

酸铝胁迫对栝楼根系生长及铝积累的影响

周 媛^{1,2}, 章 艺³, 吴玉环⁴, 徐根娣^{1,2}, 高培培², 姚国浩², 刘 鹏^{1,2*}

(1.浙江师范大学生态学研究所, 浙江 金华 321004; 2.浙江师范大学植物学实验室, 浙江 金华 321004; 3.浙江旅游职业学院, 杭州 311231; 4.杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州 330036)

摘 要:针对南方酸性红壤对作物的生长造成的不利影响,采用水培方式,研究酸铝环境 0、100、300、500、1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Al^{3+} pH 4.5,处理 7 d 对长兴栝楼根系生长及铝积累的影响。测定指标包括根系活力、质膜透性、抗氧化酶类活性(过氧化物酶 POD、过氧化氢酶 CAT、抗坏血酸过氧化物酶 APX、愈创木酚过氧化物酶 GPX、超氧化物歧化酶 SOD)及其同工酶、过氧化氢(H_2O_2)含量、根尖铝含量的影响。结果表明:随着铝处理浓度升高,根系活力增大,根系质膜透性无显著变化;POD、CAT、APX 酶活升高,GPX 和 SOD 活性降低,多种抗氧化酶都有多条同工酶谱带出现;根尖相对铝含量升高,桑色素染色情况显示,荧光梯度与铝含量测定结果一致,并观察到根尖以上根毛处细胞凸起较之平整排列的根细胞更容易积累铝。栝楼对南方酸性红壤具有较强的适应能力,其体内抗氧化酶系统及根尖吸收、积累铝的机制对缓解铝毒害起着重要作用。

关键词:铝胁迫;栝楼;根系生长;根尖铝含量

中图分类号:Q945.78 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)12-2434-06

Effects of Acid Aluminum Stress on Root Growth and Aluminum Accumulation of *Trichosathes kirilowii* Maxim

ZHOU Yuan^{1,2}, ZHANG Yi³, WU Yu-huan⁴, XU Gen-di^{1,2}, GAO Pei-pai², YAO Guo-hao², LIU Peng^{1,2*}

(1.Key Laboratory of Ecology, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China; 2.Key Laboratory of Botany, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China; 3.Tourism College of Zhejiang China, Hangzhou 311231, China; 4.College of Biological and Environmental Sciences, Hangzhou 330036, China)

Abstract: Adverse effect on crop growth is caused by south red soil with high Al concentration. The aim of this work is to investigate the effects of acid aluminum stress on root growth and aluminum accumulation of *Trichosathes kirilowii* Maxim by water planting. Seedlings were treated with different concentrations, 0, 100, 300, 500, 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of aluminium chloride, at pH 4.5 for 7 d. Following treatment the parameters investigated in root tissue were root vigor, plasma membrane permeability, activities of antioxidant enzymes named peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), guaiacol peroxidation (GPX), superoxide dismutase (SOD) and their isozyme electrophoresis, hydrogen peroxide content, relative aluminum content. With the increasing of Al^{3+} concentration, the activities of POD, CAT and APX increased but the activities GPX and SOD decreased; most of the antioxidant enzymes had several electrophoretic bands; plasma membrane permeability had no significant difference; root vigor increased remarkably. Determining relative content of aluminum had the same result by comparing with that of morin staining more aluminum accumulated in the cells of root hair than that in closely arranging cells. Antioxidant enzymes system and aluminum accumulation mechanism play important role in resisting Al toxicity for the growth of *T. kirilowii*.

Keywords: aluminum stress; *Trichosathes kirilowii* Maxim; root growth; relative aluminum content

酸雨频发使我国南方大部分红壤地区土壤酸性增强,低 pH(通常为 4~5.5)所造成的铝毒已经成为南方红壤地区农作物减产的重要原因之一^[1-2]。已有研究表明铝胁迫能够造成植物体内活性氧(ROS)的积累,

