

文章编号: 1001-411X(2001)04-0019-03

菜用大豆在铝诱导下的柠檬酸分泌及铝积累特性

黄 鹤¹, 年 海²

(1 华南农业大学理学院, 广东 广州 510642; 2 华南农业大学农学系, 广东 广州 510642)

摘要: 以 2 个耐酸铝不同的菜用大豆品种为材料, 研究了不同苗龄大豆在铝诱导下的有机酸分泌及根部铝积累特性. 结果表明, 耐酸铝大豆品种的 15 d 幼苗明显比敏感品种分泌更多的柠檬酸, 但 10 和 20 d 的幼苗分泌的有机酸却少于敏感品种. 5 d 的大豆幼苗在 $15 \mu\text{mol/L}$ 铝处理下, 耐性品种根尖铝含量明显低于敏感品种, 但在 $50 \mu\text{mol/L}$ 铝处理下 20 d 苗龄的大豆耐性品种的主根根尖明显比敏感品种积累更多的铝. 这些结果表明品种间铝诱导的柠檬酸分泌和铝积累模式存在差异, 因此, 只是在某些特定生育阶段柠檬酸分泌与耐酸铝性存在相关性.

关键词: 大豆; 耐酸铝; 柠檬酸分泌

中图分类号: S132

文献标识码: A

铝毒是酸性土壤限制作物生长的主要因素, 其主要危害作物的根部, 从而影响作物对营养元素和水分的吸收. 目前, 许多学者对植物耐酸铝的机理进行了广泛的研究, 提出了一些耐性机理, 其中在铝诱导下的有机酸分泌被认为是一个重要的耐性机理^[1]. 一些研究表明, 耐铝的植物种可以分泌更多的有机酸, 如荞麦在铝诱导下可以分泌大量的草酸^[2]; 在同一种内, 一些作物的耐性品种也可以比敏感品种分泌更多的有机酸, 如小麦、玉米、小黑麦、大豆^[3-6], 但也有研究表明野苧(taro)耐酸铝品种分泌的有机酸少于敏感品种^[7]. 由于有机酸对铝的络合作用, 耐铝品种根部的铝含量往往明显低于敏感品种^[1,6]. 在形态上普通大豆和菜用大豆没有明显差异, 但在籽粒化学品质方面却存在很大差异. 由于大豆是酸性土壤上的先锋作物, 国内外对普通大豆的耐酸铝研究较多, 但有关菜用大豆耐酸铝的研究很少. 因此, 通过研究菜用大豆在铝胁迫下的有机酸分泌及其与耐性的关系, 可以为进一步进行大豆耐酸铝的生理和遗传机理研究以及选育耐酸铝的大豆品种提供一些理论依据.

1 材料与方法

1.1 筛选实验

以 2 个菜用大豆品种菜豆 8 号(No. 8)和菜豆 13 号(No. 13)为实验材料, 这两个品种在没有铝胁迫下根生长量基本相同. 水培筛选采用根长 8 cm 左右的 4 d 大豆幼苗, 在根尖部用 Indian Ink 标记 2 cm 左右, 量标记后的根长, 然后在 2 L 分别含 0 、 $15 \mu\text{mol/L}$ 铝(AlCl_3)的钙/硼溶液中($0.5 \text{ mmol/L CaCl}_2$, 0.8

$\mu\text{mol/L H}_3\text{BO}_3$, $\text{pH}4.5$)处理 24 h. 处理后再量根长, 然后计算相对根长(铝处理根的生长量/对照处理根的生长量 $\times 100\%$). 同时取 1 cm 长的根尖用于测定铝含量. 实验在人工气候箱中进行, 10 h(暗)/14 h(光), 昼夜温度分别为 25 和 20 $^\circ\text{C}$. 营养液筛选法采用 1/5 Hoagland 营养液, 在铝浓度 $70 \mu\text{mol/L}$ 条件下处理 5 d, 收获后称大豆根鲜质量, 并计算相对根鲜质量(铝处理根的鲜质量/对照处理根的鲜质量 $\times 100\%$).

1.2 有机酸分析及铝含量测定

5 d 苗龄的大豆幼苗在正常营养液中($\text{pH} 4.5$)分别培养 5、10、15 d, 营养液定时通气, 2 d 换一次营养液. 实验在人工气候室中进行, 10 h(暗)/14 h(光), 昼夜温度分别为 25 和 20 $^\circ\text{C}$, 其他条件详见参考文献^[6]. 铝处理前在钙溶液中洗根 12 h, 然后在铝浓度分别为 0 、 $50 \mu\text{mol/L}$ 的 0.5 mmol/L 钙溶液(CaCl_2)中处理 24 h($\text{pH} 4.5$); 另一个实验, 耐铝品种 No. 8 在营养液中培养 10 d, 然后在钙溶液中洗根 12 h, 在光照条件下分别用 $50 \mu\text{mol/L}$ 铝处理 2、4、6、8 h. 以上实验在铝处理后收集含有根分泌物的溶液, 并切取主根 1 cm 长的根尖. 含有根分泌物的溶液在 4 $^\circ\text{C}$ 的冷室中过阳离子和阴离子树脂柱. 然后用盐酸对阴离子柱中的有机酸进行交换, 再旋转蒸发, 最后用 $\text{pH} 2.1 \text{ Milli-Q}$ 水定容^[6]. 有机酸测定采用高压液相色谱法^[6]. 每个实验进行 2 次, 每次 3 个重复. 另外以 15 d 苗龄的 No. 8 为材料, 分别用 $50 \mu\text{mol/L}$ 铝处理 2、4、6 h, 然后切取 1 cm 主根根尖. 铝含量用原子吸收方法测定^[3].

