

小麦根系对铝毒的反应及其与根细胞壁组分和细胞壁对铝的吸附-解吸性能的关系

唐剑锋^{1,2}, 林咸永^{1,2 *}, 章永松^{1,2}, 李 刚^{1,2}, 郑绍建^{1,2}

(1. 浙江大学环资学院资源科学系, 浙江 杭州 310029; 2. 农业部亚热带土壤与植物营养重点实验室, 浙江 杭州 310029)

摘要:研究了小麦根系对铝毒的反应与不同根段细胞壁的组分及细胞壁对铝的吸附解吸性能的关系。结果表明, 30 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 可迅速抑制根系伸长, 在铝处理 30 h 时其根长仅为对照的 30.2%; 小麦根系相对伸长率随着铝浓度的提高而急剧降低, 30 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 处理 24 h 对根系伸长的抑制率高达 70.9%。小麦根系中距根尖 0~10 mm 根段的铝含量和细胞壁中果胶糖醛酸含量明显高于距根尖 10~20 mm 根段; 距根尖 0~10 mm 根段细胞壁对铝的吸附量明显大于距根尖 10~20 mm 根段, 而前者吸附态铝的解吸率低于后者; 铝浓度从 10 $\mu\text{mol/L}$ 提高到 20 $\mu\text{mol/L}$ 时细胞壁对铝的吸附量增加, 但对铝的解吸没有明显影响。采用 1.0 mol/L $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 对细胞壁预处理 2 h 降低果胶甲基酯化程度后, 铝吸附量降低了 20.9%, 但对铝解吸率没有影响。由此可见, 小麦根尖是铝毒的主要位点, 细胞壁果胶含量和果胶甲基酯化程度对小麦不同根段细胞壁对铝的吸附、积累具有重要作用, 铝与细胞壁的结合是根系对铝毒胁迫反应的重要原因。

关键词: 铝毒; 细胞壁; 果胶; 根伸长; 小麦

文章编号: 1000-0933(2005)08-1890-08 中图分类号: Q946.914 文献标识码: A

Wheat root responses to aluminum toxicity in relation to cell wall composition and adsorption-desorption of aluminum by cell wall in root tips

TANG Jian-Feng^{1,2}, LIN Xian-Yong^{1,2 *}, ZHANG Yong-Song^{1,2}, LI Gang^{1,2}, ZHENG Shao-Jian^{1,2} (1. College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang, 310029, China; 2. Key Laboratory of Subtropical Soil Science and Plant Nutrition, Ministry of Agriculture of China, Hangzhou Zhejiang, 310029, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(8): 1890~1897.

Abstract: Aluminum (Al) toxicity is an important factor determining the distribution of plant species and ecotypes in natural habitats and crop productivity in acid soils. Aluminum primarily affects root growth by interfering with processes critical for the regulation of growth in the root apex. Despite a large research effort in the last 30 years, the mechanism of Al-induced inhibition of root growth and the reasons for the spatial differences in Al sensitivity between apical root zones are still not clear. Over the last few years, evidence has accumulated supporting the hypothesis that the root apoplast plays an important role in the expression of Al toxicity and resistance. The objective of the present study is therefore to investigate the relationships between the response of wheat (*Triticum aestivum* L.) roots to Al toxicity in relation to either cell wall composition in different root segments and Al adsorption/desorption by root apex cell walls.

Hydroponic experiments were carried out in a controlled environment set at 25°C/20°C day/night temperature and 10 h darkness. Seedlings of an Al-sensitive wheat cultivar were grown in solution containing 0.5 mmol/L CaCl_2 at pH 4.5 for 3 days. The axial roots from 3-day-old seedlings were used for all experiments. Root elongations with time courses and Al concentration treatments were measured to evaluate the inhibitory effect of Al on wheat roots. The Al concentrations in

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270784)

收稿日期: 2004-11-18; 修订日期: 2005-06-10

作者简介: 唐剑锋(1979~), 男, 湖南宁远人, 硕士生, 主要从事铝毒机理研究. E-mail: jianfeng0715@tom.com

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: xylin@zju.edu.cn

Foundation item: The National Natural Science Foundation of China (No. 30270784)

Received date: 2004-11-18; Accepted date: 2005-06-10

Biography: TANG Jian-Feng, Master candidate, mainly engaged in aluminum toxicity. E-mail: jianfeng0715@tom.com

0~10 mm and 10~20 mm root segment were determined after seedlings were treated with 30 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 for 24 h. Cell walls were extracted from the 3-day-old roots (0~10 mm and 10~20 mm root segment) for the kinetics of Al adsorption and desorption studies, the adsorption solution consisted of 10 or 20 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 in 0.5 mmol/L CaCl_2 at pH 4.5, after adsorption the Al adsorbed was desorbed by 2.5 mmol/L CaCl_2 at pH 4.5. As $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ can effectively decrease the degree of pectin esterification (DM) in cell walls, cell walls were pretreated with 1.0 mol/L $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ for 2 h to decrease the DM, the residue was ready for the kinetic study. The $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -treated cell walls were also used to investigate the role of the DM of pectin in Al binding, and the role of cell wall composition in Al toxicity. The uronic acid content in cell walls of two root segments was also determined.

