

# 一种新型连续根分泌物收集装置

廖继佩<sup>1</sup> 林先贵<sup>1</sup> 曹志洪<sup>1</sup> 赵震庆<sup>2</sup> 杨秋忠<sup>2</sup>

(1 中国科学院南京土壤研究所 南京 210008; 2 中兴大学土壤环境科学系 台中 402)

**摘要** 介绍一种新型连续根分泌物收集装置的制作、使用方法、注意事项和适用范围,以期进一步推动当今根分泌物这一热点研究领域的发展。

**关键词** 根分泌物;连续收集装置;无底玻璃瓶;树脂

**中图分类号** S154.4

除了脱落的细胞和所产生的粘液外,植物根也分泌种类繁多的可溶性物质,如分子量大小不一的糖类、有机酸、氨基酸、脂肪酸、甾类、酶、植物生长素等,其中主要为糖类、有机酸和氨基酸。根分泌物因植物种类、生理因子(如年龄,营养状况)和非生物条件(如温度,土壤结构,通气性和水分含量)而差异很大,也与微生物的活性(消耗数量),从根分泌出来后再进入根内的数量和根的损伤程度等有关,若在土壤中收集则与微量取样器的位置有关。根分泌物易被微生物所利用,通常认为是根际微生物数量和活性增加的主要原因之一。根系分泌物总量占植物光合作用产物的很大一部分,有时高达70%~80%的量被转移到根部,但一般为12%~40%<sup>[1]</sup>。根分泌物是根际微生态系统中物质迁移和调控的重要组成部分,因此研究根分泌物具有重要的意义。

然而,当今我们对根际化学的了解是极其有限的,主要因为在研究根际分泌物时研究者常面临以下3方面的问题:(1)所要收集的分泌物通常含量极低,从而需要大量的植物和延长收集时间来获得足够量的分泌物;(2)样品的收集和处理是很繁琐的,一些不太稳定的化合物就会变性;(3)传统溶剂萃取法收集微量分泌物时生长基质、容器、营养液、水、萃取剂等将会对样品造成严重的污染<sup>[2]</sup>。尽管根际土壤溶液取样器(Rhizon SMS)能原位直接抽提土壤溶液,但是其PVC管含有30%的增塑剂和少量的稳定剂,痕量的样品能进入样品<sup>[3]</sup>,加之,所取的溶液常含有大量的土壤有机质,因此也会对样品造成较大的污染和干扰。另外,土壤是一

个非常复杂的多相体系,土壤溶液化学的影响因素还没有弄清,再加之土壤中存在时空变异,这给采集具有代表性的土壤溶液增加了许多困难<sup>[4]</sup>,从而就难以收集到能代表真正根分泌物的溶液。以下介绍的连续根分泌物收集装置将克服上述的缺点。

## 1 连续收集装置配件和制作方法

**无底玻璃瓶:**根据试验需要选取一定大小的棕色玻璃瓶,用不锈钢锯将玻璃瓶底部锯掉,并用砂布将棱角磨平,洗净后用铝箔包好。

**橡皮塞、“T”形管、小玻璃管、玻璃柱、橡皮管和弯形玻璃管:**在橡皮塞中部打一直径为7mm的

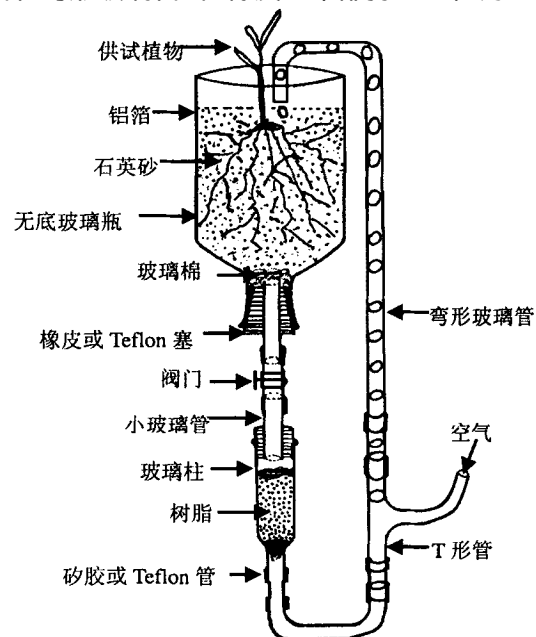


图1 根分泌物收集装置

Fig. 1 A trapping system of root exudates

孔,外面涂一层硅酮(silicone),以防橡皮塞中有机成分的溶出或用特氟隆(Teflon)塞代替。“T”形管的外直径为8mm。小玻璃管的外直径为8mm,长约为7cm。玻璃柱上内直径(约2cm)应与橡皮塞相配。选用内径为7mm的矽胶管(用特氟隆管最好)。弯形玻璃管的长度随各人的试验设计而异。