2 结果与分析

2.1 耐酸铝筛选

两种筛选方法的结果都表明, No. 8 对铝毒的耐性明显高于 No. 13. 水培筛选法表明, No. 8 的相对根长为 75.56%, 而 No. 13 仅为 45.43%; 营养液筛选法结果表明, No. 8 的相对根质量明显高于 No. 13, 2 个品种的相对根鲜质量分别为 64.58% 和 42.90%. 由于这两种筛选方法得到的结果较一致, 在育种上可以用水培筛选法对大豆进行苗期快速筛选.

2.2 不同生育时期大豆在铝诱导下的柠檬酸分泌

本研究测定了不同苗龄大豆在铝胁迫下的有机酸分泌, 结果表明, 不同时期的大豆幼苗在铝胁迫下都可以分泌大量柠檬酸, 但没有其他种类的有机酸分泌. 15 d 幼苗在铝胁迫下耐性品种(No. 8)明显比敏感品种(No. 13)分泌更多的柠檬酸, 但 10 d 及 20 d 幼苗敏感品种分泌的柠檬酸都略高于耐性品种(图 1b). 这表明大豆不同生育时期铝诱导的柠檬酸分泌存在差异, 同时也表明分泌模式可能存在品种的特异性. 因此, 比较难判定大豆在铝胁迫下柠檬酸分泌与耐铝性的关系.

大豆在 50 μmol/L 铝诱导下, 6 h 前大豆分泌很少柠檬酸, 特别是 2 h 处理没有有机酸分泌. 铝处理 4 h 后有少量的柠檬酸分泌, 经 6 h 铝处理后大豆才能分泌大量的有机酸(图 1a), 因此铝诱导下的柠檬酸分泌需要 4~6 h 左右的诱导期. 相关分析表明, 柠

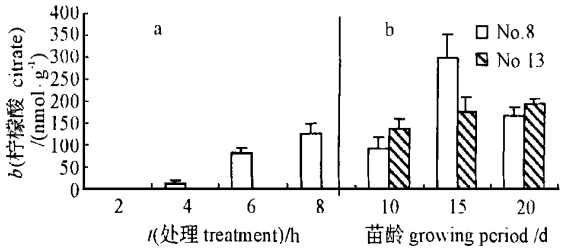


图1 不同铝处理时间(a)和不同生育时期(b)大豆在铝诱导下的柠檬酸分泌

Fig. 1 Time course of Al³⁺ induced citrate exudation (a) and Al³⁺ induced citrate exudation from soybeans of various growing period (b)

檬酸分泌和处理时间呈极显著正相关($r=0.97$).

2.3 铝在不同生育时期大豆根尖的积累

大豆耐性品种(No. 8)在水培筛选条件下[$c(\text{Al})=15 \mu\text{mol/L}$]根部的铝含量明显低于敏感品种, 但 20 d 的大豆在 50 μmol/L Al 处理下耐性品种根部铝含量明显高于敏感品种. (图 2a). 这表明不同耐性品种铝积累量的差异在不同生长时期不一致; 也可能是品种对不同剂量铝处理反应不同的结果. 本试验也分析了耐性品种(No. 8) 15 d 幼苗在不同铝处理时间的铝积累. 结果(图 2b)表明, 大豆根尖的铝积累随着处理时间的延长而呈线性增加, 处理时间与铝积累量的相关系数为 0.99; 6 h 处理后可以达到 24 h 处理铝含量的一半.

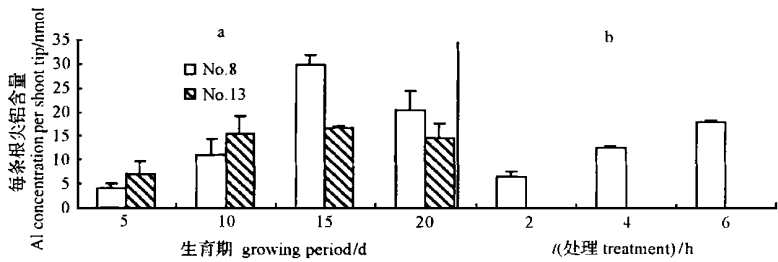


图2 不同耐性大豆品种在不同生育期(a)及不同处理时间的铝积累(b)

Fig. 2 Al accumulation in soybean root tips of various growing period (a) and its time course(b)

