

两种培养方式下砷对大叶井口边草生理生化的影响

谷兆萍, 王 昕, 潘义宏, 王宏镔

(昆明理工大学环境科学与工程学院, 昆明 650093)

摘 要:分别采用水培和土培实验方法,研究了两种培养方式下砷对砷超富集植物大叶井口边草(*Pteris cretica* var. *nervosa*)生理生化的影响。将大叶井口边草分两组培养:一组置于 0、5、20、50 mgAs·L⁻¹ 含砷 Hoagland 营养液下,另一组置于 0、50、100 和 200 mg As·kg⁻¹ 土培条件下。培养 14 d 后,测定叶片光合色素、游离脯氨酸、可溶性糖含量、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性等指标。结果表明,砷胁迫导致大叶井口边草叶片叶绿素、游离脯氨酸和可溶性糖含量以及 POD、CAT、SOD 活性发生明显变化。随着砷浓度增加,无论水培和土培方式,相对于对照,叶绿素 a、a+b 含量均显著减少($P<0.05$),但叶绿素 a/b 无显著差异($P>0.05$),游离脯氨酸和可溶性糖含量显著增加($P<0.05$),CAT 活性显著降低($P<0.05$)。游离脯氨酸和可溶性糖对砷胁迫下大叶井口边草的砷耐性起了重要作用。

关键词:培养方式;砷;大叶井口边草(*Pteris cretica* var. *nervosa*);生理生化

中图分类号:X503.233 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)07-1254-07

Effects of Arsenic on Physiological and Biochemical Properties of *Pteris cretica* var. *nervosa* Under Two Culture Conditions

GU Zhao-ping, WANG Xin, PAN Yi-hong, WANG Hong-bin

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

Abstract: Effects of arsenic (As) on physiological and biochemical properties of *Pteris cretica* var. *nervosa*, an As hyperaccumulator, were evaluated under two culture conditions (hydroponic and pot trials). Seedlings of *Pteris cretica* var. *nervosa* were divided into two groups. One group was exposed to Hoagland nutrition solution containing 0, 5, 20 and 50 mgAs·L⁻¹. The other group was exposed to soil spiked with 0, 50, 100 and 200 mgAs·kg⁻¹. After 14 d, concentrations of photosynthetic pigments, free proline, soluble sugar and activities of peroxidase (POD), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in plant fronds were determined. Significant changes of the parameters mentioned above were observed under As treatments. Increased As concentrations under both culture conditions resulted in a significant decrease in chlorophyll a, a+b contents and CAT activity, an insignificant change in chlorophyll a/b, and a significant increase in free proline and soluble sugar contents. It was concluded that free proline and soluble sugar might play an important role in As tolerance of *Pteris cretica* var. *nervosa*.

Keywords: culture conditions; arsenic; *pteris cretica* var. *nervosa*; physiological and biochemical properties

砷是一种致癌、致畸、致突变的元素,其对水体和土壤的污染是国内外关注的重要问题之一^[1-3],利用对砷具有耐性或超富集特性的植物修复砷污染环境是当前的一大研究热点。目前,砷超富集植物蜈蚣草(*Pteris vittata*)已用于污染土壤和水体的植物修复。Huang 等^[4]运用蜈蚣草去除饮用水中的砷,结果表明

在 24 h 内,蜈蚣草能够将水中的砷浓度从 200 μg·L⁻¹ 降至 2.8 μg·L⁻¹。Chen 等^[5]成功地运用蜈蚣草修复砷污染土壤。继蜈蚣草之后,韦朝阳等^[6]通过对两个中国典型的砷矿区(炼砷区)土壤与植物的调查与分析,发现 10 余种植物对砷具有极强的耐性和不同程度的富集能力,其中大叶井口边草(*Pteris cretica* var. *nervosa*)是一种能超富集砷的植物。

野外研究结果表明,大叶井口边草地上部的平均含砷量为 418 mg·kg⁻¹ (干重,下同),最高可达 694 mg·kg⁻¹;根的平均含砷量为 293 mg·kg⁻¹,最高含砷量为 552 mg·kg⁻¹ (土壤含砷量为 111~299 mg·kg⁻¹,平均值为 168 mg·kg⁻¹)^[6]。大叶井口边草砷超富集特性的

收稿日期:2010-01-13

基金项目:国家自然科学基金(30600081);云南省应用基础研究计划项目(2006C0015Q);云南省教育厅科学研究基金重点项目(09Z0019)

