

DOI: 10.20103/j.stxb.202401270251

陈李,卓房,尹紫妍,朱晴,张红,王文国,王亚男,马丹炜.玉米根边缘细胞通过维持 IAA 表达响应土荆芥化感胁迫的机制.生态学报,2025,45(12): - .

Chen L, Zhuo F, Yin Z Y, Zhu Q, Zhang H, Wang W G, Wang Y N, Ma D W. Mechanism of maize root border cells responding to allelopathic stress of *Chenopodium ambrosioides* L. by maintaining IAA expression. Acta Ecologica Sinica, 2025, 45(12): - .

玉米根边缘细胞通过维持 IAA 表达响应土荆芥化感胁迫的机制

陈 李^{1,2,3}, 卓 房¹, 尹紫妍¹, 朱 晴¹, 张 红¹, 王文国^{2,3}, 王亚男¹, 马丹炜^{1,*}

1 四川师范大学生命科学学院, 成都 610101

2 农业农村部成都沼气科学研究所, 成都 610041

3 农业农村部农村可再生能源开发利用重点实验室, 成都 610041

摘要: 入侵植物土荆芥 (*Chenopodium ambrosioides* L.) 对农作物具有强烈的化感作用, 而受体根边缘细胞 (Root border cells, RBCs) 能够快速对化感胁迫作出响应, 短时间内在根尖外层形成保护层维护根尖正常代谢。为了探究这一效应的分子机制, 以玉米 (*Zea mays* L.) 为研究对象, 利用长度测量方法和高效液相色谱法分别测定了土荆芥挥发物及其主要成分 α -萜品烯胁迫下, 保留和移除 RBCs 组玉米根尖长度和生长素含量变化, 同时利用石蜡切片结合显微技术观察根尖内部结构变化。最后利用转录组测序技术分析该过程对生长素的整体影响。结果表明, 在土荆芥挥发物作用下, 与对照组相比, 根边缘细胞数量减少, 活性降低, 随着处理时间延长、处理浓度增加抑制效果越加明显, 土荆芥挥发物及其主要成分 α -萜品烯对玉米根边缘细胞的化感综合效应指数表现为土荆芥挥发性物质 (0.191) > α -萜品烯 (0.172); 移除根边缘细胞后, 受体植物根冠严重受损, 根尖生长素含量降低, 根尖内部成熟区细胞变小, 导致根尖长度缩短。 α -萜品烯作用下根尖内皮层和中柱鞘细胞层明显加厚。转录组学结果显示, 受化感物质胁迫影响, 生长素合成、运输和信号转导过程相关基因表达受到影响。挥发物处理诱导 IAA 合成基因 *YUCCA*、*TAR2* 上调, 去除 RBCs 后极性运输相关的 PIN 家族基因上调, *AUX/IAAs*、*GH3s* 等信号转导负调控基因上调, 减少了 IAA 在根尖积累和抑制 IAA 功能。上述结果表明, 土荆芥挥发物胁迫下, RBCs 响应胁迫导致自身活性降低和细胞数量减少, 同时参与调节 IAA 极性运输和信号转导基因表达过程, 通过维持 IAA 正常极性运输和信号转导过程, 在调节玉米根尖发育和响应化感胁迫之间达成平衡。

关键词: 根边缘细胞; 化感胁迫; 土荆芥; 玉米; 生长素

Mechanism of maize root border cells responding to allelopathic stress of *Chenopodium ambrosioides* L. by maintaining IAA expression

CHEN Li^{1,2,3}, ZHUO Fang¹, YIN Ziyan¹, ZHU Qing¹, ZHANG Hong¹, WANG Wenguo^{2,3}, WANG Yanan¹, MA Danwei^{1,*}

1 College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China

2 Biogas Institute of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chengdu 610041, China

3 Key Laboratory of Development and Application of Rural Renewable Energy, Chengdu 610041, China

Abstract: The invasive plant *Chenopodium ambrosioides* L. exerts strong allelopathic effects on native crops, while root border cells (RBCs) of recipient plants can rapidly respond to such allelopathic stress by forming a protective layer on the outer surface of the root tip within a short period, thereby maintaining normal root tip metabolism. To investigate the

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31971555); 国家重点研发计划上项目 (2023YFC2604503)

收稿日期: 2024-01-27; **网络出版日期:** 2025-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: danwei10ma@162.com

molecular mechanisms underlying this phenomenon, maize (*Zea mays* L.) was used as the experimental model. The study employed length measurement and high-performance liquid chromatography (HPLC) to determine changes in root tip length and auxin (IAA) content in maize under the stress of *C. ambrosioides* volatiles and its major component, α -terpinene, in both RBCs-retained and RBCs-removed groups. Additionally, paraffin sectioning combined with microscopy was used to observe internal structural changes in the root tips. Finally, transcriptome sequencing was performed to analyze the overall impact of this process on auxin metabolism. The results demonstrated that under *C. ambrosioides* volatile stress, the number and activity of RBCs decreased significantly compared to the control group, with the inhibitory effects becoming more pronounced as treatment duration and concentration increased. The comprehensive allelopathic effect index of *C. ambrosioides* volatiles and α -terpinene on maize RBCs was ranked as *C. ambrosioides* volatiles (0.191) > α -terpinene (0.172). Upon RBCs removal, the root cap of the recipient plant was severely damaged, IAA content was reduced, mature zone cells within the root tip became smaller, and root tip length decreased. Under α -terpinene treatment, the endodermis and pericycle cell layers were notably thickened. Transcriptomic analysis revealed that allelochemical stress affected the processes of auxin synthesis, transport, and signaling transduction. Volatile treatment upregulated IAA biosynthesis genes, such as *YUCCA* and *TAR2*. However, after RBCs removal, genes associated with polar auxin transport, such as the PIN family, were upregulated, along with negative regulators of IAA signaling transduction, including *AUX/IAAs* and *GH3s*. This led to a reduction in IAA accumulation at the root tip and suppression of IAA function. These findings indicate that under *C. ambrosioides* volatile stress, RBCs respond to the stress by reducing their own activity and cell numbers, thereby participating in the regulation of IAA polar transport and signaling transduction gene expression. By maintaining normal IAA polar transport and signaling transduction, RBCs achieve a balance between regulating maize root tip development and responding to allelopathic stress.

Key Words: root border cells; allelopathic stress; *Chenopodium ambrosioides*; maize; auxin

生长素(IAA)是植物生长和形态建成的关键调控因子,从胚胎发育到器官形成,再到环境响应,IAA 都发挥着不可或缺的作用^[1]。根尖作为根系生命活动最活跃的部分,IAA 在根尖的分布浓度最大^[2]。IAA 能够在受体中发挥调节生长和构建防御双重作用。释放化感物质是入侵物种在入侵地快速定植和大量繁殖的主要策略。化感物质最终以多种方式进入土壤,通过诱导 IAA 合成和运输基因差异表达调节受体 IAA 含量和分布,从而影响根系的生长和发育。土荆芥(*Chenopodium ambrosioides* L.)是原产中南美洲的外来入侵植物^[3-4],是我国西南地区玉米(*Zea mays* L.)种植区的主要恶性杂草。它能够合成和释放以 α -萜品烯为主成分的挥发性物质^[5-8],这些挥发性物质具有强烈的毒性作用,通过增强活性氧(ROS)的产生来降低抗氧化酶系统,进一步降低根尖氧化应激能力,抑制受体根的生长^[9]。然而,ROS 对受体根系生长的调节与 IAA 息息相关^[10]。因此,IAA 是胁迫条件下调控根发育和构建防御的关键因素之一。

