

矿区不同重金属污染梯度下芒草叶绿体及其它超微结构的变化^{*}

李勤奋¹, 彭少麟^{2 3}, 徐信兰³, 李志安³, 王峥嵘³
(1 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南 儋州 571735;
2 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275;
3 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650)

摘 要: 植物超微结构是反映环境状况的敏感指标, 大量被用于重金属污染的毒性实验与其它环境胁迫的研究中。但对长期在重金属污染环境中的植物超微结构的研究还很少见。在金属矿区自然形成的不同重金属污染梯度的环境背景下, 选择在遗传上对环境胁迫比较敏感的芒草 *Miscanthus sinensis* 为研究对象, 探讨经历不同强度胁迫的芒草在叶片超微结构上的变化。结果表明: 重金属污染促使叶片的维管束鞘相对发达; 重度污染下的叶绿体冬季解体提前, 叶绿体淀粉粒的积累量对不同重金属污染浓度的反应表现出不同机制; 高重金属污染下的细胞壁内沉淀了大量的黑色物质, 推测是重度胁迫下诱导产生的次生代谢物质。

关键词: 芒草; 超微结构; 金属矿区

中图分类号: X 503 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579 (2006) 06-0079-04

植物的超微结构对环境胁迫比较敏感, 常被作为植物耐性在表观水平上的一个评价指标^[1-2]。研究表明, 植物经过对环境的长期适应, 表观水平上的变异也可以遗传^[3]。但目前对植物细胞超微结构的研究多是通过人工设置胁迫梯度来观察植物的耐性状况, 对自然状态下不同环境梯度中生长的植物的研究较少, 尤其是长期在重金属污染环境下生长植物的超微结构的研究极少。五节芒 *Miscanthus floridulus* 在遗传水平上对环境胁迫比较敏感^[4], 在对金属矿区芒草的遗传多样性研究中同样发现其重金属胁迫的敏感特性。本试验立足于金属矿区自然形成的重金属污染梯度环境背景, 选择芒草 *Miscanthus sinensis* 为研究材料材料, 尝试从超微结构层次上探讨芒草自然种群在不同重金属污染梯度下的适应性分化, 为重金属对该种生理生化及遗传水平上的影响提供细胞学上的证据。

1 样地背景与试验方法

1.1 样地背景

本研究选择的广东省大宝山矿位于东经 111° 55' ~ 114° 45', 北纬 23° 50' ~ 25° 31', 是 20 世纪 60 年代末 70 年代初建成的省属大型多金属综合冶金矿山基地, 开采方式以露天开采为主。长期以来由

于矿山技术力量不够、资金短缺、管理不善, 大宝山矿区及其周边地区都受到重金属的严重污染, 矿区植被破坏殆尽, 只在未直接剥离的地段形成稀树灌草丛, 已经开采过相对稳定的地段形成单一的芒草群落。

经过对本底调查后得知, 该矿区土壤中构成主要污染的有 4 种重金属, 分别是 Pb、Zn、Cd、Cu。本研究中选择矿区受不同程度污染、不同时间建成的 4 个芒草群落, 以距离矿区 15 公里无污染芒草种群作为对照, 对比研究不同种群超微结构的变化, 具体采样地土壤重金属污染强度及受污染时间见表 1。

其中表 1 里, 各样地的顺序号按照土壤中 4 种重金属含量由低到高排列, V 号样地中 4 种重金属基本都达到最大值。

1.2 样品采集与处理

分别于 2002 年 11 月 1 日与 2003 年 7 月 20 日上午取样, 做不同季节的对比, 排除季节变化对实验材料的影响。

将采集的样品用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.5) 冲洗, w = 1% 锇酸于 4 °C 下固定, 丙酮系列脱水, Epon812 包埋, IKB 超薄切片机切片, 经醋酸双氧铀 - 柠檬酸铅双重染色, JEM - 1010 型

^{*} 收稿日期: 2006-01-20
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30170191); 广东省自然科学基金资助项目 (003031、20000976); 华南植物研究所创新基金资助项目; 中国热带农业科学院科技基金资助项目 (iky 0415)
作者简介: 李勤奋 (1974 年生), 女, 博士, 副研究员, 通讯联系人: 彭少麟, E-mail: lssps@zsu.edu.cn
(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

透射电镜观察、拍照。

表 1 各样地土壤主要重金属元素质量分数及受污染时间 ($P<0.05$)
Tab. 1 Heavy metal content in the soil of 6 stands and the time polluted ($P<0.05$)

