

DOI: 10.5846/stxb202204090929

杨小环, 王立印, 李宏鑫, 王广旭, 王子然, 马金虎. 荞麦、高粱根系分泌物对玉米根边缘细胞和根生长的影响. 生态学报, 2023, 43(9): 3778-3788.

Yang X H, Wang L Y, Li H X, Wang G X, Wang Z R, Ma J H. Effects of root exudates from buckwheat and sorghum on the root border cells and root growth of Maize. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(9): 3778-3788.

荞麦、高粱根系分泌物对玉米根边缘细胞和根生长的影响

杨小环^{1,*}, 王立印¹, 李宏鑫¹, 王广旭¹, 王子然¹, 马金虎²

1 山西农业大学农学院, 太谷 030801

2 山西农业大学社会服务部, 太谷 030801

摘要:植物的根系分泌物是植物根系与周围环境之间的化学媒介,通过传递特定的信息,调节根际微环境,影响周围植物的生长。玉米(*Zea mays* L.)和荞麦(*Fagopyrum esculentum* Moench)是农作物间套作体系中典型的不能搭配的组合,其障碍因素尚不清楚。以玉米为受体植物,采用根悬空培养的方法,研究了荞麦、高粱(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)根系分泌物对玉米根边缘细胞和根生长的影响。结果发现,玉米根边缘细胞离体培养条件下,用荞麦根系分泌物中的小分子物质处理 4、8 h 显著诱导边缘细胞凋亡、死亡,细胞活率分别比对照降低了 71.6%和 72.3%;荞麦根系分泌物中的小分子物质对玉米根产生氧化胁迫,诱导根 SOD、POD 和 CAT 活性分别比对照高 22.6%、33.9%和 107.2%,根中超氧阴离子(O₂⁻)和脯氨酸含量分别比对照高 33.9%和 49.8%;荞麦根系分泌物中小分子物质的胁迫使根细胞膜透性增大,与对照相比升高 80.0%,丙二醛(MDA)含量比对照升高 31.5%;荞麦根系分泌物中小分子物质诱导根内源激素(IAA)含量降低,根系活力下降,根生长受到抑制,与对照比 IAA 含量降低 44.2%,根系活力降低 14.4%,根长减少 36.9%;高粱根系分泌物对玉米根边缘细胞和根生长无显著的化感胁迫影响。由此可得,荞麦根系分泌物中的小分子物质诱导玉米根边缘细胞凋亡死亡,使其失去边缘细胞的保护作用,进一步诱导根产生氧化胁迫,诱导根内源吲哚乙酸(IAA)含量降低,根的生长和发育受到抑制,这可能是玉米荞麦不能间套作的原因所在。

关键词:玉米;高粱;荞麦;根系分泌物;根边缘细胞

Effects of root exudates from buckwheat and sorghum on the root border cells and root growth of Maize

YANG Xiaohuan^{1,*}, WANG Liyin¹, LI Hongxin¹, WANG Guangxu¹, WANG Ziran¹, MA Jinhu²

1 College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China

2 Department of Social Service, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China

Abstract: Plant root exudates act as the chemical mediators between root systems and the surrounding environment. Root exudates regulate the rhizosphere microenvironment and affect the growth of nearby plants by transmitting specific information. *Zea mays* L. (Maize) and *Fagopyrum esculentum* Moench (buckwheat) are the typically unsuitable combination in intercropping system of crops, however, the obstacle factors are still unclear. In this study, using maize as a recipient plant, the effects of root exudates from buckwheat or *Sorghum bicolor* (L.) Moench (sorghum) on the root border cells (RBCs) and root growth of maize were investigated by the method of root suspension culture. Results indicated that the viability of RBCs of maize treated with the small molecular substances in the root exudates of buckwheat for 4 and 8 hours

基金项目:山西省重点研发计划项目(201803D221011-5)

收稿日期:2022-04-09; 采用日期:2022-08-17

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yxh109@126.com

decreased by 71.6% and 72.3%, respectively, compared with the control. The small molecular substances in buckwheat root exudates generated oxidative stress on the roots of maize, and the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) were 22.6%, 33.9% and 107.2% higher than those of the control, respectively. In addition, the content of the superoxide anion (O_2^-) was 33.9% higher than that of the control, while the proline content in the root was 49.8% higher. Furthermore, the small molecular substances in root exudates of buckwheat increased the permeability of root cell membrane by 80.0% and the content of malondialdehyde (MDA) by 31.5% compared with those of the control. The small molecular substances in buckwheat root exudates decreased root endogenous hormone (IAA) content, root activity, and root growth. More specifically, the IAA content decreased by 44.2%, TTC reduction strength decreased by 14.4%, and root length decreased by 36.9%. Sorghum root exudates had no significant allelopathic stress effect on maize root border cells and root growth. Therefore, the small molecular substances in the root exudates of buckwheat can induce the apoptosis and death of maize root border cells, which can make them lose the protective effect of root border cells, further induce the root to produce oxidative stress, reduce the content of IAA in the root, and inhibit the growth and development of the root. We speculate that this is one of the reasons why maize and buckwheat cannot be intercropped.

Key Words: maize; sorghum; buckwheat; root exudates; root border cells

根系分泌物 (Root exudates) 是植物根系向根际微环境分泌的所有化学物质的总称^[1], 主要包括初级代谢物质, 如糖、脂肪和氨基酸等, 次级代谢产物, 如植物激素、黄酮类和酚类等以及高分子化合物, 如蛋白质和黏胶物质等^[2]。其中, 初级代谢产物、次级代谢产物占比小, 但种类丰富, 生物活性较强^[3]。Biedrzycki 等人^[4]报道, 根系分泌物充当植物根系与周围环境之间的化学媒介, 可传递特定的信息, 从而调节根际微环境^[5], 最终影响周围植物的生长^[6]。Li 等人^[7]研究发现, 玉米 (*Zea mays* L.) / 大豆 (*Glycine max* L.) 间作体系中, 玉米根系分泌物能够促进大豆根瘤的形成, 使根际周围氮素富集, 进而提高产量。Kim 等人^[8]研究表明, 西红柿 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) / 黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 间作体系中, 黄瓜生长受到西红柿根系分泌物的抑制。Bertin 等人^[9]报道, 胡桃 (*Juglans regia* L.) 根系分泌的萜醌、胡桃醌会干扰周围植物的生长。Baziramakenga 等人^[10]报道, 植物根系分泌物中含有酚酸类物质, 这类物质能抑制种子萌发和幼苗生长所需关键酶类的活性, 进而影响植物生长发育。Weiner 等人^[11]研究表明, 库车蓼 (*Polygonum popovii* Borodina) 根系分泌物中的大黄素、大黄素甲醚, 在一定浓度下能够影响某些植物物种的生长发育。由海霞等人^[12]的研究结果表明, 豆类作物的根系分泌物降低了黄瓜种子的萌发率, 抑制黄瓜幼苗的生长发育。李彩凤等人^[13]的研究结果表明, 甜菜 (*Beta vulgaris* L.) 根系分泌物降低大豆的发芽率, 延长发芽时间, 抑制大豆的生长发育, 导致其产量降低。

