

· 研究报告 ·

外源有机酸对铝胁迫下菊芋生理响应系统的调控效应

毛轩雯¹, 王志超¹, 阮心依¹, 孙靖菲¹, 张雅婷¹, 陆锦灏¹, 邵甜甜¹
王娴¹, 肖佳敏¹, 肖莉¹, 叶梦瑶¹, 吴玉环^{2,3}, 刘鹏^{1*}

¹浙江师范大学植物学实验室, 金华 321004; ²杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州 310036

³中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016

摘要 铝(Al)是酸性土壤常见的金属污染物之一。为探明外源有机酸对铝胁迫下菊芋(*Helianthus tuberosus*)生理特征及根系DNA损伤的影响, 以耐铝品种徐州菊芋和铝敏感品种资阳菊芋为材料, 设置0、350和700 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铝处理, 同时分别施加0、30、60和90 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 复合有机酸, 探究外源有机酸对铝胁迫下各时期(7、14和21天)菊芋生理响应和DNA损伤的影响。结果表明, 铝胁迫抑制菊芋根伸长与根系活力, 严重损害菊芋的光合机构与抗氧化系统, 随着铝浓度的增加, DNA拖尾程度升高, DNA受损加剧。而施加复合有机酸能有效缓解铝胁迫造成的损伤。施加60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 有机酸可增强抗氧化酶活性, 提高最大光化学效率并促进根尖有机酸分泌, 其中柠檬酸分泌量分别比对照高2倍(徐州菊芋)及0.75倍(资阳菊芋), 根尖铝含量降低, 根系活力增强, 徐州菊芋和资阳菊芋DNA尾距较单独铝处理组下降51.53%和35.10%, 显著缓解DNA拖尾现象, 较大程度修复了DNA断裂。综上, 铝胁迫对菊芋造成的损害严重且较难缓解, 60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 有机酸能增强低铝胁迫下菊芋生理响应, 降低DNA受损程度, 提高菊芋的抗逆性, 且在铝敏感品种资阳菊芋中缓解效果更好。该研究揭示了外源复合有机酸对铝胁迫下菊芋生理响应系统的调控作用, 可为菊芋等经济作物在南方酸铝地区的种植与生产提供理论依据。

关键词 铝胁迫, 复合有机酸, 菊芋, 生理响应, DNA损伤

毛轩雯, 王志超, 阮心依, 孙靖菲, 张雅婷, 陆锦灏, 邵甜甜, 王娴, 肖佳敏, 肖莉, 叶梦瑶, 吴玉环, 刘鹏 (2023). 外源有机酸对铝胁迫下菊芋生理响应系统的调控效应. *植物学报* 58, 573–589.

铝(aluminum, Al)是地壳中含量最为丰富的金属元素(Alasfar and Isaifan, 2021), 在土壤pH<5.0时以游离态 Al^{3+} 形式存在, 微摩尔级即对植物产生剧烈的毒害作用, 严重时可致死(Yang et al., 2018)。我国土壤酸化严重且南方红壤地区酸化现象尤为突出(沈仁芳和赵学强, 2019), 而酸性土壤中存在的大量 Al^{3+} 是毒害作物的重要非生物胁迫因子, 是导致经济作物大量减产的主要原因(Pattanayak and Pfukrei, 2013)。 Al^{3+} 以被动运输的方式进入植物根尖细胞(Park et al., 2020), 改变根系细胞壁组分并抑制根系活力(Rahman and Upadhyaya, 2021), 阻碍根系正常伸长(周小华等, 2021)。根系吸收的 Al^{3+} 向上运输并富集于地上部组织, 进一步影响植物内部生命活动, 一方面诱导活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生, 损害细胞质膜, 破坏体内稳态(余倩等, 2021); 另

一方面, 铝胁迫使植物叶绿素荧光特性和净光合速率等发生变化, 进而影响植物的碳同化效率和有机物积累(Guo et al., 2018)。

菊芋(*Helianthus tuberosus*)为菊科(Compositae)向日葵属(*Helianthus*)多年生草本植物, 全株均可利用, 应用范围包括生态保护、能源化工、医药、畜牧和食品五大方面, 是我国重要的经济作物, 具有广阔的应用前景(Luo et al., 2016)。当前, 由于酸雨频发与耕作不当, 我国土壤酸化呈现持续加剧的趋势(李青容等, 2022)。酸性土壤中的 Al^{3+} 严重影响菊芋的产量与种植推广。目前使用的物理或化学修复法不仅成本高, 且存在二次污染的风险(Diarra et al., 2022), 因此寻找无害化缓解铝毒的方法成为当前备受关注的热点问题。

当土壤中存在 Al^{3+} 时, 植物根尖会分泌有机酸参

收稿日期: 2023-01-15; 接受日期: 2023-03-08

基金项目: 国家自然科学基金(No.32001224, No.41571049)和国家级大学生创新创业训练计划(No.202310345030)

* 通讯作者。E-mail: sky79@zjnu.cn

与外部斥铝机制(邓晓霞等, 2022), 主要包括柠檬酸(citric acid, CA)、草酸(ethanedioic acid, EA)和苹果酸(malic acid, MA)。有机酸不仅可以与 Al^{3+} 络合形成螯合物, 减轻金属毒害, 增强作物的抗逆性(孙琴等, 2002), 而且在细胞内可参与金属的运输、代谢及解毒(Raiz et al., 2018)。相比其它外源物质, 有机酸具有易吸收、易透膜、可生物降解及环境友好等特点, 常被用于缓解铝毒。钱莲文等(2018)发现铝胁迫下常绿植物根系分泌有机酸增多。郑开敏等(2022)也提出施加外源柠檬酸可增强豆瓣菜(*Nasturtium officinale*)的耐铝性, 但当前未见复合有机酸(compound organic acid, OA)缓解植物铝毒及其生理响应机制的报道。因此, 本研究选取耐铝品种徐州菊芋和铝敏感品种资阳菊芋作为材料, 设置不同浓度铝处理和复合有机酸, 研究两菊芋品种的光合特性、抗氧化酶系统及根系损伤情况, 进而探明外源复合有机酸对铝毒的缓解机制。研究结果对南方酸性土壤背景下各种特色经济植物的产业发展及作物推广具有理论意义和应用价值, 同时也为外施有机酸协同改良和修复酸性红壤提供了一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

实验于2020年3月至2021年9月在浙江师范大学生物园和植物逆境生物学实验室进行。前期本课题组选择徐州、资阳、金华、嘉兴、浦江、宜春、温州和贵阳8个不同地区的菊芋(*Helianthus tuberosus* Linn)进行多年研究。本研究参考曹林等(2015)和前期大量预实验, 筛选出耐铝品种徐州菊芋(*H. tuberosus* cv. 'Xuzhou', XZ)和铝敏感品种资阳菊芋(*H. tuberosus* cv. 'Ziyang', ZY)作为实验材料。

1.2 实验设计

选取相同培养条件下健康饱满的块茎作为实验材料, 用超纯水冲洗后切取大小一致的多芽眼部分埋入具孔塑料桶中培养, 培养基质由红土与中细粒石英砂(2:1, v/v)混合而成, 置于相对湿度为50%的光照培养箱内催芽, 设置2个时段, 即 31°C 、 $180\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照处理12小时和 22°C 暗处理12小时, 交替循环。10天后挑选长势相同、生长状况良好的幼苗移至塑料

盆钵(10 cm × 15 cm × 20 cm)中, 每盘留苗3株, 培养基质与催芽阶段一致。培养箱设置相同光照和湿度条件, 持续培养至三叶期进行铝胁迫和复合有机酸(OA)处理。于1/2Hongland完全营养液(张云等, 2021)中添加不同浓度 AlCl_3 溶液并混合施加于土壤, 每隔2天浇灌1次。将OA均匀喷洒在叶片正反面, 无OA处理组喷施等量蒸馏水, 每株喷施5 mL, 每隔2天喷施1次。

基于预实验结果, 本实验设置3个浓度铝处理: 0 (Al_0)、350 (Al_{350})和700 (Al_{700}) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 4个OA浓度: 0 (OA_0)、30 (OA_{30})、60 (OA_{60})和90 (OA_{90}) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 共计12个处理(表1)。每处理各设置3个平行对照组, 共36组。复合有机酸由MA、CA和EA按各自预实验最佳浓度(300、700和1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)混合组成(1:1:1, v/v/v), CA、MA和EA均为分析纯。 AlCl_3 溶液、1/2Hongland完全营养液、OA溶液的pH值均调为4.5。经检测营养液及土壤内部铝含量极低, 对实验无影响。分别在第7、14和21天测定抗氧化系统、气体交换参数及叶绿素荧光参数等指标, 第21天测定株高、根长、根尖铝含量及根系分泌物, 并测定Olive尾矩等DNA损伤指数。各指标均设3次组内重复。

1.3 实验方法

1.3.1 叶面积、主根相对伸长率及株高相对伸长率测定

用去离子水冲洗以去除菊芋表面砂土并用滤纸将表面水分吸干。用精度为0.1 cm的直尺测量幼苗的株高

表1 实验设计

Table 1 Experimental design in this study

Group	Aluminium concentration ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Compound organic acid (OA) concentration ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
1	0	0
2	0	30
3	0	60
4	0	90
5	350	0
6	350	30
7	350	60
8	350	90
9	700	0
10	700	30
11	700	60
12	700	90

与根长(根茎基部到顶部的绝对距离为株高; 主根的成熟区至根冠区长度为根长), 按照公式计算相对值, 利用Li-3000C叶面积仪测定叶面积(Yun et al., 2016)。

1.3.2 叶片气体交换参数及叶绿素荧光参数测定

选取待测菊芋的第3片叶, 利用Li-6400便携式光合作用测量系统测定叶片净光合速率(net photosynthetic rate, P_n)、细胞间 CO_2 浓度(intercellular CO_2 concentration, C_i)、气孔导度(stomatal conductance, G_s)和蒸腾速率(transpiration rate, T_r)。同时选取待测菊芋的第3片叶, 暗处理30分钟, 用PAM-210叶绿素荧光仪(Pattanayak and Pfulkrei, 2013)测定菊芋叶片的初始荧光(initial fluorescence, F_0)、最大荧光(maximal fluorescence, F_m)、PSII最大光化学量子产量(maximum photochemical quantum yield of PSII, F_v/F_m)、电子传递效率(electron transport rate, ETR)以及非光化学猝灭系数(non-photochemical quenching, q_N)。

1.3.3 膜脂损伤及抗氧化系统指标测定

选取长势相同的叶片0.1 g, 置于预冷的研钵中, 加1.6 mL磷酸缓冲液研磨成匀浆, 4°C 、10 000 $\times g$ 离心20分钟, 取上清作为待测酶液。按照李合生(2000)的方法, 用氯化硝基四氮唑蓝光还原法测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性, 用愈创木酚法测定过氧化物酶(peroxidase, POD)活性, 用紫外吸收法测定过氧化氢酶(catalase, CAT)活性。参照Tripathi等(2017)的方法测定抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)含量(532 nm)与谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量(412 nm)。

