

吕波, 王宇函, 姜存仓. 脯氨酸缓解酸性土壤上小白菜铝毒胁迫的效应及其潜在机制[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(5): 868–874.

LÜ Bo, WANG Yu-han, JIANG Cun-cang. Effects of proline application and their potential mechanisms on pakchoi under aluminum stress in acidic soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(5): 868–874.

脯氨酸缓解酸性土壤上小白菜铝毒胁迫的效应及其潜在机制

吕波, 王宇函, 姜存仓*

(华中农业大学资源与环境学院, 微量元素研究中心, 武汉 430070)

摘要: 为了研究不同浓度外源脯氨酸(Pro)对酸性土壤上小白菜铝(Al)毒胁迫的效应及其潜在机制, 以小白菜为试验材料, 通过酸性土壤盆栽试验, 利用不同浓度外源 Pro, 设置 T_1 (0 mmol·L⁻¹ Al+0 mmol·L⁻¹ 外源 Pro)、 T_2 (27 mg·kg⁻¹ Al+0 mmol·L⁻¹ 外源 Pro)、 T_3 (27 mg·kg⁻¹ Al+10 mmol·L⁻¹ 外源 Pro)、 T_4 (27 mg·kg⁻¹ Al+20 mmol·L⁻¹ 外源 Pro)、 T_5 (27 mg·kg⁻¹ Al+50 mmol·L⁻¹ 外源 Pro) 共 5 个处理, 对小白菜生理特性和土壤性质进行研究。结果表明: 与 T_1 相比, Al 胁迫下小白菜的产量、抗氧化酶活性以及土壤 pH 值明显降低, 其中, 产量降低了约 10.6%, 土壤 pH 值降低了 0.75 个单位; 此外, 叶片丙二醛和 Al 含量以及土壤活性 Al 总量明显升高, 其中, 小白菜叶片 Al 含量和土壤活性 Al 含量分别增加了 24.3% 和 15.3%, 对小白菜产生明显胁迫作用, 抑制其生长; 相对于 Al 处理, 施用不同浓度外源 Pro 可以明显增加小白菜产量, T_3 、 T_4 和 T_5 分别增加了 29.3%、38.4% 和 65.2%, 抗氧化酶活性也显著提高, 而叶片丙二醛和 Al 含量以及土壤活性 Al 含量显著降低, T_3 、 T_4 和 T_5 叶片 Al 含量分别降低了 20.4%、45.6% 和 49.8%, 说明不同浓度外源 Pro 均能缓解 Al 对小白菜的胁迫作用。研究表明, 外源 Pro 可缓解 Al 对小白菜胁迫作用, 且缓解效果为 $T_5 > T_4 > T_3$, 50 mmol·L⁻¹ 外源 Pro 缓解效果较好。

关键词: 外源脯氨酸; 小白菜; 产量; 生理特性

中图分类号: X171.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2018)05-0868-07 doi:10.11654/jaes.2017-1103

Effects of proline application and their potential mechanisms on pakchoi under aluminum stress in acidic soil

LÜ Bo, WANG Yu-han, JIANG Cun-cang*

(College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Microelement Research Center, Wuhan 430070, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of proline(Pro) application and their potential mechanisms on pakchoi under aluminum(Al) stress in acidic soil. A pot experiment was carried out in acidic soil, with pakchoi as the test material. The experiment consisted of different concentrations of exogenous Pro with Al: T_1 (0 mg·kg⁻¹ Al + 0 mmol·L⁻¹ Pro), T_2 (27 mg·kg⁻¹ Al + 0 mmol·L⁻¹ Pro), T_3 (27 mg·kg⁻¹ Al + 10 mmol·L⁻¹ Pro), T_4 (27 mg·kg⁻¹ Al + 20 mmol·L⁻¹ Pro), and T_5 (27 mg·kg⁻¹ Al + 50 mmol·L⁻¹ Pro), to study the physiological characteristics of the pakchoi and the soil properties. The results showed that compared to T_1 treatment, T_2 treatment resulted in a significant decrease in the antioxidant enzyme activities, the yield of pakchoi, and soil pH. The yield of pakchoi and soil pH were remarkably reduced by 10.6% and 0.75, respectively. On the other hand, the malondialdehyde(MDA) content and aluminum concentration of the leaves and active Al content of the soil increased considerably. Aluminum in the leaves of the pakchoi and the active Al content of the soil increased by 24.3% and 15.3%, respectively. Apparently, aluminum stress inhibited the growth of the pakchoi. Compared to Al treatment alone(T_2), different concentrations of exogenous Pro with the T_3 , T_4 , and T_5 treatments significantly increased the yield of the pakchoi by

收稿日期: 2017-08-14 录用日期: 2017-11-28

作者简介: 吕波(1994—), 男, 山东济南人, 硕士研究生, 从事新型肥料研究。E-mail: lvbo2017@webmail.hzau.edu.cn

*通信作者: 姜存仓 E-mail: jcc2000@mail.hzau.edu.cn

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0200803); 中央高校基本科研业务费专项资金(2017PY055); 大学生科技创新基金项目(SRF2017075)

