

*Lidia Sas<sup>1</sup>, Stanisław Mercik<sup>2</sup>, Kazimierz Smolarz<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach*

*<sup>2</sup>Katedra Chemii Rolnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*

## **Procesy chemiczne zachodzące w rizosferze i metody ich badania**

### **1. Wstęp**

Roślina oraz środowisko glebowe najbliższe systemu korzeniowego, zwane rizo-sferą, w dużym stopniu wpływają na pobieranie składników pokarmowych i wody przez korzenie. Rizosfera stanowi około 1–2-milimetrową strefę gleby bezpośrednio przylegającą do korzenia. Jej skład chemiczny zależy zarówno od otaczającej masy gleby, efektów działania mikroorganizmów, jak i od procesów zachodzących w korzeniu i w częściach nadziemnych roślin. Stan wiedzy na temat funkcjonowania rizosfery i systemu korzeniowego rośliny jest niezadowalający. Przyczyną tego są duże trudności związane z prawidłowym oddzieleniem wszystkich korzeni od gleby oraz dokładnym wydzieleniem i poznaniem składu chemicznego rizosfery.

Celem pracy jest omówienie procesów chemicznych zachodzących w rizosferze i metod ich badania.

### **2. Procesy chemiczne zachodzące w rizosferze**

Do procesów chemicznych zachodzących w rizosferze można zaliczyć m.in.:

- przemieszczanie wody i składników pokarmowych do powierzchni korzenia [18],
- zmiany pH powodowane wpływem otaczającej gleby i działalnością korzeni [17, 18],
- procesy utleniania i redukcji, np. utlenianie  $Mn^{2+}$  do  $Mn^{4+}$  w rizosferze przez mikroorganizmy i grzyby mikoryzowe [19, 34] albo redukcja  $Fe^{3+}$  do  $Fe^{2+}$  [26] lub redukcja  $Mn^{4+}$  do  $Mn^{2+}$  [35],
- zmiany w rizosferze spowodowane wydzielaniem przez korzenie roślin kwasów organicznych, cukrów, fenoli, aminokwasów i in. [6, 13, 36] oraz tworzenie kompleksów tych związków z toksycznymi metalami, np. z glinem [14],
- aktywność biochemiczną rizosfery, np. aktywność kwaśnej fosfatazy [8],
- aktywność mikroorganizmów w rizosferze, np. grzybów mikoryzowych [8, 20].

Procesy te mogą zmieniać nie tylko skład chemiczny rizosfery, ale i całej gleby. Wymienione wyżej procesy chemiczne zachodzące w rizosferze mogą zwiększać

dostępność i pobieranie składników pokarmowych – makro- lub mikroelementów. Na przykład przy niedoborze Zn w glebie korzenie niektórych roślin wydzielają aminokwasy i kwasy organiczne, które zakwaszają ryzosferę i zwiększają przyswajalność i pobieranie tego pierwiastka [36]. Także przy niedoborze fosforu i cynku w glebie obserwowano zwiększone wydzielanie kwasu cytrynowego przez korzenie łubinu białego. Powodowało to zwiększenie dostępności nie tylko P, ale i niektórych mikroelementów (np. Zn, Mn, Cu) w ryzosferze [6, 11]. Korzenie roślin jednoliściennych z rodziny *Gramineae* lepiej pobierają Fe i Zn dzięki wydzielaniu związków zwanych fitosideroforami [18, 29, 38]. Fitosiderofory są aminokwasami wydzielanymi w strefach korzeni silnie rosnących [29, 30]. Ich rola polega na redukcji Fe, Mn, Zn i Cu, co w przypadku niedoboru tych pierwiastków w glebie zwiększa ich pobieranie przez rośliny [27, 38].

Ciekawym zjawiskiem jest formowanie tzw. korzeni szczotkowych, "proteoid roots" (rys. 1) przez rośliny rosnące na glebach wykazujących niedobór fosforu i innych składników mineralnych. Zdolność tworzenia tych korzeni mają głównie gatunki należące do rodziny *Proteaceae* (np. *Hakea undulata*, *Banksia* spp.) i przystosowane do wzrostu na stanowiskach naturalnych, w Australii i w Afryce Południo-



