

铝诱导蚕豆气孔保卫细胞凋亡研究

刘 鑫, 仪慧兰

(山西大学生命科学学院, 太原 030006)

摘 要:植物叶表面的气孔保卫细胞是研究信号转导的模式实验系统,对环境变化反应灵敏而准确,采用蚕豆叶面气孔保卫细胞,研究了铝(AlCl_3)对细胞的毒性效应。结果表明,在 $1\sim 10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内, AlCl_3 可使气孔保卫细胞活性降低,部分细胞死亡,且随着浓度的增高细胞死亡率增高;死细胞呈现核固缩、核降解、凋亡小体等典型凋亡特征。凋亡抑制剂 Z-Asp- CH_2 -DCB 或 TLCK 与 AlCl_3 共同作用时,保卫细胞死亡率显著降低;一定浓度的抗坏血酸(AsA)或过氧化氢酶(CAT)以及 Ca^{2+} 螯合剂乙二醇四乙酸酯(EGTA)或 Ca^{2+} 通道抑制剂 LaCl_3 与 AlCl_3 共同作用时,细胞死亡率降低。研究结果表明,铝诱导的蚕豆保卫细胞死亡可能是一种细胞凋亡过程,由胁迫诱发的活性氧介导,通过激活质膜钙通道,引起胞内 Ca^{2+} 水平改变,进而介导细胞凋亡。

关键词:蚕豆; AlCl_3 ; 保卫细胞; 细胞凋亡

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2010)09-1659-06

Aluminum Induces Apoptosis in *Vicia faba* Guard Cells

LIU Xin, YI Hui-lan

(School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Aluminum (Al) is the most abundant metallic element in the earth's crust. Virtually all food, water, air, and soil contain some aluminum. Since the toxic effect of Al on plants was first discovered in 1918, it has been found that Al is a major factor reducing plant growth and crop production in acid soils. However, the mechanism of Al toxicity is still not completely clear. Stomatal guard cells in the epidermis of plant leaves respond to environment changes sensitively and accurately, commonly used as a model experimental system to study signal transduction. In this study, effect of aluminum on guard cell viability was investigated in *Vicia faba* leaves. Young fully expanded leaves from 4-week-old plants were used as materials. Epidermal strips were obtained by peeling off the lower epidermis from young fully expanded leaves. They were incubated in 2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid (MES) buffer containing some chemicals (AlCl_3 with or without some alle-viants) for 3 h at $23\text{ }^\circ\text{C}$ in white light for the treatment. After then, the strips were stained with fluorescence reagent fluorescein diacetate (FDA), propidium iodide (PI), 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) and fluo-3 acetomethoxyester (Fluo-3 AM), respectively, and observed under a fluorescence microscope. The results of the present study showed that aluminum treatment significantly decreased cell viability and induced cell death at concentrations of 1, 2.5, 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ and 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. A synchronous increase in cell death rate and intercellular ROS and Ca^{2+} levels occurred in *V. faba* guard cells exposure to Al. The dead cells showed typical features of apoptosis, such as nuclear condensation, fragmentation and apoptosis bodies. Z-Asp-2,6-dichlorobenzoyloxymethylketone (Z-Asp- CH_2 -DCB) and N $^\alpha$ -tosyl-Lys-chloromethyl keton (TLCK), two types of specific caspase inhibitors, significantly blocked Al-induced cell death. The occurrence of characteristic features of apoptosis in Al treated guard cells and the blockade of Al-induced cell death by apoptosis inhibitors suggested a programmed cell death caused by Al toxicity. Antioxidant substances ascorbic acid (AsA) and catalase (CAT) significantly inhibited Al-induced cell death and also decreased the intercellular ROS level in Al treated guard cells. Both Ca^{2+} chelating agent ethylene glycol bis(2-aminoethyl) tetraacetic acid (EGTA) and Ca^{2+} channel blocker LaCl_3 significantly decreased the cell death rate and the intercellular Ca^{2+} level caused by Al. These results clearly demonstrated that Al-induced cell death associated with the increases in intercellular ROS and Ca^{2+}

收稿日期: 2010-04-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(30870454, 30470318); 山西省工业攻关项目(20080321084)

作者简介: 刘 鑫(1986—), 女, 山西忻州人, 硕士研究生, 主要从事环境毒理学方面的研究。E-mail: liuxin71625@126.com

通信作者: 仪慧兰 E-mail: yihuilan@yahoo.com.cn

levels. ROS generation, Ca^{2+} influx and intercellular Ca^{2+} level increase involved in the mechanism of Al-induced cell death. Our results suggested that Al-induced cell death in *V. faba* guard cells could be one kind of apoptosis mediated by ROS generation and Ca^{2+} activation under Al stress.

