

水稻种质资源的化感潜力评价方法

朱红莲¹, 孔垂华^{1,2}, 胡飞¹, 凌冰¹, 徐效华²

(¹华南农业大学热带亚热带生态研究所, 广州 510642; ²南开大学元素有机化学国家重点实验室, 天津 300071)

摘要: 通过土培、砂培、特征性次生物质标记和田间试验方法对 225 份中国水稻种质资源进行了评价, 并对各种评价方法进行了分析比较。结果表明, 4 种评价方法的检测结果有一定的相关性, 土培、砂培和特征性次生物质标记法均检测出有化感潜力的水稻品种, 在田间条件下也表现抑草效应。尤其是特征性次生物质标记法确定的化感指数的大小基本上与田间抑草效应一致。而且特征性次生物质标记法能在未损害水稻生长发育的条件下对大批量水稻品种及单株的化感潜力进行定性和定量评价, 是一种精确有效的水稻种质资源化感潜力评价方法。

关键词: 水稻种质资源; 化感潜力; 评价方法; 特征性次生物质标记

S511 A

Evaluation Methods for Allelopathic Potentials of Rice Germplasms

ZHU Hong-lian¹, KONG Chui-hua^{1,2}, HU Fei¹, LING Bing¹, XU Xiao-hua²

(¹Institute of Tropical and Subtropical Ecology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642;

²State Key Laboratory of Element-Organic Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071)

Abstract: 225 Chinese rice germplasms were evaluated by soil culture, sand culture, specific secondary metabolite marker and field trials. The results demonstrated that determined the data were correlated with each other among the four evaluation methods. Rice germplasms with allelopathic potential determined by soil culture, sand culture and specific secondary metabolite marker together expressed their inhibitory effects on weeds in the field, particularly the allelopathic index values evaluated by specific secondary metabolite marker were in accordance with inhibitory effects on weeds in the field. Furthermore, allelopathic potentials of a large number of rice germplasms and their individuals may be evaluated by specific secondary metabolite marker in a non-destructive manner which had qualitative and quantitative analyses. So, specific secondary metabolite marker is a precise and effective method for evaluating rice germplasms with allelopathic potential.

Key words: Rice germplasm; Allelopathic potential; Evaluation method; Specific secondary metabolite marker

稻田杂草对水稻生长和产量的影响巨大。稻田杂草防治愈来愈依赖化学除草剂, 但大量施用除草剂带来的环境污染等问题也日益突出, 如何在生态安全的条件下对稻田杂草有效控制成为科技人员近年追求的目标^[1]。事实上, 少数水稻品种(系)自身能够产生并释放特定的次生物质而抑制伴生的杂草, 开发利用水稻自身除草的化感抑制作用功能将有助于实现可持续的杂草防治策略, 大大减少除草剂的施用。因此, 近年商业化水稻化感品种选育已

成为各国学者攻关的焦点^[2,3]。水稻能自身除草的化感品种的选育, 找到抗原材料是首要工作, 然而水稻品种资源众多, 仅中国就达 46 885 种(包括 4655 份野生稻)^[4], 要从众多的水稻品种资源中找到为数不多的抗原材料, 无疑是艰巨的工作。因此, 建立快速准确的评价筛选方法, 对水稻化感品种选育有着重要意义。笔者利用目前主要的水稻品种化感潜力评价方法, 对部分中国水稻品种资源进行评价, 并对各种评价方法进行分析比较, 为建立有效合理的水

收稿日期: 2002-07-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070130)、国家“十五”攻关资助项目(2001BA509B07)和教育部留学归国人员科研基金资助项目(2001-498)

作者简介: 朱红莲(1971-), 女, 江西新干人, 硕士, 主要从事植物化感作用研究, Tel: 020-85280204。孔垂华为通讯作者, Tel: 020-85282380; Fax: 020-85280565; E-mail: chkong@scau.edu.cn

