

*AtPIN2*基因通过影响根尖抗氧化能力参与拟南芥耐铝响应

曹华苹, 吴道铭, 沈宏*

华南农业大学资源环境学院, 广州510642

摘要: PIN2是根尖生长素运输的重要蛋白, *PIN2*基因的差异表达是否影响植物耐铝性并不清楚。本文以不同*AtPIN2*表达水平的拟南芥为材料, 研究了*AtPIN2*差异表达对拟南芥耐铝性的影响。结果表明, 铝处理明显增强拟南芥根尖0~5 mm区域*AtPIN2*基因的转录表达, 与对照相比, 其表达量增加了80%。铝能诱导PIN2蛋白在根尖细胞膜水平方向累积, 并且呈束状分布。通过分析不同*AtPIN2*表达材料的耐铝性, 发现在铝处理条件下, *PIN2*缺失突变体(*pin2-ko*)的根系伸长速率显著小于*PIN2*超表达(*PIN2-OX*)和野生型材料(*Col*); 并且, *pin2-ko*累积较多的活性氧; *pin2-ko*的SOD、CAT和APX活性以及GSH含量均显著低于*PIN2-OX*。上述结果表明, *AtPIN2*表达差异影响拟南芥耐铝性, 敲除*AtPIN2*导致其对铝毒更敏感, 其机理可能是*AtPIN2*通过影响根尖抗氧化能力参与拟南芥耐铝响应。

关键词: 铝胁迫; 拟南芥; *AtPIN2*; 抗氧化能力

AtPIN2 Is Involved in Aluminum Tolerance by Affecting Antioxidant Capacity in the Roots of *Arabidopsis*

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

College of Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract: PIN2 is an important auxin efflux protein. It remains unclear whether differential expression of *AtPIN2* influences aluminum tolerance of *Arabidopsis thaliana*. In this study, the relationship between differential expression of *AtPIN2* and aluminum tolerance was examined using *Arabidopsis PIN2* overexpression line (*PIN2-OX*), *PIN2* knock-out line (*pin2-ko*), and Columbia wild type (*Col*) as materials. Al treatment enhanced the expression of *AtPIN2* in 0–5 mm root tips of *Arabidopsis* seedlings obviously, and its expression was increased by 80% in comparison to the control. Al could induce the accumulation of PIN2 protein in the plasma membrane horizontal direction, and PIN2 protein showed a cluster distribution. Exposure to Al stress, a more serious root inhibition was observed in *pin2-ko* than in *PIN2-OX* and *Col*. *PIN2-OX* had a lower content of H₂O₂ and O₂⁻ than *pin2-ko*. Exposure to Al stress, SOD, CAT and APX activities and GSH content of *pin2-ko* were lower than *PIN2-OX*. These results suggested that differential expression of *AtPIN2* influenced Al tolerance of *Arabidopsis* seedling, *pin2-ko* was more sensitive to Al, and this might be *AtPIN2* involved in aluminum tolerance by affecting antioxidant capacity.

Key words: aluminum stress; *Arabidopsis thaliana*; *AtPIN2*; antioxidant capacity

酸性土壤约占世界潜在可耕地面积的50%, 铝毒害问题在酸性土壤上表现严重并对植物生长造成影响(Kochian等2004)。铝对植物毒害的最初反应是抑制植物根尖伸长(Delhaize和Ryan 1995), 其主要原因是铝抑制了根尖细胞伸长和分化(Poschenrieder等2009)。然而, 诱发活性氧累积同样是铝抑制细胞伸长的重要原因。这主要表现为, 铝胁迫诱发活性氧累积, 导致细胞壁发生氧化甚至木质化(Hossain等2005; Poschenrieder等2009), 或者质膜脂质过氧化和破坏质膜完整性(Yamamoto等2001; Sujkowska-Rybkowska 2012)。为缓解氧

化毒害, 植物会启动自身的抗氧化系统, 如激活超氧化物歧化酶(superoxidase dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)等抗氧化酶系统, 增加抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)和谷胱甘肽(glutathione, GSH)等抗氧化物质(Sujkowska-Rybkowska 2012)。

