

2017 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 060020

參展科別 植物學

作品名稱 新興汙染物銻對阿拉伯芥生長之影響

**Physiological and Molecular Response of
Arabidopsis thaliana to Indium Exposure**

得獎獎項 大會獎：三等獎

就讀學校 臺北市立麗山高級中學

指導教師 葉國楨、林獻升

作者姓名 廖云琪、賴玠淳

關鍵字 阿拉伯芥、銻、X 光吸收光譜

作者簡介



我是廖云琪，目前就讀於台北市立麗山高中二年級。很幸運地在上了高中後進入了生物專題，進行研究與實驗。儘管過程辛苦、許多文獻也很艱澀難懂，我還是很覺得很新鮮，同時也很享受在每一個小實驗成功來臨之前的小磨難。在這為期一年的實驗中，我學到了許多，當然也沒有忘記當初的熱忱。非常感謝一直在旁指導的實驗室教授、學長姐以及學校老師們。也很高興能遇到志同道合的夥伴一起努力，一起成長。

我是賴玠淳，目前就讀台北市立麗山高級中學二年級，喜歡推理、到處嘗試。當選了班聯會的主席，高一的暑假也到加拿大遊學了一個月，而科學研究更讓我獲益良多，從文獻的閱讀到後來進入實驗室操作，不但讓我吸收到了許多課外知識，對於每次實驗的方法、結果更是好奇又充滿期待。很開心能夠參與本次的國際科展，謝謝所有指導的老師、更謝謝中研院農生中心的教授與學長姐。

中文摘要

銻之化合物常被應用於半導體產業當中，隨著使用量的增加也提高銻污染流佈於環境的風險，若此污染物流布至土壤並累積於植物體內，則可能通過食物鏈而影響人體的健康。現今國內外鮮少有銻對植物影響的相關研究，因此本研究以培養基試驗，探討銻對模式植物阿拉伯芥生長之影響。結果顯示，當銻處理濃度為 500 μM 時，其生質量以及根長會受到抑制。MDA 含量的增加，顯示銻會對阿拉伯芥造成氧化逆境，而穀胱甘肽與金屬螯合素並非阿拉伯芥在銻逆境下主要的抗氧化機制。本研究亦發現銻處理下會影響對錳、鉀、鈉、磷、鐵、錳、銅以及鋅的吸收。此外，X 光吸收光譜分析顯示根部以及地上部中銻物種有明顯組成上的差異。於根部有 42.9% 的銻是以吸附於細胞壁的形式存在，這可視為植物對重金屬所採取「隔離」策略的防禦方式之一。

Abstract

Indium (In) is a semi-metallic element that has been used in making electronics. In contamination in the environment may cause risks to ecosystems but the uptake and accumulation of In by plants have not been well understood. Thus, the physiological and molecular effects of In on the model plant *Arabidopsis thaliana* were investigated in this study. Results indicate that visible signs of toxicity are evident at concentrations of 500 μM In. The increased production of MDA suggests that In stress has potential to cause oxidative damage in plants. We also found that roots were the main In accumulating sites indicating the immobilization or limited translocation of In in Arabidopsis. With analysis of the contents of macro- and micro-nutrient elements in In-treated plants, we found that In would interfere the hemostasis of Ca, Mg, K, Na, P, N, Fe, Mn and Zn under In treatments. Furthermore, X-ray absorption spectroscopy (XAS) analysis showed that major form of In are composed by In-cellulose and precipitation-In in root, suggesting that the retention of metal by cell walls is possible sink or excretory system for the In. Our findings provide information for risk assessment on In-contaminated soil.

壹、前言

一、研究動機

新興污染 (Emerging Contaminants) 主要為「新認定或之前未確認」、「未受法規規範」、「且對人體健康及生態環境具有風險性」的化學污染物，此類污染物通常經由人類活動（包括：工商業、醫療場所、製藥廠等）所產生且不容易於環境中分解，當此污染物進入食物鏈，經由生物濃縮（累積）效應，對整個生態的毒害作用更是無法估計。然而，目前對於新興污染物的相關研究仍不完備，使政府機關對於大多數的新興污染物，尚未有充足的實驗數據來建立一個管制的標準。而許多微量金屬因科技產業的使用而逐漸受到重視，銻也是近年來才受到關注，並被認為是新興污染物之一。

已知銻是一種具韌性、有光澤、比鉛 (lead) 還柔軟的銀白色金屬，在地殼中的濃度為 50-200 微克/公斤。銻具有熔點低、沸點高、低電阻、常溫中可與氧緩慢反應形成氧化膜、抗腐蝕、可通過可見光而反射紅外光等特性，廣泛應用於國防軍事、航空航太、核工業和現代資訊產業等高科技領域。

然而研究發現職業暴露銻錫氧化物的工人，肺部產生致命性間質性肺炎 (fatal interstitial pneumonia)。且國際癌症研究組織將磷化銻列為人類可能的致癌物 (Group 2A)；銻錫氧化物與砷化銻則尚未被歸類。更有動物實驗發現磷化銻會導致肺臟產生惡性腫瘤，並增加嗜鉻細胞瘤 (Pheochromocytoma) 與肝癌的發生率。美國工業衛生協會 (ACGIH) 規定職業暴露銻與銻的化合物，時量平均容許值 (TLV-TWA) 不得超過 0.1 mg/m³。但是台灣勞工作業環境空氣中有害物容許濃度標準規定，銻與銻的化合物工作場所中八小時日時量平均容許濃度 (PEL-TWA) 為 0.1 mg/m³。銻與銻的化合物對健康的潛在不良影響包括肺水腫、急性肺炎以及可能對骨骼與腸胃道的傷害。【摘錄自：國家環境毒物研究中心。銻。】

科技與時俱進，目前國內雖並未有任何被銻所污染的案例，但其與動物之接觸會使動物造成毒害甚至死亡，因此我們仍不能斷言其對環境沒有傷害，更不能確定其是否會經由植物累積，透過食物鏈進而影響到人類的健康及安全。而人類廣泛地將銻運用於高科技產業中，因此提高銻污染流佈於環境的風險，進一步造成生態系嚴重的危害。若此污染物流布至土壤

並累積於植物體內，則可能通過食物鏈而影響人體的健康。然而，目前雖然已有許多研究指出鎳對動物方面會造成毒害，卻甚少有研究說明其對植物的影響，因此我們想知道平時存在於稀土中的鎳元素碰到植物時，會對植物帶來甚麼影響。於是我們決定使用具有豐富的生理、生化及遺傳資訊之模式植物阿拉伯芥 (*Arabidopsis thaliana*)，將其栽培於含有鎳的培養介質中，觀察鎳是否對植株的生理狀態及營養元素平衡造成影響，並導致氧化逆境。此外，將藉由 X 光吸收光譜的測定，分析植株根部及地上部中鎳物種的存在型式。

二、探討問題

- (一) 阿拉伯芥被稀土金屬鎳污染後造成生理上的哪些影響？
- (二) 阿拉伯芥在稀土金屬鎳污染的環境下會吸收多少鎳？
- (三) 在不同鎳濃度的處理下，鎳會如何影響阿拉伯芥體內其他營養元素的平衡？
- (四) 在鎳誘導下是否會造成阿拉伯芥氧化逆境的表現？
- (五) 阿拉伯芥在鎳逆境下會有何種防禦機制？
- (六) 植物體內鎳是否會以不同型式的化合物存在於不同器官之間？

三、研究目的

- (一) 比較不同鎳濃度下阿拉伯芥根部的長度及鮮重、地上部的鮮重。
- (二) 探討阿拉伯芥中鎳的累積含量。
- (三) 探討阿拉伯芥中鎳和其他營養元素的關係。
- (四) 以 MDA 作為指標，了解阿拉伯芥在鎳所誘導的氧化逆境情形。
- (五) 檢測穀胱苷肽與金屬螯合素是否為阿拉伯芥之防禦機制。
- (六) 分析植物體內鎳的化合物及鎳於運輸過程中的轉變方式。

貳、研究方法與過程

一、研究設備及器材

(一) 實驗物種：阿拉伯芥哥倫比亞 0 號品種 (*Arabidopsis thaliana*; *Columbia*)

1. 分類：十字花科、鼠耳芥屬
2. 分布：生長於海拔 300 公尺至 4,700 公尺的地區，一般生於山坡、平地、河邊以及路邊。
3. 特徵：阿拉伯芥是一種細長而直立的二年生草本植物，羽狀多葉，莖的高度達 40 厘米。基生葉柄呈蓮座狀，葉片倒卵形或匙形；莖生葉無柄，呈披針形或線形，有直徑約 3 毫米四瓣白色小花。從萌芽到種子成熟，大約為六個星期。植株的小體積使得其在有限的空間裡培養及操作相當方便，而單棵植株能產生幾千顆種子，讓研究在材料上不虞匱乏。



