

239-246

8279(8)

铝对马尾松幼苗影响的研究

曹洪法 高吉喜 舒俭民

(中国环境科学研究院生态研究所, 北京, 100012)

5791.248

摘 要

本文系统地报道了铝对马尾松幼苗的生长和生理生化过程影响。结果指出, 铝明显地抑制马尾松的生长, 临界浓度为15mg/L, 降低光合速率, 增加蒸腾作用, 提高叶和根的细胞膜透性, 减少叶可溶性糖和ATP的含量, 抑制ATP酶和GAP酶的活性, 破坏松苗对Ca、K、Zn、Fe等营养元素的吸收和转运, 铝在体内大量富集, 根部积累的铝主要分布在根组织的外皮层。

关键词: 铝, 马尾松, 生理生化过程, 光合作用, 蒸腾作用, 营养元素的吸收和运转。

酸雨对森林的危害已引起了人们的普遍关注。在我国, 酸雨分布范围很广, 且在川、粤、黔、桂地区很严重, 发生了明显的森林衰亡现象。许多学者认为, 酸雨引起土壤酸化, 特别是铝离子溶出, 致使植物细根受损, 进而影响整株植物的生长, 导致森林衰退^[1-4]。我国酸雨主要分布在长江以南地区, 森林土壤大多呈偏酸性和酸性, 为富铝性土壤。研究并发现在马尾松、冷杉林衰退和死亡样地土壤中可溶性铝浓度明显增加^[5-8]。国外有些学者研究了在溶液培养条件下, 铝对森林树种生长的影响^[7-9], 但还没有人系统地研究铝对森林树种的影响。为此, 我们选择了在我国酸雨区域分布最广、受害明显的森林树种——马尾松为对象, 较为详尽地研究了铝对它的生长、生理和生化过程, 营养离子吸收和转运的影响及铝在体内积累与分布, 以探讨铝毒对我国马尾松林的危害。

一、材料和方法

1. 马尾松苗的培养 马尾松(*Pinus massoniana* Lamb)种子采自广西林校林场, 冲洗干净后, 经HgCl₂消毒, 并浸泡24h, 选取饱满度好的种子置于铺有纱布的瓷盘上, 于室温、自然光照下培养。发芽后, 选取生长健壮的植株移植于塑料杯中, 以石英砂作基质进行溶液培养。培养液采用Edwards等^[10]的配方。

2. 铝处理方法 在温室内, 松苗经溶液培养3星期后, 开始铝处理, 铝处理液的pH为4.2, 铝浓度分别为0、15、30、60、120、240和480mg/L。溶液酸度每天进行调试, 营养液每天更换1次。每处理重复40次。

3. 松苗生长量的测定 在处理过程中, 每天观察松苗的反应, 记录受害症状, 3个月后, 分别测定根和茎的长度, 分别称量根和茎鲜重, 在70℃下烘干测干重, 最后作统计处理。

4. 叶绿素含量和光合、蒸腾作用的测定 在处理45d内测定。用美国Li-Cor6000光合作用仪整体测定植株的光合作用和蒸腾作用, 每星期一次, 上午10:00测定, 每处理5株,

本文于1991年3月16日收到, 修改稿于1992年2月15日收到。

每株重复测定10次,结果取平均值。在测定光合、蒸腾作用的同时,分析叶绿素含量:取0.5g针叶研磨后,用80%丙酮浸提,测定,然后按照Mackinny-Arnon^[11]公式计算叶绿素含量。

5. 膜透性和针叶ATP含量的测定 采用抽气真空渗透法,测定针叶叶片和根细胞膜透性;ATP的提取采用王维光等^[12]的方法,测定采用李立人等^[13]的方法。

6. 酶活性的测定 按照宓容钦等^[14]的方法,测定ATP酶的活性;采用袁晓华^[15]的方法,测定甘油醛-3-磷酸脱氢酶的活性。

7. 针叶糖含量的测定 采用蒽酮比色法测定针叶可溶性糖的含量^[16]

8. 组织内元素含量和分布状况的测定 采用质子诱发射线荧光分析测定各组织内元素含量。用电子探针法测定根组织内元素分布,置备的样品在DM-250IV型镀膜仪中分别喷镀碳层,在20keV·10⁻³A下用Dx-3A型扫描电子显微镜分析样品的元素分布状况,分析晶体为PET。样品的二次电子扫描图像和元素X射线分布图均用照片记录。

