

# 不同耐铝型小麦品种苹果酸分泌差异 与有机酸代谢关系研究

杨野<sup>1</sup>, 郭再华<sup>1</sup>, 耿明建<sup>1</sup>, 王巧兰<sup>2</sup>, 赵竹青<sup>1</sup>

1. 华中农业大学资源与环境学院, 湖北 武汉 430070; 2. 武汉军事经济学院, 湖北 武汉 430035

**摘要:** 铝胁迫下不同耐铝型植物有机酸分泌存在显著差异, 有机酸主要在三羧酸循环途径中产生, 但目前有机酸分泌差异与有机酸代谢关系还不是很清楚。以耐铝型小麦 *Triticum aestivum* L. 品种 ET8 和铝敏感型小麦品种 ES8 为材料, 研究了铝胁迫对不同耐铝小麦品种根内源苹果酸含量及磷酸烯醇式丙酮酸脱氢酶(PEPC), 柠檬酸合成酶(CS)和苹果酸脱氢酶(MDH)等酶活性的影响。结果表明: 铝处理(0、25、50、100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )对内源苹果酸含量无显著影响, 相同处理条件下 ET8 和 ES8 间亦无显著差异, 分别为每根尖(0.48±0.01)、(0.46±0.03)、(0.57±0.02)、(0.52±0.02) nmol 和(0.45±0.02)、(0.51±0.09)、(0.51±0.11)、(0.54±0.04) nmol; 同无铝处理相比, 50 或 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  铝处理显著促进 ET8 和 ES8 根尖细胞 PEPC 活性升高, 但各铝浓度处理对 CS 和 MDH 活性无显著影响; 相同处理条件下 ET8 和 ES8 根尖细胞 PEPC、CS 和 MDH 3 种酶活性均无显著差异。综上所述, 铝胁迫下不同耐铝小麦品种根苹果酸分泌差异与内源苹果酸含量及有机酸代谢无关。

**关键词:** 小麦; 铝毒; 有机酸代谢

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 1674-5906 (2010) 10-2280-05

有机酸不仅参与植物体的有机物代谢, 而且广泛参与植物与环境间的相互作用。如有机酸可以增强植物抗重金属胁迫能力<sup>[1-2]</sup>, 提高植物抗养分胁迫能力<sup>[3-4]</sup>, 并调控植物根-土界面<sup>[5]</sup>及植物-微生物的相互作用等<sup>[6]</sup>。植物通过根分泌有机酸与  $\text{Al}^{3+}$  形成稳定络合物, 阻止铝进入根尖细胞, 减轻铝毒害, 增强植物抗铝胁迫能力已被广泛认可。植物体内有机酸主要来源于三羧酸循环, 因此铝胁迫下有机酸分泌与有机酸代谢间关系的研究对了解植物抗铝机理具有一定意义。目前, 根据根系有机酸分泌对铝胁迫响应时间的不同将植物有机酸分泌模式分为两类<sup>[7]</sup>: ①无延迟的快速释放(模式 I), 即铝胁迫与有机酸分泌几乎没有时间间隔(15~30 min), 以小麦 *Triticum aestivum* L.、荞麦 *Fagopyrum* Mill. 为代表植物。②延迟释放(模式 II), 以玉米 *Zea Mays* L. 为代表, 对铝胁迫反应有明显滞后期, 在铝胁迫数小时后才会有明显的柠檬酸分泌。研究表明植物有机酸分泌时间上的差异主要在于模式 I 植物可以通过根尖细胞质膜上阴离子通道直接快速分泌有机酸到根际, 而模式 II 植物则存在着新基因的转录, 新蛋白的合成或已有蛋白活性的提高等过程。如 Rangel 等<sup>[8]</sup>研究表明扁豆 *Phaseolus vulgaris* (模式 II 植物)在铝胁迫前期(前4 h)柠檬酸分泌量很少, 但4 h后有机酸代谢关键酶柠檬酸合成酶(CS)活性显著

