

N-苯基-2-萘胺和邻苯二甲酸对生菜内源激素及碳氮代谢的影响

郭伟¹, 孙海燕^{2,*}, 王炎³

黑龙江八一农垦大学¹农学院/寒地作物种质改良与栽培重点实验室, ²测试中心, 黑龙江大庆163319; ³哈尔滨工业大学化工与化学学院, 哈尔滨150001

摘要: 为明确辣椒(*Capsicum annuum*)根系分泌的潜在化感物质对生菜(*Lactuca sativa*)幼苗内源激素及碳氮代谢的影响, 分别采用5、10、15、20和25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的N-苯基-2-萘胺(P2NA)和邻苯二甲酸(PA)与1/2Hoagland营养液混合胁迫处理生菜幼苗, 测定可溶性蛋白质、可溶性糖、内源激素含量以及碳氮代谢关键酶活性, 以期丰富辣椒根系分泌物化感机制研究。结果表明: 随着化感物质浓度的增加, 生菜幼苗根系长度显著降低, 根系活力提高; 叶片可溶性蛋白质含量逐渐增加, 而谷氨酰氨合成酶(GS)活性逐渐降低; 蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性、蔗糖合酶(SS)活性和可溶性糖含量随着处理浓度的增加呈单峰曲线分布; 在0~15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内, 随着处理浓度的增加, 生长素(IAA)和赤霉素(GA)含量逐渐降低, 脱落酸(ABA)含量逐渐增加, 超过15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 结果相反。PA处理的ABA含量和碳代谢活性高于P2NA处理, 两者的内源激素含量存在显著的互作效应, 而碳、氮代谢和鲜重互作不显著。20和25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的PA和P2NA处理增加了生菜鲜重。影响ABA和GA含量可能是P2NA和PA引起生菜幼苗化感效应的一个重要途径。

关键词: 辣椒; 根系分泌物; 化感作用; 碳代谢; 氮代谢; 植物激素

化感作用(allelopathy)是指一种植物分泌的化学成分对另一种或多种植物造成的直接或间接的影响(Macias 2007), 作物连作障碍中植物毒素积累就是典型的化感作用(Bogatek等2006)。尽管轮作可以作为消除连作障碍的有效途径, 但前茬作物的根系分泌物还是有可能对后茬作物造成不利影响(Dhima等2012)。辣椒(*Capsicum annuum*)作为化感研究的重要植物, 其次生代谢产物被认为是最具潜力的生物杀虫剂(Scott等2002; Siddiqui 2007)。其中, 酚类物质作为重要的次生代谢产物具有多项生物功能, 可以降低其他植物叶片水势、气孔导度和光合速率(Booker等1992; Materska等2003)。N-苯基-2-萘胺(N-phenyl-2-naphthylamine, P2NA)和邻苯二甲酸(phthalic acid, PA)是辣椒根系分泌的两种潜在化感物质(Sun等2013)。藻类细胞对P2NA的敏感性极高, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ P2NA能显著抑制藻类细胞的生长(Altenburger等2006), 大于500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 拟柱胞藻(*Cylindrospermopsis raciborskii*)的叶绿素a含量显著降低, 光系统II (photosystem II, PSII)有活性的反应中心减少, 电子传递受到阻碍, 光合效率下降, 而低于500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 能提高拟柱胞藻的光合效率(刘瑞等2015)。250 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ P2NA有助于青菜(*Brassica rapa*)植株的生长, 同时增加了其体内抗坏血酸(ascorbate, AsA)-谷胱甘肽(glutathione, GSH)代谢循环, 提高了抗氧化防御能力(薛延丰等2013)。PA作为重要的化感物质(甄文超等2004), 浓度大于

1.0 $\times 10^{-4}$ mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 时降低模式植物的抗氧化酶活性, 引起细胞膜损伤, 从而降低光合酶活性, 是其重要的化感机制(耿广东等2008)。P2NA和PA处理浓度与生菜(*Lactuca sativa*)叶片GSH的含量高度相关, 并影响了其抗氧化酶系的活性(孙海燕和王炎2012)。然而, 关于化感物质对植物生理效应的研究较少, 本研究以化感作用模式植物生菜为受体(Sun等2013), 研究了辣椒分泌的潜在化感物质P2NA和PA对生菜内源激素含量和碳、氮代谢的影响, 对其化感机制进行探讨, 以期为蔬菜生产中生防制剂的开发、应用提供参考。

