重金属铊胁迫羽衣甘蓝的 in situ-ATR-FTIR 表征

姚 焱1,张 平2,汪珍春1,陈永亨2

1. 广州大学生命科学学院, 广东 广州 510006

2. 广州大学环境科学与工程学院, 广州市污染控制与同位素应用技术重点实验室, 广东 广州 510006

摘 要 通过植物叶片光合作用消耗二氧化碳实验,实现了羽衣甘蓝光合作用的原位衰减全反射红外光谱 表征。结果表明,羽衣甘蓝无论是否受到铊胁迫,其吸收峰的位置均无明显改变,其中3 380 cm⁻¹处的强吸 收峰表征叶片中的水分,碳水化合物,蛋白质和酰胺化合物等;2 916,2 850 cm⁻¹处的强峰以及2 960 cm⁻¹ 处的肩峰表征碳水化合物和脂肪族化合物等;1 640 cm⁻¹处的吸收峰表征水分。然而,通过对羽衣甘蓝叶片 进行原位表征,发现表征 CO₂ 的2 360 和2 340 cm⁻¹双吸收峰("负峰")均从无到有,逐渐增强,说明羽衣甘 蓝在进行光合作用。并且,铊胁迫组叶片二氧化碳的消耗速率明显高于空白样,即一定浓度铊胁迫会提高羽 衣甘蓝的光合速率,表明羽衣甘蓝对重金属铊具有耐受的特性;结果也表明成年叶光合作用强度大于幼叶, 这符合植物叶片光合作用的一般规律。

关键词 铊胁迫;羽衣甘蓝;光合作用;原位衰减全反射红外光谱 中图分类号:0657.3 文献标识码:A **DOI**:10.3964/j issn 1000-0593(2009)01-0119-03

引 言

铊是剧毒的重金属元素。我国拥有丰富的含铊矿产资源,在开发利用的过程中,大量铊被释放入环境,污染空气、水体和土壤,进而对人体造成威胁^[1]。T1对人体致命剂量为 0.1~0.7 g^[2]。研究表明,在黔西南 T1污染区,农业土壤使 用富含 T1 的溪流水灌溉而受到污染,导致居民食用这些农 作物后造成体内 T1 的积累而中毒^[3,4]。

甘蓝对铊富集程度较高^[5]。甘蓝(*Brassica oleracea var capitata* L)是我国栽培的大众化蔬菜之一,属十字花科芸苔属植物。研究认为芸苔属植物有重金属吸收和积累相关基因^[6,7],一些芸苔属植物如芥菜、油菜等具有较高的吸收和积累重金属的能力,在这些植株表现出重金属毒害之前,其体内的重金属含量已经超过食用安全标准^[8,9]。因此,研究 铊胁迫对甘蓝的影响具有现实意义。

在红外光谱测量中,2 350 cm⁻¹附近的双吸收峰表征 CO₂的反对称伸缩振动,这一吸收峰在通常情况下是一种干扰,需要设法消除。文献[10]利用生成 CO₂反应表征了黄铁 矿表面氧化,本文尝试采用原位考察铊对甘蓝的影响。

1 实验部分

11 实验材料和仪器

羽衣甘蓝(Brassica oberacea var acep hala) 种子由广州市 农业技术推广中心提供。采用直径 28 cm、高 11 cm 的塑料 盆培养植株。在土壤中外源铊浓度为 10 mg•kg⁻¹,以未施 铊土壤做空白对照。材料种植 45 d 后,对空白植株和铊胁迫 植株采样,测定铊平均含量分别为 0 37 和 34 45 mg•kg⁻¹ (干重);同时对空白及铊污染植株直接进行叶片原位测定。 成年叶选健康成熟叶片;幼年叶选大小一致的顶端第一片 叶。

红外光谱仪器为德国 Bruker 公司的 TENSOR 27 型傅 里叶变换红外光谱仪, DTGS 检测器, 分辨率为 4 cm⁻¹, 扫 描 16 次, 采用 ATR 技术表征。

1 2 实验方法

将羽衣甘蓝叶片置于 ATR 晶体表面上, 在同一条件下 测量。光照条件是利用光谱仪光源自身发出的红外光以及氦 氖激光器发出的 632 8 nm 波长红光, 叶片继续进行光合作 用

12H₂O+ 6CO₂+ $\mathcal{H}^{\rightarrow}$ C₆H₁₂O₆(葡萄糖) + 6O₂↑ + 6H₂O (1)

作者简介:姚_焱,女, 1972年生,广州大学生命科学学院副教授____e mail: zip713@163.com; yaoyannn@163.com

收稿日期: 2007-08-26, 修订日期: 2007-11-28

基金项目:国家自然科学基金委员会-广东省人民政府联合基金项目(U 0633001),国家自然科学基金项目(20477007)和广州市属高校科技计 划项目(62066,66013)资助

