

和淑娟, 王宏镔, 王海娟, 等. 砷胁迫下 3-吲哚乙酸对不同砷富集能力植物根系形态和生理的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(5):878–885.
HE Shu-juan, WANG Hong-bin, WANG Hai-juan, et al. Effects of indole-3-acetic acid on morphologic and physiological characteristics of root systems of plants with different arsenic-accumulating abilities under As stress[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2016, 35(5):878–885.

砷胁迫下 3-吲哚乙酸对不同砷富集能力植物根系形态和生理的影响

和淑娟, 王宏镔*, 王海娟, 赵 宾, 李勤椿

(昆明理工大学环境科学与工程学院, 昆明 650500)

摘 要: 采用室内水培法, 研究了 2 mg·L⁻¹ 五价砷胁迫下, 外源添加不同浓度(0、10、20、40、60 mg·L⁻¹) 3-吲哚乙酸(IAA) 14 d 对砷超富集植物大叶井口边草(*Pteris cretica* var. *nervosa*) 和同属的非超富集植物剑叶凤尾蕨(*Pteris ensiformis*) 株高、生物量、砷含量、根系形态(根长、根尖数、根表面积)、根系活力、根细胞质膜 ATPase 活性、抗氧化酶(超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT、过氧化物酶 POD) 活性以及细胞膜脂过氧化产物丙二醛(MDA) 含量的影响, 并用逐步回归法分析了根部砷含量与所测定根系形态和生理指标的关系。结果表明: 20 mg·L⁻¹ IAA 处理下, 两种植物的生物量与对照相比显著增加, 大叶井口边草叶片和叶柄砷含量、根系活力和根细胞质膜 ATPase 酶活性显著增加, 且明显高于剑叶凤尾蕨; 20~60 mg·L⁻¹ IAA 处理下, 大叶井口边草根中的 CAT、SOD 和 POD 活性显著增加, 而剑叶凤尾蕨根中的 CAT 活性显著降低, SOD 活性显著增加, POD 活性则无显著变化; 20~40 mg·L⁻¹ IAA 处理下, 两种植物根中的 MDA 含量显著降低, 但大叶井口边草显著低于剑叶凤尾蕨。逐步回归分析结果显示, 大叶井口边草根中砷含量与根系活力显著正相关, 而剑叶凤尾蕨根中砷含量与各变量无关。因此, IAA 的添加促使大叶井口边草保持较高的根系活力, 进而有助于其超量富集砷。

关键词: 3-吲哚乙酸; 超富集植物; 砷; 根系; 根系活力

中图分类号: X171.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2016)05-0878-08 **doi:** 10.11654/jaes.2016.05.009

Effects of indole-3-acetic acid on morphologic and physiological characteristics of root systems of plants with different arsenic-accumulating abilities under As stress

HE Shu-juan, WANG Hong-bin*, WANG Hai-juan, ZHAO Bin, LI Qin-chun

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

Abstract: A hydroponic experiment was conducted to investigate the effects of indole-3-acetic acid(IAA) on growth, root morphology, root activity, root ATPase activity in cytoplasmic membrane, root antioxidative enzymes(superoxide dismutase SOD, catalase CAT and peroxidase POD), malondialdehyde(MDA, a peroxidation product of membrane lipids) content, and As accumulation in plants with different As-accumulating abilities. Arsenic hyperaccumulator(*Pteris cretica* var. *nervosa*) and non-hyperaccumulator(*Pteris ensiformis*) were exposed to 2 mg·L⁻¹ As(V) and different concentrations of IAA(0, 10, 20, 40, and 60 mg·L⁻¹) for 14 d. Results showed that biomass of two plants significantly increased in the presence of 20 mg·L⁻¹ IAA, compared with the control. At the 20 mg·L⁻¹ IAA treatment, As concentrations in fronds and petioles, root activity, and root ATPase activity in cytoplasmic membrane of *P. cretica* var. *nervosa* increased significantly, and were significantly higher than those in *P. ensiformis*. At 20~60 mg·L⁻¹ IAA treatments, the activities of three antioxidative enzymes(CAT, SOD and POD) in roots of *P. cretica* var. *nervosa* increased significantly, but the CAT activity decreased and SOD activities increased significantly in

收稿日期: 2015-12-16

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); 昆明理工大学人才培养基金项目(KKZ3201222024); 国家国际科技合作专项(0S2014ZR0062)

作者简介: 和淑娟(1989—), 女, 云南丽江人, 硕士研究生, 主要从事污染与恢复生态学研究。E-mail: 229358002@qq.com

* 通信作者: 王宏镔 E-mail: whb1974@126.com

roots of *P. ensiformis*, in comparison with no IAA treatment. The POD activity showed no significant changes in the roots of *P. ensiformis*. The content of MDA in roots of both plants were significantly decreased by 20~40 mg·L⁻¹ IAA treatments. However, MDA content in the roots of *P. cretica* var. *nervosa* was significantly lower than that of *P. ensiformis*. Correlation analysis showed that As concentrations in roots of *P. cretica* var. *nervosa* were positively related with root activity, whereas no correlation was found between root As concentrations and root parameters in *P. ensiformis*. Therefore, As hyperaccumulation of *P. cretica* var. *nervosa* was attributed to its high root activities.