材料与方法

1 实验材料与设计

将取自黑龙江省农业科学院大庆分院的生菜(*Lactuca sativa* L.)种子, 用10% (V/V)的双氧水溶液漂洗30 min, 再用蒸馏水反复冲洗5次, 然后将种子均匀摆放在铺有两层滤纸的发芽盒中, 在培养箱中20 $^{\circ}\text{C}$ 培养15 d。选取整齐一致的幼苗转移到自制的循环水培系统中, 处理期间幼苗数量和溶液体积一致, 每天18 h 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照、6 h黑暗条件下1/2Hoagland营养液培养20 d, 营养液pH

收稿 2016-09-22 修定 2017-01-01

资助 国家自然科学基金(31470489)。

* 通讯作者(E-mail: shysun7908@126.com)。

6.5、电导率 $0.5 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, 每10天更换一次培养液。

P2NA和PA是辣椒(*Capsicum annuum* L.)根系分泌的两种潜在化感物质(Sun等2013), 将P2NA和PA的外源物质分别用少量甲醇溶解后, 用1/2Hoagland营养液分别配成0、5、10、15、20和 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准溶液。

将培养20 d后的生菜幼苗, 分别用溶有不同剂量P2NA、PA以及两者混合(P2NA:PA=3:2, 辣椒根系分泌物中实际测定比例约为3:2, 代号PNP)的营养液胁迫培养7 d, P2NA、PA和PNP的处理浓度为0、5、10、15、20和 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 3次重复。

2 测定项目与方法

2.1 测定项目

胁迫7 d后, 用镊子和剪刀取生菜幼苗根系鲜样, 用于根系活力和根长测定; 叶片鲜样用千分之一电子天平称量后用液氮速冻, -80°C 条件下保存。

2.2 测定方法

在室温 $21\sim 23^\circ\text{C}$ 条件下, 分别采用甲烯蓝吸附法测定根系活力, 蒽酮-硫酸比色法测定总可溶性糖(total soluble sugars, TSS)含量, 考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白(soluble protein, SP)含量, 分光光度法测定蔗糖合成酶(sucrose synthase, SS)、蔗糖磷酸合成酶(sucrose phosphate synthase, SPS)和谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)活性(高俊凤2006)。

称取(0.500 ± 0.002) g生菜叶片, 加入少量预冷的80% (V/V)甲醇研磨至匀浆, 用80%甲醇定容至25 mL, 在 4°C 条件下振荡浸提24 h, 残渣用5 mL 80%甲醇洗涤两次, 合并上清液于 40°C 减压至原体积的1/3, 再用 $30\sim 60^\circ\text{C}$ 沸程的等体积石油醚脱色两次, 然后加入0.5 g聚乙烯吡咯烷酮, 振荡30 min, 过滤, 滤液调至pH 3, 用等体积乙酸乙酯萃取3次。合并酯相, 40°C 减压蒸干, 用流动相溶解并定容至5 mL, 溶液用 $0.45 \mu\text{m}$ 的滤膜过滤, 用高效液相色谱法测定生长素(auxin, IAA)、脱落酸(abscisic acid, ABA)与赤霉素(gibberellins, GA)的含量, 液相色谱条件为: Waters C_{18} 反相色谱柱; 流动相为甲醇:水:乙酸=45:54:1; 柱温 35°C ; 流速为 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量为 $10 \mu\text{L}$; 外标法定量测定, 其中IAA的检测波长为280 nm, ABA和GA的检测波长为254 nm。

3 数据处理与统计分析

所有的数据采用Excel 2007进行方差分析处

理, 结果以3次测量的算术平均值表示, Duncan's多组样本间差异显著性($P<0.05$)分析; 图表采用Excel 2007绘制。

实验结果

1 潜在化感物质对生菜幼苗生长及内源激素的影响

由图1可知, 较低浓度($5\sim 15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的潜在化感物质P2NA与PA降低了生菜幼苗叶片中IAA含量; 随着潜在化感物质浓度增大($>15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 叶片IAA含量增加, 但仍低于对照。其中, 同一浓度下P2NA处理的叶片IAA含量始终低于PA处理, 两者混合处理(PNP)的IAA含量在 $5\sim 15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内与P2NA单独处理相似, 超过 $15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 则低于P2NA或PA处理。每种处理方式中, $15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下的IAA含量均为最低。

由图2可知, 潜在化感物质显著增加了生菜幼苗叶片中ABA的含量, 其中, P2NA处理的叶片ABA含量分别高于PA处理, 两者混合处理下的ABA含量最高。随着潜在化感物质浓度的增加, 叶片ABA含量先增加后降低, 峰值处理均为 $15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 且所有浓度处理的ABA含量均高于对照。叶片ABA含量的分布规律与IAA含量分布相反。