植物的根边缘细胞 (Root border cells, RBCs) 是从根冠游离出来并聚集在根尖周围的一群特殊细胞, 在抵御根际周围生物和非生物胁迫时发挥着重要作用, 保护根尖免受胁迫因子的伤害^[14]。李安奇等^[15]研究发现, 土荆芥 (*Chenopodium ambrosioides* L.) 化感物质诱导大豆根边缘细胞凋亡死亡。马金虎等人^[16-17]研究发现, 紫茎泽兰 (*Ageratina adenophora* (Spreng.)) 提取物对玉米、杂草灰绿藜 (*Chenopodium glaucum* L.)、稗草 (*Echinochloa crusgalli* L.) 和反枝苋 (*Amaranthus antirrhizus* L.) 根系产生化感胁迫伤害, 诱导根边缘细胞凋亡死亡, 抑制根的生长。杨小环等人^[18]研究发现, 紫茎泽兰提取物对黄瓜根边缘细胞具有明显的化感胁迫作用。

Sani 等人^[19]报道, 玉米与高粱 (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) 间作不仅对其相互间生长无影响, 且还能一定程度上提高其产量, 但玉米与荞麦 (*Fagopyrum esculentum* Moench) 间套作则相互影响生长, 是农作物间套作体系中典型的不能搭配的组合^[20]。玉米与荞麦不能间套作的障碍因子是否因荞麦根系分泌物对玉米根边缘细胞和根系产生化感胁迫, 诱导根边缘细胞凋亡死亡, 使根失去边缘细胞的保护作用, 进而对玉米根系产生化感胁迫伤害, 影响根系正常生长, 这方面的研究未见有报道。为此, 本研究以玉米为受体植物研究了荞麦、高粱根系分泌物对玉米根边缘细胞和根系生长的影响, 以期阐明荞麦、玉米间作障碍的原因。

1 材料与方法

1.1 试验材料

荞麦品种晋荞麦 1 号、高粱品种晋杂 30 号分别由山西农业大学农学院荞麦和高粱育种团队提供;玉米品种先玉 335 购于当地种子公司。

1.2 试验方法

1.2.1 根分泌物的收集与分离

挑选适量籽粒饱满的荞麦、高粱种子,用 5% NaClO 溶液消毒 10 min,去离子水洗去 NaClO 残液,再用去离子水浸种 12 h,将种子置于垫有双层滤纸的培养皿中,25℃培养箱中催芽,种子露白时将种子转移至直径和高分别为 10 cm 的顶端固定有单层纱布的塑料管上,25℃下进行根悬空培养。待根长约 2 cm 时,分别挑选约 800 个长度一致的根。参考 Hao 等人^[21]的研究方法,将根剪下浸入装有 50 mL 去离子水的烧杯中,25℃下浸泡 6 h 得到根分泌物溶液。将根分泌物溶液转至 10 mL 3 kd 的蛋白浓缩管中,4℃,4500 r/min 下离心 90 min,将根分泌物中大分子和小分子物质分离开。蛋白浓缩管上部的液体为根分泌物中的大分子物质(蛋白等),浓缩管下部为小分子物质(根次级代谢物质等)。将分离得到的根分泌物溶液置真空冷冻干燥器中冷冻干燥,将所得的干物质称量,分别配制成 0.4 mg/mL 的大分子和小分子根分泌物溶液(约 800 个根浸泡在 50 mL 去离子水中所得的根分泌物溶液浓度),4℃下保存备用。

1.2.2 玉米根培养及处理

同 1.2.1 方法,挑选适量籽粒饱满的玉米种子进行根悬空培养。待根长约 0.5 cm 时,分别用相同浓度的高粱根分泌物中大分子物质溶液(A)、高粱根分泌物中小分子溶液(B)、荞麦根分泌物中大分子物质溶液(C)和荞麦根分泌物中小分子溶液(D)对根进行喷雾处理(对照用去离子水)。每隔 2 h 处理一次,共喷 6 次。待对照根长至约 2 cm 时(处理 12 h)时,取不同处理的根测定根长和各项生理指标。

1.2.3 玉米根边缘细胞的收集及处理

参照马金虎等^[17]的方法,采用根悬空培养,待根长约 2 cm 时,剪取 200 个约 0.5 cm 长的根尖,置于加有 4 mL 1 MS 液体培养基的 10 mL 离心管中,漩涡仪上震荡 0.5 min,洗下根边缘细胞(RBC),用 1 mL 微量注射器反复吹打悬液,使 RBC 分散均匀,4℃下,1000 r/min 离心 5 min,弃去上清液,加 2 mL MS 液体培养基再制成 RBC 悬液。将悬液分成 5 份,每份 400 μ L,4℃下,1000 r/min 离心 5 min,弃去上清液,分别向其中加入 200 μ L 不同的根分泌物溶液(对照为 MS 液体培养基),混匀,10℃下处理。处理 4 h 和 8 h 时,不同处理取 50 μ L RBC 悬液,加等量 AO-EB 复合染液(AO:EB=1:1),充分混匀,染色 2 min。取 30 μ L RBC 悬液置于载玻片上,用盖玻片压片,在 Olympus BX 53(U-RFL-T)荧光显微镜(蓝色激发光)下观察拍照。每处理取 10 个有代表性的视野,统计 RBC 总数、活细胞、凋亡和死亡细胞个数(活细胞呈现绿色荧光;凋亡细胞呈现橘黄色;死细胞呈现暗红色荧光)。细胞凋亡率=(细胞凋亡数/总细胞数) \times 100%;细胞死亡率=(细胞死亡数/总细胞数) \times 100%;细胞存活率=(活细胞数/总细胞数) \times 100%。

1.2.4 测定指标与方法

玉米根长的测定。用蒸馏水清洗根尖,滤纸吸去根尖表面的水分,将根尖置于扫描仪(Epson V850, Beijing, China)上扫描拍照,利用 Image J 软件测定其根长。每处理取 9 个根测定根长,3 次重复。