The main results of this study are as follows. Root growth of wheat plants was markedly inhibited by the exposure to 30 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 solution, and the root length was only 30% of that of the control. The relative root elongation rate of wheat was markedly decreased with increasing Al concentrations, and the inhibitory rate of root elongation was up to 70.9% after 24 h treatment with 30 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 . Both Al and pectin uronic acid concentrations in cell walls of 0~10 mm root segments were significantly higher than those of 10~20 mm, the Al concentration in 0~10 mm root segments was about 1.5 times that in 10~20 mm, while the pectin uronic acid concentration in 0~10 mm was 1.47 times of that in 10~20 mm root segments. The amount of Al adsorbed by the cell walls of 0~10 mm root segments was significantly higher than that of 10~20 mm (17.2%), the amount of Al adsorbed by the former was 23.39 $\mu\text{mol/g}$ cell wall, and 19.96 $\mu\text{mol/g}$ cell wall by the later. The desorption rate was slightly lower in cell walls of 0~10 mm root segment than that of 10~20 mm. The amount of Al adsorbed by root cell walls was significantly increased (by 164.4%) with increasing solution Al concentrations from 10 $\mu\text{mol/L}$ to 20 $\mu\text{mol/L}$, and the desorption rate was not affected. After reducing the DM of cell walls with 1.0 mol/L $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ for 2 h, the total amount of Al absorbed was decreased by about 20.9%, and the desorption rate was marginally affected. The present data show that the root tip is the primary target of Al toxicity and the importance of pectin concentration, DM of pectin for Al binding to cell walls and Al accumulation in different root segments. These results also imply that Al binding to cell walls represents an important pathway in the response of wheat root to Al toxicity.

Key words: aluminum toxicity; cell wall; pectin; root elongation; wheat

酸性土壤在全球范围内广泛分布。据统计,pH 低于 5.5 的酸性土壤约占全世界土地面积的 30%和耕地面积的 50%^[1]。在中国,酸性土壤遍布 15 个省区,总面积达 203 万 km^2 ,约占耕地面积的 21%^[2]。铝毒被认为是酸性土壤中限制作物生长最重要的因素,严重影响酸性土壤上作物的生产力^[3~6]。铝毒的原初效应是抑制植物的根系伸长,并因此抑制植物对水分和养分的吸收^[1,3]。虽然至今对铝毒及其耐性机理已有大量研究,但对铝抑制根系伸长的机理仍然没有完全搞清楚^[3,4]。

研究表明,许多植物根系接触微摩尔浓度的铝数小时甚至十几分钟后根的伸长便受到抑制^[7~10]。早期的研究认为,铝抑制根系伸长的原因是由于抑制细胞分裂造成的^[11],但目前认为铝抑制根细胞的扩展和伸长是根伸长迅速受到抑制的主要原因^[1,3,12,13],而植物根细胞的扩展和伸长与细胞壁的成分、伸展性等有关^[14,15]。研究表明,细胞壁是铝积累的靶位,如积累在珊瑚轮藻中的铝约 99.9%积累在细胞壁上^[16]。铝结合在细胞壁上影响了细胞壁组分的合成,还对细胞壁的结构和功能如细胞壁的伸展性、刚性、孔隙度和酶活性等产生深刻的影响^[14,17~19],从而对根细胞的扩展和伸长产生重要影响。细胞壁上积累的铝主要是结合在带负电荷的果胶上,在植物铝毒表达中起到了重要作用^[10,12,20]。Schmohl 和 Horst^[20]研究了细胞壁果胶含量与玉米悬浮培养细胞对铝毒敏感性的关系,显示果胶含量高的细胞对铝毒较为敏感,并认为铝与细胞壁果胶的结合对细胞的铝毒和耐性表达具有重要的作用。果胶的甲基化程度越高,细胞对铝毒的耐性越强^[20]。然而,上述研究均采用悬浮培养细胞作为研究对象,而在完整植株中的情形如何尚不清楚。最近,我们^[21]研究了小麦根系细胞壁对铝的吸附动力学过程,揭示了果胶在细胞壁吸附铝过程中的作用,而对于铝毒害部位-根尖细胞壁对铝的吸附性能如何还需进一步研究。

本文以小麦为材料,研究其根系对铝胁迫的反应与不同部位的根尖细胞壁的成分、性质以及铝的吸附-解吸性能的关系,以期更加深入地揭示铝对植物的毒害机理。

1 材料与方法

1.1 植物培养

供试材料为前期筛选的对铝敏感的小麦(*Triticum aestivum* L.)基因型辐 84 系^[22]。种子先用 1.2%的 NaClO 溶液消毒 20 min,多次清洗后用去离子水浸泡过夜,经浸泡后的种子在 25 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中避光催芽 24 h,将已经露白的小麦幼苗转移到带有网眼的尼龙网上,尼龙网置于盛有 0.5 mmol/L CaCl_2 (pH 4.5)溶液的 5 L 塑料容器上。每天更换 0.5 mmol/L CaCl_2 (pH 4.5)溶

养液,用 0.1 mol/L HCl 和 0.1 mol/L NaOH 调节 pH 值。小麦幼苗在光照和黑暗时间分别为 14 h 和 10 h 的控制培养室中培养,其对应温度分别为 25℃、20℃。

1.2 小麦根长及根相对伸长率的测定

将根长为 5cm 左右的小麦幼苗培养在含 0.5 mmol/L CaCl_2 (pH 4.5) 的 AlCl_3 溶液中, AlCl_3 的浓度设置为 0、30 $\mu\text{mol/L}$ 。于 0、6、12、18、24、30 h 用直尺测量初生根(最长的根)长度,每处理均测量 20 株幼苗的根长。

同时将小麦幼苗在含有 0、10、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 的 0.5 mmol/L CaCl_2 溶液 (pH 4.5) 中培养 24 h,在培养前及培养后分别测量根长,每处理均测量 20 株幼苗的根长。各个处理前、后根系的长度差为根系伸长量,根系相对伸长率 (relative root elongation) 为铝处理与对照无铝处理的根系伸长量的百分比。

