应用生态学报 2019年11月 第30卷 第11期 http://www.cjae.net
Chinese Journal of Applied Ecology, Nov. 2019, **30**(11): 3951-3962 DOI: 10.13287/j.1001-9332.201911.040

根系分泌物收集技术研究进展

郭婉玑[1,2] 张子良[1,2,3] 刘 庆[1] 尹华军[1*]

([1]中国科学院成都生物研究所, 中国科学院山地生态恢复与生物资源利用重点实验室, 生态恢复与生物多样性保育四川省重点实验室, 成都 610041; [2]中国科学院大学, 北京 100049; [3]克莱姆森大学, 美国南卡罗来纳州, 克莱姆森 29670)

摘 要 根系分泌物在调控陆地生态系统根际微环境间的物质、能量和信息交流中具有重要作用.构建准确、适用的根系分泌物收集方法,对根系分泌物的种类、含量及其对环境变化的响应等信息的精准获取是理解植物根系-土壤界面生态过程与信息交流的关键环节和前提.目前,传统或新型的根系分泌物收集技术都致力于认知根系分泌物中化合物种类多样性和含量变化,但根系的生长高度依赖周围介质和生长环境,使根系分泌物的收集很难避开对根系本身的损伤、土壤颗粒对根系分泌物的吸附和释放,以及微生物代谢等因素的干扰,导致不同根系分泌物收集方法都存在各自的优缺点.本研究从室内收集和野外原位收集两方面系统综述了当前应用较广的一些传统和新型根系分泌物收集技术,并总结和比较了每种收集方法的优缺点;在此基础上,基于森林根际生态学过程野外原位研究的重要性和代表性,结合当前根系分泌物研究的不足,展望了未来森林根系分泌物野外原位收集技术构建中值得关注的3个重点方向,旨在为相关研究者开展根系分泌物收集与作用研究提供参考.

关键词 根系分泌物; 收集技术; 培养基质; 地下生态学

Research progress of root exudates collection technology. GUO Wan-ji[1,2], ZHANG Zi-liang[1,2,3], LIU Qing[1], YIN Hua-jun[1*] ([1] *Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Key Laboratory of Mountain Ecological Restoration and Bioresource Utilization of Chinese Academy of Sciences, Sichuan Province Key Laboratory of Ecological Restoration and Biodiversity Conservation, Chengdu* 610041, *China*; [2] *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *China*; [3] *Clemson University, Clemson* 29670, *South Carolina, USA*).

Abstract: Root exudates play an important role in mediating the exchange of substrates, energy and information within the rhizosphere in terrestrial ecosystems. Constructing accurate and applicable sampling system of root exudates to precisely collect the characters including the component and concentration of root exudates and their responses to changing environments are a critical link and prerequisite to understand ecological processes and information exchanges across the root-soil interface. While both traditional and novel techniques for collecting root exudates aim to explore the diversity and concentration of root exudates, current exudate-collection methods could hardly avoid the damage of root system, the adsorption and release of root exudates by soil particles, and disturbance from microbial metabolism, largely because plant roots are highly associated with the surrounding substrates and environments supporting their growth. Therefore, all root exudate collection methods have their own merits and shortcomings. We systematically reviewed the widely-used traditional and novel root exudates collection techniques and compared their advantages and disadvantages. Furthermore, considering the significance and authenticity of field study on the rhizosphere ecological processes in forest ecosystems, we proposed three frontier research directions regarding the construction of techniques for collecting root exudates in forest ecosystems according to the limits of current studies, aiming to provide foundation for related studies in the future.

Key words: root exudate; collection technique; culture substrate; belowground ecology.

本文由中国科学院前沿科学重点研究项目(QYZDB-SSW-SMC023)、国家自然科学基金项目(31670449,31872700)和四川省重点研发项目(Y8D204110)资助 This work was supported by the Key Research Project of Frontier Science of Chinese Academy of Sciences (QYZDB-SSW-SMC023), National Natural Science Foundation of China (31670449, 31872700) and Key Research and Development Project of Sichuan Province (Y8D204110). 2019-01-09 Received, 2019-10-10 Accepted.

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yinhj@cib.ac.cn

根系作为链接植物地上部分与土壤的关键纽带,在植物生长过程中扮演着非常关键的角色.它不仅可以从土壤中摄取养分、水分等供自身生长需要,同时也会向土壤周围释放大量有机物质而在根土界面形成一个物质、能量和信息交换最活跃的区域.通常,我们把根系在生长过程中主动或被动向周围介质释放的全部有机物质总称为根系分泌物[1].根系分泌物种类繁多,主要包括低分子量物质(有机酸、氨基酸、可溶性糖、可溶性蛋白、多肽、植物激素等)、高分子量物质(根冠细胞、黏胶物质、粘液、胞外酶等)、细胞脱落物(根毛、细胞碎片等)3 类[2].据估计,仅一种植物的分泌物就可能多达 200 多种有机化合物,由于技术限制导致对部分根系分泌物组分缺乏有效的鉴别,加之物种特异性使不同物种根系分泌物种类和数量可能存在一定差异.因此,整体而言,植物根系所分泌的化合物种类可能远远超过 200 多种.正是由于如此大量、复杂的根系分泌物化学组分的释放使得根际土壤在物理、化学和生物学特性上表现出与非根际土壤截然不同的特性.

根系分泌物是植物生理活动的地下产物,对整个地下生态系统结构和功能具有非常重要的作用.研究发现,根系分泌物可以通过改变土壤性质来改变根际微生物群落,进而驱动植物与土壤间的反馈[3-4].此外,根系分泌物还可作为信号分子、引诱剂、刺激剂或趋避剂等对根际微生物群落结构和多样性产生多种影响,进而调控一系列土壤生态学过程[5].研究表明,根系分泌物中的某些组分通过与微生物互作可以增加土壤污染物(如:多环芳烃)的生物降解,达到净化土壤的目的[6-8].此外,最新一些研究表明,根系分泌物输入速率与植物生长策略密切相关,根系分泌物输入通量大小可以作为植物养分利用策略分类的一种植物功能性状,在植物生长及进化生态学方面具有重要意义[9].因此,开展根系分泌物化学组分输入的定性和定量研究具有重要的生态学意义,它是进一步丰富和阐释植物生长养分循环机制、化感作用机理、根际微生态结构与功能维持等研究领域的前提与基础.相应地,大量关于根系分泌物组分收集的技术和方法应运而生.但是,由于植物根系生长在由土壤基质组成的地下生态系统中,使得植物根系分泌物只能分布在以根系为中心的狭窄区域内;加之根系分泌物具有含量较低、成分复杂、极易被微生物同化利用等特性,使得植物根系分泌物的及时、有效收集工作,尤其是野外原位收集工作成为根际生态学研究中的难点和关键点.因此,根系分泌物被认为是地下生态过程尤其是土壤碳循环中最难被定性和定量的物质之一.

鉴于根系分泌物在根际养分生物地球化学循环过程以及微生物信号交流中的重要作用,为了有效获取植物根系分泌物组分与含量信息,不同研究者根据其试验目的构建了众多的植物根系分泌物收集方法和技术[10-13].然而,受研究方法和技术手段的限制,以及传统的根际过程研究更强调区域特点和以实际生产问题为导向,早期对植物根系分泌物收集技术的研究多集中在人工控制条件下(实验室组培、沙培或水培等)的农作物、草本等短生长周期植物,而有关森林生态系统中多年生木本植物根系分泌物的原位收集技术相对缺乏[14-15].近年来,随着现代技术的发展,植物根系分泌物的收集技术在不断完善和发展,尤其为满足森林生态学野外原位研究的需求而构建了一系列根系分泌物原位收集技术[16-17],但现有的各种收集方法都存在各自的优缺点.鉴于目前缺乏对各种收集方法的系统性梳理,本研究主要从室内控制条件和野外原位条件两方面通过相关实例对近年来常用的一些新型根系分泌物收集方法(装置)进行系统介绍,并比较分析和总结了不同类型收集方法的优缺点;在此基础上,结合森林根际生态学过程原位研究需求,展望了未来森林根系分泌物收集技术构建和攻关中需要重点关注的研究方向,以期为相关研究者开展森林根系分泌物收集及其介导的生态学效应研究提供参考.