**Rysunek 1.** Morfologia korzeni szczotkowych "proteoid roots" (Sas L.)

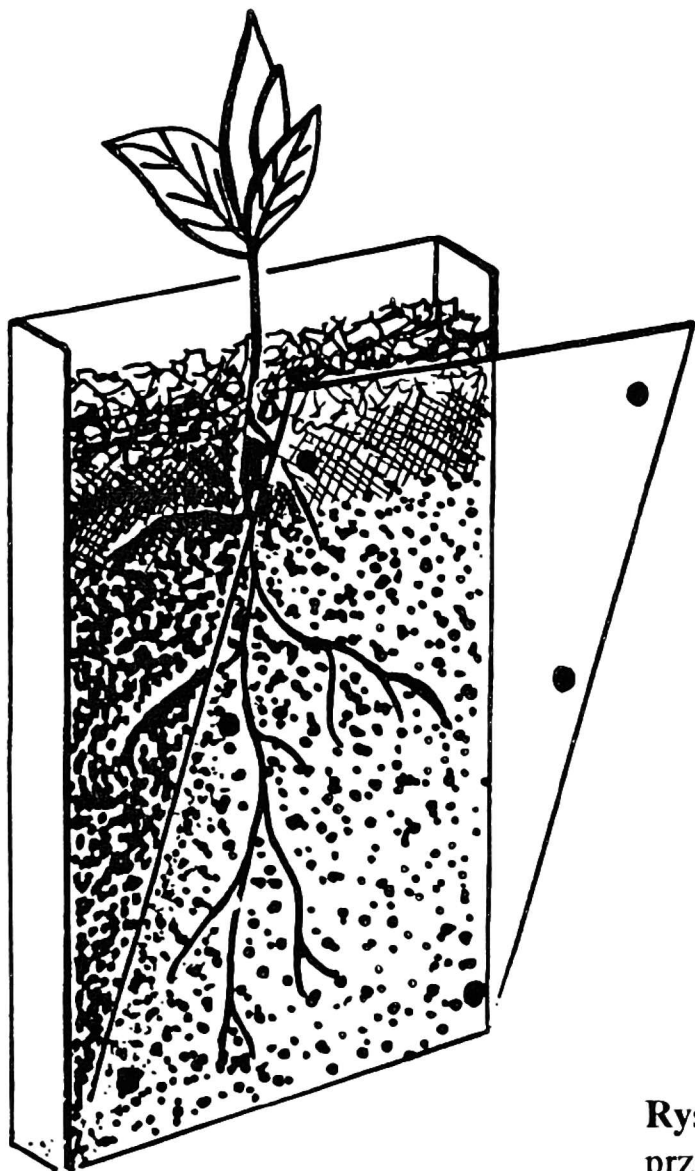


wej, a także rośliny łubinu białego [10]. System korzeniowy tych roślin tworzy liczne korzenie boczne, przypominające wyglądem gęste szczotki, co zwiększa ich powierzchnię zetknięcia z glebą. Korzenie tych roślin w warunkach niedoboru składników mineralnych, głównie P, mogą produkować i wydzielać więcej kwasów organicznych, związków fenolowych i innych. Związki te ułatwiają pobieranie składników mineralnych przez korzenie roślin [10].

### **3. Badania procesów chemicznych zachodzących w rizosferze**

Badania nad aktywnością układu gleba–rizosfera–korzeń–części nadziemne mogą mieć wartość poznawczą i stosowaną. Wartość poznawczą mają na przykład badania dotyczące wydzielania jonów lub związków chemicznych przez system korzeniowy do gleby, mechanizmy przemieszczania składników pokarmowych w tkankach lub w komórkach. Badania stosowane, dotyczące między innymi takich zagadnień, jak: odżywianie roślin, mikoryza, zasolenie, zakwaszenie gleby i in., prowadzone są przeważnie w warunkach naturalnych. Doświadczenia stosowane mogą być również prowadzone w warunkach sztucznych, zbliżonych do naturalnych – np. w skrzyniach korzeniowych napełnionych glebą pochodzącą ze środowiska naturalnego. Doświadczenia glebowe z użyciem skrzyń korzeniowych (rys. 2) umożliwiają badanie przebiegu procesów zachodzących w rizosferze oraz morfologii korzeni. Jedna ze ścian skrzyni składa się z 2 warstw: z warstwy przezroczystej (szkło lub pleksiglas) oraz z warstwy nieprzezroczystej, której odsłonięcie umożliwia obserwację korzeni w trakcie wzrostu [9]. Dla umożliwienia wzrostu korzeni w kierunku przezroczystych ścian, skrzynie z roślinami ustawione są tak, aby przezroczysta ściana była nachylona do powierzchni ziemi pod kątem ok. 50–60°. Doświadczenia tego typu mogą być zlokalizowane w fitotronie lub w szklarni. Warunkami zapewniającymi dobry wzrost np. roślin jednoliściennych są: fotoperiod – dzień/noc 16/8h, intensywność światła –  $70 \mu\text{M} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , temperatura – 25°C i wilgotność powietrza 65–70% [9]. Po zdjęciu ściany przezroczystej i odsłonięciu powierzchni korzeni można wykonywać pomiary morfologii systemu korzeniowego oraz niektórych procesów chemicznych zachodzących w rizosferze. Po zakończeniu doświadczenia i oddzieleniu podłoża od korzeni można zmierzyć takie parametry korzeni, jak: masę, długość i specyficzną długość (m/g suchej masy) [32], specyficzną powierzchnię ( $\text{m}^2/\text{kg}$  suchej masy), średnicę, stan aktywności fizjologicznej wyrażony jako procent młodych i starych oraz żywych i obumarłych korzeni [5]. Pomiary te można wykonać za pomocą linijki i wagi, a dokładniej za pomocą kosztownej aparatury, takiej jak "Area Measurement System" [37].