1.3.4 根尖铝含量、根系活力及根系分泌物含量测定

随机剪取菊芋根尖, 烘干, 称取0.5 g, 用12 mL硝酸-高氯酸(5:1, v/v)溶液消解后加入0.5 mL 98%硫酸并用纯水定容至50 mL。采用铬天青比色法(陈昌等, 2010)测定640 nm波长处OD值代表根尖铝含量。用2,3,5-三苯基氯化四氮唑还原法检测根系活力(Liu et al., 2018)。称取0.5 g菊芋根尖鲜样, 浸入10 mL 0.4% 2,3,5-三苯基氯化四氮唑溶液和0.067 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH7.8)混合液(1:1, v/v)中, 37°C 暗保温3小时, 加入1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 98%硫酸终止反应。参照郜红建

等(2003)的溶液收集法收集根系分泌物并纯化, 用 40°C 旋转蒸发仪浓缩后, 采用酶动力学分光光度法分别测定CA、MA和EA的含量。

1.3.5 根系DNA损伤检测

剪取长度约10 mm的菊芋根尖, 加入1.5%纤维素酶和0.5%果胶酶, 混合酶解2小时, 经过滤、50 $\times g$ 离心5分钟, 弃上清, 重复2-3次得原生质体。将原生质体置于碱性细胞裂解液(2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, 100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2EDTA , 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris, pH10)中裂解1.5小时, 将琼脂糖凝胶片置于100 V、102 mA下电泳40分钟。电泳结束之后, 取琼脂糖载玻片用Tris-HCl缓冲液(pH7.5)清洗, 吖啶橙与碘化丙啶(1:5, w/v)避光染色5分钟, 在Axio Scope A1荧光显微镜下(540 nm激发光, 200倍镜)观察。随机选择各样本10个发绿色荧光的细胞拍照并获取彗星图像(郭炜, 2008)。

1.4 数据处理与统计分析

利用SPSS 22.0软件整理数据, 所有数据取平均值 \pm 标准误。通过单因素方差分析法和Duncan法计算平均值、标准误并进行差异显著性分析。使用Origin 2021软件作图, 用CCD软件拍摄彗星图像。

2 结果与讨论

2.1 复合有机酸对铝胁迫下菊芋相对根长和株高的影响

在铝处理下, 低浓度铝(Al_{350})促进菊芋根系生长, 高浓度铝(Al_{700})明显抑制根系伸长与株高的增加, 且对资阳菊芋的毒害作用大于徐州菊芋, 外源施加OA可缓解铝毒害(图1)。 Al_{350} 处理下, 徐州菊芋和资阳菊芋根系相对伸长率比对照分别增加24.69%和8.69%, 株高相对伸长率无显著差异; Al_{700} 处理下, 两菊芋品种的根长与株高相对伸长率分别为对照的33.99%和17.97%。较单独Al处理组, Al+OA共处理组的徐州菊芋根系相对伸长率有一定程度的增加, 但资阳菊芋根系相对伸长率无显著变化。综上, 铝胁迫可显著抑制菊芋的生长, 其中资阳菊芋受抑制程度较高; OA能减轻不同浓度的铝毒害并以60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用效果最佳, 且低铝条件下OA对资阳菊芋的改善作用优于徐州菊芋。

2.2 复合有机酸对铝胁迫下菊芋光化学系统的影响

2.2.1 不同浓度复合有机酸对铝胁迫下菊芋叶片气体交换参数的影响

铝处理对两品种菊芋的 G_s 、 P_n 及 T_r 均有较强的抑制作用,而 C_i 不受影响,外源OA可减轻此伤害。两菊芋品种单独Al处理组的 G_s 、 P_n 与 T_r 变化趋势基本相同,铝处理后, G_s 随着胁迫浓度与胁迫时间的增加而下降,第21天 $Al_{700}OA_0$ 组徐州菊芋和资阳菊芋 G_s 较 Al_0OA_0 组分别下降86.25%和78.95% (图2A, E),徐州菊芋和资阳菊芋 T_r 分别减少32.50%和65.14% (图2B, F);第7天,徐州菊芋的 P_n 明显下降,第14天与21天数持平,资阳菊芋的 P_n 则随着处理时间的延长持续下降,最大降至67.74%。外施OA后,各处理均有一定程度的缓解,并以 OA_{90} 作用效果最佳,但总体上仍远低于未施加Al组。 $Al+OA$ 共处理组 T_r 随OA浓度的升高

而增加,处理第21天 $Al_{700}OA_{90}$ 组两品种 T_r 分别是 $Al_{700}OA_0$ 组的1.93倍和1.19倍;此时徐州菊芋和资阳菊芋 P_n 值有所回升,分别升高87.23%和119.78%,但仍低于对照组(图2C, G)。两菊芋品种的 C_i 与上述指标有所不同,施加Al对其不产生显著影响(图2D, H),推测Al并非通过限制 CO_2 来抑制光合作用。综上,铝胁迫通过抑制菊芋叶片气体交换造成光合速率减慢,进而影响菊芋的生长;施加OA则可通过增加蒸腾速率与气孔导度缓解铝对菊芋的抑制作用,且对徐州菊芋作用效果较好。

2.2.2 不同浓度复合有机酸对铝胁迫下菊芋叶绿素荧光特性的影响

叶绿素荧光特性可反映植物光合生理响应与逆境胁迫的关系(Rao et al., 2021)。在铝胁迫下,徐州菊芋

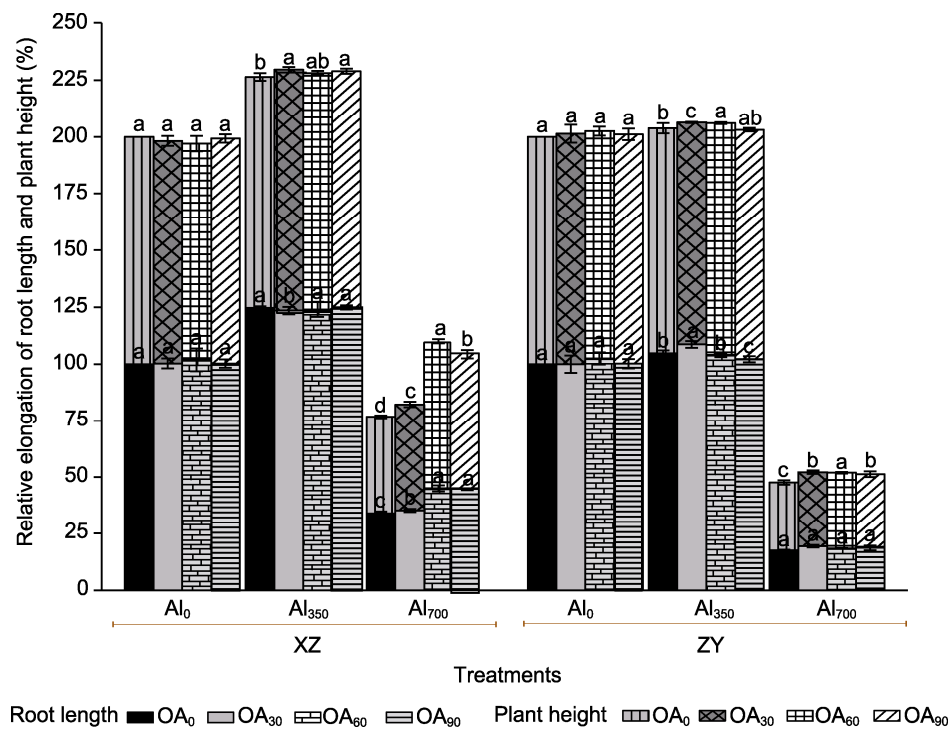


图1 外源复合有机酸(OA)对铝胁迫下菊芋根长与株高的影响

Al_0 、 Al_{350} 和 Al_{700} 表示铝浓度分别为0、350和700 $\mu mol \cdot L^{-1}$; OA_0 、 OA_{30} 、 OA_{60} 和 OA_{90} 表示复合有机酸浓度分别为0、30、60和90 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 。XZ: 徐州菊芋; ZY: 资阳菊芋。不同小写字母表示同一时期不同处理组间差异显著($P < 0.05$)。

Figure 1 The effect of exogenous compound organic acid (OA) on the root length and plant height of *Helianthus tuberosus* under aluminum (Al) stress

Al_0 , Al_{350} , and Al_{700} indicating concentrations of Al are 0, 350, and 700 $\mu mol \cdot L^{-1}$, respectively; OA_0 , OA_{30} , OA_{60} , and OA_{90} indicating concentrations of OA are 0, 30, 60, and 90 $\mu mol \cdot L^{-1}$, respectively. XZ: *H. tuberosus* cv. 'Xuzhou'; ZY: *H. tuberosus* cv. 'Ziyang'. Different lowercase letters indicate significant differences among treatment groups at the same period ($P < 0.05$).

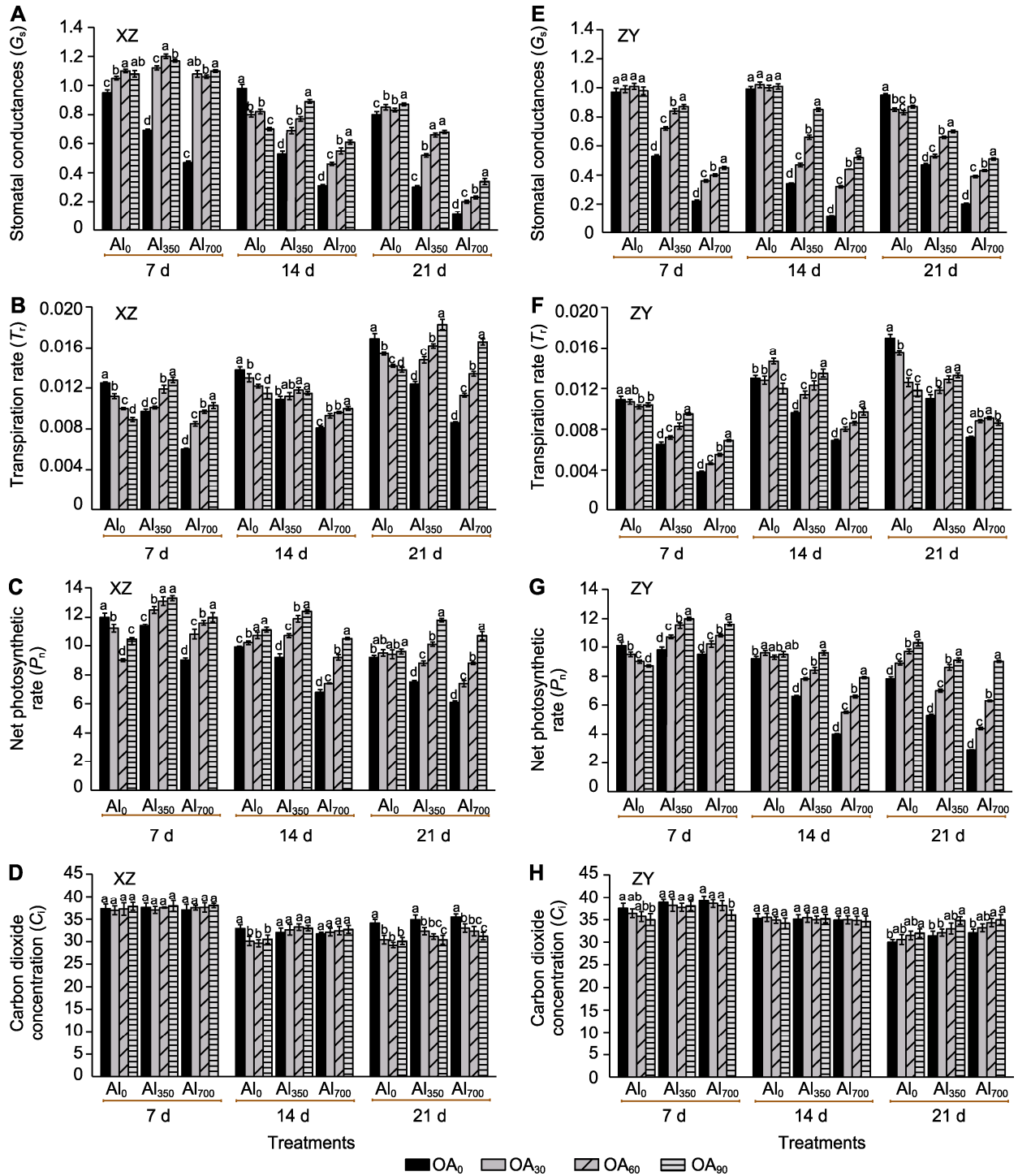


图2 外源复合有机酸(OA)对铝胁迫下菊芋叶片气孔导度(G_s)(A, E)、蒸腾速率(T_r)(B, F)、净光合速率(P_n)(C, G)和细胞间 CO_2 浓度(C_i)(D, H)的影响

