

铝胁迫下萹蓄与饭豆根系有机酸分泌特性比较

尤江峰^{1,4}, 张蕾², 杨建立¹, 郑绍建^{3*}

(1 浙江大学环境与资源学院, 浙江杭州 310029; 2 浙江工商大学生物科学系, 浙江杭州 310035;

3 浙江大学生命科学学院, 浙江杭州 310058; 4 吉林大学植物科学学院, 吉林长春 130062)

摘要: 以萹蓄和饭豆为试验材料, 从对 Al 胁迫的响应时间、蛋白质合成抑制剂的影响、体内有机酸含量变化及阴离子通道抑制剂的影响等方面, 比较研究了 Al 诱导根系分泌有机酸的差异, 以进一步明确铝 (Al) 诱导植物根系有机酸分泌的过程。结果表明, 萹蓄根系在 Al 胁迫后 30 min 内分泌出草酸, 而 Al 胁迫至少 4 h 后饭豆根系才开始分泌柠檬酸; 蛋白质合成抑制剂环己亚酰胺 (Cycloheximide, CHM) 不影响萹蓄根系草酸的分泌, 但抑制了 84% Al 诱导的饭豆根系柠檬酸的分泌, 表明前者不需要新蛋白质的诱导合成, 却是后者所必需的。Al 处理不改变萹蓄根尖草酸的含量, 但明显提高了饭豆根尖柠檬酸的含量; 阴离子通道抑制剂苯甲酰甲醛 (Phenylglyoxal, PG) 和蒽-9-羧酸 (Anthracene-9-carboxylic acid, A-9-C) 分别有效抑制 Al 诱导萹蓄根系草酸的分泌及饭豆根系柠檬酸的分泌, 再次证明两者有机酸的分泌是通过某种被 Al 所诱导或激活的阴离子通道所实现的。

关键词: 抗 Al 机理; 蛋白质合成抑制剂; 阴离子通道抑制剂; 有机酸分泌

中图分类号: S159.80 文献标识码: A 文章编号: 1008-505X (2007)03-0485-06

A comparative study on aluminum induced oxalate secretion in *Polygonum aviculare* L and citrate secretion in *Vigna umbellata* [Thunb] Ohwi & Ohashi

YOU Jiang-feng^{1,4}, ZHANG Lei², YANG Jian-li¹, ZHENG Shao-jian^{1,3*}

(1 College of Environment and Resource Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2 Department of Biotechnology,

Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China; 3 College of Life Science, Zhejiang University,

Hangzhou 310058, China; 4 College of Plant Science, Jilin University, Changchun 130062, China)

Abstract: To clarify the processes of aluminum (Al)-induced organic acid anions secretion in different plants with different patterns, the characteristics of Al induced organic acid anions efflux in the roots of rice bean (*Vigna umbellata* [Thunb] Ohwi & Ohashi) and *Polygonum aviculare* L. was investigated. Oxalate secretion in *P. aviculare* roots occurred within 30 min of Al exposure, while citrate secretion in rice bean roots was induced by at least 4 h Al exposure. Therefore, the former was classified to be pattern I, and the latter pattern II. A broad protein-synthesis inhibitor CHM (cycloheximide) had no obvious effect on the Al-induced oxalate secretion in *P. aviculare*, but inhibited the Al-induced citrate secretion in rice bean roots by about 84%. This suggested that novel protein synthesis didn't involved in the Al-induced oxalate secretion in *P. aviculare*, but was essential in regulating the Al-induced citrate secretion in rice bean. Al exposure did not affect the oxalate content in *P. aviculare* root apices, but stimulate citrate synthesis in rice bean. The oxalate secretion in *P. aviculare* was sensitive to anion channel blocker PG (phenylglyoxal) and the citrate secretion in rice bean was sensitive to A-9-C (anthracene-9-carboxylic acid), indicating anion channels involved in organic acids secretion in both plants but their pharmacological properties were different from each other.

