

落叶松根际 pH 值与供磷水平及土壤磷有效性的关系

白尚斌

(云南省林业科学院 昆明 650204)

张彦东

(中国科学院西双版纳热带植物园 昆明 650223)

王政权

(东北林业大学森林资源与环境学院 哈尔滨 150040)

关键词: 落叶松, 磷胁迫, 根际, pH 值, 有效磷

THE RELATIONSHIP BETWEEN pH CHANGES AND P-AVAILABILITY IN RHIZOSPHERE OF *LARIX GMELINII*

Bai Shangbing

(Yunnan Academy of Forest Science Kunming 650204)

Zhang Yandong

(Xishuangbanna Tropical Botanic Garden, Chinese Academy of Sciences Kunming 650223)

Wang Zhengquan

(Forest Resource and Environment College, Northeast Forestry University Harbin 150040)

Abstract: Phosphorus is an important element for larch (*Larix gmelinii* Rupr.) root development. P-availability in rhizosphere is close with root exudates or excretions, e. g., organic acid exudation, proton excretion. These materials from roots will affect pH value of rhizosphere. The aim of this paper were to study on pH changes at different P-stress conditions, and to test on the relation between available P and pH in rhizosphere. This work was carried out under pot experiment and field soil sample analysis. Larch seedlings, 1 and 2-year-old, were planted into sand pots. Nutrient solution with different P contents (0, 0.035, 0.071 and 0.142g·L⁻¹ respectively) were supplied everyday. There were 2 replicates for 1-year-old seedlings, 5 replicates for 2-year-old seedlings at each P-level treatment. After 1-year-old seedlings growing for 40 days and 2-year-old seedlings growing for 90 days, seedlings were taken out and used to visualize acidification by means of an agar plate technique. The result showed that pH of rhizosphere decreased from 6.40 to 4.73~4.84 in 1-year-old seedlings and to 5.30~5.50 in 2-year-old after 36h incubation. Average pH decreased were 1.56~1.67 for 1-year-old seedlings, and 0.90~1.10 for 2-year-old seedlings. There was not significant, for pH variations in rhizosphere, among four kind treatments. The pH change was not affected by P-level. The result of soil sample analysis, from 12-year-old, 21-year-old, and 40-year-old pure larch stands respectively, indicated that the pH changes in rhizosphere is 0.11, 0.04, and 0.09, respectively, lower than that in the non-rhizosphere, acidification is not significant, While the available P in the rhizosphere is 18.1%, 86.5% and 23.4%, higher than that in the non-rhizosphere in three stands. The correlation between pH variations and available P was not remarkable at this analysis. This means that there was no relationship between the available P and pH change of rhizosphere in larch root system.

Key words *Larix gmelinii* Rupr., P-stress, Rhizosphere, pH, Available-P

植物在生长过程中由于根分泌物的作用, 根际 pH 值将发生不同于土体的变化。这种变化在植物利用难溶性营养元素(如磷素)上是极其重要的。迄今为止关于草本植物和作物根际 pH 值变化与土壤中难溶性磷利用的研究已有很多报道。Grinsted 和 Hedley(1986)研究发现生长 35 天的油菜幼苗根际 pH

值可降低 2.4 个单位(由 6.5 到 4.1), 相应其根际有效磷的浓度增加 10 倍(王庆仁等, 1998)。Marchner (1986) 发现白羽扇豆在缺磷土壤中形成排根, 排根分泌的有机酸能降低根际土壤的 pH 值以促进其对磷的吸收。目前人们普遍认为, pH 值降低主要是有利于土壤中难溶性 Ca-P 的溶解, 从而提高了磷的有效性(陆景陵, 1994; Hinsinger *et al.*, 1995)。但关于树木根际 pH 值变化的研究报道目前相对较少(Gijsman A J, 1990; Gillespie *et al.*, 1989)。在国内近年经研究发现, 杉木(*Cunninghamia lanceolata*) 在不同发育阶段, 根际土壤速效磷均高于非根际土壤(杨承栋等, 1999), 杉木根际土壤 pH 普遍低于非根际土壤(陈竣等, 1994); 在落叶松(*Larix gmelinii* Rupr.) 根际也有同样的变化趋势(张彦东等, 1997; 崔晓阳等, 1994), 因此, 有人认为落叶松根际土壤磷有效性的增加可能与根际 pH 值的变化有关(崔晓阳等, 1994)。但由于这些研究都是在野外林地采样分析进行的, 其他植物的根系干扰难以避免, 精确测定某种树木的根际 pH 十分困难。假设落叶松根际土壤有效磷的增加是由根际 pH 值的变化引起的, 那么必将存在根际 pH 值与根际有效磷的相关关系, 另一方面, 在缺磷条件下, 如果落叶松本身具有通过分泌质子或有机酸来降低根际土壤 pH 值, 那么在不同供水平下, 落叶松根际 pH 值将存在较大的差异。这样, 我们就可以说明在缺磷条件下, 落叶松具有主动的适应机制, 可以通过降低根际 pH 值来活化根际磷。反之, 落叶松根际有效磷的提高可能是由于其他原因引起的。为此本研究的主要目的是采用室内显色测定与野外林地取样相结合的方法测定落叶松根际 pH 值, 以探讨落叶松根际 pH 值变化与供磷水平及土壤磷有效性的关系。

