

李荟星. 硅对砷胁迫下烟草叶绿素荧光特性的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(8): 92–95.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.08.021

# 硅对砷胁迫下烟草叶绿素荧光特性的影响

李荟星<sup>1,2,3</sup>

(1. 福建农林大学资源与环境学院, 福建福州 350002; 2. 福建省土壤环境健康与调控重点实验室, 福建福州 350002;

3. 福建省三明市农田建设与土肥技术推广站, 福建三明 365000)

**摘要:**为揭示硅对砷胁迫下烟草叶绿素荧光特性的影响, 以漂浮育苗的云烟 87 为试材, 以  $\text{Na}_3\text{AsO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  为砷源,  $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  为硅源开展水培试验, 试验设置 5 个处理; 对照 (CK)、0.25 mmol/L  $\text{As}^{5+}$  ( $\text{As}_{0.25}$ )、0.35 mmol/L  $\text{As}^{5+}$  ( $\text{As}_{0.35}$ )、1.0 mmol/L  $\text{SiO}_2$  + 0.25 mmol/L  $\text{As}^{5+}$  ( $\text{As}_{0.25} + \text{Si}$ )、1.0 mmol/L  $\text{SiO}_2$  + 0.25 mmol/L  $\text{As}^{5+}$  ( $\text{As}_{0.35} + \text{Si}$ )。结果表明, 砷胁迫下烟草  $\varphi_{\text{PSII}}$ 、 $F_v/F_m$ 、 $S_m$ 、 $\varphi_{\text{Eo}}$ 、 $\psi_o$  显著或极显著降低, 说明砷胁迫导致 PS II 反应中心受损, 受体侧 PQ 库容量变小, 电子传递受到抑制, 从而使电子传递速率下降。硅可使砷胁迫下烟草光反应中心保持较高的活性, 使无效能利用所引起的热耗散 ( $DI_o/RC$ ) 降低, 对光合器官的结构性能参数 ( $PI_{\text{ABS}}$ ) 和单位反应中心的电子传递能力 ( $ET_o/RC$ ) 均有增加。

**关键词:**砷胁迫; 烟草; 硅; 叶绿素荧光特性

**中图分类号:** S572.01

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1002-1302(2019)08-0092-04

近年来, 土壤砷污染问题严重, 且威胁生态环境和人体健康<sup>[1]</sup>。烟草是我国重要的经济作物<sup>[2]</sup>, 土壤砷会抑制烤烟的生长发育, 导致其生育期延迟, 株高、叶片数和叶面积减少, 产量降低<sup>[3]</sup>。含砷烟草中的砷在抽吸过程中会进入人体, 对人体造成危害<sup>[4]</sup>。由于烟草砷污染的风险, 美国食品和药品管理局已将砷列为烟草制品及烟雾中的有害物质<sup>[5]</sup>。我国香烟抽样检测中砷的平均含量为 0.82 mg/kg, 高于加拿大产品 2~3 倍<sup>[6]</sup>。因此, 烟草砷污染的防治工作成为了人们关注的一大热点问题。

目前, 硅元素虽未被认定为高等植物的必需营养元素<sup>[7]</sup>, 但已有许多研究表明, 硅对作物的非生物胁迫 (重金属、盐胁迫等)<sup>[8]</sup> 和生物胁迫 (病虫害)<sup>[9]</sup> 有一定的缓解作用。加硅可显著抑制水稻<sup>[10-16]</sup>、小麦<sup>[17]</sup>、玉米<sup>[18-19]</sup>、生菜<sup>[20]</sup>、番茄<sup>[21]</sup> 对砷的吸收和转运。Hu 等<sup>[11]</sup> 和 Sanglard 等<sup>[14]</sup> 的研究结果均表明, 砷胁迫会导致水稻作用净光合速率降低, 而硅可提高砷胁迫下水稻净光合速率。Silva 等<sup>[19]</sup> 的研究表示, 砷胁迫下施  $\text{K}_2\text{SiO}_3$  能减少玉米叶绿体的损坏, 提高玉米叶绿素 a、总叶绿素含量和光合速率。然而, 该研究采用  $\text{K}_2\text{SiO}_3$  作为硅源, 没有消除处理间  $\text{K}^+$  差异所带来的影响, 有研究表明,  $\text{K}^+$  会降低砷胁迫下独行菜 (*Lepidium sativum* Linn.) 对砷的吸收<sup>[22]</sup>, 因此该研究不能得出硅影响砷叶绿荧光的结论。目前, 关于硅对砷胁迫下烟草光合荧光参数的影响鲜见报道。因此, 本研究通过水培试验, 探究硅对砷胁迫下烟草叶绿素荧