1.3 不同根段铝含量的测定

小麦在含 30 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 的 0.5 mmol/L CaCl_2 (pH 4.5) 溶液中培养 24 h 后,用去离子水清洗根系后自根尖端顶端始切取小麦根段 0~10 mm 及 10~20 mm 后烘干,称重,然后按照潘根生等的方法测定铝的含量^[23]。

1.4 细胞壁的提取

小麦幼苗生长培养 3 d 后(培养条件同 1.1),水洗根尖,切取小麦距根尖 0~10 mm 及 10~20 mm 的根段,在切取过程中小麦根段保存在冰乙醇中,切取完毕后,按 Zhong 和 Lauchli^[24] 的方法稍加修改提取细胞壁。将根段称重,放入研钵中研磨成粉末状后,用冰乙醇冲洗两次,每次冰乙醇用量均为 10 mL/g 根鲜重,研磨,移入离心管,并在冰浴中存放 20 min。此匀浆在 1000 r/min 离心 10 min。沉淀物分别用冰丙酮,冰甲醇-三氯甲烷 (V/V 1:1) 和甲醇各冲洗一次(以上试剂用量均为 7 mL/g 根鲜重),并在 1000r/min 下离心 10 min。弃去上清液,沉淀物即为细胞壁,冷冻干燥,备用。

1.5 细胞壁多糖成分的分离和测定

参照 Zhong 和 Lauchli^[24] 的方法进行部分修改,细胞壁样品称重后加 4 mL 0.5% 草酸铵缓冲液(内含 0.1% NaHB_4) 在沸水中洗 2 次,上清液即为果胶 (pectin),量体积;沉淀用去离子水冲洗 2 次,冷冻干燥,用 4 mL 4% NaOH(内含 0.1% NaHB_4) 于室温下分 3 次抽提共 24 h,上清液即为半纤维素 1 类 (HC1),用冰乙酸中和,量体积;沉淀用去离子水冲洗 2 次,冷冻干燥;用 4 mL 24% NaOH(内含 0.1% NaHB_4) 于室温下分 3 次抽提共 24 h,上清液即为半纤维素 2 类 (HC2),用冰乙酸中和,量体积。上述提取液放入冰箱中待用。然后参照 Taylor 等^[25] 的方法测定细胞壁多糖的糖醛酸含量。

1.6 铝吸附-解吸动力学测定

采用馏分收集器进行细胞壁对铝的吸附和解吸试验^[21]。称取 0.025 g 细胞壁样品,装入 2 mL 的柱子中,先用 0.5 mmol/L CaCl_2 (pH 4.5) 浸泡稳定 2 h 后,抽干 CaCl_2 溶液,然后用 0.5 mmol/L $\text{CaCl}_2 + 10$ (或 20) $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 (pH 4.5) 以流速 2 mL/10 min 收集馏分。用 PCV 法(见 1.8)测定馏分中的铝浓度,以吸附后溶液的吸光度达到原液的吸光度为吸附终点,至细胞壁吸附饱和后用蒸馏水以流速 6 mL/10 min 冲洗 30 min 后,用 2.5 mmol/L CaCl_2 (pH 4.5) 以流速 2 mL/10 min 解吸,收集馏分。吸附解吸完毕后测定馏分中铝离子,得到每一时间段中细胞壁吸附或解吸铝的量,通过计算不同时间内细胞壁对铝累积吸附量得到细胞壁对铝吸附动力学曲线,同样计算出不同时间内累积解吸量占吸附总量的百分比即解吸率,吸附量和解吸量均为同时进行的 2 个独立试验的平均值。

1.7 果胶甲基化程度的调节

参照 El-Nawawi 和 Heikal^[26] 的方法调节细胞壁果胶的甲基化程度。称取 0.025 g 细胞壁样品,装入 2 mL 的柱子中,用水浸泡过夜,抽干水分,加入 2 mL 1.0 mol/L $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (含异丙醇 60%) 处理 2 h 后(温度 25℃),抽干,依次用 60% 的异丙醇,1.0 mol/L HCl (含异丙醇 60%), 0.5 mmol/L CaCl_2 (pH 4.5) 冲洗数次后,抽干溶液,加入 0.5 mmol/L CaCl_2 (pH 4.5) 2 mL 浸泡稳定 2 h,用 20 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 对细胞壁进行吸附和解吸试验,方法同上。

1.8 溶液中铝的测定

参照 Archambault 等 PCV (Pyrocatechol Violet) 法^[27] 测溶液中的铝离子。

2 结果

2.1 铝对小麦根系伸长的影响

铝抑制根系伸长是植物遭受铝毒最早和最易观察到的症状,故根系伸长率常被用来表征植物遭受铝毒的程度和耐铝性差异最常用和最敏感的指标^[8]。图 1 为小麦基因型辐 84 系在 0、30 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 处理下根伸长情况,在 6 h 时便可观察到小麦根伸长明显受到铝抑制,随着处理时间的延长,小麦根伸长受抑制程度加剧,在处理 30 h 时,铝处理的根系长度仅为对照的 30.2%。

由图 2 可见,经不同浓度铝处理 24 h 后,小麦根系相对伸长率随铝浓度的提高而降低。铝浓度在 0~30 $\mu\text{mol/L}$ 范围内,小麦根系相对伸长率随着铝浓度的提高而急剧降低,当铝处理浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 时,根系伸长的抑制率已达 42.9%,在