Keywords: *Vicia faba*; aluminum; guard cells; apoptosis

铝是地壳中含量最丰富的金属元素之一,约占地壳总重量的 7%,在自然条件下主要以难溶性的硅酸盐或三氧化二铝的形式存在,生物可利用性很小。但在酸性条件下,难溶性铝会变为可溶性铝,影响植物的生长发育。据统计,全球约有 39.5 亿 hm^2 酸性土壤,其中可耕地面积为 1.79 亿 hm^2 ,占全球耕作土壤的 40%,主要分布在热带、亚热带及温带地区^[1]。我国酸性土壤涉及 14 个省区,总面积达 203 万 hm^2 ,约占耕地面积的 21%^[2]。近年来酸雨的频繁沉降,使土壤、水系酸化,土壤中的铝大量溶出,加重了铝的毒害,我国的酸雨区逐年扩大,覆盖率已占国土面积的 30%。因此,铝毒害受到广泛关注。

自 1918 年 Hartwell 和 Pember 首次发现铝对植物的毒害作用以来^[3],对铝毒性的研究已有 90 多年的历史。研究发现,铝能与细胞壁成分结合,干扰植物对营养物质的吸收和代谢,抑制植株生长发育^[4-5];铝可与质膜上的脂质和膜蛋白结合,也可与胞内的钙调蛋白和酶蛋白等功能蛋白结合,干扰其原有结构和功能,影响其活性^[4,6];铝胁迫使纺锤体结构异常,导致细胞分裂过程中染色体行为异常^[7];铝可能与 DNA 分子结合,阻止其模板活性,影响细胞分裂,干扰细胞周期^[8];铝胁迫诱发胞内自由基爆发,后者进攻生物大分子,使 DNA 分子断裂,导致微核和染色体畸变^[4,8];铝对植物细胞的这些毒害作用最终表现为抑制细胞伸长和分裂,诱导细胞坏死或程序性死亡^[9]。

植物气孔保卫细胞能够感知环境信号,通过调节气孔膨压的变化,使气孔处在合适的开闭状态以适应环境变化^[10-11]。保卫细胞是研究植物细胞接受刺激并作出反应的模式系统^[12],采用叶面气孔保卫细胞研究氰化物和 SO_2 的毒性作用,发现了它们对细胞的致死效应及信号途径^[13-16],说明保卫细胞对环境化学物的毒性具有灵敏的反应。因此,本文以气孔保卫细胞为实验模型,研究铝诱导蚕豆气孔保卫细胞的致死效应,揭示铝毒性作用机理。

1 材料与方法

1.1 实验材料

蚕豆(*Vicia faba* L.)种子经清洗消毒后用自来水

浸种 24 h, 25 °C 湿纱布包裹催芽 2~3 d, 然后播种于较肥沃的营养土中。幼苗生长期每日浇水 1 次, 光暗周期 14 h/10 h, 温度 18~25 °C, 光照强度 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 相对湿度 70%~80%。幼苗长至 3~4 周时用于实验。

1.2 材料处理

取顶端第 2 节完全展开的叶片, 选非叶脉部位用镊子撕取其下表皮, 切成长为 1~1.5 cm, 宽约 0.5 cm 的表皮条, 置于表皮条缓冲液(MES)中。MES 缓冲液含 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl, $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 , $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MES, $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris, pH6.0。

在 MES 缓冲液中加入一定量的 AlCl_3 , 配制浓度分别为 1、2.5、5、10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Al 处理液。缓解组采用一定浓度缓解剂(表 1)与 $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ AlCl_3 同时作用。MES 缓冲液为对照。处理时将表皮条置于不同药物处理液中, 于 23 °C 光照 3 h 后用于检测。

