

“黑麦草-水稻”草田轮作系统的根际效应

V. 意大利黑麦草 (*Lolium multiflorum*) 根茬腐解物 中存在促水稻生长活性物质的证据*

黎国喜^{1,2}, 李厚金³, 杨中艺², 辛国荣², 唐湘如¹, 袁剑刚²

(1. 华南农业大学农学院, 广东 广州 510642;

2. 中山大学生物防治国家重点实验室//生命科学学院, 广东 广州 510275;

3. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘要: 关于冬种黑麦草 (*Lolium multiflorum* Lam.) 使后作水稻增产的机理, 以往的研究着重于冬种黑麦草对稻田土壤理化和生物学性状的改善方面。本研究旨在证明黑麦草根茬腐解物中存在促水稻生长活性物质的假设。实验结果表明, 黑麦草根茬腐解液可显著地促进水稻幼苗的生长, 水稻的根、苗和植株的干物质质量分别比对照增加 41.9%, 42.6% 和 42.3%。腐解液的乙酸乙酯和正丁醇萃取物对水稻幼苗的生长也有显著的促进作用。对腐解液的有机成分进行初步分离, 发现了 4 个具促水稻生长活性的洗脱组分。由此可以推断, 黑麦草根茬腐解物中确实存在能刺激水稻生长的活性物质。

关键词: 意大利黑麦草 (*Lolium multiflorum* Lam.); 水稻; 根茬; 土壤微生物; 生物活性物质; 轮作

中图分类号: Q948 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2008) 04-0088-06

“黑麦草-水稻”轮作(简称 IRR)系统构建以来^[1-3], 冬种黑麦草使后作水稻大幅度的增产作用一直是草业学术界研究的热点之一。按传统的观点推论, IRR 系统是禾本科作物之间的轮作, 而禾本科作物多为耗地性植物, 在不额外增加外源肥料的情况下, 它们之间的轮作将会导致地力消耗和作物的减产, 而不是增产^[4]。因此诠释冬种黑麦草使后作水稻不平常的增产现象具有重要的理论价值。

杨中艺等首先研究了后作稻田土壤的养分动态。结果表明, 冬种黑麦草可显著地提高后作水稻稻田土壤有机质、N 和 K 等养分的含量^[5-7]。围绕稻田土壤养分的变化, 人们分别从黑麦草根茬养分释放规律和黑麦草根际效应两个角度开展了进一步的研究。辛国荣等发现, 黑麦草根茬的干物质中有机质含量为 23.80%, 全 N 的含量达到 0.74%, P 和 K 的含量分别为 0.48 mg·kg⁻¹ 和 6.56 mg·kg⁻¹, 根茬在腐解过程中向土壤释放了大量的矿质养分^[8]。关于黑麦草的根际效应, 目前虽然证明了冬种黑麦草对稻田土壤微生物数量和区系、土壤酶活性、土壤有机酸含量等方面有明显的改善作用^[9-11], 但尚未取得直接的证据。已有研究还发现, 黑麦草根际土壤对水稻幼苗生长有明显的促进

作用^[9], 但其机理也尚不清楚。关于后作水稻增产的机理, 目前的主流观点仍然认为, 冬种黑麦草导致稻田肥力水平的提高是后作水稻增产的主要原因^[12-14]。但是, 单纯从稻田土壤理化性状改善的角度无法解释后作水稻的增产幅度。与紫云英的对比试验发现, 在仅留根茬的条件下, 冬种黑麦草对后作水稻的增产幅度甚至比豆科绿肥紫云英还高 5.16%^[15]。鉴于冬种黑麦草对后作水稻强烈的增产作用, 我们推测黑麦草根茬在腐解过程中可能释放了某种促水稻生长的活性物质。

植物残体在腐解过程中释放的物质包括无机(主要是矿质离子)和有机(如结构物质、次生物质等)两大类成分。由于矿质离子是植物的主要营养物质, 因此, 人们在评价植物根茬或秸秆的农田生态学意义时, 自然会把重点放在其无机成分上, 而忽视了其中有机物的生态学功能。其实, 植物释放的次生代谢产物具有广泛和极高的生理活性。人们从植物组织或植株残体的腐解产物中已经发现了具有高生理活性的物质。如从苜蓿中分离到的三十烷醇和从油菜花粉中分离到的油菜素内酯, 在 1 μmol/L 的浓度下就可以强烈地促进植物的生长^[16-17]。另外, 人们还从大豆残株中分离到可使后作玉米增产 20% 的物质 (cis-dehydromatricaria

