

## 硼对豌豆根尖铝毒的影响<sup>①</sup>

许苗苗<sup>1,2</sup>, 喻敏<sup>2\*</sup>, 王昌全<sup>1</sup>, 徐彩娟<sup>2</sup>, 萧洪东<sup>2</sup>, 冯英明<sup>2</sup>

(1 四川农业大学资环学院, 四川雅安 625014; 2 佛山科学技术学院园艺系, 广东佛山 528000)

**摘要:** 研究了 B (0、100、1000  $\mu\text{mol/L}$ ) 对豌豆根尖 Al 和胼胝质含量的影响, 以揭示 B 是否能减轻 Al 胁迫。发现: Al 浓度 100  $\mu\text{mol/L}$  时, 浓度 100  $\mu\text{mol/L}$  B 处理的根芥木精染色颜色较不加 B 处理浅。Al 浓度 100  $\mu\text{mol/L}$  和 500  $\mu\text{mol/L}$  时, 100  $\mu\text{mol/L}$  B 处理的豌豆 0~0.5 cm 和 0.5~1 cm 根段的 Al 含量均比未加 B 处理有明显降低的趋势; 高 B 处理 (1000  $\mu\text{mol/L}$ ) 均引起根段的 Al 含量高于不加 B 处理。Al 浓度 100  $\mu\text{mol/L}$  时, 加 B 处理后豌豆 0~0.5 cm 根段胼胝质含量显著低于不加 B 处理。结果表明: 适量 B 可以减轻豌豆根尖 Al 毒。

**关键词:** 硼; 铝; 根尖; 缓解; 豌豆

**中图分类号:** S143.7; S643.3

### Influence of Boron on Aluminum Toxicity in Root Tip of Pea (*Pisum sativum*)

XU Miao-miao<sup>1,2</sup>, YU Min<sup>2</sup>, WANG Chang-quan<sup>1</sup>, XU Cai-juan<sup>2</sup>, XIAO Hong-dong<sup>2</sup>, FENG Ying-ming<sup>2</sup>

(1 College of Resources and Environment, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China;

2 Department of Horticulture, Foshan University, Foshan, Guangdong 528000, China)

酸性土壤限制植物生长发育的主要因素之一为 Al 的毒害<sup>[1]</sup>。Al 毒最初的症状是根系伸长受抑、根和根毛形态的改变等<sup>[2-4]</sup>。水培试验也证明, Al 的毒害是酸性土壤上大麦根系受损的原因<sup>[5]</sup>。Ryan 等<sup>[4]</sup>提出根尖是植物 Al 毒的主要位点。此外, 根尖的不同部位对 Al 的敏感程度不同。Kollmeier 等<sup>[6]</sup>发现, 用 90  $\mu\text{mol/L}$  的 Al 对玉米根尖 (1~2 mm) 处理 1 h, 根的伸长明显受到抑制, 而对其他部位如 0~1 mm、2.5~3.5 mm 的根段进行 Al 胁迫处理, 此时 Al 表现的抑制作用不明显。这些结果均表明根尖分生组织是 Al 毒害的主要位点。

硼 (B) 是高等植物必需元素<sup>[7]</sup>。B 和 Al 毒的作用位点都在根尖, 缺 B 症状和 Al 毒类似, 推测 B 可以减轻 Al 毒。Lenoble 等<sup>[8]</sup>报道超过植物正常生长需要量的 B (至少在某些作物品种中) 可减轻 Al 毒。此外, 尚有研究表明, 细胞壁膨胀是 Al 毒的早期症状<sup>[9]</sup>, 这似乎与 Al 置换细胞壁 Ca 有关<sup>[9-10]</sup>。也有研究表明 B 不能减轻小麦 Al 毒的症状<sup>[11]</sup>。Blevins 等<sup>[12]</sup>研究发现 Al 毒对植物的毒害受 B 的含量和植物种类的影响。