充气泵:可用Sonic 9905(AC 120V,60Hz,2.9W),最好每一“T”形管连一个泵,以利于调节流速。

## 2 其它材料和处理方式

玻璃棉:经2mol/L的HCl浸泡24h,然后用自来水冲洗干净。用玻璃棒将玻璃棉压成所需的形状和厚度。

石英砂:为白色,且无其它杂色。其粒径为0.5~1mm,使植物生长的介质具有良好的保水性和透气性,从而有利于植物的生长。用2mol/L的HCl浸泡24h,然后用自来水冲洗石英砂,直至洗后的溶液pH为7。将石英砂装入不锈钢托盘中,15磅下湿热灭菌1h,为了有利于装盆可放在烘箱中烘干(70℃),或在烘箱中经170℃干热灭菌2h。用橡皮塞塞好无底瓶口,以一定量的玻璃棉盖在橡皮塞上(用玻璃棒压实),以防石英砂漏出。

树脂:XAD-4中性交换树脂,Amberlite IRC-50阳离子交换树脂及Dowex-1阴离子交换树脂,分别收集中性、酸性及碱性部分根分泌物。可根据试验的目的选择以上任何1种、2种或3种树脂,当然也可选择其它类型的树脂。XAD-4中性交换树脂(Sigma),经甲醇淋洗除去杂质,Amberlite IRC-50阳离子交换树脂及Dowex-1阴离子交换树脂(均为Sigma),分别经由去离子水和0.1mol/L HCl或0.1mol/L NaOH配成的pH4.0和pH8.0溶液淋洗杂质,对比淋洗前后液体的HPLC峰来判断是否已淋洗干净,最后用各自的洗涤液浸泡直至装柱。装柱时以量筒量取相应体积的树脂,反复用各自的浸泡液冲洗量筒,倒入玻璃管柱中(管柱底部用适量的玻璃棉塞好,外部用铝箔包好遮光),管柱内树脂顶部也应塞好一定量的玻璃棉。

## 3 平时管理和根分泌物收集方法

根据所加的石英砂量及其饱和含水量的多少来确定应加多少体积的营养液。将出芽时间相同的健康种子移入石英砂中。无底瓶顶部用铝箔盖好,并

在铝箔中打一小孔,有利于幼苗从此洞长出,待幼苗长出后,用脱脂棉塞好此洞,以防绿藻生长。以后每隔一定时间加入相同处理的营养液,依照下列步骤:将夹子松开,让里面的营养液流出后,加入一定量的营养液洗涤2次,将里面的残余液抽干,拧紧夹子,然后再加一定量的营养液。平时注意盆钵中的含水量,浇蒸馏水,以维持植物正常生长所需的水分。

当收集一定时期的根分泌物时,应将底部的夹子拧开,先用蒸馏水洗4次(洗后最好抽干),然后再用去离子水洗2次。将玻璃柱、充气泵及其它配件装上,接上电源,这样充气泵就会充入一定流速的气体,气泡将带动连续的溶液进入瓶中,从而无底瓶中的液体就会循环流动,形成一个不受干扰的连续循环根分泌物收集装置。根分泌物在经过装有树脂的玻璃柱时就会吸附在树脂表面。调节水流速度为1L/h,收集分泌物的时间以3天为宜。

收集一定时间后,将玻璃柱取下,抽出玻璃管中树脂内多余的水分。分别收集各层树脂。用以前各自的洗涤液100ml分别洗出根分泌物(洗4次,每1次25ml)。每部分根分泌物溶液分别在真空减压条件下于40℃水浴槽中浓缩至15ml,然后洗涤定容至20ml,过0.45μm的醋酸纤维微孔滤膜,将滤液在冰箱(5℃)的中保存直至测定。

