

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201412052

曹华苹, 吴道铭, 甘海华, 等. 铝胁迫对拟南芥根尖 AtPIN2 蛋白表达活性的影响[J]. 广西植物, 2016, 36(1):121-126

CAO HP, WU DM, GAN HH, et al. Effects of aluminum stress on the activity of PIN2 protein in *Arabidopsis thaliana* apical roots[J]. *Guihaia*, 2016, 36(1):121-126

铝胁迫对拟南芥根尖 AtPIN2 蛋白表达活性的影响

曹华苹, 吴道铭, 甘海华, 沈宏*

(华南农业大学农学院, 广州 510642)

摘要: 铝胁迫能影响根尖生长素的运输, 这与生长素运输载体密切相关, PIN2 作为根尖生长素的运输蛋白, 其独特的组织定位可能诱导 PIN2 蛋白参与了铝调节生长素的运输过程。该研究以拟南芥 PIN2 缺失突变体 (*pin2*)、PIN2 $\square::\square$ GFP 融合体及其野生型 (WT) 为材料, 应用激光扫描共聚焦显微技术, 研究铝处理对拟南芥根尖生长素运输蛋白 PIN2 的表达活性、蛋白在组织及亚细胞水平分布及其对铝内置化作用的影响。结果表明: 短期铝处理或低铝浓度能明显增加拟南芥根尖细胞 PIN2 蛋白表达活性, 而长期铝处理或高铝浓度抑制其表达活性; 以 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AlCl₃ 处理 4 h 的蛋白表达活性最高。蛋白印迹反应发现, 铝处理促进 PIN2 蛋白在细胞膜上累积, 减少胞内囊泡中 PIN2 蛋白的含量; 囊泡运输抑制剂 (BFA) 能抑制铝诱导 PIN2 蛋白的分配。铝胁迫增加拟南芥根尖细胞 H₂O₂ 累积, *pin2* 的 H₂O₂ 累积量大于 WT, 而相对根长小于 WT。Morin 染色结果显示, *pin2* 的铝内置化显著小于 WT。上述研究表明, PIN2 蛋白在 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AlCl₃ 处理条件下活性最高, 细胞膜累积程度加强, 铝内置化能力增强, 从而调节根系的生长发育。该研究结果进一步为铝抑制生长素的运输机制提供了理论基础。

关键词: 铝胁迫, 拟南芥, AtPIN2, 表达活性

中图分类号: Q945.78 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2016)01-0121-06

Effects of aluminum stress on the activity of PIN2 protein in *Arabidopsis thaliana* apical roots

CAO Hua-Ping, WU Dao-Ming, GAN Hai-Hua, SHEN Hong*

(College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: There is closely relationship between Al-influenced auxin transport and auxin transporter. PIN2 is an auxin efflux carrier protein, its unique localization may respond to Al-influenced auxin transport. In this study, using *pin2*, PIN2 $\square::\square$ GFP and WT as experimental materials, the effects of Al stress on PIN2 protein activity, distribution and Al internalization were investigated with confocal laser scanning microscope. The results indicated that short-term Al treatment or low Al level increased the activity of PIN2 protein in apical cells of *Arabidopsis* seedlings, while long-term Al treatment or high Al levels inhibited it. The activity of PIN2 protein reached the maximal value in response to 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Al for 4 h. The results from Western-blotting analysis indicated that Al enhanced the accumulation of PIN2 protein on cell membrane, while decreased it in vesicles. Brefeldin A (BFA), an inhibitor of vesicle transport suppressed Al-induced allocation of PIN2 protein. On the other hand, Al stress could increase the accumulation of H₂O₂ in apices. *pin2* had a higher H₂O₂ accumulation and a lower relative root elongation than WT. And the results from Al-Morin stai-

收稿日期: 2014-12-30 修回日期: 2015-03-31

基金项目: 国家自然科学基金(31172026, 31372125) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(31172026, 31372125)].

作者简介: 曹华苹 (1991-), 女, 江西上饶人, 硕士研究生, 主要从事铝毒害相关研究, (E-mail) caohuaping1991@163.com.