		样地				
		I	II	III	IV	V
污染时间 /a	0	25	30	10	20	
重金属元素 (mg/kg)	w(Cu)	13.67 ^a	283.23 ^b	498.67 ^c	756.67 ^d	709.16 ^d
	w(Zn)	181.33 ^a	252.67 ^a	820.00 ^b	769.67 ^b	1326.33 ^c
	w(Pb)	42.83 ^a	347.10 ^b	616.67 ^c	874.00 ^d	2845.36 ^c
	w(Cd)	0.163 ^a	0.298 ^a	0.47 ^b	0.69 ^c	1.03 ^d

2 结果与讨论

2.1 维管束鞘

重金属浓度最高的 V 号样地芒草的鞘细胞壁厚、腔小，排列紧密（见图 1：V-1）。其它样地的维管束鞘细胞大、壁相对较薄，因此胞腔也大于 V 样地。有研究表明^[5]，发达的维管束有利于保护近维管束的光合组织不受低温或缺水引起的损伤。尽管没有直接的证据表明植物的这种结构在抵抗重金属毒害中的作用，但 V 号样地高浓度的土壤重金属无疑是导致其结构变化的一个主要驱动因子，从这一点看该样地芒草维管束鞘的这种变化有其重要的对重金属环境适应的意义。

2.2 叶绿体

2.2.1 叶绿体形状 各样地芒草的超微结构中，叶绿体中发生的变化最大。在形态方面，夏季 V 号样地维管束鞘细胞叶绿体为梭形或近纺锤形（图 1：V-2），而其它样地的叶绿多为椭圆形，有的因积累的淀粉粒多而膨胀为圆形。冬季 II 号样地维管束鞘细胞叶绿体有的以长条形状并列形式排列在细胞中（图 1：II-1），有的是椭圆形分布在细胞边缘；I 号对照样地鞘细胞叶绿体为椭圆形，其它样地鞘细胞叶绿体膨胀都比较严重，而 I 号样地鞘外薄壁细胞叶绿体为梭形（图 1：I-1），明显区别于矿区所有样地中的椭圆形。

在人工控制的重金属毒性实验中，在高浓度重金属梯度下，植物叶绿体会发生膨胀^[1-2]。但这两种膨胀现象有本质的区别，前者是植物对环境长期适应的结果，更多地理解为植物的适应性反应，包括叶绿体淀粉粒增加对形状造成的影响，后者是植物对重金属毒害的现时反应，是植物的一种受害症状。但本研究中的膨胀现象是由毒性反应在遗传上固定而来还是只是由生理代谢水平改变引起的，从目前的研究还不得以知之。另外，II 号样地出现的明显的变异，很可能是由于该样地芒草受到长期的

粉尘污染引起的，即不同的污染方式可能会引起叶绿体变化的差异。

2.2.2 叶绿体结构 对鞘外薄壁细胞，I 号样地叶绿体基粒明显少于矿区样地，说明矿区样地的光合强度整体要高于未受污染的对照样地，这可能是矿区芒草通过增加光合强度来降低重金属胁迫给生长带来的负面效应。但 V 号样地叶绿体冬季明显开始解体（图 1：V-4），其它样地未见这种现象，说明这一样地芒草冬季生活力下降，有可能通过缩短当年的生活期来适应低温，这一猜测还有待于生理及其他指标的进一步证实。

2.2.3 叶绿体淀粉粒 各样地细胞叶绿体淀粉粒存在明显差异。不同梯度的样地之间比较，冬季 V 号样地最少（图 1：V-2），I、II 居中（图 1：II-2），III、IV 最多（图 1：III-1、IV-1）。虽然还没见到对长期在重金属胁迫下的植物叶绿体淀粉粒的研究，但从本研究中推测，从轻污染到中度污染再到重度污染，叶绿体淀粉粒的积累量与重金属浓度之间不是线性关系，而是在污染的不同程度范围内表现出不同的反应机制。在污染的中低浓度范围内，重金属对芒草的光合系统的激活作用占优势，生成的光合产物大于代谢消耗，从而以淀粉粒形式储存下来；当污染浓度超过这个范围，重金属对芒草胁迫的负面效应占优势，用于抵抗胁迫的支出会逐渐增大，结余的光合产物减少，储存的淀粉粒相应减少。

淀粉是细胞的重要的能源之一，在植物抗寒^[6]、抗盐胁迫^[7]中都发挥着重要的作用。矿区芒草冬季积累淀粉粒的增加可能对其耐重金属甚至抗寒特性有积极的生理作用。段昌群^[8]提出的生物适应污染环境代价观点认为，生物在一定的环境条件下所能利用的能量和资源是有限的，当对付环境的物质和能量消耗过大时，其生长发育的程度和速度就降低，同时可能伴随对温度、水分、病虫害的抵抗能力的降低。本研究中重度污染的 V 号样

