

铝胁迫下大豆根系分泌物对根际土壤微生态的影响*

金婷婷 刘 鹏[†] 黄朝表 王 芳 徐根娣 黄佩娜

(浙江师范大学植物学实验室, 浙江金华 321004)

摘 要 通过对 19 个不同基因型大豆品种的耐铝性筛选实验, 选择耐铝型的浙春 2 号和敏感型的浙春 3 号作为实验材料; 设置 5 个铝处理浓度 (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 g kg⁻¹, 即土壤总 Al³⁺ 浓度分别为 0.293, 0.493, 0.693, 0.893, 1.093 g kg⁻¹) 土壤, 大棚种植大豆 30d 后, 取大豆根际、非根际土壤和外源根系分泌物作用下的土壤样品, 对各类微生物生理群进行分析, 同时测定土壤呼吸速率、纤维分解作用、氨化作用、硝化作用, 以及酸性磷酸酶、过氧化氢酶和蔗糖酶等土壤重要酶类的活性。结果显示, 土壤铝含量较低条件下 (0.2, 0.4 g kg⁻¹), 大豆根系分泌物的应激分泌促使土壤微生物数量增多、微生物物质转化能力增强和土壤酶活性增大; 土壤铝含量较高 (0.8 g kg⁻¹) 时, 根系分泌物的分泌相对受抑制, 土壤微生物活性和土壤酶活性相应地受到抑制。实验结果还表明, 外源根系分泌物也能影响土壤微生态, 引起土壤微生物数量和土壤酶活性的变化, 以及各种土壤生化作用 (如硝化作用等) 的改变, 显示出一定的缓解铝毒能力, 从而减少铝毒对植物的伤害。

关键词 铝胁迫; 大豆; 根系分泌物; 微生物; 生化作用; 土壤酶

中图分类号 S154.4

文献标识码 A

根际环境是土壤中一个特殊的生态环境, 不少研究发现根际土壤微生物在数量和类型上都比非根际土壤多, 它们在根际土壤中的繁殖和分布受根系生长发育的影响而表现出较为明显的根际效应^[1,2], 因而根际土壤微生态的研究备受关注。其中, 土壤微生物和土壤酶是影响土壤微生态系统的两个重要因素: 土壤微生物参与土壤微生态环境的能量流动和物质循环, 其物质转化能力 (呼吸作用、纤维分解作用和硝化作用等) 直接影响植物的生长发育, 是土壤肥力的重要指标之一; 土壤酶参与土壤中许多重要的生化过程, 可在一定程度上反映土壤的肥力状况^[3]。由于植物根部不同部位分泌作用强度不同, 因而根系分泌物对根际微生物的生态分布提供先决条件⁽¹⁾, 不同植物根际发育着不同种类比例的微生物^[4]。当然根系分泌物除了对根际微生物的数量和种类有影响外, 还对微生物的代谢产生一定的影响^[5]。

豆科植物和根瘤菌之间的共生关系是根系分泌物对微生物特异性作用的典范^[2]。有机酸被普遍认

为是植物根系响应铝胁迫的重要分泌物之一, 在豆科植物中, 分泌的主要有机酸经鉴定为柠檬酸^[6]。研究发现, 在缺磷情况下, 白羽扇豆根系受诱导形成簇生根, 23% 的光合固定碳以柠檬酸形态从簇生根区释放到根际, 这些柠檬酸可降低根际土壤 pH, 提高难溶磷化合物的溶解度^[7]; 而根系分泌物中的酚酸类物质则会对土壤有害微生物的生长起抑制作用^[2]。常学秀等^[8]研究发现根系分泌物可通过改变根际微生物的组成、活性和分泌作用而改变根际环境中金属的数量和活度。此外, 植物根系分泌物对根际微生物的种群密度和数量及生态分布情况都会产生影响, 一些学者已开展了部分研究, 如, 李振高等^[9]研究表明小麦苗期根系分泌物对根际反硝化细菌产生明显的促进效应, 其菌数数量根际明显大于非根际; 也有研究发现, 根际微生物的种类和数量随着根系分泌物的变化而变化^[10,11]。

目前国内外有关环境胁迫下植物根系分泌物的研究主要集中在根系分泌物的种类和数量、分泌物与环境因子的相互联系以及植物体的响应上, 虽然

* 国家科技攻关项目 (2004BA525B06)、国家自然科学基金项目 (30540056) 和浙江省自然科学基金项目 (304186, 303461) 资助

- 通讯作者, Tel: 0579- 2282340; E-mail: pliu99@163.com

作者简介: 金婷婷 (1983~), 女, 浙江乐清人, 硕士研究生, 主要从事植物逆境胁迫生理研究。Tel: 0579- 2299982; E-mail: 1983tingting@163.com

(1) 俞雪辉. 缺铁条件下红三叶草根分泌物与根际微生物的互作效应. 浙江大学硕士学位论文, 2005, 5: 18~ 21

收稿日期: 2006- 10- 31; 收到修改稿日期: 2007- 01- 14

也有一些关于逆境胁迫下根系分泌物对根际微生态影响方面的研究报道, 而铝胁迫下植物根系分泌物对根际微生态影响的研究较为少见, 外源大豆根系分泌物对土壤微生态影响的研究则未见相关报道。通过比较研究铝胁迫下大豆根系分泌物与外源根系分泌物对土壤微生态的影响, 有助于揭示根系分泌物与土壤微生态的相互作用过程。因此本研究选取耐铝和铝敏感大豆品种, 设置不同铝浓度土壤, 大棚种植, 直接获取大豆根际土壤以及间接外源大豆根系分泌物处理, 来比较研究铝胁迫下大豆根系分泌物对根际土壤微生态(微生物、土壤酶、生化作用)的影响, 为根系分泌物和根际土壤微生态的研究提供新资料, 为进一步探索大豆根系分泌物响应铝胁迫的生理生化作用提供直接证据, 同时也为南方酸铝土壤的综合整治工作提供理论依据。