根边缘细胞(Root Border Cells, RBCs)是由根冠的实质细胞分化产生的一种特定的、代谢活跃的细胞群。能够像动物中性粒细胞一样,通过分泌多糖、蛋白质和有机化合物等物质包裹自身并在根系和土壤环境间构筑一道生物屏障^[11-12],用于阻滞土壤中有害微生物^[13]、重金属^[14-15]和化感物质等^[16]对受体根尖的伤害。本实验室前期的研究发现,RBCs 的存在会上调根尖抗逆物质合成、抗氧化酶和非酶抗氧化系统(类黄酮和谷胱甘肽)和根部疏水性物质等相关信号通路,同时提高茉莉酸的表达^[17]。当化感物质干扰植物根尖时,RBCs 最先响应化感胁迫,同时内源性 IAA 含量也会发生变化^[18],RBCs 和 IAA 在响应化感胁迫过程中具有相关性。然而,RBCs 在响应化感胁迫过程中是否参与调节 IAA 信号转导过程还尚不清楚。因此,本研究以玉米作为受体,应用 RBCs 去除试验,整合显微技术、生理生化技术和转录组分析技术,解析受体 RBCs 应答土荆芥化感胁迫保护根尖的机制,为揭示土荆芥化感作用机制和为化感胁迫防治提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料土荆芥植株于 2020 年 11 月采自四川省成都市简阳市(N29°36'26" E104°34'53"),采集时处于生殖期,长势良好,采摘后阴干备用;受体植物玉米种子(郑单 958)购于寿光佳禾种业; α -萜品烯(>90%)标准品购自成都市锐可思生化试剂公司。

1.2 土荆芥挥发物提取

将阴干土荆芥材料剪成 0.5—2 cm 的小段,参照 Singh 等^[19]的水蒸气蒸馏法提取土荆芥挥发物。将土荆芥材料蒸馏 4 h,得到淡黄色有香味的挥发物水合物,加入无水 Na₂SO₄脱水,置于 4℃ 冰箱保存备用。

1.3 材料培养和试验设计

1.3.1 材料培养

选取颗粒饱满、大小均匀、无虫斑的玉米种子,消毒后置于培养箱,25℃ 黑暗中浸种 24 h,平铺在萌发盘中,25℃ 培养箱暗培养 24 h 至种子露白。采用纯琼脂培养基悬空气法^[16],将露白种子倒插入琼脂当中,每瓶 10 粒,置于 25℃ 培养箱暗培养 12 h 后进行试验。

1.3.2 RBCs 数量和活性试验

根据黄素等人^[8]的研究设置挥发物(V)和 α -萜品烯(T)两个处理组,每组设置 3 个处理梯度,挥发物的处理浓度分别为 6.25、12.50 $\mu\text{L/L}$ 和 25.00 $\mu\text{L/L}$ (记为 V1、V2、V3),根据 V1、V2、V3 中 α -萜品烯的相对含量设定 α -萜品烯的处理浓度,分别为 3.125、6.255 $\mu\text{L/L}$ 和 12.510 $\mu\text{L/L}$ (记为 T1、T2、T3)。分别将不同浓度的挥发物和 α -萜品烯滴加在培养瓶的瓶盖上,以不滴加挥发性物质的处理作为对照(CK),旋紧瓶盖,倒置放在托盘上,置于 25℃ 培养箱中暗培养,分别处理 6、12 h 和 24 h,每处理重复 3 次。处理结束后测定 RBCs 的活性和数量。

1.3.3 RBCs 移除试验

根据 Brigham 等^[20]的方法略有改动,从处理 0 h 开始,每隔 6 h 将玉米根尖浸泡入蒸馏水 30 s,再用湿润滤纸擦去残留 RBCs 获得去除 RBCs 的根尖,以保留 RBCs 为对照,其中保留 RBCs 为 W 组,去除 RBCs 为 N 组。处理组浓度与 1.3.2 一致。V2 和 T2 浓度处理 24 h 玉米根尖效果明显,因此被用于石蜡切片、IAA 含量检测和转录组分析实验。保留和去除 RBCs 的对照组分别记为 ZCKW 和 ZCKN;挥发物 V2 浓度处理组保留和去除 RBCs 的对照组分别记为 ZVW 和 ZVN; α -萜品烯 T2 浓度处理组保留和去除 RBCs 的对照组分别记为 ZTW 和 ZTN。

1.4 参数测定

1.4.1 RBCs 数量和活性检测

处理结束后,每处理随机选取玉米根尖 5 个,切取根尖长度 5 mm 部分,放入装有 200 μL 蒸馏水的 EP 管,涡旋震荡 1—2 min,将细胞悬液转移到新的离心管中,加入 100 μL 0.4% 台盼蓝染色,取 10 μL 悬液利用细胞计数板计数;取 20 μL 滴加到载玻片用于 RBCs 活性检测,蓝色为死细胞,无色为活细胞,计算 RBCs 存活率,计算公式为:

$$\text{根边缘细胞存活率} = \frac{\text{活细胞}}{\text{死细胞} + \text{活细胞}} \times 100\%$$

1.4.2 植物根长测定

处理结束后,用直尺测量各处理组的玉米根长。

1.4.3 根尖解剖结构观察

根尖解剖结构的观察采用常规石蜡切片法^[21],经过 FAA 固定、脱水、透明、浸蜡和包埋,切片等步骤,番红和固绿染色后显微镜(DM3000, Leica Corp, Germany)观察根尖结构。

1.4.4 IAA 含量测定

提取方法:称取约 0.3 g 样本,加入 1 mL 预冷的提取液(甲醇:水:乙酸=80:20:1),4℃浸提过夜,8000 g 离心 10 min,离心后取上清,40℃氮吹至不含有机相,加入 0.5 mL 石油醚萃取脱色 3 次,弃去上层醚相,加入饱和柠檬酸水溶液调节 pH 至 2.8,乙酸乙酯萃取三次合并有机相,氮吹至干,加入 0.5 mL 甲醇涡旋震荡溶解,过滤后待测。

HPLC 液相条件:Rigol L3000 高效液相色谱仪, Sepax-C18(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相:超纯水、甲醇和乙酸混合液(超纯水:甲醇:乙酸=300:200:3)。设置进样量 10 μL, 流速 0.8 mL/min, 柱温 35℃, 走样时间为 40 min, 激发波长 275 nm, 发射波长 345 nm。

1.4.5 转录组学分析

处理结束后,将各处理组材料用 ddH₂O 清洗 3 次,再用 75%乙醇消毒,快速切取根尖 1—1.5 cm 部分,装入冻存管,液氮速冻后放入-80℃冰箱保存,送上海中科新生命生物科技有限公司进行转录组学分析。所得数据筛选后进行 KEGG 富集分析。

1.4.6 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)分析

在玉米不同处理组分析结果中随机挑选基因 *PYL7* 和 *FEA4* 验证转录组准确性。参照孙德权^[22]使用 Trizol 法提取根尖 RNA。利用 NCBI 网站[Primer designing tool (nih.gov)]设计引物(表 1),使用美国 Bio-Rad 生命医学公司的 MiniOpticon™ Real-Time PCR Detection Systems, Bio-Rad CFX Manager (V 3.1) (SYBR Green) 进行实时定量 PCR。*stress1* 基因作为玉米内参基因^[23]。采用 2^{-ΔΔC_t}法分析差异表达情况。每个处理包括 3 个生物重复,每个样本包括 3 个技术重复。

