

提高供磷可缓解砷对番茄的胁迫作用*

王 萍 胡 江 冉 炜 徐国华[†]

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘 要 环境和食品中砷标准提高后, 砷污染及其有关的食物安全问题更加受到广泛的关注。磷对植物吸收和累积砷的影响及其作用机制仍有很大争论。本文利用水培试验, 研究了 0.025~1.0 mmol L⁻¹ 范围内 7 个供磷水平下 50 μmol L⁻¹ AsO₄³⁻ 胁迫对微型番茄生长、砷和磷的吸收及两个磷酸盐转运体基因 (*LpPT1* 和 *LpPT2*) 表达的影响。在 0.025~0.4 mmol L⁻¹ 的缺磷条件下, 砷对番茄的生长有明显抑制作用。在缺磷状态下, 增加磷供应能显著减少番茄体内砷的浓度。约 58% 的砷累积在番茄根部, 根部砷的浓度较地上部高 10 倍以上。砷抑制番茄对磷的吸收只出现在严重缺磷 (0.025~0.05 mmol L⁻¹) 条件下。此外, 外界砷的存在对 *LpPT1*、*LpPT2* 基因的表达影响不显著。从本文的结果来看, 番茄吸收过程中的磷砷相互作用在缺磷条件下更明显, 提高供磷水平可降低番茄体内砷含量, 缓解砷对番茄的胁迫作用。

关键词 磷酸盐; 磷转运体基因; 砷酸盐; 吸收; 胁迫; 番茄

中图分类号 S181 文献标识码 A

砷 (Arsenic, As) 是自然界中普遍存在的一种有毒元素, 是农药、医药和日用化工等的重要原料。由于人类活动和地质条件的影响, 砷中毒事件时有发生, 特别是在孟加拉和印度两国, 有将近 1 亿人生活在砷污染区域, 大面积的农田土壤因高砷水灌溉遭到污染, 粮食作物中砷超标问题严重^[1~3], 我国某些地区的土壤砷污染问题也相当突出^[4], 严重影响了人民的生活质量, 特别当砷的环境标准提高后^[5], 研究土壤环境与植物系统之间砷迁移转化关系的需要极其迫切。

磷和砷在元素周期表中是同属于第五主族的元素, 它们有着相似的电子层结构, 并且在自然界中能形成形态相似的磷酸盐 (PO₄³⁻) 和砷酸盐 (AsO₄³⁻)。国内外许多研究均表明, 砷可能是通过竞争磷酸盐的转运蛋白而进入植物体内的, 磷砷在植物吸收转运过程中往往表现出拮抗效应^[6~11], 但是, 也有研究表明, 磷的加入可以增加植物对于砷的吸收从而加重砷的毒害^[12]。因此, 磷对植物吸收砷有复杂的影响。不同供磷水平对植物吸收和累积砷特征仍不明确, 在砷存在下磷转运蛋白表达模式是否有变化, 也未曾有报道。弄清植物吸收磷和砷的交互作用,

对于提高作物品质和利用植物修复砷污染都具有重要的理论和实践意义。本文采用生长速度快、生物量较大、目前正在进行全基因组测序工作, 并且极有可能通过生物工程改造而成为超累积植物的番茄作为研究对象^[13], 研究了不同供磷水平下番茄对砷的吸收和累积效应及外源砷对番茄植株体内磷酸盐转运蛋白基因表达的影响。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验用番茄 (*Solanum Lycopersicum* L.) 品种为 Micro tom 微型番茄, 由以色列国家农业研究中心 (ARO) 提供。该品种因生长快, 生物量小, 便于管理, 已经被建议作为茄科植物中重要的模型品种^[14]。

1.2 实验设计

番茄生长在人工温室进行, 生长条件为光周期为白天 14 h, 温度为 28 °C, 光强 100~200 W m⁻²; 晚上 10 h, 温度为 16 °C。种子经 10% H₂O₂ 消毒 30 min 后置于恒温气候培养箱 (14 h/10 h, 30 °C/20 °C)。出

* 国家自然科学基金项目 (批准号 30471037)、江苏省基础研究计划 (批准号 BK2005089) 和高等学校博士学科点专项科研基金 (20040307037) 资助