1 材料与方法

111 供试品种筛选

供筛选的大豆品种为浙江省农业科学院大豆组提供的优质高产大豆浙春 2 号、0722、2DD21240、2DD21264、2DD21261、2DD6256、2DD06097、浙秋 2 号、浙秋 3 号、2DD6157、A1761、2DD6071、2DD21269、0292320、029215、2DD11486、2DD11526、浙春 3 号、华春 18 号 19 个大豆品种。筛选实验参考文献[12], 取各品种大小一致饱满圆润的大豆种子, 待萌发后, 移入含 Al^{3+} 50 Lmol L^{-1} 的营养液中培养 24 h 后, 测定大豆种子的根长, 计算相对伸长率, 经过分析得出对铝耐受性较好的浙春 2 号和对铝较敏感的浙春 3 号大豆品种用于实验。

112 供试土壤

供试土壤为浙江师范大学生物园红壤(0~ 20cm 土层), 土样风干, 过 5 mm 筛, 备用。其基本理化性状为: pH 5.167; 有机质 18.116 g kg^{-1} ; 机械组成: $0.01 \sim 2 \text{ mm}$ 56.82%, $0.001 \sim 0.01 \text{ mm}$ 31.22%, $< 0.001 \text{ mm}$ 11.96%; 氨态氮 29.56 mg kg^{-1} ; 有效磷 11.29 mg kg^{-1} ; 速效钾 72.82 mg kg^{-1} ; 活性铝 0.293 g kg^{-1} ; 容重 1.12 g cm^{-3} ; 孔隙度 54.18%; 阳离子交换量(CEC) $11.05 \text{ cmol kg}^{-1}$ 。各组分测定参考文献[13]。

113 盆栽试验

实验设置 5 个铝处理浓度, 分别为 Al^{3+} (g kg^{-1}): 0 (T_0 , 对照), 0.12 (T_1), 0.14 (T_2), 0.16 (T_3), 0.18

(T_4)。根据底土中的活性铝浓度, 各处理土壤总 Al^{3+} 浓度 (g kg^{-1}) 分别为: 0.1293, 0.1493, 0.1693, 0.1893, 0.1993。铝源为六水合氯化铝($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 分析纯)。

用 $18 \text{ cm} \times 23 \text{ cm}$ 塑料米氏盆, 每盆装风干土 510 kg。按试验设计的铝浓度, 将氯化铝在移苗 7d 前用蒸馏水溶解施入, 然后将土样适度搅拌, 使铝分布均匀。催芽后将长势一致的大豆幼苗移栽塑料米氏盆中, 每盆留苗 10 株; 再设置一组相同铝浓度处理的土壤不种大豆, 为外源根系分泌物处理土壤实验所用。每个处理重复 3 次。在 3 月上旬, 大棚(平均室温 $17 \sim 22 \text{ e}$, 平均日光强 $55 \text{ Lmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)培养 30 d 后, 小心将塑料盆边缘割开, 将全部土壤整理取出, 再用抖根法^[2]获取大豆根际土壤, 同时获取非根际土壤(对照)和外源根系分泌物处理的非根际土壤, 用于研究土壤各类微生物生理群数量、土壤生化作用和土壤酶活性。

外源根系分泌物处理土壤实验, 原位收集法^[14]分别收集各盆栽培养 30 d 后的大豆根系分泌物, 各处理选取 4 株大豆根系采集, 定容至 20 ml, 然后浇灌式倒入不种植大豆的对应铝处理土壤中, 混合均匀。

114 测定方法

11411 土壤各类微生物生理群的测定 细菌、真菌、放线菌分别采用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、马丁氏培养基和改良的高氏一号培养基平板涂布法^[15]; 硝化细菌和反硝化细菌, 采用最大或然数(Most Probable Number MPN)法^[15]; 固氮细菌, 阿西比(Ashby)无氮琼脂培养基平板涂布法^[15]; 土著根瘤菌的数量采用最大或然数(Most Probable Number, MPN)法测定^[15]。菌数以每克干土所含数量表示。

11412 土壤生化作用强度测定 土壤的呼吸作用强度测定采用碱吸收滴定法^[16], 以 $\text{CO}_2 \text{ mg g}^{-1}$ 表示; 土壤纤维分解作用强度采用埋片法^[16], 以 % 表示; 土壤氨化作用强度测定采用康维皿微量扩散分析法^[16], 以 $\text{NH}_4\text{N mg g}^{-1}$ 表示; 硝化作用强度采用溶液培养比色测定法^[16], 以 $\text{NO}_2\text{N mg g}^{-1}$ 表示。

11413 土壤酶活性测定 过氧化氢酶用滴定法^[17], 以 $0.102 \text{ mol L}^{-1} \text{ KMnO}_4 \text{ ml g}^{-1}$ 表示; 蔗糖酶用硫代硫酸钠滴定法^[17], 以 $0.11 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ ml g}^{-1}$ 表示; 淀粉酶用蒽酮比色法^[17], 以 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \text{ mg}$

(2) 陈宏宇. 不同品种和不同茬口大豆根面及根际的微生物群落结构分析. 中国农业大学博士学位论文, 2005

g⁻¹表示;脲酶用奈氏比色法^[17],以NH₃2N Lg g⁻¹表示;土壤酸性磷酸酶活性测定采用比色法^[17],以P₂O₅ Lg g⁻¹ h⁻¹表示。

2 结果与分析

211 铝胁迫下大豆根系分泌物对土壤微生物数量的影响

21111 根系分泌物与细菌、真菌、放线菌的相关性分析 由表1可以看出,非根际土壤(对照)中的细菌、真菌和放线菌的数量与铝浓度呈极显著相关(p < 0101),其决定系数均在019以上,说明铝浓度

显著影响植物根际土壤微生物的数量。外源根系分泌物作用下,铝浓度对非根际土壤中真菌和放线菌数量的决定系数下降至018左右,数量与铝浓度仍呈显著相关(p < 0105),而铝浓度对细菌数量的决定系数下降至013~014范围,已经不存在显著相关性(p>0105)。浙春2号和浙春3号根际土壤的实验结果显示,除个别(浙春2号根系分泌物作用下的真菌)外,根系分泌物作用下根际土壤中的细菌、真菌和放线菌的数量与铝浓度未呈现显著性相关(p > 0105),且铝浓度对细菌数量的决定系数下降至012左右,铝浓度对真菌和放线菌数量的决定系数下降至016~018范围。