Badania nad wzrostem korzeni oraz aktywnością rizosfery mogą być również prowadzone za pomocą technik agarowych i bibułek testowych. Opisany sposób uprawy roślin umożliwia prowadzenie badań nad wzrostem korzeni i aktywnością rizosfery.



Rysunek 2. Wygląd skrzyni korzeniowej ze ścianą przezroczystą (Lipińska A.)

Po zdjęciu przezroczystej ściany skrzyni odsłonięte korzenie roślin pokrywane są filtrem agarowym lub bibułą testową, co pozwala analizować zmiany chemiczne zachodzące w rizoferze oraz wzrost korzeni w warunkach niedestrukcyjnych (nie niszczących korzeni). W rizoferze roślin można badać:

- zmiany pH wywołane przez jony lub cząsteczki wydzielane przez korzenie,
- oksydoredukcyjne przemiany glinu, manganu i żelaza wywołane wydzielaniem przez korzenie do rizoferu kwasów organicznych, aminokwasów, fenoli i innych związków,
- aktywność niektórych enzymów wydzielanych przez korzenie i ewentualny wpływ na pobieranie składników pokarmowych,
- aktywność grzybów mikoryzowych.

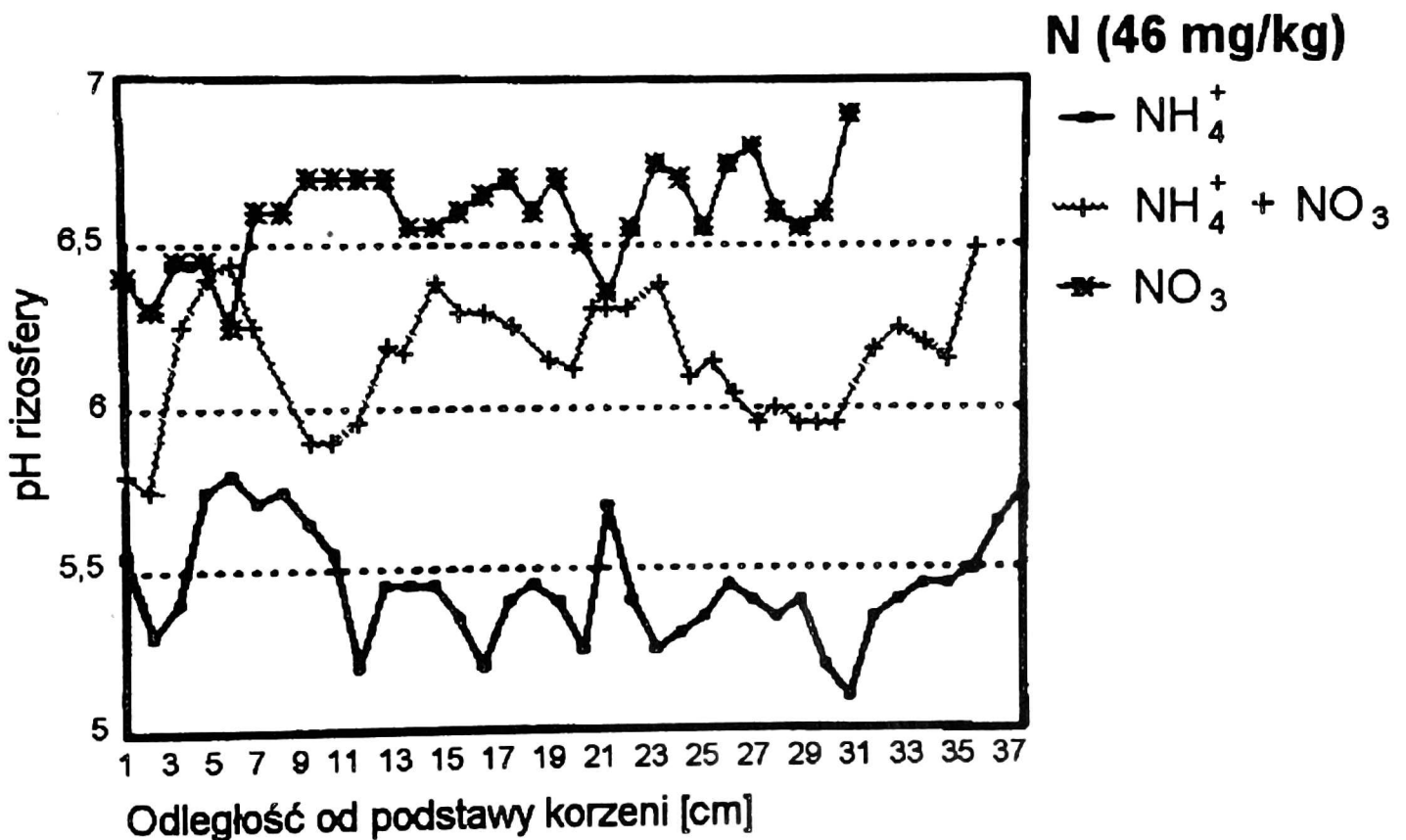
### 3.1. Zmiany pH rizoferu i metody ich oznaczania