^{© 1994-2011} China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

随着反应的进行,叶片中二氧化碳浓度减少,通过ATR 红外光谱表征出来。

结果与讨论 2

2.1 羽衣甘蓝叶片的衰减全反射红外光谱

羽衣甘蓝叶片中的主要有机成分为纤维素、粗蛋白、脂 肪及可溶性糖类。图1所示为羽衣甘蓝的衰减全反射红外光 谱,图中的四条光谱曲线分别是空白和铊胁迫(10 mg· kg^{-1}) 幼叶以及空白和铊胁迫(10 mg • kg^{-1}) 成年叶的谱图, 可以看出, 各吸收峰位置无明显差异。



Fig 1 ATR-FTIR spectra of Brassica oberacea var acep hala

从化学结构方面考察, 3 380 cm⁻¹处的强吸收峰归属于 OH ...或 NH 的对称伸缩振动, 表征羽衣甘蓝叶片中的水分, 碳水化合物,蛋白质和酰胺化合物等。2916和2850 cm⁻¹处 的强峰以及 2 960 cm^{-1} 处的肩峰可归属于 CH₃ 和 CH₂ 的对 称和反对称伸缩振动, 表征叶片中的碳水化合物和脂肪族化 合物等。其他吸收峰的归属如表 1 所示。

Table 1 Assignment of absorption peaks in FIII	spectra

of Brassica oberacea	var <i>acep hala</i>
----------------------	----------------------

吸收峰位置/ cm⁻	」 归属	化合物来源
3 450~ 3 350	$\mathcal{V}_{\!s}(\mathrm{OH})$ or ($\mathrm{NH})$	水分, 碳水化合物, 蛋白 质和酰胺化合物
2 957, 2 916, 2 850	$\begin{array}{l} \mathcal{V}_{as}(\mathrm{CH})_{3},\mathcal{V}_{as}(\mathrm{CH})_{2},\\ \mathcal{V}_{s}(\mathrm{CH})_{3},\mathcal{V}_{s}(\mathrm{CH})_{2} \end{array}$	碳水化合物,脂肪族化 合物
1 737~ 1 711	$\mathcal{V}_{s}(C=0)$	羧酸酯类化合物及酮类 化合物
1 640	$\delta(H_2O)$	水分
1 465	χ -COO ⁻), δ (CH ₂ • CH ₃)	碳水化 合物,脂肪族化 合物,氨基酸盐
1 100~ 970	$\mathcal{V}(C=0), \mathcal{V}_{ring}$	碳水化合物
1 105~ 1 100	V(Si-0)	硅酸盐矿物,二载化硅

2.2 羽衣甘蓝叶片光合作用的原位表征

以叶片自身为背景, 设定每 30 s 摄一张谱。图 2 所示为 羽衣甘蓝的原位衰减全反射红外光谱,其中图 2(a) 为幼叶空 白,图 2(b)为铊胁迫幼叶,图 2(c)为成年叶空白,图 2(d)为 铊胁迫成年叶,可以看出表征 $CO_2(CO_2 + H_2O \Leftrightarrow H_2CO_3)$ 的 2 360 和 2 340 cm⁻¹ 双吸收峰均从无到有, 逐渐增强, 这表明 羽衣甘蓝在进行光合作用。

峰面积对时间作图,结果如图 3 所示。可以看出,表征幼叶 空白的曲线在开始时(2 min 内)存在明显的波动,表征铊胁 迫幼叶的曲线在开始时(1 min 内)也有一定的波动,这可能 主要是实验误差引起的。除此以外、四条曲线呈明显的线性 规律、表明羽衣甘蓝的光合作用持续进行、并均保持平稳。



In situ ATR-FTIR spectra of the photosynthesis of Fig. 2 Brassica oberacea var acephala at different time

(a): tender leaf of CK; (b): tender leaf of thallium stress; (c); grown-up leaf of CK; (d); grown-up leaf of thallium stress From up to down are 0.0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5, 10, 10.5, 11, 11.5, 12, 12. 5, 13, 13. 5, 14, 14. 5, 15 min, respectively



1; Trender leaf-ck; 2: Trender leaf-10 mg • kg⁻¹;

采用积分方法对表征 CO2 的吸收峰进行积分,并以 CO2 采用积分方法对表征 CO2 的吸收峰进行积分,并以 CO2

比较空白组的幼叶和成年叶、铊胁迫组的幼叶和成年叶 (见图 3),可以看出,铊胁迫组斜率明显大于空白组,表明铊 胁迫下的羽衣甘蓝,叶片光合强度高于未受铊胁迫的叶片, 这说明一定浓度铊胁迫会促进羽衣甘蓝的光合作用。相关研 究显示,植物对重金属胁迫会产生一定应激反应,低浓度的 重金属有助于植物叶绿素含量增加,促进光合作用:铊浓度 1.0 mg•kg⁻¹以下可有效提高白菜叶中叶绿素含量,但较高 浓度会导致叶绿素含量下降,生长受抑制^[11];在土壤铊浓度 10 mg•kg⁻¹条件下,羽衣甘蓝的光合作用不仅未受抑制反 而增强,植株生长正常,这也证实了羽衣甘蓝对铊具有较强 耐受性的特点。