稻品种资源的化感潜力评价方法奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料和仪器

供试水稻种质材料共 225 份,分别来自华南农业大学和广东省农业科学研究院。化感对照品种 PI312777 来自美国 USDA-ARS 种质资源库,稗草 (*Echinochloa crus-galli*) 种子采自华南农业大学农学分场。土培用土壤采自华南农业大学农学分场稻田表层土(有机质, $17.7 \pm 0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 总 N, $0.87 \pm 0.07 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 有效 N, $80.1 \pm 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 总 P, $0.28 \pm 0.03 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 有效 P, $80.1 \pm 0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 总 K, $102.9 \pm 0.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 有效 K, $102.5 \pm 0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 晒干后粉碎过 3 mm 筛; 砂培用细砂, 用 15% HNO_3 浸泡 48 h, 再用蒸馏水洗至中性, 晾干过 3 mm 筛备用。

试验用高效液相色谱仪(HPLC)为美国惠普公司 HP1100 型, 所用流动相试剂乙腈、乙酸和水均为色谱纯级试剂。

1.2 水稻品种的化感潜力评价方法

1.2.1 种子处理 水稻种子用 1% NaClO (v/v) 消毒 0.5 h, 用蒸馏水洗净后催芽^[5]; 稗草用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HNO_3 处理 1 h 打破其休眠, 蒸馏水洗净后催芽。

1.2.2 土培法 在塑料杯(直径 4 cm, 高 5 cm)内加 70 g 稻田土, 随机取 10 粒露白的水稻种子, 均匀排列在杯壁边缘, 杯中心放置 3 粒刚刚萌动的稗草种子, 种子表面再盖 10 g 土。用水湿润, 在温室里培养, 每天补充足够的水分, 待水稻植株长到三叶期, 小心将稗草取出, 测其根长和苗高。每个水稻品种设置 3 个重复, 对照品种为 BT28。

1.2.3 砂培法^[5,6] 称取 80 g 洗净晾干的细砂置于 9 cm 培养皿中, 10 粒露白的水稻种子分 3 排以 3-4-3 形式均匀排列在培养皿里, 加足量蒸馏水后放在人工气候箱中培养(温度为 28 $^{\circ}\text{C}$; 12 h 光照, 12 h 黑暗)。待水稻幼苗长到 2 cm 高时, 将 14 粒露白的稗草种子分 2 行间播在水稻幼苗间。对照只种稗草。当水稻植株长到三叶期时, 小心将稗草取出, 测其根长和苗高。每个水稻品种设置 3 个重复, 对照品种为 BT28。

1.2.4 特征性次生物质标记法^[7] 采集三叶期水稻叶片, 用甲醇在 5 $^{\circ}\text{C}$ 浸泡 12 h。取其上清液, N_2 吹气除去甲醇后加 1:1 的甲醇:水(v/v), 配成 $0.1 \text{ g FW} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的溶液, 用 HPLC 测定。对照品种是 PI312777。HPLC 条件: C18 反相柱 (Hypersil, 125 \times 4

mm, 5 μm), 以 1% 乙酸水溶液(A)和乙腈(B)混合溶剂为流动相进行梯度测定。在 $1.5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 流速下, 以 10% B 经 3 min, 然后以 50% B 经 17 min, 再在 $2 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 流速下以 80% A 经 2 min, 最后再以 10% B 经 8 min, 总共 30 min, 进样量 10 μl , 紫外检测波长 320 nm, 采集前 20 min 的色谱数据, 确定相应特征次生物质色谱峰面积, 计算样品的化感指数 (allelopathic index, AI)。AI = 化感物质色谱峰面积之和/总色谱峰面积^[7]。

1.2.5 田间评价方法 在华南农业大学农学分场的试验田里, 随机设置面积为 1.8 m \times 1 m 的小区, 播种规格为 20 cm \times 16.5 cm, 将已露白的水稻种子按每穴 2 粒播在小区内, 每个小区安排 8 列 5 行, 待水稻幼苗出土后每 2 行 2 列水稻之间间播 3 行 3 列稗草, 稗草同样也是 1 穴 2 粒。另设 1 小区只播稗草作为对照。3 个重复, 30 d 后调查各小区稗草数量, 计算抑草百分率。田间试验在 2002 年 4 月进行, 试验小区土肥情况见试验材料和仪器一节。水和田间管理按正常的稻田育秧水平进行。因试验期仅为 30 d, 整个试验期间不进行任何病虫害管理, 尤其是不采取任何除草措施。

