

不同化感潜力水稻 (*Oryza sativa* L.) 苗期的 氮素养分效率及相关基因的表达

邱 龙^{1,2}, 熊 君^{1,2}, 王海斌^{1,2}, 方长旬^{1,2}, 何海斌^{1,2}, 李兆伟^{1,2}, 林文雄^{1,2,*}

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

摘要:为了阐明养分水平引起水稻 (*Oryza sativa* L.) 化感抑草潜力变化的生理生态机制,研究了不同 N 素营养处理下,不同化感潜力水稻苗期对 N 素营养逆境的响应特性及 N 素养分效率的差异,并运用实时荧光定量 RT-PCR 技术 (FQ-PCR) 检测与 N 素代谢和次生代谢关键酶的基因表达。结果表明:弱化感水稻品种 Lemont 对 N 素营养胁迫较敏感,强化感水稻品种 PI312777 对资源波动的适应性较强, N 素养分效率较高。FQ-PCR 分析结果显示,在低 N 条件下 Lemont 中的亚硝酸还原酶基因 (*nir*), 谷氨酰胺合成酶基因 (*gs*) 相对表达量均有不同幅度的下调, PI312777 分别下调了 1.2 倍和 1.4 倍, 而 Lemont 分别下调了 3.0 倍和 1.8 倍, Lemont 下调的幅度分别是 PI312777 的 2.5 倍和 1.3 倍, 但对于苯丙氨酸解氨酶基因 (*pal*) 与 3-羟基-3 甲基戊二酰辅酶 A 还原酶基因 (*hmgr*) 而言, PI312777 叶组织中的 *pal* 和 *hmgr* 均上调表达, 与对照相比上调了 6.0 倍和 1.6 倍, 而 Lemont 中对应的基因均下调表达, 分别下调了 1.3 倍和 6.8 倍, 佐证了上述差异的分子生态学特性。

关键词:植物养分;化感作用;N 素效率;基因表达;水稻

文章编号:1000-0933(2008)02-0677-08 中图分类号:Q945, Q948, S511 文献标识码:A

The nitrogen nutrient efficiency and the expression analysis of the related genes in different allelopathic potential rice (*Oryza sativa* L.) varieties at seedling stage

QIU Long^{1,2}, XIONG Jun^{1,2}, WANG Hai-Bin^{1,2}, FANG Chang-Xun^{1,2}, HE Hai-Bin^{1,2}, LI Zhao-Wei^{1,2}, LIN Wen-Xiong^{1,2,*}

1 Key Laboratory of Biopesticide and Chemical Biology, FAFU, C/O Ministry of Education China, Fuzhou 350002, China

2 Institute of Agroecology C/O School of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(2): 0677 ~ 0684.

Abstract: Plant allelopathy was a very complicatedly chemoecological phenomenon, which was significantly mediated by ecological factors, such as N nutrient, one of the important factors. In order to explore the inducible mechanism by N nutrient, which markedly affected allelopathic potential in the suppression on the target weeds, we studied the changes in morphological characters of allelopathic rice PI312777 and its counterpart Lemont in the responses to different N supplies and their differences in N nutrient efficiency at the seedling stage, in turn we further detected the differential expressions of the key genes, which were involved in N metabolism and secondary substance synthesis in the two rice varieties concerned

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:2006-11-27; **修订日期:**2007-04-29

作者简介:邱龙(1982~),男,江苏人,硕士生,主要从事水稻生理与化感作用的分子生态学研究. E-mail: q101241031@126.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wenxiong181@163.com

致谢:福建农林大学生物技术中心的甘纯玢教授和谢苗老师在实时定量 RT-PCR 技术方面给予了大力帮助,在此谨表谢忱!

Foundation item: The project was financially 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: 2006-11-27; **Accepted date:** 2007-04-29

Biography: QIU Long, Master candidate, mainly engaged in rice physiology and allelopathic molecular ecology. E-mail: q101241031@126.com