(二) 實驗儀器：70°C 烘箱、冷凍乾燥機、低溫離心機、-80 度冰箱、-20 度冰箱、桌上型電子秤、無菌操作臺、滅菌釜、震盪器、微波消化器、感應耦合電漿發射光譜儀。

(三) 實驗器材：培養皿、錐形瓶、滴管、移液滴管、量筒、樣品瓶、秤量紙、

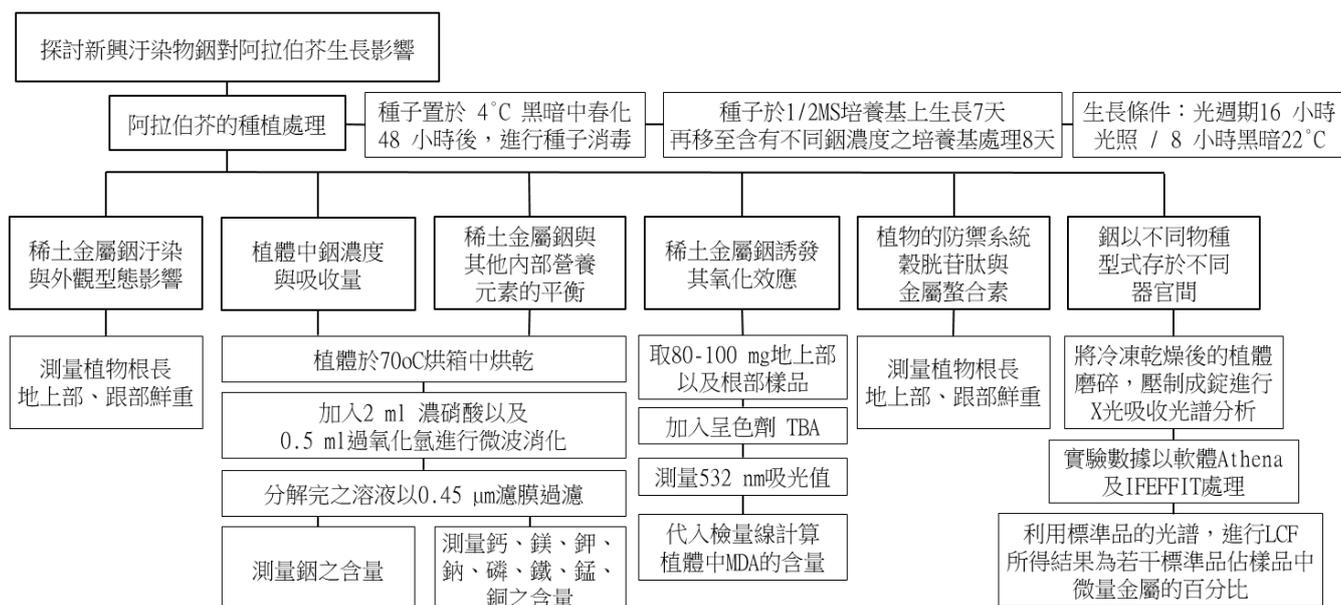
刮勺、燒杯、微波消化管、液體分注器。

(四) 實驗用試劑：硝酸銻 (InNO_3)、次氯酸鈉 (NaClO)、氯化鈣 (CaCl_2)、SDS、2-thio-barbituric acid (TBA)、硝酸 (HNO_3)、過氧化氫 (H_2O_2)。

(五) 電腦軟體：IFEFFIT (version 1.2.10)

二、研究方法

實驗流程圖：



(一) 試驗植物及生長環境

選用阿拉伯芥哥倫比亞 0 號品種(*Arabidopsis thaliana; Columbia*)。將阿拉伯芥置於 4°C 黑暗中春化 48 小時，之後進行種子的消毒：以 70%酒精清洗 2 分鐘後，再以含有 1.2 % NaClO 及 0.02 % SDS 溶液清洗 20 分鐘，接著以無菌水清洗六次，完全清洗殘留之消毒溶液。將消毒完成的種子直線排列在 1/2MS 培養基上 (表一)，以光週期 16 小時光照 / 8 小時黑暗，22°C 組織培養室中生長。

表一、1/2 MS 培養基配方 (pH=5.7-5.8)

Chemicals	
MS	0.211%
MES	0.05 %
Sucrose	1%
Agar	0.03 %

(二) 銻處理

欲尋找會對植體造成毒害之銻濃度，試驗一開始先以大的範圍做測試，銻處理濃度為：0, 5, 20, 100, 250, 500 μ M。此部份分為直播處理組以及轉植處理組。直播處理組為將阿拉伯芥種子直接種植於含有銻處理的培養基中，轉植處理組則是將七天齡阿拉伯芥，移轉至含有銻處的培養基中再處理八天。初步測試結果顯示，植物在 500 μ M 銻處理下，有顯著毒害情形發生，因此後續試驗將選擇 250 以及 500 μ M 作為銻濃度處理之代表。

(三) 阿拉伯芥外觀型態的觀察

測量根之最長身長量後，再分別秤量地上部以及根部的鮮種。

(四) 阿拉伯芥植體內銻以及其他營養元素之含量分析

將阿拉伯芥地上部以及根部，放進 70°C 烘箱中，烘乾 3 天後。將乾燥之植體至於微波消化管中，並添加 2 ml 濃硝酸 (nitric acid, HNO₃) 以及 0.5 ml 過氧化氫 (Hydrogen Peroxide, H₂O₂)，之後以微波消化的方式進行植體消解，同時作空白試驗，試驗為四重複。分解完後之溶液以 0.45 μm 濾膜後，以感應耦合電漿發射光譜儀 (Inductively coupled plasma atomic emission spectrometer, ICP-AES) 測定銻、鈣、鎂、鉀、鈉、磷、鐵、錳、銅以及鋅之濃度。

(五) 銻逆境下造成阿拉伯芥氧化逆境的表現

重金屬除了會在「生理層面」上，對植物生長與發育造成抑制的結果之外，其在「分子 (細胞) 層次」也會有明顯的影響效果，例如：造成染色體異常、細胞分裂過程受到抑制等 (Benavides et al., 2005)。一般而言，重金屬對植物造成的傷害，被認為是由活性氧族 (Reactive oxygen species, ROS) 的產生與累積所引起的，這些含氧的自由基 (free radical)，會造成細胞內氧化還原狀態的失衡，形成氧化壓力 (oxidative stress) 進一步傷害細胞 (Shah et al., 2001)。

其中，丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 為脂質過氧化 (lipid peroxidation) 反應的最終產物，通常被用為量化植物氧化逆境的生理指標之一 (Lin et al., 2007)。當 ROS 攻擊細胞膜脂時，會引發一系列的連鎖反應，使脂質被氧化為過氧化脂質，而最後轉變為的二次代謝產物即為丙二醛。因此，可知若 MDA 含量越多，表示細胞損傷的機率越大。

本研究將以脂質過氧化產物「丙二醛 (MDA)」作為氧化逆境的指標。實驗部分則採用 Heath and Packer (1968) 提出之方法，取 80-100 mg 地上部以及根部樣品，加入呈色劑 2-thio-barbituric acid (TBA)，測量 532 nm 波長的吸光值，再代入檢量線後計算出植體中 MDA 的含量。

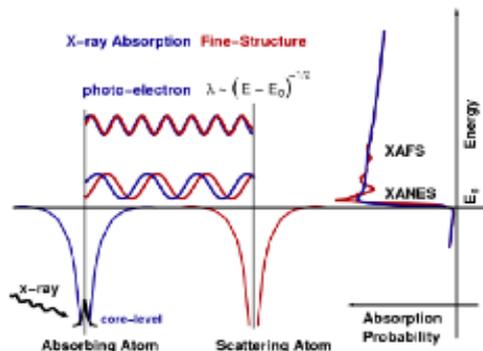
(六) 植物防禦系統——金屬螯合素與穀胱苷肽

為忍受與隔離重金屬所造成的危害，植物會發展出一套抗氧化防禦系統，來抵抗重金屬逆境，當中穀胱苷肽 (Glutathione, GSH)與金屬螯合素 (Phytochelatins, PCs)扮演著尤其重要的角色。穀胱苷肽可以保護植物減少氧化逆境所造成的傷害。金屬螯合素則是在金屬離子侵入細胞時，會與金屬離子結合形成較穩定的螯合物，藉此解除重金屬毒害。因此，為探討穀胱苷肽與金屬螯合素是否做為阿拉伯芥面臨鎳逆境時主要之防禦機制，本實驗將利用 GSH/PCs 之突變株：cad1-3, cad2-1 作為驗證此假說的試驗材料 (Ball et al., 2004, Ha et al., 1999)。其中 cad1-3 為植物體內「幾乎不含有」金屬螯合素的突變株，cad2-1 為穀胱甘肽 Glutathione (GSH)含量較少的突變株。

