赵书晗,王海娟,王宏镔.砷胁迫下吲哚乙酸对不同砷富集能力植物光合作用的影响[J].农业环境科学学报,2017,36(6):1093-1101. ZHAO Shu-han, WANG Hai-juan, WANG Hong-bin. Effect of indoleacetic acid on photosynthesis of arsenic-stressed plants with different arsenic-accumulating ability[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2017, 36(6):1093-1101.

砷胁迫下吲哚乙酸对不同砷富集能力 植物光合作用的影响

赵书晗, 王海娟, 王宏镔*

(昆明理工大学环境科学与工程学院,昆明 650500)

摘 要:以砷超富集植物大叶井口边草(Pteris cretica var. nervosa)和非超富集植物剑叶凤尾蕨(Pteris ensiformis)为供试植物,研究 2 mg·L⁻¹ As(V)胁迫下添加不同浓度吲哚乙酸(IAA)对 2 种植物株高、生物量、叶片砷含量、光合色素、叶绿素荧光参数、暗反应酶活性和叶绿体超微结构的影响。结果表明:添加 20 mg·L⁻¹ IAA 后,2 种植物生物量和叶片砷含量与对照相比显著增加,且大叶井口边草叶片砷含量显著高于剑叶凤尾蕨;大叶井口边草叶片光合色素含量与对照相比均无显著差异,而剑叶凤尾蕨则显著降低。随着 IAA 浓度增加,大叶井口边草叶片叶绿素 a/b 值与对照相比无显著差异,而剑叶凤尾蕨在 40 mg·L⁻¹ IAA 处理时显著降低。大叶井口边草叶片最大光化学效率(Fv/Fm)、实际光化学效率(Φ_{FSI})和非光化学淬灭系数(qN)随 IAA 浓度增加与对照相比无显著差异,而剑 叶凤尾蕨在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理下开始显著下降;大叶井口边草叶片光化学淬灭系数(qP)在 10、40 mg·L⁻¹ IAA 处理时显著增加,而 在剑叶凤尾蕨中则显著下降。随 IAA 浓度增加,剑叶凤尾蕨叶片核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶活性与对照相比显著下降,而大叶井口边草仅在 10 mg·L⁻¹ IAA 处理下显著下降,在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理下小绿体仍保持完好。因此,20 mg·L⁻¹ IAA 处理对砷胁迫下大叶井口边草的生长发育具有一定的光合保护作用,可使其既保持正常生长又超量富集砷。 关键词:吲哚乙酸;砷;超富集植物;光合作用;超微结构

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2017)06-1093-09 doi:10.11654/jaes.2017-0092

Effect of indoleacetic acid on photosynthesis of arsenic-stressed plants with different arsenic-accumulating ability

ZHAO Shu-han, WANG Hai-juan, WANG Hong-bin*

(Faculty of Environmental Science and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: A hydroponic experiment was conducted to investigate the stress effect of arsenic (As) on *Pteris cretica* var. *nervosa* and *Pteris ensiformis* in the presence of indoleacetic acid (IAA). The growth, arsenic (As) accumulation, photosynthetic pigment content, chlorophyll fluorescence parameters, activities of two dark-reaction enzymes, and chloroplast ultrastructure of the two plants were evaluated to identify the stress effect at different IAA concentrations. The results showed that biomass and frond As concentration of the two plants were significantly increased in the presence of 20 mg \cdot L⁻¹ IAA compared to those in the respective control. The concentration of As in *P. cretica* var. *nervosa* fronds was much higher than that in *P. ensiformis* fronds. The photosynthetic pigment content in *P. cretica* var. *nervosa* fronds was similar to

收稿日期:2017-01-17

作者简介:赵书晗(1991一),女,吉林白城人,硕士研究生,主要从事污染与恢复生态学研究。E-mail:2110767821@qq.com

^{*} 通信作者: 王宏镔 E-mail: whb1974@126.com

基金项目:国家自然科学基金项目(31360132);云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(2012HB007)

Project supported : The National Natural Science Foundation of China(31360132); Candidates of the Young and Middle Aged Academic Leaders of Yunnan Province(2012HB007)

农业环境科学学报 第36卷第6期

that of the control samples, but was significantly decreased in *P. ensiformis*. Increasing IAA concentrations did not affect the chlorophyll a/b value of *P. cretica* var. *nervosa*, compared to the control samples. However, the chlorophyll a/b value of *P. ensiformis* was significantly reduced in the presence of 40 mg·L⁻¹ IAA. The maximal photochemical efficiency of photosystem II (Fv/Fm), actual quantum yield(Φ_{PSII}), and non-photochemical quenching coefficient(qN) remained unchanged in *P. cretica var. nervosa* fronds with increasing IAA concentrations, but decreased profoundly in *P. ensiformis*, especially in the presence of 20 mg·L⁻¹ IAA. The photochemical quenching coefficient (qP) increased significantly in *P. cretica* var. *nervosa* but diminished significantly in *P. ensiformis* at 10 or 40 mg·L⁻¹ IAA. The activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase(RuBPC) reduced significantly in *P. ensiformis* fronds with increasing IAA concentration. The RuBPC activity of *P. cretica* var. *nervosa* increased significantly at 20 mg·L⁻¹ IAA but decreased at 10 mg·L⁻¹ IAA, compared to the control. IAA addition severely damaged the ultrastructure of chloroplasts in *P. ensiformis* at all levels of IAA treatment but no visible damage was detected in *P. cretica* var. *nervosa* at 20 mg·L⁻¹ IAA treatment. Therefore, 20 mg·L⁻¹ IAA could protect the phytosynthesis of *P. cretica* var. *nervosa* under As stress, resulting in normal growth and hyperaccumulation of As.