表 1 用于 qRT-PCR 研究的引物及其序列

Table 1 Primers and Sequences for qRT-PCR

基因编号 Gene ID	基因名称 Gene name	正向引物(5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primer (5'-3')
Zm00001d028793	<i>PYL7</i>	GTCAAGTGCAACCTCCAGTC	TACAAACACGGCATCCCTCCT
Zm00001d037317	<i>FEA4</i>	AGGGATCACAAAGGCGCAGA	CTCCTGCTCAAGATGGGACA
Zm00001d010159	<i>stress1</i>	GATTCCTGGGATTGCCGAT	TCTGCTGCTGAAAAGTCTGAG

PYL7:类吡咯菌素抗性脱落酸受体 pyrabactin resistance-like abscisic acid receptor; *FEA4*:簇生穗 4 fasciated ear4

1.5 数据分析

使用 Microsoft Excel 2019 进行数据统计和表格制作, SPSS 19.00 软件进行单因素方差分析和相关性分析。

根据 Williamson^[24]的化感作用敏感指数 *RI* 用于衡量化感作用强度。

$$RI = 1 - \frac{C}{T}, (T \geq C)$$

$$RI = \frac{T}{C} - 1, (T < C)$$

式中, *C* 为对照值, *T* 为处理值, *RI* < 0 表示抑制效应, *RI* > 0 表示促进效应, 其绝对值表示化感作用强度大小, 化感作用综合效应(synthesis effects, SE)为 *RI* 的算术平均值。

2 结果与分析

2.1 土荆芥挥发物对玉米 RBCs 的影响

土荆芥挥发物和 α-萜品烯对玉米 RBCs 数量和活性的影响如图 1 所示, 高浓度挥发物(V3)处理 6 h、12 h 和 24 h 时, 处理组 RBCs 数量分别是对照组的 0.75 倍、0.71 倍和 0.57 倍。高浓度 α-萜品烯(T3)处理 6 h、12 h 和 24 h 时, 处理组 RBCs 数量分别是对照组的 0.79 倍、0.53 倍和 0.6 倍。由此可见, 土荆芥挥发物抑制

RBCs 产生,高浓度挥发性物质随着培养时间的增加对 RBCs 产生的抑制逐渐加强。土荆芥挥发物和 α -萜品烯对 RBCs 活性的影响与数量变化基本一致,高浓度挥发物(V3)处理 6 h、12 h 和 24 h 时,处理组 RBCs 活性分别是对照组的 0.712 倍、0.712 倍和 0.709 倍。高浓度 α -萜品烯(T3)处理 6 h、12 h 和 24 h 时,处理组 RBCs 活性分别是对照组的 0.877 倍、0.761 倍和 0.710 倍。低浓度 α -萜品烯处理组与对照组 RBCs 活性在处理早期差异不明显。这说明在低浓度化感胁迫作用下,依赖于 RBCs 的保护作用和持续释放的特性,根尖能够对胁迫做出及时响应。比较分析化感综合效应指数,土荆芥挥发性物质与 α -萜品烯对玉米 RBCs 数量和活性的影响为:土荆芥挥发性物质(0.191) > α -萜品烯(0.172)。说明土荆芥挥发物对 RBCs 具有强烈化感毒性作用,且表现剂量和时间双重效应。

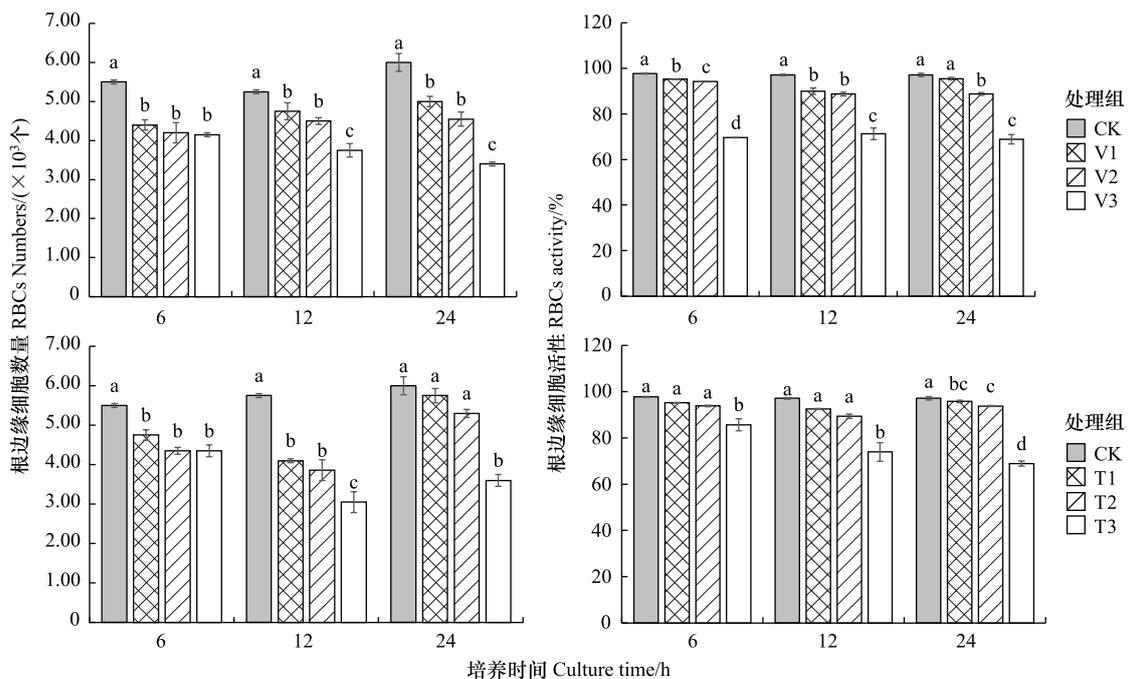


图 1 土荆芥挥发物和 α -萜品烯胁迫下玉米 RBCs 数量和活性变化

Fig.1 Changes of the root border cell quantity and activity of maize under the stress of volatile oil of *C. ambrosioides* and α -terpene

RBCs: 根边缘细胞 Root border cells; CK: 对照组; V1: 挥发物的处理浓度为 6.25 $\mu\text{L/L}$; V2: 挥发物的处理浓度为 12.50 $\mu\text{L/L}$; V3: 挥发物的处理浓度为 25.00 $\mu\text{L/L}$; T1: α -萜品烯处理浓度为 3.125 $\mu\text{L/L}$; T2: α -萜品烯处理浓度为 6.255 $\mu\text{L/L}$; T3: α -萜品烯处理浓度为 12.510 $\mu\text{L/L}$; 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

2.2 土荆芥挥发物作用下 RBCs 对玉米根生长的影响

如图 2 所示,土荆芥挥发物和 α -萜品烯对受体根生长具有抑制效应,三种浓度的挥发物处理组(V1, V2, V3)培养 24 h 后根长分别是对照组的 0.790 倍、0.556 倍和 0.358 倍,去除 RBCs 后,根尖长度分别是对照组的 0.442 倍、0.341 倍和 0.282 倍。高浓度挥发物处理组(V3)处理 6 h、12 h 和 24 h 时,根长分别是对照组的 0.666 倍、0.397 倍和 0.358 倍,去除 RBCs 后,根尖长度分别是对照组的 0.614 倍、0.336 倍和 0.282 倍。高浓度 α -萜品烯(T3)处理 6 h、12 h 和 24 h 时,处理组根尖长度分别是对照组的 0.514 倍、0.417 倍和 0.525 倍。说明土荆芥化感胁迫抑制玉米根尖生长,RBCs 的存在能够缓解土荆芥化感胁迫对玉米根尖的伤害。另外,非胁迫条件下去除 RBCs 处理组根长是对照组的 0.794 倍,表明 RBCs 在根尖生长发育中发挥着不可或缺的作用。