(七) 不同型態鎳的測定 - X 光吸收光譜分析方法

X 光吸收光譜可更進一步的印證鎳物種以及其隨環境轉變的方式。X 光吸收光譜研究主要在新竹的同步輻射研究中心 (Synchrotron Radiation Research Center, 簡稱為 SRRC) 之 Wiggler C (01C)進行。這些光束線皆為使用雙晶分光儀 DCM (Double Crystal Monochromator)之高能量解析度(能量解析度 1 eV 左右)光源。圖一為 X 光吸收光譜的原理概念圖，其主要的原理為使用高能量的 X 光將原子內層的電子激發至外層，而因為不同的原子有不同的吸收能階。且吸收能階會受到周遭原子的影響，使得不同物種的微量金屬將會有特定的吸收圖譜。

數據分析方法則使用鎳 X 光吸收光譜會利用 IFEFFIT (version 1.2.10)進行能量校正、背景扣除、歸一化、及加權平均。之後會利用標準品的光譜，進行 Linear Combination Fitting，所得結果為若干標準品佔樣品中微量金屬的百分比，藉由此一圖譜可以分析，即可得知環境微量金屬中的物種分佈及其相關含量。

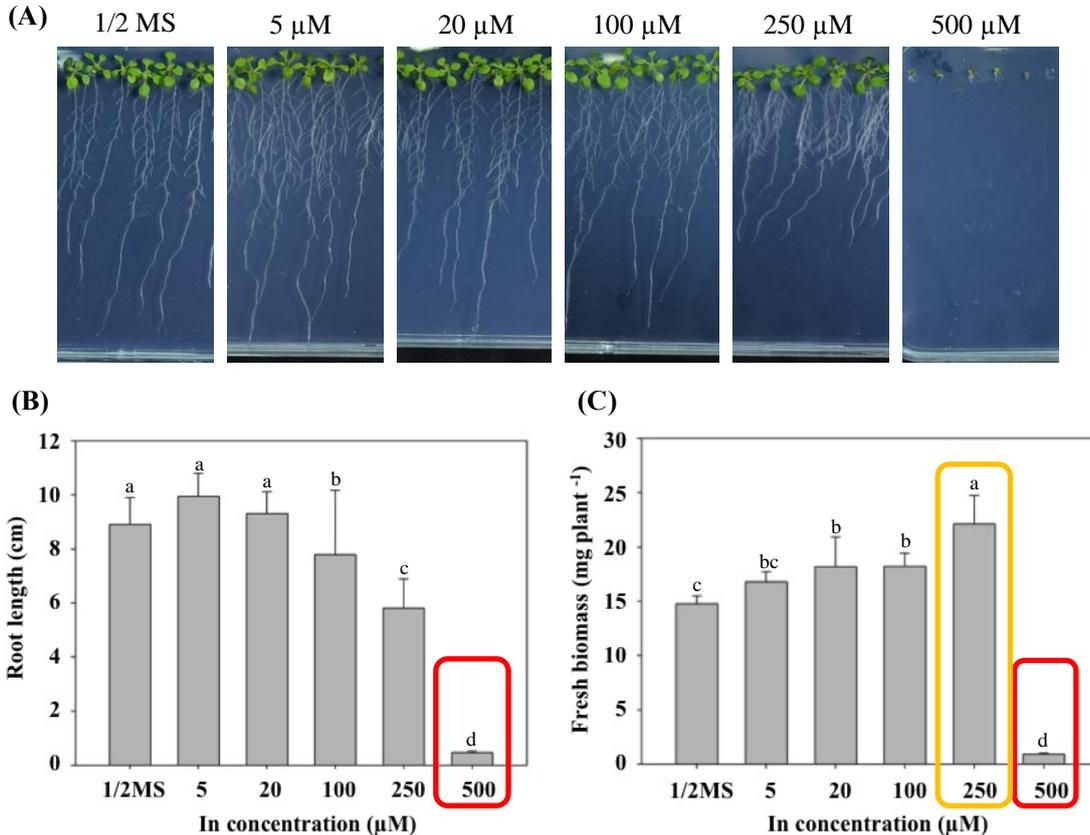


圖一、X 光吸收光譜原理示意圖(Newville, 2001)

參、研究結果及討論

一、銻暴露條件以及外觀型態的觀察

(一) 阿拉伯芥在不同銻濃度處理下之生長情形—直播處理

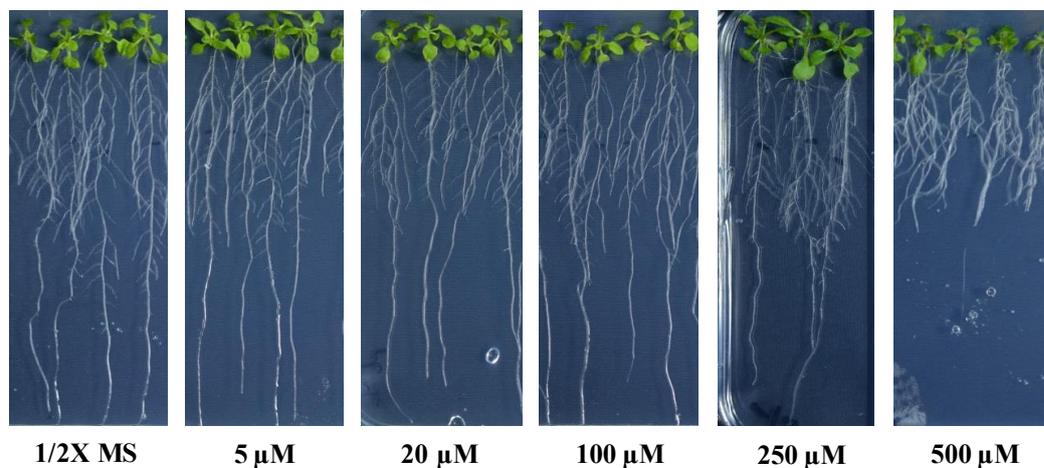


圖二、阿拉伯芥在不同銻濃度處理下之生長情形。(A)外觀型態的觀察，(B)根長，(C)鮮重。

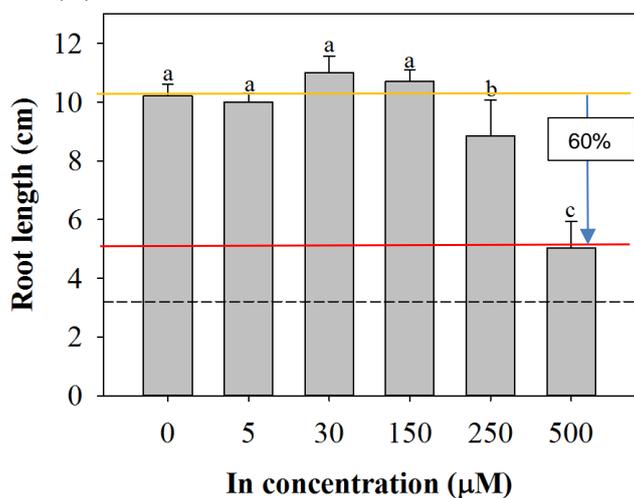
藉由觀察重金屬逆境下植物生長情形，可作為判斷重金屬毒害的簡易指標 (Ouariti *et al.*, 1997)。本篇研究將以植物的外觀表現型以及植體鮮重、根長的測量，作為初步判斷銻對植物生長造成之影響。圖二(A)為阿拉伯芥種植於含 5、20、100、250、500 μ M 銻之 1/2 MS 培養基，進行 15 天銻處理之生長情形。(B)為阿拉伯芥之根長，顯示銻濃度為 250 μ M 與 500 μ M 時，與對照組相比，根長抑制程度分別為 30%和 90%。(C)為阿拉伯芥之鮮重，銻濃度為 250 μ M 時，鮮重較對照組高 30%；500 μ M 時鮮重則降低為對照組的 10%。上述結果顯示阿拉伯芥在銻影響下，呈現根長生長受阻的現象，其中在 250 μ M 植物鮮重卻有增加之趨勢，初步推論為阿拉伯芥在面臨環境逆境時，所引起抑制主根生長及誘導不定根（側根）的發生。

(二) 阿拉伯芥在不同錳濃度處理下之生長情形－轉植處理

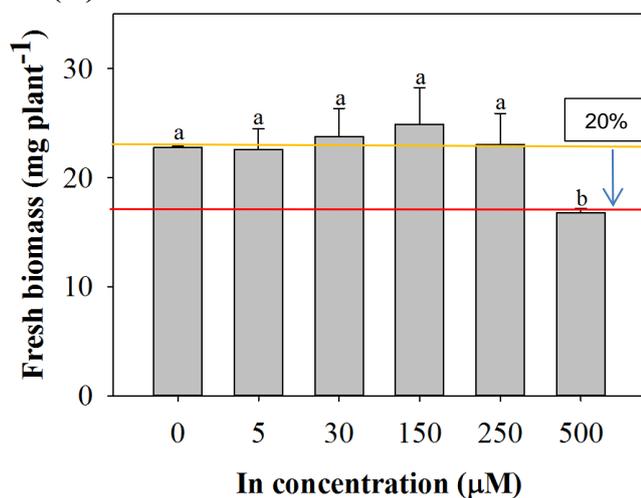
(A)



