

川芎对镉、铅及其复合处理的生理响应*

李笑媛¹ 陈润芍¹ 许安妮¹ 余路路¹ 王新厦¹ 曾建^{1,2**}

¹四川农业大学资源学院 成都 611130

²四川农业大学资源与地理信息技术研究所 成都 611130

摘要 选取四川道地产区的川芎 (*Ligusticum chuanxiong* Hort.) 为研究材料, 采用盆栽控制进行模拟镉 (Cd)、铅 (Pb) 及其复合处理实验, 研究重金属在川芎体内的吸收和分配规律, 探讨Cd、Pb及其复合处理下川芎的生理响应机制. 实验包括4个处理, 分别为对照处理 (0 mg/kg Cd和0 mg/kg Pb)、镉处理 (5 mg/kg Cd)、铅处理 (500 mg/kg Pb) 及其复合处理 (5 mg/kg Cd + 500 mg/kg Pb). 结果表明, Pb主要富集在根部, 而Cd富集在根部与根茎; Pb促进了Cd从地下部向地上部的转移, 但抑制了Cd在根茎和叶片中的富集, 复合处理显著降低了川芎根茎和地上部分Cd的积累. 与对照处理相比, Cd、Pb单一处理抑制了川芎叶片的光合作用, 显著降低了净光合速率 (P_n)、气孔导度 (G_s)、胞间CO₂浓度 (C_i)、蒸腾速率 (T_r)、叶绿素a (Chla)、叶片瞬时水分利用效率和根系活力, 其中Cd处理对植株的胁迫相较于Pb处理负面影响更加显著. 与Cd处理相比, 复合处理显著提高了植株的实际光化学量子产量 (YII) 和光化学淬灭 (q_p), 降低了非光化学淬灭 (NPQ), 川芎叶片具有更强的光合潜力. 在次生代谢产物合成中, Cd处理显著降低根茎中阿魏酸和川芎嗪含量, Pb处理显著降低根茎中藜本内酯含量; 相较于Cd单一处理, 复合处理显著增加了根茎中阿魏酸的含量. 本研究表明川芎受到Pb处理的毒害效应弱于Cd处理; 复合处理下, 川芎通过提高叶片的光合潜力、水分利用效率和根系活力缓解重金属的毒害; 结果可为评价川芎遭受重金属污染风险提供科学依据. (图4 表6 参32)

关键词 重金属; 川芎; 光合作用; 富集能力; 次生代谢产物

CLC Q945.78

Physiological response to cadmium, lead, and their combination stress in *Ligusticum chuanxiong* Hort.*

LI Xiaoyuan¹, CHEN Runshao¹, XU Anni¹, YU Lulu¹, WANG Xinxia¹ & ZENG Jian^{1,2**}

¹ College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

² Institute of Natural Resources and Geographic Information Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Abstract *Ligusticum chuanxiong* Hort. from geo-authentic habitats in Sichuan province of China was selected as the research material in this study. Pot experiments were used to simulate cadmium (Cd), lead (Pb), and their combined treatments to investigate the absorption and distribution characteristics of heavy metals, and to reveal the physiological response of *L. chuanxiong* to heavy metal stress. Four treatments were utilized in this study, including the control treatment (0 mg/kg Cd and 0 mg/kg Pb), cadmium treatment (5 mg/kg Cd), lead treatment (500 mg/kg Pb), and their combined treatment (5 mg/kg Cd + 500 mg/kg Pb). The results showed that Pb was mainly concentrated in the roots, whereas Cd was enriched in the roots and rhizomes. Pb promoted the transfer of Cd from the underground to the aboveground parts of the plant; however, it inhibited the enrichment of Cd in the rhizomes and leaves. In the combined treatment, the accumulation of Cd in the rhizome and aboveground parts of *L. chuanxiong* was significantly reduced. Compared with the control treatment, the Cd and Pb treatments significantly decreased the net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), intercellular CO₂ concentration (C_i), transpiration rate (T_r), leaf instantaneous chlorophyll a content, water use efficiency, and root activity in *L. chuanxiong*. Furthermore, the stress effect of the Cd treatment was more significant than that of the Pb treatment. Compared with the Cd treatment, the photosynthetic potential of *L. chuanxiong* was improved under the combined treatment by increasing the actual photochemical yield (YII) and photochemical quenching (q_p), and decreasing the non-photochemical quenching (NPQ). For secondary metabolite synthesis, the Cd treatment significantly decreased ferulic acid and tetramethylpyrazine content in rhizomes, whereas the Pb treatment significantly decreased ligustilide content. Their combination resulted in a significantly higher ferulic acid content in the rhizomes than that of the Cd treatment only. These results indicate that the toxicity of Pb was

收稿日期 Received: 2018-05-16 接受日期 Accepted: 2018-07-03

*四川省教育厅项目 (15ZA0012) 资助 Supported by the Project of Education Department of Sichuan Province (15ZA0012)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: zengjian@sicau.edu.cn)

weaker than that of Cd in *L. chuanxiong*. Under the combined treatment, *L. chuanxiong* could alleviate heavy metal toxicity by increasing the photosynthetic potential of leaves, water use efficiency, and root activity.