由图3可知, 随着潜在化感物质浓度的增加, 生菜幼苗叶片GA的含量先迅速降低后略增加。PA处理浓度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时GA含量最低, 而P2NA和两者混合处理时, GA含量最低值均出现在在 $15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的浓度下, 其中, PA处理的叶片GA含量高于P2NA处理, 两者混合的GA含量低于两者单独处理, 各浓度处理的GA含量均低于对照。

在潜在化感物质作用下生菜根系活力显著提高(图4), 其中PA处理下的根系活力大于相同浓度的P2NA处理。

由图5可知, 在低浓度($5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的潜在化感物质处理下生菜的根长略有增加, 而处理浓度 $\geq 10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 后, 随着处理浓度的增加根长缩短, PA处理降幅更大; 相同浓度下P2NA处理的根长大于P2NA和PA混合处理, 以及PA单独处理。

随着潜在化感物质浓度的增加, 生菜幼苗叶片的植株鲜重先降低后增加, 其中P2NA和PA的 20 、 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理的鲜重高于对照; $10\sim 25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内, 每个浓度PA处理鲜重略高于P2NA和PNP处理, 但差异不显著(图6)。

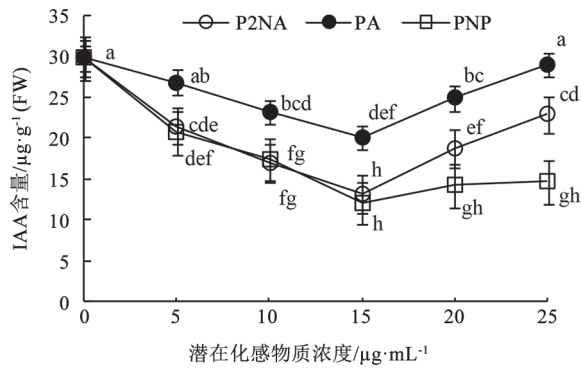


图1 潜在化感物质对生菜幼苗叶片IAA含量的影响
Fig.1 Effects of potential allelochemicals on IAA content in lettuce seedling leaves

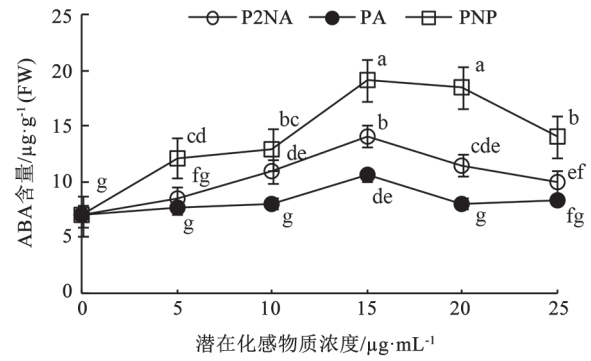


图2 潜在化感物质对生菜幼苗叶片ABA含量的影响
Fig.2 Effects of potential allelochemicals on ABA content in lettuce seedling leaves

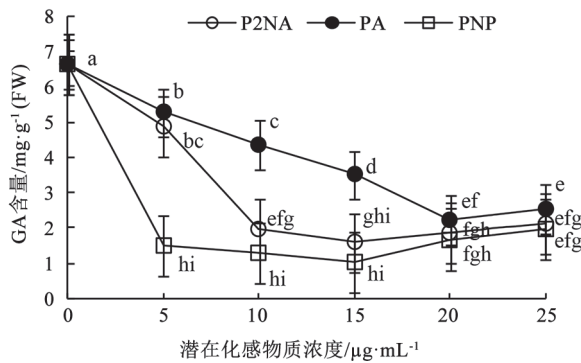


图3 潜在化感物质对生菜幼苗叶片GA含量的影响
Fig.3 Effects of potential allelochemicals on GA content in lettuce seedling leaves

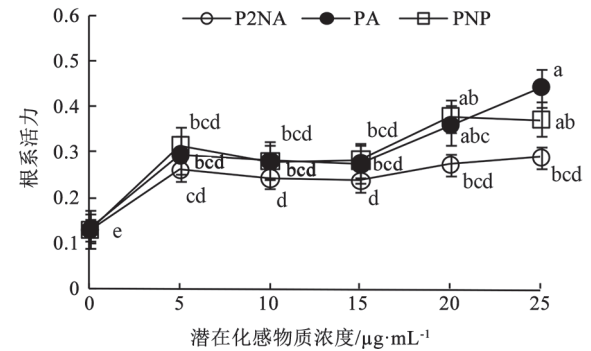


图4 潜在化感物质对生菜根系活力的影响
Fig.4 Effects of potential allelochemicals on activity of lettuce roots