光参数的影响和机制, 以期对烟草安全生产提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

水培试验于福建农林大学资源与环境学院盆栽房, 自然光、温条件下进行。供试烟草品种为云烟 87, 选取漂浮育苗生长至 6 片真叶的烟苗, 将烟苗用海绵固定在具孔的塑料板上, 放置在盛有 9 L 营养液的黑色聚乙烯塑料桶上, 每桶植烟 4 株。培养液采用 1/2 浓度 Hoagland 营养液, 并加入 Arnon 配方的微量元素 (铁为 FeEDTA), 烟苗培养 3 周后间苗至 2 株, 在前期预备试验的基础上, 设置 5 个处理, 分别为: 对照 (CK)、0.25 mmol/L  $\text{As}^{5+}$  ( $\text{As}_{0.25}$ )、0.35 mmol/L  $\text{As}^{5+}$  ( $\text{As}_{0.35}$ )、1.0 mmol/L  $\text{SiO}_2$  + 0.25 mmol/L  $\text{As}^{5+}$  ( $\text{As}_{0.25} + \text{Si}$ )、1.0 mmol/L  $\text{SiO}_2$  + 0.25 mmol/L  $\text{As}^{5+}$  ( $\text{As}_{0.35} + \text{Si}$ )。每个处理重复 5 次。以  $\text{Na}_3\text{AsO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  作为砷源,  $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  作为硅源, 用已知浓度的 NaCl 消除因添加  $\text{Na}_3\text{AsO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  所带来的钠离子影响, 使各处理的钠离子浓度一致。营养液 pH 值用 NaOH 和 HCl 溶液调节至  $6.5 \pm 0.2$ , 每 7 d 换 1 次营养液, 每 2 天调 1 次 pH 值, 用电动泵每隔 1 h 通气 1 h。

### 1.2 测定方法

烟草培育 35 d 时采样, 此时  $\text{As}_{0.25}$ 、 $\text{As}_{0.35}$  处理表现出植株矮小、叶色黄化和萎蔫的症状,  $\text{As}_{0.25} + \text{Si}$  和  $\text{As}_{0.35} + \text{Si}$  处理烟株虽也有相同的症状, 但叶片黄化和萎蔫的程度明显较  $\text{As}_{0.25}$  和  $\text{As}_{0.35}$  处理轻。选择烟株从上往下数的第 3 片叶用于测定叶绿素荧光参数。

**1.2.1 叶绿素荧光参数** 采用植物效率分析仪 (Plant Efficiency Analyzer, PEA Hansatech, UK) 测定, 测定前叶片预先暗适应。

**1.2.2 快速诱导动力学曲线测量及 JIP-test 参数** 采用便

收稿日期: 2018-09-26

基金项目: 中国烟草总公司福建省公司科研项目 (编号: 闽烟合同 [2013] 63 号); 福建农林大学科技创新专项基金 (编号: 105/KF2015072)。

作者简介: 李荟星 (1991—), 女, 江苏丹阳人, 硕士, 助理农艺师, 研究方向为植物营养生态。E-mail: 279341018@qq.com。

携式植物效率分析仪 PEA (Handy - PEA, 英国汉莎科学公司 JIP - test 计算的荧光参数能够为光合器官的结构性能提供大生产) 测量荧光诱导动力学曲线。根据 Srivastava 等<sup>[23]</sup> 量的动力学信息。计算公式见表 1。

