

重金属胁迫下东京野茉莉根系分泌物中有机酸含量的影响

王丽艳, 杨桦, 龙蔚, 贺义昌

江西省林业科学院, 江西 南昌

收稿日期: 2022年7月3日; 录用日期: 2022年8月3日; 发布日期: 2022年8月10日

摘要

采用不同浓度的重金属Cu和Cd胁迫东京野茉莉幼苗, 运用高效液相色谱法同时测定东京野茉莉根系分泌物中有机酸, 研究不同浓度重金属Cu和Cd胁迫下东京野茉莉根系分泌物中有机酸含量的影响。试验结果表明: 不同浓度重金属Cu和Cd对东京野茉莉根系分泌物中有机酸含量差异较大, 其中Cu胁迫后的柠檬酸和丁二酸含量几乎没有, 对应浓度下Cd胁迫后的草酸影响最大。

关键词

东京野茉莉, 重金属胁迫, 根系分泌物, 有机酸

Effects of Determination of Organic Acids Exuded from *Styrax tonkinensis* Roots under Heavy Metal Conditions

Liyan Wang, Hua Yang, Wei Long, Yichang He

Jiangxi Academy of Forestry, Nanchang Jiangxi

Received: Jul. 3rd, 2022; accepted: Aug. 3rd, 2022; published: Aug. 10th, 2022

Abstract

Using different concentrations of heavy metals Cu and Cd to stress the seedlings of *Styrax tonkinensis*, the organic acids in the root exudates of *Styrax tonkinensis* were simultaneously determined by high performance liquid chromatography, and the effects of different concentrations of heavy metals Cu and Cd on the content of organic acids in the root exudates of *Styrax tonkinensis*

were studied. The results showed that different concentrations of heavy metals Cu and Cd had great differences in the content of organic acids in the root exudates of *Styrax tonkinensis*, among which the contents of citric acid and succinic acid after Cu stress were almost zero, and oxalic acid after Cd stress had the greatest effect at the corresponding concentration.

Keywords

Styrax tonkinensis, Heavy Mental Stress, Root Exudates, Organic Acids

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

根系分泌物是植物根系在代谢过程中向其周围环境释放的有机物，而低分子有机酸在植物根系分泌物中占有很大比例，常见的有机酸有：草酸、苹果酸、柠檬酸和丁二酸等[1]，这些物质均具有调节植物细胞代谢功能，并能活化和固定植物根系的养分。因此植物根系分泌物中有机酸含量及分布对植物营养学的研究尤为重要[2] [3]。常见测定有机酸的方法有滴定法、离子色谱法[4]、气相色谱法[5] [6]和高效液相色谱法等[7] [8]。

Cu 和 Cd 是生物毒性较强的两种重金属元素，且极易被植物根部吸收并累积。在重金属胁迫条件下，植物根系分泌物有机酸的含量受到影响，从而影响植物的生长。例如，樟松子和挪威云杉根系在 Cu 胁迫下分泌草酸[9] [10]；红树植物秋茄在 Cd 胁迫下，主要分泌柠檬酸、乙酸和乳酸，在 20 ppm 的 Cd 胁迫下促进分泌富马酸[11]。

东京野茉莉(*Styrax tonkinensis*)，又名白野茉莉，为安息香科野茉莉属落叶乔木，主要分布于我国东南沿海、长江流域及南方各地[12]。东京野茉莉具有很高的生态效益和经济价值：冠幅较大，韧性较强，是拓荒造林和重建良好人工生态系统的首选生态造林树种，树干通直，材质轻软，结构致密，是造纸树种的良好原料[13]。目前，对东京野茉莉的研究不是很多，尤其是重金属胁迫东京野茉莉根系分泌物有机酸含量的变化鲜见报道。本文以盆栽东京野茉莉幼苗根系为研究对象，运用高效液相色谱法同时测定根系分泌物中四种有机酸的含量，比较不同浓度重金属 Cu 和 Cd 胁迫下东京野茉莉根系分泌物中有机酸含量的动态变化，以期为生态绿化建设和环境污染修复提供理论基础。