Project supported: National Key Research and Development Plan(2017YFD0200803); The Fundamental Research Funds for the Central Universities(2017PY055); University Student Science and Technology Innovation Fund Project(SRF2017075)

29.3%, 38.4%, and 65.2%, respectively. Moreover, exogenous Pro also improved the activities of antioxidant enzymes, whereas the MDA and Al contents of the leaves and the active Al content of the soil obviously decreased. Additionally, aluminum contents in the leaves of the T₃, T₄, and T₅ treatments declined by 20.4%, 45.6%, and 49.8%, respectively. It could be suggested that exogenous Pro may provide relief to pakchoi under Al stress, with the remission effect in the order of T₅>T₄>T₃, i.e., the effect of 50 mmol·L⁻¹ Pro was the best.

Keywords: exogenous Pro; pakchoi; yield; physiological characteristics

我国以酸性土壤为主,铝(Al)毒是限制作物生长和减少产量的重要原因之一^[1]。通常情况下,土壤中Al以难溶性或固定状态存在于土壤固相中,对植物不产生毒害作用,当土壤pH<5时,活性铝含量就随pH值降低而升高^[2],它们存在于土壤介质中,直接对植物产生胁迫作用。植物在Al胁迫下,其根尖结构遭破坏,根系伸长被抑制,根系活力降低^[3],Al胁迫阻碍植物对养分的吸收,降低其抵抗外界环境变化的能力,从而影响植物生长和作物产量^[4]。脯氨酸(Pro)在植物体内水溶性较强,可以被植物快速吸收^[5],是植物体内最有效的渗透调节物质之一。有关研究表明,Pro可以提高油菜、水稻等作物产量^[6]、抵御逆境胁迫过程^[7]以及提高植物叶绿素的含量^[8];Pro还可促进植物对必需元素(如钙、镁等)的利用^[9],改善光合作用过程^[10],并提高代谢能力。植物在逆境条件下易产生活性氧,Pro可与活性氧结合,使植物免受伤害^[11]。Pro还可作为重金属、低温、高温等逆境胁迫条件下植物的保护剂,提高植物抗氧化酶活性,增强植物抗逆性^[12]。在逆境胁迫条件下可通过施用外源Pro来提高植物抗逆能力^[13]。目前关于外源Pro缓解盐以及重金属等胁迫的研究很多^[14-15],但是对于外源Pro缓解Al胁迫的研究却鲜有报道。因此,本文研究了不同浓度外源Pro对Al胁迫下小白菜产量、生理特性的影响,为外源Pro对Al毒缓解的应用提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验于2017年3—5月在华中农业大学盆栽场进行,供试作物为小白菜“四月慢”。供试土壤为黄棕壤,取自校内大田耕层。土壤经自然风干后,除去石块及植物未腐烂残体后研磨过2 mm筛,混匀后备用。其基本理化性质:pH值5.2,有机质13.3 g·kg⁻¹,全氮0.81 g·kg⁻¹,碱解氮38.9 mg·kg⁻¹,速效磷49.2 mg·kg⁻¹,速效钾169.4 mg·kg⁻¹,活性Al 407.5 μg·g⁻¹。

1.2 试验设计

本试验以土培盆栽的方式进行,设置T₁(0外源Al+0外源Pro)、T₂(外源Al)、T₃(外源Al+10 mmol·L⁻¹

外源Pro)、T₄(外源Al+20 mmol·L⁻¹外源Pro)、T₅(外源Al+50 mmol·L⁻¹外源Pro)5个处理,每个处理4次重复。外源Al为AlCl₃·6H₂O(分子量为241.43),微量元素用Arnon营养液配方(pH值为6.0)。取过2 mm筛的风干土样1.5 kg于盆中,称取底肥:NH₄NO₃ 0.571 g·kg⁻¹,KH₂PO₄ 0.439 g·kg⁻¹,KCl 0.141 g·kg⁻¹,AlCl₃·6H₂O 0.242 g·kg⁻¹。外源Al和基肥按试验处理分别施入土壤且均匀混合。种子晾晒后浸泡于纯水中过夜(4℃),挑选饱满一致的种子于塑料盆中,每盆播种约20颗,分散距离均匀,在温室内培养至发芽,发芽后间苗培养,用不同浓度外源Pro溶液进行灌根处理,于2月28日播种,3月14日第一次处理,每7 d进行1次,每次用量50 mL,总共3次,T₃、T₄和T₅外源Pro总施用量分别为每盆0.17、0.34 g和0.86 g,4月14日收获,期间每日浇水,运用重量差减法使水分维持约75%田间持水量,共培养45 d。

1.3 指标测定与方法

1.3.1 样品采集

收获时,调查小白菜株高等农艺性状,称取每盆产量(地上部可食部分鲜重),每盆随机取1株样品测定叶绿素、抗氧化酶以及丙二醛(MDA)等鲜样指标,所有样品在105℃下杀青30 min,60℃烘干称干重,把干样磨碎后供分析测试用。样品收获后,将不同处理的土样风干磨细并分别过20目和100目的筛子,土样用自封袋保存供分析测试用。