2.3 土荆芥挥发物作用下 RBCs 对受体根结构的影响

RBCs 在土荆芥挥发物作用下对根结构的影响如图 3 所示,相较于对照组各处理组根尖结构均受到影响。正常条件下移除 RBCs 后根尖原形成层发育受损,根尖细胞变小,根冠受损且分生区前移。土荆芥挥发物处

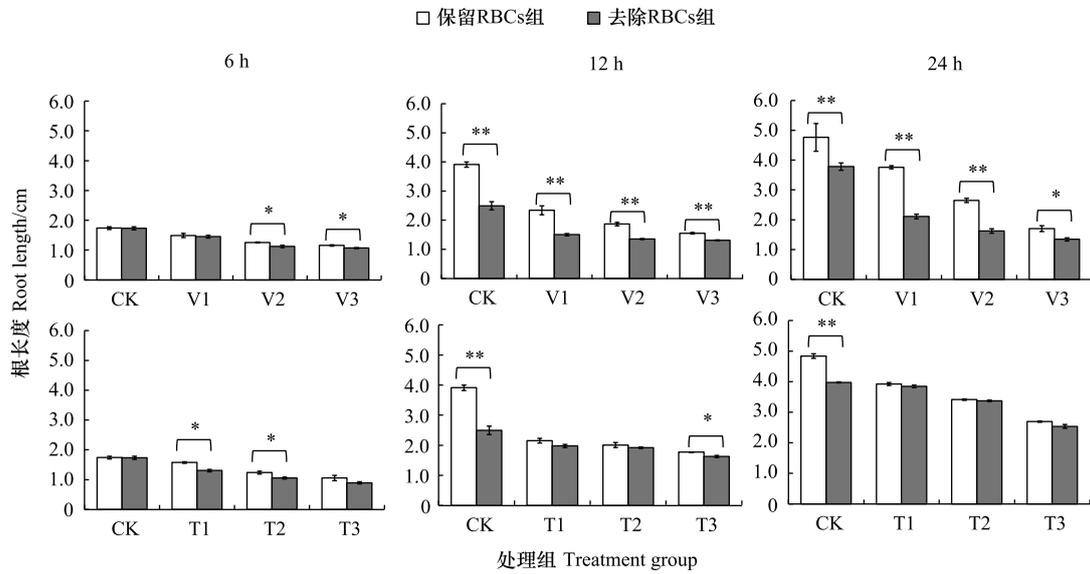


图2 土荆芥挥发性物质胁迫下RBCs对玉米根长的影响

Fig.2 Effects of root border cells on the root length of maize under the stress of volatile matter from *C. ambrosioides*

*表示显著,用**表示极显著

理导致成熟区细胞变小,伸长区变短,根冠受损。 α -萜品烯处理后去除RBCs,根尖中柱外层的内皮层和中柱鞘细胞层明显加厚。表明RBCs的存在缓解了土荆芥化感胁迫,保证了根尖结构的完整性和正常发育。同时RBCs具有参与调节根尖组织分化缓解胁迫的潜力。

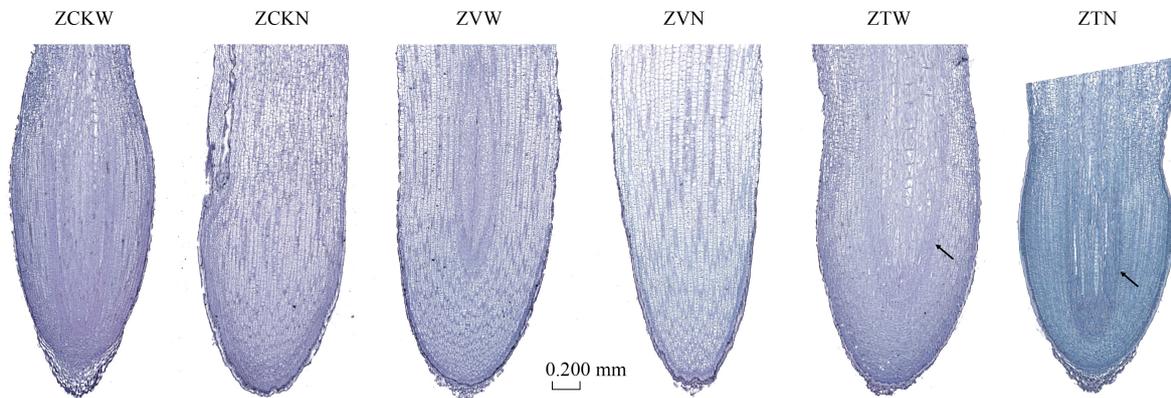


图3 土荆芥挥发物胁迫下玉米根解剖图

Fig.3 Tissue section of maize root tip under the stress of volatile oil of *C. ambrosioides*

ZCKW:保留RBCs的对照组;ZCKN:去除RBCs的对照组;ZVW:保留RBCs的挥发物V2浓度处理组;ZVN:去除RBCs的挥发物V2浓度处理组;ZTW:保留RBCs的 α -萜品烯T2浓度处理组;ZTN:去除RBCs的 α -萜品烯T2浓度处理组

2.4 土荆芥挥发物作用下RBCs对植物根尖IAA含量的影响

胁迫条件下不同处理组根尖IAA含量变化结果如图4所示,挥发物胁迫诱导玉米根尖IAA积累,移除RBCs处理组相较于对应保留RBCs处理组IAA含量降低。表明高化感毒性作用的胁迫诱导IAA在根尖积累,移除RBCs对IAA含量具有影响。结合根生长和结构变化分析表明,土荆芥化感胁迫造成的根生长抑制可能与IAA的运输和信号转导相关。

2.5 土荆芥挥发物作用下 RBCs 对根尖 IAA 相关基因的影响

2.5.1 RBCs 对 IAA 合成基因表达的影响

利用转录组分析土荆芥挥发物作用下 RBCs 对 IAA 相关基因的影响,其中 IAA 合成相关基因差异表达情况如图 5 所示,去除 RBCs 处理组(ZCKN)相较于对照组(ZCKW)IAA 合成基因 *TAA1* (Zm00001d039691)、*TDC1*(Zm00001d048758)和 *AMI1*(Zm00001d006886)下调,说明在非胁迫条件下 RBCs 的存在促进了 IAA 合成;土荆芥挥发物处理(ZVW, ZTW)诱导 IAA 合成基因 *YUCCA11* (Zm00001d047670)和 *TAR2* (Zm00001d039691)等基因上调,土荆芥挥发物处理下移除 RBCs 处理组(ZVN)相较于保留 RBCs 处理组(ZVW) *ALDH* (Zm00001d004731)、*YUCCA5* (Zm00001d019527)、*YUCCA2* (Zm00001d011764)和 *TDC1*(Zm00001d033024)等基因上调。说明土荆芥挥发物能够诱导 IAA 合成基因上调,在不同环境条件下 RBCs 对 IAA 合成的调节存在差异。