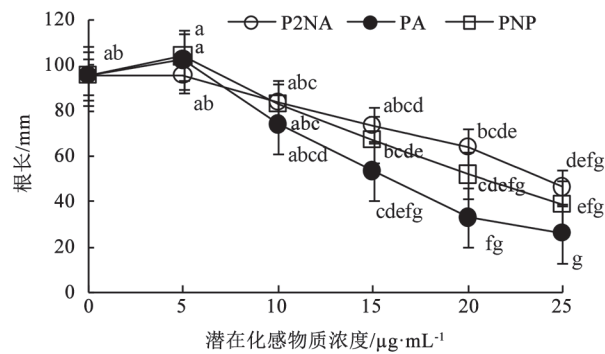


图5 潜在化感物质对生菜根系长度的影响
Fig.5 Effects of potential allelochemicals on lettuce root length

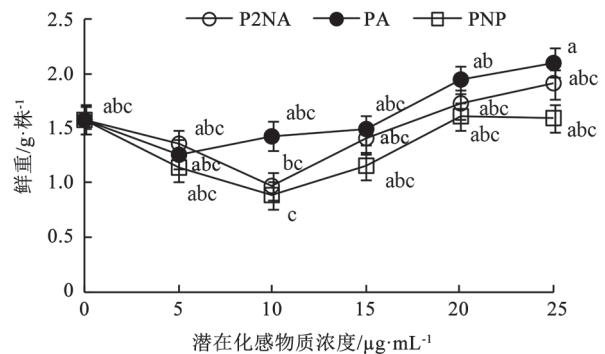


图6 潜在化感物质对生菜植株鲜重的影响
Fig.6 Effects of potential allelochemicals on plant fresh weight of lettuce

2 潜在化感物质对生菜碳氮代谢的影响

由图7可知, 潜在化感物质提高了生菜叶片SP含量, 并随着化感物质浓度的增加, SP含量逐渐增

加; 其中, PA处理的叶片SP含量大于P2NA处理的, 两者混合处理的SP含量大于各自单独处理的, 且所有处理的SP含量均高于对照。

由图8可知,随着潜在化感物质P2NA与PA处理浓度的增加,生菜叶片TSS含量呈单峰曲线分布,峰值均出现在 $10\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,两者混合处理的TSS含量大于两者单独处理,且在 $5\sim 20\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内各处理的TSS含量均高于对照。

由GS与潜在化感物质浓度的关系(图9)可知,随着潜在化感物质浓度的增加,GS活性逐渐降低,且均低于对照处理;在相同的处理浓度下,PA处理的GS活性低于P2NA处理,两者混合处理的酶活性在 $15\sim 25\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内低于各自单独处理。

由图10可知,潜在化感物质P2NA与PA均提高了生菜叶片SPS活性,随着潜在化感物质浓度的增加,SPS活性出现波动,且P2NA处理的SPS活性高于PA处理。由图11可知,P2NA和PA分别处理的SS活性变化呈单峰曲线,峰值浓度为 $15\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,且

PA处理的SS活性高于P2NA。P2NA与PA混合处理时,增加了生菜叶片SPS活性,SPS活性介于二者单独作用之间,但降低了SS活性(图10和11)。

促进蔗糖合成的SPS与促进蔗糖分解的SS的活性比值变化,在一定程度上可以反映出生菜叶片碳代谢对潜在化感物质的响应程度。由潜在化感物质浓度与SPS/SS的关系(图12)可知,P2NA与PA各自单独作用时,P2NA比PA更利于蔗糖的合成,当二者混合时对蔗糖的合成具有一定的叠加效应。随着潜在化感物质浓度的增加,蔗糖合成的强度降低。当潜在化感物质浓度大于 $10\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,叶片蔗糖含量降低的主要原因是SPS活性的降低,尽管蔗糖分解酶SS活性随着浓度的增加也随之降低,但SPS降低幅度更大,所以SPS/SS活性比值降低。

