

4种植物幼苗根茎叶及根系分泌物中 低分子量有机酸的特征

赵 宽¹, 吴沿友^{1,2*}

(1 现代农业装备与技术教育部重点实验室, 江苏大学农业工程研究院, 江苏镇江 212013; 2 中国科学院地球化学研究所, 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002)

摘 要: 该研究建立了植物根茎叶及根系分泌物中有机酸的离子色谱分析测定方法, 并测定了 4 种不同植物幼苗根茎叶及根系分泌物中低分子量有机酸的组成, 为揭示逆境胁迫下植物体内有机酸的作用提供依据。结果表明: 离子色谱分析法对植物有机酸的加标回收率为 91.10%~105.42%, 检测限为 0.12~0.36 mg/L, 方法线性关系良好 ($R^2=0.965\ 3\sim0.998\ 8$); 4 种植物根茎叶及根系分泌物中都可以检测出草酸、柠檬酸、苹果酸、丁二酸和酒石酸, 其中草酸、柠檬酸和苹果酸为优势酸; 有机酸的组成和含量具有物种以及器官的差异性; 根系分泌物中的有机酸与根茎叶中有机酸的相关性也因种属差异而不同。这为研究逆境胁迫下植物器官及根系分泌物提供了可靠方法。

关键词: 根系分泌物; 器官; 离子色谱; 有机酸

中图分类号: Q946-33

文献标志码: A

Characteristics of Low Molecular Weight Organic Acids in Roots, Stems and Leaves, and Root Exudates in Four Species Seedlings

ZHAO Kuan¹, WU Yanyou^{1,2*}

(1 Key Laboratory of Modern Agricultural Equipment and Technology of Ministry of Education, Institute of Agricultural Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China; 2 State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

Abstract: A method for the determination of low molecular weight organic acids in roots, stems and leaves, and root exudates by ion chromatography (IC) was established, and the varied characteristics of low molecular weight organic acids in roots, stems and leaves, and root exudates of four species seedlings were detected, which provided evidence for revealing the role of organic acids in plant. The recoveries and detection limit of low molecular weight organic acids were in the range of 91.10%~105.42% and 0.12~0.36 mg/L, respectively. The determination coefficient of linear equation (R^2) ranged from 0.965 3~0.998 8. Oxalic, citric, malic, succinic and tartaric acids were determined by IC in roots, stems and leaves, and root exudates of four plant species. Oxalic, citric and malic acids were the dominant organic acids. The composition and concentration of organic acids were influenced by plant species and organ, the interspecific differences were in the organic acids concentrations between root exudates and roots, stems and leaves. The results

收稿日期: 2013-12-23; 修改稿收到日期: 2014-04-09

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项重大课题(XDA05070400); 江苏省高校优势学科资助项目(苏财教[2011]8号); 江苏大学研究生科研创新计划资助项目(CXLX11-0596)

作者简介: 赵 宽(1986—), 男, 在读博士研究生, 主要从事逆境植物生理生化的研究。E-mail: henry3408@126.com

* 通信作者: 吴沿友, 研究员, 主要从事生态环境和地球化学方面的研究。E-mail: yanyouwu@ujs.edu.cn

provided a reliable method for study organic acids of plant organ and root exudations, and provided evidence for understanding the role of organic acids in plants under environmental stress.

Key words: root exudates; organ; ion chromatography; organic acids

有机酸是指含有一个或几个羧基基团, 主要含碳氢氧元素的有机化合物, 包括脂肪酸和芳香酸, 特别是低分子量有机酸种类较多。常见的低分子量有机酸有甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、草酸、丁二酸、苹果酸、延胡索酸、胡索酸、柠檬酸、酒石酸、水杨酸、莽草酸等, 其中草酸、柠檬酸、苹果酸等碳链类脂肪酸在植物体内及根系分泌物中最为常见。这些低分子量有机酸在植物体内大量存在, 它们主要来源于糖酵解以及三羧酸循环过程, 对调节植物体内的酸碱平衡以及植物-土壤生态系统具有重要的作用^[1-3]。这些低分子量有机酸在植物体内的积累与植物的种类、树龄和器官类型(根茎叶)有关; 根系分泌的有机酸是应对环境胁迫的一个重要机制, 其影响因素除了与植物本身相关以外, 还与营养胁迫、土壤类型等因素相关^[4-7]。