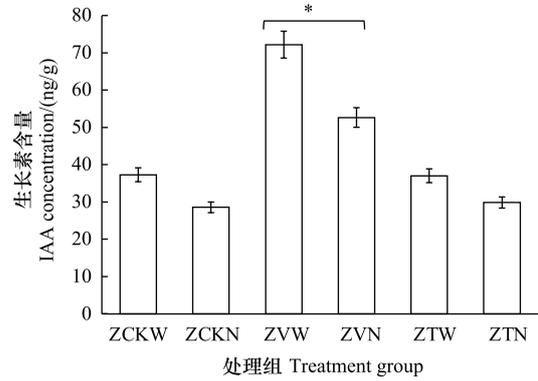


图 4 土荆芥挥发性物质胁迫下 RBCs 对根尖激素含量的影响
Fig.4 Effect of root border cells on root tip hormone content under volatile substance stress in *C. ambrosioides*
IAA:生长素

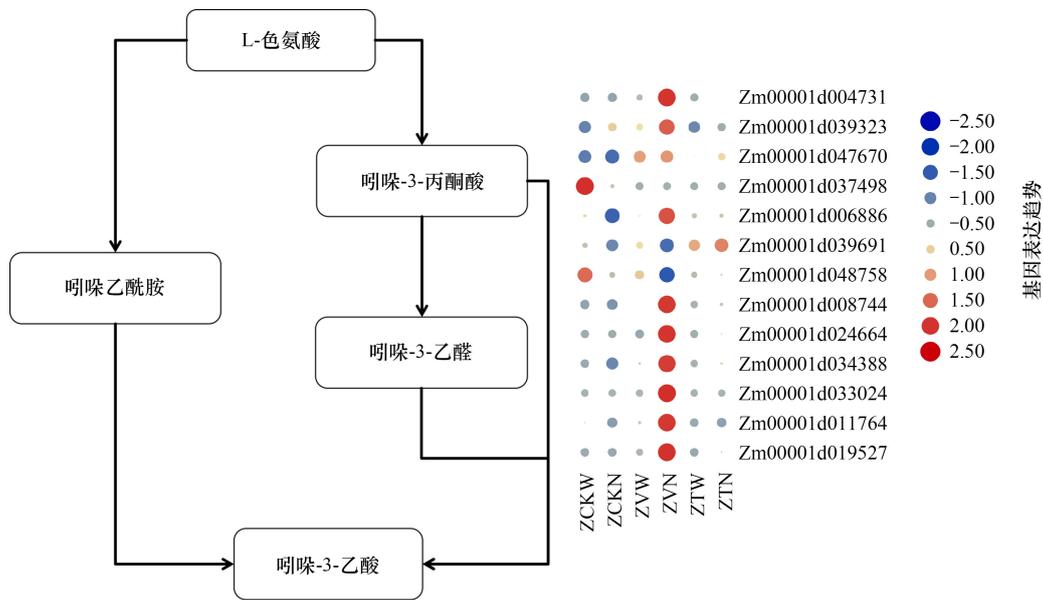


图 5 土荆芥挥发物作用下 IAA 合成途径及相关基因热图
Fig.5 Heat map of IAA synthesis pathways and related genes in response to volatiles of *C. ambrosioides*

2.5.2 RBCs 对 IAA 转运基因表达的影响

进一步分析 IAA 转运基因在不同处理组的表达情况(图 6),结果显示,去除 RBCs 处理组(ZCKN) *PIN1* 蛋白基因(Zm00001d044812)相较于对照组(ZCKW)上调;土荆芥挥发物处理条件下去除 RBCs 处理组(ZVN)相较于挥发物处理组(ZVW) *PIN1* (Zm00001d044812)、*PIN10* (Zm00001d044083)、*PIN8* (Zm00001d043660)等基因均上调; α -萜品烯处理后去除 RBCs 处理组(ZTN)相较于 α -萜品烯处理组(ZTW) *PIN1* (Zm00001d044812)、*PIN4*(Zm00001d052442)等基因上调,说明 RBCs 参与调节 IAA 转运基因的表达,当去除 RBCs 后 IAA 运输被诱导。

2.5.3 RBCs 对 IAA 信号转导基因表达的影响

RBCs 对 IAA 信号转导途径相关基因表达的影响情况如图 7 所示,去除 RBCs、挥发物和 α -萜品烯处理组相较于对照组根尖中 IAA 信号转导相关的 *AUX/IAAs* (Zm00001d021279)、*ARFs* (Zm00001d050781、Zm00001d001945)、*GH3s* (Zm00001d039346) 和 *SAURs* (Zm00001d001964、Zm00001d026308) 等基因下调。挥发物和 α -萜品烯处理下移除 RBCs 处理组相对于保留 RBCs 处理组 *AUX/IAAs* (Zm00001d043515)、*GH3s* (Zm00001d043350) 和 *SAURs* (Zm00001d017397) 基因出现上调,表明土荆芥化感胁迫影响 IAA 信号转导,胁迫条件下去除 RBCs 诱导 IAA 信号转导相关基因表达。但在不同环境条件下 RBCs 发挥的功能有所差异。

为了验证玉米根尖转录组分析结果的准确性,随机挑选了 *PYL7* 和 *FEA4* 进行 qRT-PCR 分析。将 RNA-Seq 结果和 qRT-PCR 结果进行比较,发现两种方式检测的基因表达情况基本一致(图 8)。说明转录组结果真实可靠。

3 讨论

3.1 RBCs 在土荆芥挥发物胁迫下保护根尖生长

植物根尖是根系生命活动最活跃的位置,当根尖受到损伤时,植物的整体发育将受到抑制^[25-27]。为了应

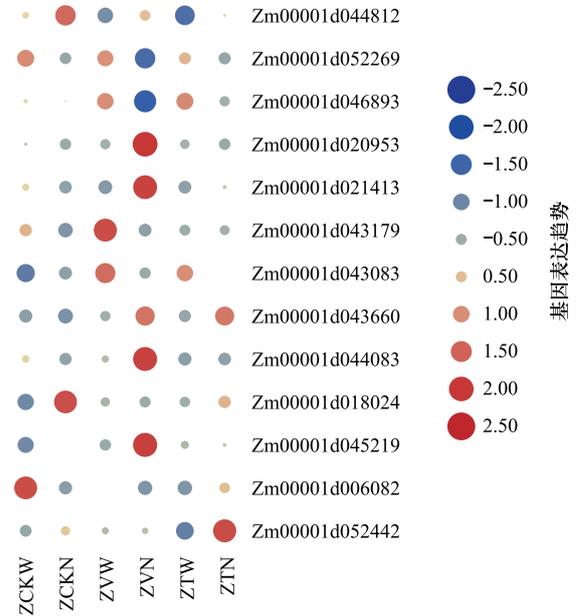


图 6 土荆芥挥发物作用下 RBCs 对根尖 IAA 极性运输相关基因的影响

Fig.6 Effect of RBCs on genes involved in auxin polar transport in root tips in response to the volatile of *C. ambrosioides*