二、结果与讨论

1. 铝对马尾松生长的影响

由表1可以看出,铝对马尾松生长有明显的抑制作用,当培养液的铝浓度为15mg/L时,

表1 铝对马尾松幼苗生长的影响

Table 1 Effect of aluminium on seedling growth of *Pinus massoniana*

Al ³⁺ /mg/L		0	15	30	60	120	240
长 度 Length (cm)	根 Root	21.6a	19.5b	17.0c	15.9d	9.9e	5.2f
	株高 Plant	17.7a	10.6a	9.8b	9.08c	8.5c	7.1d
鲜 重 Fresh Weight (g)	根 Root	26.6a	24.7b	19.1c	14.2c	11.6e	6.3f
	地上部 Shoot	29.1a	26.8a	19.9c	16.3c	13.8d	10.4e

松苗的生长开始受阻,随铝处理浓度增加,受害加重。如15mg/L和30mg/L处理的松苗鲜重分别比对照下降8%和32%。受害松苗症状表现为针叶黄化、紫化;根尖膨大,侧根和根毛显著减少。

国外一些文献也报道了铝对云杉等森林树种的影响,如Hutchinson等的实验表明,白杉(*Picea glauca*)和红杉(*Picea rubens*)在培养液中铝浓度为5mg/L时,其干重比对照分别减少20%和17%,但只有当铝浓度大于20mg/L时,才对白松(*Pinus strobus*)的生长有抑制作用。Rostsiebert^[17]发现挪威云杉在铝浓度为1mg/L时,生长就受阻,受害云杉也表现出针叶黄化,根尖膨大,根毛减少,与马尾松的受害症状基本一致。可见,尽管不同树种的抗铝性相差很大,但铝对某些森林树种的生长抑制和危害是很明显的。

2. 铝对光合作用的影响

马尾松幼苗经不同浓度铝浓度处理后,叶绿素含量和光合速率均受到明显的影响。从图1和图2可以看出,随溶液中铝浓度增加,CO₂的固定量明显减少,针叶光合速率下降,二者之间呈负相关。叶绿素含量也随铝浓度的增加而降低,相关系数 $r = 0.85$ 。与对照相比,当铝浓度为30mg/L时,针叶叶绿素含量下降12.7%,60mg/L时,下降17.7%。

马尾松幼苗针叶的光合速率下降与叶绿素含量下降密切相关(图3), 同时针叶光合速率随铝含量的增加而下降(图4)。因此, 铝除通

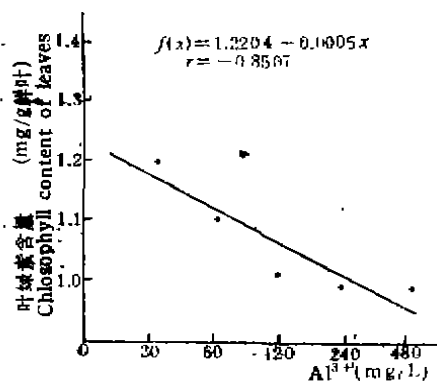


图1 铝对叶绿素含量的影响

Fig.1 Effect of aluminium on chlorophyll content of leaves

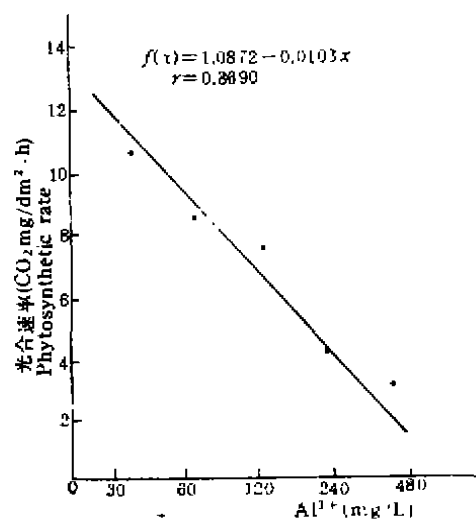


图2 培养液铝与光合速率的关系

Fig.2 The relationship between photosynthetic rate and aluminium

过降低光合色素影响光合作用外, 还干扰了其它有关光合作用的过程。Hampp^[18]发现, 当植物体内的铝含量升高时, 叶绿体被膜破坏, 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶和5-磷酸核酮糖激酶