(B)



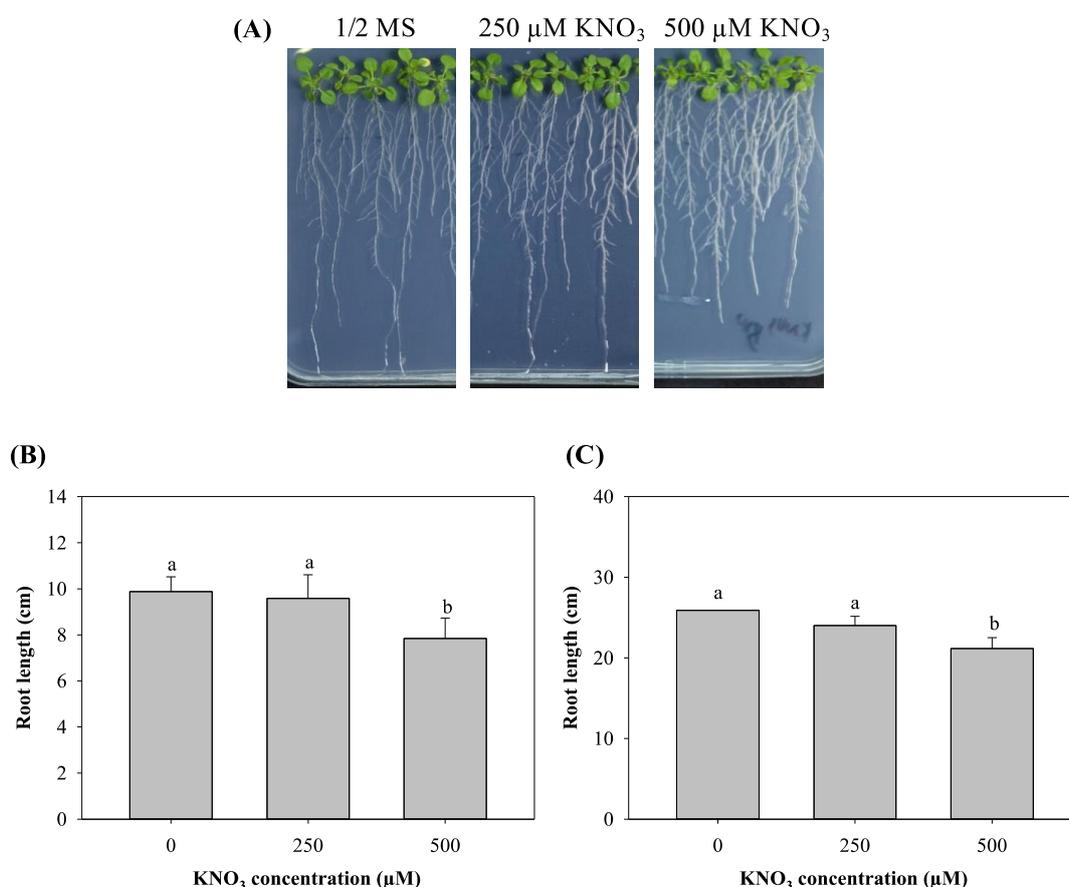
(C)



圖三、七天齡阿拉伯芥在不同錳濃度處理 8 天後生長情形。(A)外觀型態的觀察，(B)根長，(C)鮮重。

圖三 (A)為阿拉伯芥於 1/2MS 培養基上上種植七天（以下簡稱七天齡幼苗），再移至 5、20、100、250、500 μM 錳之培養基上八天之生長情形。由圖中可知，相較於直播處理組（圖二），七天齡的幼苗具有較佳的抵抗能力。在七天齡幼苗處理組的部份，錳濃度為 500 μM 時，根長明顯受到抑制的情形發生。(B)為阿拉伯芥之根長，顯示阿拉伯芥在 500 μM 時，根長約少了控制組的 60%。(C)為阿拉伯芥之鮮重，顯示錳濃度為 500 μM 時，鮮重約少了控制組的 20%。

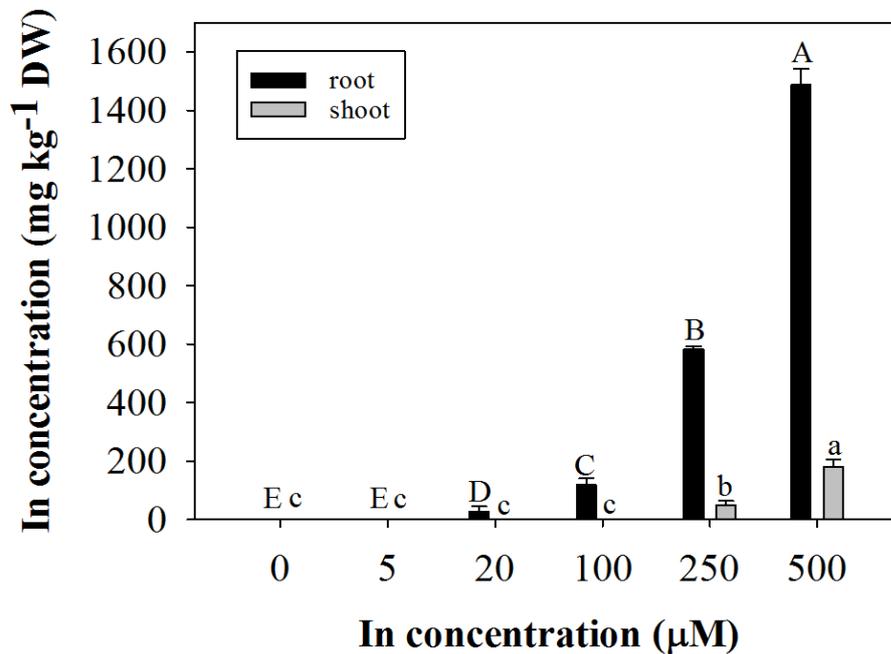
(三) 硝酸銨中之硝酸對阿拉伯芥生長的影響檢測



圖四、七天齡阿拉伯芥在不同硝酸鉀濃度處理 8 天後之生長情形。(A)外觀型態的觀察，(B)根長，(C)鮮重。

本篇研究使用硝酸銨做為「銨」處理，又硝酸可作為植物氮肥的營養源，因此，為檢測硝酸銨中額外添加之硝酸，是否會影響阿拉伯芥的生長，我們將以硝酸鉀作為額外添加硝酸部分的對照組。圖四為將七天齡幼苗移至含硝酸鉀濃度 250 μM 、500 μM 培養基中之生長情形，(B)、(C)分別為阿拉伯芥在不同硝酸鉀濃度處理下的根長及鮮重。由上述結果得知硝酸對阿拉伯芥生長所造成之影響，並沒有明顯的差異 ($P < 0.05$)，因此得知硝酸銨中的硝酸，對阿拉伯芥的生長並未產生顯著的影響。