* 收稿日期: 2008-01-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39570421); 广东省自然科学基金资助项目 (940615)

作者简介: 黎国喜 (1974 年生), 男, 博士, 讲师; 通讯联系人: 杨中艺; E-mail: adszy@mail.sysu.edu.cn

ester)^[18]。正是基于这一考虑,本研究设计了一系列的实验,以探讨黑麦草根茬腐解物中是否存在具有促水稻生长作用的天然活性物质。

1 材料与方法

1.1 实验材料

意大利黑麦草品种为特高 (*Lolium multiflorum* Lam. cv. Tetragold), 水稻品种为培杂双七 (*Oryza sativa* L. cv. peizashuangqi)。

黑麦草于当年的12月种植于华南农业大学农学院教学科研基地的稻田。为便于根茬的挖取,黑麦草采取起垄撒播的方式种植。试验地前茬作物为晚稻,土壤为壤质水稻土,土壤的理化性状如下:pH值6.25,有机质2.02%,全N 109.20 mg·kg⁻¹,有效态K 193.80 mg·kg⁻¹,有效态P 103.40 mg·kg⁻¹。黑麦草的田间管理参照辛国荣等的方法^[7]。黑麦草于次年的3月份收割(处于分蘖期),留茎5 cm。收割部分移出稻田后,用小锄头将残留的根茬连根挖取。根茬用自来水反复冲洗至无肉眼可观察到的杂质后,放置于-4℃的冰箱中保存备用。

1.2 根茬腐解液的制备

黑麦草根茬采取 Giuliano 等的方法进行腐解^[19]。取上述黑麦草鲜根茬若干,用吸水纸吸干水分后,剪碎至1 cm左右,并充分混匀。准确称取150 g根茬,放置在紫外灯下杀菌2 h,并不时翻动。把处理好的根茬装入1 000 mL的经过灭菌的棕色磨口的广口瓶中,向瓶中加入300 mL蒸馏水和风干的黑麦草生长地土壤(作为微生物菌源),每10 mL溶液加入1 g土壤,将根茬与土壤充分混匀。根茬在25℃、遮光和厌氧的条件下腐解2周后,进行过滤和离心(6 000 × g, 2 h),收集上清液。另取同样数量的风干土壤,在上述相同的条件下提取、过滤和离心,获得土壤的水提液。腐解液和土壤水提液均放置在-20℃的冰箱中保存备用。

1.3 腐解液对水稻幼苗生长的影响

根据腐解液中所含鲜根茬的质量,设置100、50、10、5和1 g·L⁻¹的不同质量浓度的腐解液处理。水稻种子用 $w = 0.1\%$ 的HgCl₂消毒后,在室温下浸种3 d,待种子露白后,将4粒长势一致的水稻种子均匀地摆放在盛有河砂的塑料杯中,再向杯中分别加入45 mL上述腐解液至河砂吸水饱和,以加入同样数量的土壤水提取液作为对照,每处理4次重复。将塑料杯置于人工气候室[温度(25 ± 1)℃,相对湿度75%,光照9 h/d]培养2周后,

分析水稻地上部和地下部的干物质质量。

1.4 腐解液中有机成分的活性评价

按照1.2的方法制备质量浓度为500 g·L⁻¹的黑麦草根茬腐解液1 L,分别用乙酸乙酯和正丁醇进行梯度萃取,每种溶剂均萃取5次。萃取液减压蒸发并冰冻干燥后,正丁醇相获得1.62 g固体物质,乙酸乙酯相获得2.42 g油状物。浓缩物均用蒸馏水稀释为50和5 g·L⁻¹(每L溶液中的浓缩物所折合鲜根茬的g数)两个质量浓度。萃取后残余的水相经冷冻干燥(去除有机溶剂)后,再用蒸馏水稀释到1 L。

采用培养皿生物测试的方法测试正丁醇和乙酸乙酯提取物的生物活性。在直径为15 cm的培养皿的底部铺一层滤纸。水稻种子根据1.3的方法消毒和催芽后,选取9粒长势一致的水稻种子均匀地摆放在培养皿中。向培养皿中分别加入5 mL上述不同质量浓度的正丁醇和乙酸乙酯萃取物和萃取后残余的水相。以加入蒸馏水为对照,每处理4次重复。培养皿置于光照培养箱[温度(25 ± 1)℃,相对湿度75%,光照9 h/d]中培养72 h后取出,分别测量水稻的根长和苗长。