1 材料与方法

本研究以温室砂培和野外现实林分取样两种方法进行。

1.1 温室砂培试验

供试苗木及处理 试验所用苗木为兴安落叶松(*Larix gmelinii* Rupr.), 分当年生与 2 年生两批。当年生落叶松苗木于 6 月下旬从苗床取出, 2 年生落叶松苗木于 5 月初取出。苗木取出后根部用清水漂洗, 用 0.5% 次氯酸钠(NaClO) 溶液消毒, 再用蒸馏水漂洗 3 次, 然后用于砂培。

苗木培养 苗木培养基质为石英砂, 先将石英砂洗去泥土, 经 0.5% 盐酸浸泡 24h, 用自来水冲洗至中性。然后将石英砂装入容积为 0.13m^3 的塑料盆中, 每盆装砂 13kg。将上述经过处理的苗木分别栽植在盆中, 2 年生苗每盆植苗 5 株, 当年生苗每盆植苗 50 株。然后以不同磷浓度的营养液进行浇灌。营养液的磷浓度共设 4 种: 正常营养液(P 的浓度为 $0.071\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); 缺磷营养液(P 的浓度为 0); 低磷营养液(P 的浓度为 0.035g/L) 和高磷营养液(P 的浓度为 $0.142\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)。2 年生苗木的每个处理 5 盆(相当于 5 个重复), 共 20 盆。当年生苗木每个处理 2 盆(相当于 2 个重复), 共 8 盆。上述每个处理每天浇一次营养液, 每盆每次浇 100ml。当年生苗木在室内温内培养 40d。2 年生苗木培养 90d。然后取样测定其根际 pH 值。

营养液配方 大量元素用 Hoagland 配方(上海植物生理学会, 1985): KNO_3 0.51g/L , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ $20.82\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.49\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 $0.136\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。微量元素用 Arnon 配方(上海植物生理学会, 1985): H_3BO_3 $2.86\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $0.08\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.22\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $1.81\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{H}_2\text{MoO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0.09\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Fe-EDTA $20\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。pH 调至 6.0。缺磷营养液中不含 KH_2PO_4 , K^+ 以等量 KCl 补齐。

显色测定 将培养了 40d 的当年生落叶松苗木从盆中取出, 立即用蒸馏水中去根表面粘附的砂粒, 平铺在滤纸上吸去多余的水分, 并用平头镊子将根展开放入盛有调试好的琼脂-脂示剂混合液的培养皿中培养。琼脂-指示剂混合液是由称取 10mg 间苯二酚蓝(变色范围 pH4.0~6.4)溶于 10ml 无水乙醇后加蒸馏水 50ml 再加入 1g 琼脂, 加热溶解, 充分摇匀制成。试验前 pH 值调至 6.4, 颜色为深蓝色。将培养了 90d 的 2 年生落叶松苗木进行同样的处理。每个处理重复 10 次。同时与标准指示剂-琼脂溶胶作对照, 判读各根际的 pH 值(根尖后 1.5cm 范围内)。

1.2 野外现实林分取样

采样方法 在东北林业大学帽儿山实验林场, 选择 12 年生、21 年生和 40 年生的落叶松人工纯林,

设置 0.1hm² 的标准地作为采集土样的样地, 按“S”形在标准地内分别设置 30 个采样点, 挖掘林下表层土壤(0~ 20cm), 取出落叶松根系, 轻轻拍打抖动, 抖落的土壤为非根际土, 待沾根的大块土除去后, 再将附着在根系上的土壤用刷子刷下即为根际土样品。