*通讯作者: 沈宏, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事植物根层调控原理与技术研究, (E-mail) hshen@scau.edu.cn.

ning analysis indicated that *pin2* had a lower Al internalization than WT. Taken together, the above results suggested that $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Al induced the highest activity of PIN2 protein, and enhanced its accumulation in horizontal direction of plasma membrane and Al internalization, thus mediated root growth. The results would provide scientific basis for elucidating Al-influenced auxin transport.

Key words: aluminum stress, *Arabidopsis thaliana*, AtPIN2, expression activity

铝毒是酸性土壤上限制农作物生长重要的影响因素,植物响应铝毒害的最初反应是根尖伸长受抑制(Delhaize & Ryan, 1995; Kochian et al, 2004)。然而经过多年研究,铝抑制根尖伸长的确切机理尚未完全阐明(Ma et al, 2014)。生长素的合成与运输对根系伸长起了重要作用(Teale et al, 2005)。根尖生长素在PIN蛋白家族(生长素输出蛋白)的作用下,通过向顶运输和向基运输的“伞形”运输,形成根尖的生长素的不对称分布,进一步影响根尖生长(吴道铭等, 2014)。Laxmi et al(2008)认为光照主要是通过调控PIN蛋白的细胞间的分布进而调控根系的生长。铝胁迫能够改变生长素的累积以及分布,并且,这个过程主要是通过生长素运输载体AUX1和PIN2调节(Yuan et al, 2013)。在拟南芥根尖, PIN2蛋白定位于表皮细胞的顶端以及皮层细胞的底端,具有向基以及向顶的生长素运输能力(Blilou et al, 2005; Feraru & Friml, 2008)。铝与PIN2蛋白的相互关系并不清楚。

本研究以拟南芥PIN2基因缺失突变体(*pin2*)、对照野生型(WT)和PIN2□::□GFP融合体为材料,研究了铝胁迫对拟南芥根系生长、根尖PIN2蛋白表达活性及组织分布和PIN2蛋白对铝内置化的影响,以期初步探明铝对PIN2蛋白影响的可能机制,为遗传改良作物耐铝性提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验设计

供试拟南芥材料包括拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) PIN2缺失突变体(*pin2*)、野生型(WT)及PIN2□::□GFP融合体,分别来源于俄亥俄州立大学拟南芥生物资源中心和德国波恩大学细胞与分子植物研究所。在超净工作台内,用灭菌牙签将已消毒的种子均匀地播在1/4 MS培养基(pH 4.5, 含1%葡萄糖)上,然后用Parafilm膜将培养皿密封。待播种完成后,将培养皿垂直放在光照培养箱中生长,生长条件为光照14 h, 22 °C; 黑暗10 h, 18 °C; 光照强

度为 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。试验设置正常对照和铝胁迫2个处理,即拟南芥种子播种在含有0或 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AlCl₃的1/4 MS培养基上生长6~7 d或14 d,然后取拟南芥幼苗根系进行显微观察和测定;或者先将拟南芥幼苗种在1/4 MS培养基上生长6 d,然后放在含有0或 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AlCl₃的 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl₂的溶液中处理一段时间,随后进行显微观察。

1.2 试验方法

铝内置化研究:将铝处理后的拟南芥根系从培养基上轻轻取出,先放在 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl₂溶液静置5 min,清除根系表面的养分离离子或其它杂物,然后放在滤纸上轻轻吸干根表水珠,随后放在 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的Morin染色液中静置,并在减压抽真空条件下放置10 min,以便染色液进入根系细胞内部,随后将根系在 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl₂清洗2次后,用于激光共聚焦显微镜观察。由于Morin荧光物质能与铝结合,在特定条件下发射荧光,根据荧光强度,即可判断进入细胞内铝水平,即铝的内置化。

H₂O₂累积分析:利用根系细胞内H₂O₂与荧光物质H₂DCF-DA结合的原理,将处理后的拟南芥根系放在 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的2',7'-二氯荧光素二乙酸盐(2',7'-dichlorofluorescein diacetate, H₂DCF-DA)溶液中静置处理,并在减压抽真空条件下放置10 min,以便H₂DCF-DA荧光物质充分进入根系细胞内,然后在 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl₂溶液清洗2次,随后放在激光共聚焦显微镜下观察,荧光强度越强,表明H₂O₂含量越高。

