

doi:10.11937/bfyy.20180257

铜胁迫下基质中添加凹土对党参幼苗生理指标的影响

冉 瑞 兰, 张 牡 丹, 谢 佳 佳, 赛 闹 汪 青, 孙 坤, 冯 汉 青

(西北师范大学 生命科学学院, 甘肃 兰州 730070)

摘 要:以党参幼苗为试材,通过外源施加铜离子的方法,研究了铜胁迫下在基质中添加凹土对党参幼苗叶片生理学指标的影响。结果表明:铜离子胁迫降低了党参幼苗叶片的光下最大光化学效率(F_v'/F_m')、光适应下实际光化学效率($Y(II)$)、光化学猝灭系数(qP)、电子传递效率(ETR)和叶绿素含量;并升高了叶片可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量、丙二醛含量和抗氧化酶(过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX))活性。非铜离子胁迫下,在基质中添加适量凹土能够提高党参幼苗叶片 F_v'/F_m' 和叶绿素含量的水平,但未对其它生理学指标产生显著性影响。在铜胁迫下,基质中含有适量凹土能明显减缓铜离子胁迫导致的党参幼苗叶片 F_v'/F_m' 、 $Y(II)$ 、 qP 、ETR 和叶绿素含量的降低以及叶片可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量、丙二醛含量和 3 种抗氧化酶活性的升高。试验表明,在党参幼苗培养过程中,在基质中添加适量凹土可在一定程度上缓解铜胁迫对党参幼苗叶片的生理学压力。

关键词:凹土;铜胁迫;生理指标;党参幼苗

中图分类号:S 567.5⁺3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2018)15-0140-09

党参(*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.) 属桔梗科党参属植物,其干燥根为常用中草药,具有补中益气、调和脾胃的功效,常用于治疗脾肺虚弱、气短心悸、食少便溏、虚喘咳嗽、内热消渴,是我国传统的补益良药^[1]。传统的党参种植技术为 1~2 年育苗,移栽后 2~3 年收获^[2]。为了克服农药残留等对土壤的污染^[3],解决土壤资源日益匮乏^[4]以及野生药用植物的过度采挖等不

利因素,基质栽培已经逐步用于党参等药用植物的种苗繁育中^[5]。

铜(Copper)是高等植物生长发育过程中的一种重要微量元素,作为多种酶的组分之一,参与诸多的生理代谢过程。然而,过量的 Cu^{2+} 会对植物产生胁迫。研究表明,长期的 Cu^{2+} 胁迫会导致叶片的衰老,严重阻碍植物的生长和发育。事实上,在这些植物形态学变化出现之前, Cu^{2+} 胁迫已经引起了植物生理学上的改变。有学者发现, Cu^{2+} 胁迫早期会诱发类囊体膜的氧化损伤,显著阻抑 PSII 的电子传递,降低植物的光合作用,导致叶绿素分解^[6-10],引起可溶性糖和可溶性蛋白质含量的变化、增加植物氧化压力^[11-12]。因为生理学上的改变在很大程度上决定了植物未来形态学的变化,因此评测 Cu^{2+} 胁迫对植物生理学的影响对于监测和控制 Cu^{2+} 对植物生长和发育的影响具有重要的意义,尤其对重金属有着更为严格

第一作者简介:冉瑞兰(1994-),女,硕士研究生,研究方向为植物生理学。E-mail:1656480914@qq.com.

责任作者:冯汉青(1978-),男,博士,教授,研究方向为植物生理学。E-mail:fenghanq@nwnu.edu.cn.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31560070);甘肃省高等学校科研资助项目(2015A-007);甘肃省重点研发计划资助项目(17YF1NA064);甘肃省高校基本科研业务费资助项目;西北师范大学青年创新团队资助项目。

收稿日期:2018-03-21

要求的药用植物而言更加重要。

含铜工业废水的私自排放对农业用水的污染^[13]、为了控制病原菌蔓延大量使用含铜抑菌剂(如波尔多液,铜离子浓度可达到 $1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)^[14]、以及暴雨导致的铜等重金属迁移均会导致在短时间内植物栽培基质中不可避免地出现过量的 Cu^{2+} 。因此,在栽培基质中添加一些 Cu^{2+} 的吸附剂应是一种能够有效减少在上述情况下 Cu^{2+} 对植物生理学不利影响的有效方法。

凹土(Attapulgite)又称凹凸棒石(Palygorskite)或坡缕石,是一种链层状结构的含水富镁硅酸盐黏土矿物。具有较大的表面积、特殊的表面物理化学结构及离子状态,有极强吸附能力,能够吸附重金属阳离子^[15-16]。并且,较之活性炭等其它吸附剂,凹土更为成本低廉^[17]。目前,凹土已被用于土壤改良和污染土壤的修复^[18-19]。然而,在药用植物栽培过程中,凹土是否有可能作为一种基质添加物作为缓解铜离子胁迫对于药用植物生理学不良影响的研究在国内外鲜见报道。基于此,该试验以党参幼苗为材料,探究在铜离子胁迫下在基质中添加凹土对党参幼苗生理学指标的影响,以期了解铜离子胁迫对党参的生理学影响有一定的借鉴意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试党参种子由甘肃中医药大学和政药用植物园提供。凹土购买自甘肃临泽锦城凹凸棒矿区。