升高, 并伴随着柠檬酸分泌量的持续增加。相同铝处理条件下耐铝品种大豆 *Glycine max* 根尖细胞 CS 活性显著高于铝敏感品种<sup>[9]</sup>。不同植物, 甚至同种植物间耐铝性存在显著差异, 因此通过比较不同耐铝品种的耐铝差异, 对了解植物耐铝机理, 筛选耐铝品种, 解决酸性土壤的铝胁迫问题, 提高作物产量具有十分重要的意义。本研究将铝胁迫下有机酸分泌与根尖细胞有机酸代谢相关酶活性变化相联系, 旨在比较研究两耐铝小麦品种铝胁迫下根内源苹果酸含量及有机酸代谢关键酶活性变化, 探讨不同耐铝小麦品种苹果酸分泌差异机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物试验材料

小麦 *Triticum aestivum* L. 耐铝型品种 ET8、铝敏感型品种 ES8, 由日本冈山大学提供。

### 1.2 试验材料培养

种子经  $\rho=0.5\%$  NaClO 表面消毒 20 min, 用去离子水冲洗 5 次, 25  $^{\circ}\text{C}$  避光浸种 12 h, 然后转移到垫有浸湿滤纸的玻璃培养皿上, 25  $^{\circ}\text{C}$  暗中催芽 24 h。将露白的种子转移到 0.5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{CaCl}_2$  培养液中培养 4 d, 每天定时更换溶液。人工气候室培养幼苗, 生长条件为: 昼/夜循环 14/10 h, 温度 25  $^{\circ}\text{C}$ /20  $^{\circ}\text{C}$ , 光照 230  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。处理前将 0.5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{CaCl}_2$  培养液调至 pH 4.5, 平衡 12 h。

基金项目: 国家自然科学基金项目(30571115)

作者简介: 杨野(1983年生), 男, 满族, 博士研究生, 主要从事植物逆境生理研究。E-mail: yangye5152004@yahoo.com.cn

\*通讯作者: 赵竹青。E-mail: zq@mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2010-09-25

### 1.3 测定项目及方法

4 d后,挑选15株长势均一的小麦幼苗作为试材进行处理。本试验共设2个处理组,所有处理组培养液中均含 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCl}_2$ 。每个处理组均含有只含 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCl}_2$ 的空白处理,培养液最终pH均为4.5,处理时间均为24 h。每个处理重复3次。

1.3.1 Al处理对苹果酸分泌,内源苹果酸含量及磷酸烯醇式丙酮酸脱氢酶(PEPC)、柠檬酸合成酶(CS)和苹果酸脱氢酶(MDH)活性的影响

处理组1包括4个处理,分别为:0、25、50和 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Al处理。处理后收集处理液用于测定苹果酸分泌速率,切取根尖0~10 mm,  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存,用于内源苹果酸含量,PEPC、CS和MDH活性的测定。

1.3.2 阴离子通道抑制剂蒺-9羧酸(A9C)和尼氟灭酸(NIF)对铝诱导的苹果酸分泌及内源苹果酸含量的影响

处理组2包括6个处理,处理方式见表1。

处理后收集处理液用于测定苹果酸分泌速率,切取根尖0~10 mm,  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存,用于内源苹果酸含量测定。

### 1.4 苹果酸的收集和测定

外源苹果酸收集参照Zhao等<sup>[10]</sup>,内源苹果酸收集参照Hayes等<sup>[11]</sup>,苹果酸测定参照Delhaize等<sup>[12]</sup>。PEPC、CS和MDH等酶活性测定参照Hayes等<sup>[11]</sup>。

### 1.5 数据处理

Microsoft Excel 2003软件进行数据处理及制图,用DPSv7.05统计分析软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA),所有结果均用LSD法检验 $p<0.05$ 水平上的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 铝处理对小麦根苹果酸分泌的影响