using real time quantitative PCR(FQ-PCR). The results indicated that allelopathic rice PI312777 was more insensitive to the nutrient stress than non-allelopathic rice Lemont, performing its stronger adaptable ability and higher N nutrient efficiency especially in lower N supplies. The results obtained from the real time quantitative PCR showed that the relative gene expression quantity of nitrite reductase(*nir*) and glutamine synthetase(*gs*) in the leaves of the two rice cultivars were decreased to different extent, indicating that the two gene expressions were down-regulated by 1.2 and 1.4 fold times in allelopathic rice PI312777, and they were also decreased by 3.0 and 1.8 fold times respectively in its counterpart Lemont under lower nitrogen supplies. The decreased ranges of the two genes in non-allelopathic rice Lemont were 2.5 and 1.3 fold times as those in allelopathic rice PI312777. Different trend were observed in the case of phenylalanine ammonia-lyase(*pal*) and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase(*hmgr*) concerned, which were the key enzymes in phenylalanine and isoprenoids metabolic pathway, indicating that the gene expression of the two key enzymes in the leaves of PI312777 under lower nitrogen condition was up-regulated by 6.0 and 1.6 times respectively compared with the control under normal nitrogen condition. The reverse was true in non-allelopathic rice Lemont, showing that the gene expressions of the two enzymes, i. e. PAL and HMGR in the leaves of Lemont under lower nitrogen condition were down-regulated by 1.3 and 6.8 fold times as those under normal nitrogen supplies. These findings suggested that allelopathic rice was characterized by its active molecular ecological properties especially in the responses to lower nitrogen stress.

Key Words: plant nutrient; allelopathy; nitrogen nutrient efficiency; gene expression; *Oryza sativa* L.

植物化感作用是指一种活体植物(供体 Donor)产生并以挥发(Volatilization)、淋溶(Leaching)、分泌(Excretion)和分解(Decomposition)等方式向环境释放次生代谢物而影响邻近伴生植物(杂草等受体, Receiver)生长发育的化学生态学现象^[1]。利用水稻(*Oryza sativa* L.)化感作用防除稻田杂草是当前农业生态研究的热点问题之一,有望成为 21 世纪生物安全除草可持续农业的关键技术。然而,植物化感作用易受许多生态因子的影响,包括植物密度^[2],生长周期^[3],气候因子^[4],动物和微生物的侵袭^[5]等。土壤是植物生长的营养来源,已有研究表明^[6],土壤养分缺乏可以使植物产生和释放次生物质的能力发生变化。N 素营养是植物生长最重要的养分之一,在植物生长的初级阶段(苗期),对 N 素的竞争最为剧烈,并显著影响植物的最终产量^[6]。此外,苗期也是化感水稻通过化感作用抑制伴生杂草的关键时期。

目前,国内外许多学者对化感抑草作用的遗传、化感物质的分离与鉴定以及生理生化机制等方面作了大量卓有成效的研究工作^[7~11],然而对其在环境胁迫(生物或非生物)特别是 N 素胁迫条件下生理响应的分子机理的研究相对较少。为此,本研究以国际上公认的强、弱化感品种 PI312777 和 Lemont 为实验材料^[12],考查其对 N 素营养胁迫的生理响应特性以及 N 素养分效率的差异,并运用实时定量 PCR 技术(FQ-PCR)检测与 N 素代谢和次生代谢相关酶的基因表达,以期从营养水平阐明引起植物化感潜力变化的生理生态机制,为最终实现分子操纵水稻化感作用提供理论基础。

1 材料与方法

1.2 实验设计

以国际上公认的具有较强化感潜力的水稻品种 PI312777(引自美国,简称 PI)和较弱化感潜力的水稻品种 Lemont(引自美国,简称 LE)为研究材料。将催好芽的 PI、LE 种子分别播在秧盘里,待其长至二叶一芯期,挑选均匀的秧苗移至盛有 10 L 完全培养液(土屋一村配方)的塑料盆(45 cm × 35 cm × 15 cm)中恢复 10 d 后,塑料盆中悬浮一厚为 115 cm 的塑料泡沫板,在泡沫板上均匀分布直径 2 cm 的小孔 40 个(8 × 5),水稻移植于孔中并用棉花固定,每孔 1 株,株距为 5 cm × 5 cm,用于培养水稻的完全营养液由 NH_4NO_3 、 K_2SO_4 和 KH_2PO_4 3 种化合物组成,其中 N、P、K 的浓度分别为 20、5.65 mg/L 和 42.72 mg/L。培养 10 d 后设 2 个 N 素营养水平处理,分别为完全营养液,所含的 N 素记为 1N 和完全营养液 N 素组分的 1/4,记为 1/4N。试验设 3 次重复,各处理营养液每 7 d 更换 1 次。培养 20 d 后收获。试验于 2006 年 6~7 月在福建农林大学农业生

态研究所网室内进行,所获数据采用 DPS 软件进行统计分析。

1.2 实验方法

1.2.1 N 素养分效率分析

植物对养分的积累量定义为植物对养分的吸收效率,表明作物从介质中获取资源的能力。把地上部养分的分配量占整株养分量的百分比用于表征作物对养分的运输能力高低的生理指标。把单位吸收的养分量所产生的植株干物质重定义为植物的养分生理利用效率。以相对于物质质量作为衡量不同基因型植物在生长阶段对营养胁迫敏感程度的指标。采用直接测量法对各处理的水稻品种的根长,株高进行测定。每个处理测量株数为 20 株。测定完毕,打包,120℃杀青后,烘干至恒重,称量其地上部和地下部的干物质质量。植株干粉用 $H_2SO_4-H_2O_2$ 消煮,采用紫外-可见分光光度法测定 N 素含量。所用试剂均为国产分析纯。