Keywords heavy metal; *Ligusticum chuanxiong*; photosynthesis; accumulative ability; secondary metabolite

由于社会经济的发展,工农业生产导致重金属元素进入到生态环境中,致使土壤中重金属的含量显著提高,土壤污染现象频发。在酸性土壤(pH < 6.5)中,保障农业生产和维护人体健康的重金属镉(Cd)和铅(Pb)的限制含量为0.30 mg/kg和250 mg/kg^[1]。Cd、Pb作为农业生态系统中主要的重金属污染元素,进入植物体内并累积后,不仅严重影响植物的生长发育,而且可以通过食物链进入人体,危害人类的健康。

中药材川芎(*Ligusticum chuanxiong* Hort.)为伞形科植物,以干燥的根茎入药。川芎中的药用成分以阿魏酸、川芎嗪和藁本内酯等为主,在心脑血管、神经、呼吸等系统的疾病治疗上发挥着独特的药理作用^[2-4]。四川省作为川芎的道地产区,其产量占全国的90%以上^[5]。随着农业生产中重金属污染形势加剧,中药材重金属含量超标现象日益突出,质量安全控制受到严峻挑战。根据《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》,药用植物中重金属含量限量标准十分严格。目前,我国中药材重金属Cd污染状况最为严重,Pb的超标率呈现下降趋势^[6]。

重金属胁迫下,植物根系活力下降,叶绿素含量降低,光合作用受限制,体内生理代谢活动紊乱,生长受到抑制^[7-10]。对于药用植物而言,药用部位发育同样受到重金属胁迫的阻碍,导致药材品质显著降低^[7-8]。在川芎中,大量有毒重金属元素主要积累在根茎中,Cd含量超标尤为严重^[9-10]。关于川芎的重金属污染现状主要集中于重金属含量的相关研究,而川芎中重金属积累的生理效应和响应机制以及对药用成分的影响作用方面尚不明确。因此,我们以道地产区川芎为实验材料,采用盆栽控制模拟实验,对川芎进行Cd、Pb及其复合处理,研究重金属在川芎体内的吸收和分配规律,揭示在重金属胁迫下川芎的生理响应和对药用成分含量的影响,为评价川芎遭受重金属污染风险提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试材料由四川省农业科学院经济作物育种栽培研究所提供。

1.2 实验设计

本研究供试土壤采自四川省成都市温江区用于农业种植的水稻土(pH = 5.27; Cd, 0.303 mg/kg; Pb, 31.99 mg/kg),经自然风干后,去除植物根及枯落物等,研磨过筛(2 mm)备用。土壤重金属Cd、Pb模拟污染以CdCl₂·2.5H₂O和PbCl₂溶液形式添加,使得干土中Cd、Pb最终浓度分别为5 mg/kg和500 mg/kg。实验在四川农业大学智能温室内进行,温度为22 ± 2 °C,光照强度为500 μmol m⁻² s⁻¹,相对湿度为70%。实验共设4个处理,分别为CK处理、Cd处理(5 mg/kg)、Pb处理(500 mg/kg)和Cd + Pb复合处理(5 mg/kg + 500 mg/kg),每个处理3次重复。在各处理中,分别加入0.15 g/kg N、0.08 g/kg P和

0.1 g/kg K,混匀后装盆,每盆3 kg干土,加入去离子水,维持土壤含水量在70%。一周后进行川芎幼苗移栽,并进行日常材料管理,保证植物正常生长,生长60 d后,采集样品进行测定。

1.3 测定方法

1.3.1 植株生长和Cd、Pb元素测定 称取样品粉末0.2 g装入50 mL三角瓶中,加入5 mL混合酸[HNO₃/HClO₄ (V/V = 4/1)]于电热板上220 °C加热消解,直至清澈透明,冷却后转移到50 mL容量瓶中定容,过滤后备测。采用ICP-MS(Agilent 7900, USA)测定Cd和Pb含量。

1.3.2 光合生理指标测定 光合生理参数采用便携式光合测定系统(LI-6400, LI-COR, Lincoln, NE, USA),对每个处理植株顶端上部随机选定完全展开5片叶进行测定。测定时间选择天气晴朗上午8:00-11:30进行。测定过程中,叶面温度设置为25 °C,光照强度为500 μmol m⁻² s⁻¹,相对湿度为50%,CO₂浓度为380 ± 5 μmol/mol,分别对植物的净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)和胞间CO₂浓度(C_i)进行测定。叶片瞬时光合水分利用效率的计算公式为P_n/T_r。测定光合作用的叶片同时采用叶绿素荧光仪(IMAGING-PAM, WALZ, Germany)分别对初始荧光(F₀)、非光化学淬灭(NPQ)、光化学淬灭(q_p)、PSII最大光化学效率(F_v/F_m)和实际光化学量子产量(YII)进行测定。

在完成光合作用和叶绿素荧光参数测定后,对该叶片采用80%丙酮浸提法测定叶绿素含量^[11]。称取0.2 g鲜叶放在25 mL离心管中,加入10 mL 80%丙酮溶液,放在黑暗处浸提至完全变白后取出。在分光光度计(Shimadzu, UV-1700, Japan)中读取上清液在663 nm和646 nm波长下的吸收值,以80%丙酮液为空白。叶绿素浓度的计算公式如下: Chla = 12.21 OD₆₆₃ - 2.81 OD₆₄₆; Chlb = 20.13 OD₆₄₆ - 5.03 OD₆₆₃。

1.3.3 根系活力测定 采用氯化三苯基四氮唑(TTC)法测定根系活力^[11]。称取0.2 g新鲜根系,用滤纸吸干根系表面水分在研钵中加入乙酸乙酯5 mL和少量石英砂一起研磨粉碎。把红色提取物移入试管,并用少量乙酸乙酯洗涤残渣2-3次,并移入试管,最后加入乙酸乙酯使总量达到10 mL。在分光光度计上测定485 nm下的吸光度,查标准曲线。

1.3.4 次生代谢产物含量测定 采用液相色谱法^[12]测定川芎主要的次生代谢产物(阿魏酸、川芎嗪、藁本内酯)。称取样品粉末1.0 g,分别加入1%盐酸溶液20 mL,超声(100 W, 40 kHz)提取60 min后,4 000 r/min离心5 min,上清液转移至2 L分液漏斗中,加浓氨水碱化至pH 9-10后,再加饱和三氯甲烷萃取3次。三氯甲烷溶液于45 °C水浴中减压浓缩至约0.5 mL,转移至10 mL容量瓶中,加入甲醇定容后经0.22 μm微孔滤膜过滤,获得待测溶液样品。选用高效液相色谱仪(Agilent 1260, Agilent Inc, USA)测定。色谱条件设置为Agilent ZORBAX SB-C18(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)色谱柱,流动相A为乙腈,B为水,检测波长为203 nm,流速1.0 mL/min,柱温30 °C,进样量10 μL。

