

# 铝胁迫对蚕豆幼苗生理的影响

苟本富 (重庆文理学院生命科学系, 重庆402160)

**摘要** [目的] 探讨铝胁迫对蚕豆幼苗生理的影响, 为揭示铝毒害植物机理提供依据。[方法] 用10、50、100、250、500、1 000 ng/L 浓度的铝溶液处理蚕豆种子, 研究铝胁迫对蚕豆种子萌发及幼苗生理的影响。[结果] 低浓度铝处理对蚕豆种子萌发、幼苗生长、根系生长均有一定的促进作用, 株高和鲜重增加, 根系活力增强, 可溶性蛋白含量增加; 高浓度铝胁迫对蚕豆生长的抑制作用较为明显。低浓度铝处理丙二醛含量变化很小, 其他处理丙二醛含量逐渐升高。叶绿素含量随铝浓度的增加而直线下降。高浓度铝胁迫过氧化物酶含量比对照增加较多, 1 000 ng/L 铝处理是对照的2.3倍。[结论] 铝胁迫对蚕豆生长的影响有两面性, 低浓度时起促进作用, 高浓度时有较明显的抑制作用。

**关键词** 铝胁迫; 蚕豆; 幼苗生长; 生理特性

中图分类号 S643.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)16-06643-03

## Influence of Aluminum Stress on the Physiology of Broad Bean Seedlings

GOU Benfu (Department of Life Science, Chongqing University of Arts and Sciences, Chongqing 402160)

**Abstract** [Objective] The purpose was to provide basis for revealing the toxicity mechanism on plant by aluminum. [Method] The broad bean seeds were treated with aluminum solutions at 0 (CK), 10, 50, 100, 250, 500 and 1 000 ng/L so as to study the influence of aluminum stress on the seed germination and seedling physiology of broad bean. [Result] The treatments with aluminum at low aluminum concentration had some promoting effects on the seed germination, seedling growth and root growth of broad bean, in which the plant height, fresh weight, root activity and the content of soluble protein were increased. The inhibition effects of treatments of aluminum stress with high concentration on the growth of broad bean were more significant. The malondialdehyde (MDA) content changed little in treatments with low aluminum concentration, and increased gradually in the other treatments. The chlorophyll content decreased linearly along with the increase of aluminum concentration. Compared with CK, the peroxidase content was increased more under aluminum stress with high concentration, and that in treatment with aluminum at 1 000 ng/L was 2.3 times of that in CK. [Conclusion] The influence of aluminum stress on the growth of broad bean had dual nature, with promoting effect at low concentration, and relatively significant inhibition effect at high concentration.

**Key words** Aluminum stress; Broad bean; Seedling growth; Physiological characters

铝是地壳中含量最丰富的金属元素之一, 通常以难溶性的硅酸铝或氧化铝形式存在于含铝矿物质中。土壤溶液中的铝包括铝离子、交换性铝、活性羟基铝、有机络合态铝和无机铝络合物等, 其中, 交换性铝、活性羟基铝以及铝离子被称为土壤高活性铝, 对植物生长的影响较大, 是导致植物铝中毒的主要原因之一<sup>[1]</sup>。酸雨是促进土壤酸化的因素, 也是导致铝溶出的重要原因, 而铝溶出又使酸雨的危害更加严重。我国酸性土壤遍及10多个省市, 尤其是我国长江以南地区广泛分布着以红壤为主的酸性富铝化土壤, 因而在生产中经常发生铝毒害严重影响农作物产量和品质的现象。目前, 有关铝对植物胁迫毒害作用的研究已有较多报道<sup>[2-6]</sup>, 但还未形成统一的理论, 尤其是植物抗铝毒和铝对植物胁迫的机理尚不清楚。笔者以蚕豆为材料, 探讨了铝胁迫对蚕豆幼苗生理的影响及蚕豆抗铝毒的机制, 为揭示铝毒害植物的机理提供理论论据, 以提高蚕豆耐铝毒的能力, 从而更好地防治铝对植物的毒害, 达到提高蚕豆产量的目的。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 蚕豆新品种启动5号, 购于重庆市永川区种子公司。