Al_0 、 Al_{350} 、 Al_{700} 、 OA_0 、 OA_{30} 、 OA_{60} 和 OA_{90} 同图1。XZ和ZY同图1。不同小写字母表示同一时期不同处理组间差异显著($P < 0.05$)。

Figure 2 The effect of exogenous compound organic acid (OA) on the stomatal conductance (G_s)(A, E), transpiration rate (T_r)(B, F), net photosynthetic rate (P_n)(C, G), and intercellular CO_2 concentration (C_i)(D, H) of *Helianthus tuberosus* leaves under aluminum (Al) stress

Al_0 , Al_{350} , Al_{700} , OA_0 , OA_{30} , OA_{60} , and OA_{90} are the same as shown in Figure 1. XZ and ZY are the same as shown in Figure 1. Different lowercase letters indicate significant differences among different treatment groups at the same period ($P < 0.05$).

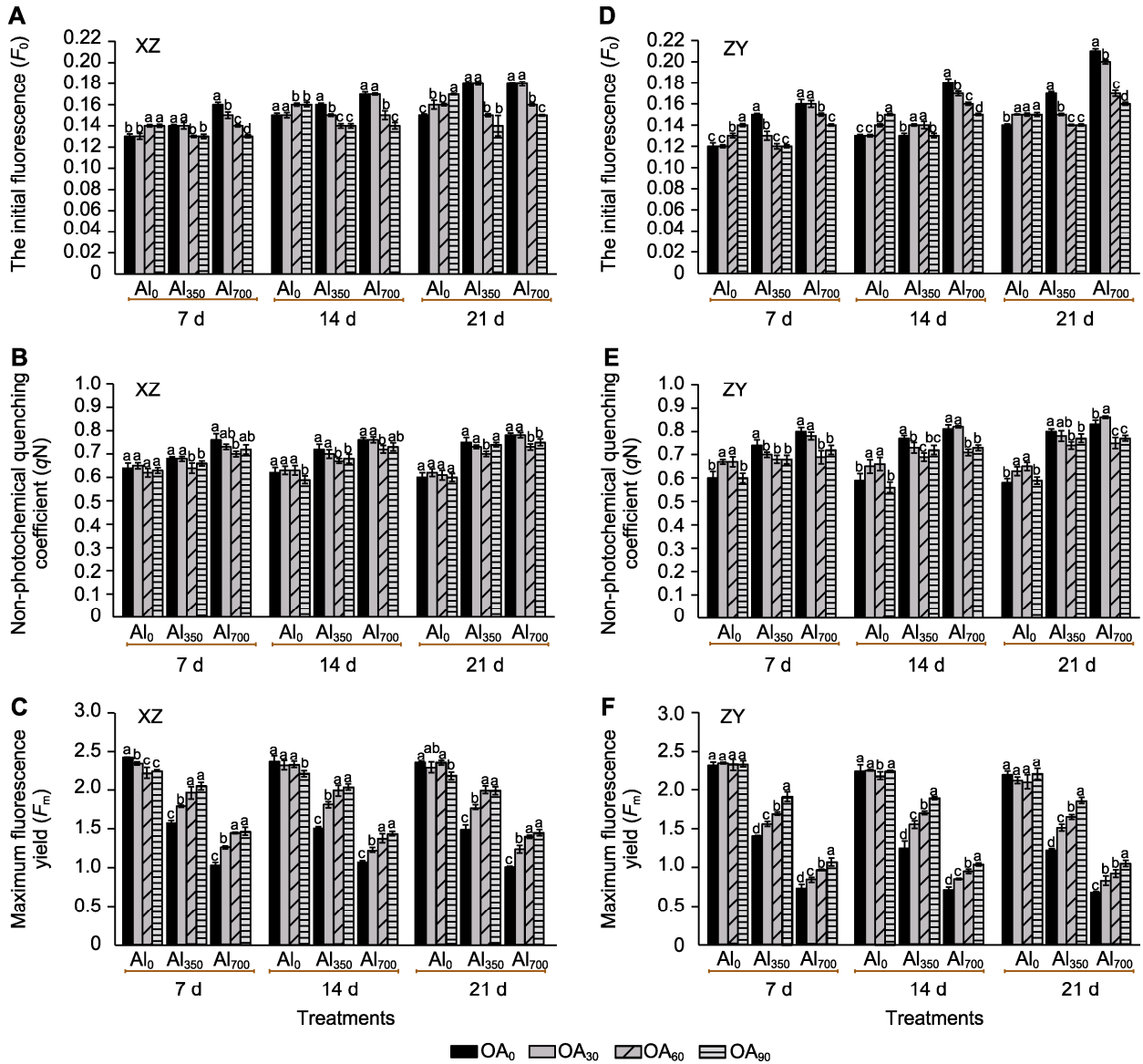


图3 外源复合有机酸(OA)对铝胁迫下菊芋叶片初始荧光(F_0) (A, D)、非光化学猝灭系数(qN) (B, E)和最大荧光(F_m) (C, F)的影响。Al₀、Al₃₅₀、Al₇₀₀、OA₀、OA₃₀、OA₆₀和OA₉₀同图1。XZ和ZY同图1。不同小写字母表示同一时期不同处理组间差异显著($P<0.05$)。

Figure 3 The effect of exogenous compound organic acid (OA) on the initial fluorescence (F_0) (A, D), non-photochemical quenching (qN) (B, E) and maximal fluorescence (F_m) (C, F) of *Helianthus tuberosus* leaves under aluminum (Al) stress. Al₀, Al₃₅₀, Al₇₀₀, OA₀, OA₃₀, OA₆₀, and OA₉₀ are the same as shown in Figure 1. XZ and ZY are the same as shown in Figure 1. Different lowercase letters indicate significant differences among different treatment groups at the same period ($P<0.05$).

和资阳菊芋的 F_0 和 qN 显著升高($P<0.05$), 而 F_m 逐渐下降。铝单独处理下, 徐州菊芋和资阳菊芋Al₇₀₀处理 F_0 最大涨幅分别可达20.00%和50.00%, 施加OA后较铝单独处理组 F_0 的最大降幅分别为17.65%和20.00%, 其中徐州菊芋在Al₃₅₀与Al₇₀₀下, 施加OA与否, 各组第14和21天数数值均相近(图3A, D)。Al处理下 qN 与 F_0 变化趋势相似, 但 qN 变化与胁迫时间无关,

仅施加OA, 徐州菊芋与资阳菊芋 qN 的响应存在差异(图3B, E), 单施OA对徐州菊芋无影响, 而30和60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ OA可促进资阳菊芋 qN 上升。徐州菊芋在高浓度铝处理下 F_m 最大降幅为57.26%, 资阳菊芋为69.27%, 而OA的缓解作用在两品种中也有所不同(图3C, F), 徐州菊芋Al₇₀₀OA₆₀组较Al₇₀₀OA₀组 F_m 升高39.00%, 资阳菊芋为12.50%; 当OA浓度为90

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 徐州菊芋 F_m 升高 44.00% 而资阳菊芋为 55.22%。由此可见, 铝胁迫导致菊芋非光化学猝灭加剧, 进而降低光化学转化效率, 且抑制作用随胁迫浓度的增加与作用时间的延长而加强, 适宜浓度 OA ($30\text{--}60\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 则能减轻这种抑制作用。

随着铝浓度与胁迫时间的增加, ETR 与 F_v/F_m 均呈下降趋势, 施加外源 OA 在一定程度上可减轻铝毒害(图4)。胁迫后期, Al_{350} 和 Al_{700} 单独处理下徐州菊芋 ETR 分别下降 47.31% 和 53.51%, 资阳菊芋为 76.95% 和 76.26%; F_v/F_m 最大降幅为 45.45% 和 58.44%。单独 OA 处理时, 两品种菊芋的 ETR 无明显变化, 但对 F_v/F_m 具有一定的促进作用。AI+OA 共处理下, 低铝处

理两品种的 ETR 与 F_v/F_m 有一定程度的恢复且徐州菊芋缓解效果更佳。由此表明, 低浓度铝胁迫即强烈抑制菊芋的电子传递与光化学效率, 且资阳菊芋受损程度高于徐州菊芋; OA 可减弱铝毒害, 但对于长时间处于高铝环境下的菊芋难以恢复。