激光共聚焦显微观察:拟南芥幼苗处理完毕后,取幼苗根系放置于载玻片上,加1滴去离子水,保持幼苗根尖浸泡在水中,再盖上盖玻片,置于激光共聚焦显微镜(Eclipse 800, 日本)下观察,其中,激发波长为488 nm, Argon激光(1.4 mW)观察。获取典型照片作为该文结果。

蛋白印迹反应:先将拟南芥幼苗种在培养基上生长13~14 d,然后将其转入分别含有 $0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AlCl₃, $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BFA, $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AlCl₃或20

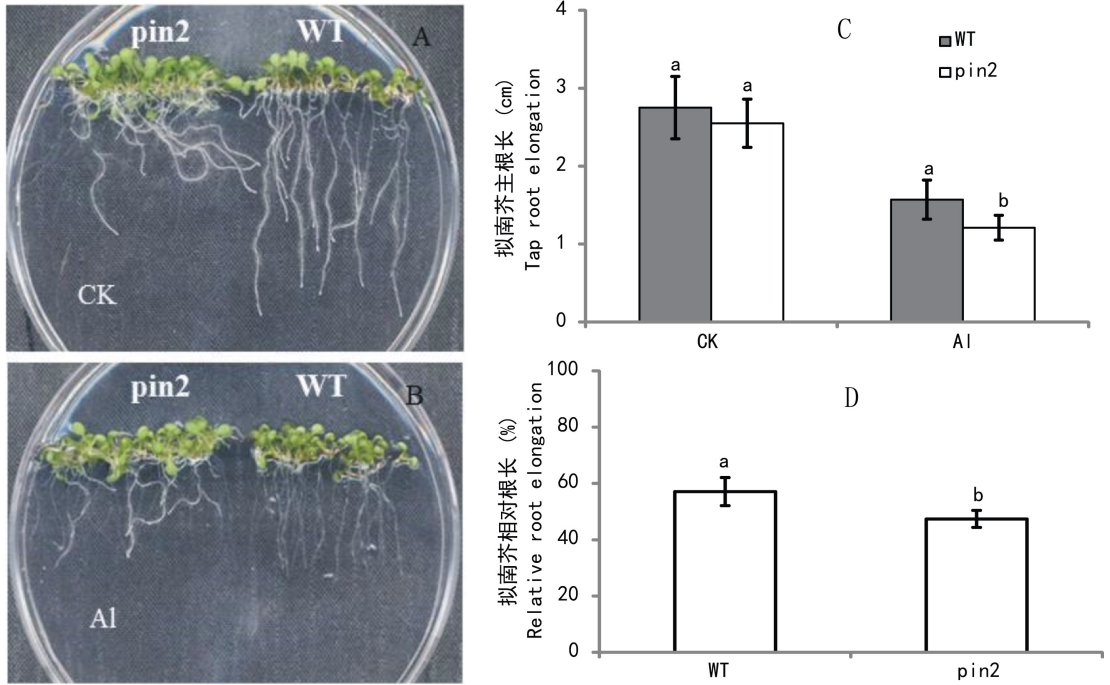


图 1 铝胁迫对拟南芥根系生长的影响 A. 拟南芥在正常生长条件下照片; B. 拟南芥在铝胁迫条件下照片; C. 拟南芥主根长; D. 拟南芥相对根长。数据为均值 \pm 标准误差 ($n=10$), 柱子上字母不同表示不同处理差异达到显著水平 ($P<0.05$)。下同。

Fig. 1 Effects of Al stress on root growth of *Arabidopsis* seedlings A. The control (CK); B. $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{AlCl}_3$; C. Length of tap root; D. Relative root elongation. The data were means \pm SE ($n=10$). Different letters indicate significantly differences at $P<0.05$ level. The same below.

