

# 根际研究方法的特点及其进展

许曼丽

(中国科学院南京土壤研究所)

根际环境是指以微米或毫米计算的微区土壤范围内。研究根际的方法,既要有较高的分辨率,又要有相当的精确度,同时还需保持原位测定。因而,测定技术一直是阻碍这一领域研究发展的限制因素。本文就微区土壤的区分及其养分检测技术等方面作一介绍。

## 一、根际微区土壤的区分及其特点

研究根际微区的特性,首先需要区分根际土与非根际土。在60年代末和70年代初,Riley等<sup>[1]</sup>根据在根系表面抖落和粘着的程度来区分根际土壤与非根际土。松散粘附在根系表面,约距根面1—4 mm的土壤为根际土,紧密粘着在根系表面,约距根面0—2 mm的土壤为根面土,抖落下的为非根际土(原土体)。他依据这种区分方法研究了根际与非根际土壤中 $\text{HCO}_3^-$ 累积和 $\text{NO}_3^-$ 与pH变化的关系以及可溶盐的累积规律等。Sinka等用同样的方法研究了盐渍土上 $\text{Na}^+$ 和 $\text{Cl}^-$ 向玉米根迁移的规律。这种区分方法操作简单,不需要特殊的仪器设备,可以在田间应用。但方法显得粗放并带有经验性,紧粘着在根面上的微域土壤很难剥离下来,只能连同根系一起洗涤,难免带有根组织内含有物的成分,误差较大。此外,在粘质土壤中则较为困难。

Farr等<sup>[2]</sup>提出了单层排根平面与土块接触的方法,并结合Brown的冰冻切片法区分微区土壤,应用于研究洋葱根微区的养分含量和分布。这一方法在根际研究中被广泛应用。方法的优点是能够较严格地区分出离根面不同距离的微区土壤,并可以测定其有效养分,定量地研究各种养分、水分在根—土界面上的动态。结合同位素标记元素,还可检测出养分的迁移规律。

狄绳武等在这一方法的基础上加以改进<sup>[3]</sup>。应用尼龙网筛间隔生长定型的集束平面根。然后根据试验需要在任一根段上与土块相接触。然后借助冰冻切片法区分出离根面不同距离的微域土壤。对于旱作土壤,如果质地介于中壤到重壤,取样后可以不经冰冻直接切片。改进的方法能适用于一般植物,并可任意选择不同部位的根段和植物不同生育期进行研究。

Kuchenbuch等<sup>[4]</sup>设计了根垫法区分根际土壤。其方法是:将试验用的盆钵分为两部分,上部事先生长植物形成根垫,下部盛土。然后将上下容器相互连结。应用冰冻切片法区分根际土壤。根垫法的主要缺点是用于旱作物时由于上部容器内植物强烈的蒸腾作用影响着土壤的水分状况,从而对养分的垂直移动产生影响。同时由于密集根系所接触的土壤体积有限,当蒸腾强度极高时易出现植物凋萎或暂时性凋萎现象。吴文彬等对此进行了改进<sup>[5]</sup>。他们将上下容器的底部加上了300目的尼龙网筛。并在上部圆筒内(根垫区)添加少量(<0.3cm)的土壤,再覆盖1 cm厚的石英砂,植物则可避免出现凋萎现象。

Youssef等<sup>[6]</sup>建立了多隔层法以区分离根不同距离的根际土。用尼龙网筛将根系和离根不同距离的土壤各层隔开。每层厚度为5 mm, 中央室播种植物。需要取样进行分析时即将框架拆散。此方法不需冰冻切片, 避免了因冰冻切片等操作而引起的误差, 但是成本高, 材料再利用率低。

范晓晖等曾应用更为简便的单隔层法。在敞口的有机玻璃半盒中装入土壤, 经表面平整后, 覆盖一层塑料薄膜和海绵, 加盖玻璃板压紧。开口的顶端播种植物, 以45度角自然放置。在需要观察根系或作原位测定时打开玻璃盖及海绵等即可进行。也可以直接将供试植物的根贴在盒内的土面上, 经一定时间后, 观察根系的生长发育情况或检测各根区附近土壤的变化。

