

铝对荞麦生理影响的研究

王芳, 刘鹏, 徐根娣, 罗丽兰

(浙江师范大学生物科学系, 浙江 金华 321004)

摘要:以荞麦(*Fagopyrum esculentum* Moench.)为材料,用不同浓度的铝进行土培,研究了铝对荞麦一些生理特性的影响。结果表明,低浓度的铝($0.6 \text{ g Al}^{3+} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土)能提高荞麦蛋白质含量、降低其丙二醛(MDA)含量,且体内SOD、POD酶的活性均处于较低水平,对荞麦生长有一定的促进作用;高浓度的铝($1.2 \text{ g Al}^{3+} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土)则会抑制荞麦的生长,降低蛋白质含量,使MDA含量增加,使荞麦叶片的脂质过氧化加剧,明显不利于荞麦的生长发育。同时,试验证明荞麦可以通过提高体内的SOD、POD酶的活性来缓解铝胁迫。

关键词:荞麦; 铝; 生理特性

中图分类号:X171.5 文献标识码:A 文章编号:1672-2043(2005)04-0678-04

Effects of Aluminium on Some Physiological Charactes of Buckwheat

WANG Fang, LIU Peng, XU Gen-di, LUO Li-lan

(Department of Biological Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China)

Abstract: The present study investigated the effects of alminum(Al) on physiological characteristics of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) using soil culture, with different concentrations (0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 $\text{g Al}^{3+} \cdot \text{kg}^{-1}$). Measurement were carried out by utilization of $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$, and the physiological characteristics of buckwheat were investigated at 40th, 55th and 70th day, respectively, while the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), the contents of malondialdehyde (MDA) and protein of leaf in buckwheat were considered for measurement. The results from this study indicated that suitable aluminium concentration ($0.6 \text{ g Al}^{3+} \cdot \text{kg}^{-1}$) was advantageous to the growth of the buckwheat. Under this aluminium concentration ($0.6 \text{ g Al}^{3+} \cdot \text{kg}^{-1}$), the permeability of membrane in the leaf of buckwheat was the lowest and the protein content was the highest compared with the plant under other aluminium concentrations; and the activities of SOD and POD were kept at low levels; while high Al ($1.2 \text{ g Al}^{3+} \cdot \text{kg}^{-1}$) restrains growth of buckwheat by greatly increasing membrane permeability of the leaf cells, reducing the contents of protein, significantly increasing the activities of SOD and POD, and the buckwheat were die away at 70th day. Meanwhile the results showed that buckwheat could promote SOD and POD activities to resist the aluminum toxicity.

Keywords: buckwheat; aluminium; physiological characteristics of buckwheat

铝是地壳中含量最丰富的金属元素,自然条件下,铝通常以难溶性的硅酸盐或氧化铝的形式存在,对植物没有毒害^[1]。但近年来由于农业化肥的使用和酸雨的影响,土壤酸度增加,使难溶性铝转化成可溶性铝,对植物产生毒害,因而酸性土壤中的植物面临着巨大的铝胁迫生存压力。我国的酸性土壤占全国土

地总面积的21%^[2],因此酸性土壤中的铝已经成为制约我国农业发展的重要因素之一。目前对酸性土壤的治理方法投入大,操作困难,长期使用会破坏土壤,影响生态平衡,从长远看,选用培育耐铝品种是最经济、有效和无污染的根本措施。

关于铝对植物生理特性的影响,国内外已有不少的研究,但多见于小麦(*Triticum aestivum* L.)、大豆(*Glycine max* (L.) Merr.)、水稻(*Oryza sativa* L.)、茶树等^[3-10],铝对荞麦的影响研究较少。荞麦是抗铝性较强的作物^[11],目前对荞麦的研究集中在铝被吸收和荞麦分泌有机酸的部位^[12],随着铝浓度的变化铝在荞麦叶片中的存在形式^[13],荞麦分泌ABA以抵抗铝胁迫^[14],

收稿日期:2004-11-02

基金项目:浙江省自然科学基金(030461);浙江省分析测试基金(03091)

作者简介:王芳(1972—),女,宁夏银川人,浙江师范大学讲师,博士研究生,从事植物营养及食品科学研究。

E-mail:sky100@zjnu.com

而关于铝对荞麦生理特性影响的报道则不多见。本试验采取不同的铝浓度处理,对荞麦进行土培,研究不同浓度的铝对其相关生理特性的影响,以期为弄清植物的抗铝机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