B 与 Al 之间关系需要进一步研究确证。本文通过研究 B 对豌豆根尖 Al 和胼胝质含量的影响, 以探讨 B 是否能够减轻豌豆 Al 毒。

### 1 材料与方法

#### 1.1 豌豆种子的前处理

中豌五号豌豆 (*Pisum sativum*) 种子, 首先用浓度为 95% 乙醇 (AR) 浸泡 15 min, 用 7.5% 的次氯酸钠 (AR) 浸泡 30 min, 然后用无菌超纯水 (来自 Minipore ZMQS50FOY 超纯水制备系统) 清洗 6 次, 每次清洗持续 5 min, 以去除漂渍、膨胀、软化和表面不一致的以及被污染的种子。

#### 1.2 根尖芥木精染色试验

消毒后的种子在 24℃ 黑暗条件下, 用 0.5 mmol/L CaSO<sub>4</sub> 溶液浸泡 8 h 及雾化培养 48 h 发芽, 选取根长相对一致的幼苗转移至烧杯中, 用 B 浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  的 1/2 Hoagland 营养液水培 3 天, 然后用不同 B (0、100  $\mu\text{mol/L}$ ) 和 Al 浓度 (0、100  $\mu\text{mol/L}$ , pH 4.5) 的溶液 (含 0.5 mmol/L CaSO<sub>4</sub>) 处理 24 h。

①基金项目: 国家自然科学基金 (30471035 和 30200167) 资助。

\* 通讯作者 (yumin@fosu.edu.cn)

作者简介: 许苗苗 (1980—), 女, 山东烟台人, 硕士研究生, 主要从事根及根边缘细胞生物学研究。E-mail: miaomiao8033@163.com

苏木精染色根据 Pollet 等<sup>[13]</sup>方法: 将经 B、Al 处理 24 h 的根在去离子水中浸洗 15 min, 洗去根尖表面残留的 Al 后于苏木精染色液 (100 ml 水中含 0.2 g 苏木精粉、0.02 g  $KIO_3$ ) 中染色 15 min; 染色后的根尖置于去离子水中浸洗 15 min, 直至浸泡液中不再有颜色。观察根尖的染色情况并用数码相机拍照。

### 1.3 不同 B、Al 处理对根尖 Al 含量的影响

消毒后的种子在 24℃ 黑暗条件下, 用 0、100、1000  $\mu\text{mol/L}$  的 B 溶液 (含 0.5 mmol/L  $\text{CaSO}_4$ ) 浸泡 8 h 及雾化培养 48 h 发芽, 选取根长相对一致的幼苗转移至聚乙烯烧杯中, 用 B 浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  的 1/2 Hoagland 营养液水培 24 h, 然后用不同浓度 B (0、100、1000  $\mu\text{mol/L}$ )、Al (0、100、500  $\mu\text{mol/L}$ , pH 4.5) 溶液 (含 0.5 mmol/L  $\text{CaSO}_4$ ) 水培处理 24 h。剪取距根尖 0~0.5、0.5~1.0 cm 的根样 15 段, 加入 1 ml 1 mol/L HCl 振荡浸提 24 h, 采用 ICP 法测定浸提液 Al 含量。

### 1.4 不同 B、Al 处理对根尖胼胝质含量的影响

消毒后的种子在 24℃ 黑暗条件下, 用 0、100  $\mu\text{mol/L}$  的 B 溶液 (含 0.5 mmol/L  $\text{CaSO}_4$ ) 浸泡 8 h 及雾化培养 48 h 发芽, 选取根长相对一致的幼苗转移至聚乙烯烧杯中, 用 B 浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  的 1/2 Hoagland 营养液水培 24 h, 然后用不同浓度 B (0、100  $\mu\text{mol/L}$ )、Al (0、100  $\mu\text{mol/L}$ , pH 4.5) 溶液 (含 0.5 mmol/L  $\text{CaSO}_4$ ) 水培处理 24 h。剪取距根尖 0~0.5、0.5~1.0 cm 的根样 15 段, 用 4 ml 1 mol/L NaOH 研磨提取和转移入 10 ml 离心管, 80℃ 水浴 20 min, 4800 r/min 离心, 上清液采用荧光分光光度计法测定胼胝质含量<sup>[14]</sup>。