1.2 试验方法

种子用蒸馏水冲洗 3~5 次,45℃水浴 5 min,再经蒸馏水冲洗 2~3 次。此后,将种子置于蒸馏水浸湿的 2 层纱布中间,28℃恒温培养箱黑暗催芽。待露白之后选取露白一致的种子栽种于用蒸馏水浸透不含凹土的培养基质中,或种于用蒸馏水浸透的蛭石与凹土混合的基质中(蛭石与凹土的体积比例为 50:1),每 9 cm² 种植 1 株(图 1)。出苗后在光照强度为 3 000 lx,光周期为 12 h 光照/12 h 黑暗,培养室温度保持 23~25℃。每天喷蒸馏水保持基质表面湿润,每 7 d 加一次 1/2 倍 Hogland 营养液。选取苗龄为 30 d、长势基本一

致的党参幼苗作为试验材料。试验 1:用等量 0、1、6、10 mmol·L⁻¹ CuCl₂ 溶液浇灌无凹土栽培基质培育的幼苗,36 h 后进行叶绿素荧光测定。试验 2:根据试验结果,选取 0、6 mmol·L⁻¹ CuCl₂ 溶液分别浇灌无凹土的栽培基质以及含有 1/50(v/v)凹土的栽培基质培育的幼苗,36 h 后探究基质中添加凹土对党参幼苗生理指标的影响。以 0 mmol·L⁻¹ CuCl₂ 溶液处理的不含凹土的栽培基质培育的幼苗作为对照组。

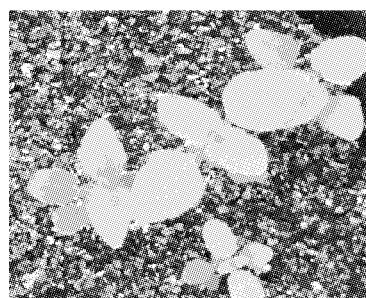


图 1 党参幼苗(30 d)

Fig. 1 *Codonopsis pilosula* seedlings (30 days)

1.3 项目测定

1.3.1 叶绿素荧光参数测定

采用脉冲调制式叶绿素荧光仪(PAM-2500, Waltz, 德国)对各组党参幼苗叶片的叶绿素荧光参数进行测定,培养室温度 23~25℃。所测材料在作用光下的实时荧光(F_s)达到稳态 20 s 后打开饱和脉冲光,测得最大荧光(F_m'),再打开远红外光,测光最小荧光(F_o')。各参数的意义及光化学效率计算参照 DEMMIG-ADAMS 等^[20]方法。光适应下最大光化学效率 $F_v'/F_m' = (F_m' - F_o')/F_m'$; 光适应下实际光化学效率 $Y(II) = (F_m' - F_s)/F_m'$; 光化学猝灭系数 $qP = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')$; 光合电子传递速率 $ETR = [(F_m' - F_s)/F_m'] \times PAR \times 0.5 \times 0.84$ 。

1.3.2 其它指标测定

叶绿素含量参照 ARNON^[21]的方法测定,可溶性蛋白质和丙二醛含量参照李合生^[22]的方法测定,可溶性糖含量参照袁晓华等^[23]的方法测定。过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性采用愈创木酚法^[24]测定,过氧化氢酶活性(Catalase, CAT)采用紫外吸收法^[25]测定,抗坏血酸过氧化物酶(Ascorbate peroxidase, APX)参照 NAKA-

NO 等^[26]的方法测定。

1.4 数据分析

采用 Excel 2007 软件进行数据处理计算平均值和标准差。用 Origin 9.0 软件进行显著性检验(显著性差异, $P < 0.05$; 极显著性差异, $P < 0.01$)并绘制图表。

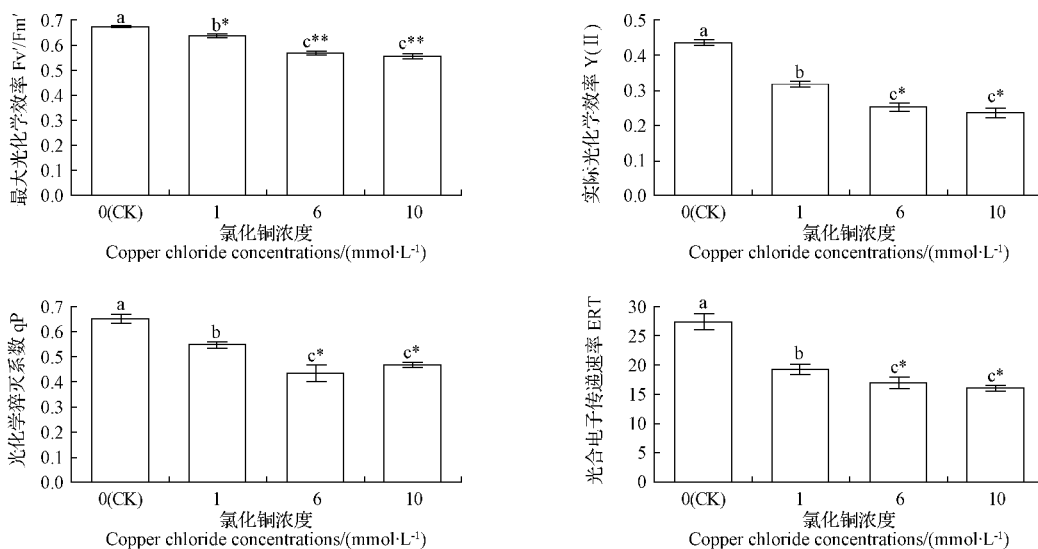
2 结果与分析

2.1 不同浓度的 CuCl_2 对党参幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

叶绿素荧光的变化能够灵敏地反映环境胁迫对植物的影响^[27]。 F_v'/F_m' 反映了在光下 PSII 完全开放时的光化学效率。 $Y(\text{II})$ (PS II 光适应下实际光化学效率)表示了光化学能量转换的有

