

铝对小麦的毒性及小麦抗铝机理

朱雪竹,董斌,桑伟莲,孔繁翔*,王连生(南京大学环境学院污染控制与资源化研究国家重点实验室,南京 210093, E-mail:kongfx@jlonline.com)

摘要:为探讨铝对植物的毒作用以及植物抗铝机理,研究了酸性条件下($pH 4.4$)铝胁迫对小麦的铝抗性品系 TAM202 和铝敏感品系 TAM105 的根和叶细胞内的一些生理生化指标的影响以及小麦对不同形态铝的吸收。结果表明,小麦主要吸收单核铝,抗性品系小麦 TAM202 吸收铝较少;在低浓度铝作用下 TAM202 培养后其营养液 pH 值显著升高;在不同浓度铝作用下,铝敏感品系 TAM105 叶片中的脯氨酸含量显著升高,表明铝对 TAM202 的叶片影响小于对 TAM105 的影响。2 个品系小麦根细胞壁的组分含量在铝胁迫下发生变化。在 $75 \mu mol \cdot L^{-1}$ 铝作用下, TAM202 中细胞壁的蛋白及己糖和糖醛酸的含量均升高,表明铝可能促进细胞壁成分的合成,对植物抗铝发挥一定的作用。

关键词:小麦;铝毒性;耐性

中图分类号:X173 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2001)04-04-0033

Aluminum Toxicity and Tolerance in Wheat

Zhu Xuezhu, Dong Bin, Sang Weilian, Kong Fanxiang, Wang Liansheng(State Key Lab. of Pollution Control and Resources Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China E-mail:kongfx@jlonline.com)

Abstract: The physiological and biochemical effects of different species of aluminum on the wheat Al-tolerant TAM202 and Al-sensitive TAM105 were investigated. The results showed that mononuclear Al could be absorbed by both of the two strains. Compared with TAM105, however, TAM202 absorbed less aluminum. The pH of the nutrient solution rose with the hydroponics of the two cultivars. The content of proline in leaves of TAM105 increased obviously. The contents of protein, hexose and uronic acid in cell wall of TAM202 were higher than that in TAM105 under $75 \mu mol \cdot L^{-1}$ Al. The results indicated that Al can activated the synthesis of some components relative to Al-tolerance in cell wall.

Key words: wheat; aluminum toxicity; tolerance

酸雨导致土壤酸化,引起土壤中对植物有毒金属离子的溶出。有研究表明当土壤 pH 低于一定阈值时,土壤中的离子浓度呈爆发式增加^[1]。当环境 pH 值小于 6.0 时,铝将从结合态释放出来,以游离的形式存在,在一定浓度下即可在器官、组织和分子水平上影响植物的生命过程^[2],成为抑制植物生长的最重要因素之一。研究植物对铝胁迫的生理生化反应以及植物的抗铝机制,筛选出抗性强的植物,对森林和农业生态系统的保护以及受损环境的生物修复都具有重要意义。

本文研究了在铝胁迫下,小麦(*T. aestivum*)

铝抗性品系 TAM202 和铝敏感品系 TAM105 对铝的吸收,小麦根细胞壁与环境胁迫相关的物质的变化,以揭示酸性条件下铝对不同耐受性小麦的毒性差异,阐明铝对植物的早期毒害作用及植物对铝的抗性机制。

1 材料与方法

1.1 小麦培养及暴露实验

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39470150)

作者简介:朱雪竹(1969~),女,硕士研究生,主要研究方向为生态毒理学。

收稿日期:2000-10-11

* 通讯联系人

实验所用冬小麦 *Triticum aestivum* L. 的 TAM202 和 TAM105 种子由美国 Midwestern State 大学的 Magaly 教授提供. 用 0.1 % 的 HgCl_2 对种子进行表面灭菌 15 min, 黑暗条件下催芽 2 d 后, 在基本营养液中^[3]培养 2 d 后, 将幼苗移入含有不同浓度的 Al^{3+} , pH 值为 4.4 的营养液中进行暴露实验. Al^{3+} 的理论浓度设置为 0, 50, 75, 100 和 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 每一浓度设置 3 个平行. 培养温度 25°C , 光照度 4000 ~ 4500 lx, 光暗比为 14:10.

1.2 铝浓度及形态测定

暴露培养 5 d 后, 收获小麦的根和叶, 立即用液氮进行速冻, 真空冷冻干燥后, 在 -30°C 以下保存备用^[4].

用 Ferron 方法测定小麦培养前后培养液中单核铝 (Al_a) 和多核铝 (Al_b) 浓度变化^[5], 并用原子吸收分光光度计法测定小麦叶和根内总铝含量.