不同浓度铝(0、25、50和 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )处理24 h, ET8和ES8根苹果酸分泌速率如图1所示。ET8和ES8根苹果酸分泌速率均随铝浓度的升高而显著升高,相同处理条件下ET8苹果酸分泌速率显著高于ES8。每根尖ET8和ES8苹果酸分泌速率分别为 $(0.07\pm 0.00)$ 、 $(0.22\pm 0.01)$ 、 $(0.29\pm 0.00)$ 、 $(0.39\pm 0.01) \text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}$ 和 $(0.07\pm 0.01)$ 、 $(0.12\pm 0.01)$ 、 $(0.15\pm 0.00)$ 、 $(0.22\pm 0.00) \text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}$ ,说明铝处理显著诱导小麦ET8和ES8根苹果酸的分泌,ET8苹果酸分泌速率显著高于ES8。

### 2.2 铝处理对小麦根内源苹果酸含量的影响

不同浓度铝(0, 25, 50 和 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )处理24

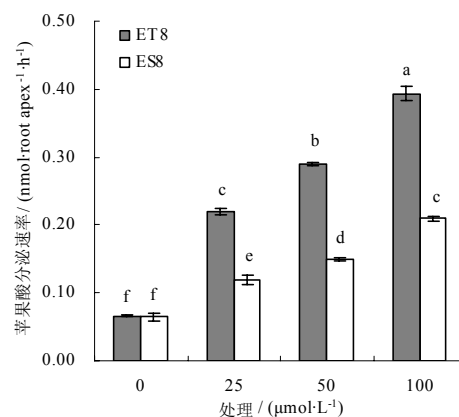


图1 不同浓度铝处理24 h对小麦根苹果酸分泌影响 (不同小写字母表示 $P<0.05$ 水平上差异显著)

Fig. 1 Dose-response of Al-induced malic acid secretion from wheat root (Small letter mean significant difference at  $P<0.05$ )

h, ET8和ES8根内源苹果酸含量如图2所示。ET8和ES8根内源苹果酸含量在不同浓度铝处理下无显著变化,相同处理条件下ET8和ES8间也无显著差异。ET8和ES8每根尖内源苹果酸含量分别为 $(0.48\pm 0.01)$ 、 $(0.46\pm 0.03)$ 、 $(0.57\pm 0.01)$ 、 $(0.52\pm 0.02) \text{ nmol}$ 和 $(0.45\pm 0.02)$ 、 $(0.5\pm 0.09)$ 、 $(0.5\pm 0.11)$ 、 $(0.54\pm 0.04) \text{ nmol}$ ,说明铝处理对小麦内源苹果酸含量无显著影响,ET8和ES8根尖内源苹果酸含量无显著差异。

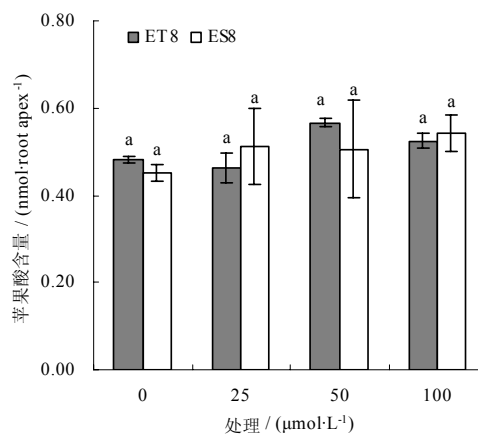


图2 不同浓度铝处理对小麦根内源苹果酸含量的影响 (不同小写字母表示 $P<0.05$ 水平上差异显著)

Fig. 2 Effects of Al on endogenous malic acid content (Small letter mean significant difference at  $P<0.05$ )