2.3 复合有机酸对铝胁迫下菊芋膜脂损伤及抗氧化系统的影响

2.3.1 不同浓度复合有机酸对铝胁迫下菊芋抗氧化酶活性的影响

植物抗氧化系统可清除 ROS, 维持氧化还原平衡(许馨露等, 2018)。植物细胞内的 SOD 是 ROS 清除系统

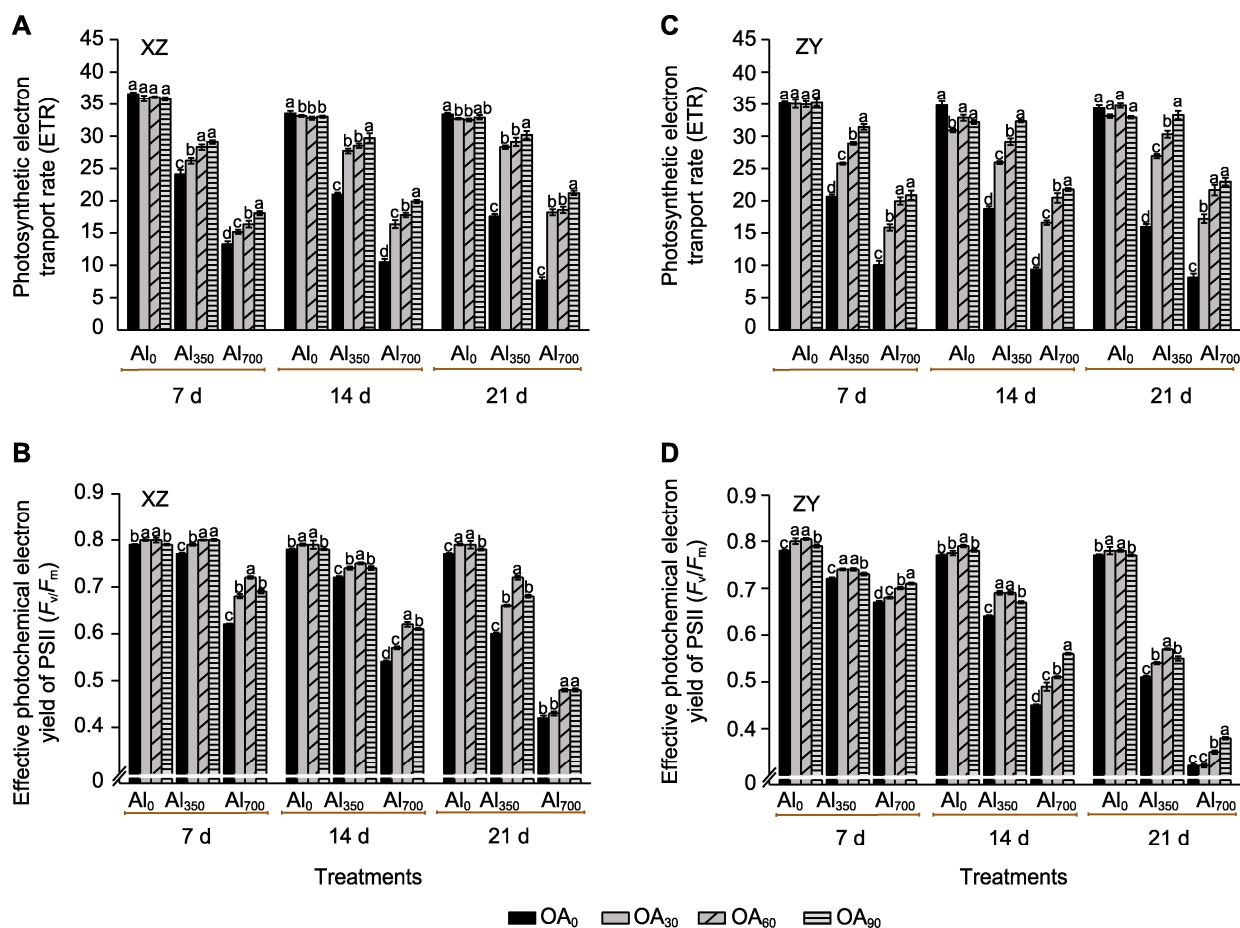


图4 外源复合有机酸(OA)对铝胁迫下菊芋叶片电子传递效率(ETR) (A, C)和PSII最大光化学量子产量(F_v/F_m) (B, D)的影响 Al_0 、 Al_{350} 、 Al_{700} 、 OA_0 、 OA_{30} 、 OA_{60} 和 OA_{90} 同图1。XZ和ZY同图1。不同小写字母表示同一时期不同处理组间差异显著($P<0.05$)。

Figure 4 The effect of exogenous compound organic acid (OA) on the electron transport rate (ETR) (A, C) and maximum photochemical quantum yield of PSII (F_v/F_m) (B, D) of *Helianthus tuberosus* leaves under aluminum (Al) stress Al_0 , Al_{350} , Al_{700} , OA_0 , OA_{30} , OA_{60} , and OA_{90} are the same as shown in Figure 1. XZ and ZY are the same as shown in Figure 1. Different lowercase letters indicate significant differences among different treatment groups at the same period ($P<0.05$).

中第1个发挥作用的酶,可催化 $O_2^{\cdot-}$ 歧化为相对稳定的 H_2O_2 和 O_2 ,随后被POD和CAT降至正常水平或转化为水。一定浓度的铝可激活菊芋的抗氧化防御系统(Guo et al., 2020)。与对照(Al_0OA_0)相比,低浓度铝处理可增强菊芋SOD酶活性,徐州菊芋和资阳菊芋分别增高21.75%和18.75%;但在高浓度铝处理下两者的SOD酶活性显著下降($P<0.05$),降幅达28.55%和23.20%。 $Al+OA$ 共处理时,SOD酶活性与OA浓度呈正相关,第21天徐州菊芋和资阳菊芋的 $Al_{350}OA_{90}$ 组较 $Al_{350}OA_0$ 组SOD酶活性分别增高19.04%和40.47%; $Al_{700}OA_{90}$ 组较 $Al_{700}OA_0$ 组分别高42.96%和48.51%(图5A, D)。两品种菊芋POD酶和CAT酶活性均随铝浓度的增加而下降,外源施加OA后则有所上升(图5B, E),第21天徐州菊芋和资阳菊芋CAT酶活性分别较 $Al_{700}OA_0$ 组升高31.43%和54.17%(图5C, F)。

综上,徐州菊芋的活性氧自由基清除能力强,抗铝能力佳,外源OA通过调控菊芋抗氧化酶活性来减轻铝毒害且在第21天的缓解作用最大,并对资阳菊芋作用效果更好。此外,单独施加OA对SOD酶、POD酶和CAT酶活性均无显著影响。

2.3.2 不同浓度复合有机酸对铝胁迫下菊芋抗坏血酸与谷胱甘肽含量的影响

AsA是植物体内重要的非酶抗氧化剂,GSH是植物细胞内最主要的还原性物质,植物通过AsA-GSH循环途径清除体内多余的ROS。铝胁迫下两品种菊芋的AsA含量随处理时间的延长先增后降;施加OA后 Al_{350} 与 Al_{700} 处理下徐州菊芋的AsA略有上升,第21天,徐州菊芋 $Al_{350}OA_{60}$ 组较 $Al_{350}OA_0$ 组AsA含量升高34.48%,资阳菊芋 $Al_{350}OA_{60}$ 组则降低27.85%(图6A, C)。 Al_{350} 处理下徐州菊芋GSH含量始终保持较高水平,资阳菊芋则7天后骤降且保持在较低水平, Al_{700} 处理下两品种菊芋GSH含量均随着胁迫时间的延长逐渐下降。 $Al+OA$ 共处理下,第21天徐州菊芋 $Al_{350}OA_{60}$ 组与 $Al_{700}OA_{60}$ 组GSH含量较对照分别升高12.14%和12.72%,资阳菊芋GSH无明显差异(图6B, D),表明不同品种菊芋抗铝毒能力不同。由此可见,在不同浓度铝胁迫与作用时长下,两品种菊芋AsA与GSH含量的变化差异显著。此外,低浓度铝胁迫时,施加OA可调节AsA-GSH循环途径以减轻毒害,但高浓度铝胁迫短时间内即可严重破坏菊芋的正常生命

活动且难以通过施加OA进行缓解。

2.4 复合有机酸对铝胁迫下菊芋根尖铝含量及根系分泌物的影响

2.4.1 不同浓度复合有机酸对铝胁迫下菊芋根尖铝含量与根系活力的影响

植物根系是最先接受铝胁迫信号的部位,当外界铝浓度增高时,植物根尖铝含量会迅速上升,而根系活力则反映植物耐铝能力(张婷婷等, 2020)。在高浓度铝处理下,徐州菊芋和资阳菊芋根尖铝含量分别是对照的27.98倍和27.57倍; $Al+OA$ 共处理下,徐州菊芋和资阳菊芋根尖的铝含量最大降幅分别为26.74%和28.66%。铝胁迫强烈抑制菊芋的根系活力且随着胁迫程度的加深根系活力下降,700 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 铝处理下徐州菊芋和资阳菊芋根系活力分别下降15.75%和27.16%,施加OA后根系活力有所回升,徐州菊芋最高涨幅为18.03%,资阳菊芋为36.63%(图7)。综上,铝胁迫下,菊芋根尖铝含量迅速上升,同时铝胁迫会降低根系活力,其中资阳菊芋更易受铝毒害,OA的缓解作用也更有效。

2.4.2 不同浓度复合有机酸对铝胁迫下菊芋根系分泌物的影响

Al_{350} 与 Al_{700} 处理组两品种菊芋根系分泌物变化水平相似。700 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 铝胁迫下,第21天徐州菊芋根系CA和EA的含量分别为对照的1.98倍和1.53倍,资阳菊芋则为1.59倍和1.21倍。施加OA后,徐州菊芋 $Al_{700}OA_{60}$ 组CA和EA的含量比 $Al_{700}OA_0$ 组分别升高200.00%和166.22%,资阳菊芋仅升高72.50%和35.14%。此外,菊芋根系分泌的有机酸含量在60与90 $\mu mol \cdot L^{-1}$ OA作用下无显著差异,MA含量不受OA的影响(图8)。上述结果表明,铝胁迫促进菊芋根尖有机酸分泌,徐州菊芋CA和EA的含量显著增加,资阳菊芋以分泌CA为主,两品种菊芋的MA含量均无显著变化;外施OA可增加铝胁迫下根系有机酸的分泌量,其中700 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 铝与60 $\mu mol \cdot L^{-1}$ OA共同作用下有机酸分泌量最高,且各处理徐州菊芋有机酸分泌量均大于资阳菊芋,说明徐州菊芋有较强的抗铝毒能力。

2.5 复合有机酸对铝胁迫下菊芋根系DNA损伤的影响

铝胁迫会影响DNA双螺旋结构,当细胞核双链DNA

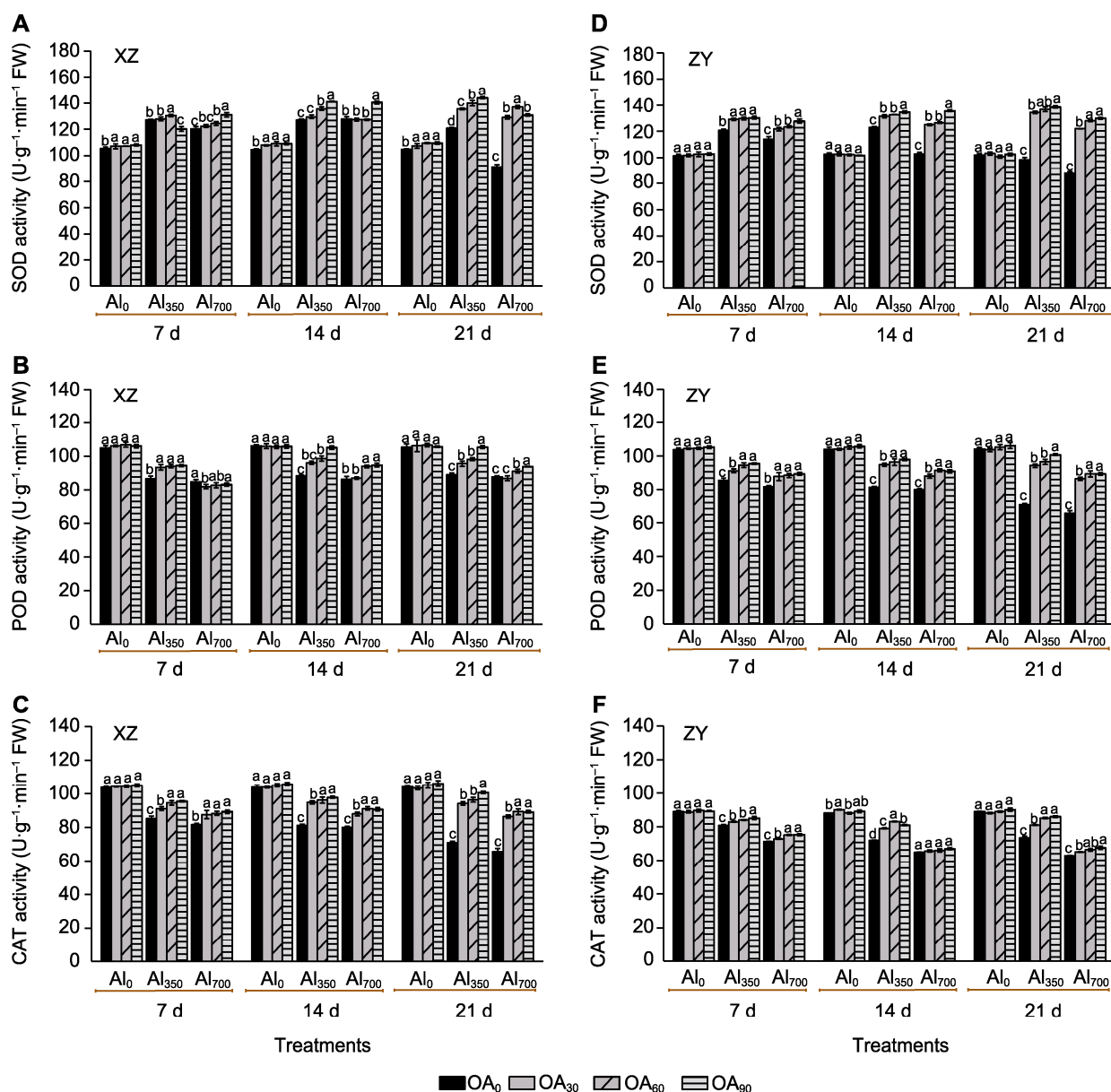


图5 外源复合有机酸(OA)对铝胁迫下菊芋叶片超氧化物歧化酶(SOD) (A, D)、过氧化物酶(POD) (B, E)和过氧化氢酶(CAT) (C, F)活性的影响