$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{BFA} + 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{AlCl}_3$ 的 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 溶液中处理 2 h, 处理完毕后, 收获根尖 1 cm 的根段, 用 Phase-Partitioning 方法提取根系质膜蛋白和囊泡蛋白。质膜蛋白和囊泡蛋白先溶解在 SDS-loading 缓冲液中, 缓冲液含有 $0.125 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Tris-HCl}$, pH7.4, 10% SDS, 10% 甘油及二硫苏糖醇、溴酚兰、苯甲磺酰氟化物。经 SDS-PAGE 后, 转入去氟 PVP 膜片上, 进行杂交反应。用抗玉米多克隆抗体与膜片杂交, 抗血清溶液用 Tris 缓冲液+Tween 按 1:1 000 稀释使用, 二次抗体检测用 BCIP-NPT 方法进行检测。

1.3 数据分析

所有数据均用 Microsoft Excel 2003 和 SAS 9.2 软件分析, 用 Duncan 法进行检验 ($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 铝胁迫对拟南芥根系生长的影响

图 1 为拟南芥在正常生长和铝胁迫条件下的长势。无论正常生长或铝胁迫处理条件下, *pin2* 根系均呈弯曲生长, 这可能与 *PIN2* 基因缺失、生长素极

性输出受阻, 根系向地性缺失有关; 而 WT 的根系在正常和铝胁迫条件下均垂直向下生长, 具有明显的向地性。有趣的是, *pin2* 在铝胁迫下向地性缺失现象没有正常生长条件下那么严重 (图 1: A, B)。利用直尺测定拟南芥根长, 发现在铝胁迫条件下, WT 的主根根长以及相对根长均显著大于 *pin2* (图 1: C, D), 表明 *pin2* 的耐铝性小于 WT。

2.2 铝胁迫对拟南芥根系 H_2O_2 累积的影响

植物根系在铝胁迫下, 容易遭受氧化胁迫 (Yamamoto et al, 2002, 2003)。荧光物质 $\text{H}_2\text{DCF-DA}$ 与 H_2O_2 结合, 荧光越强指示 H_2O_2 累积更多。图 2 显示, $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Al}$ 处理可明显增加 *pin2* 和 WT 根尖荧光亮度, 其中 *pin2* 的荧光强度较强; 相对荧光强度的结果与上述结果一致。表明铝处理可明显增加 H_2O_2 的累积, 且 *pin2* 的 H_2O_2 累积可能高于 WT。尤其是两材料根系维管束的荧光强度明显高于其它部位, 且根尖、过渡区和伸长区的细胞荧光强度明显高于根系成熟区细胞。

2.3 铝对 *PIN2* 蛋白表达活性的影响

上述结果显示, *PIN2* 蛋白可能参与了拟南芥的耐铝反应。为明确其内在机制, 利用 *PIN2* 蛋白::GFP 表达活性的影响

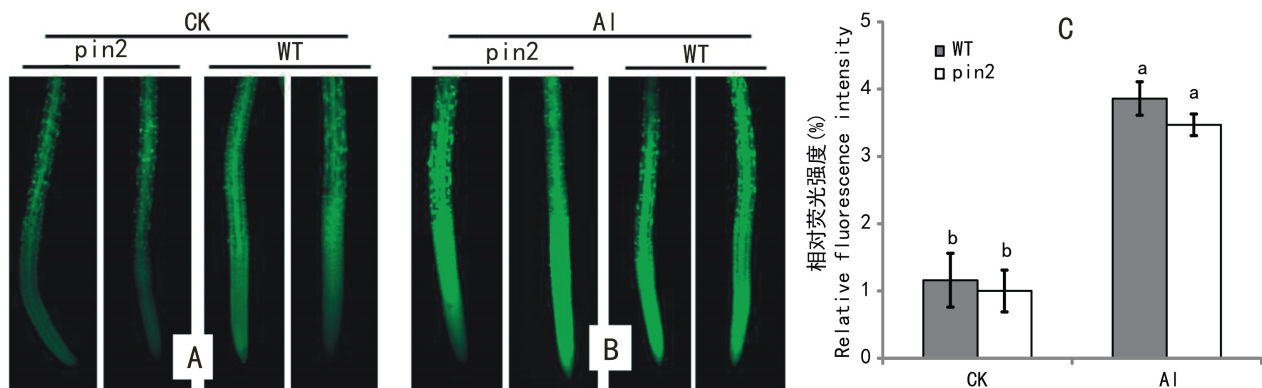


图 2 铝胁迫处理对拟南芥根尖细胞 H_2O_2 累积的影响 A. 正常生长; B. 铝胁迫处理;

