

镉胁迫下芹菜生理响应的傅里叶变换红外光谱研究

胡博华¹, 徐 劼¹, 段德超², 陈 沁¹, 戈 涛¹

(1. 嘉兴学院 生物与化学工程学院, 浙江 嘉兴 314001; 2. 浙江博世华环保科技有限公司, 浙江 杭州 310015)

摘 要: 镉是一种毒性较强、水溶性大的重金属元素,一旦进入环境就会通过食物链危害人体健康。芹菜作为大众蔬菜,在我国具有较广泛的种植面积,其对镉具有一定的富集能力。现以芹菜为试验对象,采用傅里叶变换红外光谱法(FTIR)研究在不同镉浓度(0、5、10、20、40 mg/L)处理下根、茎和叶化学组分的生理变化。结果表明:根、茎组织在 3 410、1 635、1 389、1 065 cm^{-1} 处特征峰 A/A_{2931} 值基本呈现先降后升最后又降的变化趋势;反映出低浓度 Cd^{2+} 胁迫对根、茎的生理过程几乎无影响;中浓度的 Cd^{2+} 可能促进根、茎合成、分泌和运输有机物(碳水化合物、氨基酸、蛋白质、糖类),而高浓度的 Cd^{2+} 则会抑制有机物的分泌和运输,同时导致根、茎组织细胞壁的果胶甲基化程度升高,根、茎细胞内脂肪族酮类化合物过氧化物产物减少。在叶组织中 A/A_{2931} 值则呈现逐步升高的趋势,表明芹菜叶对 Cd^{2+} 的抗逆性会随着 Cd^{2+} 浓度的增大而增强。以上结果表明,FTIR 法可用于植物对重金属胁迫适应过程的生理学研究。

关键词: 镉胁迫;傅里叶变换红外光谱;化学组分;芹菜

中图分类号: Q 945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2015)15-0011-06

镉(Cd)属于植物的非必需元素,移动性强且毒性大,属于环境中具有较高毒性的污染物并具有强烈的

第一作者简介: 胡博华(1992-),男,浙江永康人,本科,研究方向为土壤重金属植物污染化学及农产品安全研究。E-mail:1508138765@qq.com.

责任作者: 徐劼(1975-),男,博士,讲师,现主要从事土壤重金属植物污染化学及农产品安全等研究工作。E-mail:xujie1688@126.com.

基金项目: 嘉兴市科技计划资助项目(2012AY1046);嘉兴学院博士科研启动基金资助项目(70611027)。

收稿日期: 2015-03-15

“三致”效应^[1],其存在不仅会影响农作物的生长^[2],而且最终会通过食物链对人体健康构成潜在威胁。目前,Cd已被联合国国际环境规划署和国际劳动卫生重金属委员会列为首位研究的环境污染物,被世界卫生组织认定为优先研究的食物污染物,美国农业委员会也把 Cd 列为当前最重要的一种农业环境污染物^[3]。随着工业的迅猛发展和城市化进程加快,我国土壤环境的 Cd 污染问题不断凸显。环境中过量 Cd 的存在主要源于冶金、电镀等行业“三废”物质的无序排放、不合理处置,以及污水灌溉和含 Cd 肥料的施用等^[4]。而农田肥料的施用使得土壤 Cd 污染问题无法得到有效解决,如我国常用

Abstract: Taking 4 dry pepper strains as experimental materials, effect of dry weight and fresh weight, water content, leaf soluble sugar content, soluble protein content, chlorophyll content, ascorbic acid content and early yield were researched in sunlight greenhouse. 3 salt stress intensities ((2.0 ± 0.2) , (3.0 ± 0.2) , (4.0 ± 0.2) mS/cm) were set in this paper by pouring sodium chloride solution to the cultivation matrix which simulated salt stress treatment, and the same cultivation matrix without sodium chloride solution was taken as control. The results showed that plant fresh weight and chlorophyll content of 4 stains significantly decreased with salt concentration treatment increasing. And plant dry weight and leaf soluble sugar, soluble protein content significantly increased by low salt treatment and significantly decreased by the high. Early yield decreased significantly following the salt concentration increased. The EC range for suitable cultivation of test dry pepper strains was 1.2—2.0 mS/cm. There was significant difference among 4 dry pepper strains in the response to salt stress. The strain ‘14038’ was inhibited minimum by salt stress in plant morphology, physiological index of leaves and early yield. The second was strain ‘14038’. The growth and yield of stains ‘14041’ and ‘14046’ decreased significantly by salt concentration stress, were salt sensitive dry pepper strains.