玉米根生理指标测定及根染色。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性、丙二醛(MDA)含量测定分别采用氮蓝四唑还原法、愈创木酚法、紫外吸收法和硫代巴比妥酸法。脯氨酸含量采用茚三酮法测定。利用 DDS-II 型电导仪测定根细胞膜透性。根系活力采用 TTC 法测定。H₂O₂ 含量测定采用分光光度法^[22]。O₂⁻ 含量的测定参照李光忠^[23]的方法。IAAO 活性用北京盒子生工科技有限公司生产的吲哚乙酸氧化酶(IAAO)活性检测试剂盒按说明测定。IAA 含量由苏州梦犀生物医药科技有限公司测定。

ROS 染色采用北京盒子生工科技有限公司生产的活性氧(ROS)检测试剂盒试剂染色。植物体内活性氧

(ROS) 是植物体内化学性质活跃的含氧原子团如超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2) 等的总称。2', 7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA) 本身没有荧光, 可以自由穿过细胞膜进入细胞内后, 被细胞内的酯酶水解生成 2', 7'-二氯二氢荧光素(DCFH), 而 DCFH 不能透过细胞膜, 从而使探针易于装载至细胞内, 细胞内的活性氧可以氧化无荧光的 DCFH 生成有荧光的 2', 7'-二氯荧光素(DCF)。绿色荧光的强度与活性氧的水平成正比。

根尖 O_2^- 染色用氮蓝四唑法^[24], 用氮蓝四唑法对植物材料进行染色, NBT 受到超氧阴离子的还原, 产生不溶性蓝黑色色素沉淀附着在植物组织上, 植物组织颜色越深表明组织中超氧阴离子含量越高。所有指标测定均 3 次重复。

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2010 对数据进行整理和统计分析, 用 Graphpad Prism 8.0.2 进行绘图, 采用 SPSS 23.0 软件对测定指标进行比较(Duncan 法)分析, 显著水平均为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 高粱、荞麦根分泌物对玉米根生长和根系活力的影响

从图 1 可看出, 高粱根分泌物中大分子物质(A)和小分子物质(B)处理对玉米根生长无显著影响。A 和 B 处理, 根长分别比对照降低 5.0%、11.5%。荞麦根系分泌物中的大分子物质(C)和小分子物质(D)处理抑制玉米根生长, 与对照比根长分别降低 15.1% 和 36.9%, 达显著差异。

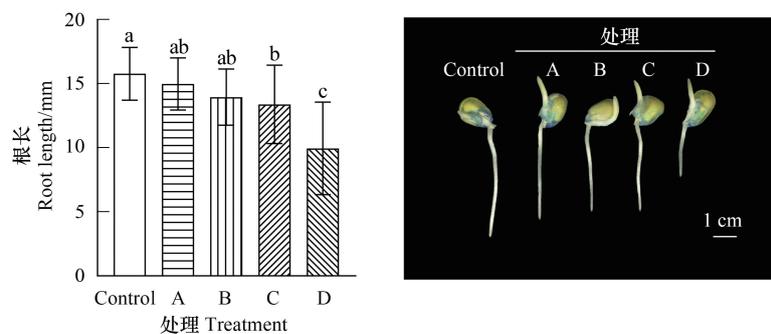


图 1 高粱、荞麦根分泌物对玉米根生长的影响

Fig.1 Effects of sorghum and buckwheat root exudates on maize root length

Control: 喷施蒸馏水 Treated with distilled water; A: 喷施高粱根分泌物中大分子物质溶液 Treated with the macromolecular substances in the root exudates of sorghum; B: 喷施高粱根分泌物中小分子物质溶液 Treated with the small molecular substances in the root exudates of sorghum; C: 喷施荞麦根分泌物中大分子物质溶液 Treated with the macromolecular substances in the root exudates of buckwheat; D: 喷施荞麦根分泌物中小分子物质溶液 Treated with the small molecular substances in the root exudates of buckwheat; 不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

从图 2 可知, 高粱根分泌物中的大分子物质(A)和小分子物质(B)处理对玉米根系活力无显著影响。荞麦根分泌物中的大分子物质(C)和小分子物质(D)处理, 玉米根系活力下降, 与对照比分别降低 9.3% 和 14.4%, 达显著差异。

2.2 高粱、荞麦根分泌物对玉米根活性氧的影响

从图 3 可看出, 高粱根分泌物中大分子物质(A)、小分子物质(B)和荞麦根分泌物中大分子物质(C)处理, 玉米根尖染色与对照比无显著差异。荞麦根分泌物中小分子物质(D)处理, 根尖染色与对照比出现明显差异, 根尖颜色绿色荧光亮度和蓝黑色深度均高于对照。说明, 荞麦根系分泌物中的小分子物质(D)处理显著诱导玉米根内活性氧的积累。

进一步定量测定玉米根内 O_2^- 和 H_2O_2 含量发现(图 4), 高粱根分泌物的大分子物质(A)、小分子物质(B)和荞麦根分泌物中的大分子物质(C)处理对玉米根中超氧阴离子含量无显著影响。荞麦根分泌物中的小分子物质(D)处理, 玉米根内超氧阴离子含量显著升高, 比对照高 33.9%。

用高粱根系分泌物中的大分子物质(A)和小分子物质(B)处理玉米根,根内 H_2O_2 的含量分别比对照降低 1.7% 和 2.2%。用荞麦根分泌物中的大分子物质(C)和小分子物质(D)处理玉米根,诱导根内 H_2O_2 含量降低,与对照比分别降低 18.7% 和 22.7%,达显著差异。

2.3 高粱、荞麦根分泌物对玉米根保护酶活性的影响

从图 5 可知,用高粱根分泌物中大分子物质(A)、小分子物质(B)和荞麦根分泌物中大分子物质(C)处理对玉米根中 SOD 和 POD 的活性无显著影响。用荞麦根分泌物中的小分子物质(D)处理玉米根,诱导根内 SOD 和 POD 活性升高,与对照比分别升高了 22.6% 和 27.3%,达显著差异。

高粱根分泌物中大分子物质(A)和小分子物质(B)处理对玉米根中 CAT 的活性无显著影响。用荞麦根分泌物中的大分子物质(C)和小分子物质(D)处理玉米根,诱导根内 CAT 活性升高,与对照比分别升高 49.2% 和 107.2%,达显著差异。