Key words: Al resistance mechanism; protein synthesis inhibitor; anion channel blocker; organic acid anion secretion

收稿日期: 2006-03-07 修改稿收到日期: 2006-06-14

作者简介: 尤江峰 (1978-), 女, 内蒙凉城人, 主要从事植物逆境生理研究。Tel: 0431-87835710, E-mail: youjiangfeng@126.com

* 通讯作者 Tel: 0571-88206438, E-mail: sjzheng@zju.edu.cn

铝(Al)毒是影响酸性土壤上作物产量的主要限制因子之一^[1]。一些植物或同一植物的某些品种对Al毒表现出明显抗性,拥有抗Al机制。Taylor^[2]将植物的抗Al机制划分为外部排斥及内部解毒两类;外部排斥的解毒位点是质外体,而内部解毒的解毒位点是共质体。其中,Al诱导植物根系分泌有机酸是迄今为止公认的一种最为重要的外部抗Al机制^[1, 3-6],该机制也是近20年来植物抗Al研究的热点和焦点。通过差减杂交cDNA的方法,Sasaki等^[7]已成功地克隆了第一个编码Al激活苹果酸分泌的转运蛋白的抗Al基因(ALMT1)。将此基因转入对Al敏感的大麦中表达后,大麦能分泌大量的苹果酸,且其抗Al性与获取ALMT1基因的抗性小麦ET8相似^[8]。这进一步地说明Al诱导植物根系分泌有机酸这一抗Al机制的重要性。但关于Al如何调控植物根系分泌有机酸的问题,还没有完全的明确。

在总结阶段性研究成果的基础上,依据Al诱导的有机酸分泌是否具有明显的滞后期,Ma^[6]进一步提出可将Al诱导根系有机酸的分泌划分为两种模式。在模式I中,植物经Al处理后,根系会迅速分泌有机酸,如小麦^[9-10],烟草^[11]和荞麦^[12]等;在模式II中,Al处理数小时后才开始分泌有机酸,如大豆^[13],黑麦^[14],决明^[15]和小黑麦^[16]等。两种模式中,Al诱导有机酸分泌的过程可能不同。据Ma^[6]的推测,在模式I中,Al通过激活预先存在于质膜上的转运体(可能为阴离子通道)而诱导有机酸的分泌;而在模式II中,基因的诱导表达及新蛋白质的合成可能参与到Al诱导有机酸分泌过程中。Yang等^[15]利用蛋白质合成抑制剂研究Al胁迫下分别属于模式I和模式II的荞麦根系草酸的分泌及决明根系柠檬酸的分泌,表明决明根系柠檬酸的分泌中需要合成新的蛋白质;而荞麦根系草酸分泌所需的蛋白质预先存在于细胞膜上,这一实验结果是对上述推测的有力证明。关于新的蛋白质的合成,阴离子通道及根内有机酸的代谢等在有机酸的分泌中所起的作用还需要在更为广泛的植物种类中得以验证。

野生植物篇蓄(*Polygonum aviculare* L)广泛生长于我国南方酸性土壤上,Al胁迫下根系能迅速分泌草酸^[17]。饭豆(*Vigna umbellata* [Thunb] Ohwi & Ohashi)广泛种植于热带和亚热带酸性土壤上,Al处理后,根系可分泌柠檬酸^[18]。本研究以上述两种植物为材料,比较铝胁迫下有机酸分泌的时间响应,利用蛋白质合成抑制剂,阴离子通道抑制剂及测定根尖有机酸含量等方面来系统比较Al诱导植物根系

有机酸分泌特性的差异,以进一步明确有机酸的分泌过程。

1 材料与方法

1.1 植物材料与培养

篇蓄种子收集于浙江省杭州市梅家坞茶园(强酸性土壤,pH 3.5)。种子在1 mol/L HCl溶液中浸泡3 d,然后在自来水中浸泡3 d。待种皮出现裂口,转移至铺有纱布的网眼塑料筐中,将筐悬浮于装有5 L 0.5 mmol/L CaCl₂溶液(pH 4.5)的塑料盆上,用铝箔纸覆盖避光。26℃下培养3 d后,除去铝箔纸,5 d后,将幼苗转移到1/5强度的Hoagland(pH 4.5)营养液中。营养液配方如下:大量营养元素,KNO₃ 1.0 mmol/L、Ca(NO₃)₂ 1.0 mmol/L、MgSO₄ 0.4 mmol/L和(NH₄)₂HPO₄ 0.2 mmol/L;微量营养元素NaFeEDTA 20 μmol/L、H₃BO₃ 3 μmol/L、MnCl₂ 0.5 μmol/L、CuSO₄ 0.2 μmol/L、ZnSO₄ 0.4 μmol/L和(NH₄)₆Mo₇O₂₄ 1 μmol/L。生长20 d后,切取2~3个叶片的侧枝,移植于装有1 L上述营养液(pH 4.5)的塑料钵中(每钵6苗),待扦插茎生根后,继续在营养液中培养,营养液保持24 h通气,每隔一天更换营养液。