Keywords: dry pepper; salt stress; plant growth; physiological characteristics

的几种磷素肥料中,磷铵含 Cd 7.5~156 mg/kg,过磷酸钙含 Cd 84~144 mg/kg,普通过磷酸钙含 Cd 9.5 mg/kg,重过磷酸钙含 Cd 24.5 mg/kg^[5];而有机肥组分中的鸡粪和猪粪 Cd 的超标率也分别高达 66%和 52%^[6]。据文献报道,我国农田 Cd 污染面积已经达到 28 万 hm²,涉及 11 个省市的 25 个地区,而由此产生的 Cd 含量超标农产品每年可达 1 460 万 t^[7-8]。

在重金属胁迫条件下,植物的生长发育及对重金属的吸收、累积特性都会发生一定的变化,同时微观响应机制也会产生相应的变化^[9]。傅立叶变换红外光谱 (FTIR) 是一种基于化合物中官能团和极性键振动的结构分析技术,能有效获取分子结构信息,因而被认为是快速测定组分变化的有效检测手段之一^[2]。借助 FTIR 技术可以揭示分子中所含官能团信息,更重要的是借助对不同样品红外光谱数据的比较可以有效反映该样品在植化组成上的差异^[10]。目前应用 FTIR 技术对植物重金属胁迫生理响应及植物对重金属耐性机制的研究正逐步展开^[11-13]。作为大众蔬菜,芹菜 (*Apium graveolens* L.) 在我国广泛种植,其对重金属 Cd 具有相对较强的富集能力^[14],深入研究发现在 4 种重金属 (Cd、Pb、Zn、Ni) 中,芹菜地上部及根部对 Cd 的富集系数最大,且 Cd 的平均迁移能力也最强^[15]。该试验运用 FTIR 技术对 Cd 胁迫下芹菜不同器官组织 (根、茎、叶) 中的化学组分变化进行测试分析,以期研究 Cd 对蔬菜的毒害作用以及蔬菜对 Cd 的适应性和耐性机制提供重要信息和新的研究方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试芹菜品种为“津南实芹 1 号”,种子购自河北青县神华种子有限责任公司。所用仪器为 Thermo-Nicolet Nexus 470 傅里叶变换红外光谱仪。

1.2 试验方法

芹菜种子首先在温室内用无污染土壤进行育苗,待幼苗长出 6 片真叶后于人工气候室水培处理。营养液配方为:1 000 μmol/L Ca(NO₃)₂、500 μmol/L KH₂PO₄、500 μmol/L MgSO₄、45 μmol/L MnSO₄、23 μmol/L H₃BO₃、5 μmol/L Fe-EDTA、0.8 μmol/L CuSO₄、0.5 μmol/L ZnSO₄、0.5 μmol/L Na₂MoO₄。芹菜苗先于 1/2 浓度的营养液中预培养,待长出新根后选取长势较好且一致的菜苗移植于塑料小桶 (每桶 4 株) 改用全营养液培养,1 周后进行 Cd 胁迫处理,此时芹菜苗株高 15~16 cm。营养液中 Cd 以 Cd(NO₃)₂ 形式加入,Cd 浓度梯度为 0 (CK)、5、10、20、40 mg/L,每处理 3 次重复。芹菜苗培养期间每天均用 0.1 mol/L HCl 或 0.1 mol/L NaOH 调节营养液体系 pH 5.5 左右,每 4 d 更换 1 次营养液并保持连续通气,芹菜苗 Cd 胁迫处理 14 d 后水培结束。

水培试验结束后收获芹菜苗,根系 (CK、Cd 处理组) 预先置于 25 mmol/L EDTA-Na 盐溶液中解析 15 min 以去除根表吸附的 Cd²⁺,再用去离子水冲洗干净后备用。分别取根、茎、叶部分于烘箱中在 105℃ 条件下预先杀青 0.5 h,随后在 75℃ 条件下干燥 48 h。干燥后的根、茎、叶样品利用不锈钢粉碎机进行粉碎处理并过 200 目筛。

1.3 项目测定

傅里叶变换红外光谱采集与分析,将芹菜苗组织粉末样品和溴化钾 (KBr) 一起用玛瑙研钵研碎,压片后放入 FTIR 样品工作室,在相同条件下获取芹菜苗不同组织的红外光谱信息。扫描光谱范围为 4 000~400 cm⁻¹,光谱分辨率为 16 cm⁻¹,扫描累加次数为 20 次。