上述各种方法主要用于室内或盆栽试验中区分根际土壤。用于田间尚有不少问题待解决。

## 二、根际微区土壤营养状况的检测技术及其特点

从60年代开始, 原位检测根际微区养分状况采用了微电极和放射性同位素自显影技术。微电极法可以在田间或盆栽中原位的、连续进行测定, 微电极的尖端很细微, 可以达到微区的要求, 已广泛应用于根际环境的研究。刘志光等曾应用微铂电极原位测定离根不同距离土壤的pH和Eh变化<sup>[7]</sup>。季国亮等用微钾玻璃电极原位测定了水稻土中粒状碳酸氢铵周围不同距离的 $\text{NH}_4^+$ 变化等<sup>[8]</sup>。许曼丽等应用微钾玻璃电极原位检测根面土和非根际土的 $\text{K}^+$ 状况<sup>[9]</sup>。

Schaller等早就报道了用铈电极测定土壤和距花生根几毫米处的pH值。1985年连续发表了微铈电极( $< 1 \text{ mm}$ )用于检测花生和玉米根际pH的变化以及氮素和钾素营养对根际pH变化影响的结果。原位测定了沿根系各部位根际的pH变化<sup>[10]</sup>。以后, Häussling等又应用微铈电极研究不同氮形态和不同植物间根际pH变化的差异。Baghdady等进一步改进铈电极的结构成铈针电极(直径约 $0.2 \text{ mm}$ ), 使其具有更高的分辨力和精确度, 并适合于盆栽或田间试验中的根际pH测量。最近, 他们又应用改良型铈微电极(铈尖小于 $0.2 \text{ mm}$ )研究玉米根—土界面的pH变化, 同时与标准玻璃pH电极比较, 表明两者的线性相关达到显著水平<sup>[11]</sup>。说明改良微铈电极是根—土界面pH变化的适宜测量手段。仓东卿等将自制的KT87—6型毛管式针状微铈电极应用于根际pH的研究。宣家祥应用自制的PVC膜微钾电极直接测定了水稻单条根根际的 $\text{K}^+$ ; 用陶芯加固式液膜钙微电极测量水稻根际的钙离子浓度。

但是, 微电极法的电极选择和干扰因素的消除等问题较为复杂, 操作者必须有一定的技巧才能取得较满意的结果。

放射性同位素自显影法, 是最早用于原位、微区检测的技术, 在60年代初国外就已经开始应用。Walker等连续报道了应用 $^{86}\text{Rb}$ 、 $^{90}\text{Sr}$ 和 $^{99}\text{Mo}$ 示踪自显影的方法研究了根系周围土壤的养分分布<sup>[12, 13]</sup>。了解了 $^{86}\text{Rb}$ 的吸收和在玉米根际土壤中的亏缺过程。Lewis等应用 $^{32}\text{P}$ 示踪并通过不同时间的自显影研究磷在小麦根际中的变化以及亏缺现象。Barber等以 $^{45}\text{Ca}$ 为示踪剂进一步研究了不同植物根系近根土壤中 $^{45}\text{Ca}$ 的分布和动态<sup>[14]</sup>。

70年代初, 国外开始生产低能量放射性同位素 $^{33}\text{P}$ , 用以代替 $^{32}\text{P}$ 进行研究, 进一步提高了自显影技术图象的清晰度和分辨力。结合微量密度计扫描手段, 能够达到定量测定的要求。如Bhat等<sup>[15]</sup>应用 $^{33}\text{P}$ 自显影术研究油菜幼苗根际磷的亏缺范围, 认为其范围大小随根

毛的伸展而扩大。并以洋葱与油菜进行比较,说明根毛对磷吸收的影响。以后, Hendriks等应用微量密度计对自显影胶片进行密度扫描,并根据Passioura提出的计算方程式,研究放射性分布曲线与扫描所得的密度曲线之间的关系,从而对自显影图象进行修正。