Al₀、Al₃₅₀、Al₇₀₀、OA₀、OA₃₀、OA₆₀和OA₉₀同图1。XZ和ZY同图1。不同小写字母表示同一时期不同处理组间差异显著($P < 0.05$)。

Figure 5 The effect of exogenous compound organic acid (OA) on the superoxide dismutase (SOD) (A, D), peroxidase (POD) (B, E) and catalase (CAT) (C, F) activities of *Helianthus tuberosus* leaves under aluminum (Al) stress

Al₀, Al₃₅₀, Al₇₀₀, OA₀, OA₃₀, OA₆₀, and OA₉₀ are the same as shown in Figure 1. XZ and ZY are the same as shown in Figure 1. Different lowercase letters indicate significant differences among different treatment groups at the same period ($P < 0.05$).

受到损伤时,电泳时受损的DNA会偏离核并向正极迁移,从而形成彗星拖尾图像(Jaskulak et al., 2019)。Olive尾矩(oliver tail moment, OTM),即彗星尾部DNA长度与其尾部DNA百分含量的乘积是评判和衡量DNA损伤程度的常用指标(郭炜, 2008)。本研

究表明,OTM值随着铝浓度的增大而明显升高,Al₇₀₀OA₀组徐州菊芋与资阳菊芋的OTM值较Al₃₅₀OA₀组分别升高2.12倍和0.77倍;施加OA可降低菊芋的OTM值,60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ OA处理组OTM值降幅最大,徐州菊芋和资阳菊芋较Al₇₀₀OA₀组分别降低51.83%和

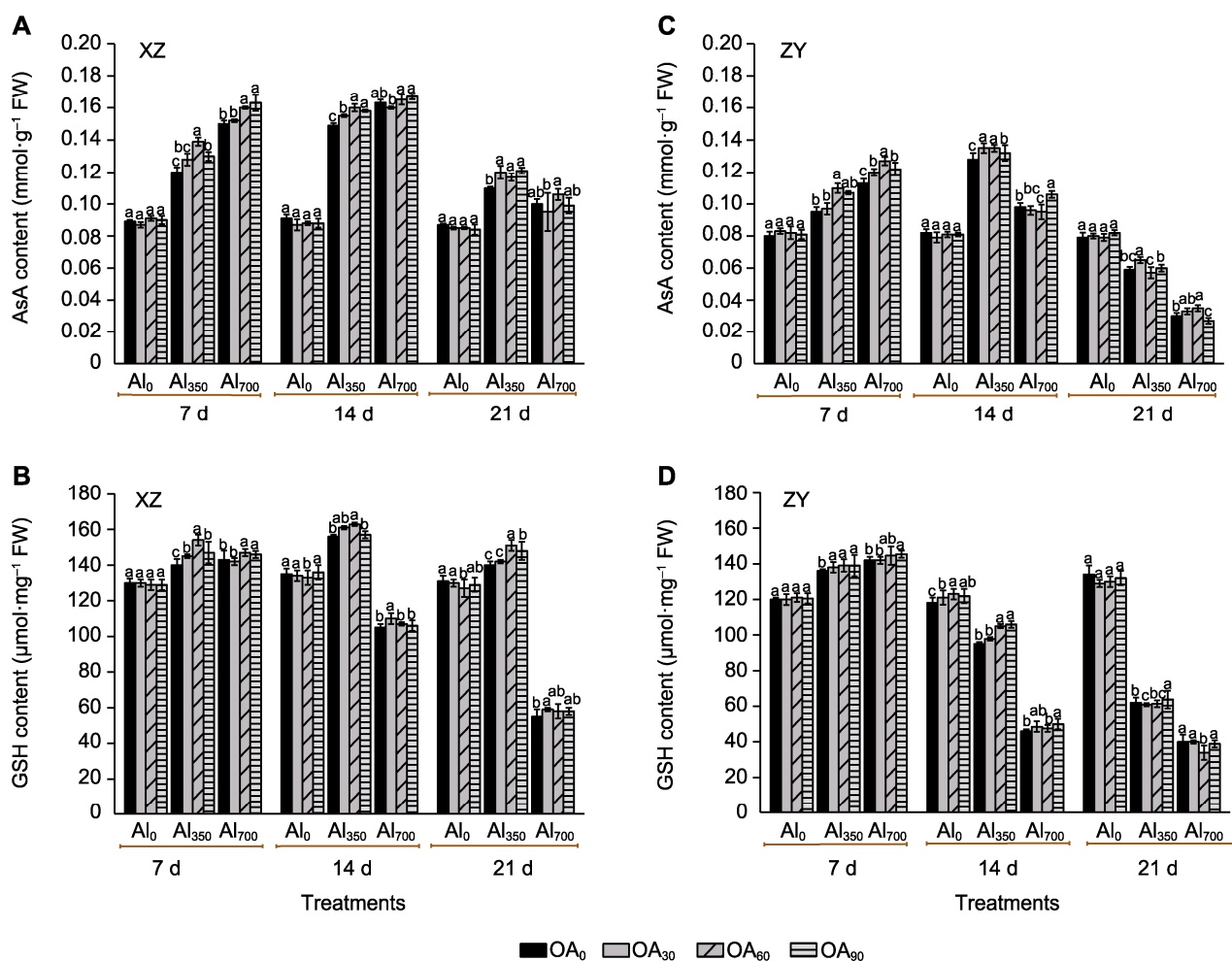


图6 外源复合有机酸(OA)对铝胁迫下菊芋叶片抗坏血酸(AsA) (A, C)和谷胱甘肽(GSH) (B, D)含量的影响。Al₀、Al₃₅₀、Al₇₀₀、OA₀、OA₃₀、OA₆₀和OA₉₀同图1。XZ和ZY同图1。不同小写字母表示同一时期不同处理组间差异显著($P < 0.05$)。

Figure 6 The effect of exogenous compound organic acid (OA) on the ascorbic acid (AsA) (A, C) and glutathione (GSH) (B, D) contents of *Helianthus tuberosus* leaves under aluminum (Al) stress. Al₀, Al₃₅₀, Al₇₀₀, OA₀, OA₃₀, OA₆₀, and OA₉₀ are the same as shown in Figure 1. XZ and ZY are the same as shown in Figure 1. Different lowercase letters indicate significant differences among different treatment groups at the same period ($P < 0.05$).

35.10% (图9)。荧光显微图像显示, 未受损的对照根细胞DNA呈圆形荧光核心, 即DNA几乎无损伤(图10)。低浓度铝胁迫下两品种菊芋均产生彗星状拖尾, 高浓度铝胁迫下拖尾变长, 受损加剧, 其中Al₇₀₀OA₀组细胞核DNA损伤最严重。施加OA后, 不同浓度铝胁迫下徐州菊芋与资阳菊芋拖尾均逐渐缩短, DNA损伤有所缓解。综上, 铝胁迫严重损伤菊芋根系DNA, 并随着铝浓度的增高损伤加剧, 徐州菊芋和资阳菊芋在700 μmol·L⁻¹铝胁迫下均出现严重的DNA损伤; 施加OA后, 两品种菊芋的OTM值与彗星拖尾现象均有所改善, 以60 μmol·L⁻¹ OA作用效果最佳。

2.6 讨论

酸性土壤中的水溶性铝是菊芋生长最主要的限制因子(Wu et al., 2018)。当Al³⁺被动进入植物体后, 一方面积累在细胞壁或质膜上产生大量ROS, 进而造成氧化胁迫; 另一方面还破坏植物根部, 从而导致植株萎蔫矮小、叶片黄化卷曲等, 影响生长和产量(Singh et al., 2017)。OA为一类具有螯合性的低分子有机酸, 在金属富集环境下会大量分泌积累, 并优先响应, 对植物正常生理过程产生重要影响(Raiz et al., 2018; 邓晓霞等, 2022)。本研究表明, 外源施加复合有机酸可改善菊芋光合性能, 促进根尖分泌有机酸, 减轻

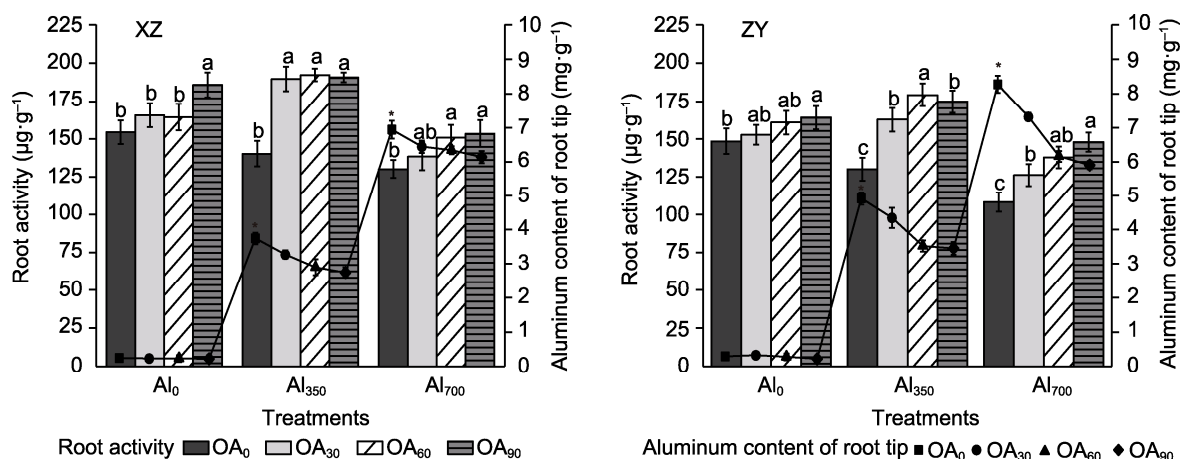


图7 外源复合有机酸(OA)对铝胁迫下菊芋根尖铝含量与根系活力的影响

Al₀、Al₃₅₀、Al₇₀₀、OA₀、OA₃₀、OA₆₀和OA₉₀同图1。XZ和ZY同图1。不同小写字母和*表示同一时期不同处理组间差异显著($P<0.05$)。

Figure 7 Effect of exogenous compound organic acid (OA) on the aluminum (Al) content of root tip and root activity of *Helianthus tuberosus* under aluminum stress

Al₀, Al₃₅₀, Al₇₀₀, OA₀, OA₃₀, OA₆₀, and OA₉₀ are the same as shown in Figure 1. XZ and ZY are the same as shown in Figure 1. Different lowercase letters and * indicate significant differences among different treatment groups at the same period ($P<0.05$).

