

生物有机肥对香蕉幼苗根系分泌物的影响

张志红, 赵兰凤, 李华兴, 袁英英, 李敏清

(华南农业大学 资源环境学院, 广东 广州 510642)

摘要:通过离位溶液培养法研究了生物有机肥对香蕉幼苗生长和根系分泌物的影响,结果表明:在砂培且不接种病原菌条件下,生物有机肥明显促进香蕉幼苗生长,鲜质量比灭菌有机肥(对照)高19.22%。根系分泌物中的有机酸色谱图比较简单,只有苹果酸、酒石酸和草酸。生物有机肥对根系分泌物中的蛋白质、有机酸和总酚酸影响明显,总酚酸含量比对照降低28.7%,有机酸总量降低29.9%,蛋白质含量提高38.5%。苹果酸变化趋势与蛋白质相似,另外2种有机酸与总酚酸变化一致,可溶性总糖变化趋势不明显。

关键词:香蕉;根系分泌物;总酚酸;生物有机肥

中图分类号:S668.1;S144.1

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2011)01-0011-04

The Influence of Bio-Organic Fertilizer on Banana Seeding Root Exudates

ZHANG Zhi-hong, ZHAO Lan-feng, LI Hua-xing, YUAN Ying-ying, LI Min-qing

(College of Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Banana seedling growth and root exudates were studied by using *in vitro* bathing root system under the condition of the sand culture and non-inoculated pathogens (FocR4). The results showed that banana seedling was significantly promoted by bio-organic fertilizer, fresh mass increased by 19.22% as compared with the sterilized organic fertilizer (control). Protein, total soluble sugar, total phenolic acids and organic acids in root exudates were measured. The map of iron chromatogram was relatively simple, only oxalic acid, malic acid and tartaric acid were found. Bio-organic fertilizer had a significant effect on protein, organic acids and total phenolic acids in root exudates, reduced the contents of total phenolic acids and total organic acids by 28.7% and 29.9% respectively, increased the protein content by 38.5% as compared with the control. The trends of malic acid was similar with protein, and the trends of oxalic acid and tartaric acid was similar with total phenolic acids, but the change of total soluble sugar was not obvious among treatments.

Key words: banana; root exudates; total phenolic acid; bio-organic fertilizer

生物有机肥是以有机堆肥为载体,吸附功能菌剂制备而成。应用在香蕉上表现出良好防病和促生长效果^[1]。生物有机肥通过调节微生物群落多样性来改善土壤生态环境,而根际微生物生态环境变化,还取决于根系分泌物种类和数量。根系分泌物是特定生长条件下活体植物释放到根际环境中物质的总称。根系分泌物组成变化能够从一定程度上反映植

物的健康状况和生长发育情况^[2]。根系分泌物种类繁多,不仅有无机离子、质子,还分泌大量的有机物质^[3]。据估计,根系分泌有机物有200种以上,常见的可以分为3大类^[4]:一类为大分子有机物,包括糖、蛋白质、各种酶类和凝胶等^[5];另一类为小分子酸、酚和酮等;第3类为生长激素、黄酮和甾类等。根系分泌物不仅可以影响根际微生物种群数量,还可

收稿日期:2010-02-15

作者简介:张志红(1972—),女,助理研究员,博士研究生;通信作者:李华兴(1949—),男,教授,E-mail:huaxli@scau.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金(40971155);广东省教育部产学研结合项目(2009B090300330);广东省科技计划项目(2006B20301050)

以改变根际微生物种类,并且这种调节活动具有双刃剑效应.一方面,根系分泌物为土壤微生物提供大量的营养和能源物质,促进微生物代谢活动和养分转化^[6],还可以有效地防止病原菌传染,如小麦根系分泌物可以明显控制病原菌引起的全蚀病和粉霉病等病害^[7],水葫芦根系分泌物能抑制金黄色葡萄球菌的生长等^[8].另一方面,根系分泌物与连作障碍问题密切相关,作物连作引起根际微生物数量与组成发生改变,细菌数量减少,真菌数量增加^[9],影响作物生长、发育,更容易发生病害.本试验研究了生物有机肥对香蕉根系分泌物的影响,探讨了生物有机肥在植物-土壤-微生物三者之间所起的作用,对提高生物有机肥防治香蕉枯萎病效果和揭示防病机理具有重要意义.