1 根系分泌物室内收集方法

基于操作的便利性和实际农业生产问题的重大需求,一些研究者在室内条件下针对草本、农作物等短生长周期植物研发了众多的根系分泌物收集方法与装置,简称室内收集法.室内收集主要针对的是室内控制条件下植物根系分泌物的收集,按照其收集装置(方法)是否可循环、连续地收集根系分泌物,将其分为非连续性根系分泌物收集方法和连续性根性分泌物收集方法.

1.1 非连续性根系分泌物收集方法

非连续性根系分泌物收集方法主要是一些传统的分泌物收集方法,按其培养基质的不同,可将其分为溶液培养收集法、土培收集法、基质培收集法.

1.1.1 溶液培养收集法 传统溶液培养收集法一般指水溶液培养法,是最简单、最普遍的一种根系分泌物收集方法.该方法是将用无菌水冲洗干净的植物根系放入加入微生物抑制剂的超纯水中培养一段时

间后，将植株移走，收集培养液，过滤，再通过树脂去除养分离子，得到根系分泌物[18].

目前，基于传统溶液培养的原理，一些研究者根据试验目的设计了相应的根系分泌物收集装置，简化了收集步骤，提高了收集效率.例如，Keerthisinghe等[19]设计了带有凹槽的提取环，用来收集水培植物白羽扇豆的根系分泌物.王长义等[20]设计了一种多联植物根系分泌物无菌收集装置，可实现水培植物根系分泌物的无菌收集，减少了微生物的污染降解问题.刘娟等[21]发明了一种光合加速根系分泌物提取装置，解决了室内栽培植物相对于自然状态下生长的植物存在的光照不足、二氧化碳浓度不够而影响植物根系分泌物释放的问题.该装置中，植物可生长于注有营养液的培养槽中，培养板上设有若干种植孔，可通过层析柱对根系分泌物进行收集(图 1).

溶液培养收集法操作简便，收集过程对根系损伤较小，不受土粒本身元素对分泌物成分的影响，可以较好地控制无菌条件而避免微生物对分泌物的分解利用，因此应用较广.但基于溶液培养收集到的植物根系分泌物都普遍存在以下问题：1)溶液培养时植物根系浸泡在溶液中，根系通气不良，根呼吸易受到抑制，各种生理功能减弱，也可能在缺氧条件下产生有毒气体，影响植物的正常生长.因此用溶液培养法收集根系分泌物需要尽量缩短收集时间[22].2)溶液培养的植物一般根毛发育较少，其根际微环境(如通气状况、养分分布、根系分枝结构、微生物等)与自然状况下土壤环境存在较大差别，同时也缺乏土粒对细根的机械磨损和根际微生物对根系生长的反馈作用，这些因素直接影响根系形态特征及根系分泌物释放的化学组分和含量[23-24].故该方法只能代表植物在溶液培养条件下根系的分泌情况，不能真实准确地反映自然条件下根系的分泌情况，因而大多应用于室内栽培试验中根系分泌物的收集.

1.1.2 土培收集法　传统土培收集法是指将种植于土壤中一段时间的植物根系取出，用蒸馏水洗下根际土壤，随后通过震荡离心或过滤得到根系分泌物[25].由于该方法需要通过淋洗将根系与土壤进行分离，难以完全排除土粒本身成分的影响，并且一定程度上可能造成根系部分损伤，从而使收集到的根系分泌物可能含有根系本身的内含物和伤流液.

基于此，一些研究者结合传统土培法设计了一些对根系干扰较小的根系分泌物收集装置.如苗淑杰等[26]发明了一种由装有土壤的 PVC 管和引流管连接的收集瓶组成的简便并适用于农田作物的根系分泌物收集装置，该装置可预先用蒸馏水对 PVC 管内的土壤进行预淋洗，从而带走土壤中的游离化合物，再向培养管中加入培养液，经过一段时间的培养后直接通过底部的引流管将培养液收集于收集瓶中，最终得到带有作物根系分泌物的液体.为了尽可能降低收集过程对根系生长的干扰以及土粒本身对收集液的影响，Oburger 等[11]发明了一套根箱系统来收集玉米根系分泌物.该根箱最大的特点是下部有一条狭长的无土垂直缝隙区域用于根系生长，当玉米根系生长到狭缝中后，可在狭缝高处注入营养液，低处的开孔处抽取根系分泌物.该装置不破坏根系与土壤间的自然生长状况，对根系无损伤，是一种较好的根系分泌物收集装置(图 2).无论传统土培法还是基于传统土培法设计的各种根系分泌物收集

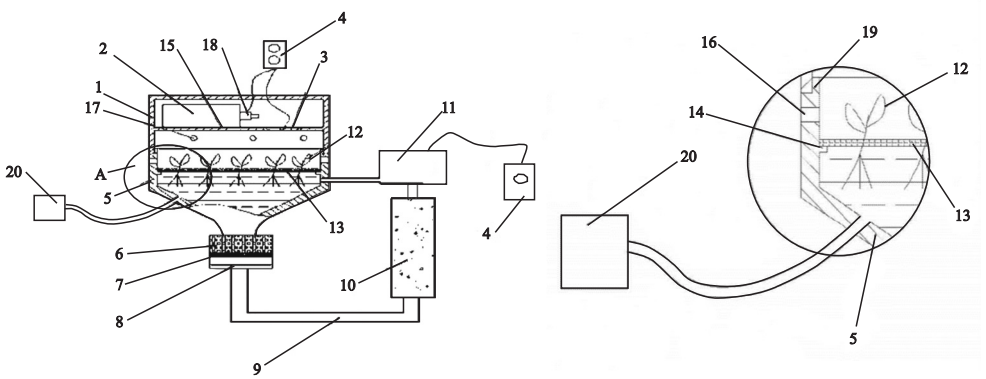


图 1　光合加速收集根系分泌物装置[21]

Fig.1　Photosynthetic accelerated collection of root exudates[21].

1) 上盖 Upper cover; 2) 二氧化碳存储器 Carbon dioxide storage; 3) 换气扇 Ventilation fan; 4) 控制开关 Control switch; 5) 培养槽 Culture tank; 6) 滤棉 Filter cotton; 7) 滤板 Filter plate; 8) 滤膜 Filter; 9) 胶管 Rubber tube; 10) 层析柱 Chromatography column; 11) 泵体 Pump body; 12) 植株 Plant; 13) 培养板 Culture plate; 14) 凸缘 Flange; 15) 隔板 Separator; 16) 通风孔 Ventilation hole; 17) 培养灯 Culture lamp; 18) 电磁阀 Solenoid valve; 19) 企口 Tongue-and-groove; 20) 供气泵 Air supply pump.

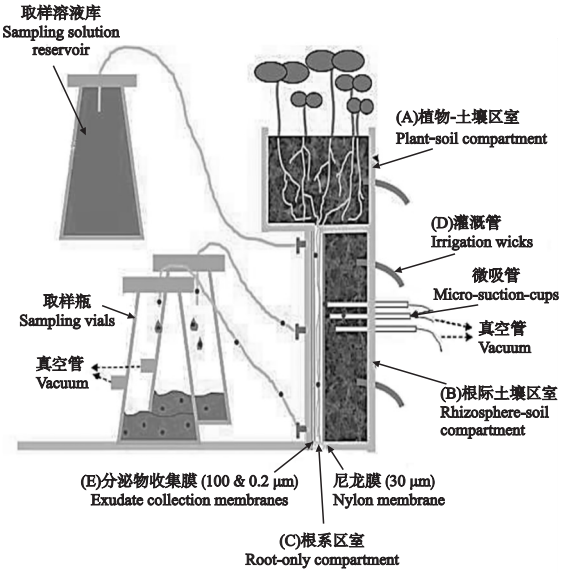


图 2 根系分泌物收集系统[11]

Fig.2 Root exudate collection system[11].

