

# 玉米和花生根际生物的原位观察初探<sup>\*</sup>

李清波<sup>1</sup> 左元梅<sup>2</sup> 张福锁<sup>2</sup>

(中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室 南京 210008)<sup>1</sup>

(中国农业大学资源与环境学院植物营养系 北京 100094)<sup>2</sup>

**摘要:** 利用改进根箱法对玉米和花生根际生物进行了原位采样和观察。采用载玻片贴片方法直接采集到作物根系分泌物中的生物,并用荧光显微镜进行观察。花生根系分泌物中分布有微生物,但是根系表面未发现生物;玉米根系分泌物中分布有线虫和生物体,根系表面分布

---

<sup>\*</sup> 国家自然科学基金重大项目 (No.39790101)

国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 项目资助 (No.2002CB410810)

收稿日期: 2002-11-25, 修回日期: 2003-04-28

有生物体,其形态与根系分泌物中生物体形态相似。表明此方法是一种原位研究根际生物的较为有效的方法。

关键词:改进根箱,根际,根系分泌物,生物体

中图分类号:Q93 文献标识码:A 文章编号:0253-2654(2004)01-0005-05

## IN-SITU OBSERVATION OF ORGANISMS IN THE RHIZOSPHERE OF MAIZE AND PEANUT USING IMPROVED ROOT BOX METHOD

LI Qing-Bo<sup>1</sup> ZUO Yuan-Mei<sup>2</sup> ZHANG Fu-Suo<sup>2</sup>

(*Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008*)<sup>1</sup>

(*Department of Plant Nutrition, Resources and Environment College, Agricultural University of China, Beijing 100094*)<sup>2</sup>

**Abstract:** The organisms from crop root exudates were collected directly by putting slide onto root surface and observed the organisms on the slide and root surface by fluorescence microscope. It was showed that microorganisms were distributed on peanut root exudates but no organism was found on root surface. Nematode and unidentified organisms were seen on the slide from maize root exudates, while similar organisms were found on maize root surface. This indicated that this is a useful method for *in situ* observation of rhizospheric organisms.

**Key words:** Improved root box, Rhizosphere, Root exudates, Organisms

根际土壤生物是植物根际微生态系统中非常活跃的一个组成部分,这既表现在它们积极参与根际环境中物质和能量的交换,也表现在它们经常处于一种动态的变化之中,其群体的特征会随植物基因型和植物生长阶段的不同而发生变化。因此在研究根际土壤生物时应充分考虑它们的动态特征,同时也要考虑植物生长阶段性变化对其周围土壤生物的影响,这就要求在研究根际土壤生物数量、种群结构和性质时,要进行动态跟踪研究。

多年来,国内外研究者一直在探索根际土壤生物的原位观察和测定方法,并相继建立了埋片法、根箱法<sup>[1,2]</sup>,但都难以实现根际土壤生物的原位动态观察和测定。本研究对原有根箱法进行了改进<sup>[2]</sup>,采用了贴片方法采集根际土壤生物,实现了对作物根际土壤生物的原位观察和采样,同时对作物根面分布的土壤生物进行了观察。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 供试土壤:**北京大兴县石灰性砂壤土,土壤有机质含量为 3.9g/kg,全氮 0.27g/kg, Olsen-P 3.9mg/kg,  $\text{NH}_4\text{OAc-K}$  60.4mg/kg,有效铁 (DTPA-Fe) 4.52mg/kg, pH 值 8.3, ( $\text{CaCO}_3$ ) 8.32%。

**1.1.2 供试作物:**玉米(丹玉 10)和花生(8130)。

### 1.2 方法

**1.2.1 根箱制作方法:**该根箱的制作方法是在 3 室根箱中加入一个“U 型”框,“U 型”框的材料与根箱所用材料相同,为聚氯乙烯塑料板(见图 1)。5 室根箱内框可随时取出以便原位采样和观察,5 室根箱内室可根据不同需要种植作物,因此按照根系的分布状况可采集和观察到非根际土(无作物根系)、根系分泌物及根面上的土壤生物分布状况。