表 1 OJIP 分析中使用的参数及生物学意义

荧光参数(公式)	生物学意义
$F_o$	最小荧光
$F_m$	最大荧光
$V_J = (F_{2\text{ ms}} - F_o) / (F_m - F_o)$	在 J 点的相对可变荧光, 反映反应中心关闭程度
$M_o = 4(F_{300\text{ ms}} - F_o) / (F_m - F_o)$	诱导曲线的初始斜率
$S_m = \text{Area} / (F_m - F_o)$	标准化后的 OJIP 荧光诱导曲线和 $F = F_m$ 之间的面积
$\varphi_{P_0} = TR_o / ABS = (1 - F_o) / F_m = F_v / F_m$	最大光化学效率(在 $t = 0$ 时)
$\psi_o = ET_o / TR_o = 1 - V_J$	反映反应中心开放程度
$\varphi_{E_0} = ET_o / ABS = \varphi_{P_0} \cdot \psi_o$	用于电子传递的量子产额(在 $t = 0$ 时)
$ABS / RC = M_o \cdot (1 / V_J) \cdot (1 / \varphi_{P_0})$	单位反应中心功能天线色素大小
$TR_o / RC = M_o \cdot (1 / V_J)$	单位反应中心用于还原 QA 的能量
$ET_o / RC = M_o \cdot (1 / V_J) \cdot \psi_o$	单位反应中心捕获的用于电子传递的能量
$DI_o / RC = ABS / RC - TR_o / RC$	单位反应中心的非辐射能量耗散
$PI_{ABS} = (RC / ABS) \cdot [\varphi_{P_0} / (1 - \varphi_{P_0})][\psi_o / (1 - \psi_o)]$	结构性能参数

2 结果与分析

2.1 硅对砷胁迫下烟草叶绿素荧光参数

表 2 显示, 与 CK 相比,  $As_{0.25}$ 、 $As_{0.35}$  处理的 PS II 光化学量子效率 ( $\varphi_{PSII}$ )、最大荧光 ( $F_m$ )、PS II 最大光化学量子产量 ( $F_v / F_m$ ) 因砷胁迫而降低, 分别降低了 28.94% ~ 47.14%、

33.20% ~ 45.41%、12.88% ~ 22.11%, 但叶片初始荧光强度 ( $F_o$ ) 无显著差异。加硅显著或极显著地提高了砷胁迫下烟草的  $\varphi_{PSII}$ 、 $F_m$ 、 $F_v / F_m$ , 与  $As_{0.25}$ 、 $As_{0.35}$  处理相比,  $As_{0.25} + Si$ 、 $As_{0.35} + Si$  处理的  $\varphi_{PSII}$ 、 $F_m$ 、 $F_v / F_m$  分别提高了 15.18%、28.18%、4.76% 和 12.59%、56.51%、18.25%。

表 2 硅对砷胁迫下烟草叶片荧光参数的影响

处理	$\varphi_{PSII}$	$F_m$	$F_o$	$F_v / F_m$
CK	0.479 ± 0.027Aa	1 191.7 ± 26.3Aa	191.333 ± 18.502Aa	0.840 ± 0.013Aa
$As_{0.25}$	0.341 ± 0.014Cc	796.0 ± 64.3Cc	246.500 ± 39.349Aa	0.732 ± 0.047BCb
$As_{0.25} + Si$	0.392 ± 0.009Bb	974.0 ± 21.7Bb	221.333 ± 24.194Aa	0.766 ± 0.027ABb
$As_{0.35}$	0.253 ± 0.003De	650.5 ± 96.4Dd	222.000 ± 21.087Aa	0.654 ± 0.055Cc
$As_{0.35} + Si$	0.285 ± 0.004Dd	867.7 ± 23.3BCc	197.000 ± 38.158Aa	0.773 ± 0.040ABab

注: 数据后不同大、小写字母者分别表示 0.01 和 0.05 水平的差异显著性。下同。

2.2 硅对砷胁迫下烟草叶绿素荧光 O - J - I - P 曲线的影响

叶绿素荧光 O - J - I - P 曲线被认为是可以提供受损植物光合作用更详细的信息<sup>[26]</sup>。图 1 为硅对砷胁迫下各处理烟草叶片 O - J - I - P 曲线。随着营养液供砷浓度的增加, 动力学曲线的 I 点 ( $F_{30\text{ ms}}$ ) 和 P 点荧光 ( $F_m$  值) 下降幅度增大, 而加硅的  $As_{0.25} + Si$ 、 $As_{0.35} + Si$  处理与  $As_{0.25}$ 、 $As_{0.35}$  处理比较, 缓解了 I 点和 P 点的下降 (图 1)。