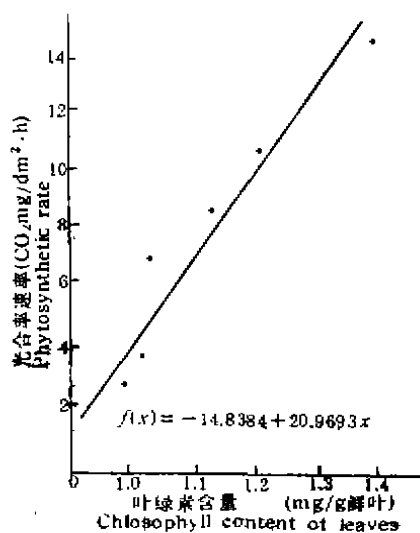


图3 叶绿素含量与光合速率的关系

Fig.3 The relationship between chlorophyll content and photosynthetic rate

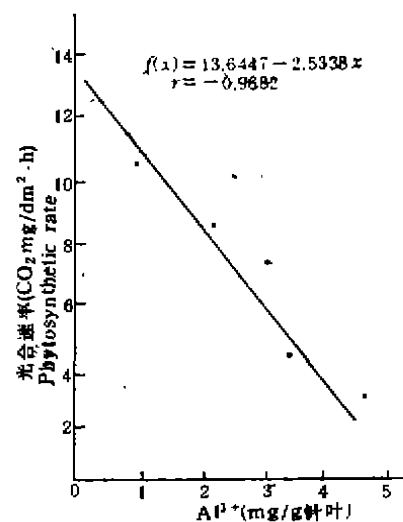


图4 叶片铝含量与光合速率的关系

Fig.4 The relationship between aluminium content of leaves and photosynthetic rate

的活性变化很小, 但 CO_2 固定量减少, 本试验发现铝对甘油醛-3-磷酸脱氢酶的活性有抑制作用, 说明铝可能通过破坏叶绿体被膜结构、降低叶绿素含量和抑制部分酶的活性等多种途径影响植物的光合作用。

3. 铝对蒸腾作用的影响

在测定光合作用的同时, 测定了不同铝浓度下蒸腾速率的变化。结果表明, 铝对松苗的

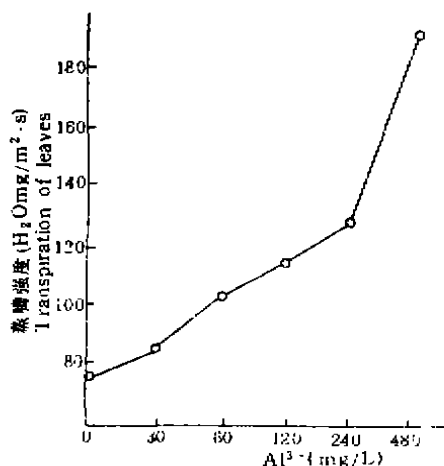


图5 培养液铝浓度与蒸腾强度的关系
Fig.5 The relationship between aluminium concentration and transpiration of leaves

蒸腾作用有明显的促进作用,随铝处理浓度增加,松苗的蒸腾速率增大(图5),水分蒸腾加速。与对照相比,当铝浓度30mg/L时,蒸腾强度增加10%,铝浓度在120mg/L和240mg/L时,蒸腾强度就分别增加32%和45%。

4. 铝对马尾松针叶和根细胞透性的影响

细胞膜是代谢的界面,为细胞内外物质交换的渠道。从表2可以看出,铝损伤了细胞膜,细胞内电解质外渗,针叶外渗液电导度增加,细胞透性的相对电导率随铝处理浓度增加而增大。

考虑到根是铝受害的主要部位,我们对根细胞透性的变化进行了连续观测。结果表明,随铝处理浓度的增加,时间延长,外渗液的电导率增加;外渗液的电导率在初始期变化较

表2 不同铝浓度处理下马尾松针叶膜透性测定值

Table 2 Cell permeability of needle of *Pinus massoniana* treated by Al^{3+}

Al^{3+} mg/L	0	30	120	240	480
相对电导率(%) Relative Conductance	7.9a	10.cb	11.4c	13.4e	16.8f