1 材料与方法

1.1 材料

巴西蕉 *Musa acuminata* AAA Cavendish cv. Brazil 沙床苗,由广东省农业科学院果树研究所提供.

有机肥:原材料用畜禽粪便和菇渣堆制发酵腐熟,室内自然风干, w (水)为12%;生物有机肥:以有机肥为载体,加入具有解磷、解钾和抗病功能的混合功能菌剂(枯草芽胞杆菌 *Bacillus subtilis*、胶质芽胞杆菌 *Bacillus mucilaginosus* 和巨大芽胞杆菌 *Bacillus megaterium*),液体吸附量为10%,该生物有机肥基本特征为全N(N) 21.30 g·kg⁻¹、全P(P₂O₅) 15.30 g·kg⁻¹、全K(K₂O) 21.40 g·kg⁻¹、功能细菌总数 0.73×10^8 cfu·g⁻¹、普通细菌总数 1.68×10^8 cfu·g⁻¹.

病原菌为尖孢镰刀菌古巴专化型4号生理小种 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4(FocR4),由华南农业大学资源环境学院植物病理系姜子德教授提供.

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验采用砂培方式进行.设3个处理,分别为灭菌有机肥(CK);灭菌有机肥+液体功能菌剂(T1),吸附比例同生物有机肥;生物有机肥(T2).每个处理种植12盆,每4盆为1个重复.CK中肥料用量为每盆4g,其他处理用量保证与CK含等量有机质.肥料灭菌条件:121℃灭菌30min,间隔1d再灭菌1次.塑料盆内放入用清水洗涤3~4次的细砂,每盆装500g.植入4~5片叶片、大小一致蕉苗,每盆种植1株.每5d浇1次1/2的Hoagland营养液,其他时间浇灌自来水.

1.2.2 根系分泌物收集 采用离位溶液培养法^[10].将生长1个月的蕉苗从细砂中拔出,先用自来水冲洗3~5次,洗掉附着的砂粒,之后用超纯水冲洗2~

3次.将蕉苗置入5mg·L⁻¹百里酚溶液中浸泡3min,再转入50mL的5mmol·L⁻¹氯化钙溶液中收集根系分泌物,每4株放入1个收集瓶中.连续收集16h后,根系分泌物经定量滤纸过滤除去脱落的根毛和杂质,-20℃保存备用.分泌物收集完毕,用滤纸吸干根部水分,测定植株鲜质量.

1.2.3 香蕉根系分泌物种类和含量测定 根系分泌物原液直接用于测定蛋白质、总酚酸和可溶性总糖含量.蛋白质的测定采用考马斯亮蓝比色法^[11];总酚酸测定采用Folin-Ciocalteu试剂法^[12];可溶性总糖测定采用硫酸蒽酮比色法^[13].

有机酸测定:采用离子色谱法,将根系分泌物溶液置于真空旋转蒸发器内,于40℃下浓缩处理至近干,加入超纯水用超声波洗脱3次,将浓缩10倍后的根系分泌物用Millipore 0.22 μm过滤器除菌.

标准有机酸样品包括琥珀酸、苹果酸、柠檬酸、草酸和酒石酸,均为分析纯,将标准有机酸配制成质量浓度分别为5、10、20、30和40mg·L⁻¹.用DX-120离子色谱仪(DIONEX公司)测定,条件为:Ion-pacAS11-HC分离柱和onpacAG11-HC保护柱,ASRS-II阴离子微膜抑制器,电导检测器,CQ250型脱气装置,色谱柱温25℃,淋洗液为15mmol·L⁻¹NaOH,淋洗液流速0.97mL·min⁻¹^[14].样品进样量45μL,电导检测灵敏度为1μS,结果计算采用面积归一法.