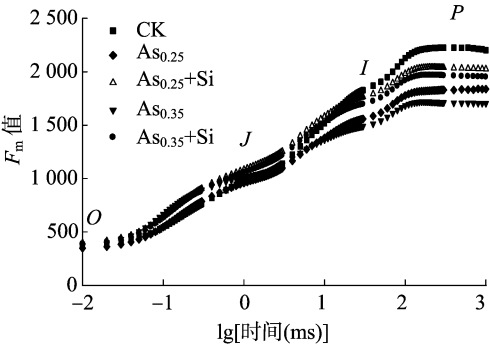


图 1 硅对砷胁迫下烟草叶片 O - J - I - P 曲线的影响

2.3 硅对砷胁迫下烟草 JIP - test 参数的影响

对快速诱导叶绿素荧光曲线进行 JIP - test 分析, 可得出系列反映烟草光合器官结构和功能的信息<sup>[24]</sup>。由图 2 可

以看出, 随着营养液供砷浓度的增加, 与 CK 处理相比,  $As_{0.25}$ 、 $As_{0.35}$  处理的  $M_o$ 、 $S_m$ 、 $\varphi_{E_0}$ 、 $\psi_o$ 、 $PI_{ABS}$  都有显著或极显著的降低,  $M_o$  无明显差异, 而  $V_J$  极显著升高。  $As_{0.25} + Si$ 、 $As_{0.35} + Si$  处理的  $S_m$ 、 $\varphi_{E_0}$ 、 $\psi_o$ 、 $PI_{ABS}$ 、 $V_J$  分别较  $As_{0.25}$ 、 $As_{0.35}$  处理都有显著或极显著的升高,  $M_o$  则无明显变化。

2.4 硅对砷胁迫下烟草 JIP - tes 光合作用能量流动分配的影响

砷胁迫降低 PS II 反应中心吸收光能的能力 ( $ABS / RC$ )、反应中心用于还原 QA 的能量 ( $TR_o / RC$ ) 和反应中心用于电子传递的能量 ( $ET_o / RC$ ), 而热耗散 ( $DI_o / RC$ ) 无明显差异 (图 3), 硅可降低砷胁迫下烟草 PS II 热耗散 ( $DI_o / RC$ ), 提高反应中心的电子传递能力 ( $ET_o / RC$ ) (图 3) 和光合器官的结构性能 ( $PI_{ABS}$ ) (图 2)。

2.5 硅对砷胁迫下烟草光化学猝灭系数的影响

光化学猝灭系数 ( $q_p$ ) 反映了 PSII 原初电子受体  $Q_A$  的还原状态和 PSII 开放中心的数目<sup>[25]</sup>, 而非光化学猝灭系数 (NPQ) 反映了 PSII 天线色素吸收的光能以热耗散的形式耗散掉的部分<sup>[27]</sup>。与 CK 处理相比 (图 4),  $As_{0.25}$ 、 $As_{0.35}$  处理的  $q_p$  降低了 26.78% ~ 44.25%, NPQ 增大了 52.56% ~ 143.77%。与  $As_{0.25}$ 、 $As_{0.35}$  处理比较,  $As_{0.25} + Si$ 、 $As_{0.35} + Si$  处理的  $q_p$  分别提高了 17.89% 和 20.89%,  $q_N$  分别下降了 13.81% 和 28.02%。