## 4 注意事项

制作无底玻璃瓶时应戴上防护眼镜,以防玻璃碎屑不慎进入眼内。也可将玻璃瓶放在水中,然后锯其底部,这样既可散热,又较安全。当接上玻璃柱时应排尽其中的空气,以利于回流,然后用一根线将玻璃柱上部和无底玻璃瓶口连接在一起,以防玻璃柱掉下损坏。为了使玻璃瓶中的溶液能连续地循环流动,“T”形管大约位于玻璃柱中部,所加溶液的量以充气泵充气时有连续的小水柱回流为宜。应在适当的地方加入适量的玻璃棉,防止石英砂和树脂掉出。同时,玻璃棉不应太多,否则不利于液体回流。充气泵应略高于玻璃瓶中的水平面,以防突然停电造成水倒流而损坏充气泵。由于在收集根分泌物前一般很难洗净石英砂,所以最好先用一些廉价且无杂质的阴阳离子交换树脂吸附溶液中剩余的阴阳离子约4h,然后再接上相应的玻璃柱。当然也可移栽已经长大的植物。

## 5 适用范围

因为收集根分泌物的时间只有 3 天左右，且分泌物一旦被树脂颗粒吸附后其化学稳定性将有所提高，从而这种连续根分泌物收集装置就能够收集到真正的根分泌物。用这一方法收集新鲜水样或海洋浮游生物胞外代谢产物也是可行的。当然，也可定性定量地研究营养、各种物理化学胁迫因子、根系与有益(如菌根真菌和固氮微生物)或有害(如致病菌)土著微生物的相互作用、自我抑制作用、内吸杀虫剂(注入动植物体内无害但能杀死吮吸汁或血的寄生虫)等因子对根分泌物的影响<sup>[5]</sup>。对菌根植物而言，因菌丝易断，所以利用此法可原位地测定菌根分泌物。另外，将该系统改进后可进行无菌培养或放射性同位素的研究。由于这一连续根分泌物收集系统有如此多的功能，所以该装置在探讨胞外活性分子的生理学特性和功能方面也是十分有用的。

## 参考文献

- 1 Roberto P, Zeno V, Paolo N. The rhizosphere as a site of biochemical interactions among soil component, plants and microorganism. In the Rhizosphere, Dekker Publisher, 2001,1~18.
- 2 Young CC. Allelopathy in Hemarthria altissima and Desmodium intirtum association. Proceedings of the Seminar on Allelochemical and Pheromones. 1982,87~96.
- 3 吴龙华, 骆永明. 根际土壤溶液取样器——介绍一种新型原位土壤溶液采集装置. 土壤, 1999, 31(1): 54~56.
- 4 宋静, 骆永明, 赵其国. 土壤溶液采样技术进展. 土壤, 2000, 32(2): 102~106.
- 5 Tang CS, Young CC. Collection and identification of allelopathic compounds from the undisturbed root system of bigalta limpogress (Hemarthria altissima). Plant Physiology, 1982, 69:155~160

## A NEW SYSTEM FOR CONTINUOUS TRAPPING OF ROOT EXUDATE

Liao Jipei<sup>1</sup> Lin Xiangui<sup>1</sup> Cao Zhihong<sup>1</sup> Zhao Zhenqing<sup>2</sup> Yang Qiuzhong<sup>2</sup>

( 1 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008;

2 Department of soil environmental science, Zhongxing University, Taizhong 402 China )

**Abstract** In order to facilitate research on root exudates, a new system for continuous trapping of root exudates as well as its usage, notices and scope of application were introduced.

**Key words** Root exudates, Continuously trapping system, Bottomless bottle, Resin

\*\*\*\*\*

## 《江苏省志·土壤志》面世

在中国科学院南京土壤研究所领导的大力支持下，由张俊民、陆彦椿、单光宗、龚子同、徐琪、吴志东等同志编写的《江苏省志·土壤志》已于 2002 年 12 月由江苏省古籍出版社出版发行。该书集中国科学院南京土壤研究所在江苏几十年研究工作的成果，以及江苏全省土肥技术工作者和广大农民群众经验总结，完成了江苏省人民政府下达的任务。全书共分 16 章，68 万字，内容丰富翔实，各个土类的代表剖面有项目齐全、系统的分析数据，并全面反映了土壤形成、土壤资源、改土培肥以及土壤分类的历史演变与土壤科学技术的发展过程，附有 1:200 万彩色的《江苏省土壤图》和《江苏省土壤区划图》各 1 幅，彩色景观照片和土壤剖面照片 40 幅，被江苏省地方志编纂委员会的专家们评价为是一部具有学术专著特点的地方志。著名土壤学家李庆逵院士为该书写了序。中国科学院南京土壤研究所、江苏省农林厅的领导 and 有关部门对本书的编纂工作始终给予关注、支持和帮助。据全国地方志编纂委员会统计，全国各省(区、市)的地方志中，只有江苏省有土壤志，其他省(区、市)把土壤作为自然地理志或农业志中的一部分。

陆彦椿 张俊民