

# 硼对酸性环境中枳砧幼苗不同部位矿质元素含量及根 $H^+$ 相关酶活力的影响

杜晨晴 吴秀文 闫磊 刘亚林 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** 以柑橘枳壳砧木苗为试验材料, 设置硼浓度为 0(-B) 和 10  $\mu\text{mol/L}$ (+B) 以及营养液 pH 值分别为 4 (酸性环境)、6(适宜 pH) 等 4 种处理, 研究硼对酸性环境中枳壳砧木不同部位各元素含量及根系 MDA、可溶性蛋白、胞内  $H^+$  相关酶活力等的影响。结果表明, 不论缺硼或低 pH 均抑制枳砧的株高、根长和干物质积累。低 pH(pH=4) 条件下施硼仍可增加株高、根长及地下部干物质量; 低 pH(pH=4) 条件下加硼能够提高根、茎、叶中的 K、Ca、Mg、Fe、Mn 和 B 等元素含量, 缓解因过量  $H^+$  导致的阳离子失衡。pH=4 时, 缺硼处理根系 MDA 含量比加硼时升高 4.5 倍, 可溶性蛋白增加 38.8%。并且, 低 pH(pH=4) 时, 加硼使根系细胞 NADP-ME 与  $H^+$ -ATP 酶活力分别提高 114.7% 和 80.8%, 而 PEPCase 酶活力降低了 51.4%。因此, 低 pH 条件下施硼, 可提高枳砧幼苗根、茎、叶中多个元素含量, 调节胞内  $H^+$  相关酶活力, 维持胞内 pH 稳定, 避免高  $H^+$  活性引起的损伤。

**关键词** 枳砧; 低 pH; 硼; 柑橘; 土壤酸化; 元素含量;  $H^+$  相关酶

**中图分类号** S 666 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2019)03-0047-06

土壤酸化是现代农业生产中最严重的问题之一, 主要是由生理酸性肥料的过量施用及环境污染产生的酸雨导致<sup>[1-2]</sup>。土壤酸化导致农作物生产力水平低下的原因主要是铝、锰和氢离子( $H^+$ )毒性<sup>[3]</sup>。有关酸性土壤中限制作物生长的铝毒因素研究较多<sup>[4]</sup>, 而系统地探索  $H^+$  毒性(低 pH)对作物生长的影响机制较少。过多的  $H^+$  影响土壤养分的吸收和有效性, 且对不同植物及植物的不同部位各元素含量影响不同。Malkanthe 等<sup>[5]</sup> 研究表明, 相比 pH 5.5, pH 3.8 时蚕豆、小麦、大麦、辣椒等植株的 N、P、K、Ca 和 Mg 吸收下降。在我国的众多柑橘产区中有 80% 的土壤 pH 较低, 且其有效硼的含量也较低<sup>[6]</sup>, 低 pH 和缺硼已成为柑橘正常生长的主要制约因子。正常的土壤 pH (5.5~7.5) 条件下, 硼主要是以未解离的电中性硼酸  $B(OH)_3$  形式被植物根系吸收<sup>[7]</sup>。陆景陵<sup>[8]</sup> 研究显示, 硼的有效性会受到介质 pH 变化的影响, 说明 pH 的降低会影响硼的吸收和不同部位的分布。另外, 适量硼能够与其他营养元素相互作用, 促进植物对养分的吸收<sup>[9-11]</sup>。但酸性环境中, 硼及其他矿质元素在不同部位的积

累情况我们并不清楚。当植物面临低 pH 环境胁迫时, 能够通过渗透调节保证细胞膨压促进生长, 但鲜有文献指出其与 pH 和微量元素的关系。另外, 胞内 pH 控制着细胞内许多化学反应, 其相对稳定性对植物抵抗不利环境至关重要。植物在面临养分缺乏等非生物胁迫时, 胞内 pH 也会发生改变。研究表明, N、P 营养胁迫影响水稻、玉米等根系细胞内 pH<sup>[12]</sup>。NADP 苹果酸酶(NADP-ME)、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPCase)与  $H^+$ -ATPase 同是细胞 pH 调控机制最重要的酶, 它们与 pH 均有应答关系。例如, 胞内  $H^+$  相关酶相互作用能够维持胞内 pH 稳定, 有助于提高  $H^+$  耐受性损害<sup>[13]</sup>。处于酸性环境(低 pH)条件下, 柑橘砧木根系细胞胞内  $H^+$  相关酶活力如何, 以及硼对胞内 pH 变化中是否起作用值得进一步探索。

