

活性铝对小麦葡萄糖含量及相关酶活性影响的研究

朱雪竹¹, 宗良纲¹, 孔繁翔²

(1. 南京农业大学资环学院, 江苏 南京 210095; 2. 南京大学环境学院, 江苏 南京 210093)

摘要:采用室内培养方法,研究了活性铝对小麦体内葡萄糖含量及葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性的影响。结果表明,本实验条件下,随活性铝浓度的升高小麦根中葡萄糖含量显著下降;叶中葡萄糖含量随活性铝浓度的升高显著地上升;茎中葡萄糖含量呈现两种相反的变化趋势:活性铝浓度较高时,茎中葡萄糖含量上升;活性铝浓度较低时,茎中葡萄糖含量降低。实验中葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性在两个条件下 ($67.72\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}[\text{Al}_a]$, $5.41\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}[\text{Al}_b]$ 或 $1.37\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}[\text{Al}_a]$, $0.56\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}[\text{Al}_b]$) 升高。证明微量活性铝对小麦碳代谢产生了影响。

关键词: 活性铝; 小麦; 葡萄糖; 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶

中图分类号: S131.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2004)03-0452-03

Effects of Activated Aluminum on the Glucose Content and Enzyme Activities of Wheat

ZHU Xue-zhu¹, ZONG Liang-gang¹, KONG Fan-xiang²

(1. College of Resources and Environment Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Environmental College, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: The study was conducted to examine the relationship between activated aluminum and its phytotoxicity. The toxicity of Al_a (mononuclear Al) and Al_b (polynuclear Al) on the Glucose contents and the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase of wheat were investigated. The results showed that the Glucose contents in roots decreased with increased concentrations of Al_a and Al_b , while they increased in leaves when exposed to Al_a and Al_b in our tests. The Glucose contents in leaves significantly related with the total concentration of Al_a and Al_b . High concentration of Al_a made accumulation of Glucose in stems. The activity of G6PD dramatically increased under $67.72\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}[\text{Al}_a]$ and $5.41\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}[\text{Al}_b]$ or $1.37\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}[\text{Al}_a]$ and $0.56\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}[\text{Al}_b]$, which implied that Al had some effects on the metabolism of carbon in wheat.

Keywords: wheat; activated aluminum; G6PD; glucose

酸雨导致土壤酸化,使土壤中含有量最多的金属元素铝成为抑制植物生长的重要因素之一。研究报道,铝污染已造成世界上 40% 的可耕地粮食减产。铝对农作物的影响已成为农业生产的首要问题之一^[1]。目前铝毒研究主要集中在强酸性条件下,单核铝 (Al_a) 对植物根部的影响,症状表现为破坏膜的结构,干扰钙、镁、磷、钾的吸收和平衡,影响植物能量代谢等^[2,3],而关于聚合铝 (Al_b) 毒性的研究较少。一般认为,没有形成络合物的铝的形态与环境 pH 值相关,

pH $\leq$ 4.5 时铝主要以 Al^{3+} 形态存在;随着环境 pH 升高,逐渐形成了 AlOH^{2+} 、 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 、 $\text{Al}_2(\text{OH})_2^{4+}$ 、 $\text{Al}_{13}(\text{OH})_{34}^{5+}$ 、 $\text{Al}(\text{OH})_{3(\text{am})}$ 等。研究表明,在 pH 为 5 左右时,铝形成了一种比单核铝毒性更大的聚合铝 Al_{13} (Al_b 的主要形态)^[4],但关于其植物毒性并不清楚。

本文以冬小麦为主要实验材料,研究了活性铝 (Al_a 与 Al_b) 胁迫下,小麦不同营养器官内葡萄糖含量及碳代谢关键酶葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性的变化,阐明了活性铝对植物的毒害机理。

1 材料与方法

1.1 小麦培养及暴露试验

试验所采用的冬小麦(宁麦九号)种子是从南京市种子公司购买。种子用 0.1% Hg_2Cl_2 溶液表面灭菌 10 min, 蒸馏水洗净, 在 25 ℃、潮湿黑暗条件下催芽 2 d, 然后在基本营养液^[5]中培养至根长 2.0 ± 0.5 cm 的幼苗染毒。染毒液理论总铝浓度为 $0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 分别调至 4.0, 4.5, 5.0, 5.5。每 24 h 更新营养液。各浓度染毒液设置 3 个平行样。培养条件: 25 ℃, 光照强度 4 000 ~ 5 000 lx, 光暗比 14: 10。

1.2 铝浓度及形态测定

用 Ferron 方法测定培养前营养液中各铝形态的含量。按与 Ferron 试剂络合速度的不同将铝分为 3 种形态: Al_a (主要为单核铝络合物)、 Al_b (多核羟基铝络合物或聚合物) 和 Al_c (多核铝, 如 $\text{Al}(\text{OH})_3(\text{am})$ 等)。本试验中把单核铝 (Al_a) 和多核铝 (Al_b) 作为为活性铝^[4]。