二、植體中銻濃度與吸收量

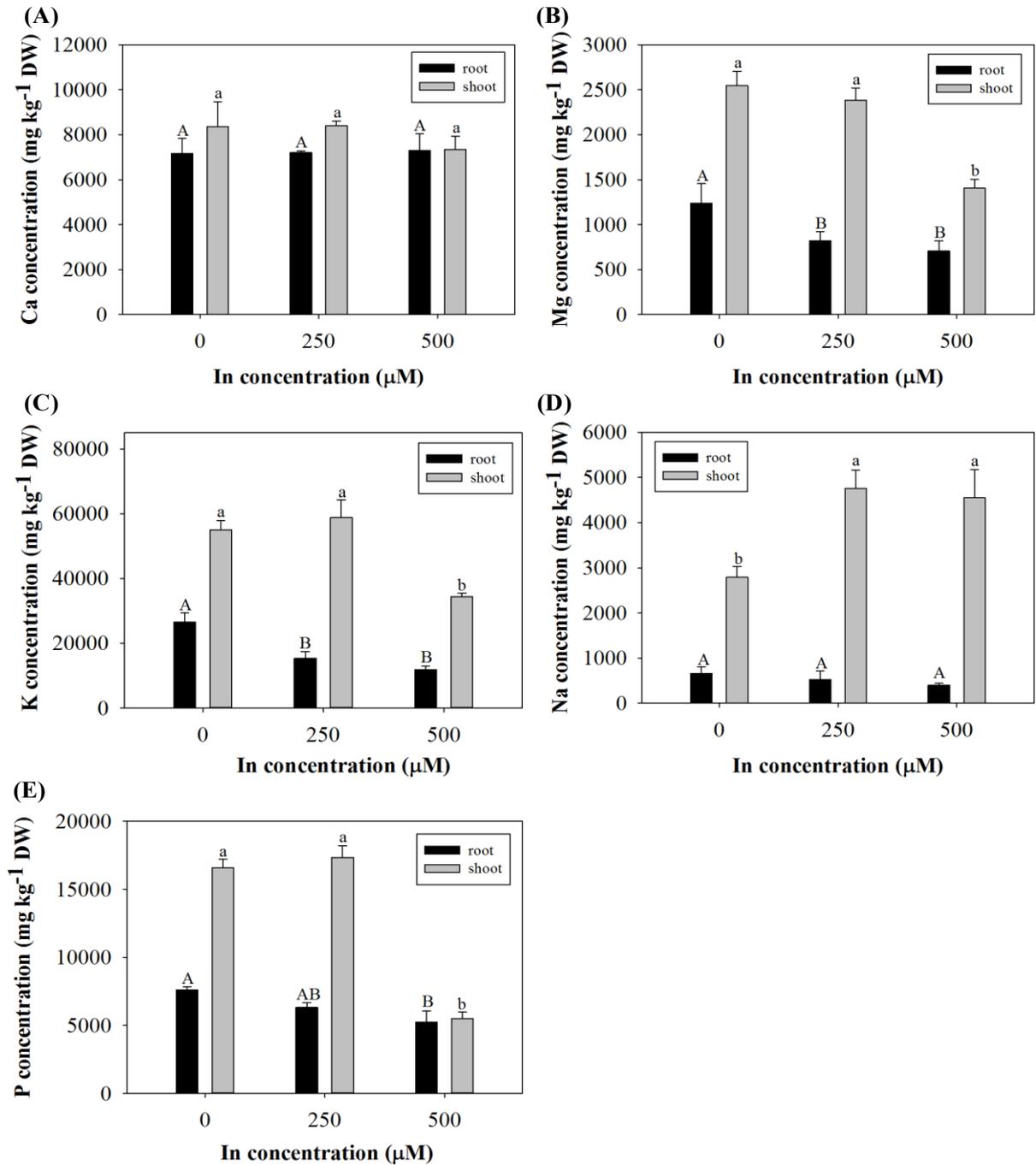


圖五、七天齡阿拉伯芥在不同銻濃度處理 8 天後，植體累積銻之情形。

圖五為阿拉伯芥根部與地上部之銻濃度，由圖可知，處理銻濃度為 20 μM 時，地上部之銻濃度低於儀器偵測極限，處理濃度高於 100 μM ，地上部銻濃度隨處理濃度增加而顯著上升 ($P < 0.05$)。根部之處理亦隨處理濃度增加而顯著上升 ($P < 0.05$)。顯示阿拉伯芥會吸收環境中的銻，並可將銻從根部運輸至地上部。此外，本研究發現，根部為銻累積的主要部位，原因可能是銻與根部細胞壁形成強的鍵結，或是沈澱在根的細胞間隙當中，使的較少的銻被傳輸至地上部。

三、銨與營養元素之平衡

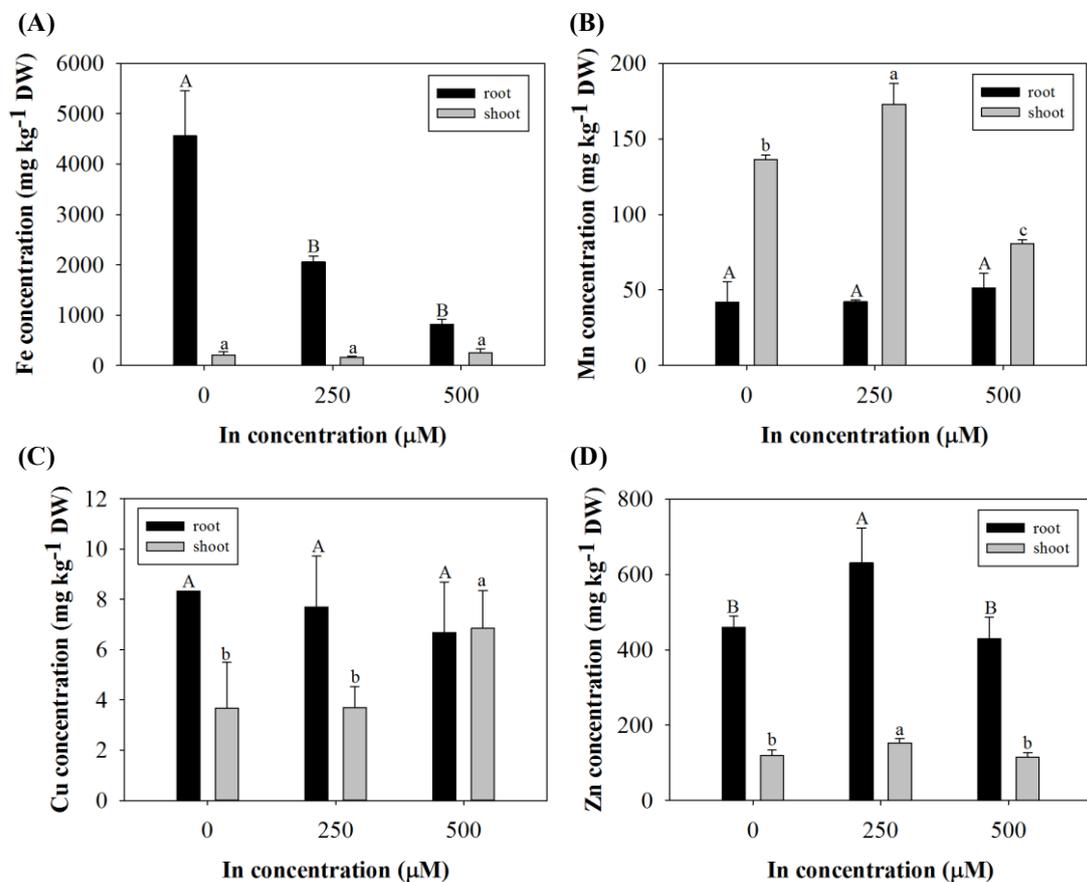
(一) 巨量元素：鈣 (Ca)、鎂 (Mg)、鉀 (K)、鈉 (Na)、磷 (P)



圖六、七天齡阿拉伯芥在不同銨濃度處理 8 天後，植體內部巨量元素：(A)鈣，(B)鎂，(C)鉀，(D)鈉，(E)磷之濃度變化情形。

銨可能藉由影響植物對營養元素的吸收與養分在植體內的傳輸，進而促進或抑制植物的生長。圖九為不同濃度銨處理下植體內鈣、鎂、鉀、鈉、磷之濃度，結果顯示，相較於控制組，銨處理之地上部與根部中鈣濃度並沒有顯著差異 ($P < 0.05$)，表示銨不會影響阿拉伯芥對鈣的吸收。而地上部與根部之鎂、鉀則分別在銨處理濃度 250、500 μM 時有下降之情形發生。根部鈉濃度無顯著差異，地上部的鈉含量則有上升的趨勢 ($P < 0.05$)。在 500 μM 銨處理下，地上部與根部磷濃度接顯著下降 ($P < 0.05$)。

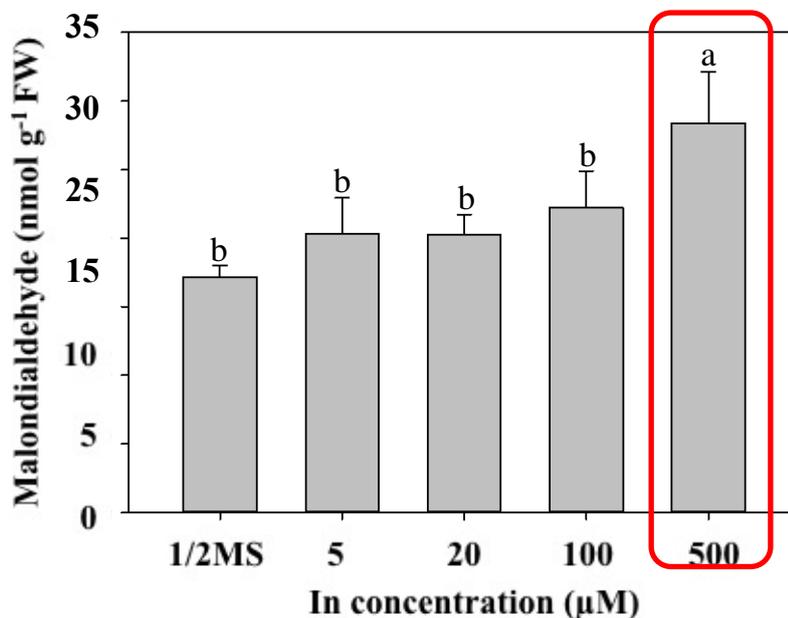
(二) 微量元素：鐵 (Fe)、錳 (Mn)、銅 (Cu)、鋅 (Zn)