1.3.2 植物样品测定

采用乙醇比色法^[16]测定植物叶片叶绿素含量;采用愈创木酚法^[16]测定过氧化物酶(POD)活性;采用NBT还原法^[16]测定超氧化物歧化酶(SOD)活性;采用紫外分光光度法^[16]测定过氧化氢酶(CAT)活性;采用硫代巴比妥反应法^[16]测定MDA含量;采用浓H₂SO₄-H₂O₂消煮,蒸馏定氮法测定植株氮含量^[17],钼锑抗比色法测定植株磷含量^[17]、火焰光度法测定植株钾含量^[17]。采用硝酸和高氯酸混酸消解-石墨炉原子吸收分光光度法^[18]测定植物叶片Al含量。

1.3.3 土壤基本理化性质测定

土壤样品用于测定收获后土壤的基本理化性质

以及土壤的活性 Al 含量。土壤基本理化性质参照鲍士旦^[17]编制的《土壤农化分析》测定:使用 pH 计测定土壤 pH 值(土水比 1:2.5),10.0 g 土+25.0 mL 水;碱解扩散法测定土壤碱解氮; NH_4OAc 浸提,火焰光度法测定土壤速效钾; $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ 浸提,钼锑抗比色法测定土壤有效磷;用庞叔薇等^[19]提出的浸提方法测定土壤活性 Al 的含量。

1.4 数据处理与分析

试验公式^[20]:

养分积累量=养分含量×植株干物质积累量。

采用 Excel 2010 对数据进行处理分析和作图。用 SAS 进行单因素方差分析, t 检验差异显著性水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜产量的影响

从表 1 可知,相对于 T_1 ,单施 Al 使小白菜产量、干重和株高显著降低,株高和产量分别减少了 9.2% 和 10.6%,均达到显著水平;Al 胁迫下,不同浓度外源 Pro 使小白菜株高、产量和干重显著增大,株高分别提高了 17.8%、25.4% 和 14.4%,产量分别升高了 28.4%、38.4% 和 65.2%。Al 胁迫下,不同浓度外源 Pro 处理的产量相对于 T_1 均增加,且有逐渐升高的趋势,其中 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 外源 Pro 处理产量最高,提高了约 37.1%。因此说明外源 Pro 具有缓解 Al 对小白菜生长胁迫和提高小白菜产量的作用。

2.2 外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜养分含量和积累量的影响

从表 2 得出,相对于 T_1 ,Al 胁迫下小白菜的氮、磷、钾含量明显降低,分别减少了 28.2%、40.9% 和 13.1%,养分总积累量分别降低了 45.5%、55.2% 和

34.0%,均达到显著水平,Al 对小白菜养分吸收产生抑制作用。Al 胁迫下施加不同浓度外源 Pro,小白菜的氮、磷、钾含量均明显上升,且随着 Pro 浓度的升高,养分含量呈现逐渐升高的趋势,浓度为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时养分含量最高,相对于 T_2 氮、磷、钾含量分别增加了 60.7%、50.0% 和 23.2%;此外,小白菜养分总积累量明显增加,缓解 Al 对小白菜的抑制作用,其中 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 缓解效果最好,相对于 T_2 氮、磷、钾总积累量分别增加了 169.4%、151.6% 和 106.6%。因此,外源 Pro 可缓解 Al 对小白菜养分吸收的抑制,促进小白菜对养分的积累。

2.3 外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜叶片 Al 含量的影响

从图 1 得出,Al 胁迫下小白菜叶片 Al 含量相对于 T_1 显著提高了 24.3%,施加外源 Pro 后,小白菜叶片 Al 含量显著降低,分别降低了 20.4%、45.6% 和 49.8%,说明外源 Pro 可减少小白菜对 Al 的吸收,缓解 Al 胁迫作用。随着外源 Pro 浓度升高,小白菜叶片 Al 含量呈现逐渐降低的趋势,且均低于 T_1 水平,其中 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 外源 Pro 缓解效果较好。

表 2 外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜养分含量和积累量的影响

Table 2 Exogenous proline effect on the nutrient content and accumulation of pakchoi under aluminum stress

处理	N		P		K	
	含量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	积累量/ $\text{mg} \cdot \text{株}^{-1}$	含量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	积累量/ $\text{mg} \cdot \text{株}^{-1}$	含量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	积累量/ $\text{mg} \cdot \text{株}^{-1}$
T_1	23.28b	51.22b	37.50a	82.49ab	13.27ab	29.18b
T_2	16.72c	27.92c	22.14c	36.98c	11.53b	19.25c
T_3	20.41bc	57.55b	27.75b	78.25b	13.25ab	37.47a
T_4	24.11b	60.52b	30.29b	76.03b	13.29ab	33.25ab
T_5	26.87a	75.22a	33.23ab	93.03a	14.21a	39.79a

表 1 外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜产量的影响
Table 1 Exogenous proline effect on the growth of pakchoi under aluminum stress

处理	株高/cm	产量/ $\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$	干重/ $\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$
T_1	13.0±0.1bc	25.77±4.2b	2.20±0.2b
T_2	11.8±0.3c	23.03±6.4c	1.67±0.2c
T_3	13.9±0.9ab	29.79±4.1b	2.82±0.4a
T_4	14.8±0.8a	31.87±2.7b	2.51±0.3b
T_5	13.5±0.9b	38.05±1.7a	2.80±0.1ab

注:不同小写字母之间表示各处理间存在显著差异($P < 0.05$),下同。

Note: Different small letters in the same column meant significant difference at 0.05 level among treatments, the same below.