C. H_2O_2 相对荧光强度。数据为均值 \pm 标准误差 ($n=3$)。

Fig. 2 Effects of Al on H_2O_2 accumulation in *Arabidopsis* roots A. CK; B. $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{AlCl}_3$;

C. Relative fluorescence intensity of H_2O_2 . The data are means \pm SE ($n=3$).

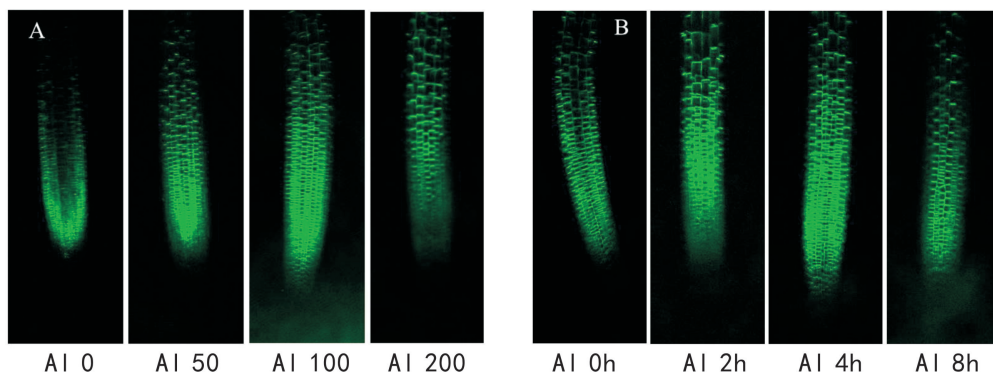


图 3 不同铝处理浓度和时间对 $\text{PIN2} \square :: \square \text{GFP}$ 表达活性的影响 A. 不同铝

处理浓度 ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 4 h); B. 不同铝处理时间 ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, h)。

Fig. 3 Effects of Al concentrations and durations on $\text{PIN2} \square :: \square \text{GFP}$ activity in apical roots

A. Different Al concentrations for 4 h; B. Different Al durations ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{AlCl}_3$, h).

材料,进一步研究了铝胁迫对 PIN2 蛋白表达活性的影响。结果发现, $\text{PIN2} \square :: \square \text{GFP}$ 表达活性主要在拟南芥根系的根尖细胞(如分生区、过渡区和伸长区细胞)表达,成熟区 $\text{PIN2} \square :: \square \text{GFP}$ 表达活性明显低于根尖细胞。在一定的铝处理浓度内, $\text{PIN2} \square :: \square \text{GFP}$ 表达活性随着铝处理水平增加而逐步增加。当铝处理浓度为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、处理时间为 4 h 时, $\text{PIN2} \square :: \square \text{GFP}$ 的活性达最高; $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铝处理 8 h, 或者 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铝处理 4 h, 根尖 $\text{PIN2} \square :: \square \text{GFP}$ 活性下降(图 3)。

2.4 铝对拟南芥根尖细胞 $\text{PIN2} \square :: \square \text{GFP}$ 蛋白累积的影响

从图 4 可以发现,正常生长时, $\text{PIN2} \square :: \square \text{GFP}$ 囊泡蛋白在根尖细胞内形成的点状结构数量多,但点状结构的大小较少,明显小于铝胁迫条件下形成

的点状结构。铝胁迫处理后 ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), $\text{PIN2} \square :: \square \text{GFP}$ 蛋白在细胞膜水平方向上累积较强的荧光,表明铝胁迫诱导了较多的 PIN2 蛋白向细胞膜水平方向累积。

