HIỆU QUẢ CỦA NATRI SILICATE VÀ CALCI SILICATE LÊN SỰ CHỐNG CHỊU NHÔM TRÊN LÚA OM7347 GIAI ĐOẠN MẠ

Nguyễn Thảo Phương¹, Phạm Phước Nhân²

EFFICIENCY OF SODIUM SILICATE AND CALCIUM SILICATE AGAINST ALUMINUM ON OM7347 RICE SEEDLINGS

Nguyen Thao Phuong¹, Pham Phuoc Nhan²

Tóm tắt – Trong nghiên cứu này, natri silicate và calci silicate được bổ sung vào dung dịch trồng lúa OM7347 ở giai đoạn mạ trong điều kiện ngộ độc nhôm nhân tạo (AlCl_3). Nghiên cứu được thực hiện thông qua hai thí nghiệm để đánh giá hiệu quả của natri silicate và calci silicate lên sự chống chịu nhôm trên lúa OM7347 giai đoạn mạ. Thí nghiệm 1 đánh giá ảnh hưởng của nhôm ở ba mức độ khác nhau (AlCl_3 50, 100 và 150 μM) lên sự phát triển của cây. Thí nghiệm 2 bổ sung natri silicate và calci silicate nồng độ 200 mg/L vào môi trường độc nhôm (AlCl_3 50 và 100 μM) để đánh giá hiệu quả cải thiện độc nhôm của các hợp chất Si. Kết quả cho thấy, cây lúa rất nhạy cảm với nhôm, nồng độ nhôm 50 μM đã gây ảnh hưởng đến sự phát triển của cây lúa giai đoạn mạ. AlCl_3 tạo pH dung dịch thấp, làm giảm hàm lượng chlorophyll a, chiều cao cây và chiều dài rễ kém phát triển nên khối lượng tươi thấp. Ngoài ra, dưới ảnh hưởng của nhôm, các tế bào rễ bị mất tính toàn vẹn và diễn ra hiện tượng peroxy hóa lipid. Tuy nhiên, khi natri silicate và calci silicate được bổ sung vào dung dịch trồng, giá trị pH

dung dịch tăng, điều này giúp cây cải thiện khả năng sinh trưởng như gia tăng chiều cao, chiều dài rễ, khối lượng tươi và đặc biệt làm giảm ảnh hưởng độc của nhôm lên hình thái và tế bào rễ lúa thông qua giảm sự peroxy hóa lipid và duy trì tính toàn vẹn của tế bào. Bổ sung silic làm giảm sự tích lũy nhôm ở rễ và cải thiện hệ thống rễ phụ, gia tăng sự phân nhánh của rễ.

Từ khóa: calci silicate, lúa, natri silicate, ngộ độc nhôm, OM7347.

Abstract – In this study, calcium silicate and sodium silicate were added to OM7347 rice seedlings grown in artificial aluminum toxicity (AlCl_3) conditions. This study was carried out through two experiments to evaluate the effect of sodium silicate and calcium silicate on aluminum resistance in rice planting stage OM7347. Experiment 1, the effects of aluminum were evaluated at three different levels (AlCl_3 50, 100 and 150 μM) on plant growth. Experiment 2, sodium silicate and calcium silicate were added with a concentration of 200 mg/L to aluminum toxic medium (AlCl_3 50 and 100 μM) to evaluate the aluminum poisoning improvement effect of Si compounds. Experimental results showed that rice seedlings were very sensitive to aluminum, and a concentration of 50 μM reduced rice seedlings development. AlCl_3 caused lower pH values, decreased

^{1,2} Trường Đại học Cần Thơ
Ngày nhận bài: 18/10/2019; Ngày nhận kết quả bình duyệt: 10/8/2020; Ngày chấp nhận đăng: 12/9/2020
Email: ntphuong9389@gmail.com

^{1,2}Can Tho University
Received date: 18th October 2019; Revised date: 10st August 2020; Accepted date: 14th September 2020

chlorophyll a content, plant height and root length were poorly developed resulting in low fresh biomass. In addition, aluminum present made root cells lose their integrity and lipid peroxidation occurred. However, when sodium silicate and calcium silicate were added to the cultured solution, the pH values of the solution increased, improved plant growth such as shoot height, root length, fresh biomass and especially reduced aluminum toxicity on root morphology of rice seedlings indicated by less of lipid peroxidation and maintained root cell integrity. Silicon supplements prevented aluminum accumulation in roots and improved secondary root system, root branching.

Keywords: *aluminum toxicity, calcium silicate, OM7347, rice, sodium silicate.*

I. GIỚI THIỆU

Silic (Si) là nguyên tố phong phú thứ hai trong lớp vỏ trái đất, chiếm 28,8% [1]. Silic dioxide (SiO_2) là dạng phổ biến của silic trong đất. Qua quá trình hydrat hóa, một phần nhỏ silic có trong dung dịch đất dưới dạng acid silic (H_4SiO_4), là dạng cây hấp thu [2]. Trong thực vật, silic được đồng hóa chủ yếu bởi rễ và tích lũy trong các mô [3]. Sự tích lũy silic khác nhau ở mỗi loài thực vật, từ 0,1% đến 10% trọng lượng khô, sự khác biệt này được cho là do sự khác biệt về khả năng hấp thu silic của rễ. Silic được coi là một yếu tố có lợi cho thực vật bậc cao giúp cây vượt qua các tác nhân bất lợi phi sinh học và sinh học bằng cách ngăn chặn đổ ngã và tăng sức đề kháng với sâu bệnh, cải thiện sự tiếp nhận ánh sáng và giảm thoát hơi nước, đồng thời silic có thể cải thiện tình trạng của đất có chứa hàm lượng kim loại nặng độc hại cùng với các nguyên tố hóa học khác [4]-[6]. Việc bổ sung silic đã được chứng minh là làm giảm độc tính Al trên lúa [7], [8].

Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) là đồng bằng lớn nhất nước ta, diện tích tự nhiên gần 4 triệu ha, trong đó diện tích đất nông nghiệp khoảng 3 triệu ha, chiếm gần 1/3 diện

tích đất nông nghiệp của cả nước. Mạng lưới sông ngòi dày đặc tạo điều kiện cung cấp nước cho lúa; đồng thời, nó giúp cho phần lớn diện tích đất ở đồng bằng được phù sa bồi đắp quanh năm nên rất màu mỡ. Ngoài ra, khí hậu nóng ẩm quanh năm tạo điều kiện cho cây lúa phát triển tốt. Với điều kiện thích hợp, cây lúa chiếm gần 50% diện tích đất canh tác của ĐBSCL. Tuy nhiên, ở ĐBSCL, nhóm đất phèn chiếm gần $\frac{1}{2}$ tổng diện tích đất tự nhiên [9]. Điều này gây trở ngại không ít cho sự sinh trưởng và phát triển của cây lúa, nhất là trong điều kiện biến đổi khí hậu thất thường trong những năm gần đây. Lúa có thể tích lũy silic đến mức tối đa 10% trọng lượng khô của chồi, thường cao hơn nhiều lần so với các chất dinh dưỡng đa lượng thiết yếu như nitơ, phospho và kali [6]. Với chức năng giúp cây trồng chống chịu với các yếu tố bất lợi của silic nên trong nghiên cứu này, natri silicate và calci silicate được bổ sung cho cây lúa trong điều kiện ngộ độc nhôm nhân tạo nhằm khảo sát hợp chất silic nào có hiệu quả tích cực đến việc chống chịu nhôm trên lúa OM7347 giai đoạn mạ.

II. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

Lúa là cây lương thực lâu đời và quan trọng bậc nhất của nước ta. Việt Nam có tổng sản lượng lúa hàng năm đứng thứ năm trên thế giới và là nước xuất khẩu gạo đứng thứ hai trên thế giới [10]. Trong đó, hơn 80% sản lượng xuất khẩu gạo hàng năm là từ ĐBSCL [11]. Độc do phèn là triệu chứng kết hợp giữa độc do sắt (Fe^{2+}), nhôm (Al^{3+}), thiếu lân và pH thấp [11]. Ở pH < 3,5 – 4, cây lúa bị ảnh hưởng trực tiếp bởi nồng độ H^+ , tuy nhiên trên đồng ruộng, độ độc do Al^{3+} là chủ yếu [9]. Nhiều nghiên cứu về ứng dụng silic giúp giảm ảnh hưởng do ngộ độc nhôm gây ra đã được thực hiện. Nhôm làm ức chế hấp thu Ca^{2+} và phá vỡ cân bằng Ca^{2+} nội mô [11] và ngộ độc nhôm là nguyên nhân gây stress oxy hóa ở thực vật [13], [14]. Nhôm làm giảm hàm lượng Mg và Zn, tăng hàm lượng Mn trong cây. Ngoài ra, nhôm còn làm

giảm mật số của khí khổng trên lá, lông hút ở rễ; làm giảm chiều dài rễ, tế bào biểu bì lá; làm biến dạng cấu trúc và tính toàn vẹn của tế bào trung mô và mạch libe. Việc bổ sung silic làm giảm tác dụng độc hại của Al và dẫn đến giảm tích lũy Al bằng cách làm giảm những bất thường này như ngăn ngừa giảm hàm lượng Mg và Zn, cấu trúc lá và rễ [15]. Độc tính nhôm trong cây lúa đã được giảm bằng cách bổ sung silic dưới dạng natri silicate, cụ thể là sự phát triển của rễ không bị ảnh hưởng bởi nhôm, chiều cao chồi được tăng cường, sinh khối tăng. Tuy nhiên, việc bổ sung silic không đóng góp vào sự tăng cường các sắc tố quang hợp ở giai đoạn này và không làm thay đổi hàm lượng đường [17]. Hiện nay, chưa có nghiên cứu cụ thể so sánh tác dụng tích cực giữa hợp chất calci silicate và natri silicate lên các chỉ tiêu sinh trưởng và sự peroxide hóa lipid (ở mức độ định tính) trên cây lúa khi bị ngộ độc nhôm. Để đánh giá chính xác về ảnh hưởng của độc nhôm đối với cây lúa và ứng dụng silic, chúng ta cần có những nghiên cứu sâu hơn về liều lượng nhôm gây ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển ở các giai đoạn phát triển khác nhau của cây lúa và hợp chất silic nào có tác dụng tích cực đến khả năng chống chịu nhôm trên lúa.

III. PHƯƠNG PHÁP VÀ PHƯƠNG TIỆN NGHIÊN CỨU

A. Thời gian và địa điểm thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 2/2019 đến tháng 5/2019 tại Bộ môn Sinh Lý – Sinh Hóa, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

B. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Nghiên cứu được bố trí gồm hai thí nghiệm

Thí nghiệm 1 – Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ nhôm trên giống lúa OM7347. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với bốn nghiệm thức là ba nồng độ nhôm clorua ($AlCl_3$) 50 μM , 100 μM , 150 μM và nghiệm thức đối chứng (nước cất). Mỗi nghiệm thức

được lặp lại ba lần (ba keo) và mỗi keo được gieo 30 hạt lúa đã nảy mầm. Hạt giống được ngâm vào nước (tỉ lệ 2 nước sôi: 3 nước lạnh, nhiệt độ khoảng 50°C), 24 giờ sau đó vớt ra, để ráo nước và ủ trong khăn ẩm khoảng 48 giờ đến khi hạt nảy mầm.

Thí nghiệm 2 – Hiệu quả của hai hợp chất silicate là natri silicate và calci silicate lên sự chống chịu nhôm. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với năm nghiệm thức, hai nồng độ nhôm là 50 μM , 100 μM được bổ sung hợp chất Na_2SiO_3 200 mg/L, $CaSiO_3$ 200 mg/L và nghiệm thức đối chứng (nước cất). Mỗi nghiệm thức gồm ba lần lặp lại (ba keo) và mỗi keo được gieo 30 hạt lúa đã nảy mầm.