装置,与溶液培养收集法相比,这些方法由于土壤机械阻力的存在,根系分泌作用比较旺盛,更接近于植物自然生长状态下的实际情况,因而土培条件下单位植株干重产生的根系分泌物量可能高于溶液培养收集的根系分泌物量[27].但是,由于土壤也是一个水分、空气、矿物质、有机质以及活的有机体等组成的混合体,故该方法所获得的根系分泌物很难排除来自土壤自身成分的影响,并且由于该方法难以达到无菌条件,因此整个收集过程无法避免土壤微生物对根系分泌物的影响.

1.1.3 基质培养收集法 传统基质培养收集法是为了排除土壤成分的影响而使用玻璃砂、石英砂、琼脂、蛭石或人造营养土等基质替代土壤[10,28-29].将植株在培养基质中培养一段时间后取出,用蒸馏水或有机溶剂浸泡以提取附着在基质上的有机物,然后对收集到的浸泡液进行浓缩过滤即得根系分泌物[30-31].由于与土壤粒径大小基本一致的石英砂等本身不含植物生长所需的有效养分且具有惰性较强、不易与根系分泌物组分发生化学反应、通气状况较好、存在一定的机械阻力等优点,故在根系分泌物的收集中常被用来替代土壤作为植物的生长基质[16,23,29].但是,由于玻璃砂、石英砂等基质保水能力差且缺乏植物生长所需的矿质元素,因此,该方法需要向基质中添加营养液来维持植物根系所需的矿质元素和湿度.为了简化传统基质培养根系分泌物的收集过程,一些研究者在传统基质培养的基础上设计了一系列新的根系分泌物收集装置,主要是一些连续性根系分泌物收集装置,下节将详述.

1.2 连续性根系分泌物收集方法

非连续性根系分泌物收集方法通常都面临收集到的根系分泌物含量低、样品收集和处理繁琐且收集过程易对样品造成污染、难以对根系分泌物进行实时、动态收集等问题[32].连续性根系分泌物收集培养系统是将植物移栽到底部连有根系分泌物收集器的培养基质中培养(一般选用石英砂为培养基质),定时向容器中注入适量的培养液,培养液在向下渗流的过程中可将分泌物淋洗下来,使根系分泌物中的有机物在收集器中被不断富集,而含有无机离子的培养液在充气泵的作用下通过气泡带动又进入到培养容器中[33],从而使容器中的液体循环流动,形成一个不受干扰的连续循环根系分泌物收集装置.一般在培养液下水口接入选择性吸附树脂柱用来吸附水溶液中的有机物,因而当根系分泌物流经树脂时就会被吸附在表面,从而实现有机物的富集和分离[34].当一定时间后,收集树脂,用合适的洗脱剂可将根系分泌物从树脂上洗脱下来[32].

该方法可以对根系分泌物进行连续收集,并且对根系扰动较小,加之培养基质选用石英砂,既避免了无机离子的干扰,又可以使整个系统通过灭菌技术尽可能保持无菌环境,基于以上优点一些研究者已利用该原理根据试验目的设计出了一系列不同的连续性根系分泌物收集装置.例如,Li 等[12]设计了一套根系分泌物自动循环收集装置(图 3).该装置选用聚氯乙烯槽为容器,将幼苗移栽至容器中后,室内营养液通过滤筛进入微孔滤膜,在蠕动泵的驱动下通过 XAD-4 树脂,然后再回到室内,整个装置形成了一个循环系统.经过该循环系统,根系分泌物被吸附在 XAD-4 树脂上,之后可用乙醇洗脱吸附在树脂上的小分子有机物.此外,Yoshitomi 等[30]设计了一种无菌根系分泌物收集装置对玉米根系分泌物进行了收集;王占义等[15]以收集大豆有机质为例,发明了一种新型的根系分泌物收集装置.

可见,连续型根系分泌物收集系统真正实现了对根系分泌物的实时、连续、准确、定量收集,且对根系不造成伤害,该方法已经成为室内栽培试验下植物根系分泌物收集的常用方法.但由于系统本身所限,该系统只能对室内条件下栽培的相对较小的植株幼苗进行根系分泌物的收集工作,不能对野外自然条件下的植株进行分泌物的原位收集;而且由于该装置一般采用石英砂为培养基质,使得植物根际微生物群落与自然条件下存在一定差异,造成植物-

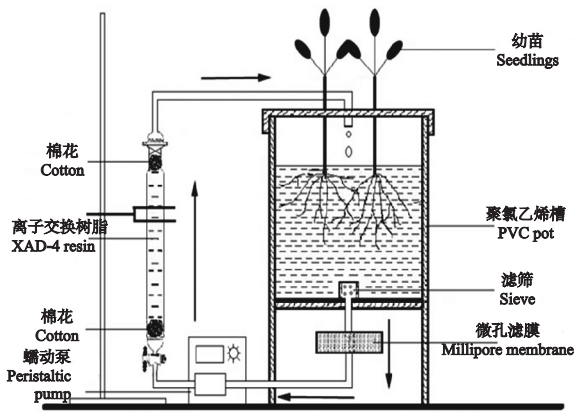


图 3　连续型根系分泌物收集系统示意图[12]

Fig.3　Schematic diagram of continuous root exudate collection system[12].

土壤-微生物间反馈缺乏，从而间接影响植株根系分泌情况.

2　根系分泌物野外原位收集法

室内培养下的根系分泌物收集技术（如水培法、基质培法）虽然可以较好地控制无菌条件，在一定程度上避免了微生物对根系分泌物的降解，可较好地应用于根系分泌物的精确定量分析[35].但该类方法忽略了原位条件下来自根际微生物释放的根际信号分子（如根际微生物分解产物或代谢产物）对植物-土壤的重要生态反馈效应.因此，根系分泌物收集过程除了需要防止根系受到破坏外，还需避免对根际微生物群落的干扰[24]，这也间接反映了根系分泌物原位收集的必要性.此外，由于根系分泌物输入种类和数量对周围环境（光照、温度、水分、土壤养分、物理损伤等）十分敏感，加之野外原位条件下植物存在一定的种内或种间相互作用，因此，人工室内控制条件下获得的单一植株根系分泌物输入结果可能与野外实际输入情况存在较大差异，限制了人们对野外原位条件下植物根系分泌物输入特征及其生态学功能的深入认识.

基于此，近年来众多研究者针对生态学野外原位研究的需求构建了一系列根系分泌物收集方法.根据野外原位条件下是否通过装置对根系分泌物进行收集而将其简单划分为原位抽提法和无损伤原位监测法.

2.1　原位抽提法

由于草本植物或小型作物生长周期短、根系较浅且须根多，根系分泌物收集工作相对容易，因而先前对根系分泌物的原位收集方法大多应用于该类小型植物根系分泌物的收集.如部分学者采用根际土壤溶液取样器原位直接抽提土壤溶液[36]，或将纤维素膜、层析滤纸直接置于根系表面，一段时间后进行回收，再用浸提液（如甲醇、酒精等）对纤维素膜或层析滤纸进行多次浸提从而得到根系分泌物[27].该方法可在短时间内对根系分泌物进行收集，污染环节较少，并且可以对根系不同部位进行分泌物的局部收集，可以反映根系不同部位的分泌情况，但该方法还是对根系原有的生长状态产生了干扰，因此也会对根系的分泌活动产生一定影响[37].