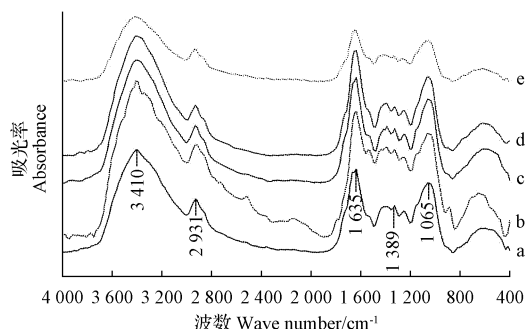
1.4 数据分析

试验数据采用 Microsoft Excel 2003 进行统计分析和处理,并采用 Origin 7.0 软件进行红外光谱数据图谱处理。

2 结果与分析

2.1 芹菜不同器官组织 FTIR 图谱分析

对不同浓度 Cd²⁺ 胁迫下芹菜苗根、茎、叶的 FTIR 光谱图 1、2、3 分别进行解析,可以得到其特征峰的相关信息^[16-17]。3 410 cm⁻¹ 附近处有吸收强、峰形圆而钝的谱带,为缔合羟基 (—O—H) 伸缩振动峰和氨基酸、蛋白质氨基 (N—H) 伸缩振动峰的叠加,主要来自于植物组织中果胶、半纤维素、纤维素、多糖等碳水化合物及蛋白质、氨基酸等对光谱的贡献;2 931 cm⁻¹ 附近处为脂碳链 (—CH₃、=CH₂、=CH—) 中 C—H 键与羧酸 O—H 键伸缩振动峰的叠加,主要来自于组织中油脂、碳水化合物、核酸、维生素和细胞膜及细胞壁的组织成分;1 635 cm⁻¹ 附近处为蛋白质酰胺 I 带 (C—N) 的伸缩振动峰,是蛋白质的特征吸收峰;1 389 cm⁻¹ 附近处为细胞壁和各种膜



注:a,对照;b,5 mg/L;c,10 mg/L;d,20 mg/L;e,40 mg/L,以下同。

Note:a, the control; b, 5 mg/L; c, 10 mg/L; d, 20 mg/L; e, 40 mg/L, the same below.

图1 不同浓度镉胁迫处理下芹菜根系的 FTIR 光谱图

Fig. 1 FTIR spectra of celery roots with different Cd²⁺ concentrations

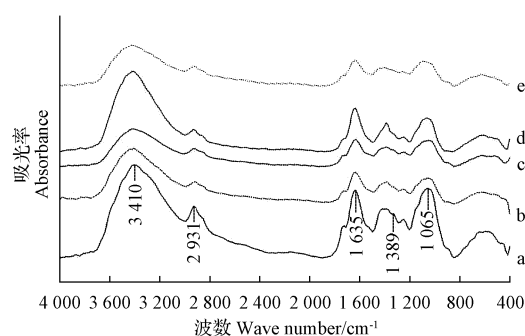


图2 不同浓度镉胁迫处理下芹菜茎的 FTIR 光谱图

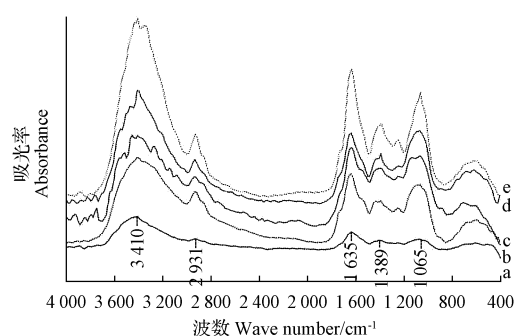
Fig. 2 FTIR spectra of celery stems with different Cd^{2+} concentrations

图3 不同浓度镉胁迫处理下芹菜叶的 FTIR 光谱图

Fig. 3 FTIR spectra of celery leaves with different Cd^{2+} concentrations

中含油脂化合物的甲基对称弯曲振动峰; $1\,065\text{ cm}^{-1}$ 附近处为碳水化合物(醇、酯、醚或酚)C-O 键的伸缩振动吸收峰。

2.2 FTIR 谱图特征峰的半定量分析

在外界环境胁迫作用的条件下,植物会对对应作出一系列代谢水平和基因水平上的响应,这种响应最终表现为植物不同器官组织细胞内可溶性糖、可溶性氨基酸、可溶性蛋白质等物质含量的减少或增加^[18-19]。按照张晓斌等^[20]的研究方法,对每个谱图分别以 $-\text{CH}_3$ 中C-H的特征吸收峰($2\,931\text{ cm}^{-1}$)处的吸光度 $A_{2\,931}$ 为标准值,计算其它处特征峰的吸光度 A 与 $A_{2\,931}$ 的比值,利用比值的大小变化来间接半定量分析不同浓度 Cd^{2+} 胁迫条件下,芹菜不同组织中官能团特征峰的变化。

2.2.1 $3\,410\text{ cm}^{-1}$ 处特征峰半定量分析 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫下,芹菜 FTIR 光谱图 $3\,410\text{ cm}^{-1}$ 处特征峰半定量分析结果如图4所示。可以看出,芹菜根组织 FTIR 图谱中 $3\,410\text{ cm}^{-1}$ 处特征吸收峰的 $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 比值随着 Cd^{2+} 浓度的逐步增大呈现先降低后升高最后又降低的变化趋势。当 Cd^{2+} 浓度 $<5\text{ mg/L}$ 时对芹菜根的生理过程几乎无影响,外源 Cd^{2+} 对半纤维素、纤维素、多糖等碳水化合物的合成和运输影响不大,此时 $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 值

