

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第32卷 第16期 Vol.32 No.16 **2012**

中国生态学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第32卷第16期 2012年8月 (半月刊)

目次

基于生物多样性保护的兴安落叶松与白桦最佳混交比例——以阿尔山林区为例·····	李菁, 骆有庆, 石娟 (4943)
中国能源消费碳排放的时空特征·····	舒娱琴 (4950)
黄土丘陵沟壑区坡面尺度土壤水分空间变异及影响因素·····	姚雪玲, 傅伯杰, 吕一河 (4961)
新疆艾比湖流域土壤有机质的空间分布特征及其影响因素·····	王合玲, 张辉国, 秦璐, 等 (4969)
雅鲁藏布江山南宽谷风沙化土地土壤养分和粒度特征·····	李海东, 沈渭寿, 邹长新, 等 (4981)
一株溶藻细菌对海洋原甲藻的溶藻效应·····	史荣君, 黄洪辉, 齐占会, 等 (4993)
种形态对黑藻和竹叶眼子菜有机酸含量的影响·····	钟正燕, 王宏镔, 王海娟, 等 (5002)
七项河流附着硅藻指数在东江的适用性评估·····	邓培雁, 雷远达, 刘威, 等 (5014)
杭州湾滨海湿地不同植被类型沉积物磷形态变化特征·····	梁威, 邵学新, 吴明, 等 (5025)
剪形臂尾轮虫形态的时空变化及其与生态因子间的关系·····	葛雅丽, 席貽龙, 马杰, 等 (5034)
太湖流域河流水质状况对景观背景的响应·····	周文, 刘茂松, 徐驰, 等 (5043)
荒漠植物白刺属4个物种的生殖分配比较·····	李清河, 辛智鸣, 高婷婷, 等 (5054)
臭氧浓度升高对香樟叶片光合色素及抗过氧化的影响及其氮素响应·····	牛俊峰, 张巍巍, 李丽, 等 (5062)
不同密度下凤仙花重要形态性状与花朵数的关系·····	田旭平, 常洁, 李娟娟, 等 (5071)
五种高速公路边坡绿化植物的生理特性及抗旱性综合评价·····	谭雪红, 高艳鹏, 郭小平, 等 (5076)
散孔材与环孔材树种枝干、叶水力学特性的比较研究·····	左力翔, 李俊辉, 李秧秧, 等 (5087)
北京城区行道树国槐叶面尘分布及重金属污染特征·····	戴斯迪, 马克明, 宝乐 (5095)
南亚热带米老排人工林碳贮量及其分配特征·····	刘恩, 刘世荣 (5103)
植物生活史型定量划分及其权重配置方法——以四棱豆生活史型划分为例·····	赵则海 (5110)
半干旱区湿地-干草原交错带边界判定及其变化·····	王晓, 张克斌, 杨晓晖, 等 (5121)
氮肥运筹对晚播冬小麦氮素和干物质积累与转运的影响·····	吴光磊, 郭立月, 崔正勇, 等 (5128)
氮肥形态对冬小麦根际土壤氮素生理群活性及无机氮含量的影响·····	熊淑萍, 车芳芳, 马新明, 等 (5138)
基于数字相机的冬小麦物候和碳交换监测·····	周磊, 何洪林, 孙晓敏, 等 (5146)
黄土高原半湿润区气候变化对冬小麦生长发育及产量的影响·····	姚玉璧, 王润元, 杨金虎, 等 (5154)
基于土地破坏的矿区生态风险评价: 理论与方法·····	常青, 邱瑶, 谢苗苗, 等 (5164)
基于生态位的山地农村居民点适宜度评价·····	秦天天, 齐伟, 李云强, 等 (5175)
氯虫苯甲酰胺对黑肩绿盲蝽实验种群的影响·····	杨洪, 王召, 金道超 (5184)
6种植物次生物质对斜纹夜蛾解毒酶活性的影响·····	王瑞龙, 孙玉林, 梁笑婷, 等 (5191)
云南元江芒果园桔小实蝇成虫日活动规律及空间分布格局·····	叶文丰, 李林, 孙来亮, 等 (5199)
重庆市蝴蝶多样性环境健康指示作用和环境监测评价体系构建·····	邓合黎, 马琦, 李爱民 (5208)
专论与综述	
生态系统服务竞争与协同研究进展·····	李鹏, 姜鲁光, 封志明, 等 (5219)
中国沿海无柄蔓足类研究进展·····	严涛, 黎祖福, 胡煜峰, 等 (5230)
冰雪灾害对森林的影响·····	郭淑红, 薛立 (5242)
不同干扰因素对森林和湿地温室气体通量影响的研究进展·····	杨平, 全川 (5254)
采石场废弃地的生态重建研究进展·····	杨振意, 薛立, 许建新 (5264)
研究简报	
基于地统计学和CFI样地的浙江省森林碳空间分布研究·····	张峰, 杜群, 葛宏立, 等 (5275)

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 344 * zh * P * ¥70.00 * 1510 * 36 * 2012-08



封面图说: 秋色藏野驴群——秋天已经降临在海拔4200多米的黄河源区, 红色的西伯利亚蓼(生于盐碱荒地或砂质含盐碱土壤)铺满大地, 间有的高原苔草也泛出了金黄, 行走在上面的藏野驴们顾不上欣赏这美丽的秋色, 只是抓紧时间, 在严冬到来之前取食, 添肥增膘以求渡过青藏高原即将到来的漫长冬天。

彩图提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32, No. 16 August, 2012 (Semimonthly)

CONTENTS

The optimum mixture ratio of larch and birch in terms of biodiversity conservation; a case study in Aershan forest area	LI Jing, LUO Youqing, SHI Juan (4943)
Spatiotemporal characteristics of carbon emissions from energy consumption in China	SHU Yuqin (4950)
Spatial patterns of soil moisture at transect scale in the Loess Plateau of China	YAO Xueling, FU Bojie, LÜ Yihe (4961)
The characteristics of the spatial distribution of soil organic matter and factors influencing it in Ebinur Lake Basin of Xinjiang Autonomous Region, China	WANG Heling, ZHANG Huiguo, QIN Lu, et al (4969)
Soil nutrients content and grain size fraction of aeolian sandy land in the Shannan Wide Valley of the Yarlung Zangbo River, China	LI Haidong, SHEN Weishou, ZOU Changxin, et al (4981)
Algicidal activity against <i>Proocentrum micans</i> by a marine bacterium isolated from a HABs area, South China	SHI Rongjun, HUANG Honghui, QI Zhanhui, et al (4993)
Effects of arsenic speciations on contents of main organic acids in <i>Hydrilla verticillata</i> and <i>Potamogeton malaianus</i>	ZHONG Zhengyan, WANG Hongbin, WANG Haijuan, et al (5002)
Exploration of benthic diatom indices to evaluate water quality in rivers in the Dongjiang basin	DENG Peiyan, LEI Yuanda, LIU Wei, et al (5014)
Phosphorus fraction in the sediments from different vegetation type in Hangzhou bay coastal wetlands	LIANG Wei, SHAO Xuexin, WU Ming, et al (5025)
Spatio-temporal variation of morphometric characteristics of <i>Brachionus forficula</i> in relation to ecological factors	GE Yali, XI Yilong, MA Jie, et al (5034)
Response of river water quality to background characteristics of landscapes in Taihu Lake basin	ZHOU Wen, LIU Maosong, XU Chi, et al (5043)
Reproductive allocation in four desert species of the genus <i>Nitraria</i> L.	LI Qinghe, XIN Zhiming, GAO Tingting, et al (5054)
Effects of elevated ozone on foliar chlorophyll content and antioxidant capacity in leaves of <i>Cinnamomum camphora</i> under enhanced nitrogen loads	NIU Junfeng, ZHANG Weiwei, LI Li, et al (5062)
Correlation analysis between floret numbers and important traits of <i>Impatiens balsamina</i> under different planting density	TIAN Xuping, CHANG Jie, LI Juanjuan, et al (5071)
Physiological characteristics and comprehensive evaluation of drought resistance in five plants used for roadside ecological restoration	TAN Xuehong, GAO Yanpeng, GUO Xiaoping, et al (5076)
Comparison of hydraulic traits in branches and leaves of diffuse- and ring-porous species	ZUO Lixiang, LI Junhui, LI Yangyang, et al (5087)
Distribution and heavy metal character of foliar dust on roadside tree <i>Sophora japonica</i> of urban area in Beijing	DAI Sidi, MA Keming, BAO Le (5095)
The research of carbon storage and distribution feature of the <i>Mytilaria laosensis</i> plantation in south sub-tropical area	LIU En, LIU Shirong (5103)
The novel methods of quantitative classification of plant life cycle forms and weight collocation; taking classification of life cycle forms of <i>Psophocarpus tetragonolobus</i> as an example	ZHAO Zehai (5110)
Research on boundary definition and changes of wetland-dry grassland ...	WANG Xiao, ZHANG Kebin, YANG Xiaohui, et al (5121)
Differential effects of nitrogen managements on nitrogen, dry matter accumulation and transportation in late-sowing winter wheat	WU Guanglei, GUO Liyue, CUI Zhengyong, et al (5128)
Effects of nitrogen form on the activity of nitrogen bacteria group and inorganic nitrogen in rhizosphere soil of winter wheat	XIONG Shuping, CHE Fangfang, MA Xinming, et al (5138)
Using digital repeat photography to model winter wheat phenology and photosynthetic CO ₂ uptake	ZHOU Lei, HE Honglin, SUN Xiaomin, et al (5146)
Impacts of climate change on growth and yield of winter wheat in the semi-humid region of the Loess Plateau	YAO Yubi, WANG Runyuan, YANG Jinhu, et al (5154)
Theory and method of ecological risk assessment for mining areas based on the land destruction	CHANG Qing, QIU Yao, XIE Miaomiao, et al (5164)
Suitability evaluation of rural residential land based on niche theory in mountainous area	QIN Tiantian, QI Wei, LI Yunqiang, et al (5175)
Effects of chlorantraniliprole on experimental populations of <i>Cyrtorhinus lividipennis</i> (Reuter) (Hemiptera: Miridae)	YANG Hong, WANG Zhao, JIN Daochao (5184)
Effects of six plant secondary metabolites on activities of detoxification enzymes in <i>Spodoptera litura</i>	WANG Ruilong, SUN Yulin, LIANG Xiaoting, et al (5191)
Daily activity and spatial distribution pattern of the oriental fruit fly, <i>Bactrocera dorsalis</i> (Diptera: Tephritidae) in mango orchard, Yuanjiang, Yunnan	YE Wenfeng, LI Lin, SUN Lailiang, et al (5199)
The establishment of the indication on environmental health of butterfly and of the environmental monitoring evaluation system in Chongqing	DENG Heli, MA Qi, LI Aimin (5208)
Review and Monograph	
Research progress on trade-offs and synergies of ecosystem services; an overview	LI Peng, JIANG Luguang, FENG Zhiming, et al (5219)
A review on the balanomorph barnacles in the coastal waters of China	YAN Tao, LI Zufu, HU Yufeng, et al (5230)
Effects of ice-snow damage on forests	GUO Shuhong, XUE Li (5242)
Greenhouse gas flux from forests and wetlands; a review of the effects of disturbance	YANG Ping, TONG Chuan (5254)
Advances in ecology restoration of abandoned quarries	YANG Zhenyi, XUE Li, XU Jianxin (5264)
Scientific Note	
Spatial distribution of forest carbon in Zhejiang Province with geostatistics based on CFI sample plots	ZHANG Feng, DU Qun, GE Hongli, et al (5275)

