

外源柠檬酸作用下大豆根尖铝积累规律的研究

金婷婷, 刘 鹏, 孙 婷, 刘春生, 金海华

(浙江师范大学植物学重点实验室, 浙江 金华 321004)

摘 要:耐铝性大豆根系柠檬酸的分泌被认为是缓解铝胁迫的重要方式。设置外源柠檬酸协同铝处理, 检测根尖铝积累的荧光染色、根尖铝的相对含量以及处理液中 3 种不同铝形态的变化情况, 旨在探索柠檬酸与大豆根系环境中铝的作用规律, 进一步揭示大豆根系分泌物缓解铝毒的机理。结果表明: 大豆根尖细胞细胞壁积累铝的现象十分明显, 且随着铝处理浓度的增加和处理时间的延长, 细胞壁固定的铝逐渐增多; 外源柠檬酸存在下, 细胞壁铝积累明显减少, 浙春 3 号尤为显著。浙春 3 号和浙春 2 号铝积累量随着铝浓度的增大和铝处理时间的延长而呈不同的变化趋势。从铝形态结果分析, 可以判断 Al_a 和 Al_b 活性铝的含量变化趋于相同, 外源柠檬酸作用下, 各浓度梯度的活性铝形态含量均较单铝胁迫时有所降低。综合试验结果可知, 植物在接触铝胁迫的初期, 自身缓解铝毒的机制是需要时间而呈周期性波动的过程; 外源柠檬酸对浙春 3 号的缓解作用比浙春 2 号强, 一定比例的外源柠檬酸加入可改变大豆自身的耐铝能力, 但是超过一定比例就会在某种程度上对植物产生新的酸化毒害。

关键词: 铝积累; 细胞壁; 荧光检测; 铝形态; Al-Ferron 逐时络合比色法

中图分类号: S565.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-9841(2008)04-0581-07

Localized Accumulation of Aluminum in Soybean (*Glycine max* Merrill) Root Tips under Exogenous Citric Acid

JIN Ting-ting, LIU Peng, SUN Ting, LIU Chun-sheng, JIN Hai-hua

(Key Laboratory of Botany, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, Zhejiang, China)

Abstract: It is well known that the important role of citrate in the mechanism for Al resistance in soybean. The effect of aluminum plus exogenous citrate acid on fluorescence detection, aluminum comparative concentration of soybean root tips and aluminum speciation in treated solution, were all investigated using hydroponic culture, to discover the effect of citrate with aluminum which exists in the rhizosphere of soybean and the mechanism of alleviating aluminum toxicity by soybean root exudation. Results showed it was significant that aluminum accumulated in the cell wall of soybean root tip cells, and it became more and more remarkable with dose and time increased; in the present of exogenous citric acid, the content of aluminum accumulated in the cell wall decreased, especially in Zhechun No. 3. The change of comparative Al content in root tips of Zhechun No. 3 and Zhechun No. 2 did not play the same pattern in dose- and time-dependent manner. From the analysis of aluminum speciation, it could be seen that the change pattern of the content of Al_a and Al_b were parallel; the content of the two form decreased but Al_c increased with exogenous organic acids. Thus it could be concluded that it needs time and displayed as fluctuating periodically in the mechanism of detoxification aluminum, when plants meet aluminum for the initial stages. Exogenous citric acid was more effective to Zhechun No. 3 than to Zhechun No. 2 under aluminum stress. At the same time, only proper proportion of exogenous citric acid could avail to detoxification of aluminum for soybean; Yet it may result in the fact of serious toxicity on plants overstep some extent of exogenous citric acid.

Key words: Aluminum accumulation; Cell wall; Fluorescent detection; Aluminum speciation; Al-Ferron complex timed colorimetric method

大量研究表明, 植物遭受铝毒害时其根系首当其冲^[1], 而植物根系分泌有机酸的分泌被普遍认为

收稿日期: 2008-01-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30540056); 浙江省自然科学基金资助项目(305186, 303461)。