[†] 通讯作者, 电话: 025 84396246; Email: ghxu@njau.edu.cn

作者简介: 王 萍 (1981~), 女, 硕士研究生, 主要从事植物营养分子生物学方面研究

收稿日期: 2006-11-22; 收到修改稿日期: 2007-03-22

芽后移到蛭石中,小苗展开两片真叶后,用 1/2 霍格兰营养液培养 7 d,转置含磷为 0.5 mmol L^{-1} (pH 5.5) 的营养液培养 15 d,使番茄植株具有一定的抗逆性,然后磷饥饿 7 d 后,选取生长一致的苗,分别用 0.025 、 0.05 、 0.1 、 0.2 、 0.4 、 0.6 和 1.0 mmol L^{-1} 7 个水平磷 (KH_2PO_4) 浓度和 0 与 $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ 2 个水平砷 ($\text{Na}_3\text{AsO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 浓度互作的营养液进行处理,其中钾浓度用 KCl 平衡。每天上午 9:00~11:00 更换营养液,培养 15 d 后采样分析测定,并取一部分样品冻存备用。试验共 14 个 (7×2) 处理,每个处理的 5 株苗分别采样分析测定。

1.3 测定方法

1.3.1 生物量 将植株从营养液中取出,自来水冲洗干净后,用剪刀将根系和地上部分分开,再用超纯水进一步清洗。吸水纸吸干其表面水分,分别称鲜重。样品经 105°C 杀青 30 min 后, 70°C 下烘干 72 h,称量干物质(精确至 0.0001 g)。

1.3.2 植株全磷含量 样品通过 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消煮后,用钼蓝比色法分别测定植株地上部和地下部的全磷含量。

1.3.3 植株砷含量 样品经 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (4:1 v/v) 在不超过 180°C (防止砷挥发) 条件下消煮后,采用 AF 600 系列原子荧光光谱仪分析法测定砷含量。砷标准物质编号为 GBW07604。

1.3.4 植株总 RNA 的制备和 PCR 扩增 取冻存样品 100 mg,液氮匀浆后加入 Trizol 试剂 1 ml,加入 0.2 ml 氯仿,离心后吸取上清液,加入 0.5 ml 异丙醇,离心沉淀后弃上清液,再用 70% 乙醇洗沉淀,用 DNaseI 酶解可能残余的基因组 DNA。RNA 溶于 DEPC (焦碳酸二乙酯) 水,用凝胶电泳法和分光光度计法检测其浓度和纯度。

根据已发表的番茄的磷酸盐转运蛋白基因 *LePT1* 的 mRNA 序列 (AF022873, Y14214) 和 *LePT2* 的 mRNA 序列 (AF022874),用 Primer5.0 软件设计引物,同时设计 Actin 基因引物,以作为内参之用(见表 1,引物由上海博亚生物技术有限公司合成)。

不同处理的番茄地上部和地下部的总 RNA 独立样品以 Oligo(dT) 为引物,在 AMV RTase 催化下进行反转录合成,以获得的反转录 cDNA 为模板,按照合成引物单的条件对各基因进行 PCR 扩增。扩增条件分别是: *Actin* 基因为 94°C 变性 40 s, 50°C 退火 30 s, 72°C 延伸 15 s; *LePT1* 和 *LePT2* 基因均为 94°C 变性 40 s, 52°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s,各基因扩增的循环数均为 30。

表 1 实验中所用到的引物序列

Table 1 Primers used for RP-PCR amplification

基因 Gene	引物方向 Primer direction	引物序列 Primer sequence
<i>LePT1</i>	正向 Forward	TGAACAGCATACCGAGGA
	反向 Reverse	GGCTGGCTTGGAGATAAA
<i>LePT2</i>	正向 Forward	GCATTGATACAGCCTAGAAC
	反向 Reverse	GCTGATTACCCITTTGTCC
Actin	正向 Forward	TTCCGTTGCCAGAGGTCTCT
	反向 Reverse	TCGCCCTTTGAAATCCACATC