1.2.2 亚硝酸还原酶基因(*nir*),谷氨酰胺合成酶基因(*gs*)苯丙氨酸解氨酶基因(*pal*)与 3-羟基-3 甲基戊二酰辅酶 A 还原酶基因(*hmgr*)的实时定量 PCR 分析

参照 Trizol 试剂(Invitrogen)使用说明书提取水稻叶片(倒二叶)组织 RNA。运用 UV-Visible Spectrophotometer(VARIAN 公司)检测样品 RNA 的纯度及含量。以 1% 的非变性琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性。微量基因组 DNA 的去除参照 TaKaRa DNaseI(Rnase free)使用说明书进行。cDNA 合成按照 ExScript™ RT reagent Kit 进行。实时定量 PCR 按照 SYBR Premix Ex Taq™ 在 CFD3120 MiniOpticon 荧光检测仪(BIO-RAD)上进行。数据采用 Opticon Monitor3 软件的 $\Delta\Delta C_t$ 法分析。Trizol 试剂购于 Invitrogen;DNaseI(Rnase free)、反转录反应试剂和 Real Time PCR 反应试剂盒均购于 TaKaRa(中国大连)公司。按照标准荧光定量 PCR 引物设计原则设计 PCR 引物。各引物序列如表 1。

表 1 肌动蛋白基因亚硝酸还原酶基因,谷氨酰胺合成酶基因,苯丙氨酸解氨酶基因与 3-羟基-3 甲基戊二酰辅酶 A 还原酶基因的引物序列
Table 1 The primer sequences of actin, nitrite reductase, glutamine synthetase, phenylalanine ammonia-lyase and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase

基因种类 Kind of gene		引物序列 Primer sequence
肌动蛋白基因 actin	正义 Sense	5'TGTAAGCAACTGGGATGA 3'
	反义 Anti-Sense	5'CCTTCGTAGATTGGGACT 3'
亚硝酸还原酶基因 Nitrite reductase(<i>nir</i>)	正义 Sense	5'GAGATTGGAGGCACATAA 3'
	反义 Anti-Sense	5' AGTCGAGCACTTCAGCATT 3'
谷氨酰胺合成酶基因 Gstamine synthetase(<i>gs</i>)	正义 Sense	5' GCGGTGGCTATTGTT 3'
	反义 Anti-Sense	5' ACCTGTTTTGCTGGAGTA 3'
苯丙氨酸解氨酶基因 Phenylalanine ammonia-lyase(<i>pal</i>)	正义 Sense	5' CCGTGTCTTTGAGGCTAAC 3'
	反义 Anti-Sense	5' GCTTGTGAGTCAGGTGCTCG 3'
3-羟基-3 甲基戊二酰辅酶 A 还原酶基因	正义 Sense	5' TCGATTGGAGGTGGCAGTGA3'
3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase(<i>hmgr</i>)	反义 Anti-Sense	5' GCGCTGCTGTCCACCATAAC 3'

2 结果与分析

2.1 不同化感潜力水稻对 N 素胁迫反应的形态学差异

从表 2 可以看出,在低 N 胁迫下,两水稻品种的地上部均受到抑制,但是抑制程度有所不同,PI 和 LE 分别被抑制了 2% 和 33%,前者与对照(正常 N 水平)相比未达显著水平,后者达极显著水平。对地下部而言,两品种的根长均有一定程度的增长,但 PI 达极显著水平。表 1 的结果显示,PI 根冠比的增幅显著大于 LE,即前者为 55.3%,而后者是 34.4%。此外,在完全营养条件下,LE 的株高和根长均大于 PI,其中株高达到极显著水平,根长达到显著水平,但是在低 N 条件下,前者却小于后者。可见强化感潜力水稻 PI 与弱化感潜力水稻 LE 相比有较强的耐营养匮乏能力,换句话说 LE 是耐肥品种。

2.2 不同化感潜力水稻对低 N 胁迫的敏感性差异

从表 3 可以看出,在正常 N 水平,PI 和 LE 的生物量差异不显著,但是在低 N 条件下,PI 极显著大于 LE。

低 N 处理下 PI 仍保持较高的相对干物质质量,较 LE 高出 14.75%,差异显著。表明 PI 对营养胁迫的敏感性小于 LE。尤其是地下部的相对干物质重,PI 较 LE 高出 47.50%,差异极显著。可见,强化感水稻 PI 具有较强的适应 N 素营养胁迫的能力。