2.5 铝对拟南芥 PIN2 蛋白在细胞膜与细胞膜内分配的影响

蛋白印迹反应通过蛋白质与抗体杂交反应,能较好指示蛋白的表达水平。利用该方法,我们研究了 BFA 和铝胁迫对 PIN2 蛋白表达与分配的影响。图 5 结果显示:与对照(CK)相比, BFA 处理以及 Al+BFA 处理对 PIN2 蛋白在细胞膜与细胞膜内的分配没有明显影响,然而 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{AlCl}_3$ 处理有增加 PIN2 蛋白向细胞膜分配的趋势。上述结果表明 BFA 有抑制铝诱导 PIN2 蛋白在细胞膜上累积的现象。结合图 4 和图 5 的结果可以看出,铝胁迫处

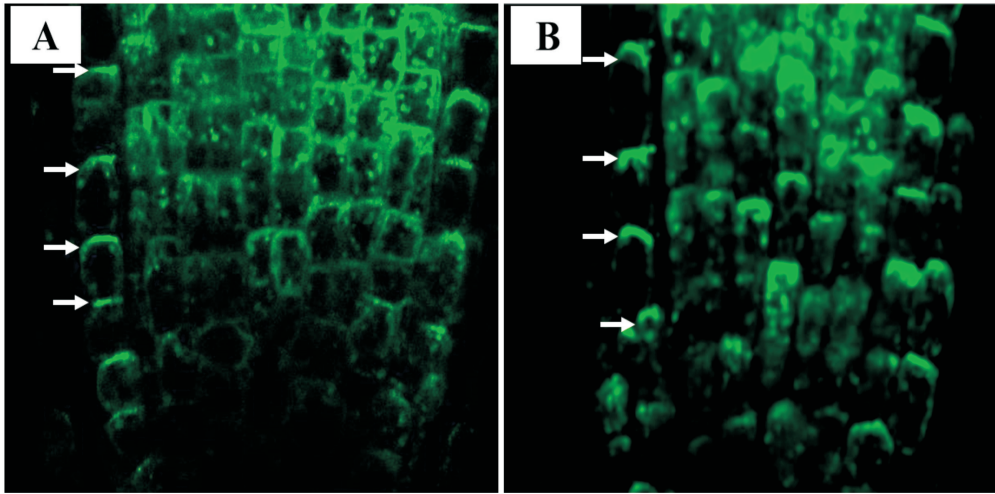


图 4 铝胁迫处理对拟南芥根尖细胞 PIN2::GFP 累积的影响 A. 正常生长; B. 铝胁迫处理。

Fig. 4 Effects of Al stress on PIN2::GFP protein accumulation in apical roots of *Arabidopsis* seedlings
A. The control (CK); B. 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AlCl_3 .

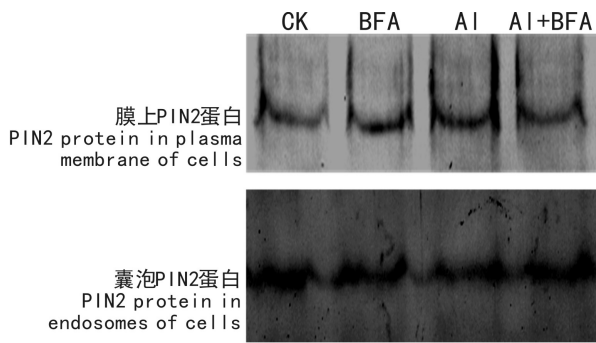


图 5 PIN2 蛋白在细胞膜和囊泡之间的分布 CK. 正常生长条件; BFA. 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BFA; Al. 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AlCl_3 ; Al+BFA. 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BFA + 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AlCl_3 。

Fig. 5 Distribution of PIN2 protein in tissues between plasma membrane and endosomes of cells CK. The control (CK); BFA. 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BFA; Al. 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AlCl_3 ; Al+BFA. 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BFA + 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AlCl_3 .