目前, 应用定性定量检测植物体内及根系分泌物中有机酸的仪器有高效液相色谱仪(HPLC)、气相色谱仪(GC)、离子色谱仪(IC)、液相色谱-质谱(LC-MS)联用技术、气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术和毛细管电泳(CE)等等^[8]。Dinkci^[9]和Wang等^[10]利用HPLC能较好地分离8种有机酸, 并能保持较小的相对偏差。杨红等^[11]利用离子色谱法分离甲酸、乙酸、柠檬酸等5种有机酸, 最后进行回收时其回收率平均能达到99.5%。Jaitz等^[12]利用LC-MS对柠檬酸、马来酸、丁二酸等7种有机酸进行分离, 其最小检测限能达到1 nmol/L。由于离子色谱仪是一种专门测定阴离子及有机酸阴离子的仪器, 比之其他仪器, 该仪器的专一性更好, 因此, 本试验探讨了应用离子色谱法同时测定不同植物根茎叶及根系分泌物样品中草酸、柠檬酸、苹果酸、丁二酸、酒石酸等5种有机酸的方法, 并以之研究和比较了4种植物根茎叶及根系分泌物中有机酸的特征, 较系统地分析了根茎叶及根系分泌的有机酸的种间差异性。

1 材料和方法

1.1 试验材料

本实验以构树、桑树(木本桑科植物)以及诸葛菜和油菜(草本十字花科植物)为研究材料, 在江苏大学农业工程研究院的智能温室中进行育苗, 待其

长出两片真叶后, 移栽至3×4的穴盘(有托底)中进行培养, 每个穴孔中移栽3株幼苗, 3次重复。每天定量补充Hoagland完全营养液, 幼苗培养5周后, 开始收集根系分泌物。

1.2 根系分泌物的收集与分离纯化方法

选择晴朗的天气, 加入200 mL Hoagland完全营养液于10:00~16:00进行培养, 用蒸馏水调节营养液的体积, 收集穴盘里面的营养液并用去离子水冲洗植物的根部所得的滤液, 即为植物的根系分泌物^[7]。将滤液先过阳离子交换树脂柱(12 cm×15 mm), 柱内装填5 g Amberlite IR-120B(H⁺)树脂, 然后流过阴离子交换树脂柱(12 cm×15 mm), 柱内装填2 g Dowex 1×8树脂(OH-型, 100-200目)。滞留在阴离子交换树脂柱内的有机酸用1 mol·L⁻¹ HCl洗脱, 洗脱液用旋转蒸发器浓缩至近干, 之后保存于4℃冰箱中, 待测^[10]。

1.3 植物根茎叶中有机酸的提取方法

植物根(茎)中有机酸的提取根据Oliveira等^[13]的方法; 植物叶片中有机酸的提取方法参考Nisperos-Carriedo等^[14]的方法。

1.4 有机酸的测定方法

根系分泌物及根茎叶中的有机酸的组成含量都采用离子色谱法(IC)分析。色谱分析条件如下: 瑞士万通883型离子色谱仪; 检测器: 电导型检测器; 色谱柱: Transgenomic Coregel COR-64H(7.8 mm×300 mm); 淋洗液: 0.4 mmol·L⁻¹ H₂SO₄; 流速: 0.6 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μL。流动相和洗脱液在使用之前须过0.22 μm滤膜及超声脱气。

2 结果与分析

2.1 分析方法的精确性及标准曲线的绘制

回收率是表征分析方法准确度的重要指标。从表1可以看出, 草酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸和丁二酸的回收率在91.10%~105.42%, 这说明应用离子色谱法具有较好的分析精度, 该方法完全符合分析精度的要求^[15]。