1.4 数据分析

实验数据用Excel 2010统计整理并制图,采用SPSS 20.0

统计分析软件对数据进行分析, 进行单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和LSD多重比较, 在显著性分析中, $P < 0.05$ 为差异显著, $P > 0.05$ 为差异不显著, 运用皮尔逊 (Pearson) 相关性分析不同川芎组织部位的Cd、Pb含量与转移系数和富集系数进行相关性。

2 结果与分析

2.1 镉、铅的含量分布与积累系数相关性

在不同处理条件下, Pb主要富集在根部, 而Cd富集在根部与根茎, Pb处理显著降低了Cd在体内的转移系数和富集系数, 抑制了Cd在根茎和叶中的积累 (表1和图1)。相较于对照, 在Cd处理下根茎叶中Cd的含量分别增加了77.66%、83.59%、58.93%, 在Pb处理下根茎叶中Pb的含量分别增加了94.51%、95.35%、93.52%。与单一Cd处理相比, 复合处理显著降低了Cd在植物体内的转移系数和富集系数, 根茎和叶片中Cd的含量显著降低, 根茎中降低了65.37%, 叶片中降低了61.60%。

由表1、2可知, Cd和Pb在川芎体内存在相互作用关系。在单一处理中, 叶片中Cd的含量与其转移系数显著正相关, Pb的含量与其富集系数显著正相关; 而根茎中Cd和Pb的含量与其富集系数显著正相关。在复合处理中, 根中Cd的含量与其转移系数呈显著负相关, 说明Pb抑制了Cd的转移能力; 根茎和叶片中Cd的含量与Pb的转移系数显著正相关, 与Pb的富集系数显著负相关, 说明Pb促进了Cd的转移, 但抑制了Cd的富集。就植物体内各部位Pb含量而言, 根和叶片中Pb的含量与Cd的富集系数显著正相关, 但在Pb的积累量中无显著差异 (图1)。

2.2 镉、铅胁迫对川芎生长的影响

2.2.1 镉、铅胁迫下地上地下部生物量积累 由表3可知, Cd、Pb及其复合处理显著抑制了川芎地下部的生长, 而地上

表1 不同部位镉含量与积累系数的相关性分析

Table 1 Correlation analysis of accumulation index and content of Cd in different organ parts

处理 Treatment	Cd		Pb	
	转移系数 Transfer factor	富集系数 Enrichment coefficient	转移系数 Transfer factor	富集系数 Enrichment coefficient
Cd _R	-0.63	0.97*	—	—
Cd _{RH}	0.65	0.98*	—	—
Cd _L	0.98*	0.91	—	—
Cd + Pb _R	-1.00**	0.98	0.82	-0.68
Cd + Pb _{RH}	-0.60	0.91	0.95*	-1.00**
Cd + Pb _L	-0.75	0.97*	1.00**	-0.99**

**表示在0.01水平上相关性显著; *表示在0.05水平上相关性显著。R: 根; RH: 根茎; L: 叶。

** Indicates significant correlation at 0.01 level; * indicates significant correlation at 0.05 level. R: Root; RH: Rhizome; L: Leaf.

表2 不同部位铅含量与积累系数的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of accumulation index and content of Pb in different organ parts

处理 Treatment	Cd		Pb	
	转移系数 Transfer factor	富集系数 Enrichment coefficient	转移系数 Transfer factor	富集系数 Enrichment coefficient
Pb _R	—	—	0.87	1.00**
Pb _{RH}	—	—	0.92	1.00**
Pb _L	—	—	0.94	1.00**
Cd + Pb _R	-0.90	1.00**	0.92	-0.93
Cd + Pb _{RH}	0.79	-0.92	-1.00**	0.99*
Cd + Pb _L	-0.85	1.00**	1.00**	-0.96*

**表示在0.01水平上相关性显著; *表示在0.05水平上相关性显著。R: 根; RH: 根茎; L: 叶。

** Indicates significant correlation at 0.01 level; * indicates significant correlation at 0.05 level. R: Root; RH: Rhizome; L: Leaf.

部生物量积累无显著差异。相较于对照处理, 单一Cd处理显著抑制了地下部和总生物量积累, 根冠比显著降低, 生物量主要积累于地上部; Cd、Pb及其复合处理显著降低了地下部

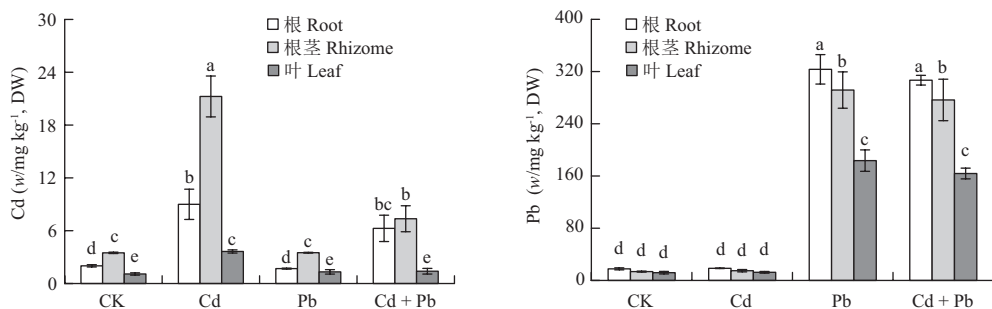


图1 不同处理下川芎镉和铅的积累。不同小写字母表示表示在0.05水平上差异显著。

Fig. 1 Accumulation of Cd, Pb in *Ligusticum chuanxiong* under different treatments. Different small letters show significantly different between the treatments at 0.05 level.