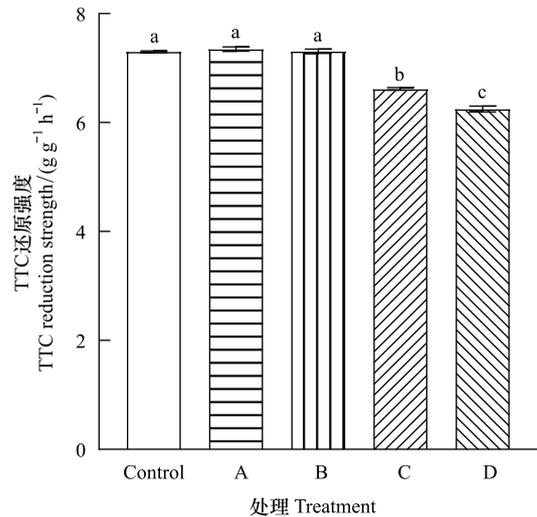


图 2 高粱、荞麦根分泌物对玉米根系活力的影响

Fig.2 Effects of sorghum and buckwheat root exudates on maize root activity

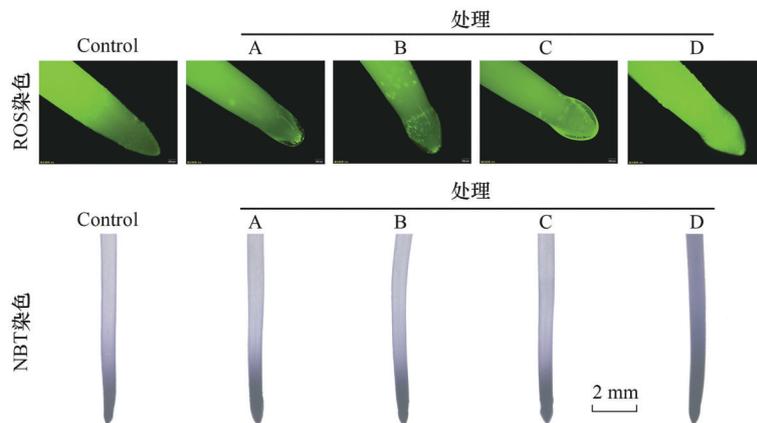


图 3 玉米根系 ROS 染色和 NBT 染色

Fig.3 ROS staining and NBT staining of maize roots

2.4 高粱、荞麦根系分泌物对玉米根 MDA 含量和膜透性的影响

高粱根分泌物中大分子物质(A)和小分子物质(B)处理对玉米根中 MDA 的含量无显著影响。荞麦根分泌物中的大分子物质(C)和小分子物质(D)处理,诱导根内 MDA 含量升高,与对照比分别升高 21.4% 和 31.5%。

高粱根分泌物中大分子物质(A)和小分子物质(B)处理对玉米根细胞膜透性无显著影响,而荞麦根分泌物中的大分子物质(C)和小分子物质(D)处理,玉米根膜透性增大,根相对电导率分别比对照高 29.5% 和 80.0%,达显著差异。

2.5 高粱、荞麦根分泌物对玉米根中脯氨酸含量的影响

图 7 可知,高粱根分泌物中大分子物质(A)和小分子物质(B)处理,对玉米根内脯氨酸含量无显著影响。荞麦根分泌物中的大分子物质(C)和小分子物质(D)处理,玉米根内脯氨酸含量显著升高,分别比对照高 41.1% 和 49.8%。

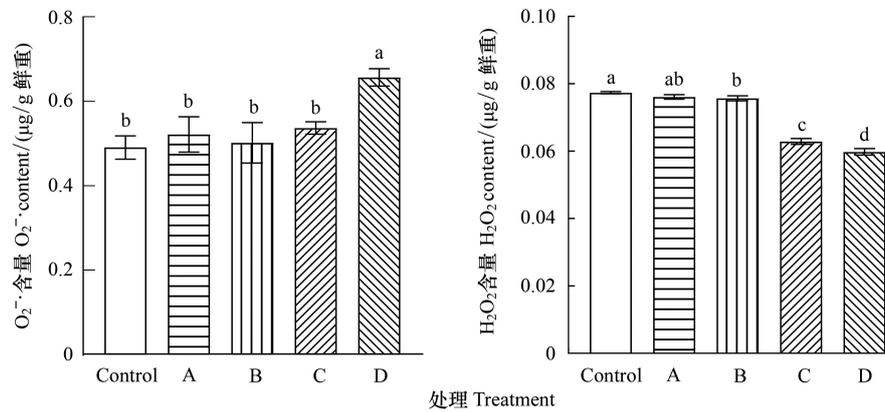


图 4 高粱、荞麦根分泌物对玉米根活性氧含量的影响

Fig.4 Effects of sorghum and buckwheat root exudates on the content of reactive oxygen species in maize roots