作者简介:谷兆萍(1986—),女,河南商丘人,在读硕士,主要从事污染生态学和环境生物学研究。E-mail: guzhaopingai@163.com

通讯作者:王宏镔 E-mail: whb1974@126.com

发现进一步丰富了砷超富集植物种质资源库,为深入研究植物富集砷的机理提供了实验材料。Huang等^[7]运用同步辐射扩展X射线吸收精细结构(SR EXAFS)研究了大叶井口边草中砷的化学形态及其在植物体中的转化。结果表明,在大叶井口边草中砷主要与O配位,根部存在与谷胱甘肽(GSH)结合的砷,但是在羽叶中未发现这一现象。在 NaAsO_2 和 Na_2HAsO_4 处理中,植物根系的砷分别以As(Ⅲ)和As(V)为主,但在叶柄和羽叶中砷都以As(Ⅲ)为主。植物根系吸收的As(V)在向上转运的过程中具有向As(Ⅲ)转化的趋势,其转化过程主要发生在根部。聂灿军等^[8]研究不同热解气氛和升温速率下大叶井口边草的热解特征及其与砷含量的关系。在空气气氛条件和 $25\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的升温速率下,该植物的热解曲线特征明显且实验速度适中,热解温度主要集中在 $200\sim 500\text{ }^\circ\text{C}$ 之间。谢飞等^[9]采用室内水培试验方法,研究了砷胁迫对大叶井口边草和非砷超富集植物剑叶凤尾蕨(*Pteris ensiformis*)叶片的过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性以及丙二醛(MDA)含量和自由基 $\text{O}_2\cdot$ 产生速率的影响,结果表明大叶井口边草比剑叶凤尾蕨具有更强的抗氧化能力,并且POD在其抗氧化体系中起关键作用。

在实地修复中,水和土壤环境介质不同,在不同环境介质中生长的同种植物也会出现重金属吸收和生理生化等方面的差异。据报道,水培条件下高浓度磷抑制蜈蚣草对砷的吸收和富集^[10-12],相反,土培条件下磷却能促进蜈蚣草对砷的富集^[13-14]。大叶井口边草是与蜈蚣草同属的砷超富集植物,在不同环境介质中生长的大叶井口边草生理生化指标是否有变化,是将其用于砷污染土壤和水体修复必须要加以关注的问题。加之大叶井口边草在云南广为分布,生态适应性强,因此本研究运用水培和土培两种培养方式,研究了不同砷浓度处理下大叶井口边草叶片抗氧化酶、游离脯氨酸、光合色素和可溶性糖含量的变化,初步探索其逆境伤害和抗逆机制,重点考查不同培养方式下砷胁迫对大叶井口边草生理生化影响,为进一步研究砷超富集植物对不同环境介质抗逆的生理生化机制提供背景资料。

1 材料与方法

1.1 供试植物

大叶井口边草(*P. cretica* var. *nervosa*)采集于昆

明理工大学校园,用大量自来水洗净后,用1/10强度的Hoagland营养液进行适应性培养。3 d后选择生长良好、长势一致(5~6 cm高,带7~8片小叶)的幼苗进行砷处理实验。

1.2 实验处理

大叶井口边草的培养分两组,一组用营养液培养(水培),另一组用土壤盆栽(土培)。

1.2.1 水培实验

用1/10浓度的Hoagland营养液培养,将选好的大叶井口边草分别加入0(对照)、5、20和 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的含砷营养液培养(以 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 形式加入,砷离子浓度以纯砷计),各处理重复3次,每3 d更换一次营养液。整个培养实验在温室自然光照下完成,室温 $20\sim 25\text{ }^\circ\text{C}$ 。培养14 d后,采集叶片,用蒸馏水冲洗干净,然后用滤纸吸干植物表面水分,装入自封袋,放入冰箱中, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

1.2.2 土培实验

将选好的大叶井口边草,用自来水将叶片清洗干净,土培用土采用2份土壤(清洁土壤,风干后过100目筛)、1份沙土和1份腐殖土配制,分别加入0(对照)、50、100和 $200\text{ mgAs}\cdot\text{kg}^{-1}$ (以 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 形式加入,砷含量以纯砷计)和N、P、K营养元素(N: P_2O_5 : $\text{K}_2\text{O}=0.15:0.10:0.15\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土,干重)充分混合均匀,平衡2周后分装(每盆 0.6 kg),各处理重复3次。培养14 d后,采集叶片,用自来水、蒸馏水冲洗干净,然后用滤纸吸干表面,装入自封袋,放入冰箱冷冻层中, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