### 2.3 铝处理对根尖细胞 PEPC、CS 和 MDH 等酶活性影响

铝处理对小麦根尖细胞三羧酸循环关键酶

表1 阴离子通道抑制剂对小麦根的处理方式

Table 1 Treatment of anion channel inhibitors on wheat root

处理组2	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
处理方式/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	空白 (0)	A9C (5)	Al (50)+A9C (5)	NIF (5)	Al (50)+NIF (5)	Al (50)

PEPC、CS 和 MDH 活性的影响如图 3 所示。图 3A 为铝处理对 ET8 和 ES8 小麦根尖细胞 PEPC 活性的影响。同无铝处理相比, 25  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  铝处理对 ET8 或 ES8 根尖细胞该酶活性无显著影响, 但 50 或 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  铝处理后该酶活性显著升高。虽然 PEPC 活性表现出随铝浓度的升高而升高的变化趋势, 但相同处理条件下 ET8 和 ES8 间无显著差异。各处理下 ET8 和 ES8 根尖细胞 PEPC 活性分别为每 mg 蛋白 (0.06 $\pm$ 0.00) (0.05 $\pm$ 0.00) (0.07 $\pm$ 0.00) (0.08 $\pm$ 0.01) U 和 (0.06 $\pm$ 0.00) (0.06 $\pm$ 0.01) (0.07 $\pm$ 0.01) (0.07 $\pm$ 0.00) U。说明高浓度铝处理可以诱导小麦根尖细胞 PEPC 活性的升高, 但 ET8 和 ES8 间无显著差异。

图 3B 为铝处理对 ET8 和 ES8 小麦根尖细胞 CS 活性影响。结果表明, CS 活性不受铝处理影响, 各浓度铝处理该酶活性无显著差异, ET8 和 ES8 间也无显著差异。各处理下 ET8 和 ES8 根尖细胞 MDH 活性分别为每 mg 蛋白 (0.005 $\pm$ 0.000)、(0.006 $\pm$ 0.001)、(0.005 $\pm$ 0.001)、(0.006 $\pm$ 0.001) U 和 (0.005 $\pm$ 0.000)、(0.005 $\pm$ 0.000)、(0.006 $\pm$ 0.001)、(0.006 $\pm$ 0.000) U。表明铝处理对小麦根尖细胞 CS 活性无显著影响, ET8 和 ES8 间也无显著差异。

图 3C 为铝处理对 ET8 和 ES8 小麦根尖细胞 MDH 活性影响。由图可见, 虽经不同浓度铝处理, 但 ET8 和 ES8 根尖细胞 MDH 活性未表现出显著变化, ET8 和 ES8 间也无显著差异。各处理下 ET8 和 ES8 根尖细胞 MDH 活性分别为每 mg 蛋白 (68.17 $\pm$ 9.16)、(64.01 $\pm$ 6.83)、(65.24 $\pm$ 4.39)、(74.04 $\pm$ 8.56) U 和 (67.73 $\pm$ 1.45)、(59.43 $\pm$ 7.76)、(62.74

$\pm$ 5.57)、(76.16 $\pm$ 3.20) U。说明铝处理对 ET8 和 ES8 根尖细胞 MDH 活性无显著影响, 两品种间无显著差异。

#### 2.4 阴离子通道抑制剂对小麦根内源苹果酸含量的影响

阴离子通道抑制剂对苹果酸分泌速率及根尖内源苹果酸含量影响如表 2 所示。同空白处理相比, 阴离子通道抑制剂 A9C (5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 或 NIF (5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 单独处理对小麦根苹果酸分泌速率无显著影响, 但阴离子通道抑制剂可显著抑制铝处理 (50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 下小麦根苹果酸的分泌, ET8 (或 ES8) 经 A9C 或 NIF 和铝共处理后, 其苹果酸分泌速率分别为铝单独处理的 67.9% 和 39.3% (31.3% 和 31.3%)。阴离子通道抑制剂对小麦内源苹果酸含量影响的研究表明, 同空白处理相比, A9C (5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 或 NIF (5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 单独处理对小麦根内源苹果酸含量无显著影响; 同铝单独处理相比, 阴离子通道抑制剂和铝共处理对内源苹果酸含量也无显著影响。说明虽然阴离子通道抑制剂显著抑制小麦苹果酸分泌, 但对内源苹果酸含量却无显著影响。