1.5 土壤微生物参与对腐解液生物活性的影响

按照1.2的方法对黑麦草根茬进行腐解,在腐解过程中设添加和不添加土壤微生物两个处理(以田间风干土壤作为微生物的菌源)。腐解液均根据所含鲜根茬的质量配成300, 100, 50, 10, 5和1 g·L⁻¹5个质量浓度,按1.3方法对水稻进行培养。添加微生物处理以土壤水提液为对照,不添加微生物处理以蒸馏水为对照。测定水稻植株的干物质质量并计算水稻的相对生长率。

相对生长率(%) = (处理值 - 对照值) × 100 / 对照值。正值表示促进,负值为抑制。

1.6 腐解液中促水稻生长物质的初步分离

参考1.2的方法,将5 kg黑麦草鲜根茬置于5个棕色广口瓶(2 L)中进行腐解。根茬腐解2周后,先捞取未腐烂的残渣(残渣中挤出的水分回收至广口瓶中),再用3层纱布过滤2次。将滤液离心(3 000 r/min)1 h,上清液在60℃下浓缩至2 L左右。浓缩后的腐解液分别用乙酸乙酯和正丁醇进行梯度萃取,萃取液分别减压浓缩后合并。获得黑麦草根茬腐解液的有机溶剂抽提物。

抽提物用甲醇溶解,200~300目硅胶拌样,采取湿法上柱。用石油醚-乙酸乙酯-甲醇的混合溶剂系统进行梯度洗脱。薄层层析检查,合并相同部分。共获得24个组分。各洗脱组分减压浓缩至干后,再用乙醇溶解并定容至50 mL。用微式移液

枪量取相当于 2 g 黑麦草根茬的洗脱物用于生物测试。

将上述洗脱物冰冻干燥后溶解于 40 mL 的蒸馏水中 (每 L 溶液含有相当于 50 g 鲜根茬的洗脱物), 按 1.4 的方法进行生物测试, 测量水稻根长, 并按 1.5 的方法计算相对增长率。

2 结果与分析

2.1 腐解液对水稻幼苗生长的影响

黑麦草根茬腐解液对水稻幼苗的生理效应见表 1。从水稻地下部干物质积累状况来看, 经腐解液处理后, 水稻根系的干物质积累量均显著地高于对照 ($P < 0.05$)。根系干物质质量平均比对照增加了 41.9%。其中, 当质量浓度为 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 腐

解液的活性最高, 对水稻根系的促进率高达 71.7% ($P < 0.05$)。根茬腐解液对水稻地上部的生长也有明显的促进作用, 水稻地上部的干物质质量平均比对照增加了 42.6%, 且各处理与对照的差异均达到显著水平 ($P < 0.05$)。水稻整株干物质积累量也均显著地高于对照 ($P < 0.05$), 干物质质量平均比对照增加了 42.3%。另外, 从不同处理来看, 腐解物对水稻的活性随质量浓度的变化呈“倒 V”形趋势。当质量浓度低于 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 水稻地上、地下和植株总干物质积累量均有随着质量浓度升高而增加的趋势。而在质量浓度高于 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的条件下, 腐解物的活性随质量浓度的升高反而下降。

表 1 砂培条件下黑麦草根茬腐解液对水稻干物质积累的影响

Tab. 1 Effects of decaying Italian ryegrass residue on the biomass accumulation of rice seedlings cultivated in sand (mean $\pm$ SE)

腐解液质量浓度 / ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	干物质质量/ ($\text{mg} \cdot \text{pot}^{-1}$)		
	植株	地上部	地下部
100	20.1 $\pm$ 0.51bc	13.5 $\pm$ 1.25a	6.6 $\pm$ 0.16c
50	20.7 $\pm$ 0.39b	13.5 $\pm$ 1.71a	7.2 $\pm$ 0.34b
10	23.3 $\pm$ 0.69a	14.2 $\pm$ 1.45a	9.1 $\pm$ 0.29a
5	20.2 $\pm$ 0.96bc	12.6 $\pm$ 1.58a	7.6 $\pm$ 0.52b
1	19.6 $\pm$ 0.77c	12.5 $\pm$ 1.30a	7.1 $\pm$ 0.13b
对照	14.6 $\pm$ 0.44d	9.3 $\pm$ 1.18b	5.3 $\pm$ 0.38d