圖七、七天齡阿拉伯芥在不同銨濃度處理 8 天後，植體內部微量元素：(A)鐵，(B)錳，(C)銅，(D)鋅之濃度變化情形。

銻為三價陽離子，因此可能會和其他陽離子有結抗之作用，進而影響阿拉伯芥對其他陽離子的吸收。圖十為銻處理下阿拉伯芥植體內鐵、錳、銅、鋅之濃度。結果顯示，根部鐵濃度在 250 μM 、500 μM 時有顯著下降，地上部的鐵濃度則無明顯差異，因此，本研究阿拉伯芥的地上部並無出現鐵缺乏的情形。在 250 μM 銻處理下，根部錳含量增加，根部則無顯著差異。地上部與根部的鋅濃度上升，表示阿拉伯芥種植在含有銻的環境下，可能會促進阿拉伯芥對錳和鋅的吸收。在銻處理濃度為 500 μM 時，地上部錳濃度有顯著下降，銅濃度則有上升的情形發生。由上述結果可知，暴露於銻的環境下，會影響阿拉伯芥對錳、鉀、鈉、磷、鐵、錳、銅以及鋅的吸收。

四、銻之氧化性毒害－以脂質過氧化物 (MDA)含量為指標

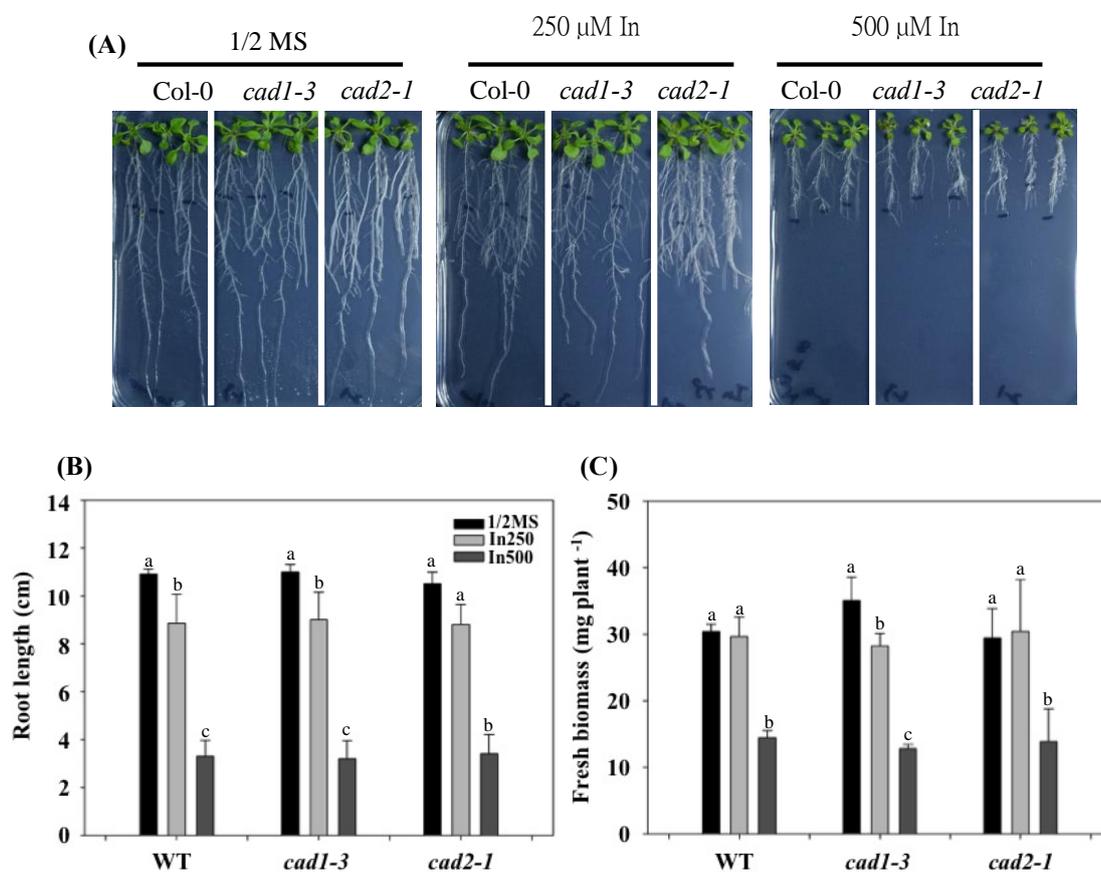


圖八、阿拉伯芥在不同銻濃度處理下丙二醛 (MDA)的濃度。

圖八為阿拉伯芥分別在 1/2MS、5、20、100、500 μM 銻處理下 MDA 的含量，數據顯示在 500 μM 銻處理下之阿拉伯芥有最高的 MDA 含量，由上述可知 MDA 含量越多，表示細胞損傷的機率越大，因此隨著環境中銻濃度的增加，植物也將會面臨較嚴重的氧化逆境。而此結果是可被預期的，相對應於圖三可發現，在 500 μM 銻處理下之阿拉伯芥有最明顯的毒害情形發生。

五、植物抗氧化防禦系統－穀胱苷肽與金屬螯合素

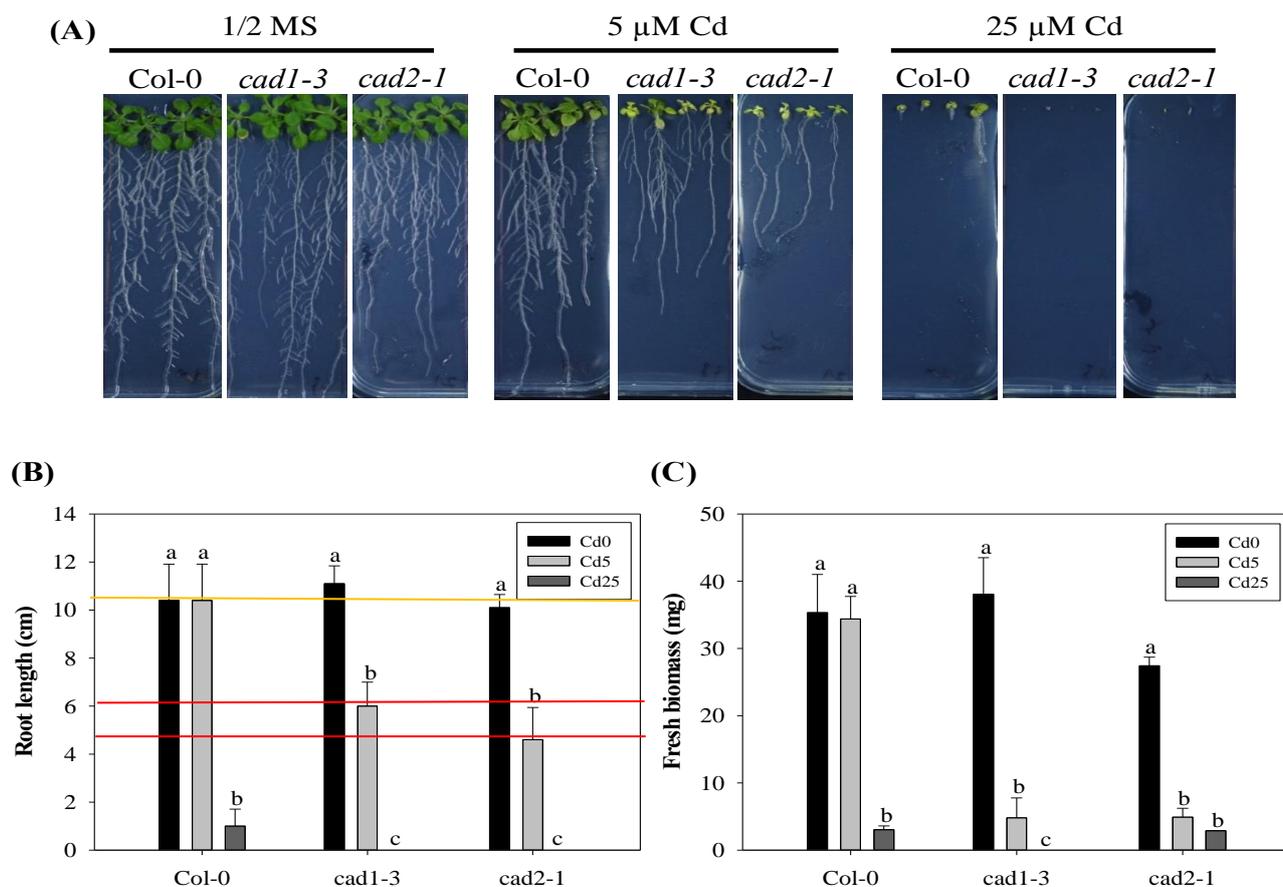
(一) 阿拉伯芥 col-0、*cad1-3* 與 *cad2-1* 在不同錳濃度處理下之生長情形



