

不同水杨酸处理方式对喜树幼苗铝胁迫的缓解效应

王俊霖,严晓茹,沈晓云,赵梦婷,张婷婷,沈族桓,陈颖*

(南京林业大学生物与环境学院,南京 210037)

摘要:通过根施和叶面喷施的水杨酸(SA)2种预处理方式,研究水培条件下水杨酸对喜树幼苗铝毒害的缓解效应。结果表明:1000 mg/L的 $AlCl_3$ 处理降低了喜树幼苗的单株鲜质量、主根长和侧根数量,叶绿素含量和根系活力也显著下降,细胞膜透性增加,说明喜树幼苗受到了一定程度的铝胁迫;铝处理下2种不同方式水杨酸预处理喜树幼苗8 d和16 d后,都不同程度地提高了喜树幼苗的鲜质量、叶绿素含量、根系活力,降低了电导率,提高了喜树碱的含量,说明水杨酸能够有效缓解铝对喜树幼苗的伤害。从处理效果上看,50 mg/L SA叶面喷洒处理效果最好,尽管25 mg/L SA的根施处理抑制了茎的伸长,但促进了侧根的形成及喜树碱的合成。

关键词:喜树;铝胁迫;水杨酸;幼苗

Exogenous treatment with salicylic acid alleviates aluminum toxicity in *Camptotheca acuminata* L. seedlings// WANG Junlin, YAN Xiaoru, SHEN Xiaoyun, ZHAO Mengting, ZHANG Tingting, SHEN Zuhuan, CHEN Ying

Abstract:The seedlings of *Camptotheca acuminata* L. were pre-immersed in Haogland solution with 10, 25 mg/L salicylic acid (SA) or pre-sprayed leaves with 25, 50 mg/L SA for three days, then were cultured in the presence of 1000 mg/L $AlCl_3$ (SA + Al) for 8 or 16 days. The seedlings exhibited a decline in fresh weight, main root length, number of lateral root, pigment content, and root activity, but an increase in relative electric conductivity (REC) under Al alone treatment. However, above mentioned parameters (except REC) of seedlings were obvious up-regulated under Al treatment after pre-treated with SA solution. The Al and SA + Al treatments all increased the content of camptothecin in seedlings compared to control, but the content in treatments of SA + Al was higher than that in Al alone treatment. The results showed that pre-treatment with SA alleviated aluminum stress and enhanced aluminum tolerance in seedlings. The best treatment was 50 mg/L SA foliar spraying among four SA treatments. The treatment of 25 mg/L SA which immersed root inhibited the stem elongation, but it promoted the formation of the lateral roots and the synthesis of camptothecin in leaves and roots.

Key words:*Camptotheca acuminata* L.; aluminum toxicity; salicylic acid; seedlings

First author's address: College of Biology and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

酸雨危害已成为当今世界上备受关注的重大环境问题之一,我国是继欧洲、北美之后的第三大酸雨区^[1]。近年来相关研究表明,酸雨胁迫可导致土壤酸化^[2]。而在酸性土壤条件下(pH < 5),原固定于土壤晶格中的铝可逐渐解离,增加土壤中铝的溶解度,高含量的 Al^{3+} 会对植物产生毒害作用即铝毒危害。目前,铝毒已成为酸性土壤限制植物生长的最主要问题之一^[3-4]。因此,阐明铝对植物的毒害机制和选育耐铝植物,以及寻求有效途径增加植物的耐铝性和适应性,将有助于提高酸性土壤生产力、保护森林和生

态系统、促进农林业可持续发展。

喜树(*Camptotheca acuminata*)干形通直、树姿优美,速生及抗逆性强,是园林绿化、植树造林、药物生产的优良树种之一,在南亚热带、中亚热带半干燥或半湿润的酸性土壤地区分布较广^[5]。水杨酸(Salicylic acid, SA)是一种是植物体内重要的内源信号分子^[6]。外源水杨酸能够提高植物对逆境的抵抗能力,如SA能够减轻镉对小麦和铅对玉米的毒害作用^[7-8];SA能够促进菊花根系在盐胁迫下的AT-Pase活性^[9];水杨酸能够提高南林895杨的耐盐性^[10]。

前期笔者研究了不同种源喜树种子萌发过程中的耐铝性差异^[11],本研究在此基础上,进一步调查水杨酸对南京种源喜树幼苗铝毒的缓解效应,以期对喜树苗木的环境适应性研究及植物耐铝性机制研究提供参考依据。