荞麦 (*Fagopyrum esculentum* Moench), 品种为内蒙古产小白花。

1.2 试验设计

室外土培养麦,每桶装土 5 kg,供试土壤为浙江师范大学校园内的酸性红壤,其基本性状为:pH5.96,有机质 $18.2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,阳离子代换量 $3.94 \text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$,水溶性盐总量 $2.64 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,全氮 $0.53 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,水解氮 $22.8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效磷 $60.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效钾 $147.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,活性铝 $0.435 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。每桶施入基肥(尿素 2.14 g、磷酸二氢钙 1.17 g、氯化钾 1.58 g、钼酸铵 0.02 g、四硼酸钠 0.04 g。),用 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3\cdot 18\text{H}_2\text{O}$ (分析纯)溶液来处理土壤,共设 5 个铝浓度,分别为 CK (对照), R_1 ($0.3\text{g Al}^{3+}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土), R_2 ($0.6\text{g Al}^{3+}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土), R_3 ($0.9\text{g Al}^{3+}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土), R_4 ($1.2\text{g Al}^{3+}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土),每个浓度 3 个重复。在荞麦整个生长期均以蒸馏水灌溉。

1.3 取样

分别于荞麦播种后的第 40、55、70 d 取荞麦的叶片和根用于测定。

1.4 测定方法

SOD 活性测定:超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 NBT 法^[15],以抑制氮蓝四唑(NBT)光氧化还原 50% 的酶量为 1 个活力单位,蛋白质的活力单位用 (units $\cdot\text{mg}^{-1}\text{Pr}$)表示。

POD 活性测定:过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法^[16],每克蛋白质中 A470 的变化率以($\Delta\text{A}470\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{Pr}$)来表示。

MDA 含量的测定:丙二醛(MDA)含量采用 TCA 法^[17],MDA 含量以($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)表示。

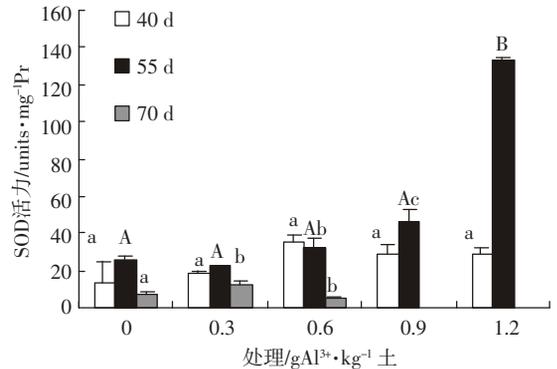
蛋白质含量的测定:蛋白质含量采用考马斯亮蓝法^[18],蛋白质含量以($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)表示。

2 结果与分析

2.1 铝对荞麦叶片 SOD 酶活性的影响

从图 1 可以看出,在第 40 d 时,各处理条件下 SOD 酶活性均比对照有所升高,但变化不大;在第 55 d 时,荞麦叶片 SOD 活性随着铝浓度的增加而上升,在 R_4

处理下 SOD 酶活性急剧上升,达对照的 5.32 倍;在第 70 d 时,测得的 SOD 酶活性较之前两个时期均明显下降,而且此时 R_3 处理的荞麦已经枯萎, R_4 处理的荞麦已经死去。表明铝胁迫下荞麦叶片细胞产生较多的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 等活性氧,诱导 SOD 酶活性的增加,使荞麦自身清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的能力有所提高,在一定限度内缓解铝毒。但随着胁迫时间的延长,荞麦体内产生的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 等活性氧超过了它的正常歧化能力,从而致使其活力下降。



T检验,同一时期不同处理不同字母为差异达显著水平($P<0.05$,小写字母)或极显著水平($P<0.01$,大写字母),下同。

图 1 铝对荞麦叶片中 SOD 酶活性的影响

Figure 1 The effects of aluminum on activities of SOD in leaf of buckwheat

2.2 铝对荞麦叶片中 POD 酶活性的影响

铝对荞麦叶片中 POD 酶活性的影响见图 2。在第 40 d 和 55 d 时,POD 酶活性除 R_2 ($0.6\text{g Al}^{3+}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土)处理下分别为对照的 87%(40 d)和 35.29%(55 d),其余各处理均较对照高,且随着铝处理浓度的增加而上升,至 R_4 时分别达对照的 187.18%(40 d)和 316.47%(55 d),这有利于荞麦体内活性氧的清除和抗逆境胁迫能力的提高;随着培育进程的推进,在第 70 d 时,各处理下 POD 酶活性均有所下降,表现出与 SOD 相似的变化趋势,但仍高于 40 d 时各相应处理下的 POD 活性,尤其 R_2 处理下 POD 活性甚至较 55 d 时有所上升,表明 POD 对活性氧具有较强的耐受性,尤其在培养 70 d 时,起主要的清除活性氧的作用。但随着时间的延长,由于荞麦叶片细胞内产生过多的活性氧,也会超出 POD 的防御能力,最终造成酶活性伤害,影响荞麦正常的代谢和生理活动。