饭豆种子收集于浙江省衢州市(酸性土壤地区)。自来水浸种过夜,然后用湿润的双层纱布包裹,置于26℃黑暗条件下催芽。待种子发芽后,转移到网眼塑料筐中,将筐悬浮于装有5 L 0.5 mmol/L CaCl₂溶液(pH 4.5)的塑料盆上。4 d后,将幼苗转移到装有1 L 1/5强度的Hoagland营养液(pH 4.5)的塑料钵中(每钵16苗),每隔一天更换营养液。

篇蓄及饭豆在1/5强度的Hoagland营养液中培养20 d后,将植物移至0.5 mmol/L CaCl₂溶液(pH 4.5)中,过夜,将溶液更换为下述各种处理溶液,所有溶液的pH均为4.5。两种植物均生长于人工气候室内,生长条件为:白天14 h/26℃,夜晚10 h/23℃,光强 photons 250 μmol/(m²·s),相对湿度为70%。

1.2 Al诱导篇蓄和饭豆根系有机酸分泌的时间响应

处理溶液为含50 μmol/L AlCl₃的0.5 mmol/L CaCl₂溶液(pH 4.5)。对于篇蓄,分泌物收集Al处理后的0~0.5 h、0.5~3 h、3~6 h、6~9 h、9~12 h等时间间隔,12 h后将处理液更换为不含AlCl₃的0.5 mmol/L CaCl₂溶液(pH 4.5),3 h后再次收集分泌物;对于饭豆,分别在处理后的0~30 min、30 min

~4 h, 4~8 h 和 8~12 h 等时间间隔收集根系分泌物,然后将处理液更换为 0.5 mmol/L CaCl_2 溶液 (pH 4.5), 4 h 后再次收集分泌物。

1.3 蛋白质合成抑制剂对 Al 诱导蕹蓐和饭豆根系有机酸分泌的影响

处理溶液为含 50 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 的 0.5 mmol/L CaCl_2 溶液和含 50 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 环己酰亚胺 (Cycloheximide, CHM) 的 0.5 mmol/L CaCl_2 溶液。处理后 6 h 收集蕹蓐的根系分泌物; 处理后 12 h 收集饭豆的根系分泌物。

1.4 阴离子通道抑制剂对 Al 诱导蕹蓐和饭豆根系有机酸分泌的影响

采用的阴离子通道抑制剂为蒽-9-羧酸 (Anthracene-9-carboxylic acid, A-9-C) 和苯甲酰甲酰 (Phenylglyoxal, PG)。处理组合为: CK (-Al)、20 $\mu\text{mol/L}$ PG 或 A-9-C、50 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 、50 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 + 20 $\mu\text{mol/L}$ PG 或 A-9-C。背景溶液均为 0.5 mmol/L CaCl_2 。根系分泌物的收集同 1.3。

1.5 Al 对蕹蓐和饭豆根尖有机酸含量的影响

处理液为含 0 或 50 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 的 0.5 mmol/L CaCl_2 溶液 (pH 4.5)。6 h 后, 切取约 1 g (约 200 个) 蕹蓐根尖 (1 cm 长), 按 Zheng 等^[12] 的方法提取草酸。分别于 0、4、8 h 切取 50 个饭豆根尖 (1 cm 长), 按 Yang 等^[13] 的方法提取柠檬酸。