收稿日期:2014-07-02

修回日期:2014-08-29

基金项目:2013 国家级大学生实践创新计划项目(编号:201310298003);江苏省高校优势学科建设工程资助项目(PAPD);“十二五”国家科技支撑计划(编号:2011BAD38B01)。

作者简介:王俊霖(1990-),男,硕士生,研究方向为植物生理。严晓茹为并列第一作者。通讯作者:陈颖,女,副教授。E-mail: chynjfu@163.com

1 材料与方法

1.1 幼苗的培养

种子来源于南京林业大学校园。种子萌发过程见文献[11]。萌发的种子播种到盛有高压灭菌过的珍珠岩、底部有孔的塑料盒中,每天定时浇水。至喜树幼苗长出子叶时,改为1/2 Hoagland 营养液,隔天浇水。至喜树幼苗长出3片真叶时,将小苗从珍珠岩中取出,洗净基质后,选取生长一致的幼苗放入盛有40 mL 1/4 Hoagland 营养液的100 mL 纸杯中,每杯6棵,恢复培养5 d后进行不同浓度的水杨酸处理。

1.2 幼苗的处理

水杨酸预处理分2种方式:(1)根施:选取生长一致的喜树苗,将苗木移入分别含10和25 mg/L 水杨酸的1/4 Hoagland 营养液中,预处理3 d后,将苗木移入1000 mg/L $AlCl_3$ + 1/4 Hoagland 营养液中培养,标记为:Al + SA₁、Al + SA₂;(2)叶施:选取在1/4 Hoagland 营养液中生长一致的喜树苗,用喷雾器分别用25和50 mg/L的SA均匀喷施叶面(为增加附着效果,SA溶液中添加几滴吐温),每次喷至叶片滴液为度,连续处理3 d后,将小苗分别移入1000 mg/L $AlCl_3$ + 1/4 Hoagland 营养液中培养,标记为Al + SA₃、Al + SA₄。对照:1/4 Hoagland 营养液(CK);铝处理:1/4 Hoagland 营养液 + 1000 mg/L $AlCl_3$,标记为Al。为使试验一致性,喷施水杨酸的同时对照组和根施组的幼苗用蒸馏水代替水杨酸喷施叶面。

以上各处理待根施和叶施预处理3 d后同时将幼苗移入相应的处理液中,各处理均在光照温室中进行,温度25℃左右,光照强度250 $\mu mol/(m^2 \cdot s)$ 左

右,每处理8杯,每处理重复3次,每2 d换一次处理液,处理后第8天和第16天取样,测定鲜质量、根长及相关生理指标。

1.3 指标测定

相对质膜透性和丙二醛(MDA)含量测定分别采用电导法和硫代巴比妥酸法^[12];根系活力测定参照邹琦^[13]法;叶绿素含量测定按照Porra法^[14];喜树碱测定参照王海霞法^[15]并略有改进:Agilent 1200型-HPLC进行测定,色谱柱:C18(150 mm × 4.6 mm);流动相:甲醇/水(v/v,62:38);流速:1 mL/min;检测波长:254 nm;进样量:10 μL ,柱温:25℃。

1.4 数据处理

试验均重复3次,根据3次试验所得数据计算平均值和标准误,采用SPSS 11.5软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 水杨酸处理对铝胁迫下喜树幼苗生长的影响

铝胁迫下不同方式水杨酸处理对喜树幼苗的鲜质量和苗高产生不同的影响。从图1中可以看出,在培养至16 d时,单独1000 mg/L的铝处理(Al)幼苗单株鲜质量比对照降低了6.1%;而铝处理下添加水杨酸对喜树单株的鲜质量都有显著地提高,其中50 mg/L(Al + SA₄)叶片喷洒处理的效果最好,其叶片的鲜质量比对照和单独铝处理分别提高了46.8%和90.2% ($p=0.002 < 0.01$),其次是25 mg/L SA(Al + SA₃)喷洒处理的,而2个根施SA处理的鲜质量比叶喷的低。从幼苗高度来看,除了根施25 mg/L SA(Al + SA₂)显著地降低了幼苗的高度外,其他处理包括对照和单独铝处理的苗高之间都没有明显的差异,仍然是50 mg/L叶面喷洒的效果最好(图1)。