本研究将低 pH 和硼相结合, 探讨硼对酸性环境中枳壳砧木不同部位各元素含量的影响, 以及硼如何影响根系生理及根细胞  $H^+$  转运酶以维持胞内 pH 稳定, 为深入理解砧木根系细胞应对  $H^+$  胁迫的响应机制提供参考。

收稿日期: 2018-05-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(41271320); 中央高校基本科研业务费专项(2017PY055)

杜晨晴, 硕士研究生. 研究方向: 植物养分利用及机理. E-mail: dcq@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 姜存仓, 博士, 教授. 研究方向: 植物营养机理与施肥. E-mail: jcc2000@webmail.hzau.edu.cn

# 1 材料与方 法

## 1.1 试验方 法

研究材料选取枳砧 (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) 种子, 于 2017 年 3 月 7 日在恒温培养箱内进行发芽。清水浸种 45 min, 用 5% 次氯酸钠消毒, 再用无菌水清洗。设置培养箱温度 30 ℃, 湿度 75%, 黑暗条件下催芽 10 d 左右, 选取集中萌发的种子, 将胚根向下插于育苗盆的无菌纱布上, 每天浇水保证纱布湿润。待苗长出 3~5 片真叶后, 选取生长基本一致的健壮幼苗, 用去离子水洗干净, 移栽至 10 L 黑色聚乙烯塑料盆中进行培养。营养液配方参考文献[14-15], 大量元素为 (mmol/L):  $\text{KNO}_3$ , 2.00;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , 1.23;  $\text{MgSO}_4$ , 0.50;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.14;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.32; 微量元素为 ( $\mu\text{mol/L}$ ):  $\text{MnCl}_2$ , 4.45;  $\text{ZnSO}_4$ , 0.80;  $\text{CuSO}_4$ , 0.16;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ , 0.18; EDTA-Fe, 37.30。

2017 年 5 月 19 日在华中农业大学温室大棚内进行试验处理。本试验设营养液硼浓度为 0(-B) 和 10  $\mu\text{mol/L}$ (+B), 营养液 pH 值分别为 4, 6, 即 P4B0(pH=4, B=0  $\mu\text{mol/L}$ )、P4B10(pH=4, B=10  $\mu\text{mol/L}$ )、P6B0(pH=6, B=0  $\mu\text{mol/L}$ )、P6B10(pH=6, B=10  $\mu\text{mol/L}$ ) 4 个处理。每盆定植 6 株, 每个处理 3 次重复。营养液每 7 d 更换 1 次, 每天采用增氧机通气 6 次, 每次 20 min。每天用便携 pH 计 G6020 定时检测营养液 pH 变化(pH 值变化范围控制在  $\pm 0.2$  个单位), 用稀 HCl 或稀 NaOH 调节。

## 1.2 样品采集与测定

1) 样品采集。处理 50 d 后, 植株先用去离子水冲洗干净, 再用吸水纸擦干, 分根、茎、叶称取鲜质量。在 105 ℃ 烘箱中杀青 30 min, 75 ℃ 下烘干至恒质量, 称干质量后磨碎储存。

2) 矿质元素含量测定。用火焰光度计测量 K 含量, 用原子吸收分光光度计测量 Ca、Mg、Mn、Fe 含量, 用姜黄素比色法测量 B 含量, 浸提盐酸浓度为 0.1 mol/L。

3) 生理指标测定。采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定丙二醛(MDA)含量, 单位  $\mu\text{mol/L}$ ; 采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定可溶性蛋白含量。根系细胞内  $\text{H}^+$  相关酶活力测定: 主要对根系细胞质膜  $\text{H}^+$ -ATP 酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPCase) 和苹果酸酶(NADP-ME) 进行测定。步骤: ①酶液制备: 取新鲜根系清洗干净, 称样 0.1 g, 加入 10 mL