表3 镉铅及其复合处理对川芎生物量积累的影响

Table 3 Effect of Cd, Pb and their combined treatments on biomass accumulation *Ligusticum chuanxiong*

处理 Treatment	地上部 (m/g, FW) Aboveground part	地下部 (m/g, FW) Underground part	总量 (m/g, FW) Total weight	根冠比 (r/%) Root/shoot
CK	5.28 ± 0.57a	12.06 ± 2.14a	17.34 ± 2.55a	2.35 ± 0.08a
Cd	3.32 ± 0.76a	5.55 ± 0.94c	8.87 ± 1.69b	1.64 ± 0.04c
Pb	5.13 ± 1.51a	9.20 ± 2.23b	14.33 ± 3.72ab	1.82 ± 0.05b
Cd + Pb	4.99 ± 0.89a	9.24 ± 3.19b	14.23 ± 4.08ab	1.83 ± 0.03b

不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。

Different small letters are significantly different between the treatments at 0.05 level.

生物量和根冠比, Cd处理降低了53.98%和30.21%, Pb处理降低了28.19%和22.55%, 复合处理降低了23.38%和22.13%.

2.2.2 镉、铅胁迫对根系活力和叶片瞬时水分利用效率的影响 Cd胁迫下根系活力和叶片瞬时水分利用效率显著降低, 而复合处理减缓了Cd对植物的毒害(图2). 相较于对照处理, Cd、Pb及复合处理条件下, 根系活力分别降低了39.75%, 29.97%和7.53%, Cd、Pb处理根系活力低于对照处理与复合处理, 且Cd处理对根系毒害作用较Pb处理大. 相较于对照, Cd处理显著降低水分利用效率, 降低了16.04%, 植株利用水分的效率减弱, 同时由于根系活力受到抑制, 吸收水分和养分能力降低, 导致植株生长受到抑制. 而与Cd单一处理相比, 复合处理显著增加了川芎的水分利用效率, 其增加了19.11%.

2.3 镉、铅胁迫对光合系统的影响

2.3.1 镉、铅胁迫对光合作用的影响 Cd、Pb及其复合处

理显著抑制了川芎叶片的光合作用, 复合处理减缓了Cd对川芎光合作用的影响(图3、表4). 与对照相比, Cd、Pb单一处理和复合处理均显著降低了川芎的 P_n 、 G_s 、 T_r 、Chla的含量, Cd处理降低了29.14%、34.55%、34.13%、15.74%, Pb处理降低

表4 镉、铅及其复合处理对川芎叶绿素含量的影响
Table 4 Effect of Cd, Pb and their combined treatments on chlorophyll content in *Ligusticum chuanxiong*

处理 Treatment	叶绿素a Chla (w/mg g ⁻¹ , FW)	叶绿素b Chlb (w/mg g ⁻¹ , FW)	叶绿素a/b Chla/b (w/mg g ⁻¹ , FW)
CK	1.08 ± 0.01a	0.34 ± 0.05a	3.35 ± 0.46a
Cd	0.91 ± 0.38c	0.32 ± 0.03a	2.94 ± 0.13b
Pb	1.06 ± 0.24b	0.33 ± 0.02a	3.21 ± 0.27a
Cd + Pb	1.05 ± 0.04b	0.31 ± 0.06a	3.28 ± 0.02a

不同小写字母表示在0.05水平上差异显著.
Different small letters are significantly different between the treatments at 0.05 level.

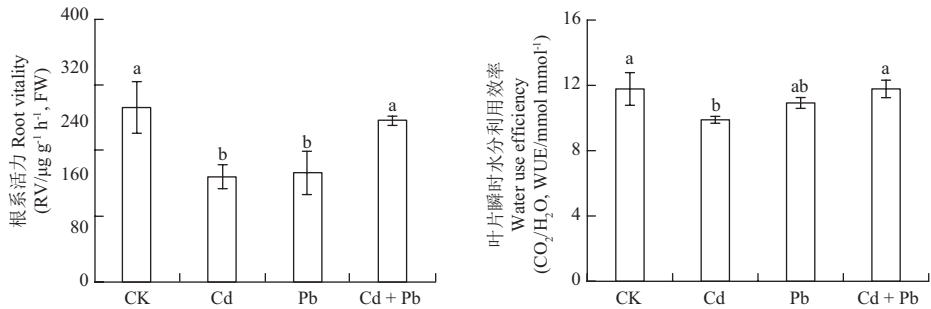


图2 镉、铅及其复合处理对川芎根系活力和叶片瞬时水分利用效率的影响. 不同小写字母表示表示在0.05水平上差异显著.
Fig. 2 Effect of Cd, Pb and their combined treatments on the root activity and leaf instantaneous water use efficiency in *Ligusticum chuanxiong*. Different small letters are significantly different between the treatments at 0.05 level.

