

油菜、荞麦根分泌物中糖及有机酸组分的研究*

王俊儒¹ 安保珠¹ 尉庆丰²

(1 西北农业大学基础科学系, 2 农化系, 陕西杨陵 712100)

摘 要 利用连续流动收集系统收集了油菜、荞麦根分泌物, 对介质 pH 变化、分泌物中碳水化合物组成及有机酸进行了测定。结果表明, 荞麦、油菜生长介质中 pH 值变化的差异反映了它们泌质子能力的差异。在油菜分泌物中检测出高水平的鼠李糖, 在荞麦中则是阿拉伯糖含量最高。草酸、琥珀酸是两种作物根分泌物的主要有机酸。苹果酸、柠檬酸在油菜根分泌物中没有检测出。

关键词 根分泌物, pH, 有机酸, 碳水化合物, 油菜, 荞麦, HPLC

中图分类号 Q948.12

植物在生长过程中, 根系一方面从环境中摄取水分和养分; 另一方面向生长环境中分泌质子, 释放无机离子, 分泌大量有机物质, 从而改善根际微生态环境, 以利自身生长。Vancura 曾指出这些根分泌物是“根际效应的决定因素”。生长在有效养分低的土壤上的某些植物品种, 由于长期的生态适应过程, 使其逐步进化形成一些主动分泌机制来改善根际 pH^[1], 活化养分, 从而提高养分利用效率。

许多研究表明, 油菜 (*Brassica napus*) 和荞麦 (*Fagopyrum esulentum*) 均为耐低磷植物品种^[2], 尤其对难溶性磷的利用率高^[3,4]。阐明它们活化磷素的机制, 对于人们有可能实现利用新的生物学手段, 缓解乃至解决石灰性土壤有效磷缺乏的问题具有特殊的重要意义。有关油菜和荞麦的根分泌物组成报道不多。本文研究油菜和荞麦生长过程中对介质 pH 值的影响, 以及分泌物中糖和有机酸的组成, 目的为进一步探讨其活化磷机制提供物质依据。

1 材料与方法

1.1 供试作物

油菜为豫西 10 号, 荞麦为海南白花荞。

1.2 植株培养及管理

参照文献[5]进行。

1.3 根分泌物收集和分离

砂培淋洗后, 即收集根分泌物, 每隔 7 d 更换一次营养液, 循环流动速度为约 800 mL · h⁻¹, 每天添加适量重蒸水, 以补偿蒸腾和挥发损失。收集到的溶液在减压下 50℃ 浓缩至原体积 1/5, 浓缩液依次用等量二氯甲烷、乙酸乙酯各萃取 3 次, 萃取液经无水 MgSO₄

收稿日期: 1994-11-30

* 国家自然科学基金资助项目

干燥后浓缩至 10 mL 备作他用。母液继续浓缩,至一定体积,一部分用来测糖组成,另一部分用来测有机酸组成,其余冷藏备用。油菜和荞麦根分泌物各收集 50 d 左右。

1.4 根分泌物组成和特性测定

介质 pH 值用 PB-4 型酸度计测定;糖组分测定按糖腈乙酰化方法^[6]测定。先将溶液浓缩至干,用适量吡啶溶解提取 3 次,溶液合并后定容测游离单糖;残渣再次蒸干, H_2SO_4 水解法水解后定容,测定水解液中碳水化合物组成。分别以阿拉伯糖、木糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、甘露糖作标准,肌醇为内标,均经糖腈乙酰化。有机酸组成按李连朝^[7]方法测定,稍有改动。仪器为 Waters 公司高效液相色谱仪(检测器为 UV-481,510 型泵),Millipore 公司四柱型超纯水制备装置,Hatachi 公司 SCR OBC 型高速离心机。色谱条件为:柱 $\mu\text{-Bondapak C}_{18}$,流动相 2.5% $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (pH2.50),流速 $2\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,纸速 $0.5\text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$,UV200,灵敏度 0.05 AUES。根分泌物溶液先经阳离子交换柱除去大部分阳离子后,再按文献^[7]的方法进行测定。