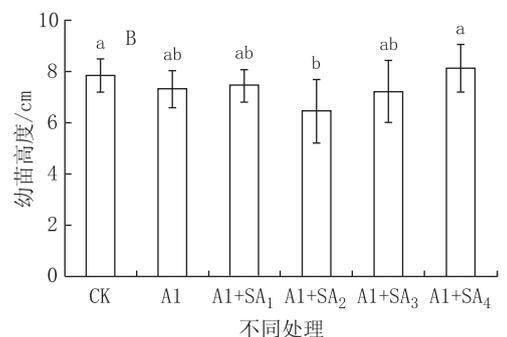
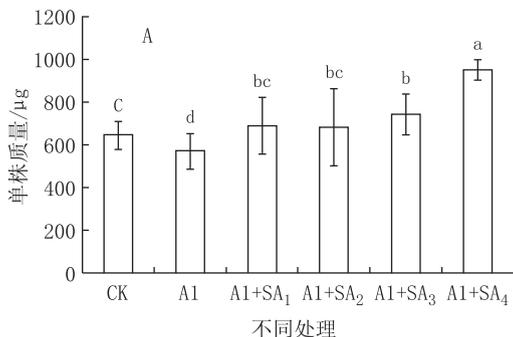


图1 铝胁迫下不同水杨酸处理对喜树幼苗生物量(A)和苗高(B)的影响

从对主根长和侧根数的影响来看,不同方式和浓度的水杨酸处理喜树幼苗,其主根长和侧根数差异显著。在培养至16 d时,单独铝处理显著抑制了喜树幼苗主根长和侧根数目,分别比对照降低了22.5%和28.9%。与单独铝处理相比,10 mg/L SA(Al + SA₁)

根施和25 mg/L SA(Al + SA₃)叶面喷施处理的喜树幼苗主根长分别提高了36.6%和43.9%,而且叶喷25 mg/L SA处理的主根长超过了对照11.5%(图2A)。但从侧根数来看,25 mg/L SA叶喷处理的侧根数与对照差异不显著,10 mg/L SA根施处理的侧根数比对照

降低了 10.3% (图 2B)。

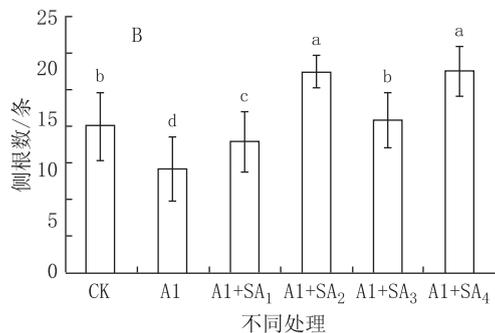
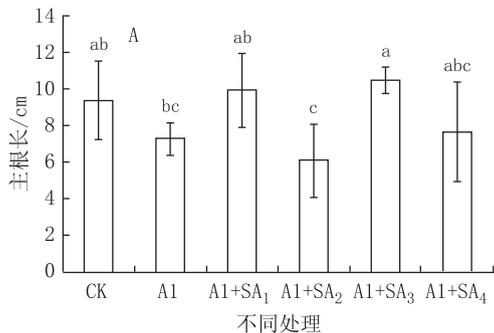


图 2 铝胁迫下不同水杨酸处理对喜树幼苗主根长(A)和根数(B)的影响

从 25 mg/L SA 根施和 50 mg/L SA 叶喷来看,两者都显著抑制了主根的生长却增加了侧根的数量,如 25 mg/L SA 根施处理的主根长比单独铝处理的降低 15.8%,而侧根数却增加了 93.1%,比对照增加了 37.2%。说明在一定范围内,SA 处理对主根长和侧根数存在浓度效应,低浓度的 SA 有利于主根的伸长,而高浓度的 SA 有利于侧根的发育。

2.2 水杨酸处理对铝胁迫下喜树幼苗叶绿素含量的影响

铝胁迫下不同水杨酸处理喜树幼苗叶绿素含量见表 1。从表 1 可见,无论是在处理的第 8 天还是在第 16 天,单独铝处理的喜树幼苗叶片总叶绿素含量、叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量都较对照低,但方差分析表明两者之间差异不显著($p = 0.203 > 0.05$)。铝处理添加水杨酸后都显著地提高了幼苗叶绿素的含量。在第 8 天时,25 mg/L SA 的根施(Al + SA₂)和 25 mg/L SA 叶面喷施(Al + SA₃)的叶片比单独铝处理对叶绿素的影响较大,其中总叶绿素分别增加了 177%、130%,叶绿素 a 分别增加了 166%和 126%、叶绿素 b 含量分别增加了 203%和 143%。到 16 d 时,单独铝处理的喜树幼苗色素含量仍然小于对照,但差异不显