PIN (PIN-FORMED)蛋白是参与生长素极性运输的重要蛋白(Blilou等2005; 吴道铭等2014)。

收稿 2014-12-04 修定 2015-01-30

资助 国家自然科学基金项目(31172026和31372125)。

* 通讯作者(E-mail: hshen@scau.edu.cn; Tel: 020-28980056)。

研究发现, 铝抑制苜蓿、拟南芥根尖生长均与生长素极性运输有关(Sun等2010; Zhou等2014); 同时, 铝对拟南芥根尖生长素运输的影响可能与铝在分子水平上影响运输载体相关基因PIN2的转录表达有关(Shen等2008; Sun等2010)。Shen等(2008)发现, 铝能够抑制拟南芥根尖PIN2循环和囊泡运输, 进而影响根尖生长素运输, 抑制拟南芥根尖生长。在拟南芥中, PIN蛋白家族存在8个成员, 分别命名为PIN1~PIN8 (Petrasek 2006)。其中, PIN2蛋白是唯一一个特异性定位于根尖分生区和伸长区的表皮和皮层的PIN蛋白, 并负责生长素在皮层的向基运输和在表皮的向顶运输(Blilou等2005; Paponov等2005)。PIN2主要在表层细胞表达; 由于其位于根系的表层, 与其他PINs蛋白(如PIN1、PIN3、PIN4、PIN7等)比较, PIN2蛋白可能更容易、更早感受到铝的毒害作用(Shen等2008; Sun等2010)。在水稻中, 超表达*OsPIN2*能减少铝诱导的活性氧累积, 并对水稻根尖铝的吸收产生影响, 进而提高水稻的耐铝性(Wu等2014)。而对于拟南芥, 超量表达PIN2是否也影响其耐铝性, 目前尚不清楚。本研究以不同*AtPIN2*表达水平拟南芥(*PIN2*超表达材料PIN2-OX、*PIN2*缺失突变体*pin2-ko*和对照野生型Col)为材料, 分析*AtPIN2*的差异表达对拟南芥耐铝性的影响, 并初步探讨其可能的机制。

材料与方 法

1 材料培养

供试拟南芥材料包括拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.) *PIN2*超表达(overexpression of *AtPIN2*, PIN2-OX)、*PIN2*缺失突变体(*AtPIN2* knock out, *pin2-ko*)、对照野生型(*Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia, Col)及*PIN2*绿色荧光(*PIN2::GFP*), 分别来源于俄亥俄州立大学拟南芥生物资源中心[*Arabidopsis* Biological Resource Center (ABRC), Ohio State University]和德国波恩大学细胞与分子植物研究所(Institute of Cellular and Molecular Botany, University of Bonn)。

2 处理设计

拟南芥种子经层积处理和灭菌后, 用灭菌的牙签将种子(Col、PIN2-OX、*pin2-ko*)均匀地播在80目不锈钢筛网上(陈建红和沈宏2007), 或者将种子(Col、*PIN2::GFP*)直接播在MS培养基上。最后

将密封完好的培养盒及培养皿置于光照培养箱内, 培养条件为白天22 °C, 16 h; 晚上18 °C, 8 h; 光照150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。处理设置1: 种子在1/2MS营养液(pH 5.5, 1%葡萄糖)生长6 d后, 再转移到含有0或50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ AlCl_3 的1/4MS营养液(pH 4.5, 1%葡萄糖)处理1 d; 或者在1/6MS (pH 5.5, 1%葡萄糖)培养基上生长6 d, 挑选长势一致的幼苗置于含有0或100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ AlCl_3 的0.2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 溶液(pH 4.5)中处理2 h; 处理设置2: 种子在含有0或50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ AlCl_3 的1/4MS营养液(pH 4.5, 1%葡萄糖)处理7 d。

3 根长与生物量测定

根长测定: 种子生长6 d后, 每个基因型挑选两个培养盒, 每盒保留长势一致的幼苗20株, 铝处理1 d并测定处理前后的根长, 处理后根长与原始根长之差为根伸长量, 相对根长(%)=处理的根伸长量/对照的根伸长量 $\times 100\%$ 。

生物量测定: 铝处理7 d后, 每个处理每个基因型挑选长势一致的幼苗60株, 用万分之一天平称量每20株生物量, 再用刀片切除根部称其地上部生物量, 两者之差为根部生物量。

4 活性氧累积与抗氧化响应检测

活性氧测定: 过氧化氢含量的测定参照Chen和Kao (1999)的方法, 超氧阴离子产生速率参照Elstner和Heupel (1976)的方法。

抗氧化酶活性测定: SOD测定参照Giannopolitis和Ries (1977)的方法, 以抑制氮蓝四唑(NBT)光还原50%所需酶量表示一个酶活单位(U); CAT参照Aebi (1984)的方法, 以每分钟OD₂₄₀变化的0.0436为一个酶活单位(U); APX和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)参照Akbulut和Çakır (2010)的方法, 其中APX以每分钟OD₂₉₀变化的0.0028为一个酶活单位(U), GR以每分钟OD₃₄₀变化的0.00622为一个酶活单位(U)。

抗氧化物质测定: AsA和氧化型抗坏血酸(dihydroascorbate, DHA)含量测定参照Jiang和Zhang (2001)的方法; GSH和氧化型谷胱甘肽(glutathione oxidized, GSSG)含量测定参照Nagalakshmi和Prasad (2001)方法。

5 RNA提取与RT-PCR

Col幼苗处理2 h后, 收获幼苗根系并且在体视镜(SZ760T2LED, 中国)下切取根段0~5 mm和5~10 mm, 并及时用液氮冻存, 用Omega Plant RNA kit试

剂盒抽提RNA、Takara PrimeScript RT Master Mix (Perfect Real Time)反转录cDNA并按Invitrogen公司说明书进行实时定量PCR。*PIN2*基因正向引物为5'-TATCAACACTGCCTAACACG-3',反向引物为5'-GAAGAGATCATTGATGAGGC-3'。内标基因 β -*tubulin*的正反向引物分别为5'-TGGGAACTC-TGCTCATATCT-3'和5'-GAAAGGAATGAG-GTTCACTG-3'。