30 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 处理时,小麦根系相对伸长率仅为 29.1%,根系伸长的抑制率高达 70.9%。当浓度在 30~50 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 范围,小麦根系相对伸长率变化较小。

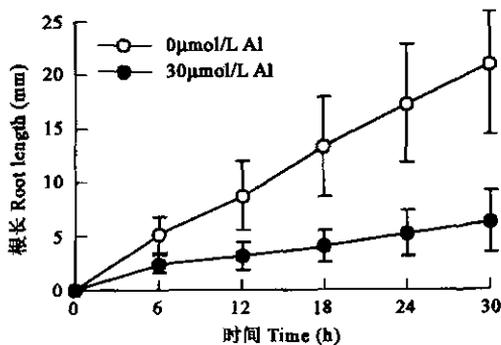


图 1 铝对小麦根系伸长影响的时间变化

Fig. 1 Time courses of root elongation of wheat in a solution containing 0 or 30 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$

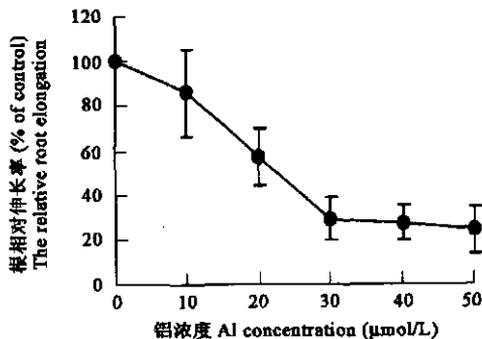


图 2 不同浓度铝对小麦根系相对伸长率的影响

Fig. 2 Relative root elongation of wheat treated with various concentrations of AlCl_3

2.2 小麦不同根段中铝含量差异

经 30 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 处理 24 h 后小麦根尖不同部位铝含量的差异明显,0~10 mm 和 10~20 mm 根段中铝含量分别为 (1227 \pm 102)、(829 \pm 53) $\mu\text{g/g}$,前者约为后者的 1.5 倍。

2.3 小麦根尖细胞壁对铝的吸附-解吸动力学

2.3.1 小麦辐 84 系不同根段细胞壁对铝的吸附-解吸动力学 图 3 为小麦辐 84 系根尖不同根段细胞壁(0~10 mm、10~20 mm)在 10 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 下对铝的吸附-解吸动力学曲线。由图 3A 可见,在较短时间内(100 min 内),0~10 mm 根段细胞壁对铝的吸附量与 10~20 mm 根段没有明显差异,但在后期前者的吸附总量明显高于后者,到吸附饱和(800 min)时,0~10、10~20 mm 根段细胞壁吸附总量分别为 23.39、19.96 $\mu\text{mol/g}$ 细胞壁,前者比后者高 17.2%。在解吸初期(100 min),0~10 mm 与 10~20 mm 根段铝解吸率没有明显差异,但在解吸后期,10~20 mm 根段细胞壁解吸率略大于 0~10 mm 根尖细胞壁的解吸率,其解吸率(以铝解吸量占吸附总量的百分比计)分别为 77.6%、70.2%(图 3B)。

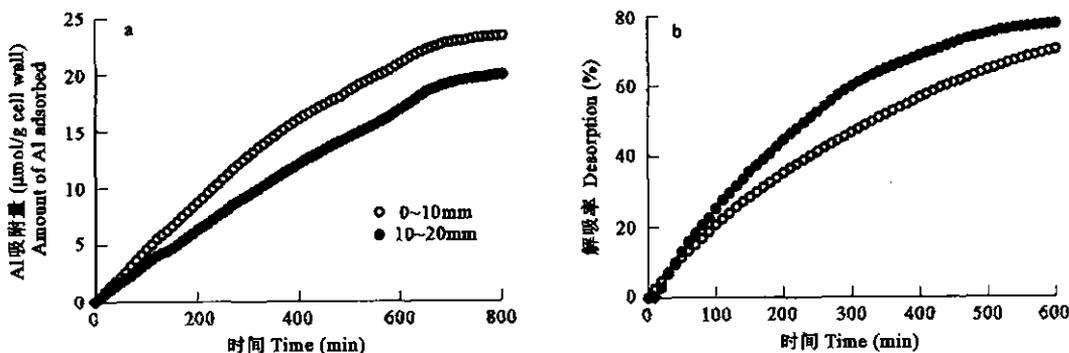


图 3 小麦根尖不同根段细胞壁在 10 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 下对铝的吸附(a)和解吸(b)动力学

Fig. 3 Adsorption(a) and desorption(b) kinetic curves of Al in the root cell walls of wheat cultivars different apical root segments exposure to 10 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$

2.3.2 铝浓度对铝吸附解吸动力学的影响 图 4 为小麦根尖 0~10 mm 根段细胞壁在 10 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 和 20 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 浓度下的吸附-解吸动力学曲线。由图 4a 可以看出,小麦根尖细胞壁对铝吸附量与铝处理浓度密切相关,在 20 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 处理下细胞壁对铝的吸附量上升速率较快,而 10 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 处理时对铝吸附量的增加速率较缓慢,而且高浓度铝处理细胞壁对铝吸附量明显高于低浓度铝处理。在吸附终点(800 min)时,10 $\mu\text{mol/L}$ 和 20 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 处理下铝的吸附量分别为 23.39、61.84 $\mu\text{mol/g}$ 细胞壁,后者比前者高 164.4%。而不同铝浓度处理的解吸率在前期有一定的差异,20 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 处理要高于 10 $\mu\text{mol/L AlCl}_3$ 处理,但到后期两者的解吸率没有明显的差异(图 4b)。