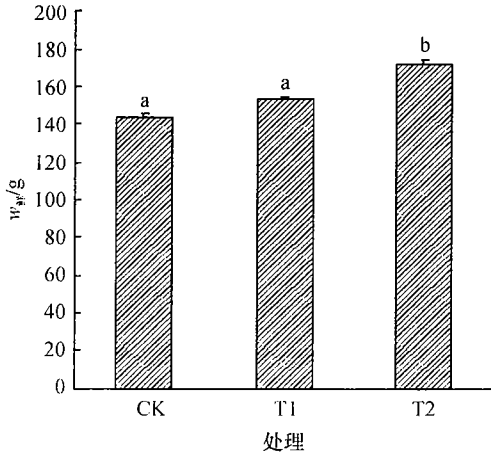
1.2.4 根系分泌物抑病效果 采用牛津杯法研究根系分泌物体外拮抗香蕉枯萎病病原菌效果.在PDA平板中间接种直径为1cm FocR4菌块,以菌块为中心对称放入2个牛津杯,杯中加入根系分泌物浓缩液100μL,每个处理重复3个平板,另外用灭菌水作空白对照.培养5~7d后测量病原菌菌落大小,根据病原菌生长情况判断根系分泌物抑病效果.

所有试验数据用Excel 2003和SAS V8统计软件进行分析.

2 结果与分析

2.1 生物有机肥对香蕉苗鲜质量的影响

香蕉植株收获后,测定香蕉苗鲜质量,从图1可以看出,在短短1个月的生长时间内,T2(生物有机肥)对香蕉苗促生作用非常明显,比CK鲜质量增加19.23%,比T1增加12.5%,且差异都达到显著性;T1比CK增加6.3%,但是差异不显著.有机肥中微生物产生的刺激代谢物不仅能促进作物生长,还可以提高作物防御性反应能力^[15].在本试验条件下,T1和T2促进作用主要来自功能菌剂和有机肥本身所含微生物.



凡是有相同小写字母者,表示处理间差异不显著(Duncan's法, $P=0.05, n=3$)。

图 1 不同处理对香蕉苗鲜质量的影响

Fig. 1 Effect of fertilizers on fresh mass of banana seedlings

2.2 根系分泌物中蛋白质、总酚酸和可溶性总糖含量比较

植物对病害敏感程度与根系分泌物密切相关,如某些糖与病原菌增长、繁殖与寄主识别相关^[16],蛋白质中的酶类参与作物防御性反应和土壤物质转化;酚酸物质是最为普遍的一类化感物质,既能破坏植物根系、降低根系对离子的吸附,同时还能改变土壤微生物类群,引起作物连作障碍^[17-18].因此通过研究生物有机肥对香蕉根系分泌物种类和含量影响,可以揭示根系分泌物与防病的关系.表 1 的结果表明,T2 处理根系分泌物蛋白质含量最高,比 CK 高 38.5%,比 T1 高 6.6%,与 CK 比差异达到显著水平,与 T1 比差异不显著;T1 比 CK 高 29.9%,差异达到显著水平.可溶性总糖中,T1 处理含量最高,比 T2 高 7.8%,比 CK 高 12.2%.对于总酚酸,CK 含量最高,分别比 T1 和 T2 高 16.1%和 28.7%,且都达到显著性差异.将蛋白质、总酚酸和可溶性总糖含量与香蕉苗鲜质量一起分析发现,蛋白质分泌量与鲜质量变化趋势一致,都是 $T2 > T1 > CK$,总酚酸变化趋势正好相反,而可溶性总糖看不出变化规律.表明总酚酸和蛋白质含量变化与香蕉生长密切相关,生物有机肥对香蕉幼苗生长有重要影响.

表 1 不同处理根系分泌物中蛋白质、总糖和总酚酸含量¹⁾

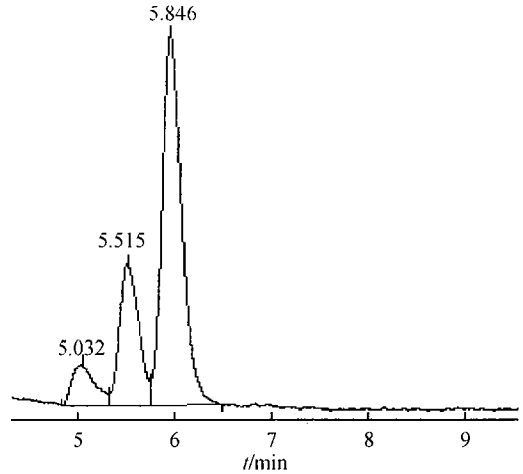
Tab. 1 The contents of protein, total soluble sugar and total phenolic acid in the root exudates

处理	$\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$		
	蛋白质	可溶性总糖	总酚酸
CK	4.31b	8.71b	0.034 26a
T1	5.60a	9.77a	0.029 51b
T2	5.97a	9.06b	0.026 61b

1) 同列数据后凡是有一个小写字母相同者,表示差异不显著(Duncan's法, $P=0.05, n=3$).

