

FTIR 结合生理特性研究镉胁迫对果灰藓的影响

顾艳红, 刘鹏*, 蔡琪敏, 陈洁, 谢鸿锴

浙江师范大学植物学实验室, 浙江金华 321004

摘要 苔藓植物可作为监测环境中重金属污染的指示植物。以苔藓植物果灰藓为实验材料, 用不同浓度的重金属镉处理 7 d 后, 借助傅里叶红外光谱法 (FTIR) 分析重金属镉胁迫下果灰藓各化学成分的变化, 同时测定可溶性糖 (SS)、可溶性蛋白 (Pr)、丙二醛 (MDA) 含量在镉胁迫下的生理指标。结果表明: 随着镉处理浓度的升高, 可溶性糖含量和可溶性蛋白含量呈现先上升后下降的趋势, 丙二醛含量先下降后上升。FTIR 与果灰藓响应重金属镉胁迫的各生理指标变化趋势较一致, 且 FTIR 比传统的生理指标测定更敏感、便捷。因此, FTIR 可以作为研究苔藓植物应用于环境重金属污染监测的一种快速、有效的方法。

关键词 红外光谱; 生理指标; 果灰藓; 镉胁迫; 环境监测

中图分类号: S66 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)03-0620-04

引言

随着人口的增长以及工业的发展, 各种化学物质在人类活动中广泛使用, 造成日益严重的环境污染, 尤其是重金属污染。重金属污染不仅严重影响了植物的生长发育, 并且通过食物链进一步影响人类健康^[1]。其中, 镉作为一种分布广泛的重金属, 已越来越受到科研工作者的关注。人们利用植物对污染物较敏感的特性, 对环境污染实行监测, 根据植物有机体内的各种反应来观察和掌握环境污染的程度与污染范围, 收到很好的效果。大多数种类的苔藓植物, 例如果灰藓 (*Hypnum fertile* Sendtn.) 叶片仅由单层细胞构成, 背腹两面均可直接接触污染物, 对环境污染较为敏感, 从而达到监测环境重金属污染的目的^[2]。

傅里叶变换红外光谱法 (FTIR) 是一种基于化合物中功能团和极性键振动的结构分析技术, 具有操作快速、简单和灵敏度高的特点^[3]。由于 FTIR 能够提供生物大分子特定的振动吸收谱带, 进而敏锐地探测这些分子的相对含量及其构象等变化的信息, 已经被广泛地应用于许多研究领域^[4-6], 其中在植物生物学方面也有一定的应用研究, 如中药材的质量鉴别^[7], 高等植物的系统分类研究^[8, 9], 农作物品质的鉴定等^[10, 11]。本文应用 FTIR 法研究了苔藓植物果灰藓在受到重金属镉胁迫时一些吸收峰峰高的变化, 结合分析传统的植物生理指标变化, 以期研究苔藓植物应用于环境重金属污

染监测提供一种快速有效的方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

采自金华北山顶的果灰藓, 经室内适应培养 7 d 后, 选取长势一致的植株, 用不同浓度的 Cd^{2+} 进行处理, Cd^{2+} 浓度分别设为: T_0 : $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; T_1 : $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; T_2 : $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; T_3 : $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。处理 7 d 后, 取部分果灰藓植体用于可溶性糖含量, 可溶性蛋白含量以及丙二醛含量的测定。另一部分 Cd^{2+} 处理过后的果灰藓配植体部分于 105 烘箱中杀青 30 min, 再于 60 下烘 24 h, 玛瑙研钵中充分研磨成粉末状样品, 用于 FTIR 测定。

1.2 生理指标的测定

可溶性糖含量和丙二醛含量的测定采用蒽酮比色法, 可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法。

1.3 FTIR 分析

按照所给定的测试条件 (光谱范围 $4000 \sim 650 \text{ cm}^{-1}$, 分辨率为 0.1 cm^{-1} , 扫描累加次数 32 次), 用美国 Nicolet 公司的 NEXUS 670 型傅里叶变换红外光谱仪进行测定。应用 OMNI 采样器直接测定红外光谱, OMNIC E S P. 5. 1 同步智能软件采用, ATR 校正, 每个样品测定前均对背景进行扫描, 得到的红外光谱进行基线校正, 确定峰值和吸光度。

收稿日期: 2007-11-12, 修订日期: 2008-02-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30570121) 和浙江省教育厅科研专项项目 (20050293) 资助