Giống lúa thí nghiệm là giống OM7347. Trong thí nghiệm này, hợp chất sử dụng để tạo sự ảnh hưởng của nhôm là nhôm clorua ($AlCl_3$) và hợp chất sử dụng để tạo sự ảnh hưởng của silic lên khả năng chống chịu nhôm trên lúa gồm: Na_2SiO_3 và $CaSiO_3$.

C. Phương pháp thu thập số liệu

Tiến hành đo và ghi nhận pH, chiều cao của cây trong 8 ngày, mỗi hai ngày ghi nhận một lần, đến ngày thứ 8 thu toàn bộ cây và đo chiều dài rễ. Ghi nhận giá trị pH trước và sau khi trồng.

Cân khối lượng tươi tổng số, thân, rễ và hạt của từng keo khi thu hoạch. Dùng kéo tách riêng rễ, thân, hạt và trữ trong tủ đông (-20°C). Hạt dùng để phân tích hàm lượng đường tổng số theo phương pháp của Dubois [18], thân lá dùng để phân tích chlorophyll theo phương pháp Wellburn [19], rễ dùng để nhuộm theo phương pháp của Yamamoto [20].

D. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 22.0 để phân tích phương sai và kiểm định sự khác biệt giữa các nghiệm thức.

IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

A. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của nhôm ở các nồng độ khác nhau

1) *pH*: Trong đất phèn, ngộ độc nhôm xảy ra khi $\text{pH} \leq 5$ nên có thể thấy pH dung dịch trồng của các nghiệm thức AlCl_3 ở các nồng độ 50 μM , 100 μM , 150 μM là môi trường acid (dao động từ 4,21 – 4,27) và không có sự khác biệt. Theo thời gian, pH dung dịch của các nghiệm thức này tăng nhẹ từ 0,07 đến 0,23 trong khi pH dung dịch đối chứng có chiều hướng giảm (Bảng 1).

2) *Chiều cao cây*: Trong 8 ngày, từ khi gieo đến khi thu hoạch, chúng ta thấy do ngộ độc nhôm làm cây kém phát triển nên cây có chiều cao thấp hơn nghiệm thức đối chứng và giữa các nghiệm thức nhôm, chiều cao thân không có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 1% (Bảng 2).

Nhôm can thiệp vào sự phân chia tế bào trong rễ, làm giảm hô hấp rễ, giảm hấp thu và sử dụng nước và chất dinh dưỡng, đặc biệt là calci và phospho; nhôm làm ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất [21]. Calci cần thiết cho việc kéo dài chồi và rễ [22] và phospho là một chất dinh dưỡng đa lượng thiết yếu. Việc thiếu phospho làm hạn chế năng suất của cây [23], điều này dẫn đến chiều cao thân kém phát triển.

3) *Chiều dài rễ*: Chiều dài rễ giữa các nghiệm thức nhôm và nghiệm thức đối chứng có sự khác biệt. Ngộ độc nhôm ức chế sự phát triển của rễ nên chiều dài rễ của các nghiệm thức nhôm ngắn hơn nghiệm thức đối chứng (xấp xỉ bằng 1/10 nghiệm thức đối chứng) và chiều dài rễ giữa các nghiệm thức nhôm không có sự khác biệt (Bảng 2). Do ngộ độc nhôm ức chế sự phát triển của thực vật, đặc biệt là chiều dài rễ và sự phát triển hệ thống rễ [24] nên ở các nghiệm thức ngộ độc nhôm, chiều dài rễ là ngắn nhất.

4) *Hàm lượng đường tổng số trong hạt*: Khi cây bị ngộ độc nhôm, do bộ rễ kém phát triển nên khả năng hấp thu chất dinh dưỡng và muối khoáng giảm. Do đó, cây trồng tăng cường chuyển hóa đường để cung cấp năng

lượng cho cây, hạn chế sự xâm nhập của nhôm. Bảng 3 cho thấy hàm lượng đường tổng số trong hạt khi cây bị ngộ độc nhôm tăng ở nồng độ nhôm 50 μM và 100 μM không có sự khác biệt ở nghiệm thức nồng độ nhôm 150 μM so với nghiệm thức đối chứng.

5) *Sắc tố quang hợp*: Theo Prasad and Strzalka [25], sự ức chế sinh tổng hợp sắc tố quang hợp là một trong những yếu tố cơ bản khi thực vật stress kim loại nặng. Bảng 3 cho thấy hàm lượng chlorophyll a giảm khi cây ngộ độc nhôm, trong khi đó, không có sự khác biệt về hàm lượng chlorophyll b và carotenoid của các nghiệm thức ngộ độc nhôm và đối chứng.

6) *Khối lượng tươi*: Bảng 4 cho thấy có sự khác biệt về khối lượng tươi tổng số, thân, rễ và hạt ở các nghiệm thức có nhôm và nghiệm thức đối chứng. Ngộ độc nhôm làm giảm khối lượng tươi của cây nên các nghiệm thức có nhôm cho khối lượng sinh khối tươi thấp hơn nghiệm thức đối chứng.

Ngộ độc nhôm gây ức chế sự phát triển của thực vật, ảnh hưởng đến tế bào như thành phần, tính chất vật lý và cấu trúc của màng tế bào nhân tế bào, nguyên phân và phân chia tế bào [26], sự hấp thu Ca^{2+} và các ion khác, chủ yếu nhất là ức chế sự phát triển của rễ. Vì vậy, nó dẫn đến sự giảm khối lượng tươi của cây.