表 1 缓解剂及其浓度

Table 1 Protective agents and their concentrations

缓解剂	缓解剂浓度
Z-Asp-2,6-dichlorobenzoyloxymethylketone (Z-Asp-CH ₂ -DCB)	$0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
N-tosyl-Lys-chloromethylketone (TLCK)	$0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
抗坏血酸 (AsA)	$0.1/1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
过氧化氢酶 (CAT)	$200 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$
乙二醇双四乙酸 (EGTA)	$0.1/1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
LaCl_3	$0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

1.3 指标测定

1.3.1 保卫细胞核形态观察

药物处理后, 表皮条用去离子水冲洗 2~3 次, 甲醇:冰乙酸(V:V, 3:1)固定 2 h, 于 PI 溶液中暗染色, 荧光显微镜下观察保卫细胞核形态。

1.3.2 保卫细胞活性分析

药物处理后的表皮条用去离子水冲洗 2~3 次, $0.1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 FDA 丙酮溶液暗染色 5 min, 荧光显微镜下观察。每处理重复 3 次, 每次观察至少 150 个气孔。保卫细胞死亡率(%)= 死亡保卫细胞数/观察保卫细胞数 $\times 100\%$ 。

1.3.3 保卫细胞内 ROS 及 Ca^{2+} 水平检测

药物处理后, 表皮条于 $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的活性氧荧

光指示剂 2',7'-二氯荧光黄双乙酸酯(2',7'-dichlorofluorescein diacetate, DCFH-DA)溶液中室温下暗孵育 30 min,或于 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 荧光指示剂 Fluo-3 acetoxymethyl ester(Fluo-3 AM)中室温下暗孵育 45 min,用去离子水洗去多余染料,于载玻片上铺展,荧光显微镜下观察并拍照(激发波长 488 nm)。

1.4 数据统计分析

计算每组 3 个重复实验的平均值和标准差, F 检验后,采用 Duncan 方法进行比较,分析不同处理组与对照组之间的差异显著性(* 为 $P < 0.05$, 差异显著; ** 为 $P < 0.01$, 差异极显著)。

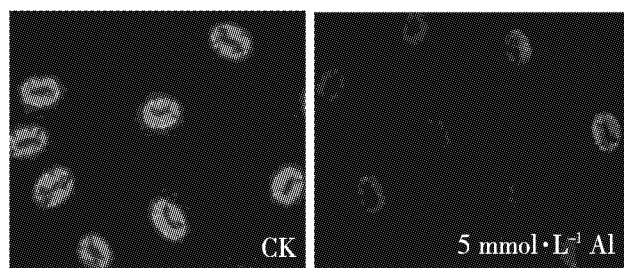
2 结果与分析

2.1 铝对蚕豆保卫细胞的致死效应

表皮条经 FDA 染色, 对照组气孔保卫细胞发出亮绿色荧光, 表明细胞膜完整且活性良好; Al 处理组部分保卫细胞荧光亮度降低, 说明胞内非特异性酯酶活性降低, 不能很好地将 FDA 水解为极性荧光素分子, 还有部分细胞无绿色荧光, 可能是细胞活性丧失所致(图 1)。随着 Al 浓度的增高, 细胞荧光亮度逐渐降低, 无绿色荧光的保卫细胞数逐渐增多, 即死亡细胞比率增高。浓度为 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Al 能显著诱导保卫细胞死亡, Al 浓度 $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 细胞死亡率极显著增高(图 2)。

2.2 铝诱导蚕豆保卫细胞核形态异常

经 PI(propidium iodide)染色后荧光显微镜下观察, 保卫细胞核呈现红色荧光(图 3), 正常的细胞核核质均匀, 而铝处理后部分保卫细胞表现出核固缩、凋亡小体及核降解等典型的细胞凋亡特征, 由此推测铝诱导的保卫细胞死亡过程中可能存在细胞凋亡。



铝处理后保卫细胞活性降低或丧失, 表现为荧光减弱或无荧光。

Guard cells with low viability showed weak green fluorescence after Al treatment. Dead guard cells showed non-fluorescence.