1.3 数据处理和统计方法

土培和砂培结果以影响因子 R 表示, 设处理值为 T , 对照值为 C , 则 $R = T/C$, $R > 1$ 为促进, $R < 1$ 为抑制, R 愈小表明化感抑制作用愈强^[5]。

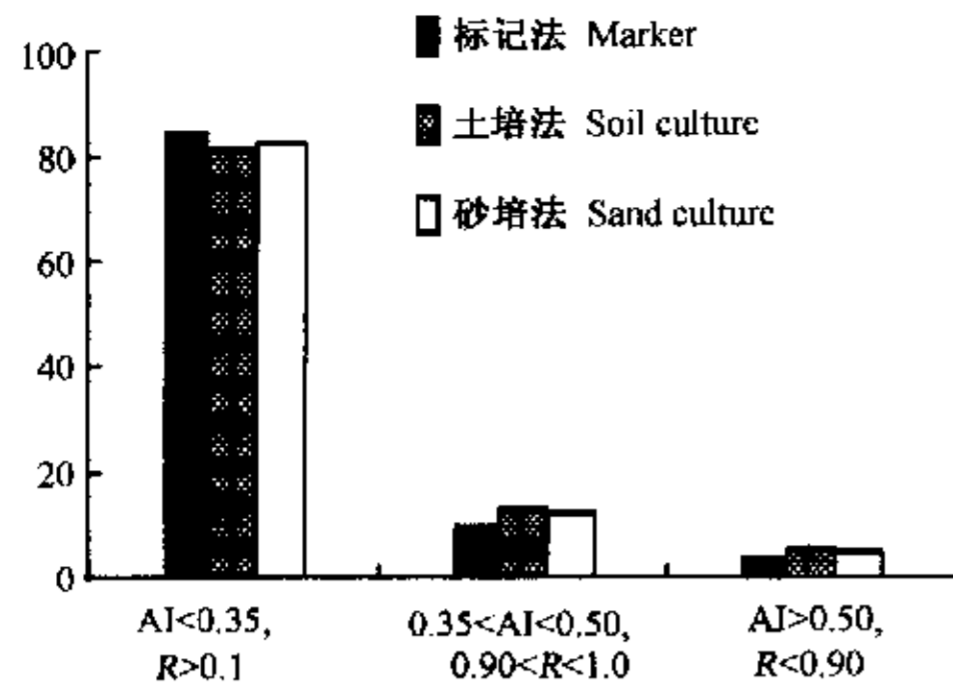
特征性次生物质标记结果以化感指数 AI 表示, AI 越大, 化感抑制潜力越大。

数据统计采用 SAS 统计软件分析, 各平均数的多重比较使用邓肯氏新复极差检验法(DMRT 法)。

2 结果与分析

2.1 水稻品种的化感潜力不同评价方法检测结果

土培法检测的水稻品种中, 有 82 个品种对稗草的抑制作用超过对照品种 BT28, 其中 13 个品种对稗草的抑制作用超过化感对照品种 PI312777, 也有 47 个品种相对对照品种 BT28, 对稗草的生长有促进作用, 显示对照品种 BT28 仍有一定的抑制稗草作用, 而不是完全的非化感品种。同样, 砂培法检测也证明 5.1% 受测水稻品种对稗草的抑制作用达到或超过化感对照品种 PI312777。而用特征性次生物质标记评价方法, 4.8% 的受测水稻品种的化感指数达到或超过化感对照品种 PI312777 (图 1)。这些结果进一步证明, 随机对水稻种质资源进行筛选评价, 具有化感潜力的材料有 5% 左右。



AI:化感指数(标记法)AI means allelopathic index (marker)

R:影响因子(土壤或砂培法)R means impact factor (soil or sand culture)

图1 不同评价方法的水稻化感种质资源分布百分比

Fig. 1 Distribution percentages of allelopathic rice germplasm with different evaluating methods

