

铝对植物毒害及植物抗铝作用机理

孔繁翔¹, 桑伟莲¹, 蒋 新², 王连生¹

(1. 南京大学环境学院 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210093; 2. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要: 综述了有关铝对植物的毒害及植物耐铝机理的研究成果。铝可以从植物的不同生物水平上影响植物的生长; 不同植物耐受铝的能力不同, 耐受性植物可在机体内形成各种耐受机制, 以抵抗环境中铝的压力。这在受损土壤环境中的生态系统恢复具有应用前景。

关键词: 铝; 毒性; 植物耐受性

Aluminum toxicity and tolerance in plants

KONG Fan-Xiang¹, SANG Wei-Lian¹, JIANG Xin², WANG Lian-Sheng¹ (*State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China*)

Abstract: This paper reviews the studies about aluminum toxicity and tolerance in plants. Aluminum can affect the growth of plants at every level. Different plants have different tolerance to aluminum, and the resistant plants can form some mechanisms to adapt to the stress of aluminum.

Key words: aluminum; phytotoxicity; tolerance

文章编号: 1000-0933(2000)02-0855-08 中图分类号: Q142, Q948.1, X171 文献标识码: A

酸雨是世界环境问题之一, 亦是我国的重大环境问题。酸雨导致土壤酸化, 提高有毒金属离子浓度, 毒害森林和农作物, 已对世界经济产生了不可估量的损失, 对人类生存也构成了严重威胁。由酸雨引起地球之肺——巴西亚玛逊热带雨林的大面积毁坏, 以及酸雨严重地区的农作物减产已引起世界各国政治家和科学家的关注。但是, 从目前的发展趋势来看, 这种状况在短时期内很难得到明显的改善。因为土壤一旦受到金属离子的污染, 很难消除; 而引起酸雨的大气污染在世界范围内仍未得到有效的控制。因此, 在研究酸雨沉降对生物影响的基础上, 提出有效对策, 将是人类面临的一项长期并带有普遍性的任务。

面临如此巨大的环境变化, 植物为了生存, 就要力求使自身适合于这种变化, 适应是植物在生长发育过程中对逆境所形成的一定程度抵抗力。适应可以发生在形态结构上, 这是达尔文学说的基本思想, 并已得到了充分的事实证据; 而生理生化上的适应, 即分子水平上发生的相应变化研究, 则仅是在近几十年才有了进展。目前, 国内外学者已经筛选出许多对 Al 有耐性的森林树种和农作物品种, 前者如松树、纸桦皮、红树、茶树等, 后者小麦、玉米、水稻、马铃薯、大豆、高粱等。选择抗 Al 植物, 进一步研究植物对土壤酸化适应的分子生物学基础, 可以掌握植物对恶劣环境的反应规律, 有目的地寻找抗性强的树木和农作物品种, 这在分子水平上阐明环境与生物的相互作用关系, 进一步认识酸雨的生物学效应, 提出受损生态系统恢复的有效对策均有理论意义和实际应用前景。

国内外有关铝对植物的毒性和植物的抗性研究已有许多报道, 人们试图在分子生物学水平上进行研究, 同时筛选出抗性较强的植物以适应环境。但这一领域还有许多基础理论研究亟待加强。本文总结了近年来的研究成果, 以探讨铝对植物的作用机理及植物的抗铝机制, 为受损土壤环境中的生态系统恢复提供

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39470150)和国家重点基础发展规划资助项目(G1999011801-3)

收稿日期: 1999-06-10 修回日期: 1999-06-10

作者简介: 孔繁翔, (1957~), 男, 江苏人, 博士, 副教授。主要从事环境生物学的研究和教学工作。

理论根据和技术储备。

1 环境中铝的化学形态

铝是地壳中含量最丰富的金属元素,占其质量的 7%左右。在自然条件下,它主要以铝硅酸盐形式存在,生物可利用性很小。但近年来由于农业化肥的使用及酸雨影响,使土壤酸化,铝的溶出增加^[1]。大多数植物对铝极为敏感,因而铝成为酸性土壤中抑制植物生长的一个重要因素^[2]。环境中铝的化学形态随着环境条件的不同而异,这是限制铝作用机理研究的一个重要因素。当环境中存在 F^- 、 SO_4^{2-} 等离子时,铝会形成 $Al-F$ 、 $Al-SO_4$ 等络合物;另外,土壤中天然配位体如腐殖酸、多酚类也具有螯合铝的作用,这些络合物对生物的毒性很小。没有形成络合物的铝的存在形态与环境的 pH 值相关。在碱性条件下,单体羟基铝络离子发生聚合反应生成一系列聚合羟基形态,这些形态的铝对生物的毒性很小;在中性环境中,铝则形成了 $Al-(OH)_3$ 固体;当环境 pH 值小于 6.0 时,铝将以 Al^{3+} 、 $Al(OH)^{2+}$ 、 $Al(OH)_2^+$ 形式存在,近年来研究表明环境中存在的 Al_{13} 聚合物是一种毒性很大的铝聚合物^[4]。这些形态的铝对植物有很大的毒害^[5]。因此土壤酸化使铝以毒性较大的形态溶出,危害森林和农作物。