Keywords: indole-3-acetic acid; hyperaccumulator; arsenic; root system; root activity

虽然植物的根、茎、叶均可吸收污染物,但因根系与土壤或水环境直接接触,所以根是植物吸收污染物的主要器官。植物要维持自身的生长和发育必须依赖根从环境中吸收营养物质和水分^[1],随之也会有污染物的吸入。生长素是最早发现的植物激素,3-吲哚乙酸(IAA)又是生长素的常见代表物,植物体内微量的IAA具有调控植物生长发育的功能,如促进植物细胞分裂、伸长生长以及新器官的分化和形成^[2]。通过在Cd处理的水稻中分别添加浓度为10⁻⁹~10⁻⁷ mmol·L⁻¹的生长素萘乙酸(NAA)、IAA、吲哚丁酸(IBA)和2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)发现,当4种生长素浓度为10⁻⁸ mmol·L⁻¹时,均促进了初生根和不定根的生长^[3]。对于外源添加生长素后研究植物体内重金属分布和解毒机制已有很多文献报道,如周建民等^[4]研究发现外源施加一定浓度IAA后,受Pb、Zn、Cu、Cd复合污染土壤上生长的玉米(*Zea mays*)植株地上部生物量显著增加,且增加了重金属富集量,提高了植物修复效率,但相关机理尚不明确。

一般认为,生长素能诱导质膜ATPase的激活,从而产生离子跨膜运输的变化^[5]。在重金属胁迫下,植物的生长一般会受抑制,尤其是当重金属浓度较高时^[6]。重金属胁迫下植物体内会产生大量活性氧自由基^[7],但植物可以通过抗氧化系统来清除^[8],如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等。胡拥军等^[9]发现,大叶井口边草叶片内源IAA含量与CAT活性显著负相关;向言词等^[10]研究施用外源IAA对生长在铅污染土壤(500 mg·kg⁻¹)上的芥菜型油菜(*Brassica juncea*)SOD活性的影响发现,添加IAA后,SOD活性比对照升高77.3%,POD参与IAA的分解,具有催化IAA氧化脱羧的能力^[11]。Srivastava等^[12]研究也发现,在As(V)胁迫下,砷超富集植物蜈蚣草(*Pteris vittata*)具有比非超富集植物剑叶凤尾蕨(*Pteris ensiformis*)和波士顿肾蕨(*Nephrolepis exaltata* L.)更高的SOD、CAT和POD活性,因而具有更强的抗氧化能力。然而,在IAA作用下不同砷富集能力植物中这些生理指标的变化研究尚少。

发达的根系为植物超量吸收砷提供了可能。Forino等^[13]发现在砷超富集植物蜈蚣草中,低、中浓度的砷处理(250~334 μmol·L⁻¹)引起根毛倾向于根尖部位发育,且数量和长度增加,但高浓度砷处理(500 μmol·L⁻¹)却未观察到该现象。这种砷诱导的根系形态的反应调整了根对砷的吸收速率。然而,在砷胁迫下,如果有外源IAA介入,砷超富集植物根系形态和生理是否会作出相应的调整,以吸收和富集更多的砷,目前文献还报道较少。

大叶井口边草(*Pteris cretica* var. *nervosa*)是砷超富集植物^[14],剑叶凤尾蕨是与大叶井口边草同属的非超富集植物^[12],同属中不同砷富集能力的植物为比较生理学的研究提供了极好材料。本研究通过室内水培实验,在固定的五价砷胁迫浓度下,通过外源添加不同浓度IAA,考察大叶井口边草和剑叶凤尾蕨的株高、生物量、砷含量、根系形态(根长、根尖数、根表面积)、根系活力、根细胞质膜ATPase活性以及抗氧化酶活性等形态和生理指标的变化,并结合逐步回归法揭示植物根部砷含量与所测定根系形态和生理指标的关系。

1 材料与方法

1.1 供试植物

砷超富集植物大叶井口边草初生小苗采自昆明理工大学校园,非砷超富集植物剑叶凤尾蕨初生小苗采自云南省红河州河口县附近橡胶林中。初生小苗带回温室后进行修剪并于清洁土壤中适应性培养2个月,选取长势良好、大小一致的幼苗(高8~9 cm、带7~8片小叶)进行水培试验。

1.2 植物培养

采用室内水培法,以容积为2.5 L的塑料小桶作容器,培养液含有1/10的Hoagland营养液和不同浓度的IAA。根据预实验结果确定As(V)浓度为2 mg·L⁻¹,以砷酸钠(Na₃AsO₄·12H₂O)的形式添加,As离子浓度以纯As计。生长素IAA浓度设定为对照(0 mg·L⁻¹)、低浓度(10 mg·L⁻¹)、中浓度(20、40 mg·L⁻¹)和高

浓度($60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),每一处理设置3个重复。每桶放置2~4株植物,且保证每桶中植株的大小和鲜重较为一致,连续充氧,每隔3d更换一次培养液^[15],室温为 $15\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.3 样品处理及测定

植物培养14d后收获。先用自来水清洗,再用 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 稀HCl冲洗^[16],最后用去离子水洗净。用滤纸吸干植物表面水分,将植株分为两部分:一部分装入自封袋放入冰箱于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,以进行根系活力、根细胞质膜ATPase酶活性以及根系形态和抗氧化酶活性的测定;另一部分于烘箱 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 杀青30min,在 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下烘干至恒重,磨碎混匀,称取 0.2 g 左右样品,用 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 加热消化,定容至 25 mL 进行砷含量测定。

测定砷含量前待测液加入 $60 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫脲和抗坏血酸混合液进行还原(至少 0.5 h),并用 $5\% \text{ HCl}$ 按一定稀释倍数进行定容。植物砷含量运用原子荧光光谱仪(北京瑞利仪器公司,AF-610D型)测定。砷的标准样品($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)购自国家标准物质研究中心。测定砷的工作曲线为 $y=27.159x+8.461$, $R^2=0.9994$,式中 y 为荧光强度, x 为标样砷浓度($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)。砷的加标回收率为 $93\%\sim 95\%$,符合砷测定质量控制要求。

参照张中峰等^[17]方法,利用扫描仪(HP LaserJet M1005 MEP)扫描完整根系图像,用Winrhizo根系系统分析软件分析总根长、根系总面积和根尖数量。