DOI: 10.5846/stxb201112081877

钟正燕, 王宏斌, 王海娟, 宋雁辉, 李红梅. 砷形态对黑藻和竹叶眼子菜有机酸含量的影响. 生态学报, 2012, 32(16): 5002-5013.

Zhong Z Y, Wang H B, Wang H J, Song Y H, Li H M. Effects of arsenic speciations on contents of main organic acids in *Hydrilla verticillata* and *Potamogeton malaianus*. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(16): 5002-5013.

砷形态对黑藻和竹叶眼子菜有机酸含量的影响

钟正燕, 王宏斌*, 王海娟, 宋雁辉, 李红梅

(昆明理工大学环境科学与工程学院, 昆明 650093)

摘要: 采用室内溶液培养法, 运用气相色谱-质谱联用 (Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 技术测定在 As(Ⅲ)、As(V) 和二甲基砷酸 (Dimethylarsinic acid, DMA) 3 种形态砷 (浓度 0—5.0 mg/L) 胁迫下, 砷超富集植物黑藻 (*Hydrilla verticillata* (Linn. f.) Royle.) 和非砷超富集植物竹叶眼子菜 (*Potamogeton malaianus* Miq.) 体内生成和体外分泌的 7 种有机酸的含量。结果表明, 黑藻体内草酸、丙二酸、柠檬酸、苹果酸和棕榈酸都显著高于竹叶眼子菜 ($P < 0.05$)。在 As(Ⅲ) 处理时, 黑藻体内柠檬酸、苹果酸、棕榈酸、亚麻酸和总有机酸显著下降, 竹叶眼子菜棕榈酸显著下降; 在 As(V) 处理时, 黑藻棕榈酸和总有机酸显著下降, 竹叶眼子菜棕榈酸显著下降; 在 DMA 处理时, 黑藻草酸、柠檬酸和苹果酸显著下降, 竹叶眼子菜棕榈酸、亚麻酸和总有机酸显著下降。黑藻在 As(Ⅲ) 处理下棕榈酸、亚麻酸、总有机酸和 As(V) 处理下草酸含量与体内 As 含量呈显著负相关 ($P < 0.05$), 而竹叶眼子菜在 As(Ⅲ) 或 DMA 处理下棕榈酸、亚麻酸、总有机酸含量以及在 DMA 处理下柠檬酸含量与体内 As 含量均呈显著负相关 ($P < 0.05$)。两种植物根系分泌物中均检测出草酸、丙二酸、琥珀酸和棕榈酸, 但只有在 As(Ⅲ) 或 As(V) 处理时黑藻分泌的草酸与体内 As 含量呈显著正相关。本研究表明 As(Ⅲ) 或 As(V) 胁迫下黑藻向体外分泌草酸是其超富集砷的一种重要机制。

关键词: 砷; 有机酸; 根分泌物; 黑藻; 竹叶眼子菜

Effects of arsenic speciations on contents of main organic acids in *Hydrilla verticillata* and *Potamogeton malaianus*

ZHONG Zhengyan, WANG Hongbin*, WANG Haijuan, SONG Yanhui, LI Hongmei

Faculty of Environmental Science and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China

Abstract: Organic acids widely exist in plants and environment. They can chelate metals and participate in the metabolic process of metal uptake, translocation and accumulation, and thus play an important role in plant metal tolerance and detoxification. The changes of organic acid contents in terrestrial plants under arsenic stress have been well documented, but little information is available regarding the changes of organic acids in aquatic plants under different arsenic speciation treatments. The arsenic uptake abilities varied among the aquatic plants. The comparison between plant species regarding their arsenic-accumulating abilities could provide valuable information in understanding arsenic uptake mechanism. The results of a previous study showed that *Hydrilla verticillata* can hyperaccumulate arsenic with an average concentration of 282 mg/kg in plants from water containing 0.046 mg/L As. However, the concentrations of arsenic in *Potamogeton malaianus* were only 129 and 121 mg/kg when exposed to 5.0 mg/L As(Ⅲ) or As(V), respectively.

In the present research, a hydroponic culture method, together with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), was used to evaluate the organic acid contents in plants and root exudation of *Hydrilla verticillata* (arsenic hyperaccumulator) and *Potamogeton malaianus* (non-hyperaccumulator) as affected by arsenic of different species

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30960080)

收稿日期: 2011-12-07; 修订日期: 2012-05-31

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: whb1974@126.com

[As(Ⅲ), As(V), dimethylarsinate (DMA)]. Arsenic concentrations were applied in the range of 0—5.0 mg/L. The results showed that the natural contents of oxalic, malonic, citric, malic and palmitic acids in *H. verticillata* were significantly higher than those of *P. malaianus* ($P<0.05$). In As(Ⅲ) treatments, the contents of citric, malic, palmitic, linolenic and total organic acids significantly decreased in *H. verticillata*, and the similar decreasing trend was also observed for palmitic acid content in *P. malaianus*. In the As(V) treatments, a significant decrease was observed for the contents of palmitic acid and total organic acids in *H. verticillata* and palmitic acid in *P. malaianus*. In the DMA treatments, the contents of oxalic, citric and malic acids significantly decreased in *H. verticillata*, and the decreasing trend was also observed for the contents of palmitic, linolenic and total organic acids in *P. malaianus*. The contents of palmitic acid, linolenic acid, or total organic acid was negatively correlated to arsenic concentrations in *H. verticillata* in As(Ⅲ) treatments, and the negative correlation was also found between oxalic acid and arsenic concentration in As(V) treatments ($P<0.05$). A significantly negative correlation was also noted between the contents of palmitic acid, linolenic acid, or total organic acid and concentrations of arsenic in *P. malaianus* in As(Ⅲ) or DMA treatments. Citric acid content also negatively correlated to arsenic uptake in DMA treatment ($P<0.05$). Oxalic, malonic, succinic and palmitic acids were determined in the root exudates of two tested plants, and a significantly positive correlation was observed between the concentration of oxalic exudation and that of arsenic in *H. verticillata* in As(Ⅲ) or As(V) treatments. The present study concludes that root exudation of oxalic is one of important mechanisms in arsenic hyperaccumulation by *H. verticillata* in As(Ⅲ) or As(V) treatment.