根据土培、砂培和特征性次生物质标记3种评价方法的结果,选择抑制稗草作用强、中和弱的代表性品种30个进行田间试验。结果表明,化感指数 $AI > 0.5$ 的水稻品种在田间均能表现一定的抑草效应,土培、砂培测定的影响因子 $R < 0.9$ 的水稻品种也能在田间表现明显的抑草效应, $AI < 0.5$ 和 $R > 0.9$ 的绝大多数品种在田间一般不能表现出抑草效应(表)。而极少数 $AI < 0.5$ 和 $R > 0.9$ 的水稻品种在田间能表达出一定的抑草效应。这是因为田间条件下水稻对杂草的抑制效应,除了化感作用因子外,还与竞争作用和环境条件有关。这些少数品种田间表现的抑草效应与其高竞争和环境适应性相关,化感作用因子不占有主导地位。

2.2 不同评价方法的比较及其相关性

表 不同方法评价水稻品种的化感潜力¹⁾

Table Allelopathic potentials of rice varieties with different evaluating methods

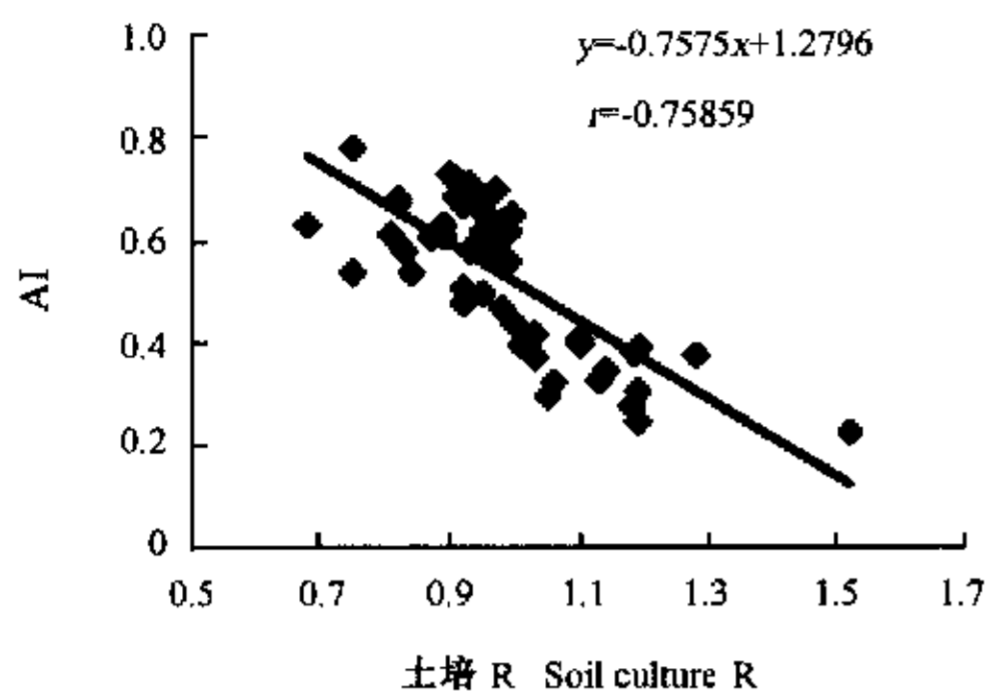
品种 Variety	标记法化感指数 Marker, allelopathic index	土培法影响因子 Soil culture impacted factor	砂培法影响因子 Sand culture, impacted factor	田间抑草率 Inhibitory percentage in the field(%)
J87	0.03	1.52 ± 0.05	1.37 ± 0.07	-17.7 ± 1.2
R34	0.08	1.29 ± 0.06	1.78 ± 0.03	-12.1 ± 1.9
R31	0.15	1.18 ± 0.08	1.19 ± 0.06	68.5 ± 2.5
K105	0.20	1.19 ± 0.08	1.15 ± 0.07	-10.3 ± 1.0
K148	0.26	1.06 ± 0.14	1.10 ± 0.10	-7.6 ± 1.5
K100	0.30	0.03 ± 0.09	1.11 ± 0.07	-5.8 ± 1.4
K52	0.33	1.08 ± 0.04	1.06 ± 0.11	-2.3 ± 0.6
K17	0.35	1.19 ± 0.04	1.10 ± 0.04	13.7 ± 3.2
