

# 水杨酸对铜胁迫下菊芋的生理调控及根系 FTIR 分析

艾金祥<sup>1</sup>, 葛杰克<sup>1</sup>, 张子仪<sup>1</sup>, 陈文倩<sup>1</sup>, 梁嘉怡<sup>1</sup>, 王馨怡<sup>1</sup>, 吴巧缘<sup>1</sup>,  
余婕<sup>1</sup>, 叶怡彤<sup>1</sup>, 周天逸<sup>1</sup>, 栗金怡<sup>1</sup>, 李文文<sup>1</sup>, 吴玉环<sup>2,3</sup>, 刘鹏<sup>1\*</sup>

1 浙江师范大学 植物学实验室, 浙江 金华 321004

2 杭州师范大学生命与环境科学学院, 浙江 杭州 310036

3 中国科学院沈阳应用生态研究所, 辽宁 沈阳 110016

艾金祥, 葛杰克, 张子仪, 陈文倩, 梁嘉怡, 王馨怡, 吴巧缘, 余婕, 叶怡彤, 周天逸, 栗金怡, 李文文, 吴玉环, 刘鹏. 水杨酸对铜胁迫下菊芋的生理调控及根系 FTIR 分析[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 695-712.

AI Jinxiang, GE Jieke, ZHANG Ziyi, CHEN Wenqian, LIANG Jiayi, WANG Xinyi, WU Qiaoyuan, YU Jie, YE Yitong, ZHOU Tianyi, SU Jinyi, LI Wenwen, WU Yuhuan, LIU Peng. Physiological regulation of salicylic acid on *Helianthus tuberosus* upon copper stress and root FTIR analysis[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 695-712.

**摘 要:** 为阐明水杨酸(salicylic acid, SA)对菊芋吸收铜的影响机理, 以耐铜性差异较大的徐州菊芋(*Helianthus tuberosus*)和潍坊菊芋作为试验材料, 通过盆栽试验, 探究外源 SA 对铜胁迫下菊芋的光合作用、叶片抗氧化系统及必需矿质营养元素吸收的影响, 并对其耐铜机理进行探究。结果表明, 300 mg/kg 铜胁迫抑制了两地菊芋光合电子传递效率和 PSII 活性, 对抗氧化系统产生损伤并造成膜脂过氧化, 显著增加了根、茎、叶中铜含量, 同时削弱了菊芋对钾、钙、镁和锌的吸收能力。喷施 1 mmol/L 外源 SA 可通过调控根系中各官能团的比例, 加强其对 Cu<sup>2+</sup> 的固定作用, 促进矿质营养元素的吸收及渗透调节物质的积累, 提高菊芋抗氧化和光合作用能力, 有效缓解铜对菊芋生长的抑制作用。本研究初步揭示了 SA 对铜胁迫下菊芋的生理调控, 可为种植菊芋修复土壤铜污染提供科学参考和依据。

**关键词:** 菊芋; 光合特性; 抗氧化系统; 官能团; 水杨酸; 铜

资助项目: 国家自然科学基金(31971426); 浙江省自然科学基金(LY21C030005)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31971426) and the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation (LY21C030005).

\*Corresponding author. E-mail: sky79@zjnu.cn

Received: 2022-05-05; Accepted: 2022-08-08; Published online: 2022-08-26

## Physiological regulation of salicylic acid on *Helianthus tuberosus* upon copper stress and root FTIR analysis

AI Jinxiang<sup>1</sup>, GE Jieke<sup>1</sup>, ZHANG Ziyi<sup>1</sup>, CHEN Wenqian<sup>1</sup>, LIANG Jiayi<sup>1</sup>, WANG Xinyi<sup>1</sup>, WU Qiaoyuan<sup>1</sup>, YU Jie<sup>1</sup>, YE Yitong<sup>1</sup>, ZHOU Tianyi<sup>1</sup>, SU Jinyi<sup>1</sup>, LI Wenwen<sup>1</sup>, WU Yuhuan<sup>2,3</sup>, LIU Peng<sup>1\*</sup>

1 Botany Laboratory, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, Zhejiang, China

2 College of Life and Environmental Science, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, Zhejiang, China

3 Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, Liaoning, China

**Abstract:** Phytoremediation plays an important role in the treatment of heavy metal pollution in soil. In order to elucidate the mechanism of salicylic acid (SA) on copper absorption, seedlings from Xuzhou (with strong Cu-tolerance) and Weifang *Helianthus tuberosus* cultivars (with weak Cu-tolerance) were selected for pot culture experiments. 1 mmol/L SA was sprayed upon 300 mg/kg soil copper stress, and the photosynthesis, leaf antioxidant system, several essential mineral nutrients and the changes of root upon copper stress were analyzed to explore the mechanism of copper resistance. The results showed that *Pn*, *Tr*, *Gs* and *Ci* upon copper stress decreased significantly compared to the control group. Meanwhile, chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid decreased with significant increase in initial fluorescence ( $F_0$ ), maximum photochemical quantum yield of PS II ( $F_v/F_m$ ), electron transfer rate (ETR) and photochemical quenching coefficient ( $qP$ ) content all decreased. The ascorbic acid (AsA) content was decreased, the glutathione (GSH) value was increased, the superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) activity in the leaves were decreased, and the peroxidase (POD) activity was significantly increased. SA increased the Cu content in the ground and root system, and weakened the nutrient uptake capacity of K, Ca, Mg, and Zn in the root stem and leaves. Spray of exogenous SA can maintain the opening of leaf stomata, improve the adverse effect of copper on photosynthetic pigment and PS II reaction center. Mediating the SOD and APX activity started the AsA-GSH cycle process, effectively regulated the antioxidant enzyme system in chrysanthemum taro, significantly reduced the copper content of all parts of the plant, and improved the ion exchange capacity in the body. External SA increased the content of the negative electric group on the root by changing the proportion of components in the root, promoted the absorption of mineral nutrient elements and the accumulation of osmoregulatory substances, strengthened the fixation effect of the root on metal copper, and avoided its massive accumulation in the *H. tuberosus* body, so as to alleviate the inhibitory effect of copper on plant growth. The study revealed the physiological regulation of SA upon copper stress, and provided a theoretical basis for planting *H. tuberosus* to repair soil copper pollution.

**Keywords:** *Helianthus tuberosus*; photosynthetic characteristics; antioxidant system; functional groups; salicylic acid; Cu

随着我国工农业的迅速发展,重金属污染土壤问题日益严峻。铜(copper, Cu)作为土壤重金属污染的主要金属之一,点位超标率达 2.1%,位居第四<sup>[1]</sup>,重金属 Cu 会对植物生长发育产生毒害作用,抑制光合色素的生成并对植物光合器官造成伤害,同时损伤根系保护酶机制、影响植株对水分及营养元素的吸收<sup>[2-3]</sup>,并通过食物链富集最终危害人体健康。修复土壤 Cu 污染,解除其对作物生长的胁迫是生产中亟待解决的问题。传统的物理、化学方法具有成本高、应用规模有限、易造成二次污染等不足<sup>[4]</sup>。植物修复通过植物提取、根滤等作用对重金属污染的土壤进行修复,其成本低、无二次污染,同时能有效保护表层土壤、减少水土流失,可大范围应用于重金属污染土壤及矿区的生态修复与重建<sup>[5-6]</sup>。菊芋(*Helianthus tuberosus*)属于菊科(Compositae)向日葵属(*Helianthus*),具有生长快、抗逆性强、生物量大、分布范围广等特点<sup>[7]</sup>。且对重金属镉、铜等具有较强的耐受性和富集性<sup>[8-9]</sup>,在土壤重金属污染防治中应用前景广阔。

水杨酸(salicylic acid, SA)作为植物体内一种高效的抗氧化激素,参与调控气孔的开放状态、促进开花及结果、激活过敏反应等诸多生理过程<sup>[10]</sup>,近年来,SA 在植物抗逆胁迫中的作用逐渐成为研究热点,郑静静等<sup>[11]</sup>研究发现,高温强光条件下外源水杨酸可维持较强的 PS II 功能。易小林等<sup>[12]</sup>通过试验得出 SA 能有效缓解干旱对紫御谷(*Pennisetum glaucum* 'Purple Majesty')光合作用及膜脂氧化的抑制作用,曹栋栋等<sup>[13]</sup>通过探究盐胁迫下外施 SA 对羽衣甘蓝(*Brassica oleracea* var. *acephala*)生理响应的影响,认为 SA 主要通过提高抗氧化酶活性以减少活性氧物质的积累,同时调节植株体内离子动态平衡来增强羽衣甘蓝的耐盐性。随着对 SA 作用机制研究的不断深入,其在植物抗逆过

程中的应用日渐广泛,目前关于外源 SA 的研究多集中于缓解高温、干旱、盐害等环境胁迫,其对植物重金属胁迫的缓解研究较少。植物体对 Cu 毒害最重要的响应机制之一即通过调控 Cu 在体内的迁移和分布将其富集在根中,以减少其向地上部的迁移<sup>[14]</sup>。傅立叶变换红外光谱(fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)作为一种准确快速地鉴定化合物和分子结构的方法,无疑是结合根系变化探究外源 SA 缓解 Cu 毒效果的绝佳选择。付川等<sup>[15]</sup>利用 FTIR 技术研究 Cu 胁迫下紫苜蓿(*Medicago sativa*)的生理响应,认为植物的耐 Cu 机理与其化学组分的变化相关。张晓斌等<sup>[16]</sup>的研究结果表明,铬(Cr)胁迫下凤眼蓝(*Eichhornia crassipes*)和喜旱莲子草(*Alternanthera philoxeroides*)根细胞壁-OH、COO-等基团产生不同程度的位移和吸光度的差异。本研究以耐铜性差异较大的徐州菊芋和潍坊菊芋为试验材料,通过外施 SA,探究其对铜胁迫下两地区菊芋生理特性的调控效应,并通过 FTIR 技术进一步从官能团的角度对菊芋耐铜机理进行探索,旨在揭示菊芋的铜害机制,探明外源调节物质缓解铜胁迫的作用机理,以期对菊芋修复土壤铜污染及外源 SA 的广泛合理应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料及处理

试验于 2020 年 5 月至 2021 年 3 月在浙江师范大学植物学实验室进行。前期以潍坊、金华、资阳、浦江、唐山、重庆、温州、保定、徐州、嘉兴、沐阳和南京 12 个不同地区的菊芋块茎为材料,栽培于浙江师范大学生物园并进行耐铜性比较,筛选出耐铜性差异较大的徐州菊芋(Xv Zhou *H. tuberosus*, XZ H.t)和潍坊菊芋(Wei Fang *H. tuberosus*, WF H.t)为对比研究材