减低是因为根细胞壁羟基不断与 Cd^{2+} 络合而导致细胞表面氢键减少;当 Cd^{2+} 浓度 $>5\text{ mg/L}$ 时, Cd^{2+} 胁迫可能促进芹菜根系通过过量合成、分泌碳水化合物、蛋白质、氨基酸等途径增加自由羧基、氨基的数量以结合 Cd^{2+} ,从而降低其对根的毒害作用,因而 $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 值呈现不断升高的变化趋势。CLEMENS^[21] 研究认为,植物细胞可以通过对重金属离子络合而降低其对植物细胞的毒害作用或提高植物对重金属的耐性,深入研究发现植物组织细胞壁还可通过降低果胶的甲基化程度而增加自由羧基含量,从而提高细胞壁的阳离子交换能力,导致吸附更多的重金属。随着 Cd^{2+} 浓度的进一步增大($>20\text{ mg/L}$)芹菜根系所遭受的 Cd^{2+} 毒害作用也越来越大,一方面碳水化合物、蛋白质、氨基酸的合成、分泌受到抑制;另一方面根组织细胞壁的果胶甲基化程度也可能越来越高,导致 $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 值逐步降低。芹菜茎组织 FTIR 图谱中 $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 比值随着 Cd^{2+} 浓度的增大则呈现先升高后降低的趋势,在 Cd^{2+} 浓度为 20 mg/L 的条件下, $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 值达到最大,此后随着 Cd^{2+} 处理浓度的增大, $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 值降低。说明在较低 Cd^{2+} 浓度($<20\text{ mg/L}$)的胁迫条件下, Cd^{2+} 胁迫可能促进了芹菜茎组织中碳水化合物的合成和运输,通过渗透作用来增强茎对 Cd^{2+} 的抗逆性;但当 Cd^{2+} 浓度 $>20\text{ mg/L}$ 时, Cd^{2+} 的毒性作用加剧,络合 Cd^{2+} 的有机物的消耗速率大于茎中碳水化合物的合成、运输速率,使组织细胞表面的氢键减少,引起 $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 值下降。与根、茎的变化趋势不同,芹菜叶组织 FTIR 图谱中 $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 值变化趋势是随着 Cd^{2+} 处理浓度的增大先降低后升高。说明 Cd^{2+} 胁迫可能会刺激芹菜叶片中形成一些富含 N-H 和 O-H 的有机物(碳水化合物、有机酸、氨基酸等),当 Cd^{2+} 浓度较低($<10\text{ mg/L}$)时,一方面这些有机物由于被运输到根部与 Cd^{2+} 络合以减少毒害,致使叶组织中该类物质含量降低;另一方面叶片表皮细胞壁的羟基不断吸附结合 Cd^{2+} ,也会使细胞表面的氢键减少并最终导致 $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 值下降;而当 $\text{Cd}^{2+} > 10\text{ mg/L}$ 时,这种刺激作用使得叶组织中可能形成更多富含 N-H 和 O-H 的有机物,从而使 $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 值逐步升高。对比分析根、茎、叶 $A_{3\,410}/A_{2\,931}$ 值变化趋势可以发现,在高浓度 Cd^{2+} ($>20\text{ mg/L}$)的胁迫作用下,芹菜根、茎所受到的生理毒性影响作用大于叶。

2.2.2 $1\,635\text{ cm}^{-1}$ 处特征峰半定量分析 $1\,635\text{ cm}^{-1}$ 附近处为蛋白质的特征吸收峰,其峰值变化也反映了蛋白质二级结构的变化趋势。不同浓度 Cd^{2+} 胁迫下,芹菜 FTIR 光谱图 $1\,635\text{ cm}^{-1}$ 处特征峰半定量分析结果如图5所示。在重金属的胁迫作用下,植物组织细胞的细胞壁能够实现蛋白基因的高表达,如 PAN 等^[22] 研究发现,水稻在 Al 的胁迫作用下其根尖细胞壁中羟脯氨酸糖蛋

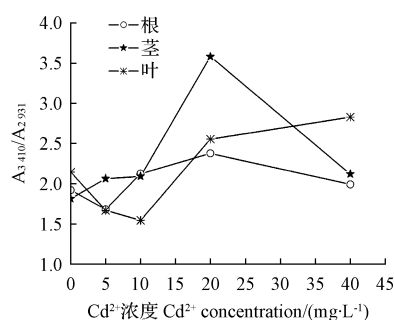


图4 不同浓度镉胁迫处理下芹菜 3 410 cm⁻¹ 处特征峰半定量分析

Fig. 4 Semi-quantitative analysis of 3 410 cm⁻¹ in celery with different Cd²⁺ concentrations