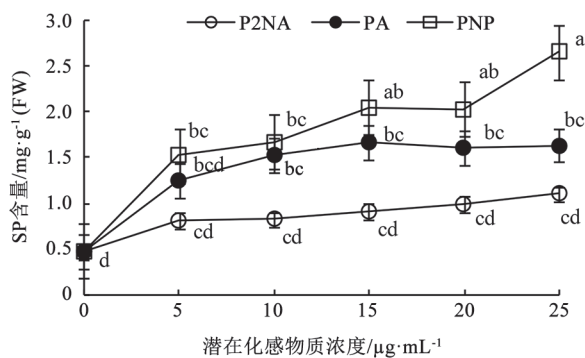


图7 潜在化感物质对生菜叶片SP含量的影响

Fig.7 Effects of potential allelochemicals on SP content in lettuce leaves

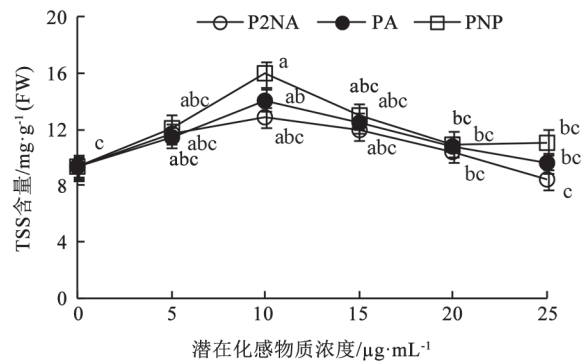


图8 潜在化感物质对生菜叶片TSS含量的影响

Fig.8 Effects of potential allelochemicals on TSS content in lettuce leaves

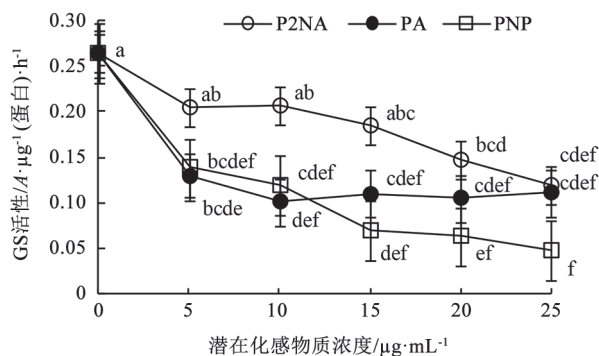


图9 潜在化感物质对生菜叶片GS活性的影响

Fig.9 Effects of potential allelochemicals on GS activity in lettuce leaves

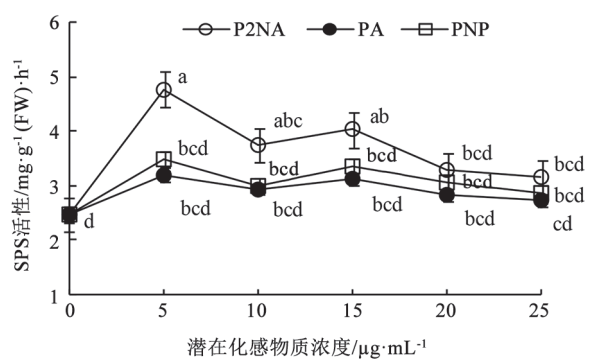


图10 潜在化感物质对生菜叶片SPS活性的影响

Fig.10 Effects of potential allelochemicals on SPS activity in lettuce leaves

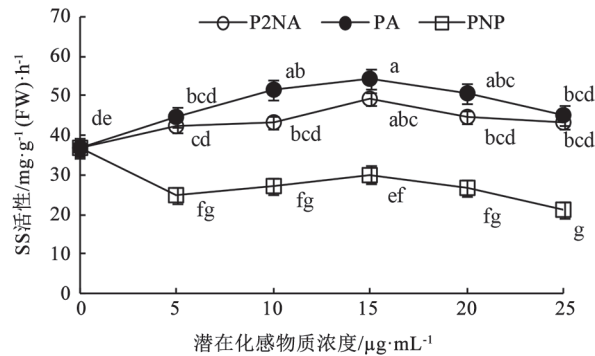


图11 潜在化感物质对生菜叶片SS活性的影响

Fig.11 Effects of potential allelochemicals on SS activity in lettuce leaves

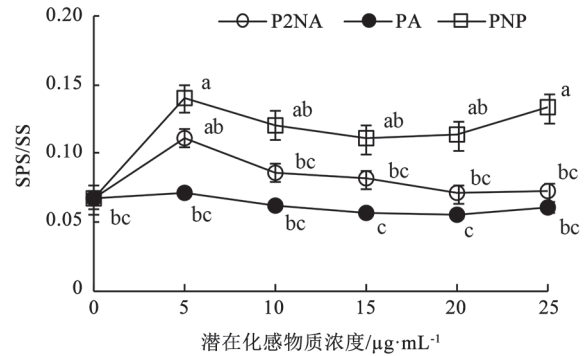


图12 潜在化感物质对生菜叶片SPS/SS的影响

Fig.12 Effects of potential allelochemicals on SPS/SS ratio in lettuce leaves

讨 论

通过调控植物激素的合成与代谢影响植物生长是化感作用的重要途径(Couée等2013)。通过内源激素与碳氮代谢、根系生长的相关分析(表1)可知:化感物质P2NA和PA作用下,生菜植株SP含量显著增加,提高了根系活力(两者相关系数0.698),这可能是ABA含量抑制GS活性的结果(ABA含量与GS活性显著负相关,与SP显著正相关)。化感物质通过基因调控促进ABA合成,抑制ABA降解,从而增加受体植物的ABA含量(Chi等2011),同时,GA合成受阻(杨梅等2011)。本研究中化感物质P2NA和PA处理的ABA含量均高于对照,随着处理浓度的增加呈单峰曲线,峰值处理为15 μg·mL⁻¹,而IAA和GA的含量均低于对照,且随处理浓度先降低后增加,最低值分别为15和20 μg·mL⁻¹。可见,ABA含量的变化影响了IAA的合成(两者显著负相关),进而调控GA含量(GA与IAA显著正相关,而与ABA显著负相关)。而GA含量的降低是SP含量增