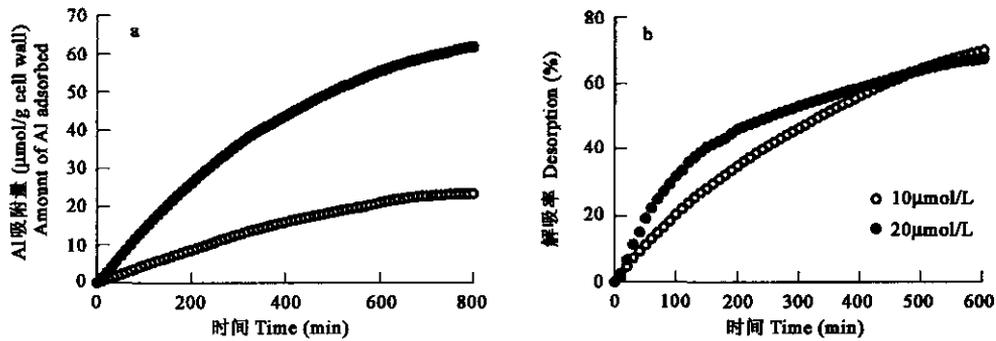


图4 铝浓度对小麦根尖0~10mm 细胞壁对铝的吸附(a)和解吸(b)的影响

Fig. 4 Effect of Al concentration adsorption(a) and desorption(b) by cell walls from root apex(0~10mm) of wheat seedlings

2.3.3 果胶甲基酯化程度对小麦根尖细胞壁对铝的吸附和解吸的影响 研究表明,采用 1.0 mol/L $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 处理果胶可以有效降低其甲基酯化程度^[26]。经 1.0 mol/L $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 对小麦辐 84 系根尖 0~10 mm 细胞壁进行预处理后,根尖细胞壁前期吸附的铝上升速率与对照基本一致,但到后期,经 1.0 mol/L $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 处理的细胞壁对铝吸附总量明显降低,对照与经 1.0 mol/L $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 处理的根尖细胞壁吸附铝的总量分别为 61.84、48.91 $\mu\text{mol/g}$ 细胞壁,后者比前者低 20.9%(图 5a)。可见,采用 1.0 mol/L $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 降低了细胞壁果胶的甲基酯化程度后,细胞壁吸附铝总量明显降低(图 5a)。但是 1.0 mol/L $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 处理细胞壁后对其解吸率与对照没有明显的影响(图 5b)。

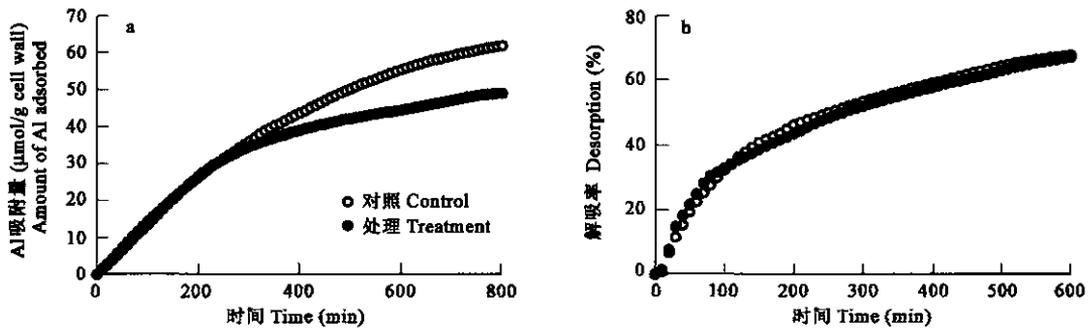


图5 果胶甲基酯化程度对根尖细胞壁(0~10mm)吸附(a)和解吸(b)动力学的影响

Fig. 5 Effects of pectin esterification on adsorption(a) and desorption(b) kinetic curves of Al in the root cell walls(0~10mm)

表1 小麦辐 84 系不同根段细胞壁多糖组分中糖醛酸含量的差异

Table 1 Difference of the uronic acid concentrations of cell wall composition in two apical root segments ($\mu\text{g}/\text{mg}$)

根段 Segment(mm)	果胶 Pectin	半纤维素 1(HC1)	半纤维素 2(HC2)	总量 Total
0~10	14.35±1.30a	34.89±5.03a	20.20±1.93a	69.44±8.53a
10~20	9.74±2.74b	18.07±1.35b	11.94±1.51b	39.75±5.60b

带不同字母的同一列的平均值间表示邓肯氏多重比较差异显著($p < 0.05$)

2.4 小麦不同根段细胞壁组分的差异

小麦根尖细胞壁中果胶、半纤维素 1、及半纤维素 2 等多糖成分的糖醛酸含量见表 1。由表 1 中可看出,0~10 mm 根段细胞壁中各组分糖醛酸含量均大于 10~20 mm 根段细胞壁各成分含量。果胶是细胞壁中铝的主要吸附位点,小麦不同根段之间果胶中糖醛酸含量差异显著,0~10 mm 和 10~20 mm 根段细胞壁果胶含量分别为 14.35±1.30、9.74±2.74 (g/mg 细胞壁,前者为后者的 1.47 倍,而两根段中半纤维素 1 及半纤维素 2 糖醛酸含量差异也非常明显,前者半纤维素 1 含量为后者的 1.93 倍、半纤维素 2 含量为后者的 1.69 倍,两者糖醛酸总量也有明显差异,前者为后者的 1.75 倍。