效量子产量。 qP 反映了 PS II 天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额。ETR 是指经过 PS II 的相对电子传递速率。因此,该研究以叶绿素荧光参数的变化作为评价铜离子压力程度的指标。

由图 2 可知,加入 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CuCl}_2$ 使得 F_v'/F_m' 、 $Y(\text{II})$ 、 qP 、ETR 较之对照分别显著性降低了 5.133%、27.368%、16.009%、29.788%, 而加入 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CuCl}_2$ 使得 F_v'/F_m' 、 $Y(\text{II})$ 、 qP 、ETR 较对照分别降低了 15.488%、42.279%、33.225%、38.098% (均有极显著降低)。而加入 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CuCl}_2$ 后上述叶绿素荧光参数的水平与加入 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CuCl}_2$ 后相比无显著性差异($P > 0.05$)。



注:数值为 4 次独立试验的平均值±标准差,不同字母表示各处理数值间在 $P < 0.05$ 水平上存在显著性差异,*表示与对照相比在 $P < 0.05$ 水平上有显著差异,**表示与对照相比在 $P < 0.01$ 水平上有极显著差异。图 4 同。

Note: Values are given as mean ± SD from four times independent experiments, values with different letter indicate significant difference ($P < 0.05$), * indicates significant difference ($P < 0.05$) compared with the control group, ** indicates highly significant difference ($P < 0.01$) compared with the control group. The same as Fig. 4.

图 2 不同浓度氯化铜处理对党参幼苗最大光化学效率(F_v'/F_m')、PSII 最大实际光化学效率($Y(\text{II})$)、化学猝灭系数(qP)、电子传递效率(ETR)的影响

Fig. 2 Effect of different copper chloride concentrations on the F_v'/F_m' , $Y(\text{II})$, qP and ETR of *Codonopsis pilosula* seedlings

2.2 氯化铜胁迫下凹土对党参幼苗叶绿素荧光参数的影响

加入 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CuCl}_2$ 后,党参幼苗叶片

的荧光参数已经呈现出极显著降低。因此,比较了在该浓度 CuCl_2 处理后,不含凹土的基质培养的党参幼苗和含有 1/50(v/v)的凹土的培养基质

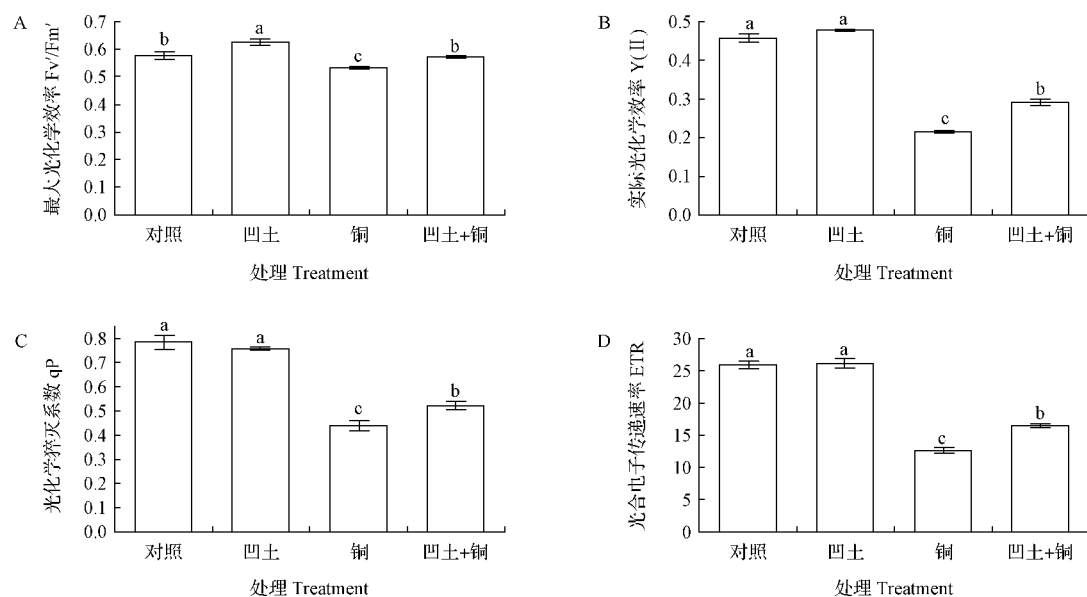
培养的党参幼苗叶绿素荧光以及其它生理学指标的差异。

由图 3A 可知,与在不含凹土的基质中生长的党参幼苗相比,在含有 1/50(v/v)的凹土培养基中生长的党参幼苗其 F_v'/F_m' 显著性上升了 8.42%,表明凹土的加入能够提高党参幼苗光下 PSII 的最大光化学效率。与对照相比, CuCl_2 胁迫使得 F_v'/F_m' 显著性下降了 7.68%,表明了 CuCl_2 胁迫能显著降低光下 PSII 的最大光化学效率。而在 CuCl_2 胁迫后,在含有 1/50(v/v)的凹土培养基中生长的党参幼苗的 F_v'/F_m' 显著高于在不含凹土的基质中生长的党参幼苗,且其 F_v'/F_m' 甚至恢复到了对照水平。表明加入凹土能提升党参叶片的 F_v'/F_m' ,且能明显减缓铜离子胁迫导致的党参幼苗 F_v'/F_m' 的下降。