地冬季叶绿体淀粉粒积余较其它样地少，很可能这一样地的芒草种群对低温的抵抗能力较其它样地低，这两样地芒草叶绿体较早出现分解现象也证实了这一点。

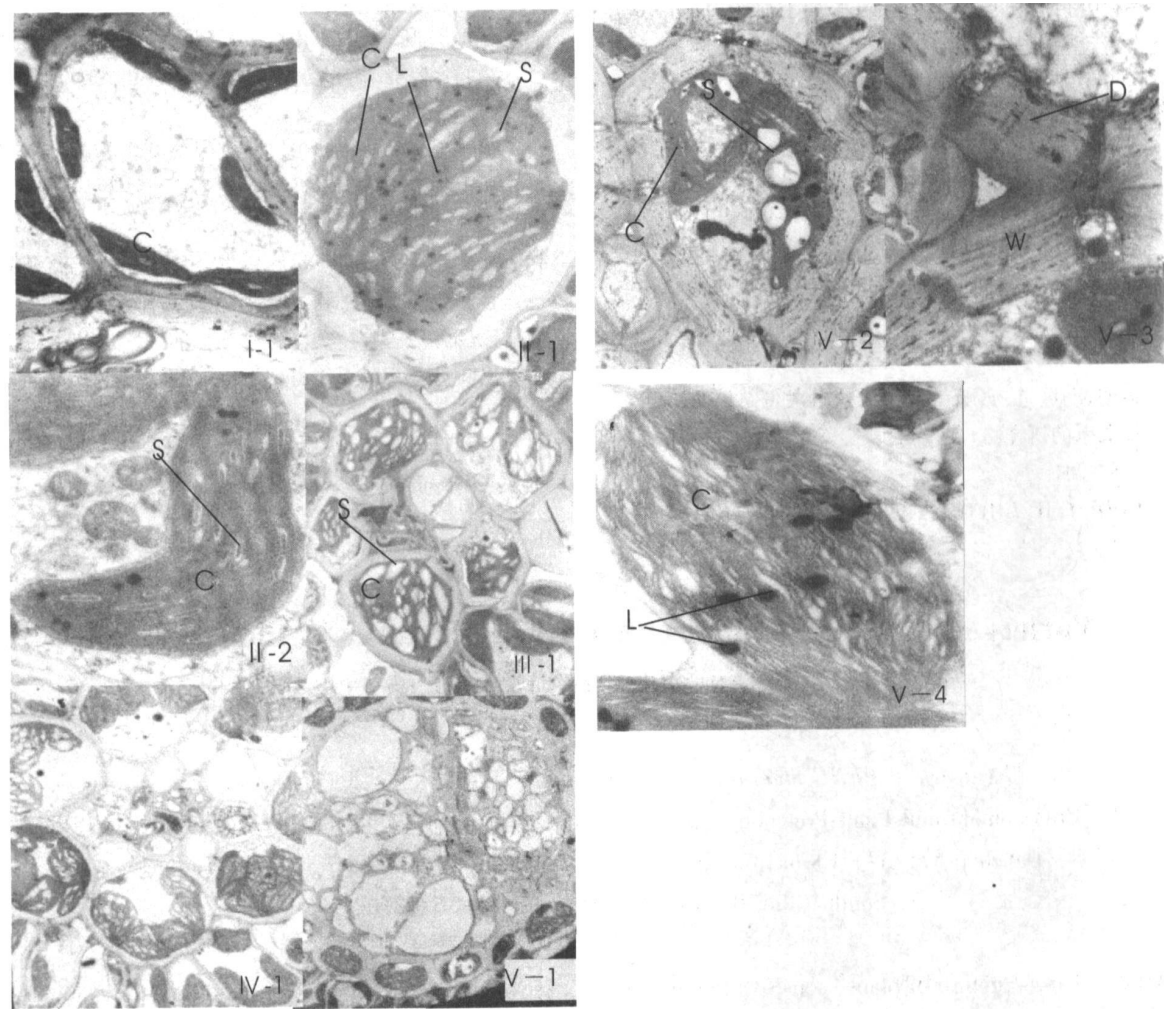


图 1 叶片超微结构观察

Fig.1 Ultrastructural observation on leaves of *Miscanthus sinensis*

I 对照，叶片细胞超微结构；II 矿区轻度污染（粉尘污染）叶片细胞超微结构；II-1：冬季维管束鞘细胞条带状叶绿体；II-2 冬季维管束鞘细胞叶绿体淀粉粒；III 中等强度污染：维管束鞘细胞叶绿体含多淀粉粒；IV：中强度污染：维管束鞘细胞；V：重度污染；V-1：维管束鞘；V-2 夏季维管束鞘细胞梭形叶绿体；V-3 维管束鞘细胞壁内黑色沉淀；V-4 冬季叶绿体解体
S—叶绿体淀粉粒，G—叶绿体基粒，C—叶绿体，L—脂肪油滴，W—细胞壁，D—沉淀物