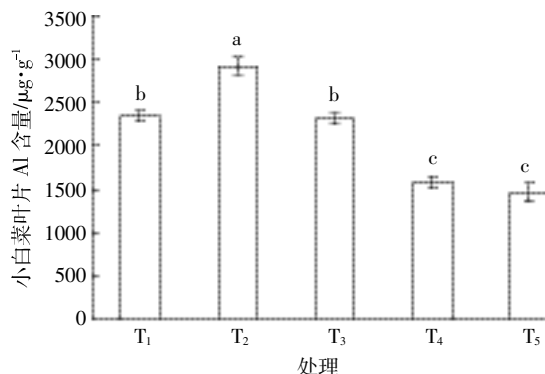


图 1 外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜叶片 Al 含量的影响

Figure 1 Exogenous proline effect on the content of aluminum in pakchoi leaves under aluminum stress

2.4 外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜叶绿素的影响

如表 3 所示,Al 会减少叶绿素含量,破坏小白菜叶片的叶绿素。相对于 T_1 , T_2 处理的小白菜叶片叶绿素受到破坏,叶绿素 a 含量减少 17.3%,叶绿素 b 减少 27.2%,类胡萝卜素含量减少 29.0%,且均达到显著水平;Al 胁迫下施加不同浓度外源 Pro 后, T_3 、 T_4 、 T_5 处理叶绿素含量均相应地增加,随着外源 Pro 浓度升高,叶绿素含量呈现递增趋势,其中 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 外源 Pro 的缓解效果较好,叶绿素 a、b 和类胡萝卜素含量分别提高了 29.1%、38.9%和 36.4%。外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜叶片叶绿素含量产生了一定的影响,但并未显著提高,只是缓解并逐渐恢复到 T_1 水平。

表 3 外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜叶片叶绿素的影响

Table 3 Exogenous proline effect on chlorophyll in leaves of pakchoi under aluminum stress

处理	叶绿素 a/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	叶绿素 b/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	类胡萝卜素/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
T_1	$0.66 \pm 0.05\text{b}$	$0.25 \pm 0.01\text{a}$	$0.15 \pm 0.02\text{a}$
T_2	$0.55 \pm 0.04\text{c}$	$0.18 \pm 0.02\text{c}$	$0.11 \pm 0.01\text{b}$
T_3	$0.57 \pm 0.11\text{bc}$	$0.20 \pm 0.04\text{bc}$	$0.14 \pm 0.02\text{ab}$
T_4	$0.69 \pm 0.05\text{a}$	$0.21 \pm 0.02\text{b}$	$0.14 \pm 0.02\text{ab}$
T_5	$0.71 \pm 0.08\text{a}$	$0.25 \pm 0.02\text{a}$	$0.15 \pm 0.01\text{a}$

2.5 外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜抗氧化酶活性和 MDA 含量的影响

从表 4 得知,相对于 T_1 ,添加外源 Al, POD、SOD 和 CAT 活性分别降低了 13.7%、21.1%和 30.4%,MDA 含量显著升高了 58.8%;Al 胁迫下,不同浓度外源 Pro 使抗氧化酶活性显著提高,MDA 含量显著降低,其中 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 效果最好,POD 活性提高了 24.3%,SOD 活性升高了 266.9%,CAT 活性提高了 142.6%,MDA 含量降低了 40.8%。随着外源 Pro 浓度升高,POD、SOD 和 CAT 活性呈现逐渐升高的趋势,最终均比 T_1 水平高,说明外源 Pro 可减弱 Al 对抗氧化酶活性的影响。因此,外源 Pro 可增强抗氧化酶活

性来缓解 Al 胁迫。

2.6 外源 Pro 对 Al 胁迫下土壤 pH 值和活性 Al 含量的影响

从图 2 可得出,相对于 T_1 ,外源 Al 使土壤 pH 值由 5.65 减少为 4.90,降低了 0.75 个单位,达到显著水平,施加不同浓度外源 Pro 后,土壤 pH 值并未明显改善,未达到显著水平,说明外源 Pro 对 Al 胁迫下土壤 pH 值的影响不大。 T_1 土壤活性 Al 含量为 $456.02 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, T_2 土壤活性 Al 含量为 $525.86 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,本试验外源 Al 施加量为 $27 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,增加量为 $69.84 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,增加量大于施加量;施加外源 Pro 后,土壤活性 Al 含量分别降低了 4.3%、24.5%和 19.7%。外源 Al 使土壤 pH 值降低,活性 Al 含量升高,说明土壤 pH 值降低对活性