1.3 测定方法

光合色素含量测定采用乙醇浸提法^[15],游离脯氨酸含量的测定采用茆三酮比色法^[16],可溶性糖含量采用苯酚法^[17],过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法,过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用紫外分光光度法,超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用NBT光化还原法^[18-19]。

1.4 数据处理

实验结果用SPSS 14.0软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),并采用Tukey法进行多重比较。显著性差异水平 P 取0.05。

2 结果与分析

2.1 砷对叶片光合色素含量的影响

水培条件下,大叶井口边草叶片叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素含量如表1所示。从表1可知,低、

中、高砷浓度处理下叶绿素(a+b)和叶绿素 a 含量与对照相比,显著降低($P<0.05$)。类胡萝卜素也随着营养液中砷含量的增加而减少,但在 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷处理下没有显著差异($P>0.05$)。各个处理浓度下叶绿素 a/b 差异不显著($P>0.05$)。

另外,土培条件下对照处理($0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)的大叶井口边草,叶绿素(a+b)含量最高,加砷处理使叶绿素(a+b)含量显著下降($P<0.05$),但 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处理之间无显著差异($P>0.05$)。叶绿素 a 也随着土壤中砷含量的增加而显著减少,与对照相比降低显著($P<0.05$),但叶绿素 b、a/b 和类胡萝卜素的含量在不同含量砷处理下没有显著差异($P>0.05$)。

随着砷浓度(砷含量)的提高,叶绿素含量显著降低,特别是在砷处理浓度最高时,处理 14 d 后,叶片失绿、枯黄并生长萎缩。砷胁迫条件下叶绿素含量减少,表明砷对叶绿素的合成产生了抑制作用。

2.2 砷对叶片游离脯氨酸的影响

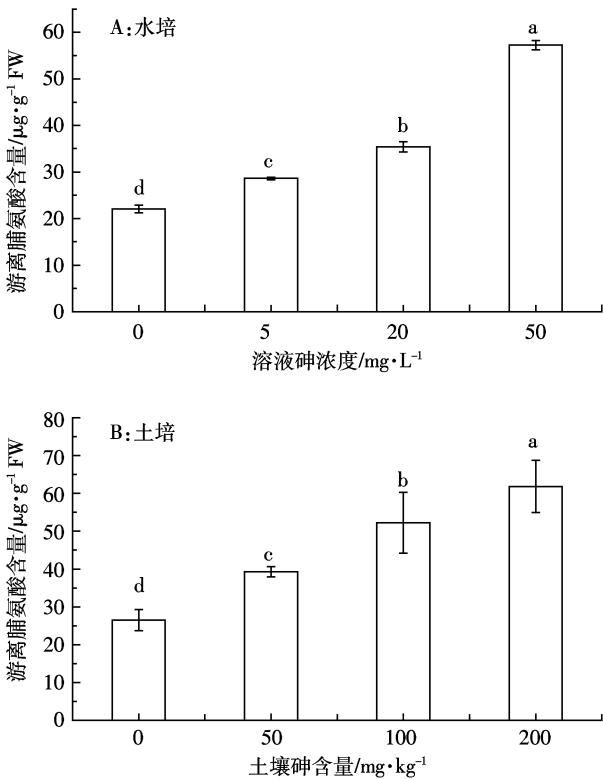
不同培养方式下大叶井口边草叶片游离脯氨酸含量如图 1 所示。从图 1A 可以看出,水培条件下,随着砷浓度的升高,大叶井口边草叶片中游离脯氨酸含量均呈显著升高的趋势($P<0.05$)。当砷浓度达到 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,游离脯氨酸含量达到最高。

从图 1B 可以看出,在土培条件下加砷处理,大叶井口边草叶片中的游离脯氨酸含量也均有显著积累($P<0.05$),这表明砷胁迫有利于游离脯氨酸的生成。本结果与水培情况一致。

2.3 砷对叶片可溶性糖含量的影响

不同培养方式下大叶井口边草叶片可溶性糖含量如图 2 所示。由图 2A 可见,水培条件下随着砷浓度升高,可溶性糖含量显著增加($P<0.05$)。

由图 2B 可知,土培条件下,低砷胁迫时,大叶井



图中小写字母表示 4 个砷处理浓度(含量)之间的关系,字母相同表示差异不显著($P>0.05$),字母不同表示差异显著($P<0.05$)。误差线表示标准差, $n=3$,下同。

图 1 不同培养条件下大叶井口边草叶片中游离脯氨酸含量
Figure 1 Free proline contents in fronds of *P. cretica* var. *nervosa* under different culture conditions