作者简介: 金婷婷(1983-), 女, 硕士研究生, 主要从事植物逆境胁迫生理研究。E-mail: 2005210294@zjnu.net。

通讯作者: 刘鹏, 教授, 博士。E-mail: sky79@zjnu.cn。

是植物缓解铝胁迫的一种外部机制^[2]。因此,了解外源有机酸对植物根系铝积累的影响对于探明铝对植物毒害的细胞学机制以及耐铝性机制都十分重要。

铝对植物根系的伤害,首先与根系积累的铝含量密切相关。Blamey 等研究发现植物根尖细胞细胞壁的注水孔排列着固定的负电荷,是 Al^{3+} 结合和固定的主要位点^[3],细胞壁积累铝可以一定程度上阻止铝进入植物细胞内对植物造成伤害。Gunsé 等^[4]发现桑色素(Morin)是一种铝特异性荧光染料,对于检测结合于细胞壁上的铝是十分有效的。其次,铝的植物毒性与其形态及其相关。Comin 等^[5]对小麦和大豆进行铝毒试验,结果表明游离的铝比聚合态的铝具有更强的毒性,特别是对于根的影响尤为突出。而没有形成络合物的铝的形态又与环境 pH 值相关:pH < 4.5 时铝主要以 Al^{3+} 形态(Al_a)存在;随着环境 pH 升高,逐渐形成了 AlOH_2^+ 、 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 等;Parker 研究证实在 pH = 5 左右,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)^[6-7]。耐铝性大豆在铝胁迫下,根系大量分泌柠檬酸被普遍认识是大豆缓解铝毒的一种响应^[8]。但是外源柠檬酸对大豆根尖铝积累以及根系环境铝形态的影响,至今尚未见报道。研究采用水培方式,并在铝处理时模拟添加外源柠檬酸,对不同铝浓度和不同时间处理下,大豆根尖细胞壁铝积累的荧光检测、根尖铝含量的相对定量检测以及处理液中铝形态的变化进行研究,以期有机酸缓解植物铝毒害的内部机理提供一定的实践依据和理论解释。

1 材料与方法

1.1 试验设计

选择大小一致、圆润饱满的大豆种子(耐铝性浙春 2 号和铝敏感性浙春 3 号),经表面消毒(10% H_2O_2 , 5 min)后,用蒸馏水反复冲洗,阴干后均匀播于草炭土(商业草炭土和石英砂以 3:1 混合)中,于恒温箱中 25℃ 黑暗条件下催芽萌发 4 d。当幼苗两片叶子展开时,将长势一致的大豆幼苗用海绵包住茎,移栽到盖上有小孔的水培箱中,培养液用 Hoagland 完全培养液。2~3 d 换一次营养液,每天通气 4 h,每天早晚 2 次。

大豆幼苗于全营养液中分别培养 30 d 后,取大豆植株,转移到含钙溶液($0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$, pH

4.5)中适应(又称洗根)12 h(黑暗条件下),然后转移至含有不同浓度 Al^{3+} (0, 30, 50, 70, 100, 200, 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的处理液中,分别处理 1, 2, 4, 6, 12, 24 h。在设置铝浓度的同时,以 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度比例分别加入外源柠檬酸^[9]。处理后的根尖进行根尖段(近根尖顶端 0.5 cm 处)细胞壁铝积累的荧光检测,同时测定根尖段铝积累的相对含量;处理液进行铝形态的测定。

1.2 方法

1.2.1 根尖细胞壁铝积累的荧光检测——Morin 染色法 将处理后的根尖材料浸于 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{OAC}$ 缓冲液(pH 5.0)中 5 min,然后在 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Morin(5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{OAC}$, pH 5.0)中染色 1 h,再在 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{OAC}$ 缓冲液(pH 5.0)中浸 10 min,在荧光显微镜下(510 nm 蓝光激发)观察、拍照^[10]。

1.2.2 根尖相对铝含量测定——苏木精染色洗脱法

将新鲜的根尖在室温下浸于含 0.2% 苏木精和 0.02% KIO_3 溶液中染色 15 min,然后在蒸馏水中浸洗 15 min。将浸洗后的 10 个根尖(5 mm)在 200 μL 1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{HCl}$ 中浸 1 h。选择 490 nm 的全波长酶标仪检测^[11]。

1.2.3 处理液中铝形态的测定——Ferron 法 配制比色缓冲液(250 mL 0.2% Ferron(内含 0.01% 邻菲罗啉),100 mL 35% 醋酸钠,100 mL 10% 盐酸羟胺(内含 4 mL 1:1 盐酸),混合静止 4~5 d),pH = 5.2 左右,不用时放冰箱,一个月内用完。按与 Ferron 试剂络合速度的不同将铝分为 3 种形态:1 min 内与 Ferron 试剂反应完全的 Al_a (主要为单核铝络合物),与 Ferron 试剂在 120 min 内反应的 Al_b (多核羟基铝络合物或聚合物),120 min 内不与 Ferron 试剂反应的 Al_c (多核铝,如 $\text{Al}(\text{OH})_{3(\text{am})}$ 等)。制作标准曲线,根据铝标准曲线关系式将 Al_a 、 Al_b 组分的吸光度 A_a 、 A_b 换算成相应的浓度 C_a 、 C_b ,带入标准曲线算出 Al_a 、 Al_b 和 Al_c 百分比^[12]。