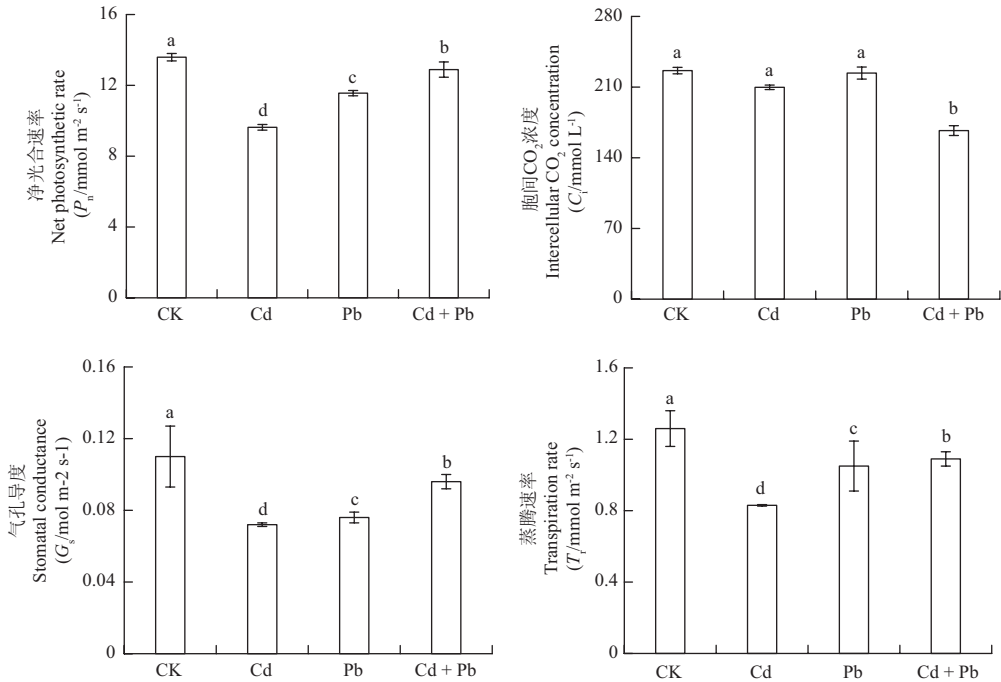


图3 镉、铅及其复合处理对川芎光合作用的影响. 不同小写字母表示在0.05水平上差异显著.
Fig. 3 Effect of Cd, Pb and their combined treatments on photosynthesis in *Ligusticum chuanxiong*. Different small letters are significantly different between the treatments at 0.05 level.

表5 镉、铅及其复合处理对川芎叶绿素荧光的影响

Table 5 Effects of Cd, Pb and their combined treatments on chlorophyll fluorescence in *Ligusticum chuanxiong*

处理 Treatment	F_o	F_v/F_m	YII	NPQ	q_p
CK	$0.09 \pm 0.002b$	$0.76 \pm 0.101a$	$0.65 \pm 0.021a$	$0.39 \pm 0.145c$	$0.79 \pm 0.136a$
Cd	$0.11 \pm 0.008a$	$0.71 \pm 0.025b$	$0.61 \pm 0.087c$	$0.47 \pm 0.019a$	$0.74 \pm 0.010b$
Pb	$0.11 \pm 0.008a$	$0.73 \pm 0.006b$	$0.61 \pm 0.112c$	$0.44 \pm 0.244b$	$0.78 \pm 0.266a$
Cd + Pb	$0.11 \pm 0.003a$	$0.73 \pm 0.007ab$	$0.63 \pm 0.017b$	$0.43 \pm 0.456b$	$0.79 \pm 0.194a$

不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。

Different small letters are significantly different between the treatments at 0.05 level.

了14.94%、30.91%、16.67%、1.86%，且Cd处理抑制作用较Pb大。其中与Cd单一处理相比，复合处理显著增加了 P_n 、 G_s 、 T_r 、Chla、Chla/b的值。此外，在Cd、Pb单一处理以及复合处理中，Chlb含量、Chla/b均低于对照，但相对于对照差异均不显著。

2.3.2 镉、铅胁迫对叶绿素荧光的影响 Cd、Pb及其复合处理影响了川芎光系统II，降低川芎光合潜力，其中Cd处理增强了植物的光保护能力，导致光合活性下降（表5）。相较于对照处理，Cd、Pb及其复合处理显著增加了 F_o 、NPQ，并显著降低了 F_v/F_m 和YII。另外，对照处理NPQ色度在0.3-0.5之间，呈现出鲜绿色；而Cd、Pb及其复合处理在0.4-0.6之间，呈现出蓝绿色；且对照处理YII色度在0-0.2之间，出现了零星的黄绿色；而Cd、Pb在0-0.1之间，几乎表现为黑色，复合处理在0-0.2之间，叶片部分呈现出暗黄色（图4）。相较于单一Cd处理，复合处理YII显著增加了3.28%， q_p 显著增加了6.76%，同时NPQ显著降低了8.51%，减弱了植物热耗散能力，促使可供植物利用的光能增加，提高光合活性。

显著降低了阿魏酸的含量，Cd处理降低了36%，Pb处理降低了4.89%；与Cd单一处理相比，复合处理显著增加了根茎中阿魏酸含量。对于川芎嗪而言，相较于对照，Cd单一处理与复合处理显著降低根茎中川芎嗪含量，分别降低了25.85%和20.10%。另外，相较于对照处理，Cd、Pb及其复合处理显著降低了藁本内酯在根茎中的含量，分别降低了10.60%、24.56%和12.08%；相较于Pb处理，复合处理显著增加了其含量。

表6 镉、铅及其复合处理下川芎根茎中次生代谢物含量

Table 6 Contents of secondary metabolites under different treatments in rhizome of *Ligusticum chuanxiong*

处理 Treatment	阿魏酸 (w/mg g ⁻¹) Ferulic acid	川芎嗪 (w/μg g ⁻¹) Tezranethylpyrazine	藁本内酯 (w/mg g ⁻¹) Ligustilide
CK	$2.25 \pm 0.21ab$	$22.59 \pm 0.83a$	$7.45 \pm 0.30a$
Cd	$1.44 \pm 0.05c$	$16.75 \pm 0.82b$	$6.66 \pm 0.11b$
Pb	$2.14 \pm 0.07b$	$18.81 \pm 0.88ab$	$5.62 \pm 0.29c$
Cd + Pb	$2.42 \pm 0.14a$	$18.05 \pm 1.07b$	$6.55 \pm 0.13b$

不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。

Different small letters are significantly different between the treatments at 0.05 level.