圖九、七天齡阿拉伯芥 col-0、*cad1-3* 與 *cad2-1* 在不同錳濃度處理 8 天後之生長情形。(A)外觀型態的觀察，(B)根長，(C)鮮重。

圖九為阿拉伯芥 col-0、*cad1-3* 與 *cad2-1* 分別在 1/2MS 培養基中種植七天後，再移到 250、500 μ M 錳處理培養基中生長之情形，(B)、(C)分別為阿拉伯芥 col-0、*cad1-3* 與 *cad2-1* 在不同濃度下的根長及鮮重。由上述結果得知在不同濃度錳處理下 col-0、*cad1-3* 與 *cad2-1* 的毒害趨勢並沒有顯著差異。由此可推測當阿拉伯芥面臨錳逆境，穀胱苷肽與金屬螯合素應不是主要的抗氧化機制。

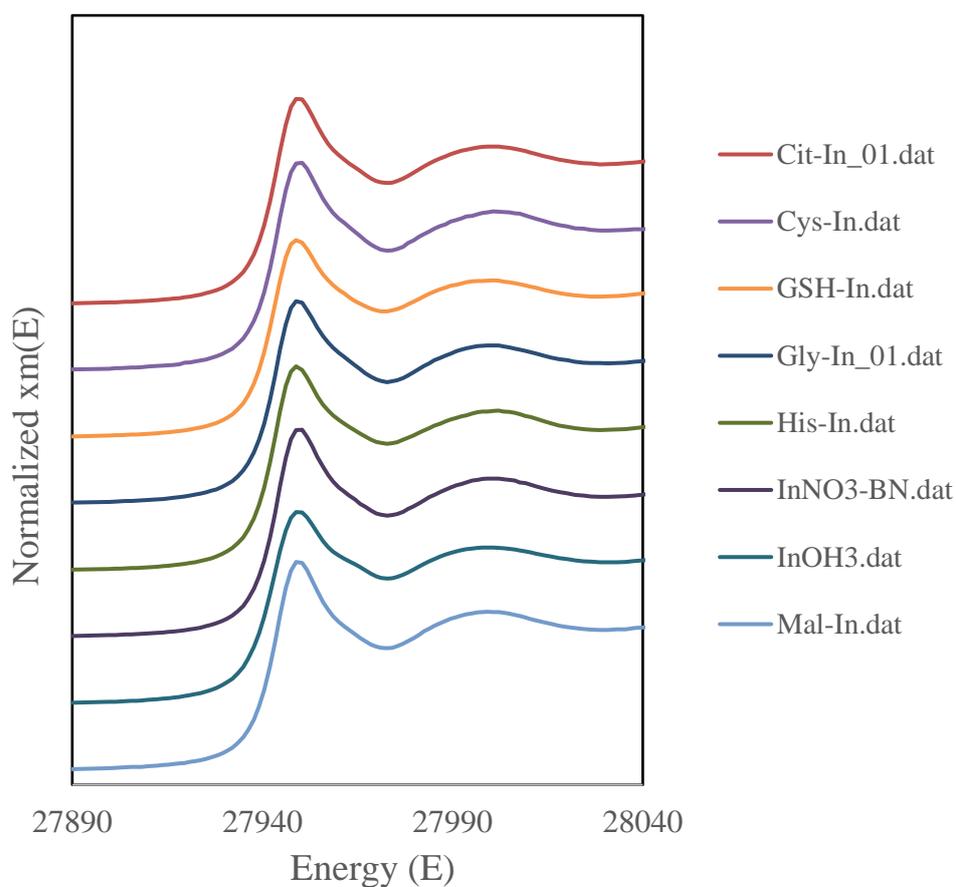
(二) 檢測阿拉伯芥 *col-0*、*cad1-3* 與 *cad2-1* 為正確基因缺失之突變株



圖十、阿拉伯芥 *col-0*、*cad1-3* 與 *cad2-1* 在不同鎘濃度處理下之生長情形。(A)外觀型態的觀察，(B)根長，(C)鮮重。

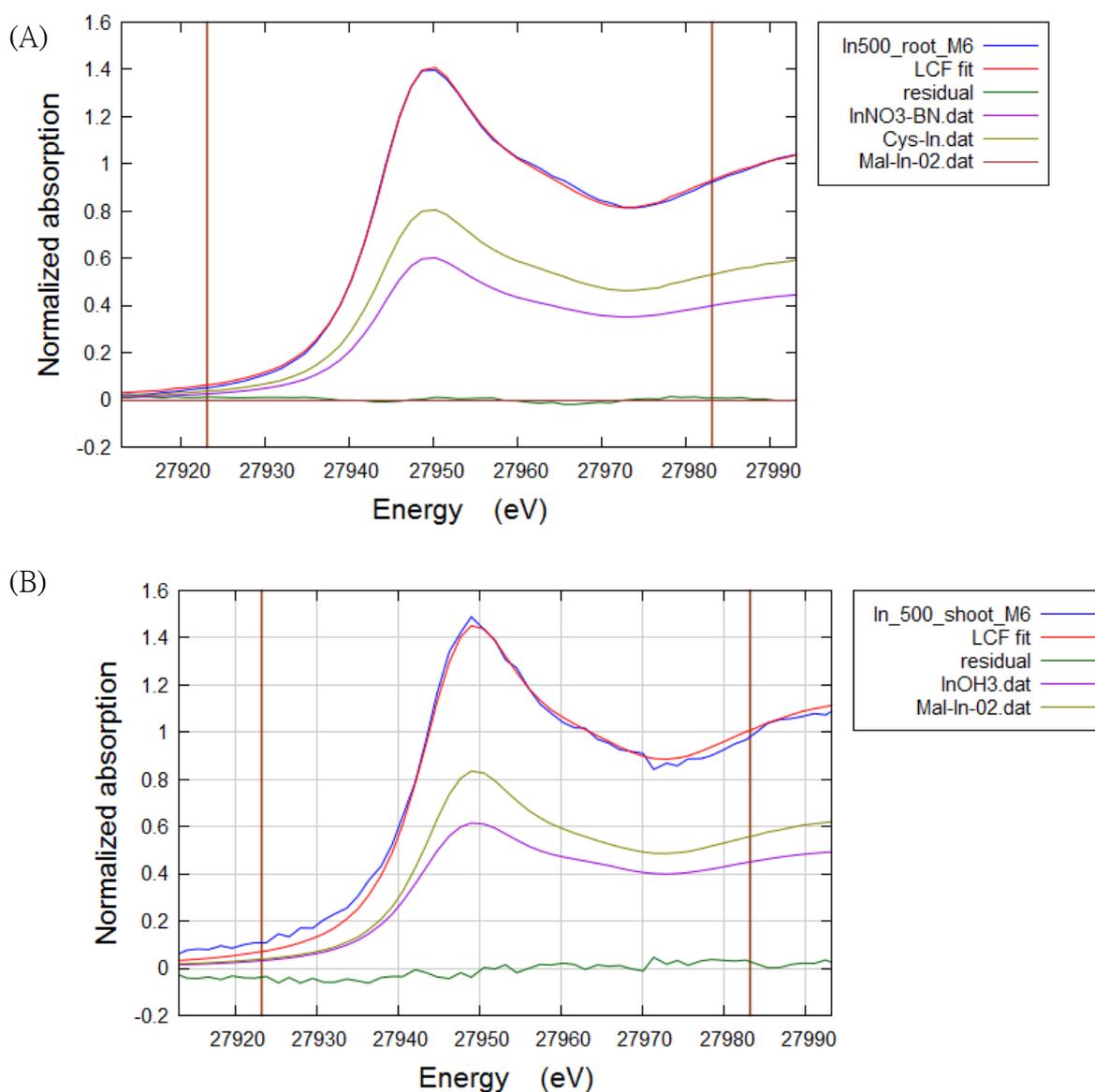
為檢測 *cad1-3*、*cad2-1* 為正確基因缺失之突變株，我們會將 *col-0*、*cad1-3* 與 *cad2-1* 進行鎘處理。由前人文獻可知當植物面臨鎘逆境時，穀胱苷肽與金屬整合素為植物主要的抗氧化的防禦機制 (Cobbett, 2000)，圖十為阿拉伯芥 (*col-0*、*cad1-3* 與 *cad2-1*) 移至含鎘濃度 5 μ M、25 μ M 培養基中生長之情形。由圖中可看出在鎘處理下的，突變株 *cad1-3*、*cad2-1* 有較明顯的毒害表現。

六、銦物種分析 - X 光吸收近邊緣結構分析



圖十一、X 光吸收光譜之銦標準品

由於不同銦化學物種（舉例來說，銦與其他化合物發生物理性的吸附、或是化學性的鍵結），皆會在 X 光吸收光譜中具有獨特的特徵，因此可以藉由吸收光譜的分析技術將樣品進行不同銦物種的鑑定。而在進行分析前確認不同的化學物種標準品具有可分辨的光譜特徵是十分重要的。圖十一中為本研究中所採用的所有標準之 XANES 吸收光譜圖，所有標準品在光子能量 27940 eV 的位置會有一明顯的吸收波（近邊緣峰）存在。



圖十二、500 μM 銻處理下 X 光吸收光譜之 LCF 擬合結果：(A) 根部 (B) 葉片

表二、500 μM 銻處理下 X 光吸收光譜之 LCF 擬合結果

In treatments	Sample	No. of standard compounds	Proportion of the standards in the sample (%)				R factor ($\times 10^{-3}$) [†]
			In-cysteine	InNO ₃ -cellulose	In-Malate	InOH ₃	
500 μM	root	2	57.3 (0.2)	42.9 (0.2)			0.538
	shoot	2			59.2 (0.1)	47.3(0.1)	1.200

[†] The R factor is generated by the Athena software for evaluating the goodness of a fit. The lower the values the better fit.

