

利用碳14研究杉木苗根系分泌物*

姜培坤 蒋秋怡 徐秋芳 钱新标 金磊

(浙江林学院, 临安 311300)

(庆元县林场)

摘要 对1年生杉木苗进行二氧化碳¹⁴喂饲, 同时收集苗木根系分泌的有机物质, 用液闪技术进行测定。结果表明: 杉木苗的光合产物在标记1d后就有1.06%运输入根部组织中; 3d后则为4.90%; 20d后达到24.04%。二氧化碳¹⁴喂饲一结束根系就有碳¹⁴分泌物产生; 3~5d后分泌量达到最高峰, 以后逐渐减少。对分泌物进行分离测定表明, 其中糖类占39.53%, 有机酸占13.80%, 氨基酸占5.45%。

关键词 杉木; 苗木; 碳¹⁴; 光合产物; 根系; 分泌物

中图分类号 S124.2

农业上对根系分泌物的研究已有许多^[1,2]。至今发现根系分泌物除了一些无机离子外, 主要是可溶性的低分子有机物, 从物质形态上讲以糖类、有机酸和氨基酸为主。植物根际的生物化学性质和养分状况常受根系分泌物的影响^[3]。研究微生物状况、酶活力特别是有机物质数量和形态时, 应考虑分泌物的效应。

杉木的长期生长造成许多生化性状恶化, 在根际体现得更加明显^[4]。作者选用1年生杉木苗利用碳¹⁴作一些初步探索。

1 材料与方法

1.1 杉木幼苗的准备

在苗圃地选取生长正常和大小基本一致的1年生杉木幼苗30株, 轻轻挖取不破坏根系, 用水小心洗去根上所附细土, 再用0.1%升汞浸其根系30s, 然后再用无菌水仔细洗净, 最后培养于无菌营养液中备用。在培养过程中每天用小气泵给营养液通气3次, 每次0.5h。培养液采用改良的Slire和Robbina氏配方^[5]。培养时间20d左右, 后作二氧化碳¹⁴喂饲用。

1.2 二氧化碳¹⁴的喂饲

取3个1.5L的搪瓷杯, 内各注无菌蒸馏水1.0L。每个杯中固定杉木苗一株, 作分泌动态测定用。另取10.0L的大塑料容器4只, 每只容器中加入无菌蒸馏水9.0L, 并每只容器中固定杉木苗3株, 作同化物体内分配测定和收集根系分泌物及分离用。然后, 把所有容器一起置于密闭的聚乙烯光合室中, 利用 $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ (过量)→ $\text{Na}_2\text{SO}_4 + ^{14}\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4$ 生成的二

收稿日期: 1994-03-28

*国家青年科学基金资助项目

氧化碳 14 ($^{14}\text{CO}_2$)进行标记。标记从1992年6月8日10:00至6月9日10:00, 共标记时间24 h, 受光时间12 h, 光照强度为50 klx, 气温28℃, 光合室内二氧化碳14浓度控制在5‰, 喂饲室二氧化碳14强度为 $9.2 \times 10^4 \text{ Bq/L}$ 。标记结束后, 多余的二氧化碳14用氢氧化钡回收, 回收时间30 min。

1.3 杉木苗体内光合产物分配的测定

标记结束后1、3和20 d分别取3只10.0 L大容器中的杉苗各1株, 用无菌水冲洗叶子、茎杆和根系, 把植株分成新梢、叶、侧枝、主杆和根, 剪碎后先分别在105℃下杀青5 min, 再置于80℃烘箱中烘干, 称重后再用高速粉碎机将各部分样品磨碎, 然后分别称出100 mg样品。在GM计数管上测定其放射性强度, 用 cpm(每分钟的计数)表示。

1.4 根系分泌物的动态测定

采用换盆法测定。在标记结束后, 速取出3个1.5 L搪瓷杯中的3株苗木, 分别移入3个置1.0 L无菌水的搪瓷杯中, 待苗木自然分泌1 d后, 取出再分别移入另外3个同样杯中分泌1 d, 如此一直换盆进行到第7天。每次取苗木分泌后的蒸馏水1.0 ml, 加入10.0 ml Bray闪烁液中, 使用瑞典产 Wallac 1410液体闪烁测定仪, 测定其放射性强度, 用 dpm(每分钟的衰变数)来表示, 并换算出1.0 L总体积中的强度。