图 3 中空白组和铊胁迫组中,成年叶曲线斜率均相对幼 叶曲线斜率更负。这表明在相同土壤条件下,成年叶消耗二 氧化碳量均较幼叶大,即其光合作用强度大于幼叶。这也符 合植物叶片光合作用的一般规律。

3 结 论

(1) 通过设计二氧化碳反应实验,实现了羽衣甘蓝光合 作用的原位衰减全反射红外光谱(in situ ATR-FTIR)表征。

(2) 原位衰减全反射红外光谱分析表明,一方面, 铊胁 迫组叶片二氧化碳的消耗速率大于空白样,即一定浓度铊胁 迫会提高羽衣甘蓝的光合速率,直观表现了羽衣甘蓝对重金 属铊具有耐受特性;另一方面,成年叶光合作用强度大于幼 叶,符合植物叶片光合作用的一般规律。

考文献

- CHEN Yong heng, XIE Wen-biao, WU Ying-juan, et al(陈永亨, 谢文彪, 吴颖娟, 等). Journal of Shenzhen University (Science & Engineering)(深圳大学学报・理工版), 2001, 18(1): 57.
- [2] Zitko V. The Science of the Total Environment, 1975, 4: 185.
- [3] Xiao T, Guha J, Boyle D, et al. Environment International, 2004, 30: 501.
- [4] Xiao T, Guha J, Boyle D, et al. The Science of the Total Environment, 2004, 318: 223.
- [5] Husam Al-Najar, Rudolf Schulz, Volker Romheld. Plant and Soil, 2003, 249: 97.
- [6] Rossi G, Figliolia A, Socciareli S. Acta Biotechnologica, 2002, 22(1-2): 133.
- [7] Pandey N, Sharma C P. Plant Science, 2002, 163: 753.
- [8] SU De-chun, HU ANG Huan-zhong(苏德纯, 黄焕忠). China Environmental Science(中国环境科学), 2002, 22(1):48.

参

- [9] YANG Zhi-xin, LIU Shu-qing(杨志新,刘树庆). Journal of Agricultural University of Hebei(河北农业大学学报), 2000, 23(3): 27.
- [10] ZHANG Ping, CHEN Yong-heng, LIU Juan, et al(张 平,陈永亨,刘 娟,等). Spectros copy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2008, 28(11): 2554.
- [11] YAO Yan, ZHANG Ping, LIU Weithai, et al (姚 焱,张 平, 刘卫海,等). Seed(种子), 2007, 26(2): 25.

Characterization of *Kale(Brassica Oberacea* var *Acep hala)* under Thallium Stress by *In Situ* Attenuated Total Reflection FTIR

YAO Yan¹, ZHANG Ping², WANG Zhen-chun¹, CHEN Yong-heng²

- 1. School of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China
- Guangzhou Key Laboratory of Pollution Control and Isotope Application Technology, School of Environmental Science and Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China

Abstract The experiment was designed based on consumption of carbon dioxide through the photosynthesis of *Brassica oberacea* var acephala leaf, and the photosynthesis of kale leaf under thallium stress was investigated by *insitu* attenuated total reflection FTIR (*in situ* ATR-FTIR). The ATR-FTIR showed that the absorption peaks of leaves had no obvious difference between plants growing in thallium stress soil and plants growing in non-thallium pollution soil, and the strong peaks at 3 380 cm⁻¹ could be assigned to the absorption of water, carbohydrate, protein or amide; the strong peaks at 2 916 and 2 850 cm⁻¹ assigned to the absorption of carbohydrate or aliphatic compound; the peaks at 1 640 cm⁻¹ assigned to the absorption of water. However, as detected by the *insitu* ATR-FTIR, the double peaks (negative peaks) at 2 360 and 2 340 cm⁻¹ that are assigned to the absorption of CO₂ appeared and became high gradually. It was showed that kale was carrying photosynthesis. At the same time, the carbon dioxide consumption speed of leaf under thallium stress was obviously larger than that of the blank. It was expressed that photosynthesis under thallium stress was stronger than the blank. All these represented that kale had certain tolerance to the heavy metal thallium. Meanwhile, the carbon dioxide consumption of grow Hup leaf was more than that of young leaf whether or not under thallium stress. It was also indicated that the intensity of photosynthesis in grown-up leaf is higher than that in young leaf.

Keywords Thallium stress; Kale(Brassica oberacea var acep hala); Photosynthesis; In situ attenuated total reflection FTIR

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net