Wartość pH rizoferu różni się znacznie od wartości pH otaczającej gleby. Indukowane przez korzenie roślin zmiany pH są powodowane głównie przez wydzielanie protonów, połączone między innymi z pobieraniem składników pokarmowych w postaci kationów (np.  $\text{NH}_4^+$ ) lub wydzielaniem anionów  $\text{HCO}_3^-$ , kwasów organicz-



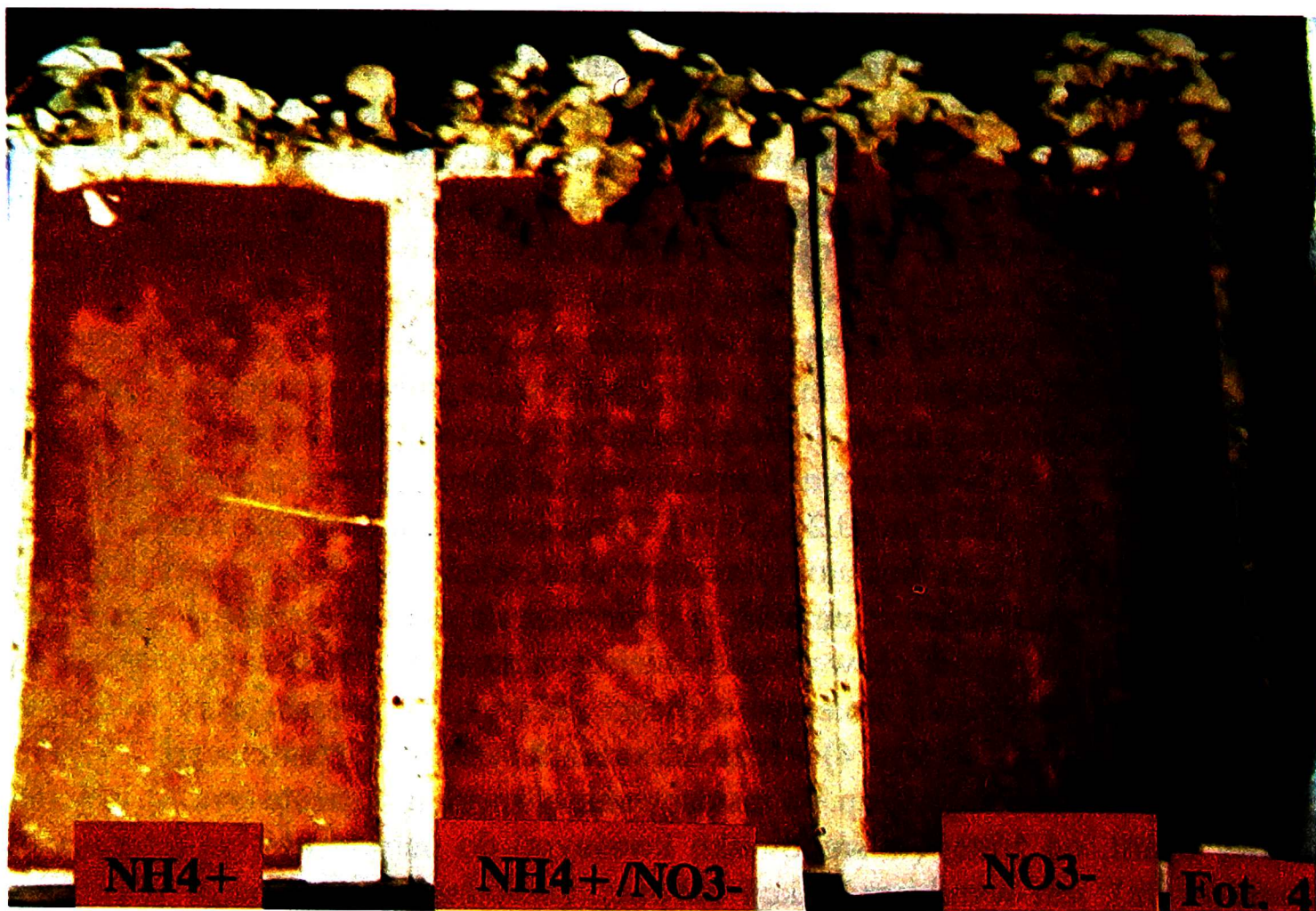
nych i innych [17]. Korzenie roślin w zakwaszonym środowisku wytwarzają większą ilość wspomnianych już kwasów organicznych niż w warunkach o odczynie obojętnym, powodując detoksykację jonów  $Al^{3+}$  [8, 9]. W efekcie takiej reakcji pH rizosfery może ulegać podwyższeniu. Najbardziej wyraźne różnice w wartościach pH rizosfery są obserwowane przy pobieraniu różnych form azotu ( $NO_3^-$  lub  $NH_4^+$ ) [17]. Najwyższe wartości pH stwierdzono w rizosferze wierzchołków i aktywnie rosnących korzeni, co wskazuje, że korzenie te wydzielają największą ilość anionów [7].