2.3 细胞壁沉淀物

观察各样地芒草叶片细胞壁时发现，重金属质量分数最高的 V 号样地中细胞壁内沉淀了大量的黑色物质（图 1：V-3），其它样地均没有如此明显的沉淀。将重金属沉淀到细胞壁是植物耐重金属毒性的一种机制^[9]。对植物的这种耐性机理的研究一般采取的是 X—射线能谱微区分析法。本研究中采用透射电镜进行观察，因此推测这些黑色沉淀是芒草在重度重金属胁迫下产生的次生代谢物质。

3 小 结

通过对不同污染梯度上芒草叶片超微结构的观

察，发现如下主要结果：

- (1) 重金属污染最严重的 V 号样地叶片的维管束鞘比其它样地发达，鞘细胞排列紧密，可能是长期在重度胁迫下的芒草发育了适应重金属毒性的耐性结构。
- (2) 各样地芒草在叶绿体分别在形态、结构、淀粉粒积累量方面表现出明显的差异，受重度污染胁迫的芒草变化最大。另外，受到粉尘污染的芒草叶绿体在形态方面也发生了最明显的变化，可能是不同的污染途径对芒草的作用结果不同。
- (3) 重金属质量分数最高的 V 号样地细胞壁内沉淀了大量的黑色物质，推测是这两样地的芒草

在重度胁迫下产生的次生代谢物质。

总体上从本研究的结果可以得出长时间受重度重金属胁迫的芒草在超微结构水平上会发生明显的分化。

参考文献:

- [1] 施国新, 杜开和, 解凯彬, 等. Hg^{2+} 污染对莼菜冬芽幼叶细胞超微结构伤害的研究 [J]. 云南植物研究, 2000 22(4): 456-460.
- [3] 徐勤松, 施国新, 杜开和. 六价铬污染对水车前叶片生理生化及细胞超微结构的影响 [J]. 广西植物, 2002 22(1): 92-96.
- [4] 孟丽, 冯振莹, 张顺英, 等. 沙棘根次生结构与生态习性关系的研究 [J]. 河南农业大学学报, 1994 28(3): 278-281.
- [5] CHOU C H, CHEN Y Y. Population study of *Miscanthus*

floridulus III. Population variation of *M. floridulus* in green and orchid Islets of Taiwan [J]. Bot Bull Academia Sinica 1990 31: 223-233.

- [6] 李军超, 陈一鹏, 康博文, 等. 宁夏盐池县草原常见植物同化枝解剖结构观察 [J]. 1989 西北植物学报, 9: 191-196.
- [7] 董丽, 路艳红, 黄亦工, 等. 常绿阔叶植物越冬期间叶片水分及淀粉粒的动态变化 [J]. 北京林业大学学报, 2002 23(5-6): 76-81.
- [8] 郑文菊, 张承烈. 盐生和中生环境中宁枸杞叶显微和超微结构的研究 [J]. 草业学报, 1998 7(3): 72-76.
- [9] 段昌群, 王焕校. 重金属对蚕豆的细胞遗传学毒理作用和对蚕豆根尖微核技术的探讨 [J]. 植物学报, 1995 37(1): 14-24.
- [10] 杨居荣, 黄翌. 植物对重金属的耐性机理 [J]. 生态学杂志, 1994 13(6): 20-26.

Variety of Chloroplast and Other Ultrastructures in the Leaves of *Miscanthus sinensis* in Mining Area

LI Qir-fen¹, PENG Shao-lin^{2,3}, XU Xin-lan³, LI Zhi-an³, WANG Zheng-feng³

(1. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737, China; 2. Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 3. South China Botany Garden, Guangzhou 510650, China)

Abstract Ultrastructure of plant sensitive to environment is widely used in controlled experiment to evaluate endurance of plant species or variety to environment stress. But it is rarely used in field researches. *Miscanthus sinensis* was proved to be sensitive to environment on genetic level. In this research, 5 populations growing in mining area polluted with different heavy metal gradients and one unpolluted population outside were studied. Obvious variety was observed in the ultrastructure of *M. sinensis* leaves in different heavy metal grads, mainly including the structure of vascular bundle, the shape and structure of chloroplast in bundle cells, the number of starch *et al*.

Key words *Miscanthus sinensis*; ultrastructure; mining area