在不含凹土的基质中生长的党参幼苗与在含有 1/50(v/v)的凹土培养基中生长的党参幼苗

的实际 $Y(\text{II})$ 相比无显著差异; CuCl_2 胁迫后,党参幼苗叶片的 $Y(\text{II})$ 与对照相比降低了 52.82%;在 CuCl_2 胁迫后,在含有 1/50(v/v)的凹土培养基中生长的党参幼苗的 $Y(\text{II})$ 显著高于在不含凹土的基质中生长的党参幼苗,表明在基质中加入凹土能明显减缓铜离子胁迫导致的党参幼苗 $Y(\text{II})$ 的下降(图 3B)。

从图 3C、D 可见,在不含凹土的基质中生长的党参幼苗与在含有 1/50(v/v)的凹土培养基中生长的党参幼苗的 qP 和 ETR 无显著差异; CuCl_2 胁迫后,在不含凹土的基质中生长的党参幼苗的 qP 和 ETR 显著性降低,与对照相比分别降低了 43.95%和 51.40%;受 CuCl_2 胁迫后,在含有 1/50(v/v)的凹土培养基中生长的党参幼苗的 qP 和 ETR 显著高于在不含凹土的基质中生长的党参幼苗,表明加入凹土能明显减缓铜离子胁迫导致的党参幼苗 qP 和 ETR 的下降。



注:数值为 3 次独立试验的平均值±标准差,不同字母表示各处理数值间在 $P < 0.05$ 水平上存在显著性差异。下同。

Note: Values are given as mean±SD from three times independent experiments, values with different letter indicate significant difference ($P < 0.05$). The same below.

图 3 不同处理对党参幼苗光适应下最大光化学效率(F_v'/F_m')、PSII 最大实际光化学效率($Y(\text{II})$)、化学猝灭系数(qP)、电子传递效率(ETR)的影响

Fig. 3 Effect of different treatments on the F_v'/F_m' , $Y(\text{II})$, qP , ETR of *Codonopsis pilosula* seedlings

2.3 氯化铜胁迫下凹土对党参幼苗叶绿素含量的影响

在 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CuCl}_2$ 处理后,叶绿素含量

的变化以及不含凹土的基质培养的党参幼苗和含有 1/50(v/v)凹土的培养基质培养的党参幼苗叶绿素含量差异显著。与在不含凹土的基质中生长

的党参幼苗相比,在含有 1/50(v/v)的凹土培养基质中生长的党参幼苗叶绿素含量高 9.61% ($P<0.05$)(图 4)。CuCl₂ 胁迫导致了不含凹土的基质生长以及在含有的凹土培养基质中生长的党参幼苗叶绿素含量的显著降低。然而,在 CuCl₂ 胁迫后,在含有 1/50(v/v)的凹土培养基质中生长的党参幼苗的叶绿素含量显著高于在不含凹土的基质中生长的党参幼苗,表明加入凹土明显能减缓铜离子胁迫导致的党参幼苗叶绿素含量的下降。

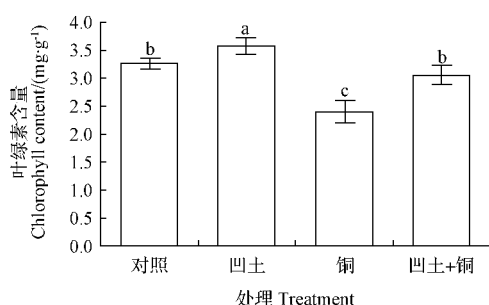


图 4 不同处理对党参幼苗叶绿素含量的影响

Fig. 4 Effect of different treatments on the chlorophyll content of *Codonopsis pilosula* seedlings

2.4 氯化铜胁迫下凹土对党参幼苗丙二醛含量的影响

在未受胁迫时,不含凹土的基质中生长的党参幼苗与在含有 1/50(v/v)的凹土培养基质中生长的党参幼苗的丙二醛含量无显著差异;受到

6 mmol · L⁻¹ CuCl₂ 胁迫后,不含凹土的基质中生长的党参幼苗的丙二醛含量急剧升高,其含量为对照的 4.19 倍;而在 CuCl₂ 胁迫后,在含有 1/50(v/v)的凹土培养基质中生长的党参幼苗的丙二醛含量显著低于在不含凹土的基质中生长的党参幼苗,其值仅为对照的 1.86 倍,表明凹土的加入能明显减缓铜离子胁迫导致的党参幼苗丙二醛含量的上升(图 5)。

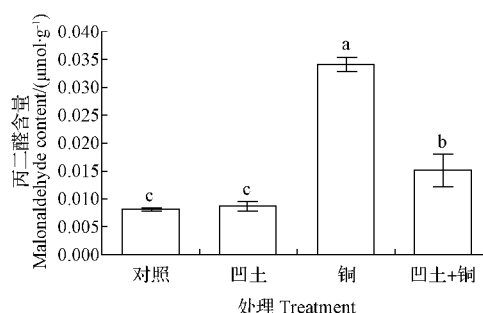
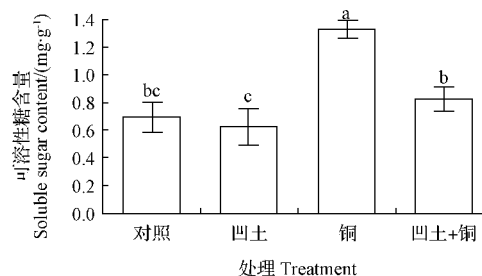
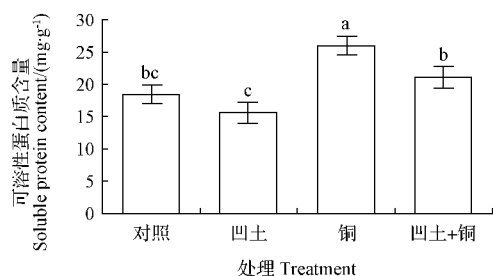