1.3 生物指标的测定

叶片中脯氨酸含量的测定按张殿忠(1990)方法^[6]进行. 按 Smith et al(1998)方法^[7]分离小麦根细胞的细胞壁后, 分别测定细胞壁蛋白质、己糖、糖醛酸的含量^[8].

1.4 数据处理

数据用 STATGRAFIC 统计软件包处理. 数据的显著性差异用 ANOVA 的多重比较 (LSD) 计算检验. 每一指标测定设置 4 个平行.

2 结果与讨论

2.1 铝形态及小麦对铝的吸收

在 pH 为 4.4 的培养液中铝主要以单核铝 (Al_a) 形态存在, 大约占总铝含量的 85 %, 而多核铝 (Al_b) 只占大约 15 % (图 1), 这与已有的报道一致^[2]. 将 2 个品系小麦在含不同浓度铝的营养液中进行液体培养后, 营养液中的 Al_a 和 Al_b 的含量均发生了变化. 与没有培养小麦的营养液中铝含量相比, 小麦培养后的营养液中 Al_a 明显下降, 总铝含量也有所降低. 但是 Al_b 的含量反而略有升高. 这表明这 2 个品系的小麦均主要吸收单核铝.

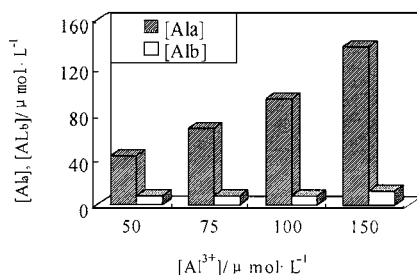
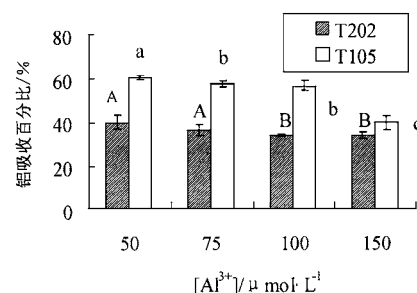


图 1 小麦培养前营养液中铝形态分布

Fig.1 Content of mononuclear Al (Al_a) and polynuclear Al (Al_b) in the nutrient solution

before the hydroponics of wheat *T. aestivum* L.

与 TAM105 相比, 在相同的铝浓度条件下, TAM202 吸收铝较少, 且差异显著 (图 2). 说明其具有较强的排斥铝进入根细胞的能力. 小麦根细胞膜的选择通过性^[9], 根区 pH 屏障的形成^[10], 根细胞螯合物的分泌^[11]以及细胞壁的结合保护作用^[12]均是 TAM202 排斥铝的可能机制.



T202: 抗性品系; T105: 敏感品系,

图中字母表示差异显著程度, 下同 (图 3 ~ 图 8)

图 2 小麦对营养液中铝的吸收比率

Fig.2 Absorption ratio of aluminum from the nutrient solution by wheat *T. aestivum* L.

2.2 营养液 pH 的变化

培养小麦前, 培养液 pH 为 4.4 ± 0.1 . 从图 3 可见, 经小麦培养后营养液的 pH 值发生了变化. 抗铝品系 TAM202 在较低浓度的铝胁迫下 pH 值明显升高, 而 TAM105, 直到铝浓度达到 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 pH 值才有所升高. 随着铝浓度的升高, TAM202 的营养液 pH 值的增加幅度逐渐减小. Taylor 和 Foy 早期的研究发现 *T. aestivum* 的抗铝品系的抗铝能力与其抵抗培养液的酸性相关^[10]. pH 在 4.0 ~ 5.0 内, 铝的

溶解性随 pH 值的升高迅速降低,而在较高的 pH 条件下,铝可能被聚合或水解而形成毒性较小的可溶离子形态.因此对于那些能够在根区维持较高 pH 值的植物,可在根的表面形成一个 pH 屏障,有效降低铝的毒性.本实验结果中,TAM202 的营养液在铝胁迫下有较高的 pH 值,同样支持植物诱导 pH 升高的假说.其它许多研究亦证明了植物在生长基质中维持较高 pH 值的能力与铝抗性之间有一定的相关关系.

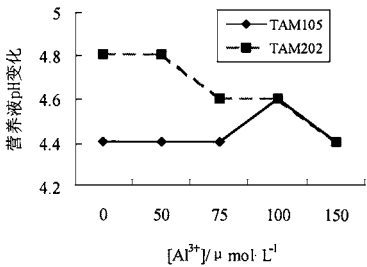


图 3 小麦培养后营养液 pH 值的变化

Fig.3 The changes of pH of nutrient solution after the hydroponics of wheat *T. aestivum* L

尽管植物诱导 pH 和铝抗性之间的关系已被许多研究所支持,也有研究否定了这一假说^[10].但本实验结果进一步建立了 pH 屏障与铝胁迫下植物性状的关系,这或许说明植物诱导 pH 的升高至少是决定植物铝抗性的主要因素之一.