3 讨论

植物遭受铝毒害时根系首当其冲,根系伸长受抑制是铝毒最易观察到和最敏感的典型症状。许多研究结果显示在短时间内就可观察到铝对根伸长抑制的现象^[12],而水稻^[8]和绿豆^[10]的根系伸长分别在 30 min 和 20 min 内便受到铝的明显抑制。本试验

的结果表明,30 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 处理 6 h 就对小麦根系伸长产生显著的抑制作用,而且随着时间的延长抑制程度加剧(图 1)。在 20 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 处理 24 h 后根系伸长的抑制就已达 42.9%,而在 30 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 时根伸长抑制率高达 70.9%(图 2)。Clarkson 认为,抑制细胞分裂是造成铝抑制根系伸长的原因^[11]。近年来的研究表明,根细胞分裂是一个相对较慢的过程,在 1~2 h 内细胞分裂对整个根系伸长的贡献仅为 1%~2%,而铝对根系伸长的抑制可在 1~2 h 甚至 20 min 内就可观测到^[10,12],这说明铝对细胞分裂的抑制大大滞后于其对根系伸长的影响^[3,12]。因此,目前认为在铝胁迫的初期,铝对根细胞扩展和伸长的抑制在铝对根系伸长的抑制中起主导作用,而铝对细胞分裂的抑制作用是在根系持续受到铝胁迫 24 h 以后才起作用^[1,3,12]。

植物根系的的不同部位对铝毒的敏感性不同^[28]。Ryan 等^[7]发现玉米根系中仅根尖 2~3 mm(包括根冠、分生组织和伸长区)暴露于铝胁迫中才会抑制根系的伸长,而把根尖以外的根系其它部位暴露于含铝溶液中,根系伸长不受影响。Delhaize 等发现^[29],铝对根尖所产生的损伤远远超过根的其他部位。在玉米敏感品种中,根尖过渡区的远端(distal part of the transition zones, DTZs),即离根顶端约 2~3 mm 对铝毒的反应最为敏感^[30,31]。最近,Blamey 等^[10]采用数字显微技术的研究发现绿豆根系在距根尖 2200~5100 μm 的区域(伸长区)受铝毒害最为严重。因此,植物根尖是铝诱导根系伸长受抑的最初作用靶位。根系的的不同部位对铝反应的差异与铝积累的差异有关^[4]。在玉米和豌豆中,仅仅只要 2~3 mm 根尖暴露于铝胁迫下就会对根系伸长产生抑制作用^[29],而事实上在这些部位积累的铝较多。Samuels 等^[32]发现小麦敏感品种 Scout 66 在 50 $\mu\text{mol/L}$ Al 处理 6 h 后距根尖 0~2 mm 区域的含铝量分别是 2~5 mm 和 5~15 mm 的 1.3 和 3 倍。在本试验中,也发现敏感的小麦基因型辐 84 系根尖 0~10 mm 的含铝量是 10~20 mm 的 1.5 倍。由此可见,根尖(包括根冠、分生组织和伸长区)是铝积累和识别铝毒胁迫的主要位点^[4]。

研究表明,根系中的 30%~90%的铝积累于根尖细胞壁^[4],而珊瑚轮藻细胞壁中的铝占总积累量高达 99.9%^[16]。细胞壁中铝主要结合在占初生壁 35%左右的带负电荷的果胶中,因此,根细胞壁果胶含量会对铝的吸附和积累以及对铝毒害的敏感性产生一定的影响。Chang 等^[33]报道,细胞壁果胶是铝积累的主要位点,铝胁迫提高了烟草悬浮培养细胞的细胞壁的果胶含量,而且认为铝主要与新合成的果胶相结合。Schmohl 和 Horst 发现经 NaCl 预处理提高玉米悬浮培养细胞的细胞壁果胶含量后,细胞铝含量和对铝毒的敏感性提高,且果胶含量与铝含量呈显著的正相关,而用果胶酶处理则降低了果胶含量和细胞对铝的敏感性^[20]。在玉米根系中,NaCl 预处理后根系细胞壁的果胶含量增加,而铝含量也相应提高;根尖 0~5 mm 内每 1 mm 的果胶含量由根顶端向上递减,且与铝含量和对铝的敏感性呈显著的正相关^[28]。最近,有研究^[21]就小麦根系细胞壁对铝的吸附动力学研究中也发现采用果胶酶降解细胞壁部分果胶后,细胞壁对铝的吸附量显著下降,这也证实了果胶是细胞壁吸附铝的主要位点。在本试验中发现小麦 0~10 mm 根段的果胶含量显著高于 10~20 mm(表 1),果胶含量高的 0~10 mm 根段细胞壁对铝的吸附量要明显大于果胶含量较低的 10~20 mm 根段细胞壁(图 3a),0~10 mm 根段细胞壁吸附的铝要比 10~20 mm 难以解吸(图 3b),且前者铝的含量也高于后者。由此可见,小麦根尖顶端部位由于果胶含量较高,其对铝的吸附能力较强,导致其铝积累量较高,从而表现出对铝毒的较为敏感。果胶对铝的吸附受到许多因素如溶液 pH、 Al^{3+} 和 Ca^{2+} 浓度等影响,Blamey 等^[34]发现果胶酸钙对铝的吸附量随着溶液中 Al^{3+} 浓度的提高而呈线性增加的趋势。本试验的结果也显示,溶液中铝浓度从 10 $\mu\text{mol/L}$ 提高到 20 $\mu\text{mol/L}$ 时根尖细胞壁对铝的吸附量增加,但是解吸率没有显著的差异(图 4a,b)。