3 讨论

土壤中的重金属被植物吸收后在植物体内各部位积累，从而影响植物正常的生长发育。Cd、Pb作为植物生长的非必需元素，在植物体内积累显著抑制其正常的生理生化过程。在前人的研究中，Pb对Cd在植物体内的吸收和转移存在抑制作用，表现出拮抗关系^[13-14]；但Cd能促进丁香蓼对Pb的吸收，提高了Cd、Pb在植株体内的积累^[15]。在本研究中，Pb主要富集在根部，而Cd富集在根部与根茎（图1），且Cd的转移系数高于Pb元素。这可能是由于Cd在植物细胞内多以有效性高的可溶态存在，易于在植物体内运输迁移，而Pb则多沉积于细胞壁，阻碍了其迁移^[16]。在复合处理中，根中Cd的含量与其转移系数呈显著负相关，说明Pb抑制了Cd的转移能力，导致Cd在根部大量积累；根茎和叶片中Cd的含量与Pb的转移系数显著正相关（表1），与Pb的富集系数显著负相关，说明Pb促进了Cd的转移，但抑制了Cd的富集，减少了Cd在根茎和叶片中的积累（图1）。就植物体内各部位Pb含量而言，根和叶片中Pb的含量与Cd的富集系数显著正相关（表2），但在Pb的积累量中无显著差异。这可能是由于植物生长过程中，较大生物量对Pb起到了稀释作用，使复合处理根和叶片中Pb的含量与Pb单一处理无显著差异。

根系是植物吸收养分的主要器官，根的活力水平直接影响地上部的生长和营养状况以及产量水平；而根部又是植物直接与重金属接触的部位，很容易受到重金属毒害^[17]。当

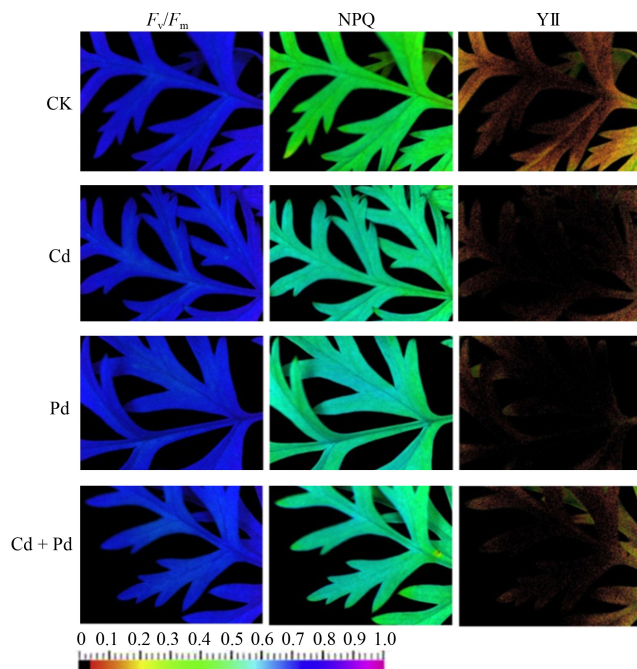


图4 川芎在镉、铅及其复合处理下川芎叶片叶绿素荧光成像。

Fig. 4 The chlorophyll fluorescence imaging under Cd, Pb and their combined treatments in *Ligusticum chuanxiong*.

2.4 镉、铅胁迫对次生代谢产物含量的影响

Cd、Pb及其复合处理显著影响了川芎根茎中不同次生代谢产物的含量（表6）。其中，相较于对照，Cd、Pb单一处理

受到重金属胁迫会破坏植物的水分代谢,引起植物缺水,诱导木质部细胞壁退化^[18]。Cd、Pb易在根中积累,对于根部的毒害效应较强,导致根系吸收水分和养分能力下降。本研究中,相较于对照,Cd、Pb单一处理显著降低了根系活力(图2),地下部生物量和根冠比显著降低(表3),其中Cd单一处理显著降低了植物体内水分利用效率(图2),且Cd单一处理对植物根部的毒害作用大于Pb单一处理。由于根系活力降低,吸收养分与水分能力较弱,导致生物量降低。与Cd处理相比,复合处理显著增加了根系活力和水分利用效率(图2),表明Pb抑制了川芎根部对Cd的吸收,提高了根系活力,可吸收更多的养分与水分,有利于植物的生长。

Cd和Pb被植物吸收后,细胞内的重金属离子取代 Fe^{2+} 和 Mg^{2+} 等离子,改变了叶绿体的正常构型,抑制了酶的活性和阻碍了叶绿素的合成,导致叶绿素a、b含量下降,叶片呈现出褪绿现象,光合作用受到影响^[18-21]。在本研究中,Cd、Pb处理以及复合处理显著降低了叶绿素a的含量,其中叶绿素b含量、叶绿素a/b值均低于对照(表4),且Cd单一处理对植物的胁迫大于Pb单一处理,表明川芎受Cd、Pb胁迫时,叶绿体结构和功能受到破坏,光合作用能力下降。这与前人对鱼腥草、板蓝根、银杏的研究结果^[22-24]相一致。此外,相较于Cd处理,复合处理显著增加了净光合速率、气孔导度、蒸腾速率、Chla、Chla/b的值(图3和表4),表明Pb的添加有利于Cd胁迫下川芎光合作用提高。PSII光合生理参数可以反映植物对光的利用潜力^[25]。相较于对照,Cd、Pb单一处理下NPQ成像图呈现出蓝绿色(图4),表明光保护能力加强,而YII成像图表现为黑色(图4),表明叶片受到严重的胁迫,实际光合效率下降^[26]。同时 q_p 、 F_v/F_m 同时显著下降(表5),表明Cd、Pb胁迫引起PSII反应中心受到抑制,反应中心部分关闭,导致捕获激发能的效率和电子传递效率下降,影响了光合作用的正常运行^[27]。另外,与单一Cd处理相比,Cd、Pb复合处理显著增强了 F_v/F_m ,提高了YII和 q_p ,YII成像出现了零星的暗黄色(图4),降低了植物耗散过剩光能为热的能力,且NPQ出现了较多的绿色斑点(图4),揭示了复合处理降低了植株的光保护能力,可利用有效光能增加,进而提高了川芎的光合潜力,增强了对重金属复合胁迫的适应性。