 $Keywords: {\it indoleacetic \ acid; \ arsenic; \ hyperaccumulator; \ photosynthesis; \ ultrastructure}$

砷不是植物生长所必需的元素,但许多植物可将 其从根转移到地上部,通过干扰植物重要的生理过 程而对植物生长发育产生影响。自从 Ma 等¹¹和 Chen 等¹²发现蜈蚣草(Pteris vittata)能超富集砷以来,超富 集植物的理论和应用研究成为国内外关注的热点。但 是,超富集植物叶片在富集重金属的同时,如何保持 光合作用以完成正常的生长发育,是一个必须加以深 入研究的科学问题。

植物的光合作用经常受到各种逆境的干扰,例如 砷胁迫会导致植物叶片光合色素含量下降和细胞超 微结构的改变。时绿素荧光动力学方法可以简捷、灵 敏、无损伤探测各种逆境条件对植物光合作用的影 响。Wang 等^[4]研究发现,在高浓度砷胁迫下,地瓜藤 (Ficus tikoua)叶片的光系统Ⅱ(PSⅡ)潜在活性(Fv/F₀)、 最大光化学效率(Fv/Fm)、实际光化学效率(Φ_{BI})和 光化学淬灭系数(qP)显著下降,非光化学淬灭系数 (qN)显著增加。核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(RuBPC) 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)是卡尔文循环中 重要的调节酶,研究发现,砷超富集植物大叶井口边 草(Pteris cretica var. nervosa)和蜈蚣草(P. vittata)在 高浓度砷(200 mg·kg⁻¹)胁迫下 GAPDH 依然保持较 高活性,但非超富集植物半边旗(Pteris semipinnata) 和剑叶凤尾蕨(Pteris ensiformis)在低浓度砷(50 mg· kg⁻¹)胁迫时 GAPDH 活性便明显受到抑制。随着砷胁 迫浓度增加,RuBPC 活性在砷超富集或非超富集植 物中均未发生明显抑制^[5]。红萍(Azolla filliculoides)的 叶绿体超微结构则随砷浓度增加受害严重,在高浓度 砷处理时,其叶绿体变形,类囊体杂乱无章并解体¹⁶。

植物激素在很低浓度下就表现出对植物生长发 育的调节作用,许多植物激素不但有助于植物生长, 而且还可促进植物对重金属的吸收并提高耐受性^[7]。 玉米叶片喷施吲哚乙酸(IAA)后,植物生长和干重显 著增加,同时对铅的吸收和转运能力也显著增强[®]。此 外,IAA 对植物光合作用也有一定的促进作用。晚秋 草莓叶面喷施 IAA 后显著提高了叶片净光合速率和 叶绿素含量,同时显著增加了植物茎和根的干重^[9]。可 见重金属对植物生长和光合作用虽有一定的抑制,但 外源 IAA 不仅可以促进植物的生长和光合作用,还 能促进植物富集重金属。然而,在砷胁迫下外源 IAA 如何调节植物的光合作用,目前文献报道尚少。

本研究以砷超富集植物大叶井口边草(*P. cretica* var. *nervosa*)和同属的非超富集植物剑叶凤尾蕨(*P. ensiformis*)为实验材料,通过室内水培实验,在 2 mg·L⁻¹砷(V)胁迫下,添加不同浓度梯度 IAA(0、10、20、40 mg·L⁻¹),对比研究 2 种植物株高、生物量、叶片砷 含量、光合色素(叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素)、叶绿素荧光参数(Fv/Fm、 Φ_{PSU} 、qP 和 qN)、暗反应酶活 性(RuBPC 和 GAPDH)以及叶绿体超微结构的变化,旨在为进一步研究重金属胁迫下生长素对植物光合 作用的影响机理提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 供试植物

供试植物为砷超富集植物大叶井口边草和同属 非砷超富集植物剑叶凤尾蕨。先在野外无污染地区采 集2种植物幼苗,带回温室后进行修剪,种植在清洁 土壤中进行适应性培养,2个月后筛选出长势良好、 大小一致的健康植株进行水培实验。

1.2 植物培养

采用室内水培法,首先对选取的植物进行适应性 水培驯化。水培溶液为 1/2 改进的 Hoagland 配方营养 液,适应性水培结束后,将植物移栽到容积为 2.5 L 的 塑料小桶中,培养液含有 1/10 的 Hoagland 营养液和 不同浓度的 IAA。经过文献查阅与预实验结果确定砷 (V)浓度为 2 mg·L⁻¹,以砷酸钠(Na₂HAsO₄·7H₂O)的 形式添加,砷离子浓度以纯砷计。生长素浓度设定为 对照(0 mg·L⁻¹)、低(10 mg·L⁻¹)、中(20 mg·L⁻¹)和高 (40 mg·L⁻¹)4 个浓度梯度。每一处理重复 3 次,每 3 d 更换一次营养液,连续充氧。培养实验在温室自然光 照下完成,室温 20~25 ℃,植物在培养 14 d 后收获。