预冷的 NADP-ME( $\text{H}^+$ -ATP、PEPCase) 粗酶提取液, 冰浴匀浆。低温(4 ℃)下 8 000 r/min 离心 10 min, 取上层清液待测。②不同酶活性测定: 采用 Thermo Multiskan FC 酶标仪。利用 NADPH 在 340 nm 光波长下有强烈吸收, 且 NADPH 的生成量与吸收值呈线性关系的性质, 测定 NADPH 在 340 nm 处吸光度的变化。每克组织每生成 1 nmol NADP 定义为 1 个酶活力单位, 单位为 U/g。在 340 nm 测定 NADH 减少速率来计算 PEPase 活性, 每克组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为 1 个酶活力单位, 单位为 U/g。在 660 nm 处通过测定酶促反应释放的无机磷量来测定  $\text{H}^+$ -ATP 酶活力。

## 1.3 数据处理

用统计分析软件 SAS 9.1.3 对数据进行差异显著性分析( $P < 0.05$ ), 并用 SSR 法进行多重比较。Excel 2003 进行图表制作。

# 2 结果与分析

## 2.1 枳砧生长情况

由表 1 可知, 受不同 pH 和硼的影响, 枳砧幼苗的株高、根长和干物质等表现不同。不论低 pH 或适宜 pH, 加硼均能显著提高株高和根长。低 pH 条件下, P4B10 比 P4B0 的株高增加了 18.0%, 根长增加了 29.3%; P6B10 比 P6B0 的株高增加了 28.2%, 根长增加了 58.8%。另外, 不论缺硼或加硼, pH 的降低均抑制了株高、根长和干物质积累。其中, 相比于地上部干物质, 低 pH 对地下部干物质的影响更显著。P4B0 的根干质量比 P6B0 降低了 12.5%, P4B10 的根干质量比 P6B10 降低了 20.8%。双因素分析的结果显示, 同时遭受低 pH 和缺硼胁迫时, 硼对干物质的影响大于 pH。

## 2.2 枳砧不同部位矿质元素含量

表 2 显示, 枳砧幼苗不同部位各元素含量受 pH 和硼的影响有较大变化。不论缺硼或加硼, 相比 pH=6 处理, pH=4 时的根、茎、叶的 K 含量均降低。其中, 根 K 含量受 pH 的影响降幅最大。另外, 枳壳砧木的根、茎、叶中的 Ca、Mg 含量均在 P4B0 时最小, 而在低 pH(pH=4) 条件下施硼, 根、茎、叶中的 Ca、Mg 含量有升高趋势。与 P4B0 相比, P4B10 的根中 Ca、Mg 含量分别增加了 52.0% 和 33.3%, 茎中增加了 40.0% 和 44.4%, 叶中增加了 8.1% 和 3.5%。并且, P4B0 处理的根、茎、叶的 Fe 含量均小于其他处理, 然而低 pH(pH=4) 条件下施

硼,根、茎、叶的 Fe 含量呈现升高趋势,根和叶的升幅最大,分别是 113.0%和 33.1%。与 Ca、Mg 和 Fe 的含量变化不同,叶和根的 Mn 含量均在 P6B10 时最小,而低 pH 和缺硼胁迫均能导致叶和根的 Mn

含量升高。此外,不论是低 pH 或适宜 pH,加硼可提高枳砧幼苗根、茎、叶的 B 含量,特别是低 pH (pH=4)条件下施硼,根、茎中 B 含量分别提高了 111.6%和 73.7%。

表 1 硼对酸性环境中枳砧株高、根长及干物质质量的影响

Table 1 Effect of B on the plant height, root length and dry matter weight of trifoliolate seedlings under low pH

处理 Treatment	株高/cm Height	根长/cm Length	干物质质量/g Dry matter weight		根冠比 Root/shoot ratio
			地上部 Upper	地下部 Under	
P4B0	20.6c	13.3d	0.43b	0.14c	0.31a
P4B10	24.3b	17.2b	0.52ab	0.19b	0.35a
P6B0	23.8b	15.3c	0.47b	0.16c	0.38a
P6B10	30.5a	24.3a	0.63a	0.24a	0.37a
pH	**	**	ns	*	ns
B	**	**	*	**	ns
pH×B	**	**	ns	ns	ns

注:表中不同的小写字母代表不同处理之间在 0.05 水平存在显著差异, \*\*, \* 和 ns 分别代表极显著、显著和不显著。Note: The different small letters in Table 1 represent significant differences between different treatments at 0.05 levels. \*\*, \* and ns represent extremely significant, significant and not significant.

