

邵继锋, 陈荣府, 董晓英, 等. 利用分根技术研究小麦铝磷交互作用[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(1): 78-83.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2016.01.012

利用分根技术研究小麦铝磷交互作用

邵继锋^{1,2}, 陈荣府¹, 董晓英¹, 沈仁芳¹

(1. 中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展重点实验室, 江苏 南京 210008; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 为更好地阐明植物中铝-磷之间的关系, 以小麦为研究对象, 研究了小麦植株内部转移的磷与铝毒害的关系。在水培条件下, 利用分根技术(植株根系一分为二, 分置 A、B 两个根室), 排除铝、磷在溶液中的直接交互作用, 通过磷素的转移研究植株内部转移的磷对铝毒害的作用以及响应。结果显示: 通过比较生物量发现, 处理 1(A 室无磷 B 室无磷)、处理 2(A 室低磷 B 室无磷)、处理 3(A 室高磷 B 室无磷)、处理 7(A 室无磷 B 室无磷)、处理 8(A 室低磷 B 室低磷)、处理 9(A 室高磷 B 室高磷) 地上部和地下部生物量都随着磷浓度的增加而显著增加, 但一侧加铝处理的处理 5(A 室低磷 B 室加铝)、处理 6(A 室高磷 B 室加铝) 生物量则降低。比较根尖数、根直径、根长、根体积、光合速率等指标, 发现在铝胁迫下处理 4(A 室无磷 B 室加铝)、处理 5、处理 6 的 B 室根系生长指标、植株光合作用等并没有随着磷浓度的增加而增加。可见, 在分根处理 15 d 条件下一侧根系供磷(A 室)不能有效缓解另一侧根系(B 室)的铝毒害。

关键词: 铝毒害; 磷; 小麦; 分根试验

中图分类号: S153.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2016)01-0078-06

Aluminum-phosphorus interaction in wheat grown in a split-root device

SHAO Ji-feng^{1,2}, CHEN Rong-fu¹, DONG Xiao-ying¹, SHEN Ren-fang¹

(1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: To illustrate whether translocated-phosphorus in plant aggravates or alleviates aluminum toxicity in hydroponic system of wheat, the split-root technique (the root was placed in two compartments A and B) was applied to eliminate the aluminum(Al)-phosphorus(P) interaction in the solution. By measuring the biomass of treatment 1 (no P in both compartments), treatment 2 (low P in compartment A and no P in compartment B), treatment 3 (high P in compartment A and no P in compartment B), treatment 7 (no P in compartment A and no P in compartment B), treatment 8 (low P in compartment A and low P in compartment B), treatment 9 (high P in compartment A and high P in compartment B), it was found that the biomass of shoot and root in above treatments increased as phosphorus concentration increased, however, the biomass in treatment 5 (low P in compartment A and Al addition in compartment B) and treatment 6 (high P in compartment A and Al addition in compartment B) dropped.

By measuring the number of root tips, root diameter, root length, root volume and photosynthetic rate, it was found that root indexes and photosynthetic rates of treatment 4 (no P in compartment A and Al addition in compartment B), treatment 5 and treatment 6 decreased as phosphorus concentration increased. It suggests that the phosphorus in compartment

收稿日期: 2015-04-14

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目(41025005); 国家“973”计划项目(2014CB441000)

作者简介: 邵继锋(1983-), 男, 浙江建德人, 博士研究生, 从事植物铝毒害和耐铝机制研究。(E-mail) brianshao888@gmail.com

通讯作者: 沈仁芳, (E-mail) rfshen@issas.ac.cn

A can not alleviate aluminum toxicity in compartment B.