图 5 不同处理对党参幼苗丙二醛含量的影响

Fig. 5 Effect of different treatments on the MDA content of *Codonopsis pilosula* seedlings

2.5 氯化铜胁迫下凹土对党参幼苗可溶性蛋白质和可溶性糖含量的影响

在未受胁迫时,基质中是否添加凹土对党参幼苗叶片的可溶性蛋白质和可溶性糖含量无显著性影响(图 6)。6 mmol · L⁻¹ CuCl₂ 胁迫后,不含凹土的基质培养的党参幼苗叶片的可溶性蛋白质和可溶性糖含量均大幅上升,和对照相比分别上

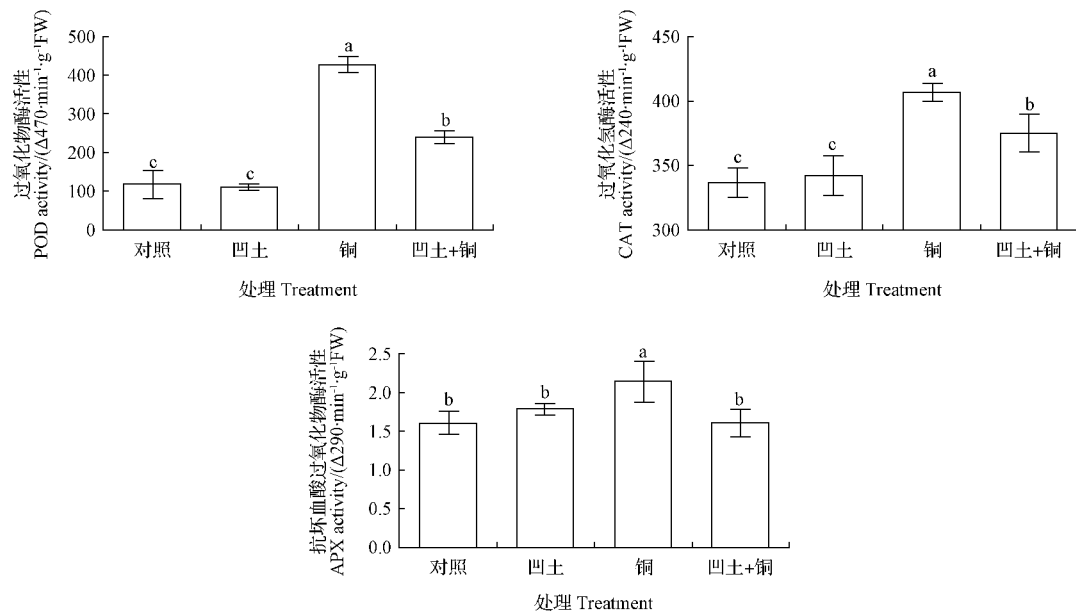


注:可溶性蛋白质含量数值为 4 次独立试验的平均值±标准差,可溶性糖含量数值为 5 次独立试验的平均值±标准差,不同字母表示各处理数值间在 $P<0.05$ 水平上存在显著性差异。

Note: Values of soluble protein contents are given as mean±SD from four times independent experiments, values of soluble sugar contents are given as mean±SD from five times independent experiments, values with different letters indicate significant difference ($P<0.05$).

图 6 不同处理对党参幼苗可溶性蛋白质、可溶性糖含量的影响

Fig. 6 Effect of different treatments on the soluble protein contents, soluble sugar contents of *Codonopsis pilosula* seedlings



注: POD 活性数值为 3 次独立试验的平均值 \pm 标准差, CAT 和 APX 活性数值为 4 次独立试验的平均值 \pm 标准差, 不同字母表示各处理数值间在 $P < 0.05$ 水平上存在显著性差异。

Note: Values of POD activities are given as mean \pm SD from three times independent experiments, values of CAT and APX activities are given as mean \pm SD from four times independent experiments, values with different letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 7 不同处理对党参幼苗 POD、CAT、APX 活性的影响

Fig. 7 Effect of different treatments on the POD, CAT, APX activities of *Codonopsis pilosula* seedlings

升了 40.98% 和 91.93%; 在有 CuCl_2 胁迫后, 在含有 1/50 (v/v) 的凹土培养基中生长的党参幼苗的可溶性蛋白质和可溶性糖含量均显著低于在不含凹土的基质生长的党参幼苗。说明凹土的加入明显减缓了铜离子胁迫导致的党参幼苗可溶性蛋白质和可溶性糖含量的上升。

2.6 氯化铜胁迫下凹土对党参幼苗抗氧化酶活性的影响

在非受胁迫下, 基质中是否添加凹土对党参幼苗叶片的 POD、CAT、APX 活性大小无显著性影响。在受到 $6\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ CuCl}_2$ 胁迫后, 不含凹土基质培养的党参幼苗的 POD、CAT、APX 活性显著升高, 而在含有 1/50 (v/v) 的凹土培养基中生长的党参幼苗的酶活显著低于在蛭石中生长的党参幼苗, 其中 APX 活性下降到与对照相等。表明凹土的加入能明显减缓铜离子胁迫导致的 POD、CAT、APX 活性的上升。