近年来随着森林地下生态学研究的逐渐深入，对森林生态系统中多年生木本植物根系分泌物的原位收集成为研究森林地下生态学的关键环节.基于此，Phillips 等[16]设计了一套静态培养原位收集系统，专门对森林生态系统木本植物根系分泌物进行原位收集（图 4）.该方法主要是通过在野外挖出发育较好的完整根系，用营养液清洗附着在根系上的土粒，将根系放置于一定大小的托盘上，用砂-土（1∶1）混合物覆盖其上，培养 2~3 d 清洗后放置于小玻璃管中，开始收集根系分泌物.该方法突破了人们长期以来对森林根系分泌物难以原位收集的局限性，可以较好地对森林根系分泌物进行原位收集.但是该装置也存在部分缺点：1）玻璃针筒相对较小，不能使根系在针筒中保持自然形态，进而可能影响分泌物的分泌速率；2）由于针筒内部装有玻璃珠，在根系分泌物抽滤时可能堵塞抽滤管；3）装置采用的封口膜与根系之间可能产生空隙使土壤环境对分泌物造成一定的污染等.

基于以上问题，笔者所在团队对 Phillips 等[16]所构建的森林根系分泌物静态培养原位收集装置进行了实地改进.改进后的收集装置[17]（图5）优点主

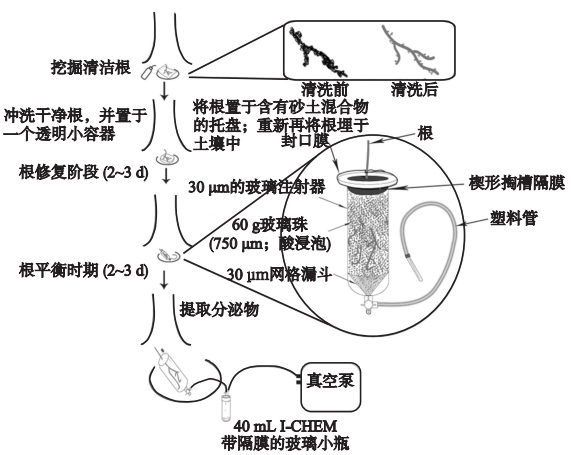


图 4　根系分泌物原位收集方法[16]

Fig.4　Root exudate collection *in situ*[16].

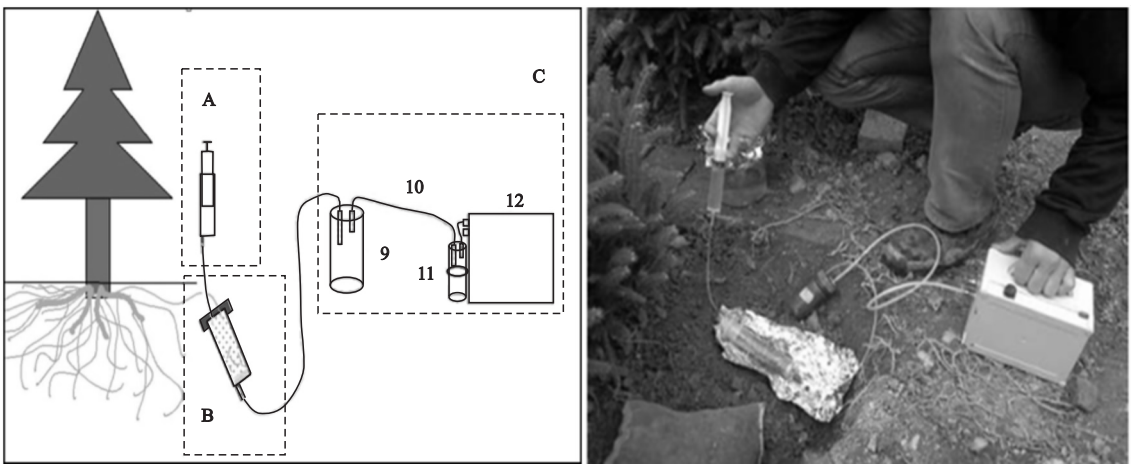


图 5 根系分泌物取样装置结构示意图(a)和野外现场根系分泌物收集(b)

Fig.5 Schematic diagram of root exudate collection device (a) and root exudate collection in field site (b).

A: 进样单元 Injection unit; B: 收集单元 Collection unit; C: 抽滤单元 Filter unit; 9) 抽滤瓶 Filter bottle; 10) 硅胶管 Silicon tube; 11) 干燥管 Dry tube; 12) 真空泵 Vacuum pump.

要如下:1)采用土壤粒径大小的玻璃砂,模拟根系生长环境并为其生长提供机械阻力;2)添加营养液供给植物生长所需的营养元素;3)专用的硅胶塞和独特、可封闭的进样和出样塑胶管道,较大程度地减轻了对根系的扰动和污染物在收集过程中的引入.该装置对森林根系分泌物原位收集的有效性在前期研究中得到了较好的验证,主要收集方法如下:首先在底部装有玻璃棉的针筒内装入粒径为 1 mm 的无菌玻璃砂作为培养基质,然后将用去离子水冲洗干净的根系装入针筒内,同时注入营养液以满足根系正常生长所需的养分,并盖上筒帽和封口膜包裹针筒来防止杂质进入,最后用锡箔纸包裹针筒后用泥土直接覆盖,待根系进行 24 h 恢复后,利用真空泵抽滤以收集根系分泌物.

2.2 无损伤原位监测法

上述根系分泌物原位收集方法虽然可以对森林木本植物根系分泌物进行原位收集,但野外条件下很难获得完整且无损伤的根系,加之野外条件有限,很难将根系完全冲洗干净,因此该方法无法避免微生物、土粒本身和根系损伤等因素对收集到的分泌物准确信息的干扰.目前为止,由于技术进步和研究方法的相对成熟,根系分泌物的收集工作在一定程度上已取得了较大的突破,同时也出现了一些对根系干扰较小的新兴方法,可实现根系分泌物的原位无损伤监测,较好地避免了微生物的影响.例如,微吸盘(MSCs)的产生可较好地实现以上目标[38-39].MSCs 是一种 5 cm 的多孔亲水膜(0.12~0.17 μm),该膜由聚乙烯吡咯烷和聚醚砜混合而成,可以在空间上分辨(μm/mm)出距离根系已知距离处的根际土壤溶液[11,40],并可以检测到根际土壤溶液的平均浓度[40-41].因此,该方法可对根际土壤溶液浓度进行实时监测,是一种原位研究根际土壤溶液有机物质的有力工具,但是该方法只能提供根际土壤溶液的平均浓度,无法检测出根系分泌物各组分的精确浓度.

近年来,一种基于微透析原理的原位取样技术被引入到植物根际环境研究中[42-43].该技术是通过将灌流取样和透析技术有机结合而形成的一种活体动态微量生化取样新技术,其主要原理是通过对插入生物体中的微透析探头在非平衡条件下(即流出的透析液中待测化合物浓度低于它在探针膜周围样品基质中的浓度)进行灌流,物质沿浓度梯度逆向扩散,使被分析的物质穿过膜扩散进入透析管内,并被透析管里连续流动的灌流液不断带出,从而达到活体组织取样的目的.将该原理应用到地下生态学研究中可实现对根际土壤内有机溶质的连续取样,实现根系分泌物无损伤原位监测,且在一定程度上较好地解决了微吸盘技术在根系分泌物收集过程中应用的不足.这种非破坏性的取样方法可直接将微透析探针膜置于土壤中,土壤水通过膜的内表面并被收集,而根际土壤中的有机溶质会响应浓度梯度流过膜,在透析液中回收并进行分析[40].该方法最大的优点是可连续取样、采样量小、对根系无损伤[44],并可进行动态观察.目前,利用微透析原理已对土壤微量金属元素[42]、土壤氯离子[45]、低分子量有机阴离子[46]、植物根际土壤氮素形态和有效

性[44,47-48]进行了检测.例如,Inselsbacher 等[47]研究发现,微透析技术是一种可在较小的空间尺度(<1 cm)和较短的时间间隔(<30 min)内敏锐地检测根际土壤氮浓度差异的有效方法,利用该方法不仅可以获得土壤中各种氮化合物扩散速率的基本数据,而且可以用于监测根际土壤微域中氮库的质量和数量变化.如,Brackin 等[44]利用微透析技术测量了距离根系已知距离处的铵盐和硝酸盐浓度,发现硝酸盐在根附近积累,而铵则被耗尽,这表明该技术提供了一种几乎实时、非破坏性地测量根际有效养分的能力.但到目前为止,由于技术所限该方法只能针对某一专一组分进行有效监测,而无法对多组分物质进行同时监测,一定程度上限制了该技术在根系分泌物研究中的广泛应用.然而,由于该技术可原位和实时获得植物根际有效养分浓度、移动性和周转率等诸多优点,利用该技术对根系分泌物进行原位无损伤监测或许是未来根际生态学研究的重点攻克方向.