表1 铝胁迫下根系分泌物与土壤三大微生物数量变化的相关性
Table 1 Relativity between root exudation and biomass of three groups of microbes under aluminum stress

微生物类型 Microbe type	土样 Soil type	相关方程 Correlation equation	自由度 df	决定系数 R ²	显著程度 Singnificance
细菌 Bacteria	非根际 Non2R	y = - 01 249x+ 11405	3	01925	p< 01 01
	非根际 + Non2R+ 2	y = - 01 478x+ 21951	3	01391	p> 01 05
	非根际 + Non2R+ 3	y = - 01 383x+ 21441	3	01439	p> 01 05
	浙春2根际 Zhedun Nol 2R	y = - 01 692x+ 41486	3	01248	p> 01 05
	浙春3根际 Zhedun Nol 3R	y = 01 697x+ 41185	3	01256	p> 01 05
真菌 Fungi	非根际 Non2R	y = - 01 516x+ 31818	3	01987	p< 01 01
	非根际 + Non2R+ 2	y = - 01 547x+ 51691	3	01806	p< 01 05
	非根际 + Non2R+ 3	y = - 01 412x+ 41486	3	01877	p< 01 05
	浙春2根际 Zhedun Nol 2R	y = 81 778x- 41388	3	01802	p< 01 05
	浙春3根际 Zhedun Nol 3R	y = 61 713x- 11699	3	01713	p> 01 05
放线菌 Actinomycetes	非根际 Non2R	y = - 11 079x+ 61611	3	01954	p< 01 01
	非根际+ Non2R+ 2	y = - 01 993x+ 61929	3	01817	p< 01 05
	非根际+ Non2R+ 3	y = - 01 813x+ 61159	3	01838	p< 01 05
	浙春2根际 Zhedun Nol 2R	y = - 21 017x+ 12159	3	01749	p> 01 05
	浙春3根际 Zhedun Nol 3R	y = - 11 864x+ 11131	3	01689	p> 01 05

注: x 表示铝浓度, y 表示微生物数量; Non2R 表示非根际土壤; Non2R+ 2 表示非根际土壤加入外源浙春2号根系分泌物; Non2R+ 3 表示非根际土壤加入外源浙春3号根系分泌物; Zhedun Nol 2R 表示浙春2号根际土壤, Zhedun Nol 3R 表示浙春3号根际土壤 Note: x stands for alu2minum concentration; y for the quantity of microorganism; Non2R for non2rhizospheric soils; Non2R+ 2 for non2rhizospheric soils with exogenous exudation from Zhedun Nol 2; Non2R+ 3 for non2rhizospheric soils with exogenous exudation from Zhedun Nol 3; Zhedun Nol 2R for rhizospheric soils of Zhedun Nol 2; and Zhedun Nol 3R for rhizosphere soils of Zhedun Nol 3

21112 根系分泌物对固氮菌、根瘤菌、硝化细菌、反硝化细菌的影响 从总体数量上来看(表2),固氮菌>根瘤菌>反硝化细菌>硝化细菌。非根际土壤(对照)中各种群微生物数量随铝浓度的增加呈现下降的趋势,反映出铝毒胁迫的抑制效应。其中硝化细菌变化最为明显,随着铝浓度的增大硝化细菌数量递减。而根瘤菌数量却在T₁铝浓度水平下较T₀增加2167%。各铝处理的比较(T₀至T₄)显示,外源根系分泌物和直接根系分泌物影响下,四大细菌

数量随铝浓度的变化呈现低铝(T₁)条件先升高而其他处理均降低的趋势。如浙春2号根际土壤中的固氮菌, T₁至T₄铝浓度下依次为T₀的10216%、48106%、39115%和17168%。各类型土壤的比较显示,在根系分泌物影响下,土壤微生物数量较非根际土壤(对照)有所增多。如T₀水平下的硝化细菌,外源浙春2号、外源浙春3号根系分泌物处理的非根际土壤分别较非根际土壤(对照)增加17185%和9107%,同时浙春2号和浙春3号根际土壤则增加

更显著, 分别较对照(非根际土壤)增加 71167% 和 16171%。

表 2 铝胁迫下大豆根系分泌物对土壤特殊菌群数量的影响
Table 2 Effect of root exudation on population of soil specific bacteria in soil under aluminum stress ($@10^3 g^{-1}$)

土样类型 Soil type	细菌种类 Bacteria type	不同铝处理浓度土壤特殊菌群数量 Soil specific bacteria in soil under aluminum stress				
		0 gkg ⁻¹	012 gkg ⁻¹	014 gkg ⁻¹	016 gkg ⁻¹	018 gkg ⁻¹
非根际 Nonrhizosphere	固氮菌 Azotobacter	93156? 12158a	92199? 14176a	74140? 8195b	32120? 4169c	17140? 0158d
	根瘤菌 Rhizobium	41189? 8159a	43101? 7126a	17141? 6118b	7179? 1153c	3161? 1115d
	硝化细菌 Nitrobacteria	3153? 0116a	2174? 0195b	1143? 0145c	0183? 0158d	0117? 0104e
	反硝化细菌 Denitrobacteria	5108? 0174a	4143? 1124ab	3157? 1104b	1195? 0185c	1126? 0134d
非根际+ 2 Nonrhizosphere+ 2	固氮菌 Azotobacter	110174? 21145a	122116? 30105b	53119? 10165c	47198? 6179d	35173? 8164e
	根瘤菌 Rhizobium	52125? 5146a	53183? 10118a	41162? 8174b	15161? 5122c	8124? 2127d
	硝化细菌 Nitrobacteria	4116? 1129a	6167? 2127b	2124? 0196c	1165? 0176d	0158? 0116e
	反硝化细菌 Denitrobacteria	7103? 2146a	12146? 4163b	3148? 1113c	3105? 1148c	1176? 0155d
非根际+ 3 Nonrhizosphere+ 3	固氮菌 Azotobacter	102136? 18194a	120180? 23148a	46100? 14148b	33179? 5185c	28159? 5184c
	根瘤菌 Rhizobium	42184? 6189a	46141? 9158a	33101? 4159b	12102? 2199c	7179? 1148d
	硝化细菌 Nitrobacteria	3185? 1125a	6136? 0186b	1199? 0164c	1128? 0133c	0146? 0109d
	反硝化细菌 Denitrobacteria	5184? 2158a	6148? 1108a	3159? 0158b	2175? 0111c	1128? 0128d
浙春 2 号 ZhechunNol2	固氮菌 Azotobacter	125158? 20145a	128181? 13185a	60136? 8158b	49116? 9158bc	22120? 4169c
	根瘤菌 Rhizobium	55125? 4169a	57167? 7185a	33199? 4159b	27179? 1153b	13167? 4189c
	硝化细菌 Nitrobacteria	6106? 0195a	8158? 0125b	2176? 1105c	1192? 0126cd	0187? 0112d
	反硝化细菌 Denitrobacteria	18132? 2115a	23104? 1156b	3157? 1104c	4134? 0185c	2153? 0124d
浙春 3 号 ZhechunNol3	固氮菌 Azotobacter	112198? 20149a	120138? 34119b	58106? 7144c	49162? 6159cd	30172? 4195d
	根瘤菌 Rhizobium	53126? 6123a	52174? 7112a	26199? 2131b	17158? 1126c	8115? 0156d
	硝化细菌 Nitrobacteria	4112? 0131a	6199? 0173b	2108? 0118c	1140? 0108cd	0162? 0118d
	反硝化细菌 Denitrobacteria	5187? 1102a	6192? 0156b	3154? 0174c	2178? 0154cd	1162? 0105d