1.4 数据处理

数据统计利用 SAS9.0 软件进行方差分析和 Fisher's 显著性检验 (LSD), 比较不同处理间在 $p < 0.01$ 的显著性水平。

2 结果与分析

2.1 砷胁迫下不同磷水平对番茄植株生物量的影响

由图 1 可以看出,提高磷浓度能明显缓解砷对番茄生长的影响。在无砷条件下(对照组),随着磷浓度水平的不断增高,番茄植株地上部(图 1A)和地下部(图 1B)的生物量(鲜重)均呈现出明显的上升趋势,随着磷水平增加到 0.6 mmol L^{-1} 后保持在一定的生物量水平而不变,表明 0.6 mmol L^{-1} 以上的供磷水平能够满足番茄生长对磷的需求,而 $0.025\sim 0.4 \text{ mmol L}^{-1}$ 磷水平范围内,番茄生物量对施磷显著响应,为磷供应不足或缺磷状态。在 $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ 砷处理中,各个磷水平下的番茄生物量均不同程度的低于无砷对照,表明 $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ 的砷浓度对番茄有一定的毒害作用,显著地抑制了植株的生长发育。在 $0.025 \text{ mmol L}^{-1}$ 的低水平磷浓度下,砷显著降低了植株地下部和地上部的生物量;随着磷水平的不断提高,砷处理组植株地上部和地下部的生物量也呈现出一致的上升趋势。但与无砷的对照组相比,地上部在 $0.025\sim 0.4 \text{ mmol L}^{-1}$ 磷水平范围内,处理组生物量显著下降,且下降的幅度随磷水平的增加而降低;而地下部在大于 0.05 mmol L^{-1} 磷水平处理下,生物量与对照组没有显著差异;表明番茄地上部比地下部对砷更加敏感。当磷浓度上升到 0.6 mmol L^{-1} 甚至更高浓度时,处理组的地上部生物量与对照组无显著差异,此时地上部和地下部生物量也均达到最高,表明磷浓度增加能够缓解 $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ 砷对于番茄的毒害作用。此外,从根冠比(为节省篇

幅,数据未列出)来看,有砷酸盐存在的处理组的根冠比,均在不同程度上大于无砷酸盐存在的对照处理组,增幅在 2.35% ~ 25.55% 之间,这表明砷对番

茄植株地上部的抑制作用大于根系,即番茄植株根系更能耐受砷的毒害,也说明砷进入植物体内后,会对整个植株的生长产生影响。

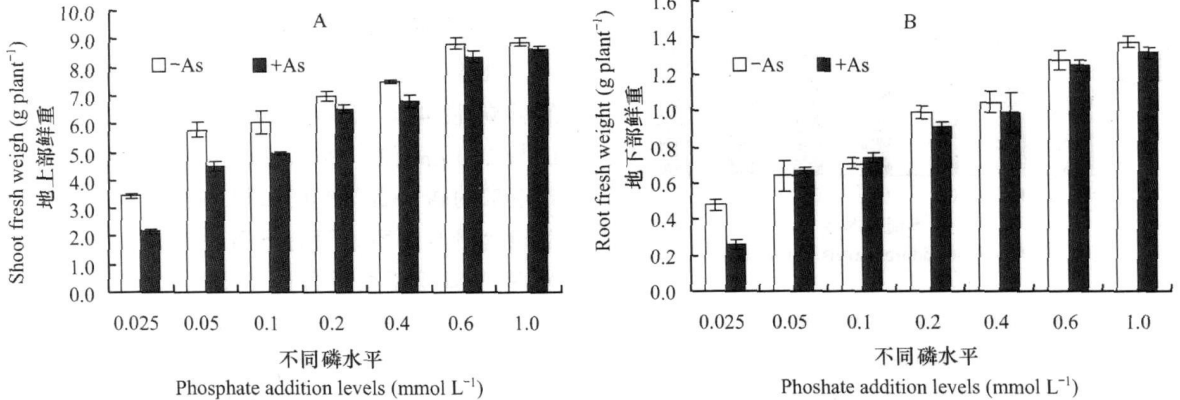


图1 不同磷水平下有无外源砷酸盐对番茄地上部(A)和根系(B)生物量的影响

Fig. 1 Fresh biomass weight of shoots (A) and roots (B) in relation to phosphate levels with or without addition of arsenate

2.2 不同磷水平对番茄植株砷的吸收的影响

不同供磷水平下, 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 砷处理组番茄植株地上部和地下部总砷的含量见图 2。植株地上部(图 2A)和地下部(图 2B)砷的含量的变化趋势一致,均随着外界供磷浓度的升高而不断降低,外界磷浓度和番茄总砷含量呈显著的负相关,地上部和地下部的相关系数 r^2 的值分别为 0.947 2 和 0.964 4。表明外界的磷浓度的增加能明显的抑制植株地上部

和根系中砷的含量,磷对植株砷的吸收有明显的拮抗作用。由图 2 还可以看出,植株所吸收的砷主要集中在地下部,其含量是地上部砷含量的 10 倍以上,番茄植株体内地上部和地下部砷含量的比值(即砷在植株体内的转运系数)变化不明显,平均为 0.1,表明了通过根系吸收的砷在番茄植株体内得不到很好的运输和分配。