1.3 样品处理与测定

植物收获后,先用自来水清洗,用滤纸吸干植物 表面水分,测定株高。将植物分为两部分:一部分用 1%盐酸浸泡 10 min 以去除植物表面附着的砷,然后 再用自来水和超纯水反复冲洗干净,于烘箱 105℃杀 青 30 min,在 70℃下烘干至恒重,用于植株干重和砷 含量的测定;另一部分先用超纯水冲洗干净,再用滤 纸吸干植物表面水分,装入自封袋,放入冰箱中,-18 ℃保存备用。

植物叶片砷含量的测定方法:称取 0.2 g 左右烘 干样品,用 HNO₃-H₂O₂(5:1,*V/V*)加热消化,测定砷含 量前待测液加入 60 g·L⁻¹的硫脲和抗坏血酸混合液 还原至少 30 min,并用 5% HCl 按一定稀释倍数进行 定容。运用原子荧光光谱仪(北京瑞利仪器公司,AF-610D)测定植物砷含量。测定砷的工作曲线为:

y=26.172x+42.6, $R^2=0.9997$

式中:y为荧光强度;x为标样砷浓度,µg·L⁻¹。

砷的加标回收率为 93%~98%, 符合砷含量测定 质量控制要求。

光合色素的测定采用 95%乙醇提取-分光光度 法^[10];叶绿素荧光参数的测定参照 Burzyński 等^[11]方法, 选择外界光强一致的时间,每盆选取同一叶位的功能 叶(从上向下第4片完全展开的健康叶片),用超便携 式调制叶绿素荧光仪(Mini-PAM,Walz,德国)测定 Fv/Fm、Φ_{ISII}、qP、qN 等叶绿素荧光参数; 暗反应酶活 性的测定参照 Wang 等^[5]的方法。

叶绿体超微结构的观察采用透射电镜法。首先植物叶片用 3.5%戊二醛前固定,1%锇酸后固定,酒精、丙酮逐级梯度脱水,环氧树脂 618 渗透、包埋,半薄切片,光镜定位,修块,然后用 Leica-R 型超薄切片机切片,柠檬酸铅-醋酸铀双染色,最后用 JEM-1011 透射电镜观察。

1.4 数据处理

数据先用 Microsoft Excel 2013 进行简单处理,再用 SPSS 20 软件进行单因素或双因素方差分析,并用

Tukey 法进行多重比较。显著性差异水平取0.05,极显 著差异水平取 0.01。用 Origin 9.0 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 砷胁迫下 IAA 对植物生长的影响

砷胁迫下,不同浓度梯度的 IAA 处理后,砷超富 集植物大叶井口边草的株高与对照(0 mg·L⁻¹ IAA)相 比无显著差异(P>0.05);非超富集植物剑叶凤尾蕨 在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理下株高显著增加(P<0.05),但 在 10、40 mg·L⁻¹ IAA 处理下株高与对照无显著差异 (图 1A)。

在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理下,与对照相比,2 种植物 的干重均显著增加,在 10、40 mg·L⁻¹ IAA 处理下,2



图中小写字母表示同一植物在砷胁迫下,不同 IAA 处理浓度之间的显 著性差异程度: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)。下同

The same letters indicate insignificant difference(P>0.05), and different letters indicate a significant difference(P<0.05) in plant height or dry weight among different IAA concentration in the same plant species. The same below

图 1 砷胁迫下不同浓度 IAA 对植物生长的影响

Figure 1 Effect of IAA concentration on plant growth $under \ As(\ V\) \ stress$

种植物干重与对照相比无显著差异(图 1B)。双因素 方差分析表明,植物种类之间、IAA 浓度之间对植物 株高和干重均有极显著影响(P<0.01,图 1)。

2.2 砷胁迫下 IAA 对植物叶片砷吸收的影响

由表1可知,与对照相比,10、20 mg·L⁻¹ IAA 处 理使砷胁迫下大叶井口边草叶片中的砷含量分别显 著增加56.70%和69.63%,但40 mg·L⁻¹ IAA 处理下, 叶片中砷含量与对照相比无显著变化。在20 mg·L⁻¹ IAA 处理下,剑叶凤尾蕨叶片砷含量显著增加 7.83%,其他处理则与对照无显著差异。在各浓度梯 度的 IAA 处理下,大叶井口边草叶片砷含量均显著 高于剑叶凤尾蕨。

2.3 砷胁迫下 IAA 对植物叶片光合色素含量的影响

由表 2 可知, 砷胁迫下, 20 mg·L⁻¹ IAA 处理使大 叶井口边草叶片的光合色素含量与对照相比无显著

表 1 砷(V)胁迫下 IAA 对植物叶片砷含量的影响 $(mg \cdot kg^{-1})$

Table 1 Effect of IAA on As concentration in fronds of plants under As(V) stress($mg \cdot kg^{-1}$)

		·
IAA 处理浓度/mg·L ⁻¹	大叶井口边草	剑叶凤尾蕨
0	111.8±1.0cA	$70.6 \pm 3.0 \text{bB}$
10	258.2±0.9bA	72.1±1.2abB
20	368.2±2.8aA	76.6±2.3aB
40	114.2±1.0cA	70.5±1.6bB

注:表中小写字母表示同一植物在 As(V)胁迫下不同 IAA 处理 浓度之间的差异(纵向, P<0.05);大写字母表示不同植物相同生长素 处理浓度之间的差异(横向, P<0.05);表中数据以平均值±标准差表 示,n=3。下同。

Note: The lowercase letters indicate the difference of As concentrations among different IAA concentration in the same plant species under As(V) stress(vertical, P<0.05), and the capital letters indicate the difference of As concentration between two plants treated by the same concentration of I–AA(horizontal, P<0.05). The data in the table are presented as the mean \pm standard deviation(n=3). The same below.