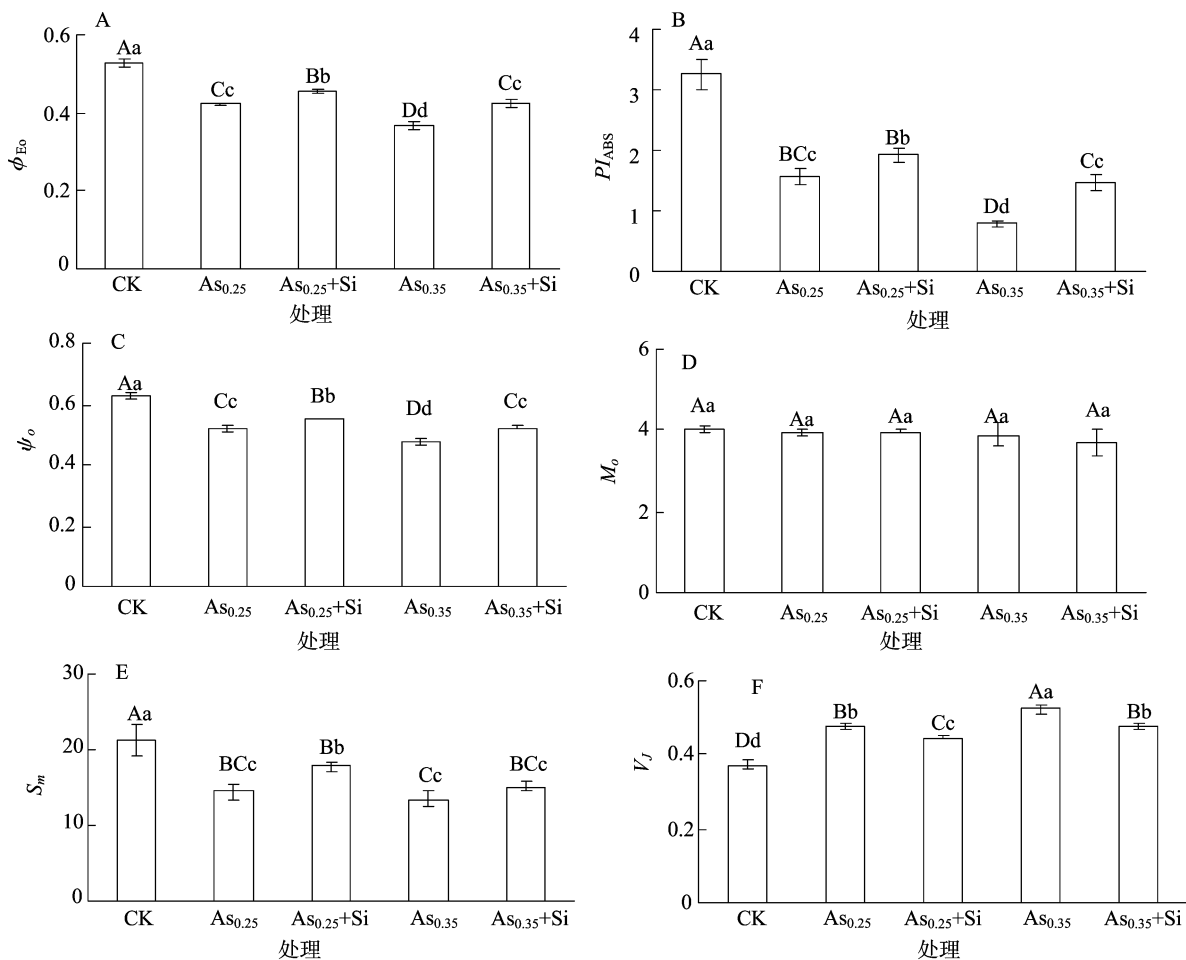


图2 硅对砷胁迫下烟草叶片 JIP-test 参数的影响

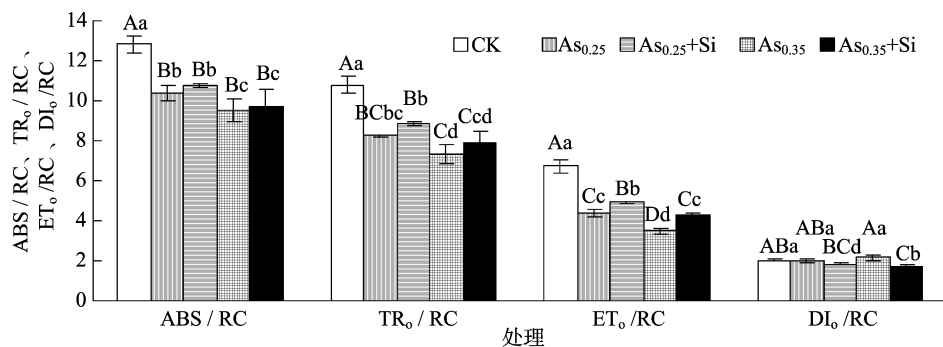


图3 硅对砷胁迫下烟草光合作用能量流动分配的影响

### 3 讨论与结论

光合作用中各个反应过程与叶绿素荧光有着密不可分的关系,所有逆境对光合作用的影响都可通过叶绿素荧光诱导动力学参数的变化表达出来<sup>[26-27]</sup>。已有研究表明<sup>[24]</sup>,  $O-J-I-P$  曲线中的  $I$  期代表了  $QA^-QB$  (质体醌  $A^-$  和质体醌  $B$ ) 的积累,而  $I$  期和  $P$  期分别代表  $PQ$  库的异质性和  $QB$  从  $QA^-$  接受电子形成  $QB^{2-}$  的能力。图 1 中砷胁迫下  $I/P$  点的下降表明,砷胁迫会抑制电子由  $QA^-$  向  $PQ$  的传递,进而影响  $PS II$  反应,加硅可以减轻砷胁迫对电子传递的抑制作用。 $M_o$ 、 $S_m$ 、 $\phi_{E_0}$  反映  $PS II$  受体侧的变化, $M_o$  表示  $QA$  的最大还原速率, $S_m$  反映  $QA$  还原所需要的能量, $\phi_{E_0}$  反映光能用于电子