2 结果与讨论

2.1 植物根生长介质中的 pH 的变化

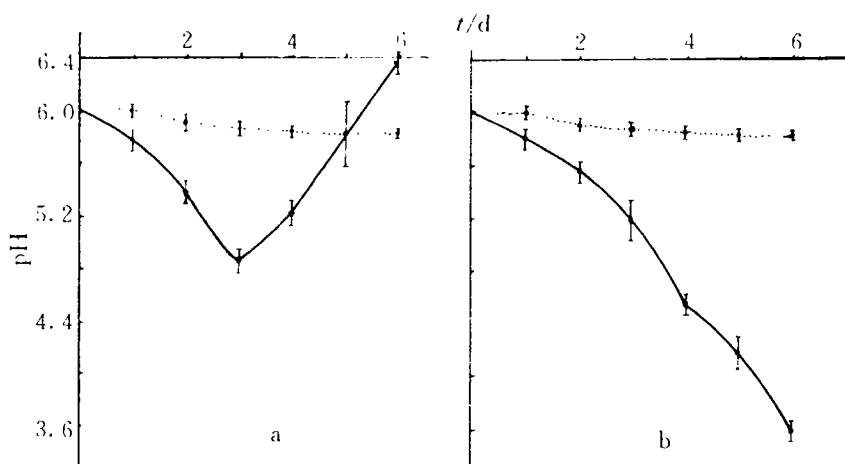


图1 根介质中 pH 值变化
a. 油菜; b. 荞麦

待植株生长稳定后,每 7 d 定期更换营养液,测定此期间 pH 变化状况,结果如图 1 所示。可以看出,油菜与荞麦二者变化状况不同,油菜在第 3 天 pH 降至最低为 4.88 左右,尔后又回升,而荞麦 pH 值一直在下降,最后降至 3.8。表明荞麦有很强的泌质子能力(有机酸)^[4],而油菜泌质子初期较强,后又有 OH^- 泌出使 pH 上升。因为植物在养分吸收与代谢过程中常伴随着 H^+ 或 OH^- 的溢泌,从而导致根际 pH 的变化。以 NH_4^+ 为氮源时,代谢过程将有 H^+ 产生,以 NO_3^- 为氮源时,伴随 NO_3^- 的还原将有 OH^- 形成, SO_4^{2-} 还原过程中也有 OH^- 产生。植物吸收离子时,阴阳离子不平衡以及高钙吸收也会引起根分泌 H^+ ,从而导致介质中 pH 随之变化。

导致植物根 H^+ 交换的因素包括营养缺乏^[8], 细菌侵染, 根延伸性与向地性, 以及阴阳离子吸收不平衡^[9]。在许多植物中 H^+ 交换位点随上述因子作用程度不同而有所变化。如 H^+ 交换位点一般局限于主根系的根尖及侧根上, 当定位施用磷矿石于油菜时, 泌酸位点便可移位至与磷矿石直接接触的区域^[10]。

缺锌、铁、磷是石灰性土壤上的典型营养缺乏现象, 通过生物途径活化难溶性磷、铁、锌, 从而提高其生物有效性具有重要的现实意义。已知 NH_4^+-N 源及缺少元素(P、Fe、Zn、K 等)可使植物根际酸化, 从而提高土壤中难溶性矿质元素如 P、Zn、Fe、Mn 等的有效性以及肥料利用率^[11]。因此, 本实验测得油菜和荞麦生长期根际 pH 显著下降, 可能和它们的耐低磷特性有关。

2.2 根分泌物中糖的分析

根分泌物中糖组成见表 1, 其中游离单糖含量最大, 约占总糖量 85% 以上, 在油菜为鼠李糖, 在荞麦中为阿拉伯糖。而其他水溶性多糖含量较低, 其组成主要为葡萄糖、半乳糖、甘露糖。由于未实行严格的无菌控制, 微生物参与根际的代谢可能不可避免。但是在空白砂培的溶液中未检测出这些糖的存在, 说明这些糖来自根分泌物。

表 1 根系分泌物中糖的组成和含量 (10⁻³ mol/g 鲜根)

根分泌物	游离单糖		水溶性多糖组成						总 糖
	Rha	Ara	Rha	Ara	Xyl	Man	Glu	Gal	
油菜	3.57	—	0.94	0.96	0.09	1.48	3.64	1.81	12.49
荞麦	—	0.58	0.11	0.17	0.10	0.17	0.42	0.33	1.88