2 结果和分析

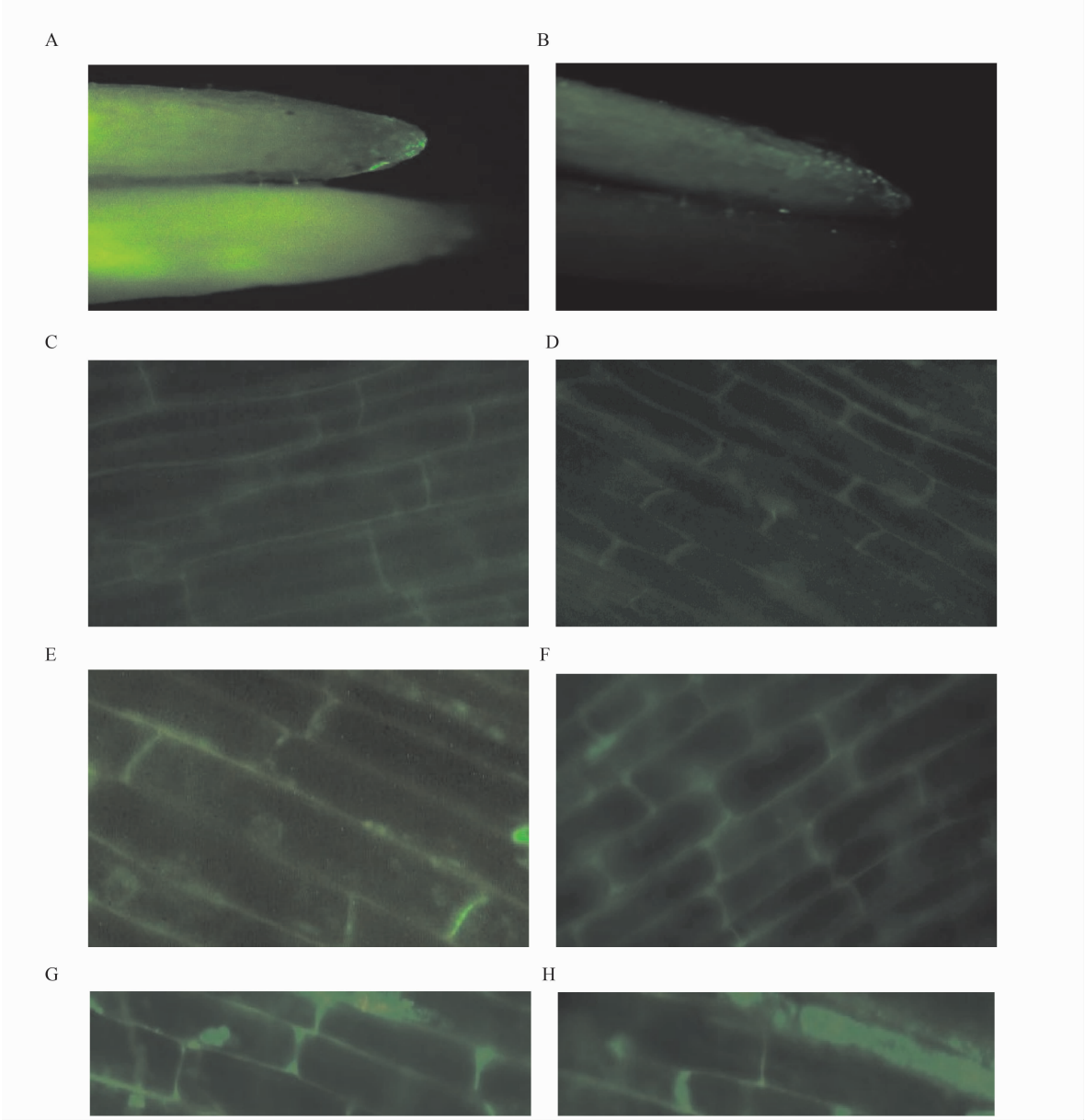
2.1 大豆根尖细胞壁铝积累的荧光检测结果

荧光染色结果表明,不同铝浓度处理下,大豆铝积累均主要出现在根尖,近根尖部位大豆铝积累较多,荧光显微镜下较亮,从根尖往后逐渐减弱。

图 1 是荧光显微镜下 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铝处理 6 h 下大豆根尖 Morin 染色图。从图 A 可以看出,浙春

2 号(上)根尖荧光染色明显比浙春 3 号(下)暗。但加入了 $200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 外源柠檬酸后(B 图),2 个大豆品种根尖细胞壁的铝积累量都相对有所下降,

但此时浙春 2 号(上)反而比浙春 3 号(下)根尖荧光强度大。



AB 表示 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铝处理 6 h 时大豆根尖荧光染色图片,其中 A、B 分别表示无、有外源柠檬酸($200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理作用,图中上为浙春 2 号,下为浙春 3 号。C、D、E、F、G、H 表示 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铝处理不同时间时大豆根尖细胞的荧光染色图片,其中 C、D 为铝处理 1 h;E、F 为铝处理 6 h;G、H 为铝处理 24 h;C、E、G 为浙春 2 号,D、F、H 为浙春 3 号。