2 铝对植物的毒害

酸性环境中铝可对植物产生毒害作用,这已被很多研究所证实。铝可与蛋白质结合,也可与脂质、糖类、核酸等结合,干扰植物细胞内一些离子代谢,影响各种生理生化过程正常进行,从而抑制植物的生长。

铝对植物毒害作用最明显的特征是铝抑制了植物根尖细胞伸长和细胞分裂。Samuels 等试验表明,对敏感性品种,当铝浓度为 $11\mu\text{mol}$ 时,其根部组织中的铝积累量高达 $546.0\mu\text{g/g DW}$,生长抑制达 50%。可见,铝很容易在植物根尖富集,抑制根的生长^[6]。铝通过作用于根生长区使植物根变短、变粗,影响根对水和养分的吸收,限制了整个植株的生长。

植物体的细胞壁具有很强的积累阳离子的能力。铝主要与细胞壁的成分相结合,影响植物正常的代谢活动^[7]。如铝可以与细胞壁的胶质、蛋白质等成分相结合,降低细胞壁的弹性及导水性,影响植物的生长。Le Van 等研究表明铝还可影响植物细胞壁的生物合成^[8]。Lazof 等通过研究推测,植物生长受抑的起始阶段可能是铝与细胞壁生长和细胞生长过程中的信号传导物相互作用的结果^[9]。

铝易与磷酸基、羟基等极性基团结合,因此可与细胞质膜的脂质及膜蛋白结合,影响膜的结构和功能。植物细胞膜在植物吸收水分和养分过程中起着重要作用,铝可作用于脂质或直接作用于蛋白通道,使这些过程受到抑制。Huang 等研究表明铝与磷脂结合可抑制膜对阳离子的运输作用,使植物体缺乏矿质元素^[10]。Macklon 等的研究则表明铝抑制了根对磷的吸收^[11]。Gunse 等指出铝增加细胞膜的渗透性,使植物对养分和水分的吸收受到抑制^[12]。存在于膜上的一些酶也会受铝的抑制。Suhayda 等从玉米根中分离出膜微粒,用铝处理后发现 Mg^{2+} -ATPase 和 K^+ - Mg^{2+} -ATPase 活性下降,破坏了质膜的结构,其可能机制是铝与酶底物 ATP 结合形成 $Al-ATP$ 复合物,限制了酶-底物复合物的形成^[13]。铝还可以启动膜上第二信使,扰乱植物的代谢, Jones 和 Kochian 认为,铝可影响膜上与信号传导相关的磷脂酶 C 的活性^[14]。在铝胁迫下小麦质膜脂质的各组分含量发生变化,如钾离子从质膜上渗漏出去,脂类明显流失, $Mg-ATO$ 酶活性明显下降,影响了膜的正常功能^[15]。

细胞内的钙是维持细胞结构和功能的重要元素,铝和钙的相互作用将会影响植物的正常生理功能。有关铝与钙的相互作用有 3 种假说:(1)铝抑制了根细胞对钙的吸收。有关这一方面的研究很多。Huang 等认为 Ca^{2+} 通道对 Al^{3+} 敏感,铝通过作用于钙吸收通道影响钙离子的吸收^[16];有人则认为铝与膜磷脂的结合影响了钙的吸收。由于铝对植物生长的影响与钙吸收的相关性研究不多,因此并不能认为铝抑制了根细胞对钙的吸收是铝产生毒害的根本原因。Ryan 等就认为根生长受到铝的抑制与其对 Ca^{2+} 的吸收减少无关^[17];(2)铝扰乱了细胞内钙的平衡。细胞内 Ca^{2+} 浓度的瞬时增加作为第二信使启动并调节细胞代谢过程,瞬时升高的钙来自于细胞储存库的释放,这一过程是受 GTP-结合蛋白激酶 C 和磷脂酰肌醇激发,铝可与这些中间体结合,扰乱钙代谢;(3)铝取代了重要位点的钙。铝可通过配位竞争或降低膜表面的负势差取代钙^[18]。但 **再研究** 否定了这一假说。Kinraide 等认为铝不是取代钙结合位点的钙,而是占据了其它活性位点^[19]。Ryan 等研究结果亦表明这一假说不能解释铝的毒害作用^[20]。由于钙在生命过程中的重要作

用,因此铝和钙相互作用的研究仍需要深入进行,以得出较为明确的结论。

铝可与很多生物大分子发生强络合作用。铝与细胞壁、细胞膜蛋白质结合在前面已提及,它还可以与细胞内其它的功能蛋白结合,影响它们的活性。铝可与钙调蛋白结合,改变其结构并对其功能产生影响^[21],也可与酶蛋白结合,影响酶活性。有研究表明铝抑制植物细胞内与光合作用及呼吸作用有关的酶活性,影响这些生理过程的正常进行。Minocha 等采用体外悬浮细胞法研究了铝胁迫对 DNA 的合成、多胺及多胺生物合成酶等生物化学过程的影响,发现与 DNA 合成有关的酶活性受到抑制,如在 1.0mmol 铝作用 1h,虽然细胞活性只稍有伤害,但其细胞内的精氨酸脱羧酶、S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶和鸟氨酸脱羧酶等活性已下降 20%~25%,严重抑制了 DNA 的合成^[22]。另有研究表明铝还可使蛋白质的合成下降^[23]。铝可以与 DNA 结合,增加 DNA 双螺旋结构的稳定性,阻止了 DNA 的复制,影响细胞的分裂^[22]。另有研究表明铝也可与 RNA 结合,从而影响 RNA 的结构和功能。