快,随放置时间延长,变化趋于平稳。如在最初的1h内,与对照相比,电导率增加了50—130 $\mu\Omega/cm$,而以1h到7h这段时间内,电导率的变化小于20 $\mu\Omega/cm$ 。

新生根细胞透性与老根相比,在同一铝浓度处理条件下,老根的细胞透性相对大于幼根,在30—480mg/L铝浓度范围,老根外渗液电导率相对增加21%—96%,说明老根受害较为严重所致。

5. 铝对腺苷三磷酸(ATP)含量、ATP酶和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAP)活性的影响

ATP是植物体内能量利用与储存的中心物质。从表3看出,铝明显地抑制松苗针叶内ATP的合成,ATP量随铝浓度增大而显著降低,两者之间呈负相关。与对照相比,培养液铝浓度15mg/L时,ATP含量就降低27%,铝浓度为120mg/L时,含量仅为对照的34%。

ATP含量的变化与植物体内无机磷的变化有关。有些报道指出,铝能增加植物对磷的吸收,而降低它的转运,即铝能增加磷在根部的含量,降低它在叶内的含量^[18,19]。本试验中发现铝处理松苗叶内的ATP含量降低,与磷含量减少的变化相一致,所以铝可能通过影响磷的代谢而影响ATP的合成。

表3 不同铝浓度下针叶ATP含量变化

Table 3 ATP content of needle of *Pinus massoniana* treated by Al^{3+}

Al^{3+} mg/L	0	15	30	60	120
ATP (mg/g)	1.31a	0.96b	0.89c	0.84d	0.44c

铝对ATP酶和GAP酶活性有明显的毒害作用。在测定铝离子对离体线粒体ATP酶活性和离体叶绿体GAP酶活性的影响, 发现 0.1mg/L Al^{3+} 就显著抑制它的活性, 随铝浓度增大, 活性相应降低(图6, 7)。同时也测定了不同铝处理与马尾松幼苗的ATP酶和GAP酶活性, 发现酶活性同样随铝浓度增加而降低。如松苗针叶ATP酶活性在 15mg/L 、 60mg/L 和 120mg/L 处理后, 分别比对照降低6%、22%和31%。铝对ATP酶和GAP酶活性的抑制, 与松苗针叶ATP含量增加和光合速率下降相一致。

6. 铝对针叶糖含量的影响

铝能显著降低针叶的糖含量, 表4可以看出, 可溶性糖的合成受铝的抑制, 糖含量随铝浓度增加而降低。与对照相比, 当铝浓度为 30mg/L 时, 针叶糖含量降低23%, 铝浓度 480mg/L 时, 就降低近50%。

针叶糖含量的降低与光合速率的下降有关。前文已指出铝减少 CO_2 的固定量, 降低ATP的含量, 抑制糖合成过程中的GAP酶的活性, 因此, 铝可以通过降低植物的光合作用而影响糖的合成。

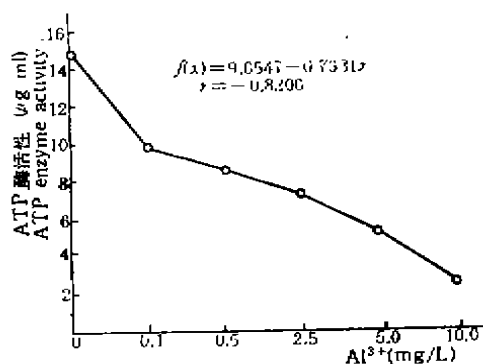


图6 铝对离体线粒体ATP酶活性的影响
Fig.6 Effect of Al^{3+} on ATP enzyme activity of isolated chloroplast of needle

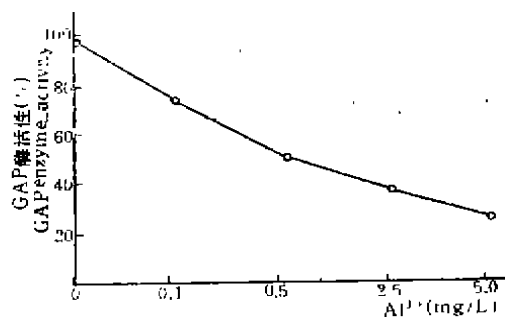


图7 铝对离体叶绿体GAP活性的影响
Fig.7 Effect of Al^{3+} on GAP enzyme activity of isolated chloroplast of needle