根系活力测定采用氯化三苯基四氮唑(TTC)法^[18];根细胞质膜 $\text{H}^+\text{-ATPase}$ 活性测定采用高俊凤等^[19]介绍的方法;CAT酶活性测定采用紫外分光光度法^[20];SOD活性测定用氮蓝四唑法^[21];POD活性测定用愈创木酚法^[22];细胞膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量测定用硫代巴比妥酸法^[18]。

1.4 数据处理

数据先用Microsoft Excel 2007进行简单处理,再用SAS 9.2软件进行双因素方差分析,并用Tukey's HSD法进行多重比较。显著性差异水平 P 取 0.05 ,极显著差异水平 P 取 0.01 。采用SPSS 19.0软件进行多元逐步回归分析,用Origin 8.0软件绘图。

2 结果与分析

2.1 IAA对砷胁迫下植物株高和生物量的影响

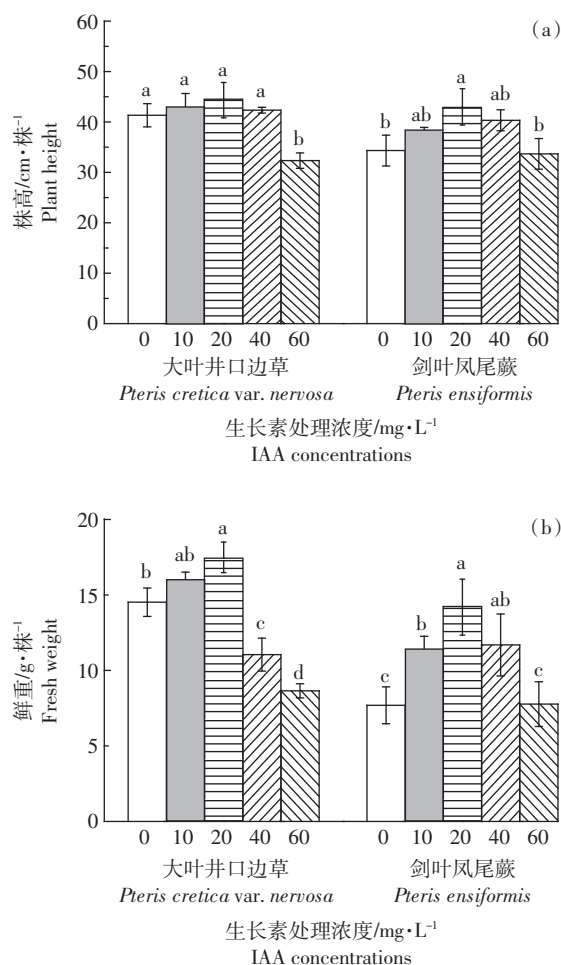
不同IAA浓度处理下,砷超富集植物大叶井口边草的株高除 $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理显著降低外,其他处理与对照相比均无显著差异($P>0.05$);非超富集植物剑

叶凤尾蕨在 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA处理下,株高显著高于对照和 $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA处理($P<0.05$),但对照与 $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理相比无显著差异(图1a)。

在 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA处理下,两种植物的鲜重均达最大值;在 40 、 $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA处理下,大叶井口边草鲜重与对照相比显著降低,而剑叶凤尾蕨在 $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA处理下与对照相比无显著变化(图1b)。双因素方差分析结果显示,两种植物之间、生长素浓度之间对植物的生物量和株高均有极显著影响($P<0.01$),两者交互作用对生物量也具有极显著影响。

2.2 IAA对植物根系形态的影响

在 $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V)胁迫下, 10 、 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA显著增加了两种植物的根长和根尖数($P<0.05$),且大叶



图中不同字母表示同一植物在不同IAA处理浓度之间的差异显著($P<0.05$)。下同

Different letters indicate a significant difference($P<0.05$) among different IAA concentrations within a plant species. The same below

图1 $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V)胁迫下IAA对植物株高和生物量的影响
Figure 1 Effects of IAA on plant biomass and height under $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ As(V) stress

井口边草的根长(图 2a)和根尖数(图 2b)显著高于剑叶凤尾蕨。在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 处理下,两种植物的根表面积均最大(图 2c)。双因素方差分析结果表明,两种植物之间、生长素处理浓度之间以及两者交互作用对植物根长、根尖数和根表面积具有极显著影响 ($P < 0.01$)。