除以上方法外,Weidenhamer 等[49]使用聚二甲基硅氧烷(PDMS)微管构建采样装置来监测万寿菊(*Tagetes erecta*)根系分泌的噻吩等亲脂性化感物质在土壤中的释放.该方法主要是利用 PDMS 可以选择性地吸收非极性化合物的特性而提出的一种原位提取根际亲脂化合物的方法.主要将含有聚二甲基硅氧烷的硅胶管微萃取取样器(STME)插入根盒中,一端连有注射器,中间插入植物根系生长的土壤基质,另一端连接收集瓶,当注射器输入萃取液流经土壤根系周围时,可选择性地将非极性化合物吸附,并传送到收集瓶直接进行分析.该方法操作简便,可以对根系分泌的亲脂性化合物进行快速、可重复、未受干扰的取样,很好地避免了对根系生长的干扰和微生物对分泌物的利用.但由于装置有限,该方法只能对根系分泌物中的亲脂性成分进行收集和监测,而无法对整个根系分泌物进行收集.此外,质谱成像技术(MSI)在根际研究中的应用也越来越广泛.MSI 是一种能够在原位显示样品中元素和分子分布的方法[50].MSI 操作基本步骤简单,有两种工作模式.第一种模式是“微探针模式”,工作过程主要是将样品切片(如冷冻组织)或切除(如琼脂支撑材料)后安装在导电的衬底上,然后用电离源连续探测安装的样品,对样品进行局域质量分析生成一系列质谱后,得到离子强度的图像[50].另一种模式为“显微镜模式”,工作原理是利用保留在离子云空间组织的离子光学元件,当离子到达探测器时就可以形成图像[51].利用该模式可对根际土壤溶液中的元素或化合物进行原位检测.它是将根际成像为一个高度复杂系统的强有力工具.但是目前利用 MSI 检测根际元素和化合物的主要障碍是样品制备困难.目前研究人员在根际研究中仅对部分元素和化合物(如 Ca、Mg、K、Al、Fe、Mn、C、N 以及一些次生代谢物质等)进行了分析和图谱绘制[52-53].整体而言,根系分泌物无损伤原位监测法操作简便,可快速实现根系分泌物的原位无损伤动态监测或对根系分泌物中某些成分进行连续收集.但该类方法也具有一定的局限性,如某些方法仅能对部分分泌物浓度进行监测分析,难以对总分泌物进行收集而获得根系总组分的分泌情况[40,48].

从目前各种收集方法来看,植物根系分泌物的收集工作主要存在以下难点:1)培养基质与野外自然环境差异较大.目前所使用的溶液培、基质培等方法的植物培养环境与植物根系在野外自然条件下的生活环境差异较大,包括土粒本身对根系的机械阻力、根系营养吸收、土壤生物、土壤物理化学环境等均有差异;2)根系破坏很难避免.目前大部分收集方法都将根系与土壤分离,否则很难避免土壤本身成分对根系分泌物种类和含量的影响,但是这种操作也非常容易对根系造成损伤,进而影响根系分泌物数量和质量;3)无法有效回避微生物的作用.一方面,由于根系分泌物中含碳化合物常作为根际微生物的能量来源或分解底物,在实际操作中很难严格控制无菌条件,使根系分泌物有机化合物释放之后部分成分很快被微生物吸收或降解,但另一方面,如果严格控制无菌条件又会遗漏根际微生物释放的根际信号物质对根系分泌物输入的反馈效应;4)无损伤原位技术仍存在一定的局限性.目前利用一些新技术对根系分泌物进行无损伤原位及时监测,虽然在一定程度上可以避免以上 3 点的相关限制,但该类技术目前只能对根系分泌物部分组分进行靶向监测与实时分析,而无法获得根系分泌物全组分分泌信息.总之,到目前为止,不同研究者虽然根据其试验目的构建了众多的植物根系分泌物收集方法和技术,但还没有一种方法能够完全真实地反映出自然条件下根系实际的分泌物释放情况,每种收集方法都存在其各自的优点和缺点(表 1).因此,如何结合各种根系分泌物收集方法的优点,并根据试验目的选择、设计和构建高效的根系分泌物收集装置,依然是未来很长一段时间内根际生态学研究需要重点攻关的问题.

表 1 不同根系分泌物收集方法比较

Table 1 Comparison of different methods of root exudate collection

收集方法 Collection method	室内收集 Greenhouse collection				野外原位收集 Field *in-situ* collection	
	非连续性根系分泌物收集法 Non-continuous root exudate collection method			连续性根系分泌物收集法 Continuous root exudate collection method	原位抽提法 In-situ extraction method	原位监测法 In-situ monitoring method
	水培收集 Water culture collection	土培收集 Soil culture collection	基质培收集 Substrate culture collection			
优点 Merit	操作简便、对根系损伤较小,不受土粒本身元素对分泌物成分的影响、可以较好地控制无菌条件而避免微生物对分泌物的分解利用	增加土壤机械阻力有利于植物根系的生长,接近于植物的实地生长状况	产生类似于土粒的机械阻力,排除掉土壤成分对根系分泌物的影响	真正实现了对根系分泌物的实时、连续、准确、定量收集且对根系不造成伤害;以石英砂为基质避免了无机离子的干扰;整个系统可以较好地保持无菌环境,避免微生物干扰	操作方法简便、无需移栽植物、能较真实地反映自然条件下植株根系分泌物的质量和数量	操作简便、精确定位、快捷无干扰,对根系无损伤,可对根系分泌物进行实时动态监测
缺点 Shortcoming	根系浸泡于溶液中易导致通气不良而影响根系生长;缺乏土粒对根系的机械阻力作用和根际微生物释放的信号分子反馈作用;不适合野外操作	很难排除土壤自身成分及微生物利用对根系分泌物的影响	需要保持适当的水分和根系生长所需要的部分矿质元素,培养基质环境与原位根际环境存在差异	应用较为局限只适用于小型植株,且需要将植株移栽到特定的培养容器中,不能对原位条件下根系分泌物进行收集	自然状态下无菌条件较难控制,难以避免微生物和土粒本身成分的干扰,且根土分离时易对根部造成损伤	只适用于对特定组分进行靶向监测,难以对总分泌物进行收集;监测浓度与土壤含水量有关;精准定位困难

3 总结与展望

近年来,随着技术的进步和研究方法的成熟,根系分泌物的收集、分离和鉴定有一定的创新和完善,但每种方法仍然存在一定程度的局限性.整体而言,根系分泌物的收集主要受土壤颗粒的吸附和溶解、收集过程对根系的损伤以及微生物对分泌物的快速利用 3 方面的影响.随着技术的不断创新,新型的类似于无损伤根系收集技术的出现在一定程度上解决了之前根系分泌物收集所面临的一些主要问题,但同时也出现了一些新的亟需解决的问题.如此类方法目前只能对少部分分泌物组分进行分析,而无法获得根系分泌物全组分信息.因此,针对未来森林根际生态学野外原位研究需求的迫切性和重要性,并结合目前森林根系分泌物收集技术研究的不足,对未来森林根系分泌物收集技术的重点方向做如下展望:

1)研发满足森林根系分泌物输入时空异质性的原位收集技术.构建满足根系分泌物输入的日动态与季节性动态变化分析的相关技术.在森林野外原位研究中,基于野外操作人力和物力限制以及尽可能地减少收集对样地的破坏性,尤其是在一些长期控制试验样地,导致目前有关根系分泌物的收集工作主要集中在生长季节,而很少考虑非生长季根系分泌物输入特征,并且现有根系分泌物收集技术收集到的通常是根系 24 h 分泌的总量,而没有区分根系日动态变化下的分泌差异性.然而,植物生理生长活动受所处的外界环境条件(温度、降雨等)的深刻影响,势必会导致森林地下光合碳分配格局和根系分泌物输入通量表现出明显的日动态和季节动态变化特征.例如,Yin 等[54]研究发现,根系分泌物输入速率具有与土壤温度变化一致的季节性变化,表现为 7 月和 8 月输入速率(土壤温度)最高,其他时间相对较低.因此,仅在生长季节的一个或两个[55-56]时间段收集分泌物可能会对根系分泌物产生人为的估计偏差[54],从而限制了人们对根系分泌物输入季节动态规律的基本认识.因此未来有关根系分泌物的收集技术在收集时间和频率选择上应尽可能多样化,以便全面深入了解森林根系分泌物输入的日动态和季节动态特征(图 6A).

研发满足根系分泌物输入的空间异质性分析的技术体系(图 6B).Tückmantel 等[57]研究发现,根系分泌物的年平均碳输入通量随土壤深度的增加而减少.这说明根系分泌物在垂直方向上具有一定的空间异质性.基于此,考虑到根系系统庞大的分枝体系,植物根系水平尺度、不同根级大小(如 1~3 级主要为吸收根,4~5 级主要为运输根)可能与根系分泌物输出直接相关.然而受研究方法和技术手段的限制,目前有关根系分泌物的收集大多将整个根系视为均一的整体,没有考虑根系系统复杂的空间异质性,导致难以准确获悉根系分泌物输入在不同空间分布格局下的组分与含量差异及其介导的根际土壤和微生物异质性差异,这极大地限制了人们在细

微尺度上对森林根系-土壤界面过程与调控机理的认知[58].因此,未来有关根系分泌的收集应充分考虑由根系的空间异质性而造成的根系分泌输入情况的差异性,构建满足根系细微尺度下(如不同根级、不同水平距离和垂直距离)根系分泌物输入空间异质性研究的精细收集方法与技术.

考虑根系/菌根途径根系分泌物输入差异.自然界中绝大多数植物普遍存在菌根共生现象,其在森林生态系统结构和功能中扮演着非常重要的作用[59].相应地,森林菌根碳源输入及其生态反馈效应是近年来森林生态研究的重要内容[60-61].然而,目前根系分泌物收集方法将根系和菌根二者视为一个整体,缺乏有效区分植物根系/菌根途径分泌物输入的技术[62],导致人们难以区分和辨识植物根系/菌根分泌物输入的数量与质量差异,而这种缺乏将直接限制根系-土壤-微生物互作过程及其生态反馈效应的细微认知.因此,未来根系分泌物的收集工作应研发相关原位技术,以满足根系/菌根途径输入数量与质量精细区分研究的需要,从而更好地明确森林菌根作用与生态功能(图 6C).

综上,植物根系的空间异质性和时间异质性对根系分泌物输入数量与质量产生了深刻的影响.因此,未来应针对根系分泌物输入的时空异质性差异,研发和攻关更为精细、有效的根系分泌物原位收集技术体系,以从细微尺度上进一步丰富根系分泌物输入特征和变化规律及其生态学效应与作用机理的认知.

2)构建适合森林生态系统种内与种间互作的根系分泌物原位收集技术.目前根系分泌物收集研究大多以温室条件下培养的单一植株为对象,而野外原位条件下植物是多物种共存于同一空间环境中.因此,原位条件下的物种存在一定的种内或种间互作现象.例如,由于不同植物占据着各自的生态位,势必会在水分、养分资源获取上与周围植物发生竞争.这种竞争会随着生态位重叠的加剧而变得更加激烈,进而深刻影响植物本身根系分泌物的输入及其介导的根际生态过程与功能.例如,Yin 等[63]研究发现,树种能够引起强烈的正激发效应,这种激发效应会随着种植密度的增加而显著降低,并表现出明显的种间差异.因此,由植物生活环境中物种多样性的不同造成的种内或种间竞争现象可能会对植物根系分泌物的输出产生一定的影响,进而影响根际激发效应的强度和方向,并进一步对植物生长产生深刻的生态反馈效应.因而,未来根际分泌物收集技术应充分考虑森林生态系统中不同树种根系特征差异与密度制约等因素,针对性地研发可满足多树种的根系分泌物收集技术,以获得原位条件下森林生态系统根系分泌物输入的真实信息(图 6).

3)进一步研发森林无损伤根系分泌物原位收集与监测技术.随着技术的进步和研究方法的日渐成熟,目前如微透析技术等在根系分泌物收集上的应用在一定程度上实现了根系分泌物的原位无损伤监测[40],但由于根系分泌物种类和数量的复杂性,使得该类方法的应用具有很大的局限性.例如,此类

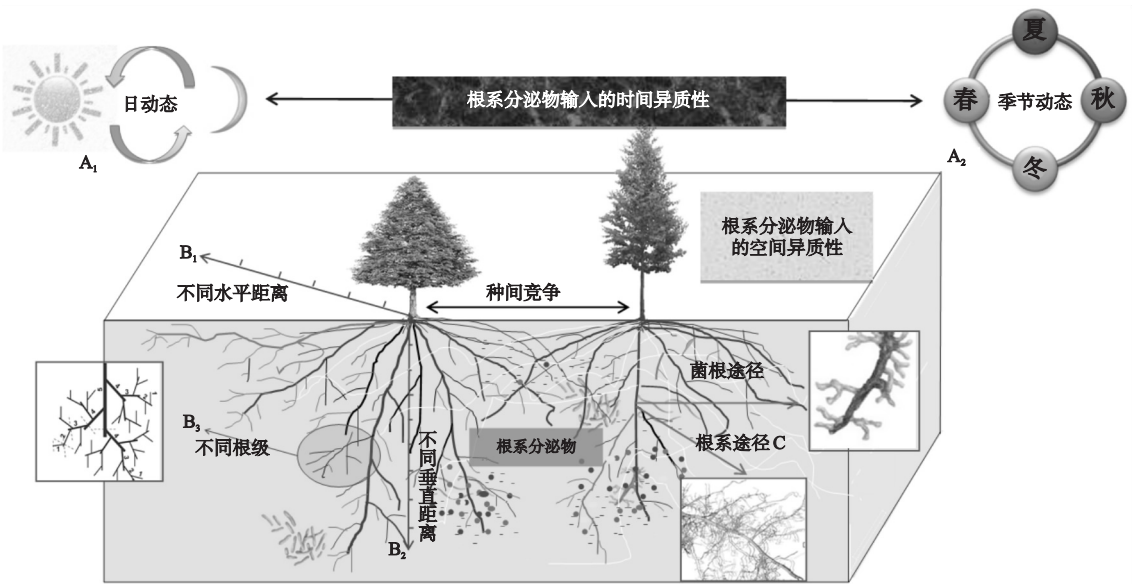


图 6　根系分泌物输入的时空异质性

Fig.6　Spatiotemporal heterogeneity of root exudate inputs.