Szczegółowe pomiary zmian pH w rizosferze wykonuje się np. wzdłuż pojedynczych korzeni, w odstępach 1 cm, od wierzchołków do podstawy korzeni, z zastosowaniem mikroelektrody antymonowej i techniki agarowej [16]. W tym celu przerośniętą korzeniami glebę w skrzyni korzeniowej, od strony przezroczystej otwieranej ściany, pokrywa się cienkim (0,2–0,5 cm) filtrem agarowym, zawierającym 1% agaru i 1% wskaźnika pH (czerwień bromokrezolowa lub zieleń bromokrezolowa). Warstwa agaru pokrywająca korzenie umożliwia umieszczenie mikroelektrody w agarze, w strefie rizosfery, i pomiar pH w różnych miejscach rizosfery. W różnej odległości od korzeni można ilościowo zmierzyć wartości pH (rys. 3). Można także wizualnie obserwować zmiany pH (rys. 4) w różnych strefach systemu korzeniowego [17], jako zmiany wybarwienia agaru, np. po zastosowaniu różnych form azotu (rys. 4). Zmiana barwy agaru, od żółtej (w środowisku kwaśnym) do purpurowej (w środowisku zasadowym), jest wynikiem reakcji barwnej, zachodzącej w agarze w obecności wskaźników pH.



Rysunek 3. Zmiany w wartościach pH rizosfery roślin truskawki po 9 tygodniach nawożenia różnymi formami azotu (Sas L.).





Rysunek 4. Zmiany wybarwienia agaru w ryzosferze roślin truskawki po 9 tygodniach odżywiania różnymi formami azotu (Sas L.)

### 3.2. Aktywność glinu w ryzosferze i metody jego oznaczania

Największą toksyczność dla roślin wykazuje forma  $Al^{3+}$ . Forma ta pobrana przez rośliny najsilniej hamuje wzrost systemu korzeniowego. Na glebach mineralnych i kwaśnych (pH poniżej 5,5) jony  $Al^{3+}$  występują nie tylko w roztworze glebowym, ale i w znacznej ilości w formie wymiennej [33]. Glin w roztworze glebowym i w kompleksie sorpcyjnym jest, obok  $H^+$ , głównym źródłem całkowitej kwasowości wymiennej. Wymienne kationy to te, które mogą być wymienione przez kationy pochodzące z roztworów soli obojętnych (np. 1N KCl). Glin wymienny jest związany nie tylko przez koloidy mineralne, ale i organiczne. Jednakże glin związany w glebie w kompleksach organicznych, głównie przez kwasy organiczne (fulwowy i huminowy), jest mniej toksyczny dla roślin. Tworzy on bowiem z tymi kwasami słabo rozpuszczalne kompleksy organiczno-mineralne, tzw. chelaty. Tym można tłumaczyć podwyższoną tolerancję na Al roślin rosnących w zawierającym próchnicę stałym podłożu, w porównaniu z roślinami rosnącymi w kulturach płynnych [14]. Całkowita zawartość Al w glebie nie określa więc stopnia toksyczności tego pierwiastka dla roślin. Glin może być również wytrącany w formie chelatów przez kwasy organiczne wydzielane przez korzenie. Zdolność wiązania Al przez wydzieliny korzeniowe może



znajdować zastosowanie w selekcji genotypów i odmian roślin odpornych na silne zakwaszenie.

Ilościowy pomiar wiązania glinu przez wydzieliny korzeniowe polega na pokrywaniu gleby i aktywnie rosnących korzeni w skrzyni korzeniowej cienkim filtrem agarowym lub poliakryloamidowym, zawierającym  $\text{Al}^{3+}$  i aluminon (sól amonowa kwasu aurynotrójkarboksylowego). Początkowe pH agaru doprowadzane jest do 4,00. Monomeryczny  $\text{Al}^{3+}$  tworzy z aluminonem kompleks dający czerwone zabarwienie agaru. Jeżeli  $\text{Al}^{3+}$  będzie związany przez wydzieliny korzeniowe lub pobrany przez korzenie, wtedy widoczne to będzie w strefie aktywnie rosnących korzeni jako biało-przezroczyste odbarwienia agaru.

### 3.3. Aktywność manganu w ryzosferze i metody jej oznaczania

W warunkach zakwaszonego środowiska, przy niedoborze P i Fe, zwiększa się aktywność reduktaz i wydzielanie przez korzenie roślin związków redukujących [18]. Związki te redukują Mn i Fe i zwiększają ich pobieranie przez rośliny. Pierwiastki te pobierane są przez rośliny w formie zredukowanej  $\text{Mn}^{2+}$  i  $\text{Fe}^{2+}$ . Szczególnie w przypadku roślin dwuliściennych zaobserwowano zwiększoną redukcję tych pierwiastków i ich wzmożone pobieranie [18].