6 激光共聚焦显微观察

*PIN2::GFP*幼苗处理2 h后,取幼苗根尖置于载玻片上,加1滴50% (V/V)甘油并盖上盖玻片,置于激光共聚焦显微镜(Eclipse 800,日本)下使用488 nm或543 nm Argon激光(1.4 mW)观察。每个处理植株观察量均超过10株,获取典型照片。

实验结果

1 铝对*AtPIN2*基因表达的影响

通过检测铝处理条件下拟南芥根尖不同根段的*AtPIN2*基因表达量,发现铝处理显著增强根尖0~5 mm根段*AtPIN2*基因表达丰度(图1),并且,铝处理后0~5 mm根段*AtPIN2*表达量是对照的1.8倍。然而,铝处理对5~10 mm *AtPIN2*表达没有显著影响。

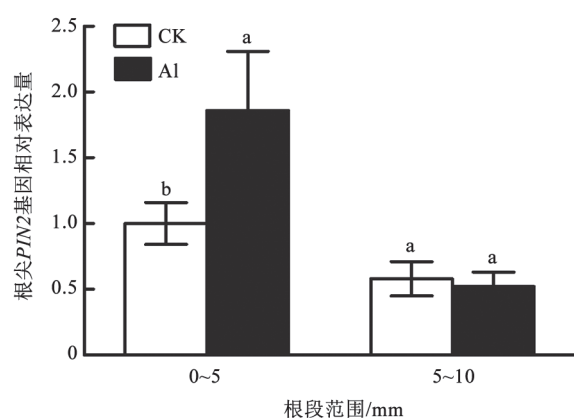


图1 铝处理对野生型拟南芥Col根尖*AtPIN2*基因表达的影响

Fig.1 Effect of Al on *AtPIN2* expression in wild-type seedlings
数据为均值±标准误差($n=3$)。柱子上字母不同表示同一根段不同处理差异达到显著水平($P<0.05$),下同。

2 铝对PIN2蛋白表达的影响

借助*PIN2::GFP*转基因拟南芥材料,铝处理下根尖分生区外皮层PIN2蛋白细胞定位情况得以展

现。与对照比较,铝处理显著抑制*PIN2::GFP*拟南芥的根毛和主根生长(图2-A和B)。激光共聚焦显微结果显示,未进行铝处理,*PIN2*均匀地定位于细胞膜上(图2-C);而经铝处理后,*PIN2*在细胞膜上累积,呈束状分布,并向细胞内扩散(图2-D)。可见铝对根尖分生区外皮层PIN2蛋白的分布产生了影响。

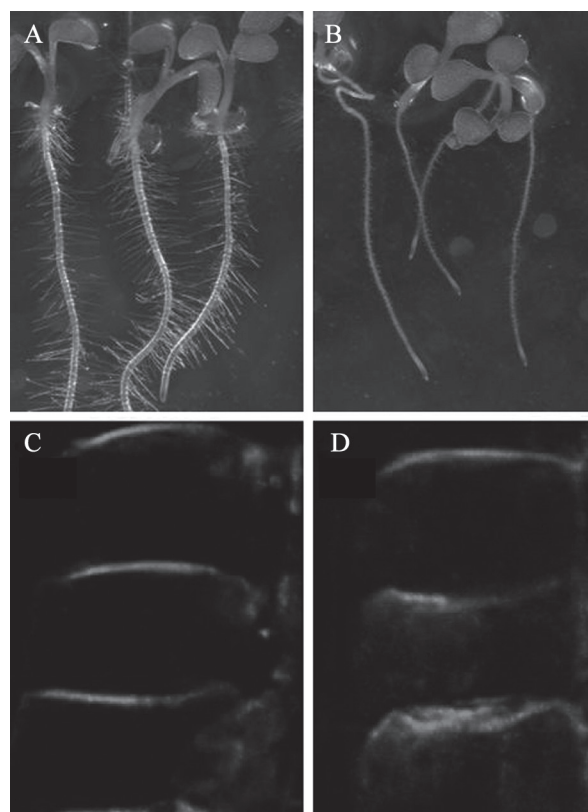


图2 铝对PIN2蛋白定位的影响

Fig.2 Effect of Al on PIN2 protein localization

A和B: *PIN2::GFP*转基因拟南芥根系生长; C和D: 根尖分生区外皮层PIN2蛋白表达。A和C为0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Al^{3+} 处理; B和D为100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Al^{3+} 处理。

3 不同*AtPIN2*表达拟南芥材料的耐铝性

为进一步了解*PIN2*对拟南芥耐铝性的影响,我们比较不同*AtPIN2*表达水平拟南芥材料的耐铝性。与0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Al^{3+} 处理比较,50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Al^{3+} 处理抑制所有基因型拟南芥的根系生长和生物量累积。铝处理1 d, *pin2-ko*、Col和*PIN2-OX*的根系生长均被显著抑制,其相对根长分别为38.0%、49.8%和55.1% (图3), *pin2-ko*的根系生长抑制最明显。三个基因型的地上部生物量在对照条件下无显著差异,铝处理抑制拟南芥地上部生物量,但是