Key Words: arsenic; organic acid; root exudates; *Hydrilla verticillata*; *Potamogeton malaianus*

植物耐受重金属毒害的机制复杂,其中最主要和普遍的机制是通过诱导合成金属配位复合体,这些配位体包括有机酸、氨基酸、植物络合素和金属硫蛋白等^[1]。有机酸广泛存在于植物体和周围环境中,易与金属离子发生络合或螯合作用,形成重金属配位体,参与重金属的吸收、运输、积累等生理代谢过程,对重金属耐性和解毒起重要作用^[2]。植物体内或根际区域螯合重金属的有机酸主要有草酸、苹果酸、柠檬酸等^[3]。在Al富集型植物体内,植物通过形成Al-有机酸复合物进行解毒,如在八仙花属(*Hydrangea*)和荞麦属(*Buckwheat*)中,以Al-柠檬酸盐(1:1)和Al-草酸盐(1:3)的络合物形式存在^[4]。而且,在荞麦(*Fagopyrum esculentum*)中,铝以Al-柠檬酸盐络合物形式从根部运输到地上部分^[5]。Zn超富集植物遏蓝菜(*Thlaspi caerulescens*)茎中苹果酸最为丰富,其次是柠檬酸、琥珀酸和草酸,茎中可溶性Zn含量与草酸和苹果酸呈显著正相关^[6],用X射线吸收光谱分析表明,遏蓝菜地上部Zn主要为柠檬酸结合态,约占地上部Zn总量的38%^[7]。

在As胁迫下植物有机酸含量的变化已有一些报道。Wang等^[8]对As胁迫下不同砷富集能力的几种蕨类植物体内有机酸的响应研究发现,几种有机酸的含量在砷超富集植物蜈蚣草(*Pteris vittata*)、井栏边草(*Pteris multifida*)和非超富集植物半边旗(*Pteris semipinnata*)中不存在显著差异。在根系分泌物中,低分子量有机酸对金属离子的螯合、配位效应,对矿质营养和金属离子的迁移起到重要作用^[9]。Tu等^[10]研究表明,在As胁迫下蜈蚣草根分泌物主要是植酸和草酸,虽然非超富集植物波士顿蕨(*Nephrolepis exaltata*)中也有这两种有机酸生成,但蜈蚣草根分泌的植酸和草酸含量分别为波士顿蕨的0.46—1.06倍和3—5倍,表明有机酸能将土壤中的As有效活化并转移至叶片。

上述研究均针对陆生蕨类植物进行。除陆生植物外,水生植物种类繁多,其中不乏有对As大量吸收和富集的植物。如水葫芦(*Eichhornia crassipes*)能大量吸收As、Cd、Cr、Cu、Ni和Se^[11];Robinson等^[12]的研究显示,在As含量为0.05 mg/L的地热附近水域中,金鱼藻(*Ceratophyllum demersum* L.)体内As含量达到284 mg/kg;黑藻(*Hydrilla verticillata*)在As含量为0.046 mg/L水体中,平均As含量为282 mg/kg^[13];Srivastava等发现水生沉水草本植物黑藻暴露在25 $\mu\text{mol/L}$ (1.873 mg/L)的As(Ⅲ)时砷含量达到315 mg/kg(干重),暴露在250 $\mu\text{mol/L}$ (18.73 mg/L)的As(V)时达到205 mg/kg,是一种砷超富集植物,也是受砷污染水体理想的植物

修复材料^[14]。潘义宏等^[15]的研究表明,金鱼藻、黑藻和八药水筛(*Blyxa octandra* (Roab) Planch. ex Thw.)对As的富集系数分别达到887、1019和1206。但是,作为水生沉水植物的竹叶眼子菜(*Potamogeton malaianus*)分别在5.0 mg/L的As(Ⅲ)、As(Ⅴ)和DMA培养时,吸收As含量仅为(129±25)、(121±21)和(23±7) mg/kg,其对砷的富集显著低于黑藻^[16]。

As虽是植物生长的非必需元素,但其容易被植物和动物吸收而最终进入人体。As毒性很强,一般而言,无机As毒性大于有机As,总体表现为As(Ⅲ)>As(Ⅴ)>DMA(二甲基胂酸,dimethylarsinic acid)。本研究以水生As超富集植物黑藻(*H. verticillata*)和非As超富集植物竹叶眼子菜(*P. malaianus*)为供试材料,在室内水培条件下,研究外源添加不同浓度As(Ⅲ)、As(Ⅴ)或DMA对2种植物As吸收、有机酸体内生成和体外分泌的影响,以发现砷胁迫下不同砷富集能力水生植物有机酸含量的变化规律,探索有机酸在水生植物砷富集中的作用。

1 材料与方法

1.1 植物材料

黑藻采自云南省昆明市五甲塘湿地公园水域,竹叶眼子菜采自昆明市松华坝水库(昆明市饮用水源地)附近盘龙江上游水域。植物用大量自来水洗净后,用1/10的Hoagland营养液进行适应性培养,培养10 d后选取长势良好、生长一致的植株进行水培实验。

1.2 实验方法

1.2.1 植物培养方法

用容积为2.5 L的塑料桶,分别进行黑藻和竹叶眼子菜在不同形态和浓度As处理下吸收As的水培实验。As(Ⅲ)、As(Ⅴ)、DMA分别以NaAsO₂、Na₂HAsO₄·7H₂O、C₂H₆AsNaO₂·3H₂O形式添加,As离子浓度以纯As计。每种形态As设置5个处理浓度,分别为0(对照)、0.3、1.0、3.0、5.0 mg/L,植物于第10天收获。每个处理设置4个重复,分别培养约30.0 g植物,所有培养在温室自然光照下完成,气温变化为18—25℃。

1.2.2 样品预处理

培养结束后取出植株,先后用自来水、0.1 mol/L HCl和去离子水反复冲洗,用滤纸吸干水分后测量鲜重。植物分成两部分,一部分装入塑料封口袋中,-40℃冷冻保存,然后加0.2 mol/L磷酸缓冲液(PBS,pH=7)在液氮中仔细研磨成粉状,再用真空冷冻干燥系统在-55℃下冷冻干燥至无水分,得到冻干的精细粉末后过0.42 mm筛备用;另一部分于105℃杀青30 min,在70℃下烘干至恒重,磨碎后过0.25 mm尼龙筛,用HNO₃-HClO₄消化^[17],处理好的样品用氢化物发生-原子吸收光谱法测定As的含量,其加标回收率在92%—99%之间。培养后的溶液加入1 mL 0.5 mol/L的CaCl₂溶液于-40℃冷冻保存,取1000 mL在旋转蒸发仪上40℃浓缩,用甲醇定容至20 mL,并经0.45 μm微孔滤膜过滤,用于分泌物中有机酸含量的测定。

原子吸收光谱采用美国Varian公司产品(AA240FS型),氢化物发生器购自北京瀚时制作所(WHG-103型),真空冷冻干燥系统购自北京博医康实验仪器有限公司(FD-1C-50型),旋转蒸发仪购自上海亚荣生化仪器厂(RE52CS-1型)。

1.2.3 有机酸测定方法

(1) 工作曲线

参照Wang等^[8]的方法,分别准确称取草酸、丙二酸、琥珀酸、柠檬酸、苹果酸、棕榈酸和亚麻酸各1.000 g,用甲醇溶解并定容到100 mL,得到10 mg/mL的有机酸储备液。分别取该储备液5,2,0.4,0.08 mL(相当于有机酸50,20,4,0.8 mg)于250 mL圆底烧瓶中,准确加入1.0 mL戊二酸甲醇溶液(内标物,1.000 g戊二酸用甲醇定容到100 mL),再准确加入10% H₂SO₄-CH₃OH溶液25 mL,在60—65℃水浴中甲酯化6.0 h。酯化液转入盛有40 mL水的100 mL分液漏斗中,用CH₂Cl₂萃取3次(10 mL/次),合并有机相,用30 mL饱和NaCl溶液洗涤,在无水Na₂SO₄上干燥,浓缩至1 mL后进行气质联用(GC-MS)分析。图1为有机酸测定色谱图。根据各不同浓度得到有机酸峰面积和内标峰面积,得出各有机酸工作曲线,如表1所示。

表 1 有机酸标准曲线
Table 1 Standard cures of organic acids

有机酸 Organic acids	出峰时间/min Peak time	回归方程 Regression equation	<i>r</i>
草酸 Oxalic acid	8.62	$A=0.0689 C + 0.0001$	0.999
丙二酸 Malonic acid	10.58	$A=0.2447 C-0.0020$	1.000
琥珀酸 Amber acid	12.15	$A=0.3731 C-0.0129$	1.000
苹果酸 Malic acid	19.22	$A= 0.0815 C + 0.0013$	1.000
棕榈酸 Palmitic acid	22.45	$A=0.7334 C-0.0570$	0.998
柠檬酸 Citric acid	25.25	$A=0.3454 C-0.0066$	0.999
亚麻酸 Linolenic acid	27.20	$A=0.5715 C-0.0746$	0.998

A 为峰面积/内标物峰面积, *C* 为有机酸含量 (mg)

(2) 样品处理

称取 0.5 g 冻干的植物粉末,用筒型滤纸包裹置于索氏抽提管中,用石油醚回流抽提 6 h,弃去石油醚,将包有筒型滤纸的植物粉末在空气中风干。干燥后的植物粉末转入 250 mL 圆底烧瓶中,加入 80% 的甲醇 45 mL,在 80 ℃ 水浴中回流提取 45 min,提取液过滤、冷却后定容至 50 mL。植物样品和分泌物中有机酸的酯化方法同上述工作曲线的制作基本相同,所不同的是酯化液干燥处理后用 0.45 μm 针头过滤器过滤,注入色谱进样瓶中于 4℃ 冰箱保存备用,最后进行 GC-MS 分析。利用回归方程计算出有机酸含量。