2. 材料与方法

2.1. 材料、试剂与仪器

东京野茉莉根系，采自江西省林业科学院院内。

草酸、L-苹果酸、柠檬酸和丁二酸(对照品)中国生物制品检定所；甲醇为色谱纯。

UV-752 紫外分光光度计上海光谱仪器有限公司；CP-214 电子分析天平上海奥豪斯仪器有限公司；HC-200 型粉碎机浙江永康金穗机械制造有限公司；Waters-2695 型高效液相色谱仪美国 Waters 公司。

2.2. 方法

2.2.1. 不同浓度重金属胁迫盆栽试验

种子直接播于用酸洗过的细沙和珍珠岩混合基质(5:4, V/V)营养钵中，混合基质分别以 $CdCl_2$ 和

CuSO₄的形态加入重金属。Cu 处理浓度为 100、200、400、600 mg/L; Cd 处理浓度为 50、100、150、200 mg/L。以不加重金属的处理为对照(CK)。每种浓度处理 5 盆。每天浇水使基质含水量保持在相对持水量的 60%左右, 每 3 天浇 100 mL 的营养液, 每盆破种 10 粒, 在 90 天收获。

2.2.2. 根系分泌物中有机酸的提取

将根从跟袋中完整取出, 轻轻抖掉土壤, 保留根系附近的部分根际土, 将植物根系放入盛有 200 mL 蒸馏水的烧杯中, 收集 4 小时, 用少量蒸馏水 3 次冲洗根系, 冲洗液合并到根系分泌物中, 慢速过滤。将收集到的根系分泌物用真空旋转蒸发器在 40℃ 下浓缩, 定容至 10 mL, 过 0.45 μm 滤膜, 上机待测有机酸, 剩余液-20℃ 下保存。

2.2.3. 根系分泌物中有机酸的测定

采用高效液相色谱法同时测定东京野茉莉根系分泌物中有机酸, 该方法色谱条件: 色谱柱是 sunfire C₁₈ (4.6 mm × 250 mm); 柱温为 25℃; 流动相为甲醇(A) - 0.1% 磷酸(B), 等浓度洗脱; 流速为 0.4 mL/min; 检测波长为 210 nm。

按下列公式计算样品中各种有机酸的含量(C)

$$C = N \times (H/Hm) \times F.50 (V/W) \cdot (1000/1000)$$

式中: C: 各种有机酸的含量, 以 mg/kg (L) 表示;

N: 20 μl 有机酸含量 μg/20 μl;

H: 样品中某种有机酸的峰高(mm);

Hm: 标准溶液中某种有机酸的峰高(mm);

F: 稀释倍数;

V: 样品的定容体积(100 ml);

W: 样品中的称取量(g 或 ml)。

3. 结果与分析

3.1. 根系分泌物中有机酸的测定

根据选定的色谱条件, 准确吸取标准液依次进样 2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15 μL, 以 Y 为峰面积, X 为进样量, 绘制标准曲线。样品进样量: 10 μL。标准混合液和对照样品(CK)色谱图如下图 1、图 2。