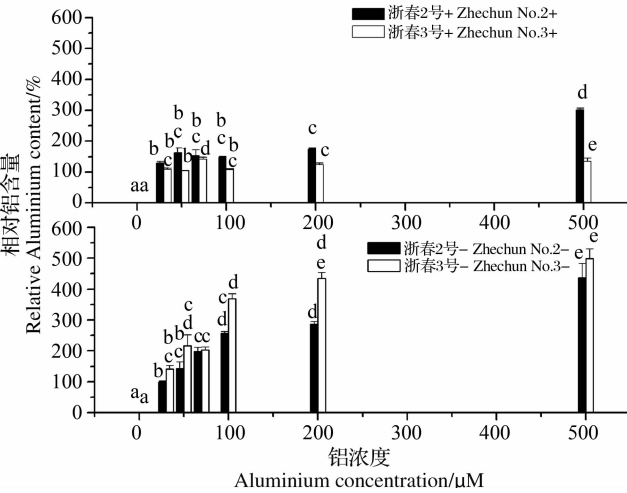
A, B indicate Morin fluorescent staining results of soybean root tips treated by $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Al}^{3+}$ for 6 h without and with exogenous citric acid($200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), respectively, the above is Zhechun No. 2 and the below is Zhechun No. 3. C, D, E, F, G, H indicate soybean root tips by Morin Fluorescent Staining with treatment of $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Al}^{3+}$ for different times, C, D indicate respectively for 1 h of Al^{3+} ; E, F indicate respectively for 6 h of Al^{3+} ; G, H indicate respectively for 24 h of Al^{3+} . C, E, G is Zhechun No. 2 and D, F, H is Zhechun No. 3.

图 1 大豆根尖铝积累的荧光 Morin 染色图

Fig. 1 Effect of Al on soybean root tips by Morin Fluorescent Staining

图C、D、E、F、G、H为100 μmol·L⁻¹铝浓度下,处理不同时间后大豆根尖铝积累的细胞图片。从这一系列的比较中可以观察到,随着铝处理时间从1 h到24 h(结果没有全部展示出来),浙春3号的荧光强度从比浙春2号弱(1 h)转化为比浙春2号强(24 h);浙春3号荧光着色逐渐变亮的趋势比较显著,如24 h铝处理下,荧光强度明显比6 h铝处理时强,而浙春2号6 h铝处理下的荧光强度比1 h稍微有所加强,但是6 h和24 h铝处理下差距不显著。

2.2 铝胁迫下大豆根尖铝含量的测定结果



“浙春2号+”表示有外源柠檬酸处理组,“浙春2号-”表示无外源柠檬酸处理组,浙春3号表示方法同上。数据为各处理3次重复的均值±标准偏差;根据Duncan检验,不同的字母表示处理间0.05水平上显著性差异。下同。

“Zhechun No. 2 +” indicate treatment of Al³⁺ with exogenous citric acid, “Zhechun No. 2 -” indicate treatment of Al³⁺ without exogenous citric acid; The similar in Zhechun No. 3. Each value is the mean ± SE of three replicates (n = 3). Different letters indicate that the values are significantly different between different treatments at the 0.05 level, according to Duncan’s Multiple Range Test. The same as below.

图2 外源柠檬酸处理下,不同浓度铝大豆根尖相对铝含量的影响
Fig. 2 Effect of different concentration of Al³⁺ with exogenous citric acid on aluminum comparative concentration of soybean root tips

如图2所示,不同浓度铝处理下,浙春3号根尖的相对铝含量基本都比浙春2号高。在低铝浓度下,随铝浓度梯度变化,浙春2号和浙春3号相对铝含量明显上升。当浓度增大到100 μmol·L⁻¹以后,随着铝浓度的继续增加铝含量升高趋于平缓,在500 μmol·L⁻¹时浙春2号达到437.55%,浙春3号达到499.15%。而外源柠檬酸作用时,随铝浓度的

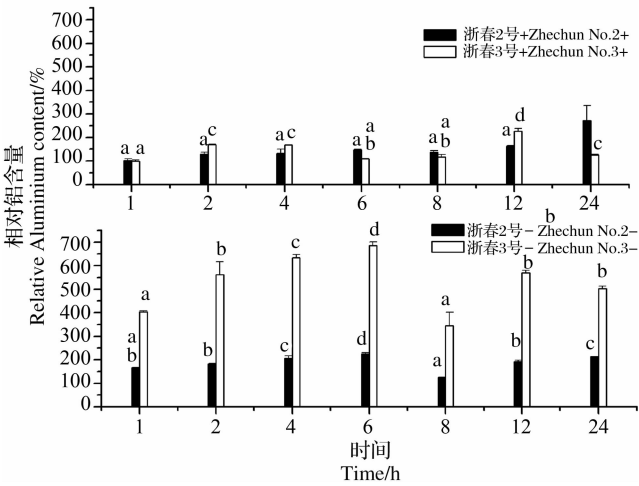


图3 外源柠檬酸作用下,不同时间铝处理对大豆根尖相对铝含量的影响
Fig. 3 Effect of different treated time of Al³⁺ with exogenous citric acid on aluminum comparative concentration of soybean root tips