B. Thí nghiệm 2: Hiệu quả của hai hợp chất silicate là natri silicate và calci silicate lên sự chống chịu nhôm trên lúa

1) *pH*: Trong dung dịch dinh dưỡng, khi pH không được kiểm soát cẩn thận, sự hình thành silicate kim loại dạng gel trong dung dịch thường được đề xuất bằng việc thêm silic dưới dạng natri hoặc kali silicate sẽ làm tăng pH dung dịch [27]-[30]. Sự hình thành lớp nền này giải thích cho sự cải thiện khả năng chống chịu nhôm trên một số loài cây trồng [31], [32]. Trong 8 ngày sinh trưởng, pH ở các nghiệm thức có mặt Na_2SiO_3 và CaSiO_3 thay đổi từ pH môi trường kiềm

Bảng 1: Ảnh hưởng của nhôm lên pH dung dịch trồng lúa theo thời gian

AlCl ₃ (μM)	pH				
	(0 ngày)	(2 ngày)	(4 ngày)	(6 ngày)	(8 ngày)
0	6,30a	5,45a	5,34a	5,37a	5,29a
50	4,27b	4,23b	4,30b	4,37b	4,34b
100	4,24b	4,24b	4,31b	4,39b	4,39b
150	4,21b	4,26b	4,26b	4,40b	4,44b
F	**	**	**	**	**
CV (%)	2,21	1,70	0,98	1,37	1,53

(Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt qua phép thử DUNCAN, ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; các số trong ngoặc đơn là số ngày sau khi gieo.)

Bảng 2: Ảnh hưởng của nhôm lên chiều cao cây và chiều dài rễ lúa

AlCl ₃ (μM)	pH				Chiều dài rễ (cm)
	(2 ngày)	(4 ngày)	(6 ngày)	(8 ngày)	(8 ngày)
0	1,55	3,91a	4,94a	6,45a	10,20a
50	1,46	2,79b	3,61b	3,91b	1,55b
100	1,43	3,10b	3,73b	3,96b	1,50b
150	1,49	2,88b	3,93b	4,12b	1,58b
F	ns	**	**	**	**
CV (%)	16,37	19,78	13,42	14,04	50,84

(Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa qua phép thử DUNCAN, ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; ns không khác biệt; các số trong ngoặc đơn là số ngày sau khi gieo.)

Bảng 3: Ảnh hưởng của nhôm lên hàm lượng đường tổng số trong hạt và sắc tố quang hợp

AlCl ₃ (μM)	HLĐTS hạt (μg/g)	Sắc tố quang hợp (μg/g trọng lượng tươi)		
		Chl.a	Chl.b	Carotenoid
0	478,92b	562,02a	200,39	7785,40
50	608,80ab	350,75b	178,99	10956,24
100	715,28a	350,51b	159,16	6963,01
150	468,14b	301,06b	161,19	9945,21
F	*	*	ns	Ns
CV (%)	18,58	24,22	17,70	23,18

(Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa qua phép thử DUNCAN, * khác biệt 5%; ns không khác biệt; HLĐTS là hàm lượng đường tổng số; Chl. là Clorophyll.)

Bảng 4: Ảnh hưởng của nhôm lên sinh khối lượng tươi của lúa

AlCl ₃ (μM)	Khối lượng tươi (g/keo)			
	Thân	Rễ	Hạt	Tổng
0	0,80a	0,57a	1,26	2,63a
50	0,50b	0,07b	1,12	1,69b
100	0,61ab	0,06b	1,26	1,93b
150	0,59b	0,03b	1,24	1,86b
F	**	**	ns	**
CV (%)	11,33	24,50	5,80	6,81

(Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa qua phép thử DUNCAN, ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; ns không khác biệt.)

thành môi trường gần như trung tính, cụ thể pH giảm mạnh từ ngày đầu tiên đến ngày thứ 6, từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 8 pH dần ổn định. Điều này cho thấy từ ngày đầu tiên đến ngày thứ 6, giá trị pH của dung dịch còn ở mức cao hạn chế độc tính của Al, nhưng từ ngày thứ 6 trở đi, pH đang ổn định nhưng vẫn cao hơn mức trung tính, điều này chứng tỏ việc bổ sung hợp chất Na_2SiO_3 và $CaSiO_3$ giúp duy trì pH của dung dịch trồng luôn trên mức trung tính ($pH > 7$), cao hơn giá trị pH ở mức axit của nghiệm thức đối chứng (Bảng 5). Qua đó, chúng ta có thể nói rằng khi bổ sung silic, do pH tăng mạnh vượt khỏi giá trị pH gây độc của nhôm ($pH 3 - 5$) nên khả năng chống chịu nhôm của lúa gia tăng.

2) *Chiều cao cây*: Qua Bảng 6, chúng ta nhận thấy ngày thứ 2, chiều cao cây là như nhau giữa các nghiệm thức nhưng từ ngày thứ 4 trở đi, chiều cao cây của các nghiệm thức bắt đầu có sự khác biệt. Ở ngày thứ 8, chiều cao cây của các nghiệm thức nhôm có bổ sung silic tương đương với nghiệm thức đối chứng.

Ngộ độc nhôm ức chế sự phát triển của rễ làm hạn chế khả năng hấp thu dinh dưỡng, nước và khoáng chất [33]. Tuy nhiên, lúa cần nhiều silic để sinh trưởng và phát triển tốt, đối với lúa, sự tích lũy silic chủ yếu là ở vỏ trấu và thân [34], lúa có thể tích lũy silic đến mức tối đa 10% trọng lượng khô của chồi [6] và calci cần thiết cho việc kéo dài chồi [35]. Khi bổ sung các hợp chất silicate, chiều cao cây không khác biệt so với đối chứng nên có thể nói việc bổ sung natri silicate và calci silicate giúp cải thiện chiều cao cây trong môi trường ngộ độc nhôm (Bảng 6).

3) *Chiều dài rễ*: Sau 8 ngày phát triển, chiều dài rễ lúa khi được bổ sung hợp chất natri silicate và calci silicate được cải thiện đáng kể và có sự khác biệt rõ ràng giữa các nghiệm thức. Nghiệm thức bổ sung $CaSiO_3$ có chiều dài rễ lúa dài nhất là 11,17 cm (Bảng 6).