1.5 根系分泌物的分离测定

在二氧化碳14喂饲后, 取其中置3株杉木苗的10.0 L容器1只, 仔细保存, 每天给一定时间的光照和营养液通气。待苗木自然分泌15 d后, 取该培养液200.0 ml, 真空干燥浓缩至22.5 ml。然后, 每次取5.0 ml按图1进行分离两次^[3], 得到A、B、C溶液, 再浓缩各溶液。取1.0 ml加入甲苯闪烁液, 用液闪测定各物质放射性强度。这样可得到氨基酸、有机酸和糖类3类物质的强度比例, 然后换算出总共9.0 L培养液中的总量。

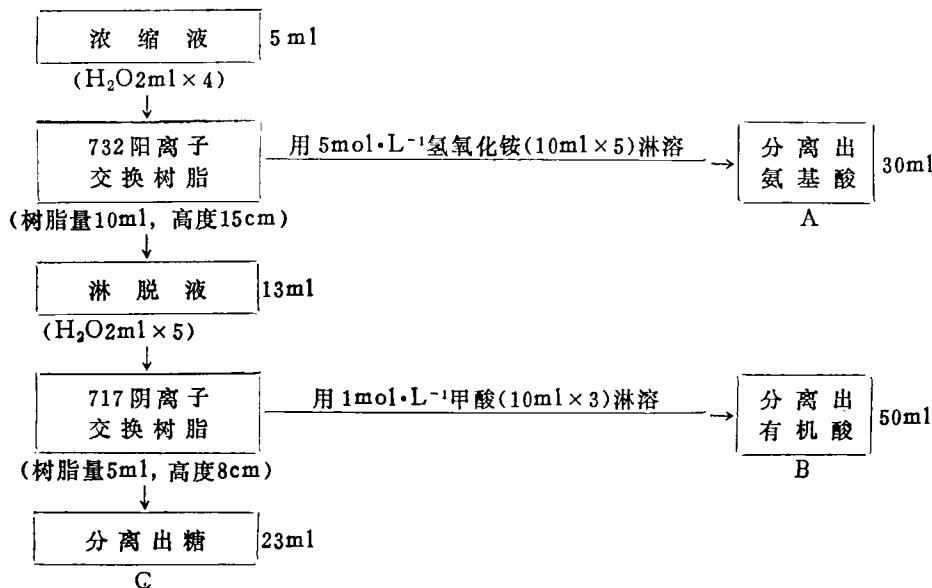


图1 杉木苗根系分泌物分离过程

Fig. 1 Separating process of root exudates of Chinese fir

2 结果与分析

2.1 苗木光合产物的分配

从标记后1、2和20 d光合产物的分配来看(表1),叶子中从67.92%到50.31%再降至14.09%。说明标记1 d后就有许多产物(32.08%)运输到其他器官中,随着运输分配的进行,叶子中减少很快(19 d中总共减少53.83%)。从叶子输出的同化物主要去向是新梢和主杆。新梢是生长点,需要利用大量的同化物,这符合一般的生理学观点。从3次的测定来看分布到主杆的同化物也维持较高水平,但后来逐渐降低,说明主杆是运输光合产物的主要通道。值得注意的是根中的光合产物虽一开始占比例不高,但继后增加很快,到20 d时已占体内总同化物的24.04%,在19 d内总共增加了22.91%。这说明根系作为另一个生长点也需要很多同化物来满足细胞分裂从而产生出大量有活性的细根、根毛等,有了高活性的根尖区域才能保证养分和水分的吸收和分泌大量有机和无机物质。然而,以上的分析中是暂且不考虑根系分泌物的,事实上在测定的19 d内有很大一部分同化产物已通过根系向溶液中分泌了。现在假定3次取样中每次3株苗木的总重量(其实有些差别)一致,再假定标记1 d后