增加,浙春2号和浙春3号大豆根尖铝含量没有出现明显的梯度变化。总体来说,相应铝浓度下,两个品种各自的铝积累量都有所减少,但是浙春2号在30 μmol·L⁻¹和50 μmol·L⁻¹铝处理下,柠檬酸的加入反而增大了其相对铝含量。此外,浙春2号反而比浙春3号积累较多的铝,与荧光检测的细胞壁铝积累量结果正好相反。

如图3所示,100 μmol·L⁻¹铝处理相同时间下,浙春2号根尖铝积累的相对含量明显较浙春3号少。但是随铝处理时间的延长,大豆根尖铝相对含量并没有呈现一定的梯度关系,如浙春2号和浙春3号在6 h达到铝积累的一个高峰,浙春2号为225.74%,浙春3号为685.35%;在8 h时同时下降,随后又逐渐上升,在现有浓度范围内,总的来说呈现波浪式变化,与以往的相关报道结果有所不同。在外源柠檬酸加入后,两个品种相对铝含量均下降,浙春3号比浙春2号显著,且浙春2号在6、8和24 h铝处理下,根尖相对铝含量分别比浙春3号提高0.37、0.67和1.15倍。

2.3 处理液中铝形态——Ferron法测定结果

表1所示的是不同浓度铝溶液处理6 h时,水溶液中3种形态铝的相对含量。从表中可以看出,浙春2号、浙春3号在低浓度铝处理下,3种形态铝含量变化并不明显,只在200 μmol·L⁻¹和500 μmol·L⁻¹铝溶液处理下,Al_a、Al_b含量均显著升高,Al_c含量显著下降。而外源柠檬酸的加入,使得浙春2号、

浙春 3 号处理液中 Al_a 、 Al_b 均较对照组(单铝处理,没有外源柠檬酸)有所下降, Al_c 含量却显著升高,在 0.01 水平上达到极显著差异。

图 4、5、6 显示的是 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铝处理不同时间下, Al_a 、 Al_b 、 Al_c 含量的变化情况。从图中可以看到,4 h 铝处理下,浙春 2 号和浙春 3 号铝处理液中的 Al_a 、 Al_b 含量普遍高于相应的添加外源柠檬酸的铝处理液。但是,浙春 2 号和浙春 3 号的处理液中铝含量变化趋势有所不同。浙春 2 号在 4 h 时 Al_a 、 Al_b 含量达到最高值,分别为 32.27%、39.27%;浙春 3 号则在 6 h 达到最高值, Al_a 、 Al_b 含

量分别为 28.40%、34.53%。而被认为对植物没有毒害作用 Al_c 含量变化趋势刚好与 Al_a 、 Al_b 含量变化相反。

从图 4 可以看出,外源柠檬酸的加入,使浙春 2 号在 1 h、2 h 铝处理时 Al_a 含量反而有所上升,在 4 h、6 h、8 h 时又有所下降。而外源柠檬酸的加入,使浙春 3 号根系铝处理液中的 Al_a 含量,在不同时间铝处理下均有所下降。从图 5 可以看出,柠檬酸的加入使浙春 2 号在 4 h 时 Al_b 含量由上升改为下降。而外源柠檬酸存在的情况下,浙春 3 号在不同时间铝处理 Al_b 含量下降, Al_c 含量上升。