Cây bị ngộ độc nhôm giảm khả năng hấp thu Ca^{2+} và các ion khác, chủ yếu nhất là ức chế sự phát triển của rễ [26], gây ra các

triệu chứng thiếu các chất dinh dưỡng như Ca, P, Mg, K và Fe [21]. Việc bổ sung silic làm giảm độc tính Al trên lúa [7], [8]. Việc bổ sung Na_2SiO_3 đã cải thiện đáng kể sự giảm thiểu do K gây ra trong sự phát triển của chồi và rễ [36]. Do nhôm làm ức chế hấp thu Ca^{2+} và phá vỡ cân bằng Ca^{2+} nội môi [12] nên khi bổ sung calci silicate, chiều dài rễ phát triển vượt trội hơn cả. Do đó, Bảng 5 cho thấy chiều dài rễ của nghiệm thức bổ sung $CaSiO_3$ vượt trội hơn so với Na_2SiO_3 .

4) *Hàm lượng đường tổng số trong hạt*: Sự tích lũy của silic giúp tăng cường sức mạnh và độ cứng của vách tế bào [4], [5], [37]. Si giúp giảm tổng lượng hấp thu kim loại và làm giảm lượng kim loại chuyển đến chồi, hiệu ứng này được ghi nhận cho trường hợp của nhôm [31], [32], [38], [39]. Lượng đường giảm khi nghiệm thức có nhôm và silic [17] vì kim loại có thể ức chế khả năng thủy phân của amylase trong quá trình nảy mầm [40], [41]. Do vậy, chúng ta nhận thấy không có sự gia tăng về hàm lượng đường tổng số trong hạt ở các nghiệm thức ngộ độc nhôm được bổ sung muối silicate (Bảng 7).

5) *Sắc tố quang hợp*: Có nhiều bằng chứng trên nhiều loại cây trồng cho thấy việc bổ sung silic có tác dụng nâng cao khả năng quang hợp thông qua việc tăng cường sinh tổng hợp các sắc tố quang hợp đưa đến sự gia tăng năng suất [42]. Sự tích lũy của silic giúp tăng cường sức mạnh và độ cứng của vách tế bào và do đó làm tăng sức đề kháng của lúa đối với sâu, bệnh, cải thiện sự tiếp nhận ánh sáng và giảm thoát hơi nước [4]. Tuy nhiên, Bảng 7 cho thấy, các nghiệm thức ngộ độc nhôm bổ sung hợp chất Na_2SiO_3 và $CaSiO_3$ cho hàm lượng chlorophyll a và chlorophyll b thấp hơn nghiệm thức đối chứng một cách rõ ràng nhưng hàm lượng carotenoid tổng là không khác biệt. Từ đó, chúng ta có thể nói rằng, việc bổ sung các hợp chất silicate không có tác dụng tăng cường khả năng tổng hợp các sắc tố quang hợp ở giai đoạn mạ.

6) *Khối lượng tươi*: Khối lượng tươi khi được bổ sung hợp chất natri silicate và calci silicate cho thấy giữa các nghiệm thức không

Bảng 5: Sự thay đổi pH dung dịch theo thời gian khi bổ sung natri silicate và calci silicate

AlCl3 (μM)	200 mg/L	pH				
		(0 ngày)	(2 ngày)	(4 ngày)	(6 ngày)	(8 ngày)
0		6,19e	5,74d	5,73b	5,72b	5,76b
50	Na ₂ SiO ₃	10,28a	9,21a	7,47a	7,21a	7,17a
100	Na ₂ SiO ₃	10,14b	9,13ab	7,69a	7,23a	7,18a
50	CaSiO ₃	9,13c	8,91b	7,87a	7,26a	7,15a
150	CaSiO ₃	9,01d	8,62c	7,71a	7,28a	7,06a
F		**	**	**	**	**
CV (%)		0,50	1,20	2,53	1,21	1,13

(Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa qua phép thử DUNCAN, ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; các số trong ngoặc đơn là số ngày sau khi gieo.)

Bảng 6: Chiều cao cây và chiều dài rễ theo thời gian của lúa ngô độc nhôm được bổ sung hợp chất natri silicate và calci silicate

AlCl3 (μM)	200 mg/L	pH				Chiều dài rễ (cm)
		(2 ngày)	(4 ngày)	(6 ngày)	(8 ngày)	(8 ngày)
0		1,33a	3,18a	4,29a	6,28ab	7,93bc
50	Na ₂ SiO ₃	1,29a	2,70ab	3,59b	5,41b	8,12bc
100	Na ₂ SiO ₃	0,98b	2,30b	3,30b	4,29b	7,35c
50	CaSiO ₃	1,23a	3,17a	4,53a	8,47a	11,17a
150	CaSiO ₃	1,22a	2,64ab	3,94ab	5,36b	9,88ab
F		**	**	**	**	**
CV (%)		28	31,53	23,77	36,49	36,49

(Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa qua phép thử DUNCAN, ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; các số trong ngoặc đơn là số ngày sau khi gieo.)

Bảng 7: Hàm lượng đường tổng số trong hạt, sắc tố quang hợp và khối lượng tươi của lúa ngô độc nhôm được bổ sung hợp chất natri silicate và calci silicate

AlCl3 (μM)	200 mg/L	HLĐTS hạt (μg/g)	Sắc tố quang hợp (μg/g trọng lượng tươi)		
			Chl.a	Chl.b	Carotenoid
0		478,92	562,02a	200,39a	7785,40
50	Na ₂ SiO ₃	334,80	198,11b	94,59b	3840,85
100	Na ₂ SiO ₃	267,19	192,08b	91,41b	4341,72
50	CaSiO ₃	314,35	232,38b	120,15b	6221,69
150	CaSiO ₃	364,58	131,20b	79,32b	3237,31
F		ns	**	**	ns
CV (%)		33,70	29,63	25,27	48,22

(Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa qua phép thử DUNCAN, ** khác biệt ở mức ý nghĩa 1%, ns không khác biệt; HLĐTS là hàm lượng đường tổng số; Chl. là Clorophyll.)

có sự khác biệt về sinh khối tươi tổng và sinh khối các thành phần thân, rễ và hạt (Bảng 8).