(3) GC-MS 分析条件

色谱仪:GC-MS (Perkin Elmer Clarus 600);毛细管柱:ZB-FFAP,30 m×0.25 mm×0.25 μm;进样量:1 μL,不分流,进样口温度:220 ℃;载气:He,0.8 mL/min;程序升温:50 ℃ 下保持 2 min,然后 6 ℃/min 的速度升至 230 ℃,保持 10 min,总时间 40 min;检测器:Clarus 600 MS,检测器温度 200 ℃。

1.2.4 统计分析

运用统计分析系统 Statistical Analysis System (SAS) 进行单因素或双因素方差分析,多重比较采用 Tukey's HSD 法,显著性水平 *P* 取 0.05,极显著水平 *P* 取 0.01。

2 结果与分析

2.1 植物对不同形态砷的吸收

由图 2 可知,黑藻吸收 As 含量均随添加砷浓度的增加而升高,但对各个形态 As 的吸收不同。双因素方差分析可知,不同 As 形态和浓度以及二者交互作用均对黑藻体内 As 含量有极显著影响 ($P<0.01$),其中 As (Ⅲ) 培养条件下黑藻吸收 As 最多,其次为 As (Ⅴ) 和 DMA。与对照相比,所有浓度 As (Ⅲ) 或 As (Ⅴ) 处理均极显著提高黑藻体内 As 含量 ($P<0.01$),在 5 mg/L As (Ⅲ)、As (Ⅴ) 或 DMA 处理下黑藻吸收 As 最大值分别为 (285±23)、(218±30)、(89±40) mg/kg (干重),极显著高于其它浓度处理 ($P<0.01$)。

由图 2 可知,竹叶眼子菜对各个形态 As 的吸收也不同,双因素方差分析可知,不同 As 形态和浓度以及二者交互作用均对竹叶眼子菜体内 As 含量有极显著影响 ($P<0.01$)。在 5 mg/L As (Ⅲ)、As (Ⅴ) 或 DMA 处理下,竹叶眼子菜吸收 As 最大值分别为 (167±29)、(148±17)、(50±5) mg/kg (干重)。与对照相比,1.0、3.0、

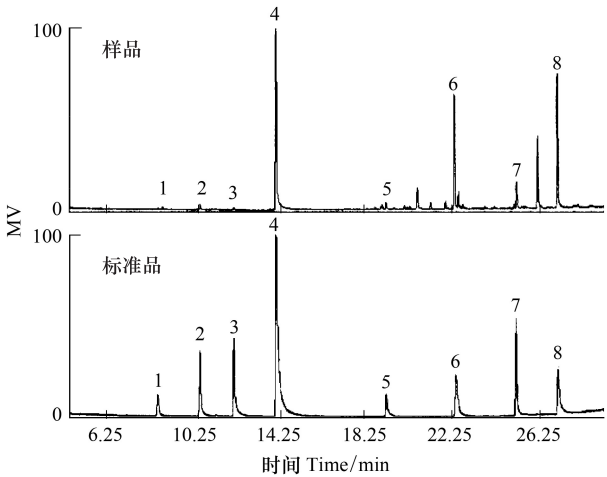


图 1 样品及标准品的有机酸色谱图
Fig. 1 Chromatograms of organic acids in plant samples and standard

(1) 草酸;(2) 丙二酸;(3) 琥珀酸;(4) 戊二酸 (内标物);(5) 苹果酸;(6) 棕榈酸;(7) 柠檬酸;(8) 亚麻酸

5.0 mg/L As(Ⅲ)和As(V)处理都极显著提高竹叶眼子菜体内 As 含量($P<0.01$)。

在 5.0 mg/L 的不同形态 As 处理下,在 As(Ⅲ)和As(V)处理时黑藻体内的 As 含量均极显著高于竹叶眼子菜($P<0.01$),DMA 处理时黑藻体内 As 含量显著高于竹叶眼子菜($P<0.05$)。

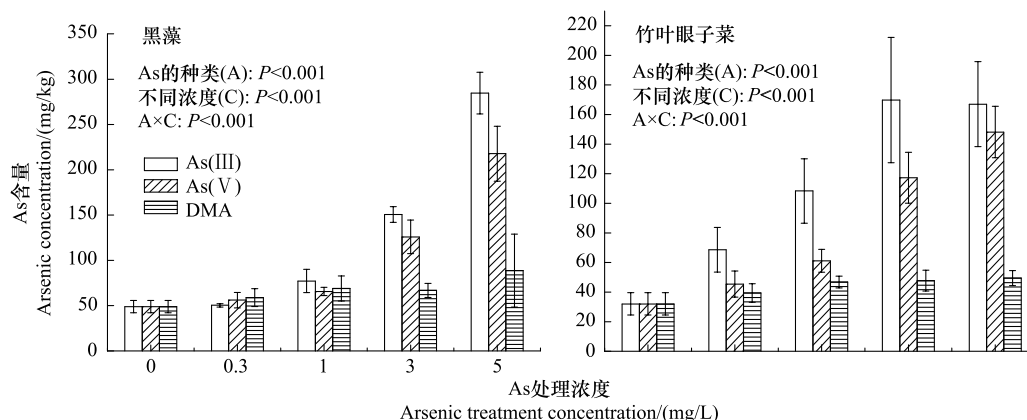


图2 不同形态砷处理下2种植物对砷的吸收

Fig. 2 Uptake of arsenic by two plants under different arsenic speciation treatments

2.2 不同形态砷处理对植物有机酸含量的影响

由表2可知,不同形态 As 处理下,和对照相比,随砷处理浓度的升高,黑藻体内7种有机酸和总有机酸含量均呈下降趋势;竹叶眼子菜体内有机酸只有柠檬酸、棕榈酸、亚麻酸和总有机酸有所下降。在 As(Ⅲ)处理时,黑藻除丙二酸和琥珀酸外的其它有机酸和总有机酸都有不同程度的显著下降;在As(V)处理时,黑藻草酸、柠檬酸、棕榈酸和总有机酸显著下降,但竹叶眼子菜在 As(Ⅲ)或As(V)处理时仅有棕榈酸下降显著。

不同浓度 As(Ⅲ)处理,均使黑藻柠檬酸、棕榈酸和总有机酸含量显著下降($P<0.05$),竹叶眼子菜中棕榈酸含量也显著下降($P<0.05$);0.3—3.0 mg/L As(V)处理,显著降低黑藻棕榈酸和总有机酸含量,但5.0 mg/L则显著降低草酸含量。As(V)处理时竹叶眼子菜只有棕榈酸在所有浓度处理呈显著下降,0.3 mg/L处理时草酸则显著增加;在不同浓度 DMA 处理时,黑藻体内草酸含量均显著下降,竹叶眼子菜总有机酸含量显著下降。

在3.0 mg/L浓度下,与As(V)相比,DMA处理显著降低黑藻体内丙二酸含量,但显著增加棕榈酸和亚麻酸含量;与As(Ⅲ)相比,DMA处理则显著增加黑藻体内总有机酸含量。在0.3—1.0 mg/L浓度下,As(Ⅲ)比As(V)更能显著降低黑藻苹果酸含量($P<0.05$)。在3.0或5.0 mg/L浓度下,与As(V)或DMA相比,As(Ⅲ)处理显著增加竹叶眼子菜草酸含量;与As(V)相比,As(Ⅲ)处理显著增加丙二酸含量。在0.3或5.0 mg/L浓度下,与DMA相比,As(Ⅲ)处理显著增加竹叶眼子菜苹果酸含量。在5.0 mg/L浓度下,与DMA相比,As(V)处理显著增加竹叶眼子菜柠檬酸、棕榈酸、亚麻酸和总有机酸含量。

黑藻体内亚麻酸含量最高,其次是棕榈酸,含量最少的是丙二酸和琥珀酸;竹叶眼子菜体内亚麻酸和棕榈酸最高,含量最少的是草酸和丙二酸。相同 As 浓度处理下,黑藻草酸、丙二酸、柠檬酸、苹果酸和棕榈酸含量显著多于竹叶眼子菜,亚麻酸却相反,琥珀酸和总有机酸含量不存在显著差异。从谱图分析可看出,随着砷处理浓度的增加,2种植物体内并未发现有特异性的有机酸出现。

2.3 植物砷含量与体内有机酸含量的相关性分析

在 As(Ⅲ)处理下(图3),黑藻体内棕榈酸、亚麻酸和总有机酸含量与体内 As 含量均呈显著负相关($r = -0.495, P<0.05$; $r = -0.541, P<0.05$; $r = -0.397, P<0.05$),但草酸、琥珀酸、柠檬酸、丙二酸和苹果酸含量与 As 含量的相关性均不显著($P>0.05$);在As(V)的培养下,黑藻体内草酸与体内 As 含量呈显著负相关($r = -0.405, P<0.05$),其它6种有机酸和总有机酸与 As 含量的相关性均不显著($P>0.05$);在DMA培养下,黑藻体内7种有机酸和总有机酸含量与 As 含量的相关性均不显著($P>0.05$)。

表 2 不同砷处理下黑藻和竹叶眼子菜体内有机酸含量比较 (mg/kg, 平均值±标准误, $n=4$)Table 2 Contents of organic acids in *Hydrilla verticillata* and *Potamogeton malaianus* under As treatments (values are mean±SE)