农业环境科学学报 第36卷第6期

差异,10、40 mg·L⁻¹ IAA 处理则显著下降(除 10 mg·L⁻¹ IAA 处理下类胡萝卜素无显著变化外)。剑叶凤尾 蕨叶片中光合色素含量在 20、40 mg·L⁻¹ IAA 处理下显著下降,在 10 mg·L⁻¹ IAA 处理下则与对照相比无显著差异。大叶井口边草叶片叶绿素 a/b 值随 IAA 浓度增加无显著变化,而剑叶凤尾蕨在 40 mg·L⁻¹ IAA 处理时与对照相比显著下降。

2.4 砷胁迫下 IAA 对植物叶绿素荧光参数的影响

砷胁迫下,随 IAA 浓度增加,大叶井口边草叶片 Fv/Fm 和 Φ_{ISII} 与对照相比无显著差异,剑叶凤尾蕨叶 片在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理时则显著下降(图 2A,图 2B)。除 20 mg·L⁻¹ IAA 处理与对照无显著差异外,10、 40 mg·L⁻¹ IAA 处理时大叶井口边草叶片 qP 与对照 相比显著增加,但剑叶凤尾蕨在所有 IAA 处理浓度 下 qP 均显著下降(图 2C)。随 IAA 浓度增加,大叶井 口边草叶片 qN 与对照相比无显著差异,剑叶凤尾蕨 在 10 mg·L⁻¹ IAA 处理时叶片 qN 与对照相比无显著 差异,而在 20、40 mg·L⁻¹ IAA 处理下,qN 则显著下降 (图 2D)。双因素方差分析表明,植物种类之间、IAA 浓度之间和两者交互作用对 Fv/Fm 和 qN 有极显著 影响(*P*<0.01),但植物种类对 Φ_{ISII} 和 qP 影响不显著 (*P*>0.05)。

2.5 砷胁迫下 IAA 对植物光合作用暗反应酶活性的 影响

砷胁迫下,与对照相比,大叶井口边草叶片中的 RuBPC 活性在 10 mg·L⁻¹ IAA 处理时显著下降,在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理时则显著增加,后又维持在对照水 平;剑叶凤尾蕨叶片中的 RuBPC 活性随 IAA 浓度增 加呈显著下降趋势(图 3A)。

砷胁迫下,10~20 mg·L⁻¹ IAA 处理时大叶井口边 草叶片 GAPDH 活性与对照相比呈显著增加趋势,并 在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理时达到最大值,后在 40 mg·L⁻¹

表20	伸(V)財	b迫下 IAA	对植物叶片中	中光合色	色素含量的影响
-----	---------	---------	--------	------	---------

Table 2 Effect of IAA on photosynthetic pigment contents in fronds of plants under As(V) stress									
植物名称	IAA 浓度/mg·L ⁻¹	叶绿素 a/mg·g ⁻¹	叶绿素 b/mg•g⁻¹	叶绿素 a+b/mg∙g⁻¹	类胡萝卜素/mg·g ⁻¹	叶绿素 a/b			
大叶井口边草	0	1.22±0.07a	0.53±0.05a	1.75±0.12a	0.29±0.03a	2.30±0.09ab			
	10	$0.98 \pm 0.02 \mathrm{b}$	$0.40 \pm 0.03 \mathrm{b}$	$1.39{\pm}0.02{\rm b}$	0.24±0.03ab	2.45±0.21a			
	20	1.14±0.01a	0.55±0.06a	1.69±0.06a	0.29±0.02a	$2.08\pm0.25\mathrm{b}$			
	40	$0.93 \pm 0.06 \mathrm{b}$	$0.39 \pm 0.02 \mathrm{b}$	$1.31\pm0.07b$	$0.22\pm0.01\mathrm{b}$	2.40±0.06a			
剑叶凤尾蕨	0	3.04±0.01a	1.42±0.01a	4.46±0.01a	0.69±0.01a	2.14±0.02a			
	10	3.10±0.13a	1.47±0.06a	4.56±0.19a	0.71±0.03a	2.12±0.02ab			
	20	2.71±0.01b	$1.25\pm0.02b$	$3.96 \pm 0.01 \mathrm{b}$	$0.62 \pm 0.02 \mathrm{b}$	2.17±0.05a			
	40	$2.47 \pm 0.08c$	$1.20{\pm}0.05\mathrm{b}$	3.67±0.13b	$0.59 \pm 0.03 \mathrm{b}$	$2.05 \pm 0.04 \mathrm{b}$			



图 2 砷(V)胁迫下 IAA 对植物叶片中叶绿素荧光参数的影响 Figure 2 Effect of IAA on chlorophyll fluorescence parameters in fronds of plants under As(V) stress