著,与第 8 天比较,叶绿素含量显著增加;铝处理添加 SA 后,4 个处理的总叶绿素、叶绿素 a、b 含量都显著地高于单独铝处理和对照的,其中 25 mg/L SA 的根施处理和 50 mg/L SA 的叶面喷施处理效果显著,分别比单独铝处理总叶绿素含量增加了 40.3%和 94.5%,叶绿素 a 分别增加了 39.5%和 85.0%,叶绿素 b 分别增加了 42.3%和 118.0%。从图 3 可以看出,对照的叶片颜色呈黄绿色,而铝处理添加 SA 后,叶色呈深绿色,说明适宜浓度的 SA 处理能够促进喜树幼苗叶绿素的合成,提高其光合性能。

表 1 铝胁迫下水杨酸对喜树幼苗叶绿素含量的影响

处理时间/d	处理	总叶绿素含量/ (mg·g ⁻¹)	叶绿素 a/ (mg·g ⁻¹)	叶绿素 b/ (mg·g ⁻¹)
8	CK	0.230 ± 0.011 c	0.176 ± 0.009 c	0.054 ± 0.010 d
	Al	0.199 ± 0.021 c	0.144 ± 0.014 c	0.055 ± 0.007 d
	Al + SA ₁	0.332 ± 0.033 b	0.240 ± 0.022 b	0.092 ± 0.112 c
	Al + SA ₂	0.551 ± 0.083 a	0.384 ± 0.060 a	0.167 ± 0.024 a
	Al + SA ₃	0.459 ± 0.037 a	0.325 ± 0.024 a	0.134 ± 0.013 ab
	Al + SA ₄	0.336 ± 0.028 b	0.234 ± 0.020 b	0.102 ± 0.011 bc
16	CK	0.487 ± 0.097 bc	0.350 ± 0.038 bc	0.137 ± 0.031 b
	Al	0.449 ± 0.107 c	0.327 ± 0.042 c	0.122 ± 0.044 b
	Al + SA ₁	0.466 ± 0.032 bc	0.340 ± 0.027 bc	0.126 ± 0.056 b
	Al + SA ₂	0.631 ± 0.119 b	0.457 ± 0.062 b	0.174 ± 0.012 ab
	Al + SA ₃	0.546 ± 0.088 c	0.403 ± 0.025 c	0.143 ± 0.046 b
	Al + SA ₄	0.872 ± 0.061 a	0.606 ± 0.016 a	0.266 ± 0.035 a

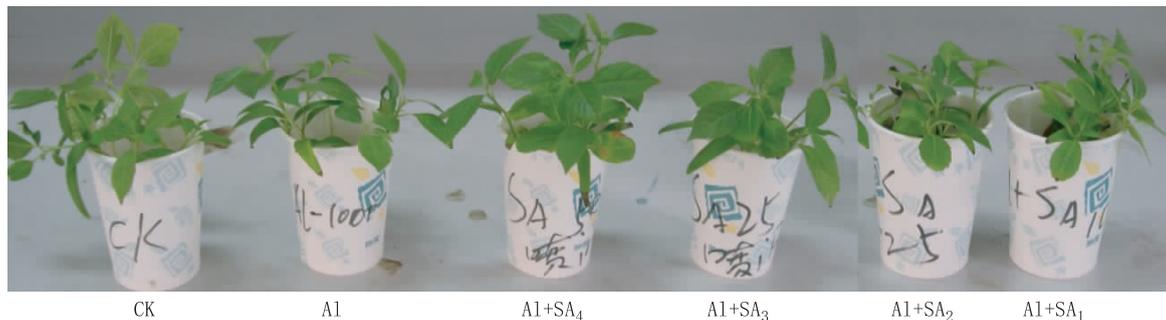


图 3 铝胁迫下不同水杨酸处理对喜树幼苗叶片生长的影响(培养 16 d)