用原子吸收法测定 2 个品系小麦在 75μmol·L⁻¹ Al³⁺ 的胁迫下根和叶中铝含量,结果如图 4.测定表明小麦 TAM202 和 TAM105 根中的铝含量分别为 0.61 mg/g 和 1.97 mg/g,而叶片中则不含铝.说明在本试验的铝胁迫期间,尽管已经对叶片的生理生化过程产生影响,但小麦叶片中尚未积累铝.TAM105 中的铝含量比 TAM202 中更高,则进一步证明 TAM202 具有排斥铝进入植物细胞内的作用,即该品系对铝的毒害具有一定的外部抗性作用.

2.3 铝对小麦叶片中游离脯氨酸含量的影响

从图 5 可知,在不同浓度的铝暴露下,TAM202 的叶片中游离的脯氨酸含量没有显著差异.而在铝胁迫下,TAM105 的叶片中脯氨酸含量明显增加.已有的研究表明,在环境胁迫下

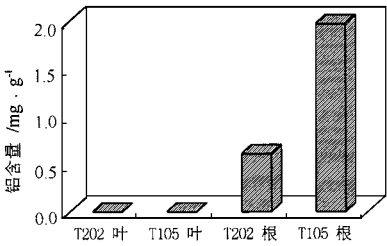


图 4 暴露实验后小麦叶片和根内铝含量测定

Fig.4 The content of Al in leaves and roots

after the hydroponics of wheat *T. aestivum* L

多种植物能在体内积累大量的脯氨酸,并且证明了脯氨酸的积累与活性氧的产生有关,起着植物内源活性氧清除剂的作用^[13].在不同浓度铝胁迫下,TAM202 叶片中的脯氨酸含量没有变化,而 TAM105 叶片中的游离脯氨酸含量明显增加,这说明营养液中铝离子的存在诱导了 TAM105 叶片中活性氧的产生,从而使其体内脯氨酸积累.这一实验结果同时也说明了抗性品系小麦的根部有一定的防御机制,能使其叶片细胞所受的损伤达到最小.

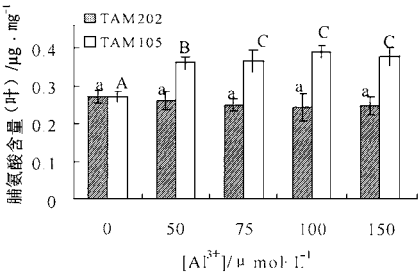


图 5 不同浓度铝对小麦叶片中游离脯氨酸含量的影响

Fig.5 Effects of Al on the content of free proline in leaves of wheat *T. aestivum* L

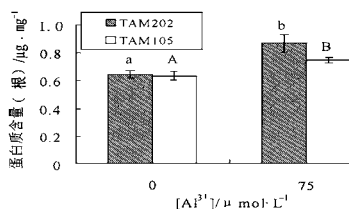
2.4 铝对小麦根细胞壁成分的影响

(1) 铝对细胞壁蛋白质含量的影响

TAM202 和 TAM015 小麦细胞壁的蛋白质含量如图 6 所示.在没有铝胁迫条件下,2 个品系小麦的细胞壁蛋白含量无差异,而在 75μmol·L⁻¹ 铝的作用下,TAM202 的蛋白含量显著高于 TAM105 的蛋白含量.

(2) 铝对细胞壁糖含量的影响

铝胁迫下 2 个品系小麦细胞壁内己糖和糖醛酸的含量见



(TAM202: 抗性品系; TAM105: 敏感品系, 图中字母表示差异显著程度)

图 6 不同浓度铝对小麦根细胞壁中蛋白质含量的影响

Fig. 6 Effects of Al on the content of protein in cell wall of roots of wheat *T. aestivum* L

图 7 和图 8. 从图 7 可见, 铝胁迫下小麦细胞壁的己糖和糖醛酸的变化规律相同. 在铝胁迫下 2 个品系小麦细胞壁的己糖和糖醛酸含量均升高. 与 TAM105 相比 TAM202 细胞壁中己糖和糖醛酸含量升高更为显著.

细胞壁是环境因子对植物细胞产生影响的第一个作用点, 它直接与环境接触, 保护细胞内部的细胞结构, 因此, 在铝胁迫下植物细胞壁的化学成分和机械特性均会发生改变. 植物细胞壁具有很强的积累阳离子的能力, 有研究认为铝主要与细胞壁的成分相结合, 影响植物正常的代谢活动^[14]. 铝可以与细胞壁多糖、蛋白质等成分相结合, 降低细胞壁弹性及导水性, 进而影响植物的生长.