2.3 铝对荞麦叶片中 MDA 含量的影响

MDA 是膜脂过氧化的主要产物之一,其含量可以表示脂质过氧化的程度。图 3 显示,各处理下,荞麦叶片 MDA 的含量均随着时间的延长而增加。在铝处

理后的第 40 d, 经 R_1 、 R_2 、 R_3 铝浓度处理的荞麦中 MDA 的含量均低于对照, R_4 处理下 MDA 含量达对照的 203.61%; 在第 55 d, R_2 处理下的 MDA 的含量与对照基本持平, 而其余处理均随着铝处理浓度的增加而增加, 至 R_4 时比对照上升了 185.26%; 在 70 d 时也表现出与 55 d 时相同的变化趋势。以上结果说明适量的铝有可能对荞麦叶片细胞膜脂的过氧化起一定的抑制作用, 而轻度铝胁迫下膜脂的过氧化程度较低, 植物可以通过提高保护酶的活性来防止膜脂过氧化加剧, 使细胞免受伤害, 严重胁迫下脂质过氧化加剧, 植物的保护酶系统不足以抵御胁迫而使细胞受到伤害。

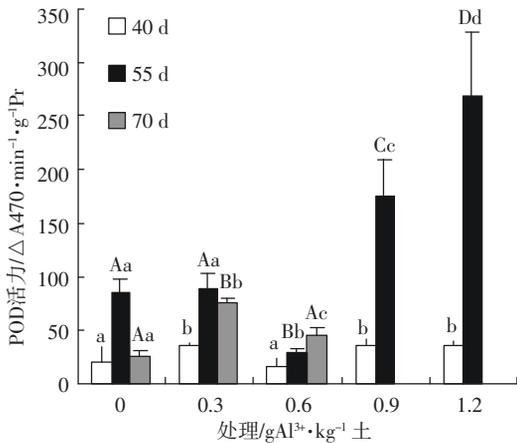


图 2 铝对荞麦叶片中 POD 酶活性的影响

Figure 2 The effects of aluminum on activities of POD in leaf of buckwheat

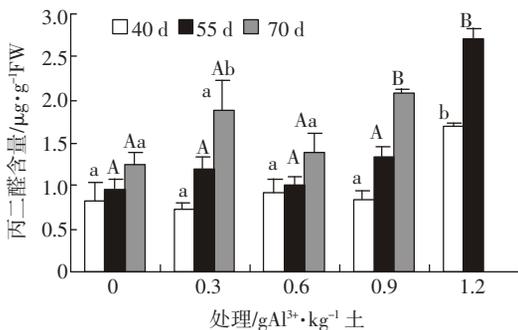


图 3 铝对荞麦叶片中 MDA 含量的影响

Figure 3 The effects of aluminum on contents of MDA in leaf of buckwheat

2.4 铝对荞麦叶片中蛋白质的影响

一般来讲, 植物在逆境条件下, 体内蛋白质含量降低, 而小分子的有机化合物如氨基酸、单糖等积累, 这是由于蛋白质、碳水化合物等的分解加快而合成受到抑制的结果^[21]。本试验中蛋白质的含量随着铝处理

浓度的变化所受的影响见图 4。从图中可以看出, 在铝处理后的第 40 d 和第 55 d, 荞麦叶片中的蛋白质随着铝处理浓度的增加基本上没有明显的变化, 略呈下降趋势, 而随着时间的延长, 55 d 时各处理下蛋白质含量均较 40 d 时有所下降, R_4 处理下蛋白质含量下降明显, 仅为 40 d 时的 37.51%, 这可能与荞麦叶片中合成酶活性降低、分解酶的活性升高, 从而造成蛋白质的分解加快而合成受到抑制的结果有关; 而在第 70 d 时, 荞麦叶片中蛋白质含量又急剧上升, 这可能是由于荞麦细胞逐渐生长成熟, 对铝微弱抑制蛋白质合成的作用的抵抗力上升。因 R_4 及更高浓度处理材料均已无法采用, 所以蛋白质含量的变化趋势无从得知。