铝可与 ATP 形成 Al-ATP 复合物,使植物细胞能量代谢过程受限制^[13]。

铝还可影响细胞骨架蛋白的表达。Grabski 等研究了铝胁迫下大豆细胞的肌动蛋白网的变化,发现铝可使肌动蛋白网内张力变化,他们推测这一变化可能是铝取代了 Mg-ATP 复合物中的 Mg^{2+} ^[24]。Macdonald 等研究表明在铝作用下,微管蛋白排列发生变化,他们认为 Al^{3+} 是微管蛋白聚合的特定抑制剂^[25]。

3 植物的抗铝作用机理

目前国内外在对铝的植物毒性进行大量研究的同时也发现了耐 Al 的植物,并提出了许多假设,试图解释这些植物的抗性机理。Klimashevskii 发现,在高浓度的 Al(8~10mg/l)培养基中,大豆、豌豆、荞麦、大麦、小麦和巢菜的叶绿素蛋白复合体的稳定系数可以作为这些植物抗 Al 能力的标志;Cambriaia 则认为高粱细胞中产生大量氨基酸、蔗糖和有机酸是去除 Al 毒性的重要途径;Wagatasum 对大豆、西红柿和大麦研究后认为外界磷浓度和 pH 值对植物细胞耐 Al(0.5mg/L)能力有影响;Kennedy 对棉花、Huett 对卷心菜和莴苣的研究则表明细胞壁对 Al 的吸附是抗 Al 的一重要的机理;Basu 对小麦的研究表明,对敏感型品种,Al 的 EC_{50} 为 $25\mu M$,而耐受性品种在 $100\mu M$ 左右。进一步对微粒体膜蛋白的电泳分析,在敏感型中分离出由两个多肽组成的 51KD 的蛋白是由 Al 的存在所诱导形成的,而当 Al 压力消失后 72h,此种蛋白也随即消失。彭嘉桂等采用耐 Al 性指数比较了大豆、玉米、鸡蛋豆和福豆的耐 Al 能力,将不同品种分为 5 个耐 Al 等级,并进行了基因型耐 Al 差异的鉴定。

从以上报道可以看出,不同植物品种对 Al 耐受能力不同,所提出的机理也很多,但仍需要更多的直接证据支持,且至今还没有哪一个机理为广泛认可。这主要是因为植物对 Al 的抵抗能力的形成相当复杂,同时,也由于某一研究只是对某一试验对象,从某一可能的机理进行了较为深入的研究。因此,所提出的抗性机理有一定的局限性,不能够对已有的报道作出普遍的解释。总之,由于生物的生命过程本身相当复杂,代谢途径和生物物种的多样性,当生物在为了适应环境改变而发生自身变化时,其途径可能会更多,这也正是研究机理问题的难度所在。

当然,这种复杂变化并不是没有一定规律可寻。综合前人研究结果,可将植物对 Al 抗性分为外部抗性机理和内部抗性机理两部分。外部抗性主要是指生物阻止 Al 离子进入生物体内或到达细胞内敏感的代谢位置;内部机制则是指离子进入体内后,生物通过解毒作用获得对其抵抗力。很明显,细胞壁和细胞膜构成了植物抗 Al 主要外部屏障,根区范围内 pH 的变化和螯合配位体的渗出亦属于外部抗性;而细胞内羧酸的螯合,Al 结合蛋白的形成,液胞的分隔和耐 Al 酶的诱导合成则是植物细胞的内部抗性机理。外部抗性与内部抗性既有差异,又有联系。一种植物品系对 Al 抗性的能力和方式是由其外部和内部抗性共同决定的,两者的调节则可能是由一个以上基因所控制。这样对问题的理解,似乎有助于对植物耐 Al 分子生物学基础的全面认识。因此,在研究植物耐 Al 机理时,不能仅仅从以上可能的机理中的某一个方面进行孤立的研究,否则有可能会“只见树木不见森林”,而应尽可能地多方面,由外到里,由细胞到个体,由现象到本质,运用一系列已有的生物技术,建立一实用的实验体系,以具有较高的经济价值和生态学价值的农作物品种和森林树种为研究对象,对各种可能的抗性形成机理进行比较全面和系统的研究。在比较不同作用的贡献大小的基础上,发现一种或数种在植物中普遍存在的抗性机理,这样才有可能具体提出植物对 Al 抗性的