1.3 生物指标的测定

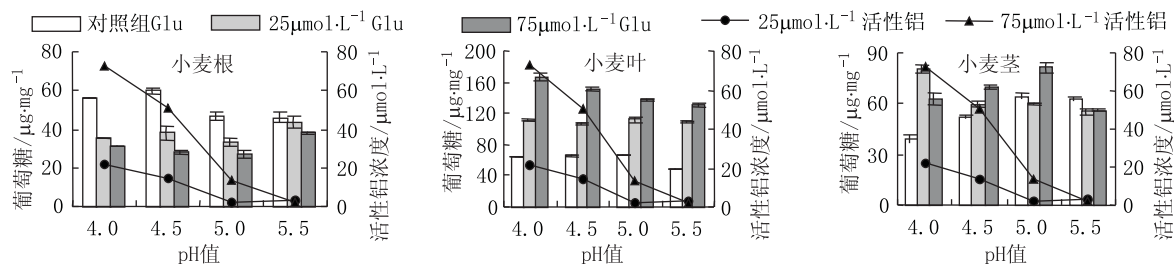


图 1 活性铝对小麦根、叶、茎中葡萄糖含量的影响

Figure 1 Effect of activated aluminum on the glucose contents in roots, leaves and stems of wheat

$25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ [Al] 处理组在 pH 5.5), 小麦根中葡萄糖含量与对照相比, 均显著降低 ($P < 0.01$)。pH 4.5, 铝浓度 $75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组根中葡萄糖含量降至本试验的最低点, 为对照的 46.4%。

活性铝胁迫下, 叶中葡萄糖含量变化趋势与根中含量变化相反。铝处理组在试验 pH 条件下 (4.0, 4.5, 5.0, 5.5), 叶中葡萄糖的含量与对照相比均显著升高 ($P < 0.01$)。 $75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组在 pH 4.0 ($67.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ [Al_a], $5.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ [Al_b]), 叶中葡萄糖含量升至本试验最高值, 为对照的 261%。

小麦茎中葡萄糖含量在铝暴露下, 呈现 2 种变化趋势: 活性铝浓度较高 (Al_a 与 Al_b 浓度和高于 $13.78 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时, 茎中的葡萄糖含量显著升高 ($P < 0.01$); 活性铝浓度较低 (Al_a 与 Al_b 浓度和低于 $2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时, 茎中的葡萄糖含量显著地低于对照 ($P < 0.01$)。

铝暴露 96 h 后, 收获小麦根、茎、叶, 液氮速冻, 真空冷冻干燥, -30 ℃ 保存备用。蛋白质含量测定按色素结合法, 以小牛血清蛋白 (BAS) 为标准蛋白。还原糖含量采用 DNS 试剂还原糖测定法提取与测定^[6]。根中葡萄糖-6-磷酸脱氢酶按 Kong et al (1995) 方法提取与测定^[7], 试验所用生化制品均为美国 Sigma 公司产品。

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, 每个测定指标设置 4 个平行。

2 结果与讨论

2.1 活性铝及小麦体内还原糖 (Glu) 含量

铝胁迫下, 小麦根、茎、叶中葡萄糖含量变化并不一致, 见图 1。

96 h 铝暴露后, 在本试验浓度与 pH 条件下 (除

Kun Liu 等研究表明铝影响植物 K^+ 的吸收^[8]。Malte Kollmeier 等也报道植物为缓解铝毒其根部会分泌有机酸, 同时伴有 K^+ 的流出^[9]。同时研究表明 K^+ 的缺乏会造成植株根部葡萄糖含量下降与叶部含量的上升^[10]。本试验中, 活性铝胁迫下小麦体内葡萄糖含量的变化与植物缺 K^+ 症状显示了相似的趋势, 这一结果暗示活性铝可能干扰了小麦的 K^+ 代谢。

统计表明, 叶片中葡萄糖含量与营养液中 Al_a 与 Al_b 的浓度之和呈显著正相关, 相关系数达到 0.828。并得到一个模型: $\text{Glu (根)} = -0.2341 \text{ Glu (叶)} + 64.7421$, $r^2 = 0.712$ 。即小麦根中葡萄糖含量与叶中葡萄糖含量负相关, 表明小麦根部葡萄糖含量降幅越大叶中含量升幅也越大。茎中葡萄糖含量在较高活性铝胁迫下的上升, 显示出铝暴露下小麦体内的葡萄糖运输可能被抑制。

小麦根、叶中葡萄糖含量在活性铝浓度非常低的

状况下, 均显著变化, 且影响程度与活性铝浓度呈显著的相关性。因此, 可以认为小麦根、叶中葡萄糖含量对于铝胁迫十分敏感。由于葡萄糖的检测简单可行, 结合其他指标可以成为检测铝胁迫的灵敏指标之一。

2.2 活性铝与葡萄糖 - 6 - 磷酸脱氢酶活性

图 2 显示, $75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组在 pH4.0 ($67.72 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}[\text{Al}_a]$, $5.41 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}[\text{Al}_b]$), G6PDHase 活性为对照的 258%; $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组在 pH5.0 ($1.367 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}[\text{Al}_a]$, $0.56 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}[\text{Al}_b]$), G6PDHase 活性达到对照的 273% ($P < 0.01$)。在其他条件下, 小麦根中 G6PDHase 活性与对照相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。