提高与活性氧清除有关的酶活性,并能诱导质膜的过氧化现象、抑制细胞分裂、生长以及运输^[3];铝还能够诱导植物细胞壁加厚^[4],从而使铝离子在细胞壁聚集而无法进入内部。从分子水平上看,铝胁迫能改变植物氧化胁迫基因的表达^[5],并引起根细胞核 DNA 损伤^[6]。栝楼是浙江省广泛种植的经济作物,酸铝土壤环境对其植株生长及果实产量造成了一定的影响^[7]。本研究从根系对铝毒的响应出发,试图通过长兴栝楼根系生理特征及其对铝的吸收、积累方式来探究其铝

收稿日期:2011-06-02

基金项目:浙江省自然科学基金(Y5100390);浙江省公益技术研究农业项目(2011C22053)

作者简介:周 媛(1986—),女,天津武清人,在读硕士,主要从事植物逆境研究。E-mail:pps100@126.com

* 通讯作者:刘 鹏 E-mail:sky79@zjnu.cn

耐性机理,为探索栝楼抗铝毒的途径提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验设计(水培实验)

栝楼种子在变温砂床中催芽,待幼苗根长至 7~10 cm 时于改良的 Hoagland 完全营养液中进行处理。 Al^{3+} 处理浓度为 0、100、300、500、1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,铝源采用 $\text{AlCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$,所用试剂均为分析纯,铝添加后调 pH 至 4.5 左右,每 3 d 更换 1 次处理液。7 d 后剪取植物根段用去离子水冲洗后进行根系活力、质膜透性、抗氧化酶类及根尖相对铝含量等指标测定,每个指标 3 组重复。

1.2 测定方法

酶液的提取:取 0.5 g 左右根,加入 pH 7.8 磷酸缓冲液冰浴研磨,4 $^{\circ}\text{C}$ 6 000 $\times g$ 离心 20 min,取上清液,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

根系活力采用 TTC 法^[8],质膜透性用电导仪测定相对电导率^[9],过氧化氢酶(CAT)活性采用分光光度法测定底物消耗速率^[10],过氧化物酶(POD)活性采用联苯胺比色法^[11],抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性等采用紫外分光光度计测定专一性底物消耗速率^[12];愈创木酚过氧化物酶(GPX)活性采用 Boscolo^[13]的愈创木酚法测定;POD 同工酶用醋酸联苯胺显色^[14],CAT 同工酶采用胡能书等^[13]介绍的淀粉-碘系统显色法;APX 同工酶染色采用 Mittler and Zilinskas^[15]的方法,加入专一性底物后用联苯胺显色;GPX 同工酶染色采用 Fielding and Hall^[16]的愈创木酚显色法;过氧化氢的组织染色采用 Wang 等^[17]的方法,剪取 1 cm 根尖,0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NBT 25 $^{\circ}\text{C}$ 光下染色 7 h,蒸馏水漂洗后 95%的酒精煮沸 10 min,扫描仪扫描拍照;根尖相对铝含量采用苏木精染色脱色法^[18]测定。

1.3 数据处理

数据处理采用 SPSS17.0 统计软件进行方差分析,最小显著差数法(LSD 法)分析差异显著性。

2 结果与分析

2.1 铝对栝楼根系活力及质膜透性的影响

根系活力是判断根系生理机能的重要指标。表 1 反应铝对栝楼根系活力与质膜透性的影响。由表 1 看出,栝楼根系活力随着铝处理浓度增大表现出明显升高趋势。低浓度(100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)铝处理下就与对照(0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)达到显著性差异,最高浓度(1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)铝处理下栝楼的根系活力是对照组的 5.64 倍。栝楼根