最主要机理及其分子生物学基础,这应是研究植物对 Al 抗性形成机理的途径。

3.1 外部抗性机理

在外部抗性中,细胞壁和细胞膜起着关键的作用。当植物根部吸收外界营养元素时,首先是这些元素与细胞壁接触。在高浓度 Al 环境下,敏感型和耐受型植物的细胞壁对过多的 Al 产生不同反应。此为植物细胞对 Al 胁迫信息的最初感受,这种感受又将传递到细胞膜上和细胞内,引起一系列生理生化反应;同时,Al 的存在与植物持续生长对细胞壁合成需要之间定量关系的研究,也是解释植物对 Al 耐受性的证据。在区分外部抗性和内部抗性时,最可靠的方法是比较不同耐受性植物的完整细胞与去除了细胞壁的原生质体之间对 Al 的抗性的差别,但至今仍未见类似的研究报道。

目前的研究表明,植物抗铝性大小可能与细胞壁的组成和性质有关,植物细胞壁具有很强的络合阳离子的能力,因此表皮细胞和叶肉细胞的细胞壁可与铝结合,阻止铝进入细胞内的作用位点。LeVan 等研究中测定到,铝浓度为 1mM,处理 6h 后,南瓜根区细胞壁的果胶增加 17%,半纤维素增加 25%,纤维素则增加 10%。说明铝诱导的细胞壁多糖的积累可能也与植物的耐受性相关^[8]。

在有关细胞膜抗铝作用研究方面,Wagatsuma 认为细胞膜是阻止植物吸收铝的重要屏障,铝穿过不同耐受性植物细胞膜的能力不同^[30]。Miyasaka 等认为耐铝小麦细胞膜维持正常的离子吸收和膜势是抗铝的主要机制^[29]。Zhang 等指出铝使小麦膜脂质成分发生改变,耐受品种膜的固醇脂与磷脂的比率下降,而敏感种则没有这样的变化。他们认为这可能是植物细胞膜的一种抗铝反应^[15]。Caldwell 等研究表明耐受种的膜蛋白与铝的结合较松,因此他们认为铝与膜蛋白结合的差异可能与植物抗铝性差异相关^[31]。耐受性不同的小麦在铝胁迫下有不同膜势反应,当铝浓度为 150 μ mol,耐受品种的膜势下降可达 55mV,并发生去极性,而在敏感种却难以测定到膜势的变化,因此膜势下降可能作为信号传导给细胞内的代谢过程,以产生抗铝作用^[32]。

已有的报道一般采用根部总 Al 的化学分析、Al 染色、X-射线微分析和 Al 动力学研究等技术,但这些分析只能从理论上和化学分析方面进行推测。目前,原生质体技术在用于生物的育种和体细胞杂交方面应用已十分广泛,亦有作者将原生质体技术结合放射性同位素技术,直接测定真菌生物膜对培养基中糖的选择吸收。因此,植物根部原生质体的分离和纯化技术的应用,对于阐明外部抗性机理对植物耐受 Al 贡献,有可能得出更为直接和明确的结论。

植物根部细胞对 Al 吸收,一方面决定于细胞壁和细胞膜的功能,同时也取决于环境中 Al 形态。因此,在研究外部抗性机理时,应注意 Al 不同形态在植物耐 Al 性中造成的差异,即需要对环境中及进入细胞中的 Al 形态进行分类,这亦是目前研究中已引起注意但仍未开展的工作。可能是由于所涉及的技术难度较大,完全成熟的铝形态分析技术仍不多见。最近用高压液相色谱仪结合原子吸收分光光度计以及²⁷Al 和核磁共振技术,对培养液中和根尖细胞中 Al 单体和复合体均能定性和定量,这为研究不同形态铝的生物学效应提供了可能。

植物根区 pH 的升高可能是另一重要的耐铝机制之一。Taylor 等研究认为耐铝小麦通过升高根区 pH 来增加抗铝性^[27]。Foy 等也有类似的报道^[28]。Miyasaka 等用微 pH 测定仪研究了在铝存在时不同耐铝性小麦根区 pH 的变化,发现耐铝品种 Atlas 66 根区的 pH 增加 0.1 至 0.2 个单位,而敏感品种 Scout 66 根区的 pH 增加大约 0.02 单位。由于铝的溶解度对 pH 十分敏感,pH 每变化 0.1 个单位,铝的溶解度将下降 2 μ mol。因此他们认为根区 pH 的变化是植物抗铝的主要机制之一^[29]。

有关植物根分泌有机酸螯合根区铝的研究已经比较成熟,很多研究表明耐铝植物的根在铝胁迫下可分泌大量的有机酸,在植物根区与铝螯合,减少铝进入细胞的量,降低铝的毒性。研究最多的有机酸包括柠檬酸和苹果酸。Pellet 等研究不同耐铝性的玉米时发现,在铝存在时耐铝品种根尖分泌物的柠檬酸含量比敏感品种高 7 倍,因此他们认为柠檬酸分泌的多少与植物抗铝作用相关^[33]。Ryan 等认为根尖苹果酸的分泌是小麦抗铝的主要机制^[34]。Basu 等也指出不同耐受性的小麦根分泌苹果酸的能力不同^[35]。铝影响了有机酸的分泌,用有机酸穿过细胞膜的能力,可能是由于铝直接与有机酸的运输通道相互作用,或铝与第二信使相互作用使运输通道发生变化,影响了分泌。