注: 非根际+ 2 表示非根际土壤加入外源浙春 2 号根系分泌物, 非根际+ 3 表示非根际土壤加入外源浙春 3 号根系分泌物。数据为各处理 3 次重复的均值? 标准偏差; 根据 Duncan 检验, 不同的字母表示处理间 0105 水平上显著性差异 Note: Nonrhizosphere+ 2 stands for nonrhizospheric soils with exogenous exudation from Zhechun Nol2; and Nonrhizosphere+ 3 for nonrhizospheric soils with exogenous exudation from Zhechun Nol31 Each value is the mean? SE of three replicates (n= 3)1 Different letters indicate that the values are significantly different between different aluminum treatments at the 0105 level, according to Duncan's Multiple Range Test

212 根系分泌物对土壤微生物物质转化能力的影响

图 1 结果表明, 随铝浓度的增加, 非根际土壤(对照组)的微生物呼吸作用呈下降趋势, 外源根系分泌物处理的土壤和根际土壤的微生物呼吸作用在低铝(T₁)条件下有所上升。如 T₃水平下, 外源浙春 2 号和浙春 3 号根系分泌物处理的非根际土壤、浙春 2 号和浙春 3 号根际土壤中的微生物呼吸速率, 较非根际土壤(对照)分别增加 31109% 和 28157%、44154% 和 32177%。相对于呼吸作用来说, 氨化作用的波动较为显著(图 2), 从总体上看氨化作用强度随铝浓度的增加呈下降趋势, 说明铝对土壤的氨化作用有一定的抑制作用, 如 T₃水平, 氨化作用强度显著下降, 浙春 2 号根际土壤较对照下降 2715%, 浙春 3 号则下降 10% 左右; 而根系分泌物作用下的土壤氨化作用强度较相同浓度铝处理下的对照组

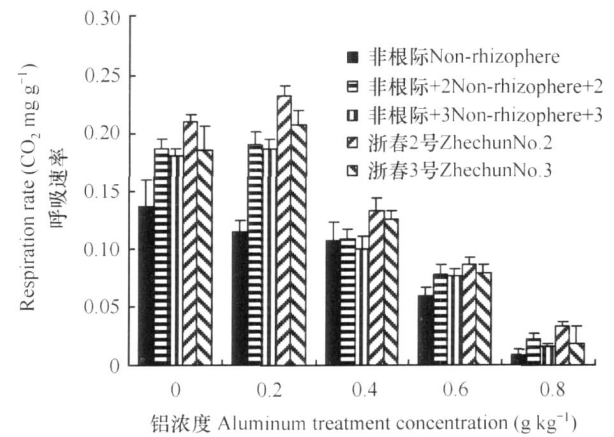
(非根际土壤)均有所增强, 平均增强 3~ 4 倍。从图 2 中的比较还可以看出, 在相同浓度铝处理下浙春 2 号根际土壤中的氨化作用强度较浙春 3 号根际土壤要强, 外源浙春 2 号根系分泌物处理的非根际土壤氨化作用也较外源浙春 3 号根系分泌物处理的非根际土壤强。

纤维分解作用结果见图 3, 结果显示, 纤维分解作用的整体变化趋势与呼吸作用相似。相应铝浓度条件下根系分泌物作用的土壤纤维分解作用强度较对照(非根际土壤)均有不同程度的提高。如 T₄水平下, 外源浙春 2 号、浙春 3 号根系分泌物的非根际土壤和浙春 2 号、浙春 3 号根际土壤中的微生物纤维分解作用, 较对照(非根际土壤)分别增加 29190%、23137% 和 46100%、15173%。浙春 2 号根际土壤中的纤维分解能力远远高于外源根系分泌物

的非根际土壤和浙春 3 号根际土壤。

硝化作用在铝浓度的影响下也呈现先上升后下降的趋势(图 4), 体现低铝促进高铝胁迫的效应。与其他三种作用有所不同的是, 在根系分泌物作用下, 硝化作用的下降趋势逐渐变得缓和。如从 T₀至

T₄水平, 外源浙春 2 号根系分泌物的非根际土壤和浙春 2 号根际土壤中的硝化作用强度分别较对照组 (非根际土壤) 增加 3150% 和 8114%、3164% 和 14152%、5166% 和 15119%、21164% 和 48135%、92198% 和 152155%。



注: 非根际+ 2 表示非根际土壤加入外源浙春 2 号根系分泌物, 非根际+ 3 表示非根际土壤加入外源浙春 3 号根系分泌物。数据为各处理 3 次重复的均值±标准偏差; 根据 Duncan 检验, 不同的字母表示处理间 0105 水平上显著性差异 Note: nonrhizosphere+ 2 stands for nonrhizospheric soils with exogenous exudation from Zhechun No1 2; Nonrhizosphere+ 3 for nonrhizospheric soils with exogenous exudation from Zhechun No1 3! Each value is the mean ± SE of three replicates (n= 3)! Different letters indicate that the values are significantly different between different aluminum treatments at the 0105 level, according to Duncan's Multiple Range Test