加的另一诱因,是TSS含量降低的主因(TSS含量与GA含量显著正相关)。杨梅等(2011)对邻羟基苯甲酸胁迫的研究表明,GA合成的阻碍作用随着化感物质浓度降低而逐渐减小,当GA浓度降低到一定程度以后,GA合成与降解系统会做出积极响应。大量研究认为在环境胁迫条件下,植物通过激活ABA的合成及抑制其降解,增加ABA含量,从而提高抗逆性(吴耀荣和谢旗2006;李保珠等2012;杨东清等2014)。综上分析,P2NA和PA可能是通过调控ABA和GA含量而引起生菜幼苗的化感效应的。

糖作为重要的信号分子被植物细胞感知,广泛地参与植物代谢调控(Gupta等2005;何亚飞等2016),蔗糖水平的提高在转录水平上促进叶片硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)表达,显著提高叶片中GS活性(Stoimenova等2003a, b)。常丽丽等(2016)关于外源蔗糖对生菜碳氮代谢的影响研究表明,外加蔗糖处理可以缓解由NO₃⁻引起的生长抑制,提高NR和GS活性。本研究中TSS含量与ABA、GA和SP含量以及根系的生长均显著相关,

表1 内源激素与碳氮代谢、根系生长的相关分析

Table 1 Analysis of correlation coefficient between endogenous hormone, carbon and nitrogen metabolism and root growth

	IAA	GA	GS	SP	TSS	根活力	根长
ABA	-0.669*	-0.610*	-0.728*	0.762*	-0.728*	0.406	-0.361
IAA	1.000	0.761*	0.487	-0.464	0.487	-0.241	0.203
GA	0.761*	1.000	0.671*	-0.585*	0.671*	-0.512*	0.432
GS	0.487	0.671*	1.000	-0.852*	0.998*	-0.572*	0.516*
SP	-0.464	-0.585*	-0.852*	1.000	-0.852*	0.698*	-0.384
TSS	0.487	0.671*	0.998*	-0.852*	1.000	-0.572*	0.516*

*为显著水平($P < 0.05$)。

可见,通过调控ABA和GA含量影响糖信号传导可能是P2NA和PA化感效应的重要途径。但本研究中蔗糖代谢关键酶SPS和SS活性与TSS含量、各激素含量均相关不显著,化感物质P2NA和PA是如何调控生菜植株糖代谢的?还需进一步研究。