作者简介: 顾艳红, 女, 1983 年生, 浙江师范大学植物学在读硕士生 e-mail: gyh0505@126.com

* 通讯联系人 e-mail: sky79@zjnu.cn

2 结果与讨论

2.1 果灰藓的 FTIR 图谱分析

图 1 所示, 果灰藓在扫描区域出现了较多峰。图中 3 330 cm^{-1} 处主要是一些碳水化合物、细胞壁物质及蛋白质中的 —OH 和 —NH 伸缩振动峰; 2 920 和 2 855 cm^{-1} 分别代表了非对称和对称的油脂中的 —CH 拉伸 (3 000 ~ 2 800 cm^{-1}) 引起的吸收峰; 1 733 cm^{-1} 处是膜脂和细胞壁果胶中常见的酯类化合物的孤立羧基 (—COOR) 吸收峰, 1 635 和 1 545 cm^{-1} 左右的吸收峰分别为酰胺化物的吸收和带; 1 036 cm^{-1} 附近是碳水化合物中的 —CH 弯曲或 —C—O— , —C—C 伸缩振动峰^[12]。图 2 为果灰藓经过不同浓度镉处理后的 FTIR 图谱, 可以看出经过重金属镉处理的果灰藓, 吸收峰所对应的波数相对固定, 但各吸收峰的吸收强度有所变化, 说明重金属镉污染并不会改变果灰藓基本的化学成分组成, 但对各化学成分的含量有所影响。几处主要谱峰的吸光度值见表 1。

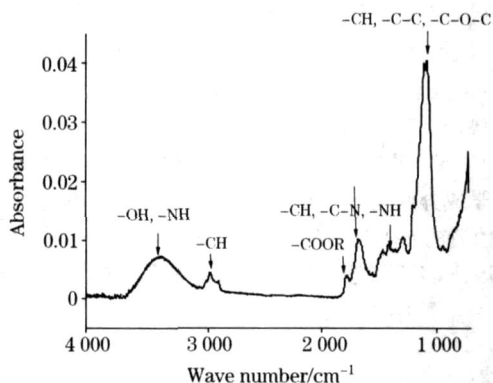


Fig. 1 Absorption FTIR spectra from 4 000 to 650 cm^{-1} region of *Hypnum fertile* Sendtn

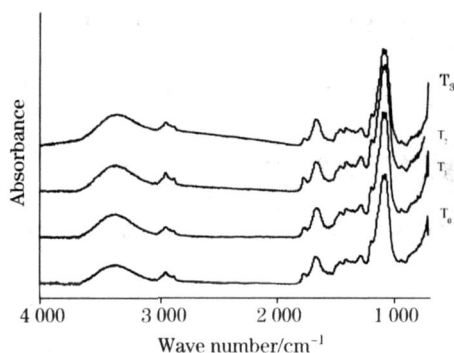


Fig. 2 Absorption FTIR spectra of *Hypnum fertile* Sendtn. deal with different Cd^{2+} concentrations

2.2 可溶性糖含量与相关吸收峰的变化

为了更加直观, 图 3 采用可溶性糖含量和峰高度变化来表示, 即不同浓度镉处理后与对照的果灰藓可溶性糖含量和峰高之差占对照的百分比。1 036 cm^{-1} 吸收峰是由碳水化合物中的 —CH 弯曲或 —C—O— , —C—C 伸缩振动引起的。

Table 1 Absorbance of different wave number of *Hypnum fertile* Sendtn. samples

Wave number / cm^{-1}	Patterns			
	T_0	T_1	T_2	T_3
3 330	0.007 2	0.009 0	0.012 1	0.011 7
2 920	0.004 6	0.004 4	0.008 9	0.009 0
2 855	0.003 2	0.002 8	0.007 5	0.007 3
1 733	0.004 1	0.004 1	0.003 3	0.003 0
1 635	0.009 3	0.009 5	0.007 8	0.008 1
1 545	0.004 9	0.004 6	0.003 2	0.003 0
1 036	0.040 6	0.046 3	0.046 9	0.035 5

1 036 cm^{-1} 吸收峰的峰高呈现先上升后下降的趋势, 这与碳水化合物可溶性糖含量的变化趋势较一致。已有的研究表明, 植物在重金属胁迫下细胞内的物质代谢水平和途径会发生一系列适应性变化, 可溶性糖含量的增加, 是植物体对不良环境在一定适应性基础上的抵抗性反应, 可溶性糖在细胞质中大量积累, 不仅保持了蛋白质的水合度, 防止原生质脱水, 而且还起到了平衡细胞质与液胞间的渗透势等多种作用, 减低质膜受热害的程度, 从而增强了植物对高温的适应能力^[13]。但植物耐受重金属胁迫是有一定限度的, 超过这个限度, 可溶性糖含量反而下降^[14]。试验中可溶性糖含量与 1 036 cm^{-1} 吸收峰的峰高均呈现先升高后下降的变化规律, 说明此时镉处理浓度已经超过了果灰藓的耐受程度, 使果灰藓受到了严重损伤。