注: 表中同列数据后不同字母表示差异达到显著水平 ($P < 0.05$) 差异性检测采用 LSD 法, 以下各表相同

2.2 腐解液中有有机成分的活性评价

从表 2 可以看出, 在实验设置的质量浓度条件下, 腐解液的正丁醇萃取物均显著地促进水稻根系和苗的生长 ($P < 0.05$); 水稻的根长平均对照增加了 23.5%, 苗长平均增加了 20.0%。在高质量浓度 ($50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 条件下, 腐解液的乙酸乙酯萃取物抑制水稻根系的生长而促进苗的生长。而在低质量浓度 ($5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 条件下, 对水稻幼苗地上、

地下部的生长均有显著的促进作用 ($P < 0.05$)。

从表 2 还可以看到, 不管是水稻的根还是苗的长度, 水相处理与对照间的差异均不显著 ($P > 0.05$)。由于黑麦草根茬在腐解过程中释放的 N、P、K 等无机成分一般存在于水相中, 这就说明, 在本实验条件下, 黑麦草根茬腐解液中的矿质养分对水稻幼苗生长的影响不大。

表 2 黑麦草根茬腐解液中的有机成分对水稻幼苗生长的影响

Tab. 2 Effects of organic components from aqueous extract of decaying Italian ryegrass residue on the growth of rice roots and shoots

萃取物	质量浓度/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	根长/ cm	苗长/ cm
乙酸乙酯相	50	2.8 $\pm$ 0.1d	2.4 $\pm$ 0.2ab
	5	4.2 $\pm$ 0.2a	2.5 $\pm$ 0.1a
正丁醇相	50	4.2 $\pm$ 0.2a	2.5 $\pm$ 0.1a
	5	4.0 $\pm$ 0.1ab	2.3 $\pm$ 0.1ab
水 相		3.6 $\pm$ 0.2bc	2.0 $\pm$ 0.3bc
对 照		3.4 $\pm$ 0.1c	2.0 $\pm$ 0.1c

2.3 土壤微生物的参与对腐解液生物活性的影响

从图1可以看到,在 $1 \sim 100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的质量浓度范围内,添加土壤微生物显著地提高了根茬腐解液生物活性($P < 0.05$),添加土壤微生物处理的水稻的相对生长率均高于不加微生物处理。而当腐解物质量浓度大于 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,添加或不添加土壤微生物对黑麦草根茬的生物活性无显著的影响($P > 0.05$)。

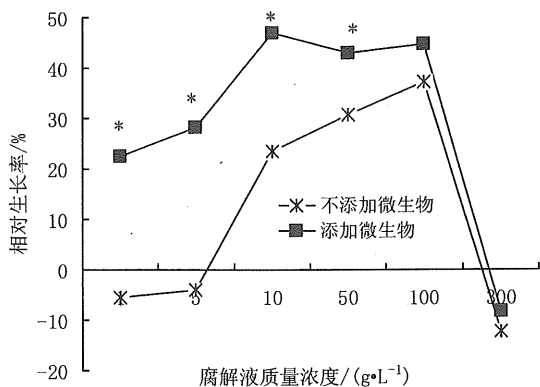


图1 土壤微生物添加对黑麦草根茬腐解物活性的影响

Fig. 1 Effects of soil microorganisms inoculation on the bioactivity of decaying Italian ryegrass residues

*表示添加与不添加微生物处理之间差异达到显著水平($P < 0.05$),采用 t 测验进行方差分析

2.4 腐解液中促水稻生长物质的初步分离

采取梯度洗脱的方法,从黑麦草根茬腐解液中分离到24个洗脱组分,其中组分F14~F17对水稻根系的生长具有明显的促进作用(图2),水稻幼苗的根长分别比对照增加了46.2% (F14)、37.6%