表1 光合产物的体内分配
Table 1 Distribution of the photosynthates

| 部位 | 1d | | | 3d | | | 20d | | |
|-----|-------|---------|-------|-------|---------|-------|-------|--------|-------|
| | 干重/g | 强度/cpm | % | 干重/g | 强度/cpm | % | 干重/g | 强度/cpm | % |
| 叶 子 | 3.383 | 119 100 | 67.92 | 3.146 | 57 680 | 50.31 | 2.539 | 9 384 | 14.09 |
| 根 | 1.263 | 1 866 | 1.06 | 1.054 | 5 621 | 4.90 | 2.193 | 16 009 | 24.04 |
| 新 梢 | 0.692 | 31 132 | 17.75 | 0.683 | 21 067 | 18.38 | 1.472 | 28 763 | 43.20 |
| 主 杆 | 2.575 | 17 216 | 9.82 | 2.367 | 25 541 | 22.28 | 1.933 | 11 162 | 16.76 |
| 侧 枝 | 0.465 | 6 052 | 3.45 | 0.302 | 4 737 | 4.13 | 0.342 | 1 270 | 1.91 |
| 总 计 | 8.315 | 175 366 | 100 | 7.552 | 114 646 | 100 | 8.479 | 66 588 | 100 |

注: 表中数据均为3株苗的平均值

无根系分泌物即假定根系分泌从标记后1 d开始(其实标记一结束就有分泌物产生),并认为所有苗木光合能力及光合产物体内分配趋势一致,那么就可以从表2看到在标记后第3天就有34.62%的同化物转化为根系分泌物,而20 d后则可达62.03%。虽然这样的估计是十分粗略的,因为把所有苗木看成一致,但我们至少可以见得杉木苗光合产物中有相当一部分转化为根系分泌物。

2.2 同化物转化为根系分泌物动态分析

从表3对甲、乙两株幼苗的动态测定来看,标记后第1天就有较多量的同化物从根系分泌出来。甲、乙苗木分别在第3天和第4天达到分泌最高峰。综合来看在标记后第3天至

表2 同化物转化为分泌物状况

Table 2 Dynamic of the photosynthate changing into exudates

| 标记后时间 /d | 分泌总量 /cpm | 占总同化物 /% | 每克干根 分泌量 /cpm |
|-------------|--------------|-------------|---------------------|
| 3 | 60 720 | 34.62 | 40 480 |
| 20 | 108 778 | 62.03 | 72 518 |

注: 表中的根重取3次测定根重的平均值

第5天苗木分泌量最多(图2)，以后一直到第7天都呈递减的趋势。但从前面同化物在体内分布来看，根系中的同化物在标记结束后头几天量很少，后再不断增加，说明一开始运输到根内的同化物更多的是作为分泌物向外运输的，即向根外分泌优先于根系体内的贮存。在7天内分泌物的累积总量甲苗为69 500 dpm，乙苗为56 500 dpm。这个总分泌量和苗木的总干重、叶子干重呈正比例关系，而和苗木根系干重呈反比例关系(表4)，说明分泌物数量和叶子光合总量有关，但不一定和根的生物量有关。这并不奇怪，因为根系分泌物主要是由根尖和根毛区产生的^[3]，即分泌物多少决定于根的生理活性。这也启示我们有时候用每克根重的分泌量来表示分泌物多少不尽满意，特别对于杉木苗这样木质化程度较高的树木根系，而许多农作物幼苗则又当别论了。

表3 苗木分泌同化产物动态测定结果
Table 3 Exudating photosythates of two seedlings

| 苗 木 | 1 d 中 碳 14 分 泌 量 /dpm·d ⁻¹ ·株 ⁻¹ | | | | | | | | 累 计 |
|-----|--|-------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|-----|
| | 第 1 天 | 第 2 天 | 第 3 天 | 第 4 天 | 第 5 天 | 第 6 天 | 第 7 天 | | |
| 甲 苗 | 3 500 | 7 300 | 19 700 | 11 500 | 14 200 | 8 700 | 4 600 | 69 500 | |
| 乙 苗 | 3 300 | 7 300 | 7 300 | 11 800 | 11 200 | 7 700 | 7 900 | 56 500 | |
| 平 均 | 3 400 | 7 300 | 13 500 | 11 650 | 12 700 | 8 200 | 6 250 | 63 000 | |

