23(2): 140 ~ 143.
- [26] 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(9): 1159 ~ 1164.
- [34] 林文雄. 水稻化感作用. 厦门: 厦门大学出版社, 2005.
- [39] 徐正浩, 何勇, 崔绍荣, 等. 水稻化感作用控制杂草的基因定位研究. *应用生态学报*, 2003, 14(12): 2258 ~ 2260.