1.6 有机酸的测定

含根系分泌物的溶液或提取物先通过装有 5 g Amerlite IR-120B 型 (H^+ form, Murocachi chemical,

Tokyo, Japan) 阳离子树脂的层析柱 (16 mm \times 14 cm), 再通过装有 2 g Dowex 1 \times 8 型 (100-200 mesh, formate form) 阴离子树脂的层析柱 (16 mm \times 14 cm), 有机酸吸持在阴离子树脂上, 然后用 15 mL 1 mol/L HCl 将有机酸从阴离子树脂柱中洗脱下来。洗脱液在 40 $^\circ\text{C}$ 下减压浓缩至干, 用 1 mL 的 Milli-Q (Bio-Cell) 溶解后, 用于 HPLC 测定。HPLC (Beckman) 测定条件: 色谱柱为离子排斥柱 (Shodex R Spak KC-811, 300 mm \times 8 mm), 前端加一保护柱 (50 mm \times 8 mm), 流动相为 pH 2.1 的稀 HClO_4 溶液, 流速为 0.8 mL/min, 柱温为 40 $^\circ\text{C}$, 检测波长为 210 nm。

2 结果与分析

2.1 Al 胁迫下蕹蓐和饭豆根系有机酸分泌时间的比较

Al 处理 30 min 内, 蕹蓐根系分泌物中就可检测到草酸, 属于典型的模式 I 植物 (图 1A); 饭豆根系需 4 h Al 处理后才能分泌柠檬酸, 属于典型的模式 II 植物 (图 1B)。在 Al 处理的最初 30 min 内, 蕹蓐根系草酸的分泌速度较高, 随后的 Al 处理时间内, 草酸分泌速度趋于平缓。在 Al 处理的 8 h 后检测到柠檬酸的分泌, 随后的 Al 处理时间内, 柠檬酸的分泌速度提高。12 h 后, 将蕹蓐和饭豆根系转移到不含 Al 的 0.5 mmol/L CaCl_2 溶液 (pH 4.5) 中后, 蕹蓐根系草酸的分泌速度明显下降, 而饭豆根系柠檬酸的分泌速度则继续增加 (图 1)。

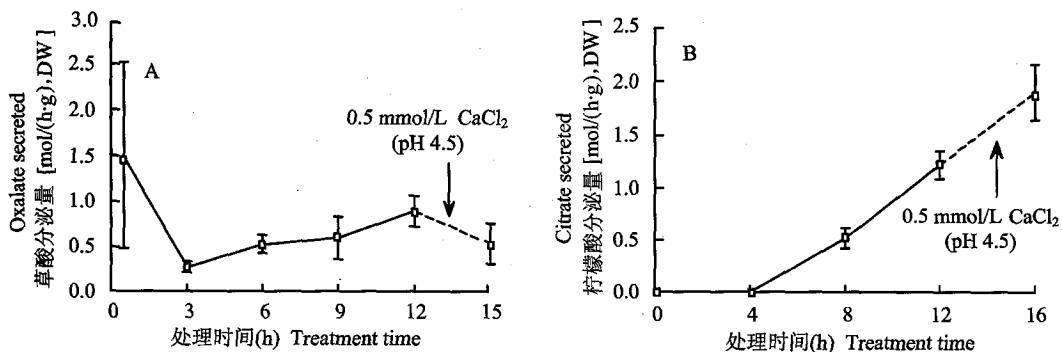


图 1 Al 胁迫下蕹蓐根系草酸分泌 (A) 及饭豆根系柠檬酸分泌 (B) 的时间模式

Fig. 1 Time course of Al-induced oxalate secretion from *P. aviculare* roots (A) and citrate secretion from rice bean roots (B)