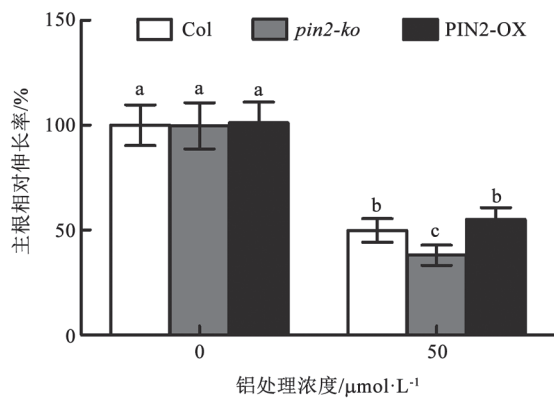


图3 铝处理对拟南芥根系伸长的影响

Fig.3 Effect of Al on root growth in *Arabidopsis* seedlings
数据为均值 \pm 标准误差($n=20$)。

三个基因型之间差异不明显(图4-A)。铝处理显著抑制根系生物量, *pin2-ko*、Col和PIN2-OX的根系生物量分别减少了72.3%、53.3%和48.5% (图4-B),

*pin2-ko*的生物量减少最明显。上述结果表明, *AtPIN2*表达差异影响了拟南芥耐铝性, 敲除*PIN2*基因的拟南芥对铝更加敏感, 而超表达*PIN2*基因在一定程度上提高了拟南芥耐铝性。

4 铝处理对活性氧累积的影响

为初步了解*AtPIN2*表达差异影响拟南芥耐铝性的可能机制, 我们分析了铝胁迫对不同*AtPIN2*表达材料的根系活性氧累积的影响。0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Al^{3+} 处理条件下的三个基因型超氧阴离子产生速率和过氧化氢含量无明显差异, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Al^{3+} 处理显著增强三个基因型的超氧阴离子产生速率和过氧化氢含量, 且PIN2-OX的超氧阴离子产生速率和过氧化氢含量显著低于*pin2-ko* (图5)。 *pin2-ko*、Col和PIN2-OX的超氧阴离子产生速率分别比对照提高了54.9%、42.4%和30.9%, 其中*pin2-ko*显著高于Col和PIN2-OX (图5-A); 过氧化氢含量分别比对照提高了49.0%、41.4%和29.7% (图5-B)。

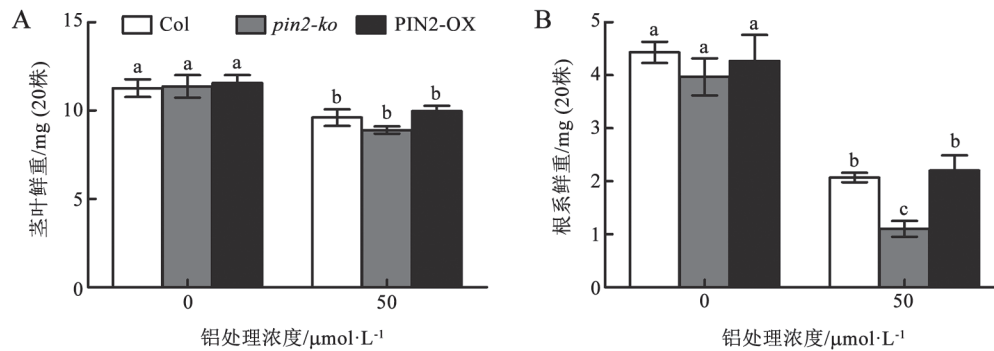


图4 铝处理对拟南芥鲜重的影响

Fig.4 Effect of Al on fresh weight in *Arabidopsis* seedlings

A: 长期铝处理对不同*AtPIN2*表达拟南芥材料茎叶鲜重的影响; B: 根系鲜重。数据为均值 \pm 标准误差($n=3$), 图5~7同此。

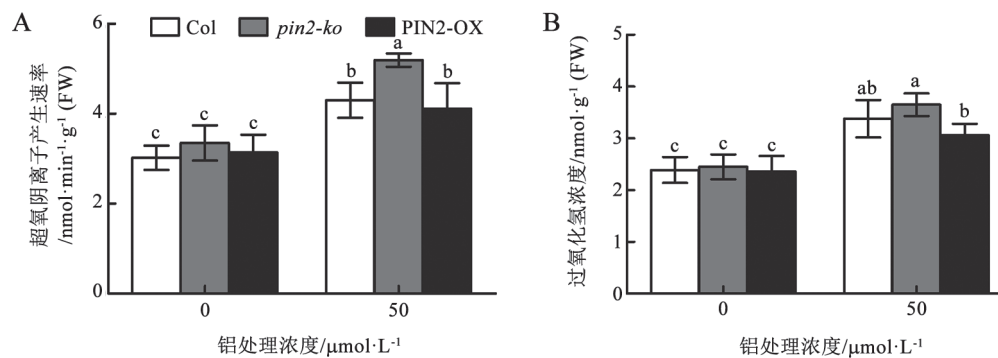


图5 铝处理对拟南芥活性氧累积的影响

Fig.5 Effects of Al on reactive oxygen species accumulation in *Arabidopsis* seedlings