传递的量子产额<sup>[24]</sup>。砷胁迫会导致烟草  $PS II$  反应中心受体侧  $PQ$  库容量 ( $S_m$ ) 变小,电子传递速率 ( $\phi_{E_0}$ ) 下降,而加硅可提高砷胁迫下烟草的  $S_m$ ,使更多的电子从  $QA^-$  进入电子传递链(图 2)。砷胁迫会导致烟草  $PS II$  电子传递活性减小,电子传递受阻且以热耗散掉的光能增加,硅可优化砷胁迫下烟草激发能的分配,降低非光化学的淬灭能量,从而提高光能利用效率(图 3、图 4)。

由此可以推测,砷抑制烟草生长发育的一部分原因是由于光合作用中  $PS II$  反应中心受损。研究表明<sup>[28]</sup>, 砷会竞争性地占据  $PS II$  位于  $D_1$  蛋白上的  $QB$  的结合位,从而阻断从  $QA$  到  $QB$  的电子传递。砷胁迫下烟草叶绿素荧光参数的降低,受体侧  $PQ$  库容量变小,抑制光合电子由  $QA^-$  往下的传递,从

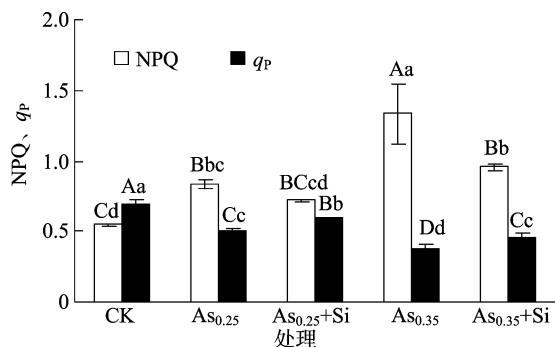


图4 硅对砷胁迫下烟草叶片荧光猝灭系数的影响

而导致电子传递速率下降(表2、图1、图2)。同时,加硅可缓解烟草的砷胁迫,其可能原因是:提高PSⅡ反应中心的活性。在光合电子传递过程中,硅能优化激发能的分配,使非光化学能量猝灭减少,无效能利用引起的热耗散( $DI_0/RC$ )降低,因此提高了单位反应中心的电子传递能力( $ET_0/RC$ )和光合器官的结构性能( $PI_{ABS}$ ),提高了砷胁迫下烟草最大光化学效率(图2、图3、图4)。