Metody badania aktywności manganu umożliwiają wykrywanie redukcji  $\text{Mn}^{4+}$  do  $\text{Mn}^{2+}$  przez wydzieliny korzeniowe (głównie przez kwasy organiczne) roślin rosnących w środowisku glebowym, w skrzyni korzeniowej, lub przez mikroorganizmy glebowe. W metodzie tej wykorzystywana jest bibuła filtracyjna lub chromatograficzna, nasączana  $\text{KMnO}_4$ . W kontakcie z bibułą mangan w nadmanganianie potasowym ( $\text{Mn}^{7+}$ ) redukowany jest do  $\text{Mn}^{4+}$ , co daje jasnobrazowe zabarwienie bibuły testowej. Tak przygotowaną bibułą testową pokrywana jest powierzchnia gleby od strony otwartej skrzyni korzeniowej na okres, w zależności od odmiany czy gatunku roślin, od 30 minut do kilku godzin. W tym czasie skrzynie korzeniowe są szczelnie zamykane w celu zapewnienia dobrego kontaktu korzeni z bibułą testową. Redukcja  $\text{Mn}^{4+}$  do  $\text{Mn}^{2+}$  przez wydzieliny korzeniowe uwidacznia się na bibule testowej w ryzosferze jako strefa białych punktów lub plam wzdłuż korzeni. Odbarwienie w strefie korzeni wskazuje na wydzielanie do ryzosfery kwasów, głównie jabłkowego, a także fumarowego. Jeśli odbarwienie na bibule pojawia się w miejscu jej kontaktu z glebą, ale w pewnej odległości od korzeni, to oznacza, że  $\text{Mn}^{4+}$  został zredukowany przez mikroorganizmy glebowe.

### 3.4. Aktywność żelaza w ryzosferze i metody jego oznaczania

Niedobór żelaza w glebie może być przyczyną różnych zmian morfologicznych i procesów fizjologicznych w korzeniach, takich jak akumulacja substancji redukujących w ryzodermie lub zwiększone wydzielanie  $\text{H}^+$  przez korzenie. Procesy te sprzyjają pobieraniu żelaza w warunkach jego niedoboru w glebie [2, 25]. Redukcja  $\text{Fe}^{3+}$



do  $\text{Fe}^{2+}$  jest warunkiem pobierania żelaza przez rośliny [4]. W celu wyjaśnienia zjawisk dotyczących regulacji pobierania żelaza przez rośliny wyższe prowadzono badania dotyczące redukujących właściwości korzeni przy niedoborze żelaza [15, 22, 25]. Istnieją dwie przeciwstawne hipotezy na temat mechanizmu redukcji  $\text{Fe}^{3+}$ . Niektórzy autorzy [2, 23] uważają, że dostępność żelaza w glebie zwiększają związki redukujące wydzielane przez korzenie. Związki te redukują  $\text{Fe}^{3+}$  do  $\text{Fe}^{2+}$  w glebie lub w pożywkach otaczających korzenie. Jony  $\text{Fe}^{2+}$  są następnie pobierane przez komórki korzeni. Alternatywną hipotezę zaproponowali Chaney i in. [4] oraz Bienfait i in. [1]. Zakłada ona, że redukcja  $\text{Fe}^{3+}$  do  $\text{Fe}^{2+}$  zachodzi dopiero na powierzchni plazmolemy komórek korzenia dzięki aktywności reduktazy wydzielanej przez tą błonę.

W celu przeprowadzenia testu na redukcję żelaza przez wydzieliny korzeniowe roślin przerośniętą korzeniami powierzchnię gleby od strony otwartej skrzyni korzeniowej pokrywa się agarą, zawierającym  $\text{Fe}^{3+}$  w EDTA i BPDS (związek chelatujący  $\text{Fe}^{2+}$ ), na okres od 30 minut do wielu godzin (np. 24 godz. u ogórka). BPDS w kontakcie z  $\text{Fe}^{2+}$  tworzy czerwony kompleks w agarze. Redukcja  $\text{Fe}^{3+}$  do  $\text{Fe}^{2+}$  przez związki redukujące wydzielane przez korzenie widoczna jest jako czerwone wybarwienie agaru w określonych strefach korzeni.

### 3.5. Aktywność kwaśnej fosfatazy w rizoferze i metody jej oznaczania

Enzymy – fosfatazy – obecne w rizoferze w glebach kwaśnych, zasobnych w organiczne związki fosforowe, odgrywają ważną rolę w przyswajaniu fosforu przez rośliny [12]. W wyniku działania tych enzymów organiczne związki fosforowe hydrolizowane są do przyswajalnych przez rośliny nieorganicznych form P –  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  [31]. Fosfatazy w rizoferze mogą być pochodzenia korzeniowego [24, 28], grzybowego, tj. ektomikoryzowego, lub bakteryjnego [31]. Korzenie i grzyby produkują kwaśne fosfatazy, a bakterie – alkaliczne fosfatazy [31]. Na powierzchni korzeni wielu gatunków roślin rosnących w warunkach zakwaszonego środowiska i przy niedoborze nieorganicznych form fosforu obserwowano podwyższoną aktywność kwaśnej fosfatazy [3, 21].