表4 铝对针叶糖含量的影响

Table 4 Effect of Al^{3+} on soluble sugar content of needle

Al^{3+} mg/L	0	30	60	120	240	480
糖(mg/g鲜重) Soluble sugar (mg/g fresh weight)	2.15a	1.65b	1.55c	1.40d	1.35d	1.20e
相对含量(%) Relative content	0.22	0.17	0.16	0.14	0.14	0.12

7. 铝对松苗元素组成的影响

结果表明, 铝明显地抑制马尾松对Ca、K、Fe、Mn、Zn等矿质元素的吸收和转运。其中, 铝对Ca、K的抑制作用较大, 其次为Fe、Mn和Zn。

由表5可以看出, Ca、K、Fe、Mn、Zn等元素在地上部和根组织的含量明显地低于对照, 并随铝浓度增加而下降。以Ca和K为例, 与对照相比, 铝浓度在 60mg/L 时, 松苗地上部分Ca和K的含量分别降低3.2倍和2.8倍。

铝在松苗体内明显蓄积, 无论是地上部还是根部, 铝的积累量随铝浓度的增加而增加。

与对照相比,当铝浓度在60mg/L和120mg/L时,地上部含铝量分别增加2.4倍和5.4倍。根与地上部相比,根部的铝净积累量远远大于地上部。如在铝浓度60mg/L情况下,根组织的铝净积累量为地上茎叶部分的7倍。由此说明,松苗吸收的铝主要积累于根部,只有少量的铝被转移至地上部分。

表5 铝对马尾松元素组成的影响

Table 5 Effect of Al^{3+} on elements of seedling of *Pinus massoniana*

组 织 Organizer	Al^{3+} mg/L	元 素 含 量 Element content (mg/g)								
		Al	S	K	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Ca
叶 Leaves	0	0.41	7.76	43.95	0.88	0.80	0.041	0.20	2.74	26.25
	60	1.00	4.52	15.86	0.31	0.45	0.027	0.12	1.57	8.17
	120	2.21	5.67	14.83	0.16	0.42	0.027	0.10	1.12	5.87
	240	3.14	4.71	13.06	0.15	0.31	0.023	0.14	0.97	5.08
	480	3.25	5.60	13.06	0.14	0.38	0.020	0.10	0.93	4.47
根 Root	0	1.84	2.85	1.59	0.11	0.81	0.027	0.11	1.33	6.03
	60	6.02	2.74	1.01	0.029	0.81	0.023	0.098	0.77	3.52
	120	8.12	3.14	0.62	0.020	0.32	0.011	0.072	0.61	2.18
	240	8.92	3.41		0.018	0.47	0.022	0.098	0.70	1.92
	480	11.05	4.37	0.79	0.024	0.62	0.026	0.094	0.81	2.02

8. 铝处理的马尾松根内元素的分布和含量变化

图8和图9绘出了元素在马尾松根组织中柱、内皮层、皮层和外皮层分布状况的电子探针分析结果。可以看出,马尾松吸收的铝离子主要集中在中柱以外的组织内,尤以外皮层居多,皮层和内皮层也积累少量铝,中柱内的铝含量则很少,但当铝浓度提高时,则有较多的铝进入中柱。其它元素的分布也呈一定的规律性,而且铝离子似乎改变了元素在根内的分