### 3 讨论

铝胁迫下植物通过根分泌有机酸抵御铝毒害是许多植物重要外部抗铝机制之一。如铝胁迫下小麦可专一性的分泌苹果酸, 且分泌速率随铝处理浓度的升高而显著升高<sup>[13]</sup>, 同 Li 等<sup>[13]</sup> 研究结果一致, 本试验中铝处理显著促进小麦根苹果酸的分泌, 相同处理条件下 ET8 根苹果酸分泌速率显著高于 ES8, 说明 ET8 耐铝性显著高于 ES8。

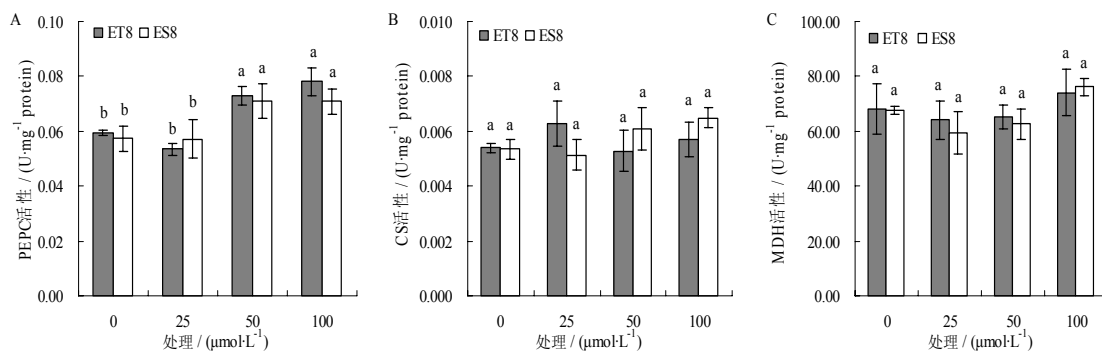


图 3 铝处理对小麦根尖细胞有机酸代谢关键酶 PEPC (A)、CS (B) 及 MDH (C) 活性的影响

Fig.3 Effects of Al treatment on activity of enzymes PEPC (A), CS (B) and MDH(C) on organic acid metabolism in wheat root apices

表 2 阴离子通道抑制剂对小麦根外源苹果酸分泌速率及内源苹果酸含量的影响

Table 2 Effect of anion channel inhibitors A9C or NIF on malic acid secretion and endogenous malic acid content of wheat (Small letter mean significant difference at  $P < 0.05$ )

	品种	空白	A9C5	Al50+A9C5	NIF5	Al50+NIF5	Al50
外源	ET8	0.06 $\pm$ 0.00 e	0.07 $\pm$ 0.01 e	0.19 $\pm$ 0.01 b	0.08 $\pm$ 0.01 e	0.11 $\pm$ 0.01 d	0.28 $\pm$ 0.00 a
	ES8	0.05 $\pm$ 0.00 e	0.08 $\pm$ 0.00 e	0.05 $\pm$ 0.00 e	0.07 $\pm$ 0.00 e	0.05 $\pm$ 0.00 e	0.16 $\pm$ 0.01c
内源	ET8	0.54 $\pm$ 0.00 ab	0.57 $\pm$ 0.01 ab	0.49 $\pm$ 0.00 ab	0.58 $\pm$ 0.01 ab	0.61 $\pm$ 0.00 a	0.55 $\pm$ 0.16 ab
	ES8	0.42 $\pm$ 0.05 b	0.41 $\pm$ 0.07 b	0.58 $\pm$ 0.05 ab	0.49 $\pm$ 0.07 ab	0.52 $\pm$ 0.03 ab	0.49 $\pm$ 0.03 ab