2.3 水杨酸处理对喜树幼苗根系活力和质膜相对透性的影响

不同水杨酸处理喜树幼苗根系活力和质膜相对透

性见图 4。从图 4A 看出,各处理间根系活力差异明显,单独铝处理后根系活力明显地下降,在处理的第 8 天和第 16 天分别比对照下降了 57.7%和 31.3%,而

铝处理添加水杨酸后,根系活力明显提高。在第8天时,4个水杨酸处理的喜树幼苗根活力都高于单独铝处理的,其中25 mg/L SA的根施处理和25 mg/L SA的叶面喷施分别比单独铝处理的高205.7%和174.6%。在第16天时,4个水杨酸处理的喜树幼苗根活力仍然显著高于单独铝处理的,其中叶片喷施的

效果好于根施的,50 mg/L SA的叶片喷洒根活力最高,分别比对照和单独铝处理的提高了12.5%和63.9%,25 mg/L SA的叶片喷洒处理根活力次之,而25 mg/L SA根施处理的根活力在4个水杨酸处理中是最低的,这些结果说明水杨酸能够缓解铝对喜树幼苗的毒害作用,以叶面喷洒效果比较好。

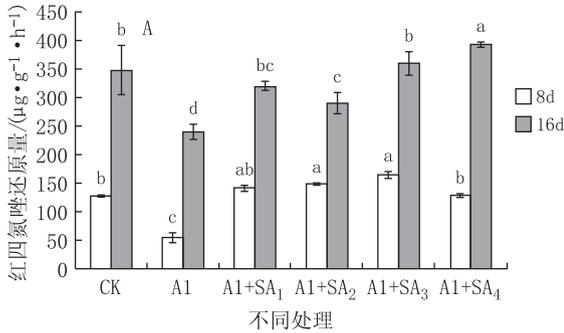
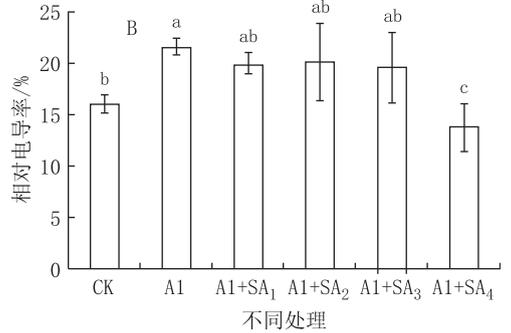


图4 铝胁迫下水杨酸对喜树幼苗根系活力和相对电导率的影响



电导率的高低是判断细胞膜受伤害程度的一个指标,常用来表示质膜相对透性的变化。从图4B中可以看出,培养至16 d时,单独铝处理的电导率最高,水杨酸处理后,根施的10和25 mg/L的SA处理及25 mg/L SA叶面喷洒处理的电导率都高于对照,但都比单独铝处理的低,50 mg/L SA喷洒处理的电导率最小,分别比对照和单独铝处理的降低了16.7%和57.2% ($p = 0.0014 < 0.01$),说明水杨酸对铝毒的缓解作用明显。

2.4 水杨酸处理对喜树幼苗喜树碱含量的影响

单独铝处理和铝处理添加水杨酸后喜树幼苗根系和叶片中喜树碱的含量都有所增加(图5)。在处理的第16天,单独铝处理的幼苗根系中的喜树碱比对照提高16.4%;4个水杨酸处理中,根施水杨酸对幼苗根系喜树碱的影响大于叶面喷洒,25 mg/L SA的根施(Al+SA₂)处理的喜树碱含量最高,分别比对照和单独铝处理的高67.6%和95.1% ($p = 0.02 < 0.05$),而叶面喷洒的2个处理根系中的喜树碱含量与单独铝处理之间没有明显的差异。

从叶片中的喜树碱来看,铝处理后叶片中的喜树碱含量比对照高6.5%,铝处理添加水杨酸后,25 mg/L SA的根施(Al+SA₂)处理和25 mg/L SA的叶喷(Al+SA₂)处理高于单独铝处理的,两者分别提高了14.9%和10.1%,其他2个水杨酸处理与单独铝处理的差异不大,50 mg/L SA的叶喷(Al+SA₄)甚至低于单独铝处理的。