土壤 pH 值和有效磷的测定 水浸 pH 值测定采用电位法(劳家桢, 1988)。全磷测定采用 H₂SO₄-HClO₄ 酸溶-钼锑抗比色法(劳家桢, 1988), 有效磷测定以 0.03mol·L⁻¹ 的 NH₄F-0.025mol·L⁻¹ 的 HCl 作为浸提剂, 钼锑抗比色法测定(劳家桢, 1988)。

2 结果

2.1 落叶松 幼苗根际 pH 值的变化 对培养皿中显色测定的落叶松幼苗经观察发现, 当年生幼苗显色 12h 后, 4 种处理苗木根尖及稍后部位根区的颜色均开始由蓝变红, 说明根系出现分泌物, 根际 pH 值开始下降。24h 时颜色加深且变化区域加宽, 36h 时上述现象趋于稳定。2 年生苗木根区同样可以看出上述变化过程, 只是变化的速率更快些, 在 24h 即趋于稳定。还可以看到这种颜色的变化在新生根周围尤为明显, 红色最深的区域集中于根尖稍后的部位, 根基部周围的颜色变化较弱。

为了便于比较, 我们对根尖后 1.5cm 范围内的根际 pH 值进行了判读(表 1, 表 2)。结果表明, 当年生苗木的 4 种处理在 36h 显色稳定时, pH 值均降至 5.0 以下, 最低的为 4.73, 最高的为 4.84, 降低 1.56~ 1.67 个单位。根据土壤酸性的定义, 此范围 pH 值为微酸性。对各处理间 pH 值进行方差分析表明, 各处理间 pH 值相差不明显($F = 1.06 < F_{0.05}(3, 36) = 2.87$)。2 年生苗木的变化过程与当年生苗相似, 只不过是达到稳定的时间更快些。2 年生苗木在达到稳定时, 根际 pH 均在 5.0 以上, 最低的为 5.30, 最高的为 5.50, 降低 0.90~ 1.10 个单位。要高于当年生苗木稳定时的 pH 值, 平均高约 0.60 个单位。比较显色稳定时各处理间 pH 值表明, 其差异亦不明显($F = 1.12 < F_{0.05}(3, 36) = 2.87$)。

表 1 不同磷处理当年生落叶松幼苗根际 pH 值变化^①
Tab. 1 pH value in the rhizosphere of 1-year-old seedlings under different P-level treatments

处理时间 Treatment time	缺磷处理 Absent P	低磷处理 Low P-level	正常磷处理 Soluble P	高磷处理 High P-level
12h	5.61±0.12	5.93±0.10	5.74±0.11	5.99±0.11
24h	5.23±0.09	5.34±0.05	5.21±0.08	5.36±0.08
36h	4.78±0.08	4.84±0.11	4.73±0.04	4.80±0.06

表 1、表 2 中的数字为根际 pH 值±标准差 样本数 n = 10 Data in Tab. 1 and Tab. 2 are means±sd. n = 10

表 2 不同磷处理 2 年生落叶松幼苗根际 pH 值变化
Tab. 2 pH value in the rhizosphere of 2-year-old seedlings under different P-level treatments

处理时间 Treatment time	缺磷处理 Absent P	低磷处理 Low P-level	正常磷处理 Soluble P	高磷处理 High P-level
12h	5.73±0.11	5.88±0.12	5.99±0.10	5.95±0.11
18h	5.61±0.09	5.78±0.12	5.88±0.11	5.80±0.09
24h	5.30±0.11	5.41±0.12	5.48±0.09	5.45±0.08
36h	5.30±0.12	5.39±0.11	5.50±0.10	5.42±0.11

本实验落叶松根际 pH 值变化显色较慢, 在显色 2h 后观察, 根周围颜色几乎无变化。在 6h 后观察, 根周围颜色才略有变化。12h 后观察, 根周围颜色已有明显变化, 但还不稳定, 在 36h 后才达到稳定。有些草本及农作物显色测定判读时间一般为显色后 2h, 树木和草本及农作物在根分泌物分泌速率上可能存在一些差异。如果不考虑根际周围颜色是否稳定, 而以 12h 出现明显变色时 pH 作为落叶松根际 pH 的判读值的话, 则当年生幼苗根际 pH 值的变化范围为 5.61~ 5.99, 2 年生幼苗的变化范围为 5.73~