K35	0.37	1.10 ± 0.10	1.19 ± 0.11	-4.4 ± 1.0
K9	0.40	1.10 ± 0.14	1.03 ± 0.04	18.7 ± 3.8
BT28*	0.44	1.00 ± 0.04	1.03 ± 0.06	21.5 ± 4.6
H1	0.47	0.98 ± 0.02	0.98 ± 0.05	45.0 ± 7.6
Y957	0.48	0.92 ± 0.06	0.98 ± 0.03	52.9 ± 9.6
K22	0.50	0.95 ± 0.03	0.97 ± 0.08	58.8 ± 10.1
P410	0.51	0.92 ± 0.04	0.92 ± 0.05	68.5 ± 9.8
K49	0.54	0.84 ± 0.03	0.95 ± 0.03	76.5 ± 8.7
Y1187	0.56	0.89 ± 0.03	0.89 ± 0.02	80.9 ± 9.0
R312	0.58	0.87 ± 0.08	0.89 ± 0.03	84.4 ± 11.0
PI312777**	0.61	0.89 ± 0.07	0.89 ± 0.06	88.5 ± 8.3
K152	0.61	0.81 ± 0.16	0.86 ± 0.10	92.1 ± 10.5
K26	0.62	0.89 ± 0.07	0.80 ± 0.10	94.8 ± 6.0
K8	0.63	0.68 ± 0.13	0.87 ± 0.10	96.4 ± 5.5
K83	0.64	0.78 ± 0.07	0.89 ± 0.06	98.6 ± 8.9
K20	0.66	0.85 ± 0.06	0.78 ± 0.10	100 ± 7.7
K90	0.67	0.82 ± 0.14	0.78 ± 0.06	100 ± 12.1
K48	0.68	0.82 ± 0.06	0.75 ± 0.06	100 ± 11.2
K118	0.70	0.77 ± 0.02	0.76 ± 0.08	100 ± 7.9
K77	0.72	0.71 ± 0.06	0.78 ± 0.02	100 ± 8.6
K12	0.73	0.80 ± 0.04	0.70 ± 0.09	100 ± 10.6
K45	0.78	0.75 ± 0.05	0.69 ± 0.04	100 ± 12.3