**1.2 试验设计** 选取大小一致的蚕豆种子, 氯化汞消毒后用无菌水清洗, 然后用10、50、100、250、500、1 000 ng/L 的铝溶液分别处理蚕豆种子, 每组处理20颗, 重复5次, 另外设置1个对照组, 用清水处理蚕豆种子。首先用各种不同浓度的铝溶液浸泡种子24 h, 然后播种于温室中(25℃)培养, 光照12 h/d, 用100 ml 相应浓度的溶液喷洒。

**1.3 测定项目及方法** 种子播种后, 每24 h 观察1次发芽

情况。第7天统计所有处理种子的平均发芽率, 测定各处理幼苗的株高、根长及鲜重; 第10天进行根系活力、叶绿素含量、可溶性蛋白质含量、丙二醛含量和过氧化物酶活性等相关生理指标的测定。

**1.3.1 根系活力的测定。** 采用TTC法<sup>[7]</sup>测定。每个浓度取根样品适量, 放入小培养皿中(空白试验先加硫酸再加入根样品, 其他操作相同), 加入质量分数为0.4%的TTC和磷酸缓冲液的等量混合液, 37℃暗培养1 h, 然后加入1 ml/L 硫酸。把根取出, 吸干后加乙酸乙酯, 在分光光度计485 nm 下比色, 以空白为参比, 根据标准曲线, 计算四氮唑还原值。

**1.3.2 叶绿素含量的测定。** 采用乙醇法测定。取剪碎的新鲜叶片放入研钵, 加少量石英砂和碳酸钙及乙醇, 研磨, 最后用乙醇过滤、定容。在分光光度计665、649、470 nm 下测吸光度, 计算叶绿素含量。

**1.3.3 可溶性蛋白含量的测定。** 首先制作标准曲线, 然后称取叶片, 用少量蒸馏水研磨成匀浆, 放置1 h 充分提取, 4 000 r/min 离心20 min, 弃去沉淀将上清液定容, 吸取相应提取液加入相应考马斯亮蓝充分混合, 在595 nm 下比色, 测定吸光度, 根据标准曲线计算可溶性蛋白含量。

**1.3.4 丙二醛含量的测定。** 称取剪碎的叶片, 加入TCA 和少量石英砂, 研磨至匀浆, 再加TCA 研磨成匀浆, 4 000 r/min 离心, 上清液为样品提取液。吸取上清液(对照加蒸馏水), 加TBA 于沸水浴中反应15 min, 迅速冷却再离心, 取上清液在450、532、600 nm 下测消光度。

**1.3.5 过氧化物酶活性的测定。** 称取叶片5 g, 放入研钵中, 加入少量磷酸缓冲液研磨成匀浆, 4 000 r/min 离心10 min, 上清液定容至25 ml。反应体系在37℃水浴中保温15 min, 然后加TBA 终止反应, 在470 nm 下测吸光度。

## 2 结果与分析

**2.1 铝胁迫对蚕豆种子萌发的影响** 由图1可知, 与对照

基金项目 重庆文理学院科研项目(Y2005SK38、Y2007SK45)。

作者简介 苟本富(1968-), 男, 四川巴中人, 副教授, 从事应用分子生物学方面的研究。

收稿日期 2008-03-28

相比,10 和 50 mg/L 铝溶液处理对蚕豆种子萌发有一定的促进作用,100、250 mg/L 铝溶液处理的萌发率有所降低,500 和 1 000 mg/L 铝溶液处理的种子萌发率与对照差异明显,降低了 10% 左右。这说明低浓度铝处理对蚕豆种子萌发有一定的促进作用,高浓度(尤其是 500 和 1 000 mg/L)铝胁迫降低蚕豆种子的萌发率。

