

铝胁迫对萝卜种子萌发及生理特性的影响

于喜凤,陈菲菲,安大道,张建民
(山东大学 海洋学院,山东 威海 264209)

摘要:为了探究铝胁迫对植物生长发育的影响,以萝卜(*Raphanus sativus* L.)为材料,用不同浓度(0、10、20、30、40、50、60 mg·L⁻¹)铝溶液培养萝卜幼苗。结果表明:在不同浓度铝溶液的胁迫下,蛋白质含量随 Al³⁺ 浓度的升高先增加后减少;铝胁迫会促进叶绿素的合成,当铝溶液浓度为 10 mg·L⁻¹ 时促进作用最明显,而且叶绿素含量的变化会使可溶性糖的含量受到影响;浓度为 30 mg·L⁻¹ 的铝溶液培养的萝卜幼苗核酸含量相对较少,受核酸含量的影响,萝卜幼苗在铝溶液浓度为 30 mg·L⁻¹ 时最矮。

关键词:铝胁迫;萝卜;生理特性

中图分类号:S631.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)11-0094-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.11.0094

铝(Al)是地壳中含量最丰富,分布最广的金属元素,其含量约占地壳金属元素总量的 7% 左右^[1],通常情况下以难溶性硅酸盐或氧化铝形式存在,对植物没有毒害。但在酸性土壤中,土壤吸收性复合体接受了一定数量交换性氢离子或铝离子,使土壤中碱性(盐基)离子淋失^[2],铝便以有毒性的 Al³⁺ 形式存在于土壤中,对植物造成危害^[3],并且不同浓度的 Al³⁺ 对植物的影响也不一样。由于酸沉降、肥料的不合理施用、连作及种植致酸作物使得土壤酸化问题加剧,我国土壤酸化呈现面积大、分布广、酸化程度高及危害大等特点^[2]。酸铝对植物的毒害作用越来越明显。研究发现,铝最初的作用位点是根尖^[4],且植物对铝具有吸收富集的作用^[5]。萝卜作为一种以肉质根为主要食用部位的蔬菜作物,具有很高的营养价值。所以把萝卜作为试验材料,探讨铝胁迫对萝卜幼苗生长早期及生理特性的影响对于研究土壤酸化对植物生长的影响有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 材料

供试品种为潍县青萝卜(*Raphanus sativus* L.),产地为青岛胶州。选取饱满度和整齐度都较高的种子用于试验。

试验试剂由 Al(NO₃)₃·9H₂O 晶体溶于水制成。

1.2 方法

1.2.1 播种与培养 随机挑选大小一致,饱满度相同的萝卜种子。共有 7 个浓度梯度,分别为 0(CK)、10、20、30、40、50、60 mg·L⁻¹,每浓度 3 次重复。每个培养皿播种 50 粒种子,每天分别用对照及 6 种不同浓度的铝溶液处理,保持相应组萝卜种子湿润状态,于实验室自然环境下进行培养。

1.2.2 生理生化的测定 播种 3 d 后记录种子正常发芽粒数,算出发芽势;5 d 后记录种子全部正常发芽粒数并计算发芽率。从第 5 天起开始测量萝卜幼苗的生长量(株高),每隔 24 h 测量 1 次,一共测量 5 次。约 14 d 后开始测量细胞内含物,即可溶性糖、蛋白质、叶绿素、核酸含量的生理指标。

①萝卜种子发芽势、发芽率、萝卜幼苗生长势的计算。

种子发芽势(%)=(发芽势天数内的正常发芽粒数/供试种子粒数)×100

种子发芽率(%)=(全部正常发芽粒数/供试种子粒数)×100

②幼苗长度。从第 5 天起每天每组随机抽取 15 株萝卜幼苗测定株高,一共测量 5 d,最后求出各组 5 d 的平均株高值。

③可溶性糖含量的测定。取经过不同浓度铝溶液处理的萝卜幼苗 1 g。置于 50 mL 锥形瓶中,加入 25 mL 蒸馏水,在水浴锅中沸水浴 10 min,待冷却后进行过滤。将滤液定容至 100 mL,取 1 mL 定容后的溶液与 5 mL 萘酮溶液于试管中,摇匀后沸水浴 10 min,冷却,于波长 625 nm 测定溶液的透光度。