表 2 不同化感潜力水稻在不同氮素条件下的形态学差异比较

Table 2 Comparison on morphological differences in different allelopathic potential rice at seedling stage under different N supplies

品种 Accession	株高 Shoot (cm)		根长 Root (cm)		根冠比 Root/. Shoot (%)	
	1N	1/4N	1N	1/4N	1N	1/4N
PI	45.6Bb	44.82Bb	11.7Bb	18.0Aa	0.257Aa	0.399Cc
LE	53.25Aa	40.18Cc	17.6Aa	17.9Aa	0.331Bb	0.445Dd

同一处理栏中不同的大小写字母分别表示差异达到 1% 和 5% 显著水平,下同 Different capital and small letters in the same column means significant at 1% and 5% level, respectively, the same below

表 3 不同化感潜力水稻在不同氮素条件下的相对生物量比较

Table 3 Comparison on relative biomass of different allelopathic potential rice at seedling stage under different N supplies

品种 Accession	生物量 Biomass (g)						相对生物量 Relative biomass (%)		
	地上部 Shoot		地下部 Root		植株 Plant		地上部 Shoot	地下部 Root	植株 Plant
	1N	1/4N	1N	1/4N	1N	1/4N	1/4N/1N	1/4N/1N	1/4N/1N
PI	0.417Aa	0.379Aa	0.102Bb	0.187Aa	0.514Ab	0.584Aa	90.89Aa	183.33Aa	88.01Aa
LE	0.411Aa	0.278Bb	0.118Bb	0.115Bb	0.517Ab	0.366Bc	67.64Bb	97.46Bb	70.79Bb

2.3 不同化感潜力水稻的氮素养分效率

从表 4 中可以看出,在完全营养液条件下,PI 植株的 N 素累积量低于 Lemont,差异极显著,在低营养条件下则相反,PI 是 LE 的 1.6 倍,达极显著水平;在低 N 养分逆境下,不同两种水稻对 N 素养分的吸收效率均有所下降,但是下降的幅度不同,即 Lemont 的下降幅度显著大于 PI,LE,PI 分别下降了 2.72 和 1.63 倍。对转运效率而言,在低 N 胁迫下各供试水稻的养分转运效率较足量养分普遍下降。不同品种间的转运效率在不同营养条件下 PI 均高于 LE,达到极显著水平。生理利用效率方面,在正常营养条件下,N 素的生理利用效率 PI 极显著高于 LE;在低 N 胁迫条件下,两者的生理利用效率差异不显著。具体到地上部和地下部,在不同的营养条件下两种水稻具有不同的响应。对地上部而言,在高 N 条件下 PI 与 LE 差异不显著,而低 N 条件 PI 极显著小于 LE,地下部的响应则不同,即在两种条件下 PI 均极显著大于 LE。由此可见,在缺肥条件下,根是强化感水稻 PI,生物量优先输往获得限制性资源的植物器官。

表 4 不同化感潜力水稻在同氮素条件下的 N 素吸收效率,转运效率及生理利用效率

Table 4 Uptake efficiency, transport efficiency and utilization efficiency in different allelopathic potential rice at seedling stage under different N supplies

品种 Accession	吸收效率 Uptake efficiency (mg/plant)		转运效率 Transport efficiency (%)		利用效率 Utilization efficiency (g/g)					
					地上部 Shoot		地下部 Root		植株 Plant	
	1N	1/4N	1N	1/4N	1N	1/4N	1N	1/4N	1N	1/4N
PI	13.4Bb	8.24Cc	89.4Aa	83.6Cc	34.7Cc	55.1Bb	71.8Cc	138.1Aa	38.3Bb	70.8Aa
LE	14.0Aa	5.15Dd	85.0Bb	77.3Dd	34.5Cc	69.9Aa	56.2Dd	98.21Bb	36.9Cc	70.9Aa

2.4 实时荧光定量 PCR 扩增的重复性检验以及引物二聚体的检测

为了检验 PCR 扩增的重复性,用一定稀释浓度的样品 cDNA 作 5 次重复,同时设置阴性对照(No template control,简称 NTC)。从图 1 可以看出,荧光定量动力学曲线基线平整;NTC 没有扩增;指数区较明显,是理想的扩增曲线。5 次重复的标准偏差为 0.20,重复性较好,特别是循环域值(Cycle Threshold,简称 Ct)附近扩增曲线基本重叠,在平台期由于 dNTP 浓度的减少,聚合酶活性的降低等多种因素的影响,导致曲线稍有分离,