方法目前只能针对某些特定组分进行原位监测,而难以实现根系分泌物的多组分全面同步监测.此外,根系分泌物化学组分通常易被微生物快速分解利用,导致根系分泌物从收集到组分的检测应该在较短的时间内快速完成.受野外条件的限制,目前原位条件下收集到的根系分泌物通常需带回室内实验室进行检测.这种收集与测试时间的不同步会导致某些分泌物组分在检测前已被微生物快速分解与利用,从而使实际检测到的分泌物组分和含量与植物根系实际分泌情况产生一定的偏差,进而影响对后续一系列根系分泌物介导的生态过程的深入认识.可见,在野外条件下对根系分泌物各组分的原位及时检测研究具有必要性和迫切性.因此,未来应结合最新技术,研发出高效、全面的分子探针,实现根系分泌物组分的原位无损伤鉴定和分析,从而避免收集过程污染和微生物分解等问题,这是未来地下生态学研究的重点突破方向.

综上,根系分泌物收集方法、检测部位、检测时间等差异都会对根系分泌物的最终检测结果产生一定的影响.而根系分泌物已经被发现在植物根际微生态特征构成、地下化学通讯、根际交流(根际信号识别、种间作用、化感作用、菌根真菌共生关联、病虫害抗性等)[64-65]、根际土壤微生物群落组成[66]等方面具有重要作用.可见,对根系分泌物收集技术的不断探究直接关系到人们对根系分泌物介导的地下生态过程的正确认知.因此,未来根系分泌物收集技术的研究,在充分考虑以上因素的条件下,应设计出不扰动根系自然生长、更贴近根际微环境的无菌原位收集装置,或者直接研发出可以对根际溶液进行实时检测的分子探针来原位、动态监测和分析植物根系分泌物.研究者可以根据植物的生活属性、生长环境和试验目的选择最适合的根系分泌物收集方法,以期对不同时空格局下的根系实际分泌情况进行精准认知,从而深入了解根系分泌物在不同时间、空间、树种、环境条件下分泌机制的差异性,正确认知根系分泌物所驱动的植物-土壤-微生物之间的相互作用,阐明根系分泌物所介导的根际生态学过程及其在全球变化背景下对生物地球化学循环的影响.

参考文献

[1] Wu L-K (吴林坤), Lin X-M (林向民), Lin W-X (林文雄). Advances and perspective in research on plant-soil-microbe interactions mediated by root exudates. *Chinese Journal of Plant Ecology* (植物生态学报), 2014, **38**(3): 298-310 (in Chinese)

[2] Zhang D-D (张豆豆), Liang X-H (梁新华), Wang J (王 俊). A review of plant root exudates. *Chinese Agricultural Bulletin* (中国农学通报), 2014, **30**(35): 314-320 (in Chinese)

[3] Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, *et al*. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2012, **64**: 807-838

[4] Hu L, Robert CAM, Cadot S, *et al*. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nature Communications*, 2018, **9**: 2738

[5] Baetz U, Martinoia E. Root exudates: The hidden part of plant defense. *Trends in Plant Science*, 2014, **19**: 90-98

[6] Guo M, Gong Z, Miao R, *et al*. The influence of root exudates of maize and soybean on polycyclic aromatic hydrocarbons degradation and soil bacterial community structure. *Ecological Engineering*, 2017, **99**: 22-30

[7] Luo Y-Q (罗永清), Zhao X-Y (赵学勇), Li M-X (李美霞). Ecological effect of plant root exudates and related affecting factors: A review. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2012, **23**(12): 3496-3504 (in chinese)

[8] Xie X-M (谢晓梅), Liao M (廖 敏), Yang Y (杨静). Effects of ryegrass (*Lolium perenne*) root exudates dose on pyrene degradation and soil microbes in pyrene-contaminated soil. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2011, **22**(10): 2718-2724 (in chinese)

[9] Guyonnet JP, Cantarel AAM, Simon L, *et al*. Root exudation rate as functional trait involved in plant nutrient-use strategy classification. *Ecology and Evolution*, 2018, **8**: 8573-8581

[10] Neumann G, George TS, Plassard C. Strategies and methods for studying the rhizosphere: The plant science toolbox. *Plant and Soil*, 2009, **321**: 431-456

[11] Oburger E, Dell'mour M, Hann S, *et al*. Evaluation of a novel tool for sampling root exudates from soil-grown plants compared to conventional techniques. *Environmental and Experimental Botany*, 2013, **87**: 235-247

[12] Li X, Dong J, Chu W, *et al*. Adsorption efficiency of a continuous trapping system and its use for the collection of root exudates from cucumber. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2015, **178**: 963-975

[13] Kunal W, Neeru N. A novel technique to collect root exudates from mustard (*Brassica juncea*). *Journal of Basic Microbiology*, 2012, **52**: 613-615

[14] Vranová V, Rejšek K, Skene KR, *et al*. Methods of collection of plant root exudates in relation to plant metabolism and purpose: A review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2013, **176**: 175-199

[15] Wang Z-Y (王占义), Pan N (潘 宁), Luo Q (罗茜), *et al*. New type of device and method for collection plant root exudates. *Acta Pedologica Sinica* (土壤学报), 2010, **47**(4): 747-752 (in Chinese)

[16] Phillips RP, Erlitz Y, Bier R, *et al*. New approach for capturing soluble root exudates in forest soils. *Functional Ecology*, 2008, **22**: 990-999

[17] Liu Q (刘 庆), Xiao J (肖 娟), Li Y-F (李宇飞), *et al*. An *in situ* collection device and system for root exudate. China, 201120557060.5. 2012-10-3 (in Chinese)