口边草叶片中的可溶性糖含量与对照相比无显著差异($P>0.05$)。但当砷胁迫加重时,可溶性糖含量持续显著增加($P<0.05$)。从总体上看,随着砷浓度(砷含量)的升高,可溶性糖的含量显著增加($P<0.05$)。

2.4 砷对 CAT 活性的影响

不同培养方式下大叶井口边草叶片 CAT 活性如

表 1 不同培养条件下大叶井口边草叶片中的光合色素含量								
Table 1 Photosynthetic pigment contents in fronds of <i>P. cretica</i> var. <i>nervosa</i> under different culture conditions								
测定指标	水培				土培			
	砷浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$				砷含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$			
	0	5	20	50	0	50	100	200
叶绿素 a/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	1.80±0.08a	1.53±0.03b	1.38±0.15bc	1.15±0.09c	2.19±0.20a	1.58±0.03b	1.51±0.06b	1.33±0.10b
叶绿素 b/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	0.58±0.01a	0.50±0.03ab	0.46±0.02bc	0.39±0.06c	0.55±0.38a	0.69±0.23a	0.81±0.02a	0.39±0.08a
叶绿素 a+b/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	3.57±0.10a	3.04±0.08b	2.75±0.23bc	2.31±0.22c	4.60±0.44a	3.40±0.30b	3.47±0.08b	2.59±0.10c
叶绿素 a/b	3.12±0.20a	3.10±0.18a	3.02±0.29a	2.99±0.26a	2.61±0.78a	2.51±0.90a	1.87±0.11a	3.48±0.85a
类胡萝卜素/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	0.37±0.03a	0.30±0.01b	0.25±0.02c	0.22±0.003c	0.26±0.10a	0.25±0.09a	0.18±0.02a	0.24±0.06a

注:表中同一行中,不同字母表示同一培养方式下(水培或土培)各砷处理浓度间存在显著差异($P<0.05$),相同字母则表示差异不显著($P>0.05$),表中数据以平均值±标准差表示, $n=3$ 。

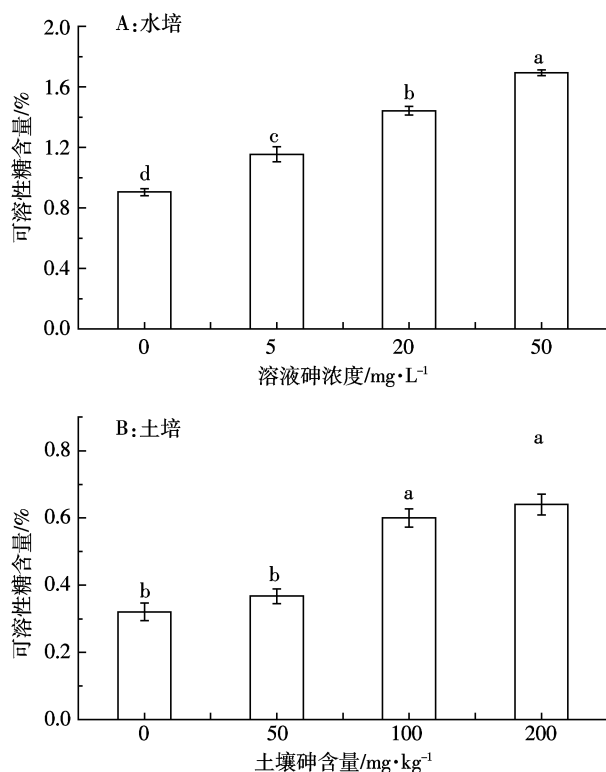


图2 不同培养条件下大叶井口边草叶片可溶性糖含量

Figure 2 Soluble sugar contents in fronds of *P. cretica* var. *nervosa* under different culture conditions