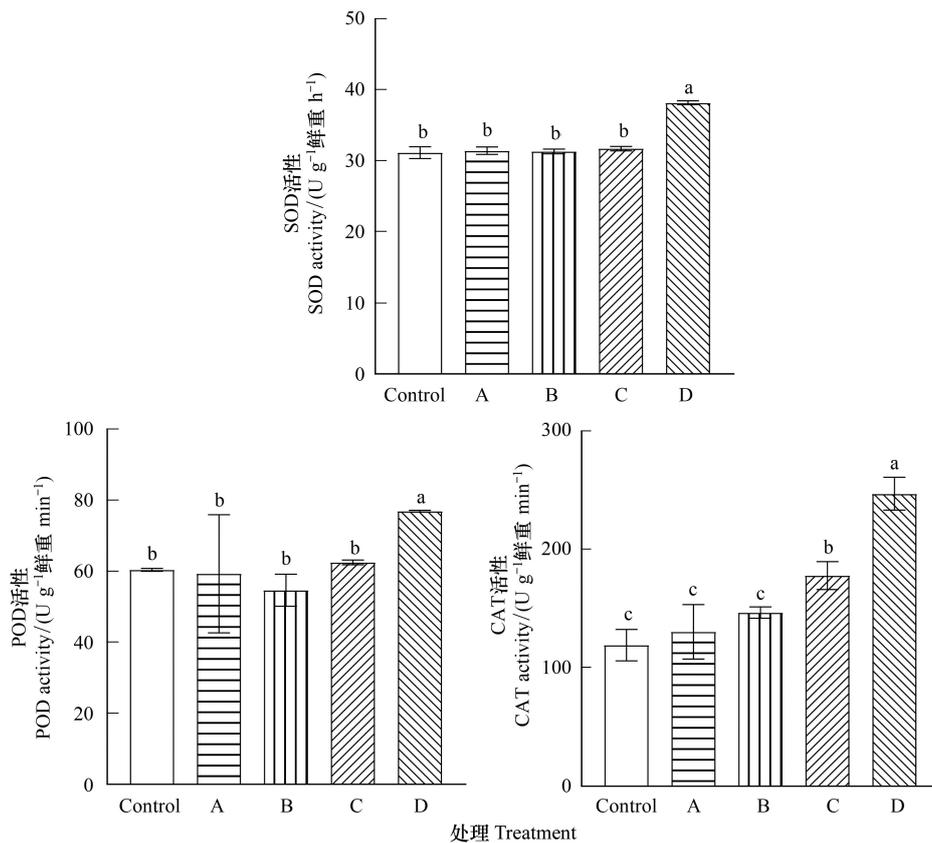


图 5 高粱、荞麦根分泌物对玉米根保护酶活性的影响

Fig.5 Effects of sorghum and buckwheat root exudates on the activity of maize root protective enzymes

2.6 高粱、荞麦根分泌物对玉米根中生长素含量和 IAAO 活性的影响

图 8 可知,用高粱根分泌物中的大分子物质(A)和小分子物质(B)处理,玉米根内 IAA 含量分别比对照降低 10.1%和 24.6%,达显著差异。用荞麦根分泌物中的大分子物质(C)和小分子物质(D)处理,根内 IAA 含量分别比对照降低 26.5%和 44.2%,也达显著差异。

高粱和荞麦根分泌物中无论大分子物质还是小分子物质处理对玉米根内 IAAO 活性均无显著影响。

2.7 高粱、荞麦根分泌物对玉米根边缘细胞活率的影响

玉米根边缘细胞在离体状态(10℃)下,高粱根分泌物中大分子物质(A)和小分子物质(B)处理根边缘细

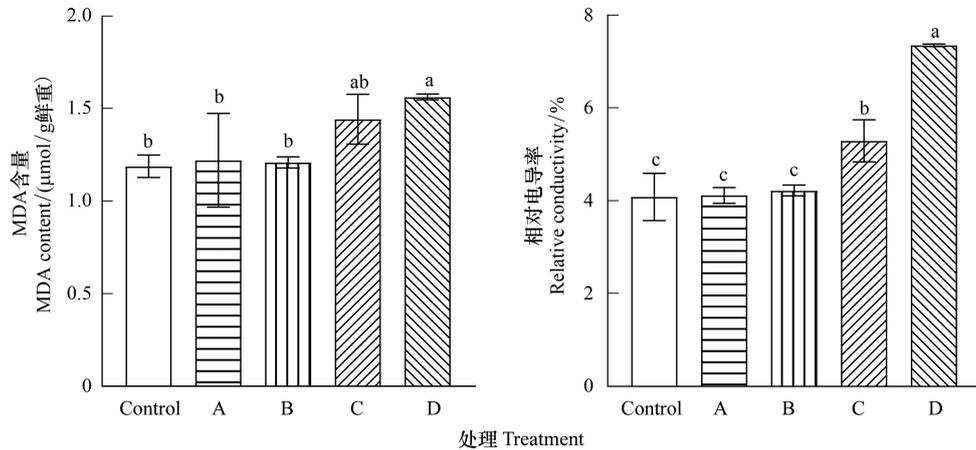


图 6 高粱、荞麦根分泌物对玉米根中 MDA 含量和膜透性的影响

Fig.6 Effects of sorghum and buckwheat root exudates on MDA content and membrane permeability in maize roots

胞 4、8 h,根边缘细胞染色与对照比无显著差异;荞麦根系分泌物中的大分子物质(C)和小分子物质(D)处理根边缘细胞 4 h 发现,呈橘黄色和暗红色荧光的细胞数量明显增多,在荞麦根系分泌物中小分子物质(D)处理 8 h 后发现,呈橘黄色和暗红色荧光细胞数量增多的现象更为明显(图 9)。

进一步统计发现(表 1),荞麦根分泌物中的大分子物质(C)处理根边缘细胞 4 h,根边缘细胞的死亡率与凋亡率分别比对照高 18.1%和 34.0%,存活率比对照低 43.6%,均达显著差异;处理 8 h,根边缘细胞的死亡率与凋亡率分别比对照高 28.7%和 6.0%,存活率比对照低 50.8%。用荞麦根系分泌物中的小分子物质(D)处理根边缘细胞 4 h,根边缘细胞的死亡率与凋亡率分别比对照高 51.1%和 52.9%,存活率比对照低 71.6%,均达显著差异;处理 8 h,根边缘细胞的死亡率与凋亡率分别比对照高 51.3%和 8.4%,存活率比对照低 72.3%。

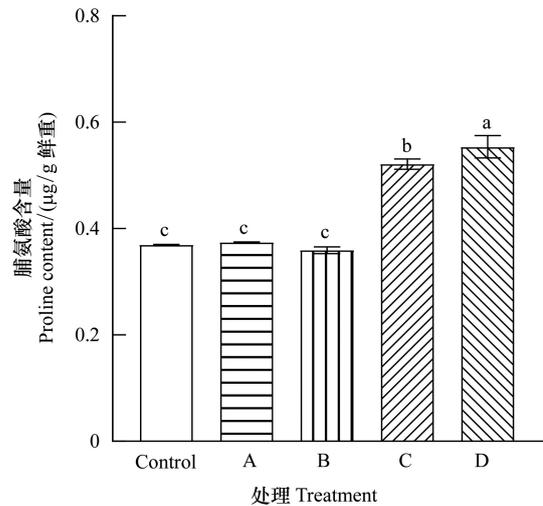


图 7 高粱、荞麦根分泌物对玉米根中脯氨酸含量的影响

Fig.7 Effects of sorghum and buckwheat root exudates on proline content in maize roots

