

Cd、Cu 对长喙田菁 *Sesbania rostrata* 各器官亚显微结构的影响*

陈富华¹, 郑 耘², 郑政伟¹, 杨中艺¹

(1. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275; 2. 深圳出入境检验检疫局, 广东 深圳 518001)

摘 要: 研究了重金属镉和铜处理了 6 d 的长喙田菁根和叶细胞亚显微结构的变化。结果表明, 无论是镉还是铜的处理, 亚显微结构的变化均相似, 而且植株外观形态变化与亚显微结构的变化相吻合。通过实验可看到, $0.10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 是镉和铜处理长喙田菁的临界浓度。而细胞中已破坏的细胞器和未被破坏的细胞器的共存表明, 长喙田菁细胞中存在对镉和铜的耐性机理, 使植物在镉和铜的处理下仍能生长。

关键词: Cd; Cu; 长喙田菁 *Sesbania rostrata*; 亚显微结构

中图分类号: X173 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2005) 04-0107-04

重金属中一些元素是植物生长所必需的微量元素, 如 Cu、Fe、Mn、Zn 等。但当土壤中这些元素的含量超过一定范围时, 对植物就会造成毒害作用, 严重时会导致植株死亡。而另一些重金属如 Cd、Hg、Pb、Cr 等并非植物生长发育必需的元素, 且具有较强的毒性, 即使微量也会对植物造成伤害。近几年所研究的重金属对植物的毒害主要集中于植物生理生化方面^[1,2], 而对植物在重金属胁迫下, 其细胞亚显微结构变化方面的研究相对较少^[3,4]。本文以长喙田菁 *Sesbania rostrata* 为材料, 观察了分别在不同浓度的 Cd 和 Cu 胁迫下, 其根、叶细胞的亚显微结构的变化, 为探讨重金属对长喙田菁的毒害方式及植物的耐性机理提供依据。

1 材料和方法

1.1 材 料

长喙田菁种子于 1991 年从日本引进, 并在广州经两代繁殖。

1.2 试验方法

1.2.1 材料培养 将长喙田菁种子用 $\varphi = 70\%$ 的酒精和 w 为 $1\% \sim 2\%$ NaClO_3 依次消毒后放在培养皿内发芽, 待子叶完全突破种皮后, 转移到含有 100 mL 的 1/10 Hoagland 营养液中培养 3 d, 然后再转移到 1/2 Hoagland 营养液中培养, 每 3 天换 1 次培养液, 转到 1/2 Hoagland 营养液 9 d 后用浓度分别为 $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的重金属 Cd (以 CdCl_2 的形式) 和 Cu (以 CuCl_2 的形式) 分别处理 6 d, 取样。

1.2.2 取样部位和方法 根取根尖 $1 \sim 2 \text{ mm}$, 叶片取第一片真叶, 去叶脉后, 将叶片切成 $1 \sim 2 \text{ mm}$ 。

1.2.3 样品制备 将所取的材料在 $\varphi = 2.5\%$ 戊二醛和 $\varphi = 1\%$ 的锇酸进行双固定, 乙醇系列脱水, Epon 812 树脂包埋, LKB-V 型切片机制切片, 醋酸铀和柠檬酸铅双染色后在 FEI-Tecni 12 型透射电镜下观察。

2 结果和分析

2.1 Cd、Cu 对长喙田菁根尖亚显微结构的影响

经 Cd 处理的长喙田菁根尖在低浓度 ($0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时外观与对照无差异, 但在中浓度 ($0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时根尖呈现黄褐色, 根长相对比对照短, 说明伸长生长已受阻, 高浓度 ($0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时可看到根尖呈现黄褐色甚至发黑, 根端变粗大, 生长缓慢甚至停滞。Cu 处理的根尖情况与 Cd 处理的相类似。

在电镜下观察, 低浓度的 Cd 对长喙田菁的根尖亚显微结构基本没有影响, 与对照 (图 1: 1) 的情况相似, 细胞壁完整, 线粒体正常; 中浓度时, 细胞表现出一些伤害, 主要表现在细胞核的核膜破损, 有内容物外流, 但线粒体表现正常 (图 1: 2); 经高浓度 Cd 胁迫的根尖显微结构伤害严重, 细胞核质凝集 (图 1: 3), 甚至基本丧失细胞

* 收稿日期: 2004-07-26

基金项目: 国家自然科学基金 (30070126, 30270262)、国家“863”计划 (2001AA645010) 和广东省重点自然科学基金资助项目

作者简介: 陈富华 (1975 年生), 博士生; 通讯联系人: 杨中艺; E-mail: adszy@zsu.edu.cn

内含物(图1:4),细胞壁变,且细胞壁上有黑色颗粒沉淀。

经Cu胁迫的长喙田菁的根尖,在 $0.05\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度时细胞已出现质壁分离,少数细胞的质膜破损,线粒体脊突肿胀,同时细胞核的双层膜也因肿胀而变得模糊,但大多数细胞无明显变化;在 $0.10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的胁迫浓度时,细胞核略有空泡化的现象,多数线粒体已完全空泡化,前质体内被巨大的淀粉粒充斥(图1:5),同时胞质浓缩,质壁分离;高浓度时,线粒体内只有脊突残片,细胞核内呈现絮状(图1:6),细胞质膜破损,呈波状。