收稿日期:2016-10-16

第一作者简介:于喜凤(1995-),女,山东省潍坊市人,在读学士,从事海洋资源研究。E-mail:17862706979@163.com。

通讯作者:张建民(1958-),男,山东省单县人,教授,从事分子生物学研究。E-mail:zhangjianmin@sdu.edu.cn。

④可溶性蛋白质含量的测定。取不同浓度铝溶液处理后的萝卜幼苗1 g置于研钵中研磨,加入4 mL蛋白质抽提 Buffer,4 000 r·min⁻¹离心20 min,取上清液1 mL与4 mL双缩脲试剂混合,25℃水浴30 min,冷却后于波长550 nm测定溶液的透光度。

⑤叶绿素含量的测定。取不同浓度铝溶液处理后的萝卜幼苗1 g加入石英沙和10 mL丙酮,研磨,液体过滤,滤液在波长分别为663 nm和645 nm测定透光度。

⑥核酸含量的测定。取不同浓度铝溶液处理的萝卜幼苗0.5 g,加入核酸提取缓冲液10 mL,在冰上研磨,3 000 r·min⁻¹离心10 min,取沉淀加入乙醇:乙醚:氯仿(2:2:1)5 mL,静止15 min。3 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液加入5 mL 5%三氯乙酸,60℃下水浴30 min。在波长268.5 nm测定溶液的透光度。

2 结果与分析

2.1 不同浓度铝溶液对萝卜种子发芽势和发芽率的影响

由图1可以看出,经不同浓度的Al³⁺溶液处理后,种子发芽势与发芽率在Al³⁺浓度为60 mg·L⁻¹时与对照组相比有所增加,其余组则无明显变化。经过方差分析各组差异不显著($P>0.05$)。由此可见,Al³⁺对萝卜种子萌发阶段的影响不明显。

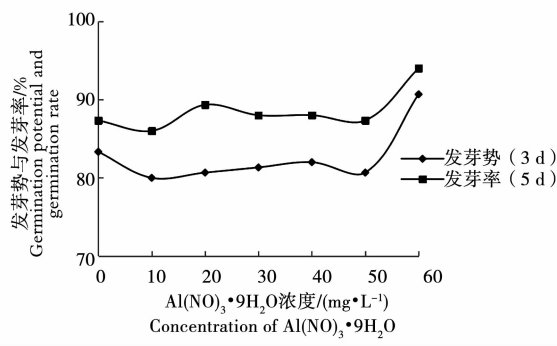


图1 不同浓度的铝溶液处理萝卜种子后发芽率和发芽势的比较

Fig. 1 Germination potential and germination rate of radish seed under different concentration of aluminum solution

2.2 不同浓度铝溶液对萝卜幼苗生长量的影响

由图2可以看出,当铝溶液浓度为30 mg·L⁻¹,受铝胁迫的影响,萝卜幼苗最矮,平均株高要小于对照组,表现出铝对萝卜幼苗生长的抑制作用。而在铝溶液浓度为60 mg·L⁻¹时,萝