Pellet 等研究发现不仅是苹果酸的分泌,磷酸的分泌也与小麦抗铝性相关。随着环境中铝浓度升高,耐受品种的磷酸和苹果酸分泌量明显上升。当铝浓度为 $5\mu\text{mol}$ 和 $20\mu\text{mol}$, 抗性品种每小时每棵苗所分泌的磷酸量分别为 1.9 和 2.13nmol , 而敏感品种仅为 0.5nmol ; 苹果酸在抗性品种为每小时每棵苗 1.8nmol 和 4.8nmol , 而在敏感品种为 0.3nmol 。他们认为抗铝小麦品种的根尖分泌出较多磷酸和苹果酸, 与根区 Al^{3+} 络合, 降低了铝的毒性^[36]。

植物根系的多肽分泌增加与植物的抗铝性也有关。酸性多肽可在较低浓度下与铝结合, 增加植物抗铝性。Basu 的研究表明在铝胁迫下抗铝小麦能诱导合成或过量积累多肽, 分泌到根外。例如, 当铝浓度为 $75\mu\text{mol}$ 时, 电泳结果表明, 抗性品种增加了 12、22 和 33KD 的电泳带, 而敏感品种则无任何增加, 并发现抗生小麦分泌的多肽中能与铝结合的成分较多^[37]。

3.2 内部抗性机理

尽管植物细胞具有一定外部屏障, 铝仍有可能进入细胞液中, 因此在抗铝植物的细胞内也形成了相应的抗铝机制。细胞液中有有机酸与铝的络合即为一种细胞内部抗铝作用。研究中发现, 在高浓度 Al 环境中, 植物细胞质中的有机酸含量上升, 并与 Al 成螯合物, 以降低 Al 活性和对植物的毒性; Al 与许多氧供体形成稳定的化合物。Al 与羧酸结合在解除 Al 毒性的潜在作用已引起研究者的关注。Cambraia 等研究表明不同耐铝性高粱在铝胁迫下细胞液中苹果酸含量不同, 耐受品种比敏感品种高 1.5 倍^[38]。Suhayda 等研究发现有机酸可维持质膜的形态以及膜上 Mg^{2+} -ATPase 的活性^[13]; 与敏感培养物比较, 在高浓度 Al 条件下, 耐 Al 作物品种的根部能产生高浓度的羧酸, 虽然在 Al 敏感型和耐受型作物根系中均有有机酸形成, 但耐受型中某些酸, 尤其是苹果酸和反乌头酸的浓度高于敏感型 7~10 倍。因此他们认为玉米根细胞中大量的苹果酸、柠檬酸和反乌头酸能降低铝对细胞的重要成分和过程的影响, 从而降低其对细胞生理过程的毒害作用。他们还曾报道有机酸可保护铝诱导的钙调蛋白发生结构变化, 降低铝对受钙调蛋白激活的磷酸酶的抑制作用^[39]。Al 可降低敏感型植物中的柠檬酸、乙酰丙酸和琥珀酸含量, 但对耐受型中的这些酸的含量影响不大。更明显的是, 在严重的 Al 压力下, 当外部抗性比较有效时, 有机酸的含量就较低。这说明此时耐受型的作物仅受外部抗性机理保护, 有机酸含量不受影响。但该机理的弱点是 Al 有机酸形成的复合物的稳定性被过高的估计了, 因为在中性的细胞质环境中 $\text{Al} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 并不是 Al 主要存在形式, 因此, 螯合物去除 Al 毒性在耐 Al 机理中的作用还需要更多的实验证据支持。

液泡对细胞中有毒物质的储存起着相当重要的作用, 液泡膜上的特殊酶系统可将胞质中多余的金属离子泵入液泡中, 从而使胞质及其他细胞器免受伤害, 各种生理生化过程得以顺利进行。因此, 在植物对 Al 抗性中, 液泡可能也起着关键作用。液泡的分离效应在植物抵抗其他金属离子的机理中的作用已得到证明, 但关于抗 Al 作用的报道不多见, 还有待进一步深入研究。Kasai 等曾报道铝可诱导大麦根液泡膜的 ATP 依赖型和 PPi 依赖型的 H^+ 泵活性增强^[40]。Matsumoto 等研究也发现铝可诱导液泡膜 H^+ 泵的活性增强, 他们认为这是植物的一种适应机制, H^+ 运输的增加, 有利于植物维持细胞内 pH 的平衡, 并可通过 Al/nH^+ 交换反应把 Al^{3+} 分隔到液泡中, 降低铝的毒性^[41]。由于对液泡的作用研究, 需要有液泡的分离和纯化技术作为基础, 才能对液泡中的物质进行定性定量研究, 以区别胞质与液泡的不同作用; 目前分离细胞中的液泡技术也已成熟, 可以在酶解后得到原生质体, 再经机械处理, 或碱基处理或渗透压变化, 获得较为完整的液泡, 并经过梯度离心, 得到纯化的液泡。这些技术为分析植物液泡在解除 Al 毒性方面的作用提供了可能。