### 1.5 数据处理

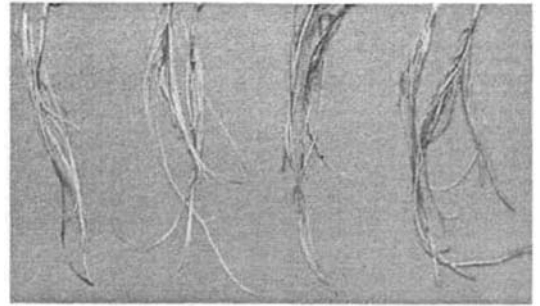
文中结果为 3 次独立实验的平均值, 采用 Excel 2003 和 SAS 9.0 进行数据处理和统计分析。

## 2 结果

### 2.1 B、Al 处理后苏木精染色情况

由于苏木精可以与 Al 结合, 产生蓝紫色的复合物<sup>[15]</sup>, 故苏木精染色法常被用于筛选耐 Al 品种以及确定 Al 毒害的位点。苏木精染色除了用于区别根尖不同部位 Al 的毒害情况之外, 还可用于定性地确定根内部 Al 的积累情况。苏木精与根尖结合的 Al 染色程度越深, 代表根尖积累了较多的 Al, 其对 Al 毒害就敏感, 反之亦然<sup>[16]</sup>。

图 1 显示: 相同 Al 浓度、不同 B 浓度 (0、100  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理后, 经 100  $\mu\text{mol/L}$  B 处理的根尖染色较浅, 表明加 B 后的豌豆根尖吸收 Al 减少, Al 毒害减轻, 整个根系也是如此。



Al 0  $\mu\text{mol/L}$  Al 100  $\mu\text{mol/L}$   
B 0  $\mu\text{mol/L}$  B 100  $\mu\text{mol/L}$  B 0  $\mu\text{mol/L}$  B 100  $\mu\text{mol/L}$

图 1 B、Al 处理后根苏木精染色情况

(注: Al 处理时加 B 后苏木精染色变浅)

### 2.2 B、Al 处理对根尖 Al 含量的影响

2.2.1 不同 Al 处理下 Al 含量变化 从图 2 可以看出, 无 B 和 100  $\mu\text{mol/L}$  B 处理条件下, 随着溶液 Al 浓度的升高, 豌豆 0~0.5 cm 根段的 Al 含量均显著增加 ( $p < 0.05$ ); 在 B 1000  $\mu\text{mol/L}$  浓度下, 豌豆已处于 B 中毒状态, 两根段的 Al 含量极显著升高 ( $p < 0.05$ ), 0~0.5 cm 的根段 Al 含量明显高于 0.5~1.0 cm (图 2)。