卜幼苗的平均株高值达到最大,表现出铝对萝卜幼苗生长的促进作用。

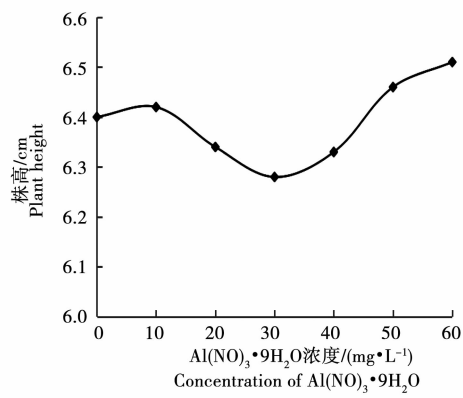


图2 不同浓度的铝溶液处理萝卜幼苗后株高的变化

Fig. 2 Change of plant height under different concentration of aluminum solution

2.3 不同浓度铝溶液对萝卜幼苗内含物含量的影响

2.3.1 不同浓度铝溶液对萝卜幼苗可溶性糖含量的影响 由图3可看出,当铝溶液浓度不超过30 mg·L⁻¹时,试验组中萝卜幼苗的可溶性糖含量高于对照组,其中,当Al³⁺浓度为10 mg·L⁻¹时,可溶性糖含量最多;当浓度高于30 mg·L⁻¹时可溶性糖的含量与对照组相比明显减少,在Al³⁺浓度为40 mg·L⁻¹时,可溶性糖含量最少,体现了铝作用的双面性^[6]。同时可以判断经浓度为10 mg·L⁻¹的铝溶液处理的萝卜幼苗光合作用能力相对较强,而经浓度为40 mg·L⁻¹的铝溶液处理的萝卜幼苗光合作用能力相对较弱。

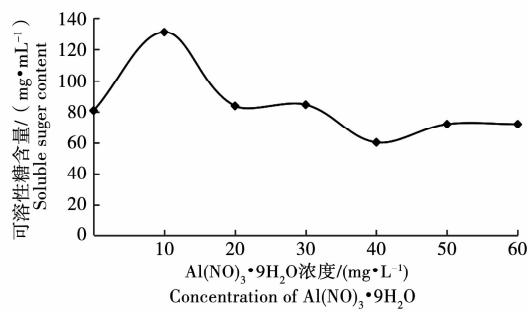


图3 不同浓度铝溶液处理萝卜幼苗后可溶性糖的含量变化

Fig. 3 Change of soluble sugar content under different concentration of aluminum solution

2.3.2 不同浓度铝溶液处理萝卜幼苗后蛋白质的含量 由图4可看出,各试验组蛋白质的含量均高于对照组,可见铝胁迫会增加萝卜幼苗中蛋

白质的含量,但不同浓度的铝溶液对蛋白质含量增加的促进作用不同,当浓度为 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时最为明显。可溶性蛋白是以小分子状态溶于水或其它溶剂的蛋白,其含量的增加是胁迫环境下植物渗透调节的重要手段(维持细胞正常的渗透势)^[7],所以在铝胁迫下的各试验组萝卜幼苗的含量均高于对照组。铝溶液浓度在小于 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,随着硝酸铝溶液浓度的增大,对幼苗生长的抑制作用增大,从而使可溶性蛋白质含量相对增加以维持细胞的正常生长。当硝酸铝溶液的浓度超过 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,整体表现为下降的趋势,试验结果与张华宁等的结果基本一致^[8]。随着铝胁迫的加强,蛋白质合成酶活性下降,分解酶活性上升,最终导致可溶性蛋白质含量降低^[9]。

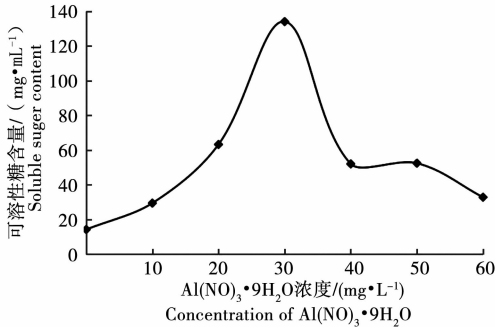


图 4 不同浓度铝溶液处理萝卜幼苗后蛋白质的含量变化

Fig. 4 Change of protein content under different concentration of aluminum solution