Al 与蛋白形成复合物可以降低 Al 的毒性, 但同时会减少细胞内非结合蛋白的水平, 影响正常细胞的其他功能, 因此, 其作为植物主要的抗性机理的证据仍然不足。在 Al 对植物基因表达影响方面, 铝可诱导植物合成特殊蛋白质已被一些研究所证实。铝胁迫下植物细胞可合成一些多肽, 与铝进行络合作用, 降低铝对细胞内重要位点的毒害作用。Cruz 等通过研究表明铝可诱导植物根细胞合成一种 18KD 的蛋白。但他们继而发现这种蛋白在耐受型和敏感型植物中均可被诱导, 并可被其它压力条件诱导, 因此不能认为这种蛋白与植物抗性直接相关^[42]。Basu 等分离得到铝诱导的 51KD 的微粒体膜蛋白, 这种蛋白只在耐铝品种中发现, 并且除了能被 Cd、Ni 部分诱导外, 不能被其它环境压力所诱导合成, 因此他们推测这种蛋白

与植物的抗铝性有关^[43]。在后来的研究中他们证实了这种蛋白确实与植物抗铝作用直接相关^[44]。

从理论上讲,如果在高浓度 Al 环境中植物能够正常生长,就说明植物体内对营养元素吸收和代谢有关的酶仍然保持一定的活性,此类酶为抗 Al 酶。酶是生物体内各种反应的催化剂,对生态系统中的物质循环具有重要作用,抗铝植物在铝胁迫下能维持较正常的生命活动,其体内的酶必须维持在一定水平。因此抗铝植物体细胞内的一些酶可能具有抗铝作用,或铝诱导抗铝植物体产生一些抗铝的同工酶,以维持植物体的代谢过程和生态系统内的物质循环。进一步探索在铝诱导下,植物细胞内酶活性升高和特异酶的产生规律将有利于抗铝机制的研究。目前这方面的研究相当薄弱。Woolhous 在生长于酸性土壤中根系内检测到酸性磷酸酶的活性,一般情况下,随着金属离子浓度的提高,常见的敏感型植物中酸性磷酸酶的活性明显下降,但在抗 Ca 和 Pb 的生态型内,酸性磷酸酶则仍保持较高的活性;当 Zn 的浓度达到能够抑制敏感型内的酶活性时,而抗 Zn 生态型体内的硝酸还原酶、苹果酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶则仍保持较高的活性。但抗 Al 酶至今仍未见报道,目前,少数文献认为似乎植物中并没有抗 Al 酶的存在。但 Taylor 根据 Cox 和 Johnston 先后在一些植物中检测到抗 Ni 的酸性磷酸酶同功酶存在的事实认为,不是植物缺乏抗 Al 酶,而是缺乏对抗 Al 酶的研究。这方面的研究将能进一步阐明细胞乃至植物整株对 Al 胁迫的早期生理生化反应。

3.3 其它抗性机制

铝胁迫下植物体内的脯氨酸和葡聚糖积累已被很多实验所证实,有人认为它们的积累与植物的抗铝作用相关,但却没有直接的证据,仍需进一步研究以验证。

在研究中也发现有些抗铝植物的根细胞具有排斥铝进入细胞的能力。例如大麦品种中的一些耐性强的变种可主动把铝排到其根细胞质膜外,使其不受铝的毒害。Rincon 和 Gonzales 研究了不同耐受性小麦根暴露到铝中时根尖铝的积累,发现敏感品种根尖铝的积累量比耐受品种高 8 倍,他们认为这可能是由于根细胞排斥铝的能力不同^[45]。这一抗性特征对于铝在生态系统中的循环研究具有特别的意义。因为这表明,植物可以有选择地吸收其它有用的营养物质,正常生长与发育,而同时将铝离子拒于体外,使环境中过量的铝离子并不参与生物地球化学循环,不进入食物链,减少了对其他生物和人类潜在的危害。

4 研究展望

目前关于酸性土壤中铝问题的研究很多,但铝的植物毒性和植物耐铝性的生物学基础仍需系统的研究。污染物对生物产生毒害作用,最早必然是从个体内的分子水平开始的,因此研究铝对植物的毒害作用应采用现代分子生物学方法与技术,研究铝与细胞内的生物大分子如蛋白质、核酸等相互作用,找出铝作用的靶位点或靶分子,以揭示其作用机理。

铝可作用于细胞膜,细胞液,细胞器,但首先作用于细胞膜。铝可与细胞膜的脂质和膜蛋白结合,改变膜的结构和功能。耐铝植物可能在膜上形成一定的抗铝机制,因此深入研究在铝胁迫下膜形态、组成和功能的变化可能有助于了解植物抗铝机制最早的生理生化反应。