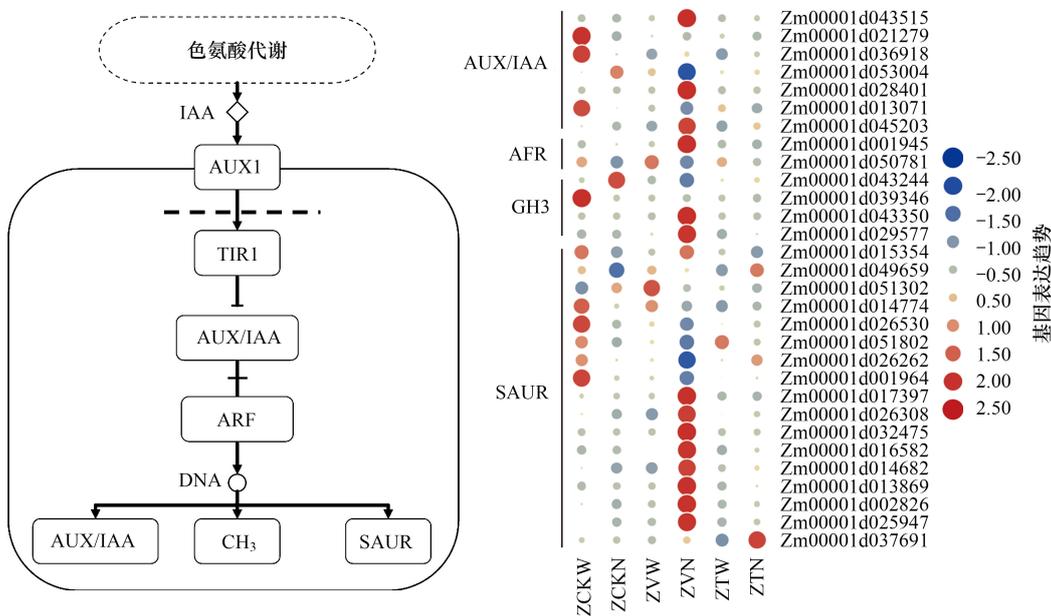


图 7 土荆芥挥发物作用下 IAA 信号转导途径及相关基因热图

Fig.7 Heatmap of growth hormone signalling pathways and related genes

AUX/IAA: 生长素响应蛋白; TIR1: 转运抑制响应蛋白 1; ARF: 生长素响应因子; DNA: 脱氧核糖核酸; GH3: 吡啶-3-乙酸-酰胺合成酶; SAUR: 生长素响应蛋白

对土壤环境中各种胁迫,RBCs 被分化并可以分泌多糖、蛋白质和有机化合物等在根尖和土壤环境之间形成一道有机屏障,将各种胁迫物质阻滞在根尖外部^[17,28]。当受体根尖感知化感胁迫,RBCs 释放被诱导,细胞外分泌物增加,从而缓解胁迫对根尖的伤害。当低浓度土荆芥挥发物短时间处理玉米根尖时,RBCs 量达到对照组的 2.95 倍^[29]。本研究结果表明,土荆芥挥发物持续胁迫植物根尖 6 h,RBCs 的数量和活性均受到影响,并且随着胁迫浓度和时间的增加,RBCs 数量减少、活性持续下降。由此可见,土荆芥挥发物对 RBCs 的产生表现出低浓度短时期促进和高浓度长时期抑制的效果。尽管 RBCs 会不断分化释放,但面对高浓度长时期的胁迫,对根尖的保护是有限的。因此它可能参与调动根尖内部活动以响应高强度胁迫。

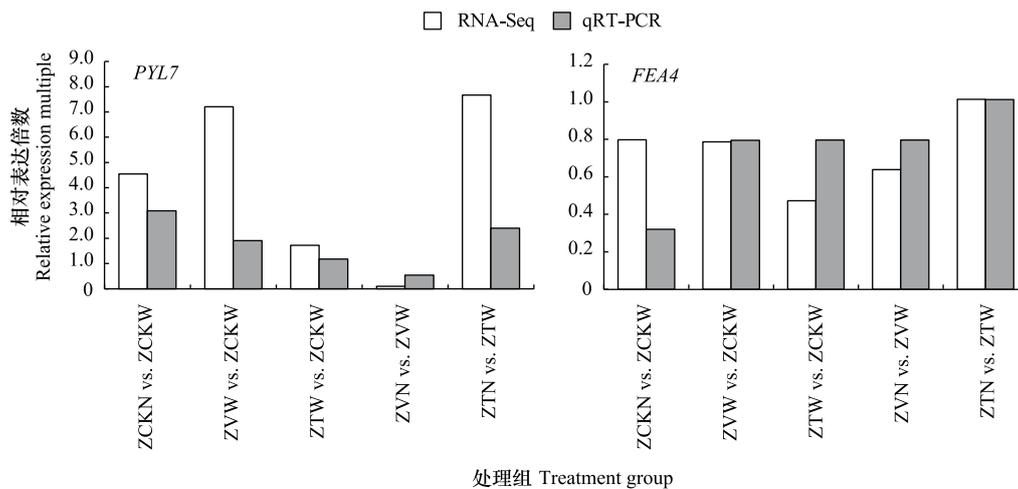


图 8 qRT-PCR 分析验证土荆芥化感胁迫下玉米激素相关基因的表达

Fig.8 Verification of expression of hormones related genes of maize exposed to exposed to allelopathic stress by using qRT-PCR

RNA-Seq:转录组测序技术;qRT-PCR:实时荧光定量 PCR

当植物受到土荆芥化感物质胁迫时,受体 RBCs 数量减少和活性降低,根系生长进一步受到影响。玉米根毛弯曲缠结,数量减少甚至消失,小麦 (*Triticum aestivum* L.)、油菜 (*Brassica rapa* var. *oleifera* DC.) 和莴苣 (*Lactuca sativa* L.) 等受体幼根生长也受到不同程度的损害,影响根系的吸收作用^[30-32]。我们的研究发现,去除 RBCs 后根长度为保留 RBCs 的 0.794 倍;高浓度胁迫条件下,去除 RBCs 后根长度为保留 RBCs 的 0.788 倍。说明 RBCs 层的结构完整性是维持根尖生长的关键。进一步分析胁迫条件下根尖结构变化发现,移除 RBCs 后根尖原形成层发育受损,根尖细胞变小,根冠受损且分生区前移。表明移除 RBCs 后根尖的正常发育和结构完整性受到影响。另外, α -萜品烯处理后去除 RBCs,根尖中柱外层的内皮层和中柱鞘细胞层明显加厚。说明 RBCs 一方面缓解了化感胁迫对根尖的伤害,另一方面诱导了根尖结构变化以应对胁迫。根尖生长和结构变化受到多种植物激素的调节,其中 IAA 发挥着主要作用^[33]。

3.2 RBCs 在土荆芥挥发物作用下调节 IAA 的分子机制

植物激素是植物生长发育过程中起关键作用的化学物质,在植物生长、生理代谢、适应环境变化等方面发挥重要作用^[34]。根尖是根系生长最活跃的部位,其中分生区是合成 IAA 的主要部位^[35]。一些非生物胁迫可以诱导 IAA 浓度增加,化感物质同样影响受体植物内 IAA 相关基因的表达^[36-37]。在植物体内,IAA 合成主要包括吲哚-3-丙酮酸 (IPyA) 途径、吲哚-3-乙醛肟 (IAOx) 和吲哚-3-乙酰胺 (IAM) 的途径。其中 IPyA 途径被确定为主要合成路线。在该途径中,色氨酸首先在色氨酸转氨酶 (TAA) 和 TAA 相关蛋白 (TAR) 的作用下转化为 IPyA,随后 IPyA 在 YUCCA (YUC) 家族的黄素单加氧酶催化下转化为 IAA^[38]。当 IAA 合成后极性运输被触发,由此形成的 IAA 不均匀分布可以诱导受体胚胎发育、侧根启动等过程^[39]。研究发现,胁迫诱导 IAA 转运蛋白 AUX1 和 PIN1/2 发生改变,而 IAA 的极性运输可能减少了 IAA 在根系的积累^[40]。本研究发现,在非胁迫条件下去除 RBCs,玉米根尖 IAA 合成基因下调,对应 IAA 含量降低;土荆芥挥发物胁迫诱导玉米根尖 IAA