IAA 处理时显著下降,但与对照无显著差异。剑叶凤 尾蕨在 10~40 mg·L⁻¹ IAA 处理下呈先增后减的趋 势,在10mg·L⁻¹IAA处理时达到最大值,后开始下降, 但 20 mg·L⁻¹ IAA 处理时仍显著高于对照,至 40 mg·L⁻¹ 时与对照持平(图 3B)。双因素方差分析表明,植物种 类之间、IAA 浓度之间以及两者交互作用对植物 2 种 暗反应酶活性均有极显著影响(P<0.01)。

2.6 砷胁迫下 IAA 对植物叶绿体超微结构的影响

叶绿体超微结构显示,大叶井口边草在单一砷胁 迫下对叶绿体无明显影响,叶绿体呈椭圆形或梭形, 双膜结构完整,基粒和基质片层排列整齐,具有典型 的健康叶绿体结构特征(图 4a);在 10 mg·L⁻¹ IAA 处 理下,叶绿体膜系统发生变化,细胞收缩,质壁分离, 基粒数量减少,基粒类囊体变薄并且排列松散,淀粉



图 3 砷(V)胁迫下 IAA 对暗反应酶活性的影响

Figure 3 Effect of IAA on the activities of two dark reaction enzymes under As(V) stress

粒和嗜锇颗粒出现(图 4b);在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理下, 叶绿体结构与对照相似,仅出现淀粉粒和少量嗜锇颗 粒(图 4c);在 40 mg·L⁻¹ IAA 处理下,叶绿体数量减 少,双层膜边界模糊,大部分叶绿体肿胀,基粒排列紊 乱,基粒类囊体肿胀扭曲,并有嗜锇颗粒出现(图 4d)。

剑叶凤尾蕨在单一砷胁迫下叶绿体就受到伤害, 呈圆形,双层膜边界模糊,基粒类囊体小且少,排列杂 乱无章,淀粉粒大且多,少量嗜锇颗粒出现(图 4e); 在 10 mg·L⁻¹ IAA 处理下,叶绿体肿胀,比对照稍好, 但基粒类囊体结构发生改变,出现融合现象(图 4f); 在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理下,叶绿体双层膜结构几乎消 失,基粒类囊体甚少,也出现融合现象,有少量嗜锇颗 粒(图 4 g);在 40 mg·L⁻¹ IAA 处理下,叶绿体双层膜 结构消失,基粒类囊体也几乎消失,出现的基粒也很 模糊,有淀粉粒出现,嗜锇颗粒增多(图 4h)。

3 讨论

砷会扰乱植物形态学特征,并改变一些生理生化 过程^[12]。胡拥军等^[13]发现在砷胁迫下,砷超富集植物大 叶井口边草内源 IAA 和砷含量均上升。IAA 通过促 进细胞的分裂分化,进而促使植物生长^[14]。本研究发 农业环境科学学报 第36卷第6期

现在砷胁迫下,20 mg·L⁻¹ IAA 处理使 2 种不同砷富 集能力植物的生物量和叶片砷含量均显著增加,其他 报道也证实 IAA 具有减轻胁迫的作用。例如,在超富 集和非超富集 2 种生态型的东南景天(*Sedum alfredii*)中,IAA 处理显著增加了铅在地上部的积累,并且 超富集生态型植物的累积量是非超富集生态型植物 的 2.7 倍^[15]。Fässler 等^[16]报道,10⁻¹⁰ mol·L⁻¹ IAA 处理有 效增加了向日葵根和地上部的生长,同时叶片中铅 和锌含量显著增加。然而,并不是在某个部位、组织 或结构中的生长素含量越多,对植物生长和吸收重 金属就越有利,因为生长素过量会破坏植物细胞的 膜结构^[17]。适当浓度的 IAA 通过增加地上部和根系生 长,提高植物生物量,从而促进更多重金属累积。

砷会影响植物的光合作用,最终导致植物生长发育的改变。光合作用受到抑制表现在叶绿素含量降低和叶片 PSII的损害^[18]。砷进入植物体后,能取代叶绿素分子中的镁离子,干扰叶绿素合成酶的活性,导致叶绿素合成受阻,同时增加叶绿素分解酶的活性,使叶绿素分解加快^[19]。本研究中,10~40 mg·L⁻¹IAA 处理下,大叶井口边草叶片叶绿素 a/b 值无显著变化,而剑叶凤尾蕨叶绿素 a/b 值在 40 mg·L⁻¹IAA 处理时显



a~d:大叶井口边草。e~h:剑叶凤尾蕨。a,e:As 2 mg·L⁻¹+IAA 0 mg·L⁻¹;b,f:As 2 mg·L⁻¹+IAA 10 mg·L⁻¹;c,g:As 2 mg·L⁻¹+IAA 20 mg·L⁻¹; d,h:As 2 mg·L⁻¹+IAA 40 mg·L⁻¹。GR:基粒 Grana;GT:基粒类囊体 Grana thylakoid;SG:淀粉粒Starch grains; OS:嗜锇颗粒 Osmiophilic particles;CH:叶绿体 Chloroplast

图 4 砷(V)胁迫下 IAA 对叶绿体超微结构的影响

Figure 4 Effect of IAA on chloroplast ultrastructure of plants under As(V) stress