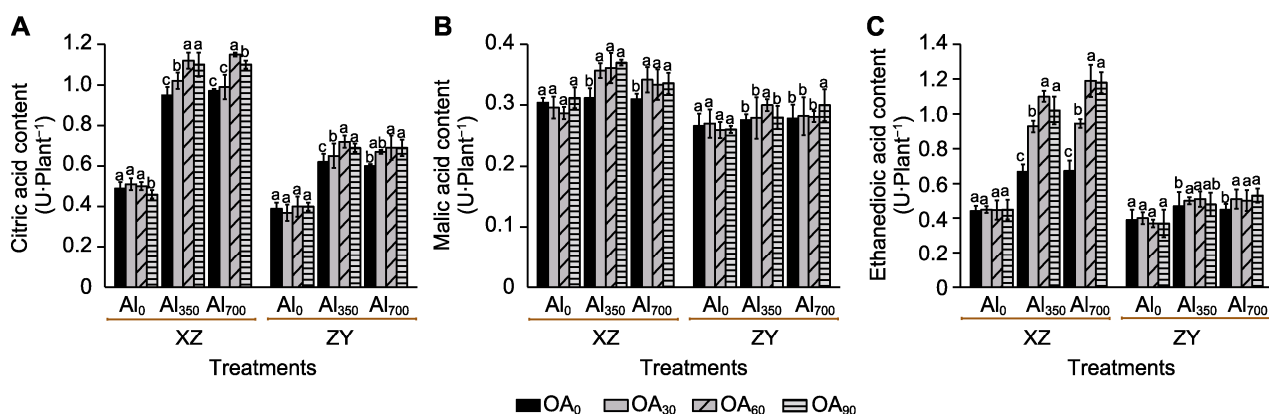


图8 外源复合有机酸(OA)对铝胁迫下菊芋根系分泌物柠檬酸(CA) (A)、苹果酸(MA) (B)和草酸(EA) (C)含量的影响

Al₀、Al₃₅₀、Al₇₀₀、OA₀、OA₃₀、OA₆₀和OA₉₀同图1。XZ和ZY同图1。不同小写字母表示同一时期不同处理组间差异显著($P<0.05$)。

Figure 8 The effect of exogenous compound organic acid (OA) on the content of citric acid (CA) (A), malic acid (MA) (B) and ethanedioic acid (EA) (C) in root exudates of *Helianthus tuberosus* under aluminum (Al) stress

Al₀, Al₃₅₀, Al₇₀₀, OA₀, OA₃₀, OA₆₀, and OA₉₀ are the same as shown in Figure 1. XZ and ZY are the same as shown in Figure 1. Different lowercase letters indicate significant differences among different treatment groups at the same period ($P<0.05$).

DNA损伤,降低铝胁迫下菊芋生长受抑制程度,进而提高菊芋对逆境的抗性。

2.6.1 复合有机酸通过影响叶片光化学系统缓解铝胁迫对菊芋生长的抑制

植物的表观形态和光合作用是衡量其生长状况以及环境条件是否适宜的关键指征(张云等, 2021)。郭书亚等(2022)发现1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ AlCl_3 处理下番茄

(*Lycopersicon esculentum*)根长和地下生物量显著降低。本研究中高浓度铝胁迫使菊芋株高和根长降低,暗示铝从根尖进入后一部分被运输至叶片,损伤叶绿体,阻碍光合作用,导致植株生长受阻,留在根尖的铝则破坏根尖细胞导致根伸长受限。在低浓度铝处理下,徐州菊芋和资阳菊芋根系相对伸长率明显升高,原因在于植物具有毒物兴奋效应(王亚等, 2019),即当环境中存在轻微毒害时植物产生刺激效应,增加植

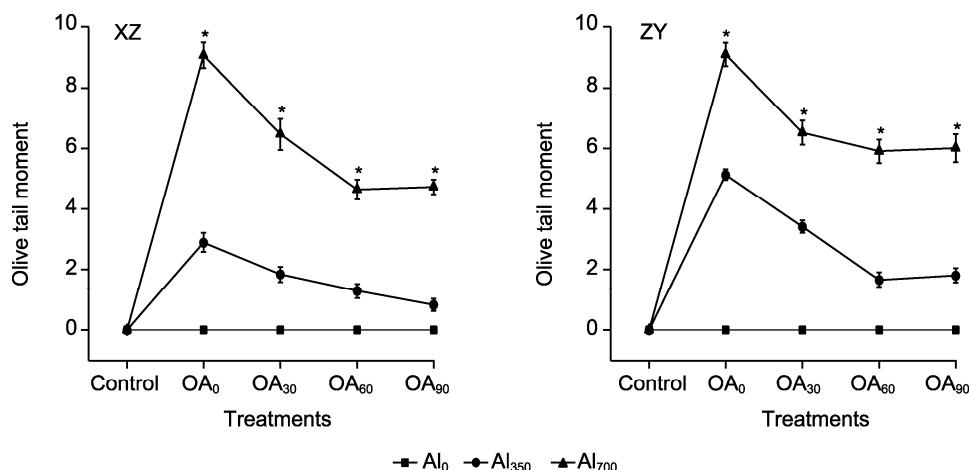


图9 外源复合有机酸(OA)对铝胁迫下菊芋根细胞Olive尾矩(OTM)的影响

Al₀、Al₃₅₀、Al₇₀₀、OA₀、OA₃₀、OA₆₀和OA₉₀同图1。XZ和ZY同图1。*表示同一时期不同处理组间差异显著(P<0.05)。

Figure 9 The effect of exogenous compound organic acid (OA) on olive tail moment (OTM) of root cells of *Helianthus tuberosus* under aluminum (Al) stress

Al₀, Al₃₅₀, Al₇₀₀, OA₀, OA₃₀, OA₆₀, and OA₉₀ are the same as shown in Figure 1. XZ and ZY are the same as shown in Figure 1. * indicate significant differences among different treatment groups at the same period (P<0.05).

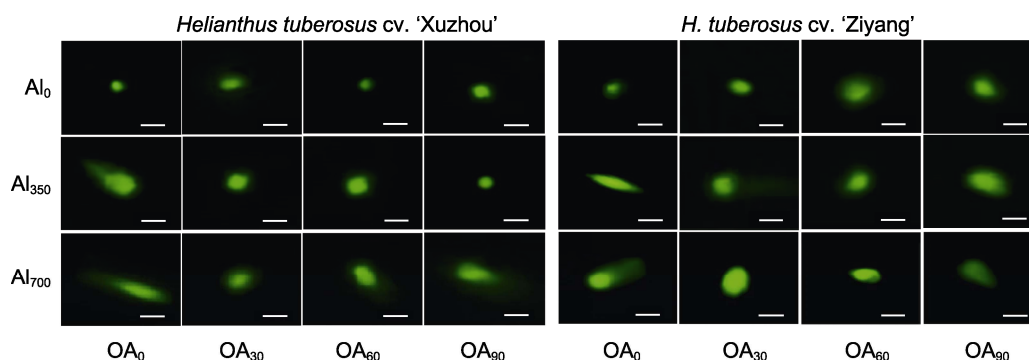


图10 不同浓度复合有机酸(OA)及铝处理下菊芋根系DNA损伤

Al₀、Al₃₅₀、Al₇₀₀、OA₀、OA₃₀、OA₆₀和OA₉₀同图1。Bars=20 μm

Figure 10 DNA damage of *Helianthus tuberosus* root under different concentration of compound organic acid (OA) and aluminum (Al) treatments

Al₀, Al₃₅₀, Al₇₀₀, OA₀, OA₃₀, OA₆₀, and OA₉₀ are the same as shown in Figure 1. Bars=20 μm

物对环境其它离子的吸收,进而促进生长。

气体交换参数与叶绿素荧光参数作为判定光合作用强弱的依据(王浩等, 2022),外界环境的改变导致这些参数明显波动。程晓晴等(2020)发现铝胁迫下,随着胁迫程度的加剧,苜蓿(*Medicago sativa*) P_n 、 T_r 和 G_s 显著下降,而 C_i 则升高。本研究表明,随着铝浓度的升高,两品种菊芋的 G_s 、 T_r 及 P_n 均明显下降,此外徐州菊芋的 P_n 在各处理下均高于资阳菊芋。但与程晓晴等(2020)研究结果不一致的是,两品种菊芋的 C_i

并未产生与其它气体交换参数明显相同的变化趋势。通过对比分析可知,在同种金属胁迫下,不同植物的气体交换参数变化并不一致(周谷等, 2023)。我们认为铝对光合作用的抑制具有不同途径,且在不同植物中的作用方式与过程不同,当铝作用于菊芋时会使 G_s 与 T_r 降低,导致水的光解进程受阻,光合作用速率下降,进而造成光合作用供需失衡, P_n 的下降也与此相呼应,说明铝通过抑制气孔开放使光合速率减慢。而两品种菊芋 C_i 均不变则说明铝对菊芋光合作用的

抑制并非通过影响卡尔文循环途径, 推测植物在逆境中具有独特的适应性, 或可通过调控叶肉细胞内光合碳同化途径及相关酶活性(胡文海等, 2017), 使得铝毒下菊芋胞间 CO_2 仍维持在恒定状态。周蜜等(2019)研究表明, 镉胁迫导致菊芋 F_v/F_m 减小, F_0 和 qN 增大, ETR先升后降。本实验中, 铝处理下 F_m 及 F_v/F_m 降低, F_0 和 qN 升高, 但ETR持续下降, 推测不同金属胁迫对菊芋电子传递效率的作用模式不同, 进而产生不同的变化。

钱莲文等(2018)研究表明, 根系有机酸可有效减轻铝胁迫对常绿杨(*Populus canadensis*)叶绿素荧光参数的影响。本研究中, 施加OA后两品种菊芋的根长和株高显著增加, 气体交换参数 G_s 、 P_n 和 T_r 均有一定程度的上升, 叶绿素荧光参数 F_0 和 qN 显著下降, F_v/F_m 和ETR则升高, 且上述指标在施加 $60 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ OA时达到最佳恢复效果, 其中OA对资阳菊芋的作用效果远不及徐州菊芋。 F_v/F_m 降低代表植物受到光抑制, 初始荧光 F_0 的升高则反映PSII失活或被破坏(胡文海等, 2021)。因此, 铝胁迫下菊芋的光合机构受到不同程度的损害, 潜在的光合能力和光化学活性受阻(Zhou et al., 2022)。而OA可提高菊芋PSII最大光化学量子产量, 使光能利用率回升, 电子传递能力增强, Al^{3+} 造成的光能过剩有所缓解, 进而减轻叶片光合作用受抑制和光合器官受损伤程度, 进一步提升卡尔文循环对还原力(ATP和NADPH)的需求(Hartmann et al., 2021), 使电子传递效率提高, 光能转换为电子能量的阻力下降, 最终减轻对PSII的损害, 这与OA处理后净光合速率上升相吻合。