根茎是川芎主要的用药部位,由于环境中重金属污染严重影响其药用成分含量。川根茎中重要的药用成分主要包括阿魏酸、川芎嗪和藁本内酯等^[2-3],在人类疾病治疗中具有重要作用^[28-31],其中川芎嗪作为川芎的有效成分,在评价川芎药用品质方面具有优势^[32]。在本研究中,Cd处理显著降低川芎根茎中阿魏酸、川芎嗪含量,而Pb处理显著降低根茎中藁本内酯含量,复合处理显著增加了根茎中阿魏酸的含量(表6)。因此,重金属Cd、Pb积累而导致川芎根茎中阿魏酸、川芎嗪含量降低,加剧川芎的药用品质下降,影响疾病治疗效果。

4 结论

本研究发现Pb元素对川芎的毒害效应弱于Cd元素,Cd、Pb复合处理降低了Cd在根茎和叶片中的富集,增强了川芎的根系活力、光合潜力,提高叶片瞬时水分利用效率,有利于川

芎适应重金属胁迫。重金属复合污染下,川芎受到的毒害效应有所缓解。Cd处理显著降低药用部位阿魏酸和川芎嗪含量,而Pb处理显著降低藁本内酯含量;相较于Cd单一处理,复合处理显著增加了阿魏酸的含量。本研究结果可为评估川芎受重金属污染风险和品质安全提供科学依据。

深入研究不同浓度重金属复合处理下的生理调控,开展重金属离子的亚细胞分布特征、金属离子的化学形态差异以及重金属离子在植物体内的吸收速率等研究,揭示重金属相互作用机制,可以为建立川芎生产的土壤重金属安全标准提供科学依据,对于保障中药的品质安全具有重要意义。

参考文献 [References]

- 1 蔡彦明,刘凤枝,王跃华,师荣光,刘铭.我国土壤环境质量标准之探讨[J].农业环境科学学报,2006,25(1):403-406 [Cai YM, Liu FZ, Wang YH, Shi RG, Liu M. Discussion on soil environmental quality standards in China [J]. *J Agro-environ Sci*, 2006, 25(1): 403-406]
- 2 金玉青,洪远林,李建蕊,李曦,王晓晓.川芎的化学成分及药理作用研究进展[J].中药与临床,2013,4(3):44-48 [Jin YQ, Hong YL, Li JR, Li X, Wang XX. Progress in research on chemical constituents and pharmacological effects of *Ligusticum chuanxiong* [J]. *Pharm Clin Chin Materia Med*, 2013, 4(3): 44-48]
- 3 Ren DC, Yang NY, Qian SH, Xie N, Zhou XM, Duan JA. Chemical study on aerial parts of *Ligusticum chuanxiong* [J]. *Chin J Chin Materia Med*, 2007, 32(14): 1418-1420
- 4 钟赣生,李少华.《神农本草经》的药物成就[J].中华中医药杂志,2006,21(7):390-392 [Zhong GS, Li SH. The drug achievements of Shen Nong's Herbal Classic [J]. *Chin J Tradit Chin Med*, 2006, 21(7): 390-392]
- 5 陈文德,彭培好,王丽华,郭尚磊.川芎道地产区环境地球化学特征研究[J].土壤通报,2012,40(4):784-788 [Chen WD, Peng PH, Guo SL. Study on environmental geochemical characteristics of *Ligusticum chuanxiong* in specific production area [J]. *Soil Bull*, 2009, 40(4): 784-788]
- 6 赵连华,杨银慧,胡一晨,杨世海,金红宇,魏建和,杨美华.我国中药材中重金属污染现状分析及对策研究[J].中草药,2014,45(9):1199-1206 [Zhao LH, Yang YH, Hu YC, Yang SH, Jin HY, Wei JH, Yang MH. Analysis and countermeasures of heavy metal pollution in Chinese medicinal materials [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2014, 45(9): 1199-1206]
- 7 梁尧,姜晓莉,杨粉团,曹庆军,李刚.重金属铅胁迫对人参光合特征与皂苷含量的影响[J].中国中药杂志,2014,39(16):3054-3060 [Liang Y, Jiang XL, Yang FT, Cao QJ, Li G. Effects of heavy metal lead stress on the photosynthetic characteristics and saponins content of ginseng [J]. *Chin J Chin Materia Med*, 2014, 39(16): 3054-3060]
- 8 武征,郭巧生,王庆亚,周黎君,张志远,张利霞,黄涛.夏枯草内在品质及生长特性对铅、铜、镉胁迫的响应[J].中国中药杂志,2010,35(3):263-267 [Wu Z, Guo QS, Wang QY, Zhou LJ, Zhang ZY, Zhang LX, Huang T. Response of internal quality and growth characteristics to lead, copper and cadmium stress [J]. *Chin J Chin Materia Med*, 2010, 35(3): 263-267]