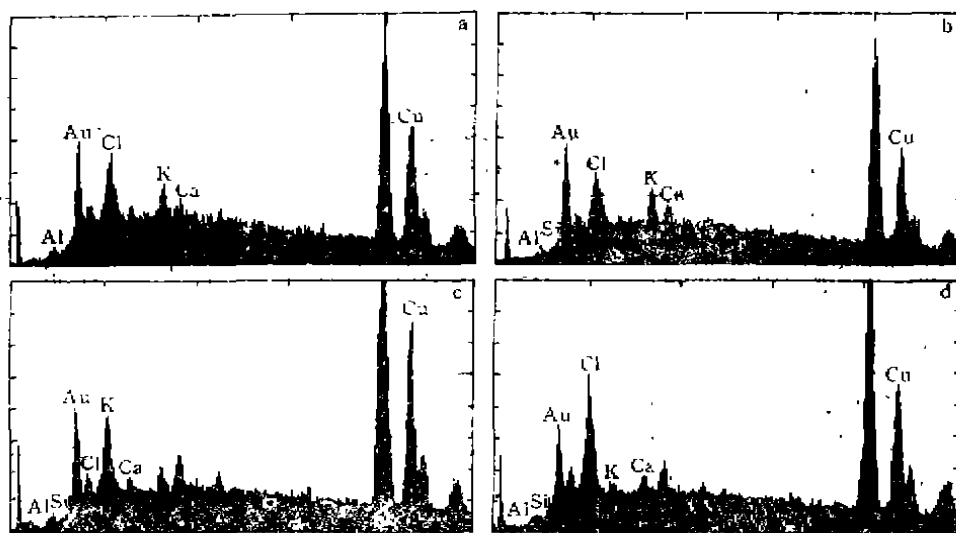


图8 马尾松根内各元素分布状况(对照)

a. 中柱 b. 内皮层 c. 皮层 d. 外皮层

Fig.8 The distribution of elements of seedling root of *Pinus massoniana* (control)

a. Stele b. Endodermis c. Dermis d. Exodermis

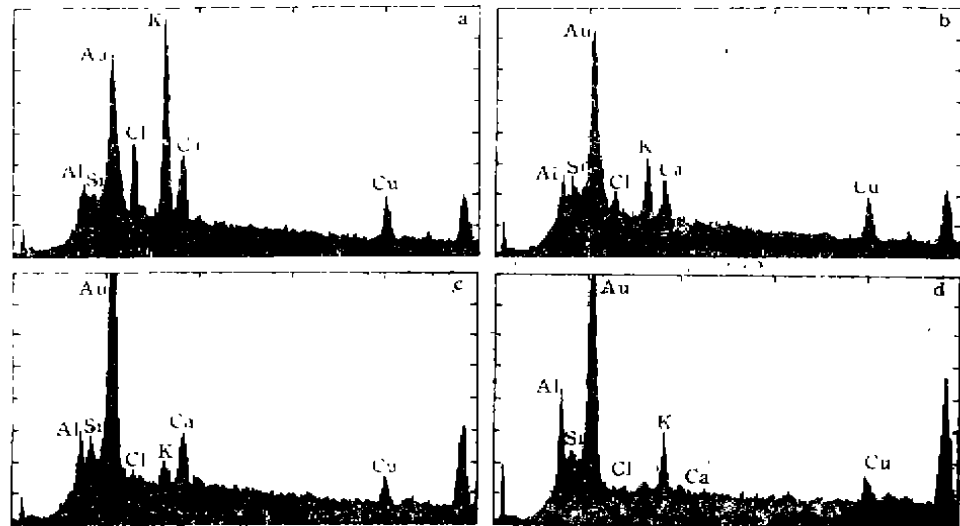


图9 铝处理马尾松根内各元素分布状况(Al^{3+} 120mg/L)

a. 中柱 b. 内皮层 c. 皮层 d. 外皮层

Fig.9 The distribution of elements of seedling root of *Pinus massoniana* treated by Al^{3+} (120mg/L)

a. Stele b. Endodermis c. Dermis d. Exodermis

布状况, 如 Cl^- 在对照根中由内向外增大, 在铝处理组则从内到外逐渐减少, K^+ 和 Ca^{2+} 在对照根组织各部分呈均匀分布, 在铝处理根中则从内向外明显减少。

从根组织整体分析结果指出, 随培养液铝浓度增加, Al 的吸收峰值增大, K 的吸收峰明显减少, Ca 的吸收峰也呈下降趋势。在非金属元素中, Si 的吸收峰值变化较小, Cl 的吸收峰随铝浓度增加而下降。这些变化与前面质子荧光分析结果基本一致。

三、结 论

铝对马尾松有明显的毒害作用, 主要影响为: 限制生长, 其中受害最明显、影响最严重的部位是根, 受害症状表现为主根缩短变粗, 根毛和侧根显著减少。相对说来铝对茎的抑制作用较小, 对叶的危害较大, 主要表现为针叶黄化, 严重时发生脱落。铝抑制马尾松生长的临界浓度为15mg/L。铝在松苗体内大量积累, 抑制矿质元素的吸收和转运。减少针叶叶绿素含量和 CO_2 固定量, 降低光合速率, 增加蒸腾作用和细胞透性。抑制ATP酶和GAP酶活性, 降低ATP和糖的含量。