有机酸 Organic acids	处理浓度 Concentration /(mg/L)	黑藻 <i>Hydrilla verticillata</i>			竹叶眼子菜 <i>Potamogeton malaianus</i>		
		As(Ⅲ)	As(V)	DMA	As(Ⅲ)	As(V)	DMA
草酸	0	1459±578 a-A	1459±578 a-A	1459±578 a-A	42±15 b-A	42±15 b-A	42±15 b-A
Oxalic acid	0.3	908±124 ab-A	1041±469ab-A	515±188 b-A	118±92 ba-A	229±60 a-A	23±6 b-A
	1	677±17 ab-A	617±172 b-A	571±107 b-A	346±86 ba-A	100±46 ba-A	36±27 ab-A
	3	518±273 b-A	698±163 ab-A	579±156 b-A	239±61 ba-A	14±7 b-B	59±38 ab-B
	5	957±329 ab-A	609±274 b-A	582±93 b-A	620±156 a-A	11±4 b-B	104±51 a-B
丙二酸	0	380±132 a-A	380±132 a-A	380±132 a-A	124±14 a-A	124±14 a-A	124±14 a-A
Malonic acid	0.3	371±49 a-A	355±99 a-A	324±52 a-A	159±45 a-A	194±27 a-A	96±15 a-A
	1	341±46 a-A	293±8 a-A	333±24 a-A	316±93 a-A	150±48 a-A	100±8 a-A
	3	306±22 a-AB	364±40 a-A	290±38 a-B	168±22 a-A	108±18 a-B	123±19 a-AB
	5	491±25 a-A	368±43 a-A	394±23 a-A	249±110 a-A	111±24 a-B	131±34 a-AB
琥珀酸	0	211±52 a-A	211±52 a-A	211±52 a-A	148±27 a-A	148±27 a-A	148±27 a-A
Amber acid	0.3	186±30 a-A	178±31 a-A	182±8 a-A	173±35 a-A	149±52 a-A	134±30 a-A
	1	154±11 a-A	158±13 a-A	169±15 a-A	213±63 a-A	157±48 a-A	142±44 a-A
	3	158±8 a-A	165±18 a-A	167±4 a-A	171±31 a-A	159±48 a-A	123±19 a-A
	5	208±62 a-A	192±13 a-A	166±14 a-A	216±64 a-A	175±34 a-A	112±15 a-AB
柠檬酸	0	1860±291 a-A	1860±291 a-A	1860±291 a-A	393±47 a-A	393±47 a-A	393±47 a-A
Citric acid	0.3	957±156 b-A	1087±152ab-A	1162±181ab-A	314±74 a-A	249±53 a-A	313±115 ab-A
	1	890±171 b-A	968±123 b-A	789±131 b-A	319±44 a-A	253±82 a-A	330±84 ab-A
	3	1028±32 b-A	1026±219 b-A	858±81 b-A	295±40 a-A	387±96 a-A	245±71 ab-A
	5	1020±164 b-A	1471±300ab-A	1027±227 b-A	333±109a-AB	343±53 a-A	199±20 b-B
苹果酸	0	1493±145 a-A	1493±145 a-A	1493±145 a-A	516±84 a-A	516±84 ab-A	516±84 a-A
Malic acid	0.3	924±100 b-B	1237±140 a-A	1103±110ab-AB	499±43 a-A	314±44 b-AB	262±37 ab-B
	1	794±188 b-B	1098±66 a-A	864±146 b-AB	811±209 a-A	314±88 b-A	469±36 ab-A
	3	909±94 b-A	1080±187 a-A	853±114 b-A	292±36 a-A	370±55 ab-A	349±138 ab-A
	5	1081±64 ab-A	1223±276 a-A	970±176 b-A	831±138 a-A	715±228a-AB	217±60 b-B
棕榈酸	0	3058±316 a-A	3058±316 a-A	3058±316 a-A	1234±272 a-A	1234±272 a-A	1234±272 a-A
Palmitic acid	0.3	1338±113 b-A	1171±450 b-A	1608±211 ab-A	473±123b-AB	293±39 b-B	788±218 ab-A
	1	1016±105 b-A	859±195 b-A	945±198 b-A	409±76 b-A	318±102 b-A	530±139 cb-A
	3	1044±267 b-B	1074±65 b-B	1623±72 ab-A	363±42 b-A	684±140 b-A	613±107 cb-A
	5	594±130 b-A	1777±315ab-A	1776±708 ab-A	330±38 b-B	617±68 b-A	246±23 c-B
亚麻酸	0	3928±740 a-A	3928±740 a-A	3928±740 a-A	6939±798 a-A	6939±798 a-A	6939±798 a-A
Linolenic acid	0.3	2119±230ab-A	2007±659 a-A	3300±617 a-A	5966±1077ab-A	4507±417 a-A	5148±794 b-A
	1	2039±566 b-A	1817±779 a-A	1845±306 a-A	5490±127 ab-A	5205±1720a-A	4905±216 b-A
	3	1507±1062b-B	2199±357 a-B	3315±425 a-A	5895±73 ab-A	5496±1345a-A	4509±720 b-A
	5	1062±469 b-A	3790±810 a-A	3380±282 a-A	4790±608 b-AB	5471±925 a-A	3944±386 b-B
总有机酸	0	12390±2164a-A	12390±2164a-A	12390±2164a-A	9396±1146 a-A	9396±1146a-A	9396±1146a-A
Total organic acid	0.3	6802±359 b-A	7076±1164 b-A	8194±988 ab-A	7702±1484 a-A	5937±871 b-A	6763±1033b-A
	1	5910±399 b-A	5810±1191 b-A	5516±624 b-A	7903±1298 a-A	6496±1059ab-A	6512±530 b-A
	3	5471±706 b-B	6607±629 b-AB	7686±583 ab-A	7421±933 a-A	7216±2169ab-A	6023±891 b-A
	5	5412±903 b-A	9431±1083ab-A	8295±1706ab-A	7369±1048 a-A	7443±1134ab-A	4953±450 b-B

表中数字后小写字母表示同一植物在相同砷形态下不同砷处理浓度间的差异(纵向),大写字母表示同一植物相同砷浓度下不同砷形态处理之间的差异(横向);同一列(或行)中,字母不同表示差异显著($P<0.05$),字母相同则表示差异不显著($P>0.05$)

在 As(Ⅲ)的处理下(图 4),竹叶眼子菜体内棕榈酸、亚麻酸和总有机酸含量与体内 As 含量均呈显著负

相关($r = -0.650, P < 0.05$; $r = -0.445, P < 0.05$; $r = -0.262, P < 0.05$), 但草酸、丙二酸、琥珀酸、柠檬酸和苹果酸含量与 As 含量的相关性均不显著($P > 0.05$); 在 As(V) 处理下, 竹叶眼子菜体内 7 种有机酸和总有机酸含量与 As 含量的相关性均不显著($P > 0.05$); 在 DMA 的培养下(图 4), 竹叶眼子菜体内柠檬酸、棕榈酸、亚麻酸、总有机酸含量与体内 As 含量均呈显著负相关($r = -0.578, P < 0.05$; $r = -0.596, P < 0.05$; $r = -0.604, P < 0.05$; $r = -0.596, P < 0.05$), 但草酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸含量与 As 含量的相关性均不显著($P > 0.05$)。

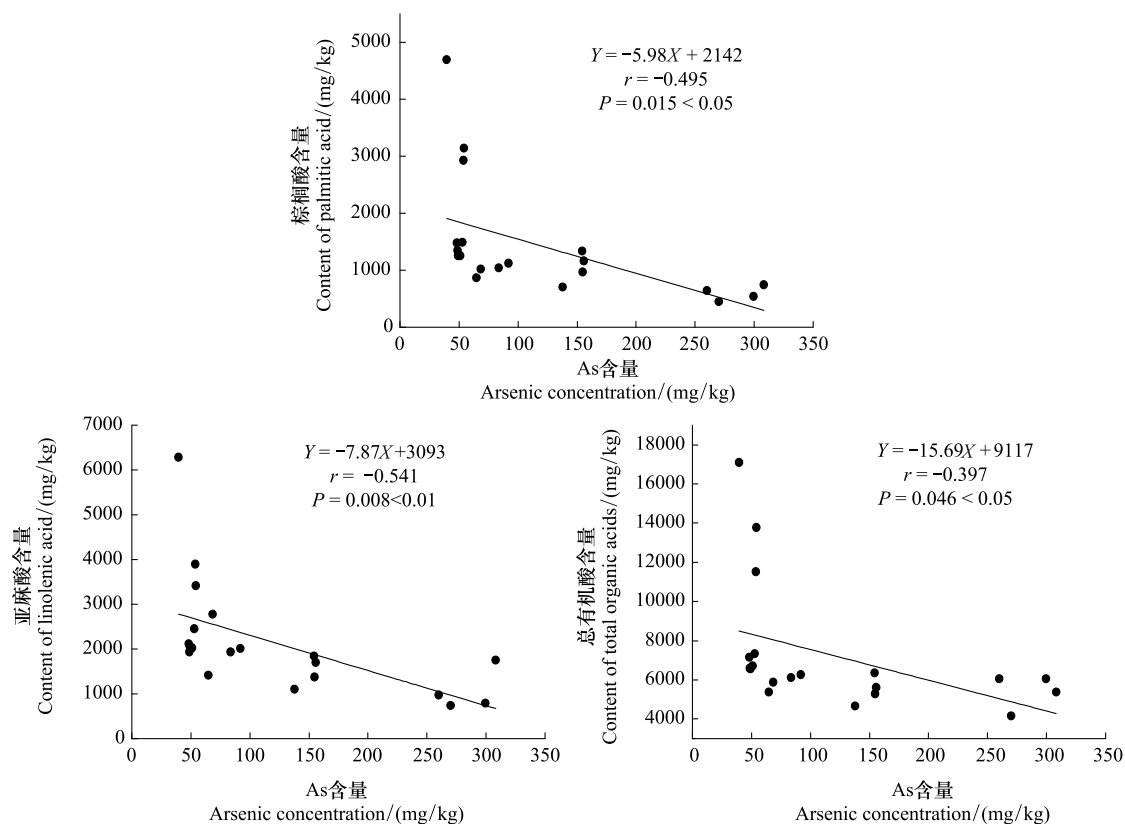


图 3 As(Ⅲ)处理下,黑藻 As 含量与有机酸含量的相关分析

Fig. 3 Correlation analysis between the concentrations of As and organic acids in *H. verticillata* at As(Ⅲ) treatments