表 1 不同铝浓度下,大豆根系处理液中三种铝形态含量(%)变化

Table 1 The change of three aluminum speciation in treated solution under different concentration of Al^{3+}									
参数 Param- eters	品种 Cultivars	处理 Treatment	Al^{3+} 浓度 Al^{3+} concentration/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$						
			0	30	50	70	100	200	500
Al_a	浙春 2 号	-	23.40±0.31aA	25.33±1.32aA	26.80±0.70aA	26.83±1.03aA	28.23±3.16aA	36.37±1.58bB	48.17±3.03cC
	Zhechun No.2	+	22.97±1.12aA	25.00±0.40aA	23.60±0.71aA	24.8±1.00aA	25.47±1.01aA	33.10±0.72bB	45.00±1.61cC
	浙春 3 号	-	26.37±0.20abA	25.00±0.93abA	23.27±1.00aA	27.10±1.80abA	28.40±1.31abA	36.37±2.14bB	47.73±4.14cB
	Zhechun No.3	+	23.53±0.38aA	23.73±0.32aA	22.83±1.58aA	24.57±0.75aA	24.40±2.14aA	29.87±1.60bA	44.37±1.75cC
Al_b	浙春 2 号	-	23.63±0.26aA	27.20±1.19abA	29.83±0.38abA	31.97±1.12bA	33.93±3.61bA	40.87±1.92cB	49.57±4.30dC
	Zhechun No.2	+	23.03±1.14aA	26.27±0.64abA	26.00±0.86abA	28.03±1.19bA	26.63±2.72abA	38.90±0.85cB	47.37±1.05dC
	浙春 3 号	-	27.13±0.15abA	26.50±1.00abA	25.60±1.60aA	31.77±1.77abAB	34.53±1.38bcAB	41.53±1.70cB	50.87±5.95dC
	Zhechun No.3	+	23.40±0.47aA	25.13±0.37aA	23.63±0.82aA	25.17±0.89aA	25.30±2.14aA	37.67±2.38bB	45.90±0.95cC
Al_c	浙春 2 号	-	52.97±0.23aA	47.47±1.14abAB	43.37±0.43abAB	41.20±1.16bAB	37.84±3.69bB	22.76±0.56cB	2.26±4.29dD
	Zhechun No.2	+	54.00±1.14aA	48.73±0.55abA	50.40±0.74abA	47.17±1.18bA	47.90±2.78abA	28.00±1.98cC	7.63±1.10dC
	浙春 3 号	-	46.50±0.33aA	48.50±1.80aA	51.13±0.80aA	41.13±1.84abAB	37.07±1.45bcAB	22.10±2.53bB	1.40±6.00dC
	Zhechun No.3	+	53.07±0.51aA	51.14±0.38aA	53.54±1.64aA	50.26±0.85aA	50.30±2.13aA	32.46±1.66cB	9.73±0.87cC

3 讨论和结论

铝对植物的影响主要体现为根系周边环境中的铝与植物根尖生长的相互作用^[13]。大豆根系铝毒害方面的研究,已有大量有关不同铝浓度对大豆一些生理特性的影响和大豆根系分泌柠檬酸等重要根系分泌物的影响等,而有关铝形态与植物铝毒害的关系研究,只报道过根际土壤铝形态与植物铝毒害的相互关系。直接从浓度和时间角度去探明大豆根尖细胞铝积累状况的研究尚未见报道,本研究结果表明,高铝浓度下,浙春 3 号比浙春 2 号根尖细胞细胞壁明显聚集了较多铝,虽然细胞壁铝的积累在一

定程度上阻止了铝进入植物细胞,但是细胞壁铝积累的越多,就意味着接着进入原生质体的可能性越大,对植物造成伤害是必然的。所以,荧光检测结果和相对铝含量结果是一致的。随着铝浓度的升高,2 个大豆品种根尖铝含量逐渐增加,但是越到高铝浓度,其增加幅度趋于平缓,但此时处理液中 Al_a 和 Al_b 含量明显增高(Al_c 显著下降单核铝(Al_a)和多核铝(Al_b)为活性铝,具有植物毒性, Al_c 为非活性铝,忽略其植物毒性)。不同时间铝处理下,浙春 3 号依然很显著地比浙春 2 号根尖积累更多的铝,但是铝积累的相对含量并没有随铝处理时间的延长呈现梯度变化,而是在现有浓度范围内出现波动状态,表