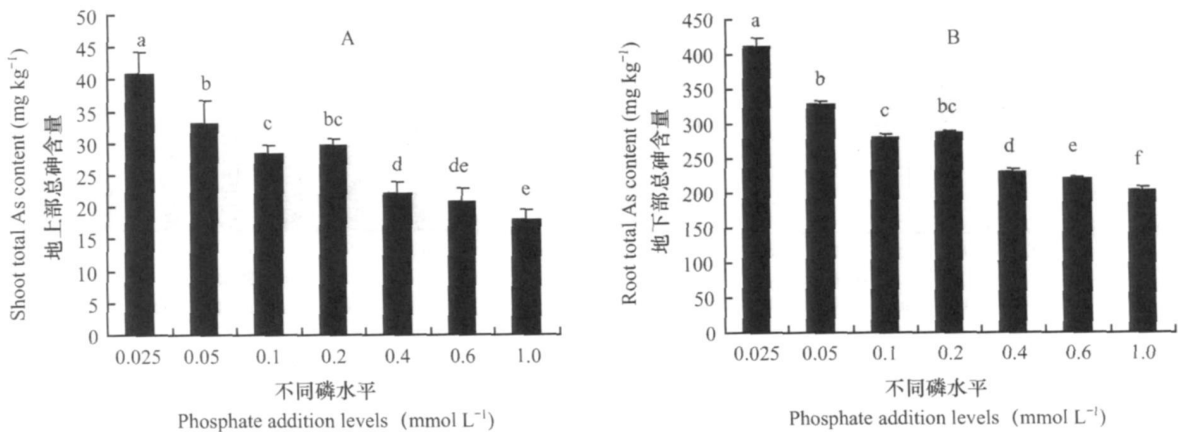


图2 不同磷水平对番茄地上部(A)和根系(B)砷含量的影响

Fig. 2 As contents of shoots (A) and roots (B) in relation to phosphate levels with addition of 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ arsenate

2.3 不同磷水平对番茄植株砷累积能力的影响

番茄整个植株体内总砷的累积量随着加入的磷水平有很密切的关系(图 3)。磷水平不同,植物生长和体内砷含量也不同。随着磷水平由低浓度增加到 0.2 mmol L^{-1} 时,虽然植株体内无论是地上部还

是地下部的砷浓度有所降低(图 2),但是由于植株的生物量的显著增加(图 1),其植株累积的砷总量还是呈现不断升高的趋势,且均达到极显著的水平,说明在磷供应不足的情况下,砷在番茄植株体内的积累主要是由于增加磷供应后生物量提高引起的。

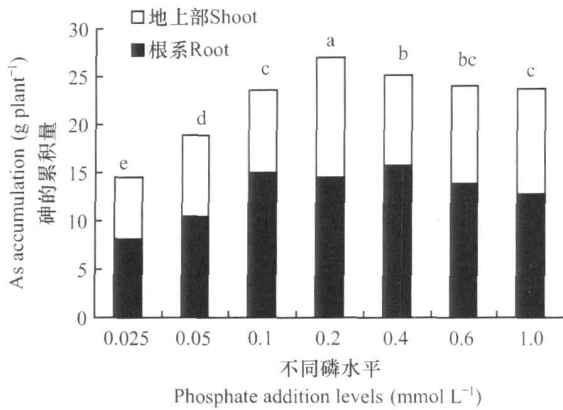


图3 不同磷水平下番茄植株体内累积砷的状况

Fig. 3 As accumulations in tomato in relation to phosphate levels with addition of $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ arsenate

在环境中磷浓度为 0.2 mmol L^{-1} 的水平时, 砷的累积量达最高为 $26.96 \mu\text{g plant}^{-1}$ 。同时, 当磷水平达到 0.4 mmol L^{-1} 以上时, 番茄植株对于砷的累积量也会显著降低, 这主要是由于增加供磷显著抑制植株体内的砷浓度(图2)而引起的。由图3也可以初步推测, 当外界环境中磷砷的浓度达到某一固定比值时, 植株对于砷的累积量具有最高的水平, 这对于砷超累积植物的研究有很重要的意义, 然而这种推测还有待于进一步证实。累积的砷主要分布在地下

部, 约占全株吸收总量的 58%, 不同磷水平下地下部与地上部砷累积量的比例没有显著差异。由于不同磷水平下, 砷的转运系数也没有显著差异, 因此磷水平对砷从地下部向地上部转运的影响可能不大。