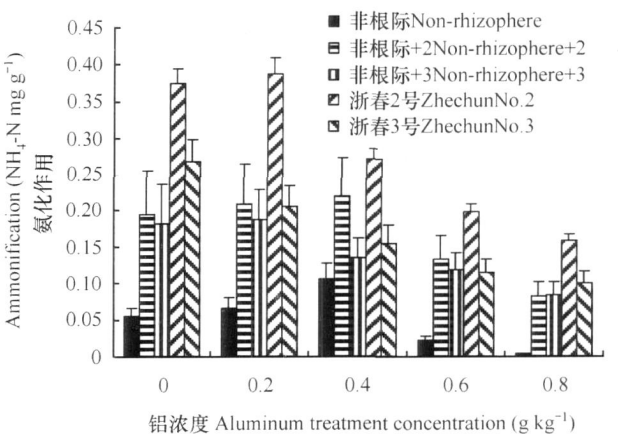
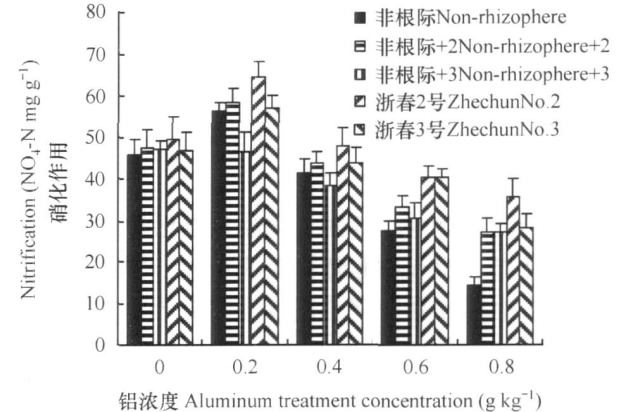
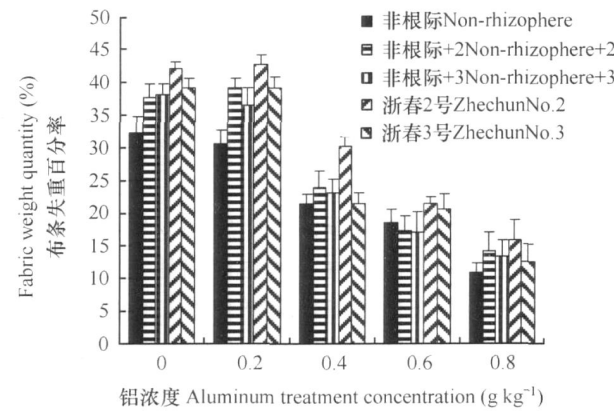


图2 铝胁迫下大豆根系分泌物对氨化作用的影响
Fig 2 Effect of root exudation on ammonification



注: 非根际+ 2 表示非根际土壤加入外源浙春 2 号根系分泌物, 非根际+ 3 表示非根际土壤加入外源浙春 3 号根系分泌物。数据为各处理 3 次重复的均值±标准偏差; 根据 Duncan 检验, 不同的字母表示处理间 0105 水平上显著性差异 Note: nonrhizosphere+ 2 stands for nonrhizospheric soils with exogenous exudation from Zhechun No1 2; Nonrhizosphere+ 3 for nonrhizospheric soils with exogenous exudation from Zhechun No1 3! Each value is the mean ± SE of three replicates (n= 3)! Different letters indicate that the values are significantly different between different aluminum treatments at the 0105 level, according to Duncan's Multiple Range Test

图3 铝胁迫下大豆根系分泌物对纤维分解作用的影响
Fig13 Effect of root exudation on cellulose hydrolysis efficiency

图4 铝胁迫下大豆根系分泌物对硝化作用的影响
Fig 4 Effect of root exudation on nitrification

213 根系分泌物对土壤酶活性的影响

土壤酶实验结果(表 3)显示, 铝浓度对各种土壤酶活性都有显著的影响。非根际土壤(对照)中, 随铝浓度的增加,H₂O₂酶和脲酶活性呈现先增强后减弱的趋势, 而蔗糖酶、淀粉酶和酸性磷酸酶活性呈逐级递减的趋势。根系分泌物作用下, 各种酶活性较非根际土壤(对照)均有所提高。外源根系分泌物处理土壤的 H₂O₂酶活性提高幅度在 4%~ 6%, 而根际土壤的 H₂O₂酶活性提高幅度为 18%~ 25%; 外源

根系分泌物处理土壤的酸性磷酸酶活性提高幅度在 13%~ 19%, 而根际分泌物组的酸性磷酸酶活性提高幅度为 28%~ 29%。两品种间比较结果显示, 在 T1、T2 水平时浙春 2 号根际土壤的蔗糖酶活性分别较浙春 3 号增大 17172% 和 30118%; 在 T1、T2 水平, 外源浙春 2 号根系分泌物的非根际土壤中脲酶活性分别较外源浙春 3 号增大 7141% 和 4182%, 说明浙春 2 号根系分泌物对土壤酶活性的影响较浙春 3 号根系分泌物对土壤酶的影响显著。

表 3 铝胁迫下大豆根系分泌物对土壤酶活性的影响
Table 3 Effect of root exudation on activity of soil enzyme under aluminum stress