明植物在接触铝胁迫的初期,自身缓解铝毒是需要时间而且呈周期性波动的过程,由此表现出根尖铝积累的周期性起落。

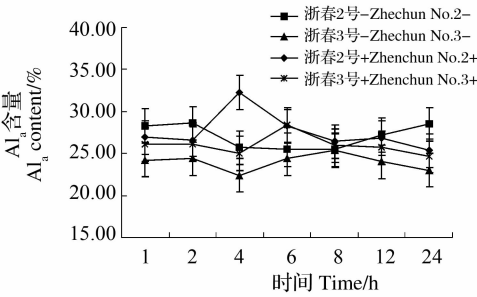


图 4 处理液中Al_a含量

Fig. 4 The content of Al_a in treated solution

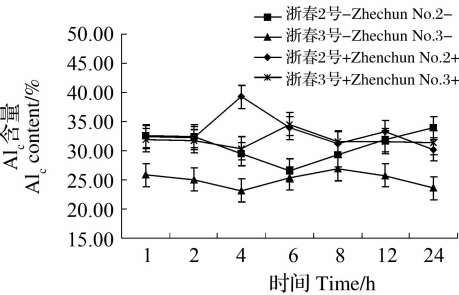


图 5 处理液中Al_b含量

Fig. 5 The content of Al_b in treated solution

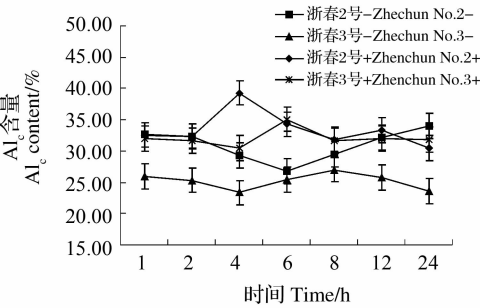


图 6 处理液中Al_c含量

Fig. 6 The content of Al_c in treated solution

外源柠檬酸的加入,总体上有利于大豆根系铝毒的缓解,比如发现浙春 2 号根尖细胞细胞壁的铝积累比浙春 3 号显著,且浙春 2 号的根尖铝含量明显高于浙春 3 号,不同于单铝处理状态;随时间和浓度变化,二品种根尖的铝积累不再呈现一定的规律;同时,浙春 2 号在低浓度和短时间铝处理时,比单铝处理下出现更高的铝积累量,处理液中的 Al_a也出现一定程度地增高。可以推测,浙春 2 号作为铝耐性品种,在铝胁迫下根系本身就能响应分泌大量的柠

檬酸,所以 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 外源柠檬酸的加入,在一定铝浓度和时间范围里,已经属于螯和铝的饱和状态,所以多余的柠檬酸势必会造成根系环境酸化,从而导致一定毒害效应。但 Yang 等^[14]研究表明,耐铝大豆品种根系柠檬酸的分泌是需要一定的铝诱导时间的,大概 4 h 左右,属于第二类分泌模式。由此看来,铝处理的 1,2 h 时,大豆根系并未达到柠檬酸的大量分泌时期,外源柠檬酸的加入不应该达到螯和铝的饱和状态。然而,大豆的耐酸铝性是由几个或多基因控制的,大豆耐酸铝性可能比小麦、水稻更复杂^[15]。因此在大豆基因型间存在不同的耐性机理是完全可能的。例如黄鹤等^[16]研究结果表明,耐铝大豆品种的 15 d 幼苗明显比敏感品种分泌更多的柠檬酸,但 10 和 20 d 的幼苗分泌的柠檬酸却少于敏感品种。5 d 的大豆幼苗在 15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铝处理下,耐性品种根尖铝含量明显低于敏感品种,但在 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铝处理下 20 d 苗龄的大豆耐性品种的主根根尖明显比敏感品种积累更多的铝。由此可见,大豆柠檬酸的分泌不仅仅存在品种的耐铝机制差异,还在很大程度上与实验设置(比如培养时间,铝浓度等)密切联系,而且还要考虑根系环境中的其他因素吸附位点对有机酸的吸附及微生物对有机酸的消耗。沈宏等^[17]水培试验结果表明,铝毒诱导菜豆柠檬酸的分泌与累积存在着显著的基因型差异。Al 浓度 $< 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,柠檬酸分泌量随 Al^{3+} 浓度的增大而增加; Al^{3+} 浓度在 50 ~ 80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,柠檬酸分泌量随 Al^{3+} 浓度的增大而减小。这与本研究对铝含量测定结果的解释相吻合。

由此可见,植物根尖细胞壁能够积累较多的铝,在接触铝胁迫的初期,自身缓解铝毒的机制是需要时间而且呈周期性波动的过程。浙春 2 号确实较浙春 3 号耐铝,但外源柠檬酸对铝敏感品种浙春 3 号的缓解效果强于浙春 2 号。外源柠檬酸的加入大大改变了大豆自身的耐铝能力,表明有机酸在一定程度上起到了缓减铝毒的作用,但是鉴于大豆等植物本身能响应铝胁迫分泌有机酸,所以超过一定比例的外源有机酸势必就会在某种程度上对植物产生新的酸化毒害。

参考文献

[1] Goh C H, Lee Y. Aluminum uptake and aluminum- induced rapid root growth inhibition of rice seedlings[J]. Journal of Plant Biology, 1999, 42(2) : 151- 158.