表 1 高粱、荞麦根分泌物对玉米根边缘细胞活率的影响

Table 1 Effects of sorghum and buckwheat root exudates on the viability of maize root border cells

| 处理 Treatment | 4 h | | | 8 h | | |
|-----------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| | 死亡率/% Mortality rate | 凋亡率/% Apoptosis rate | 存活率/% Survival rate | 死亡率/% Mortality rate | 凋亡率/% Apoptosis rate | 存活率/% Survival rate |
| Control | 6.97±0.74c | 50.66±6.43c | 42.37±5.76a | 7.80±0.66c | 78.50±2.86c | 13.70±2.33a |
| A | 6.96±0.59c | 50.69±2.74c | 41.35±2.44a | 7.88±0.27c | 78.31±2.09c | 13.81±1.94a |
| B | 6.97±0.64c | 50.71±1.36c | 42.32±1.21a | 7.92±0.35c | 78.87±1.98c | 13.21±1.81a |
| C | 8.23±0.55b | 67.88±1.54b | 23.89±1.33b | 10.04±1.01b | 83.22±2.01b | 6.74±1.89b |
| D | 10.53±0.61a | 77.45±1.55a | 12.02±1.45c | 11.08±1.20a | 85.12±1.31a | 3.80±0.44c |

Control: 喷施蒸馏水 Treated with distilled water; A: 喷施高粱根分泌物中大分子物质溶液 Treated with the macromolecular substances in the root exudates of sorghum; B: 喷施高粱根分泌物中小分子物质溶液 Treated with the small molecular substances in the root exudates of sorghum; C: 喷施荞麦根分泌物中大分子物质溶液 Treated with the macromolecular substances in the root exudates of buckwheat; D: 喷施荞麦根分泌物中小分子物质溶液 Treated with the small molecular substances in the root exudates of buckwheat; 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

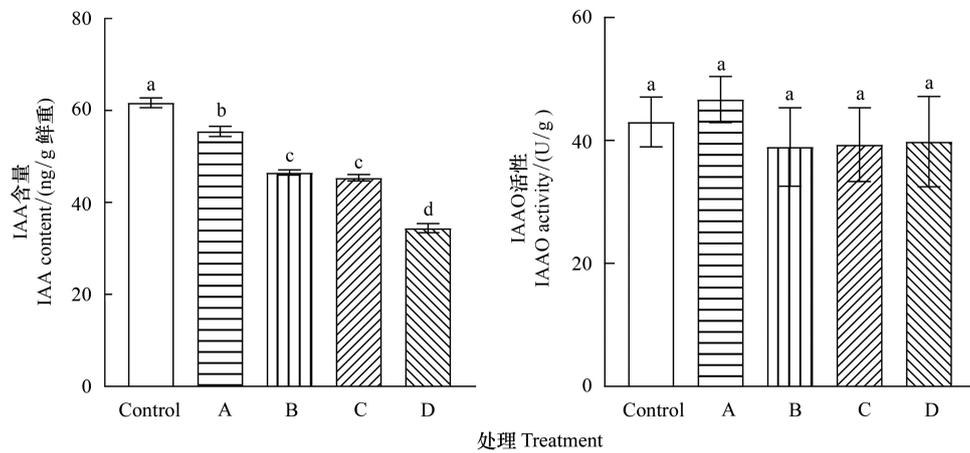


图 8 高粱、荞麦根分泌物对玉米根中 IAA 含量和 IAAO 活性的影响

Fig.8 Effects of sorghum and buckwheat root exudates on IAA content and IAAO activity in maize roots

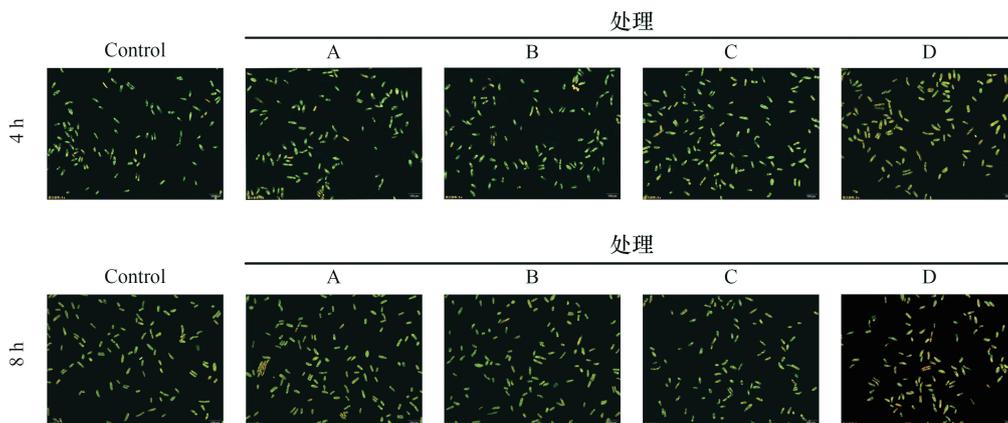


图 9 高粱、荞麦根分泌物处理玉米根边缘细胞 4 h 和 8 h 活率的荧光观察

Fig.9 Fluorescence observation of the viability of maize root border cells at 4 h and 8 h treated with sorghum and buckwheat root exudates
活细胞呈现绿色荧光; 凋亡细胞呈现橘黄色; 死细胞呈现暗红色荧光

3 讨论

在植物生长过程中,地下部竞争尤为重要^[25]。根系间的竞争机制有两种,分别是掠夺式竞争和干扰式竞争。其中,干扰式竞争指通过化感物质的干扰,破坏受体植物细胞内部结构,抑制其生长发育^[26-28]。马金虎等^[17]报道,紫茎泽兰提取物对灰绿藜、稗草和反枝苋杂草根组织细胞产生强烈的化感胁迫,对根组织细胞产生细胞毒害,导致根表皮细胞脱落,根内层组织细胞排列混乱且疏松,最终破坏根的组织结构,抑制根的生长发育。杨瑞吉^[29]等报道,油菜根系分泌物对玉米生长及根系活力有明显的抑制作用。本研究发现,荞麦根分泌物中的小分子物质对玉米根生长和根系活力有显著的抑制作用,这和前人研究结果一致,说明荞麦根分泌物中的小分子物质对玉米根生长产生化感胁迫。Xu 等人^[30]研究指出,亲缘关系允许化感作用植物区分它们的邻近合作者或竞争对手,并相应地调整它们的生长、竞争力和化学防御。在本研究中,高粱根分泌物处理对玉米根的生长无显著抑制作用,对玉米根系活力、根保护酶活性、根 O_2^- 和 H_2O_2 含量、根细胞膜透性、RBC 存活率等指标均无显著影响。这可能是由于高粱和玉米亲缘关系较近,而荞麦和玉米亲缘关系远,高粱根分泌物在组分上同玉米根分泌物更为接近,造成同科植物间无化感胁迫,而异科植物间产生化感胁迫,其中缘由