酶的类型 Enzyme type	铝处理浓度 Aluminum treatment concentration (Al ³⁺ g kg ⁻¹)	非根际 Nor2rhizophere	非根际+ 2 Nor2rhizophere+ 2	非根际+ 3 Nor2rhizophere+ 3	浙春 2 号 Zhechun Nol 2	浙春 3 号 Zhechun Nol 3
H ₂ O ₂ 酶 Catalase (011mol L ⁻¹ KMnO ₄ ml g ⁻¹)	0	1118? 0110b	1126? 0132b	1123? 0158b	1147? 0108b	1140? 0102c
	012	1145? 0127c	1152? 0144c	1141? 0117c	1159? 0107b	1143? 0133c
	014	1142? 0131c	1147? 0115c	1139? 0129c	1186? 0116c	1147? 0118d
	016	1114? 0136b	1125? 0126b	1122? 0137b	1178? 0109c	1129? 0103b
蔗糖酶 Sucrase (011mol L ⁻¹ Na ₂ S ₂ O ₃ ml g ⁻¹)	018	0179? 0113a	1108? 0150a	0187? 0131a	1124? 01010a	0194? 0111a
	0	0177? 0111b	0184? 0121d	0181? 0134d	0194? 0122c	0188? 0115d
	012	0173? 0120b	0183? 0115d	0168? 0126c	0193? 0110c	0179? 0108c
	014	0167? 0111b	0154? 0114c	0146? 0118b	0169? 0108b	0153? 0114b
淀粉酶 Amylase (C ₆ H ₁₂ O ₆ mg g ⁻¹)	016	0160? 0131b	0148? 0120b	0143? 0113a	0158? 0116ab	0152? 0122b
	018	0132? 0131a	0141? 0109a	0139? 0114a	0149? 0122a	0144? 0123a
	0	12153? 3181e	12165? 1168d	12162? 3115c	13170? 3150d	12177? 3180d
	012	10187? 1119d	11189? 2166c	11124? 3122bc	12137? 1103c	11143? 1112c
脲酶 Urase (NH ₂ N Lg g ⁻¹)	014	9143? 2140c	10186? 1191b	10135? 2173b	11183? 3142b	11133? 1109c
	016	8115? 1175b	10112? 1165b	9117? 1158a	11133? 1117b	10150? 2193b
	018	7123? 1146a	8130? 2158a	7126? 2111d	9146? 1189a	8165? 1171a
	0	0150? 01006e	0156? 01011e	0151? 01021e	0164? 01007c	0162? 01007e
酸性磷酸酶 Acidity phosphatase (P ₂ O ₅ Lg g ⁻¹ h ⁻¹)	012	0153? 01010d	0158? 01009d	0154? 01014d	0176? 01008d	0169? 01010d
	014	0148? 01035c	0151? 01012c	0149? 01007c	0165? 01015c	0150? 01004c
	016	0131? 01011b	0144? 01010b	0139? 01013b	0153? 01017b	0141? 01004b
	018	0127? 01004a	0135? 01008a	0132? 01006a	0141? 01010a	0138? 01006a
	0	35107? 5161e	41191? 8121d	39163? 8136e	45157? 5136c	44193? 6165c
	012	33133? 6124d	40197? 7186d	37143? 7148d	53180? 6161d	52171? 8151d
	014	31116? 8119c	34116? 4139c	35110? 7169c	53144? 8148d	51120? 8126d
	016	25175? 8143b	27185? 7142b	27131? 5147b	31161? 9163b	29108? 7124b
	018	17141? 7125a	22160? 6125a	19168? 5126a	25153? 5172a	21164? 5118a

注: 非根际+ 2 表示非根际土壤加入外源浙春 2 号根系分泌物, 非根际+ 3 表示非根际土壤加入外源浙春 3 号根系分泌物。数据为各处理 3 次重复的均值? 标准偏差; 根据 Duncan 检验, 不同的字母表示处理间 0105 水平上显著性差异 Note: Nor2rhizophere+ 2 stands for nor2rhizospheric soils with exogenous exudation from Zhechun Nol2; and Nor2rhizophere+ 3 is short for nor2rhizospheric soils with exogenous exudation from Zhechun Nol 31 Each value is the mean ? SE of three replicates (n= 3)1 Different letters indicate that the values are significantly different among different aluminum treatments at the 0105 level, according to Duncan's Multiple Range Test

3 讨 论

最新报道指出,根系分泌物可能参与植物根系与根际微生物、植物之间等相互作用的启动过程^[10]。环境胁迫对根际微生物群落结构的影响,绝大多数是先引起植物根系分泌物性质和数量的变化,进而由根系分泌物起作用,而不是直接对根际土壤微生物产生毒害^[11]。在现实环境中,由植物土壤根际微生物组成的土壤微生态系统极其复杂,但在相同的土壤背景下,根际土壤微生态系统的差异显然是与各自的根系分泌物种类、数量密切相关^[18]。就植物营养而言,根系分泌物是保持根际微生态系统活力的关键因素,也是根际微生态系统中物质迁移和调节的重要组成部分^[19]。本研究结果表明,高铝胁迫下,大豆根际土壤微生物的数量明显减少,铝胁迫对根际土壤微生物产生的毒害效应,除来自土壤铝本身的直接影响外,铝胁迫引起的植物根系分泌物变化是铝对土壤微生物的一个间接作用;而根系分泌物作用下,土壤细菌、真菌和放线菌的数量与铝浓度的相关性明显下降,说明根系分泌物对铝和土壤微生物间的相互作用产生了一定的影响。从各细菌生理群和微生物物质转化能力的实验结果可以看出,外源根系分泌物在一定程度上促进微生物数量的增加和各种转化作用的增强,说明根系分泌物具有一定的铝毒缓解作用。

本实验结果显示,硝化细菌数量随铝浓度的增加,且变化幅度最为显著,可能是由于土壤的硝化作用受 H^+ 的影响较大^[20],适宜于在较高的pH范围内进行,在中性或碱性土壤中硝化细菌数量最大,而在酸性环境中硝化作用通常较弱。实验结果进一步显示,在根系分泌物作用下,随铝浓度的增加,土壤硝化作用强度的下降趋势有所缓和。众所周知,土壤本身具有一定的缓冲作用,但当铝浓度增大到一定的程度,就会导致土壤pH过低,超出了土壤本身的缓冲范围而导致铝毒害,而根系分泌物对土壤酸碱度有一定的稳定作用^[20],从而使硝化作用较同等铝浓度下的对照组(非根际土壤)有显著增强,硝化细菌的数量也有所增加,表明根系分泌物具有一定的铝毒缓解效应。土壤微生物转化功能中除硝化作用外,呼吸作用和氨化作用的变化趋势同样可以在一定程度上反映土壤受环境影响的变化情况^[21],因为