图 1 FDA 染色的蚕豆保卫细胞

Figure 1 *Vicia faba* guard cells stained with FDA

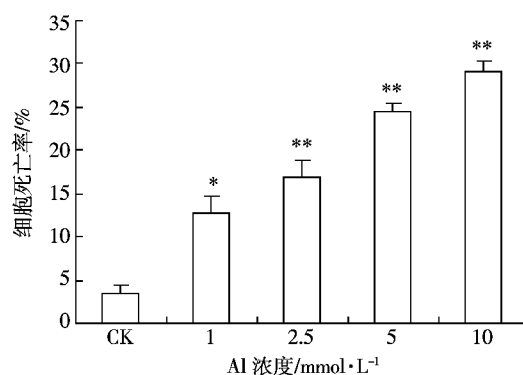
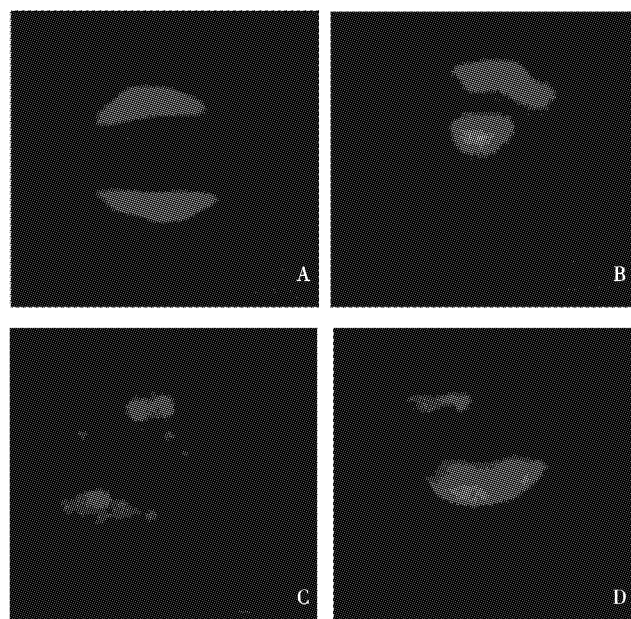


图 2 铝对蚕豆保卫细胞的致死效应

Figure 2 Effect of Al on guard cell death in *Vicia faba*



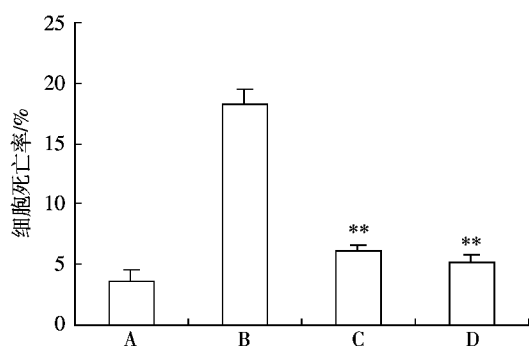
A: 正常细胞核; B: 核固缩; C: 凋亡小体; D: 核降解
A: normal nuclear; B: nuclear condensation; C: apoptosis bodies;
D: nuclear fragmentation

图 3 铝处理组气孔保卫细胞核形态异常

Figure 3 Abnormal nuclear shape in *Vicia faba* guard cells exposure to Al

2.3 TLCK 与 Z-Asp-CH₂-DCB 对铝致蚕豆保卫细胞死亡的缓解作用

丝氨酸蛋白酶抑制剂 TLCK 和泛 Caspase 抑制剂 Z-Asp-CH₂-DCB 与 AlCl_3 共同作用时保卫细胞死亡率降低(图 4)。加入 $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TLCK 或 Z-Asp-CH₂-DCB 与 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Al 同时作用, 保卫细胞活性提高, 死亡率显著降低, 即 TLCK 和 Z-Asp-CH₂-DCB 缓解了铝诱导的细胞死亡。结果表明, 蚕豆保卫细胞中存在类 Caspase 蛋白酶活性, 它参与并执行了 Al 诱导的细胞死亡途径。



A: control; B: 5 mmol·L⁻¹ Al; C: 5 mmol·L⁻¹ Al + 0.5 μmol·L⁻¹ TLCK;
D: 5 mmol·L⁻¹ Al + 0.5 μmol·L⁻¹ Z-Asp-CH₂-DCB