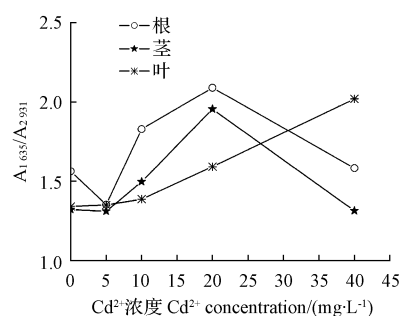


图5 不同浓度镉胁迫处理下芹菜 1 635 cm⁻¹ 处特征峰半定量分析

Fig. 5 Semi-quantitative analysis of 1 635 cm⁻¹ in celery with different Cd²⁺ concentrations

白的含量显著增加。深入研究发现这些诱导合成的相关细胞壁蛋白,对重金属离子的固定起到了重要作用^[23]。从图5可以看出,芹菜根组织 FTIR 图谱中 1 635 cm⁻¹ 处特征吸收峰的 A_{1635}/A_{2931} 比值随着 Cd²⁺ 浓度的逐步增大呈现先降低后升高最后又降低的变化趋势。当 Cd²⁺ 浓度 < 5 mg/L 时,由于 Cd²⁺ 胁迫对芹菜根的生理过程几乎无影响,此时峰值降低是因为根组织中的 C-N 基不断与 Cd²⁺ 络合而使 A_{1635}/A_{2931} 值降低;当 Cd²⁺ 浓度 > 5 mg/L 时, Cd²⁺ 胁迫处理对芹菜根系组织中氨基酸、蛋白质、多肽等物质的合成和分泌可能具有促进作用,从而导致 A_{1635}/A_{2931} 值升高;而高 Cd²⁺ 浓度 (> 20 mg/L) 的胁迫则对这些物质的合成具有抑制作用,因此 A_{1635}/A_{2931} 值随后又降低。芹菜茎组织 FTIR 图谱中 A_{1635}/A_{2931} 比值随着 Cd²⁺ 浓度的增大则呈现先升高后降低的趋势。说明在较低 Cd²⁺ 浓度 (< 20 mg/L) 的胁迫条件下,不断增加的外源重金属 Cd²⁺ 可能会诱导茎组织中氨基酸、多肽和蛋白类物质的合成,如富甘氨酸蛋白、富脯氨酸蛋白等。DIDIERJEAN 等^[24] 研究认为,这些重金属胁迫诱导蛋白可能具有保护植物细胞免受重金属毒害的作用。但当 Cd²⁺ 浓度 > 20 mg/L 时, Cd²⁺ 的毒性作用加剧,相关蛋白的合成会受到一定抑制作用,或者蛋白二级结构中肽键间氢键的结合力随着 Cd²⁺ 浓度升高而变弱^[25],引起 A_{1635}/A_{2931} 值下降。芹菜叶组织 FTIR 图谱中 A_{1635}/A_{2931} 值变化趋势是随着 Cd²⁺ 处理浓度的增大而升高,这可能与 Cd²⁺ 胁迫导致芹菜叶组织中多肽、蛋白质和氨基酸类物质含量升高有关。对比分析根、茎、叶 A_{1635}/A_{2931} 值变化趋势可以发现,在高浓度 Cd²⁺ (> 20 mg/L) 的胁迫作用下,芹菜叶组织仍能表现出对 Cd²⁺ 一定的适应性。

2.2.3 1 389 cm⁻¹ 处特征峰半定量分析 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫下,芹菜 FTIR 光谱图 1 389 cm⁻¹ 处特征峰半定量分析结果如图6所示。1 389 cm⁻¹ 附近处为细胞壁和各种膜中含油脂化合物的甲基对称弯曲振动峰。从