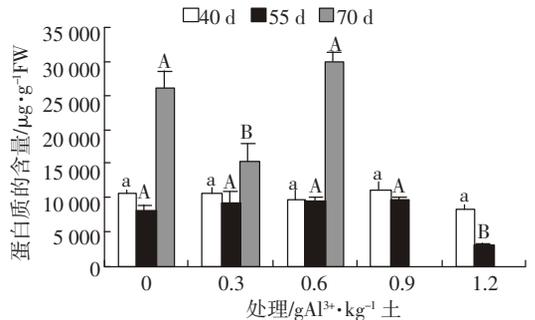


图 4 铝对荞麦叶片中蛋白质含量的影响

Figure 4 The effects of aluminum on contents of protein in leaf of buckwheat

3 讨论

铝胁迫是酸性土壤中影响植物生长的重要因素之一, 在不良环境下, 植物体内会发生一系列的生理生化反应以适应逆境, 铝可在多个水平上对植物产生毒害, 使植物体内发生一系列的生理生化反应^[14, 24, 25]。

本试验显示, 在荞麦的生长过程中, 当外源铝的浓度超过一定的量 (如本试验的 $1.2 \text{ g Al}^{3+} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ 土}$) 时, 荞麦叶片 SOD 和 POD 活性受到抑制, MDA 含量明显上升、蛋白质含量下降, 从而对荞麦的生长产生不利的影响, 该铝浓度处理下荞麦在 55 到 70 d 时全部死亡。

在逆境下, 植物细胞内的脂质过氧化作用增大, 造成 MDA 的含量增加。MDA 可以与细胞内的各成分发生反应, 使膜的流动性降低, 最终导致膜的结构和生理完整性的破坏。本文对荞麦在不同铝浓度作用下的研究表明, 随着铝胁迫强度和胁迫时间的增加, 荞麦叶片中 MDA 含量上升, 在 R_2 ($0.6 \text{ g Al}^{3+} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ 土}$) 铝浓度处理的荞麦中最低, 在 R_4 ($1.2 \text{ g Al}^{3+} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ 土}$) 铝浓

度处理过的荞麦中达到最大,比对照显著上升;而在对荞麦保护酶的研究中则显示出,在铝作用时间较短时(40~55 d), SOD 和 POD 酶活性随着铝处理浓度的升高而增强,在 R_4 ($1.2 \text{ g Al}^{3+} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ 土}$) 铝浓度处理过的荞麦中显著上升,以消除体内细胞产生的超氧根阴离子,使荞麦不至于受到严重伤害,这与王荣华等对蒙古冰草幼苗的渗透胁迫^[26]和肖祥希等^[27]对龙眼的研究结果一致。但当时间进一步延长时(70 d),荞麦叶片细胞内产生过多的活性氧,超出了 SOD、POD 等保护酶的防御能力,造成了酶活性伤害,从而致使其活力下降,而此时 MDA 含量也显著上升,荞麦遭受铝毒害。孔繁翔等^[32]认为铝可与细胞膜的膜脂和膜蛋白结合,改变膜的结构和功能,增加膜的渗透性,本试验也证实了这一点。经 R_4 铝浓度处理的荞麦在第 70 d 时已经死亡,说明荞麦已经不能通过产生调节物质降低质膜的受损程度。

目前,尚未见有关适量铝有利于荞麦生长发育的报道,而本试验结果表明,低浓度的铝(如 $0.6 \text{ g Al}^{3+} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ 土}$)对荞麦的生长产生了有利的影响,如降低荞麦 MDA 含量、促进荞麦 POD 活性的增加等。据此推测,适宜浓度的外源铝通过增强荞麦体内保护系统的抗逆能力和降低膜脂过氧化化的程度,从而对荞麦的生长产生有利的影响。

参考文献:

[1] 沈宏,严小龙. 铝对植物的毒害和植物抗铝毒机理及其影响因素[J]. 土壤学报, 2001, 32(6): 281-285.

[2] 黄邦全,白景华,薛小桥. 植物铝毒害及遗传育种研究进展[J]. 植物学通报, 2001, 18(4): 385-395.

[3] Samuels T D, Kucukakyuz K, Magaly R Z. Al partitioning patterns and root growth as related to Al sensitivity and Al tolerance in wheat [J]. *Plant Physiol*, 1997, 113: 527534.

[4] 黎晓峰. 几种禾本科作物对铝的敏感性或耐性[J]. 广西农业生物科学学报, 2002, 21(1): 16-20.