A: 根系超氧阴离子产生速率的影响; B: 根系过氧化氢含量。

5 铝处理后根尖抗氧化酶活性变化

三个基因型拟南芥的SOD、CAT、APX和GR活性在对照中均没有显著性差异。50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Al^{3+} 处理条件下,超表达材料PIN2-OX的SOD、APX和GR活性均显著高于对照的酶活性(图6-A、C和D),而缺失突变体*pin2-ko*仅有APX活性显著性提高(图6-C),相反, CAT活性受到铝胁迫明显下降(图6-B);野生型Col的APX和GR活性均显著提高(图6-C和D)。可见, *AtPIN2*表达差异影响了铝处理条件下拟南芥的抗氧化酶活性,其中*pin2-ko*具有较弱的抗氧化酶活性。

6 铝处理后根尖AsA-GSH代谢变化

AsA-GSH代谢是植物体内重要的抗氧化代谢,其中AsA和GSH是这个代谢中两种关键的非酶类活性氧清除剂。铝处理条件下, *pin2-ko*和Col根系AsA含量显著增加,三种基因型的DHA含量变化不明显,同时,三种基因型的AsA/DHA比值变化均不显著(图7-A、B和C),表明铝处理对三种基因型的AsA-DHA代谢平衡影响不大。铝处理后Col和PIN2-OX的GSSG含量显著减少,但是,三种基因型的GSH含量和GSH/GSSG比值均显著增加,其中

Col和PIN2-OX的变化均比*pin2-ko*显著(图7-D、E和F),表明铝处理影响GSH-GSSG代谢平衡,其中Col和PIN2-OX表现更为明显。

讨论

在拟南芥中, PIN2蛋白特异性定位于根尖分生区到伸长区的表皮和皮层细胞(Blilou等2005),而这些区域是根尖最先接触铝并对铝胁迫作出反应的区域(Sivaguru和Horst 1998)。与Shen等(2008)和Sun等(2010)发现的结果一致,本研究也发现铝处理能显著增强拟南芥根尖0~5 mm根段的*AtPIN2*基因表达(图1),激光共聚焦结果进一步发现铝会增强*PIN2::GFP*表达,并且这种增强作用主要表现在细胞膜水平方向(图2-D)。可见,拟南芥根尖*AtPIN2*在基因表达和蛋白表达及定位上均对铝胁迫作出了响应,表明*AtPIN2*可能影响拟南芥的耐铝性。通过进一步比较不同*AtPIN2*表达水平的拟南芥耐铝性,发现铝处理对三个基因型拟南芥的根系伸长和地上部生长均有影响,其中*pin2-ko*的被抑制效果最显著,而Col和PIN2-OX差异不显著(图3和4),表明*PIN2*基因被敲除后拟南芥对铝更加敏感。