理不仅影响 PIN2 蛋白表达,还对 PIN2 囊泡蛋白的分配有调节作用。

2.6 铝胁迫对拟南芥根尖细胞铝内置化的影响

Morin 是一种能与铝结合的荧光物质,进入细胞后与铝结合,可指示细胞内铝的分布和累积情况。本实验利用 Morin 的这种特性,研究了铝胁迫下 *pin2* 和 WT 根尖细胞的铝内置化。结果发现 *pin2* 根尖的 Morin 荧光物质主要分布在质外体的细胞间隙(图 6:A),而野生型 WT 的根尖细胞质中明显存在类似囊泡结构的荧光物质,但在质外体空间的荧光亮度较低(图 6:B)。表明 *pin2* 材料累积的铝主要

分布在质外体如细胞壁和细胞膜上,而 WT 累积的铝主要分布在细胞膜内。*PIN2* 基因缺失可能减弱了铝从细胞壁或细胞膜向细胞内的运输,说明 *PIN2* 基因可能调节了细胞壁和细胞膜上累积的铝向细胞内运输,具体调节机制有待进一步研究。

3 讨论与结论

植物根系的生长和发育是一个复杂的生物学过程。生长素,细胞分裂素和赤霉素等植物生长调节物质对植物根系的形态建成意义重大。其中生长素的合成,运输和信号传导在根系生长发育中发挥了重要作用(Saini et al, 2013)。根尖是植物铝毒胁迫的主要位点,铝毒能迅速抑制根尖伸长。早期的研究发现,铝会影响拟南芥根尖 PIN2 蛋白的囊泡运输,进而破坏生长素的极性运输,最终抑制了根系生长(Shen et al, 2008)。本研究通过比较铝胁迫对 *pin2* 和 WT 根系生长的影响,发现铝处理条件下 *pin2* 相对根长小于 WT。 H_2O_2 的荧光染色结果还表明铝胁迫增加拟南芥根尖细胞 H_2O_2 累积, *pin2* 的 H_2O_2 累积量大于 WT。这说明对于铝毒害, *PIN2* 基因缺失突变体比其对照野生型更敏感,也表明 *PIN2* 基因与铝耐性有关。

Abas et al (2006) 研究 PIN2 蛋白介导的根向地性发现,在重力刺激下,无论是用内源启动子还是异源启动子, PIN2 蛋白在根上、下部都会形成不平衡分布,其上部有更多的 PIN2 蛋白被降解,表明 PIN2

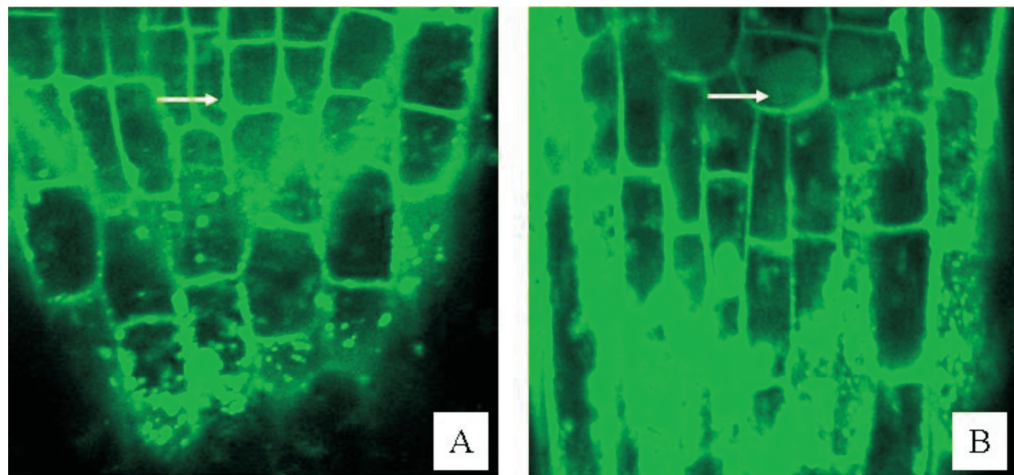


图 6 两个拟南芥材料根尖细胞铝内置化 A. *pin2*; B. WT. 箭头指示铝的内置化。

Fig. 6 Al internalization in apical cells of *Arabidopsis* seedlings A. *pin2*; B. WT. Arrow indicates Al internalization in the cells.