Key words: aluminum toxicity; phosphorus; wheat; split-root experiment

磷是植物必需的大量营养元素之一,但是在酸性土壤中铝毒害和低磷胁迫一般同时共存,而磷肥的施入可以降低土壤中铝的活度,矫正磷的不足^[1]。基于铝与磷在土壤中的化学作用等,通常认为磷可以缓解铝的毒害作用。也有研究发现,在铝胁迫下,植物根系分泌的磷酸根能够通过质外体、根表或根际形成铝-磷复合物而降低毒性铝的活性。Pellet 等发现耐铝小麦品种根尖分泌的磷酸根显著多于敏感品种^[2]。通过磷的预处理,磷可以缓解水稻的铝毒害,在小麦、玉米、油茶、柑橘等植物中都发现磷可缓解铝的毒害^[3-7]。但是,也有学者认为磷不一定能缓解铝的毒害,磷酸根在水稻根际缓解铝毒害的作用并不明显^[8-9]。Sun 等研究发现,磷可以缓解耐铝的二色胡枝子的铝毒害作用,但是对敏感的绢毛胡枝子的作用则不明显^[10]。Ward 等发现,高磷并不能缓解番茄的铝毒害,而低磷影响其根际的二氧化碳代谢从而减轻了铝的毒害作用^[11]。Trejo 等同样发现低磷可以减少转基因烟草根部铝的积累^[12]。

由于铝磷在植物体内体外的沉淀作用以及受到研究方法和手段的限制,磷在植物铝毒害中的作用一直存在争议。在这些研究中,研究技术和手段各不相同,有铝与磷直接混合处理、交替处理、化学技术处理等,这可能是导致其结果相异的原因。因此,本研究利用分根技术手段,物理隔离铝与磷在溶液中的直接沉淀作用,排除因为铝与磷在溶液中的沉淀而降低铝活度的影响,研究植物内部转移的磷对铝毒害的作用以及响应,为更好地阐述铝与磷之间的关系,同时为酸性土壤中铝磷关系的研究及生产中磷肥的施用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料和处理

1.1.1 材料准备 选择饱满一致的小麦(Scout66)种子,用10%的双氧水消毒30 min,蒸馏水清洗干净后,再用蒸馏水浸泡2 h,然后置于浸润的滤纸上25 °C避光催芽1 d,移至漂浮在0.5 mmol/L CaCl₂(pH 4.5)溶液中的塑料网上培养。培养3 d后,选择生长一致的幼苗,去掉胚乳后把根系洗干净用于分根试验。试验在人工气候室中进行,25 °C光照14 h,

20 °C 黑暗 10 h,相对湿度 65%,光照度 300 μmol/(m²·s)。

1.1.2 分根试验设计 分根系统由2个根室组成(图1),两室之间无连通,A和B室溶液无交换,小麦根系平均分配在2个根室。在根室A中加入1/5 Hoagland 营养液,其中磷素浓度分为0(无磷,-P)、25 μmol/L磷酸二氢钾(低P,LP)、250 μmol/L磷酸二氢钾(高P,HP)(图1),根室B则根据试验需要进行下列处理。试验共设9个处理:处理1、2、3分别为A室含0 μmol/L、25 μmol/L、250 μmol/L磷的1/5 Hoagland 营养液,B室为无磷的1/5 Hoagland 营养液且不加铝处理;处理4、5、6分别为A室含0 μmol/L、25 μmol/L、250 μmol/L磷的1/5 Hoagland 营养液,B室为无磷的1/5 Hoagland 营养液,2 d后根室B中溶液换为含25 μmol/L铝的0.5 mmol/L CaCl₂溶液;处理7、8、9分别为A和B室均含0 μmol/L、25 μmol/L、250 μmol/L磷的1/5 Hoagland 营养液且不加铝(表1)。每个分根系统种植4株苗,处理时间15 d,第1次2 d后更换营养液,其后每3 d更换1次营养液。营养液组成如下:KNO₃(1.0 mmol/L),Ca(NO₃)₂(1.0 mmol/L),MgSO₄(0.4 mmol/L),Na-FeEDTA(20 μmol/L),HBO₃(3 μmol/L),MnCl₂(0.5 μmol/L),CuSO₄(0.2 μmol/L),ZnSO₄(0.4 μmol/L),(NH₄)₆Mo₇O₂₄(1 μmol/L)。试验时用0.1 mol/L HCl调节营养液pH至4.5,磷酸二氢钾带入的钾用氯化钾补齐。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 生物量的测定 15 d后,植株分根系(A和B室)和地上部用蒸馏水洗干净后,于105 °C杀青30 min,然后70 °C烘干后称质量。