**1.2.2 作物培育方法:**玉米和花生根箱栽培的施肥量(mg/kg):N150( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ),

P150 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), K100 ( $\text{KCl}$ ),  $\text{Mg}50$  ( $\text{MgSO}_4$ ),  $\text{Zn}5$  ( $\text{Zn}(\text{SO}_4)_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ),  $\text{Cu}5$  ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )。风干土过 2.5mm 筛, 将肥料与土壤充分混匀后, 按  $1.3\text{g}/\text{cm}^3$  的土壤容重分别装入根箱中各室, 每室盛土量为 1.5kg。为诱导作物根系沿土体剖面外侧分布, 水应浇在非根室内 (未种植作物的根室)。

**1.2.3 采样步骤:** 在玉米 3~4 叶期和花生分枝期时, 将根室和非根室取出, 然后将载玻片分别贴在非根室土壤剖面和玉米及花生根尖表面上 2~3min 后, 取下用 95% 乙醇固定 (见图 2 和图 3); 同时分别取玉米和花生根尖 1cm 左右。

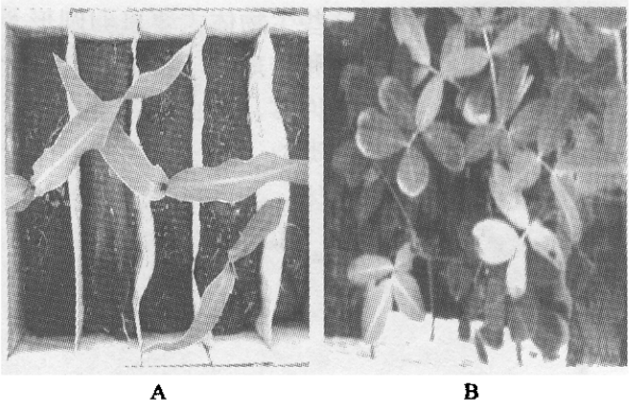


图 1 改进根箱俯视照片  
A 玉米, B 花生

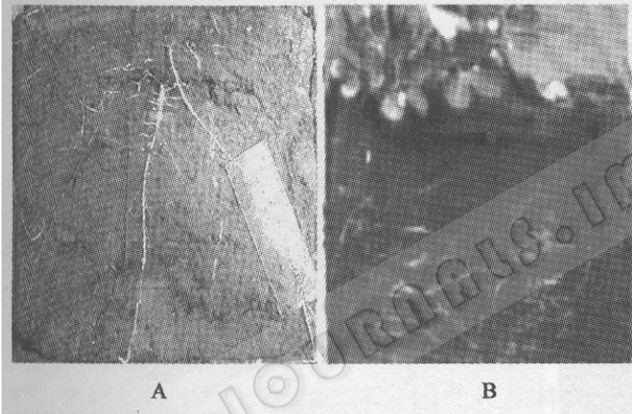


图 2 载玻片采样  
A 玉米根系, B 花生根系

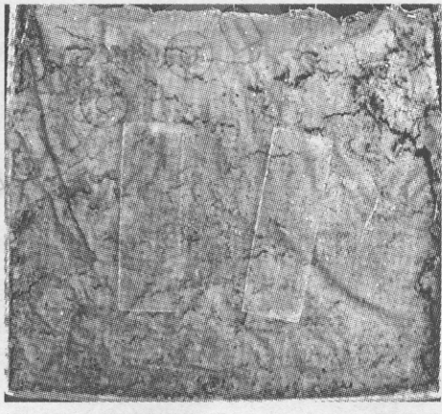


图 3 非根室土壤剖面载玻片采样

**1.2.4 根际生物的观察:** 带回实验室的载玻片分别用草酸铵结晶紫和溴乙淀染色, 由于根系分泌物的存在, 染色后根系分泌物痕迹更为清楚, 呈根系形状分布; 将玉米和花生根段分别放置在载玻片上, 用玻璃棒将其捣碎, 然后用 95% 乙醇固定, 草酸铵结晶紫和溴乙淀染色。观察仪器为荧光显微镜 (Leica), 荧光染色剂为溴乙淀 (EB)<sup>[3]</sup>, 染色剂中的草酸铵结晶紫按文献<sup>[4]</sup>配制。