2.4 外源砷对番茄磷吸收的影响

外源砷的存在对番茄植株全磷含量有一定程度的影响(图4)。当缺磷较严重时 ($0.025 \sim 0.05 \text{ mmol L}^{-1}$), $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ 外源砷的存在显著地降低了番茄地下部的磷含量(图4B), 但在较高磷水平下, 地下部磷含量与对照组没有显著差异, 并且不同磷水平处理间, 地下部的磷含量也没有明显变化, 甚至还出现加砷处理比对照还高的现象, 表明只有在严重缺磷的条件下, 砷才会显著降低番茄地下部磷含量。就番茄地上部的磷含量而言(图4A), 砷显著降低番茄地上部磷含量的现象也只出现在严重缺磷条件下, 在其他供磷条件下砷处理组与对照组间没有显著差异。但在缺磷条件下, 砷处理组与对照组地上部磷含量均随施磷水平的提高而显著增加, 当供磷水平提高到一定程度时, 由于植株对磷的选择性吸收, 地上部的磷含量没有明显变化。本试验表明, 在一定的供磷水平下, 砷对植物体内磷的含量没有显著影响, 也就是说只有在严重缺磷条件下砷对番茄植株磷含量才有影响。

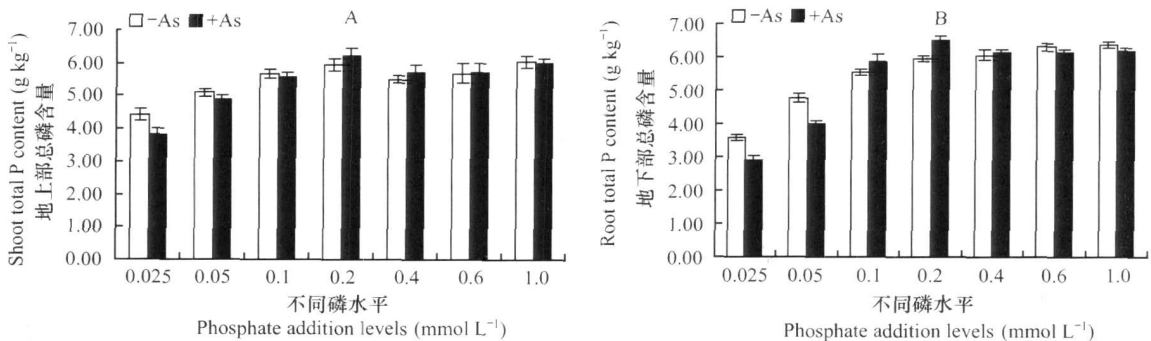


图4 不同磷水平下外源砷对番茄地上部(A)和根系(B)磷含量的影响

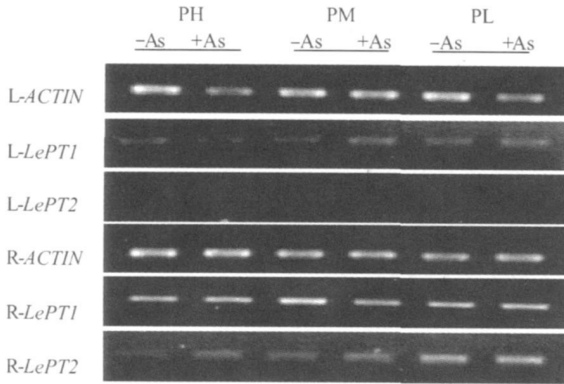
Fig. 4 Total P contents of tomato shoots (A) and roots (B) in relation to phosphate levels with or without addition of arsenate

2.5 不同磷水平下砷对磷酸盐转运蛋白基因表达模式的影响

为了进一步了解外源砷对番茄磷吸收的影响及磷酸盐转运蛋白在外源砷胁迫下的变化情况, 测定了加砷处理与不加砷对照植株的两种已知的磷酸盐转运蛋白基因的表达模式。在高磷 (1.0 mmol L^{-1})、中磷 (0.2 mmol L^{-1}) 和低磷 ($0.025 \text{ mmol L}^{-1}$) 水平下, 有外源砷和无外源砷时番茄植株体内的磷酸盐转运

蛋白基因的表达模式见图5。虽然 $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ 外源砷对番茄生长有胁迫作用(图1), 但在低磷 (PL) 和中磷 (PM) 供应水平下, 外源砷的胁迫均不影响植株体内两个磷酸盐转运蛋白基因 *LePT1* 和 *LePT2* 的表达模式。只有在高磷 (PH) 条件下, 加砷增强番茄根系 *LePT2* 的表达(图5)。在低磷条件下, 与高磷和中磷供应相比, 砷处理与对照间 *LePT1* 和 *LePT2* 基因均出现增强表达, 与过去已经报道的一

致,是植物对缺磷的正常反应^[15, 16]。随着供磷浓度的提高,其表达减弱,表明磷酸盐转运蛋白基因 *LePT1* 和 *LePT2* 的表达主要取决于磷素的供应状况。因此,推测砷对缺磷条件下植株磷含量的影响(图 4)是砷进入植株体内后对植株生长的影响(图 1)而产生的,当供磷水平提高后,砷对番茄的毒害及其产生的影响不断变弱。