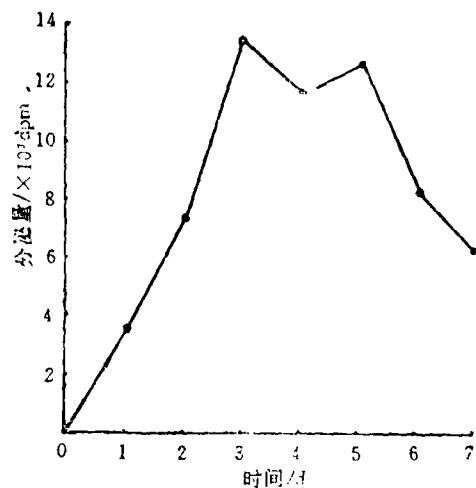


图2 杉木苗碳14同化物分泌物动态曲线

Fig. 2 Dynamic curve about exudating photosythates with carbon 14

表4 杉木苗生物量和分泌物关系

Table 4 Relationship between biomass and exudating sum

| 苗 木 | 总 干 重/g | 根 系 干 重/g | 叶 子 干 重/g | 7d内分 泌 物 总 量/dpm | 每 克 干 根 分 泌 量 /dpm |
|-----|---------|-----------|-----------|------------------|--------------------|
| 甲 苗 | 7.182 9 | 1.076 | 3.167 | 69 500 | 64 591.078 |
| 乙 苗 | 6.972 1 | 1.294 | 2.580 | 56 500 | 43 663.060 |

2.3 杉木苗根系分泌物的分离结果分析

对喂饲后15 d 的杉木苗培养原液进行分泌物分离测定。在分离前先取一定体积原液浓缩，测定出放射性强度从而推算出3株苗木15 d 内总共分泌的强度(350 679.4 dpm)。然后按图1分离出A、B、C 3类物质，再分别测定出各类物质的强度列于表5。从表5可知在整个分离过程中回收率只有58.78%，说明还有许多物质可吸附于阴、阳离子交换树脂上，但无法用氢氧化铵和甲酸洗脱，更不能用蒸馏水淋洗出。这些物质很可能是3类物质以外的化合物，例如维生素、核苷酸及混杂化合物等^[3]。同时，回收率低的原因也可能是在苗木分泌的15 d 内根系脱下的微小碎片造成。据 Rovira 报道栽培在石英砂中的50株豌豆10 d 内可脱落根细胞碎片16.7 mg。根系细胞碎片脱落数量虽小于同时期根系分泌的可溶性有机物^[3]，但这确实是一个不可忽视的量。

表5 杉木苗根系分泌物分离

Table 5 Composition of root exudates

| 有 机 物 | 分 离 前 总 强 度 /dpm | 分 离 后 各 物 质 强 度/dpm | 各 物 质 /% | 各 物 质 占 总 分 泌 物 百 分 数 /% | 每 克 干 根 的 分 泌 量 /dpm |
|--------|---------------------|------------------------|----------|--------------------------------|-------------------------|
| 氨基酸(A) | — | 19 140.33 | 9.28 | 5.45 | 2 909.31 |
| 糖 类(B) | — | 138 616.37 | 67.25 | 39.53 | 21 069.52 |
| 有机酸(C) | — | 48 372.65 | 23.47 | 13.80 | 7 352.58 |
| 总 计 | 350 679.4 | 206 129.35 | 100 | 58.78 | 53 302.78 |