合成基因上调,促进 IAA 在根尖的积累,进一步去除 RBCs 后根尖 IAA 合成基因上调,但 IAA 极性运输相关的 *PIN1* 基因上调,说明 RBCs 可以通过调节 PIN 家族基因的表达参与调控 IAA 极性运输,减少 IAA 在根尖的积累。因此,正常条件下 RBCs 的存在维持了 IAA 合成和运输,土荆芥化感胁迫诱导根尖 IAA 积累,RBCs 的存在维持了 IAA 的正常运输,使根尖积累大量的 IAA 并作用到受胁迫的根尖,调控受体对胁迫的响应。

IAA 在根尖被合成后,被受体蛋白感知,AUX/IAAs 发生多泛素化和降解,解除其对 IAA 应答因子 (ARFs) 的抑制,开启 IAA 下游的响应^[41-42]。*GH3* 基因编码的酰基酰胺合成酶,可以催化 IAA 与氨基酸的结合,并且 *GH3* 亚组 2 可以使拟南芥中的 IAA 失活^[43],影响 IAA 的功能。本研究结果显示,移除 RBCs 处理组、挥发物处理组和 α -萜品烯处理诱导 *AUX/IAAs*、*ARFs*、*GH3s* 和 *SAURs* 下调。*AUX/IAAs*、*GH3s* 基因下调均促进了 IAA 功能,但玉米根尖生长并未得到促进。一方面,可能受到 IAA 极性运输的影响;另一方面,IAA 发挥功能也受到其他激素的影响,如赤霉素通过促进 IAA 极性运输使形成层干细胞有限特化形成木质部的子细胞^[41]。因此这可能是因为 IAA 运输受抑制或多激素协同作用造成的。挥发物和 α -萜品烯处理下移除 RBCs 处理诱导 *AUX/IAAs*、*GH3s* 和 *SAURs* 基因上调。其中 *AUX/IAAs* 基因表达上调,通过抑制 ARFs 基因而影响 IAA 反应,*GH3* 基因上调促进了 IAA 与氨基酸结合而失活^[44-45]。说明 RBCs 能够参与调节 IAA 信号转导,胁迫条件下通过诱导 IAA 信号转导负调控基因下调,增加了根尖对胁迫的响应能力。另外,*SAUR* 基因上调抑制 PP2C.D 磷酸酶的活性,使得磷酸化的 H⁺-ATP 酶的数量增加,质外体酸化,细胞壁松弛,最终引起细胞扩张和根生长^[44-45]。RBCs 是一种受基因调控的能够持续产生的具有保护功能的细胞类群^[46],而土荆芥挥发性物质胁迫下移除 RBCs 后导致 *SAURs* 基因上调。这表明 *SAURs* 基因可能参与了胁迫条件下 RBCs 的产生和释放,以应对化感胁迫。

4 结论

土荆芥释放的化感物质有强烈的化感毒性作用,能够减少玉米 RBCs 数量,降低活性,抑制根生长发育。在此过程中,RBCs 发挥重要保护作用。移除 RBCs 后化感胁迫对根尖形成更剧烈的影响,造成根尖原形成层受损,根尖细胞变小,植物激素 IAA 含量降低。胁迫条件下去除 RBCs 诱导 IAA 极性运输相关的 *PIN* 家族基因表达,调节 IAA 在根尖的积累,IAA 信号转导基因 *AUX/IAAs*、*GH3s* 和 *SAURs* 上调抑制 IAA 功能,说明胁迫条件下 RBCs 的存在维持了 IAA 的正常极性运输和信号转导过程,保证根系生长的同时响应化感胁迫。

参考文献 (References):

- [1] Yoshida T, Fernie A R. Hormonal regulation of plant primary metabolism under drought. *Journal of Experimental Botany*, 2024, 75 (6): 1714-1725.
- [2] Takahashi H. Auxin biology in roots. *Plant Root*, 2013, 7: 49-64.
- [3] Zhang H C, Tang Y W, Li Q Y, Zhao S J, Zhang Z, Chen Y H, Shen Z G, Chen C. Genetic and epigenetic variation separately contribute to range expansion and local metalliferous habitat adaptation during invasions of *Chenopodium ambrosioides* into China. *Annals of Botany*, 2022, 130 (7): 1041-1056.
- [4] Monzote L, Geroldinger G, Tonner M, Scull R, De Sarkar S, Bergmann S, Bacher M, Staniek K, Chatterjee M, Rosenau T, Gille L. Interaction of ascaridole, carvacrol, and caryophyllene oxide from essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. with mitochondria in *Leishmania* and other eukaryotes. *Phytotherapy Research*, 2018, 32(9): 1729-1740.
- [5] Li J, Yang X, Yu J, Li Z M, Deng Q Y, Cao Y L, Chen X, Zhang H, Wang Y. Chemical composition of the volatile oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from Mianyang in Sichuan Province of China and its sub-chronic toxicity in mice. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2020, 19(9): 1985-1991.
- [6] Ouadja B, Katawa G, Toudji G A, Layland L, Gbekley E H, Ritter M, Anani K, Ameyapoh Y, Karou S D. Anti-inflammatory, antibacterial and antioxidant activities of *Chenopodium ambrosioides* L. (*Chenopodiaceae*) extracts. *Journal of Applied Biosciences*, 2021, 162: 16764-16794.
- [7] 王亚男, 杨军, 朱晓换, 任秋蓉, 张红. α -萜品烯和对伞花素在土荆芥诱导氧化损伤中的作用. *西南农业学报*, 2016, 29(6): 1302-1306.
- [8] 黄素, 马丹炜, 鲁昕, 张红. 六种农作物叶保卫细胞形态特征对不同入侵地土荆芥挥发物胁迫的响应. *生态学报*, 2019, 39(5): 1517-1527.
- [9] Chen B, Zhou J, Wang Y N, Guo X, Ma D W. Volatiles from *Chenopodium ambrosioides* L. induce the oxidative damage in maize (*Zea mays* L.) radicles. *Allelopathy Journal*, 2016, 2(38): 171-182.
- [10] 张承仁. ROS 对水稻幼苗根系生理和 OsYUCs、OsPINs 和 OsCYCBs 基因家族表达的影响[D]. 淄博: 山东理工大学, 2013.
- [11] Ninmanont P, Wongchai C, Pfeiffer W, Chaidee A. Integration of root border cells in salt stress response of Thai jasmine rice. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2023, 23(3): 4426-4437.