1.2.2 根系参数的测定 培养结束后,用根系分析系统(WIN MAC, Regent Instruments, Quebec City, Canada)分别测定A室和B室的小麦根系形态,测定指标包括根尖数、根长、根表面积、根体积以及平均根直径。

1.2.3 叶绿素 SPAD 值的测定 采用手持便携式叶绿素测定仪(SPAD-502 Chlorophyll Meter, Model SPAD-502 KONICA MINOLTA, Japan)测定叶绿素 SPAD 值。

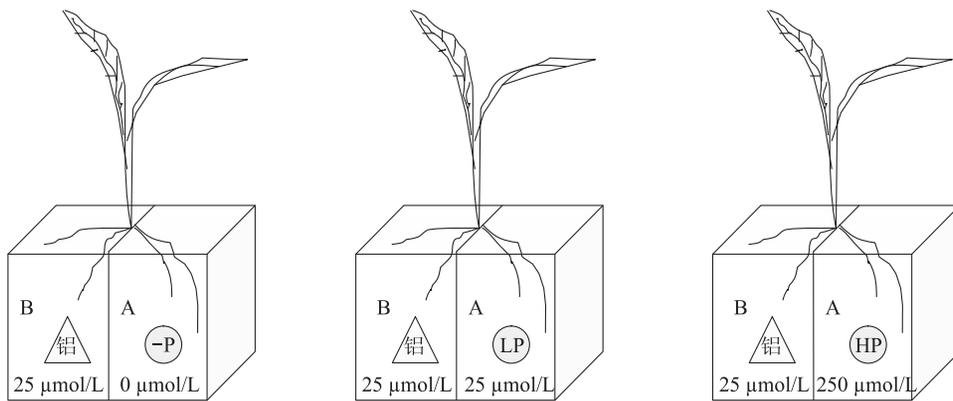


图1 分根系统及装置示意图

Fig.1 Graphical representation of a root-split system

表1 试验设计

Table 1 Design of treatments

处理	A 根室	B 根室
1	-P	-P, -Al
2	LP	-P, -Al
3	HP	-P, -Al
4	-P	-P, +Al
5	LP	-P, +Al
6	HP	-P, +Al
7	-P	-P, -Al
8	LP	LP, -Al
9	HP	HP, -Al

-P、LP、HP 分别表示营养液含 0 μmol/L、25 μmol/L、250 μmol/L 磷；-Al 表示营养液中不加铝；+Al 表示培养 2 d 后 B 室中无磷营养液更换为含 25 μmol/L 铝的 0.5 mmol/L CaCl₂ 溶液。

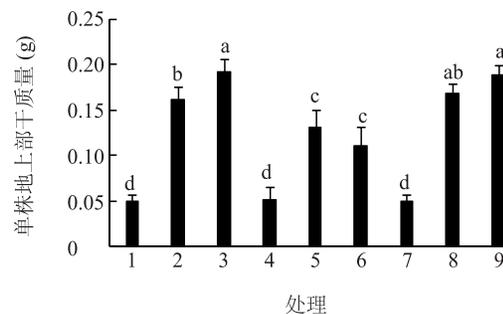
1.2.4 光合作用测定 采用便携式光合作用测定仪 (LI6400, LI-COR, USA) 测定小麦旗叶净光合速率。叶室 CO₂ 浓度为 330~350 μL/L, 光量子通量密度 (PFD) 为 (1 200±50) μE/(m²·s), 温度为 (25±2) °C。

2 结果与分析

2.1 分室供应铝磷对小麦生长的影响

小麦分根处理 15 d 后, 在分根 A 侧不同磷浓度处理下 (处理 1、2、3), 地上部干质量随着磷浓度的增加而显著增加 (图 2)。当分根两侧磷处理一致时 (处理 7、8、9), 磷对地上部生物量累积的影响和单侧磷处理趋势一致。B 室根加铝处理后, 地上部生物量的积累受到显著抑制, 但是高磷处理与低磷