从图1, A、B可以看出, 混合标准样品及植物样品中的各有机酸能得到较好的分离, 5种有机酸的峰对称性均良好。植物样品中5种有机酸均能进行检测, 虽然存在未知物(2和3之间的峰), 但不影响

样品中有机酸的分离,不会造成保留时间的滞后,这说明该方法分离有机酸的可行性较高。

从表 2 可知,各有机酸标准曲线的回归方程的相关系数均能达到 0.95 以上,这说明应用标准曲线法作为本实验中计算根系分泌物中的有机酸的浓度的方法具有较高的可行性。从检测限中可以看出,草酸、柠檬酸和苹果酸的检测限浓度较小,说明这 3 种物质较容易检测出,这与大多数的研究相类似^[16-19]。同时也表明用离子色谱法可以检测有机酸含量较低的根系分泌物,并具有很好的可行性。

2.2 植物根茎叶中有机酸种间差异特征

植物种属及根茎叶的不同影响植物体内有机酸的含量,Yang 等^[20]研究发现不同锌基因型水稻根部累积有机酸的含量差异较大,刘娣等^[21]的研究表明缺锌下甜茶根茎叶中有机酸的组成含量均存在差异性。从表 3 可以看出,有机酸在不同植物、根茎叶中具有较大的差异性。从 4 种植物根茎叶有机酸的总量上看,构树根茎叶中的有机酸总量最高,而油菜根茎叶中有机酸总量最低。从各有机酸的比例上看,草酸、柠檬酸和苹果酸是 4 种植物根茎叶中的优势酸,其中构树根茎叶中草酸、柠檬酸和苹果酸的含量占了 75%,桑树和诸葛菜则为 65%,而油菜则高达 80%。4 种植物叶片中草酸、柠檬酸和苹果酸的含量均高于其茎根中的含量。

2.3 根系分泌物中有机酸的种间差异特征

从表 4 可知,两种木本桑科植物根系分泌的有机酸总量高于两种草本十字花科植物,两种木本植物(草本植物)根系分泌的有机酸总量之间无显著差异。两种木本桑科植物根系分泌的柠檬酸和苹果酸

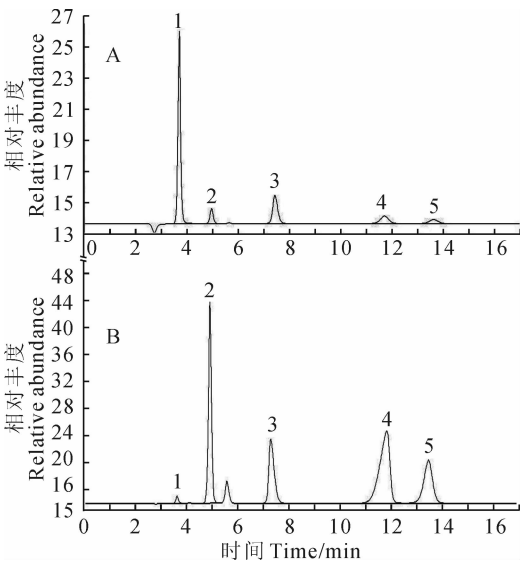


图 1 有机酸混合标准品(A)及植物样品(B)中有机酸的离子色谱图

Fig. 1 Ion chromatographic photograph of mixed organic acids standard sample(A) and organic acids of plant sample(B)

表 1 离子色谱法测定有机酸加标回收率

Table 1 Determination of recovery of organic acids by ion chromatography

有机酸 Organic acid	添加值 Added value/(mg · L ⁻¹)	测定值 Measurement value/(mg · L ⁻¹)	回收率 Recovery rate/%
草酸 Oxalic acid	0.520 1	0.496 3	0.513 1
柠檬酸 Citric acid	0.330 5	0.338 9	0.341 3
酒石酸 Tartaric acid	0.770 2	0.724 9	0.741 4
苹果酸 Malic acid	0.490 3	0.477 6	0.486 3
丁二酸 Succinic acid	0.610 9	0.604 4	0.591 9