Silic chiếm tối đa 10% trọng lượng khô được tích lũy trong chồi và hơn 90% silic tích lũy có dạng silica gel [5]. Cây lúa tích lũy silic nhiều nhất ở thân 13%, vỏ trấu 23% và cuống hạt 35% [34]. Silic giảm thiểu độc tính của Al thông qua hình thành các mô silic hóa trong thực vật [16] và bổ sung silicate giải pháp cho cây lúa góp phần tăng sinh khối của chúng [29]. Do đó, chúng ta có thể thấy nhu cầu tích lũy silic cao của thực vật và khi cây ngộ độc nhôm được bổ sung hợp chất natri silicate và calci silicate cho khối lượng tươi tương đương nghiệm thức đối chứng.

C. Sự peroxy hóa lipid

Nhuộm Fuchsin là một kĩ thuật nhuộm hóa học để phát hiện sự peroxy hóa lipid trên bề mặt rễ. Kĩ thuật này dựa trên việc sử dụng thuốc thử Fuchsin để phát hiện các nhóm chức aldehyd có nguồn gốc từ quá trình peroxy hóa lipid màng và gắn vào protein màng, cụ thể là thuốc thử Fuchsin phản ứng với nhóm chức aldehyd của MDA (malondialdehyde – sản phẩm phụ của quá trình peroxy hóa lipid) tạo màu đỏ tươi [20]. Hình 1 và Hình 2 cho thấy, nghiệm thức đối chứng không bắt màu với thuốc nhuộm. Sự bắt màu thuốc nhuộm đáng kể ở nghiệm thức $AlCl_3$ và ít hơn ở nghiệm thức $AlCl_3$, với sự có mặt của hai hợp chất silicate là Na_2SiO_3 và $CaSiO_3$. Điều này chứng tỏ rằng, với sự hỗ trợ của các hợp chất silicate, sự peroxy hóa lipid ở rễ khi ngộ độc nhôm giảm.

D. Sự mất tính toàn vẹn màng tế bào

Sự mất tính toàn vẹn màng tế bào được đánh giá bằng cách nhuộm Trypan Blue [43], [44]. Thuốc nhuộm Trypan Blue cho phép phân biệt các tế bào có màng bị hư hỏng dựa trên sự tích điện âm và không tương tác với tế bào trừ khi màng tế bào bị hư hỏng (tế bào chết) nên Trypan Blue mới có thể xâm nhập vào tế bào [45]. Hình 3, 4, 5 cho thấy, nghiệm thức đối chứng không bắt màu với

Hình 1: Sự peroxy hóa lipid trên bề mặt rễ ở vật kính 4 khi nhuộm với Fuchsin

Ghi chú: A- đối chứng, B- $AlCl_3$, C – $AlCl_3$ + Na_2SiO_3 , D – $AlCl_3$ + $CaSiO_3$.

Hình 2: Sự peroxy hóa lipid trên bề mặt rễ ở vật kính 40 khi nhuộm với Fuchsin

Ghi chú: A- đối chứng, B- $AlCl_3$, C – $AlCl_3$ + Na_2SiO_3 , D – $AlCl_3$ + $CaSiO_3$.

thuốc nhuộm, sự ăn màu của Trypan Blue diễn ra ở nghiệm thức $AlCl_3$ và sự ăn màu ít hơn ở các nghiệm thức được bổ sung natri silicate và calci silicate.

Do đó, chúng ta có thể nói rằng, ngộ độc nhôm làm hư hỏng màng tế bào, gây ra các vết nứt bề mặt hay nói cách khác là ngộ độc nhôm làm mất tính toàn vẹn màng tế bào.

E. Sự tích lũy nhôm ở rễ

Nhuộm hematoxylin là một phương pháp nhuộm để quan sát sự tích lũy nhôm trong tế bào. Trong quy trình nhuộm này, nhôm đóng vai trò là chất gắn màu và gây ra sự liên kết của hematein (hematoxylin bị oxy hóa) với các thành phần của các tế bào với sự hình thành các phức màu [46]. Chóp rễ tích lũy nhiều nhôm hơn và dẫn tới tổn thương vật lí

Bảng 8: Khối lượng tươi của lúa ngộ độc nhôm được bổ sung hợp chất natri silicate và calci silicate

AlCl3 (μM)	200 mg/L	Khối lượng tươi (g/keo)			
		Thân	Rễ	Hạt	Tổng
0		0,54	0,53	0,84	1,91
50	Na ₂ SiO ₃	0,43	0,57	0,81	1,82
100	Na ₂ SiO ₃	0,38	0,45	0,77	1,60
50	CaSiO ₃	0,52	0,71	0,91	2,14
150	CaSiO ₃	0,47	0,50	0,91	1,88
F		ns	ns	ns	ns
CV (%)		23,41	30,38	8,32	14,54

(Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa qua phép thử DUNCAN, ns không khác biệt.)

Hình 3: Sự mất tính toàn vẹn màng tế bào rễ ở vật kính 4 khi nhuộm với Trypan Blue
Ghi chú: A- đối chứng, B- AlCl₃, C- AlCl₃ + Na₂SiO₃, D - AlCl₃ + CaSiO₃.

Hình 5: Sự ăn màu Trypan Blue của rễ ngộ độc nhôm

Hình 4: Sự mất tính toàn vẹn màng tế bào rễ ở vật kính 40 khi nhuộm với Trypan Blue
Ghi chú: A- đối chứng, B- AlCl₃, C- AlCl₃ + Na₂SiO₃, D - AlCl₃ + CaSiO₃.

nhiều hơn các mô rễ trưởng thành [11]. Rễ ngộ độc nhôm khi nhuộm với hematoxylin ta quan sát thấy chóp rễ bị phù [47]. Chiều dài rễ bị ức chế khi cây ngộ độc nhôm [48]. Hình 6, 7, 8 cho thấy, nghiệm thức đối chứng

không tạo màu đen với thuốc nhuộm, ở rễ bị ngộ độc nhôm có màu đen, chóp rễ sưng phù, biến dạng, khi được bổ sung natri silicate và calci silicate, sự tích lũy nhôm chỉ xảy ra ở chóp rễ tạo nên màu đen ở chóp rễ.