料。挑选相同培育条件下健康饱满的菊芋块茎 50 g 左右,超纯水冲洗后以 1% NaClO 表面灭菌,切取大小均一且带芽眼的部分播种于周转箱中催芽,以腐殖土和石英砂(3:1,体积比)作为培养基质。10 d 后选取长势相近(8 cm 左右)的幼苗转移至具孔土培塑料盆(上、下口径分别为 18、10 cm,高度为 10 cm,培养基质重约 1 kg),而后置于 31 °C、光照 8 000 lx 处理 12 h 和黑暗 22 °C 处理 12 h 的光照培养箱内缓苗 3 d,期间适量浇水。根据预试验确定的铜胁迫浓度(既对菊芋产生胁迫作用,又不会造成严重损害的  $\text{Cu}^{2+}$  毒害)及最佳 SA 处理浓度分别设置对照组(CK: 0 mg/kg Cu+蒸馏水)、铜处理组(T1: 300 mg/kg Cu+蒸馏水);SA 处理组(T2: 0 mg/kg Cu+1 mmol/L SA)、Cu 和 SA 共处理组(T3: 300 mg/kg Cu+1 mmol/L SA),采用硫酸铜溶液( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )喷洒的方式供给  $\text{Cu}^{2+}$ ,浓度以  $\text{Cu}^{2+}$  计算。将溶液 pH 调节至 4.5,每盆施加 100 mL,反复翻动拌匀,每组设置 5 个重复,每盆 3 株,两地区菊芋各 20 盆随机配列。每日 14:00 喷施蒸馏水及 SA 溶液于叶片正反两面。

## 1.2 测定方法

### 1.2.1 叶绿素含量、气体交换参数及荧光参数的测定

在铜胁迫处理第 7、14、21 天取植株第 3–4 片叶(功能叶),采用 95%乙醇研磨法测定叶绿素 a (chlorophyll a, Chl a)、叶绿素 b (chlorophyll b, Chl b)及类胡萝卜素(carotenoids, Cars)的含量<sup>[17]</sup>。使用 LI-6800 型便携式光合测定仪测定菊芋叶片的净光合速率(net photosynthetic rate,  $P_n$ )、蒸腾速率(transpiration rate,  $Tr$ )、胞间二氧化碳浓度(intercellular  $\text{CO}_2$  concentration,  $C_i$ )和气孔导度(stomatal conductance,  $G_s$ ),调整光强度为  $1\,500\,\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,二氧化碳浓度为  $400\,\mu\text{mol}/\text{mol}$ ,叶温控制在  $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ ,相对湿度约为 50%–70%。

使用 PAM-210 型叶绿素荧光仪测定叶绿素荧光参数,暗适应 30 min 状态下测定初始荧光(initial fluorescence,  $F_0$ ),饱和脉冲光条件下测定光系统 II 的最大光量子产量(maximum photochemical quantum yield of PS II,  $F_v/F_m$ )、光合电子传递速率(photosynthetic electron transport rate, ETR)及光化学猝灭(photochemical quenching coefficient,  $qP$ )<sup>[18]</sup>。

### 1.2.2 抗氧化物质及渗透调节物质的测定

剪取 0.1 g 叶片置于盛有 2 mL 50 g/L 三氯乙酸( $\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$ )溶液的研钵中,冰浴条件下研磨成浆后转入 2 mL 离心管,于 4 °C、12 000 r/min 离心 20 min,在 534 nm 波长处测叶片抗坏血酸(ascorbic acid, ASA)含量,在 412 nm 波长处测还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量。参照李合生等<sup>[19]</sup>的方法,用 NBT 光还原法、高锰酸钾滴定法和愈创木酚法分别测定超氧化物歧化酶(superoxide ismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和过氧化物酶(peroxidase, POD)活性,另外用分光光度法测定抗坏血酸过氧化物酶(aseorbate peroxidase, APX)活性,以蒽酮比色法测定(soluble sugars, SS)含量,茚三酮显色法测叶片游离脯氨酸(proline, Pro)含量,采用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白(soluble protein, SP)含量,硫代巴比妥酸法测丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。

### 1.2.3 矿质元素含量测定

两地菊芋生长 21 d 后,收集根系(纤维根)、茎(地上部 2–4 节)、叶片(第 3–4 片叶)三个部分,超纯水洗净后于烘箱(DHG-9245A)中  $105^\circ\text{C}$  下杀青 20 min,  $85^\circ\text{C}$  烘干至恒重并研磨成粉。取 0.1 g 烘干样品与 20 mL 消解液( $\text{HCl}:\text{HNO}_3=1:3$ )混合,于电热板上消解至剩余约 2 mL 溶液,以 1%硝酸定容至 50 mL,采用 NexION 300X 火焰原子吸收光谱仪测定钾(K)、Cu、钙(Ca)、

镁(Mg)、锌(Zn) 5 种元素的含量<sup>[20]</sup>。

### 1.2.4 根系傅里叶变换红外光谱(FTIR)的测定

取 2 mg 烘干的菊芋根系于玛瑙研钵中, 加入 0.2 g 溴化钾, 研磨后转移至模具中压制为均匀的錠片, 在样品室中于相同条件下用傅里叶变换红外光谱仪(NEXUS670FIRT)测定红外光谱<sup>[21]</sup>, 光谱范围为 4 00–4000  $\text{cm}^{-1}$ 。

### 1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2010 整理试验数据, SPSS 25.0 进行单因素方差分析(one-way ANOVA),

Duncan 法进行显著性差异分析( $\alpha=0.05$ ), 利用 Omnic 9.0 分析红外光谱图, Origin 2021 软件作图, 所有数据用平均值 $\pm$ 标准误表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 SA 对铜胁迫下菊芋光合气体交换参数的影响

铜胁迫下, 2 个耐受性不同菊芋的  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $C_i$  和  $Tr$  均受到明显抑制作用, 外源 SA 能有效缓解铜胁迫对植株光合作用的抑制(图 1)。同一

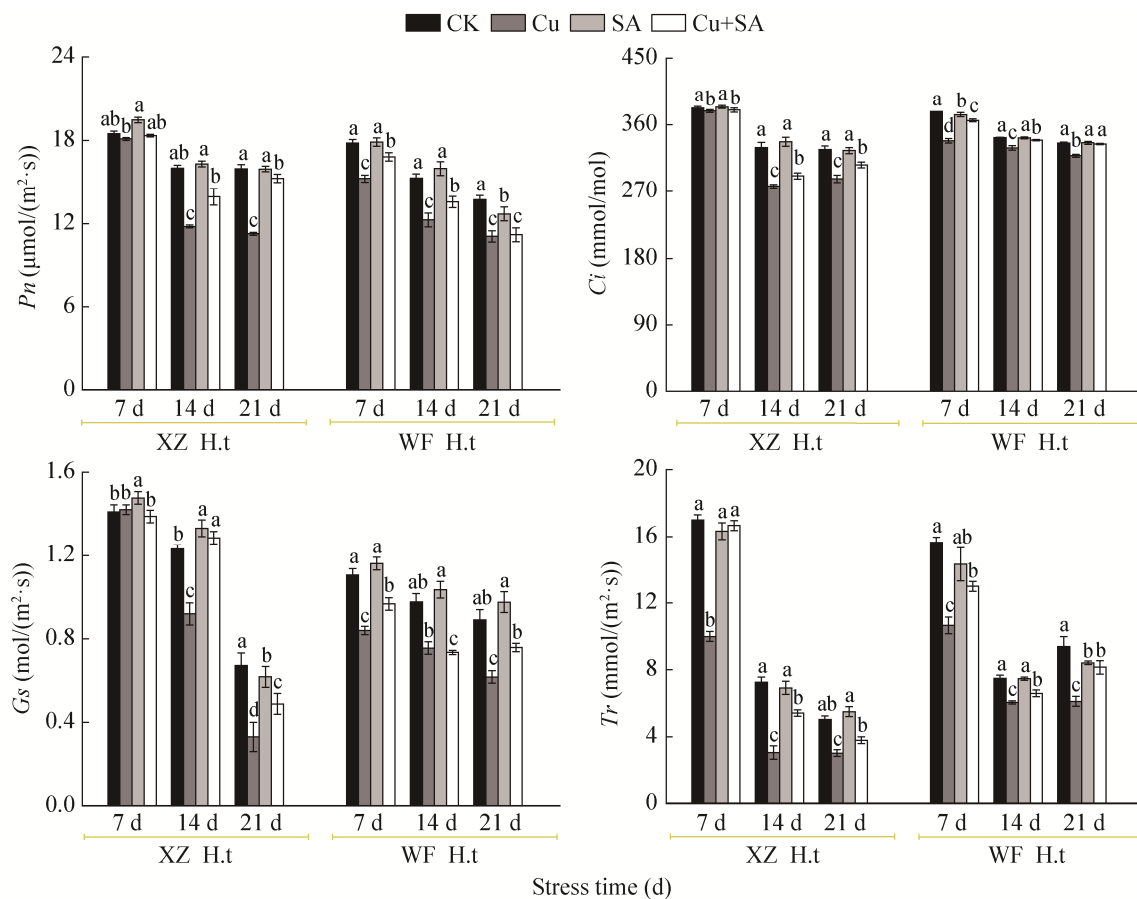


图 1 SA 对铜胁迫下菊芋气体交换参数的影响 不同小写字母表示相同时期不同处理组间在 0.05 水平差异显著. XZ H.t 和 WF H.t 分别表示徐州菊芋和潍坊菊芋. CK: 未做处理, 即对照; Cu: 300 mg/kg Cu+蒸馏水(T1); SA: 0 mg/kg Cu+1 mmol/L SA (T2); Cu+SA: 300 mg/kg Cu+1 mmol/L SA (T3)

Figure 1 Effect of exogenous SA on gas exchange parameters of *Helianthus tuberosus* upon copper stress. Different lowercase letters indicate significant differences among the treatments during the same stage at 0.05 level. XZ H.t and WF H.t represent Xv Zhou *H. tuberosus* and Wei Fang *H. tuberosus*, respectively. CK: Without Cu, control; Cu: 300 mg/kg Cu+H<sub>2</sub>O (T1); SA: 0 mg/kg Cu+1 mmol/L SA (T2); Cu+SA: 300 mg/kg Cu+1 mmol/L SA (T3).