图4 TLCK和Z-Asp-CH₂-DCB对铝致蚕豆保卫细胞死亡的缓解作用

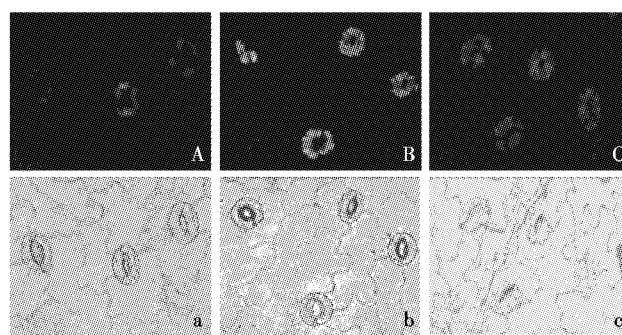
Figure 4 Antagonistic effect of TLCK and Z-Asp-CH₂-DCB on guard cell death induced by Al in *Vicia faba*

2.4 AsA与CAT对铝致蚕豆保卫细胞死亡的缓解作用

用荧光探针 DCFH-DA 标记后,对照组保卫细胞具较弱的绿色荧光,ROS 水平较低;5 mmol·L⁻¹ 的Al处理组细胞荧光明显增强,ROS 水平增高,细胞死亡率升高。在 5 mmol·L⁻¹ 的 Al 处理液中同时加入 1 mmol·L⁻¹ 的 AsA 后,细胞的荧光强度较 Al 处理组减弱(图 5)。加入 0.1 mmol·L⁻¹ 或 1 mmol·L⁻¹ 的 AsA,或 200 U·mL⁻¹ 的 CAT, 能显著降低 Al 处理引起的细胞死亡(图 6)。研究结果表明,Al 处理组细胞内 ROS 水平升高与细胞死亡率升高同时发生,并在加入抗氧化剂 AsA 和 CAT 后同时降低,即 ROS 与 Al 诱导的细胞死亡有关。

2.5 EGTA与LaCl₃对铝致蚕豆保卫细胞死亡的缓解作用

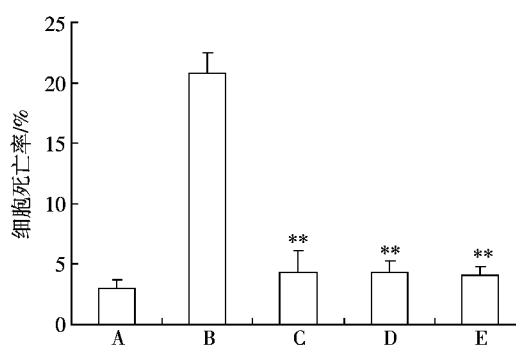
用 Fluo-3 AM 标记后,对照组保卫细胞荧光微弱,且很快淬灭,较多表现为叶绿体自发的红色荧光;5 mmol·L⁻¹ 的 Al 组保卫细胞呈较亮的绿色荧光,胞内钙信号增强,细胞死亡率升高。加入 0.1 mmol·L⁻¹ 的钙离子通道阻断剂 LaCl₃ 与 5 mmol·L⁻¹ 的 Al 共同作用时,胞内钙荧光信号弱于 Al 处理组,即加入 LaCl₃ 降低了胞内 Ca²⁺水平(图 7)。在 Al 处理液中加入 0.1 mmol·L⁻¹ 或 1 mmol·L⁻¹ 的钙离子螯合剂 EGTA,或 0.1 mmol·L⁻¹ 的 LaCl₃,能显著降低 Al 处理引起的细胞死亡(图 8)。研究结果表明,Al 处理组保卫细胞内 Ca²⁺水平升高与细胞死亡率升高同时发生,并在加入 EGTA 或 LaCl₃ 后同时降低,说明胞外钙内流和胞内Ca²⁺水平升高在 Al 诱导的细胞死亡过程中发挥了重要作用。