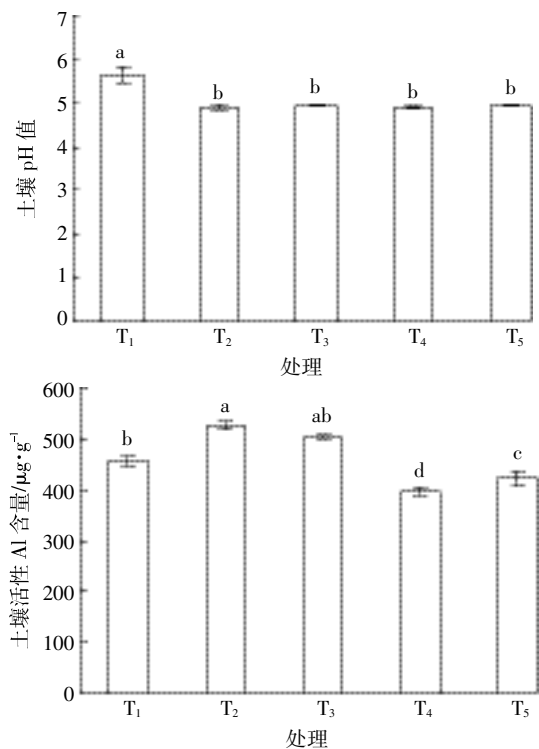


图 2 外源 Pro 对 Al 胁迫下土壤 pH 值和活性 Al 含量的影响

Figure 2 Exogenous proline effect on soil pH and available Al content under aluminum stress

表 4 外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜抗氧化酶活性和 MDA 含量的影响

Table 4 Exogenous proline effect on antioxidant enzyme activity and MDA content in pakchoi under aluminum stress

处理	过氧化物酶(POD)活性/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	超氧化物歧化酶(SOD)活性/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$	过氧化氢酶(CAT)活性/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	丙二醛(MDA)含量/ $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$
T_1	$191.43 \pm 7.1\text{a}$	$56.89 \pm 6.0\text{c}$	$12.23 \pm 2.5\text{b}$	$2.52 \pm 0.3\text{bc}$
T_2	$165.14 \pm 1.7\text{b}$	$44.85 \pm 8.3\text{d}$	$8.51 \pm 1.9\text{c}$	$3.99 \pm 0.2\text{a}$
T_3	$181.52 \pm 9.3\text{ab}$	$119.44 \pm 6.1\text{b}$	$15.62 \pm 1.4\text{b}$	$2.93 \pm 0.1\text{b}$
T_4	$192.59 \pm 2.9\text{a}$	$142.94 \pm 11.6\text{a}$	$16.12 \pm 2.5\text{b}$	$2.76 \pm 0.1\text{bc}$
T_5	$205.33 \pm 12.1\text{a}$	$164.55 \pm 13.0\text{a}$	$20.65 \pm 2.3\text{a}$	$2.36 \pm 0.3\text{c}$

Al 含量升高有一定的影响;添加外源 Pro 后,土壤 pH 值未明显变化,但土壤活性 Al 含量显著降低,说明外源 Pro 对 Al 胁迫下土壤活性 Al 含量的影响并不是通过调节土壤 pH 值实现的。

3 讨论

3.1 外源 Pro 对 Al 胁迫下小白菜生长及生理特性的影响

植物在生长过程中需要适宜的土壤环境,但实际上土壤环境中存在着很多限制作物生长的因素,如土壤 pH 值降低、活性 Al 含量过多导致的 Al 毒^[4]等。Al 毒对植物生长发育的影响主要表现为根系吸收养分受到阻碍、生长受到抑制、产量降低等^[21]。本试验发现,在黄棕壤中施加外源 Al 后,土壤 pH 值下降了 0.75 个单位,小白菜的氮、磷、钾含量分别减少了 28.2%、40.9% 和 13.1%,养分总积累量分别降低了 45.5%、55.2% 和 34.0%,小白菜株高降低了 9.2%,产量减少了 10.6%,说明土壤 pH 值降低是 Al 胁迫下小白菜产量下降和生长发育受限制的重要原因之一。