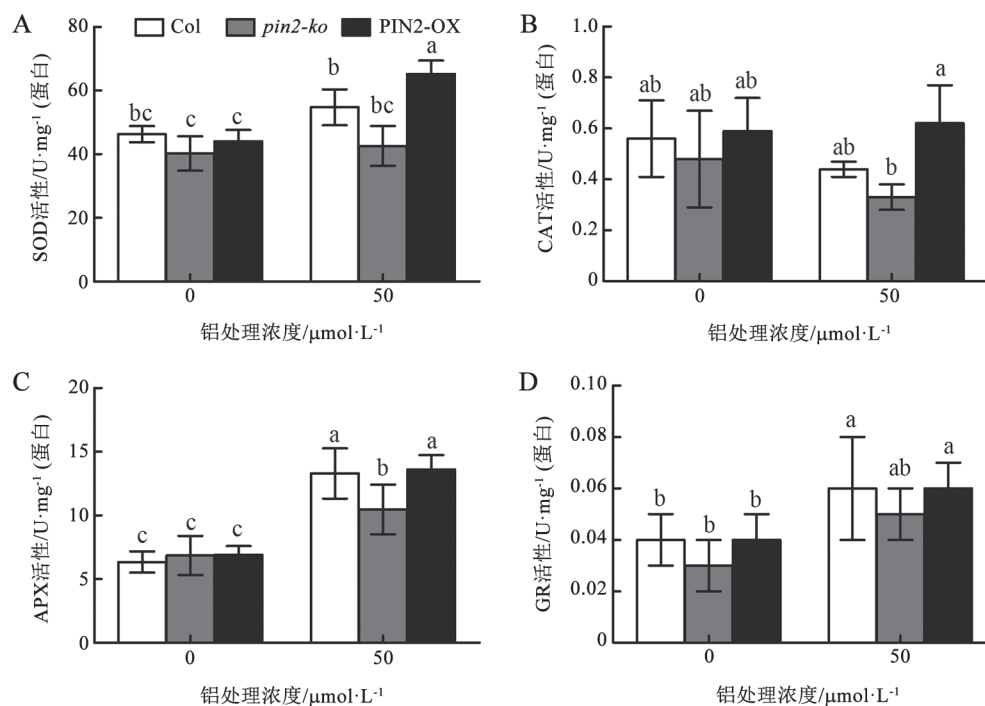


图6 铝处理对拟南芥抗氧化酶的影响

Fig.6 Effects of Al on antioxidant activities in *Arabidopsis* seedlings

A: SOD活性; B: CAT活性; C: APX活性; D: GR活性。

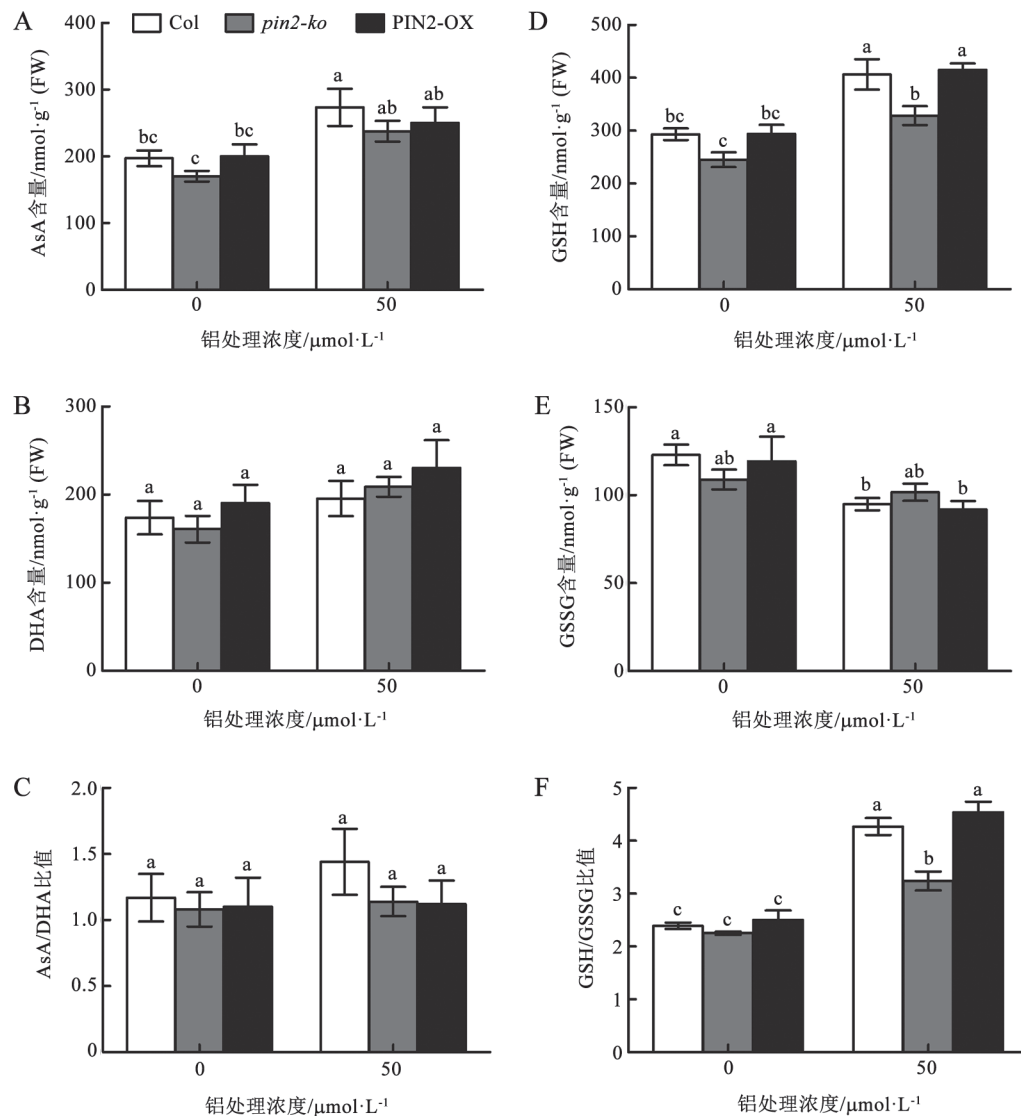


图7 铝处理对拟南芥抗氧化物质的影响

Fig.7 Effects of Al on antioxidant contents in *Arabidopsis* seedlings

A: AsA含量; B: DHA含量; C: AsA/DHA比值; D: GSH含量; E: GSSG含量; F: GSH/GSSG比值。

铝处理会诱发氧化胁迫, 而植物抵御这种氧化胁迫的能力在一定程度上影响着植物的耐铝性。Kobayashi等(2004)发现铝抑制两个豌豆品种根系生长与ROS的产生呈现明显的正相关。Xu等(2012)发现铝胁迫诱导铝敏感型小麦(Yangmai-5)根尖累积更多的过氧化氢和超氧阴离子。我们发现, 铝处理诱导三种基因型的过氧化氢含量增加, 超氧阴离子产生速率增强, 其中*pin2-ko*植株的过氧化氢和超氧阴离子累积均比Col和PIN2-OX多(图5), 表明铝诱导较多的活性氧累积可能是导致*pin2-ko*耐铝能力减弱的重要原因, 而超表达