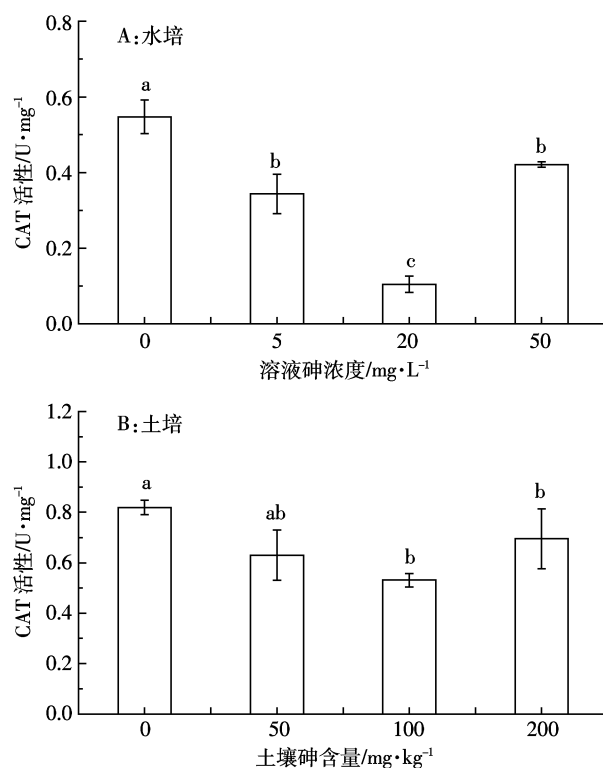


图3 不同培养条件下大叶井口边草叶片 CAT 活性

Figure 3 CAT activity in fronds of *P. cretica* var. *nervosa* under different culture conditions

图3所示。根据图3A可知,在水培条件下,CAT活性呈先降低后升高的规律。在低、中砷浓度胁迫下,CAT活性与对照相比显著降低($P<0.05$);高浓度砷胁迫下,CAT活性又有所回升,但并未回到与对照持平的水平。

从图3B可知,土培条件下,中、高含量砷胁迫下,CAT活性显著降低($P<0.05$),但不同砷处理浓度之间CAT活性未出现显著差异($P>0.05$)。

2.5 砷对 POD 活性的影响

不同培养方式下砷处理对大叶井口边草 POD 活性的影响如图4所示。从图4A可以看出,水培条件下,随砷浓度的升高,POD活性未出现显著差异($P>0.05$)。

从图4B可知,土培条件下,低砷处理对POD活性无显著影响($P>0.05$)。但与CAT类似,不同加砷处理之间没有显著差异($P>0.05$)。

2.6 砷对 SOD 活性的影响

不同培养方式下大叶井口边草叶片 SOD 活性如图5所示。由图5A可知,在 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷处理下与对照相比SOD活性无显著变化($P>0.05$)。但当砷浓度升至 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,SOD活性显著降低($P<0.05$);高砷

浓度下的大叶井口边草 SOD 活性又显著升高($P<0.05$),回到与对照持平的水平。

由图5B可以看出,土培条件下,随砷含量增加,SOD活性有显著增加,与对照相比差异显著($P<0.05$)。但中、低含量砷处理之间,SOD活性变化不显著($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 砷对大叶井口边草生理生化的影响

叶绿素和类胡萝卜素是影响植物光合速率的重要因素,植物体内的叶绿素水平可以作为衡量光合能力强弱的一个指标。本实验结果表明砷胁迫使大叶井口边草叶片叶绿素含量下降,可能是由于As进入植物体内使叶绿体酶活性失调,致使叶绿素分解加快。同时,由于As局部积累过多,与叶绿体中蛋白质巯基结合或取代其中 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 致使叶绿素蛋白中心离子组成发生变化而失活。这与Cu、As对小麦的生理生化影响是一致的^[20]。

脯氨酸是植物重要的渗透调节物质,它的积累有着对逆境适应的意义^[21]。因此脯氨酸含量的变化,可以作为反映植物对逆境胁迫的一种生理生化指标。本

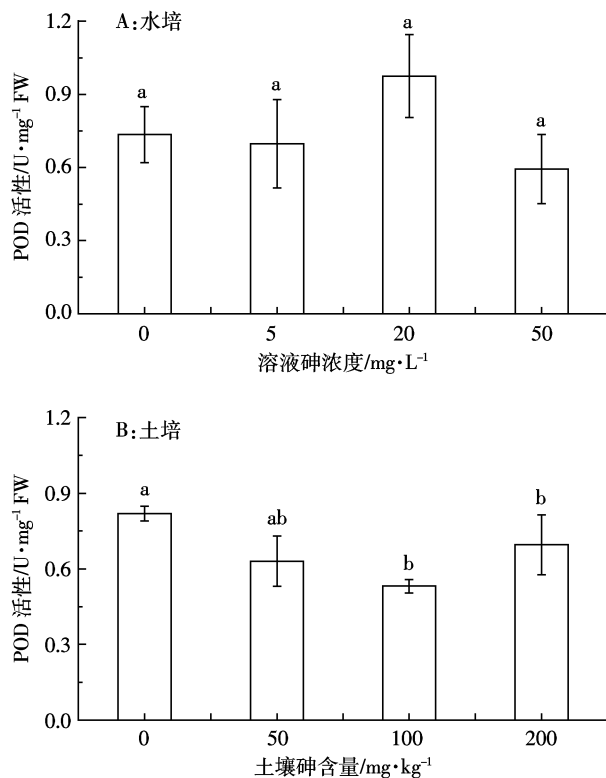


图4 不同培养条件下大叶井口边草叶片 POD 活性

Figure 4 POD activity in fronds of *P. cretica* var. *nervosa* under different culture conditions