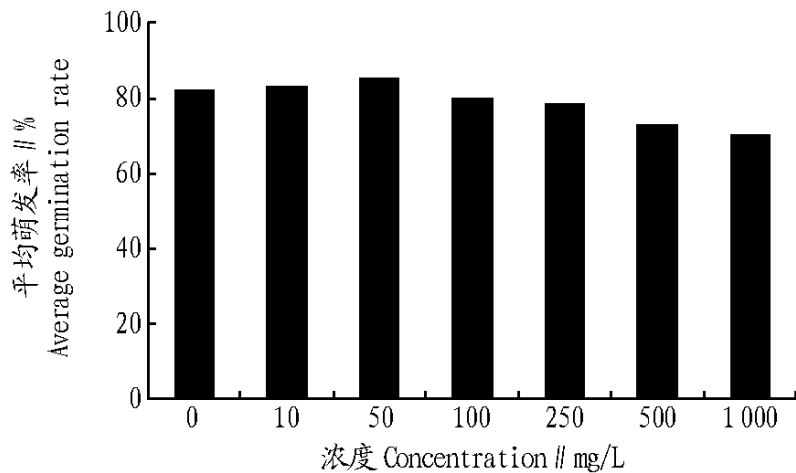


图1 铝胁迫对蚕豆种子萌发率的影响

Fig.1 Effects of aluminum stress on seed germination rate of broad bean

**2.2 铝胁迫对蚕豆幼苗株高和鲜重的影响** 由图2、3可知,低浓度铝处理对蚕豆幼苗生长有一定的促进作用,株高和鲜重都有所增加,高浓度铝处理有毒害作用,株高和鲜重都明显下降。这说明低浓度铝 50 mg/L 以下对植物生长是有利的,而高浓度铝的毒害作用较明显,可能是由于铝过多破坏了植物内部的平衡,植物酶活性发生了变化,使一些蛋白合成受到影响,因此影响植物鲜重,光合作用所需酶的合成受到影响,也会影响植物的代谢过程,从而影响植物生长。

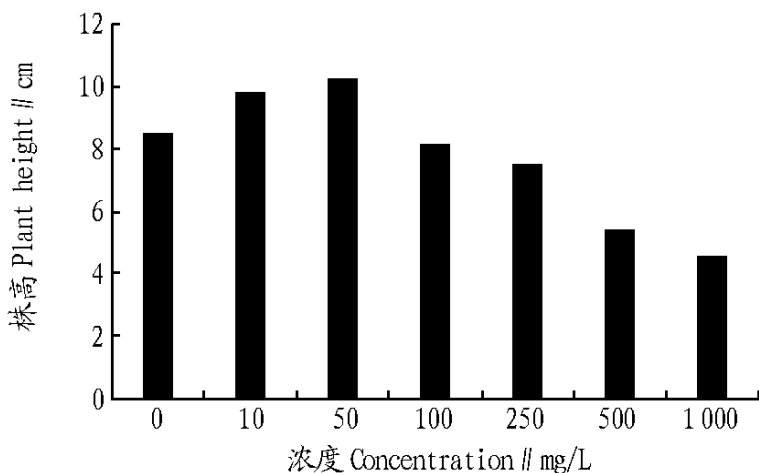


图2 铝胁迫对蚕豆幼苗株高的影响

Fig.2 Effects of aluminum stress on plant height of broad bean seedlings

**2.3 铝胁迫对蚕豆幼苗根系的影响** 由图4可知,低浓度(10 和 50 mg/L)铝处理对蚕豆根系生长有一定的促进作用;100 mg/L 铝溶液处理的根系生长虽有所降低,但仍比对照高;而 500、1 000 mg/L 铝溶液处理的根系最短,约为对照的 50%,说明高浓度的铝胁迫对根系生长有明显的抑制作用。

由图5可知,低浓度铝处理时蚕豆幼苗根系活力有所增强,表明蚕豆在此浓度范围内具有抗铝毒的能力,并表现出更强的生命力,但随着铝浓度的增加,其不足以抵抗铝毒,所以根系活力降低。

**2.4 铝胁迫对蚕豆幼苗叶绿素含量的影响** 由图6可知,铝处理使蚕豆叶片的叶绿素含量呈直线下降,随铝浓度的增加叶绿素含量逐渐降低,表明铝毒害降低叶绿素含量,进而

影响作物的光合作用。铝毒害对叶片在短期内没有影响,一定时间后才表现出明显的影响,即长期效应。从表面看,低浓度处理的叶片变化不大,高浓度铝处理叶片长势较差,且随着时间的延长,少量叶片有萎谢现象。