处理 (处理 5、6) 的地上部生物量间无显著差异。比较处理 1 和 4 可知, 无磷培养的小麦根系在铝胁迫下, 其生物量没有降低; 但在比较低磷处理 2 和 5, 高磷处理 3 和 6 时发现, 高磷培养的小麦在铝胁迫下其地上部干质量降低更多, 因此磷的增加并没有缓解铝的毒害作用。



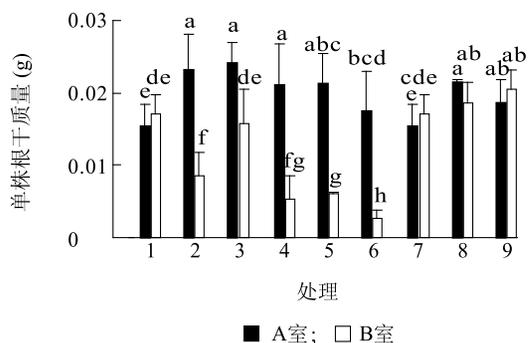
处理 1~9 见表 1。不同字母表示差异达到 0.05 显著水平。

图2 分室供应铝和磷对小麦地上部干质量的影响

Fig.2 The effect of supplying aluminum and phosphorus in different compartments on shoot biomass of wheat

从图 3 可知, 在 A、B 两室磷素浓度相同时 (处理 7、8、9), 两室的根生物量无差异, 但随着磷素浓度的增加, 低磷和高磷处理 B 室的根生物量相对于无磷处理分别增加了 11% 和 20.5%。当 A、B 两室的磷浓度处理不同时 (处理 2、3), 不同根室生物量的累积差异较大, A 室的根生物量随着磷浓度的增加而增加。但处理 4、5、6 不同, A 室的生物量并没有随着磷浓度的增加而增加, 各处理间无显著差异。同时处理 4、5、6 中 B 室生物量的累积并没有随着 A

室中磷浓度的增加而增加,A室磷浓度的增加并没有表现出缓解B室铝毒害的作用,相反处理6的B室生物量却随着A室中磷浓度的增加而降低。上述结果说明,从根系生物量来看,磷并没有起到缓解铝毒害的作用。