[18] Shen H, Yan X, Zhao M, *et al*. Exudation of organic

acids in common bean as related to mobilization of aluminum- and iron-bound phosphates. *Environmental and Experimental Botany*, 2002, **48**: 1-9
[19] Keerthisinghe G, Hocking P, Ryan P, *et al*. Effect of phosphorus supply on the formation and function of proteoid roots of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant, Cell and Environment*, 1998, **21**: 467-478
[20] Wang C-Y (王长义), Hao Z-P (郝振萍), Hu W-X (胡雯霞). A sterile collection device for root exudates of multiplex plants and its application. China, 201410047225.2. 2014-2-10 (in Chinese)
[21] Liu J (刘　娟), Tang F-S (汤丰收), Zang X-W (藏秀旺), *et al*. Plant root secretion extraction device. China, 201620515802.0. 2016-10-19 (in Chinese)
[22] Yang R-J (杨瑞吉), Niu J-Y (牛俊义). Effects of phosphorus deficiency on root exudation of rape (*Brassica campestris* L.). *Journal of Southwest University* (西南大学学报), 2006, **28**(6): 895-899 (in Chinese)
[23] Phillips RP, Bernhardt ES, Schlesinger WH. Elevated CO_2 increases root exudation from loblolly pine (*Pinus taeda*) seedlings as an N-mediated response. *Tree Physiology*, 2009, **29**: 1513
[24] Pétriacq P, Williams A, Cotton A, *et al*. Metabolite profiling of non-sterile rhizosphere soil. *Plant Journal*, 2017, **92**: 147-162
[25] Chen Q-B (陈秋波), Peng L-X (彭黎旭), He L-M (贺利民), *et al*. Allelopathic substances in root and rhizosphere-soil of *Eucalyputs* 12*ABL*. *Chinese Journal of Tropical Agriculture* (热带农业科学), 2002, **22**(4): 28-34 (in Chinese)
[26] Miao S-J (苗淑杰), Qiao Y-F (乔云发), Han X-Z (韩晓增). Method for the collection of crop root exudates. China, ZL200810064712.4. 2018-12-8 (in Chinese)
[27] Shi S, Condron L, Larsen S, *et al*. In situ sampling of low molecular weight organic anions from rhizosphere of radiata pine (*Pinus radiata*) grown in a rhizotron system. *Environmental and Experimental Botany*, 2011, **70**: 131-142
[28] Zhu G-P (朱国鹏). A review of the study methods for root exudates. *Subtropical Plant Science* (亚热带植物科学), 2002, **31**(1): 15-21 (in Chinese)
[29] Phillips RP, Finzi AC, Bernhardt ES. Enhanced root exudation induces microbial feedbacks to N cycling in a pine forest under long-term CO_2 fumigation. *Ecology Letters*, 2011, **14**: 187-194
[30] Yoshitomi KJ, Shann JR. Corn (*Zea mays* L.) root exudates and their impact on ^{14}C-pyrene mineralization. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, **33**: 1769-1776
[31] Boeuf-Tremblay V, Plantureux S, Guckert A. Influence of mechanical impedance on root exudation of maize seedlings at two development stages. *Plant and Soil*, 1995, **172**: 279-287
[32] Liao J-P (廖继佩), Lin X-G (林先贵), Cao Z-H (曹志洪), *et al*. A new system for continuous trapping of root exudate. *Soils* (土壤), 2003, **35**(4): 311-313 (in Chinese)
[33] Tang CS, Young CC. Collection and identification of allelopathic compounds from the undisturbed root system of Bigalta limpograss (*Hemarthria altissima*). *Plant Physiology*, 1982, **69**: 155-160
[34] Li X (李　汛), Duan Z-Q (段增强). Progress on the research methods for root exudates. *Genomics and Applied Biology* (基因组学与应用生物学), 2013, **32**(4): 540-547 (in Chinese)
[35] Kuijken RCP, Snel JFH, Heddes MM, *et al*. The importance of a sterile rhizosphere when phenotyping for root exudation. *Plant and Soil*, 2015, **387**: 131-142
[36] Wu L-H (吴龙华), Luo Y-M (骆永明). Rhizosphere soil solution sampler: Introduce a novel in-situ soil solution sampler. *Soils* (土壤), 1999, **31**(1): 54-56 (in Chinese)
[37] Tu S-X (涂书新), Wu J (吴　佳). A review on research methods of root exudates. *Ecology and Environmental Sciences* (生态环境学报), 2010, **19**(9): 2493-2500 (in Chinese)
[38] Dessureault-Rompré J, Nowack B, Schulin R, *et al*. Modified micro suction cup/rhizobox approach for the in-situ detection of organic acids in rhizosphere soil solution. *Plant and Soil*, 2006, **286**: 99-107
[39] Puschenreiter M, Wenzel WW, Wieshammer G, *et al*. Novel micro-suction-cup design for sampling soil solution at defined distances from roots. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2010, **168**: 386-391
[40] Oburger E, Jones DL. Sampling root exudates: Mission impossible? *Rhizosphere*, 2018, **6**: 116-133
[41] Oburger E, Gruber B, Schindlegger Y, *et al*. Root exudation of phytosiderophores from soil-grown wheat. *New Phytologist*, 2014, **203**: 1161-1174
[42] Miró M, Fitz WJ, Swoboda S, *et al*. In-situ sampling of soil pore water: Evaluation of linear-type microdialysis probes and suction cups at varied moisture contents. *Environmental Chemistry*, 2010, **7**: 123-131
[43] Miró M, Hansen EH. Recent advances and perspectives in analytical methodologies for monitoring the bioavailability of trace metals in environmental solid substrates. *Microchimica Acta*, 2006, **154**: 3-13
[44] Brackin R, Atkinson BS, Sturrock CJ, *et al*. Roots-eye view: Using microdialysis and microCT to non-destructively map root nutrient depletion and accumulation zones. *Plant, Cell & Environment*, 2017, **40**: 3135-3142
[45] Manuel M, Wolfgang F. A novel flow-through microdialysis separation unit with integrated differential potentiometric detection for the determination of chloride in soil samples. *Analyst*, 2004, **128**: 1291-1297
[46] Sulyok M, Miró M, Stingeder G, *et al*. The potential of flow-through microdialysis for probing low-molecular weight organic anions in rhizosphere soil solution. *Analytica Chimica Acta*, 2005, **546**: 1-10
[47] Inselsbacher E, Öhlund J, Jämtgård S, *et al*. The potential of microdialysis to monitor organic and inorganic nitrogen compounds in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, **43**: 1321-1332
[48] Oburger E, Schmidt H. New methods to unravel rhizosphere processes. *Trends in Plant Science*, 2016, **21**: 243-255
[49] Weidenhamer JD, Mohney BK, Shihada N, *et al*. Spatial and temporal dynamics of root exudation: How important is heterogeneity in allelopathic interactions? *Journal of Chemical Ecology*, 2014, **40**: 940-952
[50] Veličković D, Anderton CR. Mass spectrometry imaging: Towards mapping the elemental and molecular composition of the rhizosphere. *Rhizosphere*, 2017, **3**: 254-258
[51] Jungmann JH, Heeren RMA. Emerging technologies in mass spectrometry imaging. *Journal of Proteomics*,

2012, **75**: 5077-5092
[52] Dirk HL, Theodore A, Michael B, *et al*. Phenalenone-type phytoalexins mediate resistance of banana plants (*Musa* spp.) to the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, **111**: 105-110
[53] Rudolph-Mohr N, Gottfried S, Lamshöft M, *et al*. Non-invasive imaging techniques to study micro-patterns around pesticide treated lupine roots. *Geoderma*, 2015, **239**: 257-264
[54] Yin H, Wheeler E, Phillips RP. Root-induced changes in nutrient cycling in forests depend on exudation rates. *Soil Biology & Biochemistry*, 2014, **78**: 213-221
[55] Brzostek ER, Greco A, Drake JE, *et al*. Root carbon inputs to the rhizosphere stimulate extracellular enzyme activity and increase nitrogen availability in temperate forest soils. *Biogeochemistry*, 2013, **115**: 65-76
[56] Smith WH. Character and significance of forest tree root exudates. *Ecology*, 1976, **57**: 324-331
[57] Tückmantel T, Leuschner C, Preusser S, *et al*. Root exudation patterns in a beech forest: Dependence on soil depth, root morphology, and environment. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, **107**: 188-197
[58] Preece C, Farré-Armengol G, Llusià J, *et al*. Thirsty tree roots exude more carbon. *Tree Physiology*, 2018, **38**: 690-695
[59] Mg VDH, Martin FM, Selosse MA, *et al*. Mycorrhizal ecology and evolution: The past, the present, and the future. *New Phytologist*, 2015, **205**: 1406-1423
[60] Zhang Z, Xiao J, Yuan Y, *et al*. Mycelium- and root-derived C inputs differ in their impacts on soil organic C pools and decomposition in forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, **123**: 257-265
[61] Zhang Z, Phillips RP, Zhao W, *et al*. Mycelia-derived C contributes more to nitrogen cycling than root-derived C in ectomycorrhizal alpine forests. *Functional Ecology*, 2019, **33**: 346-359
[62] Wallander H, Ekblad A, Godbold DL, *et al*. Evaluation of methods to estimate production, biomass and turnover of ectomycorrhizal mycelium in forests soils: A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, **57**: 1034-1047
[63] Yin L, Dijkstra FA, Wang P, *et al*. Rhizosphere priming effects on soil carbon and nitrogen dynamics among tree species with and without intraspecific competition. *New Phytologist*, 2018, **218**: 1036-1048
[64] van Dam NM, Bouwmeester HJ. Metabolomics in the rhizosphere: Tapping into belowground chemical communication. *Trends in Plant Science*, 2016, **21**: 256-265
[65] Kong CH, Zhang SZ, Li YH, *et al*. Plant neighbor detection and allelochemical response are driven by root-secreted signaling chemicals. *Nature Communications*, 2018, **9**: 3867
[66] Zhalnina K, Louie KB, Hao Z, *et al*. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology*, 2018, **3**: 470-480

作者简介 郭婉玑, 女, 1990 年生, 博士研究生. 主要从事亚高山针叶林外生菌根真菌介导的地下生态学过程研究. E-mail: guowj@cib.ac.cn
责任编辑 张凤丽

郭婉玑, 张子良, 刘庆, 等. 根系分泌物收集技术研究进展. 应用生态学报, 2019, **30**(11): 3951-3962
Guo W-J, Zhang Z-L, Liu Q, *et al*. Research progress of root exudates collection technology. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, **30**(11): 3951-3962 (in Chinese)