2.4 植物体内砷含量与植物分泌有机酸之间的相关分析

不同 As 形态和浓度培养下,黑藻和竹叶眼子菜分泌物中均检测出草酸、丙二酸、琥珀酸和棕榈酸。但仅在 As(Ⅲ)和 As(V) 培养下,黑藻分泌的草酸含量与体内 As 含量呈显著正相关($r = 0.723, P < 0.05$; $r = 0.815, P < 0.05$)(图 5 A、B),黑藻 DMA 和竹叶眼子菜 3 种形态 As 处理下分泌出的草酸含量与体内 As 含量的相关性均不显著(图 5C、D、E、F)。2 种植物分泌物中丙二酸、琥珀酸和棕榈酸含量与 As 含量的相关性均不显著($P > 0.05$)。

不同形态砷处理下黑藻和竹叶眼子菜分泌草酸含量如表 3 所示,黑藻和竹叶眼子菜分泌出的草酸相差最少的是在 1.0 mg/L As(V) 处理时,黑藻分泌草酸含量是竹叶眼子菜的 0.91 倍;相差最多的是在 5.0 mg/L As(Ⅲ) 处理时,黑藻分泌草酸含量是竹叶眼子菜的 2.61 倍。不同浓度 As(Ⅲ) 处理,使黑藻分泌草酸含量显著升高($P < 0.05$),竹叶眼子菜变化不显著;3.0—5.0 mg/L As(V) 处理时黑藻分泌草酸含量显著升高($P < 0.05$),As(V) 处理时竹叶眼子菜草酸变化不明显;不同浓度 DMA 处理时,黑藻分泌草酸含量变化均不显著,竹叶眼子菜在 5.0 mg/L 处理时草酸分泌显著增加($P < 0.05$)。在 1.0 mg/L 浓度下,与 As(Ⅲ)或 DMA 相比,As(V) 显著降低黑藻草酸的分泌;在 5.0 mg/L 浓度下,与 DMA 相比,As(Ⅲ)或 As(V) 显著降低竹叶眼子菜草酸的分泌。

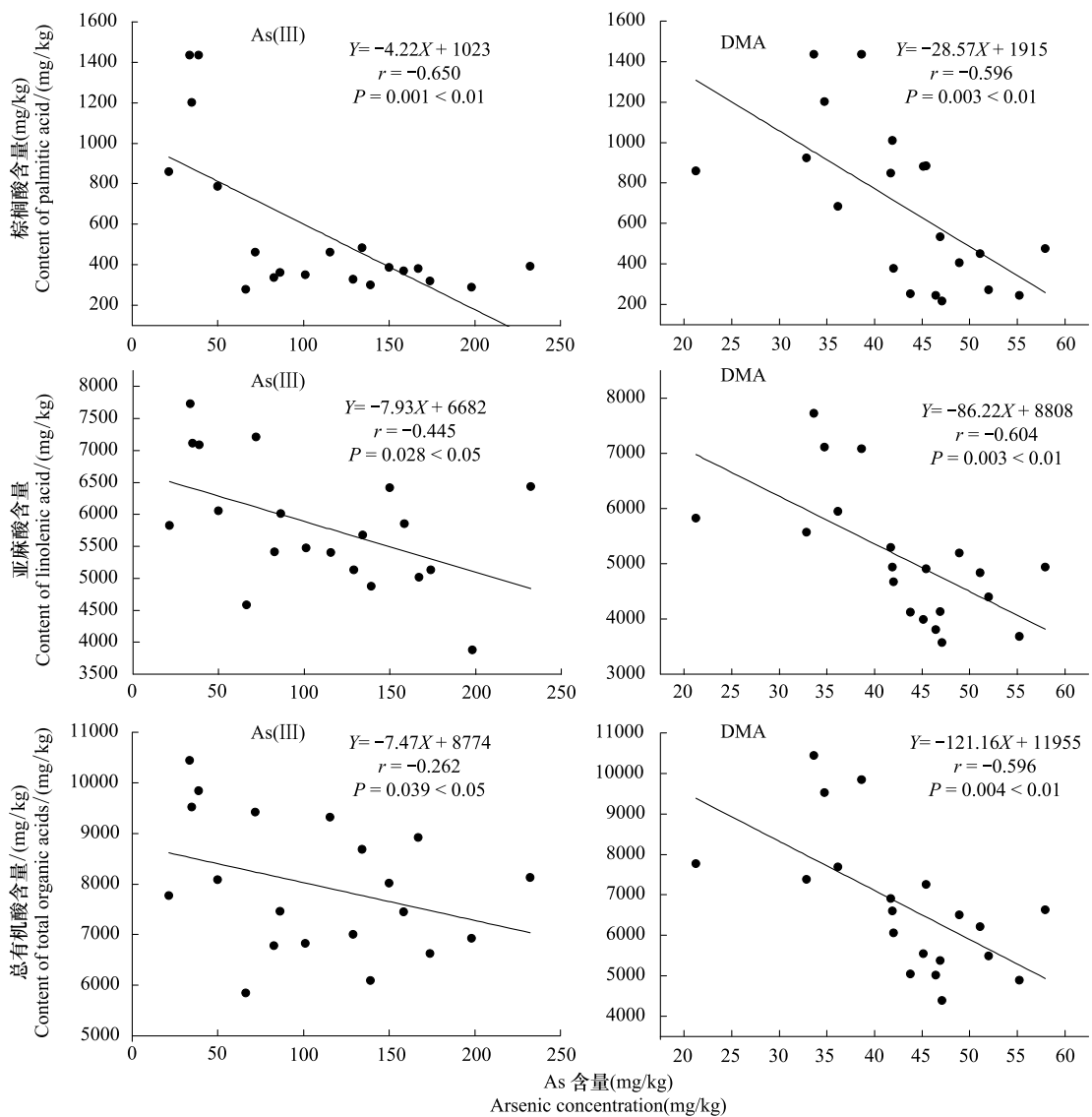


图 4 竹叶眼子菜 As 含量与有机酸含量的相关分析

Fig. 4 Correlation analysis between the concentrations of As and organic acids in *P. malaianus*

As(Ⅲ):As(Ⅲ)处理;DMA:二甲基砷酸处理

表 3 不同形态砷处理下黑藻和竹叶眼子菜分泌草酸含量(μg/L,平均值±标准误差,n=3)

Table 3 Contents of oxalic acids in root exudates of *Hydrilla verticillata* and *Potamogeton malaianus* under different As speciation treatments

(values are mean±SE)

砷处理浓度/(mg/L) Arsenic concentration	黑藻 <i>Hydrilla verticillata</i>			竹叶眼子菜 <i>Potamogeton malaianus</i>		
	As(Ⅲ)	As(Ⅴ)	DMA	As(Ⅲ)	As(Ⅴ)	DMA
0	51.4±15.4 c-A	51.4±15.4 b-A	51.4±15.4 a-A	45.3±13.6 ab-A	45.3±13.6 a-A	45.3±13.6 b-A
1	128.4±8.9 ab-A	40.0±12.1 b-B	115.2±10.9 a-A	67.2±11.9 a-A	43.8±10.9 a-A	54.8±20.8 ab-A
3	92.3±5.6 b-A	103.6±13.5 a-A	122.1±66.3 a-A	39.0±5.0 b-A	60.8±20.1 a-A	61.7±3.4 ab-A
5	153.2±24.7 a-A	131.4±23.9 a-A	135.0±21.7 a-A	58.7±9.1 ab-B	52.1±9.0 a-B	90.6±17.2 a-A

表中数字后小写字母表示同一植物在相同砷形态下不同砷处理浓度间的差异(纵向),大写字母表示同一植物相同砷浓度下不同砷形态处理之间的差异(横向);同一列(或行)中,字母不同表示差异显著($P<0.05$),字母相同则表示差异不显著($P>0.05$)