图6可以看出,芹菜根、茎组织 FTIR 图谱中 1 389 cm⁻¹ 处特征吸收峰的 A_{1389}/A_{2931} 比值呈现相同的变化趋势,即随着 Cd²⁺ 浓度的逐步增大呈现先升高后降低的变化趋势。有研究发现玉米悬浮细胞经果胶甲基酯酶处理后,由于其细胞壁果胶甲基酯化程度降低,从而导致玉米悬浮细胞对 Al 的吸附总量提高^[26]。该试验结果发现,当 Cd²⁺ 胁迫浓度较低时 (< 20 mg/L) 时, A_{1389}/A_{2931} 值随 Cd²⁺ 浓度的增大而升高,说明 Cd²⁺ 胁迫一方面可能促进芹菜根部含油脂化合物的分泌,另一方面根、茎细胞壁可通过降低果胶甲基化程度,使根、茎细胞壁阳离子交换能力增强;而随着 Cd²⁺ 浓度的进一步增大 (> 20 mg/L),高浓度的 Cd²⁺ 已对芹菜根、茎产生了较严重的胁迫作用,导致根、茎细胞壁的甲基化程度又开始升高而引起 A_{1389}/A_{2931} 值下降。与根、茎的变化趋势不同,芹菜叶组织 FTIR 图谱中 A_{1389}/A_{2931} 值变化趋势是随着 Cd²⁺ 处理浓度的增大先降低后升高并最终趋于稳定。说明当 Cd²⁺ 浓度较低 (< 5 mg/L) 时, Cd²⁺ 胁迫对芹菜叶的生理过程几乎无影响,此时 A_{1389}/A_{2931} 值降低是因为甲基 C-H 键不断与 Cd²⁺ 络合;当 Cd²⁺ 浓度 > 5 mg/L 时,随着 Cd²⁺ 处理浓度的不断增大,进一步促进了叶细胞内油脂化合物的产生以及叶细胞细胞壁果胶甲基化程度的降低以增强叶片对 Cd²⁺ 的抗逆性,这种刺激作用使该峰 A_{1389}/A_{2931} 值逐步升高并趋于稳定。

2.2.4 1 065 cm⁻¹ 处特征峰半定量分析 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫下,芹菜 FTIR 光谱图 1 065 cm⁻¹ 处特征峰半定量分析结果如图7所示。可以看出,芹菜根、茎组织 FTIR 图谱中 1 065 cm⁻¹ 处特征吸收峰的 A_{1065}/A_{2931} 比值呈现相同的变化趋势,即随着 Cd²⁺ 浓度的逐步增大呈现先降低后升高最后又降低的变化趋势。当 Cd²⁺ 浓度 < 5 mg/L 时, Cd²⁺ 胁迫对芹菜根、茎的生理过程几乎无影响,此时峰值的降低是因为芹菜根、茎中碳水化合物 C-O 基团不断与 Cd²⁺ 络合而使 A_{1065}/A_{2931} 值减低;当 Cd²⁺ 浓度 > 5 mg/L 时, Cd²⁺ 胁迫促进了根系中醇、

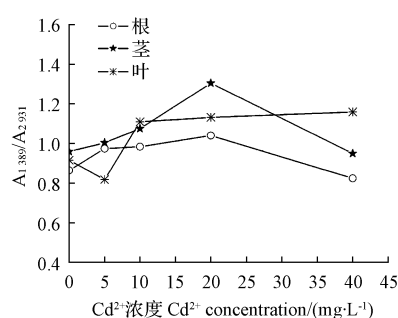


图6 不同浓度镉胁迫处理下芹菜 1389 cm^{-1} 处特征峰半定量分析

Fig. 6 Semi-quantitative analysis of 1389 cm^{-1} in celery with different Cd^{2+} concentrations

酯、醚、酚类物质的合成并与 Cd^{2+} 结合,也可能是由于羟基与 Cd^{2+} 作用而间接导致 C-O 峰强增加,而茎细胞细胞膜过氧化程度随 Cd^{2+} 胁迫作用也逐渐加深,脂肪族酮类化合物过氧化产物在茎中积累,因而引起根、茎的 A_{1065}/A_{2931} 值升高;但当 Cd^{2+} 处理浓度继续增大 (>20 mg/L),由于芹菜根、茎所遭受的毒害作用也越来越大,一方面组织内醇、酯、醚、酚类物质的合成、运输受到影响,另一方面 Cd^{2+} 胁迫作用还会造成脂肪族酮类化合物过氧化产物减少^[25,27],从而引起 A_{1065}/A_{2931} 值降低。与根、茎的变化趋势不同,芹菜叶组织 FTIR 图谱中 A_{1065}/A_{2931} 值变化趋势是随着 Cd^{2+} 处理浓度的增大而升高并最终趋于稳定。说明随着 Cd^{2+} 处理浓度的不断增大,叶细胞细胞膜过氧化程度加深,脂肪族酮类化合物过氧化产物在叶中积累以增强叶片对 Cd^{2+} 的抗逆性,从而引起 A_{1065}/A_{2931} 值升高。对比分析根、茎、叶 A_{1065}/A_{2931} 值变化趋势可以发现,在高浓度 Cd^{2+} (>20 mg/L) 的胁迫作用下,芹菜叶组织仍能表现出对 Cd^{2+} 一定的适应性。

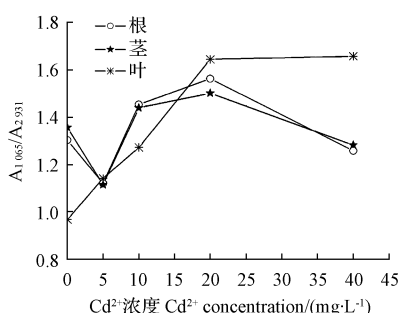


图7 不同浓度镉胁迫处理下芹菜 1065 cm^{-1} 处特征峰半定量分析

Fig. 7 Semi-quantitative analysis of 1065 cm^{-1} in celery with different Cd^{2+} concentrations