A/a: control; B/b: 5 mmol·L⁻¹ Al; C/c: 5 mmol·L⁻¹ Al + 0.1 mmol·L⁻¹ AsA

图5 蚕豆保卫细胞内 ROS 水平

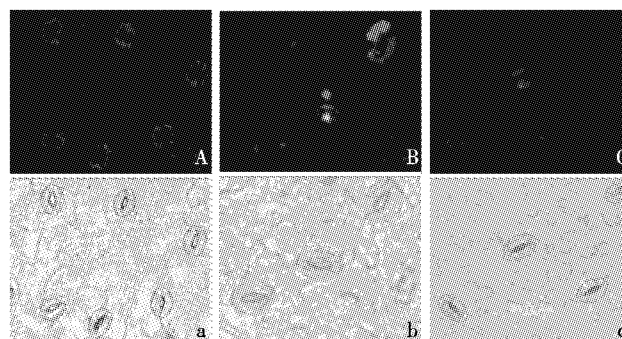
Figure 5 ROS level in *Vicia faba* guard cells



A: control; B: 5 mmol·L⁻¹ Al; C: 5 mmol·L⁻¹ Al + 0.1 mmol·L⁻¹ AsA;
D: 5 mmol·L⁻¹ Al + 1 mmol·L⁻¹ AsA; E: 5 mmol·L⁻¹ Al + 200 U·mL⁻¹ CAT

图6 AsA与CAT对铝致蚕豆细胞死亡的缓解作用

Figure 6 Protective effect of AsA and CAT against Al-induced cell death in *Vicia faba*



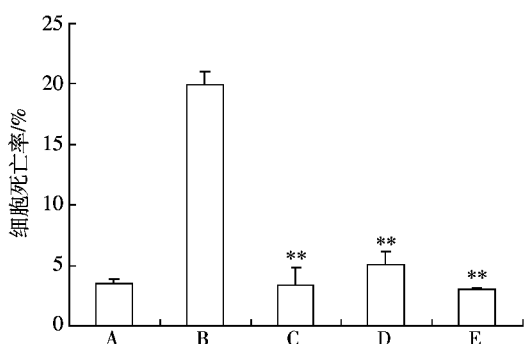
A/a: control; B/b: 5 mmol·L⁻¹ Al; C/c: 5 mmol·L⁻¹ Al + 0.1 mmol·L⁻¹ LaCl₃

图7 蚕豆保卫细胞内 Ca²⁺水平

Figure 7 Ca²⁺ level in *Vicia faba* guard cells

3 讨论

铝对植物细胞的毒性作用包括营养元素吸收干扰、生物大分子结构损伤、细胞功能紊乱等诸多方面。



A: control; B: $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Al; C: $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Al + $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ LaCl_3 ; D: $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Al + $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EGTA; E: $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Al + $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EGTA

图8 EGTA与 LaCl_3 对铝致蚕豆细胞死亡的缓解作用

Figure 8 Protective effect of EGTA and LaCl_3 against Al-induced cell death in *Vicia faba*

铝处理诱导的细胞凋亡已在大麦根尖细胞、烟草悬浮培养细胞等多种植物细胞中发现^[9,17]。Caspases活性是反映细胞凋亡的标志,已证实植物细胞中存在类Caspases活性。Caspases抑制剂如E64、AEBSF、TPCK、TLCK、leupeptin、Z-Asp- CH_2 -DCB等可以不同程度地抑制细胞死亡^[18]。泛Caspases抑制剂Z-Asp- CH_2 -DCB和丝氨酸/半胱氨酸蛋白酶抑制剂TPCK能抑制镉和铝诱导的番茄悬浮培养细胞凋亡^[19-20]。本研究中,Z-Asp- CH_2 -DCB和TLCK与铝处理液同时作用后,蚕豆细胞死亡率明显下降,说明类Caspase蛋白酶参与了铝诱导的蚕豆保卫细胞死亡,植物细胞可通过激活类Caspase蛋白酶来执行细胞凋亡。结合PI染色后铝处理组保卫细胞中出现的核固缩、核降解及凋亡小体等典型凋亡特征,我们认为铝诱导的蚕豆保卫细胞死亡中存在凋亡过程。