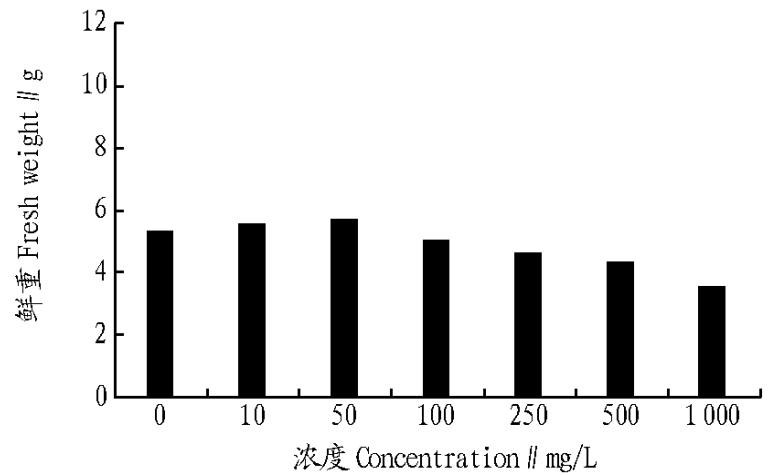


图3 铝胁迫对蚕豆幼苗鲜重的影响

Fig.3 Effect of aluminum stress on fresh weight of broad bean seedlings

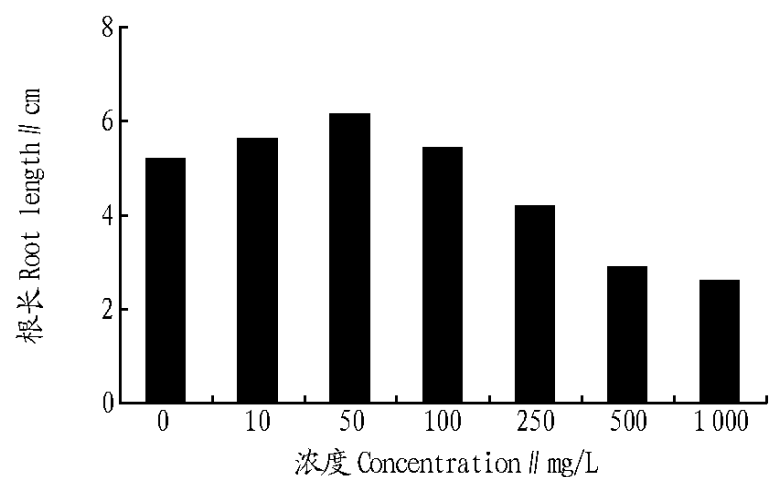


图4 铝胁迫对蚕豆幼苗根长的影响

Fig.4 Effects of aluminum stress on root length of broad bean seedlings

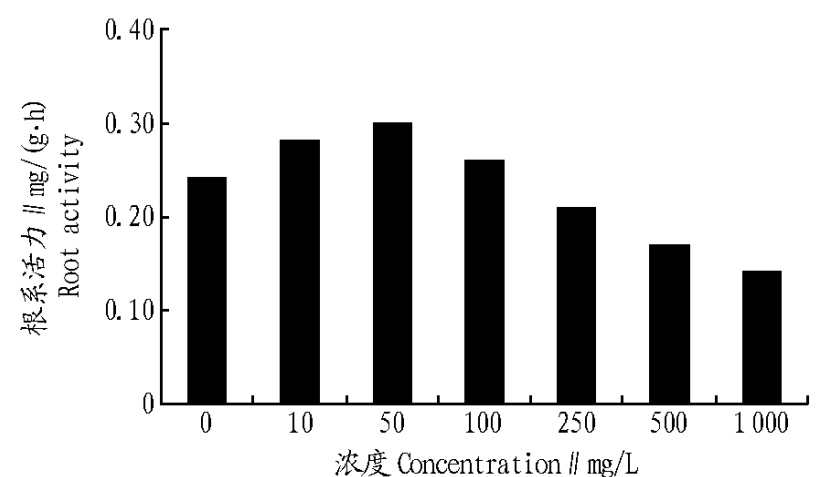


图5 铝胁迫对蚕豆幼苗根系活力的影响

Fig.5 Effects of aluminum stress on root activity of broad bean seedlings

**2.5 铝胁迫对蚕豆幼苗可溶性蛋白含量的影响** 由图7可知,低浓度(10、50 mg/L)铝处理的蚕豆幼苗可溶性蛋白含量有所增加,高浓度处理的蚕豆幼苗蛋白含量呈下降趋势。可溶性蛋白含量的变化反映植物生长情况的变化。植物在适宜的铝浓度下,其蛋白含量增加,表明此时铝对蚕豆生长有促进作用;高浓度铝条件下,蚕豆幼苗蛋白含量降低,说明铝对蚕豆生长有胁迫作用。这是由于植物在逆境条件下,体内蛋白质、碳水化合物等分解加快而使其合成受到抑制。