樣品中所含有的不同的銻物種所貢獻出來的 XANES 光譜，與標準品圖譜中的特徵會是相似的。因此可以借由線性疊加擬合 (linear combination fitting, LCF) 如圖十二，來進一步的對不同金屬物種進行半定量。由於本研究中用於 LCF 之標準品為有其數量上之限制，其表示銻於植體中的可能存在之化學物種，並無法涵蓋真正樣品中之所有化學型態。因此 LCF 之分析結果僅能代表一近似結果，並做為輔助其他分析結果之參考數據。本次實驗所準備的標準品為：In-glycine, In-histidine, In-cysteine, In-GSH, In-citrate, In-malate, In-cellulose 以及 In(OH)。

由線性疊加擬合之結果顯示 (圖十二及表二)，於根部有 42.9% 的銻是以吸附於纖維素 (In-cellulose，纖維素為模擬細胞壁之替代材料) 的形式存在，顯示大部分在根部的銻會吸附在細胞壁上，此外，有 57.3% 銻會與半胱胺酸 (In-cysteine) 發生鍵結，由此推測，銻進入根部之後會與含硫的胺基酸 (即半胱胺酸) 結合，形成低分子量的有機金屬化合物，有別於利用多肽小分子 (例如：金屬螯合素) 和金屬離子結合成無毒害的螯合物，這可視為另一種植物對重金屬所採取「隔離」策略的方式。

比較根部以及地上部，銻物種有明顯組成上的差異。地上部中有 59.2% 的銻會與蘋果酸 (In-Malate，小分子有機酸) 結合，由此可知銻在根部往地上部傳輸的過程中，銻會與小分子有機酸錯合的形式，進行運輸。另外，有 47.3% 是以氫氧化物沈澱的方式存在 (In(OH))，這是一個非常有趣的結果，銻在地上部中，可能形成氫氧化銻的沈澱，沈澱在液泡、細胞間隙或是細胞壁上，又沈澱態對生物細胞來說是不具有生物有效性的 (bioavailability)，這可視為植物紓緩銻逆境的機制之一，或許也可以進一步說明銻對地上部的生長發育之情形，幾乎沒有造成影響的原因，就如同銻暴露條件以及外觀型態的觀察實驗結果中，圖一的生長圖顯示，植株的地下部跟隨著銻濃度的提高，而產生抑制生長現象，但地上部的莖與葉影響卻不明顯。

肆、結論與應用

本篇研究，是第一個以阿拉伯芥作為模式植物，探討新興污染物鎳對於植物生理以及分子層面所造成之影響。結果顯示

- 一、當鎳濃度為 250 μM ，開始出現根生長受阻的現象，其表示當環境中出現鎳時，會對植物造成氧化壓力。而當鎳濃度為 500 μM 時，阿拉伯芥之 MDA 含量明顯提高，毒害情形也較為顯著。
- 二、植體分析結果顯示，阿拉伯芥會吸收鎳，且其能在植體內被運輸，但大部分累積在根部。此外，暴露在鎳環境下，會影響阿拉伯芥對錳、鉀、鈉、磷、鐵、錳、銅以及鋅的吸收。
- 三、一般而言，植物對重金屬逆境的抗性與「穀胱苷肽」及「金屬螯合素」的表現與有關。然而，在與突變株的比較實驗中發現，當阿拉伯芥面臨鎳逆境時穀胱苷肽與金屬螯合素應該不是對於鎳的主要抗氧化機制。
- 四、X 光吸收近邊緣結構分析方法對進行植物體內鎳物種的測定中發現，根部以地上部中鎳物種有明顯組成上的差異。根部中的鎳分別以 57.3% 是與半胱胺酸 (In-cysteine) 發生鍵結型態，42.9% 以吸附於纖維素 (In-cellulose) 的形式存在。地上部中的鎳則有 59.2% 會與蘋果酸 (In-Malate，小分子有機酸) 結合態，47.3% 是以氫氧化物沈澱態 (In(OH)₃) 的方式存在。

由於新興污染物污染在大多數的工業國家中都必須面對的一潛在環境議題，因此鎳對於植物的影響之相關研究是必要的課題之一。本篇研究的結果可以在未來提供政府相關單位參考，並在訂定污水排放標準或底泥管制標準中做為指標。但對於鎳誘導植物的反應，仍有需要做更進一步的探討地方，如根分泌物在鎳逆境中所扮演的角色等相關研究。

伍、參考資料

一、網路網站參考資料

1. 梁錦華(2001)。21世紀醫學新思維——功能醫學。檢自：
<http://www.tma.tw/ltk/90440509.htm>。
2. 中央通訊社(2012)。探討阿拉伯芥屬 國內外知名學者齊聚成大。檢自：
<http://news.secr.ncku.edu.tw/files/16-1054-98104.php?Lang=zh-tw>
3. 林靜芳。銻。檢自：http://nehrc.nhri.org.tw/toxic/toxfaq_detail.php?id=200
4. 黃詩婷，江慧玉老師(2014)。氧化銻錫。檢自：
<http://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=57910>
5. 陳熾先，陳律言。台灣地區高科技業銻之物質流分析。檢自：
<http://www.ctci.org.tw/public/Attachment/1691556571.pdf>
6. 馬英仁。金屬銻、玻璃和人體健康——從一位年輕人嚴重的銻中毒事件說起。檢自：<http://119.78.242.243:8080/kexie/news.asp?id=383>

二、期刊文獻

1. 葉顥銘、陳少燕、黃定鼎、黃浩仁 (2004)。清理重金屬汙染的植物。科學發展雜誌，第 380 期，45~49 頁
2. 傅崇德，邱惠敏。銻資源之回收再利用技術及資源替代性之介紹。環保簡訊，第 18 期。
3. Ball L., Accotto G.-P., Bechtold U., Creissen G., Funck D., Jimenez A., Kular B., Leyland N., Mejia-Carranza J. & Reynolds H. (2004) Evidence for a direct link between glutathione biosynthesis and stress defense gene expression in Arabidopsis. *The Plant Cell*, **16**, 2448-2462.
4. Benavides M.P., Gallego S.M. & Tomaro M.L. (2005) Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, **17**, 21-34.

5. Cobbett C.S. (2000) Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant physiology*, **123**, 825-832.
6. Ha S.-B., Smith A.P., Howden R., Dietrich W.M., Bugg S., O'Connell M.J., Goldsbrough P.B. & Cobbett C.S. (1999) Phytochelatin synthase genes from Arabidopsis and the yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *The Plant Cell*, **11**, 1153-1163.
7. Lin K.-H., Lo H.-F., Lin C.-H. & Chan M.-T. (2007) Cloning and expression analysis of ascorbate peroxidase gene from eggplant under flooding stress. *Bot Stud*, **48**, 25-34.
8. Newville M (2001) IFEFFIT: interactive XAFS analysis and FEFF fitting. *Journal of Synchrotron Radiation* **8**: 322-324
9. Ouariti O., Boussama N., Zarrouk M., Cherif A. & Ghorbal M.H. (1997) Cadmium-and copper-induced changes in tomato membrane lipids. *Phytochemistry*, **45**, 1343-1350.
10. Shah K., Kumar R.G., Verma S. & Dubey R. (2001) Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Science*, **161**, 1135-1144.

三、論文文獻

1. 簡柏勛(2015)。新興污染物鎘和銻對水耕栽培水稻生長之影響。台灣大學農業化學研究所，臺北市。

【評語】 060020

環境污染是一個重要的問題，本作品探討新興污染物銻對植物的影響，銻是因 3C 產品而衍生出來的污染研究主題和研究內容都很有創意，利用多項新穎的技術來瞭解銻對植物的影響及植物能採取的防禦機制，學生對研究主題有相當的瞭解。