有研究^[22]表明,逆境胁迫下,植物易产生活性氧,直接对植物的生理特性产生影响。植物体内与活性氧消除有关的酶活性在逆境胁迫下一般会增强,从而植物抗氧化能力得到提高。Okuma 等^[23]发现 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Pro 促进悬浮培养烟草细胞的生长;Hoque 等^[24]发现 Pro 可提高植物叶片抗氧化酶活性。本研究发现,外源 Al 使 POD、SOD 和 CAT 的活性显著降低,分别降低了 13.7%、21.1% 和 30.4%,使膜脂过氧化产物 MDA 含量显著升高,升高了 58.8%,对小白菜的抗氧化酶系统造成损害,施加不同浓度外源 Pro 后,促进小白菜 SOD、POD 和 CAT 活性,减少 MDA 在体内的积累,从而减轻膜脂过氧化程度和增强抗氧化能力。外源 Pro 缓解 Al 胁迫的原因可能在于作为活性氧消除剂,激发体内 POD、SOD 以及 CAT 的活性,降低活性氧对植物的危害,增强小白菜抵抗逆境的能力,Anjum 等^[25]研究也证实了这一点。除此之外,Ashraf 等^[26]研究认为外源 Pro 缓解逆境胁迫效果取决于作物的类型以及 Pro 的浓度等,适宜 Pro 浓度可能在 $5 \sim 60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间^[27-28]。本试验设置 3 个浓度,综合数据发现在提高产量、抗氧化酶活性、叶绿素含量和养分总积累量以及降低 MDA 含量、植物叶片 Al 含量和土壤活性 Al 含量等方面,浓度为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时缓解效果较好,此浓度在研究范围之内。

3.2 外源 Pro 及外源 Al 对小白菜和土壤 Al 含量的影响

本试验中,外源 Al 的施入使得土壤活性 Al 含量增加,土壤活性 Al 含量从 $456.02 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到了 $525.86 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,增加量为 $69.84 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,大于施加量 $27 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,说明外源 Al 可使土壤固定态 Al 转化成活性 Al,这与应介官等^[29]研究生物炭及外源 Al 对土壤 Al 含量试验结果相似。除此之外,施加不同浓度外源 Pro 后,小白菜和土壤中的 Al 含量加上外源 Al 的施入量, $T_2 \sim T_5$ 4 个处理 Al 总量呈现下降的趋势。有研究^[30-31]表明,土壤活性 Al 含量与土壤 pH 值有密切关系,当土壤 $\text{pH} < 5$ 时,土壤活性 Al 含量随 pH 值降低而升高,但在本实验中,外源 Pro 并没有显著提高土壤 pH 值,因此降低土壤和植物中 Al 含量并不是通过提高土壤 pH 值来实现的,对此 Bolan 等^[32]研究发现有机酸可以与活性 Al 形成对植物无害的稳定物质,宋敏等^[21]的研究也证实外源 Pro 可与自由金属离子形成无毒的金属-Pro 复合物,减轻金属对植物抗氧化酶活性以及光合中心离子的毒害作用。因此本试验主要原因可能在于外源 Pro 与土壤活性 Al 相结合使土壤活性 Al 转化成 Al-Pro 稳定复合物,外源 Pro 被植物吸入体内直接转化成内源 Pro 与体内 Al 形成某种稳定物质^[21],且这两种物质对植物没有危害,从而同时降低了土壤和小白菜中 Al 含量,这也解释了总体下降趋势的问题。

3.3 外源 Pro 的应用前景

Pro 是一种可溶性的渗透调节物质,中性条件下不带电,具有分子量低、水溶性高等特点^[33-34]。Pro 性质稳定,可在常温和常压条件下稳定存在。Pro 对植物具有两方面积极作用,充当逆境调节物质和能量^[35-36]:植物在逆境胁迫条件下,Pro 可以与胁迫条件产生的氧自由基发生反应转变为无害物质,消除活性氧危害;当植物从胁迫条件恢复正常时,Pro 降解产生能量,可作为氮、磷的快速补偿能源。目前关于 Pro 的研究很多,主要倾向于其在植物体内的抗逆机制^[37],多应用于缓解干旱、高温、盐胁迫和重金属等^[38]逆境胁迫,但是目前有关 Pro 功能和植物抗逆性的研究都是在培养室中进行的,在野外条件下还没得到成功的验证^[13]。Pro 由于其高水溶性可作为水溶肥施用,成本较低,为新型肥料研究提供新的思路。

4 结论

(1)外源 Al 使土壤 pH 值降低,土壤活性 Al 含量增加,植物体内 Al 含量升高,抗氧化酶活性减弱,膜脂过氧化程度增强,叶绿素破坏,养分总积累量减

少,Al对小白菜生长产生胁迫作用。

(2)Al胁迫下施用不同浓度外源Pro未明显提高土壤pH值,可使土壤活性Al含量下降,植物体内Al含量下降,抗氧化酶活性提高,膜脂过氧化程度减弱,叶绿素恢复到正常水平,养分总积累量增加。外源Pro有效地缓解了Al对小白菜生长的抑制,且50 mmol·L⁻¹外源Pro对Al胁迫缓解效果较好。

参考文献:

- [1] 陈荣府,沈仁芳.水稻(*Oryza sativa* L.)铝毒害与耐性机制及铝毒害的缓解作用[J].土壤,2004,36(5):481-491.
CHEN Rong-fu, SHEN Ren-fang. Mechanisms of aluminum toxicity and tolerance of rice(*Oryza Sativa* L.) and catabolism of Al stress in acid soils[J]. *Soils*, 2004, 36(5):481-491.
- [2] 刘鹏, Yang Y S, 徐根娣, 等. 南方4种草本植物对铝胁迫生理响应的研究[J]. 植物生态学报, 2005, 29(4):644-651.
LIU Peng, Yang Y S, XU Gen-di, et al. Physiological response of four southern herbaceous plants to aluminum stress[J]. *Acta Phytocologica Sinica*, 2005, 29(4):644-651.
- [3] 吴道铭,傅友强,于智卫,等.我国南方红壤酸化和铝毒现状及防治[J].土壤,2013,45(4):577-584.
WU Dao-ming, FU You-qiang, YU Zhi-wei, et al. Status of red soil acidification and aluminum toxicity in South China and prevention[J]. *Soils*, 2013, 45(4):577-584.
- [4] Kochian L V, Hoekenga O A, Piñeros M A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2004, 55(1):459-493.
- [5] Shah K, Kumar R G, Verma S, et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings[J]. *Plant Science*, 2001, 161(6):1135-1144.
- [6] Habbasha E. Amelioration of the growth, yield and chemical constituents of canola plants grown under salinity stress condition by exogenous application of proline[J]. 2014, 2(11):501-508.
- [7] 沙汉景,刘化龙,王敬国,等.外源脯氨酸对盐胁迫下水稻分蘖期生长的影响[J].农业现代化研究,2013,34(2):230-234.
SHA Han-jing, LIU Hua-long, WANG Jing-guo, et al. Effects of exogenous proline on growth of rice at tillering stage under salt stress[J]. *Research of Agricultural Modernization*, 2013, 34(2):230-234.
- [8] 唐依萍,张晓艳,刘士壮,等.外源脯氨酸对NaCl胁迫下番茄幼苗光合特性的影响[J].安徽农业科学,2015,43(24):9-11.
TANG Yi-ping, ZHANG Xiao-yan, LIU Shi-zhuang, et al. Effects of exogenous proline on photosynthetic characteristics of tomato seedlings under NaCl stress[J]. *Anhui Agricultural Sciences*, 2015, 43(24):9-11.
- [9] Szabados L, Savaure A. Proline: A multifunctional amino acid[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(2):89-97.
- [10] 颜志明,孙锦,郭世荣.外源脯氨酸对盐胁迫下甜瓜幼苗生长、光合作用和光合荧光参数的影响[J].江苏农业学报,2013,29(5):1125-1130.
YAN Zhi-ming, SUN Jin, GUO Shi-rong. Effects of exogenous proline on seedling growth, photosynthesis and photosynthetic fluorescence characteristics in leaves of melon under salt stress[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 29(5):1125-1130.
- [11] Dai Q L, Chen C, Feng B, et al. Effects of different NaCl concentration on the antioxidant enzymes in oilseed rape(*Brassica napus* L.) seedlings[J]. *Plant Growth Regulation*, 2009, 59(3):273-278.
- [12] 黄运湘,王志坤,袁红,等.大豆对镉胁迫的生理反应及耐镉机理探讨[J].农业环境科学学报,2011,30(8):1514-1520.
HUANG Yun-xiang, WANG Zhi-kun, YUAN Hong, et al. Physiological responses of soybean(*Glycine max*) to cadmium stress and its tolerance mechanism[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(8):1514-1520.
- [13] Mmf M, Ali E F. Evaluation of proline functions in saline conditions[J]. *Phytochemistry*, 2017, 140:52-68.
- [14] 张金凤,孙明高,夏阳,等.盐胁迫对石榴和樱桃脯氨酸含量和硝酸还原酶活性及电导率的影响[J].山东农业大学学报(自然科学版),2004,35(2):164-168.
ZHANG Jin-feng, SUN Ming-gao, XIA Yang, et al. Salt stresses affect proline contents, nitrate reductase activities and electrical conductivity of seedling leaves of megranate and cherry[J]. *Journal of Shandong Agricultural University(Natural Science)*, 2004, 35(2):164-168.
- [15] 段九菊,郭世荣,樊怀福,等.盐胁迫对黄瓜幼苗根系脯氨酸和多胺代谢的影响[J].西北植物学报,2006,26(12):2486-2492.
DUAN Jiu-ju, GUO Shi-rong, FAN Huai-fu, et al. Effects of salt stress on proline and polyamine metabolisms in the roots of cucumber seedlings[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2006, 26(12):2486-2492.
- [16] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].2版.北京:高等教育出版社,2015.
WANG Xue-kui. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. 2nd Edition. Beijing: Higher Education Press, 2015.
- [17] 鲍士旦.土壤农化分析[M].3版.北京:中国农业出版社,2000.
BAO Shi-dan. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [18] Ramsey M H, Dong D, Thornton I, et al. Discrimination between aluminium held within vegetation and that contributed by soil contamination using a combination of Electron Probe Micro Analysis (EPMA) and Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES)[J]. *Environmental Geochemistry & Health*, 1991, 13(2):114-118.
- [19] 庞叔薇,康德梦,王玉保,等.化学浸提法研究土壤中活性铝的溶出及形态分布[J].环境化学,1986,5(3):70-78.
PANG Shu-wei, KANG De-meng, WANG Yu-bao, et al. Studies on the leaching of active aluminum from soil and the distribution of aluminum species by chemical extraction[J]. *Environmental Chemistry*, 1986, 5(3):70-78.
- [20] 王永华,黄源,辛明华,等.周年氮磷钾施肥模式对砂姜黑土麦玉米轮作体系籽粒产量和养分利用效率的影响[J].中国农业科学,2017,50(6):1031-1046.
WANG Yong-hua, HUANG Yuan, XIN Ming-hua, et al. Effects of the