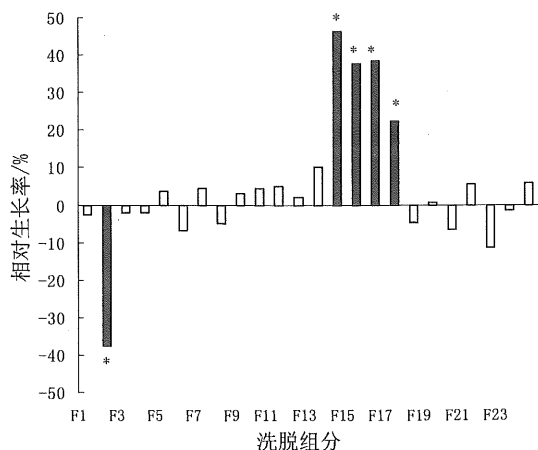


图2 黑麦草根茬腐解液不同洗脱组分对水稻的活性比较

Fig. 2 Comparison of bioactivity on rice of fractions eluted from the decaying Italian ryegrass residue

*表示与对照的差异达到显著水平($P < 0.05$),采用 t 测验进行方差分析

(F15)、38.3% (F16) 和 22.2% (F17),与对照的差异均达到显著水平($P < 0.05$)。从图2还可以看到,促水稻生长的4个组分呈连续分布,且有随洗脱时间延长而活性下降的趋势。另外,图2还显示,组分F2对水稻生长存在显著的抑制作用,对水稻根长的抑制率达到36.7% ($P < 0.05$)。

3 讨论

在IRR系统正常的生产条件下,稻田中黑麦草根茬的残留量折合鲜质量约为 $1\,200 \sim 1\,600 \text{ kg} / 666.7 \text{ m}^2$ [8],其中在早、晚稻期间的腐解量分别约占总量的80%和20% [8]。按水田耕层为 20 cm 计算,后作早、晚稻生长期间,土壤中黑麦草根茬的残留量分别约为 $10 \sim 3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $3 \sim 0.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。从腐解液的砂培实验结果来看,在根茬质量浓度为 $100 \sim 1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内,黑麦草根茬腐解液均能显著地促进水稻的生长。腐解液经有机溶剂萃取后,根茬质量浓度为 $50 \sim 5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的萃取物对水稻仍然具有显著的促生长活性。据此可以推断,根茬腐解液的有机相中存在着促水稻生长的活性物质。因此,根茬在腐烂过程中释放的促水稻生长活性物质毫无疑问是冬种黑麦草对后作水稻增产的不可忽视的因素。今后有必要通过进一步的分离、纯化和化合物结构鉴定,对意大利黑麦草根茬腐解液中的促水稻生长物质加以深入研究。

黑麦草根茬在田间腐烂过程中,微生物的参与是不可避免的。从本研究结果来看,不管是否添加土壤微生物,黑麦草根茬的水提物均能明显地促进水稻的生长,说明黑麦草根茬组织本身就含有促水稻生长的活性物质。然而,如果在腐烂过程中添加土壤微生物,黑麦草根茬提取物的生物活性显著提高。因此可以认为,黑麦草根茬腐解液的促水稻生长作用可能是黑麦草根茬组织和土壤微生物相互作用的结果,或者说,土壤微生物的参与促进了此种或此类活性物质的形成或生物活性的实现。今后有必要对土壤微生物在其中的作用机理开展深入的研究。

通过初步分离,从黑麦草根茬腐解物中获得了4个促水稻生长的活性组分,由于上述4个组分均是由石油醚:乙酸乙酯=1:3的混合溶剂系统洗脱出来的,说明腐解物中的促水稻生长物质可能是中低极性的化合物。另外,由于该4个组分的洗脱时间是连续的,且其生物活性有随洗脱时间延长而下降的趋势。我们推测,4个组分的促水稻生长活性有可能是同时分布在4个组分中的同一化合物在发生作用,4个组分对水稻幼苗之所以表现出不同的

活性则可能与各组分中所含该化合物的质量浓度随洗脱时间延长而下降有关。薄层层析也发现,组分F14~F17的主要成分是类似的。当然,也不排除有多个化合物同时起作用的可能。值得一提的是,研究中还从黑麦草根茬腐解物中发现了一个具有水稻毒性的洗脱组分。植物中同时含有促生长和抑制生长活性物质的现象较为普遍。比如,苜蓿(兼具饲料和绿肥双重功能)中既含有三十烷醇等具有极高促生长活性的化合物,又含有酚酸等植物毒素^[20]。今后应对黑麦草根茬腐解物中的水稻促生长物质和抑生长物质开展进一步的研究。

参考文献:

- [1] 杨中艺,余玉麟,陈会智. “黑麦草-水稻”草田轮作系统的研究. I. 意大利黑麦草引进品种在南亚热带地区集约栽培条件下的生产能力[J]. 草业学报, 1994, 3(4): 20-26.
YANG Zhongyi, YU Yulin, CHEN Huizhi. Study on the “Italian ryegrass-rice” rotation system. I. Production capacity of introduced Italian ryegrass varieties cultivated intensively in South subtropics [J]. Acta Prataculturae Sinica, 1994, 3(4): 20-26.
- [2] 杨中艺,潘静澜. “黑麦草-水稻”草田轮作系统的研究. II. 意大利黑麦草引进品种在南亚热带地区免耕栽培条件下的生产能力[J]. 草业学报, 1995, 4(4): 46-51.
YANG Zhongyi, PAN Jinglan. Study on the “Italian ryegrass-rice” rotation system. II. Production capacity of introduced Italian ryegrass varieties cultivated under no tillage field in South subtropics [J]. Acta Prataculturae Sinica, 1995, 4(4): 46-51.
- [3] 杨中艺,潘哲祥. “黑麦草-水稻”草田轮作系统的研究. III. 意大利黑麦草引进品种在南亚热带地区稻底撒播条件下的生产能力[J]. 草业学报, 1995, 4(4): 52-57.
YANG Zhongyi, PAN Zhexiang. Study on the “Italian ryegrass-rice” rotation system. III. Production capacity of introduced Italian ryegrass varieties seeded directly in ripening rice in South subtropics [J]. Acta Prataculturae Sinica, 1995, 4(4): 52-57.
- [4] 刘巽浩. 耕作学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 286-287.
- [5] 杨中艺,岳朝阳,辛国荣,等. 稻田冬种黑麦草对后作水稻生长的影响及其机理初探[J]. 草业科学, 1997, 14(4): 20-24.
YANG Zhongyi, YUE Chaoyang, XIN Guorong, et al. Effects of Italian ryegrass cultivated in paddy in winter on the growth of subsequent rice and its mechanism [J]. Prataculture Science, 1997, 14(4): 20-24.
- [6] 杨中艺. “黑麦草-水稻”草田轮作系统的研究. IV. 冬种意大利黑麦草对后作水稻生长和产量的影响[J]. 草业学报, 1996, 5(2): 38-42.
YANG Zhongyi. Study on the “Italian ryegrass-rice” rotation system. IV. Effects of Italian ryegrass cultivated in winter on the growth and yield of subsequent rice [J]. Acta Prataculturae Sinica, 1996, 5(2): 38-42.
- [7] 辛国荣,郑政伟,徐亚辛,等. “黑麦草-水稻”草田轮作系统的研究. VI. 冬种黑麦草施肥对后作水稻生长的影响[J]. 草业学报, 2002, 11(4): 21-27.
XIN Guorong, ZHENG Zhengwei, XU Yaxing, et al. Study on the “Italian ryegrass-rice” rotation system. VI. Effects of Italian ryegrass cultivated in winter and treated with different fertilizers on the growth of subsequent rice [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2002, 11(4): 21-27.
- [8] 辛国荣,杨中艺. “黑麦草-水稻”草田轮作系统研究. VII. 黑麦草残留物的田间分解及营养元素的释放动态[J]. 草业学报, 2004, 13(3): 80-84.
XIN Guorong, YANG Zhongyi. Study on the “Italian ryegrass-rice” rotation system. VII. Decomposition of Italian ryegrass residue and the accompanying nutrient release in paddy fields [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2004, 13(3): 80-84.
- [9] 辛国荣,李雪梅,杨中艺. “黑麦草-水稻”草田轮作系统根际效应研究. IV. 黑麦草根际土壤性状及其对水稻幼苗生长的影响[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2004, 43(1): 62-66.
XIN Guorong, LI Xuemei, YANG Zhongyi. Study on the rhizosphere effects of Italian ryegrass in “Italian ryegrass-rice” rotation system. IV. Characteristics of soils attached to Italian ryegrass rhizosphere and its effects on the growth of rice seedlings [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2004, 43(1): 62-66.
- [10] 辛国荣,岳朝阳,李雪梅,等. “黑麦草-水稻”草田轮作系统的根际效应. III. 黑麦草根系对土壤生物性状的影响[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 1998, 37(6): 94-96.
XIN Guorong, LI Xuemei, YANG Zhongyi. Study on the rhizosphere effects of Italian ryegrass in “Italian ryegrass-rice” rotation system. III. Effects of the residues of Italian ryegrass on soil biological characteristics [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 1998, 37(6): 94-96.
- [11] 辛国荣,岳朝阳,李雪梅,等. “黑麦草-水稻”草田轮作系统的根际效应. II. 冬种黑麦草对土壤物理化学性状的影响[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 1998, 37(5): 78-82.
XIN Guorong, YUE Chaoyang, LI Xuemei, et al. Study on the rhizosphere effects of Italian ryegrass in “Italian ryegrass-rice” rotation system. II. Effects of Italian ryegrass cultivation in winter on the physical and the