土壤呼吸作用可以看成衡量土壤微生物总的活性指标,同时,土壤氨化作用强度在一定程度上也反映了土壤的供氮能力^[16]。本实验结果表明,根系分泌物对植物根际土壤呼吸作用和氨化作用具有一定的促进效应。也就是说,根系分泌物可通过提高土壤微生物的活性、促进土壤有机质的分解和氮循环,提高土壤肥力,从而降低铝毒害。此外,本实验结果还发现,根系分泌物作用下的土壤纤维分解能力较非根际土壤有所提高,但提高幅度是四种代谢作用中最不显著的,这可能是由于土壤中具有纤维分解能力的细菌较多,受环境因子的影响层面也较广,而根系分泌物的成分复杂,在根系分泌物促进某些微生物的纤维分解能力同时,另一些微生物的纤维分解能力可能受到抑制^[16],因此总体而言增加不显著。

土壤酶活性可以灵敏地反映土壤中生化反应的方向和强度^[22],也就能直接或间接反映根系分泌物对根际土壤的影响情况。从本研究中蔗糖酶、淀粉酶、过氧化氢酶、脲酶和酸性磷酸酶总体上的变化趋势来看,低铝浓度处理下五大酶活性均有不同程度的提高。这可能有两个原因,直接原因是受根系的生理活动及低铝胁迫的影响,植物根向外分泌大量与形成根系分泌物相关的酶,如与柠檬酸分泌相关的柠檬酸合成酶、酸性磷酸酶等^[23];间接原因是由于低铝浓度促进根系分泌物的形成,进而使根际土壤微生物大量增加,必然会引起酶的数量和种类的增加^[23]。高铝浓度下,各种酶活性则不同程度地受到抑制,这很大程度上是由于高铝浓度抑制分泌根系分泌物的结果^[23]。其中,土壤酸性磷酸酶的变化尤为重要。酸性磷酸酶在土壤磷循环中起显著作用,与植物磷营养密切相关^[24]。已有研究发现铝对磷代谢可能存在两方面影响^[20],一方面铝能够与磷在根表面发生沉淀,阻碍其向地上部分运输;另一方面铝能够通过抑制己糖激酶活性而显著降低糖磷酸化速率。由此可见,铝胁迫可以导致植物磷缺乏。本实验结果发现,低铝浓度下,土壤根际酸性磷酸酶活性有所提高。原因一可能是由于低铝胁迫导致植物一定程度的磷缺乏,从而诱导根系分泌酸性磷酸酶,作为根系分泌物的一种成分,有利于促进土壤环境中难溶性磷的矿化分解⁽³⁾。原因二可能是由于铝胁迫造成植物磷饥渴,从而大量利用土壤中的有效磷。在土壤有效磷低的条件下,大豆根系分泌物应激分泌,主要通过降低根际pH和分泌螯合剂、离子

交换剂、还原剂等来增加对土壤难溶性磷的活化和释放^[3], 从而使土壤根际酸性磷酸酶活性有所增强^[24]。高铝浓度下酸性磷酸酶活性显著下降的原因, 一方面是与铝浓度增大导致土壤酸化相关, 更关键的是铝胁迫下大豆根系分泌物的大量作用导致土壤一定程度的酸化, 土壤 pH 的变化引起土壤酸性磷酸酶活性的灵敏反应^[24]。已有研究表明, 在缺磷胁迫的一定程度范围内, 磷亏缺量越多, 根际酸性磷酸酶活性越强, 当磷缺乏严重而影响细胞生长时, 酸性磷酸酶分泌量达到最大^[25], 之后酸性磷酸酶活性就有所下降。所以, 高铝浓度引起植物磷缺乏严重, 酸性磷酸酶活性有所下降。