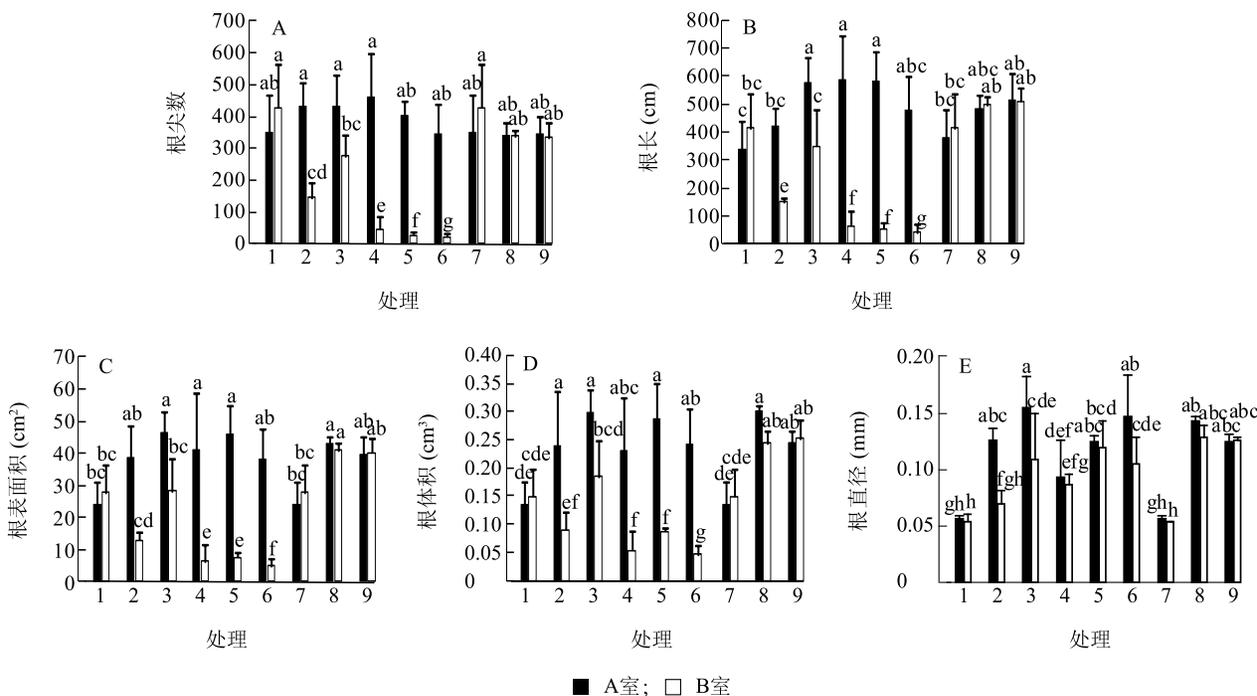
处理1~9见表1。不同字母表示差异达到0.05显著水平。

图3 分室供应铝和磷对小麦地下部干质量的影响

Fig.3 The effect of supplying aluminum and phosphorus in different compartments on root biomass of wheat

2.2 分室供应铝磷对小麦根系指标的影响

由图4可知,不同浓度磷处理(处理1、2、3、4、5、6的A室和处理7、8、9)对根尖数的影响较小。在根系受到铝胁迫时,根尖数随着磷浓度的增加而减小。不同浓度磷处理对根长的影响较大,当A室磷浓度不同而B室无磷时(处理1、2、3),A室中根长随着磷浓度的增加而增加;但在处理4、5、6中B室中根长并没有随着A室磷浓度的增加而增加,反而显著降低;在B室中根受到铝胁迫后,A室中的根长随磷浓度的增加无显著变化。在两侧磷浓度一致时(处理7、8、9),同一浓度磷处理A、B根室之间以及不同浓度磷处理之间根长都无显著差异。而不同浓度铝、磷处理对根表面积和根体积的影响与对根长的影响一致。根直径受铝磷的影响较大,在9个处理中,根直径都随着磷浓度的增加而增大,同时在根受到铝胁迫时(处理4、5、6的B室),根变得更粗,这可能是由于根系受到铝胁迫后根尖端膨大,根变粗是对铝毒害的响应。比较根系参数,发现磷对铝毒害无缓解作用。



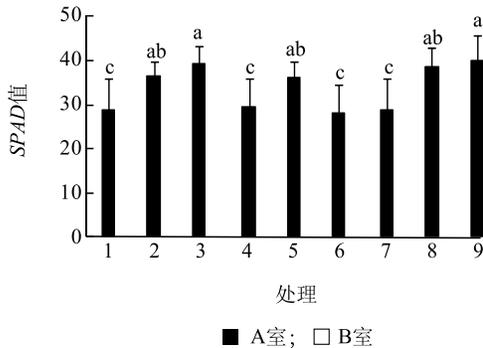
处理1~9见表1。不同字母表示差异达到0.05显著水平。

图4 分室供应铝和磷对小麦根尖数、根长、根表面积、根体积和根直径的影响

Fig.4 The effect of supplying aluminum and phosphorus in different compartments on the root tip number, root length, root surface area, root volume and root diameter of wheat

2.3 分室供应铝磷对小麦叶绿素指标的影响

磷浓度对叶绿素含量 (*SPAD* 值) 的影响较大, 在没有铝胁迫下处理 1、2、3、7、8、9 的 *SPAD* 值随着磷浓度的增加而增加; 在分根加铝处理下, *SPAD* 值整体降低, 单侧高磷处理 (处理 6) 小于单侧低磷处理 (处理 5); 在无磷处理下 (处理 1、4、7), 加铝并没有降低 *SPAD* 值 (图 5)。