著下降,并且在单一砷胁迫下(不添加IAA),超富集 植物大叶井口边草 a/b 值高于非超富集植物剑叶凤 尾蕨。较高的叶绿素 a/b 值与光合器官的色素成分改 变有关,这种改变使其具有较低的捕光叶绿素蛋白, 而捕光叶绿素蛋白减少被认为是叶绿体面对不利条 件下的一种适应性防御机制^[20],因此外源添加 IAA 使 大叶井口边草光合器官产生了防御功能。大量研究表 明,外源添加生长素可以促进植物的光合作用。 Aldesuquy^[21]发现在 25 mg·kg⁻¹ IAA 处理下,小麦旗叶 生长、鲜重、干重和叶面积均增加,这种刺激效应主要 是由于 IAA 增加了色素形成,进而增加了旗叶光合 活性;在高剂量 50 mg·kg⁻¹ IAA 处理下,旗叶的生长 和光合活性减弱,抑制叶片鲜重、干重、叶面积、色素、 糖、蛋白质形成以及 CO2 同化作用。本研究中,砷胁迫 下,在20mg·L⁻¹IAA处理时,大叶井口边草叶片光合 色素含量与对照相比无显著差异,而剑叶凤尾蕨叶片 光合色素含量显著下降,表明 IAA 在促进大叶井口 边草叶片富集大量砷的同时对色素的形成有一定的 保护作用;在 40 mg·L⁻¹ IAA 处理下,两种植物光合色 素均显著减少,表明高剂量 IAA 对光合作用反而产 生抑制。

叶绿素荧光参数可以用来监测 PSⅡ的性能。本 研究中,10~40 mg·L⁻¹ IAA 处理下,大叶井口边草叶 片 Fv/Fm 和 Φ_{FM} 均无显著变化, 而剑叶凤尾蕨在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理下则显著下降。Fv/Fm 和 Φ_{FSI} 减少表 示 PSⅡ的光活化受到砷毒性抑制,这是天线色素受 到破坏以及电子从 PSⅡ到 PSⅠ传递的局部阻塞限 制了 PS II 初始"稳定"电子受体(Q_A)的再次氧化^[2]。 因此外源添加 IAA 对大叶井口边草 PS II 具有保护作 用。虽然大叶井口边草 Fv/Fm 与对照相比无显著变 化,但 Araus 等[23]认为,类囊体膜肿胀或破坏后,即使 Fv/Fm 变化很小或无变化,叶片的结构状态也会对原 初始荧光参数产生影响。本研究中,10~40 mg·L⁻¹ IAA 处理下,大叶井口边草 qP 呈增加趋势,qN 无显著变 化,而剑叶凤尾蕨 qP和 qN 均显著下降,并且不添加 IAA 时,超富集植物大叶井口边草qN 高于非超富集 植物剑叶凤尾蕨。外源添加 IAA 使大叶井口边草叶 片 PS II 电子传递活性增加,并且PS II 天线系统充分 利用非光化学淬灭机制将吸收的过量光能以热形式 耗散掉。这也是一种光合机构的自我保护机制。

大叶井口边草叶片中的 RuBPC 活性在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理下显著增加,随后虽然有所降低,但依然与 对照持平,而剑叶凤尾蕨随 IAA 浓度增加则呈下降

趋势。RuBPC的活性位点位于镁离子周围,而砷进入 植物体内会取代镁离子,使剑叶凤尾蕨叶片 RuBPC 活性降低。C₃植物在重金属胁迫下为了维持或恢复 RuBPC 活性,会更高效地利用三磷酸腺苷(ATP)^[24],而 大叶井口边草保持较高的 RuBPC 活性,可能是IAA 提高了其对 ATP 的利用效率或是抑制了砷对镁离子 的取代。此外,2种植物叶片中的 GAPDH 活性在 10~ 20 mg·L⁻¹IAA 处理时与对照相比显著增加,后虽有所 下降,但仍维持在对照水平。不同的是大叶井口边草叶 片中 GAPDH 活性最大值出现在 20 mg·L⁻¹ IAA 处理 下,而剑叶凤尾蕨则出现在10mg·L-1IAA处理下,说 明2种植物的 GAPDH 活性对 IAA 的敏感度有所差 异。Wang 等^[5]发现土培条件下,超富集植物在高浓度 砷(200 mg·kg⁻¹)处理下,其叶片中的 GAPDH 活性依 然维持在较高水平, 而非超富集植物叶片中的 GAPDH 活性即使在低浓度砷(50 mg·kg⁻¹)处理下也 会受到抑制。因此,外源添加 IAA 有助于 GAPDH 活 性的增加,进而提高植物对非生物胁迫的耐受能力。