2.2 蛋白质合成抑制剂 CHM 对 Al 诱导蕹蓐和饭豆根系有机酸分泌的影响

CHM 为广谱性蛋白质合成抑制剂, 研究表明, 荞麦及决明根系经 CHM 处理 3 h 后, 根尖的总蛋白

含量均明显降低^[15]。本试验发现 CHM 不影响 Al 诱导蕹蓐根系草酸的分泌, 但使 Al 诱导饭豆根系柠檬酸的分泌量下降了 84% (图 2A、B)。

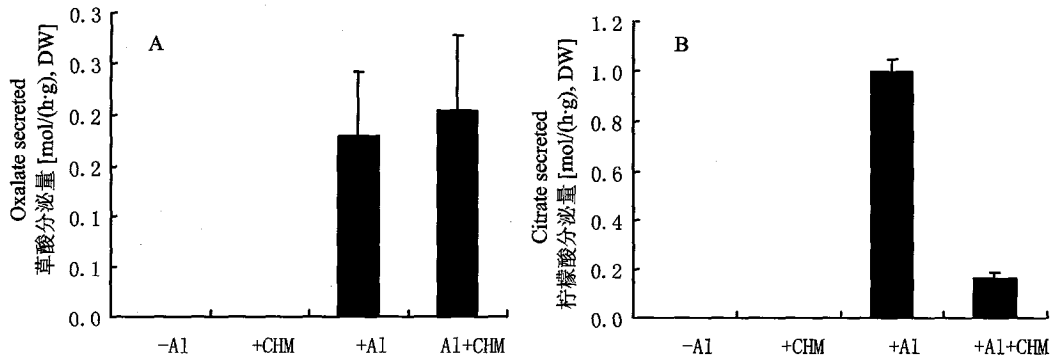


图2 蛋白质合成抑制剂 CHM 对蒺藜根系草酸的分泌(A)及饭豆根系柠檬酸的分泌(B)的影响

Fig.2 Effect of a borad protein - synthesis inhibitor, CHM, on the Al-induced oxalate

secretion from *P. aviculare* roots (A) and Al-induced citrate secretion from rice bean roots (B)

2.3 Al 胁迫对蒺藜和饭豆根内有机酸含量的影响

与对照(-Al)相比, Al 处理(+Al)6 h 后并不影响蒺藜根尖内草酸的含量(图3)。而对于饭豆,在 Al 处理后 4 h(诱导期)及 8 h(分泌期),根尖柠檬酸含量均高于对照,且柠檬酸的含量随 Al 处理时间的延长(0~8 h 内)而增加(图4)。

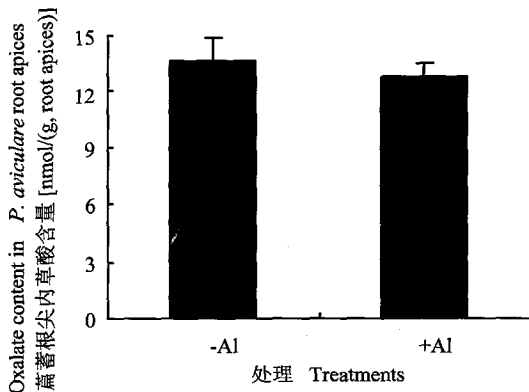


图3 Al 处理对蒺藜根尖草酸含量的影响

Fig.3 Effect of Al treatment on the oxalate content in *P. aviculare* root apices

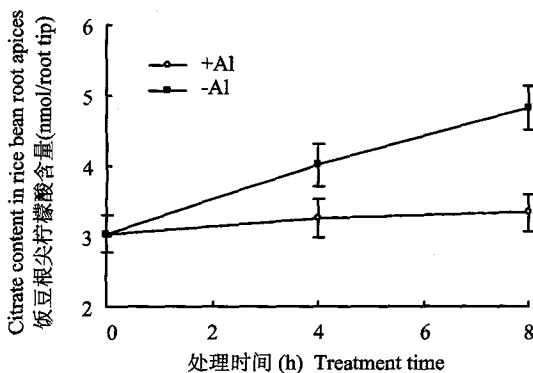


图4 Al 处理对饭豆根尖柠檬酸含量的影响

Fig.4 Effect of Al treatment on the citrate content in rice bean root apices

2.4 阴离子通道抑制剂对 Al 诱导蒺藜和饭豆根系有机酸分泌的影响

20 μmol/L PG 使 Al 诱导蒺藜根系草酸的分泌下降了 56%, 但不影响饭豆根系柠檬酸的分泌; 20 μmol/L A-9-C 抑制了 49% Al 诱导饭豆根系柠檬酸的分泌(图5,6)。表明两种植物有机酸的分泌均有阴离子通道的参与, 两类阴离子通道的药理学性质存在差异。