参 考 文 献

- [1] McCormick L. H. et al., Variation in aluminum tolerance among six genera of trees, *Forest Science*, 1978, 24:565—568.
- [2] McLoughlin S. B., Effects of air pollution on forests, *Air Pollution Control Association*, 1985, 5:512—534.
- [3] Ulrich B et al., Chemical changes due to acid precipitation in a loss-derived soil in central Europe, *Soil Science*, 1980, 30:193—199.
- [4] Matzner Z. et al., Soil acidity and its relationship to root growth in declining forest stands in Germany, *Water Air and Soil Pollution*, 1986, 31:273—282.
- [5] 曹洪法等, 酸雨对峨眉山冷杉影响的研究, *环境科学研究*, 1988, 1(3): 7—11.

- [6] 刘厚田等, 重庆南山酸雨与马尾松衰亡的关系, 植物学报, 1988, 30:319—325.
- [7] Cummings J. R. et al., Effect of aluminum on uptake and translocation by red spruce seedlings Canada J. Forest Res., 1986, 16:864—867.
- [8] Steiner K. C. et al., Response of Populus hybrids to aluminum toxicity, Canada, J. Forest Res., 1984, 14:864—867.
- [9] Schier G. A., Response of red spruce and balsam fir seedlings to aluminum toxicity in nutrient solution, Canada J. Forest Res., 1985, 15:29—33.
- [10] Edwards J. H., Aluminum toxicity symptoms in peach seedlings J. Hort. Science, 1970, 101:139—142.
- [11] Mackinney J., Determination of chlorophyll, J. Biological chemistry, 1941, 140:315—322.
- [12] 王维光等, 从叶片中提取ATP方法的比较, 植物生理通讯, 1986, 5:54—57.
- [13] 李立人等, 植物和微生物中ATP的提取及测定方法, 植物生理通讯, 1986, 5:6—11.
- [14] 寇容钦, 生物膜组分对膜功能和膜脂相变的调控, 生物化学与生物物理学报, 1981, 13:245—251.
- [15] 袁晓华, 植物生理生化实验, 高等教育出版社, 1983.
- [16] Hutchinson T. C. et al., Response of fir species of conifer seedlings to aluminum stress, Water Air and Soil Pollution, 1986, 31:283—294.
- [17] Rost-Siebert K., Aluminum-toxizität undtoleranz am keimpflanzen von Fichte und Buche, Forstz Ztg., 1983, 26/27:686—691.
- [18] Hamp R. et al., Effect of aluminum ions on $^{14}\text{CO}_2$ -fixation and membrane system of isolated spinach chloroplasts, Pflanzenphysiol., 1976, 76:300—306.
- [19] Androw C. S. et al., Effect of aluminum on the growth and composition of some tropical and temperate pasture legumes, J. Agric. Res., 1973, 24:27—34.
- [20] Foy C. D. et al., Toxic factors in acid soils I Differential aluminum tolerance of plant species, Soil Science Soc. Amer. Proc., 1964, 28:27—34.

STUDY ON THE RESPONSE OF *PINUS MASSONIANA* SEEDLING TO ALUMINUM

Cao Hong-Fa Gao Ji-Xi Shu Jian-Min

(Institute of Environmental Ecology, Chinese Research Academy of
Environmental Sciences, Beijing, 100012)

The paper deals with the response of growth, biochemical and physiological process of *Pinus massoniana* seedling to aluminum under cultural solution. The results indicated that the growth of *Pinus massoniana* treated by Al^{3+} was inhibited markedly with a threshold concentration of 15 mg/L.

The total chlorophyll content and photosynthetic rate of needle were reduced with decreasing Al^{3+} concentration, but the transpiration and cell permeability of needle were increased. It was showed that the contents of soluble sugar and ATP in needle were reduced under Al^{3+} . The enzyme activities of ATP and GAP were inhibited. The uptake and transport of Ca, K, Fe and Zn were reduced, but the accumulation of aluminum was increased with increasing Al^{3+} concentration. The accumulated aluminum of root tissue distributed mainly in exodermis.

Key words: aluminum, *Pinus massoniana*, biochemical and physiological process, photosynthesis, transpiration, uptake and transport of nutrients.