3 结论与讨论

对比分析芹菜根、茎、叶 FTIR 光谱图 3 410、1 635、

1 389、1 065 cm^{-1} 处特征峰 A/A_{2931} 值变化趋势可以发现,芹菜根、茎对 Cd^{2+} 毒性的适应性存在一个临界值 (20 mg/L),当超过此临界值时,根、茎受到一定的毒害作用而影响生理过程表现为 A/A_{2931} 值的降低;而芹菜叶所受到毒害作用小于根、茎并仍能表现出对 Cd^{2+} 一定的适应性。

芹菜根组织在 3 410、1 635、1 389、1 065 cm^{-1} 处特征峰 A/A_{2931} 值变化趋势说明低浓度 Cd^{2+} (<5 mg/L) 胁迫对根的生理过程几乎无影响,中浓度的 Cd^{2+} (5~20 mg/L) 可能促进根系合成、分泌和运输有机物(碳水化合物、氨基酸、蛋白质、多肽、油脂化合物、醇、酯、醚、酚),而高浓度的 Cd^{2+} (>20 mg/L) 则会抑制有机物的分泌和运输,同时导致根组织细胞壁的果胶甲基化程度升高、根细胞内脂肪族酮类化合物过氧化物产物减少。

芹菜茎组织在 3 410、1 635、1 389、1 065 cm^{-1} 处特征峰 A/A_{2931} 值变化趋势说明 Cd^{2+} 浓度 <20 mg/L 时, Cd^{2+} 胁迫可能促进了芹菜茎组织中碳水化合物、氨基酸、多肽和蛋白类物质的合成和运输以及茎细胞细胞壁果胶甲基化程度的降低、茎细胞细胞膜过氧化程度的加深;但当 Cd^{2+} 浓度 >20 mg/L 时, Cd^{2+} 的毒性作用加剧,相关有机物的合成和运输受到抑制、蛋白二级结构中肽键间氢键的结合力变弱、茎细胞细胞壁果胶甲基化程度升高。

芹菜叶组织在 3 410、1 635、1 389、1 065 cm^{-1} 处特征峰 A/A_{2931} 值变化趋势说明随着 Cd^{2+} 胁迫会刺激芹菜叶片中形成一些富含 N-H 和 O-H 的有机物(碳水化合物、氨基酸、蛋白质、多肽、油脂化合物、醇、酯、醚、酚)以及叶细胞细胞壁果胶甲基化程度的降低、叶细胞细胞膜过氧化程度加深以增强叶片对 Cd^{2+} 的抗逆性,这种刺激作用会随着 Cd^{2+} 浓度的增大而增强。

参考文献

- [1] 黄勇,郭庆荣,任海,等.珠江三角洲典型地区蔬菜重金属污染现状研究[J].生态环境,2005,14(4):559-561.
- [2] BAKER M J, TREVISAN J, BASSAN P, et al. Using fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials[J]. Nature Protocols, 2014, 9 (8):1771-1791.
- [3] 郑国璋. 农业土壤重金属污染研究的理论与实践[M]. 北京:中国环境科学出版社,2007.
- [4] IKE A, SRIPRANG R, ONO H, et al. Bioremediation of cadmium contaminated soil using symbiosis between leguminous plant and recombinant rhizobia with the MTL4 and the PCS genes[J]. Chemosphere, 2007, 9(66):1670-1676.
- [5] 鲁如坤,时正元,雄礼明.我国磷矿磷肥中镉的含量及其生态环境影响的评价[J].土壤学报,1992,29(2):150-157.
- [6] 刘荣乐,李书田,王秀斌,等.我国商品有机肥料和有机废弃物中重金属的含量状况与分析[J].农业环境科学学报,2005,24(2):392-397.
- [7] WANG K R. Tolerance of cultivated plants to cadmium and their utilization in polluted farm land soils[J]. Acta Biotechnologica, 2002, 22(1-2):189-198.