- chemical characteristics of paddy soil[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 1998, 37(5): 78-82.
- [12] CHAE J K, KIM Y D, PARK T. Growth and yield of rice after Italian ryegrass cultivation in paddy field [J]. *Journal of Agricultural Science*, 1993, 35(2): 32-40.
- [13] 牛灵安, 郝晋珉. 黑麦草培肥细质沙土的初步研究[J]. *土壤通报*, 2004, 35(6): 735-738.
NIU Ling'an, HE Jingmin. Study on the fertilization effects of Italian ryegrass on sandy soils [J]. *Chinese Soil Bulletin*, 2004, 35(6): 735-738.
- [14] 方勇, 朱森林. 种植黑麦草对改良南方红壤的效果[J]. *内蒙古农业科技*, 2005, (1): 11-12.
FANG Yong, ZHU Senlin. Improvement effects of Italian ryegrass cultivation on red soil in Southern China [J]. *Journal of Inner Mongolia Agriculture Science and Technology*, 2005, (1): 11-12.
- [15] 李玉元, 张桂荣. 草地效益研究—以“黑麦草-水稻”轮作为例[J]. *广西农业生物科学*, 2000, 19(1): 59-63.
- LI Yuyuan, ZHANG Guirong. Study on the benefits of grassland: A case of “Italian ryegrass - rice” rotation system [J]. *Journal of Guangxi Agro-biology Science*, 2000, 19(1): 59-63.
- [16] MAUGH T H. New chemicals promise larger crops [J]. *Science*, 1981, 212: 33-34.
- [17] RIES S K, WERT V, SWEELY C C, et al. Triacintanol: a new naturally occurring plant growth regulator [J]. *Science*, 1977, 195: 1339-1341.
- [18] SAIKI H, YONED A K. Possible dual roles of an allelopathic compound, cis-dehydromatricaria ester [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1981, 8: 185-193.
- [19] GIULIANO B, MARIA, G S, SILVIA C, et al. Phytotoxicity dynamics of decaying plant materials [J]. *New Phytologist*, 2006, 169: 571-578.
- [20] CHON S U, CHOI S K, JUNG S. Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass [J]. *Crop Protection*, 2002, 21(10): 1077-1082.

The Rhizosphere Effects in “Italian Ryegrass - Rice” Rotational System.

V. Evidences for the Existence of Rice Stimulators in Decaying Products of Italian Ryegrass Residues

LI Guo-xi^{1,2}, LI Hou-jin³, YANG Zhong-yi², XIN Guo-rong², TANG Xiang-ru¹, YUAN Jian-gang²

(1. College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. State Key Laboratory of Biocontrol//School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

3. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: As regards the mechanism of yield increase of subsequent rice brought by Italian ryegrass winter cropping, previous studies laid strong emphasis on the improvement of the physical, chemical and biological properties of paddy soil due to the Italian ryegrass cultivation. In order to prove that some rice stimulators may present in the decaying Italian ryegrass residues, a series of bioassays have been proceeded in the present study. The results showed that the decomposition products of Italian ryegrass residue significantly promoted the growth of rice seedlings. Comparing with control, average dry weight of root, shoot and the whole plant of rice seedlings treated with water extract of decaying Italian ryegrass residues were increased by 41.9%, 42.6% and 42.3%, respectively. The ethyl acetate and the *n*-Butyl alcohol extract of the decomposition product of those residues also possessed significant stimulative effects on the elongation of root and shoot of rice seedlings. Soil microorganisms play important role in the bioactivity of those extracts. Furthermore, four fractions with stimulative effect on rice growth were isolated from the decomposition product of Italian ryegrass residues by a method of column chromatography. It is therefore deduce that some rice stimulators are present in the decaying Italian ryegrass residues.

Key words: *Lolium multiflorum*; rice; residues; soil microorganism; bioactive substance; rotation