PH 表示 1 mmol L^{-1} 的高磷水平; PM 表示 0.2 mmol L^{-1} 的中磷水平; PL 表示 $0.025 \text{ mmol L}^{-1}$ 的低磷水平。- As 表示不加砷的处理; + As 表示加砷的处理。L 表示叶片; R 表示根系 PH stands for high phosphate level (1 mmol L^{-1}); PM for middle phosphate level (0.2 mmol L^{-1}); PL for low phosphate level ($0.025 \text{ mmol L}^{-1}$). - As for treatments without arsenate; + As for treatments with arsenate. L for leaf; R for root

图 5 不同磷水平下外源砷对磷酸盐转运蛋白基因表达的影响

Fig 5 Expression of phosphate transporters in relation to phosphate levels with external arsenate

3 讨论

砷是对植物有害的元素,植物对砷的耐性因种类甚至品种的不同而有较大差异, Gumaelius 等^[17]的研究表明,同一种蕨类植物 (*Pteris vittata*) 的超积累配子体可在 2 mmol L^{-1} 的砷酸盐培养液中生长,而它的非超积累配子体在 0.1 mmol L^{-1} 的砷酸盐培养液中就会死亡。因此在砷对植物生长影响的研究中,确定植物对砷的耐受范围十分重要。本研究显示了 $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ 砷对番茄生长有胁迫作用,该结果为今后进行相关研究打下了基础。

磷是植物必需的大量营养元素,是植物体内核酸、磷脂和 ATP 的重要组成成分,作为能量转移的物质担负着活化体内蛋白质,调控体内的整个代谢的功能^[18]。本研究根据番茄植株生物量对磷供应的响应,明确了番茄在水培系统中生长的磷缺乏 ($\leq 0.4 \text{ mmol L}^{-1}$) 和磷充足 ($\geq 0.6 \text{ mmol L}^{-1}$) 状态。

从不同供磷水平下砷对番茄植株地上部和地下部生物量的测定中发现,砷对地上部生物量的抑制作用大于根系,说明一旦砷进入植物体后,就会对整个植株的生长产生影响。番茄体内累积的砷地下部占到 58%,番茄砷的转运系数随磷浓度变化不显著,在 0.1 左右,无论是在低磷还是在高磷水平下,这两个比例均没有显著变化。该结果与 Geng 等的报道不同^[19],他们的研究表明,在低于 0.3 mmol L^{-1} 供磷水平下,随着供磷水平的提高,砷由水稻苗地下部向地上部转运的数量增加,转运系数变化在 0.05~ 0.2 之间。因此通过根系吸收的砷向地上部的转运作用在不同植物间存在较大的差异。

就砷对番茄吸收磷的影响而言,外源砷的存在仅在低磷浓度时才显著降低植株体对于磷素的吸收,在外界磷浓度偏高时无影响。廖晓勇等通过砂培实验曾发现,砷能够限制蜈蚣草根对磷的吸收,但并不影响蜈蚣草地上部磷的浓度^[20]。但是 Tu 和 Ma 在土培实验中发现蜈蚣草地上部磷的浓度均高于不添加砷的对照^[21],后来又通过水培实验发现,当溶液中的砷的浓度不超过 $334 \mu\text{mol L}^{-1}$ 时,蜈蚣草体内磷的浓度会随着营养液中砷浓度的增加而不断升高^[22]。而我们在番茄中发现当供磷水平较高,砷对磷的吸收没有显著影响。

一些研究表明,植物对磷和砷的吸收是在同一系统进行的^[23, 24],在植物系统中磷会限制植物对砷的吸收和积累,磷对砷的快速吸收过程和慢速吸收过程均有抑制作用,磷对砷的吸收均表现为竞争作用^[25, 26],提高磷浓度可降低水稻根系、茎叶和籽粒中的砷浓度^[27]。本文的研究结果进一步明确了缺磷条件下磷砷间的相互作用,认为提高供磷水平能够显著改善植株的生长状况,增加植株的生物量,显著降低植株体砷含量。

目前在番茄植株中克隆并获得的磷酸盐转运蛋白基因分别为 *LePT1*、*LePT2*、*LePT3*、*LePT4* 和 *LePT5* 共五个,其中 *LePT3*、*LePT4* 和 *LePT5* 这三个是菌根菌特异诱导或增强表达的基因,水培条件下表达的只有 *LePT1* 和 *LePT2*, *LePT1* 基因是组成型表达,主要担负番茄植株体内磷素的转运分配, *LePT2* 基因仅在根中表达,当植株体内缺磷时会诱导增强,主要担负番茄植株对于磷素营养的吸收。国内外许多研究均表明,砷是以五价砷酸盐的形式通过竞争磷酸盐转运蛋白 (Phosphate transporter) 而进入植物体并以三价亚砷酸盐的形式在植物体内运输分配的^[7, 8, 21]。虽然从本文的结果发现番茄植株对于磷