* 油菜收集时间为 56 d, 荞麦为 45 d。

碳水化合物是根分泌物中重要一类组分, 包括上述几种糖在内, 至少已有 16 种糖得到鉴定^[12]。在根际土壤中这些碳水化合物、根溢泌的粘胶物质以及根细胞或组织脱落降解物质在根际为微生物提供了丰富的营养和能源物质, 使根际微生物的数量和活性远高于土体。

2.3 有机酸的检测和分析

在油菜和荞麦的根分泌物中分别检测到不同的有机酸。图谱(图 2, 3)显示出利用 HPLC 方法在很短时间内可将有机酸得以很好分离。在空白对照中却没有检测出有机酸的存在, 表明荞麦、油菜砂培中的有机酸都来源于根分泌物。

根分泌物中有机酸组成如表 2 所示。在荞麦根分泌物中, 主要以二元羧酸为主, 约占有机酸总量的 89%。而在油菜根分泌物中只检测到草酸和琥珀酸。这一结果与缺磷下油菜根分泌物中有机酸种类完全不同^[13]。在某一油菜根分泌物样品中也检测出痕量柠檬酸的存在(未列出)。从实验结果看, 油菜根分泌的有机酸量大于荞麦。结合它们对介质 pH 的影响, 说明荞麦更易于分泌 H^+ 而不是有机酸, 油菜的根际酸化是由于有机酸的缘故。总的看来, 两种作物分泌的有机酸都很可观, 这可能与定时更换营养液有关。每天更换处理比不更换处理要多达 8 倍量有机碳的分泌。实验中其它种类的有机酸如柠檬酸、苹果

酸、乙酸等在油菜(荞麦)根分泌物中未被检测到,其原因有待进一步探讨。

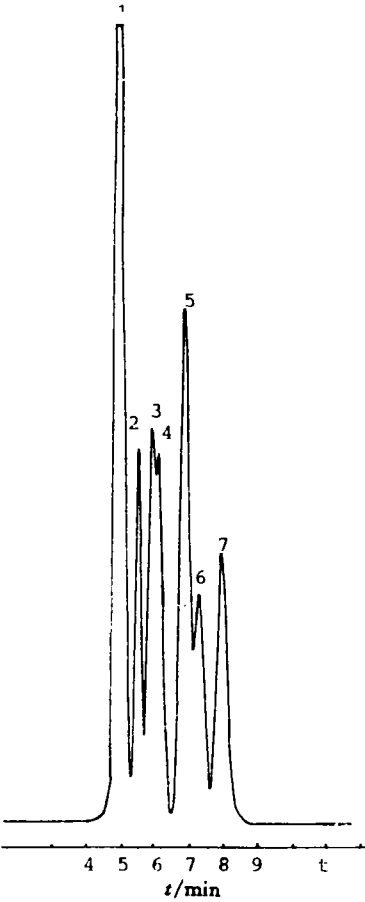


图 2 7 种标准有机酸的 HPLC 图谱
1. 草酸; 2. 酒石酸; 3. 苹果酸; 4. 乳酸;
5. 乙酸; 6. 柠檬酸; 7. 琥珀酸

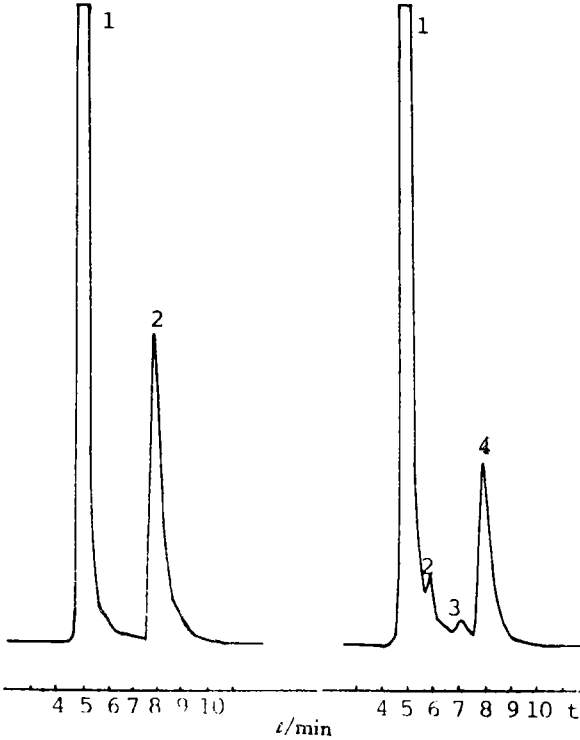


图 3 HPLC 图谱显示出根分泌物中有机酸的存在
a. 油菜; 1. 草酸; 2. 琥珀酸
b. 荞麦; 1. 草酸; 2. 乳酸; 3. 柠檬酸; 4. 琥珀酸