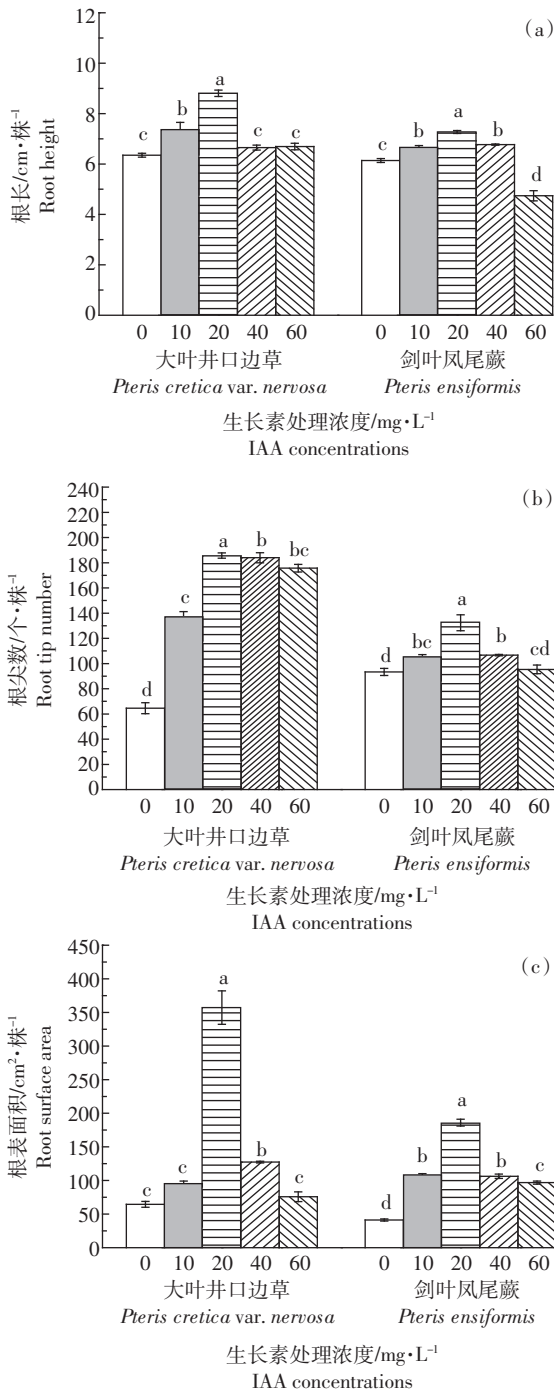


图 2 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As(V) 胁迫下 IAA 对植物根系形态的影响

Figure 2 Effect of IAA on plant root morphology under $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As(V) stress

2.3 IAA 对植物砷吸收的影响

植物培养 14 d 后,在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 处理下,大叶井口边草叶片和叶柄的砷含量均显著增加,与不加 IAA 的对照相比存在显著差异(表 1)。在 $10, 40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 处理下,大叶井口边草叶柄砷含量与对照相比显著增加,但在叶片中砷含量与对照并无显著变化;剑叶凤尾蕨叶片和叶柄砷含量在 $20 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 处理下显著增加,其余 IAA 浓度处理则与对照无显著差异。IAA 处理下,两种植物根部砷含量均未发生显著变化。

在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 处理下,大叶井口边草叶片、叶柄和根中的砷含量分别达到 $215, 323, 408 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,而剑叶凤尾蕨中只分别有 $158, 123, 186 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。与不添加 IAA 的对照相比,大叶井口边草叶片和叶柄砷含量增加了 29.5% 和 84.4%,而剑叶凤尾蕨这两个部位砷含量却增加了 165.7% 和 182.4%。

表 1 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As(V) 胁迫下 IAA 对植物各部位砷含量的影响

Table 1 Effect of IAA on As concentrations in different parts of plants under $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As(V) stress

植株部位 Plant part	IAA 处理浓度 IAA treatment/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	砷含量 As concentrations/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	
		大叶井口边草 <i>Pteris cretica</i> var. <i>nervosa</i>	剑叶凤尾蕨 <i>Pteris ensiformis</i>
叶片 Frond	0	$166.08 \pm 16.65 \text{bA}$	$59.37 \pm 11.66 \text{bB}$
	10	$192.61 \pm 9.77 \text{abA}$	$82.88 \pm 15.17 \text{abB}$
	20	$215.03 \pm 2.07 \text{aA}$	$157.72 \pm 21.81 \text{aB}$
	40	$195.84 \pm 16.65 \text{abA}$	$147.13 \pm 65.26 \text{aB}$
	60	$182.01 \pm 26.50 \text{abA}$	$84.59 \pm 10.79 \text{abB}$
叶柄 Petiole	0	$169.93 \pm 17.93 \text{bA}$	$43.48 \pm 2.10 \text{bB}$
	10	$312.57 \pm 55.01 \text{aA}$	$82.43 \pm 28.31 \text{abB}$
	20	$323.38 \pm 51.12 \text{aA}$	$122.80 \pm 51.56 \text{aB}$
	40	$313.43 \pm 75.65 \text{aA}$	$124.47 \pm 22.32 \text{aB}$
	60	$259.23 \pm 25.18 \text{abA}$	$93.37 \pm 6.27 \text{abB}$
根 Root	0	$314.75 \pm 24.87 \text{aA}$	$150.76 \pm 22.94 \text{aB}$
	10	$336.06 \pm 54.21 \text{aA}$	$178.81 \pm 16.28 \text{aB}$
	20	$408.45 \pm 42.63 \text{aA}$	$185.87 \pm 37.27 \text{aB}$
	40	$381.68 \pm 35.76 \text{aA}$	$172.45 \pm 11.74 \text{aB}$
	60	$337.96 \pm 41.3 \text{aA}$	$161.37 \pm 27.65 \text{aB}$

注:表中小写字母表示同一植物同一部位在 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As(V) 处理下不同 IAA 处理浓度之间的差异(纵向);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);同一列或行中,字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$),字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Notes: Different lowercase letters indicate difference in As concentrations among different IAA concentrations within a plant part of each plant species under $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As(V) stress (vertical, $P < 0.05$), and different capital letters indicate difference in As concentrations between two plants treated by the same concentration of IAA (horizontal, $P < 0.05$).

2.4 IAA 对植物根系活力和根细胞质膜 ATPase 酶活性的影响

在不同浓度 IAA 处理下,两种植物的根系活力与对照相比均显著增加,但大叶井口边草比剑叶凤尾蕨增加显著(图 3a, $P < 0.05$)。

两种植物根中的细胞质膜 ATPase 活性在 IAA 处理下显著增加(图 3b)。在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 处理下,大叶井口边草根细胞质膜 ATPase 活性最高,而剑叶凤尾蕨则在 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 作用下最高。在相同的 IAA 处理浓度下,大叶井口边草根细胞质膜 ATPase 活性显著高于剑叶凤尾蕨($P < 0.05$)。

2.5 IAA 对植物根系抗氧化酶活性的影响

$2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As(V) 胁迫下,IAA 处理使大叶井口边草根中的 CAT 和 SOD 活性显著增加(图 4a),但使剑叶凤尾蕨根中的 CAT 活性显著降低。除 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 处理外,其余 IAA 浓度作用下剑叶凤尾蕨根中的 SOD 活性均显著增加(图 4b)。 $20 \sim 60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 添加显著增加了大叶井口边草根中的 POD 活性,但剑叶凤尾蕨中未发生显著改变(图 4c)。从细胞膜脂过氧化产物 MDA 的生成情况看,在 $20 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 处理下,两种植物根中的 MDA 含量显著降低,但大叶井口边草降低的程度显著高于剑叶凤尾蕨($P < 0.05$) (图 4d)。双因素方差结果表明,两种植物之间、IAA 处理浓度之间以及两者交互作用对植物根中的抗氧化酶活性和 MDA 含量具有显著影响($P < 0.05$)。