**2.6 铝胁迫对蚕豆幼苗丙二醛含量的影响** 由图8可知,低浓度铝处理(10 mg/L)的蚕豆幼苗丙二醛含量变化很小,

只有少许升高,可能是因为适量铝对叶片细胞膜脂过氧化起抑制作用,轻度铝胁迫下,膜脂过氧化程度较低,植物可通过提高保护酶的活性来防止膜脂过氧化加剧,抑制铝胁迫对细胞的伤害,从而对细胞膜起一定的保护作用。其余处理的幼苗丙二醛含量逐渐升高,而丙二醛是膜脂氧化的主要产物之一,其积累是活性氧毒害作用的表现,其含量可以表示脂质过氧化的程度,因此丙二醛含量不断增加,植物受到的伤害将逐渐增大。

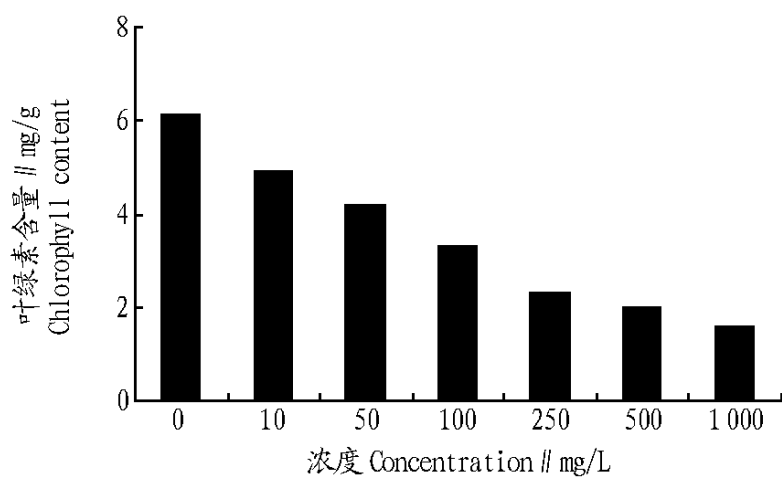


图6 铝胁迫对蚕豆幼苗叶绿素含量的影响

Fig.6 Effects of aluminum stress on chlorophyll content of broad bean seedlings

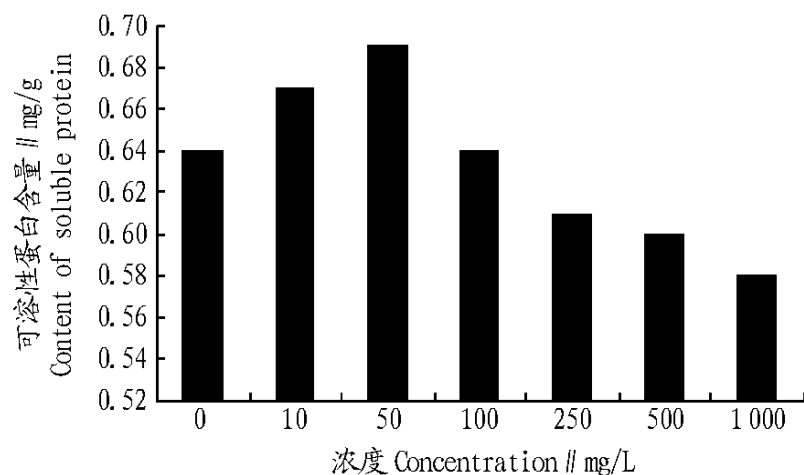


图7 铝胁迫对蚕豆幼苗可溶性蛋白含量的影响

Fig.7 Effects of aluminum stress on soluble protein content of broad bean seedlings