系质膜透性随着铝处理浓度的增大有所升高,但并未表现出差异显著性。

表 1 铝对栝楼根系活力及质膜透性的影响

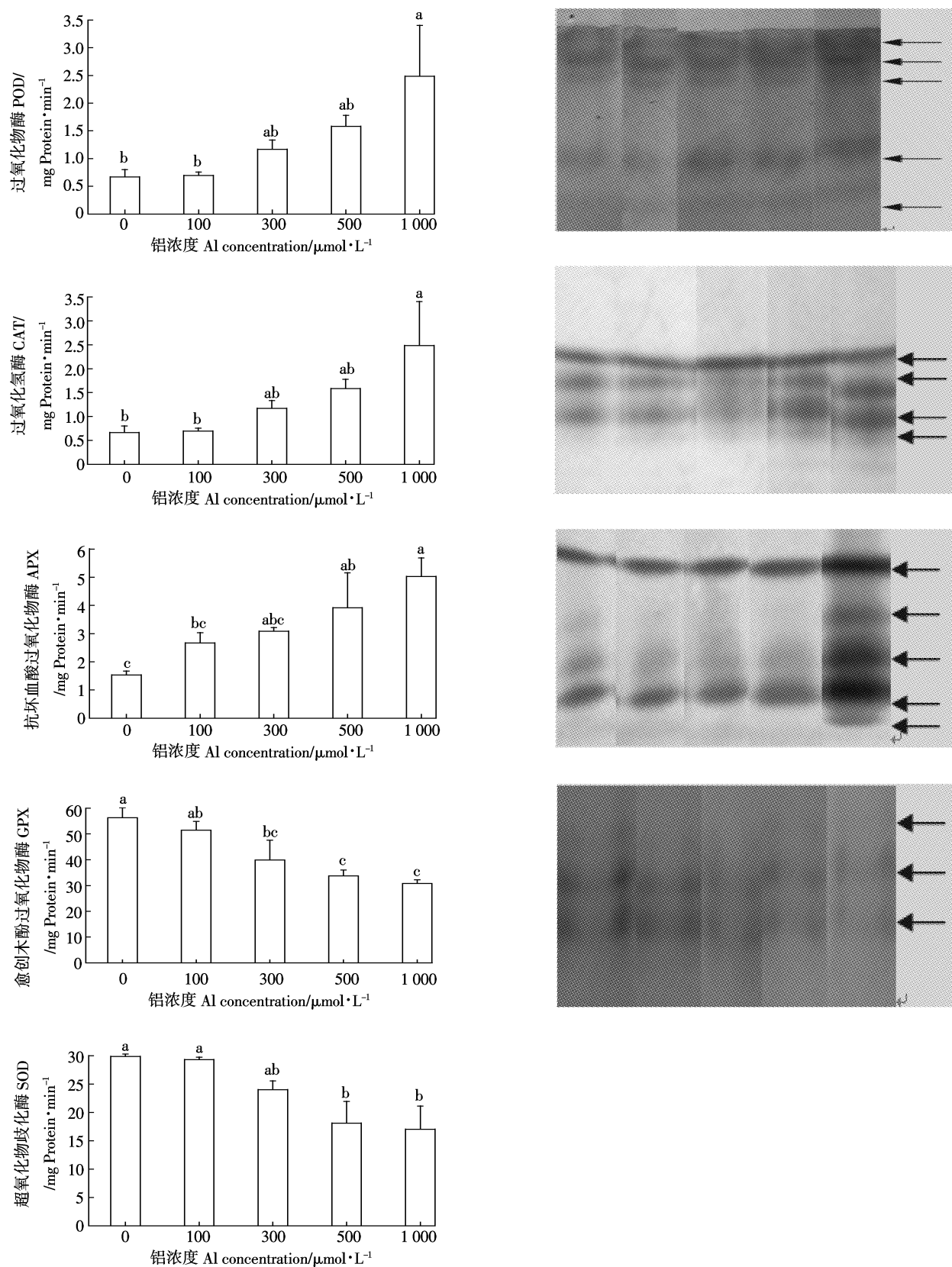
Table 1 Effect of Al on root vigor and plasma membrane permeability of *Trichosathes kirilowii* Maxim

铝处理浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	根系活力/ $\mu\text{g TTC}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	根系质膜透性/%
0	19.35 $\pm$ 0.20d	26.10 $\pm$ 3.49a
100	45.31 $\pm$ 6.88e	29.63 $\pm$ 6.43a
300	79.20 $\pm$ 4.83b	32.67 $\pm$ 10.37a
500	68.32 $\pm$ 6.75bc	36.44 $\pm$ 4.13a
1 000	109.07 $\pm$ 13.61a	35.28 $\pm$ 6.11a