3 结论与讨论

PSII 的光化学变化能够灵敏地反映植物是否受到了环境的胁迫^[28]。因此, 该研究以叶绿素荧光参数的变化作为评价铜离子压力程度的指标。 Cu^{2+} 胁迫导致了党参幼苗叶片的 F_v'/F_m' 、 $Y(\text{II})$ 、 qP 、ETR 的降低, 表明 Cu^{2+} 胁迫导致了 PSII 光化学效率的和电子传递速率的降低。前人的研究也发现铜胁迫能影响光合的电子传递^[29-31]。有研究表明, 过量的 Cu^{2+} 可以导致 QB 结合蛋白以及 PSII 氧化侧或还原侧电子传递相关蛋白结构的改变, 从而导致 PSII 电子传递的紊乱^[32-33]。因此, 高浓度 Cu^{2+} 可能是通过影响 PSII 中电子传递体的功能而导致了党参叶片叶绿素荧光参数的变化。在加入 $6\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ CuCl}_2$ 后, 党参幼苗叶片的荧光参数已经呈现出极显著降低。因此, 课题组继而检测了该浓度 CuCl_2 处理对党参幼苗叶片其它生理学指标的影响。结果表明, 在 $6\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ CuCl}_2$ 处理后, 党参幼苗叶绿

素含量下降。以前研究发现, Cu^{2+} 会通过取代叶绿体中蛋白质上的 Fe^{2+} 或 Mg^{2+} 破坏叶绿体结构, 进而造成叶绿素降解^[34], 或是通过干扰叶绿素生物合成有关酶的活性造成叶绿素分解^[35-37]。由于叶绿素含量也影响着 PSII 的光能利用率^[34], 该研究认为 Cu^{2+} 所造成的叶绿素荧光参数的变化应是 PSII 中电子传递体的功能改变以及叶绿素结构破坏综合作用的结果。

丙二醛含量上升是膜脂受氧化伤害的重要标志之一^[38]。该研究发现, 党参幼苗叶片丙二醛含量在受到该浓度 Cu^{2+} 胁迫后显著上升, 表明 Cu^{2+} 胁迫使得党参叶片膜脂过氧化水平上升。由于 Cu^{2+} 能够通过 Fenton 反应、Haber-Weiss 反应^[39]、或通过刺激 NADPH 氧化酶增加活性氧的产生^[40-42], 因此 Cu^{2+} 胁迫后党参幼苗叶片的丙二醛含量的显著上升应和 Cu^{2+} 导致的氧化压力的上升有关。该浓度 Cu 处理下党参叶片可溶性蛋白质与可溶性糖含量显著上升。有学者在大麦等植物中也发现了 Cu 离子胁迫下可溶性蛋白质和可溶性糖含量均有所增加^[43-44]。有学者认为, 在环境胁迫下, 可溶性糖增加能够稳定植物体的含水量和膨压, 保护植物体内生物大分子结构与功能的稳定, 从而减轻胁迫对植物的损害^[45-46]。WANG 等^[47]通过对铜胁迫下的鸭趾草研究, 提出可溶性蛋白质含量上升是反映植物在受胁迫后产生了多种酶来参与对胁迫耐受的重要指标。因此, Cu 胁迫下党参叶片可溶性蛋白质与可溶性糖含量的上升应是党参应对 Cu 胁迫的生理学反应。POD、CAT、APX 是植物体内清除自由基、降低植物氧化压力的重要组分^[48-51]。该研究发现, 党参幼苗叶片的 POD、CAT、APX 活性在受到 Cu^{2+} 胁迫后显著上升, 表明了党参幼苗在受到 Cu^{2+} 胁迫后, 遭受了较高水平的氧化压力, 同时调动了增强党参幼苗抗氧化的防御机制。

上述结果显示, 铜离子胁迫降低了党参叶片的光化学活性和叶绿素合成、改变了可溶性蛋白质和可溶性糖的代谢、增加了氧化压力。如上所述, 凹凸棒粘土能够通过吸收、离子交换反应、络合等多种方式吸附重金属离子^[52]。并且, 凹凸棒粘土自身是土壤生态系统的自然组分, 具有易获取、无毒、成本低廉等优点^[53]。因此, 该研究进一步探索了凹凸棒粘土在基质中的添加是否能够改

善铜胁迫对党参产生的上述影响。结果显示, 在非胁迫下, 在基质中添加 1/50 (v/v) 凹土并未对党参幼苗叶片产生不利影响, 而且在基质中添加凹土还进一步提高了党参 Fv'/Fm' 和叶绿素含量的水平, 猜测这可能是由于凹土吸附了基质中对 PSII 及叶绿素合成不利的物质所致。而在铜胁迫下, 较之蛭石培养的党参幼苗, 凹土和蛭石混合物培养的党参其 Fv'/Fm' 、Y(II)、qP、ETR 和叶绿素含量均有所增加, 而叶片可溶性糖、可溶性蛋白质、丙二醛含量以及抗氧化酶活性均有所降低。因此, 在基质中的施加凹土可在一定程度上改善铜胁迫对党参幼苗叶片生理学的压力。值得注意的是, 课题组前期研究结果表明, 培养基质中凹土含量过高, 会使基质板结, 影响幼苗的生长; 过低则在非胁迫和 Cu 胁迫下对党参幼苗的生长无优化和保护作用, 而基质中含有蛭石 1/50 (v/v) 时对党参幼苗的生长优化与保护作用最佳。据此, 在短期无法杜绝铜等重金属对农业用水的污染以及无法找到含铜农药替代品的情况下, 在基质中添加适量的凹土有望被作为党参等中草药种苗栽培时的基质改良剂, 以减少重金属对党参种苗的生理学的影响。