测定时间内,随着  $G_s$  的下降,铜胁迫下两地菊芋  $C_i$  与  $P_n$  变化方向一致且随时间增加呈下降趋势,表明铜对菊芋光合作用的抑制主要表现为气孔限制型;徐州菊芋和潍坊菊芋  $Tr$  在第 14、21 天出现最小值,分别为 CK 组的 41.97% 和 65.03%,此外,徐州菊芋  $G_s$  降幅显著小于潍坊菊芋,说明其对铜胁迫耐受性更强。单施 SA 两地区菊芋  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $C_i$ 、 $Tr$  无显著变化 ( $P>0.05$ ),暗示正常生长条件下 SA 对这 4 个指标的作用效果存在一定阈值。铜胁迫后喷施 SA 对各时间段内两地菊芋的气体交换能力均产生明显的缓解效果,且对耐铜性强的徐州菊芋缓解效果优于耐铜性弱的潍坊菊芋。

## 2.2 SA 对铜胁迫下菊芋叶绿素含量及荧光参数的影响

铜胁迫显著抑制了菊芋的叶绿素含量和光

合作用,外源 SA 减轻了重金属铜对菊芋光合生理的抑制作用(图 2 和表 1)。铜处理组中,2 个地区菊芋的 3 种光合色素均显著减少,其中 chl b 的波动尤为突出,在第 21 天时,徐州菊芋和潍坊菊芋 T1 组中的 chl b 含量依次较 CK 显著降低 43.65% 和 31.58%,表明铜毒抑制了叶绿素的合成从而影响光合作用的效率;二者  $F_v/F_m$ 、ETR、 $qP$  显著降低,徐州菊芋  $F_0$  在 7、14、21 d 分别较 CK 组增加了 47.67%、60.76% 和 112.5%,潍坊菊芋增加 54.92%、26.74% 和 1.23%,两者增幅呈相反的变化趋势。SA 处理组中,徐州菊芋 chl a、chl b、cars 较 CK 均无明显变化,而潍坊菊芋 3 种光合色素则有所升高,其中 chl b 含量增加最为显著,表明徐州菊芋和潍坊菊芋对 SA 信号的响应存在差异。T3 组中,  $F_0$  和 ETR 逐渐趋向正常水平,  $F_v/F_m$  及  $qP$  大幅回升;徐州菊芋和潍坊

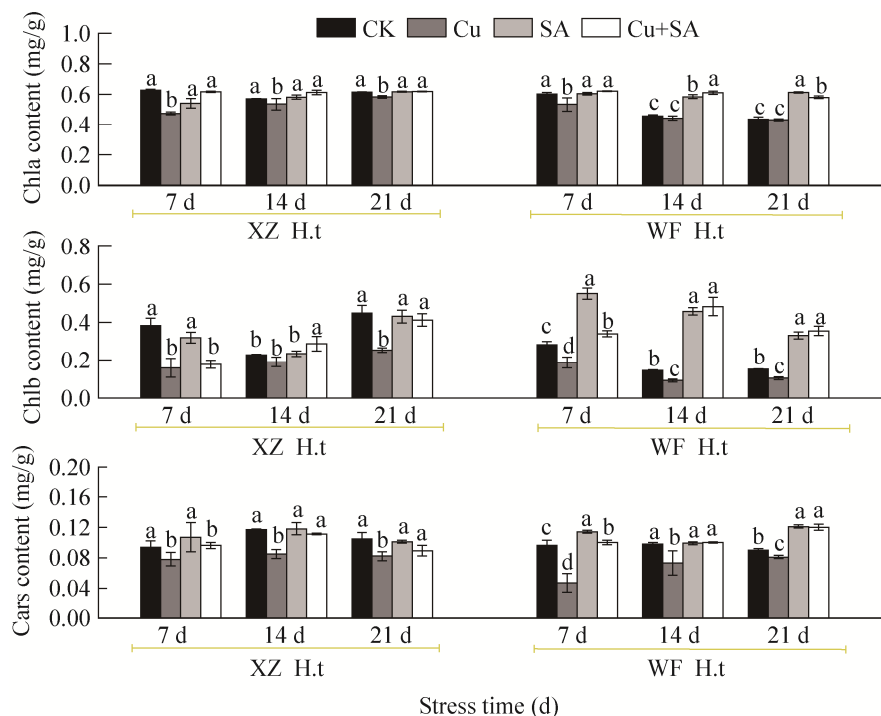


图 2 SA 对铜胁迫下菊芋叶绿素含量的影响 不同小写字母表示相同时期不同处理组间在 0.05 水平差异显著. 处理同图 1

Figure 2 Effect of exogenous SA on chlorophyll content of *Helianthus tuberosus* upon copper stress. Different lowercase letters indicate significant differences among the treatments during the same stage at 0.05 level. Treatments are the same as shown in figure 1.

表 1 SA 对铜胁迫下菊芋叶绿素荧光参数的影响

Table 1 Effects of exogenous SA on chlorophyll fluorescence parameters of *Helianthus tuberosus* upon copper stress

Material	Time (d)	Treatment	$F_0$	$qP$	$F_v/F_m$	ETR
XZ H.t	7	CK	0.086±0.009b	0.459±0.003a	0.830±0.059a	49.100±4.279a
		T1	0.127±0.013a	0.336±0.016d	0.771±0.056c	37.333±3.402b
		T2	0.095±0.013ab	0.422±0.023b	0.823±0.011ab	42.533±5.225ab
		T3	0.111±0.019a	0.358±0.008c	0.820±0.006b	37.133±5.701b
	14	CK	0.079±0.005c	0.412±0.018a	0.784±0.014a	36.100±1.268a
		T1	0.127±0.013a	0.229±0.017c	0.685±0.063c	22.833±3.164c
		T2	0.080±0.019b	0.358±0.016b	0.771±0.054ab	36.600±0.700a
		T3	0.100±0.009b	0.338±0.017b	0.736±0.057b	30.633±2.400b
	21	CK	0.056±0.016d	0.271±0.046a	0.777±0.051a	23.767±2.235a
		T1	0.119±0.009a	0.174±0.153c	0.712±0.053c	15.433±3.500c
		T2	0.079±0.011c	0.247±0.026a	0.740±0.037a	23.300±3.751a
		T3	0.101±0.007b	0.202±0.016b	0.727±0.051b	17.000±3.920ab
WF H.t	7	CK	0.071±0.009d	0.436±0.017a	0.806±0.017a	44.900±3.551a
		T1	0.110±0.005a	0.344±0.016c	0.733±0.089c	35.400±3.681b
		T2	0.087±0.003c	0.392±0.004b	0.820±0.005a	39.667±1.716ab
		T3	0.104±0.006b	0.384±0.007b	0.764±0.058b	37.067±2.113b
	14	CK	0.086±0.012b	0.384±0.016a	0.782±0.017a	37.533±1.383a
		T1	0.109±0.010a	0.288±0.010d	0.700±0.053c	30.833±1.692c
		T2	0.096±0.001ab	0.330±0.017b	0.775±0.062b	34.333±1.027b
		T3	0.107±0.015a	0.303±0.008c	0.774±0.059b	33.300±1.419b
	21	CK	0.081±0.005b	0.348±0.026a	0.785±0.012a	33.533±2.663a
		T1	0.082±0.004b	0.296±0.006c	0.679±0.051c	25.700±6.938b
		T2	0.100±0.009a	0.333±0.035a	0.767±0.038ab	32.367±2.113a
		T3	0.100±0.007a	0.310±0.007b	0.743±0.038b	31.067±1.501a

Different lowercase letters indicate a significant difference at the 0.05 level.

菊芋 ETR 值分别在第 14 天和第 21 天缓解效果最好, 依次较铜胁迫组提升 34.16% 和 20.88%。

### 2.3 SA 对铜胁迫下菊芋叶片膜脂过氧化及渗透调节物质的影响

由图 3 可知, CK 和 SA 处理的菊芋叶片渗透调节物质及 MDA 含量在处理期间变化基本平稳, 无显著性差异。Cu 和 Cu+SA 处理中 Pro、SP、SS 及 MDA 含量均显著增加, 且随时间的延长呈上升趋势。相较于 Cu 处理, Cu+SA 处理下两地菊芋 Pro 含量在 7、14、21 d 分别提高

了 17.00%、20.00%、14.30% (徐州) 和 11.54%、19.97%、20.04% (潍坊), SP 含量依次提高 11.91%、24.41%、41.31% (徐州) 和 12.34%、17.10%、16.54% (潍坊); SS 含量分别提高 31.75%、29.31%、14.45% (徐州) 和 20.77%、15.02%、12.76% (潍坊), 以上 3 个指标在 SA 处理下均显著高于单铜处理, 而 MDA 含量在施加 SA 后显著降低, 相较于 Cu 处理组分别降低 15.22%、16.73%、15.20% (徐州) 和 16.96%、11.65%、26.41% (潍坊)。