5.99, 比 36h 的判读值高。

2.2 现实林分根际 pH 值变化与磷有效性的关系 通过测定现实林分根际与非根际土壤的 pH 值表明(表 3), 无论是 12 年生、21 年生、还是 40 年生落叶松根际的 pH 值都低于非根际, 分别低 0.11、0.04 和 0.09 个单位。虽然落叶松根际土的 pH 值低于非根际土, 但经差异显著性检验, 两者相差不明显($F = 2.06 < F_{0.05}(1, 58) = 4.01$), 说明在现实林分中落叶松根际酸化现象不明显。比较各林分根际土与非根际土有效磷含量表明, 根际土有效磷均高于非根际土。12 年生林分高出 18.1%, 21 年生林分高出 86.5%, 40 年生林分高出 23.4%。经差异显著性检验, 有效磷在根际与非根际差异显著($F = 4.62 < F_{0.05}(1, 58) = 4.01$)。对根际土与非根际土的全磷含量进行比较表明, 根际土的全磷含量与非根际土的含量相等或略低于非根际土。这说明根际土有效磷的增加并不是由于根际土全磷含量增高引起的。许多研究认为根际 pH 值降低有利于土壤难溶性 Ca-P 的活化(Hinsinger *et al.*, 1995; Hoffland *et al.*, 1998a), 从而增加磷的有效性。我们对 pH 值与有效磷作相关分析得出相关系数 $r = -0.026$ ($n = 120$), 经 t 检验($|t| = 0.26809 < t_{0.05}(120) = 1.980$) 得知二者的相关不显著。这说明根际有效磷的增高与 pH 值的降低不存在显著的线性相关, 有效磷的提高可能是由于其它原因引起的。

表 3 落叶松根际土与非根际土 pH 值和有效磷的测定结果^①

Tab.3 pH value and the available soil P in both rhizosphere and non-rhizosphere of *Larix gmelini* stands

林分 Stand	根际土 Rhizosphere soil			非根际土 Non-rhizosphere soil		
	pH 值	有效磷	全磷	H 值	有效磷	全磷
	pH value	Available P	Total P	pH value	Available P	Total P
12 年生 12 years old	5.96±0.05	19.6±1.0	2.71±0.45	6.09±0.04	16.6±1.1	2.81±0.35
21 年生 21 years old	6.30±0.04	29.1±1.2	1.77±0.56	6.34±0.04	15.6±1.3	1.77±0.58
40 年生 40 years old	5.65±0.05	23.2±1.3	1.35±0.34	5.74±0.05	18.8±1.4	1.47±0.32

①有效磷单位为 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全磷单位为 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 样本数 $n = 120$ 。 Available P: $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, total P: $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $n = 120$ 。

3 讨论

目前的研究认为, 引起植物根际 pH 值变化的原因主要有(1) 阴阳离子吸收不平衡; (2) 根际呼吸作用产生的 CO_2 ; (3) 根系分泌的有机酸; (4) 根分泌 H^+ 。当受到磷营养胁迫时, 有些植物具有主动适应的机制, 可通过降低根际 pH 值的方式增加磷的吸收(Moorby *et al.*, 1988; Gahoonia *et al.*, 1992)。而此时根际 pH 值的调节, 主要是通过根分泌有机酸或 H^+ 数量的增加使根际酸化(郭朝晖等, 1999)。具有这种主动调节机制的植物其主要特点是根际 pH 值变化与供磷水平密切相关。在本实验条件下, 无论缺磷与否, 落叶松根际 pH 值都表现下降, 而且在各种不同磷浓度处理间, 根际 pH 值差异不明显。即使在磷胁迫条件下, 也没有出现根际 pH 值明显降低的现象, 说明落叶松根际 pH 值的变化不受磷胁迫的影响, 落叶松不存在通过酸化根际而使土壤磷活化的主动适应机制。虽然落叶松根际 pH 值出现降低, 但这种下降与供磷水平无关。我们认为这种酸化现象是根系进行正常呼吸产生的 CO_2 , 根分泌的有机酸和根分泌 H^+ 引起的。由于本实验 N 素是以 NO_3^- 的形式供给的, 所以阴阳离子吸收不平衡对根际 pH 的下降影响不大。

苗木在代谢过程中, 分泌的 H^+ 不断在根际累积, 使培养基质酸化, 颜色由原来的蓝色变为红色。变色时间直接受 H^+ 分泌速率影响, 变色深度与该区域 H^+ 的浓度有关, 而区域的大小由根分泌 H^+ 的数量决定。2 年生苗木根际的颜色变化较快, 说明 2 年生苗木代谢更快些, 即分泌质子的速度较快。当年生苗木 36h 稳定时颜色较深, 说明当年生苗木根分泌的浓度高于 2 年生苗木。我们发现在同一批幼苗 4 种处理的变色时间、区域大小以及变色深度都不存在明显差异, 这进一步说明落叶松根际 pH 值的变化