根分泌有机酸的重要意义之一就在于能够影响根际可供植物吸收的养分有效性上。柠檬酸和苹果酸、琥珀酸的分泌已被证实是白羽扇豆、苜蓿、油菜缺磷产生的响应,番石榴酸及其甲基衍生物是木豆比起高粱、大豆、谷子、玉米等耐低磷能力强的特殊有机酸^[2]。目前已有足够的证据证明有机酸分泌在活化磷增进养分吸收方面所做的重要贡献。但是近期能否开发成一种实用的农业生物技术,运用于农业生产还需要做多方面的工作。

表 2 根系分泌物中有机酸组成和含量 (10⁻⁵ mol/g 鲜根重)

根分泌物	草酸	乳酸	柠檬酸	琥珀酸	总有机酸
油菜	19.6	—	—	5.37	7.33
荞麦	0.98	0.20	0.02	0.77	1.97

* 收集时间同表 1.

参 考 文 献

- 1 Nye P H. Changes of pH across the rhizosphere induced by roots. *Plant Soil*, 1981, 61: 7
- 2 张福锁主编. 植物营养生态生理学和遗传学. 北京: 中国科学技术出版社, 1993
- 3 Fohse D, Classen N, Jungk A. Phosphorous efficiency of plants. I. External and internal P requirement and P uptake efficiency of different species. *Plant Soil*, 1988, 110: 101~109
- 4 Van Ray B, Van Diest A. Utilization of phosphate from different sources by six plant species. *Plant Soil*, 1979, 51: 577
- 5 安保珠, 王俊儒, 赵效文. 小麦、油菜、荞麦根分泌物中非极性和弱极性组分的比较研究. *西北农业大学学报*, 1995, 23(3): 31~35
- 6 杨精干, 张宏书. 气相色谱法定量分析单糖的研究. *色谱*, 1988, 6: 238~241
- 7 李连朝. 分析测试通报, 1989, 8(3): 21~36
- 8 张福锁, 曹一平. 根际动态过程与植物营养. *土壤学报*, 1992, 29(8): 239~250
- 9 Bekele T, Cino B J, Ehlert P A T, et al. An evaluation of plantborne factors promoting the solubilization of alkaline rock phosphates. *Plant Soil*, 1983, 75: 361
- 10 Hoffland E. Quantitative evaluation of the role of organic acid exudation in the mobilization of rock phosphate by rape. *Plant Soil*, 1992, 140: 279
- 11 Mench M, Martin E. Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *zea mays* L., *Nicotina tabacum* L. *Nicotina rustical.*, *Plant Soil*, 1991, 132: 187
- 12 Schonwitz R, Ziegler H. Exudation of water soluble vitamins and of some carbohydrates by intake roots of maize seedlings (*Zea mays* L.) into a mineral nutrient solution. *Z. Planz und Boden*, 1982, 107: 7
- 13 Hoffland E, Findenegg G R, Nelemans J A. Solubilization of the rock phosphate by rape. I. Local root exudation of organic acids as a response to P-starvation. *Plant Soil*, 1989, 113: 161

Determination of Carbohydrates and Organic Acids in the Root Exudates of Rape and Buckwheat

Wang Junru¹ An Baozhu¹ Wei Qingfeng²

(1 Department of Basic Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

(2 Department of Agro-chemistry, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The pH value changes in the rooting medium, composition of carbohydrates, and organic acids of the rape and buckwheat root exudates, got with continuous flowing collecting system, were determined. The results show that the different changes of pH values reflect the different H⁺-excretion ability in the two crops. High level of Rhamnose was found out from the root exudates of rape while high level of Arabinose from buckwheat. Oxalic and Succinic acids were the main organic acids in the root exudates from both crops. No malic and citric acids were found in rape exudates.

Key words root exudate, pH value, organic acids, carbohydrates, rape, buckwheat, HPLC