2.3 不同处理对根系分泌物中有机酸组分和含量的影响

有机酸测定结果(图 2)发现,样品离子色谱图简单,特征峰少,与标准样品比较,仅发现 3 种有机酸,分别是苹果酸、酒石酸和草酸.标样测定中,有机酸含量(y)与峰面积(x)的线性回归方程分别为:苹果酸 $y=0.000 2 x - 1.404 9$;酒石酸 $y=0.000 2 x - 0.913 6$;草酸 $y=0.000 1 x - 1.838 0$.



图中 3 个峰依据出峰时间分别代表苹果酸、酒石酸和草酸.

图 2 根系分泌物中有机酸离子色谱图

Fig. 2 Ion chromatogram of organic acids in root exudates

根据面积归一法,计算不同处理中有机酸含量,结果见表 2.根系分泌物中草酸含量最高.3 种处理中,CK 草酸含量最高,T2 最低;酒石酸与草酸变化趋势相同,都是 T2 处理显著低于其他 2 个处理.苹果酸在 3 种有机酸中含量最低,所占比例不到总有机酸的 16%,变化趋势也不同于其他 2 种有机酸,T2 处理最高,比 CK 高出将近 1 倍,与 T1 比较差异不显著.从有机酸总量看,CK 比 T2 高 29.9%,比 T1 高 8.8%,变化趋势与香蕉苗鲜质量相反.

表 2 不同处理根系分泌物中有机酸含量¹⁾

Tab. 2 The contents of organic acids in the root exudates of different treatments

处理	$\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$			
	苹果酸	酒石酸	草酸	有机酸总量
CK	0.82b	4.29a	8.60a	13.71
T1	1.42a	3.30a	7.98a	12.60
T2	1.63a	2.16b	6.76b	10.55

1) 同列数据后凡是有一个小写字母相同者,表示差异不显著(Duncan's法, $P=0.05, n=3$).

2.4 根系分泌物对香蕉病原菌的抑制效果

通过牛津杯法研究了根系分泌物对 FocR4 抑制作用,3 种处理与无菌水比较,病原菌的菌落直径没有差异,其原因有待进一步研究.

3 讨论

根际微生物对根系分泌物影响主要从4条途径促进或抑制根系分泌物释放:(1)影响根细胞的膜透性;(2)影响根的代谢活动;(3)影响根系分泌物的吸收利用;(4)改变根际矿质成分的生物有效性^[19-21]。在本研究中,对照不含任何微生物,仅仅是有机质作用,在第2种处理中添加了少量功能菌剂,而生物有机肥不仅含有功能菌剂,还包括了有机肥中的大量有益微生物,是微生物含量最多的处理。从试验结果看,微生物对根系分泌物的影响是随着数量增多而更加明显,功能菌剂的效果更加突出。在我们的前期试验中,比较了不同处理对香蕉枯萎病的防病效果,其中生物有机肥防病效果最好^[1],结合本研究结果分析,可发现总酚酸和有机酸总量与防病效果变化呈相反趋势,蛋白质与防病效果变化趋势一致,这一结果说明生物有机肥可能通过其中大量有益微生物作用,改善了香蕉根际微生物群落组成,进而影响了根系分泌物,提高了蛋白质含量,特别是降低了与连作障碍和感病密切相关的总酚酸和有机酸总量^[22-24]。本研究仅测定了蛋白质、总糖、总酚酸和有机酸,如果要进一步探讨生物有机肥对根系分泌物影响以及与防病效果关系,则必须细化根系分泌物种类以及香蕉不同生长时期、不同品种之间的差异。

致谢:华南农业大学植物营养系沈宏教授在离子色谱仪测定有机酸过程中给予了热心指导和帮助,在此表示衷心感谢!