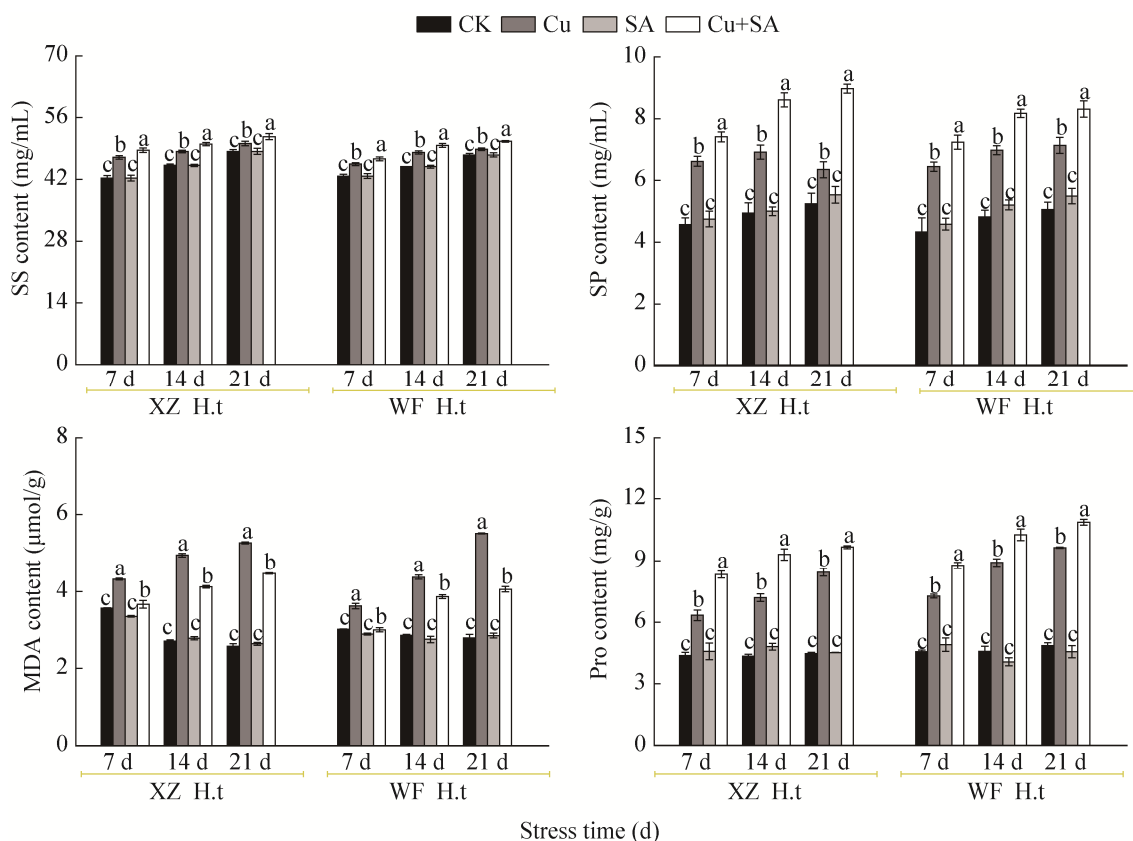


图3 SA对铜胁迫下菊芋叶片可溶性糖(SS)、可溶性蛋白(SP)、丙二醛(MDA)和脯氨酸(Pro)含量的影响 不同小写字母表示相同时期不同处理组间在0.05水平差异显著. 处理同图1

Figure 3 Effect of exogenous SA on the contents of soluble sugars (SS), soluble protein (SP), malondialdehyde (MDA) and proline (Pro) in leaves of *Helianthus tuberosus* upon copper stress. Different lowercase letters indicate significant differences among the treatments during the same stage at 0.05 level. Treatments are the same as shown in figure 1.

## 2.4 SA对铜胁迫下菊芋叶片抗氧化系统的影响

如图4所示, Cu处理下两地菊芋SOD、CAT、APX活性较CK组均显著降低, 而POD活性显著升高, 且与胁迫时间呈正相关, Cu+SA处理下4种抗氧化酶活性趋向正常水平。徐州菊芋和潍坊菊芋T1、T3组间SOD、POD活性差异均在21 d时最大, 分别为T1组的197.73%、118.27%和46.67%、59.65%, 而APX与CAT活性则依次在第7、14天出现最佳作用效果, 分别为T1组的265.56%、169.23%和119.38%、168.75%。两地菊芋各处理组ASA和GSH含

量变化趋势相同, 均随时间的增加而逐步升高; 同时期下T1组两地菊芋AsA、GSH含量显著低于其他处理组, 喷施外源SA后均显著上升, 并于第14天时达到最大处理效果, 分别为T1组的1.12、1.24倍(徐州)和1.56、1.17倍(潍坊)。

## 2.5 SA对铜胁迫下菊芋体内矿质元素含量的影响

由图5可知, 铜处理后, 两地菊芋体内K、Ca、Mg、Zn含量均显著降低, 外源SA能显著增强铜胁迫下菊芋K、Ca吸收与积累, 而对Mg、Zn的影响不大。T1处理组中两地菊

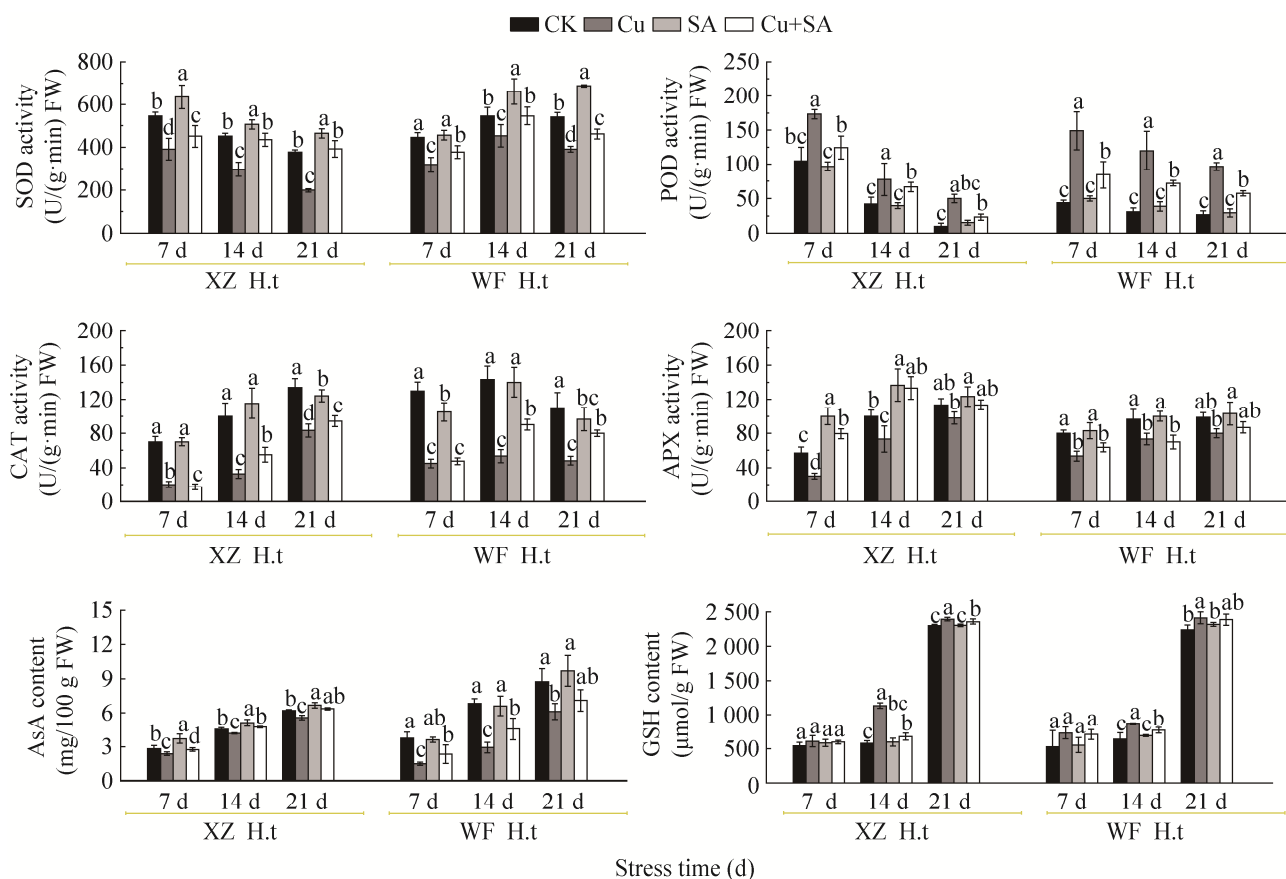


图4 SA对铜胁迫下菊芋叶片抗氧化酶活性及AsA、GSH含量的影响 不同小写字母表示相同时期不同处理组间在0.05水平差异显著. 处理同图1

Figure 4 Effects of exogenous SA on antioxidase, AsA and GSH content of *Helianthus tuberosus* leaves upon copper stress. Different lowercase letters indicate significant differences among the treatments during the same stage at 0.05 level. Treatments are the same as shown in figure 1.

芋根、茎、叶 K 含量较 CK 组分别下降了 12.19%、7.08%、7.12% (徐州)和 20.54%、14.82%、16.63% (潍坊)。SA 处理后, 两地菊芋各器官 K 含量显著升高。两地菊芋各器官中 Ca 含量分布存在差异, 由少到多依次为根 < 茎 < 叶。铜胁迫下两地区菊芋体内 Ca 含量显著减少, T3 组中菊芋体内 Ca 含量随时间增加愈加接近于对照组, 21 d 时, 两地菊芋根、茎、叶中的 Ca 含量分别为 CK 组的 94.52% 及 90.95%。各处理组徐州菊芋和潍坊菊芋根、茎、叶中 Mg 和 Zn 含量相较于 CK 组均显著

降低, T1 和 T3 处理组间 Mg、Zn 含量均无显著差异, 表明铜胁迫抑制了两地菊芋 Mg 和 Zn 的吸收及运输, 而外源 SA 对此不产生影响。相较于 CK, T1 处理下两地菊芋根、茎和叶铜含量均显著升高 ( $P < 0.05$ )。T3 处理下徐州菊芋根、叶、茎的铜含量较 T1 依次减少 43.06%、38.13% 和 30.69%, 潍坊菊芋依次减少 47.85%、37.36% 及 53.51%。两地菊芋吸收的铜元素多集中在根部, 茎部最少, 且各处理组中徐州菊芋根、茎、叶铜含量均显著高于潍坊菊芋。

## 2.6 不同处理下菊芋根系 FTIR 谱图分析

图 6 中  $4\ 000\text{--}1\ 300\text{ cm}^{-1}$  归属于官能团区,  $1\ 300\text{--}500\text{ cm}^{-1}$  归属于指纹区。官能团区  $3\ 410\text{ cm}^{-1}$  (No.1)附近为强极性基团 O-H 和 N-H 伸缩振动峰的叠加,多来自纤维素、半纤维素、果胶等物质,其缔合现象非常明显而具有较宽的峰型。 $3\ 000\text{ cm}^{-1}$  (No.2)处为根中亲水脂蛋白中的脂碳链-CH<sub>3</sub>、=CH<sub>2</sub>、=CH-

伸缩振动峰。 $1\ 860\text{ cm}^{-1}$  (No.3)处属于酯化果胶中酯羰基 C=O 伸缩振动峰,  $1\ 525\text{ cm}^{-1}$  (No.4)附近归属为木质素芳香环中 C=C 的伸缩振动峰。 $1\ 490\text{ cm}^{-1}$  (No.5)和  $1\ 392\text{ cm}^{-1}$  (No.6)分别为蛋白质中 N-N、N-H 吸收峰(酰胺 II 带)。 $1\ 345\text{ cm}^{-1}$  (No.7)处归属于羧酸盐 COO-不对称伸缩振动吸收峰。指纹区中  $1\ 295\text{ cm}^{-1}$  处表征醇羟基 C-O 振动峰,  $1\ 209\text{ cm}^{-1}$