动物细胞凋亡通常由胞内ROS和 Ca^{2+} 两种重要的信号介导^[21],植物中也存在着相似的机制,胞内ROS和 Ca^{2+} 水平的骤升被认为是细胞凋亡的诱因。本研究中,铝能诱导蚕豆保卫细胞产生活性氧,且铝诱导的细胞死亡与胁迫诱导的活性氧水平增高有关,与前人报道的铝诱导大麦根尖细胞和番茄悬浮细胞凋亡中ROS增加^[9,20]的结果一致,表明ROS可能作为蚕豆保卫细胞内的信号分子参与了铝诱导的细胞凋亡途径。铝处理组保卫细胞内 Ca^{2+} 水平升高伴随细胞死亡发生,加入EGTA螯合细胞外 Ca^{2+} 阻止胞外 Ca^{2+} 内流,或加入 Ca^{2+} 通道特异性抑制剂 LaCl_3 阻止外源 Ca^{2+} 进入细胞,从而维持了胁迫时较低的胞内 Ca^{2+} 水平,可使细胞死亡率下降,说明胞内 Ca^{2+} 信号参与调节铝诱导的保卫细胞凋亡。Yakimova等用 LaCl_3

缓解了铝诱导的番茄悬浮培养细胞凋亡^[20],与本实验结果一致。

Pei等报道 H_2O_2 可以激活保卫细胞质膜 Ca^{2+} 通道,促使胞外 Ca^{2+} 内流,引起胞内 Ca^{2+} 水平变化,导致细胞死亡^[22]。本研究也表明, LaCl_3 能有效抑制 H_2O_2 诱发的保卫细胞死亡(另文发表),证实了 H_2O_2 介导的 Ca^{2+} 激活,及 Ca^{2+} 信号对植物细胞死亡的调节作用^[15-16]。据此推测,铝胁迫导致保卫细胞ROS爆发,继而诱导蚕豆细胞死亡有3种途径:(1)ROS直接攻击DNA、蛋白质等生物大分子,引起膜脂过氧化,DNA分子断裂,导致细胞死亡^[8,16,23];(2)ROS诱发胞外 Ca^{2+} 内流,使胞内 Ca^{2+} 水平升高,进而激活 Ca^{2+} 依赖性核酸内切酶^[6],使细胞核DNA在核小体连接处切割,细胞凋亡;(3)ROS和 Ca^{2+} 水平升高使线粒体膜完整性破坏,细胞色素C、凋亡诱导因子释放并于胞质中形成凋亡复合体,激活类Caspase蛋白酶,特异性切割下游底物,引发DNA链断裂,细胞凋亡^[16,23]。

4 结论

一定浓度的铝可诱导蚕豆保卫细胞凋亡,胁迫可能通过诱导活性氧产生,诱发胞外钙内流,造成胞内 Ca^{2+} 浓度升高,引发细胞程序性死亡。

本文采用蚕豆叶面气孔保卫细胞模式系统,研究铝对植物细胞的毒性效应,发现了铝诱导的细胞凋亡及活性氧信号途径。前期采用蚕豆和拟南芥气孔保卫细胞,研究氰化物和 SO_2 的毒性效应,获得了令人信服的结果^[13-16]。因此,植物叶面气孔保卫细胞不仅是研究气孔运动的良好模式,对环境毒物也具有灵敏快速的反应,且取材方便、操作简单,有望作为研究环境化学物毒性作用的模式系统。

参考文献:

- [1] Kochian L V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1995, 46: 237-260.
- [2] 熊毅,李庆远. 中国土壤[M]. 北京:科学出版社,1987:39.
XIONG Yi, LI Qing-kui. Chinese soil[M]. Beijing: Science Press, 1987: 39.
- [3] Hartwell B L, Pember F R. The presence of aluminum as a reason for the difference in the effect of so-called acid soil on barley and rye[J]. *Soil Science*, 1918, 6: 259-280.
- [4] 孔繁翔,桑伟莲,蒋新,等. 铝对植物毒害及植物抗铝作用机理[J]. 生态学报, 2000, 20(5): 855-862.
KONG Fan-xiang, SANG Wei-lian, JIANG Xin, et al. Aluminum toxicity and tolerance in plants[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 20(5): 855-