但不影响定量的结果。此外,还进行了熔解曲线分析。从熔解曲线图上可以看出,熔解曲线在熔解温度处只有一个尖峰,可见没有非特异性扩增产物及引物二聚体。

2.5 N 素代谢相关酶的基因 *nir* 与 *gs* 的实时定量 PCR 分析

从图 2 可以看出在低 N 胁迫条件下,两种水稻倒二叶中的 *nir* 和 *gs* 的相对表达量较对照(正常 N 素水平)均有不同程度的下调,这是植物对 N 素逆境的一种负调控机制。但两者下调的幅度不同,PI 和 LE 分别下调了 1.2,1.4 倍和 3.0,1.8 倍,LE 下调的幅度显著大于 PI,LE 下调的幅度分别是 PI 的 2.5 倍和 1.3 倍。可见,LE 对资源波动的可变性较大,而 PI 的波动性较小,这与两种水稻对低 N 胁迫的敏感性差异是一致的。

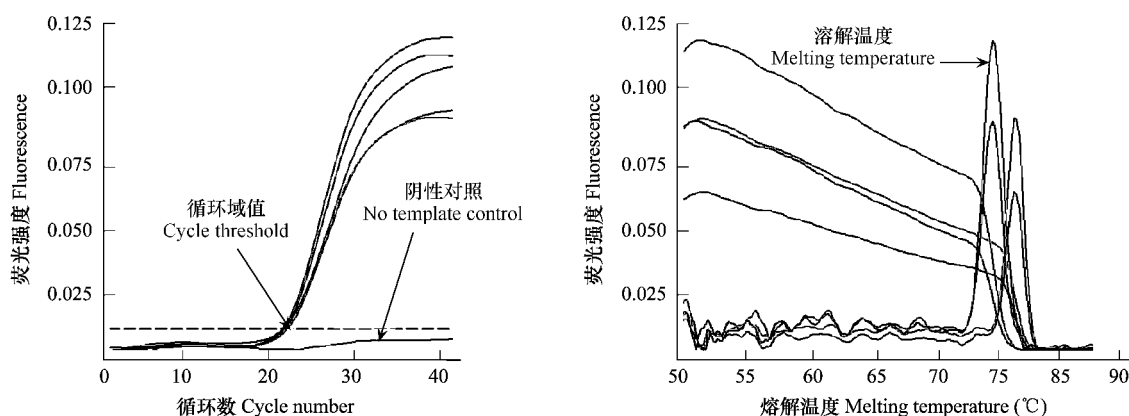


图 1 实时荧光定量 PCR 扩增的重复性检验及引物二聚体的检测

Fig. 1 The repetition verifications for real time fluorescence quantitative amplification, and the examination of primer dimer

2.6 次生代谢相关酶的基因 *pal* 与 *hmgr* 的实时定量 PCR 分析

运用 FQ-PCR 对 *pal* 和 *hmgr* 在两种水稻叶中的相对表达差异分析,结果显示(图 2),以完全营养液培养的水稻作对照,用看家基因肌动蛋白基因 *Actin* 作为内参,低 N 条件下两种水稻的 *pal* 和 *hmgr* 的表达模式有所不同,PI 叶组织中的 *pal* 和 *hmgr* 均上调表达,与对照相比上调了 6.0 倍和 1.6 倍。而 LE 中相对应的基因均下调表达,分别下调了 1.3 倍和 6.8 倍。可见,强、弱化感水稻在次生代谢关键酶基因的表达方式上存在显著差异。特别是强化感水稻品种 PI 苯丙烷代谢途径中的 *pal* 在低 N 条件下上调的幅度较大。苯丙氨酸解氨酶(PAL)是催化产生酚类物质的关键酶,可以推测,N 素胁迫下,*pal* 的大量表达将导致化感水稻 PI 产生更多的酚类化感物质,这是提高其化感抑草能力的重要分子生理机制。

3 结论与讨论

本研究表明,与弱化感潜力水稻 LE 相比,强化感潜力水稻 PI 对 N 素胁迫的适应性较强。主要表现在两个方面:第一,PI 的地上部受抑制的程度较小,而根长的增幅较大,导致 PI 根冠比的增幅显著大于 LE。第二,与 N 素代谢相关酶的基因在 N 素缺乏的条件下表达下调的幅度 LE 极显著大于 PI。杨肖娥^[13]等在研究不同水稻品种对低氮反应的差异及其机制过程中发现氮高效水稻品种的生物学和生理学特征为:①根系发达,根系生长量较大;②功能叶的氮代谢关键酶硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶的活性较高,同时指出,这些特征可以作为筛选和鉴别氮高效作物基因型的生理生化指标。本研究运用 FQ-PCR 技术检测了与 N 代谢关键酶的基