综上, 不同品种菊芋耐铝性存在差异, 徐州菊芋耐铝性更强。OA对铝胁迫的缓解作用随生长周期而逐渐增强, 而适宜浓度($60\text{--}90 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) OA有利于改善菊芋栽培环境, 削弱铝对光系统的破坏, 以增强光合反应中心活性, 进而缓解对光合作用的抑制, 提高菊芋的耐铝性。

2.6.2 复合有机酸增强抗氧化酶活性并加速AsA-GSH循环以减轻铝毒害

植物在逆境下生成大量自由基, 诱发细胞膜过氧化, 同时植物调节抗氧化酶活性及AsA-GSH循环快速响应以应对伤害(刘晓龙等, 2022)。本研究中两品种菊芋在低浓度铝处理下SOD、POD及CAT的活性

均有所增强且保持在较高水平, AsA和GSH含量升高, 活性氧清除能力增强, 高浓度铝处理下抗氧化酶活性大幅下降, 这与Pimenta等(2020)研究结果一致。施加OA后, 低浓度铝处理组抗氧化酶活性、AsA和GSH含量均增高, 其中徐州菊芋以 $60 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ OA、资阳菊芋以 $90 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ OA处理效果最佳, 高浓度铝处理组由于伤害过大致使以上各指标虽有回升但仍低于对照, 这与对油菜(*Brassica rapus*)幼苗叶片的研究结果类似(熊洁等, 2020)。外源OA主要通过增强SOD与POD活性、同时增高AsA和GSH含量使得ROS得以及时清除, 进而维持细胞膜结构稳定, 且中等浓度($60 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) OA的作用效果最突出。

综上, 菊芋抗氧化系统对不同浓度铝胁迫的响应有所不同。低浓度铝处理下, 菊芋通过提高抗氧化酶活性, 介导AsA-GSH循环, 进而清除活性氧自由基。高浓度铝环境下, 由于铝引起严重的膜脂过氧化, 植物体内大量自由基不能及时清除, 造成代谢异常, 从而导致植物无法正常调动抗氧化酶及AsA-GSH循环清除ROS, 最终使细胞受到损伤。此外, 本研究表明OA在缓解铝胁迫对菊芋幼苗的损伤方面卓有成效, 菊芋利用SOD促进超氧自由基的歧化反应, 减轻脂膜过氧化程度以避免细胞受破坏, 使其能更好地适应铝环境, 因此具有很好的解毒作用。

2.6.3 复合有机酸调节菊芋根尖斥铝系统并增加有机酸分泌以减轻DNA损伤, 进而缓解铝毒对根系活力的抑制

铝毒破坏细胞结构, 显著抑制根系活力(Igamberdiev and Bykova, 2018), 同时对根系DNA造成损伤(伍自力等, 2015)。1996年, Koppen首次将彗星实验技术运用于植物中, 并检测到镉能够引起蚕豆(*Vicia faba*)根尖DNA双链断裂(Koppen and Verschaeve, 1996)。魏志琴等(2013)与Dos Reis等(2018)也证实铝对植物根系DNA产生严重损害。本研究中, 在低浓度铝处理下根尖铝含量有所增加, 随着胁迫程度加剧与周期延长, 根尖铝含量激增, 根系活力急剧下降, 彗星电泳结果显示铝毒严重损伤细胞DNA双链, 两品种菊芋DNA拖尾程度升高, 彗星拖尾现象明显, 表明受损加剧。而当植物受到铝毒害时, 根尖会分泌CA、MA和EA以利用外部螯合机制降低铝的毒害作用(Chen and Liao, 2016)。本研究对铝胁迫下菊芋根尖

有机酸分泌物的检测结果表明, 铝胁迫时菊芋CA与EA的分泌增加; 此外, 不同品种有机酸分泌种类存在差异, 徐州菊芋CA与EA的分泌量显著增高, 资阳菊芋CA分泌量大幅升高但EA无明显变化, 二者MA的分泌量未增加。由此表明, 在胁迫前期, 一方面菊芋通过较强的自我调节能力提高根系活力以抵御逆境; 另一方面, 菊芋根系有机酸的分泌增加, 进而减轻伤害。而当根系长期处于高浓度 Al^{3+} 胁迫环境时, 植物根系铝含量积累已超过其自我调控范围, 进而使DNA受损, 并从整体上影响菊芋正常生长。此外, 根尖分泌有机酸并非其唯一响应模式, 菊芋分泌有机酸的种类及水平很大程度与自身耐铝性有关。当植物利用其它方式缓解铝胁迫时, 有机酸分泌的种类与水平也将出现变化。我们认为菊芋应对铝胁迫主要通过分泌CA与EA途径, 且资阳菊芋可能由于无法分泌EA而导致耐铝性较弱。因此, 探究铝胁迫下植物根尖分泌物的丰富性与多样性, 将有利于揭示不同植物的耐铝机制。

唐宏亮等(2013)研究表明, 外施生长素促进白羽扇豆(*Lupinus albus*)根际有机酸分泌, 提升根系活力。当前, 人们对铝胁迫下外源OA修复菊芋DNA损伤的探究较少。本研究中, 施加一定浓度OA后, 菊芋根尖铝含量降低, 根系活力增强, CA和EA分泌量大幅增加, DNA拖尾程度降低, 损伤有所缓解; 但过高浓度OA效果不突出, $60 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ OA作用效果达到峰值。由此可知, 一定浓度范围的铝胁迫下, OA对DNA损伤修复有一定作用。外源OA可促进植物体内三羧酸循环的补偿反应, 加速三羧酸循环(孙琴等, 2002), 从而提升内源有机酸含量并促进菊芋向土壤中分泌CA与EA, 进而通过外部螯合机制减少菊芋根尖对铝的吸收, 缓解铝对根系活力的损害; 而细胞质内铝的活性以及 Al^{3+} 与核内遗传物质形成络合物的途径受适宜浓度外源有机酸调控, 因此OA减轻了根尖DNA损伤, 保护菊芋基因完整, 维持遗传稳定, 从而达到抵抗逆境的效果。本研究进一步证实了外源有机酸对铝胁迫下植物DNA损伤具有一定的缓解作用, 也为深入阐明铝对菊芋的作用机制奠定基础。

3 结论

菊芋受到铝胁迫时, 其根尖铝含量升高, 引起根系活

力急剧下降, 根系DNA被破坏, 且叶片光合机构和抗氧化系统均随着铝浓度和胁迫时间的增加而受损加剧, 铝毒对资阳菊芋的伤害大于徐州菊芋。本研究中, 外施OA对铝胁迫下菊芋的生理响应系统具有积极的调控作用, 一方面促进体内三羧酸循环, 产生大量CA和EA并将其由根尖排出体外或束缚在细胞非生理活性部位, 以减轻DNA损伤, 有效缓解铝胁迫对菊芋的生长限制; 另一方面, OA能减少植物体内对 Al^{3+} 的转运, 使得菊芋地上部分伤害减弱, 株高和净光合速率大幅升高, PSII损伤降低, 增强地上部抗氧化酶活性并促进AsA-GSH循环, 从而维持细胞膜结构的稳定性, 且以 $60 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ OA作用效果为佳。综上, OA可缓解铝胁迫且徐州菊芋和资阳菊芋间存在差异, 施加OA对于低浓度铝毒下资阳菊芋的恢复效果更显著, 但徐州菊芋的综合抗性强于资阳菊芋, 两者呈现相同的缓解趋势。因此, 外源复合有机酸通过调控菊芋生理响应系统提高其耐铝能力, 缓解铝毒伤害。

参考文献

- 曹林, 吴玉环, 章艺, 郭怡, 肖有铁, 郇枫, 马丽, 徐根娣, 刘鹏 (2015). 外源水杨酸对铝胁迫下菊芋光合特性及耐铝性的影响. 水土保持学报 29, 260–266.
- 陈昌, 宋颖华, 高晓强 (2010). 干法消解与湿法消解测定紫菜中铝含量. 食品安全质量检测学报 27(3), 118–123.
- 程晓晴, 方婷玉, 李凤杰, 安渊, 周鹏 (2020). 喷施水杨酸对铝胁迫紫花苜蓿幼苗光合作用和光化学系统的影响. 中国草地学报 42(4), 42–49.
- 邓晓霞, 李月明, 姚莹姝, 乔婧文, 王竞红, 蔺吉祥 (2022). 植物适应酸铝胁迫机理的研究进展. 生物工程学报 38, 2754–2766.
- 郇红建, 常江, 张自立, 丁士明, 魏俊岭 (2003). 研究植物根系分泌物的方法. 植物生理学通讯 39, 56–60.
- 郭书亚, 艾金祥, 陈虹宇, 邵焯瑶, 汪妍, 王倩, 叶怡彤, 张雅婷, 丁哲晓, 吴昊辰, 吴玉环, 张建新, 饶米德, 刘鹏 (2022). 基于主成分-聚类-逐步回归分析构建番茄苗期耐铝性综合评价体系. 植物学报 57, 479–489.
- 郭炜 (2008). 紫外辐照导致植物细胞DNA损伤的彗星电泳检测及生理指标的测定. 硕士论文. 济南: 山东大学. pp. 1–89.
- 胡文海, 胡雪华, 闫小红, 周升团 (2021). 低温胁迫及恢复对番茄快速叶绿素荧光诱导动力学特征的影响. 中国农业气象 42, 859–869.