还有待进一步研究。

植物根边缘细胞不仅是植物与土壤之间的润滑剂,还是保护根系免受外界不良因素影响的屏障^[31]。植物根边缘细胞发育生物学特征表明,当植物根尖发育一段时间后,边缘细胞的数量处于一个相对稳定的状态,但当植物体受到某些有严重抑制作用的化感物质胁迫时,会引起细胞死亡^[15]。本研究发现,高粱根系分泌物对玉米根边缘细胞活率无显著影响,但荞麦根系分泌物中的小分子物质显著诱导玉米根边缘细胞的死亡和凋亡。刘爽和马丹炜^[32]研究发现,根边缘细胞的死亡在一定程度上可以抵御化感物质对根的毒害,保护根尖免遭伤害。李安奇等人^[15]的研究结果表明,土荆芥化感物质诱导大豆根边缘细胞的凋亡。这与本研究结果一致,说明荞麦根系分泌物中的小分子物质对玉米根边缘细胞产生化感胁迫伤害,也进一步证明了,同科植物根系分泌物对同科植物根系不产生伤害。

脯氨酸作为植物体内重要的渗透调节物质之一,其含量在逆境条件下会明显升高,以调节逆境导致的生理代谢不平衡^[33]。陈芸等^[34]研究报道,在一定的浓度范围内,4种化感物质阿魏酸、苯甲酸、肉桂酸和丁酸显著诱导玉米体内脯氨酸含量增加。本研究结果发现,高粱根系分泌物对玉米根系内脯氨酸的含量无明显影响,而荞麦根系分泌物中的小分子物质能显著诱导根系内脯氨酸含量增加,表明荞麦根系分泌物中的小分子物质对玉米根系有一定的化感胁迫作用。

化感胁迫引起氧化胁迫伤害,导致植物组织体内抗氧化系统代谢水平活跃,活性氧、丙二醛(MDA)含量升高。SOD、POD、CAT活性增强,清除细胞内活性氧,维持机体内活性氧平衡,保护细胞免受氧化损伤^[35]。李安奇等^[36]报道,土荆芥化感物质诱导大豆根尖细胞产生较多的超氧阴离子,抗氧化酶的活性增加,丙二醛含量升高,最终导致膜透性增加。杨瑞吉^[29]研究发现,油菜根系分泌物对玉米幼苗茎叶中POD的活性和MDA的含量表现出较强的促进作用。王璐^[37]等人的研究表明,大豆和甘薯根系分泌物对小麦植株体内SOD、POD、CAT活性有明显的促进作用。从本研究结果看,荞麦根分泌物中的小分子物质显著同样诱导玉米根内 O_2^- 的积累,SOD、POD、CAT活性显著增加,MDA含量明显升高,细胞膜透性增加,而 H_2O_2 含量则明显降低,这可能是由于根中POD、CAT活性升高,将根中 H_2O_2 进一步转化成 O_2 和 H_2O 的缘故。这与前人研究结果较为接近。另外,从本实验结果还可知,高粱根分泌物处理,对玉米根内抗氧化系统代谢水平无显著影响。说明,同科植物根系分泌物对同科植物根可能不产生化感胁迫,下一步需在其他科属植物上进一步验证。

适宜浓度的生长素可以促进根系的生长^[38]。本研究结果发现,经高粱根分泌物处理后,玉米根中IAA的含量无明显变化,而荞麦根分泌物中的小分子物质处理后,玉米根内IAA含量显著降低,导致根长变短。邱秋金等^[39]曾报道,不同化感作用的小麦根系分泌物对看麦娘植株体内源激素的含量影响不同,强化感小麦根系分泌物能显著降低看麦娘叶片和根系内IAA的含量。杨平^[40]的研究结果发现,化感抑制作用的小麦根系分泌物降低黄瓜幼苗生长素(IAA)的含量。IAA含量的降低与IAA的降解有密切联系。在植物体内IAA的降解与IAAO和POD活性的增加有关^[41]。从本试验结果看,荞麦根分泌物中的小分子物质处理,玉米根内IAAO活性无明显变化,而POD活性显著增强。因此推测,导致IAA含量降低可能是POD活性增强的缘故。玉米根内IAA含量降低影响根的正常生长。

荞麦根系分泌物中的小分子物质主要包括一些次级代谢产物、氨基酸和酚酸类等化合物。虽然,这类化合物的占比较小,但其种类繁多,具有较强的生物活性^[3]。前人的研究表明,根系分泌物中含有苯丙烷类、类萜、甾类和生物碱类等有毒物质,其分子量较低^[42]。由此推测,荞麦根系分泌物中的这几类小分子物质可能影响了玉米根边缘细胞的存活和根的生长,其影响机理有待进一步研究。

4 结论

高粱根分泌物中大分子物质和小分子物质对玉米根生长无显著化感胁迫伤害。荞麦根分泌物中的小分子物质对玉米根边缘细胞和根生长产生化感胁迫,诱导玉米根边缘细胞凋亡死亡,使根失去根边缘细胞的保护作用,分泌物中的小分子物质进一步对玉米根产生氧化胁迫伤害、诱导玉米根中IAA含量降低使根生长受

到抑制。

参考文献(References):