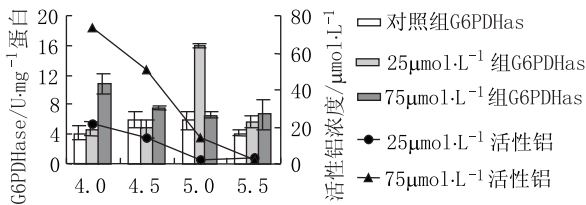


图 2 活性铝对小麦根中葡萄糖 - 6 - 磷酸脱氢酶活性的影响
Figure 2 Effect of activated aluminum on the activity of glucose - 6 - phosphate dehydrogenase in roots of wheat

G6PDHase 是戊糖磷酸途径中的关键酶, 它在植物体内催化葡萄糖 - 6 - 磷酸转化为 6 - 磷酸 - 葡萄糖酸, 为植物体内其他还原酶的反应过程提供必需的还原力 NADPH。葡萄糖是细胞内的一种消耗性能源物质, 通过葡萄糖 - 6 - 磷酸的代谢作用与 G6PDHase 发生间接的联系。

$75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组在 pH4.0 时, 葡萄糖 - 6 - 磷酸脱氢酶活性达到最高点, 同时根中葡萄糖含量也降至最低。这表明小麦根在此条件下消耗了较多的葡萄糖形成还原力 NADPH。试验结果显示高浓度活性铝条件下, 小麦通过提高 G6PDHase 活性, 增加能量消耗以抵消铝胁迫。这与 Christie A. Hamilton 的研究相一致, 他提出铝提高了植物的能量代谢^[3]。

本试验结果进一步证明, 一定量的微量活性铝提高了小麦能量代谢。同时小麦在铝胁迫下产生了一些与植物缺 K^+ 相似的生理变化, 揭示铝毒性可能与其干扰了植物的 K^+ 代谢有关。

3 结论

(1) 在不同 pH 条件下, 微量活性铝对小麦体内

葡萄糖含量产生了影响。叶片中存在葡萄糖积累, 其含量与营养液中 Al_a 与 Al_b 的浓度之和呈显著正相关, 相关系数达到 0.828; 根中葡萄糖含量降低与叶片含量负相关: $\text{Glu}(\text{根}) = -0.2341 \text{ Glu}(\text{叶}) + 64.7421$, $R^2 = 0.7115$ 。

(2) 铝的致毒机理可能与铝干扰了植物体内 K^+ 代谢有关。

(3) 活性铝暴露下会激发 G6PDHase 的活性, 表明小麦在一定剂量的铝胁迫下会提高能量代谢以抵抗铝毒。

参考文献:

- [1] Juan Manuel de la Fuente, Verence Ramirez - Rodriguez, Jose Luis Cabrera - Ponce, Luis Herrera - Estrellat, Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis[J]. *Science*, 1997, 276: 1566 - 1568.
- [2] Brian E Nichol et al. The Effects of Aluminum on the Influx of Calcium, Potassium, Ammonium, Nitrate, and Phosphate in an Aluminum - Sensitive Cultivar of Barley[J]. *Plant Physiol*, 1993, 101: 1263 - 1266.
- [3] Christie A Hamilton, Allen G Good, Gregory J Taylor. Induction of Vacuolar ATPase and Mitochondrial ATP Synthase by Aluminum in an Aluminum - Resistant Cultivar of Wheat[J]. *Plant Physiol*, 2001, 125: 2068 - 2077.
- [4] DR Parker et al. On the phytotoxicity of polynuclear hydroxy - aluminum complexes[J]. *Soil Sci AM J*, 1989, 53: 789 - 796.
- [5] Andrzej Aniol. Induction of aluminum tolerance in wheat seedlings by low doses of aluminum in the nutrient solution[J]. *Plant Physiol*, 1984, 75: 551 - 555.
- [6] 陈毓荃. 生物化学研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [7] Kong FX. Influence of copper, manganese and pH on the growth and several enzyme activities in mycorrhizal fungus *Amanita muscaria*[J]. *Chemosphere*, 1995, 30: 199 - 277.
- [8] Kun Liu, Sheng Luan. Internal Aluminum Block of Plant Inward K Channels[J]. *The Plant Cell*, 2001, 13: 1453 - 1465.
- [9] Malte Kollmeier, Petra Dietrich, Claudia S Bauer, Walter J Horst, Rainer Hedrich. Aluminum Activates a Citrate - Permeable Anion Channel in the Aluminum - Sensitive Zone of the Maize Root Apex. A Comparison Between an Aluminum - Sensitive and an Aluminum - Resistant Cultivar[J]. *Plant Physiol*, 2001, 126: 397 - 410.
- [10] 计玉妹, 朱祝军, 钱琼秋. 钾磷缺乏对番茄植株中碳水化合物分配的影响[J]. 上海交通大学学报, 2002, 20(3): 199 - 202.