表 2 硼对酸性环境中枳砧不同部位矿质元素含量的影响

Table 2 Effect of boron application on element contents in different parts of trifoliolate seedling by low pH

部位 Part	处理 Treatment	K/%	Ca/(mg/kg)	Mg/(mg/kg)	Fe/(mg/kg)	Mn/(mg/kg)	B/(mg/kg)
根 Root	P4B0	0.53±0.11c	333±59b	81±17b	77±7c	136±17b	5.2±1.0c
	P4B10	0.57±0.02c	506±40a	108±8ab	164±18a	271±18a	10.9a±0.6a
	P6B0	0.79±0.08b	482±17a	106±12ab	130±10b	131±12b	6.4c±0.9c
	P6B10	1.19±0.12a	488±32a	125±17a	181±8a	78±7c	8.3b±0.2b
茎 Stem	P4B0	1.11±0.10b	541±61c	151±10b	28±2a	42±5c	5.4b±0.9b
	P4B10	1.10±0.04b	757±80b	218±14a	30±1a	53±3bc	9.4a±2.1a
	P6B0	1.30±0.14a	988±77a	218±13a	26±1a	72±18ab	5.2b±1.5b
	P6B10	1.24±0.00ab	873±119ab	199±20a	32±6a	86±13a	9.0a±2.1a
叶 Leaf	P4B0	1.60±0.11b	755±46a	142±4a	127±9b	103±10c	27.2c±6.9c
	P4B10	1.77±0.17ab	816±22a	147±16a	169±9a	144±12a	50.5b±9.4b
	P6B0	1.71±0.08ab	887±97a	161±22a	131±12b	123±6b	28.9c±2.8c
	P6B10	1.86±0.11a	984±88a	159±4a	165±7a	94±4c	78.0a±13.1a

注:表中不同的小写字母表示不同处理间 0.05 水平差异显著。Note: Different small letters indicate significant differences at 0.05% level by SSR.

### 2.3 枳砧根系丙二醛及可溶性蛋白含量

如图 1 所示,低 pH 或缺硼胁迫均使枳砧根系的 MDA 和可溶性蛋白含量增加。图 1A 显示,在低 pH 条件下加硼,能使根系 MDA 含量降低,降幅为 6.8%。不论缺硼或加硼,pH=4 处理下的根系 MDA 含量显著高于 pH 6,增加了 4.5 倍。图 1B 表明在低 pH 条件下,缺硼使可溶性蛋白含量增加,增幅为 12.6%;另外,适宜 pH 时,缺硼使可溶性蛋白含量增加了 7.7%,双因素分析显示,低 pH 对可溶性蛋白含量的影响大于缺硼胁迫。

### 2.4 枳砧根系细胞胞内 H<sup>+</sup> 相关酶活力

从图 2 可以看出,低 pH 条件下加硼,枳砧根系细胞 NADP-ME 酶活力升高,增加了 114.7%;而适宜 pH 条件下加硼,根系细胞 NADP-ME 酶活力只

增加了 7.8%,没有达到显著水平,说明在适宜 pH 条件下,硼对 NADP-ME 酶活力影响不大,但在低 pH 环境下,是否加硼对 NADP-ME 活力影响显著。对于根系细胞 PEPCase 来说,低 pH 条件下加硼显著降低其活力,降幅为 51.4%,而适宜 pH 水平下加硼,PEPCase 活力只降低了 7.4%。同样说明,低 pH 环境下,是否加硼对 PEPCase 酶活力影响显著。此外,除 P4B0 处理外,其他处理下的 PEPCase 和 NADP-ME 活力变化相反。H<sup>+</sup>-ATP 酶存在于细胞膜,能够转运细胞内外的 H<sup>+</sup> 离子。缺硼条件下,随着 pH 的降低,H<sup>+</sup>-ATP 酶活力也降低,但没有达到显著水平。加硼条件下,pH 降低却导致 H<sup>+</sup>-ATP 酶活力显著升高。另外,低 pH 条件下,加硼处理的 H<sup>+</sup>-ATP 酶活力是缺硼时的 1.8 倍。