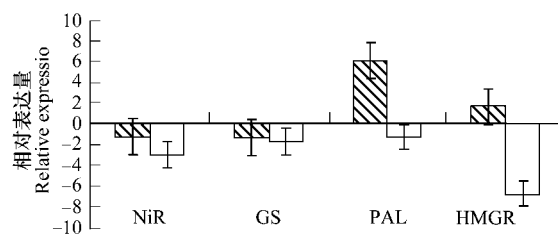


图 2 亚硝酸还原酶基因(*nir*),谷氨酰胺合成酶基因(*gs*),苯丙氨酸解氨酶基因(*pal*)与 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶基因(*hmgr*)的相对表达分析。黑色和白色分别代表 PI 和 LE

Fig. 2 The analysis on relative gene express analysis of nitrite reductase (*nir*), glutamine synthetase (*gs*), phenylalanine ammonia-lyase (*pal*) and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (*hmgr*) in rice leaves. Black and white bars stand for PI and LE respectively

因表达差异,初步揭示了氮高效水稻基因型的分子生理特性^[14]。

养分效率是衡量植物营养资源利用能力的综合指标。不同的养分高效基因型的生理机制可能不同。如有的高效基因型是吸收效率高,有的则是生理利用率高^[15]。关于这两个子性状对整个 N 素效率的贡献大小,存在很多分歧。Moll^[16]等认为玉米在低 N 条件下生理利用效率是 N 素效率变异的主要来源,而高 N 条件吸收效率是决定因素。Singh^[17]等认为在低 N 时吸收效率和生理利用效率对 N 素效率都很重要,任何一个因素受到限制都会导致水稻 N 素效率降低。本研究结果表明,在正常 N 水平条件下相对较高的生理利用率对强化感水稻 PI 的 N 素养分效率的贡献较大,而在低 N 条件下则是吸收效率的贡献率较大。对于弱化感水稻 LE 而言则相反。可见对于不同化感潜力的水稻品种其吸收效率和生理利用率对整个 N 素效率的贡献存在明显差异。但就生物量而言,在正常 N 水平条件下两种水稻的生长状况差异不显著,而在低 N 条件下,PI 具有较强的生长优势。可见,强化感潜力水稻 PI 在低 N 逆境下的 N 素养分效率较高。

N 素养分代谢作为植物的初级代谢,直接影响植物的生长发育,而次级代谢影响植物的生长速率与物质分配,而且与环境密切相关。植物在有限的环境资源波动下的化学响应是化学生态学和化感作用研究的理论基础。不同的植物在可忍受的特定的环境变化范围内对逆境所采取的适应策略有所不同,这种对环境的适应往往是通过释放化学物质在植物与生物之间的竞争中起作用。孔垂华等^[18]研究了在养分缺乏、三叶针草 (*Bidens pilosa*) 竞争、机械损伤、2,4-D 处理等条件下生长的胜红蓼的化感作用,结果表明,在养分缺乏的条件下生长的或与三叶针草竞争的情况下,胜红蓼挥发物对落花生 (*Arochis hypogaia*)、反枝苋 (*Amaranthus retroflexus*)、黄瓜 (*Cucumis sativus*) 和多花黑麦 (*Lolium multiflorum*) 的抑制作用增强。植物化感物质主要是次生代谢物质,而次生代谢物质主要由苯丙烷代谢和异戊二烯代谢途径产生。苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 与 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMGR) 分别是这两条途径的限速酶和关键酶,起到“开关分子”的作用^[19,20]。林文雄^[21]等认为在逆境胁迫下水稻化感作用的强弱与其所含酚类化合物的总量和种类有关,同时研究发现供试水稻叶片中苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性的高低与该水稻叶片浸提液中酚的含量多少及对稗草的抑制作用的大小相一致,并推测 PAL 与酚的含量及抑制效果的大小有关。McKey^[22]等分别在乌干达和喀麦隆的两片非洲森林中的实验表明,在土壤养分缺乏的喀麦隆实验点中,森林中的大多数树种和草本植物叶中的酚酸含量显著提高,相对于土壤养分丰富的乌干达实验点的相同植物种至少提高 2 倍。何华勤^[23]等运用差异蛋白质组学技术研究了水稻化感作用的分子机理,结果表明强化感水稻 PI312777 在稗草胁迫下的特异蛋白分别为 PAL, 硫还原型蛋白 (Trx-m), HMGR 与过氧化物酶 (POD)。本研究从转录水平分析了强、弱化感水稻在 N 素养分匮乏的条件下 *pal* 和 *hmgr* 的相对表达量的差异,结果显示 *pal* 和 *hmgr* 在化感潜力不同的水稻叶组织中的表达方式上存在显著差异。推测 *pal* 和 *hmgr* 可能在强化感水稻 PI 的化学防御中扮演重要角色,这将有助于进一步研究 *pal* 和 *hmgr* 的功能与表达特性。