参考文献:

- [1] 张志红,李华兴,韦翔华,等.生物肥料对香蕉枯萎病及土壤微生物的影响[J].生态环境,2008,17(6):2421-2425.
- [2] BERTIN C, YANG X H, WESTON L A. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere[J]. Plant and Soil, 2003, 256: 67-83.
- [3] ELORY A C. The rhizosphere [M]. Berlin:Spring-Verlag, 1986:510-523.
- [4] MARSCHNER H. Mineral nutrition of higher plants [M]. London: Academic, 1995: 333-347.
- [5] 刘军,温学森,郎爱东.植物根系分泌物成分及其作用的研究进展[J].食品与药品,2007,9(3):63-65.
- [6] 陈华癸.微生物学[M].北京:农业出版社,1988:130-132.
- [7] SMILEY R W, COOK R J. Relationship between take-all of wheat and rhizosphere pH in soils fertilized with ammonium vs. nitrate-nitrogen [J]. Phytopathol, 1973, 63: 882-890.
- [8] 郑师章,何敏.水葫芦根分泌物对若干细菌作用的研究[J].生态学杂志,1990,9(5):56-57.
- [9] 张庆平.荞麦根系分泌物对小麦全蚀病菌的抑制及根际微生物种群数量观察[J].内蒙古农业科技,1994(1):8-9.
- [10] 刘晓燕,何萍,金继运.氯化钾对玉米根系糖和酚酸分泌的影响及其与茎腐病菌生长的关系[J].植物营养与肥料学报,2008,14(5):929-934.
- [11] 李琳,焦新之.应用蛋白染色剂考马斯亮蓝 G-250 测定蛋白质含量的方法[J].植物生理学通讯,1980,16(6):52.
- [12] 曹炜,索志荣. Folin-Ciocalteu 比色法测定蜂蜜中总酚酸的含量[J].食品与发酵工业,2003,29(12):80-82.
- [13] 魏晓明,符红,万幼平.硫酸蒽酮比色法测定鹿龟酒中多糖的含量[J].中成药,2000,22(5):81-82.
- [14] 沈宏,严小龙.低磷和铝毒胁迫条件下菜豆有机酸的分泌与累积[J].生态学报,2002,22(3):387-394.
- [15] 赵娜,蔡昆争,汪国平,等.家畜堆肥诱导番茄对青枯病的抗性及其生理机制[J].农业环境科学学报,2008,27(5):2058-2063.
- [16] 刘素萍,王汝贤,张荣,等.根系分泌物中糖和氨基酸对棉花枯萎菌的影响[J].西北农业大学学报,1998,26(6):31-33.
- [17] BLUM U. Effects of microbial utilization of phenolic acids and their phenolic acid breakdown products on allelopathic interactions [J]. Journal of Chemical Ecology, 1998, 24(4):685-708.
- [18] 吕卫光,张春兰,彭宇.外源苯丙烯酸抑制连作黄瓜生长的机制初探[J].中国蔬菜,2001(3):10-12.
- [19] KRAFFCZYK I, TROLLDENIER G, BERINGER H. Soluble root exudates of maize: Influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms [J]. Soil Biol Biochem, 1984, 16: 315-322.
- [20] 林敏,平淑珍,尤崇杓.粪产碱菌对水稻根质子分泌作用及根际微生态的影响[J].植物生理学报,1992,18(3):233-238.
- [21] PHILLIPS D A, FOX T C, KING M D, et al. Microbial products trigger amino acid exudation from plant roots [J]. Plant Physiol, 2004, 136: 2887-2894.
- [22] 张俊英,王敬国,许永利.不同大豆品种根系分泌物中有机酸和酚酸的比较研究[J].安徽农业科学,2007,35(23):7127-7129.
- [23] 鞠会艳,韩丽梅,王树起,等.连作大豆根分泌物对根腐病原菌的化感作用[J].应用生态学报,2002,13(6):723-727.
- [24] 张淑香,高子勤,刘海铃.连作障碍与根际微生物生态研究:Ⅲ.土壤酚酸物质及其生物学效应应用[J].生态学报,2000,20(5):741-744.