注:同列数据后不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

2.2 铝对栝楼根系过氧化氢含量及抗氧化酶类活性的影响

图 1 显示的是铝对栝楼根系抗氧化酶类活性变化及相应同工酶酶谱的影响。由图 1 可见,栝楼根系 POD 活性随着铝处理浓度的增加呈增强的趋势。铝处理浓度 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 与对照组无显著性差异;当铝处理浓度大于 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,过氧化物酶活性显著提高,与对照形成显著性甚至极显著性差异。从同工酶谱可以看出,梯度处理的同工酶酶带大体相似,对照与铝处理后均有 5 条条带出现,但酶带的活性存在着一定的差异。条带间的酶活性随着铝处理浓度的增加而提高,与酶活测定结果一致。CAT 活性随着铝浓度的增高表现出上升的趋势。100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铝处理与对照无差异;300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铝处理下分别较对照高出 75%、137%,但并未达到显著性差异;铝处理浓度 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时与对照达到显著性差异。由其同工酶谱可以看出,对照组共出现 3 条电泳条带,铝处理后第 4 条条带出现。条带间的酶活存在差异,其差异基本与过氧化氢酶活性高低相对应。随着铝处理浓度的升高,APX 活性呈现出相应的增高趋势。铝处理 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 与对照呈显著性差异。由同工酶谱可以看出,前 4 组均有 4 条电泳条带,当铝浓度达到 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,出现第 5 条条带,条带颜色深浅是酶活性高低的表現,1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的酶活明显高于对照组,与酶活测定结果相一致。GPX 活性随铝处理浓度增高而降低,与前 3 种酶活性变化走势相反。100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 与对照有所差异但未达到显著性,300、500、1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 均与对照成显著性差异。同工酶酶谱出现 3 条条带,条带间的酶活存在差异,总体趋势与酶活测定结果相一致。大体上 SOD 活性随着铝浓度的升高而降低。100 $\mu\text{mol}\cdot$



右侧图是左侧酶的相应同工酶电泳图谱,不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$),下同

图 1 铝胁迫对栝楼根系抗氧化酶活性及其同工酶的影响

Figure 1 Effect of Al on activity and isozyme electrophoresis of antioxidant enzymes of *Trichosathes kirilowii* Maxim

L^{-1} 铝处理下与对照无差异, $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时有差异但未达到显著性, 直至 500 、 $1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 均与对照达到显著性差异。

图2为栝楼根尖的过氧化氢染色的结果, 由左至右铝处理浓度依次为 0 、 100 、 300 、 500 、 $1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由图2可见, 对照的染色颜色最浅, $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铝处理较之对照颜色偏深, $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 较之 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 又深一些。根尖染色越深表明产生的 H_2O_2 越多, 说明铝处理促使栝楼根系产生 H_2O_2 , 并且随着铝处理浓度的增大 H_2O_2 含量增多。

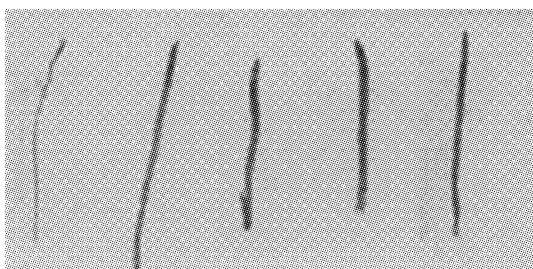


图2 根尖过氧化氢染色结果

(铝处理浓度自左至右依次为 0 、 100 、 300 、 500 、 $1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

Figure 2 Effect of Al on hydrogen peroxide content of *Trichosathes kirilowii* Maxim (Al concentration are 0 , 100 , 300 , 500 , $1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ from left to light)

2.3 铝胁迫对栝楼根尖铝含量的影响

图3显示铝处理对栝楼根尖相对铝含量的影响, 由图3可以看出, 对照组铝处理根尖含铝量极低, 随着铝处理浓度的升高, 栝楼根尖相对铝含量也表现出升高趋势, 在 $1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最高。图4为梯度铝处理下栝楼根尖桑色素染色情况, 可见荧光梯度渐强, 基本上与相对铝含量测定结果相一致; 图5显示的是 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铝处理下根毛区的桑色素染色情况, 可观察到根毛凸起处细胞较之紧密排列的细胞更容易聚集铝。