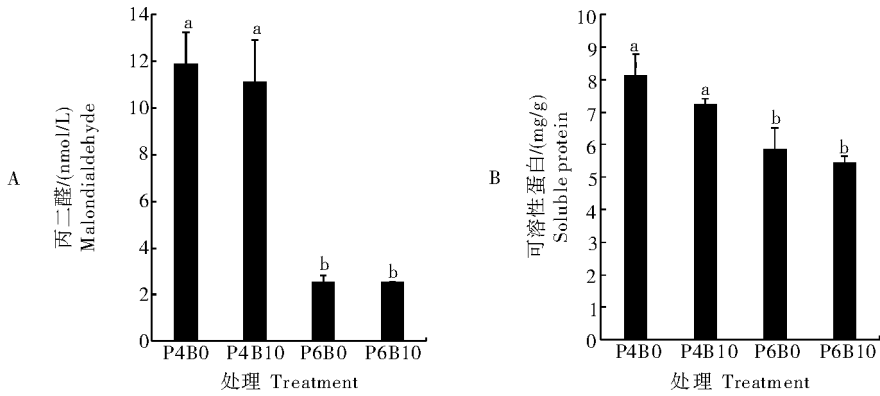


图 1 硼对酸性环境中枳砧根 MDA 及可溶性蛋白含量的影响

Fig.1 Effect of B on the content of MDA and soluble protein in trifoliolate seedlings root under low pH

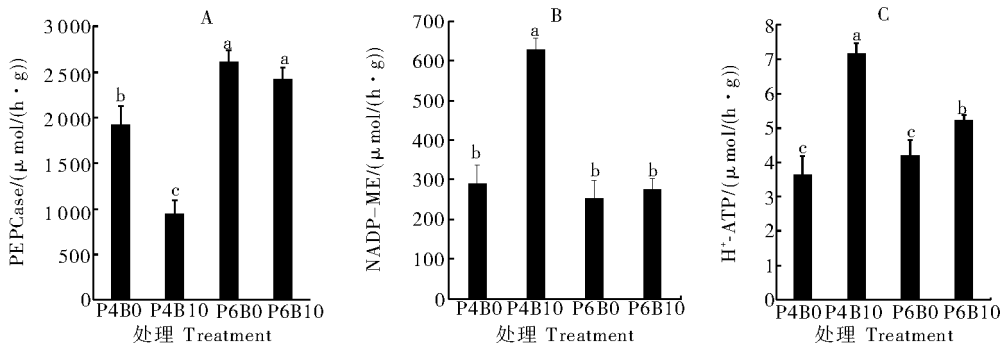


图 2 硼对酸性环境中枳砧根细胞内 H<sup>+</sup> 相关酶的影响

Fig.2 Effect of B on intracellular H<sup>+</sup> related enzymes in trifoliolate seedlings root under low pH

### 3 讨论

#### 3.1 硼对酸性环境中枳砧不同部位元素含量的影响

土壤环境条件改变,植物生长必需的营养元素吸收、转化和分配也会发生变化。有研究证明,土壤 pH 降低会限制阳离子的流入。例如,在 pH=2.5 时,雪柑和酸柚的根茎叶对 N、P、K、Ca、Mg、Cu、Zn 等元素的吸收效率降低<sup>[16]</sup>。茶树在 pH < 5.0 时,对矿质元素 Mn、Ca、Mo、B 的吸收不利<sup>[17]</sup>。本试验结果显示,相比叶片和茎,酸性环境中施硼对根系 K、Ca、Mg、Fe、Mn 等元素含量的影响较大,可能是因为 H<sup>+</sup> 和 B 均作用于根系。低 pH (pH=4) 条件下,加硼处理的根系 Fe、Ca、Mg 含量均高于缺硼处理;而 pH=4 时,不论加硼或缺硼处理根系 Mn、K 含量没有显著差异,说明在酸性条件下,施硼可显著增加根系的 Ca、Mg、Fe 等元素含量。徐呈祥等<sup>[18]</sup>对蓝莓扦插苗和嫁接苗进行不同 pH 处理,也发现低 pH 时, Mg 和 Fe 元素含量降低。张强等<sup>[19]</sup>对北京昌平苹果园分析表明,调节 pH、提高 K 肥施用是