Zastosowanie jakościowej metody oznaczania aktywności kwaśnej fosfatazy pozwala na dokładne, wizualne zlokalizowanie aktywności tego enzymu w różnych strefach korzeni i rizoferu. W tym celu przerośniętą korzeniami powierzchnię gleby w skrzyni korzeniowej pokrywa się bibułą filtracyjną nasączoną fosforanem naftyli (jako źródło organicznego fosforu) i specyficznym wskaźnikiem. Wskaźnik ten w obecności enzymu tworzy z fosforem mineralnym czerwony kompleks. Aktywność kwaśnej fosfatazy widoczna jest więc jako czerwony zarys korzeni na bibule filtracyjnej na stronie przylegającej do powierzchni korzeni.



## 4. Podsumowanie

Opisane wyżej testy mają zastosowanie przy ustalaniu procesów zachodzących w ryzosferze. Mogą one być wykonywane w trakcie trwania doświadczenia w różnych odstępach czasu. Są wykorzystywane w badaniach nad aktywnością wydzielin i enzymów korzeniowych wpływających na procesy zachodzące w ryzosferze i mające bardzo duży wpływ na przyswajalność poszczególnych składników pokarmowych.

## Literatura

- [1] Bienfait H.F., Duivenvoorden J., Verkerke W. 1982. Ferric reduction by roots of chlorotic bean plants: indications for an enzymatic process. *J. Plant Nutr* 5: 451–456.
- [2] Brown J.C., Ambler J.E. 1973. "Reductants" released by roots of Fe-deficient soybeans. *Agron. J.* 65: 311–314.
- [3] Caradus J.R., Snaydon R.W. 1987. Aspects of the phosphorus nutrition of white clover populations. II Root exocellular acid phosphatase activity. *J. Plant Nutr.* 10: 287–301.
- [4] Chaney R.L., Brown J.C., Tiffin J.C. 1972. Obligatory reduction of ferric chelates in iron uptake by soybeans. *Plant Physiol* 50: 208–213.
- [5] Clemensson-Lindell A., Persson H. 1993. Long-term effects of liming on the fine-root standing crop of *Picea abies* and *Pinus sylvestris* in relation to chemical changes in the soil. *Scand. J. For. Res.* 8: 384–394.
- [6] Dinkelaker B., Romheld V., Marschner H. 1989. Citric acid secretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant Cell Environ.* 12: 285–292.
- [7] Dinkelaker B. 1990. PhD thesis. Genotypische Unterschiede in der Phosphateffizienz von Kichererbse (*Cicer arietinum* L.). University of Hohenheim Stuttgart, Niemcy.
- [8] Dinkelaker B., Marschner H. 1992. In vivo demonstration of acid phosphatase activity in the rhizosphere of soil-grown plants. *Plant and Soil* 144: 199–205.
- [9] Dinkelaker B., Hahn G., Romheld V. 1993. Non-destructive methods for demonstrating chemical changes in the rhizosphere. II. Application of methods. *Plant and Soil* 155/156: 71–74.
- [10] Dinkelaker B., Hengeler Ch., Marschner H. 1995. Distribution and function of "proteoid roots" and other root clusters. *Bot. Acta* 108: 183–200.
- [11] Gardner W.K., Parbery D.G., Barber D.A. 1982. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L.I. Some characteristics of the soil/root interface. *Plant and Soil* 68: 19–32.
- [12] Haussling M., Marschner H. 1989. Organic and inorganic soil phosphates and acid phosphatase activity in the rhizosphere of 80-year-old Norway spruce (*Picea abies* L.) trees. *Biol. Fertil. Soils* 8: 128–133.
- [13] Hoffland E., Findenegg G.R., Nelemans J.A. 1989. Solubilization of rock phosphate by rape. II. Local root exudation of organic acids as a response to P-starvation. *Plant and Soil* 113: 161–165.
- [14] Horst W.J., Klotz F., Szulkiewicz P. 1990. Mechanical impedance increases aluminium tolerance of soybean (*Glycine max* L.). *Plant and Soil* 124: 227–231.
- [15] Marschner H., Kalisch A., Romheld V. 1974. Mechanism of iron uptake in different plant species. Proc. 7th International Colloquium on Plant Analysis and Fertilizer Problems. German Society of Plant Nutrition, Hannover, Niemcy: 273–281.
- [16] Marschner H., Romheld V., Ossenbeger-Neuhaus H. 1982. Rapid method for measuring changes in pH and reducing processes along roots of intact plants. *Z. Pflanzenphysiol.* 105: 407–416.
- [17] Marschner H., Romheld V. 1983. In vivo measurement of root-induced changes at the soil-root interface: Effect of plant species and nitrogen source. *Z. Pflanzenphysiol.* 111: 241–251.