3 讨论

Al 胁迫下植物根系有机酸分泌的两种模式已在多种植物上得以证实^[6]。本试验中, Al 处理后, 蒺藜根系 30 min 内就分泌草酸, 即没有明显的诱导期, 属于模式 I, 蛋白质合成抑制剂 CHM 不影响 Al 诱导蒺藜根系草酸的分泌; 由此推断, 调控蒺藜根系草酸分泌的因子一直存在于蒺藜根内, 此过程不需要诱导合成新的蛋白质, Al 直接激活了草酸的分泌。Al 诱导饭豆根系柠檬酸的分泌需要至少 4 h 的诱导期, 属于模式 II, 且 CHM 处理明显降低了 Al 诱导的柠檬酸分泌量; 表明新蛋白质的诱导合成是 Al 诱导饭豆根系分泌柠檬酸的必要过程, 当新蛋白质合成受抑时, 柠檬酸分泌也明显受阻(图1,图2)。

蒺藜根尖草酸的含量不受 Al 处理的影响(图3), 因而可能不是调节草酸分泌的关键因素。在另一模式 I 植物小麦中, Al 处理也不影响其根尖与苹果酸代谢紧密相关的苹果酸脱氢酶、磷酸烯醇式脱氢酶的活性^[19]。由此得出, 模式 I 中, 有机酸的代谢在其分泌中所起作用可能不大。但在模式 II 中, 因植物种类不同, 其结果却迥然不同, 因此还不能确定有机酸的代谢在其分泌中所起的作用。例如, Al 处理后, 大豆^[13]和黑麦^[14]根尖柠檬酸合成酶(CS)活性显著提高, 因而根内柠檬酸的合成能力可能是

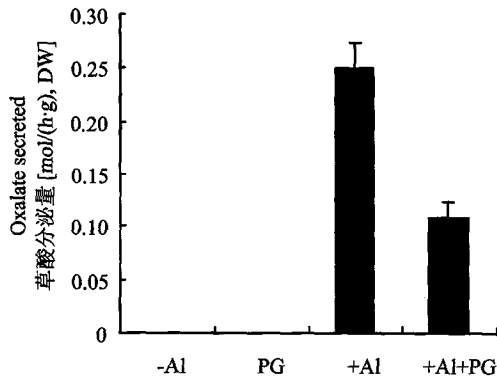


图5 阴离子通道抑制剂 PG 对 Al 诱导萹蓄根系草酸分泌的影响

Fig.5 Effect of anion channel blocker PG on Al-induced oxalate secretion

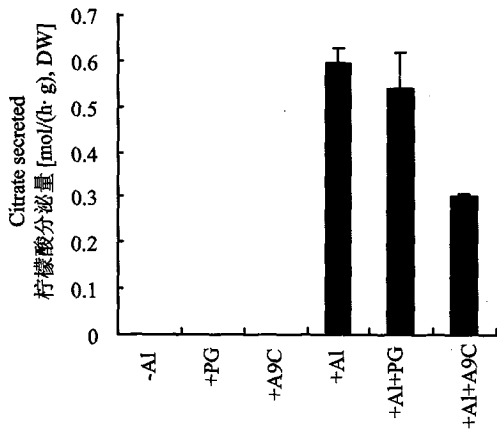


图6 阴离子通道抑制剂 PG 和 A-9-C 对饭豆根系柠檬酸分泌的影响

Fig.6 Effect of anion channel blockers PG and A-9-C on the Al-induced citrate secretion from rice bean roots

调控柠檬酸分泌的关键因素;但 Al 处理不影响决明根尖 CS 的活性^[15]。另外, Hayes 等^[21]发现, Al 处理后小黑麦抗 Al 品系和 Al 敏感品系根内柠檬酸和苹果酸含量及相关酶活性发生相似变化,因而决明和小黑麦根内有机酸的含量及合成能力并不直接调控根系有机酸的分泌。本试验中,饭豆受 Al 胁迫后,无论是柠檬酸分泌的诱导期(4 h)还是分泌期(8 h),根尖柠檬酸含量均高于对照(-Al)处理(图4)。考虑到蛋白合成抑制剂 CHM 可明显降低饭豆柠檬酸的分泌(图2B),我们认为存在两种可能:一是饭豆根尖柠檬酸含量是调控柠檬酸分泌的关键因素, Al 诱导饭豆根尖合成更多的柠檬酸,但只有当柠檬酸含量提高到一个“阈值”后才能开启有机酸的分泌;二是因为在诱导期尽管没有柠檬酸的分泌,但