保证产量的关键技术。田大伦等<sup>[20]</sup>进行盆栽实验,用 pH 分别为 3、4、5 的营养液浇灌灌木幼苗,发现 N、K、Mg、S、Al、Fe、Ni、Ca 等元素随 pH 降低其变化不同。本试验中,与 P6B0 相比, P4B0 处理的茎和根的 B 含量增加显著(相比叶部位 B 含量无变化),一方面可能与根系根尖生长有关,低 pH 导致的 H<sup>+</sup> 毒害致使根尖腐烂损坏,侧根的畸形发育致使根系 B 含量增加;另一方面可能与根系细胞增殖速度不变、细胞壁的合成需要大量硼参与有关<sup>[21-22]</sup>。说明低 pH 条件下加硼可能会通过影响根系结构,特别是细胞壁稳定性,从而促进其他矿质元素的吸收。

#### 3.2 硼对酸性环境中枳砧根系渗透物质及细胞 H<sup>+</sup> 相关酶的影响

pH 值的降低和硼缺乏均会影响植物细胞的代谢活动。有研究显示,植物在面对环境胁迫时,体内会积累大量的渗透物质,如可溶性蛋白、脯氨酸、甜菜碱等以维持细胞膨压<sup>[23]</sup>。其中,可溶性蛋白对渗透调节贡献最大。本研究显示,不论缺硼或加硼, pH=4 的 MDA 含量是 pH=6 的 3.5 倍, pH 下降



的越多,MDA含量增加的越多。说明pH对根系的氧化伤害会远远大于硼缺乏。可溶性蛋白与植物抗性密切相关,一直被作为抗寒和抗旱的指标<sup>[24]</sup>,但鲜有文献指出其与pH的关系。相同硼条件下,与pH=6相比,pH=4处理时根系的可溶性蛋白含量增加,且差异显著。李德全等<sup>[25]</sup>研究结果显示,为了抵抗低酸胁迫保证细胞的正常代谢功能,植物可能会通过增加体内的蛋白合成或增加细胞内不溶性蛋白的转化,以升高细胞液浓度,调节渗透压,改变机体抵抗力。因此,可溶性蛋白也可以作为表征植物应对低pH胁迫的指标。

根尖细胞在外部高浓度 $H^+$ 下生长或维持活性的能力反映了它们通过排除 $H^+$ 来保持对其内部pH的控制能力。胞内pH是细胞内化学反应最重要的媒介,微弱的变化都会影响细胞生长的状态<sup>[26]</sup>。NADP-ME和PEPCase主要存在于细胞质中,pH降低,细胞质中丙酮酸代谢消耗 $H^+$ 的过程加快,NADP-ME活力增强,PEPCase活力降低,相互作用维持细胞内pH稳定<sup>[27]</sup>。适宜pH时,无论缺硼与否,根细胞中NADP-ME和PEPCase的酶活力没有显著性变化,证明细胞质pH稳态没有遭到破坏。当pH为4时,砧木根系细胞NADP-ME和PEPCase的酶活力受到显著影响。与P4B10相比,P4B0处理下根系细胞NADP-ME酶活力显著降低,PEPCase的酶活力显著增加,其异常变化使细胞质中多余的 $H^+$ 不能有效外排而导致根系损伤。另外, $H^+$ -ATP对植物细胞 $H^+$ 的转运也起着重要作用。有研究显示,在长期的酸胁迫下,PM $H^+$ -ATPase参与维持细胞内pH值,提高植物 $H^+$ 耐受性<sup>[28-29]</sup>。已有报道称硼不仅作用于细胞壁,还能调控PM $H^+$ -ATPase的表达<sup>[30]</sup>,本试验结果显示硼缺乏时, $H^+$ -ATPase活力降低。但低pH环境下施硼,能够显著提高 $H^+$ -ATP酶活力,促进细胞质中多余的 $H^+$ 的排出,部分恢复细胞正常活动。