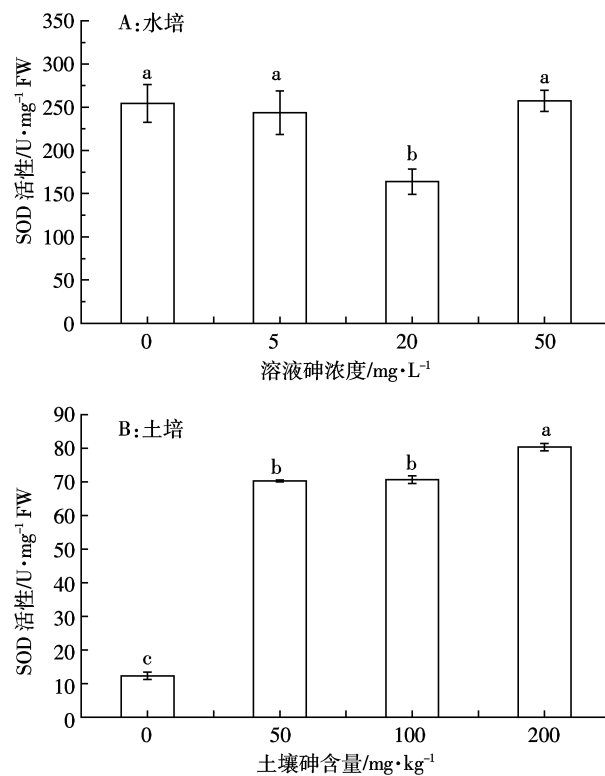


图5 不同培养条件下叶片 SOD 活性

Figure 5 SOD activity in fronds of *P. cretica* var. *nervosa* under different culture conditions

实验结果表明,可溶性糖及游离脯氨酸的含量均随着砷浓度的增加而增加,说明砷超富集植物能够积累渗透调节物质,减少膜伤害,适应外界环境变化,这与水稻、枸杞的相关研究结果一致^[22-24]。至于砷胁迫下大叶井口边草是否还有其他一些渗透调节物质,比如无机离子等在起着渗透调节的作用,这方面的研究有待于完善。

植物在逆境胁迫下,通常会产生高度反应性的氧自由基,引起生物膜的过氧化损伤,导致膜通透性增加,膜功能受损。相应地,植物体内也有一套复杂的活性氧清除系统来保护植物细胞免受活性氧的损伤。其中 SOD、POD 和 CAT 等是植物体内活性氧防御系统的 3 个重要保护酶,协同起保护作用。本实验结果显示,水培和土培条件下,CAT 活性相对于对照均有明显降低,这说明 CAT 对砷胁迫具有敏感性。高浓度(含量)砷胁迫均能够刺激 SOD 活性,使之显著升高。几种抗氧化酶通过相互协调,协同抗氧化,消除体内氧自由基,使酶系统免受破坏,促使植物生长。

3.2 水培和土培对大叶井口边草影响的差异

土培和水培是植物生理学研究两种重要的方法,两种方法各有利弊,比如在水培条件下营养液中

养分的形态、种类、浓度、供应时间均由人工控制,这在土培实验中是难以做到的,但营养液的缓冲性能力小;土培实验是一种更接近于自然条件的生物试验方法,但很难单独研究某个对植物生长发育起作用的因子^[25]。

本研究结果表明,土培条件下砷含量较低时,叶绿素 a 含量便低于对照,当砷含量为 100、200 mg·kg⁻¹ 时,叶绿素 a 的含量与低浓度相比无显著差异,但叶绿素 b 和类胡萝卜素含量在各处理间均无显著差异 ($P>0.05$),叶绿素 a+b 含量随砷含量升高而显著降低,但中、低砷处理下没有显著变化。总体看来,土培条件下叶绿素含量的变化没有水培条件下显著。相对于水培,土培条件下可溶性糖含量的变化也较为缓和,低砷处理和对照、中度和高砷处理之间,差异不显著 ($P>0.05$)。这可能是由于栽培在土壤中的植物对砷的吸收具有缓冲性,通过土壤中真菌、细菌、酶等的反应释放出营养物质后而缓慢吸收的,或者可能是因为土壤中的某些基团吸附在砷离子上,减少了砷的生物可利用态,进而减少砷对植物体的胁迫。