2.3.3 不同浓度的铝溶液对萝卜幼苗中叶绿素含量的影响 从图 5 中可以看出,所有试验组的叶绿素 b 的含量都低于叶绿素 a,而且试验组的叶绿素含量(包括叶绿素总量,叶绿素 a,叶绿素 b)均比对照组的叶绿素含量高。可见铝胁迫会对叶绿素含量的增加起到一定的促进作用,当铝溶液浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时促进作用最明显,从而可以推断出浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的铝溶液培养的萝卜幼苗光合作用可能最强。这与可溶性糖含量的变化相似,由此可见,铝会通过影响幼苗叶绿素合成的来间接影响可溶性糖的含量。有研究表明,铝胁迫会通过降低光合色素含量或降低其利用率来阻碍叶片捕获光能,从而对光合作用产生不利影响^[10]。从图 3 中可以看出,试验组的可溶性糖含量虽然跟叶绿素含量起伏变化一致,但其含量并未因此升高,所以铝胁迫也会降低叶绿素的利用率。

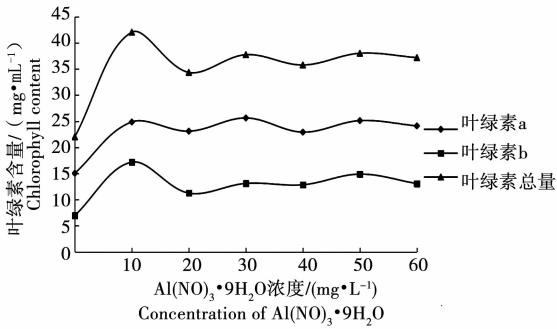


图 5 不同浓度铝溶液处理萝卜幼苗后叶绿素的含量变化

Fig. 5 Change of chlorophyll content under different concentration of aluminum solution

2.3.4 不同浓度的铝溶液对萝卜幼苗中核酸含量的影响 由图 6 可看出,当铝溶液浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,铝对萝卜幼苗中核酸含量几乎无影响,DNA 是主要的遗传物质,代谢稳定,故在浓度较低($10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的铝的胁迫下其含量不会有明显变化^[11];当铝溶液浓度为 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时核酸含量最少,浓度为 $60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时核酸含量最多;此变化趋势与萝卜幼苗株高的变化趋势基本一致。有研究表明,在用铝溶液处理的植物中,铝会抑制 DNA 复制,破坏有丝分裂纺锤丝,严重抑制有丝分裂过程,抑制细胞的分裂^[12]。由此推断,铝会通过改变萝卜幼苗细胞内核酸的含量来影响植株高度的变化。

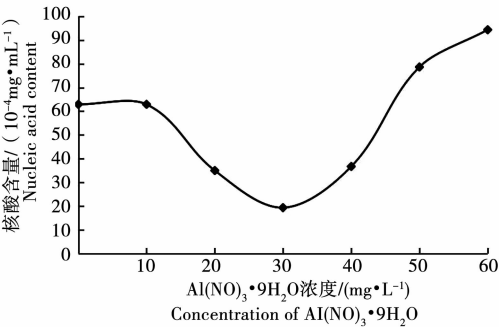


图 6 不同浓度铝溶液处理萝卜幼苗后核酸的含量

Fig. 6 Change of nucleic acid content under different concentration of aluminum solution