表 2 应用离子色谱法测定有机酸的主要参数

Table 2 Measurement on main parameters of organic acids by ion chromatography

编号 No.	有机酸 Organic acid	保留时间 Retention time/min	线性方程 Linear equation	决定系数 R ²	检测限 Detection limit /(mg · L ⁻¹)	线性范围 Linear range /(mg · L ⁻¹)
1	草酸 Oxalic acid	3.7	Y=0.054 3X+0.234 4	0.965 3	0.15	0~20
2	柠檬酸 Citric acid	4.9	Y=0.069 8X+0.034 2	0.993 2	0.36	0~50
3	酒石酸 Tartaric acid	7.4	Y=0.071 2X-0.021 0	0.998 8	0.12	0~150
4	苹果酸 Malic acid	11.7	Y=0.023 6X-0.017 5	0.996 5	0.15	0~100
5	丁二酸 Succinic acid	13.6	Y=0.006 7X-0.002 8	0.997 6	0.25	0~50

注:Y 表示有机酸的浓度(mg · L⁻¹);X 表示峰面积。
Note:Y indicated the concentration of organic acids (mg · L⁻¹);X indicated the peak area.

的含量占了总量的 50%以上;两种草本十字花科植物根系分泌的优势有机酸则为草酸和苹果酸,这两种有机酸占了总量的 50%以上。桑树和油菜根系分泌的酒石酸含量较低,不超过总量的 10%。构树根系分泌的草酸和柠檬酸含量低于桑树,而其丁二酸和酒石酸含量高于桑树,这说明在正常生长条件下,构树和桑树根系分泌的有机酸活化土壤营养(磷、铁)及对重金属的解毒能力相似,这与正常生长

表 3 4 种植物根茎叶中有机酸含量的特征

Table 3 The characteristics of organic acid concentrations in roots, stems and leaves of four species(n=3)

植物种类 Plant species	有机酸 Organic acid	根 Root		茎 Stem		叶 Leaf	
		含量 Content /(mg·g ⁻¹)	比例 Ratio/%	含量 Content /(mg·g ⁻¹)	比例 Ratio/%	含量 Content /(mg·g ⁻¹)	比例 Ratio/%
构树 <i>B. papyrifera</i>	草酸 Oxalic acid	0.72±0.01	23.7	0.73±0.02	22.1	0.80±0.04	22.6
	柠檬酸 Citric acid	0.89±0.06	29.4	0.91±0.02	27.4	0.89±0.01	25.2
	酒石酸 Tartaric acid	0.70±0.02	23.1	0.87±0.06	26.2	0.89±0.03	25.3
	苹果酸 Malic acid	0.37±0.01	12.1	0.41±0.02	12.4	0.47±0.01	13.3
	丁二酸 Succinic acid	0.35±0.01	11.7	0.39±0.01	11.9	0.48±0.01	13.6
	总量 Total content	3.03	100.0	3.32	100.0	3.53	100.0
桑树 <i>M. alba</i>	草酸 Oxalic acid	0.60±0.03	23.4	0.56±0.02	18.6	0.62±0.01	21.9
	柠檬酸 Citric acid	0.67±0.02	26.1	0.68±0.01	22.7	0.87±0.01	30.6
	酒石酸 Tartaric acid	0.61±0.03	24.0	0.75±0.02	24.9	0.58±0.01	20.4
	苹果酸 Malic acid	0.33±0.01	12.9	0.47±0.01	15.7	0.41±0.01	14.6
	丁二酸 Succinic acid	0.35±0.01	13.5	0.55±0.01	18.3	0.36±0.02	12.5
	总量 Total content	2.56	100.0	3.01	100.0	2.83	100.0
诸葛菜 <i>O. violaceus</i>	草酸 Oxalic acid	0.57±0.17	21.5	0.61±0.01	25.0	0.72±0.05	23.4
	柠檬酸 Citric acid	0.73±0.05	27.8	0.54±0.04	22.3	0.89±0.08	28.6
	酒石酸 Tartaric acid	0.45±0.03	16.8	0.48±0.02	19.8	0.77±0.09	24.8
	苹果酸 Malic acid	0.60±0.09	22.6	0.43±0.07	17.6	0.39±0.03	12.6
	丁二酸 Succinic acid	0.30±0.02	11.3	0.37±0.04	15.3	0.33±0.02	10.6
	总量 Total content	2.65	100.0	2.44	100.0	3.09	100.0
油菜 <i>B. napus</i>	草酸 Oxalic acid	0.37±0.01	29.4	0.61±0.02	26.0	0.78±0.03	34.0
	柠檬酸 Citric acid	0.30±0.01	24.1	0.68±0.02	29.0	0.56±0.02	24.3
	酒石酸 Tartaric acid	0.31±0.03	24.5	0.66±0.04	28.4	0.64±0.02	27.8
	苹果酸 Malic acid	0.13±0.01	10.3	0.21±0.01	9.0	0.14±0.01	6.3
	丁二酸 Succinic acid	0.15±0.01	11.7	0.18±0.01	7.6	0.17±0.03	7.6
	总量 Total content	1.25	100.0	2.33	100.0	2.29	100.0