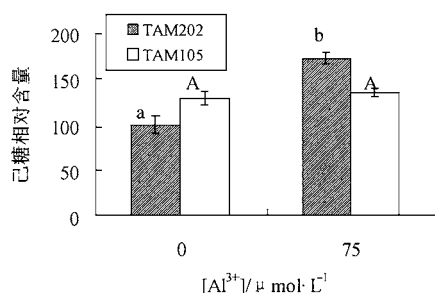


图 7 不同浓度铝对小麦根细胞壁中己糖含量的影响

Fig. 7 Effects of Al on the content of hexose in cell wall of roots of wheat *T. aestivum* L

本文研究表明在铝作用下小麦细胞壁的蛋白质含量及己糖和糖醛酸含量在 TAM202 中的升高十分显著. 这可能是由于细胞壁各组分中的一些基团可以与环境中铝结合而阻止铝进入细胞内, 降低铝的毒性及铝进入细胞内部的数量, 这些生物化学成分的变化, 与 pH 屏障形成

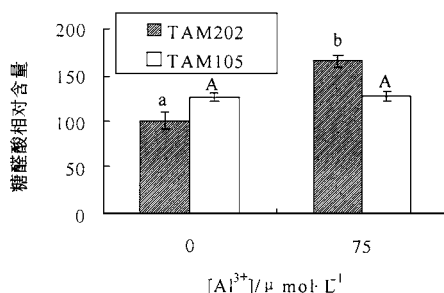


图 8 不同浓度铝对小麦根细胞壁中糖醛酸含量的影响

Fig. 8 Effects of Al on the content of uronic acid in cell wall of roots of wheat *T. aestivum* L

以及根部对铝的排斥作用等共同构成了植物对铝的抗性特征, 有效地保护着植物细胞内部正常生理生化过程.

参考文献:

- 1 周国逸, 小仓纪雄. 酸雨对重庆几种土壤中元素释放的影响. 生态学报, 1996, 16(3): 251 ~ 257.
- 2 刘文新, 梁兆坤, 汤鸿霄. 水体中铝(III)的化学形态及其生态效应的研究进展. 生态学报, 1996, 16(2): 212 ~ 220.
- 3 Samuels TD, Kucukakyuz K et al. Al partitioning patterns and root growth as related to sensitivity and Al tolerance in wheat. Plant Physiol., 1997, 113: 527 ~ 534.
- 4 Kong F X, Liu Y, Hu W, Wang L S. Biochemical responses of mycorrhizae in *Pinus massoniana* to combined effects of Al, Ca and low pH. Chemosphere, 2000, 40(3): 311 ~ 318.
- 5 卢建杭, 刘维屏. Al-Ferron 络合比色动力学特征与聚合铝溶液形态. 环境化学, 1998, 17(6): 576 ~ 581.
- 6 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法. 植物生理学通讯, 1990, 4: 62 ~ 65.
- 7 Smith BG, Harris PJ, Melton LD, Newman RH. Crystalline cellulose in hydrated primary cell walls of three monocotyledons and one dicotyledon. Plant Cell Physiol., 1998, 39(7): 711 ~ 720.
- 8 Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 1956, 28: 350 ~ 356.
- 9 Miyasaks SC, Kochian LV et al. Mechanisms of aluminum tolerance in wheat. An investigation of genotypic differences in rhizosphere pH, K⁺ and H⁺ transport and root cell membrane potentials. Plant Physiol., 1989, 91: 1188 ~ 1196.
- 10 Taylor GJ, Foy CD. Mechanisms of aluminum tolerance in *Triticum aestivum* L. (wheat). I. Differential pH induced by winter cultivars in nutrient solutions. Am J Bot., 1985, 72: 695 ~ 701.
- 11 Ryan PR, Delhaize E, Randal PJ. Malate efflux from root apices and tolerance to aluminum are highly correlated in wheat. Aust J Plant Physiol., 1995, 22: 531 ~ 536.
- 12 Le Van H, Kuraishi S, Sakurai N. Aluminum-induced rapid root inhibition and changes in cell wall components of squash seedlings. Plant Physiol., 1994, 106: 971 ~ 976.
- 13 蒋明义, 郭绍川, 张学明. 氧化胁迫下稻苗体内积累的脯氨酸的抗氧化作用. 植物生理学报, 1997, 23(4): 347 ~ 352.
- 14 Zhang GC, Slaski JJ, Alchambault DJ, Taylor GJ. Alternation of plasma membrane lipids in aluminum resistant and aluminum sensitive wheat genotypes in response to aluminum stress. Physiol. Plant., 1997, 99(2): 302 ~ 308.