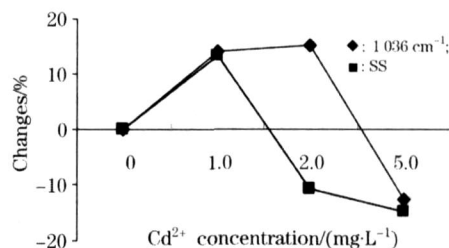


Fig. 3 Changes of the SS content and the band height of 1 036 cm^{-1} versus of *Hypnum fertile* Sendtn. deal with different Cd^{2+} concentrations

2.3 可溶性蛋白含量与相关吸收峰的变化

1 635 和 1 545 cm^{-1} 左右的吸收峰分别为酰胺化物的吸收和带。从图 4 可看出, 1 635 和 1 545 cm^{-1} 吸收峰的峰高变化趋势与可溶性蛋白含量的变化趋势基本一致, 其中 1 635 cm^{-1} 吸收峰的峰高变化更接近于可溶性蛋白含量的变化, 都在较低镉浓度处理下略有上升, 而在高浓度镉处理下下降比较明显。植物体内可溶性蛋白的提高, 有助于维持植物细胞的正常代谢, 提高植物的抗逆性。据报道, 低浓度 Cd^{2+} 能诱导可溶性蛋白含量的增加, 如合成类金属螯合蛋白、金属硫蛋白、胁迫蛋白等以降低细胞内 Cd^{2+} 浓度, 防止镉敏感酶变性失活, 从而能够减轻镉对植物的毒害作用。但过高浓度 Cd^{2+} 则会对蛋白质的合成与代谢起到破坏作用, 高浓度 Cd^{2+} 可抑制核酸的合成, 使相关蛋白酶活性上升而加速蛋白质的分解, 导致其含量下降^[15]。

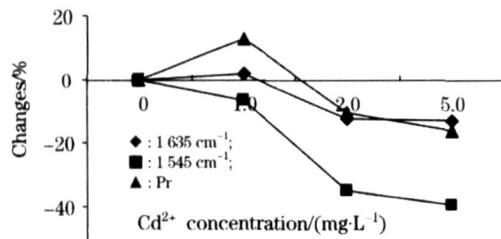


Fig 4 Changes of the Pr content and the band height of 1 635 and 1 545 cm^{-1} versus of Hypnum fertile Sendtn. deal with different Cd^{2+} concentrations

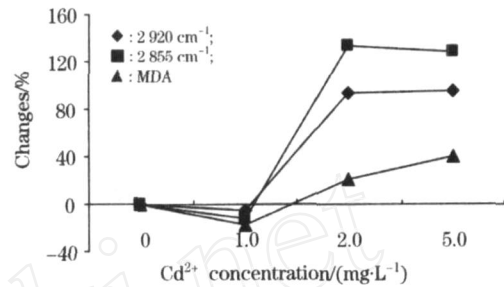


Fig 5 Changes of the MDA content and the band height of 2 920 and 2 855 cm^{-1} versus of Hypnum fertile Sendtn. deal with different Cd^{2+} concentration

2.4 丙二醛含量与相关吸收峰的变化

2 920 和 2 855 cm^{-1} 分别代表了非对称和对称的油脂中的 $-\text{CH}$ 拉伸 (3 000 ~ 2 800 cm^{-1}) 引起的吸收峰, 2 920 和 2 855 cm^{-1} 峰高的变化可能与植物细胞膜的膜脂过氧化程度相关。而丙二醛是活性氧对膜脂过氧化的重要产物, 它可与膜脂蛋白发生交联作用, 使膜透性增大, 又可与细胞内的各种成分发生反应, 使膜系统中多种酶的生理功能严重受损伤^[16]。因此, 可用丙二醛含量来代表植物膜脂过氧化的水平, 反映植物受伤害的程度。丙二醛含量越高其膜脂过氧化也就越严重, 重金属胁迫的危害程度也越大。从图 5 可看出, 2 920 和 2 855 cm^{-1} 吸收峰的峰高变化与丙二醛含量变化趋势一致, 而且变化幅度更大, 采用 2 920 和 2 855 cm^{-1} 吸收峰的峰高变化可反映苔藓植物果灰藓受到重金属镉胁迫的危害程度。

3 结 论

(1) 从果灰藓的红外光谱可以看出, 经过重金属镉污染的果灰藓, 吸收峰所对应的波数相对固定, 但各吸收峰的吸收强度有所变化, 说明重金属镉污染并不会改变果灰藓基本的化学成分组成, 但对各化学成分的含量有所影响。

(2) 苔藓植物果灰藓在重金属镉胁迫下, 随着处理浓度的升高, 可溶性糖含量和可溶性蛋白含量都呈现先上升后下降的趋势, 丙二醛含量先下降后上升。

(3) 采用 FTIR 法分析了苔藓植物果灰藓在重金属镉胁迫下化学成分变化, 并与一些胁迫生理指标变化进行了比较分析, 两者的变化趋势基本一致, 表明两者之间有较好的相关性。因此, FTIR 法可以作为研究苔藓植物应用于环境重金属污染监测的一种快速、有效的方法。