铝胁迫下植物主要通过根尖细胞分泌有机酸,因此对根尖细胞内有机酸含量变化的研究有助于揭示不同耐铝品种有机酸分泌差异机理。目前,广大科研工作者已对多种不同耐铝植物铝胁迫下根尖内源有机酸含量变化进行了研究。如Rangel等<sup>[8]</sup>研究表明,耐铝型扁豆在铝胁迫的前4 h,即便在其内源柠檬酸含量很高的情况下,柠檬酸分泌量依然很低,4 h后柠檬酸分泌量才显著增加,并伴随内源柠檬酸含量的降低。对铝胁迫下不同耐铝型小麦品种研究表明,虽然耐铝型品种苹果酸分泌量是铝敏感型品种的5~10倍,两品种内源苹果酸含量却无显著差异<sup>[12]</sup>。但对大豆的研究结果则与上述结果相反。铝处理可以显著增加大豆内源苹果酸和柠檬酸含量<sup>[14]</sup>。本研究中铝处理显著促进ET8和ES8根苹果酸的分泌(图1),但对小麦根尖内源苹果酸含量无显著影响(图2),该结果与Delhaize等<sup>[12]</sup>一致。说明内源苹果酸含量可以保持在稳定状态,并足以维持铝胁迫下苹果酸分泌的供应,无需累积过多苹果酸。有机酸主要通过根尖细胞质膜上阴离子通道分泌到根外,而阴离子通道抑制剂能够抑制有机酸向根外转运,本试验中阴离子通道抑制剂显著抑制铝胁迫下ET8和ES8根苹果酸的分泌,与杨野等<sup>[15]</sup>研究结果一致(表2)。虽然阴离子通道抑制剂能够阻止铝胁迫下苹果酸的外流但却并未造成根尖内源苹果酸的累积,进一步说明根尖细胞可以维持稳定的苹果酸含量。

有机酸主要在三羧酸循环途径中产生。因此对铝胁迫下三羧酸循环的研究有助于了解不同耐铝品种苹果酸分泌差异机理。三羧酸循环关键酶通常包括:PEPC、CS和MDH等酶。有研究表明铝胁迫下多种三羧酸循环关键酶活性会发生改变。如铝胁迫可以增加大豆<sup>[16]</sup>及扁豆<sup>[17]</sup>根尖细胞CS活性,降低扁豆异柠檬酸脱氢酶活性<sup>[8]</sup>,从而增加柠檬酸分泌。此外,通过转基因方法改变有机酸代谢关键酶活性也可改变植物有机酸分泌状况。如Deng等<sup>[18]</sup>将耐铝柑橘*Citrus junos* Yuzu CS基因(CjCS)转录到烟草*Nicotiana tabacum* L.细胞中,发现转基因后的烟草根尖细胞CS表达量及活性显著高于野生型,内源有机酸含量及有机酸分泌量显著增加,耐铝性显著提高。将拟南芥*Arabidopsis thaliana* L.或烟草柠檬酸合成酶高效基因转入到苜蓿*Medicago Sativa* L.后显著促进苜蓿柠檬酸的分泌,增强抗铝性<sup>[19]</sup>。但与铝胁迫下不同植物内源有机酸含量变化存在的差异相似,根尖有机酸代谢关键酶活性的变化同样存在很大差异。如铝胁迫对小麦根尖PEPC及MDH活性无显著影响。Hayes和Ma等<sup>[20]</sup>研究也认为铝胁迫诱导的三倍体小黑麦有机酸的分泌同根尖细

胞内有机酸代谢无关。本试验中,虽然ET8和ES8根尖细胞PEPC活性在高浓度铝处理下均显著升高,但两品种间无显著差异,ET8和ES8间CS活性及MDH活性也无显著差异(图3),说明铝胁迫下不同耐铝型小麦根苹果酸分泌差异与有机酸代谢无关。