3.2. 不同浓度 Cu 胁迫下东京野茉莉根系分泌物有机酸的含量影响

不同浓度 Cu 胁迫下东京野茉莉根系分泌中草酸、L-苹果酸、柠檬酸和丁二酸的含量影响如表 1。

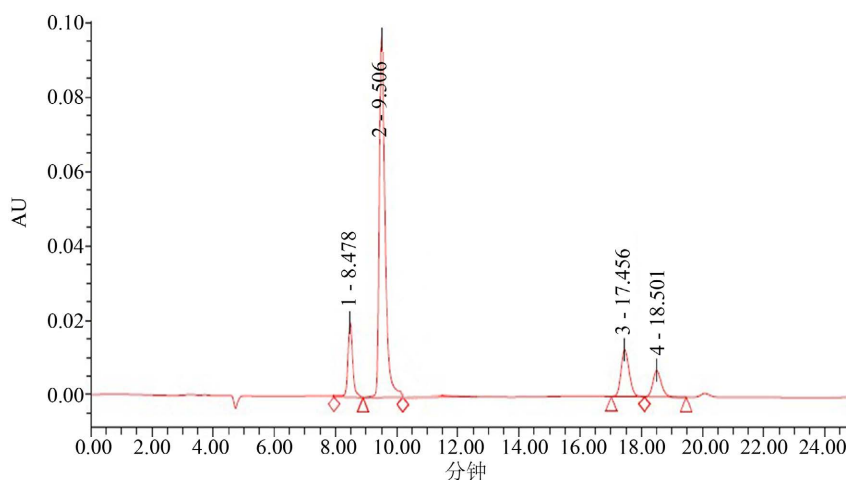
由表 1 可知, 东京野茉莉根系分泌物中总有机酸的含量随着 Cu 处理浓度的增加先减少后增加, 并且不同有机酸的含量变化差异比较大, 其中草酸的含量随着 Cu 处理浓度的增加而增加, L-苹果酸、柠檬酸和丁二酸的含量随着 Cu 处理浓度的增加而减少, 当 Cu 浓度达到 400 mg/L 时, 东京野茉莉根系不能分泌柠檬酸和丁二酸; 说明高浓度的 Cu 不利于东京野茉莉根系分泌柠檬酸和丁二酸, 有利于分泌草酸。这可能的原因是草酸更容易对重金属 Cu 解毒。

3.3. 不同浓度 Cd 胁迫下东京野茉莉根系分泌物有机酸的含量影响

不同浓度 Cd 胁迫下东京野茉莉根系分泌中草酸、L-苹果酸、柠檬酸和丁二酸的含量影响如表 2。

由表 2 可知, 东京野茉莉根系分泌物中总有机酸的含量随着 Cd 处理浓度的增加而增加, 但是不同的有机酸含量变化差异也比较大, 其中草酸和 L-苹果酸的含量随着 Cd 处理浓度的增加而减少, 当 Cd 浓度

达到 150 mg/L 时, 东京野茉莉根系基本不能分泌草酸和 L-苹果酸; 柠檬酸和丁二酸的含量随着 Cd 处理浓度的增加而增加, 并且丁二酸的含量增幅更大; 说明高浓度的 Cd 更有利于东京野茉莉根系分泌丁二酸。



1-草酸, 2-L-苹果酸, 3-柠檬酸, 4-丁二酸。

Figure 1. Chromatogram of organic acid standards
图 1. 有机酸标准液的色谱图

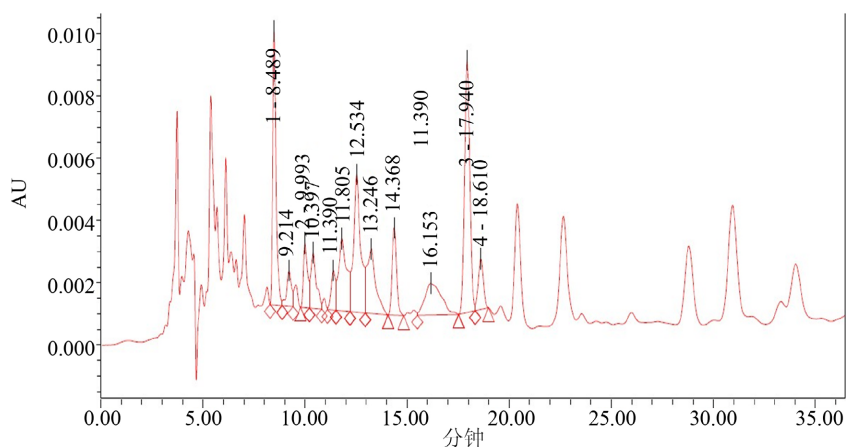


Figure 2. Chromatogram of organic acids exuded from *Styx tonkinensis* roots
图 2. 东京野茉莉根系分泌物有机酸的色谱图

Table 1. The effects of different Cu density on the determination of organic acids exuded from *Styx tonkinensis* Roots
表 1. 不同浓度 Cu 对东京野茉莉根系分泌物有机酸含量的影响

有机酸类别	CK	不同浓度 Cu 处理/mg/L			
		100	200	400	600
草酸/mg/g	24.36	30.82	39.12	50.63	62.97
L-苹果酸/mg/g	10.02	8.36	5.78	4.32	2.15
柠檬酸/mg/g	18.25	10.48	5.07	—	—
丁二酸/mg/g	9.43	3.27	—	—	—

