

豇豆和番茄对砷胁迫的响应

安堃达¹ 熊双莲¹ 涂书新¹ 范家霖²

1. 华中农业大学资源与环境学院, 武汉 430070;

2. 河南省科学院同位素研究所有限责任公司, 郑州 450052

摘要 采用土壤盆栽和溶液培养相结合的方法, 考察砷胁迫下豇豆(*Vigna unguiculata* L.)和番茄(*Cyphomandra betacea* L.)的生长、砷吸收累积状况、植株体内砷价态和根系分泌物变化。结果表明: 砷(50 mg/kg)胁迫显著抑制豇豆(精选 901 青豇豆)的生长, 其生物量和产量较对照分别下降 47% 和 54%, 属于砷敏感型蔬菜; 而砷处理显著促进番茄(特大红宝石)的生长, 其生物量和产量分别为对照的 1.56 倍和 1.51 倍, 属于砷耐受型蔬菜。2 种蔬菜果实中砷含量均未超过 GB2762-2005 食品中污染物限量标准, 0.05 mg/kg (FW)。砷在 2 种蔬菜中以 As(V) 和 As(III) 2 种形态存在, 其中以 As(III) 为主; 2 种蔬菜根部 As(V) 所占的比例无显著差异, 但 As(V) 在豇豆叶片中的比例显著高于番茄。砷胁迫显著增加了番茄和豇豆根系分泌苹果酸和乙酸的量, 砷胁迫下番茄根系有机酸分泌增加率显著高于豇豆。

关键词 砷污染; 豇豆; 番茄; 根系分泌物; 砷价态

中图分类号 S 643.4; Q 945 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2013)01-0073-05

蔬菜是人们日常生活中必不可少的农产品, 其安全性日益受到重视^[1]。目前, 我国大量蔬菜生产基地建于城市近郊, 长期受到工业“三废”和农药、化肥等含砷外源物质污染^[2-3]。据报道, 我国砷污染区的蔬菜中有 32.2% 的样品砷含量超标^[4], 在郴州^[5]、荆州^[6]、广州^[7]等地均出现蔬菜砷污染的现象。人体中的砷超过限量时会引起砷急慢性中毒, 导致皮肤癌、肺癌等多种疾病^[8]。因此, 全面了解不同种类蔬菜对砷胁迫的响应, 对发展绿色食品和无公害蔬菜以及提高人类的健康水平具有重要的现实意义。

豇豆(*Vigna unguiculata* L.)和番茄(*Cyphomandra betacea* L.)是人们喜爱并经常食用的瓜果类蔬菜, 但关于其对砷胁迫的响应却鲜有报道。笔者通过对豇豆和番茄砷胁迫响应的研究, 初步探讨其耐砷的机制, 旨在为砷污染土壤的利用和保障蔬菜安全提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1) 供试蔬菜。豇豆(精选 901 青豇豆, 武汉旺旺

种苗提供), 番茄(特大红宝石, 武汉绿满园种业提供), 2 个蔬菜品种均为市场常见品种。

2) 供试土壤。取自华中农业大学试验地黄棕壤, 其基本理化性状如下: pH 6.42, 速效氮 12.25 mg/kg, 速效磷 6.83 mg/kg, 速效钾 90.55 mg/kg, 有机质 8.33 g/kg, 总砷含量 18.86 mg/kg。

1.2 试验设计

1) 砷胁迫对豇豆和番茄生长及砷吸收累积的影响。采用全生育期土壤盆栽试验。将土壤破碎过孔径 2 mm 筛, 每钵装土壤 3 kg。底肥施用量为每千克土壤: N 0.2 g, P₂O₅ 0.1 g 和 K₂O 0.3 g, 分别以分析纯试剂(NH₂)₂CO、KH₂PO₄ 和 KCl 为肥源, 同时施入 1 mL Arnon 微量元素混合液。试验设 CK (不加砷) 和 As(土壤中加砷 50 mg/kg) 2 个处理, 每处理 3 个重复, 砷源为 Na₃AsO₄·12H₂O(分析纯)。将土壤和砷、底肥反复混匀后, 保持田间持水量平衡 14 d。期间进行育苗, 种子经消毒(50 °C 温水浴 30 min)、浸种、催芽萌发后于 2010 年 4 月 23 日播种于营养土(土壤与有机复混肥质量比为 2:1)中。当幼苗长出第 1 片真叶时移栽至盆钵中, 生长稳定后, 每钵定植 1 株。蔬菜生长期间用自来