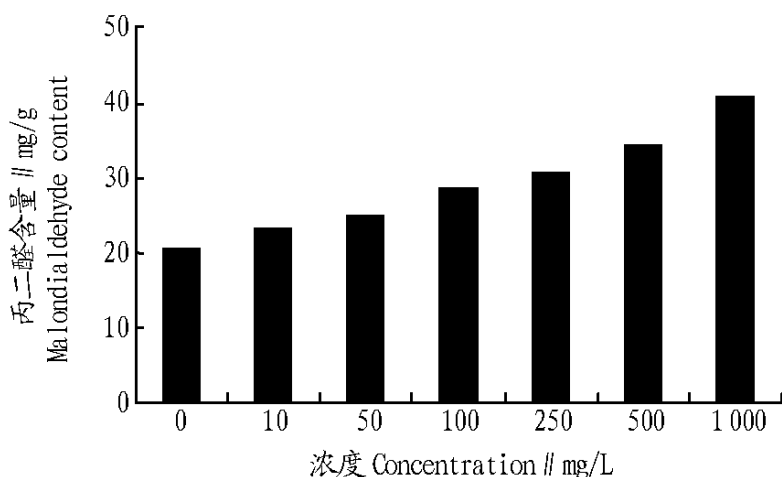


图8 铝胁迫对蚕豆幼苗丙二醛含量的影响

Fig.8 Effects of aluminum stress on malondialdehyde content of broad bean seedlings

**2.7 铝胁迫对蚕豆幼苗过氧化物酶活性的影响** 由图9可知,铝处理的蚕豆幼苗过氧化物酶含量均比对照高。过氧化物酶是植物体内的保护酶,当植物在逆境中时,其含量会升高<sup>[5]</sup>。低浓度处理的过氧化物酶含量随浓度升高而上升,但相差较小,表明植物在低浓度铝处理时受铝毒害不是很严重。与对照相比,高浓度处理的过氧化物酶含量增加较多,

尤其是1 000 mg/L处理是对照的2.3倍,表明该组植株受铝毒危害较严重。

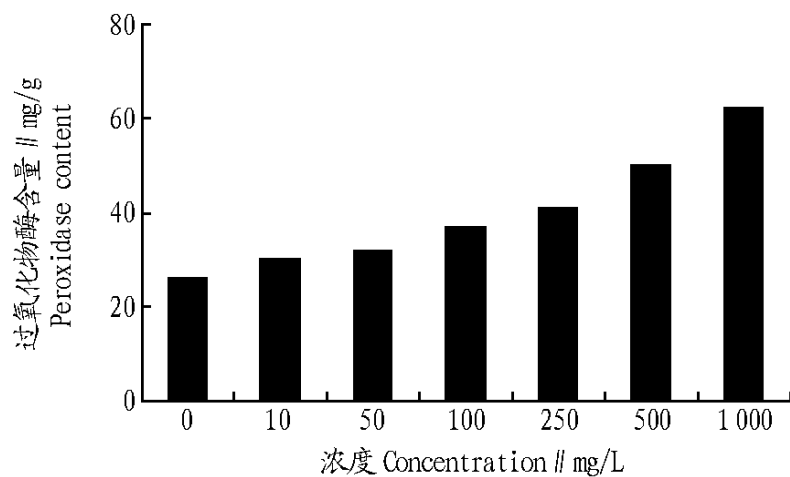


图9 铝胁迫对蚕豆幼苗过氧化物酶含量的影响

Fig.9 Effects of aluminum stress on peroxidase content of broad bean seedlings

从过氧化物酶含量的变化可以看出过氧化物酶活性的变化,其变化又与丙二醛含量的变化一致,这2种物质都是反向说明铝毒作用,其含量的升高,正是植物受铝毒危害的表现。当植物处于逆境时,植物体内的保护性物质的含量增加,以此抵抗铝的毒害作用。但是,当铝浓度过高时,过氧化物酶含量的增加也不能抵抗铝对蚕豆幼苗的毒害作用,表明此时已经超出酶的防御能力。所以,高浓度铝胁迫时过氧化物酶和丙二醛含量增加。

### 3 结论与讨论

(1) 通过对蚕豆种子萌发率、幼苗根系活力、株高及鲜重的研究,发现铝对蚕豆生长的影响表现出两面性,即低浓度时,对蚕豆生长有一定的促进作用;高浓度时,有较明显的抑制作用。植物对铝的吸收是由根系完成的,在逆境下,根系是最敏感的器官,所以铝毒害最容易识别的症状就是根生长受抑制<sup>[6]</sup>。高浓度(高于50 mg/L,特别是500和1 000 mg/L)处理的根明显变短,呈褐色,皱缩状,与对照相比表现出明显的毒害作用,继而抑制幼苗生长,使幼苗植株变得矮小,鲜重也随之降低。