参考文献

- Altenburger R, Brack W, Greco WR, Grote M, Jung K, Ovari A, Riedel J, Schwab K, Küster E (2006). On the mode of action of *N*-phenyl-2-naphthylamine in plants. *Environ Sci Technol*, 40 (19): 6163–6169
- Bogatek R, Gniazdowska A, Zakrzewska W, Oracz K, Gawronski SW (2006). Allelopathic effects of sunflower extracts on mustard seed germination and seedling growth. *Biol Plant*, 50 (1): 156–158
- Booker FL, Blum U, Fiscus EL (1992). Short-term effects of ferulic acid on ion uptake and water relations in cucumber seedlings. *J Exp Bot*, 43 (5): 649–655
- Chang L, Liao Z, Chen R, Liu H, Song S, Sun G (2016). Effect of exogenous sucrose on nitrogen and carbon metabolism of lettuce under NO_3^- stress. *North Hortic*, (1): 10–15 (in Chinese with English abstract) [常丽丽, 廖宗文, 陈日远, 刘厚诚, 宋世威, 孙光闻(2016). 外源蔗糖对 NO_3^- 胁迫下叶用莴苣碳氮代谢的影响. *北方园艺*, (1): 10–15]
- Chi WC, Fu SF, Huang TL, Chen YA, Chen CC, Huang HJ (2011). Identification of transcriptome profiles and signaling pathways for the allelochemical juglone in rice roots. *Plant Mol Biol*, 77: 591–607
- Couée I, Serra AA, Ramel F, Gouesbet G, Sulmon C (2013). Physiology and toxicology of hormone-disrupting chemicals in higher plants. *Plant Cell Rep*, 32: 933–941
- Dhima K, Vasilakoglou I, Paschalidis K, Gatsis T, Keco R (2012). Productivity and phytotoxicity of six sunflower hybrids and their residues effects on rotated lentil and ivy-leaved speedwell. *Field Crops Res*, 136: 42–51
- Gao J (2006). *Plant Physiology Experiment Guide*. Beijing: Higher Education Press (in Chinese) [高俊凤. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社]
- Geng GD, Zhang SQ, Cheng ZH (2008). Allelopathy of 1,2-benzenedicarboxylic acid and its mechanism. *J Hunan Agric Univ-Nat Sci*, 34 (6): 656–659 (in Chinese with English abstract) [耿广东, 张素勤, 程智慧(2008). 邻苯二甲酸对莴苣的化感作用及其作用机理. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 34 (6): 656–659]
- Gupta AK, Kaur N (2005). Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. *J Biosci*, 30: 761–776
- He YF, Li X, Xie YF (2016). Research progress in sugar signal and its regulation of stress in plants. *Plant Physiol J*, 52 (3): 241–249 (in Chinese with English abstract) [何亚飞, 李霞, 谢寅峰(2016). 植物中糖信号及其对逆境调控的研究进展. *植物生理学报*, 52 (3): 241–249]
- Li BZ, An GY, Han S (2012). Function and signaling of plant hormone ABA under water stress. *Plant Physiol J*, 48 (1): 11–18 (in Chinese with English abstract) [李保珠, 安国勇, 韩栓(2012). 植物激素ABA在水分胁迫下的功能及信号途径. *植物生理学报*, 48 (1): 11–18]
- Liu R, Bai F, Ran XF, Yang YJ, Yang SQ, Shi JQ, Wu ZX (2015). Effect of *N*-phenyl-2-naphthylamine on the growth, antioxidative enzyme and PSII in *Cylindrospermopsis Raciborskii*. *Acta Hydrobiol Sin*, 39 (4): 774–781 (in Chinese with English abstract) [刘瑞, 白芳, 冉小飞, 杨燕君, 杨宋琪, 施军琼, 吴忠兴(2015). *N*-苯基-2-萘胺对拟柱胞藻生长、抗氧化酶及光合系统II的影响. *水生生物学报*, 39 (4): 774–781]
- Macías FA, Molinillo JMG, Varela RM, Galindo JCG (2007). Allelopathy—a natural alternative for weed control. *Pest Manag Sci*, 63 (4): 327–348
- Materska M, Piacente S, Stochmal A, Pizza C, Oleszek W, Perucka I (2003). Isolation and structure elucidation of flavonoid and phenolic acid glycosides from pericarp of hot pepper fruit *Capsicum annum L.* *Phytochemistry*, 63: 893–898
- Scott IM, Puniani E, Durst T, Phelps D, Merali S, Assabgui RA, Sánchez-Vindas P, Poveda L, Philogène BJR, Arnason JT (2002). Insecticidal activity of *Piper tuberculatum* Jacq. extracts: synergistic interaction of piperamides. *Agric Forest Entomol*, 4: 137–144
- Siddiqui ZS (2007). Allelopathic effects of black pepper leachings on *Vigna mungo* (L.) Hepper. *Acta Physiol Plant*, 29 (4): 303–308
- Stoimenova M, Hänsch R, Mendel R, Gimmler H, Kaiser WM (2003a). The role of nitrate reduction in the anoxic metabolism of roots I. Characterization of root morphology and normoxic metabolism of wild type tobacco and a transformant lacking root nitrate reductase. *Plant Soil*, 253 (1): 145–153
- Stoimenova M, Libourel IGL, Ratcliffe RG, Kaiser WM (2003b). The role of nitrate reduction in the anoxic metabolism of roots II. Anoxic metabolism of tobacco roots with or without nitrate reductase activity. *Plant Soil*, 253 (1): 155–167
- Sun HY, Wang Y (2012). Effect of root exudated potential allelochemicals in hot pepper (*Capsicum annum L.*) on antioxidative metabolism for lettuce (*Lactuca sativa L.*). *Plant Physiol J*, 48 (9): 887–894 (in Chinese with English abstract) [孙海燕, 王炎(2012). 辣椒根系分泌的潜力化感物质对生菜幼苗抗氧化代谢的影响. *植物生理学报*, 48 (9): 887–894]
- Sun HY, Wang Y (2013). Hollow fiber liquid-phase microextraction with in situ derivatization combined with gas chromatography–mass spectrometry for the determination of root exudated phenylamine compounds in hot pepper (*Capsicum annum L.*). *J Agric Food Chem*, 61: 5494–5499
- Wu Y, Xie Q (2006). ABA and plant stress response. *Chin Bull Bot*, 23 (5): 511–518 (in Chinese with English abstract) [吴耀荣, 谢旗(2006). ABA与植物胁迫抗性. *植物学通报*, 23 (5): 511–518]
- Xue YF, Feng HF, Shi ZQ, Yan SH (2013). Effects of *N*-phenyl-2-naphthylamine on the growth and AsA-GSH circulation metabolism in Chinese cabbage. *Acta Agric Boreali-Sin*, 28 (2): 191–196 (in Chinese with English abstract) [薛延丰, 冯慧芳, 石志琦, 严少华(2013). *N*-苯基-2-萘胺对青菜生长及AsA-GSH循环影响研究. *华北农学报*, 28 (2): 191–196]