#### 4 结论

本试验表明铝胁迫下不同耐铝型小麦品种内源苹果酸含量及有机酸代谢关键酶活性均无显著差异,说明铝胁迫下苹果酸分泌差异与内源苹果酸含量及有机酸代谢无关。进一步说明不同耐铝型小麦品种根苹果酸分泌差异与根尖细胞质膜上阴离子通道对苹果酸转运能力差异有关。

#### 参考文献:

- [1] 林海涛, 史衍玺. 铅、镉胁迫对茶树根系分泌有机酸的影响[J]. 山东农业科学, 2005, 2: 32-34.  
LIN Haitao, SHI Yanxi. Effects of Pb and Cr on organic acid secretion of tea plant [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2005, 2: 32-34.
- [2] 王松华, 杨志敏, 徐朗莱. 植物铜素毒害及其抗性机制研究进展[J]. 生态环境, 2003, 12 (3): 336-341.  
WANG Songhua, YANG Zhimin, XU Langlai. Mechanisms of copper toxicity and resistance of plants[J]. Ecology and Environment, 2003, 12 (3): 336-341.
- [3] 陆文龙, 曹一平, 张福锁. 根分泌的有机酸对土壤磷和微量元素的活化作用[J]. 应用生态学报, 1999, 10(3): 379-382.  
LU Wenlong, CAO Yiping, ZHANG Fusuo. Role of root-exuded organic acids in mobilization of soil phosphorus and micronutrients[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 1999, 10(3): 379-382.
- [4] 杨建峰, 贺立源. 缺磷诱导植物分泌低分子量有机酸的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(20): 5171-5175.  
YANG Jianfeng, HE Liyuan. Research advance in the exudation of organic acid in phosphorus deficient plant[J]. Journal of Anhui Agriculture Science, 2006, 34(20): 5171-5175.
- [5] 黄承玲, 张道勇, 潘响亮. 向日葵根分泌物对针铁矿吸附  $\text{Cd}^{2+}$  的抑制效应[J]. 地理科学, 2009, 29(3): 455-460.  
HUANG ChengLing, ZHANG Daoyong, PAN XiangLiang. Effects of root exudates from *Helianthus annuus* on adsorption of  $\text{Ca}^{2+}$  on goethite [J]. Scientia Geographica Sinic, 2009, 29(3): 455-460.
- [6] 贺永华, 沈东升, 朱荫滢. 根系分泌物及其根际效应[J]. 科技通报, 2006, 22(6): 761-766.  
HE Yonghua, SHEN Dongsheng, ZHU Yinmei. Root exudates and their rhizospheric effects [J]. Bulletin of Science and Technology, 2006, 22(6): 761-766.
- [7] MA J F, RYAN P R, DELHAIZE P. Aluminum tolerance in plants and the complexing role of organic acids [J]. Trends in Plant Science, 2001, 6 (6): 273-278.
- [8] RANGEL A F, RAO I M, BRAUN H, et al. Aluminum resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris*) involves induction and maintenance of citrate exudation from root apices [J]. Physiologia Plantarum, 2010, 138: 176-190.
- [9] 莫丙波, 沈春鹏, 于智卫, 等. 铝对大豆根系柠檬酸合成与分泌的影响[J]. 生态环境学报, 2009, 18(3): 1037-1041.  
MO Binbo, SHEN Chunpeng, YU Zhiwei, et al. Effect of aluminum