3 讨论

根系是植物最先感受土壤逆境胁迫信号的器官, 植物接收到逆境信号后会做出相应的反应来适应逆境, 根系活力指数是反映根系生长状况和活力水平的重要指标。本研究中, 在既定处理时间内栝楼根系活力随着铝处理浓度的升高而显著增大(表1), 这与刘国栋等^[19]对玉米的研究结果一致, 表明栝楼根系对 0 ~ $1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Al^{3+} 浓度具有较强的适应能力。此外, 李德华等^[20]的研究证明了根系 TTC 相对还原强度与植物耐铝性具有很好的一致性, 铝处理下玉米耐铝性自交系品种能够表现出较强的 TTC 还原强度。

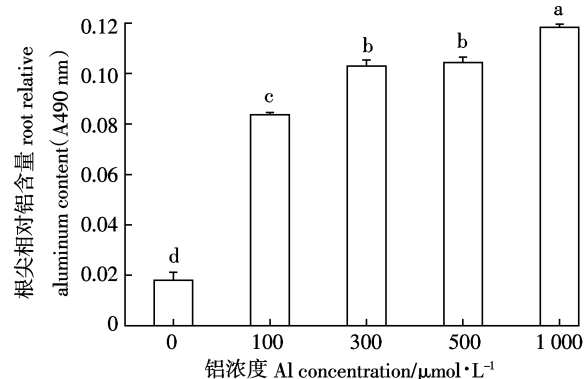


图3 根尖相对铝含量

Figure 3 Effect of Al on root relative aluminum content of *Trichosathes kirilowii* Maxim

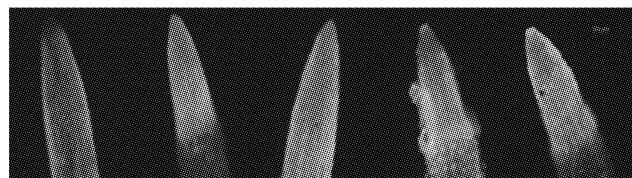


图4 根尖桑色素染色

(铝处理浓度自左至右依次为 0 、 100 、 300 、 500 、 $1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

Figure 4 Morin staining of root (Al concentration are 0 , 100 , 300 , 500 , $1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ from left to light)

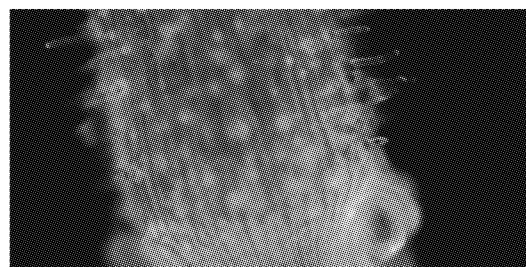


图5 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铝处理下根毛处荧光点

Figure 5 The fluorescence light on root hair at $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Al concentration

质膜是细胞与环境之间的界面与屏障, 胁迫将会导致的质膜损伤与电解质的流出^[21]。本研究中, 栝楼根系质膜透性各组铝处理间无显著性差异(表1), 表明 $1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Al^{3+} 浓度并未对栝楼的质膜造成严重损伤, 这也是植物耐铝的一种表现。

铝胁迫能够引发氧化胁迫, 使活性氧物质如超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)等产生, Yamamoto等^[22]研究认为是铝胁迫影响了线粒体功能, 进而导致 ROS 的产生。小麦^[23]、花生^[24]等作物在短期铝处理后根细胞内 H_2O_2 含量均有显著提高, 与本实验根尖染色结果相一致(图2), 但仅结果不足以证明铝对植物的毒害作用, 有研究推断 H_2O_2 的积累影响根系伸长, 但该推断在本研究中未得到证实。已有研究