3 讨论

有机酸大部分是在线粒体中通过三羧酸循环产生,如草酸、琥珀酸、苹果酸、柠檬酸,而三羧酸循环是糖、

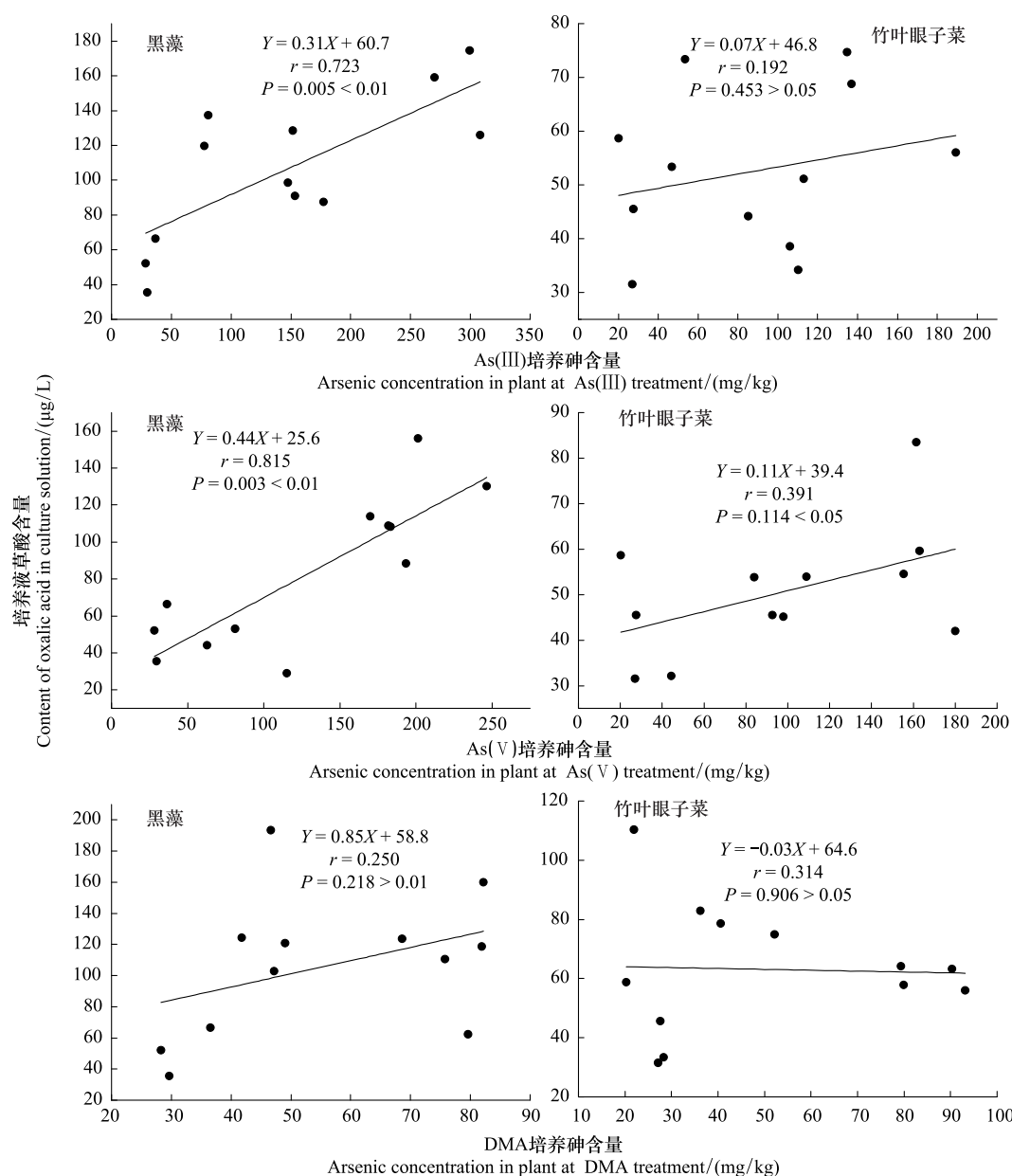


图5 黑藻和竹叶眼子菜体内 As 含量与草酸分泌量的相关性

Fig.5 Correlation analysis between the concentrations of As and oxalic acid exudation in *H. verticillata* and *P. malianus*

脂肪、蛋白质的分解和代谢通路,柠檬酸是该循环的第一个产物;也有少量能通过乙醛酸循环体产生,如琥珀酸、苹果酸、乙醛酸。有机酸主要储存在液泡。有机酸在植物体内的作用主要有:作为三羧酸循环的中间产物参与能量的产生,如柠檬酸和苹果酸,平衡细胞中阳离子,维持细胞渗透势,参与离子转运,控制营养元素的可利用性等^[8]。有机酸易与金属发生络合或者螯合作用形成配位体,参与重金属的吸收、运输和积累等过程^[2],并且有机酸能通过液泡膜上的运输体或通道蛋白与有毒性的金属离子结合将其运输到液泡中,使细胞器中重金属维持在较低水平,利用细胞区室化作用降低金属离子的毒性^[18],同时有机酸能与重金属的结合,减少了重金属对胞内重要蛋白质或酶结合的机会,从而减轻重金属的毒性^[19]。草酸在调节植物细胞 Ca^{2+} 浓度、pH 等生理过程中起作用,并在植物适应环境胁迫中发挥重要功能,水稻 (*Oryza sativa*) 体内草酸有抗铅毒作用,相对铅敏感水稻品种,抗铅毒性较强的品种,根中草酸含量及分泌草酸速率在铅处理后均明显增加,外源添加草酸可缓解铅毒对水稻根生长的抑制^[20]。大麦 (*Hordeum vulgare* L.) 在铝离子存在下,根系会短时间释放柠檬酸,并且在大豆耐铝毒品种中,铝离子诱导根系分泌柠檬酸是特殊阴离子通道蛋白控制的主动运输

过程^[21]。对砷超富集植物蜈蚣草的研究表明,蜈蚣草羽片液泡是 As 的主要储存部位,液泡对 As 有明显的区隔化作用,是蜈蚣草能解除 As 毒性的重要原因^[22]。

本研究表明,黑藻体内含有大量的有机酸,其中草酸、丙二酸、琥珀酸、柠檬酸、苹果酸含量均显著高于竹叶眼子菜,说明有机酸在黑藻体内对 As 的积累和贮存可能发挥了重要作用,是黑藻比竹叶眼子菜吸收和富集 As 能力更强的原因之一。这与许多超富集植物的研究基本一致,许多超富集植物中均发现有机酸的含量很高。如在多金属超富集植物圆锥南芥(*Arabis paniculata*)中检测出大量苹果酸、乙酸和柠檬酸^[23],Zn、Cd 超富集植物遏蓝菜(*T. caerulescens* L.)地上部苹果酸含量最高,然后依次为柠檬酸、琥珀酸和草酸^[6];在根部可检测到高浓度的柠檬酸、苹果酸和丙二酸^[24]。同样,在 Zn 超富集植物拟南芥属(*Arabidopsis halleri*)中检测出高含量的苹果酸和柠檬酸^[25]。

与此同时,随着 As 含量的增加,黑藻和竹叶眼子菜体内大部分有机酸都呈下降趋势,其中部分有机酸与体内 As 含量均呈显著负相关($P < 0.05$) (图 3 和图 4)。其原因一方面可能是在一些重金属的胁迫下,有机酸的合成受到影响或影响到相关酶的新陈代谢,使有机酸合成降低。类似的研究表明,在高浓度的 Cd 处理时圆锥南芥会降低地上部苹果酸和柠檬酸含量,而且地下部苹果酸和乙酸的含量也降低^[23]。对野牡丹(*Melastoma malabathricum*)的研究发现,随 Al 浓度增加,对三羧酸循环相关的酶产生影响,使苹果酸、琥珀酸和 α -酮戊二酸含量降低^[26];另一方面,可能是有机酸向根外分泌,导致体内有机酸含量减少。在环境胁迫条件下,有机酸的运输和分泌能力都会有所提高^[27]。有机酸减少的原因也可能是植物分泌有机酸来改变周围环境的 pH 值、Eh 和有机质等,来活化水体中的 As,以此促进 As 的吸收。

植物分泌的有机酸在养分活化和改善环境胁迫方面具有重要作用。有研究表明^[28-29],植物在重金属胁迫下会大量分泌一系列的物质,改变根际环境 pH 值、Eh 等,影响根系对重金属的吸收。有机酸是常见的分泌物之一,它与重金属结合,发生螯合、络合或沉淀作用,或将金属滞留在土壤中,或者进入到植物体内,也能改变根际微生物的组成、活性来间接改变重金属的数量和活度。这是植物抵抗重金属毒害的一种机理,也是某些超富集植物能更加有效地吸收重金属的主要原因之一。有机酸主要络合 Fe(Ⅲ)、Zn(Ⅱ)、Al(Ⅲ),柠檬酸、草酸络合铝的能力最大,其次是苹果酸、乙酸和苯二酸,柠檬酸和草酸能增加 Pb、Cd 的溶解度^[30]。