Cao 等^[26]在土培条件下研究了砷胁迫下蜈蚣草的抗氧化反应机制。结果表明砷含量不大于 20 mg·kg⁻¹

条件, 砷能提高 CAT、POD、SOD 活性, 但砷含量超过 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 酶活性没有明显变化。Srivastava 等^[27]和 Liu 等^[28]研究表明, 水培条件下高浓度砷促使 CAT 和 SOD 活性的升高, 作为蜈蚣草解毒机制之一。本研究得出水培和土培条件下, 砷胁迫使 CAT 活性相对于对照均有明显降低, CAT 对砷的存在有敏感反应。土培条件下 CAT 活性变化要比水培缓和。水培条件下 POD 活性没有明显变化, 这与谢飞等^[9]的研究结果有所不同, 可能因为培养时间不同所致。谢飞等^[9]在 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 砷处理下培养 21 d 后 POD 活性才显著增加, 本实验全部实验时间只有 14 d, 因此培养时间对酶活性有很大影响。土培条件下低含量的砷促使 SOD 活性升高, 但中含量相对于低含量没有明显变化, 而水培条件下中浓度明显降低 SOD 活性, 但高浓度下 SOD 活性显著升高。这也许是由于水培条件下砷胁迫促使植物活性氧自由基增多, 由于活性氧自由基的过多积累已经使 POD、CAT 的产生机制和部分细胞功能受到损伤, 降低了 POD、CAT 的活性, 而且不同酶对活性氧自由基的耐受临界点不同, 所以不同培养条件下 POD、CAT 和 SOD 的变化规律和应激措施不同。大叶井口边草属于陆生植物, 改陆生环境为水生环境, 对其生长有直接影响, 这也可能是各生理指标在水培条件下比在土培条件变化明显的原因之一。

4 结论

无论水培和土培方式, 加砷处理使大叶井口边草叶绿素 a、a+b 含量均比对照显著减少, 但叶绿素 a/b 无显著差异; 游离脯氨酸和可溶性糖含量则显著增加, CAT 活性显著降低。游离脯氨酸和可溶性糖对砷胁迫下大叶井口边草的砷耐性起了重要作用。

参考文献:

- [1] Nriagu J O. Arsenic in the environment. Part II: Human health and ecosystem effects[M]. New York: John Wiley & Sons, Inc, 1994.
- [2] 张 岚, 陈昌杰. 我国高砷饮水的地理分布与暴露人群[J]. 卫生研究, 1997, 26(5): 310-313.
ZHANG Lan, CHEN Chang-jie. Geographic distribution and exposure population of drinking water with high concentration of arsenic in China [J]. *Journal of Hygiene Research*, 1997, 26(5): 310-313.
- [3] Smith A H, Lingas E O, Rahman M. Contamination by drinking water in Bangladesh: A public health emergency[J]. *Bulletin of World Health Organization*, 2000, 78: 1093-1103.
- [4] Huang J W, Poynton C Y, Kochian L V, et al. Phytofiltration of arsenic from drinking water using arsenic hyperaccumulating ferns[J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38: 3412-3417.
- [5] Chen T B, Liao X Y, Huang Z C, et al. Phytoremediation of As-contaminated soil in China[M]//Willey N (Ed). *Phytoremediation: Methods and Reviews*. Humana Press, 2007: 393-404.
- [6] 韦朝阳, 陈同斌, 黄泽春, 等. 大叶井口边草——一种新发现的富集砷的植物[J]. 生态学报, 2002, 22(5): 777-778.
WEI Chao-yang, CHEN Tong-bin, HUANG Ze-chun, et al. Cretan brake (*Pteris cretica* L.): An arsenic-accumulating plant[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(5): 777-778.
- [7] HUANG Ze-chun, CHEN Tong-bin, LEI Mei, et al. EXAFS study on arsenic species and transformation in arsenic hyperaccumulator[J]. *Science in China (Series C)*, 2004, 47: 124-129.
- [8] 聂灿军, 阎秀兰, 陈同斌, 等. 砷超富集植物的热解特征及其与砷含量的关系[J]. 环境科学学报, 2007, 27(5): 721-726.
NIE Can-jun, YAN Xiu-lan, CHEN Tong-bin, et al. Pyrolysis characteristic of arsenic hyperaccumulators and its relation to arsenic content[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, 27(5): 721-726.
- [9] 谢 飞, 王宏斌, 王海娟, 等. 砷胁迫对不同砷富集能力植物叶片抗氧化酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(7): 1379-1385.
XIE Fei, WANG Hong-bin, WANG Hai-juan, et al. Effects of arsenic stress on activities of antioxidant enzymes in the fronds of plants with different abilities to accumulate arsenic[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(7): 1379-1385.
- [10] Wang J R, Zhao F J, Meharg A A, et al. Mechanism of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata* L.: Uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation[J]. *Plant Physiology*, 2002, 130: 1552-1561.
- [11] Tu S, Ma L Q. Interactive effects of pH, arsenic and phosphorus on uptake of As and P and growth of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. under hydroponic conditions[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2003, 50: 243-251.
- [12] 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: 121-131.
- [13] Chen T B, Fan Z L, Lei M, et al. Effect of phosphorus on arsenic accumulation in As-hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its implication[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2002, 47: 1876-1879.
- [14] Cao X, Ma L Q, Shiralipour A. Effects of compost and phosphate amendments on arsenic mobility in soils and arsenic uptake by the hyperaccumulator *Pteris vittata* L.[J]. *Environmental Pollution*, 2003, 126: 157-167.
- [15] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*[J]. *Plant Physiology*, 1949, 24: 1-15.
- [16] 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离氨基酸含量的方法[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(4): 62-55.
ZHANG Dian-zhong, WANG Pei-hong, ZHAO Hui-xian. Method for free proline determination in leaves of wheat[J]. *Plant Physiology Communication*, 1990, 26(4): 62-55.
- [17] 中国科学院上海植物生理研究所和上海市植物生理学会编. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sci-