¹⁾ 数据表示3次重复的平均值 ± 标准误;AI值愈大和R值愈小,表明水稻品种的化感潜力愈强

Data were the mean with three replicates ± SE; The bigger AI value and the smaller R value were; the stronger allelopathic potential of rice variety was

*非化感材料对照 CK: Non-allelopathic accession; **化感对照材料 CK: Allelopathic accession

土培、砂培和特征性次生物质标记 3 种室内评价方法检测结果虽然不能一一对应,但有相关性。线性回归分析表明,特征性次生物质标记法的化感指数 AI 值与土培和砂培法的影响因子 R 值之间在 0.01 水平都呈极显著相关(图 2)。3 种评价方法均



能显示强抑草效应的水稻品种,田间条件下也能表现出相应的效应,尤其是特征性次生物质标记法的化感指数 AI 值的大小,可基本上反映田间抑草效应的强弱(表)。

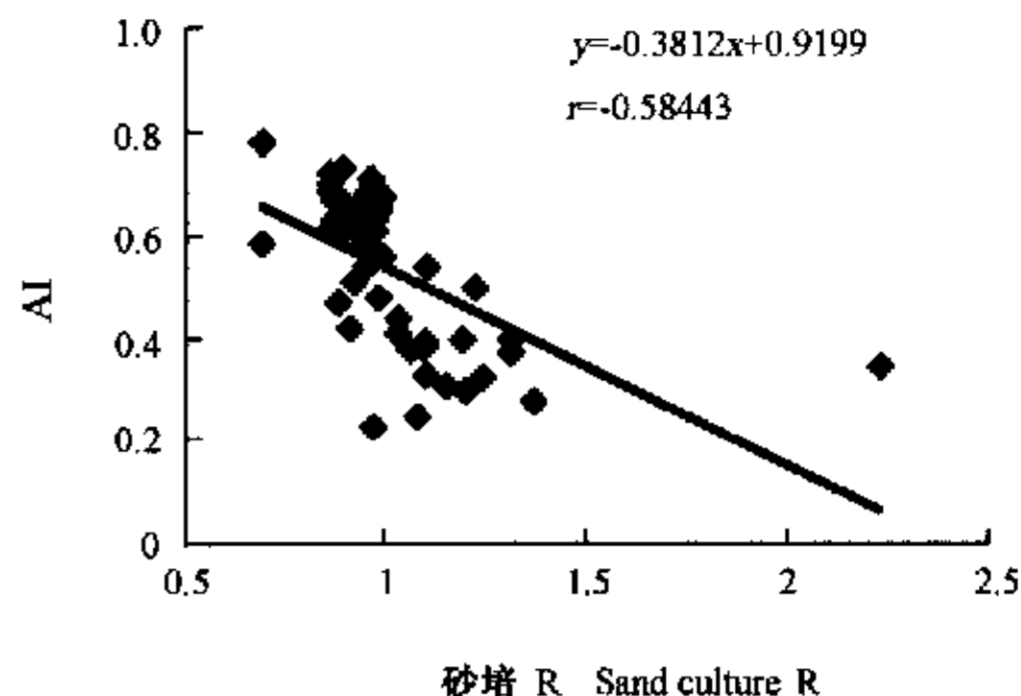


图 2 化感指数(AI)与土培、砂培影响因子(R)的关系

Fig.2 Relationships between allelopathic index (AI) and impact factors (R) of soil and sand culture

田间试验费时费力,周期长。若用田间试验法进行水稻品种资源的化感潜力评价是不切合实际的,田间试验只能作为室内评价的验证。因此,水稻化感品种资源的筛选评价应当建立快速、有效、可大批量检测的室内方法。砂培法可以排除营养竞争的干扰,其结果能体现品种间的差异,但与田间结果相差甚远。大多数砂培发现的水稻化感品种在田间并不显示抑草效应。土培法比较接近田间条件,但无法排除营养竞争的干扰。土培和砂培方法都存在生长条件和水稻植株性状等的影响,尤其不能评价水稻品种个体间的化感潜力,2 种方法的准确性和重复性均不佳。特征性次生物质标记法能定性、定量评价水稻品种和单株的化感潜力,而且该方法仅从活体水稻植株上取一小片叶,就能在未损害水稻生长发育的条件下进行效应评价。现在高效液相色谱(HPLC)仪器普及,HPLC 的精密度和稳定性已被普遍承认,而且采用自动进样技术,一次可进行上百样品的测试。因此,特征性次生物质标记方法是评价筛选水稻品种和单植株的化感潜力快速有效的方法。

3 讨论

水稻品种资源化感潜力的评价筛选方法受到广泛关注,最初主要是通过田间水稻植株周围无杂草区域(抑草圈)和单位面积内杂草种类、密度和生物量来判断化感潜力^[8],但这一田间评价方法难以在

短时期内对众多水稻品种资源的化感潜力进行筛选。因此,近年各种室内快速评价方法被建立,主要是以砂培、土培和少数水培为基础的生物测定,其准确性和重复性非常低^[9]。事实上,水稻的化感作用是通过植株向环境释放化感作用物质实现的,这样只要准确测定水稻植株中化感作用物质的种类和含量就能筛选出水稻化感品种。以特征性次生物质为标记评价水稻品种和单株的化感潜力方法正是在这一基本思路指导下建立的^[7]。笔者通过对各种评价方法的比较研究进一步证明特征性次生物质标记法在水稻品种资源的化感潜力筛选评价中的价值。

必须指出,水稻化感效应并不完全等同于抑制杂草效应,田间抑草效应是竞争作用、化感作用和环境因素等共同作用的结果^[10]。有些化感潜力弱,但具有高竞争性和强生长能力的水稻品种,在田间同样能表现出很好的抑草效应。水稻品种具有化感潜力仅表明其在田间能以自身的化学因子抑制杂草竞争。因此,包括特征性次生物质标记方法在内的所有室内化感潜力的评价方法,仅是水稻与杂草竞争时的化学武器能力的测定。诚然,具有强化感抑制作用的水稻品种和单株,往往能够充分利用化学因子而抑制杂草,这已为众多田间试验所证明。

References

- [1] 孔垂华,胡飞. 植物化感(相生相克)作用及其应用. 北京: 中国农业出版社,2001:77-93.