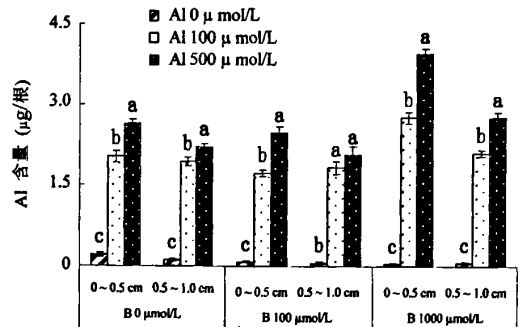


图 2 不同 Al 处理 (0、100、500  $\mu\text{mol/L}$ ) 对豌豆根尖 Al 含量的影响

2.2.2 不同 B 处理下 Al 含量变化 Al 浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  和 500  $\mu\text{mol/L}$  时, 浓度 100  $\mu\text{mol/L}$  B 处理的豌豆 0~0.5 cm 和 0.5~1.0 cm 根段的 Al 含量均比未进行 B 处理有降低的趋势 (图 3), 表明 100  $\mu\text{mol/L}$  B 处理降低了豌豆根尖的 Al 含量。而浓度为 1000  $\mu\text{mol/L}$  的 B 处理时, 加 Al 处理后豌豆 0~0.5 cm 根段的 Al 含量显著高于 0 和 100  $\mu\text{mol/L}$  B 处理的 Al 含量 ( $p < 0.05$ ); 浓度为 500  $\mu\text{mol/L}$  Al 处理时, 1000  $\mu\text{mol/L}$  B 处理 0.5~1.0 cm 根段 Al 含量也显著高于 0 和 100

$\mu\text{mol/L}$  B 处理, 表明高 B 胁迫 (B 毒) 反而促进根系 Al 含量升高 (图 3)。

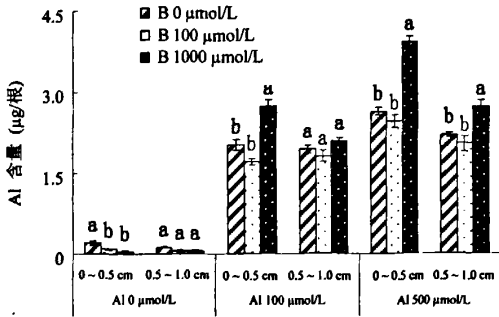


图 3 不同 B 处理 (0, 100, 1000  $\mu\text{mol/L}$ ) 对豌豆根尖 Al 含量的影响

### 2.3 B、Al 处理对根尖胼胝质含量的影响

Al 浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  时, 豌豆 0~0.5 cm 根段胼胝质含量加 B 处理显著低于不加 B 处理 ( $p < 0.05$ ), 而 0.5~1.0 cm 根段胼胝质含量加 B 处理显著高于不加 B 处理 (图 4)。表明加 B 降低了豌豆根尖胼胝质含量。

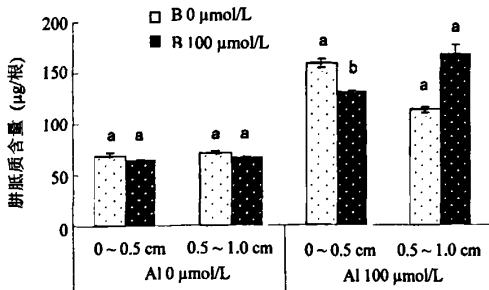


图 4 不同 Al (0、100  $\mu\text{mol/L}$ )、B (0、100  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理对豌豆根尖胼胝质含量的影响

## 3 讨论

Lenoble 等<sup>[8]</sup>报道超过植物正常生长需要量的 B (至少在某些作物品种中) 可减轻 Al 毒。苏木精染色法也观察到, 当 Al 浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  时, 外源 B (100  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理豌豆根染色较浅, 表明 B 可以减轻豌豆 Al 毒。100  $\mu\text{mol/L}$  B 处理后根尖 Al 含量在 Al 浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  和 500  $\mu\text{mol/L}$  有降低的趋势, 证实适量 B 处理减轻了根尖 Al 的吸收, 从而减轻 Al 毒害。然而 1000  $\mu\text{mol/L}$  B 处理却显著增加根尖 Al 含量, 表明高

B 胁迫增加根尖对 Al 的吸收, 加重根系 Al 毒。文中 100  $\mu\text{mol/L}$  Al 浓度时, 加 B (100  $\mu\text{mol/L}$ ) 可以减轻根尖胼胝质含量。这些结果均表明适量 B 可以减轻 Al 毒。