Yang DQ, Li YL, Ni YL, Yin YP, Yang WB, Cui ZY, Zhang YT, Ma RY, Wang ZL (2014). Effects of exogenous ABA and 6-BA on protein content and grain filling process in different types of stay-green wheat. *Acta Agron Sin*, 40 (2): 301–312 (in Chinese with English abstract) [杨东清, 李玉玲, 倪英丽, 尹燕桦, 杨卫兵, 崔正勇, 张永太, 马仁元, 王振林(2014). 外源ABA和6-BA对不同持绿型小麦籽粒灌浆进程及蛋白质含量影响. *作物学报*, 40 (2): 301–312]

Yang M, Cao GQ, Huang YH, Lin SZ (2011). Allelopathic effect of salicylic acid on endogenous hormone content in Chinese fir

clone. *Chin J Eco-Agric*, 19 (1): 124–129 (in Chinese with English abstract) [杨梅, 曹光球, 黄燕华, 林思祖(2011). 邻羟基苯甲酸对不同化感型杉木无性系内源激素含量的化感效应. *中国生态农业学报*, 19 (1): 124–129]

Zhen WC, Wang XY, Kong JY, Cao KQ (2004). Determination of phenolic acids in root exudates and decomposing products of strawberry and their allelopathy. *J Agric Univ Hebei*, 27 (4): 74–78 (in Chinese with English abstract) [甄文超, 王晓燕, 孔俊英, 曹克强(2004). 草莓根系分泌物和腐解物中的酚酸类物质及其化感作用. *河北农业大学学报*, 27 (4): 74–78]

Effects of *N*-phenyl-2-naphthylamine and phthalic acid on endogenous hormones and carbon-nitrogen metabolism of lettuce

GUO Wei¹, SUN Hai-Yan^{2*}, WANG Yan³

¹College of Agronomy / Key Laboratory of Crop Germplasm Improvement and Cultivation in Cold Regions, ²Test Centre, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China; ³School of Chemistry and Chemical Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, China

Abstract: The purpose of this paper is to elucidate effects of potential allelochemicals extracted from hot pepper (*Capsicum annuum*) root on endogenous hormone and carbon-nitrogen metabolism of lettuce (*Lactuca sativa*). Lettuce was treated with 5, 10, 15, 20 and 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of *N*-phenyl-2-naphthylamine (P2NA) and phthalic acid (PA) mixed with 1/2Hoagland nutrient solution. Soluble protein, soluble sugar, endogenous hormone contents and carbon-nitrogen metabolism enzymes of lettuce leave were sampled and determined in order to explore allelopathy mechanism of root exudates of hot pepper. The results show that P2NA and PA stimulated activity of roots, and significantly decreased root length. Soluble protein content of lettuce leaves gradually increased, however, glutamine synthetase activity decreased with increasing concentration. Sucrose phosphate synthase and sucrose synthase activities and soluble sugar content showed a single-peak curve. Auxin and gibberellin (GA) contents gradually decreased, and abscisic acid (ABA) content increased with increasing treatment concentration below 15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; the content was contrary to the above results, when the concentration exceeded 15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. ABA content and carbon-nitrogen metabolism activity of PA treatment were higher than those of P2NA treatment, and endogenous hormone content of PA and P2NA treatment showed significant interaction effect, however, there was no significant interaction between carbon-nitrogen metabolism and fresh weight. The treatment of 20 or 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ PA and P2NA promoted lettuce fresh weight. The allelopathic effects of P2NA and PA may be caused by regulation of ABA and GA contents of lettuce seedlings.

Key words: hot pepper; root exudates; allelopathy; carbon metabolism; nitrogen metabolism; phytohormone

Received 2016-09-22 Accepted 2017-01-01

This study was supported by the Natural Science Foundation of China (Grant No. 31470489).

*Corresponding author (E-mail: shysun7908@126.com).