根细胞壁对铝的吸附能力主要取决于果胶中带负电荷的游离羧基的多少。Schidknecht 和 Vidal 研究发现^[35],耐性玉米品种根系细胞壁的负电荷密度低于敏感品种,故前者对铝的结合能力较低而表现出较强的耐铝性。果胶上的游离羧基不仅与果胶含量有关,而且与果胶的甲基酯化程度密切相关。甲基酯化程度较低的果胶通常含有较多的游离羧基即阳离子吸附位点,故与铝的结合能力也较强。细胞壁果胶与铝的结合不仅影响细胞壁伸展性、孔隙度以及及与细胞壁松弛有关的酶活性,而且还提高了细胞壁的刚性,导致根细胞的扩展和伸长受抑制,从而抑制根系的伸长^[10,20,36]。Blamey 等^[37]曾报道甲基酯化程度(DM)不同的商品果胶对铝的吸附没有差异,这可能与其采用的果胶甲基酯化程度差异较小有关(分别为 85%和 79%)。但是 Schmohl 等^[36]发现采用果胶甲基酯酶处理玉米悬浮细胞降低了细胞壁果胶甲基酯化程度,而导致细胞壁对铝吸附总量和交换性铝含量以及细胞对铝的敏感性提高。马铃薯根系在 NaCl 预处理后 DM 降低,DM 与根尖铝含量呈负相关,而与铝的耐性呈正相关^[20]。在本试验中按照 El-Nawawi 和 Heikal 的方法^[26]用 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 处理降低细胞壁果胶甲基酯化程度后细胞壁对铝的吸附总量下降了 20.9%(图 5a),进一步证明了果胶甲基酯化程度在细胞壁与铝的结合中以及在铝毒表达中的重要作用。表面看来,在本试验中降低果胶甲基酯化程度后导致细胞壁对铝的吸附量减少似乎与 Schmohl 等^[36]的结果相矛盾,其实则不然。Schmohl 等^[36]采用果胶甲酯酶(PME)与采用 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 来降低果胶甲基酯化度的原理有所不同,PME 通过脱甲基化来降低甲基酯化程度,增加果胶上的游离羧基,导致阳离子的吸附位点增加;而 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 虽然也降低了果胶甲基酯化程度,但使果胶变成了低酯的酰胺化果胶,果胶上的阳离子吸附位点却减少了。因此,从本质上说,细胞壁对铝的吸附和结合取决于细胞壁中果胶的阳离子吸附位点即游离羧基的多少。虽然,在本试验中没有研究不同根段细胞壁果胶甲基酯化程度的差异,但是 Schmohl 等^[36]在马铃薯中发现根尖 0~10 mm 的果胶甲基酯酶活性明显高于 30~60 mm 的根段,这间接说明了根系不同部位的细胞壁果胶甲基酯化程度可

能存在一定的差异。因此,推测在本试验中根系不同部位的细胞壁铝吸附量和铝含量差异可能与其细胞壁果胶甲基酯化程度也有一定的关系。

综上所述,细胞壁果胶含量和果胶甲基酯化程度可能是导致小麦根系不同部位细胞壁对铝吸附量、铝积累量的差异以及根系对铝胁迫反应的重要原因。

References:

- [1] Kochian L V, Hoekenga O A, Pi nerros M A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanism of aluminum tolerance and phosphorus efficiency. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 2004, **55**: 459~493.
- [2] Lin X Y, Wang J L. Mechanisms of adaptation to aluminum toxicity in plants. In: Zhang F S ed. *Ecological Physiology and Genetics of Plant Nutrition*. Beijing: China Science and Technology Press, 1993. 248~290.
- [3] Kochian L V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1995, **46**: 237~260.
- [4] Matsumoto H. Cell biology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants. *Int. Rev. Cytol.*, 2000, **200**: 1~46.
- [5] Shen H, Yan X L. Exudation and accumulation of organic acids in the roots of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in response to low phosphorus and aluminum toxicity stress. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, **22**(3): 387~394.
- [6] Kong F X, Sang W L, Jian X, *et al.* Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, **20**(5): 855~862.
- [7] Ryan P R, Ditasmo J M, Kochina L V. Aluminum toxicity in roots; an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *J. Exp. Bot.*, 1993, **44**: 437~446.
- [8] Goh C H, Lee Y. Aluminum uptake and aluminum-induced rapid root growth inhibition of rice seedlings. *J. Plant Biol.*, 1999, **42**(2): 151~158.
- [9] Barcelo J, Poschenrieder C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxication as mechanisms of aluminum toxicity and resistance; a review. *Environ. Bot.*, 2002, **48**: 75~92.
- [10] Blamey F P C, Nishizawa N K, Yoshimura. Timing, magnitude, and location of initial soluble aluminum injuries to mungbean roots. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 2004, **50**(1): 67~76.
- [11] Clarkson D T. Aluminum tolerance in species within the genus *Agnostis*. *J. Ecol.*, 1966, **54**: 167~178.
- [12] Horst W J. The role of the apoplast in aluminum toxicity and resistance of higher plants: A review. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.*, 1995, **158**: 419~428.
- [13] Samac D A, Tesfaye M. Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils—a review. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 2003, **75**: 189~207.
- [14] Le Van H, Kuraishi S, Sakurai N. Aluminum-induced rapid root inhibition and changes in cell-wall components of squash seedlings. *Plant Physiol.*, 1994, **106**: 971~976.
- [15] Ma J F, Shen R F, Nagao S, *et al.* Aluminum Targets Elongating Cells by Reducing Cell Wall Extensibility in Wheat Roots. *Plant Cell Physiol.*, 2004, **45**(5): 583~589.
- [16] Rengel Z, Reid R J. Uptake of Al across the plasma membrane of plant cells. *Plant Soil*, 1997, **192**: 31~35.
- [17] Tabuchi A, Matsumoto H. Changes in cell-wall properties of wheat (*Triticum aestivum*) roots during aluminum-induced growth inhibition. *Physiol. Plant.*, 2001, **112**: 353~358.
- [18] Teraoka T, Kanek M Mori, Yoshimura E. Aluminum rapidly inhibits cellulose synthesis in roots of barley and wheat seedlings. *J. Plant Physiol.*, 2002, **159**: 17~23.
- [19] Mao C, Yi K, Yang L, *et al.* Identification of aluminum-regulated genes by cDNA-AFLP in rice (*Oryza sativa* L.); aluminum-regulated genes for the metabolism of cell wall components. *J. Exp. Bot.*, 2004, **55**(394): 137~143.
- [20] Schmohl N, Horst W J. Cell wall pectin content modulates aluminum sensitivity of *Zea mays* (L) cells grown in suspension culture. *Plant Cell Environ.*, 2000, **23**: 735~742.
- [21] Zheng S J, Lin X Y, Yang J L, *et al.* The kinetics of aluminum adsorption and desorption by root cell walls of an aluminum resistant wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar. *Plant Soil*, 2004, **261**(1):85~90.
- [22] Lin X Y, Zhang Y S, Luo A C. Differences of aluminum tolerance on wheat genotypes and its screening techniques. *Plant Nutri. Fertil. Sci.*, 2001, **7**(1): 64~70.
- [23] Pan G S, Masaki T, Shigeki K. Isolation of cell organelles from the tip-root cells of tea and their distribution of aluminum. *Acta Agriculturae Universitatis Zhejiangensis*, 1991, **17**(3): 255~258.
- [24] Zhong H, Lauchli A. Changes of cell wall composition and polymer size in primary roots of cotton seedlings under high salinity. *J. Exp. Bot.*, 1993, **44**(261): 773~778.