另外, 在 B 浓度相同时, Al 浓度 500  $\mu\text{mol/L}$  和 100  $\mu\text{mol/L}$  时的根尖 Al 含量差值明显小于 100  $\mu\text{mol/L}$  和对照间差值 (图 2), 这可能与根系 Al 吸附位点有限相关。许多研究表明, 由于细胞壁果胶中羧基及磷酸基团带有大量负电荷,  $\text{Al}^{3+}$  易于结合在这些基团所带的负电荷上, 而与质膜结合或进入共质体较少, 因而 Al 主要与细胞壁果胶相结合<sup>[17]</sup>。本文研究暗示 100  $\mu\text{mol/L}$  Al 处理 24 h 后根尖细胞壁 Al 的结合位点可能已趋于饱和。

## 4 结论

苏木精染色观察和根尖 Al 和胼胝质含量的测定分析表明: 适量 B 处理可以减轻 Al 毒, 而高 B 胁迫加重 Al 毒。

### 参考文献:

- [1] Foy CD. Plant adaption to acid, aluminum-toxic soils. *Commun Soil Sci. Plant Ann.*, 1988, 19: 959-987
- [2] Kochian LV. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1995, 46: 237-260
- [3] Delhaize E, Ryan PR. Aluminium toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol.*, 1995, 107: 315-321
- [4] Ryan PR, DiTomaso JM, Kochian LV. Aluminum toxicity in roots: An investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *J. Exp. Bot.*, 1993, 44: 437-446
- [5] Foy CD, Fleming AL, Burs GR. Characterization of differential aluminum tolerance among varieties of wheat and barley. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 1967, 31: 513-521
- [6] Kollmeier M, Felle HH, Horst WJ. Genotypical differences in aluminum resistance of maize are expressed in the distal part of the transition zone. Is reduced basipetal auxin flow involved in inhibition of root elongation by aluminum? *Plant Physiol.*, 2000, 122: 945-956
- [7] Blevins DG, Lukaszewski KM. Boron in plant structure and function. *Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1998, 49: 481-500
- [8] Lenoble ME, Blevins DG, Sharp RE, Cumbic BG. Prevention of aluminum toxicity with supplemental boron. I. Maintenance of root elongation and cellular structure. *Plant Cell Environ.*, 1996, 19: 1132-1142

- [9] Demarty M, Morvan C, Thellier M. Calcium and the cell wall. *Plant Cell Environ.*, 1984, 7: 449-456
- [10] Eleftheriou EP, Moustakas M, Fragiskos N. Aluminate-induced changes in morphology and ultrastructure of *Thinopyrum* roots. *J. Exp. Bot.*, 1993, 44: 427-436
- [11] Taylor GJ, MacFie SM. Modelling the potential for boron amelioration of aluminum toxicity using the Weibull function. *Can. J. Bot.*, 1994, 72: 1187-1196
- [12] Blevins DG, Lukaszewski KM. Boron in plant structure and function. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1998, 49: 481-500
- [13] Pollet E, Konzac CF, Kittrick JA. Visual detection of aluminum tolerance levels in wheat by hematoxylin staining of seedling roots. *Crop Science*, 1978, 18: 823-827
- [14] Wissemeier AH, Klotz F, Horst WJ. Aluminium induced callose synthesis in roots of soybean (*Glycine max* L.). *J. Plant Physiol.*, 1987, 129: 487-492
- [15] Ownby JD. Mechanism of reaction of hematoxylin with aluminium treated wheat roots. *Physiol. Plant*, 1993, 87: 371-380
- [16] 刘强, 郑绍建, 林咸永. 植物适应铝毒胁迫的生理及分子生物学机理. *应用生态学报*, 2004, 26(4): 49-54
- [17] Chang YC, Yamamoto Y, Matsumoto H. Accumulation of aluminum in the cell wall pectin in cultured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cells treated with a combination of aluminum and iron. *Plant Cell and Environment*, 1999, 22: 1009-1017