- 9 张德林. 基于土壤镉污染对川芎产量和品质的影响研究[R]. 哈尔滨市: 中国商品学会全国中药商品学术大会, 2017 [Zhang DL. Based on the effect of soil cadmium pollution on yield and quality of *Ligusticum chuanxiong* [R]. Ha Erbing: China commodity society national academic conference on traditional Chinese medicine commodities, 2017]
- 10 周晓腾, 卢恒, 李耿, 郭尚嘉. 川产道地药材川芎重金属富集能力及健康风险分析[J]. 环境化学, 2014, 4: 562-567 [Zhou XT, Lu H, Li G, Guo SJ. Analysis on heavy metal accumulation ability and health risk of *Ligusticum chuanxiong* produced in Sichuan province [J]. *Environ Chem*, 2014, 4: 562-567]
- 11 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都: 四川出版集团, 2003: 30-32 [Xiong QE. Plant physiology experiment course [M]. Chengdu: Sichuan Publishing Group, 2003: 30-32]
- 12 王妙闻, 张艺, 张静, 肖莹莹, 马逾英, 蒋桂华. HPLC测定川芎中的总阿魏酸[J]. 华西药学杂志, 2016, 23 (1): 100-102 [Wang MW, Zang Y, Zang J, Xiao YY, Ma YY, Jiang GH. Determination of total ferulic acid in *Ligusticum chuanxiong* by HPLC [J]. *West Chin J Pharm Sci*, 2016, 23 (1): 100-102]
- 13 刘鹏, 徐根娣, 郭水良, 汪敏. 南方4种草本植物对铝胁迫生理响应的研究[J]. 植物生态学报, 2005, 29 (4): 644-651 [Liu P, Xu GD, Guo SL, Wang M. Study on physiological responses of four species of herbs to aluminum in South China [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2005, 29 (4): 644-651]
- 14 曾泽雨. Pb、Cd胁迫对鱼腥草生理特性及其累积效应的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010 [Zeng ZY. Effects of Pb and Cd stress on physiological characteristics and cumulative effects of *Houttuynia cordata* [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2010]
- 15 简敏菲, 张乖乖, 史雅甜, 余厚平, 陈奕奇. 土壤镉、铅及其复合污染胁迫对丁香蓼(*Ludwigia prostrata*)生长和光合荧光特性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2017, 23 (5): 837-844 [Jian MF, Zhang GG, Shi YT, Yu HP, Cheng YQ. Effects of Cd, Pb and their combined pollution stress on the growth and photosynthetic fluorescence of *Ludwigia prostrata* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2017, 23 (5): 837-844]
- 16 白雪, 陈亚慧, 耿凯, 刘建国, 王明新. 镉在三色堇中的积累及亚细胞与化学形态分布[J]. 环境科学学报, 2014, 34 (6): 1600-1605 [Bai X, Cheng YH, Geng K, Liu JG, Wang MX. Accumulation of cadmium in pansy and distribution of subcellular and chemical forms [J]. *Acta Sci Circum*, 2014, 34 (6): 1600-1605]
- 17 Oliver MJ, Cushman JC, Koster KL. Plant stress tolerance [J]. *Methods Mol Biol*, 2010, 28 (2): 639-659
- 18 Kumar A, Singh DP, Singh P. Influence of water stress on photosynthesis, transpiration, water-use efficiency and yield of *Brassica juncea* L. [J]. *Field Crops Res*, 2014, 37 (2): 95-101
- 19 Sorrentino MC, Capozzi F, Amitrano C, Giordano S. Performance of three cardoon cultivars in an industrial heavy metal-contaminated soil: effects on morphology, cytology and photosynthesis [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2018, 351: 131-137
- 20 Parmar P, Kumari N, Sharma V. Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress [J]. *Bot Stud*, 2013, 54 (1): 45-51
- 21 Kosobrukhev A, Knyazeva I, Mudrik V. Plantago major, plants responses to increase content of lead in soil: growth and photosynthesis [J]. *Plant Growth Regul*, 2014, 42 (2): 145-151
- 22 赵敏, 周贤思. 镉胁迫对鱼腥草叶绿素含量的影响[J]. 环境与可持续发展, 2017, 42 (1): 72-74 [Zhao M, Zhou XS. Effects of cadmium and lead stress on chlorophyll content of *Houttuynia cordata* [J]. *Environ Sustain Dev*, 2017, 42 (1): 72-74]
- 23 付世景. 镉、铅污染对板蓝根生长和品质的影响及其调控[D]. 南京: 南京农业大学, 2007 [Fu SJ. Impacts of *Radix isatidis* of growth, quality under cadmium, lead contamination and control [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural College, 2007]
- 24 朱宇林. 银杏对镉、铅及其复合污染的生理响应与抗性研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2006 [Zhu YL. Physiological response and resistance of Ginkgo to cadmium, lead and their compound pollution [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2006]
- 25 Townsend AJ, Ware MA, Ruban AV. Dynamic interplay between photodamage and photoprotection in photosystem II [J]. *Plant Cell Environ*, 2017, 45 (12): 87-98
- 26 Chen YE, Mao HT, Ma J. Biomonitoring chromium III or VI soluble pollution by moss chlorophyll fluorescence [J]. *Chemosphere*, 2017, 194: 220-228
- 27 钱永强, 周晓星, 韩蕾, 孙振元, 巨关升. Cd²⁺胁迫对银芽柳PSⅡ叶绿素荧光光响应曲线的影响[J]. 生态学报, 2011, 31 (20): 6134-6142 [Qian YQ, Zhou XX, Han L, Sun ZY, Ju GS. Effect of Cd²⁺ stress on chlorophyll fluorescence photoresponse curve of silver bud [J]. *Acta Ecol Sin*, 2011, 31 (20): 6134-6142]
- 28 Ran X, Ma L, Peng C. *Ligusticum chuanxiong* Hort: a review of chemistry and pharmacology [J]. *Pharm Biol*, 2011, 49 (11): 1180-1189.
- 29 王振, 刘新泳, 王静, 陈洪飞, 马晨晨. 川芎噻阿魏酸类化合物药理作用的研究进展[J]. 药学研究, 2011, 30 (11): 665-667 [Wang Z, Liu XY, Wang J, Chen HF, Ma CC. Research progress of pharmacological effects of ligustrazine ferulic acid compounds [J]. *Pharm Res*, 2011, 30 (11): 665-667]
- 30 左爱华, 王莉, 肖红斌. 藜本内酯药理学和药代动力学研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37 (22): 3350-3353 [Zuo AH, Wang L, Xiao HB. Progress in pharmacology and pharmacokinetics of ligustilide [J]. *Chin J Chin Materia Med*, 2012, 37 (22): 3350-3353]
- 31 Li SY, Jia YW. Stabilization of mitochondrial function by tetramethylpyrazine protects against kainate-induced oxidative lesions in the rat hippocampus [J]. *Free Radical Biol Med*, 2014, 48 (4): 597-608
- 32 韩炜. 川芎的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国现代中药, 2017, 19 (9): 1341-1349 [Han W. Research progress in the chemical composition and pharmacological action of *Ligusticum Chuanxiong* [J]. *Mod Chin Med*, 2017, 19 (9): 1341-1349]