参考文献

- [1] 朱恩圆, 贺庆, 王峰涛, 等. 党参化学成分研究[J]. 中国药科大学学报, 2001(2): 14-15.
- [2] 王秀文, 赵慧辉, 刘养清, 等. 不同生长年限山西党参的 RP-HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(3): 45-46.
- [3] 欧阳晓玫, 何英梅, 贺军权, 等. 甘肃五大宗药材农残及重金属检测[J]. 中医药学报, 2005, 33(5): 22-24.
- [4] 张重义, 林文雄. 药用植物的化感自毒作用与连作障碍[J]. 中国生态农业学报, 2009(1): 189-196.
- [5] 谭凌晖. 一种纹党参栽培基质及其制备方法、用途: CN105706877A[P]. 2016.
- [6] 林义章, 徐磊. 铜污染对高等植物的生理毒害作用研究[J]. 中国生态农业学报, 2015(1): 201-204.
- [7] OUZOUNIDOU G. Root growth and pigment composition in relationship to element uptake in *Silene compacta* plants treated with copper[J]. Plant Nutr, 1994, 17(6): 933-943.
- [8] OUZOUNIDOU G, MOUSTAKAS M, LANNOYE R. Chlorophyll fluorescence and photoacoustic characteristics in relationship to changes in chlorophyll and Ca^{2+} content of a Cu-tolerant *silene compacta* ecotype under cutreatment[J]. Physiol Plant, 1995, 93: 551-557.

- [9] TAYLOR F, JFOYC D. Differential uptake and toxicity of ionic and chelated copper in *Triticum aestivum* [J]. Can J Bot, 1985, 63: 1271-1275.
- [10] SANDMANN G, BOGER P. Enzymological function of heavy metals and their role in electron transfer processes of plants [J]. Preventing Chronic Disease, 2006, 3(2): 32.
- [11] 赵胡, 唐俊, 郑文教. 重金属 Cu^{2+} 胁迫对红树植物秋茄幼苗生长及某些生理特性的影响[J]. 海洋科学, 2016(4): 65-72.
- [12] DONG Y J, XU L L, WANG Q H, et al. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidative ability, and mineral element contents of perennial ryegrass under copper stress [J]. Journal of Plant Interactions, 2014, 9(1): 402-411.
- [13] CAO Z H, HU Z Y, WONG M H. Copper contamination in paddy soils irrigated with wastewater [J]. Chemosphere, 2000, 41(1-2): 3-6.
- [14] 卜元卿, 石利利, 单正军. 波尔多液在苹果和土壤中残留动态及环境风险评估[J]. 农业环境科学学报, 2013(5): 972-978.
- [15] 韩玉琦. 凹凸棒石复合材料的制备及其吸附性能研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2010.
- [16] 郑志杰. 凹凸棒石黏土的提纯和应用研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2014.
- [17] 杨瑞洪. 凹凸棒土对 $\text{Cd}(\text{II})$ 的吸附性能研究[J]. 安徽农业科学, 2011(23): 14221-14223.
- [18] 刘左军, 陈正宏, 袁惠君. 凹凸棒石黏土对土壤团粒结构及小麦生长的影响[J]. 土壤通报, 2010, 41(1): 142-144.
- [19] 刘总堂, 许敏, 林长青, 等. 有机黏土对污染土中 HCH 的固定及黑麦草生长的影响[J]. 中国环境科学, 2010, 30(4): 533-538.
- [20] DEMMIG-ADAMS B, WILLIAM W A III. Xanthophyll cycle and light stress in nature: Uniform response to excess direct sunlight among higher plant species [J]. Planta, 1996, 198(3): 460-470.
- [21] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. Plant Physiol, 1949(24): 1-15.
- [22] 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.
- [23] 袁晓华, 杨中汉. 植物生理生化实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1983.
- [24] 王晓维, 黄国勤, 徐健程, 等. 铜胁迫和间作对玉米抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2014(10): 1890-1896.
- [25] 张志良, 瞿伟菁, 李小芳. 植物生理学实验指导[M]. 4版. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- [26] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. Plant & Cell Physiology, 1981, 22(5): 867-880.
- [27] 尤鑫, 龚吉蕊. 叶绿素荧光动力学参数的意义及实例辨析[J]. 西部林业科学, 2012, 41(5): 90-94.
- [28] 冯玉龙, 曹坤芳, 冯志立, 等. 四种热带雨林树种幼苗比叶重, 光合特性和暗呼吸对生长光环境的适应[J]. 生态学报, 2002, 22(6): 901-910.
- [29] 李金才, 魏凤珍, 余松烈, 等. 孕穗期渍水对冬小麦根系衰老的影响[J]. 应用生态学报, 2000, 11(5): 723-726.
- [30] 姜东, 陶勤南, 张国平. 渍水对小麦扬麦 5 号旗叶和根系衰老的影响[J]. 应用生态学报, 2002, 13(11): 1519-1521.
- [31] 王小燕, 王东, 于振文. 水氮互作对小麦旗叶光合特性、籽粒产量及氮素和水分利用率的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(6): 17-22.
- [32] MOHANTY N, VASS I, DEMETER S. Copper toxicity affects phot-osystem II electron transport at the secondary quinone acceptor, QB [J]. Plant Physiology, 1989, 90(1): 175-179.
- [33] SAMUELSSON G, QUIST G. Effects of copper chloride on photosynthetic electron transport and chlorophyll-protein complexes of *Spinacia oleracea* [J]. Plant & Cell Physiology, 1980, 21(3): 445-454.
- [34] 梁杨琳. 锌、铜胁迫下红海欖 (*Rhizophora stylosa*) 生理生化特性的研究[D]. 桂林: 广西师范大学, 2008.
- [35] 胡筑兵, 陈亚华, 王桂萍, 等. 铜胁迫对玉米幼苗生长、叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性的影响[J]. 植物学报, 2006, 23(2): 129-137.
- [36] VINIT-DUNAND F, EPRON D, ALAOUI-SOSSÉ B, et al. Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants [J]. Plant Science, 2002, 163(1): 53-58.
- [37] SINGH D, NATH K, SHARMA Y K. Response of wheat seed germination and seedling growth under copper stress [J]. Journal of Environmental Biology, 2007, 28(2): 409-414.
- [38] 孙国荣, 关畅, 阎秀峰. 盐胁迫对星星草幼苗保护酶系统的影响[J]. 草地学报, 2001, 9(1): 34-38.
- [39] BARTOSZ M, KEDZIORA J, BARTOSZ G. Antioxidant and prooxidant properties of captopril and enalapril [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1997, 23: 729-735.
- [40] RAEYMAEKERS T, POTTERS G, ASARD H, et al. Copper-mediated oxidative burst in *Nicotiana tabacum* L. cv. Bright Yellow 2 cell suspension cultures [J]. Protoplasma, 2003, 221: 93-100.
- [41] ZHANG H X, ZHANG F Q, XIA Y, et al. Excess copper induces production of hydrogen peroxide in the leaf of *Elsholtzia haichowensis* through apoplastic and symplastic Cu Zn-superoxide dismutase [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 178: 834-843.
- [42] SAGI M, FLUHR R. Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases [J]. Plant Physiology, 2006, 141: 336-340.
- [43] 杨光, 钱丹, 郭兰萍, 等. 重金属对膜荚黄芪种子生长及抗氧化系统的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(9): 1095-1099.
- [44] KALAI T, KHAMASSI K, SILVA J A T D, et al. Cadmium and copper stress affect seedling growth and enzymatic activities in germinating barley seeds [J]. Archives of Applying Agronomy & Soil Science, 2014, 60(6): 765-783.