PIN2-OX植株内部累积较少的活性氧, 受到的毒害较轻。

当植物遭受活性氧伤害时, 其自身会启动防御机制(非酶和酶系统)抵御活性氧毒害, 非酶系统包括GSH、AsA等抗氧化物质; 酶系统主要是SOD、POD、GR、CAT和APX等酶(Teotia和Singh 2014)。在活性氧清除系统中, SOD作为第一道防线, 催化超氧化物转化成过氧化氢; 随后, CAT和APX催化过氧化氢转化成水; 最终, GR在抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统和谷胱甘肽过氧化物酶循环系统中作为还原剂将GSSG还原为GSH, 充当间接

清除过氧化氢的角色(Apel和Hirt 2004; 吴雪霞等2013)。为了减轻铝胁迫诱发的氧化毒害,作物也会启动自身抗氧化系统(Hossain等2005; Matsumoto和Motoda 2013; Liu等2014),抗氧化能力越强的作物耐铝性越强(Ma等2012)。我们进一步发现,受铝处理影响,在三种基因型中,*pin2-ko*表现出较低的SOD、APX和CAT活性;GSH的含量也较低(图6和7)。说明敲除*PIN2*基因后铝胁迫条件下拟南芥的抗氧化能力也有所下降。然而,*AtPIN2*如何影响拟南芥抗氧化能力和活性氧累积呢?生长素和ROS均是重要的信号分子,它们之间存在着相互影响作用(Friml和Wisniewska 2005)。Iglesias等(2010)发现与野生型相比,拟南芥生长素TIR1/AFB受体缺失突变体具有更高的抗氧化能力,表明生长素信号可能参与了拟南芥的抗氧化反应。Krishnamurthy和Rathinasabapathi (2013)则发现生长素及其运输蛋白AUX1可以通过调控ROS信号来提高拟南芥耐受铝胁迫能力。结合铝胁迫会影响根尖生长素运输,导致生长素在根尖累积,影响生长素信号传导(Kollmeier等2000; Shen等2008),我们猜测*AtPIN2*的突变可能进一步影响了铝胁迫条件下的生长素信号传导,进而降低拟南芥根尖对ROS毒害的应答反应,导致其无法正常启动自身抗氧化防御。而超表达*AtPIN2*后可能减少了铝胁迫对生长素信号传递的影响。与此相关的具体机制有待深入研究。

综合上述分析,拟南芥根尖*AtPIN2*参与了铝响应,并且*AtPIN2*的表达差异影响了拟南芥的耐铝性,表现为*PIN2*基因被敲除后拟南芥对铝更为敏感,而超表达*PIN2*基因一定程度上提高了拟南芥耐铝性。其初步机理可能是*AtPIN2*通过参与生长素运输直接或间接影响拟南芥根尖对铝胁迫诱发的氧化毒害应答反应和抗氧化能力,进而影响拟南芥的耐铝性。

参考文献

陈建红,沈宏(2007).一种拟南芥无菌直播水培技术.植物生理学通讯,43(2):348
 吴道铭,曹华苹,沈宏(2014).生长素及其运输蛋白对植物铝胁迫的响应.植物生理学报,50(8):1135~1143
 吴雪霞,查丁石,朱宗文,许爽(2013).外源24-表油菜素内酯对高温胁迫下茄子幼苗生长和抗氧化系统的影响.植物生理学报,49(9):929~934