和砷的吸收上存在一定的竞争机制, 当外界磷浓度越高时, 植株体内的砷含量就越低(图2), 在低磷水平时, 外源砷的存在也会显著影响植株对于磷素的吸收和转运(图4), 但是在低磷和中磷供应水平下, 砷的存在对磷酸盐转运蛋白的表达没有显著影响(图5), 推测外源砷进入植物体可能不是通过改变磷酸盐转运蛋白基因的表达模式, 而是通过改变磷酸盐转运蛋白本身的构相或者有其他转运蛋白来进行的, 这一过程本身不会引起植物体内磷信号传导的变化, 植物体在外源砷的侵入时并不会表现出体内磷素吸收和转运的匮乏(图4)。低磷浓度时砷明显降低植株对于磷素得吸收和转运只是砷对植物体的一种毒害机制, 环境磷浓度的增加显著抑制植株对于砷的吸收转运仅是植物本身在进化过程中一种趋利弊害的自然反应。至于在高磷供应条件下, 加砷反而诱导 *LePT2* 的表达目前还很难解释。因此有必要通过分子生物学的手段进一步研究植物体对于砷的吸收与其自身磷酸盐转运蛋白基因表达模式间的直接和间接的关系。利用分子生物学的手段寻找影响砷吸收的主要磷酸盐转运蛋白或直接影响砷吸收的一系列的转运基因及相关的调控元件, 通过转基因技术和反向遗传学途径鉴定和获得对砷具有超积累能力的植株, 将是今后研究的主要目标。

参考文献

- [1] Meharg A A, Rahman M M. Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: Implications for rice contribution to arsenic consumption. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(2): 229~ 234
- [2] Rahman M M, Paul K, Chowdhury U K, *et al.* Abstract: Current status of arsenic pollution and health impacts in West Bengal and Bangladesh. An International Workshop on Arsenic Pollution of Drinking Water in South Asia and China. Jinji Roumu Kaikan, Chsrki, Shinawawa, Tokyo, Japan, 2001
- [3] Roychowdhury T, Uchino T, Tokunaga H, *et al.* Arsenic and other heavy metals in soils from an arsenic affected area of West Bengal, India. *Chemosphere*, 2002, 49(6): 605~ 618
- [4] 徐红宁, 徐嘉琳. 我国砷异常区的成因及分析. *土壤*, 1996, 28: 80~ 84. Xu H N, Xu J L. The analysis and the cause of abnormal arsenate area formation (In Chinese). *Soils*, 1996, 28: 80~ 84
- [5] 照明. 美国EPA发布饮用水中砷含量新标准. 中国城市供水水质监督网. 2002-09-27. Zhao M. The new standard of arsenic in drinking water of America (In Chinese). <http://www.H2O-China.com>. 2002-09-27
- [6] Meharg A A, Macnair M R. Suppression of the high affinity phosphate uptake system: A mechanism of arsenate tolerance in *Holcus lanatus* L. *J. Exp. Bot.*, 1992, 43: 519~ 524
- [7] Otte M L, Emst W. Arsenic in vegetation of wetlands. In: Nriagu J O. ed. *Arsenic in the Environment. Part I. Cycling and Characterization*. New York: John Wiley and Sons, 1994. 365~ 379
- [8] Clark G T, Dunlop J, Phung H T. Phosphate absorption by *Arabidopsis thaliana*: Interactions between phosphorus status and inhibition by arsenate. *Aust. J. Plant Physiol.*, 2000, 27: 959~ 965
- [9] 张广莉, 宋光煜, 赵红霞. 磷影响下根际无机砷的形态分布及其对水稻生长的影响. *土壤学报*, 2002, 39(1): 23~ 28. Zhang G L, Song G Y, Zhao H X. Effect of phosphorus on distribution of inorganic arsenic fractions in rhizosphere and growth of rice (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39(1): 23~ 28
- [10] Meharg A A, Macnair M R. Uptake, accumulation and translocation of arsenate tolerant and non tolerant *Holcus lanatus* L. *New Phytologist*, 1991, 117: 225~ 231
- [11] Pickering I J, Prince R C, George M J, *et al.* Reduction and coordination of arsenic in Indian mustard. *Plant Physiology*, 2000, 122(4): 1 171~ 1 177
- [12] Greger T L, Peryea F J. Phosphate fertilizer enhances arsenic uptake by apricot liners grown in lead arsenic enriched soil. *Horticultural Science*, 1994, 29: 88~ 92
- [13] Shibata D. Genome sequencing and functional genomics approaches in tomato. *Journal of General Plant Pathology*, 2005, 71:1~ 7
- [14] Meissner R, Chague V, Zhu Q H, *et al.* A high throughput system for transposon tagging and promoter trapping in tomato. *Plant Journal*, 2000, 22: 265 ~ 274
- [15] Liu C M, Muchhal U S, Uthappa M, *et al.* Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissues by phosphorus. *Plant Physiology*, 1998, 116: 91~ 99
- [16] Nagy R, Karandashov V, Chague V, *et al.* The characterization of novel mycorrhizal specific phosphate transporters from *Lycopersicon esculentum* and *Solanum tuberosum* uncovers functional redundancy in symbiotic phosphate transport in solanaceous species. *The Plant Journal*, 2005, 42: 236~ 250
- [17] Gumaelius L, Lahner B, Salt D E, *et al.* Arsenic hyperaccumulation in genophyte of *Pteris vittata*. A new model system for analysis of arsenic hyperaccumulation. *Plant Physiology*, 2004, 136: 3 198~ 3 208
- [18] Marschner H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. London: Academic Press, 1995, 889
- [19] Geng C N, Zhu Y G, Liu W J, *et al.* Arsenate uptake by seedlings of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes grown in solution culture. *Aquatic Botany*, 2005, 83: 321~ 331
- [20] Meharg A A, Macnair M R. An altered phosphate uptake system in arsenate tolerant *Holcus lanatus* L. *New Phytologist*, 1990, 116(1): 29~ 35
- [21] Meharg A A, Naylor J, Macnair M R. Phosphorus nutrition of arsenate tolerant phenotypes of velvet grass. *Journal of Environment Quality*, 1994, 23(2): 234~ 238
- [22] Koseki K. Suppression of arsenic injury of rice plants by the application of higher phosphate concentration in culture solution. *Scientific Reports of the Miyagi Agricultural College*, 1988, 36: 15~ 21
- [23] Sharples J M, Meharg A A, Chamber S M, *et al.* Evolution: Symbi