2.6 逐步回归分析

令 y 为植物根部砷含量, x_1 为生长素处理浓度, x_2 为根长, x_3 为根尖数, x_4 为根表面积, x_5 为根细胞质膜 ATPase 活性, x_6 为根系活力, x_7 为 CAT 活性, x_8 为

SOD 活性, x_9 为 POD 活性, x_{10} 为 MDA 含量,对两种植物分别进行多元逐步回归分析,得到大叶井口边草根中砷含量与根系活力(x_6)显著正相关: $y = 274.495 + 164.626x_6$, $P = 0.004$, $r = 0.695$, $F = 12.179$ 。剑叶凤尾蕨则没有变量进入方程。

3 讨论

本文研究了在 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As(V) 胁迫下,IAA 对不同砷富集能力植物根系形态和生理指标的影响。结果表明, $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 显著增加了两种植物的生物量(图 1b)以及叶片和叶柄的砷含量(表 1)。在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 处理下,两种植物的根系形态有显著改善(图 2),根系活力以及根细胞质膜 ATPase 活性均显著增加(图 3a、图 3b),且大叶井口边草各指标均优于剑叶凤尾蕨; $20 \sim 60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 添加显著增加了大叶井口边草根部的 POD 活性,但剑叶凤尾蕨中未发生显著改变(图 4c)。逐步回归分析结果显示,只有大叶井口边草根中的砷含量与其根系活力显著正相关。

有研究发现,在 Pb、Zn、Cu、Cd 复合污染土壤中生长的玉米(*Z. mays*),IAA 处理显著增加了其地上部生物量,增幅为 19%^[4]。在本研究中, $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 处理下,大叶井口边草和剑叶凤尾蕨的生物量均显著增加,该结果与之一致。但在 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 作用下,两种植物的生物量显著降低,可能是高浓度的生长素抑制了植物的生长,因为植物对生长素有一定的耐受范围^[23]。

重金属胁迫下,植物根系的生长通常被抑制,包括主根的生长和侧根的形成。IAA、NAA 能够促进植物细胞的分裂、根的生长以及根表面积增加,以利于

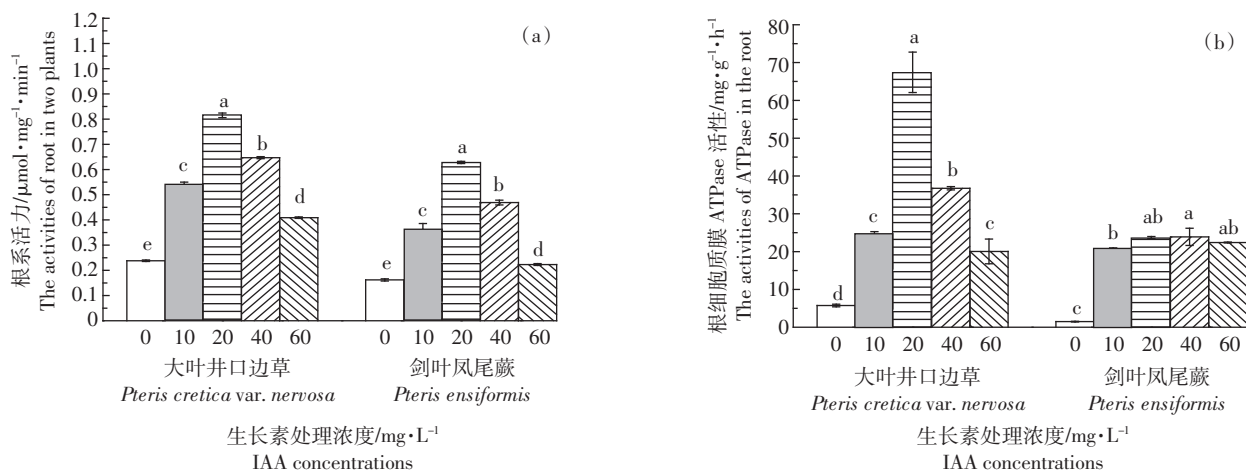


图3 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As(V) 胁迫下 IAA 对植物根系活力和根细胞质膜 ATPase 活性的影响

Figure 3 Effects of IAA on root activities and ATPase activity in root cytoplasmic membrane of plants under $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As(V) stress