许曼丽等应用薄层涂片自显影法<sup>[16]</sup>在厚度为1—1.2mm放射性同位素标记的土壤中进行自显影,可以减少深层土壤中的射线对土壤表面计数的干扰。所取得的图象较清晰,分辨力也较高。并以此法研究了不同植物和介质中的<sup>86</sup>Rb、<sup>32</sup>P和<sup>45</sup>Ca等在根际微区的分布。

电子探针显微分析技术是一种新的原位检测技术。用于根际微区的微域样品原位分析不仅能提供微区表面形貌的显微特征,而且能够同步分析原位的元素含量和分布。分析的灵敏度也很高,其绝对检出限量为 $10^{-15}$ — $10^{-18}$ g。因此曾被应用于根—土界面的养分研究。Miller首先用于磷酸—钙及其与 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 或 $\text{K}_2\text{SO}_4$ 配合施用后在根表淀积的状况。Chino研究了淹水条件下水稻根系及其周围土壤的化学元素分布。Tan等观察到花生、大豆离根面0.1—0.4mm土壤中有一个养分急剧变化区,而且P、K、Ca和S等元素的浓度在这区域内均明显低于两侧。由此认为,根际的范围只在离根表面0.2mm内。此外,施卫明等观察到硅在成熟根的内皮层聚积被认为是部分土壤渗入根组织而形成“内根际”的证据。廖宗文应用这一技术确认新垦红壤上水稻黄叶病的稻根周围存在明显的铁沉淀层。可见,电子探针在根际的研究中有着广阔的前景,并已取得了不少新成果。

电子探针显微分析的样品一般需经过固定、干燥、喷镀导电膜等前处理,而这样的处理通常不易保持试样中养分的原位。为寻求一种简便可靠的土壤与根组织连结的制样方法,施卫明等<sup>[17]</sup>对根际样品的制样方法和条件进行了研究,得到图象清晰,而养分元素移位现象不明显的结果,对阐明养分的原位状况效果较好。

电子探针显微分析技术的不足之处是测出的养分为全量结果,所检出的限量也尚不够低。因此,用于测定植物组织内的含量是可行的,但对根际土壤的有效养分则嫌不足。

原位显色法,检测根际微域pH和Eh变化的方法,近年来有所发展。Marschner<sup>[18]</sup>根据植物生长过程中根系溢泌 $\text{H}^+$ 或 $\text{OH}^-$ ( $\text{HCO}_3^-$ )以及其他有机物质致使根际pH发生变化的事实,利用pH指示剂原位显色的特点研究了沿根系各部位根—土界面的pH变化。由于生长在琼脂—指示剂溶胶介质中的植物根系各部位所溢泌的 $\text{H}^+$ 量不同,在根—土界面微区上显示出不同的颜色,再对照pH指示剂的变色标准,以确定根际pH变化的幅度。Trollerdier应用无色亚甲基兰等指示剂显色,测定根际的氧化还原状况也取得了较好的结果。原位显色法虽简便易行,只是应用在土壤上不如琼脂中清晰,同时只限于在一定的pH和Eh范围内应用。近年来,黄建国等报道了用显色方法在田间测定根际土壤pH原位变化。即定位取得带根的土块,用琼脂—pH指示剂溶质均匀地喷洒在土面上,待显色后观察不同土块的pH变化。目前这一方法在显色剂选用上虽仍需改进,但却具有一定的实用意义。

根际微区是土壤—植物—微生物三者紧密结合相互影响的场所。了解微生物的生态分布对于研究根际微区的养分状况具有十分重要的意义。根际微生物的检测方法,目前基本上是采用原有的土壤微生物分析方法,如稀释平板法和直接检测法。应用Cholodny提出的直接观察土壤中微生物分布的埋片法对旱作根际微生物进行原位观察常获得较为满意的结果。但对水稻根际微生物的测定则存在一定的困难。李振高等<sup>[19]</sup>则采用土—砂相结合的埋片法—改良埋片法。由于砂易从玻片上脱落,当根系生长穿过砂子沿玻片伸展并紧贴在玻片表面时,微生物细胞仍然保留在玻片上。这种方法避免了土壤埋片法在水饱和土壤中操作时易扰乱印迹的不足,也克服了砂埋片法不能反映土壤类型与根际微生物间的相互关系的缺点。