不是由磷胁迫引起的。

在野外树木根际经土壤的缓冲作用, 结果常与室内培养法测定有差异。虽然落叶松根际土的 pH 值低于非根际土, 但经方差分析检验得出两者差异不显著, 说明落叶松根际酸化现象不明显。由于室内栽培试验表明, 落叶松根际 pH 值下降不受供磷水平的影响, 野外现实林分中, 其根际 pH 值有下降的趋势可能是落叶松在生长过程中自身根系分泌一些酸性物质引起的。而有效磷在根际土与非根际土之间差异显著, 说明磷在落叶松根际发生了活化作用。许多研究认为根际 pH 值降低有利于土壤难溶性 Ca-P 的活化(Hinsinger *et al.*, 1995; Hoffland *et al.*, 1989a), 从而增加磷的有效性。我们对 pH 值与有效磷作相关分析知二者的线性相关不显著。这说明以 Ca-P 形态存在的无机磷可能不是落叶松根际土壤中有有效磷的主要来源。有效磷的提高可能是由于其它原因引起的, 深入机理有待今后继续探讨。在林地出现根际土的 pH 值稍低于非根际的趋势, 但不能导致明显酸化效果是受到了林地土壤的缓冲能力以及土壤湿度的影响。Gillespie 等(1990)对土壤的 pH 缓冲能力的研究证实了这一点。低的土壤缓冲能力和高的土壤湿度使根分泌的 H^+ 迅速向林地土壤中扩散, 不能在根际聚集, 导致现实林分根际 pH 梯度不明显。

参 考 文 献

- 陈 竣, 李传涵. 杉木根际与非根际土壤酶活性比较. 林业科学, 1994, 30(2): 170~ 175
- 崔晓阳等. 落叶松水曲柳幼林土壤有效磷的空间分布特点. 现代森林经营与资源利用研究. 哈尔滨: 黑龙江省科学技术出版社, 1994: 231~ 240
- 郭朝晖, 张扬珠, 黄子蔚. 根际微域营养研究进展(一). 土壤通报, 1999, 30(1): 46~ 封3
- 劳家桢主编. 土壤农化分析手册. 北京: 农业出版社, 1988
- 陆景陵. 植物营养学. 北京: 北京农业大学出版社, 1994: 108~ 111
- 上海植物生理学会编. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科技出版社, 1985
- 王庆仁, 李继云等. 植物高效利用土壤难溶态磷研究及展望. 植物营养与肥料学报, 1998, 4(2): 107~ 116
- 杨承栋, 焦如珍. 杉木人工林根际土壤性质变化的研究. 林业科学, 1999, 35(6): 2~ 9
- 张彦东, 于兴君, 杨文化. 水曲柳落叶松混交林林地与根际土壤养分特性. 见沈国舫, 翟明普. 混交林研究. 北京: 中国林业出版社, 1997: 145~ 149
- Gahoonia T S, Nielsen N E. The root induced pH change on the depletion of inorganic and organic phosphorus in the rhizosphere. Plant and soil, 1992, 143: 183~ 189
- Gijsman A J. Rhizosphere pH along different root zone of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*), as affected by source of nitrogen. Plant and Soil, 1990, 124: 161~ 167
- Gillespie A R and Pope P E. Alfalfa N_2 -fixation enhances the phosphorus uptake of walnut in interplantings. Plant and soil, 1989, 113: 291~ 293
- Gillespie A R and Pope P E. Rhizosphere Acidification Increase Rhosphorus Recovery of Black Locust: I. Induced Acidification and Soil Response. Soil Sci. Soc. Am. J., 1990, 54: 533~ 537
- Hinsinger P and Gilkes R J. Root-induced Dissolution of Phosphate Rock in the Rhizosphere of Lupins Grown in Alkaline Soil. Aust. J. Soil Res., 1995, 33: 477~ 489
- Hoffland E, Findenegg G R and Nelemans J A. Solubilization of rock phosphate by rape: I. Evaluation of the role of the nutrient uptake pattern. Plant and Soil, 1989a, 113: 155~ 160
- Marschner H. Mineral nutrition of high plant. London UK: Academic Press, 1986
- Moorby H, White R E and Nye P H. The influence of phosphate nutrition on H^+ ion efflux from the roots of young rape plants. Plant and soil, 1988, 105: 247~ 256