证明铝胁迫能够激活抗氧化酶的编码基因,启动酶促反应^[25]。SOD、CAT、POD、APX、GPX 等是植物体内重要的活性氧代谢酶,能够有效清除活性氧。SOD 的功能是催化两个 $O_2 \cdot$ 发生歧化反应,生成 H_2O_2 和 O_2 ; APX 和 GPX 直接将 H_2O_2 还原为 H_2O 和 O_2 ; CAT 通过酶的血红素铁与 H_2O_2 反应生成铁过氧化物活性体,再将 H_2O_2 氧化。POD 的作用具有双重性^[26],在逆境或衰老初期表达,清除 H_2O_2 , 表现为保护效应;在逆境或衰老后期表达,参与活性氧的生成,表现为伤害效应。许多研究表明,不同物种体内抗氧化酶在铝诱导下表现出不同变化趋势,铝胁迫能够提高小麦^[23]、黄瓜^[27]体内 POD、CAT 活性,增强西葫芦^[28]、水稻^[29]、洋葱^[6]等植物体内 APX 活性,与本实验结果一致;铝处理下 GPX 活性在很多植物中表现为增强的趋势^[3,6,30],本实验结果则与之相反;小麦^[23]、黄瓜^[27]体内 SOD 活性在低铝浓度下升高,高铝则对其产生抑制作用,本实验中 SOD 表现为下降趋势。铝诱导植物体内抗氧化酶活性的变化机制十分复杂,同一物种,铝敏感型植株与耐铝性植株体内抗氧化酶活性的表达也不尽相同,每一个物种都有其自身适应胁迫环境的独特方法。高浓度铝处理下栝楼根系 SOD 活性下降,POD、CAT、APX 等负责清除 H_2O_2 的酶活性上升,GPX 活性下降,就本研究所检测的这些抗氧化酶而言,负责清除 H_2O_2 的酶类同工酶电泳检测均有多条酶谱带出现,可以认为是植物本身对铝毒害积极的应对策略,但处理时间过长或铝胁迫强度过大必然会对植物产生毒害作用,使其体内生理系统紊乱,影响其正常生长。

铝对植物的毒害首先表现于根尖,根尖部积累的铝含量在一定程度上可反应植物对铝的耐性高低。Ladislav Tamás 等^[31]观察到 24 h 铝处理下大麦根尖相对铝含量呈上升趋势;Sónia Silva 等^[4]观察到小麦根尖 24 h 铝处理出现细胞壁加厚现象,并且在 24 h 铝处理后放入无铝环境中恢复培养,细胞壁加厚现象并未消失。图 3 中,1 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组根尖相对铝含量分别比 100、300、500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组高出 40.5%、14.6%、13.5%,可见高浓度铝处理并没有使根尖部分相对铝含量大大增多,可能是由于栝楼根系对铝的外排机制或者是细胞壁加厚以此来阻止铝进一步进入共质体对植株造成损害。刘国栋等^[18]的研究表明,玉米耐铝性基因型根部铝含量虽高,但地上部分的铝含量却最少,铝主要集中在根自由空间内;Ma^[32]的研究对此做了进一步说明,因为细胞壁中羧基和磷酸基团

所带的大量负电荷为铝提供了结合位点,所以植物根系积累的铝大部分都结合于质外体上,只有少量进入到共质体。桑色素与铝结合后能产生荧光,而且非常灵敏。本研究利用桑色素染色对栝楼根尖进行观察(图 4),一方面荧光强度梯度呼应根尖相对铝含量测定结果,根尖处细胞铝积累量要明显高于根成熟区细胞,笔者推测可能是由于根尖处细胞壁果胶含量较高,而细胞壁果胶正是根系中铝的主要结合位点^[33];另一方面在 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铝处理下可观察到除了根尖铝的荧光激发外,根毛的着生处的细胞也是铝积累的主要部位(图 5),笔者推测可能是因为根毛细胞凸起在外,暴露在铝处理液中的表面积和体积均较大,所以相对于排列紧密的根尖细胞而言更容易吸收和积累铝。

4 结论

铝处理使栝楼根表铝积累量有所提高,过氧化氢含量升高,对植物有一定的伤害作用,不过根系活力有所增强,根系相对质膜透性无显著影响,根系抗氧化酶相互协调,同工酶谱带丰富,使栝楼在高浓度、长时间铝处理下维持相对健康生长,表明栝楼本身对铝毒害具有较强的适应性。本研究不足之处在于未能解决栝楼在铝胁迫下对土壤中水分及营养元素的利用情况等问题,后续工作中笔者将针对这些问题进行补充研究。

参考文献:

- [1] Kochian L V, Hoekenga A O, Pineros M A. How do plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55:459-493.
- [2] 中国林学会. 酸雨与农业[M]. 北京:中国农业出版社, 1998.
- [3] Meriga B, Reddy B K, Rao K R, et al. Aluminium-induced production of oxygen radicals, lipid peroxidation and DNA damage in seedlings of rice (*Oryza sativa*)[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161:63-68.
- [4] Sónia Silva, Olinda Pinto-Carnide, Paula Martins-Lopes, et al. Differential aluminium changes on nutrient accumulation and root differentiation in an Al sensitive vs. tolerant wheat[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, 68:91-98.
- [5] Bzaki B, Gardner R C, Ezaki Y, et al. Expression of aluminum-induced genes in transgenic *Arabidopsis* plants can ameliorate Al stress and/or oxidative stress[J]. *Plant Physiology*, 2000, 122:657-665.
- [6] V Mohan Murali Achary, Suprava J, Kamal K. et al. Aluminium induced oxidative stress and DNA damage in root cells of *Allium cepa* L.[J]. *Eco-toxicology and Environmental Safety*, 2008(70):300-310.
- [7] 于春兰. 长兴栝楼的土宜条件与产业化布局研究[J]. 中国林副特产, 2006, 4:95-96.