- [45] SHI X L, XUE L, REN X R, et al. Preliminary study on drought resistance of four broad leaved seedlings under water stress in south China[J]. Forest Research, 2011, 24(6): 760-767.
- [46] SHUKLA U C, SINGH J, JOSHI P C, et al. Effect of bioaccumulation of cadmium on biomass productivity, essential trace elements, chlorophyll biosynthesis, and macromolecules of wheat seedlings[J]. Biological Trace Element Research, 2003, 92(3): 257-274.
- [47] WANG H, SHAN X Q, WEN B, et al. Responses of antioxidative enzymes to accumulation of copper in a copper hyperaccumulator of *Commoelina communis*[J]. Archives of Environmental Contamination & Toxicology, 2004, 47(2): 185-192.
- [48] 王松华, 张华, 何庆元. 铜胁迫对紫花苜蓿幼苗叶片抗氧化系统的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(9): 2285-2290.
- [49] DOCTROW R S, LIESA M, MELOV S, et al. Salen Mn complexes are superoxide dismutase/catalase mimetics that protect the mitochondria[J]. Current Inorganic Chemistry, 2012, 2(3): 325-334.
- [50] JESSICA E S. Nanoceria exhibit redox state-dependent catalase mimetic activity[J]. Chemical Communications, 2010, 46(16): 2736-2738.
- [51] ASADA K. Ascorbate peroxidase-a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants[J]. Physiologia Plantarum, 1992, 85(2): 235-241.
- [52] CELIS R, AND M C H, CORNEJO J. Heavy metal adsorption by functionalized clays[J]. Environmental Science & Technology, 2000, 34(34): 4593-4599.
- [53] SUBRAMANIAN B, GUPTA G. Adsorption of trace elements from poultry litter by montmorillonite clay[J]. Journal of Hazardous Materials, 2006, 128(1): 80.

Effect of Applying Attapulgit in the Growth Medium on the Physiological Indexes of *Codonopsis pilosula* Seedlings Under Copper Stress

RAN Ruilan, ZHANG Mudan, XIE Jiajia, SAI Naowangqing, SUN Kun, FENG Hanqing
(College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou, Gansu 730070)

Abstract: Using the seedlings of *Codonopsis pilosula* (*C. pilosula*) as the plant material, and exogenous application of copper ion, the effect of attapulgit on the physiological responses of the leaves of *C. pilosula* seedlings to copper stress was studied. The results showed that copper stress decreased the levels of the maximal photochemical efficiency under light (F_v'/F_m'), photochemical efficiency under light adaptation ($Y(II)$), photochemical quenching coefficient (qP), electron transfer rate (ETR), and chlorophyll content of the leaves of *C. pilosula* seedlings. The copper stress also increased the contents of soluble sugar, soluble protein, malondialdehyde (MDA) and the activities of antioxidant enzymes (including peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX)) of the leaves of *C. pilosula* seedlings. Under condition without copper stress, the addition of certain amount of attapulgit into the growth medium enhanced the levels of F_v'/F_m' and chlorophyll content of the leaves of *C. pilosula* seedlings, but did not significantly change other physiological indexes. Under the copper-stressed condition, the presence of certain amount of attapulgit in the growth medium significantly relieved the decreasing of F_v'/F_m' , $Y(II)$, qP , ETR, and the contents of chlorophyll of the leaves and, simultaneously slowed down the increases of the contents of soluble sugar, soluble protein, MDA, and the activities of POD, CAT, APX of the leaves. These results indicated that during the seedling cultivation of *C. pilosula*, attapulgit in growth medium could be used as a beneficial component, to relieve the Cu-induced physiological stress.

Keywords: attapulgit; copper stress; physiological indexes; *Codonopsis pilosula* seedlings