收稿日期: 2011-12-01

基金项目: 农业部农业公益性行业科研专项(201103007)和湖北省自然科学基金(2009CDB266)

安堃达, 硕士, 研究方向: 环境污染与修复. E-mail: akd1986@webmail.hzau.edu.cn

通讯作者: 熊双莲, 博士, 副教授, 研究方向: 土壤污染与修复. E-mail: xsl@mail.hzau.edu.cn

水浇灌,自然光照。果实成熟期适时采摘果实,称鲜质量。所有果实采摘完后,于 7 月 22 日收获植株,将其分为根、茎、叶三部分,洗净后在 105 °C 下杀青 15 min,60 °C 下烘干至恒质量后称干质量,磨碎待用。

2) 砷胁迫对豇豆和番茄根系分泌物及砷价态变化的影响。育苗,挑选饱满的种子消毒、催芽萌发后于石英砂中育苗,待植物长出 1 片真叶时移栽至体积为 5 L 的塑料盆中,加入 1/4 营养液(Hoagland+Arnon)进行培养。7 d 后将营养液更换成全量营养液。生长期每 5 d 更换 1 次营养液,每天及时通气,并补充水至 5 L。培养 14 d 后进行试验处理。

试验设 CK(不加砷)和 As(1 mg/L) 2 个处理,每处理 4 个重复,砷源为 $\text{Na}_3\text{AsO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (分析纯)。加入砷处理后培养 7 d。根系分泌物的收集参考文献[9]的方法,将植物根部放入 100 mL 灭菌去离子水的棕色瓶中,连续收集 8 h,冲洗根系,冲洗液合并并在瓶中,用冷冻干燥机干燥,贮于超低温冰箱中,用于测定低分子有机酸。植株冲洗后分为地上部和根部,称鲜质量,取样用于砷价态测定。

Hoagland 营养液组成: KNO_3 、 NH_4NO_3 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 分别为 5、1、4、1、2 mmol/L。Arnon 微量元素营养液组成: $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 H_3BO_3 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 H_2MoO_4 、Fe-EDTA 分别为 0.009、0.046、0.000 8、0.000 3、0.000 1、0.028 mmol/L。

1.3 测定方法

1) 砷含量测定。采用氢化物-原子荧光法,烘干后的植物样品经硫酸、高氯酸消化后,用原子荧光光

度计(AFS-8220,北京吉天仪器有限公司)测定砷含量。

2) 砷价态测定。采用原子荧光法,植物鲜样经甲醇-水(1:1)超提,旋转蒸发出甲醇,经稀释后过 0.2 μm 滤膜,用原子荧光形态分析仪(SA-10,北京吉天仪器有限公司)测定不同砷价态含量,流动相为 0.015 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (pH 6.0)。

3) 根系分泌物测定。主要测定琥珀酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸、乙酸等 5 种低分子有机酸。将冻干样品定容后过 0.45 μm 滤膜,用高效液相色谱仪(HPLC, Agilent 1200)测定,其中,检测波长 210 nm,色谱柱 C18(10 μm),流动相 3% 甲醇-0.01 mol/L K_2HPO_4 (pH 2.7)。试验中标样为优级纯,甲醇为色谱纯。

1.4 数据统计

数据用 SAS V8.1 统计软件进行 *t* 检验、单因素方差分析,显著性以 $P < 0.05$ 计,运用 Excel 绘制相关图形和表格。

2 结果与分析

2.1 砷胁迫对豇豆和番茄生长的影响

砷处理对豇豆和番茄生长的影响存在显著差异(表 1)。砷胁迫下豇豆植株叶片凋落、花朵腐烂;而番茄植株无明显中毒症状。结果表明,土壤中添加 50 mg/kg 砷显著抑制了豇豆的生长,其地上部和根部干质量及果实鲜质量(产量)分别为 CK 的 51%、73% 和 46%;而番茄在添加砷的土壤中生长显著增强,其地上部和根部干质量及果实鲜质量分别达到 CK 的 1.45、6.26 和 1.51 倍。