- [12] Tran T M, MacIntyre A, Hawes M, Allen C. Escaping underground nets; extracellular DNases degrade plant extracellular traps and contribute to virulence of the plant pathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum*. *PLoS Pathogens*, 2016, 12(6): e1005686.
- [13] Ropitiaux M, Bernard S, Schapman D, Follet-Gueye M L, Vicré M, Boulogne I, Driouich A. Root border cells and mucilage secretions of soybean, *Glycine max* (merr) L.: characterization and role in interactions with the oomycete *Phytophthora parasitica*. *Cells*, 2020, 9(10): 2215.
- [14] Llugany M, Lombini A, Poschenrieder C, Dinelli E, Barceló J. Different mechanisms account for enhanced copper resistance in *Silene armeria* ecotypes from mine spoil and serpentine sites. *Plant and Soil*, 2003, 251(1): 55-63.
- [15] Lin Y, Liu G X, Liu P D, Chen Q Q, Guo X Q, Lu X, Cai Z F, Sun L L, Liu J P, Chen K, Liu G D, Tian J, Liang C Y. Border-like cell formation mediated by SgPG1 confers aluminum resistance in *Stylosanthes guianensis*. *The Plant Journal*, 2024, 120(4): 1605-1624.
- [16] Xie Y Y, Yao L X, Wei S, He S H, Chen L, Ma D W. Allelopathic effects of weed spp on the root border cells of *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn. *Allelopathy Journal*, 2021, 52(1): 85-102.
- [17] 龚意豫, 谢媛怡, 李玖一, 马丹炜. 根边缘细胞缓解土荆芥淋溶途径化感作用对苦荞麦代谢扰动的机制. *生态学报*, 2024, 44(6): 2437-2451.
- [18] 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.
- [19] Singh H P, Kaur S, Mittal S, Batish D R, Kohli R K. Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibits plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage. *Journal of Chemical Ecology*, 2009, 35(2): 154-162.
- [20] Brigham L A, Woo H H, Nicoll S M, Hawes M C. Differential expression of proteins and mRNAs from border cells and root tips of pea. *Plant Physiology*, 1995, 109(2): 457-463.
- [21] 张新梅, 董晓英, 沈仁芳. 水稻幼嫩根尖常规石蜡切片制作技术改良. *江苏农业科学*, 2013, 41(12): 71-72, 73.
- [22] 孙德权, 郭启高, 胡玉林, 谢江辉. 改良 Trizol 法提取香蕉叶片总 RNA. *广东农业科学*, 2009, 36(5): 162-164.
- [23] Ma N N, Dong L N, Lü W, Lü J L, Meng Q W, Liu P. Transcriptome analysis of maize seedling roots in response to nitrogen-, phosphorus-, and potassium deficiency. *Plant and Soil*, 2020, 447(1): 637-658.
- [24] Bruce Williamson G, Richardson D. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses with independent controls. *Journal of Chemical Ecology*, 1988, 14(1): 181-187.
- [25] Huang C Z, Xu L, Sun J J, Zhang Z H, Fu M L, Teng H Y, Yi K K. Allelochemical p-hydroxybenzoic acid inhibits root growth via regulating ROS accumulation in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 2020, 19(2): 518-527.
- [26] Xiong X, Wei Y Q, Chen J H, Liu N, Zhang Y J. Transcriptome analysis of genes and pathways associated with salt tolerance in alfalfa under non-uniform salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 151: 323-333.
- [27] Hodge A, Berta G, Doussan C, Merchan F, Crespi M. Plant root growth, architecture and function. *Plant and Soil*, 2009, 321(1): 153-187.
- [28] Driouich A, Follet-Gueye M L, Vicré-Gibouin M, Hawes M. Root border cells and secretions as critical elements in plant host defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 2013, 16(4): 489-495.
- [29] 谢雨思, 王强, 张红, 马丹炜, 王亚男, 廖颖, 王煜. 土荆芥挥发物化感胁迫对 3 种农作物根边缘细胞释放的干扰效应. *生态学报*, 2025, 45(2): 984-999.
- [30] 王煜, 王亚男, 勾洵, 张红, 马丹炜. 土荆芥挥发油及其 2 个主要成分对玉米种子活力和根毛发育的化感效应初探. *四川师范大学学报: 自然科学版*, 2016, 39(3): 403-407.
- [31] 陈斌, 王亚男, 马丹炜, 胡忠良, 何亚强, 周健. 土荆芥化感胁迫对玉米幼根抗氧化酶活性和基因表达的影响. *生态环境学报*, 2015, 24(10): 1640-1646.
- [32] 王晶蓉, 马丹炜, 唐林. 土荆芥挥发油化感作用的初步研究. *西南农业学报*, 2009, 22(3): 777-780.
- [33] Azizi P, Rafii M Y, Maziah M, Abdullah S N A, Hanafi M M, Latif M A, Rashid A A, Sahebi M. Understanding the shoot apical meristem regulation: a study of the phytohormones, auxin and cytokinin, in rice. *Mechanisms of Development*, 2015, 135: 1-15.
- [34] Waadt R, Seller C A, Hsu P K, Takahashi Y, Munemasa S, Schroeder J I. Plant hormone regulation of abiotic stress responses. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2022, 23(10): 680-694.
- [35] Ljung K, Hull A K, Celenza J, Yamada M, Estelle M, Normanly J, Sandberg G. Sites and regulation of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* roots. *The Plant Cell*, 2005, 17(4): 1090-1104.
- [36] Chen M C, Qiao Y M, Quan X L, Shi H L, Duan Z H. Physiological, biochemical and phytohormone responses of *Elymus nutans* to α -pinene-induced allelopathy. *PeerJ*, 2022, 10: e14100.
- [37] Cheng F, Cheng Z H, Meng H W, Tang X W. The garlic allelochemical diallyl disulfide affects tomato root growth by influencing cell division, phytohormone balance and expansin gene expression. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1199.
- [38] Zhao Y D. Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61: 49-64.
- [39] Naser V, Shani E. Auxin response under osmotic stress. *Plant Molecular Biology*, 2016, 91(6): 661-672.
- [40] Yu Z P, Duan X B, Luo L, Dai S J, Ding Z J, Xia G M. How plant hormones mediate salt stress responses. *Trends in Plant Science*, 2020, 25(11): 1117-1130.
- [41] Gray W M, Kepinski S, Rouse D, Leyser O, Estelle M. Auxin regulates SCF(TIR1)-dependent degradation of AUX/IAA proteins. *Nature*, 2001, 414(6861): 271-276.
- [42] Powers S K, Holehouse A S, Korasick D A, Schreiber K H, Clark N M, Jing H W, Emenecker R, Han S, Tycksen E, Hwang I, Sozzani R, Jez J M, Pappu R V, Strader L C. Nucleo-cytoplasmic partitioning of ARF proteins controls auxin responses in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Cell*, 2019, 76(1): 177-190.e5.
- [43] Zheng H X, Yang Z, Wang W Q, Guo S J, Li Z X, Liu K C, Sui N. Transcriptome analysis of maize inbred lines differing in drought tolerance provides novel insights into the molecular mechanisms of drought responses in roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 149: 11-26.
- [44] Hou Q D, Hong Y, Wen Z, Shang C Q, Li Z C, Cai X W, Qiao G, Wen X P. Molecular characterization of the SAUR gene family in sweet cherry and functional analysis of PavSAUR55 in the process of abscission. *Journal of Integrative Agriculture*, 2023, 22(6): 1720-1739.
- [45] Du M M, Spalding E P, Gray W M. Rapid auxin-mediated cell expansion. *Annual Review of Plant Biology*, 2020, 71: 379-402.
- [46] Hawes M C, Gunawardena U, Miyasaka S, Zhao X W. The role of root border cells in plant defense. *Trends in Plant Science*, 2000, 5(3): 128-133.