叶绿体是植物进行光合作用的场所。植物对砷的 敏感性和毒性不仅受到污染物浓度和类型的影响,也 与生长阶段或生物过程有关。Li 等四研究发现,在砷 浓度高达800 mg·kg⁻¹时,对蜈蚣草幼嫩羽片叶绿体 超微结构未造成明显影响,而成熟羽片叶绿体膜系统 则发生肿胀。研究发现,IAA 可能通过增加小麦旗叶 质体的生物合成,随后增加前质体数量或是新的叶绿 体发育直接影响光合作用^[26]。本研究中,不添加 IAA 时,超富集植物大叶井口边草叶绿体超微结构和功能 完好,而非超富集植物剑叶凤尾蕨叶绿体超微结构和 功能受损严重;在 20 mg·L-1 IAA 处理下,大叶井口边 草叶绿体超微结构和功能保持完好,与对照相似,在 10、40 mg·L⁻¹ IAA 处理下,大叶井口边草叶绿体超微 结构和功能有所损害,原因可能是在低浓度 10 mg·L⁻¹ IAA 处理下,大叶井口边草叶片中砷含量显著增加, 但较低浓度的 IAA 尚未将植物体的解毒机制发挥至 最佳状态。He 等[27]在 2 mg·L-1 砷(V)胁迫下对大叶 井口边草添加不同浓度 IAA(10~50 mg·L⁻¹)研究表 明,在10mg·L⁻¹IAA处理下,仅超氧化物歧化酶(SOD) 活性比对照显著上升,而过氧化氢酶(CAT)和过氧化 物酶(POD)均无显著变化;在 40 mg·L⁻¹ IAA 处理下, 可能由于 IAA 浓度过高,超过了植物对其耐受范围, 损害了植物细胞; 而 20 mg·L⁻¹ IAA 处理下植物最为 适应,有效缓解了砷对植物超微结构的损害,发挥了 保护作用。从叶绿素荧光参数看,尽管 10、40 mg·L⁻¹ IAA 处理下大叶井口边草的 qN 值与对照相比无统 计学差异(图 2d),但有下降的趋势。有研究表明, qN 下降的同时,叶绿体超微结构也受到了损害^[28]。 同理,非超富集植物剑叶凤尾蕨在 20~40 mg·L⁻¹ IAA 处理下,在叶绿体超微结构和功能受损严重的同时, qN 也显著降低。因此,适当浓度 IAA 对砷胁迫下大 叶井口边草叶片叶绿体结构具有保护作用,类囊体结 构的完整性和有序性对于叶绿体在光合作用中进行 正常而有效的光能转换是非常必要的^[29]。

4 结论

(1)20 mg·L⁻¹ IAA 处理下,2 种不同砷富集能力 植物的生物量和叶片砷含量显著增加,并且大叶井口 边草叶片砷含量显著高于剑叶凤尾蕨。

(2)砷胁迫下,添加 20 mg·L⁻¹ IAA,砷超富集植物大叶井口边草在富集大量砷的同时光合色素含量、 叶绿素 a/b 值、叶绿素荧光参数与对照相比无显著变 化,并且 RuBPC 活性显著增加。这些特征可能是大叶 井口边草富集和耐受 As 的关键所在。非超富集植物 剑叶凤尾蕨除叶绿素 a/b 值与对照相比无显著变化 外,其他指标却显著降低。

(3)从叶绿体超微结构看,超富集植物大叶井口 边草在单一砷胁迫下依然保持叶绿体结构和功能的 完整性,尤其在添加 20 mg·L⁻¹ IAA 时,虽然叶片富集 了大量砷,但叶绿体超微结构并未受到明显影响,与 对照相似;而非超富集植物剑叶凤尾蕨叶绿体超微结 构则在单一砷胁迫和添加 IAA 后均受害严重。

致谢:衷心感谢美国麻省大学 Saikat Ghosh 博士协助修改 润色英文摘要。

参考文献:

- Ma L Q, Komar K M, Tu C, et al. A fern that hyperaccumulates arsenic [J]. *Nature*, 2001, 409(6820):579.
- [2] Chen T B, Wei C Y, Huang Z C, et al. Arsenic hyperaccumulator Pteris vittata L. and its arsenic accumulation[J]. Chinese Science Bulletin, 2002, 47(11):902–905.
- [3] Tripathi P, Singh R P, Sharma Y K, et al. Arsenite stress variably stimulates pro-oxidant enzymes, anatomical deformities, photosynthetic pigment reduction, and antioxidants in arsenic-tolerant and sensitive rice seedlings[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2015, 34(7): 1562–1571.
- [4] Wang Y, Chai L Y, Yang Z H, et al. Chlorophyll fluorescence in leaves of Ficus tikoua under arsenic stress[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2016, 97(4):576–581.