- otic solution to arsenic contamination. *Nature*, 2000, 404: 951~952
- [24] Abedin M J, Feldmann J, Mehar A A. Uptake kinetics of arsenic of species in rice plants. *Plant Physiology*, 2002, 128(3): 1 120~1 128
- [25] 廖晓勇, 肖细元, 陈同斌. 砂培条件下施加钙、砷对蜈蚣草吸收砷、磷和钙的影响. *生态学报*, 2003, 23(10): 2057~2 065. Liao X Y, Xiao X Y, Chen T B. Effects of Ca and As additions on As, P and Ca uptake by hyper accumulator *Pteris vittata* L. under sand culture (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(10): 2 057~ 2 065
- [26] Tu C, Ma L Q. Effect of arsenate and phosphate on their accumulation by an arsenic hyper accumulator *Pteris vittata* L. *Plant and Soil*, 2003, 249: 373~ 382
- [27] Asher C J, Reay P F. Arsenic uptake by barley seedlings. *Plant Physiology*, 1979, 6(4): 459~ 466

EFFECT OF HIGHER PHOSPHATE SUPPLY LESSENING As STRESS ON TOMATO

Wang Ping Hu Jiang Ran Wei Xu Guohua[†]

(College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract Following the promulgation of the standards for arsenic (As) in environment and food people are getting more and more concerned about As pollution and the issue of food safety. It is still controversial over effect of phosphorus (P) supply on uptake and accumulation of As in plant and its mechanism. A hydroponic experiment of tomato (*Lycopersicon esculentum*, cv. Micro tom) was conducted to verify the effect of P mitigating As stress on plant growth. Addition of 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ arsenate (AsO_4^{3-}) significantly decreased the growth of both root and shoot of the tomato plant with P supply ranging from 0.025 to 0.4 mmol L^{-1} , however, both As concentration in the plant and its inhibitory effect were reduced as P supply rose in level. The roots contained much more As than the shoots. Inhibitory effect of As on P uptake was observed also only at low P supply levels (0.025 and/or 0.05 mmol L^{-1} of P). In addition, As had little influence on the expression of the two phosphate transporter genes (*LePT1* and *LePT2*) in tomato. In conclusion, increase in P supply could decrease concentration of As in the plant, thus mitigating the adverse effects of As stress on tomato growth.

Key words Phosphate; Phosphate transporter genes; Arsenate; Uptake; Stress; Tomato