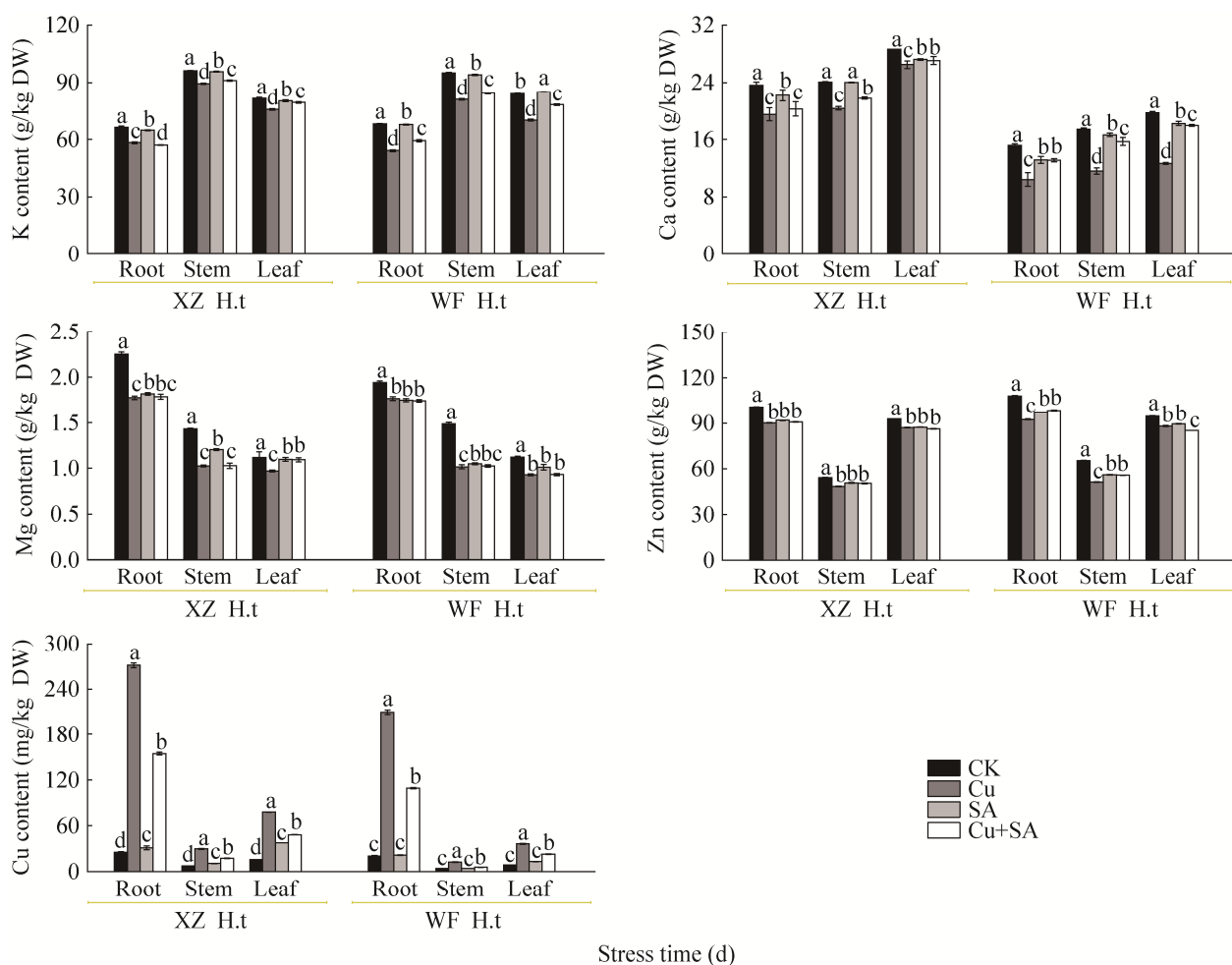


图 5 SA 对铜胁迫下菊芋体内矿质元素含量的影响 不同小写字母表示相同时期不同处理组间在 0.05 水平差异显著. 处理同图 1

Figure 5 Effect of exogenous SA on mineral element content in *Helianthus tuberosus* upon copper stress. Different lowercase letters indicate significant differences among the treatments during the same stage at 0.05 level. Treatments are the same as shown in figure 1.

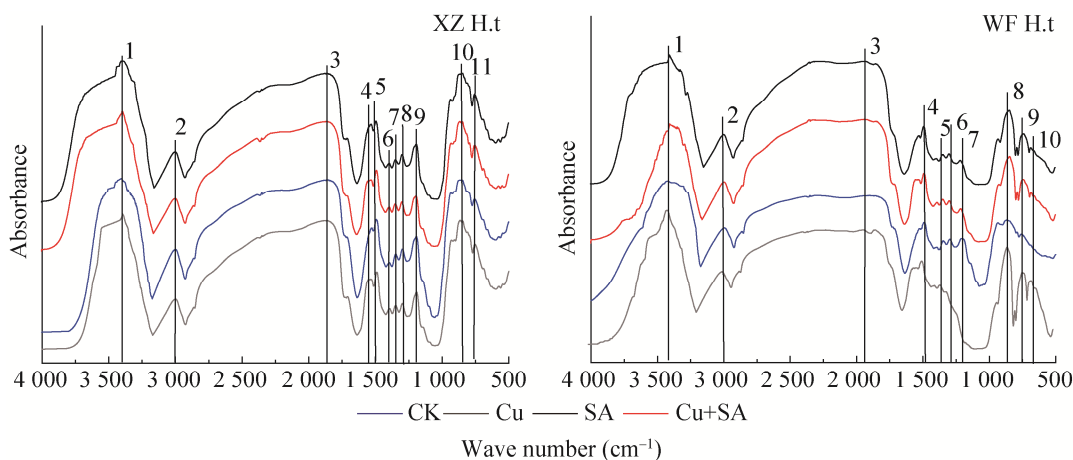


图6 铜胁迫下SA处理的菊芋根系红外光谱 1-11 分别表示不同官能团的特征吸收峰. 处理同图1  
Figure 6 The FTIR spectra of SA-treated roots of *Helianthus tuberosus* upon copper stress. 1-11 indicates the characteristic absorption peaks of different functional groups, respectively. Treatments are the same as shown in figure 1.

处对应磷酸盐 C-O-P、硫酸盐 C-O-S 或羧基 C-O 的特征吸收峰,  $1\,191\text{ cm}^{-1}$  左右为果胶的中 C-O 或 C-C 吸收峰,  $1\,000\text{ cm}^{-1}$  以下为 C-H 弯曲振动峰。两地区菊芋吸收峰种类及峰型较为一致且各官能团峰值的变化在 T3 处理下介于 T1 与 T2 处理组之间, 表明两地菊芋的根系成分和含量大体相同, 外源 SA 能够调节菊芋根系中官能团含量以增强其对  $\text{Cu}^{2+}$  的结合能力。

## 2.7 SA 对铜胁迫下菊芋根系 FTIR 谱图特征峰的半定量分析

参考张晓斌等<sup>[16]</sup>的方法, 以  $1\,492\text{ cm}^{-1}$  处  $-\text{CH}_3$  中 C-H 的特征吸收峰吸光度  $A_{2996}$  为标准值, 以各处特征峰的吸光度与  $A_{2996}$  的比值半定量分析各处理下徐州菊芋和潍坊菊芋根系官能团特征峰变化(表 2)。铜处理后两地菊芋根中  $3\,410\text{ cm}^{-1}$  (No.1)处的吸收峰较 CK 组更为尖锐, 主要是由于  $\text{Cu}^{2+}$  与 O-H 相互作用, 造成其缔合效应的减弱, 同时指纹区  $1\,000\text{ cm}^{-1}$  以下的

各峰振幅变大, 徐州菊芋根系多糖中-OH/-NH 特征峰向低频方向移动  $6\text{ cm}^{-1}$ , 蛋白质中-N-N 峰向低频方向移动  $4\text{ cm}^{-1}$ , 潍坊菊芋-OH/-NH 和亲水脂蛋白中的脂碳链-C-H 吸收峰分别向低频移动  $12\text{ cm}^{-1}$  和  $2\text{ cm}^{-1}$ , 说明-OH/-NH、-N-N 和-C-H 是  $\text{Cu}^{2+}$  的主要结合位点, 果胶、半纤维素、纤维素、亲水脂蛋白参与了  $\text{Cu}^{2+}$  的结合, 且在此过程中化学吸附起一定作用。相较于 Cu 处理组, 徐州菊芋  $A_{1860}/A_{2996}$ 、 $A_{1525}/A_{2996}$ 、 $A_{1345}/A_{2996}$ 、 $A_{1392}/A_{2996}$ 、 $A_{1295}/A_{2996}$  在 Cu 和 SA 共处理下均有所升高, 说明外源 SA 处理增加了菊芋根系中酯化果胶、木质素、蛋白质等的含量, 而  $A_{3410}/A_{2996}$ 、 $A_{1493}/A_{2996}$ 、 $A_{1192}/A_{2996}$  则有所减少, 意味着外源 SA 能有效增强多糖、果胶质结合  $\text{Cu}^{2+}$  的能力; 潍坊菊芋-OH/-NH、C=O 等官能团出现半定量计算结果与吸收峰位移不符的现象, 暗示  $300\text{ mg/kg}$  土壤铜胁迫对潍坊菊芋根系部分官能团产生不可逆损伤。

表 2 SA 对铜胁迫下菊芋根系红外光谱特征峰的半定量分析

Table 2 Semi-quantitative analysis of FTIR spectra of exogenous SA-treated roots of *Helianthus tuberosus* upon copper stress

Material	No.	Functional group	CK	300 mg/kg Cu				300 mg/kg Cu+1 mmol/L SA		
			Wave number (cm <sup>-1</sup> )	A/A <sub>2996</sub>	Wave number (cm <sup>-1</sup> )	A/A <sub>2996</sub>	Offset (cm <sup>-1</sup> )	Wave Number (cm <sup>-1</sup> )	A/A <sub>2996</sub>	Offset (cm <sup>-1</sup> )
XZ H.t	No.1	-OH/-NH	3 402	1.792	3 396	2.711	-6	3 396	2.662	-6
	No.2	-C-H	2 997	1.001	2 999	1.007	2	2 999	1.000	2
	No.3	C=O	1 859	1.773	1 875	2.574	15	1 869	2.604	10
	No.4	C=C	1 525	1.244	1 537	1.412	12	1 533	1.455	8
	No.5	-N-N	1 493	1.336	1 489	1.253	-4	1 489	1.243	-4
	No.6	-N-H	1 392	0.854	1 392	0.814	0	1 394	0.832	2
	No.7	COO-	1 348	0.953	1 350	0.875	2	1 348	0.904	0
	No.8	C-O	1 296	1.002	1 298	0.910	2	1 300	0.963	4
	No.9	C-C/C-O	1 192	1.143	1 192	1.142	0	1 194	1.052	2
WF H.t	No.1	-OH/-NH	3 423	1.552	3 412	1.798	-12	3 402	1.927	-21
	No.2	-C-H	2 997	1.000	2 995	1.000	-2	2 995	1.000	-2
	No.3	C=O	1 901	1.376	1 932	1.545	31	1 928	2.017	27
	No.4	-N-N	1 493	1.065	1 493	1.141	0	1 489	1.143	-4
	No.5	COO-	1 346	0.854	1 352	0.821	6	1 346	0.712	0
	No.6	C-O	1 298	0.872	-	-	-	-	-	-
	No.7	C-O-S/C-O/C-O-P	1 209	0.883	-	-	-	1 215	0.561	6

“-”means that content is below the detection limit.