- 胡文海, 叶子飘, 闫小红, 杨旭升 (2017). 越冬期广玉兰阳生叶和阴生叶PSII功能及捕光色素分子内禀特性的比较研究. *植物研究* **37**, 281–287.
- 李合生 (2000). *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社. pp. 195–197.
- 李青容, 陈建军, 祖艳群, 何永美, 湛方栋, 李博, 李元 (2022). 酸性农田土壤改良效果综合评价指标体系的构建及验证. *农业环境科学学报* **41**, 547–558.
- 刘晓龙, 季平, 杨洪涛, 丁永电, 付佳玲, 梁江霞, 余聪聪 (2022). 脱落酸对水稻抽穗开花期高温胁迫的诱抗效应. *植物学报* **57**, 596–610.
- 钱莲文, 李清彪, 孙境蔚, 冯莹 (2018). 铝胁迫下常绿杨根系有机酸和氨基酸的分泌. *厦门大学学报(自然科学版)* **57**, 221–227.
- 沈仁芳, 赵学强 (2019). 酸性土壤可持续利用. *农学学报* **9**(3), 16–20.
- 孙琴, 倪吾钟, 杨肖娥 (2002). 有机酸在植物解铝毒中的作用及生理机制. *植物学通报* **19**, 496–503.
- 唐宏亮, 申建波, 张福锁, Rengel Z (2013). 磷和外源生长素对白羽扇豆(*Lupinus albus* L.)根形态和生理特性的影响. *中国科学: 生命科学* **43**, 201–212.
- 王浩, 王明, 梁婷, 姚玉新, 杜远鹏, 高振 (2022). 气温和根区温度对葡萄叶片光合荧光特性的影响. *植物学报* **57**, 209–216.
- 王亚校, 王子岚, 孙然, 杜克久 (2019). Aroclor1242暴露对蕈组培苗不定根分化的影响. *林业与生态科学* **34**, 308–313.
- 魏志琴, 陈志勇, 秦蓉, 王宇涛, 李韶山 (2013). Cu^{2+} 对拟南芥根的局部毒性及诱导DNA损伤和细胞死亡. *植物学报* **48**, 303–312.
- 伍自力, 余孟瑶, 陈露, 魏静, 王晓琴, 胡勇, 闫妍, 万平 (2015). 小立碗藓对重金属镉胁迫的应答特征. *植物学报* **50**, 171–179.
- 熊洁, 丁戈, 李书宇, 陈伦林, 宋来强 (2020). 铝胁迫对不同耐铝油菜品种苗期生长发育和养分吸收的影响. *华北农学报* **35**(6), 165–171.
- 许馨露, 李丹丹, 马元丹, 翟建云, 孙建飞, 高岩, 张汝民 (2018). 四季桂抗氧化防御系统对干旱、高温及协同胁迫的响应. *植物学报* **53**, 72–81.
- 余倩, 段雷, 郝吉明 (2021). 中国酸沉降: 来源、影响与控制. *环境科学学报* **41**, 731–746.
- 张婷婷, 刘子凡, 安锋, 谢贵水 (2020). 铝胁迫造成橡胶苗死亡的机制研究. *热带作物学报* **41**, 2439–2445.
- 张云, 王丹媚, 王孝源, 任晴雯, 唐可, 张丽宇, 吴玉环, 刘鹏 (2021). 外源茉莉酸对菊芋镉胁迫下光合特性及镉积累的影响. *作物学报* **47**, 2490–2500.
- 郑开敏, 肖家昶, 马俊英, 贺茂林, 格桑, 郑阳霞 (2022). 柠檬酸对铝胁迫下豆瓣菜生长及生理的影响. *江苏农业学报* **38**, 476–485.
- 周谷, 李秧秧, 樊军 (2023). 利用植物气体交换参数确定萎蔫系数的方法. *土壤学报* **60**, 776–786.
- 周蜜, 吴玉环, 刘星星, 陈娇, 郑婷, 章嗣瑶, 李江雯, 李润桥, 刘鹏 (2019). 镉胁迫对菊芋生理变化及镉富集的影响. *水土保持学报* **33**, 323–330.
- 周小华, 李昆志, 赵峰, 张小玲, 程霞, 冯庆 (2021). 外源抗坏血酸对水稻抗铝生理指标的影响. *热带作物学报* **42**, 769–776.
- Alasfar RH, Isaifan RJ (2021). Aluminum environmental pollution: the silent killer. *Environ Sci Pollut Res Int* **28**, 44587–44597.
- Chen ZC, Liao H (2016). Organic acid anions: an effective defensive weapon for plants against aluminum toxicity and phosphorus deficiency in acidic soils. *J Genet Genomics* **43**, 631–638.
- Diarra I, Kotra KK, Prasad S (2022). Application of phytoremediation for heavy metal contaminated sites in the South Pacific: strategies, current challenges and future prospects. *Appl Spectrosc Rev* **57**, 490–512.
- Dos Reis AR, Lisboa LAM, Reis HPG, De Queiroz Barcelos JP, Santos EF, Santini JMK, Meyer-Sand BRV, Putti FF, Galindo FS, Kaneko FH, Barbosa JZ, Paixão AP, Junior EF, De Figueiredo PAM, Lavres J (2018). Depicting the physiological and ultrastructural responses of soybean plants to Al stress conditions. *Plant Physiol Biochem* **130**, 377–390.
- Guo MX, Zhang XT, Liu JJ, Hou LL, Liu HX, Zhao XS (2020). *OsProDH* negatively regulates thermotolerance in rice by modulating proline metabolism and reactive oxygen species scavenging. *Rice* **13**, 61.
- Guo P, Qi YP, Cai YT, Yang TY, Yang LT, Huang ZR, Chen LS (2018). Aluminum effects on photosynthesis, reactive oxygen species and methylglyoxal detoxification in two *Citrus* species differing in aluminum tolerance. *Tree Physiol* **38**, 1548–1565.
- Hartmann H, Link RM, Schuldt B (2021). A whole-plant perspective of isohydry: stem-level support for leaf-level plant water regulation. *Tree Physiol* **41**, 901–905.
- Igamberdiev AU, Bykova NV (2018). Role of organic acids in the integration of cellular redox metabolism and mediation of redox signaling in photosynthetic tissues of higher

- plants. *Free Radical Biol Med* **122**, 74–85.
- Jaskulak M, Grobelak A, Grosser A, Vandenbulcke F** (2019). Gene expression, DNA damage and other stress markers in *Sinapis alba* L. exposed to heavy metals with special reference to sewage sludge application on contaminated sites. *Ecotoxicol Environ Saf* **181**, 508–517.
- Koppen G, Verschaeve L** (1996). The alkaline comet test on plant cells: a new genotoxicity test for DNA strand breaks in *Vicia faba* root cells. *Mutat Res* **360**, 193–200.
- Liu WJ, Xu FJ, Lv T, Zhou WW, Chen Y, Jin CW, Li LL, Lin XY** (2018). Spatial responses of antioxidative system to aluminum stress in roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. *Sci Total Environ* **627**, 462–469.
- Luo J, Qi SH, Gu XWS, Wang JL, Xie XM** (2016). An evaluation of EDTA additions for improving the phytoremediation efficiency of different plants under various cultivation systems. *Ecotoxicology* **25**, 646–654.
- Park YM, Yeon KM, Park CH** (2020). Silica treatment technologies in reverse osmosis for industrial desalination: a review. *Environ Eng Res* **25**, 819–829.
- Pattanayak A, Pfukrei K** (2013). Aluminium toxicity tolerance in crop plants: present status of research. *Afr J Biotechnol* **12**, 3752–3757.
- Pimenta LS, Mariano EDA, Gazaffi R, Carneiro MS** (2020). Crescimento radicular e resposta de enzimas antioxidantes ao estresse por alumínio em cana-de-açúcar. *Semina: Ciências Agrárias* **41**(Supl), 3449–3456.
- Rahman R, Upadhyaya H** (2021). Aluminium toxicity and its tolerance in plant: a review. *J Plant Biol* **64**, 101–121.
- Rao LY, Li SY, Cui X** (2021). Leaf morphology and chlorophyll fluorescence characteristics of mulberry seedlings under waterlogging stress. *Sci Rep* **11**, 13379.
- Riaz M, Yan L, Wu XW, Hussain S, Aziz O, Jiang CC** (2018). Mechanisms of organic acids and boron induced tolerance of aluminum toxicity: a review. *Ecotoxicol Environ Saf* **165**, 25–35.
- Singh S, Tripathi DK, Singh S, Sharma S, Dubey NK, Chauhan DK, Vaculík M** (2017). Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: a review. *Environ Exp Bot* **137**, 177–193.
- Tripathi DK, Singh S, Singh VP, Prasad SM, Dubey NK, Chauhan DK** (2017). Silicon nanoparticles more effectively alleviated UV-B stress than silicon in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. *Plant Physiol Biochem* **110**, 70–81.
- Wu WQ, Ueda H, Löbmann K, Rades T, Grohgan H** (2018). Organic acids as co-formers for co-amorphous systems—influence of variation in molar ratio on the physicochemical properties of the co-amorphous systems. *Eur J Pharm Biopharm* **131**, 25–32.
- Yang Y, Ma L, Zeng H, Chen LY, Zheng Y, Li CX, Yang ZP, Wu N, Mu X, Dai CY, Guan HL, Cui XM, Liu Y** (2018). iTRAQ-based proteomics screen for potential regulators of wheat (*Triticum aestivum* L.) root cell wall component response to Al stress. *Gene* **675**, 301–311.
- Yun T, An F, Li WZ, Sun Y, Cao L, Xue LF** (2016). A novel approach for retrieving tree leaf area from ground-based LiDAR. *Remote Sens* **8**, 942.
- Zhou Y, Liu ZY, Yao MD, Chen J, Xiao YN, Han GY, Shen JR, Wang FJ** (2022). Elucidating the molecular mechanism of dynamic photodamage of photosystem II membrane protein complex by integrated proteomics strategy. *CCS Chem* **4**, 182–193.

Regulatory Effects of Exogenous Organic Acids on the Physiological Responses of *Helianthus tuberosus* Under Aluminium Stress

Xuanwen Mao¹, Zhichao Wang¹, Xinyi Ruan¹, Jingfei Sun¹, Yating Zhang¹, Jinhao Lu¹,
Tiantian Shao¹, Xian Wang¹, Jiamin Xiao¹, Li Xiao¹, Mengyao Ye¹, Yuhuan Wu^{2,3}, Peng Liu^{1*}

¹Botany Laboratory, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China; ²College of Life and Environmental Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, China; ³Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China

Abstract Aluminum (Al) is one of the common metal contaminants in acidic soils. To reveal the effects of exogenous organic acids on the physiological characteristics and root DNA damage of *Helianthus tuberosus* under Al stress, we used Al resistant *H. tuberosus* cv. 'Xuzhou' and Al sensitive *H. tuberosus* cv. 'Ziyang' as materials. The effects of exogenous organic acids on the physiological responses and DNA damage of *H. tuberosus* at various periods (7, 14, and 21 d) under Al stress were investigated by setting 0, 350 and 700 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Al concentration treatments and applying 0, 30, 60 and 90 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ compound organic acids, respectively. The results showed that Al stress inhibits root elongation and root activity, severely inhibited the photosynthetic and antioxidant systems of *H. tuberosus*, and the DNA damage in the root system increased with the increase of Al concentration. In contrast, the application of compound organic acid effectively alleviated Al stress. 60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ compound organic acid improved the activity of the antioxidant system, maximum photochemical efficiency and organic acid secretion in root tips, secretion of citric acid was 2 times (*H. tuberosus* cv. 'Xuzhou') and 0.75 times (*H. tuberosus* cv. 'Ziyang') higher than the control, reduced root tip Al content and improved root activity. Besides, *H. tuberosus* cv. 'Xuzhou' and *H. tuberosus* cv. 'Ziyang' olive tail moment decreased by 51.53% and 35.10%, and compound organic acid reduced the DNA trailing phenomenon and repaired DNA breaks to a greater extent. In conclusion, high concentration of Al causes serious damage to *H. tuberosus*, which is difficult to mitigate. 60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ compound organic acid could enhance the *H. tuberosus* physiological responses under low Al stress, reduce DNA damage and thus improve the stress resistance. The alleviation effect was better in *H. tuberosus* cv. 'Ziyang'. This study reveals the regulatory role of exogenous organic acids on the physiological responses of *H. tuberosus* under Al stress, and provides a theoretical basis for planting and production of *H. tuberosus* and production of other cash crops in the acid-aluminium areas of southern China.

Key words aluminum stress, compound organic acids, *Helianthus tuberosus*, physiological response, DNA damage

Mao XW, Wang ZC, Ruan XY, Sun JF, Zhang YT, Lu JH, Shao TT, Wang X, Xiao JM, Xiao L, Ye MY, Wu YH, Liu P (2023). Regulatory effects of exogenous organic acids on the physiological responses of *Helianthus tuberosus* under aluminium stress. *Chin Bull Bot* **58**, 573–589.

* Author for correspondence. E-mail: sky79@zjnu.cn

(责任编辑: 白羽红)