植物的抗铝作用还可能与植物体内的酶有关。铝可诱导植物细胞合成一些特异的抗铝酶,或植物体内本身存在的一些酶具抗性作用。植物体也可能通过升高一些酶的活性来增强抗铝性。尤其是那些对植物本身的营养吸收、生长与繁殖等生命过程至关重要的酶和能增强植物抗铝性的酶,这方面的报道很少见,还有待于进一步深入研究。

铝诱导蛋白质的合成已被一些研究所证实,但其特异性还需要更多的证据支持。因此研究诱导合成的蛋白质在植物细胞中的功能以及是否与植物抗铝作用直接相关是研究植物抗铝机制的重要领域,这将在基因水平上揭示植物抗铝机制,并使抗铝特性在受损生态环境修复的实际应用成为现实。

参考文献

[1] Von Uexkull HR, Mutert E. Global extent development and economic impact of acid soils. *Plant Soil*, 1995, **171** (1): 1 万方数据

[2] Foy CD, Chaney RL, White MS. The physiology of metal toxicity in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1978,

- 29**:511~566.
- [3] 沈德中. 污染土壤的植物修复. *生态学杂志*, 1998, **17**(2):59~64.
- [4] Parker DR, Bertsch PM. Formation of the Al₁₃ tridecaemic polycation under diverse synthesis conditions. *Environ. Sci. Technol.*, 1992, **26**:914~921.
- [5] 刘庆华, 蒋悟生. 铝对植物的毒害. *植物学通报*, 1995, **12**(1):24~32.
- [6] Samuels TD, Kucukakyuz K and Magaly RZ. Al partitioning patterns and root growth as related to Al sensitivity and Al tolerance in wheat. *Plant Physiol.*, 1997, **113**:527~534.
- [7] Zhang G, Taylor GJ. Effects of biological inhibitions on kinetics of aluminum uptake by excised roots and purified cell wall material of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive cultivars of *Triticum aestivum* L. *J. Plant Physiol.*, 1992, **138**:533~539.
- [8] LeVan H, Kuraishi S, Sakurai N. Aluminum-induced rapid root inhibition and changes in cell wall components of squash seedling. *Plant Physiol.*, 1994, **106**:971~976.
- [9] Lazof DB, Glodswith JG, Rufty TW, *et al.* Rapid uptake of aluminum into cells of intact soybean root tips. A microanalytical study using secondary ion mass spectrometry. *Plant Physiol.*, 1994, **106**:1107~1114.
- [10] Huang JW, Grunes DL, Kochian LV. Aluminum effects on the kinetics of calcium uptake into cells of the wheat root apex. *Planta*, 1992, **188**:414~421.
- [11] Macklon AES, Sim A. Modifying effects of non-toxic levels of aluminum on the uptake and transports of phosphate in ryegrass. *J. Exp. Bot.*, 1992, **43**:915~923.
- [12] Gunse B, Poschenieder C and Barcelo J. Water transport properties of roots and root cortical cells in proton- and Al-stressed maize varieties. *Plant Physiol.*, 1997, **113**:595~602.
- [13] Suhayda CG, and Haug A. Organic acids reduce aluminum toxicity in maize root membranes. *Physiol. Plant.*, 1986, **68**:189~195.
- [14] Jones DL, Kochian LV. Aluminum inhibition of the inositol 1,4,5-trisphosphate signal transduction pathway in wheat roots: a role in aluminum toxicity? *Plant Cell*, 1995, **7**:1913~1922.
- [15] Zhang GC, Slaski JJ, Alchambault DJ, *et al.* Alternation of plasma membrane lipids in aluminum-resistant and aluminum-sensitive wheat genotypes in response to aluminum stress. *Physiol. Plant.*, 1997, **99**(2):302~308.
- [16] Huang JW, Pellet DM, Papernik LA, *et al.* Aluminum interactions with voltage dependant calcium transport in plasma membrane vesicle isolated from roots of aluminum-sensitive and resistant wheat cultivars. *Plant Physiol.*, 1996, **110**:561~569.
- [17] Ryan PR, Kinraid TB, Kochian LV. Al³⁺-Ca²⁺ interactions in aluminum rhizotoxicity. I. Inhibition of root growth is not caused by reduction of calcium uptake. *Planta*, 1994, **192**:98~103.
- [18] Rengel Z. Role of calcium in aluminum toxicity. *New Phytol.*, 1992, **212**:499~513.
- [19] Kinraide TB and Parker DR. Cation amelioration of aluminum toxicity in wheat. *Plant Physiol.*, 1987, **83**:546~551.
- [20] Ryan PR, Reid RJ and Smith FA. Direct Evaluation of the Ca²⁺-displacement hypothesis for Al toxicity. *Plant Physiol.*, 1997, **113**:1351~1357.
- [21] Siegel N and Haug A. Calmodulin-dependent formation of membrane potential in barley root plasma membrane vesicles: A biochemical model for aluminum toxicity in plants. *Physiol. Plant.*, 1983, **59**:285~291.
- [22] Minocha R, Minocha SC, Long SL, *et al.* Effects of aluminum on DNA synthesis, cellular polyamines, polyamine biosynthetic enzymes and inorganic ions in cell suspension cultures of a woody plant, *Catharanthus roseus*. *Physiol. Plant.*, 1992, **85**:417~424.
- [23] Campbell TA, Jackson PR, Xia ZL. Effects of aluminum stress on alfalfa root proteins. *J. Plant Nutr.*, 1994, **17**:461~471.
- [24] Grabski S and Schindler M. Aluminum induced rigor within the actin network of soy-bean cells. *Plant Physiol.*, 1995, **108**:108~114.
- [25] Macdonald TL, Homphreys WG, Martin RB. Promotion of tubulin assembly by aluminum ion in vitro. *Science*, 1995, **268**:108~111.