- [8] 崔力拓,耿世刚,李志伟.我国农田土壤镉污染现状及防治对策[J].现代农业科技,2006(11):184-185.
- [9] 梁文斌,薛生国,沈吉红,等.锰胁迫对垂序商陆叶片形态结构及叶绿体超微结构的影响[J].生态学报,2011,31(13):3677-3683.
- [10] 程存归,郭水良,陈建华.香茶菜属3种植物不同器官红外光谱-排序的比较[J].光谱学与光谱分析,2002,22(6):954-958.
- [11] 顾艳红,刘鹏,蔡琪敏,等.FTIR结合生理特性研究镉胁迫对果灰藓的影响[J].光谱学与光谱分析,2009,29(3):620-623.
- [12] 付川,余顺慧,黄怡民,等.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.
- [13] 薛生国,朱锋,叶晟,等.紫茉莉对铅胁迫生理响应的 FTIR 研究[J].生态学报,2011,31(20):6143-6148.
- [14] 段敏,马往校,李岚.17种蔬菜中铅铬镉元素含量分析研究[J].干旱区资源与环境,1999,13(4):74-80.
- [15] 廖琴,王胜利,南忠仁,等.干旱区绿洲土壤中 Cd、Pb、Zn、Ni 复合污染对芹菜的影响及其富集迁移规律[J].干旱区资源与环境,2011,25(7):173-177.
- [16] 陆婉珍,袁洪福,徐广通,等.现代近红外光谱分析技术[M].北京:中国石化出版社,2000.
- [17] 赵藻藩,周性尧,张悟铭,等.仪器分析[M].北京:高等教育出版社,1990.
- [18] 王瑞云,任有蛇,岳文斌,等.低温胁迫对苜蓿幼苗存活及生理生化指标的影响[J].激光生物学报,2006,15(4):342-348.
- [19] 孟朝妮,刘成,贺军民,等.增强 UV-B 辐射、NaCl 胁迫及其复合处理对小麦幼苗光合作用及黄酮代谢的影响[J].光子学报,2005,34(12):1868-1871.
- [20] 张晓斌,刘鹏,李丹婷,等.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.
- [21] CLEMENS S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis[J]. Planta,2001,212(4):475-486.
- [22] PAN W,SHOU J,ZHOU X,et al. Al-induced cell wall hydroxyproline-rich glycoprotein accumulation is involved in alleviating Al toxicity in rice[J]. Acta Physiologiae Plantarum,2011,33(2):601-608.
- [23] JIANG W,LIU D. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L.[J]. BMC Plant Biology,2010,10(1):40.
- [24] DIDIERJEAN L,FRENDI P,NASSER W,et al. Heavy-metal-responsive genes in maize;identification and comparison of their expression upon various forms of abiotic stress[J]. Planta,1996,199(1):1-8.
- [25] 任立民,成则丰,刘鹏,等.美洲商陆对锰毒生理响应的 FTIR 研究[J].光谱学与光谱分析,2008,28(3):582-585.
- [26] SCHMOHL N,PILLING J,FISAHN J,et al. Pectin methylesterase modulates aluminium sensitivity in *Zea mays* and *Solanum tuberosum* [J]. Physiologia Plantarum,2000,109(4):419-427.
- [27] 薛生国,黄艳红,王钧,等.采用 FTIR 法研究酸模叶蓼对锰胁迫生理响应的影响[J].中南大学学报(自然科学版),2011,42(6):1528-1532.

Physiological Response of Celery (*Apium graveolens* L.) to Cadmium Stress by FTIR Spectroscopy

HU Bohua¹, XU Jie¹, DUAN Dechao², CHEN Qin¹, GE Tao¹

(1. College of Biological, Chemical Sciences and Engineering, Jiaying University, Jiaying, Zhejiang 314001; 2. Bestwa Environmental Protection Sci-Tech Co. Ltd., Hangzhou, Zhejiang 310015)

Abstract: Cd is a highly toxic and highly water soluble element without biological function, which tends to enter the food chain, adversely affecting human health once released into the environment. Celery (*Apium graveolens* L.) is widely planted as a popular vegetable in our country, and has certain accumulation ability for Cd. In the present study, fourier transform infrared (FTIR) spectrometry was used to investigate the physiological changes in chemical composition of celery exposed to solution containing different Cd²⁺ concentration (0, 5, 10, 20, 40 mg/L). The results showed that after an initial decline, the A/A₂₉₃₁ value of the dominant infrared bands near 3 410 cm⁻¹, 1 636 cm⁻¹, 1 389 cm⁻¹ and 1 065 cm⁻¹ in both roots and stems increased at first and then decreased. This indicated that there was almost no effect on physiological processes of the roots and the stems with low Cd²⁺ concentration, while at medium Cd²⁺ concentration the roots and the stems were promoted to coalesce, secrete and transport organics (carbohydrates, amino acids, proteins, carbohydrates), and with high Cd²⁺ concentration the secretion and transportation of the organics were inhibited. Meanwhile, the methylated pectin in cell wall of the roots and the stems increased, and the peroxide products of ketones in cells of the roots and the stems decreased. The A/A₂₉₃₁ value of the dominant infrared bands in the leaves showed a gradually rising trend, which indicated that the stress resistance of the leaves to Cd²⁺ increased with the Cd²⁺ concentration increased. As a result, FTIR technique could be accepted as a way to study the physiological mechanism of plant for adapting to the stress of heavy metals.

Keywords: cadmium stress; fourier transform infrared spectrum; chemical composition; celery