3 讨论

在酸铝胁迫下植物一般有两种耐性机制: 外部排斥机制和内部解毒机制. 一些实验结果表明, 耐酸铝品种往往比敏感品种分泌更多的有机酸, 由于有机酸可以络合铝, 因而使铝失活, 这样可以减少对铝的吸收, 因此一般认为植物在铝诱导下的有机酸分泌是植物耐酸铝的主要排斥机理之一. 这种排斥机理在小麦、玉米、大豆等植物上已有报道^[1-6]. 但也有报道表明, 野芋(taro)耐性品种并没有比敏感品种分泌更多的草酸^[7]. Parker 等通过利用其他重金属研

究表明, 在铝和铜或镉共同胁迫下, 铝可以解铜毒但不能解镉毒, 因此认为小麦在铝胁迫下的苹果酸分泌可能对耐铝毒的作用很小. 因为, 如果有机酸的确可以起作用, 那么铝诱导的苹果酸分泌也应该解镉毒^[8]. 另外小麦在铝胁迫下分泌的苹果酸量远远低于完全解毒所需要的苹果酸量^[3]. 最近又有研究表明, Signalgrass 对铝的耐性明显强于荞麦、小麦、玉米, 但其分泌的有机酸却比这些敏感种低 3~30 倍^[9]. 因此, 这些结果表明有机酸机理可能不是一个主要耐铝机理.

已知大豆的耐酸铝性是由几个或多基因控制

的,因此大豆耐酸铝性可能比较复杂,在大豆基因型间存在不同的耐性机理是完全可能的.另一方面,在酸性土壤上除了铝毒,大豆还受其他限制因素的影响,如低磷、低钙等.因此,也可能存在间接耐酸铝机制,如耐低磷品种可能由于提高了对酸性土壤中难利用磷的吸收,而间接提高了对铝毒的耐性.本试验表明,耐性与敏感大豆品种在不同生育时期的有机酸分泌和铝的积累差异没有一致性,只是在某个特定生育时期铝诱导的柠檬酸分泌和大豆的耐铝性存在相关性.因此,很难判断柠檬酸在菜用大豆耐酸铝中的作用.

参考文献:

[1] MATSUMOTO H. Cell biology of aluminium toxicity and tolerance in higher plants[J] . Int Rev Cytol, 2000, 200: 1—46.
[2] MA J F, ZHENG S J, MATSUMOTO H, et al. Detoxifying aluminium with buckwheat [J] . Nature, 1997, 390: 569—570.
[3] DELHAIZE E, RYAN P R, RANDALL P J. Aluminium tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) II. Aluminium—stimu-

lated excretion of malic acid from root apices[J] . Plant Physiology, 1993, 103: 695—702.
[4] PELLET D M, GRUNES D L, KOCHIAN L V. Organic acid exudation as an aluminium—tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L) [J] . Planta, 1995, 196: 788—795.
[5] MA J F, TAKETA S, YANG Z M. Aluminium tolerance genes on the short arm of chromosome 3R are linked to organic acid release in triticale [J] . Plant Physiology, 2000, 122: 687—694
[6] YANG Z M, SIVAGURU M, HORST W J, et al. Aluminium tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (*Glycine max* L Merr) [J] . Physiol Plant, 2000, 110: 72—77.
[7] MA Z, MIYASAKA S C. Oxalate exudation by taro in response to Al [J] . Plant Physiology, 1998, 118: 861—865.
[8] PARKER D R, JUDITH F P. Probing the “malate hypothesis” of differential aluminium tolerance in wheat by using other rhizotoxic ions as proxies for Al [J] . Planta, 1998, 205: 389—396.
[9] WENZL P, PATINO G M, CHAVES A L, et al. The high level of aluminum resistance in signalgrass is not associated with known mechanisms of external aluminum detoxification in root apices [J] . Plant Physiology, 2001, 125: 1 473—1 484.

Characteristics of Al—Induced Citrate Exudation and Al Accumulation in Vegetable Soybean

HUANG He¹, NIAN Hai²

(1 College of Sciences , South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;
2 Dept. of Agronomy, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Two vegetable soybean varieties differing in Al tolerance were used to study the characteristics of Al—induced citrate exudation and Al accumulation in soybean roots. The results showed that amount of citrate exudation observed from 15—day—old soybean roots of the Al —tolerant variety was higher than that of the Al—sensitive variety; in contrast, 10—day or 20—day—old roots of the Al—sensitive variety released more citrate than the tolerant one. Five—day—old seedlings of the Al—tolerant variety treated with 15 μmol/L AlCl₃ accumulated less Al than that of sensitive variety in root tips, whereas reverse result was true for 20—day—old seedlings exposed to 50 μmol/L AlCl₃. These results suggested that the patterns of both citrate exudation and Al accumulation were different in different soybean varieties, thus citrate exudation from soybean roots might be related to Al tolerance only in the given growing period.

Key words: soybean; Al tolerance; citrate exudation

【责任编辑 周志红】