参 考 文 献

- [1] Sheoran I S. Photosynthesis Research, 1990, 23: 345.
- [2] Salemaa M, Derome J, Helmisaari H. Science of the Total Environment, 2004, 324(1): 141.
- [3] LI Yan, WU Ran-ran, YU Bai-hua, et al (李 燕, 吴然然, 于佰华, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2006, 26(10): 1846.
- [4] CHENG Cun-gui, RUAN Yong-ming, LI Bing-lan (程存归, 阮永明, 李冰岚). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2004, 24(11): 1355.
- [5] CHENG Cun-gui, SUN Cui-rong, PAN Yuan-jiang (程存归, 孙翠荣, 潘远江). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2004, 24(9): 1055.
- [6] GUO Xiao-he, CHANG Jun-biao, CHENG Sen-xiang, et al (郭晓河, 常俊标, 程森祥, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2007, 27(1): 70.
- [7] JIN Xiang-jun, LI Xiao-ping, LIU Zhi-qiang, et al (金向军, 李晓萍, 刘志强, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2006, 26(4): 614.
- [8] GUO Shui-liang, LI Pei-ling, FANG Fang, et al (郭水良, 李沛玲, 方 芳, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2005, 25(5): 693.
- [9] HAO Chao-yun, CHENG Cun-gui, LIU Peng (郝朝运, 程存归, 刘 鹏). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2007, 27(1): 38.
- [10] HONG Qing-hong, LI Dan-ting, HAO Chao-yun (洪庆红, 李丹婷, 郝朝运). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2005, 25(8): 1246.
- [11] WEI Liang-ming, JIANG Hai-ying, LI Jun-hui, et al (魏良明, 姜海鹰, 李军会, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2005, 25(9): 1404.
- [12] Yang J, Yen H E. Plant Physiology, 2002, 130(2): 1032.
- [13] Yang S C, Li Y B, Lin P. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 2003, 22(1): 46.

- [14] Yang J R, He J Q, Jiang W R. *Agro-environmental Protection*, 1995, 14(5) : 193.
[15] Pettersson O. *Swedish Agricultural Research*, 1977, 7: 21.
[16] Cakmak I, Horst W J. *Physiologia Plantarum*, 1991, 83(2) : 463.

Effects of Cd Stress on FTIR Spectra and Physiological Traits of *Hypnum fertile* Sendtn.

GU Yar-hong, LIU Peng*, CAI Qi-min, CHEN Jie, XIE Hong-kai
Laboratory of Biological Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China

Abstract In the present paper, Fourier transform infrared spectrometer was applied to gain the infrared spectra of *Hypnum fertile* Sendtn. samples with different concentration of Cd^{2+} for 7 days to study the changes in chemical components, and some physiological characteristics such as malondialdehyde (MDA), solubility sugar (SS) and solubility protein (Pr) were also studied. Malondialdehyde and solubility sugar were measured by anthrone colorimetry and solubility protein was measured by brilliant blue and commassie dye. The results showed that with the enhancement of Cd^{2+} concentration, the contents of solubility sugar and solubility protein were enhanced at first and then decreased. However, it was just the opposite for the content of malondialdehyde. Based on the indices of wave number-absorbance, the infrared spectra of samples with different concentration of Cd^{2+} were compared in terms of changes in the physiological characteristics. The two bands at 2920 and 2855 cm^{-1} in the CH stretching region ($3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$) of the spectra denote the asymmetric and symmetric lipid CH_2 stretching vibrations, whose band height's variety was related to the change in malondialdehyde content in plant. The distinctive amide I band at 1635 cm^{-1} and amide II band at 1545 cm^{-1} arise from endogenous proteins. In the region below 1500 cm^{-1} , a variety of characteristic IR group frequencies can be observed that are difficult to assign but the shape of the spectra in this region is characteristic and can be used as a "finger print" of the tissue. The band at 1036 cm^{-1} —C—O, —C—C or CH stretching region of the spectra denotes the carbohydrate related to the content of solubility sugar. The results showed that there was good correspondence between the changes in the physiological characteristics and the changes of samples based on the indices of wave number-absorbance of FTIR spectra, and the FTIR was more sensitive and convenient. Therefore, Fourier transform infrared spectrometry can be accepted as a fast and effective method to study bryophytes for monitoring the pollution degree of heavy metal in environment.

Keywords Fourier transform infrared spectroscopy; Physiological characteristics; *Hypnum fertile* Sendtn.; Cd stress; Environmental monitoring

(Received Nov. 12, 2008; accepted Feb. 28, 2008)

* Corresponding author