体内柠檬酸含量已明显增加。因此,根内的柠檬酸含量不是调控分泌的关键因素,而柠檬酸透过细胞质膜的过程才是调控柠檬酸分泌的关键步骤,阴离子通道抑制剂的结果支持了这一观点(图6)。

Al 诱导萹蓄根系草酸的分泌和饭豆根系柠檬酸的分泌均受到阴离子通道抑制剂的抑制(图5,图6),表明两者有机酸的分泌是通过某种被 Al 所诱导或激活的阴离子通道实现的。不同植物根系有机酸的分泌对阴离子通道抑制剂的反应不同。如 Al 诱导小麦根系苹果酸的分泌受 A-9-C 和 NIF 的抑制,却不受 DIDS 的影响^[21]; Al 诱导荞麦根系草酸的分泌受 PG 的抑制,被 NIF 激发,不受 A-9-C 和 DIDS 影响^[10]; Al 诱导大豆根系柠檬酸的分泌受 A-9-C, PG 及 NIF 不同程度的抑制^[23]。本试验结果表明,萹蓄根系草酸的分泌对 PG 敏感(图5),而饭豆根系柠檬酸的分泌对 A-9-C 敏感,对 PG 不敏感(图6)。去除 Al 胁迫后短时间内,萹蓄和饭豆根系仍均有有机酸的分泌(图1A, B),表明阴离子通道一旦被诱导或激活,在一定时间内均能维持活性。Yang 等^[15]证明,荞麦根系草酸通过的阴离子通道蛋白降解时间为至少 9 h,而决明根系柠檬酸通过的阴离子通道蛋白降解时间为 6 h 内。去 Al 后萹蓄根系草酸的分泌呈下降趋势,而饭豆根系柠檬酸的分泌则继续增加,该结果再次证明, Al 直接激活萹蓄根系草酸分泌的阴离子通道,当外界无 Al 信号时,立即减少了阴离子通道激活的频率或密度,而在饭豆中, Al 信号和阴离子通道的激活间需有中间过程的参与,通道感应去 Al 信号需要一定的时间,所以短时间内,饭豆根系柠檬酸分泌量继续增加。

综上所述, Al 胁迫下,萹蓄和饭豆均能分泌有机酸,但在对 Al 胁迫的响应时间、蛋白质合成抑制剂的影响、体内有机酸含量变化及阴离子通道抑制剂的影响等方面均有明显差异,分别属于典型的模式 I 和模式 II 植物。鉴于模式 II 植物铝胁迫诱导分泌有机酸的过程远比模式 I 植物复杂,今后应加强对诱导期内体内生理生化变化、信号传导及基因诱导与表达等过程的研究,以探明模式 II 植物铝诱导分泌有机酸的机理。

参考文献:

- [1] Kochian L V, Hoekenga O A, Piñeros M A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency [J]. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2004, 55: 459-493.
- [2] Taylor G J. Current views of the aluminum stress response: The physiological basis of tolerance [J]. *Curr. Top. Plant Biochem. Physiol.*,