### 3 讨论

菊芋耐瘠薄，再生性极强，年增殖速度可达 20 倍<sup>[22]</sup>。菊芋对环境胁迫的耐受作用及对重金属的富集性能已经开展了多方面的研究，朱铁霞等<sup>[23]</sup>探究了菊芋对于干旱胁迫的适应策略。在张佩佩等<sup>[24]</sup>的文献中报道，50 μmmol/L SA 能有效缓解高氯酸盐(ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>)对菊芋生长的抑制。张云等<sup>[25]</sup>研究发现叶面喷施 25 μmol/L 外源茉莉酸(jasmonic acid, JA)可显著增强菊芋抗镉性。可以发现，菊芋对多种贫瘠及胁迫环境具有耐受性，且对重金属有较强富集性，同时外源物质如 SA、JA 等的施加能有效提高其耐受能力，此次研究从受试材料光合作用、叶片抗氧化系统、必需矿质营养元素吸收及根系官能团的变化进行分析，发现外施 1 mmol/L SA

能有效增进菊芋根系对 Cu<sup>2+</sup>的吸附能力，增强抗氧化酶活性，提高光合作用能力，进而提升其对铜毒的抗性。

#### 3.1 SA 对 Cu 胁迫下菊芋光合生理的影响

*Pn*、*Gs*、*Tr* 和 *Ci* 常作为表征植物光合作用能力和水分代谢状况的重要生理指标，刘欢等<sup>[26]</sup>研究表明，玉蝉花(*Iris ensata*)叶片 *Pn*、*Gs* 及 *Tr* 在高浓度铜胁迫下呈先上升后下降的趋势，而 50 mg/L 铜浓度处理可有效提升叶片的水分利用效率。马思思等<sup>[27]</sup>研究发现，随着铜胁迫浓度的升高，梭鱼草(*Pontederia cordata*)的 *Pn*、*Tr*、*Gs* 显著下降，而 *Ci* 无明显变化；叶片光合效率在 20 mg/L 高铜浓度处理下受到显著抑制作用。冯汉青等<sup>[28]</sup>对当归(*Angelica sinensis*)幼苗的胁迫缓解实验证明铜胁迫严重抑制其光化学效率和光合色素的合成。本试验

中, 施加铜胁迫后两地菊芋  $\text{CO}_2$  供应不足, 光合速率减慢,  $C_i$  随气孔导度的下降产生明显的趋同变化, 这与前人的研究结果相符, 结合叶绿素含量下降、 $F_v/F_m$ 、 $qP$  和 ETR 减小,  $F_0$  增幅呈相反的变化趋势等结果, 判断铜胁迫抑制了光合电子传递效率和 PS II 活性且胁迫初期即造成潍坊菊芋光系统 II 电子传递的紊乱。本研究结果表明, 气孔因素在铜胁迫抑制菊芋光合作用过程中起主要作用, 张云等<sup>[25]</sup>研究发现镉胁迫下菊芋叶片光合速率降低的主要影响因素为非气孔限制, 究其原因, 铜、镉两种重金属对菊芋的作用位点存在差异,  $\text{Cd}^{2+}$  结合光合作用相关基因导致光系统中捕光蛋白含量减少, 同时解聚捕光叶绿素蛋白质, 并抑制 RuBisCo 和 PEPC 的活性<sup>[29]</sup>; 铜毒则通过诱导叶绿素蛋白失活, 引起类囊体膜脂解体, 并抑制 RuBisCo 活性及光合电子传递效率, 最终抑制光合作用<sup>[30]</sup>。SA 是植物响应逆境胁迫信号通路中的重要信号传递分子<sup>[31]</sup>, 前人研究表明, 外源 SA 能有效减轻铜胁迫下当归<sup>[28]</sup>、烟草 (*Nicotiana tabacum*)<sup>[32]</sup> 的光损伤。本研究发现, 单施 SA 对两地菊芋气体交换参数无显著影响, 却能显著提升潍坊菊芋 chl b 含量, 推测 SA 能在一定程度上解除 Cu 对叶绿素合成途径中相关基因的表达抑制<sup>[33]</sup>, 同时促进叶绿体中相关功能蛋白的表达<sup>[34]</sup>, 因此, 可考虑以 SA 为原料进行研发并投入商品生产与农业应用, 以提高作物产量。相较于单施 Cu 处理组, Cu 和 SA 共处理组中两地菊芋的  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $Tr$  及  $C_i$  均显著升高,  $F_0$  和 ETR 逐渐趋向正常水平,  $F_v/F_m$  及  $qP$  大幅回升, 表明 SA 处理减小了菊芋叶片的气体扩散阻力, 净光合速率和蒸腾速率升高, 胞间  $\text{CO}_2$  浓度则因环境中高浓度的二氧化碳而得到及时补充, 同时光合碳同化能力有效提升; 由此说明 SA 通过维持类囊体膜的完整性, 增

强电子传递速率, 促进光化学转化效率, 从而减少 NADPH 的产生, 有效避免活性氧(reactive oxygen species, ROS)造成的器官损害<sup>[35]</sup>。综上所述, SA 可能直接或间接地参与菊芋的原初反应, 其对电子传递、光合磷酸化及光合碳同化的作用过程有待更深入地研究。

### 3.2 SA 对 Cu 胁迫下菊芋抗氧化系统及膜脂过氧化的影响

酶促系统和 AsA-GSH 循环是植物响应重金属胁迫从而清除体内多余活性氧的重要途径<sup>[36]</sup>, 且不同植物抗氧化系统对不同重金属胁迫的响应程度和规律不同。朱秀红等<sup>[37]</sup>研究发现, 锌胁迫下水培白花泡桐(*Paulownia fortunei*) 幼苗 POD 随胁迫浓度的增加持续降低, SOD 活性升高, CAT 活性先增后减; 万子栋等<sup>[38]</sup>研究发现铜胁迫下 (20–320 mg/L) 盐地碱蓬 (*Suaeda salsa*) 体内 POD 活性先增后减, Pro、SP 含量显著升高以增强耐逆性; 本试验中, 不同时期的 4 种抗氧化酶对铜胁迫的响应相异, 除潍坊菊芋叶片 POD 活性随时间增加表现出先增后减趋势外, 菊芋叶片其他酶活均表现出单一增减规律, 这可能是 300 mg/kg 铜浓度导致氧化应激反应, 继而发生膜脂过氧化, 对抗氧化酶活性产生抑制作用, 施加外源 SA 后 Pro 和 SS 含量增加, 从而调节植物细胞质的渗透平衡和保护细胞膜结构, 质膜(plasma membrane, PM)表面 SP 增多, 促进植物体信号传导和铜结合能力, 同时抗氧化酶活性得到增强, 这与万子栋等<sup>[38]</sup>的研究结论相似。研究发现铜胁迫促使芦苇(*Phragmites australis*) 产生大量 AsA<sup>[39]</sup>, 水稻(*Oryza sativa*) GSH 含量显著高于对照组<sup>[40]</sup>, 小麦(*Triticum durum* cv Creso) 根系 ASA 和 GSH 含量显著增加<sup>[41]</sup>, 以清除植物体内积累的活性氧从而减轻铜毒害作用。本试验中两地菊芋 AsA 含量与 APX 活性呈趋同变化

的结果,暗示了 AsA 与 APX 协同作用清除活性氧(ROS)并调节机体  $H_2O_2$  代谢,试验初期两地菊芋各处理组间 GSH 含量无显著差异,随着时间的增加 T1 组 GSH 含量显著高于 CK 组,表明铜对 GSH 的影响具有明显的时间效应,SA 处理后, GSH 含量有所下降,推测 SA 可促进 GSH 与  $Cu^{2+}$  螯合以降低其毒性。结合各指标的功能,推测抗氧化系统与 Pro、SP 及 SS 在植物应对氧化应激过程中存在交互作用;外源 SA 对重金属胁迫下植物体代谢的调控受多种生理反应和信号传导过程影响,还可能与不同类型植物中 SA 含量及其对不同重金属耐受性优劣有关。

### 3.3 SA 对 Cu 胁迫下菊芋矿质元素吸收及根系官能团的影响

植物根系作为最早感知重金属浓度的部位,在启动胁迫响应过程中起重要作用<sup>[42]</sup>。Hippler 等<sup>[43]</sup>研究发现 Cu 被甜橙(*Citrus sinensis*)吸收后主要积累在其根系中,这与本试验结果一致。本试验中铜处理增加了两地菊芋根系及地上部分的含铜量,同时降低了菊芋根、茎、叶对 K、Ca、Mg、Zn 含量的摄取,菊芋根部多糖成分减少且菊芋根系各官能团的稳定性遭到破坏,SA 限制了  $Cu^{2+}$  向地上部的迁移,同时增加了各器官对 K、Ca 的积累量,这与 Roy 等<sup>[44]</sup>对高粱的研究结果相似。有报道指出,SA 可通过提高质子泵活性影响植物对矿质营养元素的吸收<sup>[45]</sup>,通过保持质膜完整性及选择透过性,增强植株对离子的吸收活力;添加 SA 对细胞壁的木质化构建过程产生激活作用<sup>[46]</sup>,有助于加强细胞对矿物质元素的积累,结合抗氧化系统对铜毒的敏感响应,推测菊芋采用耐性与避性相结合的防御机制应对铜胁迫,SA 促使菊芋根尖细胞增加有机酸的分泌以络合游离  $Cu^{2+}$ ,减少植株对铜的吸收和转运,同时作为信号因子调控离子通道蛋白吸收  $Cu^{2+}$ ,