Aebi H (1984). Catalase *in vitro*. Method Enzymol, 105: 121~126
 Akbulut M, Çakır S (2010). The effects of Se phytotoxicity on the antioxidant systems of leaf tissues in barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. Plant Physiol Bioch, 48 (2): 160~166
 Apel K, Hirt H (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annu Rev Plant Biol, 55 (1): 373~399
 Blilou I, Xu J, Wildwater M, Willemsen V, Paponov I, Friml J, Heidstra R, Aida M, Palme K, Scheres B (2005). The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots. Nature, 433 (7021): 39~44
 Chen L, Kao C (1999). Effect of excess copper on rice leaves: evidence for involvement of lipid peroxidation. Bot Bull Acad Sin, 40 (4): 283~287
 Delhaize E, Ryan PR (1995). Aluminum toxicity and tolerance in plants. Plant Physiol, 107: 315~321
 Elstner EF, Heupel A (1976). Inhibition of nitrite formation from hydroxylammoniumchloride: a simple assay for superoxide dismutase. Anal Biochem, 70 (2): 616~620
 Friml J, Wisniewska J (2005). Auxin as an intercellular signal. In: Fleming AJ (ed). Intercellular Communication in Plants. Boca Raton: CRC Press, 1~26
 Giannopolitis CN, Ries SK (1977). Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. Plant Physiol, 59 (2): 309~314
 Hossain MA, Hossain AZ, Kihara T, Koyama H, Hara T (2005). Aluminum-induced lipid peroxidation and lignin deposition are associated with an increase in H₂O₂ generation in wheat seedlings. Soil Sci Plant Nutr, 51 (2): 223~230
 Iglesias MJ, Terrile MC, Bartoli CG, D Ippólito S, Casalangué CA (2010). Auxin signaling participates in the adaptive response against oxidative stress and salinity by interacting with redox metabolism in *Arabidopsis*. Plant Mol Biol, 74: 215~222
 Jiang MY, Zhang JH (2001). Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. Plant Cell Physiol, 42 (11): 1265~1273
 Kobayashi Y, Yamamoto Y, Matsumoto H (2004). Studies on the mechanism of aluminum tolerance in pea (*Pisum sativum* L.) using aluminum-tolerant cultivar 'Alaska' and aluminum-sensitive cultivar 'Hyogo'. Soil Sci Plant Nutr, 50 (2): 197~204
 Kochian LV, Hoekenga OA, Piñeros MA (2004). How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. Annu Rev Plant Biol, 55: 459~493
 Kollmeier M, Felle HH, Horst WJ (2000). Genotypical differences in aluminum resistance of maize are expressed in the distal part of the transition zone. Is reduced basipetal auxin flow involved in inhibition of root elongation by aluminum? Plant Physiol, 122: 945~956
 Krishnamurthy A, Rathinasabapathi B (2013). Auxin and its transport play a role in plant tolerance to arsenite-induced oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Environ, 36: 1838~1849
 Liu J, Piñeros MA, Kochian LV (2014). The role of aluminum sensing and signaling in plant aluminum resistance. J Integr Plant Biol, 56: 221~230

- Ma BH, Gao L, Zhang HX, Cui J, Shen ZG (2012). Aluminum-induced oxidative stress and changes in antioxidant defenses in the roots of rice varieties differing in Al tolerance. *Plant Cell Rep*, 31 (4): 687~696
- Matsumoto H, Motoda H (2013). Oxidative stress is associated with aluminum toxicity recovery in apex of pea root. *Plant Soil*, 363: 399~410
- Nagalakshmi N, Prasad MNV (2001). Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedesmus bijugatus*. *Plant Sci*, 160 (2): 291~299
- Paponov IA, Teale WD, Trebar M, Blilou K, Palme K (2005). The PIN auxin efflux facilitators: evolutionary and functional perspectives. *Trends Plant Sci*, 10 (4): 170~177
- Petrasek J (2006). PIN proteins perform a rate limiting function in cellular auxin efflux. *Science*, 312 (5775): 914~918
- Poschenrieder C, Amenós M, Corrales I, Doncheva S, Barceló J (2009). Root behavior in response to aluminum toxicity. In: Baluska F (ed). *Plant Environment Interactions, Signaling and Communication in Plants*. Berlin Heidelberg: Springer, 21~43
- Shen H, Hou NY, Schlicht M, Wan Y, Mancuso S, Baluska F (2008). Aluminium toxicity targets PIN2 in *Arabidopsis* root apices: effects on PIN2 endocytosis, vesicular recycling, and polar auxin transport. *Chinese Sci Bull*, 53 (16): 2480~2487
- Sivaguru M, Horst WJ (1998). The distal part of the transition zone is the most aluminum-sensitive apical root zone of maize. *Plant Physiol*, 116: 155~163
- Sujkowska-Rybkowska M (2012). Reactive oxygen species production and antioxidative defense in pea (*Pisum sativum* L.) root nodules after short-term aluminum treatment. *Acta Physiol Plant*, 34 (4): 1387~1400
- Sun P, Tian QY, Chen J, Zhang WH (2010). Aluminium-induced inhibition of root elongation in *Arabidopsis* is mediated by ethylene and auxin. *J Exp Bot*, 61 (2): 347~356
- Teotia S, Singh D (2014). Oxidative stress in plants and its management. In: Gaur RK, Sharma P (eds). *Approaches to Plant Stress and their Management*. India: Springer, 227~253
- Wu DM, Shen H, Yokawa K, Baluska F (2014). Alleviation of aluminium-induced cell rigidity by overexpression of *OsPIN2* in rice roots. *J Exp Bot*, 65 (18): 5305~5315
- Xu FJ, Li G, Jin CW, Liu WJ, Zhang SS, Zhang YS, Lin XY (2012). Aluminum-induced changes in reactive oxygen species accumulation, lipid peroxidation and antioxidant capacity in wheat root tips. *Biol Plant*, 56 (1): 89~96
- Yamamoto Y, Kobayashi Y, Matsumoto H (2001). Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots. *Plant Physiol*, 125 (1): 199~208
- Zhou P, Yang F, Ren XY, Huang BR, An Y (2014). Phytotoxicity of aluminum on root growth and indole-3-acetic acid accumulation and transport in alfalfa roots. *Environ Exp Bot*, 104: 1~8