Table 2. The effects of different Cd density on the determination of organic acids exuded from *Styrax tonkinensis* Roots
表 2. 不同浓度 Cd 对东京野茉莉根系分泌物有机酸含量的影响

有机酸类别	CK	不同浓度 Cd 处理/mg/L			
		50	100	150	200
草酸/mg/g	24.36	15.73	4.55	—	—
L-苹果酸/mg/g	10.02	5.16	—	—	—
柠檬酸/mg/g	19.25	22.94	25.07	27.65	30.51
丁二酸/mg/g	8.43	17.32	32.19	48.28	64.92

4. 结论

Cu 和 Cd 均对东京野茉莉根系有机酸有影响作用, 随着 Cu 和 Cd 处理浓度的增加, 东京野茉莉根系总有机酸的含量在增加, 但是不同类型的有机酸含量变化有差异。这些变化的差异可能的原因是植物根系为了更好地适应其周围的环境, 因此, Cu 和 Cd 胁迫下植物根系分泌物代谢作用对缓解重金属毒害效应具有重要意义。

基金项目

江西省自然科学基金项目(20132BAB214019); 江西省林业创新科技创新项目(201707)。

参考文献

- [1] 杨红, 黄焕忠, 周立祥, 等. 植物根系分泌物中有机酸的分析方法[J]. 分析测试学报, 2001, 20(4): 19-22.
- [2] 黄建凤, 吴昊. 植物根系分泌的有机酸及其作用[J]. 现代农业科技, 2008(20): 323-324.
- [3] 宋金凤, 崔晓阳. 森林土壤中低分子有机酸研究进展[J]. 林业科学, 2008, 44(6): 118-124.
- [4] 田鹏, 徐焯, 田靖, 等. 离子排斥色谱法测定啤酒中的有机酸[J]. 辽宁大学学报, 2001, 28(1): 77-79.
- [5] Herratz, T., Reglego, G. and Herratz, M. (1988) Gas Chromatographic Analysis of Free Carboxylic Acids in Food Using a Micro Packed column. *Food Chemistry*, **29**, 177-188. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(88\)90131-8](https://doi.org/10.1016/0308-8146(88)90131-8)
- [6] Clatk, T.J. and Bunch, J.E. (1997) Derivatization Solid-Phase Microextraction Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Determination of Organic Acids in Tobacco. *Journal of Chromatographic Science*, **35**, 209-212. <https://doi.org/10.1093/chromsci/35.5.209>
- [7] 李德华, 贺立源, 李建生, 等. 一种根系分泌物中有机酸的前处理和高效液相色谱检测方法[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(2): 219-222.
- [8] Qiu, J.S. (1999) Statistics Aided Optimization for High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Organic Acids in Tobacco. *Journal of Chromatography A*, **859**, 153-158. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)00886-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00886-9)
- [9] Ahonen-Jonnarh, U., Van Hees, P.A.W., Lundstrom, U.S. and Finlay, R.D. (2000) Organic Acids Produced by Mycorrhizal *Pinus sylvestris* Exposed to Elevated Aluminum and Heavy Metal Concentrations. *New Phytologist*, **146**, 557-567. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00653.x>
- [10] Heim, A., Brunner, I., Frey, B., Frossard, E. and Luster, J. (2001) Root Exudation, Organic Acids and Element Distribution in Roots of Norway Spruce Seedlings Treated with Aluminum in Hydroponics. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **164**, 519-526.
- [11] Lu, H.L., Yan, C.L. and Liu, J.C. (2007) Low-Molecular-Weight Organic Acids Exuded by Mangrove (*Kandelia candel* (L.) Druce) Roots and Their Effect on Cadmium Species Change in the Rhizosphere. *Environmental Botany*, **61**, 159-166. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.007>
- [12] 骆显春, 杨桦, 曾志光, 等. 东京野茉莉木材性质分析与利用[J]. 江西农业大学学报, 2007, 29(1): 77-80.
- [13] 黄小春, 林小凡, 朱培林, 等. 江西省平原造林绿化主要树种及栽培技术[M]. 南昌: 江西出版集团·江西科学技术出版社, 2008.