注:有机酸含量用平均数±标准误差表示;下同。
Note: The organic acid contents are indicated by mean±SE; The same as below.

表 4 4 种植物根系分泌物中有机酸含量的特征

Table 4 The characteristics of organic acid concentrations in root exudations of four species(n=3)

有机酸 Organic acid	构树 <i>B. papyrifera</i>		桑树 <i>M. alba</i>		诸葛菜 <i>O. violaceus</i>		油菜 <i>B. napus</i>	
	含量 Content /(mg·g ⁻¹)	比例 Ratio/%	含量 Content /(mg·g ⁻¹)	比例 Ratio/%	含量 Content /(mg·g ⁻¹)	比例 Ratio/%	含量 Content /(mg·g ⁻¹)	比例 Ratio/%
草酸 Oxalic acid	0.25±0.04	11.4	0.47±0.09	21.3	0.62±0.05	31.5	0.49±0.04	26.6
柠檬酸 Citric acid	0.52±0.05	23.8	0.66±0.05	30.1	0.33±0.08	16.5	0.40±0.05	21.5
酒石酸 Tartaric acid	0.61±0.06	27.9	0.60±0.10	26.9	0.45±0.09	22.6	0.44±0.11	23.6
苹果酸 Malic acid	0.49±0.15	22.5	0.31±0.06	14.0	0.33±0.03	16.6	0.39±0.09	21.1
丁二酸 Succinic acid	0.31±0.02	14.4	0.17±0.02	7.7	0.25±0.02	12.8	0.13±0.01	7.2
总量 Total content	2.19	100	2.21	100	1.98	100	1.85	100

表 5 4 种植物根茎叶与根系分泌的 5 种有机酸之间的相关系数

Table 5 The correlation coefficient (Pearson) of 5 types of organic acids in roots, stems and leaves, and root exudates of four species(n=5)

		茎 Stem	叶 Leaf	根系分泌物 Root exudates
构树 <i>B. papyrifera</i>	根 Root	0.965 **	0.957 *	0.270
	茎 Stem		0.993 **	0.435
	叶 Leaf			0.355
桑树 <i>M. alba</i>	根 Root	0.780	0.902 *	0.931 *
	茎 Stem		0.609	0.781
	叶 Leaf			0.897 *
诸葛菜 <i>O. violaceus</i>	根 Root	0.642	0.603	0.218
	茎 Stem		0.789	0.826
	叶 Leaf			0.495
油菜 <i>B. napus</i>	根 Root	0.931 *	0.997 **	0.704
	茎 Stem		0.926 *	0.719
	叶 Leaf			0.728

注: * 在 $P<0.05$ 水平下显著; ** 在 $P<0.01$ 水平下显著。

Note: * indicated significance at $P<0.05$; ** indicated significance at $P<0.01$.