- year-round management model of N, P and K combined application on grain yield and nutrient efficiency of wheat-maize rotation system in lime concretion black soil[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(6): 1031-1046.
- [21] 宋敏, 徐文竞, 彭向永, 等. 外源脯氨酸对镉胁迫下小麦幼苗生长的影响[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(1): 129-134.
SONG Min, XU Wen-jing, PENG Xiang-yong, et al. Effects of exogenous proline on the growth of wheat seedlings under cadmium stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(1): 129-134.
- [22] 陶爱芬, 陈娟娟, 祁建民, 等. 外源硒及脯氨酸对菜用黄麻生长和生理特性的影响[J]. *中国麻业科学*, 2015, 37(5): 239-245.
TAO Ai-fen, CHEN Xian-xian, QI Jian-min, et al. Effects of exogenous selenium and proline on growth and physiological characteristics of edible jute[J]. *Plant Fiber Sciences in China*, 2015, 37(5): 239-245.
- [23] Okuma E, Soeda K, Tada M, et al. Exogenous proline mitigates the inhibition of growth of *Nicotiana tabacum* cultured cells under saline conditions[J]. *Soil Science & Plant Nutrition*, 2000, 46(1): 257-263.
- [24] Hoque M A, Banu M N, Okuma E, et al. Exogenous proline and glycinebetaine increase NaCl-induced ascorbate-glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycinebetaine in tobacco Bright Yellow-2 suspension-cultured cells[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(11): 1457-68.
- [25] Anjum F, Rishi V, Ahmad F. Compatibility of osmolytes with Gibbs energy of stabilization of proteins[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, 1476(1): 75-84.
- [26] Ashraf M, Foolad M R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance[J]. *Environmental & Experimental Botany*, 2007, 59(2): 206-216.
- [27] Roy D, Basu N, Bhunia A, et al. Counteraction of exogenous L-proline with NaCl in salt-sensitive cultivar of rice[J]. *Biologia Plantarum*, 1993, 35(1): 69-72.
- [28] Yamada M, Morishita H, Urano K, et al. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56(417): 1975-1981.
- [29] 应介官, 林庆毅, 张梦阳, 等. 生物炭对铝富集酸性土壤的毒性缓解效应及潜在机制[J]. *中国农业科学*, 2016, 49(23): 4576-4583.
YING Jie-guan, LIN Qing-yi, ZHANG Meng-yang, et al. Mitigative effect of biochar on aluminum toxicity of acid soil and the potential mechanism[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(23): 4576-4583.
- [30] 王维君, 陈家坊. 土壤铝形态及其溶液化学的研究[J]. *土壤学进展*, 1992, 20(3): 10-18.
WANG Wei-jun, CHEN Jia-fang. The study of soil aluminum form and its solution chemistry[J]. *Progress in Soil Science*, 1992, 20(3): 10-18.
- [31] 吕焕哲, 王凯荣, 谢小立. 土地利用方式与坡位土壤活性铝形态特征分析[J]. *水土保持学报*, 2007, 21(1): 172-175.
LÜ Huan-zhe, WANG Kai-rong, XIE Xiao-li. Character of soil aluminum forms under different land use and slope position[J]. *Journal of Soil & Water Conservation*, 2007, 21(1): 172-175.
- [32] Bolan D N S, Naidu R, Mahimairaja S, et al. Influence of low-molecular-weight organic acids on the solubilization of phosphates[J]. *Biology & Fertility of Soils*, 1994, 18(4): 311-319.
- [33] Maggio A, Miyazaki S, Veronese P, et al. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction[J]. *Plant Journal*, 2002, 31(6): 699-712.
- [34] Jiao R, Liu H B, Liu G S, et al. Discussion of accumulation of proline and its relationship with osmotic stress tolerance of plants[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 71(10): 7704-7710.
- [35] Floyd R A, Nagy I. Formation of long-lived hydroxyl free radical adducts of proline and hydroxyproline in a fenton reaction[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1984, 790(1): 94-97.
- [36] Ahmad I, Hellebust J A. The Relationship between inorganic nitrogen metabolism and proline accumulation in osmoregulatory responses of two euryhaline microalgae[J]. *Plant Physiology*, 1988, 88(2): 348-354.
- [37] Daly S, Yacoub A, Dundon W, et al. Isolation and characterization of a gene encoding alpha-tubulin from *Candida albicans*[J]. *Gene*, 1997, 187(2): 151-158.
- [38] Quan X Q, Zhang Y J, Shan L. The Roles of proline in plant growth and the tolerance to abiotic stresses[J]. *Letters in Biotechnology*, 2007(1): 159-162.