- [18] Marschner H., Romheld V., Horst W.J. 1986. Root-induced changes in the rhizosphere: Importance for the mineral nutrition of plants. *Z. Pflanzenernhr. Bodenkd.* **149**: 441–456.
- [19] Marschner H., 1988. Mechanism of manganese acquisition by roots from soils. W: Manganese in Soils and Plants. Kluwer Academic Publ. Dordrecht, The Netherlands: 191–204.
- [20] Marschner H., 1991. Mechanism of adaption of plants to acid soils. W: "Plant-soil interactions at low pH". Kluwer Academic Publ.: 683–702.
- [21] McLachlan K.D. 1980. Acid phosphatase activity of intact roots and phosphorus nutrition in plants. I. Assay conditions and phosphatase activity. *Aust. J. Agric. Res.* **31**: 429–440.
- [22] Olsen R.A., Brown J.C. 1980. Factors related to iron uptake by dicotyledonous and monocotyledonous plants. I. pH and reductant. *J. Plant Nutr.* **2**: 629–645.
- [23] Olsen R.A., Bennett J.H., Blume D., Brown J.C. 1981. Chemical aspects of the Fe stress response mechanism in tomatoes. *J. Plant Nutr.* **3**: 905–921.
- [24] Ridge E.H., Rovira A.D. 1971. Phosphatase activity of intact young wheat roots under sterile and non-sterile conditions. *New Phytol.* **70**: 1017–1026.
- [25] Romheld V., Marschner H. 1981. Iron deficiency stress induced morphological and physiological changes in root tips of sunflower. *Physiol. Plant* **53**: 354–360.
- [26] Romheld V., Marschner H. 1986. Mobilization of iron in the rhizosphere of different plant species. In *Advances in Plant Nutrition*. Eds.: Praeger Publishers, New York. **2**: 155–204.
- [27] Romheld V., 1991. The role of phytosiderophores in acquisition of iron and other micronutrients in graminaceous species: An ecological approach. *Plant and Soil*. **130**: 127–134.
- [28] Shaykh M.M., Roberts L.W. 1974. A histochemical study of phosphatases in root apical meristems. *Ann. Bot.* **38**: 65–174.
- [29] Takagi S. 1976. Naturally occurring iron-chelating compounds in oat and rice-root washings. I. Activity measurements and preliminary characterization. *Soil Sci. Plant Nutr.* Tokyo **22**: 423–433.
- [30] Takagi S., Nomoto K., Takemoto T. 1984. Physiological aspect of mugineic acid, a possible phytosiderophore of graminaceous plants. *J. Plant Nutr.* **7**: 469–477.
- [31] Tarafdar J.C., Claassen N. 1988. Organic phosphorus compounds as a phosphorus source for higher plants through the activity of phosphatases produced by plant roots and microorganisms. *Biol. Fertil. Soils* **5**: 308–312.
- [32] Tennant D. 1975. A test of modified line intersect method of estimating root length. *J. Ecol.* **63**: 995–1001.
- [33] Thomas G.W., Hargrove W.L. 1984. The chemistry of soil acidity. Soil acidity and liming. *Agronomy* **12**: 3–56.
- [34] Trolldenier G. 1988. Vizualization of oxidizing power of rice roots and of possible participation of bacteria in iron deposition. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenkd.* **151**: 117–121.
- [35] Uren N. C. 1981. Chemical reduction of an insoluble higher oxide of manganese by plant roots. *J. Plant Nutr.* **4**: 65–71.
- [36] Uren N.C., Reisenauer H.M. 1988. The role of root exudates in nutrient acquisition: *Advances in Plant Nutrition*, Praeger Publ. New York. **3**: 79–114.
- [37] Van Noordwijk M. 1987. Methods for quantification of root distribution pattern and root dynamics in the field. In *Methodology in Soil-K Research*. Proc. 20th IPI Colloq. Intern. Potash Inst. Bern. 263–281.
- [38] Zhang F.S., Treeby M., Romheld V., Marschner H. 1991. Mobilization of iron by phytosiderophores as affected by other micronutrients. *Plant and Soil* **130**: 173–178.



## **Chemical processes in the rhizosphere and methods of their investigation**

---

### **Summary**

Till now the chemical changes in the rhizosphere have not been well known due to difficulties in precise separation of all roots and rhizosphere from bulk soil.

In this review paper, the authors describe major chemical changes in the rhizosphere and propose methods of their investigation. These processes may be studied in plants, grown in soil, in sloped (at 45°) rhizoboxes with removable plexiglass lids. On the side of the transparent lid the roots and soil is covered with agar sheet or filter-paper containing specific reagents and indicators. From colour reactions in contact with root released substances it is possible to assess the following rhizosphere processes:

- pH changes (using a prefixed thin agar sheet – 1% agar containing bromocresol purple or bromocresol green – 1% as pH indicator).
- Activity of Al (using complexation of Al by the decolouration of polyacrylamide gel or agar containing Al and aluminon).
- $Mn^{4+}$  to  $Mn^{2+}$  reduction (indicated by the decolouration of filter paper impregnated with Mn oxide).
- $Fe^{3+}$  to  $Fe^{2+}$  reduction (indicated by the formation of a red coloured complex between  $Fe^{2+}$  EDTA and BPDS in an agar medium).
- The activity of acid phosphatase (indicated by the formation of a red complex on filter paper containing 1-naphtyl phosphate as substrate and Fast Red TR as specific indicator).