条件下构树的光合作用与桑树相似的结论相符^[22-23]。诸葛菜和油菜根系分泌的有机酸总量无差异,这说明两种植物运用根系分泌的有机酸活化土壤中难溶性磷能力相似,这与正常生长条件下诸葛菜的光合作用与油菜相似的结论相符^[24]。两种木本桑科植物根茎叶及根系分泌的有机酸含量高于两种草本十字花科植物,这说明了植物种属对有机酸的含量影响较大。本实验中的木本植物由于其根茎叶的生长速度及根茎粗(生物量)大于草本植物,因

此影响植物体内及根系分泌物中的有机酸含量,这与 Ström 关于 9 种不同科属植物根系分泌有机酸的结果类似^[25]。因此,植物种类显著影响根系分泌的有机酸组分和含量。

2.4 植物根茎叶及根系分泌物中有机酸的相关性

从表 5 可以看出,构树和油菜根茎叶的有机酸之间具有显著的相关性,而它们与根系分泌的有机酸之间均没有相关性,这说明这两种植物根系分泌的有机酸含量并不取决于它们植物根茎叶内有机酸的含量;桑树根与叶之间、根叶与根系分泌的有机酸之间均存在显著的相关性,这说明桑树根系分泌的有机酸与桑树根储存的有机酸含量具有一定的联系;诸葛菜根茎叶之间、根茎叶与根系分泌的有机酸之间均没有相关性。由此可以看出,在正常生长条件下,植物根系分泌物中的有机酸与根茎叶中有机酸的含量特征具有种属差异,不同植物根茎叶及根系分泌的有机酸特征及相关性差异较大。

3 结 语

实验表明,应用离子色谱法可以同时测定植物根茎叶及根系分泌物中的有机酸,分离度好,准确度高,重现性好,测定过程连贯,是一种方便可靠的分析手段。不同的植物、根茎叶及根系分泌物中的优势有机酸种类及含量的特征具有差异性,有机酸的种间差异性明显。这为后续研究逆境胁迫下的根系分泌物提供了重要的方法,分离、纯化和测定根系低分子量有机酸对理解在逆境胁迫下植物获取营养、抗重金属的机制及调节基质 pH 具有重要意义。

参考文献:

[1] LOPEZ-BUCIO J, NIETO-JACOBO M F, RAMÍEZ-RODRÍGUEZ V, et al. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils[J]. *Plant Science*, 2000, **160**(1): 1-13.

[2] AOKI M, FUJII K, KITAYAMA K. Environmental control of root exudation of low-molecular weight organic acids in tropical rainforests [J]. *Ecosystems*, 2012, **15**(7): 1 194-1 203.

[3] LI D H(李德华), HE L Y(贺立源), LIU W D(刘武定). Correlation between abiotic-stress in soil and organic acid secretion by root[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), 2001, **19**(6): 497-507 (in Chinese).

[4] JONES D L. Organic acids in the rhizosphere-a critical review[J]. *Plant and Soil*, 1998, **205**(1): 25-44.

[5] RICARD B, COUEE I, RAYMOND P, et al. Plant-metabolism under hypoxia and anoxia[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1994, **32**: 1-10.

[6] TYLER G, STRÖM L. Differing organic acid exudation pattern explains calcifuge and acidifuge behavior of plants[J]. *Annals of Botany*, 1995, **75**(1): 75-78.

[7] WANG SH Q(王树起), HAN X Z(韩晓增), QIAO Y F(乔云发), et al. Characteristics of organic acids exudated from soybean(*Glycine max* L.) roots under P deficiency stress[J]. *Soybean Science* (大豆科学), 2009, **28**(3): 409-414 (in Chinese).