F. Sự phát triển của rễ

Rễ lúa là rễ chùm (gồm một rễ mầm và các rễ phụ), có nhiệm vụ giúp cây bám chặt đất, hút nước và chất dinh dưỡng nuôi cây [11]. Hình 9 cho thấy khi ngộ độc nhôm, cây chỉ có duy nhất một rễ mầm và không phát triển hệ thống rễ phụ. Tuy nhiên, khi được bổ sung hợp chất natri silicate và calci silicate, hệ thống rễ phụ vẫn phát triển bình thường như nghiệm thức đối chứng.

Qua Hình 10, chúng ta nhận thấy, số rễ phụ giữa các nghiệm thức có sự khác biệt.

Hình 6: Sự tích lũy nhôm ở rễ ở vật kính 4 khi nhuộm với Hematoxylin
Ghi chú: A- đối chứng, B- $AlCl_3$, C- $AlCl_3 + Na_2SiO_3$, D- $AlCl_3 + CaSiO_3$.

Hình 7: Sự tích lũy nhôm ở rễ ở vật kính 40 khi nhuộm với Hematoxylin
Ghi chú: A- đối chứng, B- $AlCl_3$, C- $AlCl_3 + Na_2SiO_3$, D- $AlCl_3 + CaSiO_3$.

Hình 8: Chóp rễ biến dạng khi ngộ độc nhôm ở vật kính 10 và 40 khi nhuộm với Hemtoxylin

Hình 9: Sự phát triển của rễ
(Ghi chú: A- đối chứng; B, C, D - $AlCl_3$ ($50\mu M$, $100\mu M$, $150\mu M$); E- $AlCl_3$ $100\mu M + CaSiO_3$; F- $AlCl_3$ $50\mu M + CaSiO_3$; G- $AlCl_3$ $100\mu M + Na_2SiO_3$; H- $AlCl_3$ $50\mu M + Na_2SiO_3$)

Do ngộ độc nhôm ức chế sự phát triển của thực vật, đặc biệt là chiều dài rễ, sự phát triển hệ thống rễ [24] và rễ mầm không ăn sâu, ít phân nhánh [11] nên nghiệm thức $AlCl_3$ có thể có rất ít hoặc không có rễ nhánh. Việc bổ sung silic giúp hạn chế độc nhôm [32], [39]. Ngoài ra, do ngộ độc nhôm làm cây thiếu calci [21] nên việc bổ sung các hợp chất silic và đặc biệt là hợp chất calci silicate giúp cải thiện độc nhôm, cải thiện sự phát triển rễ nhánh, tăng khả năng hấp thu dinh dưỡng của rễ. Hình 10 cho thấy rễ nhánh của nghiệm $AlCl_3$ có ít rễ nhánh và các rễ này bị biến dạng (ngắn, phù to). Mặt khác, khi bổ sung các hợp chất silic làm tăng sự phát triển của rễ nhánh và bổ sung calci silicate có giúp rễ có nhiều nhánh hơn bổ sung natri silicate.

V. KẾT LUẬN

Lúa rất nhạy cảm với nhôm, nồng độ $AlCl_3$ $50\mu M$ đã gây ức chế sinh trưởng và phát triển của giống OM7347 giai đoạn mạ. Việc bổ sung hợp chất Na_2SiO_3 và $CaSiO_3$ có tác dụng tích cực lên sự phát triển của cây, giảm ảnh hưởng do độc nhôm gây ra, trong đó,

Hình 10: Sự phân nhánh của rễ
(Ghi chú: A- đối chứng, B- $AlCl_3$, C – $AlCl_3 + Na_2SiO_3$, D – $AlCl_3 + CaSiO_3$.)

việc bổ sung hợp chất $CaSiO_3$ cho hiệu quả tốt hơn. Các hợp chất này góp phần cải thiện chiều cao, chiều dài rễ và tăng pH dung dịch trồng. Ngoài ra, các hợp chất này còn giúp hạn chế sự tích lũy nhôm ở rễ, sự hư hỏng màng tế bào do nhôm gây ra và duy trì sự phát triển rễ phụ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Wedepohl KH. The composition of the continental crust. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1995;59:1217-1232.

[2] Haynes RJ. A contemporary overview of silicon availability in agricultural soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2014;177:831-844.

[3] Lobato AKS, Guedes EMS, Marques DJ, Neto CFO. Silicon: a benefic element to improve tolerance in plants exposed to water deficiency. In: *Akinci S. Responses of Organisms to Water Stress*. IntechOpen; 2013.

[4] Epstein E. The anomaly of silicon in plant biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1994;91:11-17.

[5] Ma JF, Takahashi E. *Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan*. Elsevier; 2002.

[6] Ma JF, Tamai K, Yamaji N, Mitani N, Konishi S, Katsuhara M, Ishiguro M, Murata Y, Yano M. A silicon transporter in rice. *Nature*. 2006;440:688-691.

[7] Horiguchi T. Mechanism of manganese toxicity and tolerance of plants. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 1988;34:65-73.

[8] Junior LAZ, Fontes RLF, Neves JCL, Korndorfer GH, Avila VT. Rice grown in nutrient solution with doses of manganese and silicon. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2010;34:1629-1639.

[9] Võ Thị Gương và Nguyễn Mỹ Hoa. *Một số kết quả nghiên cứu về sử dụng và quản lý đất phèn ở Đồng bằng sông Cửu Long*. TP. Hồ Chí Minh: Nhà Xuất bản Nông nghiệp; 2010.

[10] Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *The state of food and agriculture 2006*. Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2006.

[11] Nguyễn Ngọc Đệ. *Giáo trình Cây lúa*. Nhà Xuất bản Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh; 2008.

[12] Delhaize E, Ryan PR. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiology*. 1995;107:315-321.

[13] Cheng S. Effects of heavy metals on plants and resistance mechanisms. *Environmental Science and Pollution Research*. 2003;10:256-264.

[14] Mithöfer A, Schulze B, Boland W. Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals. *FEBS Letters*. 2004;566:1-5.

[15] Singh VP, Tripathi DK, Kumar D, Chauhan DK. Influence of exogenous silicon addition on aluminum tolerance in rice seedlings. *Biological Trace Element Research*. 2011;144:1260-1274.