2 结果与分析

2.1 根系分泌物中的生物

图 4 为玉米根系分泌物中的

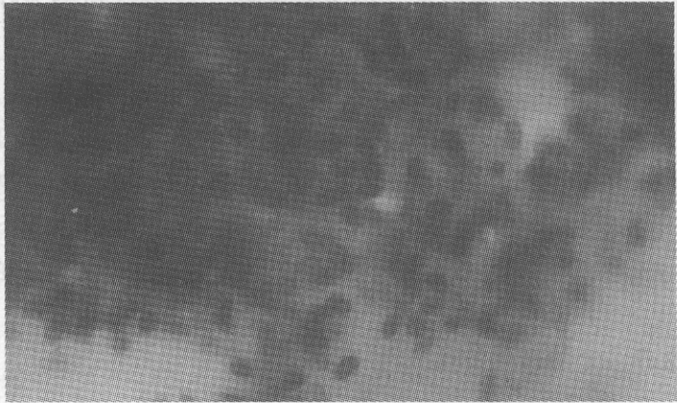


图 4 玉米根系分泌物中的生物体 (10×100)

生物体,从图中所见这些生物体主要呈卵圆形,有的单个存在、有的2个或4个相连,着生方式类似于双球菌和链球菌。但是从生物体大小来看,这些生物体显然要比通常所观察到的细菌菌体大许多,因此不能确定它们是否是细菌。图5为花生根系分泌物中的生物体,图中可见类似一些真菌的菌丝体(孢子丝)或呈链状排列的链杆菌。图6为玉米分泌物中的生物体,A为线虫,B目前尚未见到有关此类生物体的报道。

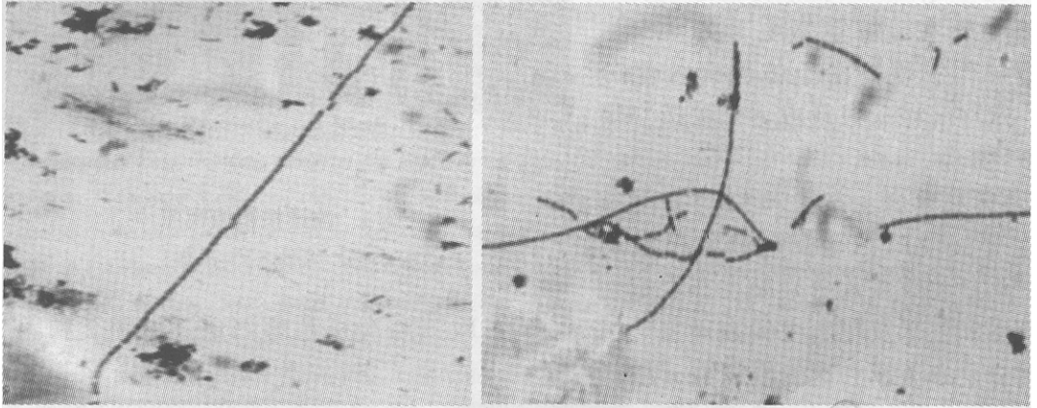


图5 花生根系分泌物中的细菌(10×100)