3 结论与讨论

从以上的结果中可以看出,1000 mg/L的铝处理降低了喜树幼苗的单株鲜质量、抑制了主根长和侧根数量,根活力下降,细胞膜透性增加,说明喜树幼苗受到一定程度的铝毒害作用;铝处理下两种不同方式水杨酸处理都不同程度的提高了喜树幼苗的生物量、叶绿素含量、根系活力,降低了电导率,因而能够有效缓解铝对喜树有幼苗的伤害,从效果上看,50 mg/L SA叶面喷洒处理效果最好,而25 mg/L SA的根施处理效果差一些,但它能够促进喜树碱的合成和侧根的形成。

喜树是一种耐铝性较强的树种。笔者浓度梯度试验(资料未给出)发现,喜树在1000 mg/L铝胁迫下尽管对苗木生长和生理代谢有一定的抑制作用,表现为生物量降低,根系生长减慢,但喜树能够在此浓度下长期维持生长。研究表明,水杨酸已经被证明是一种植物体内的内源激素,许多报道都阐明水杨酸能够提高植物的抗性^[16],水杨酸可以有效缓解盐胁迫对南林895杨组培苗的伤害^[10]。Muñoz-Sánchez等^[17]通过扫描电镜观察到SA处理能够修复咖啡悬浮细胞由于铝胁迫导致的细胞固缩,并恢复到正常细胞的形态,缓解铝胁迫。本研究同样发现水杨酸能够缓解铝胁迫对喜

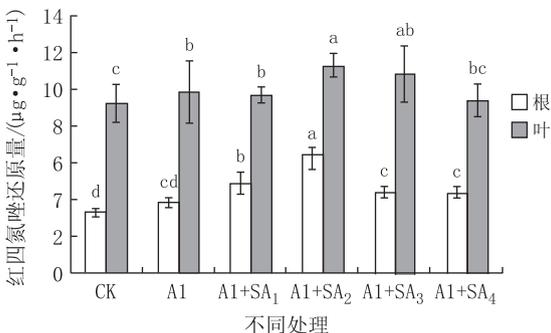


图5 铝胁迫下水杨酸对喜树幼苗喜树碱含量的影响

树幼苗的伤害,但不同方式的水杨酸处理对喜树幼苗根系生长的影响差别较大,表现在低浓度根施(10 mg/L)和低浓度的叶喷(25 mg/L) SA 处理的主根较长,但侧根数较少,而浓度较高的 25 mg/L SA 根施和 50 mg/L 叶喷的主根较短侧根数增加,说明其有利于侧根的分化,但从根系的外表来看,25 mg/L SA 根施的根系变褐,侧根粗短,说明此浓度的 SA 对根系生长有一定的抑制作用,这一点可以从其对根系活力和相对电导率的影响中看出。

从叶绿素的含量来看,单独铝处理降低了叶绿素含量,但与对照相比并不显著,铝处理添加水杨酸后能够显著提高叶绿素的含量,这与水杨酸能提高沙冬青^[18]和烤烟^[19]玉米,栝楼^[20]的结果一致。本研究中发现尽管 25 mg/L SA 根施和 50 mg/L SA 的叶喷处理都能显著提高叶绿素的含量,但两者对喜树幼苗的生长影响不同,前者生长矮小,叶片小且叶色深绿,而后者茎伸长明显,叶片大而色绿,生长旺盛,这些现象说明,前者叶绿素的增加可能是由于根系是比较敏感的器官,较高的水杨酸(25 mg/L SA 根施)对根系有一定的胁迫作用,抑制了植物的生长,而导致叶片叶绿素的积累所致,而后者由于是叶面喷洒,叶片直接感受水杨酸的刺激,促进了叶绿素的合成,进而促进喜树幼苗的生长所致;另外也有可能是由于叶绿素的合成与根系矿物质离子吸收及转运有关。

喜树碱是喜树中所特有的具有显著抗肿瘤活性的生物碱,是典型的次生代谢物质。次生代谢物质往往是植物在受到非生物因子(如光照、水分等)胁迫和非生物胁迫影响后的一种应激反应,逆境情况下往往会加速次生代谢物的合成。UV-B 辐射可以增加喜树幼苗中喜树碱的合成^[15],叶面喷洒水杨酸促进了喜树幼叶中的喜树碱含量。本研究中,单独 Al 处理和 Al 处理加根施 25 mg/L SA 都能够显著提高喜树幼苗中根系和叶片中的喜树碱含量,而 50 mg/L 的叶面喷施处理喜树碱含量增加不明显,再次说明 25 mg/L SA 根施对喜树幼苗的生长有一定的抑制作用,喜树幼苗为了适应和抵抗铝及高浓度 SA 的胁迫通过促进喜树碱的合成来适应环境。