通过区室化作用进行隔离。研究表明,植物细胞壁是根系固定铜的主要场所,其中,多糖类物质中大量带负电的离子基团通过隔离和区室化作用在固定金属离子上起重要作用<sup>[47]</sup>。据报道,剑叶舌叶藓(*Scopelophila cataractae*)通过将过量的  $Cu^{2+}$  积累在细胞壁果胶的同型半乳糖醛酸上以抵御铜毒害<sup>[48]</sup>;海州香薷(*Elsholtzia splendens*)利用根细胞壁纤维素/半纤维素中的  $-COOH$  及果胶中的  $-OH$  等结合  $Cu^{2+}$ <sup>[49]</sup>。据此推断菊芋根细胞壁中  $-OH/-NH/-N-N$  和  $-C-H$  是  $Cu^{2+}$  的主要结合位点,外源 SA 能有效增加细胞壁中果胶、木质素等含量,从而增强细胞壁的机械性能和对  $Cu^{2+}$  的结合能力<sup>[50]</sup>,同时激活抗氧化系统调节植物体内活性氧的动态平衡,增加  $H_2O_2$  含量触发了信号转导机制,使植物体产生系统获得性抗性。

## 4 结论

铜胁迫对菊芋光合作用、抗氧化系统及矿质元素的吸收均产生抑制作用,喷施外源 SA 可调节叶片气孔导度,缓解铜对菊芋光合色素及 PS II 反应中心的抑制作用,通过介导抗氧化酶活性,启动 AsA-GSH 循环过程,有效调控菊芋体内的抗氧化系统,从而减轻膜脂过氧化程度。同时,外源 SA 通过调控菊芋根系官能团变化,增强根系的机械性能并加强与铜离子的结合,显著降低植株各部分铜含量,提高体内离子交换能力,增强渗透调节能力,从而缓解铜对菊芋生长的抑制作用。本研究初步揭示了菊芋的铜害机制与外源 SA 缓解铜胁迫的作用机制,表明外源 SA 具有应用于菊芋修复土壤铜污染的潜力。

## REFERENCES

- [1] 环境保护部,国土资源部. 全国土壤污染状况调查

- 公报[J]. 中国环保产业, 2014(5): 10-11.
- Ministry of Environmental Protection, Ministry of Land and Resources. Bulletin of the national survey of soil pollution[J]. China Environmental Protection Industry, 2014(5): 10-11 (in Chinese).
- [2] MORAVCOVÁ Š, TŮMA J, DUČAIOVÁ ZK, WALIGÓRSKI P, KULA M, SAJA D, SŁOMKA A, BAŁA W, LIBIK-KONIECZNY M. Influence of salicylic acid pretreatment on seeds germination and some defence mechanisms of *Zea mays* plants under copper stress[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2018, 122: 19-30.
- [3] LI Q, CHEN HH, QI YP, YE X, YANG LT, HUANG ZR, CHEN LS. Excess copper effects on growth, uptake of water and nutrients, carbohydrates, and PSII photochemistry revealed by OJIP transients in *Citrus* seedlings[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2019, 26(29): 30188-30205.
- [4] YEUNG AT, GU YY. A review on techniques to enhance electrochemical remediation of contaminated soils[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 195: 11-29.
- [5] 贾伟涛, 吕素莲, 林康祺, 马茂华, 吴胜军, 汤叶涛, 仇荣亮, 李银心. 高生物量经济植物修复重金属污染土壤研究进展[J]. 生物工程学报, 2020, 36(3): 416-425.
- JIA WT, LÜ SL, LIN KQ, MA MH, WU SJ, TANG YT, QIU RL, LI YX. Research progress in phytoremediation of heavy-metal contaminated soils with high-biomass economic plants[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2020, 36(3): 416-425 (in Chinese).
- [6] 娄腾雪, 吕素莲, 李银心. 盐角草在 Cd、Pb、Li 污染盐土修复中的应用潜力[J]. 生物工程学报, 2020, 36(3): 481-492.
- LOU TX, LÜ SL, LI YX. Application potential of *Salicornia europaea* in remediation of Cd, Pb and Li contaminated saline soil[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2020, 36(3): 481-492 (in Chinese).
- [7] 韩东洺, 张喜洋, 庞秋颖, 阎秀峰. 萌芽菊芋块茎对盐碱土壤胁迫的生理响应[J]. 生态学报, 2017, 37(4): 1244-1251.
- HAN DM, ZHANG XY, PANG QY, YAN XF. Physiological response of sprouting Jerusalem artichoke tubers to saline-alkali stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(4): 1244-1251 (in Chinese).
- [8] 高会玲, 刘金隆, 郑青松, 洪立洲, 王长海, 马梅, 赵世训, 郑春芳. 外源油菜素内酯对铜胁迫下菊芋幼苗光合作用及镉富集的调控效应[J]. 生态学报, 2013, 33(6): 1935-1943.
- GAO HL, LIU JL, ZHENG QS, HONG LZ, WANG CH, MA M, ZHAO SX, ZHENG CF. Regulation of exogenous brassinosteroid on growth and photosynthesis of *Helianthus tuberosus* seedlings and cadmium biological enrichment under cadmium stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(6): 1935-1943 (in Chinese).
- [9] 周蜜, 吴玉环, 刘星星, 陈娇, 郑婷, 章嗣瑶, 李江雯, 李润桥, 刘鹏. 镉胁迫对菊芋生理变化及镉富集的影响[J]. 水土保持学报, 2019, 33(2): 323-330.
- ZHOU M, WU YH, LIU XX, CHEN J, ZHENG T, ZHANG SY, LI JW, LI RQ, LIU P. Effects of cadmium stress on physiological responses and cadmium enrichment in *Helianthus tuberosus* L[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2019, 33(2): 323-330 (in Chinese).
- [10] FILGUEIRAS CC, MARTINS AD, PEREIRA RV, WILLETT DS. The ecology of salicylic acid signaling: primary, secondary and tertiary effects with applications in agriculture[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(23): 5851.
- [11] 郑静静, 杨丽, 苏小雨, 赵会杰, 袁祖丽, 薛瑞丽, 赵一丹. 水杨酸对高温强光下小麦叶绿体蛋白酶 Deg5 和 PS II 功能的调节作用[J]. 生态学报, 2014, 34(24): 7350-7355.
- ZHENG JJ, YANG L, SU XY, ZHAO HJ, YUAN ZL, XUE RL, ZHAO YD. Regulatory effects of salicylic acid on protease Deg5 and PS II function of wheat chloroplasts under heat and high light stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(24): 7350-7355 (in Chinese).
- [12] 易小林, 杨丙贤, 宗学风, 李名扬. 信号分子水杨酸减缓干旱胁迫对紫御谷光合和膜脂过氧化的副效应[J]. 生态学报, 2011, 31(1): 67-74.
- YI XL, YANG BX, ZONG XF, LI MY. Signal chemical salicylic acid mitigates the negative effects of drought on photosynthesis and membrane lipid peroxidation of purple majesty[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(1): 67-74 (in Chinese).
- [13] 曹栋栋, 陈珊宇, 秦叶波, 吴华平, 阮关海, 黄玉韬. 水杨酸调控盐胁迫下羽衣甘蓝种子萌发的机理[J]. 植物学报, 2020, 55(1): 49-61.
- CAO DD, CHEN SY, QIN YB, WU HP, RUAN GH, HUANG YT. Regulatory mechanism of salicylic acid on seed germination under salt stress in kale[J]. Bulletin of Botany, 2020, 55(1): 49-61 (in Chinese).
- [14] YAN A, WANG YM, TAN SN, YUSOF MLM,