- on synthesis and secretion of citrate in soybean roots [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(3): 1037-1041.
- [10] ZHAO Z Q, MA J F, SATO K, et al. Differential Al resistance and citrate secretion in barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. *Planta*, 2003, 217: 794-800.
- [11] 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]. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54(388): 1753-1759.
- [12] 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 Physiology*, 1993, 103: 695-702.
- [13] LI X F, MA J F, MATSUMOTO H. Pattern of Aluminum-induced secretion of organic acids differs between rye and wheat [J]. *Plant Physiology*, 2000, 123: 1537-1543.
- [14] SILVA I R, SMYTH T J, RAPER C D, et al. Differential aluminum tolerance in soybean: an evaluation of the role of organic acids [J]. *Physiologia Plantarum*, 2001, 112: 200-210.
- [15] 杨野, 王巧兰, 耿明建, 等. 生长素对铝胁迫下不同耐铝性小麦根苹果酸分泌的影响 [J]. *中国农业科学*, 2010, 43 (10): 2016-2022.
- YANG Ye, WANG Qiaolan, GENG Mingjian, et al. Effect of auxin on Al-induced malic acid efflux in wheat with differential Al tolerance [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43 (10): 2016-2022.
- [16] YANG Z M, NIAN H, SIVAGURU M, et al. Characterization of aluminium-induced citrate secretion in aluminium-tolerant soybean (*Glycine max*) plants [J]. *Physiologia Plantarum*, 2001, 113: 64-71.
- [17] MUGAI E N, AGONG S G, MATSUMOTO H. Aluminium tolerance mechanisms in *Phaseolus vulgaris* L.: citrate synthase activity and TTC reduction are well correlated with citrate secretion [J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2000, 46: 939-950.
- [18] DENG W, LUO K M, LI Z G, et al. Overexpression of *Citrus junos* mitochondrial citrate synthase gene in *Nicotiana benthamiana* confers aluminum tolerance [J]. *Planta*, 2009, 230: 355-365.
- [19] BARONE P, ROSELLINI D, LAFAYETTE P, et al. Bacterial citrate synthase expression and soil aluminum tolerance in transgenic alfalfa [J]. *Plant Cell Reports*, 2008, 27: 893-901.
- [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]. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54 (388): 1753-1759.

## The relationship between malic acid secretion differences and organic acid metabolism of wheat with different Al-tolerant levels

YANG Ye<sup>1</sup>, GUO Zaihua<sup>1</sup>, GENG Mingjian<sup>1</sup>, WANG Qiaolan<sup>2</sup>, ZHAO Zhuqing<sup>1</sup>

1. Department of Plant Nutrition, College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Wuhan Military Economic Academy, Wuhan 430035, China

**Abstract:** There are significant differences of organic acid secretion among species that with different Al-tolerant levels under Al stress. Organic acid is produced during the tricarboxylic acid cycle pathway. However, the relationship between organic acid secretion differences and organic acid metabolism are still needed to be identified. This experiment was performed by two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars, ET8 (Al-resistant) and ES8 (Al-sensitive). Effects of Al on endogenous malic acid content, activities of phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC), citrate synthase (CS) and malate dehydrogenase (MDH) were studied. Results were as follows: the contents of endogenous malic acid were not affected by Al (0, 25, 50, and 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), and there were no differences between ET8 and ES8 when they received same treatment. The endogenous malic acid contents were (0.48 $\pm$ 0.01), (0.46 $\pm$ 0.03), (0.57 $\pm$ 0.02), (0.52 $\pm$ 0.02) nmol·root apex<sup>-1</sup> and (0.45 $\pm$ 0.02), (0.51 $\pm$ 0.09), (0.51 $\pm$ 0.1), (0.54 $\pm$ 0.04) nmol·root apex<sup>-1</sup>, respectively of ET8 and ES8. Compared with Al free treatment, activities of PEPC were increased significantly under Al (50 or 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) treatment, but not CS or MDH. The activities of PEPC (or CS, MDH) of ET8 and ES8 were close to each other under the same treatment. In conclusion, the malic acid secretion differences of different Al-tolerant wheat were independent on the endogenous malic acid content and the organic acid metabolism.

**Key words:** wheat; Al-toxicity; organic acid metabolism