- YU Chun-lan. Soil appropriate conditions and industrialization layouts of Changxing *Trichosanthes kirilowii* Maxim[J]. *Forest By-Product and Speciality in China*, 2006, 4:95-96.
- [8] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003:39-40.
- ZHANG Zhi-liang, ZHAI Wei-jing. Guidebook of phyto-physiology experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 2003:39-40.
- [9] 刘铁铮, 赵习平. 电导法测定杏叶片细胞质膜相对透性的研究[J]. 河北农业科学, 2008, 12(1):33-34.
- LIU Tie-zheng, ZHAO Xi-ping. Study of apricot plasma membrane permeability by electric conductivity method[J]. *Journal of Hebei Agricultural Science*, 2008, 12(1):33-34.
- [10] 周丹丹, 李蜀庆, 吴文卫, 等. 两种过氧化氢酶活性测定方法的比较[J]. 江西农业学报, 2009, 21(1):118-120.
- ZHOU Dan-dan, LI Shu-qing, WU Wen-wei, et al. Comparison of two methods for determination of catalase activity [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2009, 21(1):118-120.
- [11] 孙文全. 联苯胺比色法测定果树过氧化氢酶活性的研究[J]. 果树科学, 1998, 5(3):105-108.
- SUN Wen-quan. Colormetric determination of peroxidase activity in fruit tree with benzidine[J]. *Fruit Science*, 1998, 5(3):105-108.
- [12] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999:315-316.
- Edited by Shanghai Plant Physiology Institute of Chinese Academy of Science, Shanghai Plant Physiology Association. Modern plant physiology experiment guide[M]. Beijing: Science Press, 1999:315-316.
- [13] Boscolo P R, Menossi M, Jorge R A. Aluminum-induced oxidative stress in maize[J]. *Phytochemistry*, 2003, 62:181-189.
- [14] 胡能书, 万国贤. 同工酶技术及其应用[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985:104-105.
- HU Neng-shu, WAN Guo-xian. Isoenzyme technique and application [M]. Changsha: Hunan Science and Technology Press, 1985:104-105.
- [15] Mittler R, Zilinskas B A. Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate dependent reduction of nitroblue tetrazolium[J]. *Anal Biochem*, 1993, 212:540-546.
- [16] Fielding J L, Hall J L. A biochemical and cytochemical study of peroxidase activity in roots of *Pisum sativum*. 1: A comparison of DAB-peroxidase and guaiacol-peroxidase with particular emphasis on the properties of cell wall activity[J]. *J Exp Bot*, 1978, 29:969-981.
- [17] Wang C, Zhang S H, Wang P F, et al. Nitric oxide supplementation alleviates ammonium toxicity in the submerged macrophyte *Hydrilla verticillata* (L. f.) Royle[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2011, 74:67-73.
- [18] Ownby J D. Mechanism of reaction of hematoxylin with aluminium-treated wheat roots[J]. *Physiol Plant*, 1993, 87:371-380.
- [19] 刘国栋, 董任瑞. 玉米耐铝性研究 II. 玉米耐铝机理及培养条件对其耐性的影响[J]. 湖南农学院学报, 1994, 20(1):13-20.
- LIU Guo-dong, DONG Ren-rui. Studies on aluminium tolerance in corn cultivars II. Mechanisms of aluminum tolerance in corn and effects of culture conditions on its tolerance to aluminium[J]. *Journal of Hunan Agricultural College*, 1994, 20(1):13-20.
- [20] 李德华, 贺立源, 刘武定. 玉米根系活力与耐铝性的关系[J]. 中国农学通报, 2004, 20(1):161-164.
- LI De-hua, HE Li-yuan, LIU Wu-ding. The correlation between Al-tolerance and root activity in Maize[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2004, 20(1):161-164.
- [21] 周久亚, 刘建秀, 陈树元. 草坪草抗旱研究概述 [J]. 草业科学, 2002, 19(5):61-66.
- ZHOU Jiu-ya, LIU Jian-xiu, CHEN Shu-yuan. Introduction on progress of turfgrass draught resistance[J]. *Pratacultural Science*, 2002, 19(5):61-66.
- [22] Yamamoto Y, Kobayashi Y, Devi S R, et al. Oxidative stress triggered by aluminum in plant roots[J]. *Plant and Soil*, 2003, 255:239-243.
- [23] 杨野, 郭再华, 耿明建, 等. 铝胁迫下不同耐铝小麦品种活性氧代谢差异及与小麦耐铝性的关系 [J]. 生态环境学报, 2010, 19(1):177-182.
- YANG Ye, GUO Zai-hua, GENG Ming-jian, et al. Active oxygen metabolism differences and Al tolerance of different Al-tolerant wheat under aluminum stress[J]. *Ecology and Environmental Science*, 2010, 19(1):177-182.
- [24] 何龙飞, 黄咏梅, 詹洁, 等. 铝对花生根尖线粒体膜脂过氧化和有机酸分泌的影响[J]. 中国油料作物学报, 2006, 28(3):293-297.
- HE Long-fei, HUANG Yong-mei, ZHAN Jie, et al. Effects of aluminum on membrane peroxidation and organic acid secretion of mitochondria in peanut root tips[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Science*, 2006, 28(3):293-297.
- [25] Ezaki B, Suzuki M, Motoda H, et al. Mechanism of gene expression of Arabidopsis glutathione-S-transferase, AtGST1, and AtGST11 in response to aluminum stress[J]. *Plant Physiol*, 2004, 134:1672-1682.
- [26] 尹永强, 胡建斌, 邓明君. 植物叶片抗氧化系统及其对逆境胁迫的响应研究进展[J]. 中国农学通报, 2007, 23(1):105-110.
- YIN Yong-qiang, HU Jian-bin, DENG Ming-jun. Latest development of antioxidant system and responses to stress in plant leaves[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, 23(1):105-110.
- [27] 蒋永涛, 董现义, 刘传兰, 等. 铝胁迫对黄瓜种子发芽及抗氧化酶活性的影响[J]. 山东农业科学, 2010, 7:32-35.
- JIANG Yong-tao, DONG Xian-yi, LIU Chuan-lan, et al. Effects of aluminum stress on seed germination and antioxidant enzyme activities of *Cucumis sativus* L.[J]. *Shandong Agricultural Science*, 2010, 7:32-35.
- [28] Dipierro N, Mondelli D, Paciolla C, et al. Changes in the ascorbate system in the response of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) roots to aluminium stress[J]. *Plant Physiol*, 2005, 162:529-536.
- [29] Sharma P, Dubey R S. Involvement of oxidative stress and role of antioxidant defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum[J]. *Plant Cell Rep*, 2007, 26:2027-2038.
- [30] Tamas L, Huttova J, Mistrik I, et al. Inhibition of Al-induced root elongation and enhancement of Al-induced peroxidase activity in Al-sensitive and Al-resistant barley cultivars are positively correlated [J]. *Plant Soil*, 2003, 250:193-200.
- [31] Ladislav Tamás, Jana Huttová, Igor Mistrík, et al. Aluminium-induced drought and oxidative stress in barley roots[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2006, 163:781-784.
- [32] Ma J F. Syndrome of aluminum toxicity and diversity of aluminum resistance in higher plants [J]. *International Review of Cytology*, 2007, 246:225-252.
- [33] Chang Y C, Yamamoto Y, Matsumoto H. Accumulation of aluminum in the cell wall pectin in cultured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cell treated with a combination of aluminum and iron[J]. *Plant Cell Environ*, 1999, 22:1009-1017.