参考文献

- [1] 张福锁, 申建波. 根际微生态系统理论框架的初步构建. 中国农业科技导报, 1999, 1(4): 15~20. Zhang F S, Shen J B. Preliminary development of theoretical concept on rhizosphere micro ecosystem (In Chinese). Review of China Agricultural Science and Technology, 1999, 1(4): 15~20
- [2] 朱丽霞, 章家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述. 生态环境, 2003, 12(1): 102~105. Zhu L X, Zhang J E, Liu W G. Review of studies on interactions between root exudates and rhizospheric microorganisms (In Chinese). Ecology and Environment, 2003, 12(1): 102~105
- [3] 薛立, 邝立刚, 陈红跃, 等. 不同林分土壤养分、微生物与酶活性的研究. 土壤学报, 2003, 40(2): 280~285. Xue L, Kuang L G, Chen H Y, et al. Soil nutrients, microorganisms and enzyme activities of different stands (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2003, 40(2): 280~285
- [4] 熊明彪, 何建平, 宋光煜. 根分泌物对根际微生物生态分布的影响. 土壤通报, 2002, 33(2): 145~148. Xiong M B, He J P, Song G Y. Effect of root exudates on ecological distribution of rhizospheric microorganisms (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 2002, 33(2): 145~148
- [5] Liu B R, Jia G M, Chen J, et al. A review of methods for studying microbial diversity in soils. Pedosphere, 2006, 16(1): 18~24
- [6] Bilkisu A A, Huang P, Bao D P. Effects of citric acid on soybean seedling growth under aluminum stress. Journal of Plant Nutrition, 2004, 27(2): 367~375
- [7] 梁瑞霞, 李春俭, 宋建兰. 2BA 对缺磷白羽扇豆排根形成和有机酸分泌的影响. 植物生理与分子生物学报, 2004, 30(6): 619~624. Liang R X, Li C J, Song J L. Effect of 2BA on cluster root formation and organic acid exudation in white lupin grown under phosphorus deficiency (In Chinese). Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2004, 30(6): 619~624
- [8] 常学秀, 段昌群, 王焕校. 根分泌作用与植物对金属毒害的抗性. 应用生态学报, 2000, 11(2): 315~320. Chang X X, Duan C Q, Wang H X. Root excretion and plant resistance to metal toxicity (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2000, 11(2): 315~320
- [9] 李振高, 李良谟, 潘映华, 等. 小麦苗期根系分泌物对根际反硝化细菌的影响. 土壤学报, 1995, 32(4): 408~413. Li Z G, Li L M, Pan Y H, et al. Influence of the root exudates of wheat shoots on the denitrifiers in rhizosphere (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 1995, 32(4): 408~413
- [10] Harsh P B, Tiffany L W, Laura G P, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57(1): 233~266
- [11] Nelson D R, Mele P M. Subtle changes in rhizosphere microbial community structure in response to increased boron and sodium chloride concentrations. Soil Biology & Biochemistry, 2007, 39: 340~351
- [12] Yang Z M, Sivaguru M, Horst W J, et al. Aluminium tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (Glycine max). Physiologia Plantarum, 2000, 110: 72~77
- [13] 中国土壤学会农业化学专业委员会编. 土壤农业化学常规分析方法. 北京: 科学出版社, 1983. Specialty Committee of Agricultural Chemistry, Soil Science Society of China. ed. General Analytical Methods for Soil and Agrochemistry (In Chinese). Beijing: Science Press, 1983
- [14] 田中民, 李春俭, 王晨. 子叶磷在白羽扇豆缺磷适应性反应中的作用. 西北植物学报, 2001, 21(1): 59~66. Tian Z M, Li C J, Wang C. The role of phosphorus in the cotyledons in the adaptive response of P2deficient white lupin (In Chinese). Acta Botanica Sinica, 2001, 21(1): 59~66
- [15] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册. 北京: 农业出版社, 1986. 102~122. Xu G H, Zheng H Y. Manual of Analytical Methods for Soil Microorganisms (In Chinese). Beijing: Agriculture Press, 1986. 102~122
- [16] 王加龙, 刘坚真, 陈枝榴, 等. 恩诺沙星残留对土壤微生物功能的影响. 生态学报, 2005, 25(2): 279~282. Wang J L, Liu J Z, Chen Z L, et al. Effects of enrofloxacin residues on the functions of soil microbes (In Chinese). Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(2): 279~282
- [17] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986. 274~340. Guan S Y. The Soil Enzyme and Its Research Methods (In Chinese). Beijing: Agriculture Press, 1986. 274~340
- [18] 胡开辉, 罗庆国, 汪世华, 等. 化感水稻根际微生物类群及酶活性变化. 应用生态学报, 2006, 17(6): 1060~1064. Hu K H, Luo Q G, Wang S H, et al. Effects of allelopathic rice on rhizosphere microbial flora and enzyme activity (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(6): 1060~1064
- [19] Hinsinger P, Plassard C, Jaillard B. Rhizosphere: A new frontier for soil biogeochemistry. Journal of Geochemical Exploration, 2006, 88: 210~213
- [20] 花日茂, 李湘琼. 我国酸雨的研究进展. 安徽农业大学学报, 1998, 25(2): 206~210. Hua R M, Li X Q. Review of China acid rain (In Chinese). Journal of Anhui Agricultural University, 1998, 25(2): 206~210
- [21] Yang L F, Cai Z C. Soil respiration during a soybean growing season. Pedosphere, 2006, 16(2): 192~200
- [22] 胡斌, 段昌群, 王震洪, 等. 植被恢复措施对退化生态系统

土壤酶活性及肥力的影响. 土壤学报, 2002, 39(4): 604~608. Hu B, Duan C Q, Wang Z H, et al. Effects of vegetation rehabilitation measures on soil fertility and soil enzymatic activity in degraded ecosystem (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2002, 39(4): 604~ 608

[23] 涂书新, 孙锦荷, 郭智芬, 等. 植物根系分泌物与根际营养关系评述. 土壤与环境, 2000, 9(1): 64~ 67. Tu S X, Sun J H, Guo Z F, et al. On relationship between root exudates and plant nutrition in rhizosphere (In Chinese). Soil and Environmental Sciences, 2000, 9(1): 64~ 67

[24] 徐冬梅, 刘光深, 许中坚, 等. 模拟酸雨对土壤酸性磷酸酶活性的影响及机理. 中国环境科学, 2003, 23(2): 176~ 179. Xu D M, Liu G S, Xu Z J, et al. Effects and mechanism of simulated acid rain on the activities of soil acid phosphatase (In Chinese). China Environmental Science, 2003, 23(2): 176~ 179

[25] Dinkelaker B, Marschner H. In vivo demonstration of acid phosphatase activity in the rhizosphere of soil-grown plant. Plant and Soil, 1992, 144: 199~ 205

EFFECT OF SOYBEAN (GLYCINE MAX) ROOT EXUDATION ON RHIZOSPHERIC MICROBIAL ECOSYSTEM UNDER ALUMINUM STRESS

Jin Tingting Liu Peng Huang Chaobiao Wang Fang Xu Gendi Huang Peina
(Key Laboratory of Botany, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004, China)

Abstract Out of 19 different genotypes of soybeans (Glycine max), Variety Zhechun No. 2 (Al-resistant) and Variety Zhechun No. 3 (Al-sensitive) were screened and selected as subjects in this study, which was designed to have 5 different aluminum (Al³⁺) treatments 0, 012, 014, 016, and 018 g kg⁻¹, (i. e. 01293, 01493, 01693, 01893, and 11093 g kg⁻¹, respectively, in soil total Al³⁺) and 3 parallel treatments (non-rhizospheric soils, rhizospheric soils and bulk soils with exogenous soybean exudation). Thirty days after the treatment, respiration rate, cellulose hydrolysis efficiency, ammonification rate, nitrification rate of the soils, and activities of acid phosphatase, catalase, and sucrase were measured. Results indicate that in treatments low in soil Al (012 and 014 g kg⁻¹), irritated secretion from the soybean roots increased the population of soil microbes, strengthened their capability of material transformation and stimulated the activity of soil enzymes, whereas in treatments high in soil Al (018 g kg⁻¹), root exudation was restrained comparatively, resulting in inhibition of the activity of microorganisms and soil enzymes. The results also demonstrated that exogenous root exudation could also influence the microbial ecosystem, triggering changes in activity of the soil enzymes and in major biochemical functions of the soil, thus mitigating aluminum poison to soybean, which is convincing evidence that root exudation obviously affects the microbial ecosystem.

Key words Aluminum stress; Soybean; Root exudation; Microorganism population; Biochemical function; Soil enzyme