- 1981, **236**:183~186.
- [26] Berzonsky WA. The genomic inheritance of aluminum tolerance in Atlas66 wheat. *Genome*, 1992, **35**:689~693.
- [27] Taylor GJ, Foy CD. Mechanisms of aluminum tolerance in *Triticum aestivum* L. (wheat). I. Differential pH induced by winter cultivars in nutrient solutions. *Am. J. Bot.*, 1985, **72**:695~701.
- [28] Foy CD, Burns GR, Brown JC, *et al.* Differential aluminum tolerance of two wheat varieties associated with plant-induced pH changes around their roots. *Soil Sci. Soc. Am Proc.*, 1965, **29**:64~67.
- [29] Miyasaka SC, Kochian LV, Shaff JE, *et al.* Mechanisms of aluminum tolerance in wheat. An investigation of genotypic differences in rhizosphere pH, K⁺ and H⁺ transport and root cell membrane potentials. *Plant Physiol.*, 1989, **91**:1188~1196.
- [30] Wagatsuma T, Yamasaka K. Relationship between differential aluminum tolerance and plant-induced pH change of medium among barley cultivars. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 1985, **31**:521~535.
- [31] Caldwell CR. Analysis of aluminum and divalent cation on binding to wheat root plasma membrane protein using terbium phosphorescence. *Plant Physiol.*, 1989, **91**:233~241.
- [32] Olivett GP, Cumming Gr and Ethertor B. Membrane potential depolarization of root cap cells precedes aluminum tolerance in snapbean. *Plant Physiol.*, 1995, **109**:123~129.
- [33] Pellet DM, Grunes DL, Kochian LV. Organic acid exudation as an aluminum tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). *Planta*, 1995, **196**:788~795.
- [34] Ryan PR, Delhaize E, Randal PJ. Malate efflux from root apices and tolerance to aluminum are highly correlated in wheat. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1995, **22**:531~536.
- [35] Basu U, Godbold D, Taylor GJ. Aluminum resistance in *Triticum aestivum* associated with enhanced exudation of malate. *J. Plant Physiol.*, 1994, **144**:7457~753.
- [36] Pellet DM, Papernik LA and Kochian LV. Multiple aluminum resistance mechanisms in wheat. Roles of root apical phosphate and malate exudation. *Plant Physiol.*, 1996, **112**:591~597.
- [37] Basu U, Basu A and Taylor GJ. Differential exudation of polypeptides by roots of aluminum-resistant and -sensitive cultivars of *Triticum aestivum* L. in response to aluminum stress. *Plant Physiol.*, 1994, **106**:151~158.
- [38] Cambraia J, Galvani FR, Esteveao MM, *et al.* Effects of aluminum on organic acid, sugar and amino acid composition of the root system of sorghum. *J. Plant Nutr.*, 1983, **6**:313~322.
- [39] Suhayda CG and Haug A. Organic acids prevent aluminum-induced conformational changes in clamodulin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1984, **119**:376~381.
- [40] Kasai M, Sasaki M, Yamamoto Y, *et al.* Al increases K⁺ efflux and activities of ATP-dependent and PPI-dependent H⁺ pumps of tonoplast-enriched vesicles from barley roots. *Plant Physiol.*, 1992, **33**:1035~1039.
- [41] Matsumoto H. Biochemical mechanism of the toxicity of aluminum and the sequestration of aluminum in plant cells. In: *Plant-Soil Interactions at low pH*. Edited by Wright RJ, Baligar VC and Murrmann RP, Kluwer Academic Publish, Dor-drecht, The Netherlands. 1991. 825~838.
- [42] Cruz-Ortega R, *et al.* A protein similar to PR (pathogenesis-related) protein is elicited by metal toxicity in wheat roots. *Physiol. Plant.*, 1993, **89**:211~219.
- [43] Basu A, Basu B, Taylor GJ. Induction of microsomal membrane proteins on roots of an aluminum-resistant cultivar of *Triticum aestivum* L. under conditions of aluminum stress. *Plant Physiol.*, 1991, **104**:1007~1013.
- [44] Taylor GJ, *et al.* Al-induced, 51-kilodalton, membrane-bound proteins are associated with resistance to Al in a segregating population of wheat. *Plant Physiol.*, 1997, **114**:363~372.
- [45] Rincon M, Gonzales RA. Aluminum partitioning in intact roots of aluminum tolerant and aluminum sensitive wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Plant Physiol.*, 1992, **99**:1021~1028.