最近,李晓林应用分层培养法区分出菌根根际的方法更具有创造性。表明菌根菌丝体不仅影响根际的养分状况,而且菌根根际也存在pH下降和磷亏缺的现象。

以上是用于研究根际微区环境的主要方法,也是在我国现有实验条件下可能行的方法。当然,在区分出根际土壤后还可以根据研究的需要利用其他的仪器分析和测试手段进行检测,如用穆斯堡尔谱分析法研究根际土壤中铁的形态<sup>[20]</sup>,通过高压液相色谱仪测定根际土壤中的有机酸种类以及应用原子吸收分光光度法检测金属元素等也都是我们在研究工作中常用的技术。今后,随着根际环境研究工作的深入发展和微区研究方法不断完善、充实,既适宜于控制条件下又适用于田间条件下的测定方法必将出现。

### 参 考 文 献

- [1] Riley, D. and S. A. Barber, *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 33: 905—908, 1969.
- [2] Farr, E. et al., *Soil Sci.*, 107: 385—391, 1969.
- [3] 钦绳武,刘芷宇,土壤—根系微区养分状况的研究Ⅲ,水稻根际氮素的变化。土壤学报,第21卷第3期,238—246页,1984。
- [4] Kuchenbuch, R. and A. Jungk, *Plant and Soil*, 68: 391—394, 1982.
- [5] Youssef, R. A. and M. Chino, *J. Plant Nutrition*, 10: 1185—1195, 1987.
- [6] 刘志光,于天仁,土壤电化学性质的研究Ⅰ。微电极方法在土壤研究中的应用。土壤学报,第11卷,第2期,160—170页,1963。
- [7] 季国亮,王敬华,用微电极研究碳铵粒肥在水稻土中的释放扩散问题。土壤学报,第15卷,第2期,182—186页,1978。
- [8] 许曼丽,刘芷宇,土壤—根系微区养分状况的研究Ⅱ。钾离子的富集与亏缺。土壤学报,第20卷,第3期,295—302页,1983。
- [9] Schaller, G. and W. R. Fischer, *Z. Pflanzenernähr Bodenk.*, 148: 306—320, 349—355, 1985.
- [10] Baghdady, N. H. and K. Sommer, *Z. Pflanzenernähr Bodenk.*, 153: 323—326, 1990.
- [11] Walker, J. M. and S. A. Barber, *Plant and Soil*, 17: 243—259, 1962.
- [12] Barber, S. A., *Soil Sci.*, 93: 39—49, 1962.
- [13] Barber, S. A. and P. G. Ozanne, *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 34: 635—637, 1970.
- [14] Bhat, K. K. S. and P. H. Nye, *Plant and Soil*, 41: 365—382, 1974.
- [15] 许曼丽,蒸腾强度对根—土界面磷浓度的影响及其与吸收的关系。植物生理学通讯,第5期,24—27页,1988。
- [16] 施卫明,徐梦熊、刘芷宇,土壤—植物根系微区养分状况的研究Ⅳ。电子探针制样方法的比较及其应用。土壤学报,第24卷第3期,286—290页,1987。
- [17] Marschner, H., V. Römheld and H. Ossenbergh-Neuhaus, *Z. pflanzenphysiol.*, 105: 407—416, 1982.
- [18] 李振高,吴留松,乔凤珍,万焕楣,水稻根际微生物生态研究的改良埋片法。生态学杂志,第7卷,第1期,48—50页,1988。
- [19] 施卫明,刘芷宇,麦类作物根际麦根酸的分布和难溶性铁的活化。科学通报,第1期,64—67页,1991。

(上接第334页)

总之,在经过搁田处理而且排灌条件较好的田块,推行以水带氮肥深施技术能取得明显的增产效果,施入氮肥有60%能随下渗水进入土层,达到深施的目的。但对于漏水、漏肥的砂性田块则不宜采用。