表 1 土壤砷(50 mg/kg)处理对豇豆和番茄生物量及产量的影响¹⁾

Table 1 Effects of 50 mg/kg As on biomass and yield of cowpea and tomato

g

处理 Treatment	豇豆 Cowpea			番茄 Tomato		
	地上部干质量 Shoots dry weight	根部干质量 Root dry weight	果实鲜质量 Fruits fresh weight	地上部干质量 Shoots dry weight	根部干质量 Root dry weight	果实鲜质量 Fruits fresh weight
CK	23.06±3.31 a	2.27±0.38 a	72.50±4.40 a	16.88±2.32 b	0.39±0.03 b	140.00±8.40 b
As	11.81±2.48 b	1.65±0.18 a	33.30±13.80 b	24.42±3.72 a	2.44±0.76 a	212.00±15.40 a

1) 不同字母表示同一种蔬菜不同处理间差异显著($P < 0.05$),下同。Various letters mean the values of CK and As treatment for the same vegetables with significant difference($P < 0.05$). The same as follows.

2.2 豇豆和番茄对砷的吸收与累积

土壤中添加 50 mg/kg 砷处理条件下豇豆和番茄不同部分砷含量及累积量见表 2。结果表明,砷在 2 种蔬菜体内的含量大小均是根 > 叶 > 茎 > 果实,其中果实中砷含量最低,两者均未超过

GB2762-2005 食品中污染物限量标准,0.05 mg/kg (FW)。

豇豆和番茄对砷的吸收和累积呈现显著差异(表 2)。砷主要累积在豇豆和番茄的根部,仅少量向地上部转移。番茄植株的总砷累积量(106.10 μg /株)是

表 2 土壤砷 (50 mg/kg) 处理下豇豆和番茄不同部位的砷含量及累积量

Table 2 Contents and bioaccumulations of As in leaves, stems, fruits and roots of cowpea and tomato treated with 50 mg/kg As in soil

蔬菜种类 Species	砷含量 Concentration of arsenic				砷累积量/ μg Bioaccumulation of arsenic				
	叶(干质量)/ (mg/kg)	茎(干质量)/ (mg/kg)	果实(鲜质量)/ (mg/kg)	根(干质量)/ (mg/kg)	叶	茎	果实	根	总累积量
	Leaf(DW)	Stem(DW)	Fruit(FW)	Root(DW)	Leaf	Stem	Fruit	Root	Total
豇豆 Cowpea	4.12 a	0.55 a	0.019 7 a	13.60 b	13.20 b	1.41 b	0.66 b	17.80 b	33.00 b
番茄 Tomato	2.04 b	0.71 a	0.008 5 b	29.60 a	21.60 a	8.85 a	1.80 a	73.90 a	106.10 a

豇豆(33.00 $\mu\text{g}/\text{株}$)植株的 3.22 倍,且不同部位砷累积量均显著高于豇豆,表明番茄植株吸收和累积砷的能力更强。

2.3 砷胁迫下豇豆和番茄植株的砷价态变化

在豇豆和番茄体内均能检测到 As(III) 和 As(V),但未检测到 DMA 和 MMA 等有机砷价态(图 1)。砷在番茄和豇豆根和叶片中主要以 As(III) 形式存在,且 As(III) 在根部所占的比例(95% 以上)远远高于叶片(67%~76%),由此说明植物叶片更易受到 As(V) 的毒害。2 个蔬菜品种根部 As(V) 所占的比例无显著差异,但豇豆叶片中 As(V) 比例显著高于番茄。