- GHOSH S, CHEN Z. Phytoremediation: a promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 359.
- [15] 付川, 余顺慧, 黄怡民, 邓洪平. 紫花苜蓿对铜胁迫生理响应的傅里叶变换红外光谱法研究[J]. *生态学报*, 2014, 34(5): 1149-1155.
- FU C, YU SH, HUANG YM, DENG HP. Physiological response of *Medicago sativa* L. to copper stress by FTIR spectroscopy[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(5): 1149-1155 (in Chinese).
- [16] 张晓斌, 刘鹏, 李丹婷, 徐根娣, 蒋敏姣. 铬诱导植物根细胞壁化学成分变化的 FTIR 表征[J]. *光谱学与光谱分析*, 2008, 28(5): 1067-1070.
- ZHANG XB, LIU P, LI DT, XU GD, JIANG MJ. FTIR spectroscopic characterization of chromium-induced changes in root cell wall of plants[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2008, 28(5): 1067-1070 (in Chinese).
- [17] 包维楷, 冷俐. 苔藓植物光合色素含量测定方法: 以暖地大叶藓为例[J]. *应用与环境生物学报*, 2005, 11(2): 235-237.
- BAO WK, LENG L. Determination methods for photosynthetic pigment content of bryophyte with special relation of extracting solvents[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2005, 11(2): 235-237 (in Chinese).
- [18] 王雯, 李曼, 王丽红, 周青. 酸雨对全生育时期水稻叶绿素荧光的影响[J]. *生态环境学报*, 2014, 23(1): 80-85.
- WANG W, LI M, WANG LH, ZHOU Q. Effects of acid rain on the chlorophyll fluorescence reaction in rice at the whole growth stages[J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2014, 23(1): 80-85 (in Chinese).
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164-169.
- Li HS. Principles and Techniques of Plant Physiology and Biochemistry Experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 164-169 (in Chinese).
- [20] SHARMA R, BHARDWAJ R, THUKRAL AK, AL-HUQAIL AA, SIDDIQUI MH, AHMAD P. Oxidative stress mitigation and initiation of antioxidant and osmoprotectant responses mediated by ascorbic acid in *Brassica juncea* L. subjected to copper (II) stress[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 182: 109436.
- [21] 薛欣欣, 王文斌, 罗雪华, 张永发, 赵春梅. 钾镁胁迫对橡胶幼苗叶片物质成分影响的 FTIR 表征[J]. *光谱学与光谱分析*, 2022, 42(1): 74-79.
- XUE XX, WANG WB, LUO XH, ZHANG YF, ZHAO CM. FTIR spectroscopic characterization of material composition in leaf of *Hevea brasiliensis* seedlings under potassium and magnesium deficiency[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2022, 42(1): 74-79 (in Chinese).
- [22] 张钰滢, 邢旭东. 长株潭地区土壤重金属污染植物修复可行性初探: 以株洲某工业区为例[J]. *云南地理环境研究*, 2015, 27(5): 73-78.
- ZHANG YH, XING XD. Changzhutan regional feasibility of phytoremediation of soil heavy metal contaminants—in order to Zhuzhou industrial zone as an example[J]. *Yunnan Geographic Environment Research*, 2015, 27(5): 73-78 (in Chinese).
- [23] 朱铁霞, 高阳, 高凯, 李志华. 干旱胁迫下菊芋各器官生物量及物质分配规律[J]. *生态学报*, 2019, 39(21): 8021-8026.
- ZHU TX, GAO Y, GAO K, LI ZH. Organ biomass and resource allocation in response to drought stress in Jerusalem artichoke[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(21): 8021-8026 (in Chinese).
- [24] 张佩佩, 李文文, 吴玉环, 任晴雯, 陈瑞, 周蜜, 王熙予, 陈茹洁, 刘鹏. 水杨酸对菊芋耐高氯酸盐胁迫的影响[J]. *水土保持学报*, 2020, 34(4): 376-384.
- ZHANG PP, LI WW, WU YH, REN QW, CHEN R, ZHOU M, WANG XY, CHEN RJ, LIU P. Effect of exogenous salicylic acid on the tolerance of *Helianthus tuberosus* L. to  $\text{ClO}_4^-$  stress[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2020, 34(4): 376-384 (in Chinese).
- [25] 张云, 王丹媚, 王孝源, 任晴雯, 唐可, 张丽宇, 吴玉环, 刘鹏. 外源茉莉酸对菊芋镉胁迫下光合特性及镉积累的影响[J]. *作物学报*, 2021, 47(12): 2490-2500.
- ZHANG Y, WANG DM, WANG XY, REN QW, TANG K, ZHANG LY, WU YH, LIU P. Effects of exogenous jasmonic acid on photosynthetic characteristics and cadmium accumulation of *Helianthus tuberosus* L. under cadmium stress[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2021, 47(12): 2490-2500 (in Chinese).
- [26] 刘欢, 田晓璇, 宋红. 铜胁迫对玉蝉花幼苗生长及生理指标的影响[J]. *北方园艺*, 2021(10): 71-79.
- LIU H, TIAN XX, SONG H. Effects of copper stress on the growth and physiological index of *Iris ensata* seedlings[J]. *Northern Horticulture*, 2021(10): 71-79 (in Chinese).

- [27] 马思思, 辛建攀, 田如男. 梭鱼草对铜胁迫的光合适应性[J]. 东北林业大学学报, 2020, 48(3): 50-55.  
MA SS, XIN JP, TIAN RN. Photosynthetic adaptability of *Pontederia cordata* to copper stress[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2020, 48(3): 50-55 (in Chinese).
- [28] 冯汉青, 张牡丹, 陈永霞, 冉瑞兰. Cu 胁迫下水杨酸对当归幼苗叶绿素含量和荧光特性影响的研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2019, 55(1): 83-88.  
FENG HQ, ZHANG MD, CHEN YX, RAN RL. Effects of salicylic acid on chlorophyll content and fluorescence characteristics of *Angelica sinensis* seedlings under Cu stress[J]. Journal of Northwest Normal University (Natural Science), 2019, 55(1): 83-88 (in Chinese).
- [29] QIAN HF, LI JJ, PAN XJ, JIANG HY, SUN LW, FU ZW. Photoperiod and temperature influence cadmium's effects on photosynthesis-related gene transcription in *Chlorella vulgaris*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2010, 73(6): 1202-1206.
- [30] REHMAN M, LIU LJ, BASHIR S, SALEEM MH, CHEN C, PENG DX, SIDDIQUE KH. Influence of rice straw biochar on growth, antioxidant capacity and copper uptake in ramie (*Boehmeria nivea* L.) grown as forage in aged copper-contaminated soil[J]. Plant Physiology and Biochemistry: PPB, 2019, 138: 121-129.
- [31] 代宇佳, 罗晓峰, 周文冠, 陈锋, 帅海威, 杨文钰, 舒凯. 生物和非生物逆境胁迫下的植物系统信号[J]. 植物学报, 2019, 54(2): 255-264.  
DAI YJ, LUO XF, ZHOU WG, CHEN F, SHUAI HW, YANG WY, SHU K. Plant systemic signaling under biotic and abiotic stresses conditions[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2019, 54(2): 255-264 (in Chinese).
- [32] 葛淑芳, 章艺, 梅笑漫, 吴玉环, 肖有铁, 徐根娣, 刘鹏. 外源水杨酸对铜胁迫下烟草叶片碳代谢的影响[J]. 水土保持学报, 2014, 28(4): 324-329.  
GE SF, ZHANG Y, MEI XM, WU YH, XIAO YT, XU GD, LIU P. Effect of exogenous salicylic acid on carbon metabolism of tobacco leaves under copper stress[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2014, 28(4): 324-329 (in Chinese).
- [33] WANG YY, WANG Y, LI GZ, HAO L. Salicylic acid-altering *Arabidopsis* plant response to cadmium exposure: underlying mechanisms affecting antioxidation and photosynthesis-related processes[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 169: 645-653.
- [34] WANG LJ, FAN L, LOESCHER W, DUAN W, LIU GJ, CHENG JS, LUO HB, LI SH. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves[J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 34.
- [35] XIONG B, WANG Y, ZHANG Y, MA MM, GAO YF, ZHOU ZY, WANG BZ, WANG T, LV XL, WANG X, WANG J, DENG HH, WANG ZH. Alleviation of drought stress and the physiological mechanisms in *Citrus* cultivar (Huangguogan) treated with methyl jasmonate[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2020, 84(9): 1958-1965.
- [36] ETESAMI H, JEONG BR. Silicon (Si): review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 147: 881-896.
- [37] 朱秀红, 程红梅, 季柳洋, 茹广欣, 赵珠琳, 蔡曜琦, 温道远. 锌、镉及其复合胁迫下白花泡桐幼苗的生理及富集特征[J]. 生物工程学报, 2021, 37(7): 2463-2473.  
ZHU XH, CHENG HM, JI LY, RU GX, ZHAO ZL, CAI YQ, WEN DY. Physiological and enrichment characteristics of *Paulownia fortunei* seedlings under zinc, cadmium and their combined stress[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2021, 37(7): 2463-2473 (in Chinese).
- [38] 万子栋, 高天鹏, 周玉霞, 王引弟, 常国华, 巨天珍, 杨颖丽, 张庆. 重金属复合胁迫下碱蓬萌发生长及富集特征[J]. 生物工程学报, 2020, 36(3): 493-507.  
WAN ZD, GAO TP, ZHOU YX, WANG YD, CHANG GH, JU TZ, YANG YL, ZHANG Q. Seed germination, bud growth and heavy-metal accumulation of *Suaeda salsa*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2020, 36(3): 493-507 (in Chinese).
- [39] WU J, HU J, WANG L, ZHAO L, MA F. Responses of *Phragmites australis* to copper stress: a combined analysis of plant morphology, physiology and proteomics[J]. Plant Biology (Stuttgart, Germany), 2021, 23(2): 351-362.
- [40] THOUNAOJAM TC, PANDA P, MAZUMDAR P, KUMAR D, SHARMA GD, SAHOO L, PANDA SK. Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice[J]. Plant Physiology and Biochemistry: PPB, 2012, 53: 33-39.
- [41] PARADISO A, BERARDINO R, de PINTO MC, SANITÀ di TOPPI L, STORELLI MM, TOMMASI F, de GARA L. Increase in ascorbate-glutathione

- metabolism as local and precocious systemic responses induced by cadmium in durum wheat plants[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2008, 49(3): 362-374.
- [42] 李希铭, 宋桂龙. 镉胁迫对紫花苜蓿镉吸收特征及根系形态影响[J]. *草业学报*, 2016, 25(2): 178-186.  
LI XM, SONG GL. Cadmium uptake and root morphological changes in *Medicago sativa* under cadmium stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, 25(2): 178-186 (in Chinese).
- [43] HIPPLER FWR, CIPRIANO DO, BOARETTO RM, QUAGGIO JA, GAZIOLA SA, AZEVEDO RA, MATTOS-JR DIRCEU. *Citrus* rootstocks regulate the nutritional status and antioxidant system of trees under copper stress[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, 130: 42-52.
- [44] ROY SK, CHO SW, KWON SJ, KAMAL AHM, LEE DG, SARKER K, LEE MS, XIN ZG, WOO SH. Proteome characterization of copper stress responses in the roots of sorghum[J]. *Biometals: An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, 2017, 30(5): 765-785.
- [45] SHI QH, ZHU ZJ. Effects of exogenous salicylic acid on Manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2008, 63(1/2/3): 317-326.
- [46] HAYAT Q, HAYAT S, IRFAN M, AHMAD A. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, 68(1): 14-25.
- [47] LI XW, LIU JY, FANG J, TAO L, SHEN RF, LI YL, XIAO HD, FENG YM, WEN HX, GUAN JH, WU LS, HE YM, GOLDBACH HE, YU M. Boron supply enhances aluminum tolerance in root border cells of pea (*Pisum sativum*) by interacting with cell wall pectins[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 742.
- [48] KONNO H, NAKASHIMA S, KATOH K. Metal-tolerant moss *Scopelophila cataractae* accumulates copper in the cell wall pectin of the protonema[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2010, 167(5): 358-364.
- [49] 刘婷婷, 彭程, 王梦, 段德超, 施积炎. 海州香薷根细胞壁对铜的吸附固定机制研究[J]. *环境科学学报* 2014, 34(2): 514-523.  
Liu TT, Peng C, Wang M, DUAN JY, SHI JY. Mechanism of fixation and adsorption of copper on root cell wall of *Elsholtzia splendens*[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2014, 34(2): 514-523(in Chinese).
- [50] 刘佩佩, 张耿, 李晓娟. 植物果胶的生物合成与功能[J]. *植物学报*, 2021, 56(2): 191-200.  
LIU PP, ZHANG G, LI XJ. Biosynthesis and function of plant pectin[J]. *Bulletin of Botany*, 2021, 56(2): 191-200 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)