- ences, the Shanghai Society for Plant Physiology. Experimental guideline for modern plant physiology[M]. Beijing: Science Press, 1999.
- [18] 程建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2006.
- CHENG Jian-xun, WANG Xiao-feng. Experimental guideline for plant physiology[M]. Guangzhou: South China University Technology Press, 2006.
- [19] 郝建军, 康宗利, 于洋. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- HAO Jian-jun, KANG Zong-li, YU Yang. Experimental technologies for plant physiology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [20] 王友保, 刘登义. Cu^{2+} 、As 及其复合污染对小麦生理生态指标的影响[J]. 应用生态学报, 2001, 12(5): 773-776.
- WANG You-bao, LIU Deng-yi. Effect of Cu, As and their combination pollution on ecophysiological index of wheat[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(5): 773-776.
- [21] 彭志红, 彭克勤, 胡家金, 等. 渗透胁迫下植物脯氨酸积累的研究进展[J]. 中国农学通报, 2002, 18(4): 80-83.
- PENG Zhi-hong, PENG Ke-qin, HU Jia-jin, et al. Research progress on accumulation of proline under osmotic stress in plants[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2002, 18(4): 80-83.
- [22] 高大翔, 郝建朝, 李子芳, 等. 汞胁迫对水稻生长及幼苗生理生化的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(1): 58-61.
- GAO Da-xiang, HAO Jian-chao, LI Zi-fang, et al. Effects of Hg stress on growth and physiological and biochemical characteristics of rice seedlings[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(1): 58-61.
- [23] 毛桂莲, 许兴, 杨涓. NaCl 和 Na_2CO_3 对枸杞的胁迫效应[J]. 干旱地区农业研究, 2004, 22(2): 100-104.
- MAO Gui-lian, XU Xing, YANG Juan. Stress effect of NaCl and Na_2CO_3 on medlar (*Lycium bararum* L.) seedlings[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2004, 22(2): 100-104.
- [24] 郑国琦, 许兴, 邓西平, 等. 盐分和水胁迫对枸杞幼苗渗透调节效应的研究[J]. 干旱地区农业研究, 2002, 20(2): 56-59.
- ZHENG Guo-qi, XU Xing, DENG Xi-ping, et al. Effects of salt and water stresses on osmotic adjustment of *Lycium barbarum* seedlings[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2002, 20(2): 56-59.
- [25] 毛达如. 植物营养研究方法[M]. 第2版. 北京: 中国农业大学出版社, 2005: 8-13.
- MAO Da-ru. Methods for plant nutrition research[M]. Second edition. Beijing: China Agricultural University Press, 2005: 8-13.
- [26] Cao X, Ma L Q, Tu C. Antioxidative responses to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.) [J]. *Environmental Pollution*, 2004, 128: 317-325.
- [27] Srivastava M, Ma L Q, Singh N, et al. Antioxidant responses of hyperaccumulator and sensitive fern species to arsenic[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56: 1335-1342.
- [28] Liu Y, Wang H B, Wong M H, et al. The role of arsenate reductase and superoxide dismutase in As accumulation in four *Pteris* species [J]. *Environment International*, 2009, 35: 491-495.