- [8] ZHU G P(朱国鹏), SHEN H(沈 宏). A review of the study methods for root exudates[J]. *Subtropical Plant Science* (亚热带植物科学), 2002, **31**(s1): 15—21 (in Chinese).
- [9] DINKCI N, AKALIN A S, GONC S, *et al.* Isocratic reverse-phase HPLC for determination of organic acids in *Kargi tulum* cheese[J]. *Chromatographia*, 2007, **66**(1): S45—S49.
- [10] WANG P, ZHOU R, CHENG J J, *et al.* LC determination of trace short-chain organic acids in wheat root exudates under aluminum stress [J]. *Chromatographia*, 2007, **66**(11—12): 867—872.
- [11] YANG H(杨 红), HUANG H ZH(黄焕忠), ZHOU L X(周立祥), *et al.* Determination of organic acids in plant root exudate[J]. *Journal of Instrumental Analysis* (分析测试学报), 2001, **20**(4): 19—21 (in Chinese).
- [12] JAITZ L, MUELLER B, KOELLENSPERGER G, *et al.* LC-MS analysis of low molecular weight organic acids derived from root exudation[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011, **400**(8): 2 587—2 596.
- [13] OLIVEIRA A P, PEREIRA J A, ANDRADE P B, *et al.* Organic acids composition of *Cydonia oblonga* Miller leaf[J]. *Food Chemistry*, 2008, **111**(2): 393—399.
- [14] NISPEROS-CARRIEDO M O, BUSLIG B S, SHAW P E. Simultaneous detection of dehydroascorbic, ascorbic and some organic acids in fruits and vegetables by HPLC[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, **40**(7): 1 127—1 130.
- [15] WANG J(王 君), WANG D SH(王东升). Low molecular weight organic acid analysis of soybean and wheat root exudates[J]. *Journal of Liaoning Technical University* (Nat. Sci. Ed.) (辽宁工程技术大学学报·自然科学版), 2009, **9**(28): 241—243 (in Chinese).
- [16] WANG P(王 平), ZHOU R(周 荣). Determination of organic acids exuded from plant roots by high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatograph* (色谱), 2006, **24**(3): 239—242 (in Chinese).
- [17] GUO Y(郭 瑛), XIAO ZH P(肖朝萍), WANG H(王 红), *et al.* Determination of organic acids in fructus mume by high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (分析化学), 2004, **3**(12): 1 624—1 626 (in Chinese).
- [18] LI X CH(李学淳), YANG ZH(杨 忠), LI Y D(李亚东). Study on organic acid of root exudates of *Vaccinium* [J]. *Journal of Jilin Agricultural University* (吉林农业大学学报), 2009, **31**(5): 578—580 (in Chinese).
- [19] WANG Y(王 英), KAISAR SULAYMAN(凯撒·苏来曼), LI J(李 进). Analysis of components in root exudates of *Fritillaria pallidiflora* Schvek seedlings at different ages by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), 2009, **29**(2): 384—389 (in Chinese).
- [20] YANG X, RÖMHELD V, MARSCHNER H. Effect of bicarbonate on root growth and accumulation of organic acids in Zn-inefficient and Zn-efficient rice cultivars (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant and Soil*, 1994, **164**(1): 1—7.
- [21] LIU D(刘 娣), LIU A H(刘爱红), WANG J H(王金花), *et al.* Organic acids in apple trees and their effects on zinc uptake and distribution under zinc deficiency[J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2010, **43**(16): 3 381—3 391 (in Chinese).
- [22] WU Y Y(吴沿友), LIANG ZH(梁 铮), XING D K(邢德科). Comparison of the physiological characteristics of paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*) and mulberry (*Morus alba*) under simulated drought stress[J]. *Guihaia* (广西植物), 2011, **31**(1): 92—96 (in Chinese).
- [23] WU Y Y, ZHAO K. Root-exuded malic acid versus chlorophyll fluorescence parameters in four plant species under different phosphorus levels[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2013, **13**(3): 604—610.
- [24] WU Y Y, WU X M, LI P P, *et al.* Comparison of photosynthetic activity of *Orychophragmus violaceus* and oil-seed rape[J]. *Photosynthetica*, 2005, **43**(2): 299—302.
- [25] STRÖM L, OLSSON T, TYLER G. Differences between calcifuge and acidifuge plants in root exudation of low molecular organic acids [J]. *Plant and Soil*, 1994, **167**(2): 239—245.