为了进一步研究在黑藻和竹叶眼子菜中是否存在有机酸向根外分泌,以及分泌的量和砷富集量的相关性,本研究进行了根系分泌物中有机酸的分析测定。在分泌物中 2 种植物均检测出有草酸、丙二酸、琥珀酸和棕榈酸,在 As(Ⅲ)和 As(V)处理时黑藻分泌的草酸和体内 As 含量呈显著的正相关($P < 0.05$) (图 5),As(Ⅲ)和 As(V)处理时,黑藻能大量吸收和富集 As,并且黑藻分泌出的草酸是竹叶眼子菜的 0.91—2.61 倍,说明草酸在黑藻吸收和富集 As 发挥重要作用。另据报道,生长在受 Cu、Pb、Cd、Zn 污染的沉积物上的秋茄(*Kandelia candel* L.)能分泌出甲酸、丁酸、苹果酸、柠檬酸、乳酸^[31]。在 30 和 50 mg/kg 的 Cd 处理时,秋茄能分泌大量的苹果酸和柠檬酸^[32]。也有研究表明,在受到 As 胁迫时,蜈蚣草根部分泌植酸和草酸来活化 As 来提高对 As 的吸收^[10]。

一般而言,无机砷毒性大于有机砷,其毒性呈 As(Ⅲ) > As(V) > DMA,As(Ⅲ)处理均使 2 种植物体内棕榈酸、亚麻酸和总有机酸含量显著下降,但 As(V)对这几种有机酸却无此现象,因此毒性较强的 As(Ⅲ)对有机酸的影响较为明显。并且在 DMA 处理时,黑藻有机酸不随 As 含量的升高而显著下降,但竹叶眼子菜的棕榈酸、亚麻酸和总有机酸却有显著降低,黑藻对毒性较低的 DMA 有较强的耐性。在相同浓度不同 As 形态处理下,植物体内 As 含量在高浓度处理时有显著差异,但有机酸的差异却同 As 形态之间相关性不显著(表 2),说明 As 的形态是影响植物吸收 As 的主要原因,但并不是影响体内有机酸变化的原因。

致谢:昆明理工大学环境科学与工程学院潘波教授对本文写作给予帮助,特此致谢。

References:

- [1] Rauser W E. Structure and function of metal chelators produced by plants: the case for organic acids, amino acids, phytin, and metallothioneins. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 1999, 31(1): 19-48.

- [2] Zhang Y X, Chai T Y, Burkard G. Research advances on the mechanisms of heavy metal tolerance in plants. *Acta Botanica Sinica*, 1999, 41(5): 453-457.
- [3] Krämer U, Cotter-Howells J D, Chamock J M, Baker A J M, Smith J A C. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature*, 1996, 379(6566): 635-638.
- [4] Ma J F. Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants. *Plant and Cell Physiology*, 2000, 41(4): 383-390.
- [5] Shen R F, Lwashita T, Ma J F. Form of Al changes with Al concentration in leaves of buckwheat. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55(394): 131-136.
- [6] Tolrà R P, Poschenrieder C, Barceló J. Zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. II. Influence on organic acids. *Journal of Plant Nutrition*, 1996, 19(12): 1541-1550.
- [7] Salt D E, Prince R C, Baker A J M, Raskin I, Pickering I J. Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray absorption spectroscopy. *Environmental Science and Technology*, 1999, 33(5): 713-717.
- [8] Wang H B, Wong M H, Lan C Y, Qin Y R, Shu W S, Qiu R L, Ye Z H. Organic acids in two arsenic hyperaccumulators and a non-hyperaccumulator of *Pteris* exposed to elevated arsenic concentrations. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 2011, 91(3): 241-254.
- [9] Shen H. Isolation and identification of specific root exudates in elephant grass (*Pennis lium* L.) in response to aluminum-and iron-bound phosphates. *Journal of Plant Nutrition*, 2001, 24(7): 1131-1144.
- [10] Tu S X, Ma L, Luongo T. Root exudates and arsenic accumulation in arsenic hyperaccumulating *Pteris vittata* and non-hyperaccumulating *Nephrolepis exaltata*. *Plant and Soil*, 2004, 258(1): 9-19.
- [11] Zhu Y L, Zayed A M, Qian J H, de Souza M, Terry N. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: II. Water hyacinth. *Journal of Environmental Quality*, 1999, 28(1): 339-444.
- [12] Robinson B, Kim N, Marchetti M, Moni C, Schroeter L, van den Dijssel C, Milne G, Clothier B. Arsenic hyperaccumulation by aquatic macrophytes in the Taupo Volcanic Zone, New Zealand. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, 58(1/3): 206-215.
- [13] Lee C K, Low K S, Hew N S. Accumulation of arsenic by aquatic plants. *Science of the Total Environment*, 1991, 103(2/3): 215-227.
- [14] Srivastava S, Mishra S, Tripathi R D, Dwivedi S, Trivedi P K, Tandon P K. Phytochelatins and antioxidant systems respond differentially during arsenite and arsenate stress in *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41(8): 2930-2936.
- [15] Pan Y H, Wang H B, Gu Z P, Xiong G H, Yi F. Accumulation and translocation of heavy metals by macrophytes. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(23): 6430-6441.
- [16] Pan Y H. Arsenic Uptake, Accumulation and Possible Mechanisms in Macrophytes Growing in Yangzong Lake, Yunnan Province [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2011.
- [17] Bao S D. Soil Agricultural Chemistry Analysis (3rd ed.). Beijing: China Agricultural Press, 2000: 370-389.
- [18] Verkleij J A C, Schat H. Mechanisms of metal tolerance in higher plants//Shaw A J, ed. *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*. Boca Raton: CRC Press, 1990: 179-193.
- [19] Rai K P. Heavy metal phytoremediation from aquatic ecosystems with special reference to macrophytes. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2009, 39(9): 697-753.
- [20] Yang Y Y, Jung J Y, Song W Y, Suh H S, Lee Y. Identification of rice varieties with high tolerance or sensitivity to lead and characterization the mechanism tolerance. *Plant Physiology*, 2000, 124(3): 1019-1026.
- [21] Zhao Z P, Ma J F, Sato K, Takeda K. Differential Al resistance and citrate secretion in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Planta*, 2003, 217(5): 794-800.
- [22] Chen T B, Yan X L, Liao X Y, Xiao X Y, Huang Z C, Xie H, Zhai L M. Subcellular distribution and compartmentalization of arsenic in *Pteris vittata* L. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50(24): 2843-2849.
- [23] Tang Y T. Uptake characters and detoxification mechanisms of zinc, cadmium and lead in multi-metal hyperaccumulator-*Arabidopsis paniculata* [D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University, 2009.
- [24] Boominathan R, Doran P M. Organic acid complexation, heavy metal distribution and the effect of ATPase inhibition in hairy roots of hyperaccumulator plant species. *Journal of Biotechnology*, 2003, 101(2): 131-146.
- [25] Zhao F J, Lombi E, Breedon T, McGrath S P. Zinc hyperaccumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri*. *Plant, Cell and Environment*, 2000, 23(5): 507-514.
- [26] Watanabe T, Osaki M. Role of organic acids in aluminum accumulation and plant growth in *Melastoma malabathricum*. *Tree Physiology*, 2002, 22(11): 785-792.
- [27] López-Bucio J, Nieto-Jacobo M F, Ramírez-Rodríguez V, Herrera-Estrella L. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to

transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Plant Science*, 2000, 160(1): 1-13.

- [28] McGrath S P, Shen Z G, Zhao F J. Heavy metal uptake and chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ochroleucum* grown in contaminated soils. *Plant and Soil*, 1997, 188(1): 153-159.
- [29] Hammer D, Keller C. Changes in the rhizosphere of metal-accumulating plants evidenced by chemical extractants. *Journal of Environmental Quality*, 2002, 31(5): 1561-1569.
- [30] Lin Q, Chen Y X, Chen H M, Deng C R. Study on chemical behavior of root exudates with heavy metals. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2003, 9(4): 425-431.
- [31] Lu H L, Yan C L. Exudation of low-molecular-weight-organic acids by *Kandelia candel* (L.) Druce roots and implication on heavy metal bioavailability in mangrove sediments. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(10): 4173-4181.
- [32] Lu H L, Yan C L, Liu J C. Low-molecular-weight organic acids exuded by Mangrove (*Kandelia candel* (L.) Druce) roots and their effect on cadmium species change in the rhizosphere. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 61(2): 159-166.

参考文献:

- [15] 潘义宏, 王宏宾, 谷兆萍, 熊国焕, 易锋. 大型水生植物对重金属的富集与转移. *生态学报*, 2010, 30(23): 6430-6441.
- [16] 潘义宏. 阳宗海大型水生植物对砷的吸收、富集特征及机理 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2011.
- [17] 鲍士旦. 土壤农化分析 (第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000: 370-389.
- [23] 汤叶涛. 多金属超富集植物圆锥南芥 (*Arabis paniculata*) 对锌镉铅的吸收特征及解毒机理 [D]. 广州: 中山大学, 2009.
- [30] 林琦, 陈英旭, 陈怀满, 郑春荣. 根系分泌物与重金属的化学行为研究. *植物营养与肥料学报*, 2003, 9(4): 425-431.
- [31] 卢豪良, 严重玲. 秋茄 (*Kandelia candel* (L.)) 根系分泌低分子量有机酸及其对重金属生物有效性的影响. *生态学报*, 2007, 27(10): 4173-4181.

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7 国外邮发代号:M670 标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 32 卷 第 16 期 (2012 年 8 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 32 No. 16 (August, 2012)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel: (010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:1000717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 1000717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:1000717 电话:(010)64034563 E-mail: journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 1000717, China Tel: (010)64034563 E-mail: journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add: P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元