#### 参考文献:

- [1] 纪冬丽,孟凡生,薛浩,等. 国内外土壤砷污染及其修复技术现状与展望[J]. 环境工程技术学报,2016,6(1):90-99.
- [2] Zvolbo G, Hu H, Shang S, et al. The effects of phosphate on arsenic uptake and toxicity alleviation in tobacco genotypes with differing arsenic tolerances[J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 2015, 34(1):45-52.
- [3] 常思敏,马新明,赵献章. 砷对烤烟生长发育及其产量和品质的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2007,35(8):165-170.
- [4] 吴玉萍,夏振远,杨虹琦,等. 烤烟中砷的检测及砷在烤烟不同部位中的含量[J]. 中国烟草学报,2008,14(2):35-38.
- [5] FDA. Harmful and potentially harmful constituents in tobacco products and tobacco smoke[EB/OL]. [2018-06-10]. <http://www.fda.gov/TobaccoProducts/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/ucm297786.htm>.
- [6] O'Connor R J, Li Q, Stephens W E, et al. Cigarettes sold in China: design, emissions and metals[J]. Tob Control, 2010, 19:47-53.
- [7] Gong H J, Chen K M. The regulatory role of silicon on water relations, photosynthetic gas exchange, and carboxylation activities of wheat leaves in field drought conditions[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2012, 34(4):1589-1594.
- [8] Balakhnina T I, Bulak P, Matichenkov V V, et al. The influence of Si-rich mineral zeolite on the growth processes and adaptive potential of barley plants under cadmium stress[J]. Plant Growth Regulation, 2015, 75(2):557-565.
- [9] Ma J F, Yamaji N. Silicon uptake and accumulation in higher plants[J]. Trends in Plant Science, 2006, 11(8):392-397.
- [10] Guo W, Hou Y L, Wang S G, et al. Effect of silicate on the growth and arsenate uptake by rice (*Oryza sativa* L.) seedlings in solution culture[J]. Plant & Soil, 2005, 272:173-181.
- [11] Hu H, Zhang J, Wang H, et al. Effect of silicate supplementation on the alleviation of arsenite toxicity in 93-11 (*Oryza sativa* L. indica)[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2013,

20(12):8579-8589.

- [12] Liu W J, McGrath S P, Zhao F J. Silicon has opposite effects on the accumulation of inorganic and methylated arsenic species in rice[J]. Plant and Soil, 2014, 376(1):423-431.
- [13] Tripathi P, Tripathi R D, Singh R P, et al. Silicon mediates arsenic tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) through lowering of arsenic uptake and improved antioxidant defence system[J]. Ecological Engineering, 2013, 52(2):96-103.
- [14] Sanglard L M, Martins S C, Detmann K C, et al., et al. Silicon nutrition alleviates the negative impacts of arsenic on the photosynthetic apparatus of rice leaves: an analysis of the key limitations of photosynthesis[J]. Physiologia Plantarum, 2014, 152(2):355-366.
- [15] 石孟春. 硅对水稻砷吸收与毒害的影响效应研究[D]. 南宁:广西大学, 2008:13-26.
- [16] 李 懋. 硅和秸秆施用对水稻响应旱改水和砷胁迫的影响[D]. 武汉:华中农业大学, 2014:44-63.
- [17] Lou L Q, Shi G L, Wu J H, et al. The influence of phosphorus on arsenic uptake/efflux and as toxicity to wheat roots in comparison with sulfur and silicon[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2015, 34(2):242-250.
- [18] 王学礼,吕丽兰,黄小青,等. 硅钙钾肥对复合污染农田土壤上玉米吸收镉、砷的影响[J]. 农业研究与应用, 2015(3):8-14.
- [19] Silva J D, Nascimento C W, Gouveia - Neto A S, et al. Effects of silicon on alleviation arsenic toxicity in maize plants[J]. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 2015, 39(1):289-296.
- [20] 李慧敏,刘传平,李芳柏,等. 叶面喷施硅复合溶胶抑制生菜砷积累效应研究[J]. 生态环境学报, 2010, 19(5):1108-1113.
- [21] Marmiroli M, Piloni V, Savo - Sardaro M L, et al. The effect of silicon on the uptake and translocation of arsenic in tomato (*Solanum lycopersicum* L.)[J]. Environmental & Experimental Botany, 2014, 99(1):9-17.
- [22] Umar S, Gauba N, Anjum N A, et al. Arsenic toxicity in garden cress (*Lepidium sativum* Linn.): significance of potassium nutrition. [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2013, 20(9):6039-6049.
- [23] Srivastava A, Strasser R J, Govindjee. Greening of peas: parallel measurements of 77 K emission spectra, OJIP chlorophyll a fluorescence transient, period four oscillation of the initial fluorescence level, delayed light emission, and P700[J]. Photosynthetica, 1999, 37(3):365-392.
- [24] 李鹏民,高辉远,Strasser J. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用[J]. 植物生理与分子生物学报, 2005, 31(6):559-566.
- [25] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J]. 植物学报, 1999, 16(4):444-448.
- [26] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. [J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51(345):659-668.
- [27] Jiang C D, Gao H Y, Zou Q. Changes of donor and acceptor side in photosystem 2 complex induced by iron deficiency in attached soybean and maize leaves[J]. Photosynthetica, 2003, 41(2):267.
- [28] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社, 2006:145-149.