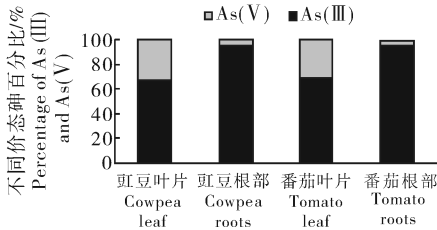


图 1 砷 (1 mg/L) 胁迫下豇豆和番茄体内 As(III) 和 As(V) 含量百分比

Fig.1 Percentage of arsenite and arsenate in cowpea and tomato treated with 1 mg/L As in the nutrient solution

表 3 砷胁迫下豇豆和番茄根系分泌物中有机酸含量的影响

Table 3 Effect of arsenic stress (1 mg/L As) on the organic acids exuded from roots of cowpea and tomato

蔬菜种类 Species	处理 Treatment	苹果酸 Malic acid	琥珀酸 Succinic acid	乙酸 Acetic acid
豇豆 Cowpea	CK	319.90 \pm 51.30 a	62.20 \pm 22.10 a	378.80 \pm 33.80 a
	As	489.10 \pm 20.30 b	85.90 \pm 17.60 a	478.90 \pm 14.10 b
番茄 Tomato	CK	65.60 \pm 19.80 a	/	34.30 \pm 2.30 a
	As	189.80 \pm 14.80 b	/	99.50 \pm 2.20 b

2.4 豇豆和番茄在砷胁迫下的根系分泌物特征

砷处理下豇豆和番茄根系分泌的有机酸种类和

数量均存在差异(表 3)。豇豆根系分泌的有机酸主要有苹果酸、琥珀酸和乙酸。砷胁迫下,豇豆根系苹果酸和乙酸的分泌量显著提高,分别是 CK 的 1.53 倍和 1.26 倍,琥珀酸变化不大。番茄根系分泌的有机酸主要有苹果酸和乙酸。砷胁迫下,番茄有机酸分泌量均显著增加,苹果酸和乙酸分别达到 CK 的 2.89 倍和 2.90 倍。

3 讨论

蔬菜在砷污染土壤中生长时,其呼吸、光合、代谢作用及酶活性等受到不同程度影响,最后从受害症状、生长状况和生物量变化等方面表现出来^[10]。本研究中,砷处理(50 mg/kg)显著抑制了豇豆的生长,却显著增加了番茄地上部和根部的干质量及果实的产量,表明 2 种蔬菜对砷耐受能力差异显著,豇豆对砷胁迫具有高度敏感性,属于砷敏感型蔬菜,这与李道林等^[11]的研究结果相似;而砷对番茄生长具有显著促进作用,说明番茄属于砷耐受型蔬菜。

土壤中添加 50 mg/kg 砷处理条件下,2 种蔬菜果实中砷含量均未超过 GB2762-2005 食品中污染物限量标准,0.05 mg/kg(FW),说明砷较少向 2 种蔬菜可食部位迁移,该结果与赵明等^[12]对黄瓜、芸豆和甘蓝的研究结果相一致。富集系数指植物中砷的含量与土壤中砷含量的比值,本研究中番茄根部砷的富集系数(0.43)远远高于豇豆(0.20),为豇豆的 2.15 倍;与此相反,番茄叶(0.030)和果实(0.000 12)中砷的富集系数则显著低于豇豆(分别为 0.060 和 0.000 29),分别为豇豆的 50% 和 41.4%,说明豇豆叶和果实具有更强的砷富集能力。豇豆叶和果实中砷的累积量分别占植株总砷累积量的 40% 和 2%,显著高于番茄的 20% 和 1.7%。豇豆将更多的砷迁移到地上部,这可能是导致其对砷敏感的原因之一。

许多研究^[13-15]发现植物能将吸收的五价砷还原,如印度芥菜(*Brassica juncea* L.)三价砷的比例

约占 59%^[16],而在砷超积累植物蜈蚣草中,三价砷的比例高达 95% 以上^[17]。一般认为,As(V)和 P(V)是化学类似物,具有相似的化学性质和生物学性质。As(V)与磷的吸收载体相同^[18],能阻碍植物对磷的吸收,进入体内后又干扰 ATP 的形成,使作物丧失能量来源^[19];而 As(III)能与体内一些小分子物质结合形成复杂的络合物而降低砷对细胞的毒性^[20-21]。因此在植物体内,As(V)具有更大的危害性。