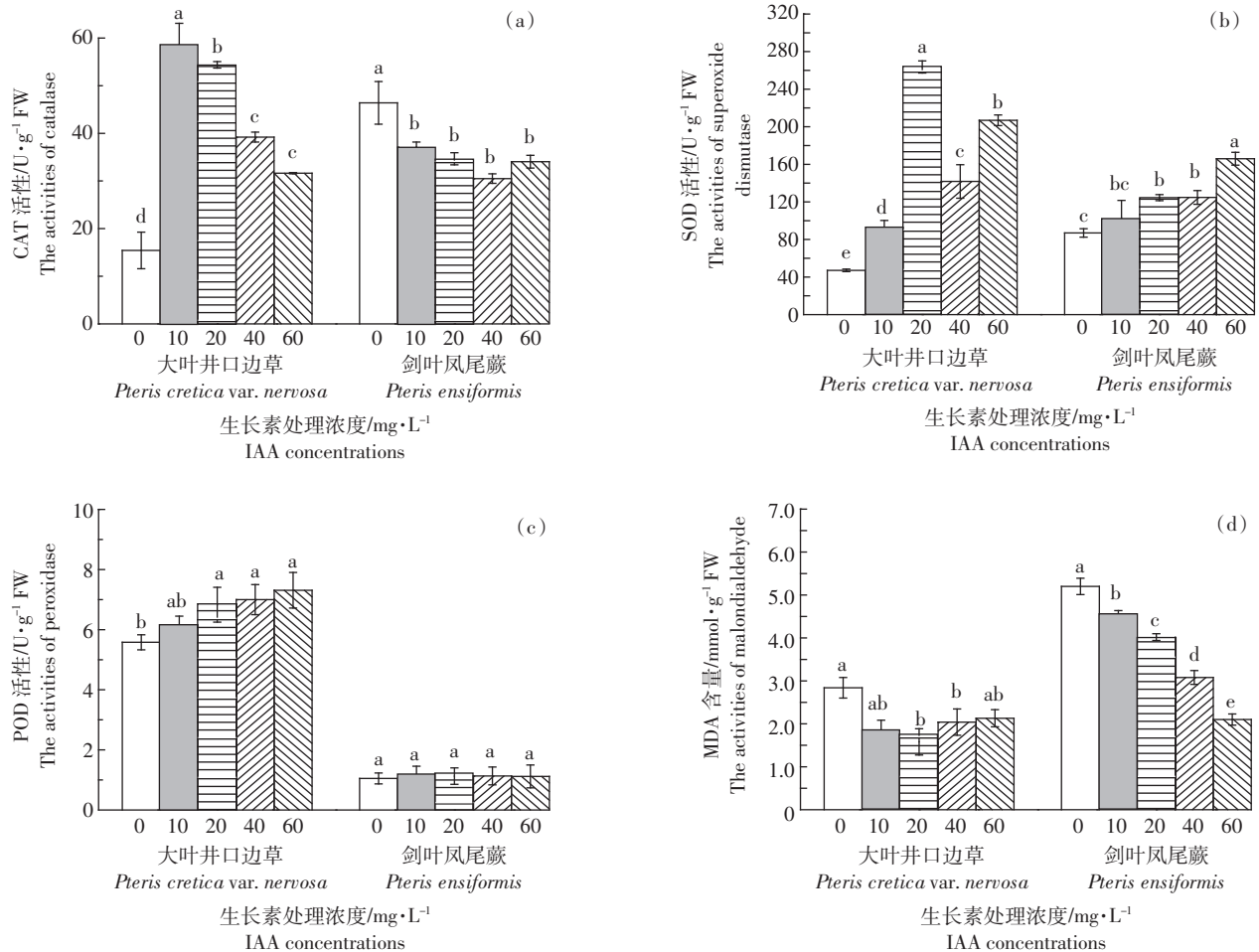


图4 2 mg·L⁻¹ As(V)胁迫下 IAA 对植物根部抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响

Figure 4 Effects of IAA on antioxidative enzyme activities and MDA content in roots of plants under 2 mg·L⁻¹ As(V) stress

其吸收重金属^[24]。本研究发现,20 mg·L⁻¹ IAA 处理显著改善了两种植物的根系形态,包括根长、根尖数和根表面积。这可能是 IAA 促进细胞分裂、分化从而促进了植物的生长^[25]。

Fässler 等^[26]对向日葵(*Helianthus annuus*)添加 10⁻¹⁰ mol·L⁻¹ IAA 后,叶片中 Pb 和 Zn 含量显著增加。外源添加一定浓度的 IAA 后,植物吸收和转运了一部分 IAA,进入植物体内的 IAA 在加强植物抵抗重金属能力的同时也提高了植物吸收重金属的能力^[27]。本研究发现,20 mg·L⁻¹ IAA 均显著增加了两种植物叶片和叶柄中的砷含量,但从增加的相对数看,超富集植物叶片和叶柄砷含量只增加了 29.5%和 84.4%,而非超富集植物却增加了 165.7%和 182.4%,而两种植物根中砷含量与对照相比均无显著增加。这说明生长素有利于非超富集植物根部的砷向地上部转移。Liu 等^[28]研究发现,100 μmol·L⁻¹ IAA 处理下超富集东南景天(*S. alfredii*)生态型地上部 Pb 含量比对照增加

了 59%,而非超富集生态型地上部却增加了 121.6%。究其原因:一方面可能是 IAA 诱导质膜上的 ATPase 酶活性,产生了离子跨膜运输的变化^[5];另一方面可能是超富集植物对砷的富集有一阈值,超过该阈值,转运砷的速率变缓,而非超富集植物对砷的吸收尚未饱和,还有较大的提升空间。关于 IAA 更有利于非超富集植物根部砷向地上转运的机理还需进一步研究。

根系活力是植物生长的一个重要生理指标,可反映植株的生长健壮程度和抗逆能力^[29]。本研究发现,不同浓度 IAA 处理下,两种植物的根系活力显著增加,但大叶井口边草增加的程度显著高于剑叶凤尾蕨;而在高浓度处理下两种植物的根系活力均有回落,但仍显著高于对照。田俊霞等^[30]发现当 IAA 浓度为 200 mg·L⁻¹时,月季(*Rosa chinensis*)扦插植株根系活力最大(73 μg·g⁻¹·h⁻¹),根系生长较好,可能是 IAA 促进细胞分裂和维管束的分化,形成不定根和侧根,使植物旺盛生长,从而具有较高的根系活力。

在 IAA 作用下, 两种植物根细胞质膜 ATPase 酶活性显著增加。有研究发现 IAA 可以激活细胞质膜上的 H^+ -ATPase^[31], 使 IAA 的转运加快。对烟草 (*Nicotiana tabacum*) 和玉米 (*Z. mays*) 的研究发现, 定位于细胞膜的 ABP1 蛋白通过激活膜上的 H^+ -ATPases 参与生长素对细胞伸长的促进, 而 H^+ -ATPases 向胞外泵出质子, 导致细胞壁的酸化松弛, 从而使细胞以膨胀的方式伸长^[32]。