(2) 铝胁迫对作物的影响主要表现在内部生理生化指标的变化。通过铝胁迫对蚕豆幼苗叶绿素含量、可溶性蛋白含量、丙二醛含量和过氧化物酶活性影响的研究发现,少量铝处理使蚕豆幼苗的叶绿素含量下降,高浓度处理严重影响了叶绿素含量,从而降低了植物的光合速率,不利于作物的生长。铝胁迫对蚕豆幼苗蛋白质含量的影响也较为明显,低浓度处理使蚕豆幼苗可溶性蛋白含量增加,高浓度处理使蚕豆幼苗蛋白含量明显降低,主要是由于植物处于逆境中时,可溶性蛋白的合成下降。丙二醛(MDA)是膜脂氧化的主要产物之一,其积累是活性氧毒害作用的表现,结果表明,低浓度铝处理(10 mg/L)使蚕豆幼苗丙二醛含量变化较小,高浓度处理的幼苗丙二醛的含量逐渐升高,表明在铝胁迫下,膜脂过氧化加剧,植物的保护酶系统不足以抵抗铝胁迫而使细胞受到伤害,不利于蚕豆的生长。该研究中,铝处理的蚕豆幼苗过氧化物酶含量均比对照高,低浓度处理随浓度升高而逐渐上升,高浓度处理(1 000 mg/L)是对照的2.3倍。过氧化物酶被认为是保护酶,作物在逆境中其含量的升高有利于细胞生长。这也表明了铝对蚕豆生长的毒害作用,但相关机理

前对壳聚糖的试验研究主要集中在种子处理以提高植物园艺性状<sup>[11]</sup>,将壳聚糖应用于组织培养尚属首次。

表4 壳聚糖水溶液浸种对愈伤组织诱导的影响

Table 4 Effects of soaking seeds with chitosan solution on the rate of callus induction

%

添加物 Additive	MS 出愈率 MS callus rate	N6 出愈率 N6 callus rate	B5 出愈率 B5 callus rate
2,4 D2	74.67	80.00	50.67
2,4 D2 + chitosan 100	78.67	85.33	53.33
2,4 D2 + chitosan 500	85.33 <sup>*</sup>	81.33	56.00
2,4 D2 + chitosan 1000	80.00	86.67 <sup>*</sup>	57.33 <sup>*</sup>
2,4 D2 + chitosan 2000	81.33 <sup>*</sup>	82.67	49.33
2,4 D2 + chitosan 4000	70.67	78.67	45.33

表5 壳聚糖的添加对愈伤组织分化的影响

Table 5 Effects of adding chitosan on the rate of callus differentiation

%

添加物 Additive	MS 分化率 MS differentiation rate	N6 分化率 N6 differentiation rate	B5 分化率 B5 differentiation rate
6-BA2 + NAA 0.5	27.50	20.00	5.00
6-BA2 + NAA 0.5 + chitosan 100	27.50	22.50	7.50
6-BA2 + NAA 0.5 + chitosan 500	32.50	25.00	7.50
6-BA2 + NAA 0.5 + chitosan 1000	35.00 <sup>*</sup>	17.50	10.00
6-BA2 + NAA 0.5 + chitosan 2000	30.00	20.00	12.50 <sup>*</sup>
6-BA2 + NAA 0.5 + chitosan 4000	25.00	22.50	2.50

(2) 在培养基中直接添加壳聚糖或用壳聚糖水溶液浸种后,狗牙根种子愈伤组织诱导率和分化率均有显著提高,其中在 N6 培养基中,直接添加 2 g/L 壳聚糖时,出愈率高达 88%,经继代后的愈伤组织在含 1 g/L 壳聚糖的 MS 培养基中分化率达到 35.00%。结果表明壳聚糖可能成为提高草坪草组织培养效率的调节剂。在壳聚糖种子处理试验中,壳聚糖水溶液较多地被采用,但试验结果表明在培养基中直接添加壳聚糖对愈伤组织诱导率的促进作用更加明显,这可能由于在组织培养过程中,培养基经过高压灭菌,使壳聚糖或部分壳聚糖物理降解,更加有利于植物组织培养。所以在培养基中直接添加壳聚糖粉末是有效的优化愈伤组织诱导及再生方法。