- [5] Wang H B, Xie F, Yao Y Z, et al. The effects of arsenic and induced– phytoextraction methods on photosynthesis in *Pteris* species with differ– ent arsenic–accumulating abilities[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2012, 75(4):298–306.
- [6] Zavaleta–Mancera H A, Ortega–Ramírez L G, Jiménez–García L F, et al. Effect of arsenic on chloroplast ultrastructure in *Azolla filliculoides* Lam [J]. *Microscopy and Microanalysis*, 2016, 22(S3): 1206–1207.
- [7] Bulak P, Walkiewicz A, Brzezińska M. Plant growth regulators-assisted phytoextraction[J]. *Biologia Plantarum*, 2014, 58(1): 1–8.
- [8] Hadi F, Bano A, Fuller M P. The improved phytoextraction of lead(Pb) and the growth of maize(*Zea mays L.*): The role of plant growth regulators(GA3 and IAA) and EDTA alone and in combinations[J]. *Chemo-sphere*, 2010, 80(4):457–462.
- [9] 单守明,刘国杰,李绍华,等.秋季叶面喷施 IAA, 6-BA 或 GA3 对草 莓植株的影响[J]. 果树学报, 2007, 24(4):545-548.
 SHAN Shou-ming, LIU Guo-jie, LI Shao-hua, et al. Effects of IAA, GA3 and 6-BA applied in autumn on plant quality of strawberry [J]. *Journal of Fruit Science*, 2007, 24(4):545-548.
- [10] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版 社, 2000:134-137.
 LI He -sheng. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000:134-137.
- [11] Burzyński M, Zurek A. Effects of copper and cadmium on photosynthesis in cucumber cotyledons[J]. *Photosynthetica*, 2007, 45(2):239–244.
- [12] Ahsan N, Lee D G, Alam I, et al. Comparative proteomic study of arsenic –induced differentially expressed proteins in rice roots reveals glutathione plays a central role during As stress[J]. *Proteomics*, 2008, 8 (17):3561–3576.
- [13] 胡拥军,王海娟,王宏镔,等. 砷胁迫下不同砷富集能力植物内源生 长素与抗氧化酶的关系[J]. 生态学报, 2015, 35(10); 3214–3224.
 HU Yong-jun, WANG Hai-juan, WANG Hong-bin, et al. The relationship between endogenous auxin and antioxidative enzymes in two plants with different arsenic-accumulative ability under arsenic stress
 [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(10); 3214–3224.
- [14] Fu X D, Harberd N P. Auxin promotes Arabidopsis root growth by modulating gibberellin response[J]. Nature, 2003, 421(6924):740–743.
- [15] Liu D, Li T, Yang X, et al. Enhancement of lead uptake by hyperaccumulator plant species Sedum alfredii Hance using EDTA and IAA[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2007, 78 (3):280–283.
- [16] Fässler E, Evangelou M W, Robinson B H, et al. Effects of indole-3acetic acid(IAA) on sunflower growth and heavy metal uptake in combination with ethylene diamine disuccinic acid(EDDS)[J]. Chemosphere, 2010, 80(8):901-907.
- [17] Ha_cc-Wydro K, Sroka A, Jabłońska K. The impact of auxins used in assisted phytoextraction of metals from the contaminated environment on the alterations caused by lead(II) ions in the organization of model lipid membranes[J]. *Colloids and Surfaces B*:*Biointerfaces*, 2016, 143: 124–130.
- [18] Tanyolac D, Ekmekçi Y, Ünalan Ş. Changes in photochemical and an-

农业环境科学学报 第36卷第6期

tioxidant enzyme activities in maize(*Zea mays* L.) leaves exposed to excess copper[J]. *Chemosphere*, 2007, 67(1):89–98.

[19] 李圣发, 普红平, 王宏镔. 砷对植物光合作用影响的研究进展[J]. 土壤, 2008, 40(3): 360-366.

LI Sheng-fa, PU Hong-ping, WANG Hong-bin. Advances in the study of effects of arsenic on plant photosynthesis[J]. *Soils*, 2008, 40(3): 360-366.

- [20] Mobin M, Khan N A. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(5):601–610.
- [21] Aldesuquy H S. Effect of indol-3-yl acetic acid on photosynthetic characteristics of wheat flag leaf during grain filling[J]. *Photosynthetica*, 2000, 38(1):135-141.
- [22] Li S, Yang W, Yang T, et al. Effects of cadmium stress on leaf chlorophyll fluorescence and photosynthesis of *Elsholtzia argyi*: A cadmium accumulating plant[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2015, 17(1-6):85–92.
- [23] Araus J L, Hogan K P. Leaf structure and patterns of photoinhibition in two neotropical palms in clearings and forest understory during the dry season[J]. *American Journal of Botany*, 1994, 81(6):726–738.
- [24] Siedlecka A, Krupa Z. Rubisco activity maintenance in environmental

stress conditions-how many strategies[J]. Cellular and Molecular Biology Letters, 2004, 9:56–57.

- [25] Li W X, Chen T B, Huang Z C, et al. Effect of arsenic on chloroplast ultrastructure and calcium distribution in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L.[J]. *Chemosphere*, 2006, 62(5):803–809.
- [26] Aldesuquy H S. Interactive effect of seawater and plant hormones on the pigment content and chloroplast ultrastructure of wheat flag leaf[J]. *Journal of Physiological Sciences*, 1998, 22(3):51–66.
- [27] He S J, Hu Y J, Wang H B, et al. Effects of indole-3-acetic acid on arsenic uptake and antioxidative enzymes in *Pteris cretica* var. nervosa and *Pteris ensiformis*[J]. International Journal of Phytoremediation, 2017, 19(3):231-238.
- [28] Shu S, Yuan L Y, Guo S R, et al. Effects of exogenous spermine on chlorophyll fluorescence, antioxidant system and ultrastructure of chloroplasts in *Cucumis sativus* L. under salt stress[J]. *Plant Physiology* and Biochemistry, 2013, 63(4):209–216.
- [29] 李功藩, 蔡琬平, 吴亚君, 等. 叶绿体结构状态与光化学活性的关系
 [J]. 植物生理学报, 1987, 13(3):295-301.
 LI Gong-fan, CAI Wan-ping, WU Ya-jun, et al. The relationship between structural status and photochemical activity of chloroplasts[J].

Acta Phytophysiologica Sinica, 1987, 13(3):295-301.