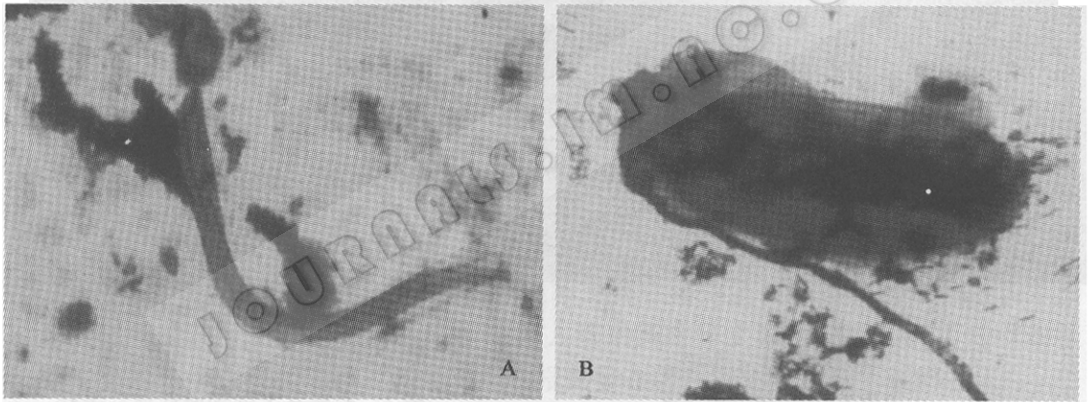


图6 玉米根系分泌物中的细菌(10×100)

A 线虫, B 生物体

## 2.2 根系表面的生物

图7为玉米根系(根尖)表面,放大倍数为400倍,表面分布有生物体A,根尖细胞较为清楚B;图8为放大倍数,1,000倍的玉米根系表面,能够较清楚地看到根系细胞的原生质及生物体形状,玉米根系表面生物体与根系分泌物中的生物体形态相似,表明该生物体是定植在玉米根系表面上的;图9、10分别为花生根系(根尖)放大400倍和1,000倍,没有发现生物体。花生属双子叶植物,根系表皮较厚,细胞排列紧密,周皮较厚,可能不利于土壤生物的定植;而玉米属于单子叶植物,没有维管形成层和木栓形成层发生,表皮较薄,可能有利于土壤生物的定植,这可能是造成土壤生物在玉米和花生根系表面定植出现差异的原因。

## 2.3 土壤剖面的生物

图3为非根际土壤生物采样方法,通过镜检未找到土壤生物体。众所周知,土壤中拥有丰富的生物体包括微生物和微动物(线虫),尤其是微生物,通过稀释法培养,

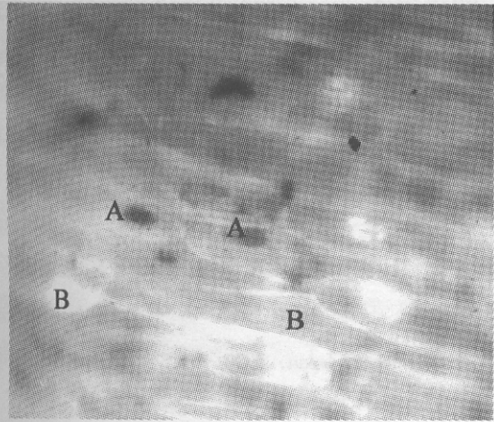


图 7 玉米根系表面 (10×40)  
A 生物体, B 根尖细胞

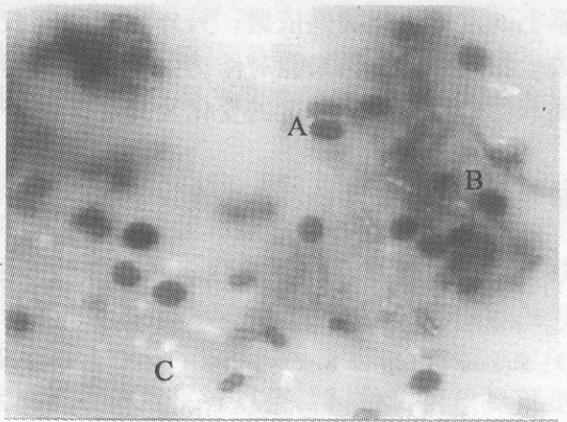


图 8 玉米根系表面 (10×100)  
A、B 生物体, C 原生质

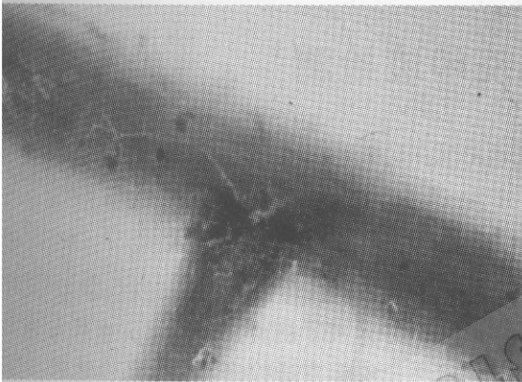


图 9 花生根系表面 (10×40)