处理 1~9 见表 1。不同字母表示差异达到 0.05 显著水平。

图 5 分室供应铝和磷对小麦 *SPAD* 指数的影响

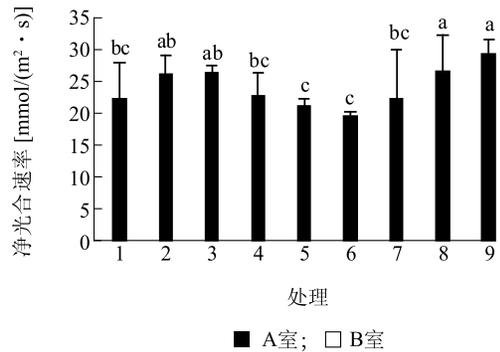
Fig.5 The effect of supplying aluminum and phosphorus in different compartments on *SPAD* index of wheat

2.4 分室供应铝磷对小麦光合作用的影响

在单侧不同磷浓度处理下 (处理 1、2、3), 地上部光合作用随磷浓度的增加而增加; 当分根两侧磷浓度处理一致时 (处理 7、8、9), 磷对光合作用的影响与单侧磷处理下的趋势一致 (图 6)。加铝处理后, 不同磷浓度对光合作用无显著影响。说明在部分根受到铝胁迫下, 磷的增加并没有缓解铝毒对光合作用的影响。

3 讨论

对铝磷交互作用的研究中, 不同学者用过不同的方法。如 Nakagawa 等^[3] 和 Tan 等^[13] 通过在溶液中直接混合铝磷的方法研究磷对水稻铝毒害的作用, 发现磷可以缓解铝毒害; Liao 等则通过利用软件计算铝的活度, 研究大豆对铝磷交互的响应^[14]。张富林等通过磷铝交替处理的方法研究磷对小麦铝毒害的影响, 发现磷加重了铝的毒害作用^[15]。研究方法的不同导致磷对植物铝毒作用的表现不一致, 因此不同的铝磷处理方式对研究结果至关重要。本研究利用分根技术, 物理隔离铝和磷, 避免了铝和磷在溶液中直接接触而发生沉淀作用。



处理 1~9 见表 1。不同字母表示差异达到 0.05 显著水平。

图 6 分室供应铝和磷对小麦净光合速率的影响

Fig.6 The effect of supplying aluminum and phosphorus in different compartments on net photosynthetic rate of wheat

由于磷能与铝反应形成低毒性的磷铝复合物, 通常认为磷可以缓解铝的毒害。增加营养液中磷的浓度可以减轻铝的毒害, 原因之一可能是在营养液中一部分磷与铝结合生成铝磷沉淀, 降低了介质中铝的浓度, 从而减轻铝的毒害作用。本试验中, 营养液中铝和磷没有直接接触, 在该条件下, 通过比较地上部分和地下部分的生物量, 发现在没有铝胁迫条件下, 生物量都随着磷浓度的增加而增加, 当受铝胁迫时生物量并不随着磷浓度的增加而增加。就地上部生物量而言, 单侧供磷并不能有效缓解铝的毒害作用, 而根系生物量在一侧加铝后反而有所降低。

在根系指标中, 根尖数、根长、根表面积、根体积都表现为随着磷浓度的增加而增加。在 B 室铝处理的根系中, 受到铝胁迫后根尖数、根长、根表面积、根体积均随着 A 室磷浓度的增加而降低。而无磷处理的根直径在铝胁迫下大于无铝处理的根系直径, 这与植物根系对铝毒的响应有关。长期铝胁迫能抑制油菜、玉米、花生根尖的生长, 根尖膨大, 根直径增加^[16-18]。我们认为, 磷可以从 A 室的根系转移到 B 室, 从而缓解 B 室铝毒害, 增加 B 室中根系生物量的累积。但是 B 室铝胁迫处理的 B 室根生物量, 以及根的相应指标并没有增加反而降低, 原因有待进一步的研究。

光合作用是植物生物量积累的物质基础, 同时也是植物的一个重要生理指标^[19]。试验中, 当一部分根系受到铝胁迫时, 光合作用并没有随着 A 室中磷浓度的增加而增加, 同样说明磷的增加并不能缓解铝毒对植物光合作用等生理方面的影响。

综合上述结果,在分根处理 15 d 的试验中,单侧供磷并不能有效缓解小麦铝毒害作用。

参考文献:

- [1] 庞欣,李春俭,张福锁.部分根系供磷对小麦幼苗生长及同化物分配的影响[J].作物学报,2000,26(6):719-724.
- [2] PELLET D M, PAPERNIK L A, KOCHIAN L V. Multiple aluminum-resistance mechanisms in wheat-roles of root apical phosphate and malate exudation[J]. Plant Physiol,1996,112: 591-597.
- [3] NAKAGAWA T, MORI S, YOSHIMURA E. Amelioration of aluminum toxicity by pretreatment with phosphate in aluminum-tolerant rice cultivar[J]. J Plant Nutr,2003,26:619-628.
- [4] ABICHEQUER A D, BOHNEN H, ANGHINONI I. Phosphorus uptake, translocation and utilization in wheat varieties under aluminum toxicity[J]. Rev Bras Cienc Solo,2003,27: 373-378.
- [5] KIDD P S, LLUGANY M, POSCHENRIEDER C, et al. The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.) [J]. J Exp Bot, 2001,52: 1339-1352.
- [6] HE G H, ZHANG J F, HU X H, et al. Effect of aluminum toxicity and phosphorus deficiency on the growth and photosynthesis of oil tea (*Camellia oleifera* Abel.) seedlings in acidic red soils [J]. Acta Physiol Plant, 2011,33: 1285-1292.
- [7] JIANG H X, TANG N, ZHENG J G, et al. Phosphorus alleviates aluminum-induced inhibition of growth and photosynthesis in *Citrus grandis* seedlings [J]. Physiol Plantarum, 2009, 137: 298-311.
- [8] CHEN R F, ZHANG F L, ZHANG Q M, et al. Aluminium-phosphorus interactions in plants growing on acid soils: does phosphorus always alleviate aluminium toxicity? [J] J Sci Food Agr, 2012,92: 995-1000.
- [9] SHEN R F, CHEN R F. Root phosphate exudation and pH shift in the rhizosphere are not responsible for aluminum resistance in rice [J]. Acta Physiol Plant, 2008,30:817-824.
- [10] SUN Q B, SHEN R F, ZHAO X Q, et al. Phosphorus enhances Al resistance in Al-resistant *Lespedeza bicolor* but not in Al-sensitive *L. cuneata* under relatively high Al stress [J]. Ann Bot London, 2008,102: 795-804.
- [11] WARD C L, KLEINERT A, SCORTECCI K C, et al. Phosphorus-deficiency reduces aluminium toxicity by altering uptake and metabolism of root zone carbon dioxide [J]. J Plant Physiol, 2011, 168: 459-465.
- [12] TREJO-TELLEZ L I, STENZEL R, GOMEZ-MERINO F C, et al. Transgenic tobacco plants overexpressing pyruvate phosphate dikinase increase exudation of organic acids and decrease accumulation of aluminum in the roots [J]. Plant Soil,2010,326:187-198.
- [13] TAN K Z, KELTJENS W G. Interaction between aluminum and phosphorus in sorghum plants I. Studies with the aluminum sensitive sorghum genotype tam428 [J]. Plant Soil, 1990,124: 15-23.
- [14] LIAO H, WAN H Y, SHAFF J, et al. Phosphorus and aluminum interactions in soybean in relation to aluminum tolerance, exudation of specific organic acids from different regions of the intact root system [J]. Plant Physiol,2006,141:674-684.
- [15] 张富林,张启明,赵学强,等.磷对植物铝毒害作用研究中两种铝磷处理方法的比较[J].土壤学报,2010,47(2):311-318.
- [16] 崔雪梅,简君萌,李春生.铝胁迫对油菜根系及叶片生理生化指标的影响[J].江苏农业科学,2015,43(12):107-109.
- [17] 李德华,贺立源,刘武定.玉米自交系耐铝评价及根系形态解剖特性[J].作物学报,2004,30(9):947-952.
- [18] 周蓉,廖伯寿,陈小媚,等.铝胁迫对花生根系的影响[J].花生科技,1998(3):1-5.
- [19] 曹树青,赵永强,温家立,等.高产小麦旗叶光合作用及与籽粒灌浆进程关系的研究[J].中国农业科学,2000,33(6):19-25.

(责任编辑:张震林)