植物的新陈代谢和生长发育主要受遗传和环境信息的双重调控,遗传基因决定个体发育的潜在模式,而环境信息的调控作用可能更具有现实意义。Chapin^[24]认为,在植物体内存在一种胁迫反应的中心系统,它可以被多种环境因子所激活(如营养匮乏),通过某种机制来调控植物的生长速率与物质分配,在环境因子的刺激下,植物有可能会激发体内的某种信号系统,在代谢水平上作出响应,从而引起植物化感作用产生变化。在营养资源匮乏的条件下,植物对有限资源的利用能力决定其生存能力,植物通过释放更多的化感物质来增强自身的竞争能力,一方面降低了其产生次生物质的“机会成本”,另一方面补偿了其适应能力。这可能是强化感水稻所特有的化不利因素为有利因素而增强其适应环境变化的补偿作用。

本研究以重要的粮食作物——水稻为研究材料借助植物营养学与化学生态学的理论,把水稻化感作用与植物营养学结合起来研究,并应用 FQ-PCR 技术研究相关基因的表达差异,从分子水平上初步阐明了水稻化感作用的分子生态学特性。然而,本文初步探讨了不同化感潜力水稻叶组织中相关基因的表达差异,而地下部的根系分泌是植物向环境中释放化感物质的主要途径之一,这些物质绝大多数最终都要经过土壤,在土壤中与土壤养分等物质和土壤微生物发生物理化学和生物化学的作用^[25]。因此,研究化感水稻根际生物学特

性具有更大的理论与现实意义。

综合以上分析,强化感水稻 PI 与弱化感水稻 LE 相比,PI 对 N 素营养胁迫的适应性较强,N 素养分效率较高,化学防御的能力较强,这一组特征常被称为“抵抗胁迫综合症”^[26],可见,强、弱化感水稻品种在应对养分胁迫环境时采取不同的适应策略,这与以往的研究结果相一致^[27]。当然,本研究所采用的这两个品种是当前国际同行所公认的具有不同化感潜力的水稻模式材料。本研究所揭示的现象是否具有普遍性,我们将在今后的研究中注意运用多学科并重复加以深入研究与证实。已有研究表明^[28],携带化感作用的基因与控制产量及其他一些重要农艺性状的基因之间连锁性较弱,这为培育具有抑草作用的高产优质水稻品种创造条件。本文结果显示强化感水稻 PI 尤其在低 N 条件下不仅具有较高的 N 素养分效率而且化感潜力增强,这为深入开展生态育种工作奠定了研究基础。

References:

- [1] Rice E L Allelopathy. 2nd ed. New York: Academic Press Inc, 1984.
- [2] Weidenhamer J D. Distinguishing resource competition and chemical interference: Overcoming the methodological impasse, 1996, Agron. J., 88 : 866 — 875.
- [3] Blackshaw R E, Stobbe E H, Sturko A R W. Effect of seeding dates and densities of green foxtail(*Seraria viridis*) on the growth and productivity of spring wheat(*Triticum aestivum*). Weed Sci., 1981, 29: 212 — 217.
- [4] Weston L A. Utilization of allelopathy for weed management in agroecosystems. Agron. J., 1996, 88: 860 — 866.
- [5] Corcuera L J, Argandona, Zuniga, G E. Allelochemicals in wheat and barley: role in plant-insect interactions: In: Riziri S J H and Rizivi V eds. Allelopathy: basic and applied aspects. Chapman & Lall. London, 1992. 119 — 128.
- [6] Xiao H L, Peng S L, Zheng Y J, et al. Interactive effects between plant allelochemicals, plant allelopathic potential and soil nutrient. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(9): 1747 — 1750.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] He H B, Lin W X, Wang H B, et al. Analysis of metabolites in root exudates from allelopathic and non allelopathic rice seedlings. Allelopathy Journal, 2006, 18(2): 247 — 254.
- [10] Lin W X, Kim K U, Shin D H. Rice allelopathic potential and its modes of action on Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* L.). Allelopathy Journal, 2000, 7(2): 215 — 224.
- [11] Lin W X, He H B, Xiong J, et al. Advance in the investigation of rice allelopathy and its molecular ecology. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26 (8): 2687 — 2694.
- [12] Dilday R H, Yan W G, Moldenhuise K A K, et al. Allelopathic activity in rice to major aquatic weeds. In: Olofsdotter M ed. Workshop on Rice Allelopathy. International Rice Research Institute, Philippines, 1998. 23 — 27.
- [13] Yang X E, Su X. Varietal Difference of Rice Plants in Response to N and Its Mechanisms. Acta Pedologica Sinica, 1992, 29(1): 73 — 79.
- [14] Wu P, Yin L P, Zhang L P. Plant Nutritional Molecular Physiology. Beijing: Science Press, 2001.
- [15] Yan X L, Zhang F S. The Genetic of Plant Nutrition. Beijing: China Agriculture Press, China, 1997.
- [16] Moll R H, Kamprath E J, Jackson W A. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. Agron. J., 1982, 74: 562 — 564.
- [17] Singh U, Ladha J K, Castillo E G, et al. Genotypic variation in nitrogen use efficiency in medium-and long-duration rice. Field Crops Research, 1998, 38: 35 — 53.
- [18] Kong C H, Hu F, Xu X H. Allelopathic potential and chemical constituents of volatiles from *Ageratum conyzoides* under stress. J. Chem. Ecol., 2002, 28: 1173 — 1182.
- [19] Miao Y Y, Yang S K, Liu C J. Research progress in molecular biology of phenylalanine ammonia-lyase. Chin. J. Appl. Environ Biol., 2002, 8 (6): 672 — 675.
- [20] Liu D, Hu Z B. Regulation of biosynthetic pathway of isoprenoids in plant. Plant Physiology Communications, 1998, 34(1): 1 — 9.
- [21] Lin W X, He H Q, Guo Y C, et al. Rice allelopathy and its physiobiochemical characteristics. Chinese Journal of Applied Ecology, 2001, 12

(6):871—875.

- [22] Mekey D, Waterman P G, Mbi C N. *et al.* Phenolic content of vegetation in two African rain forests: Ecological implication. *Science*, 1978, 202: 61—63.
- [23] He H Q, Lin W X, Liang Y Y, *et al.* Analyzing the molecular mechanism of crop allelopathy by using differet proteomics. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(12): 3141—3145.
- [24] Chapin F S II. Effects of nutrient deficiency on plant growth: evidence for a centralized stress response system. In: Davies W J and Jeffcoat B, eds. *Importance of Root to Shoot Communication in the Response to Environmental Stress*, 1990. 135—148.
- [25] Lin W X. *Allelopathy in Rice Xiamen*. Xiamen University Press, 2005.
- [26] Chapin I F S. Autumn K, Pugnaire F. Evolution of suites of traits in response to environmental stress. *The American Naturalist*, 1993. 142:578—592.
- [27] Xiong J, Lin W X, Zhou J J, *et al.* Allelopathy and resources competition of rice under different nitrogen supplies. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(5):885—889.
- [28] Robert H Dilday. An overview of rice allelopathy in the USA. In: K U Kim and D H Shin, eds. *Rice Allelopathy*. Korea:Kyungpook National University, 2000. 15—26.

参考文献:

- [6] 肖辉林,彭少麟,郑煜基,等. 植物化感物质及化感潜力与土壤养分的相互影响. *应用生态学报*, 2006, 17(9): 1747~1750.
- [11] 林文雄,何海斌,熊君,等. 水稻化感作用及其分子生态学研究进展. *生态学报*, 2006, 26(8): 2687~2694.
- [13] 杨肖娥,孙羲. 不同水稻品种对低氮反应的差异及其机制的研究. *土壤学报*, 1992, 29(1): 73~79.
- [14] 吴平,印莉萍,张立平. *植物营养分子生理学*. 北京: 科学出版社, 2001.
- [15] 严小龙,张福锁. *植物营养遗传学*. 北京: 中国农业出版社, 1997.
- [19] 缪元颖,杨顺楷,刘成君. 苯丙氨酸解氨酶的分子生物学研究进展. *应用与环境生物学报*, 2002, 8(6): 672~675.
- [20] 刘涤,胡之璧. 植物类异戊二烯生物合成途径的调节. *植物生理学通讯*, 1998, 34(1): 1~9.
- [21] 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.
- [23] 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.
- [25] 林文雄. *水稻化感作用*. 厦门: 厦门大学出版社, 2005.
- [27] 熊君,林文雄,周军健,等. 不同供氮条件下水稻的化感抑草作用与资源竞争分析. *应用生态学报*, 2005, 16(5): 885~889.