- [1] 旷远文, 温达志, 钟传文, 周国逸. 根系分泌物及其在植物修复中的作用. 植物生态学报, 2003, 27(5): 709-717.
- [2] Wen F S, VanEttten H D, Tsapraillis G, Hawes M C. Extracellular proteins in pea root tip and border cell exudates. Plant Physiology, 2007, 143(2): 773-783.
- [3] Bais H P, Weir T L, Perry L G, Gilroy S, Vivanco J M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57: 233-266.
- [4] Biedrzycki M L, Jilany T A, Dudley S A, Bais H P. Root exudates mediate kin recognition in plants. Communicative & Integrative Biology, 2010, 3(4): 28-35.
- [5] Crepy M A, Casal J J. Photoreceptor-mediated kin recognition in plants. New Phytologist, 2015, 205(1): 329-338.
- [6] Semchenko M, Saar S, Lepik A. Plant root exudates mediate neighbour recognition and trigger complex behavioural changes. New Phytologist, 2014, 204(3): 631-637.
- [7] Li B, Li Y Y, Wu H M, Zhang F F, Li C J, Li X X, Lambers H, Li L. Root exudates drive interspecific facilitation by enhancing nodulation and N₂ fixation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113(23): 6496-6501.
- [8] Kim Y S, Kill B S. Identification and growth inhibition of phytotoxic substances from tomato plant. The Korean Journal of Botany, 1989, 32(1): 41-49.
- [9] Bertin C, Yang X H, Weston L A. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. Plant and Soil, 2003, 256(1): 67-83.
- [10] Baziramakenga R, Simard R R, Leroux G D. Effects of benzoic and cinnamic acids on growth, mineral composition, and chlorophyll content of soybean. Journal of Chemical Ecology, 1994, 20(11): 2821-2833.
- [11] Inderjit, Weiner J. Plant allelochemical interference or soil chemical ecology?. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 2001, 4(1): 3-12.
- [12] 由海霞, 梁银丽, 吕文, 陈志杰, 杜社妮, 徐福利. 不同作物根系分泌物对黄瓜的化感作用. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(6): 101-105.
- [13] 李彩凤, 陈明, 马凤鸣, 盖志佳, 郭剑, 王玉波. 甜菜根系分泌物对大豆化感作用研究. 东北农业大学学报, 2016, 47(8): 21-30.
- [14] Hamamoto L, Hawes M C, Rost T L. The production and release of living root cap border cells is a function of root apical meristem type in dicotyledonous angiosperm plants. Annals of Botany, 2006, 97(5): 917-923.
- [15] 李安奇, 王亚男, 张红, 汪利沙, 马丹炜. 大豆根边缘细胞对土荆芥组培根分泌物的响应. 生态环境学报, 2012, 21(1): 84-87.
- [16] Ma J H, Feng X X, Yang X H, Cao Y H, Zhao W F, Sun L L. The leaf extract of Crofton weed (*Eupatorium adenophorum*) inhibits primary root growth by inducing cell death in maize root border cells. Plant Diversity, 2020, 42(3): 174-180.
- [17] 马金虎, 杨文秀, 孙亮亮, 陈皓, 赵倩, 杨小环. 紫茎泽兰提取物对 3 种杂草的化感胁迫作用. 生态学报, 2018, 38(10): 3514-3523.
- [18] 杨小环, 杨文秀, 孙亮亮, 赵倩, 曹永恒, 马金虎. 外源 NO 缓解紫茎泽兰提取物对黄瓜根边缘细胞的化感胁迫. 应用生态学报, 2018, 29(1): 223-230.
- [19] Sani B M, Danmowa N M, Sani Y A, Jaliya M M. Growth, yield and water use efficiency of maize-sorghum intercrop at Samaru, Northern Guinea Savannah, Nigeria. Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences, 2011, 19(2): 253-259.
- [20] 龚振平, 马春梅. 耕作学(第二版). 北京: 中国农业出版社, 2018.
- [21] Hao W Y, Ren L X, Ran W, Shen Q R. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*. Plant and Soil, 2010, 336(1): 485-497.
- [22] 高俊凤. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2006: 57-217.
- [23] 李忠光, 龚明. 植物中超氧阴离子自由基测定方法的改进. 云南植物研究, 2005, 27(2): 211-216.
- [24] Fryer M J, Oxborough K, Mullineaux P M, Baker N R. Imaging of photo-oxidative stress responses in leaves. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(372): 1249-1254.
- [25] Wilson J B. Shoot competition and root competition. Journal of Applied Ecology, 1988, 25(1): 279-296.
- [26] Babula P, Vanco J, Kohoutkova V, Dankova I, Havel L, Kizek R. Cell signals as markers of cytotoxicity of new complexes of naphthoquinones. Analysis of Biomedical Signals and Images, 2010, 20: 259-263.
- [27] Li Z H, Wang Q, Ruan X, Pan C D, Jiang D A. Phenolics and plant allelopathy. Molecules, 2010, 15(12): 8933-8952.
- [28] 胡琬君, 马丹炜, 王亚男, 张红, 李群. 土荆芥挥发油对蚕豆根尖细胞的化感潜力. 生态学报, 2011, 31(13): 3684-3690.
- [29] 杨瑞吉. 油菜根系分泌物对不同作物幼苗生长的化感效应. 生态环境, 2006, 15(5): 1062-1066.

- [30] Xu Y, Cheng H F, Kong C H, Meiners S J. Intra-specific kin recognition contributes to inter-specific allelopathy: A case study of allelopathic rice interference with paddy weeds. *Plant, Cell & Environment*, 2021, 44(12): 3709-3721.
- [31] Vicré M, Santaella C, Blanchet S, Gateau A, Driouich A. Root border-like cells of *Arabidopsis*. Microscopical characterization and role in the interaction with rhizobacteria. *Plant Physiology*, 2005, 138(2): 998-1008.
- [32] 刘爽, 马丹炜. 不同发育期反枝苋对黄瓜根缘细胞的化感作用. *生态学报*, 2009, 29(8): 4392-4396.
- [33] 邢芳芳, 高明夫, 周传志, 徐春英, 范玲超. 氨基酸与植物抗逆性关系的研究进展. *黑龙江农业科学*, 2018, (3): 150-155.
- [34] 陈芸, 鲍丽芹, 王继莲. 4种化感物质对玉米种子萌发及幼苗生长的影响. *种子*, 2014, 33(7): 10-14.
- [35] 何兵, 王亚男, 李安奇, 张红, 马丹炜. 土荆芥组培根分泌物对大豆根尖细胞的氧化损伤. *四川师范大学学报: 自然科学版*, 2013, 36(3): 440-444.
- [36] 李安奇. 土荆芥组培根分泌物对大豆根细胞的影响[D]. 成都: 四川师范大学, 2012.
- [37] 王璐, 陈明霞, 邵云, 李春喜, 朱群英, 翁正鹏. 作物根系分泌物对小麦种子萌发及幼苗生长的影响. *河南农业科学*, 2019, 48(1): 66-71.
- [38] Quint M, Gray W M. Auxin signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 2006, 9(5): 448-453.
- [39] 邱秋金, 林瑞余. 不同化感小麦根系分泌物对看麦娘内源激素含量的影响. *福建师范大学学报: 自然科学版*, 2016, 32(3): 103-108.
- [40] 杨平. 小麦根系浸提液对黄瓜幼苗化感作用的生理生化机制[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011.
- [41] 原牡丹, 侯智霞, 翟明普, 苏艳. IAA 分解代谢相关酶(IAAO、POD)的研究进展. *中国农学通报*, 2008, 24(8): 88-92.
- [42] 解文科, 王小青, 李斌, 林锦波, 郭丽丽, 孔斌. 植物根系分泌物研究综述. *山东林业科技*, 2005, (5): 63-67.