目前 SA 被认为是植物遭遇生物与非生物胁迫时产生的信号分子,尽管有许多研究报道了 SA 能缓解非生物胁迫对植物的伤害,但对其缓解效应及信号转导机制的研究仍然不是很清楚,研究 SA 如何缓解喜树幼苗铝毒害的生理及分子机制将是今后研究的主要方向。

参考文献

- [1] 张新民,柴发合,王淑兰,等. 中国酸雨研究现状[J]. 环境科学研究, 2010, 23(5): 527-532.
- [2] 刘源月,江洪,李雅红,等. 模拟酸雨对杉木幼苗—土壤复合体系土壤呼吸的短期效应[J]. 生态学报, 2010, 30(8): 2010-2017.
- [3] 周光益,田大伦,杨乐苏,等. 酸雨胁迫下乡土植物根际土壤的化学行为[J]. 林业科学, 2009, 45(11): 161-166.
- [4] Likens G E, Driscoll C T, Buso D C. Long-term effects of acid rain: response and recovery of a forest ecosystem [J]. Science, 1996, 272(5259): 244-246.
- [5] 曾明,宇发,王露雨,等. 喜树栽培技术与喜树碱积累的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(34): 16849-16850.
- [6] Horváth E, Szalai G, Janda T. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2007, 26(3): 290-300.
- [7] Agami R A, Mohamed G F. Exogenous treatment with indole-3-acetic acid and salicylic acid alleviates cadmium toxicity in wheat seedlings [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2013, 94(1): 164-171.
- [8] 赵新月,何茂,石辉,等. 外源水杨酸对镉胁迫下玉米幼苗的叶氮素代谢和根系抗氧化酶的影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(10): 1950-1958.
- [9] 郭春晓,郑成淑,谢红英,等. 盐胁迫下外源水杨酸对菊花根系离子含量和 ATPase 及 PPase 活性的影响[J]. 园艺学报, 2011, 38(6): 1167-1172.
- [10] 陈颖,徐彩平,汪南阳,等. 盐胁迫下水杨酸对南林 895 杨组培苗抗氧化系统的影响[J]. 南京林业大学学报:自然科学版, 2012, 36(6): 17-22.
- [11] 陈颖,徐彩平,曹影,等. 铝处理对不同种源喜树种子萌发特性的影响[J]. 东北林业大学学报, 2011, 39(3): 15-18.
- [12] 陈建勋,王小峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社, 2006.
- [13] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社, 2003.
- [14] Porra R J. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for accurate determination of chlorophylls a and b [J]. Photosynthesis Research, 2002, 73(1-3): 149-156.
- [15] 王海霞,刘文哲. 增强 UV-B 辐射对喜树幼苗生物量和两种生物碱含量的影响[J]. 植物科学学报, 2011, 29(6): 712-717.
- [16] Agnes S, Jolan C, Katalin G, et al. Salicylic acid improves acclimation to salt stress by stimulating abscisic acid dehydroxidase activity and abscisic acid accumulation, and increases Na⁺ content in leaves without toxicity symptoms in *Solanum lycopersicum* L [J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166(9): 914-925.
- [17] Muñoz-Sánchez J A, Chan-May A, Cab-Guillén Y, et al. Effect of salicylic acid on the attenuation of aluminum toxicity in *Coffea arabica* L. suspension cells: A possible protein phosphorylation signaling pathway [J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2013, 128: 188-195.
- [18] 李娟男,刘强,李升. 水杨酸对盐胁迫下沙冬青幼苗抗氧化酶活性及 PSII 光化学效率的影响[J]. 华南农业大学学报, 2010, 31(1): 42-46.
- [19] 张会慧,金微微,毛卫佳,等. 水杨酸对干旱下烤烟幼苗膜质和叶绿素荧光特性的影响[J]. 中国沙漠, 2012, 32(1): 117-121.
- [20] 周媛. 水杨酸对铝胁迫下栝楼生长的调控机理研究[D]. 杭州:浙江师范大学, 2012.

(责任编辑 田亚玲)