IAA 显著增加了植物一些抗氧化酶的活性, 以减少重金属的毒性, 如 CAT 活性的增加有利于清除细胞内出现的活性氧^[9]。本研究中, 不同浓度 IAA 处理使大叶井口边草根中的 CAT 和 SOD 活性显著增加, 剑叶凤尾蕨在 20~60 $mg \cdot L^{-1}$ IAA 处理时 SOD 活性增加, 而 CAT 活性则显著降低, 说明大叶井口边草清除 ROS 的能力比剑叶凤尾蕨强。添加 20~60 $mg \cdot L^{-1}$ IAA 后大叶井口边草根中 POD 的活性显著增加。一方面, POD 可以调节活性氧的水平, 催化过氧化物参与的各种氧化反应^[33]; 另一方面, POD 可以分解 IAA, 使植物体内的 IAA 保持动态平衡^[34]。因此, 大叶井口边草根中由 IAA 诱导的较高的 POD 活性和高的根系活力可能有利于其富集更多的重金属。但是, 外源 IAA 未改变剑叶凤尾蕨根中 POD 的活性。在 2 $mg \cdot L^{-1}$ As (V) 胁迫下, 当不添加 IAA 时, 大叶井口边草和剑叶凤尾蕨地上部生物量(叶片加叶柄干重)分别为 1.17、0.57 $g \cdot 株^{-1}$, 地上部砷含量分别为 336.01、102.85 $mg \cdot kg^{-1}$, 大叶井口边草砷去除率为 19.66%, 剑叶凤尾蕨砷去除率仅为 2.93%(假定每盆种 1 株)。但是, 添加 20 $mg \cdot L^{-1}$ 的 IAA 后, 大叶井口边草和剑叶凤尾蕨地上部生物量(叶片加叶柄干重)分别增至 1.57、1.03 $g \cdot 株^{-1}$, 其地上部砷含量也分别增至 538.41、280.52 $mg \cdot kg^{-1}$, 此时大叶井口边草砷去除率为 42.27%, 剑叶凤尾蕨也增至 14.45%。与不加 IAA 相比, 两种植物的砷去除效率分别提高了 22.61% 和 11.52%。因此, IAA 的添加使两种植物都增加了对砷的去除, 但大叶井口边草增加更为明显。一般认为植物修复效率取决于植物重金属含量和生物量^[35]。因此从应用的角度看, 在砷污染土壤和水体的植物修复实践中, 可以考虑施用合适浓度的 IAA, 以达到植物生物量和砷吸收量的双赢。

4 结论

(1) 20 $mg \cdot L^{-1}$ 的 IAA 处理使两种植物的生物量显著增加, 同时, 大叶井口边草根系活力、根细胞质膜 ATPase 酶活性以及叶片和叶柄砷含量显著增加并高

于剑叶凤尾蕨。

(2) 20~60 $mg \cdot L^{-1}$ IAA 处理下, 大叶井口边草根中的 CAT、SOD 和 POD 活性显著增加, 而剑叶凤尾蕨根中的 CAT 活性显著降低, SOD 活性显著增加, POD 活性则无显著变化。20~40 $mg \cdot L^{-1}$ IAA 处理下, 两种植物根中的 MDA 含量显著降低, 且大叶井口边草显著低于剑叶凤尾蕨。

(3) 大叶井口边草根中砷含量与根系活力呈显著正相关, 而剑叶凤尾蕨根中砷含量与各变量无关。因此, 保持较高的根系活力有助于大叶井口边草超量富集砷。

致谢: 衷心感谢昆明理工大学环境科学与工程学院潘波教授协助修改润色英文摘要。

参考文献:

- [1] Bertin C, Yang X, Weston L A. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere[J]. *Plant & Soil*, 2003, 256(1): 67-83.
- [2] 吕 剑, 喻景权. 植物激素的作用机制[J]. *植物生理学通讯*, 2004, 40(5): 624-628.
LÜ Jian, YU Jing-quan. Mechanism of auxin action[J]. *Plant Physiology Communications*, 2004, 40(5): 624-628.
- [3] Han M M, Hu F, Wang K, et al. Effects of different kinds of exogenous auxin on the growth of rice roots under cadmium stress[J]. *Agricultural Science & Technology-Hunan*, 2010, 11(7): 45-48.
- [4] 周建民, 党 志, 陈能场, 等. 3-吡啶乙酸协同螯合剂强化植物提取重金属的研究[J]. *环境科学*, 2007, 28(9): 2085-2088.
ZHOU Jian-min, DANG Zhi, CHEN Neng-chang, et al. Enhanced phytoextraction of heavy metal contaminated soil by chelating agents and auxin indole-3-acetic acid[J]. *Environmental Science*, 2007, 28(9): 2085-2088.
- [5] Altabella T, Chrispeels M J. Tobacco plants transformed with the bean alphaai gene express an inhibitor of insect alpha-amylase in their seeds [J]. *Plant Physiology*, 1990, 93(2): 805-810.
- [6] Hu Y F, Zhou G, Na X F, et al. Cadmium interferes with maintenance of auxin homeostasis in *Arabidopsis* seedlings[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2013, 170(11): 965-975.
- [7] Kanwar M K, Bhardwaj R, Arora P, et al. Plant steroid hormones produced under Ni stress are involved in the regulation of metal uptake and oxidative stress in *Brassica juncea* L.[J]. *Chemosphere*, 2012, 86(1): 41-49.
- [8] Ranieri A, Castagna A, Sceba F, et al. Oxidative stress and phytochelatin characterisation in bread wheat exposed to cadmium excess [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2005, 43(1): 45-54.
- [9] 胡拥军, 王海娟, 王宏宾, 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.