- 862.
- [5] Lidon F C, Barreiro M G. An overview into aluminum toxicity in maize[J]. *Plant Physiology*, 2002, 28(3-4):96-112.
- [6] Teroaka T, Kaneko S, Mori E, et al. Aluminum rapidly inhibits cellulose synthesis in roots of barley and wheat seedlings[J]. *Plant Physiology*, 2002, 159:17-23.
- [7] Pan J W, Zheng K, Ye D, et al. Aluminum-induced ultraweak luminescence changes and sister-chromatid exchanges in root tip cells of barley[J]. *Plant Science*, 2004, 167:1391-1399.
- [8] Yi M, Yi H L, Li H H, et al. Aluminum induces chromosome aberrations, micronuclei and cell cycle dysfunction in root cells of *Vicia faba*[J]. *Environmental Toxicology*, 2010, 25(2):124-129.
- [9] Pan J W, Zhu M Y, Chen H. Aluminum-induced cell death in root-tip cells of barley[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2001, 46:71-79.
- [10] Schroeder J I, Allen G J, Hugouvieux V, et al. Guard cell signal transduction[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2001, 52:627-658.
- [11] Xie X, Wang Y, Williamson L, et al. The identification of genes involved in the stomatal response to reduced atmospheric relative humidity[J]. *Current Biology*, 2006, 16(9):882-887.
- [12] 曹更生, 宋纯鹏. 气孔保卫细胞信号转导途径[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(3):219-225.
- CAO Geng-sheng, SONG Chun-peng. Signal transduction pathways in stomatal guard cells[J]. *Plant Physiology Communications*, 1997, 33(3):219-225.
- [13] Dzyubinskaya E V, Kiselevsky D B, Lobysheva N V, et al. Death of stoma guard cells in leaf epidermis under disturbance of energy provision[J]. *Biochemistry*, 2006, 71(10):1120-1127.
- [14] Samuilov V D, Kiselevsky D B, Sinitsyn S V, et al. H_2O_2 intensifies CN(-)-induced apoptosis in pea leaves[J]. *Biochemistry*, 2006, 71(4):384-394.
- [15] 尹晶晶, 徐 蕾, 仪慧兰, 等. 二氧化硫衍生物诱导蚕豆气孔保卫细胞死亡[J/OL]. 中国科技论文在线. <http://www.paper.edu.cn>
- YIN Jing-jing, XU Lei, YI Hui-lan, et al. Sulfur dioxide induces death of guard cells in *Vicia faba*[J/OL]. Sciencepaper Online. <http://www.paper.edu.cn>
- [16] 仪慧兰, 仪 民, 吴 婷. SO_2 诱导拟南芥保卫细胞凋亡[J]. 山西大学学报, 2009, 32(4):621-626.
- YI Hui-lan, YI Min, WU Ting. SO_2 induces programmed cell death in *Arabidopsis guard cells*[J]. *Journal of Shanxi University*, 2009, 32(4):621-626.
- [17] Ikegawa H, Yamamoto Y, Matsumoto H. Cell death caused by a combination of aluminum and iron in cultured tobacco cells[J]. *Physiologia Plantarum*, 1998, 104:474-478.
- [18] Woltering E J, van der Bent A, Hoerichs F A. Do plant caspases exist?[J]. *Plant Physiology*, 2002, 130:1764-1769.
- [19] Iakimova E T, Woltering E J, Kapchina-Toteva V M, et al. Cadmium toxicity in cultured tomato cells—Role of ethylene, proteases and oxidative stress in cell death signaling[J]. *Cell Biology International*, 2008, 32:1521-1529.
- [20] Yakimova E T, Kapchina-Toteva V M, Woltering E J. Signal transduction events in aluminum-induced cell death in tomato suspension cells[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164:702-708.
- [21] Brookes P S, Yoon Y, Robotham J L, et al. Calcium, ATP, and ROS: A mitochondrial love-hate triangle[J]. *American Journal of Physiology Cell Physiology*, 2004, 287:817-833.
- [22] Pei Z M, Murata Y, Benning G, et al. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in guard cells[J]. *Nature*, 2000, 406:731-734.
- [23] Fleury C, Mignotte B, Vayssiere J L. Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling[J]. *Biochimie*, 2002, 84(2-3):131-141.