- [2] Ma J F, Ryan P R., Delhaize E. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids [J]. Plant Science, 2001, 6 (6): 273-278.
- [3] Blamey F P C, Edmeades D C, Wheeler D M. Role of root cation exchange capacity in differential aluminum tolerance of Lotus species [J]. Journal Plant Nutrition, 1990, 13: 729-744.
- [4] Rengel Z. Uptake of aluminum by plant cells [J]. New Phytologist, 1996, 134 (3): 389-406.
- [5] Comin J J, Barloy J, Bourrie G., et al. Differential effects of monomeric and polymeric aluminium on the root growth and on the biomass production of root and shoot of corn in solution culture [J]. European Journal of Agronomy, 1999, 11: 115-122.
- [6] Parker D R, Kinraide T B, Zelazny L W. Aluminum speciation and phytotoxicity in dilute hydroxy- aluminum solutions [J]. Soil Science American Journal, 1988, 52: 438-444.
- [7] Parker D R. Identification and quantification of " Al_{13} " tridecameric polycation using ferron [J]. Environment Science Technology, 1992, 26: 908-914.
- [8] Yang Z M, Sivaguru M, Horst W J, et al. Aluminium tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (*Glycine max*) [J]. Physiology Plant, 2000, 110: 72-77.
- [9] Ma J F, Hiradate S, Matsumoto H. High Aluminum Resistance in Buckwheat¹ II Oxalic Acid Detoxifies Aluminum Internally [J]. Plant Physiology, 1998, 117: 753-759.
- [10] 潘建伟. 大麦根尖和边缘细胞铝毒生物学特性及其机理研究 [D]. 浙江: 浙江大学, 2002: 27-29. (Pan J W. Biological characters and mechanisms of aluminum toxicity in the root tips and border cells of barley [D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2002: 27-29.)
- [11] Tamás L, Šimonovičová M, Huttová J, et al. Aluminium stimulated hydrogen peroxide production of germinating barley seeds [J]. Environmental and Experimental Botany, 2004, 51: 281-288.
- [12] 刘温霞, 隆言泉, 王启常, 等. 用 Al-Ferron 逐时络合比色法研究聚合硅酸硫酸铝的结构形态 [J]. 中国造纸学报, 2001, 16: 57-64. (Liu W X, Long Y Q, Wang Q C, et al. Study on the aluminium species of PASS by using Al-Ferron complex timed colorimetric method [J]. Transaction of China Pulp and Paper, 2001, 16: 57-64.)
- [13] 刘文新, 栾兆坤, 汤鸿霄. 铝的生物可给性及其生态效应研究进展 [J]. 应用生态学报, 1999, 10 (2): 251-254. (Liu W X, Luan Z K, Tang H X. Bio-availability of aluminum and its ecological effect-a review on related studies [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 1999, 10 (2): 251-254.)
- [14] Yang Z M, Nian H, Sivaguru M, et al. Characterization of aluminium-induced citrate secretion in aluminum tolerant soybean (*Glycine max* L.) plants [J]. Physiology Plant, 2001, 113: 64-71.
- [15] Kochian L V, Hoekenga O A, Pineros M A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency [J]. Annual Review Plant Biology, 2004, 55: 459-493.
- [16] 黄鹤, 年海. 菜用大豆在铝诱导下的柠檬酸分泌及铝积累特性 [J]. 华南农业大学学报, 2001, 22 (4): 19-21. (Huang H, Nian H. Characteristics of Al-induced citrate exudation and Al accumulation in vegetable soybean [J]. Journal of South China Agricultural University, 2001, 22 (4): 19-21.)
- [17] 沈宏, 严小龙, 郑少玲, 等. 铝毒胁迫诱导菜豆柠檬酸的分泌与累积 [J]. 应用生态学报, 2002, 13 (3): 307-310. (Shen H, Yan X L, Zheng S L, et al. Exudation and accumulation of citric acid in common bean in response to Al toxicity stress [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2002, 13 (3): 307-310.)

欢迎订阅 2009 年《中国生态农业学报》

《中国生态农业学报》由中国科学院遗传与发育生物学研究所和中国生态经济学会主办, 中国科学院主管, 科学出版社出版。中国科技核心期刊, 被美国化学文摘、国际农业生物学文摘、美国乌利希国际期刊指南以及中国科学引文数据库、中国期刊全文数据库等多家检索系统和数据库收录。荣获第三届、四届全国农业优秀期刊一等奖和首届北方优秀期刊奖, 连续三届获得河北省优秀期刊奖。

《中国生态农业学报》是报道农业生态学、生态学、农业资源与环境保护以及农业生态经济学等领域创新性研究成果, 以农业生态学为理论基础, 研究农业生态系统及其稳定发展理论与技术的学术期刊。适于从事农业生态学、生态学、生态经济学以及环境保护等领域科技人员、高等院校有关专业师生、农业及环境管理工作者和基层从事生态农业建设的广大技术人员阅读与投稿。

《中国生态农业学报》国内外公开发行, 国内刊号 CN13-1315/S, 国际刊号 ISSN1671-3990, 双月刊, 国际标准大 16 开本, 每期定价 35 元, 全年 210 元。邮发代号: 82-973, 全国各地邮局均可订阅。漏订者可直接汇款至编辑部补订 (需另加邮资 24.00 元)。

地址: (050021) 河北省石家庄市槐中路 286 号《中国生态农业学报》编辑部

电话: (0311) 85818007 传真: (0311) 85815093 E-mail: editor@sjziam.ac.cn