- [25] Taylor K A, Buchanan-Smith. A colorimetric for the quantitation of uronic acids, and a specific assay for galacturonic acid. *Anal. Biochem.*, 1992, **201**: 190~196.
- [26] El-Nawawi S A, Heikal Y A. Production of low ester pectin by de-esterification of high ester citrus pectin. *Carbohydrate Polymers*, 1995, **27**: 191~195.
- [27] Archambault D J, Zhang G, Taylor GJ. A comparison of kinetics of aluminum (Al) uptake and distribution in roots of wheat (*Triticum aestivum*) using different aluminum sources. A revision of operational definition of symplastic Al. *Physiol. Plant.*, 1996, **98**: 578~586.
- [28] Horst W J, Schmohl N, Kollmeier M, *et al.* Does aluminum affect root growth of maize through interaction with cell wall plasma membrane cytoskeleton continuum? *Plant Soil*, 1999, **215**: 163~174.
- [29] Delhaize E, Ryan P R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol.*, 1995, **107**: 315~321.
- [30] Sivaguru M, Horst W J. The distal part of the transition zone is the most aluminum-sensitive apical root of zone of maize. *Plant Physiol.*, 1998, **116**: 155~163.
- [31] Sivaguru M, Baluska F, Volkman D. Impacts of aluminum on the cytoskeleton of maize root apex. Short-term effects on the distal part of the transition zone. *Plant Physiol.*, 1999, **119**: 1073~1082.
- [32] Samuels TD, Küçükakyü K, Rincón-Zachary M. Al Partitioning Patter Root Growth as Related to AI Sensitivity and AI Tolerance in Wheat. *Plant Physiol.*, 1997, **113**: 527~534.
- [33] Chang Y C, Yamamoto, 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 Environ.*, 1999, **22**: 1009~1017.
- [34] Blamey F P C, Dowling A J. Antagonism between aluminum and calcium for sorption by calcium pectate. *Plant Soil*, 1995, **171**: 137~140.
- [35] Schidknecht R H P A, Vidal B C. A role for the cell wall in Al³⁺ resistance and toxicity: crystallinity and availability of negative charges. *Int. Arch. Biosci.*, 2002. 1087~1095.
- [36] Schmohl N, Pilling J, Fisahn J, *et al.* Pectin methyl esterase modulates aluminum sensitivity in *Zea mays* and *Solanum tuberosum*. *Physiol. Plant.*, 2000, **109**: 419~427.
- [37] Blamey F P C, Boczynski Z O, Kerven G L. Ligand effects on aluminum sorption by calcium pectate. *Plant Soil*, 1997, **192**: 269~275.

参考文献:

- [2] 林咸永, 王建林. 植物对铝毒胁迫的适应机制, 植物营养的生态生理学和遗传学. 见: 张福锁主编. 北京: 中国科学技术出版社, 1993. 248~290.
- [5] 沈宏, 严小龙. 低磷和铝毒胁迫条件下菜豆有机酸的分泌和累积. *生态学报*, 2002, **22**(3): 387~394.
- [6] 孔繁翔, 桑伟莲, 蒋新, 等. 铝对植物毒害及植物抗铝作用机理. *生态学报*, 2000, **20**(5): 855~862.
- [22] 林咸永, 章永松, 罗安程. 不同小麦基因型耐铝性的差异及筛选方法的研究. *植物营养与肥料学报*, 2001, **7**(1): 64~70.
- [23] 潘根生, Masaki T, 小西茂毅. 茶根尖细胞各胞器分部的分离及其铝的分布. *浙江农业大学学报*, 1991, **17**(3): 255~258.