本研究中豇豆和番茄体内均能检测到 As(III)和 As(V)2 种价态,但未检测到 DMA 和 MMA 等有机砷价态,该结果与 Jedynak 等^[22]对白芥的研究相一致,即以无机砷作为砷源时,植株体内的砷主要以 As(III)和 As(V)2 种形态存在。番茄和豇豆根和叶片中主要以 As(III)形式存在,且 As(III)在根部所占的比例远远高于叶片,植物叶片更易受到 As(V)的毒害。豇豆叶片中 As(V)比例显著高于番茄,说明豇豆叶片所受 As(V)的毒害较番茄严重,这可能是豇豆对砷敏感的另一原因。

植物响应环境胁迫最直接和最明显的变化反映在根系分泌的有机化合物组成和含量上,有机物(特别是有机酸)通过螯合重金属或酸化根际来调控土壤中重金属的溶解和根系吸收^[22]。本研究中 2 种蔬菜产生的分泌物种类和数量不同是由品种的内部遗传结构差异引起的,但在砷胁迫下,番茄根系有机酸分泌增加率远远高于豇豆。有机酸分泌的增加可能是番茄砷累积较高的原因。

综上所述,2 种蔬菜对砷胁迫具有显著的耐性差异。番茄植株砷累积能力强,但向上迁移能力弱,主要在根部累积;豇豆则相反,砷累积量较低,但向上迁移性强。在 2 种蔬菜体内砷主要以无机态 As(III)存在,砷耐受型番茄叶片中 As(V)向 As(III)转化程度较敏感型豇豆更高。砷胁迫下番茄有机酸分泌率增加高于豇豆。番茄通过抑制砷的向上转移和降低叶片中 As(V)比例来缓解砷毒害、提高其耐砷性。

参 考 文 献

- [1] 张木,胡承孝,孙学成,等. 叶面喷施微量元素和氨基酸对小白菜产量及品质的影响[J]. 华中农业大学学报,2011,30(5): 613-615.
- [2] 董元华,张桃林. 基于农产品质量安全的土壤资源管理与可持续利用[J]. 土壤,2003,35(3):192-196.
- [3] ZHOU D, CHEN H, HAO X, et al. Fractionation of heavy metals in soils as affected by soil types and metal load quantity [J]. *Pedosphere*, 2002, 12(4): 309-319.
- [4] 肖细元,陈同斌,廖晓勇,等. 我国主要蔬菜和粮油作物的砷含量与砷富集能力比较[J]. 环境科学学报,2009,29(2): 291-296.
- [5] 谢华,廖晓勇,陈同斌,等. 污染农田中植物的砷含量及其健康风险评估——以湖南郴州邓家塘为例[J]. 地理研究,2005,24(1):151-159.
- [6] 张竹青,杨玉华. 荆州市蔬菜重金属和砷污染现状及影响因素[J]. 湖北农学院学报,2001,21(2):141-143.
- [7] 谭铭雄,马林,林国桢,等. 广州市 1996—2002 年蔬菜污染监测与分析[J]. 中国热带医学,2005,5(2):348-351.
- [8] MANDAL B K, SUZUKI K T. Arsenic round the world: a review[J]. *Talanta*, 2002, 58: 201-235.
- [9] TU S, MA L, LUONGO T. Root exudates and arsenic accumulation in arsenic hyperaccumulating *Pteris vittata* and non-hyperaccumulating *Nephrolepis exaltata*[J]. *Plant and Soil*, 2004, 258: 9-19.
- [10] 黄益宗,朱永官,胡莹,等. 不同品种大豆对 As 吸收积累和分配的影响[J]. 农业环境科学学报,2006,25(6): 1397-1401.
- [11] 李道林,何方,马成泽,等. 砷对土壤生物学活性及蔬菜毒性的影响[J]. 农业环境保护,2000,19(3):148-151.
- [12] 赵明,赵征宇,蔡葵,等. 砷、铬胁迫对蔬菜生长性状及产品安全性的影响[J]. 农业环境科学学报,2007,26(S): 489-493.
- [13] LIU Q, HU C, TAN Q, et al. Effects of As on As uptake, speciation, and nutrient uptake by winter wheat (*Triticum aestivum* L.) under hydroponic conditions[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20: 326-331.
- [14] SMITH P G, KOCH I, REIMER K J. Uptake, transport and transformation of arsenate in radishes (*Raphanus sativus*) [J]. *Science of the Total Environment*, 2008, 390: 188-197.
- [15] XU X Y, MCGRATH S P, ZHAO F J. Rapid reduction of arsenate in the medium mediated by plant roots[J]. *New Phytologist*, 2007, 176(3): 590-599.
- [16] PICKERING I J, PRINCE R C, GEORGE M J, et al. Reduction and coordination of arsenic in Indian mustard[J]. *Plant Physiology*, 2000, 122(4): 1171-1177.
- [17] TU S, MA L Q, MACDONALD G E, et al. Effects of arsenic species and phosphorus on arsenic absorption, arsenate reduction and thiol formation in excised parts of *Pteris vittata* L. [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2004, 51(2): 121-131.
- [18] TRIPATHIL R D, SRIVASTAV S, MISHRAL S, et al. Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants[J]. *Trends in Biotechnology*, 2007, 25(4): 158-165.
- [19] MANOMITA P, NILADRI B, BULBUL B, et al. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2004, 52: 199-223.
- [20] QUAGHEBEUR M, RENGEL Z. Arsenic uptake, transloca-