因此,低pH和缺硼双胁迫发生时,缺硼对干物质的影响大于低pH。另外,低pH下施硼,可提高砧壳砧木根茎叶中K、Ca、Mg、Fe、Mn和B等元素含量,缓解由过量 $H^+$ 引起的阳离子流入失衡。同时,低pH条件下施硼可调节根系细胞NADP-ME、PEPCase和 $H^+$ -ATP等 $H^+$ 转运酶的活力,维持细胞内pH稳定,避免高 $H^+$ 活性引起的氧化损伤。

## 参 考 文 献

- [1] CAI Z, WANG B, XU M, et al. Intensified soil acidification from chemical N fertilization and prevention by manure in an 18-year field experiment in the red soil of Southern China[J]. Journal of soils & sediments, 2015, 15(2): 260-270.
- [2] GUO J H, LIU X J, ZHANG Y, et al. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. Science, 2010, 327(5968): 1008-1010.
- [3] UEXKÜLL V H R, MUTERT E. Global extent, development and economic impact of acid soils[J]. Plant soil, 1995, 171(1): 1-15.
- [4] YAN L, RIAZ M, WU X W, et al. Interaction of boron and aluminum on the physiological characteristics of rape (*Brassica napus* L.) seedlings[J]. Acta physiologiae plantarum, 2018, 40(2): 33-41.
- [5] MALKANTHI D R R, YOKOYAMA K, YOSHIDA T, et al. Effects of low pH and Al on growth and nutrient uptake of several plants[J]. Soils science & plant nutrition, 1995, 41(1): 161-165.
- [6] 刘术新. 硼在土壤-植物系统中的转移规律及作物耐硼性的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2009.
- [7] BROWN P H, SHELPS B J. Boron mobility in plants[J]. Plant soil, 1997, 193(1/2): 85-101.
- [8] 陆景陵. 植物营养学(上册)[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 82-87.
- [9] 徐畅, 高明, 谢德体, 等. 不同硼水平对烤烟干物质累积和氮磷钾吸收的影响[J]. 水土保持学报, 2010, 24(3): 94-99.
- [10] 闫磊, 姜存仓, 董肖昌, 等. 多元醇络合硼对油菜苗期生长及生理特性的影响[J]. 华中农业大学学报, 2017, 36(2): 38-44.
- [11] 耿明建, 朱建华, 吴礼树, 等. 硼对不同硼效率棉花品种苗期叶片膜脂过氧化和多胺含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2003, 9(3): 337.
- [12] ESPEN L, NOCITO F F, COCCUCCI M. Effect of  $NO_3^-$  transport and reduction on intracellular pH: an *in vivo* NMR study in maize roots[J]. Journal of experimental botany, 2004, 55(405): 2053-2061.
- [13] MARIA P P, ANTONIO L, CATERINA L, et al. Long- and short-term effects of boron excess to root form and function in two tomato genotypes[J]. Plant physiology and biochemistry, 2016, 109: 9-19.
- [14] ARNON T I, ACHDOUT H, LIEBERMAN N, et al. The mechanisms controlling the recognition of tumor- and virus-infected cells by NKp46[J]. Blood, 2004, 103(2): 664.
- [15] HOAGLAND R. The water culture methods for growing plants without soil[J]. California agricultural experiment station circular, 1950, 347(5406): 357-359.
- [16] LONG A, ZHANG J, YANG L T, et al. Effects of low pH on photosynthesis, related physiological parameters, and nutrient profiles of citrus[J]. Frontiers in plant science, 2017, 21(8): 185-190.