- [10] 向言词, 官春云, 黄 璜, 等. 3-吲哚乙酸和水杨酸对芥菜型油菜耐受/积累铅的影响[J]. 湖南科技大学学报:自然科学版, 2008, 23(4):103-106.
- XIANG Yan-ci, GUAN Chun-yun, HUANG Huang, et al. The effect of indole-3-acetic acid and salicylic acid on tolerance and accumulation for lead in seedlings of *Brassica juncea*[J]. *Journal of Hunan University of Science and Technology (Natural Science Edition)*, 2008, 23(4):103-106.
- [11] Beffa R, Martin H V, Pilet P E. In vitro oxidation of indoleacetic acid by soluble auxin-oxidases and peroxidases from maize roots[J]. *Plant Physiology*, 1990, 94(2):485-491.
- [12] Srivastava M, Ma L Q, Singh N, et al. Antioxidant responses of hyper-accumulator and sensitive fern species to arsenic[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56(415):1335-1342.
- [13] Forino L M C, Castiglione M R, Bartoli G, et al. Arsenic-induced morphogenic response in roots of arsenic hyperaccumulator fern *Pteris vittata*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 235/236(20):271-278.
- [14] 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.
- [15] Robinson B H, Lombi E, Zhao F J, et al. Uptake and distribution of nickel and other metals in the hyperaccumulator *Berkheya coddii*[J]. *New Phytologist*, 2003, 158(2):279-285.
- [16] Tu C, Ma L Q, Zhang W, et al. Arsenic species and leachability in the fronds of the hyperaccumulator Chinese brake (*Pteris vittata* L.)[J]. *Environmental Pollution*, 2003, 124(2):223-230.
- [17] 张中峰, 张金池, 黄玉清, 等. 水分胁迫和接种菌根真菌对青冈栎根系形态的影响[J]. 生态学杂志, 2015, 5(5):1198-1204.
- ZHANG Zhong-feng, ZHANG Jin-chi, HUANG Yu-qing, et al. Effects of water stress and mycorrhizal fungi on root morphology of *Cyclobalanopsis glauca* seedlings[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2015, 5(5):1198-1204.
- [18] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 三版. 北京:高等教育出版社, 1990:34, 123.
- ZHANG Zhi-liang. *Plant physiology experiment guidance*[M]. Third edition. Beijing: Higher Education Press, 1990:34, 123.
- [19] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社, 2006:66-68.
- GAO Jun-feng. *Plant physiology experiment guidance*[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006:66-68.
- [20] Aebi H. Catalase *in vitro*[J]. *Methods in Enzymology*, 1984, 105:121-126.
- [21] Durak I, Yurtarslan Z, Canbolat O, et al. A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction[J]. *Clinica Chimica Acta*, 1993, 214(1):103-104.
- [22] Liao J H, Li J M, Li Y F, et al. Analysis for measuring peroxidase activity in wheat seeds[J]. *Research on Crops*, 2014, 15(2):352-357.
- [23] Salisbury F B, Ross C W. *Plant physiology*[M]. Belmont, California: Wadsworth Publishing Company, 1992.
- [24] Magidin M, Pittman J K, Hirschi K D, et al. *ILR2*, a novel gene regulating IAA conjugate sensitivity and metal transport in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Journal*, 2003, 35(4):523-534.
- [25] Xiang D F, Harberd N P. Auxin promotes *Arabidopsis* root growth by modulating gibberellin response[J]. *Nature*, 2003, 421(6924):740-743.
- [26] Fässler E, Evangelou M W, Robinson B H, et al. Effects of indole-3-acetic acid (IAA) on sunflower growth and heavy metal uptake in combination with ethylene diamine disuccinic acid (EDDS)[J]. *Chemosphere*, 2010, 80(8):901-907.
- [27] Ouzounidou G, Ilias I. Hormone-induced protection of sunflower photosynthetic apparatus against copper toxicity[J]. *Biologia Plantarum*, 2005, 49(2):223-228.
- [28] Liu D, Li T, Yang X, et al. Enhancement of lead uptake by hyper-accumulator plant species *Sedum alfredii* Hance using EDTA and IAA[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2007, 78(3):280-283.
- [29] 王学奎, 黄见良. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 三版. 北京:高等教育出版社, 2015:123-124.
- WANG Xue-kui, HUANG Jian-liang. *Plant physiological and biochemical experiment principle and technology*[M]. Third edition. Beijing: Higher Education Press, 2015:123-124.
- [30] 田俊霞, 陈小玲, 王 威, 等. 不同浓度 IAA 和水杨酸对月季水生根系诱导的影响[J]. 现代园艺, 2015, 9:16-19.
- TIAN Jun-xia, CHEN Xiao-ling, WANG wei, et al. The influence of different concentrations of IAA and salicylic acid on *Rosa chinensis* Jacq root induction[J]. *Modern Gardening*, 2015, 9:16-19.
- [31] Altabella T, Palazon J, Ibarz E, et al. Effect of auxin concentration and growth phase on the plasma membrane H⁺-ATPase of tobacco calli[J]. *Plant Science*, 1990, 70(90):209-214.
- [32] 张新蕊. 生长素和赤霉素参与调节低磷胁迫下玉米根系形态的改变[D]. 济南:山东大学, 2011:15-16.
- ZHANG Xin-rui. Auxin and gibberellins involved in the changes of maize root morphology during phosphorous starvation[D]. Jinan: Shandong University, 2011:15-16.
- [33] Verma S, Dubey R S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants[J]. *Plant Science*, 2003, 164(4):645-655.
- [34] Gazaryan I, Lagrimini L, Ashby G, et al. Mechanism of indole-3-acetic acid oxidation by plant peroxidases: Anaerobic stopped-flow spectrophotometric studies on horseradish and tobacco peroxidases[J]. *Biochemical Journal*, 1996, 313:841-847.
- [35] Blaylock M J, Salt D E, Dushenkov S, et al. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents[J]. *Environmental Science & Technology*, 1997, 31(31):860-865.