tion and speciation in *pho1* and *pho2* mutants of *Arabidopsis thaliana* L. [J]. *Physiologia Plantarum*, 2004, 120 (2): 280-286.

- [21] JONES D L, DARRAH P R, KOCHIAN L V. Critical evaluation of organic acid mediated iron dissolution in the rhizosphere and its potential role in root iron up take[J]. *Plant and Soil*,

1996, 180: 57-66.

- [22] JEDYNAK L, KOWALSKA J, KOSSYKOWSKA M, et al. Studies on the uptake of different arsenic forms and the influence of sample pretreatment on arsenic speciation in white mustard (*Sinapis alba*) [J]. *Microchemical Journal*, 2010, 94: 125-129.

Arsenic stressed response of cowpea and tomato

AN Kun-da¹ XIONG Shuang-lian¹ TU Shu-xin¹ FAN Jia-lin²

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

2. Isotope Institute Co. LTD of Henan Academy of Sciences, Zhengzhou 450052, China

Abstract Soil pot culture and solution culture were conducted to study the effects of arsenic stress on plant growth, arsenic uptake and bioaccumulation, arsenic speciation in roots and leaves, and organic acids in root exudates of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) and tomato (*Cyphomandra betacea* L.). The results showed that there was significant difference in arsenic tolerance response between cowpea and tomato. Cowpea was regarded as the As-sensitivity with the characterization of the significant reduction of biomass and yield under As stress with decrease of 47% and 54% respectively compared with the controls. In contrast, tomato was selected as the As-tolerance, featuring as the significant increasing of biomass and yield under arsenic stress to 1.56 times and 1.51 times, respectively. The As concentration in fruit of cowpea (0.0197 mg/kg FW) was higher than that in tomato (0.0085 mg/kg FW), but they didn't exceed the National Food Safety Standards (0.05 mg/kg FW). Arsenic in cowpea and tomato existed as inorganic speciation (arsenate and arsenite), and more than 65% arsenic in leaves and 95% in roots were arsenite. Though there was no significant difference between arsenic speciation in roots of cowpea and tomato, the percentage of arsenate in leaves of cowpea were greatly higher than that of tomato. Arsenic stress significantly increased quantities of malic acid and acetic acid in root exudates of two vegetables. Compared with cowpea, tomato can exuded more organic acids under arsenic stress.

Key words arsenic pollution; cowpea; tomato; root exudation; arsenic speciation

(责任编辑: 陆文昌)