注：表中数据为3株苗木15 d 内总分泌量

从表5可见分泌物中糖类占优势，其次是有机酸，氨基酸最少，这符合一般的观点，即植物根系分泌有机物以不含氮的糖和有机酸居多，含氮的氨基酸较少^[3]。这种分泌物中的高比例碳、低比例氮和野外林地中测定的根际土壤C/N较高结果是相吻合的^[6]。另外，培养15 d 内每克干根的分泌物总量为53 302.78 dpm，比上文中分泌物动态观察中7 d 内每克干根的分泌量(54 127.069 dpm)反低824.289 dpm。粗看起来很矛盾，其实不然，因为两次试验培养液不一样(表6)。动态观察时我们采用了蒸馏水培养分泌，不加任何营养成分，并且每天换盆，造成溶液中一直没有有机和无机物质，这样对分泌自然有加速的作用。许多试验已证明，植物根系培养于蒸馏水中可能会造成根表细胞破裂从而产生多量的分泌物质，况且前面已提及作为林木根系木质化程度较高，用每克干根的分泌量来表示根系分泌能力不一定合理。

表6 两种不同培养液中杉木苗分泌物数量

Table 6 Exudating sum of Chinesc fir seedlings in different culture liquids

| 培 养 液 | 分 泌 时 间 /d | 分 泌 总 量 /dpm | 每 克 干 根 分 泌 量 /dpm |
|-------|---------------|-----------------|-----------------------|
| | | /d | /dpm |
| 蒸 馏 水 | 7 | 6 300.0 | 54 127.069 |
| 营 养 液 | 15 | 350 679.4 | 53 302.78 |

注：蒸馏水中分泌量是指甲、乙两株苗木的平均值；营养液中分泌量是指3株苗木的总量，营养液为Slire 和 Robbins 氏完全营养液

3 结论与问题

3.1 杉木苗叶子合成的同化物在喂饲后的20 d 内主要是向其生长点新梢和根部运输；根系

分泌同化产物在喂饲后3~5d时最大，以后逐渐减少；分泌的有机物中以糖类最多，有机酸次之，氨基酸最少。

3.2 由于各种原因，试验中光合产物的分配、分泌物的动态测定及分泌物分离3部分内容都单独进行，故本文中未能得到分泌物占同化产物百分比的动态结果（只有粗略的估计值）。这值得进一步研究。

参 考 文 献

- 1 张福销. 根分泌物及其在植物营养中的作用. 北京农业大学学报, 1991, 17(2):63~67
- 2 许曼丽, 刘芷宇. 土壤——根系微区养分状况的研究. 土壤学报, 1983, 20(3):369~373
- 3 [美]A.D.麦克拉伦, G.H.波得森, J.斯库金斯等著, 阎九康等译. 土壤生物化学. 北京: 农业出版社, 1984. 236~261
- 4 蒋秋怡, 叶仲节, 钱新标等. 杉木根际土壤特性的研究(Ⅱ)杉木根际的生物化学特性. 浙江林学院学报, 1991, 8(4): 450~456
- 5 中国农业科学院茶叶研究所. 茶树生理及茶叶生化实验手册. 北京: 农业出版社, 1983. 21~22
- 6 蒋秋怡, 叶仲节, 钱新标等. 杉木根际土壤特性的研究(Ⅰ)杉木根际与非根际土壤化学性质的比较研究. 浙江林学院学报, 1990, 7(2): 122~126

Jiang Peikun (Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, PRC), Jiang Qiuyi, Xu Qiu-fang, Qian Xinbiao, and Jin Lei. Study on Root Exudates of Chinese Fir Seedlings Using Carbon 14. *J Zhejiang For Coll*, 1994, 11(3): 241~246

Abstract: By feeding carbon 14 to one year Chinese fir and collecting root exudates periodically, the results showed that 1.06%, 4.90% and 24.04% of the photosynthates were transported to the root 24, 72 and 480 hours after feeding respectively. The root exudate with carbon 14 were detected as soon as the labeling was finished. The summit of exudating occurred 72~120 hours after feeding, afterwards, reducing with time. By separating and determining, the exudates contained 39.52% of carbohydrates, 13.80% of organic acid and 5.45% of amino acid.

Key words: Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*); nursery stock; carbon 14; photosynthates; root system; exudates