3 结论与讨论

3.1 铝胁迫对萝卜种子发芽状况影响的差异分析

从萝卜种子发芽势与发芽率来看,在不同浓度铝溶液处理下的种子的发芽势与发芽率无明显

变化,很有可能是因为种子发芽时主要靠种子胚芽提供营养,外界金属对其影响相对较弱,所以萝卜种子在萌发阶段,受铝胁迫影响较小。

3.2 铝胁迫对萝卜幼苗内含物含量的影响

植物光合作用的强弱直接关系到植物可溶性糖的含量,所以当铝溶液浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,铝胁迫作用使得叶绿素含量大大升高,光合作用能力提高,萝卜幼苗可溶性糖含量升高;而铝在促进叶绿素合成的同时,也会使叶绿素的利用率有一定程度的降低。萝卜幼苗会通过改变可溶性蛋白的含量来维持细胞正常的渗透势,从而对抗胁迫环境,但在高浓度的铝的胁迫下,蛋白质合成酶活性下降,分解酶活性上升,最终导致可溶性蛋白质含量降低^[9]。铝会对细胞分裂期间 DNA 复制有直接抑制作用^[13],在 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 浓度不超过 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,铝可能会抑制 DNA 的复制,核酸含量减少,从而抑制细胞分裂使植株变矮。同理而言,当铝溶液浓度高于 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时铝会促进细胞分裂,核酸含量增加,植株变高。

参考文献:

[1] Guo T R,Zhang G P. Progress on the study of aluminum toxicity and tolerant mechanism in cereal crops[J]. J Triticeae Crops,2006,26(1):135-137.

[2] 于天一,孙秀山,石程仁,等.土壤酸化危害及防治技术研究进展[J].生态学杂志,2014,33(11):3137-3143.

[3] Rout G R,Samantaray S, Das P. Aluminium toxicity in plants: A review [J]. Agronomic,2001,21(1): 3-21.

[4] Bao X M,Zhao X Q,Xiao Z Y,et al. Effects of aluminum on the root growth and nutrient uptake of two rice varieties with different aluminum tolerances [J]. Plant Physiol J, 51(12):2157-2162.

[5] 彭祥捷. 中国北方湖泊营养盐的迁移转化及富营养化风险分[D]. 长春:吉林大学,2011.

[6] 许小丽,崔朋辉,林思祖,等. 不同供铝水平对杉木幼苗生长的影响[J]. 广东农业科学,2016,43(7):45-50.

[7] Shahnaz G,Shekoofeh E,Kourosh D,et al. Interactive effects of silicon and aluminum on the malondialdehyde(MDA), proline, protein and phenolic compounds in *Borago officinalis* L[J]. J Med-Plants Res,2011,5(24):5818-5827.

[8] 张华宁,姜泽,王春利. 铝胁迫对大麦可溶性蛋白含量的影响[J]. 现代农业科技,2013(16):14-15.

[9] 李蕴. 铝胁迫对喀西茄和车前生理生态特征的影响[D]. 重庆:西南大学,2008.

[10] 王瑜,王思荣,张玲玲,等. 铝胁迫对木荷幼苗光合特性的影响及添加盐基阳离子和磷的调节作用[J]. 热带亚热带植物学报,2014,22(1):61-67.

[11] 贾克钰,孙瑛琳,翟彤洁,等. 温度骤变对黄瓜种子萌发生理活性的影响[J]. 黑龙江农业科学,2015(8):69-72.

[12] Matsumoto H. Cellbiology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants[J]. Int Rev Cytol,2000,200:1-46.

[13] 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]. 土壤通报,2001,32(6):281-285.

Effects of Aluminum Stress on Seed Germination and Physiological Characteristics of *Raphanus sativus* L.

YU Xi-feng, CHEN Fei-fei, AN Da-dao, ZHANG Jian-min

(Marine College of Shandong University, Weihai, Shandong 264209)

Abstract: In order to explore the effects of aluminum stress on the growth and development of plant, the radish (*Raphanus sativus* L.) was used as the material, and the radish seedlings were cultured in different concentrations ($0, 10, 20, 30, 40, 50$ and $60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). The results showed that under the stress of different concentration of aluminum, the protein content first increased and then decreased. Aluminum stress promoted the synthesis of chlorophyll, the effect was most obvious when aluminum concentration was $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, and the change in chlorophyll content would also affect the content of soluble sugar. When the concentration of aluminum solution was $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, the nucleic acid content of radish seedlings was relatively low, and the radish seedlings were the lowest.

Keywords: aluminum stress; *Raphanus sativus* L.; physiological characteristics