Kong C H, Hu F. *Allelopathy and Its Application*. Beijing: China A-

- griculture Press, 2001:77-93. (in Chinese)
- [2] Olofsson M D. Rice — A step towards use of allelopathy. *Agronomy Journal*, 2001,93:3-8.
- [3] Wu H, Pratley J, Lemerle D, Haig T. Crop cultivars with allelopathic capability. *Weed Research*, 1999,39: 171-180.
- [4] 应存山. 中国水稻种质资源. 北京:中国农业科技出版社, 1991:1-5.
Ying C S. *Chinese Rice Germplasm*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1991:1-5. (in Chinese)
- [5] 王大力, 马瑞霞, 刘秀芬. 水稻化感抗草种质资源的初步研究. *中国农业科学*, 2000,33(3):94-96.
Wang D L, Ma R X, Liu X F. The preliminary studies on rice allelopathic germplasm. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33(3): 94-96. (in Chinese)
- [6] Navarez D, Olofsson M. Seeding technique for screening allelopathic rice (*Oryza sativa* L.). In: *Proceedings of the Second International Weed Control Conference*, Copenhagen (Denmark). 1996:1 285-1 290.
- [7] 孔垂华, 徐效华, 胡 飞, 陈雄辉, 凌 冰, 谭中文. 以特征次生物质为标记评价水稻品种及单植株的化感潜力. *科学通报*, 2002,47(3):203-206.
Kong C H, Xu X H, Hu F, Chen X H, Ling B, Tan Z W. Using specific secondary metabolite as marker to evaluate allelopathic potential of rice variety and its individual plant. *Chinese Science Bulletin*, 2002. 47(10):839-843. (in Chinese)
- [8] Dilday R H. Identification of allelopathy in USDA-ARS rice germplasm collection. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 1994,34:907-910.
- [9] Kim K U, Shin D H. *Rice Allelopathy*. Taegu(Korea): Kyungpook National University Press, 2000: 57-82.
- [10] Olofsson M, Navarez D, Rebulanan M. Weed suppressing rice cultivars does allelopathy play a role? *Weed Research*, 1999,39: 441-454.

(责任编辑 王红艳)

欢迎订阅 2004 年《植物营养与肥料学报》

《植物营养与肥料学报》是中国植物营养与肥料学会主办、国内外公开发行的专业性学术刊物。属中国科技核心期刊;土壤学、肥料学类核心期刊。为国家科技部中国科技论文统计源期刊,以及《中国学术期刊综合评价数据库》、《中国科学引文数据库》来源期刊。本刊主要报道本学科具有创见性的学术论文,新技术和新方法研究报告、简报、文献评述和问题讨论等。包括土壤、肥料和作物间的关系,养分变化和平衡;各种肥料在土壤中的变化规律和配施原理;农作物遗传种质特性对养分反应;作物根际营养;施肥与环境;施肥与农产品品质;农业生物学和生物化学应用;肥料的新剂型新品种的研制、应用及作用机理;本学科领域中新手段、新方法的研究以及与本学科相关联的边缘学科等。读者对象为农、林、牧、环保、化工等科研单位,大专院校及肥料生产、销售部门的科技人员。

本刊从 2004 年起改为双月刊,大 16 开本,112 页,单月 25 日出版,每期定价 15 元,全年 90 元。邮发代号:82-169。请到全国各地邮电局(所)办理订阅,也可汇款至编辑部订阅。另编辑部尚存少量过刊,需要者可直接与本编辑部联系购买。

地址:北京市中关村南大街 12 号中国农业科学院土肥所《植物营养与肥料学报》编辑部

邮编:100081 电话:010-68918653 传真:010-68975161

E-mail: zwyf@caas.ac.cn