重新排布是由于转录后水平导致的。*pin2* 突变体中 PIN2 蛋白重新分布和降解受到干扰,生长素的分配被破坏,造成根向重力性表型缺失。光照能够调节 PIN2 蛋白的囊泡运输,促进定位于细胞质膜,进而影响根系生长 (Laxmi et al, 2008; Yokawa et al, 2014)。本研究利用激光共聚焦显微镜观察的结果表明, $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铝处理 4 h 能诱导最高的 PIN2 蛋白表达活性,并且铝胁迫诱导了较多的 PIN2 蛋白向细胞膜水平方向累积。本研究蛋白印迹反应还进一步表明,铝处理促进 PIN2 蛋白在细胞膜上累积,减少胞内囊泡中 PIN2 蛋白的含量,而囊泡运输抑制剂 (BFA) 能抑制铝诱导 PIN2 蛋白的分配。这暗示铝胁迫可能通过影响 PIN2 蛋白的分配,从而影响根系内部生长素运输,最终影响根尖伸长。

值得一提的是,本研究借助 Morin 染色,发现在细胞内 WT 累积的铝明显比 *pin2* 的多。这表明 PIN2 基因缺失可能影响了铝的内置化。根尖过渡区是最先接触铝,同时又是对铝最敏感的区域 (Sivaguru & Horst, 1998; Sivaguru et al, 1999)。在这个区域存在较高频率的内吞循环过程,并且铝内置化过程与内吞运输相关 (Illés et al, 2006)。而在拟南芥中 PIN2 蛋白主要定位于这个区域,通过高频率的内吞运输来完成质膜与细胞内部之间循环进一步运输生长素 (Geldner et al, 2003; Baluska et al, 2005, 2010)。这暗示生长素运输蛋白可能直接结合铝,借助生长素向胞内运输途径将铝转运至胞内,这样原本结合在细胞壁或细胞膜上的铝可能借助囊泡的运输,通过“搭便车”的方式内吞进入细胞内部

(Panda et al, 2009)。但具体调节机制还在进一步研究中。总之,本研究表明, PIN2 基因参与了铝胁迫的响应, PIN2 蛋白在铝运输及铝对生长素运输过程中发挥重要作用。

参考文献:

- ABAS L, BENJAMINS R, MALENICA N, et al, 2006. Intracellular trafficking and proteolysis of the *Arabidopsis* auxin-efflux facilitator PIN2 are involved in root gravitropism [J]. *Nat Cell Biol*, 8 (3): 249-256.
- BALUSKA F, MANCUSO S, VOLKMANN D, et al, 2010. Root apex transition zone: a signalling-response nexus in the root [J]. *Trends Plant Sci*, 15 (7): 402-408.
- BALUŠKA F, VOLKMANN D, MENZEL D, 2005. Plant synapses: actin-based domains for cell-to-cell communication [J]. *Trend Plant Sci*, 10: 106-111.
- BLILOU I, XU J, WILDWATER M, et al, 2005. The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots [J]. *Nature*, 433 (7 021): 39-44.
- DELHAIZE E, RYAN PR, 1995. Aluminum toxicity and tolerance in plants [J]. *Plant Physiol*, 107: 315-321.
- FERARU E, FRIML J, 2008. PIN polar targeting [J]. *Plant Physiol*, 147 (4): 1 553-1 559.
- GELDNER N, ANDERS N, WOLTERS H, et al, 2003. The *Arabidopsis* GNOM ARF-GEF mediates endosomal recycling, auxin transport, and auxin-dependent plant growth [J]. *Cell*, 112 (2): 219-230.
- ILLÉS P, SCHLICHT M, PAVLOVKIN J, et al, 2006. Aluminium toxicity in plants: internalization of aluminium into cells of the transition zone in *Arabidopsis* root apices related to changes in plasma membrane potential, endosomal behaviour, and nitric oxide production [J]. *J Exp Bot*, 57 (15): 4 201-4 213.
- KOCHIAN L V, HOEKENGA OA, PIÑEROS MA, 2004. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 55: (下转第 82 页 Continue on page 82)