[5] 石贵玉. 铝对水稻幼苗生长和生理的影响[J]. 广西植物, 2004, 24(1): 77-80.

[6] 何龙飞,刘友良,沈振国,等. 铝胁迫对小麦根呼吸作用和一些线粒体结合酶活性影响[J]. 作物学报, 2001, 27(6): 857-861.

[7] 郭天荣,张国平,卢王印,等. 铝胁迫对不同耐铝大麦基因型干物质积累与铝和养分含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2003, 9(3): 324-330.

[8] Tomonori K, Tatsumi W, Yuji S, Tetsuo H, Hiroyuki K. Alteration of citrate metabolism in cluster roots of white lupine[J]. *Plant Cell Physiol*, 2003, 44: 901-908.

[9] Flaten T P. Aluminum in tea concentrations, speciation and bioavailability[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2002, 228: 385-395.

[10] 张颖,刘鹏,徐根娣,等. 铝胁迫对大豆根际土壤酶的影响[J]. 浙江师范大学学报, 2003, 26(2): 176-179.

[11] 林咸永,章永松,陶勤南. 铝胁迫下不同小麦基因型根际 pH 的变化、 NH_4^+ 和 NO_3^- 吸收及还原与其耐铝性的关系[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(3): 330-334.

[12] 章文华,马建锋,刘友良. 荞麦根吸收铝和分泌草酸的部位[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(1): 9-11.

[13] Shen R F, Takashi I, Ma J F. Form of Al changes with Al concentration in leaves of buckwheat [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55 (394): 131-136.

[14] Jian Feng Ma, Jun Furukawa. Recent progress in the research of external Al detoxification in higher plants: a minireview [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2003, 97: 46-51.

[15] 刘鸿先,曾韶西,王以柔,等. 低温对不同耐寒力的黄瓜幼苗子叶各细胞器中超氧化物歧化酶(SOD)的影响[J]. 植物生理学报, 1985, 11(1): 48-57.

[16] Amako K, Chen G X, Asade K. Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants [J]. *Plant Cell Physiol*, 1994, 35:497-504.

[17] 朱广廉,钟海文,张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京:北京大学出版社,1990.51-54,245-252.

[18] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye bonding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72:248-254.

[19] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京:农业出版社, 1991.

[20] 袁晓华,杨中汉. 植物生理生化实验[M]. 北京:高等教育出版社, 1983.128-133.

[21] 赵可夫,王韶唐. 作物抗性生理[M]. 北京:农业出版社,1990.153.

[22] 孙文越,等. 外来甜菜对干旱胁迫下小麦幼苗膜脂过氧化作用的影响[J]. 西北植物学报, 2001, 22(1): 1-3.

[23] Cakmak I, Hengeler C, Marschner H. Partition of shoot and root dry matter and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1994,45:1245-1250.

[24] 李德华,贺立源,刘武定. 玉米根系活力与耐铝性的关系[J]. 土壤肥料科学, 2004, 20(1): 17-20.

[25] 黎晓峰,顾明华. 小麦的铝毒及耐性[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(3): 325-329.

[26] 王荣华,石雷,汤庚国,等. 渗透胁迫对蒙古冰草幼苗保护酶系统的影响[J]. 植物学通报, 2003, 20(3): 330-335.

[27] 肖祥希,杨宗武,肖晖,等. 铝胁迫对龙眼叶片活性氧代谢及膜系统的影响[J]. 林业科学, 2003, 39(1): 52-57.

[28] Rengel Z. Disturbance of cell CO₂-homeostasis as primary trigger of toxicity syndrome [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1992, 15:931-938.

[29] Kollmeier, Helle H H, Horst W. Genotypic difference in Al resistance of maize are expressed in the distal part of the transition zone. Is reduced basipetal in the distal auxin flow involved in inhibition of root elongation by Al? [J]. *Plant Physiology*, 2000, 122: 945-956.

[30] 方金梅,应朝阳,陈恩,等. 铝胁迫对不同决明品系幼苗生长影响的试验[J]. 福建农业科技, 2000, 6: 15-17.

[31] 陈超君,徐建云,梁传平,等. 甘蔗生长前期铝胁迫研究初报[J]. 广西蔗糖, 2000, 21(4): 21-25.

[32] 孔繁翔,桑伟莲,蒋新,等. 铝对植物毒害及植物抗铝作用机理[J]. 生态学报, 2000, 20(5): 855-862.