- [17] 林智, 吴洵, 俞永明. 土壤 pH 值对茶树生长及矿质元素吸收的影响[J]. 茶叶科学, 1990(2): 27-32.
- [18] 徐呈祥, 郭峰, 马艳萍. 土壤 pH 对蓝莓扦插苗和嫁接苗生长、光合作用及矿质元素含量的影响[J]. 广东农业科学, 2016, 43(11): 56-63.
- [19] 张强, 魏钦平, 刘旭东, 等. 北京昌平苹果园土壤养分、pH 与果实矿质营养的多元分析[J]. 果树学报, 2011, 28(3): 377-383.
- [20] 田大伦, 付晓萍, 方晰, 等. 模拟酸雨对樟树幼苗光合特性的影响[J]. 林业科学, 2007, 43(8): 29-35.
- [21] DELL B, HUANG L. Physiological response of plants to low boron[J]. Plant soil, 1997, 193: 103-120.
- [22] VANGELISTI R, VIEGI I, CELA R G. Responses of *Pinus pinea* and *P. pinaster* seedling roots to substrata at different pH values[J]. Annales Botanici Fennici, 1995, 32(1): 19-27.
- [23] 张国盛, 张仁陟. 水分胁迫下氮磷营养对小麦幼苗渗透物质累积影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2001, 36(1): 95-99.
- [24] 王娜, 王奎玲, 刘庆华, 等. 四种常绿阔叶树种的抗寒性[J]. 应用生态学报, 2016, 27(10): 3114-3122.
- [25] 李德全, 邹琦, 程炳嵩. 土壤干旱下不同抗旱性小麦品种的渗透调节和渗透调节物质[J]. 植物生理学报, 1992, 18(1): 37-43.
- [26] GUERN J, FELLE H, MATHIEU Y, et al. Regulation of intracellular pH in plant cells[J]. International review of cytology—a survey of cell biology, 1991, 127: 111-174.
- [27] 柳参奎, 张欣欣, 程玉祥. “植物细胞内 pH 调控系统”是适应环境逆境的一个耐性机制? [J]. 分子植物育种, 2004, 2(2): 179-186.
- [28] JUNG S, HÜTSCH B W, SCHUBERT S. Salt stress reduces kernel number of corn by inhibiting plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity[J]. Plant physiology & biochemistry, 2017, 113: 198-207.
- [29] CHEN H, ZHANG Q, CAI H, et al. Ethylene mediates alkaline-induced rice growth inhibition by negatively regulating plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in roots[J]. Frontiers in plant science, 2017, 8: 1839-1851.
- [30] 徐芳森, 曾长英, 彭李顺, 等. 拟南芥应答低硼胁迫的基因表达谱分析[J]. 江西农业大学学报, 2010, 32(5): 1004-1009.

## Effects of boron on contents of elements and activities of H<sup>+</sup> related enzymes at different parts of trifoliolate seedlings in low pH environment

DU Chenqing WU Xiuwen YAN Lei LIU Yalin JIANG Cuncang

College of Resources and Environment/Microelements Research Center,  
Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**Abstract** The trifoliolate seedlings were treated with 4 treatments including P4B0 (pH = 4, B = 0 μmol/L), P4B10 (pH = 4, B = 10 μmol/L), P6B0 (pH = 6, B = 0 μmol/L), P6B10 (pH = 6, B = 10 μmol/L) to study the effects of boron on the content of various elements at different parts of trifoliolate seedlings and the roots MDA, soluble protein and activities of intracellular H<sup>+</sup> related enzymes in low pH environment. The results showed that both B deficiency and low pH inhibited the plant height, root length and dry matter accumulation of trifoliolate seedlings. Adding boron under low pH (pH = 4) increased the content of elements such as K, Ca, Mg, Fe, Mn and B in roots, stems and leaves, and alleviated the cation imbalance caused by excess H<sup>+</sup>. At pH = 4, the MDA content in the roots of boron deficiency treatment was 4.5 times higher than that in boron, and the soluble protein was increased by 38.8%. Moreover, at low pH (pH = 4), boron addition increased the activities of NADP-ME and H<sup>+</sup>-ATPase in root cells by 114.7% and 80.8%, respectively, while the activity of PEPCase decreased by 51.4%. It is indicated that boron application under low pH conditions can increase the contents of multiple elements in the roots, stems and leaves of the trifoliolate roots, regulate the activities of H<sup>+</sup> related enzymes in the cells, maintain the intracellular pH stability, and avoid the damage caused by high H<sup>+</sup> activity.

**Keywords** trifoliolate seedlings; low pH; boron; citrus; soil acidification; contents of elements; H<sup>+</sup> related enzymes

(责任编辑: 陆文昌)