(3) 壳聚糖对愈伤组织诱导的促进作用可能通过多种途径实现。有文献报道壳聚糖溶液浸种能提高烟草种子活力,促进幼苗生长,可提高呼吸速率、幼苗可溶性蛋白含量及过氧化物酶、硝酸还原酶及淀粉酶活性<sup>[12]</sup>。杨越冬等研究发现,玉米、小麦、花生以壳聚糖浸种,可明显提高萌发种子胚乳和幼苗中 GA<sub>3</sub>、IAA 含量<sup>[13-15]</sup>。壳聚糖溶液浸泡可使烟草叶、沿街草、早熟禾、蚕豆和小麦叶片细胞膜透性增加<sup>[16-17]</sup>。壳聚糖处理对结缕草种子愈伤组织的诱导率和分化率的提高,也可能是通过酶活性、内源激素变化来作用的,相关研究正在进行中。

#### 参考文献

[1] 刘建秀,周久亚,郭海林,等.草坪·地被植物·观赏草[M].南京:东南大

学出版社,2001:3-4.

- [2] ATKIN R K, BARTON G E. The establishment of tissue culture of temperate grasses[J]. J Exp Bot, 1973, 24: 689-699.
- [3] 白昌军,韦家少,蔡黎云.暖季型草坪草品种选育及开发利用研究[J].草业科学,1997(6):61-70.
- [4] 陈志一,顾立新.草坪草自然地带分类初探[J].草业科学,1999(1):54-59.
- [5] AHN B J, HUANG F H, KING J W. Regeneration of bermudagrass cultivars and evidence of somatic embryogenesis[J]. Crop Science, 1987, 27(3): 594-597.
- [6] 单兰兰,毛碧增,夏波,等.草坪草组织培养和遗传转化研究进展.热带农业科学,2005,25(4):70-74.
- [7] 胡张华,陈火庆,吴关庭,等.百慕大成熟胚的组织培养及植株再生[J].草业学报,2003,12(1):85-89.
- [8] 余叔文.植物生理与分子生物学[M].北京:科学出版社,1992:37-52.
- [9] 张志豪.激素对兰引1号草坪草型狗牙根愈伤组织及器官形成的影响[J].草业科学,1996,13(2):45-47.
- [10] 柴建萍,白兴荣,谢道燕.壳聚糖——一种极具开发利用价值的活性物质[J].云南农业科技,2005(1):26-27.
- [11] 陈惠萍,徐朗莱.壳聚糖调节植物生长发育及诱发植物抗病性研究进展[J].云南植物研究,2005,27(6):613-619.
- [12] 张燕,方力,王宝.壳聚糖对烟草种子萌发及幼苗生理生化特性的影响[J].吉林农业大学学报,1998,20(3):28-30.
- [13] 杨越冬,张智猛,周永国,等.壳聚糖对玉米种子萌发和幼苗生长过程中生理活性的影响[J].河北职业技术学院学报,2001,15(4):9-12.
- [14] 杨越冬,周永国,齐印阁,等.壳聚糖对冬小麦种子萌发过程中生理活性影响[J].种子,2002(3):3-5.
- [15] 周永国,杨越冬,齐印阁,等.壳聚糖对花生种子萌发过程中某些生理活性的影响[J].花生学报,2002,31(1):22-25.
- [16] 李荣贵,黄祥辉,张志良.脱乙酰几丁质对烟草叶片一些生理生化特性的影响[J].华东师范大学学报,1997(3):69-74.
- [17] 巫钢,张志良,张利华,等.脱乙酰几丁质的制备及其对细胞透性和脱乙酰几丁质酶活性的影响[J].华东师范大学学报,1995(2):102-106.

(上接第6645页)

尚不清楚,还有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] WRIGHT R J. 土壤铝毒与植物生长[J].土壤学进展,1992,20(2):29-33.
- [2] 刘鹏,徐根娣,姜雪梅.铝对大豆种子萌发的影响[J].种子,2003,127(1):30-32.

- [3] 黄咏梅.花生铝毒害的生理生化特性研究[D].桂林:广西大学,2005.
- [4] 王芳,刘鹏,徐根娣,等.铝对荞麦生理影响的研究[J].农业环境科学学报,2005,24(4):678-681.
- [5] 杨振德,方小荣,牟继平.铝对桉树幼苗生长及某些生理特性的影响[J].广西科学,1996,3(4):30-33.
- [6] 刘鹏, YANG Y S, 徐根娣,等.铝胁迫对大豆幼苗根系形态和生理特性的影响[J].中国油料作物学报,2004,26(4):49-54.
- [7] 郝再彬,苍晶,徐仲.植物生理实验[M].哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2004.