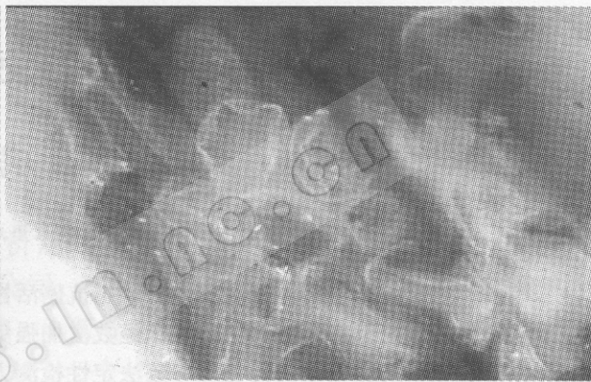


图 10 花生根系表面 (10×100)

在显微镜下可观察到微生物体, 因此该采样方法未发现土壤生物体并不能表明土壤中没有生物体的存在, 尤其是微生物; 而 2.1 和 2.2 的结果表明根系分泌物能够为土壤生物提供丰富的营养, 因此通过显微镜便于直接观察。

3 讨论

对于改进根箱来说, 如果把根系分泌物中的生物称为近根际生物, 那么根系分泌物以外的区域可称为远根际生物, 而未种植作物的根室土壤称为非根际生物。利用改进根箱法, 克服了以往破坏性采样方法难以实现对根际生物的原位动态观察和测定, 利用载玻片在植物根尖表面贴片采集作物根系分泌物中的生物体, 在显微镜下可观察到较清楚的生物体形态, 通过观察发现玉米和花生根表面分布的土壤生物体种类较为单一, 从生物体的形态上看两种作物根表面分布的生物体种类差异较大, 这表明作物根系表面分布的生物体种类受到作物种类的影响。因此该方法是研究作物根际生物的一种较为有效的方法。本研究对采集到的生物体尚未作属种的鉴定, 而对这些生物体的鉴定及分类将有助于揭示不同作物根系与土壤微生态系统中微生物、微动物种群结构的相互影响。研究表明, 间作(花生/玉米)花生根际(根表)微生物数量远远低于单作<sup>[5]</sup>, 因此对不同作物种类及不同种植方式(单作、混作、连作)根际生物的研究, 将有助于揭示根际微生态系统中生物的种群结构变化, 为研究有益生物种群在作物根

系上的定植情况提供依据;另外,本研究仅对作物生长的一个时期进行了作物根际土壤生物的采样,如果能对作物生长的不同时期进行根际生物的跟踪观察,将更有助于揭示作物根际生物种群的变化及其对作物生长的影响。

**致谢** 本文承蒙中国科学院南京土壤研究所李振高先生和钟文辉博士审阅,一并感谢。

### 参 考 文 献

- [1] 李振高, 吴留松, 乔凤珍, 等. 生态学杂志, 1988, 7 (1): 48 ~ 50.
- [2] 李晓林, 曹一平. 北京农业大学学报, 1992, 18 (3): 299 ~ 302.
- [3] Kuikman P, Liljeroth E. Transactions of 14th International congress of soil science, Japan, 1990, Vol. III, Commision III 43 ~ 48.
- [4] 李阜棣, 喻子牛, 何绍江. 农业微生物学实验技术. 北京: 中国农业出版社, 1996.5.
- [5] 左元梅, 王 贺, 李晓林, 等. 作物学报, 1998, 24 (6): 558 ~ 563.