[16] Sahebi M, Hanafi MM, Akmar ASN, Rafii MY, Azizi P, Tengoua FF, Azwa JNM, Shabanimofoad M. Review article importance of silicon and mechanisms of biosilica formation in plants. *BioMed Research International*. 2014;2015:1-16.

[17] Nhan PP and Hai NT. Amelioration of aluminum toxicity on OM4900 rice seedlings by sodium silicate. *African Journal of Plant Science*. 2013;7:208-212.

[18] Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 1956;28:350-356.

[19] Wellburn AR. The spectral determination of chlorophyll a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*. 1994;144:307-313.

[20] Yamamoto Y, Kobayashi Y, Matsumoto H. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots. *Plant Physiology*. 2001;125:199-208.

[21] Rout GR, Saamantaray S, Das P. Aluminium toxicity in plants: a review. *Agronomy*. 2001;21:3-21.

[22] Wallace A, Flolich E, Lunt OK. *Calcium requirements of higher plants*. Nature. 1966;209:634.

[23] Carstensen A, Herdean A, Schmidt SB., Sharma A, Spetea C, Pribil M, Husted. The impacts of phosphorus deficiency on the photosynthetic electron transport chain. *Plant Physiology*. 2018;177:271-284.

[24] Matsuo T, Kumazawa K, Ishii R, Ishihara K, Hirata H. *Science of the rice plant*. Food and Agriculture Policy Research Center Tokyo Japan; 1995.

[25] Prasad MNV, Strzalka K. *Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants*. Springer Science and Business Media; 2002.

[26] Silva IR, Smyth TJ, Moxley DF, Carter TE, Allen NS, Ruffy TW. Aluminum accumulation at nuclei of cells in the root tip. Fluorescence detection using lumogallion and confocal laserscanning microscopy. *Plant Physiology*. 2000;123:543-552.

[27] Haynes RJ. Significance and Role of Si in Crop Production. *Advances in Agronomy*. 2017;65:1-87.

- [28] Liang YC, Yang CG, Shi HH. Effects if silicon on growth and mineral composition of barley grown under toxic levels of aluminium. *Journal of Plant Nutrition*. 2001;24:229-243.
- [29] Gu HH, Zhan SS, Wang SZ, Tang YT, Chaney RL, Fang XH, Cai XD, Qiu RL. Silicon-mediated amelioration of zinc toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant and Soil*. 2012;350:193-204.
- [30] Ma JF, Sasaki M, Matsumoto H. Al-induced inhibition of root elongation in corn, *Zea mays* L. is overcome by Si addition. *Plant and Soil*. 1997;188:171-176.
- [31] Liang YC, Sun W, Zhu YG, Christie P. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. *Environmental Pollution*. 2006;147:422-428.
- [32] Corrales I, Poschenrieder C, Barrcelo J. Influence of silicon pretreatment on aluminium toxicity in maize roots. *Plant and Soil*. 1997;190:203-209.
- [33] Gupta N, Gaurav SS and Kumar A. Molecular basis of aluminium toxicity in plants: a review. *American Journal of Plant Sciences*. 2013; 4: 21-37.
- [34] Currie HA, Perry CC. Silica in plants: Biological, biochemical and chemical studies. *Annals of Botany*. 2007;100:1383-1389.
- [35] Burstrom HG. Calcium and plant growth. *Journal of Biology*. 1968;43:287-316.
- [36] Miao BH, Han XG, Zhang WH. The ameliorative effect of silicon on soybean seedlings grown in potassium-deficient medium. *Annals of Botany*. 2010;105:967-973.
- [37] Ma JF, Mitani N, Nagao S, Konishi S, Tamai K, Iwashita T, Yano M. Characterization of the silicon uptake system and molecular mapping of the silicon transporter gene in rice. *Plant Physiology*. 2004;136:3284-3289.
- [38] Wu JW, Zhu SY, Wang YC, Gong HJ. Mechanisms of enhanced heavy metal tolerance in plants by silicon: a review. *Pedosphere*. 2013;23:815-825.
- [39] Cocker KM, Evans DE, Hodson MJ. The amelioration of aluminium toxicity by silicon in higher plants: solution chemistry or an in planta mechanism. *The Plant Journal*. 1998;104:608-614.
- [40] Ahsan N, Lee DG, Lee SH, Kang KY, Lee JJ, Kim PJ, Yoon HS, Kim JS, Lee BH. Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. *Chemosphere*. 2007;67:1182-1193.
- [41] Gautam M, Sengar RS., Chaudhary R, Sengar K, Garg S. Possible cause of inhibition of seed germination in two rice cultivars by heavy metals Pb^{2+} and Hg^{2+} . *Toxicological and Environmental Chemistry*. 2010;92:1111-1119.
- [42] Snyder GH, Martichenkov VV, Datnoff LE. Silicone. In: *Barker AV and Pilbean DJ. Handbook of Plant Nutrition*. CRC Press; 2016.
- [43] Baker CJ, Mock NM. An improved method for monitoring cell death in cell suspension and leaf disc assays using Evans blue. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 1994;39:7-12.
- [44] Ikegawa H, Yamamoto Y, Matsumoto H. Cell death caused by a combination of aluminum and iron in cultured tobacco cells. *Physiologia Plantarum*. 1998;104:474-478.
- [45] Tielas CD, Graña E, Sotelo T, Reigosa MJ, Moreiras AMS. The natural compound trans-chalcone induces programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* roots. *Plant, Cell and Environment*. 2012;35:1500-1517.
- [46] Havas M. A hematoxylin staining technique to locate sites of aluminum binding in aquatic plants and animals. *Water, Air and Soil Pollution*. 1986;30:735-741.
- [47] Wenzl P, Patino GM, Chaves AL, Mayer JE, Rao IM. The high levels of aluminium resistance in signalgrass is not associated with known mechanism of external aluminium detoxification in root apices. *Plant Physiology*. 2001;122:1437-1484.
- [48] Ryan PR, Shaff JE, Kochian LV. Aluminium toxicity in roots: An investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *Journal of Experimental Botany*. 1993;44:437-446.