- 1991, 10: 57-93.
- [3] Ryan P R, Delhaize E, Jones D L. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots [J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 2001, 52: 527-60.
- [4] 杨建立, 何云峰, 郑绍建. 植物耐铝机理研究进展[J]. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11(6): 836-845.
Yang J L, He Y F, Zheng S J. Research progresses in aluminum tolerance mechanisms in plants [J]. *Plant Nutr. Fert. Sci.*, 2005, 11(6): 836-845.
- [5] 尤江峰, 杨振明. 铝胁迫下植物根系的有机酸分泌及其解毒机理[J]. *植物生理与分子生物学学报*. 2005, 31(2): 111-118.
You J F, Yang Z M. Organic acid secretion and its detoxification mechanism in plant roots under aluminum stress [J]. *J. Plant Physiol. Mol. Bio.*, 2005, 31(2): 111-118.
- [6] Ma J F. Role of organic acid in detoxification of aluminum in higher plants [J]. *Plant Cell Physiol.*, 2000, 41(4): 383-390.
- [7] Sasaki T, Yamamoto Y, Ezaki B *et al.* A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter [J]. *The Plant J.*, 2004, 37: 645-653.
- [8] Delhaize E, Ryan P R, Hebb D M *et al.* Engineering high-level of aluminum resistance in barley with the ALMT1 gene [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101: 15245-15249.
- [9] Ryan P R, Delhaize E, Randall P J. Malate efflux from root apices and tolerance to aluminum are highly correlated in wheat [J]. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1995, 22: 531-36.
- [10] 杨建立, 俞雪辉, 刘强, 郑绍建. 铝胁迫对小麦根尖细胞蛋白质及苹果酸分泌的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11(3): 390-393.
Yang J L, Yu X H, Liu Q, Zheng S J. Effect of aluminum stress on wheat root tip cytoplasmic proteins and malate efflux [J]. *Plant Nutri. Soil. Ferti. Sci.*, 2005, 11(3): 390-393.
- [11] Delhaize E, Hebb D M, Ryan P R. Expression of a pseudomonas aeruginosa citrate synthase gene in tobacco is not associated with either enhanced citrate accumulation or efflux [J]. *Plant Physiol.*, 2001, 125: 2059-2067.
- [12] Zheng S J, Ma J F, Matsumoto H. High aluminum resistance in buckwheat I. Al-induced specific secretion of oxalic acid from root tips [J]. *Plant Physiol.*, 1998, 117: 745-751.
- [13] Yang Z M, Nian H, Sivaguru M *et al.* Characterization of aluminium-induced citrate secretion in aluminium-induced citrate secretion in aluminium-tolerant soybean (*Glycine max*) plants [J]. *Physiol. Plant*, 113: 64-71.
- [14] Li X F, Ma J F, Matsumoto H. Pattern of aluminum induced secretion of organic acid differs between rye and wheat [J]. *Plant Physiol.*, 2000, 123: 1537-1544.
- [15] Yang J L, Zheng S J, He Y F *et al.* Comparative studies on the effect of a protein-synthesis inhibitor on aluminium-induced secretion of organic acids from *Fagopyrum esculentum* Moench and *Cassia tora* L roots [J]. *Plant Cell Environ.*, 2006, 29: 240-246.
- [16] Ma J F, Taketa S, Yang Z M. Aluminum tolerance genes on the short arm of chromosome 3R are linked to organic acid release in triticale [J]. *Plant Physiol.*, 2000, 122: 687-694.
- [17] You J F, He Y F, Yang J L, Zheng S J. A comparison of aluminum resistance among *Polygonum* species originating on strongly acidic and neutral soils [J]. *Plant Soil*, 2005, 276: 143-151.
- [18] Yang J L, Zhang L, Li Y Y *et al.* Citrate transporters play a critical role in aluminium-stimulated citrate efflux in rice bean (*Vigna umbellata*) roots [J]. *Ann. Bot.*, 2006, 97: 579-584.
- [19] Ryan P R, Delhaize E, Randall P J. Characterization of Al-stimulated efflux of malate from the apices of Al-tolerant wheat roots [J]. *Planta*, 1995, 196: 103-110.
- [20] Hayes J E, Ma J F. Al-induced efflux of organic acid anions is poorly associated with internal organic acid metabolism in triticale roots [J]. *J. Exp. Bot.*, 2003, 54(388): 1753-1759.
- [21] Delhaize E, Ryan P R, Randall P J. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) II. Aluminum-stimulated excretion of malic acid from root apices [J]. *Plant Physiol.*, 1993, 103: 695-702.
- [22] Shen H, Ligaba A, Yamaguchi M *et al.* Effect of K-252a and abscisic acid on the efflux of citrate from soybean roots [J]. *J. Exp. Bot.*, 2004, 55(397): 663-671.