2.2 Cd、Cu对长喙田菁叶片亚显微结构的影响

对照叶片细胞中的叶绿体呈椭圆形,两端稍尖,被膜完整。基粒类囊体片层垛叠整齐紧密(图1:7),基质片层结构清晰,基粒片层与基质片层相连,排列整齐有序。细胞核内核质均匀,核膜完整(图1:8)。低浓度Cd胁迫的长喙田菁叶片基本没变化,只有极少数线粒体脊突稍有肿胀。中浓度Cd胁迫的叶片细胞中叶绿体膜虽存在,但已破损,不连续,基粒片层结构少数仍然完好,多数已溶成一片。线粒体脊突肿胀,而且多数线粒体的膜不连续,少数的膜已不见。高浓度Cd胁迫的大部分细胞叶绿体肿胀,形状发生变化,内含基粒溶成一片(图1:9),线粒体的膜已丧失,脊突数目减少(图1:10)。

随着Cu胁迫浓度的提高,叶片显微结构及各细胞器的结构变化越明显。低浓度时与对照相比没有变化,中浓度Cu胁迫的叶片中,叶绿体明显变小变少,但其膜及片层结构没有变化,细胞核及核膜也没有变化,只有少数线粒体开始发生空泡化,且脊突略有肿胀(图1:11)。经高浓度Cu胁迫的叶片细胞核膜不清楚,叶绿体肿胀成球圆形,而且叶绿体内的嗜锲颗粒数目明显增加,大部分基粒片层结构溶成团状(图1:12);少数线粒体的脊突丧失,呈空泡化,但大部分只发生脊突肿胀。

3 讨论

3.1 重金属对叶绿体的影响

重金属对植物毒害作用表现上表现为叶片褪绿。本实验中观察到,当低浓度Cd和Cu胁迫时,叶片伸展,无变化;但中浓度($0.10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)时的叶片开始出现少量黄色斑点,在高浓度($0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)Cd和Cu胁迫下则普遍发生叶片褪绿,呈黄色。

以往的研究发现,重金属引起叶片褪绿的原因

是重金属离子作用于支持光化学反应的结构,使合成叶绿素的酶失去骨架而不能正常有效地发挥功能^[5]。叶绿体是光合作用的主要器官,光合作用的光化学过程主要是在基粒膜和基质膜上进行的,正常有序的排列方式提供了最大的光面积和最有效的光合效率^[6],基粒片层垛叠意味着捕获光能机构的高度密集,同时作为酶的排列支架,有利于形成一个长的代谢传送带,促进光能的吸收传递和转换^[6],其结构的破坏必定削弱植物光合作用的效率。有研究认为^[7],重金属对叶绿素破坏主要是破坏叶绿体的结构和功能活性,导致叶绿素含量降低。可见结构上的破坏是重金属离子对植物的毒害机制之一。本研究在Cd和Cu胁迫浓度超过 $0.10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时观察到叶绿体结构的破坏,基粒溶成一片,基质片层排列混乱。Cu的破坏作用更甚于Cd。且结构的破坏是与植株外部形态的表现一致。中浓度($0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的Cd和Cu处理时叶绿体受到一定程度的破坏,但仍有部分叶绿体的结构完好,可以进行正常的光合作用,所以该浓度下的叶片只表现出少量的黄色斑块,高浓度($0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的Cd和Cu处理下叶绿体的结构基本全部被破坏,光合电子传递链的附着骨架不复存在,因此光合作用不能再正常进行,叶片完全变黄。至于在该浓度下为何仍有不少的叶绿体未受到破坏,这是否涉及长喙田菁的重金属耐性机制,值得进一步深入探讨。

3.2 重金属对线粒体的影响

线粒体是细胞进行呼吸作用的场所,它含有多酶,其中三羧酸循环的酶系集中在线粒体的可溶性衬质中,而电子传递氧化磷酸化的酶系统在内膜上,因此是细胞内能量代谢中心。线粒体中的大部分蛋白质都来自细胞质,由于重金属离子毒害,线粒体脊因得不到足够的蛋白材料而破损或消失。因此,酶由于缺乏原料和失去依附的线粒体内膜而解散或消失,使依赖于ATP的呼吸机制发生障碍,导致线粒体肿胀^[8]。彭鸣等^[9]的研究认为,线粒体是比较敏感的细胞器,由于重金属胁迫破坏了体内抗氧化酶系统,从而破坏膜的通透性,线粒体脊突的膨胀和空泡化等,最终导致细胞呼吸作用减弱。前人研究认为空泡化会造成线粒体全部功能的丧失^[8,9]。从结构分析,脊突膨胀直接影响正常的呼吸功能,也是重金属离子对植物的一种毒害机制。本研究中观察到在Cd和Cu胁迫下,根尖和叶片中的线粒体外膜破坏以及脊突肿胀或消失,但Cd对线粒体的影响程度似乎比对叶绿体的影响要小一些,根尖线粒体在 $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下基本未受到

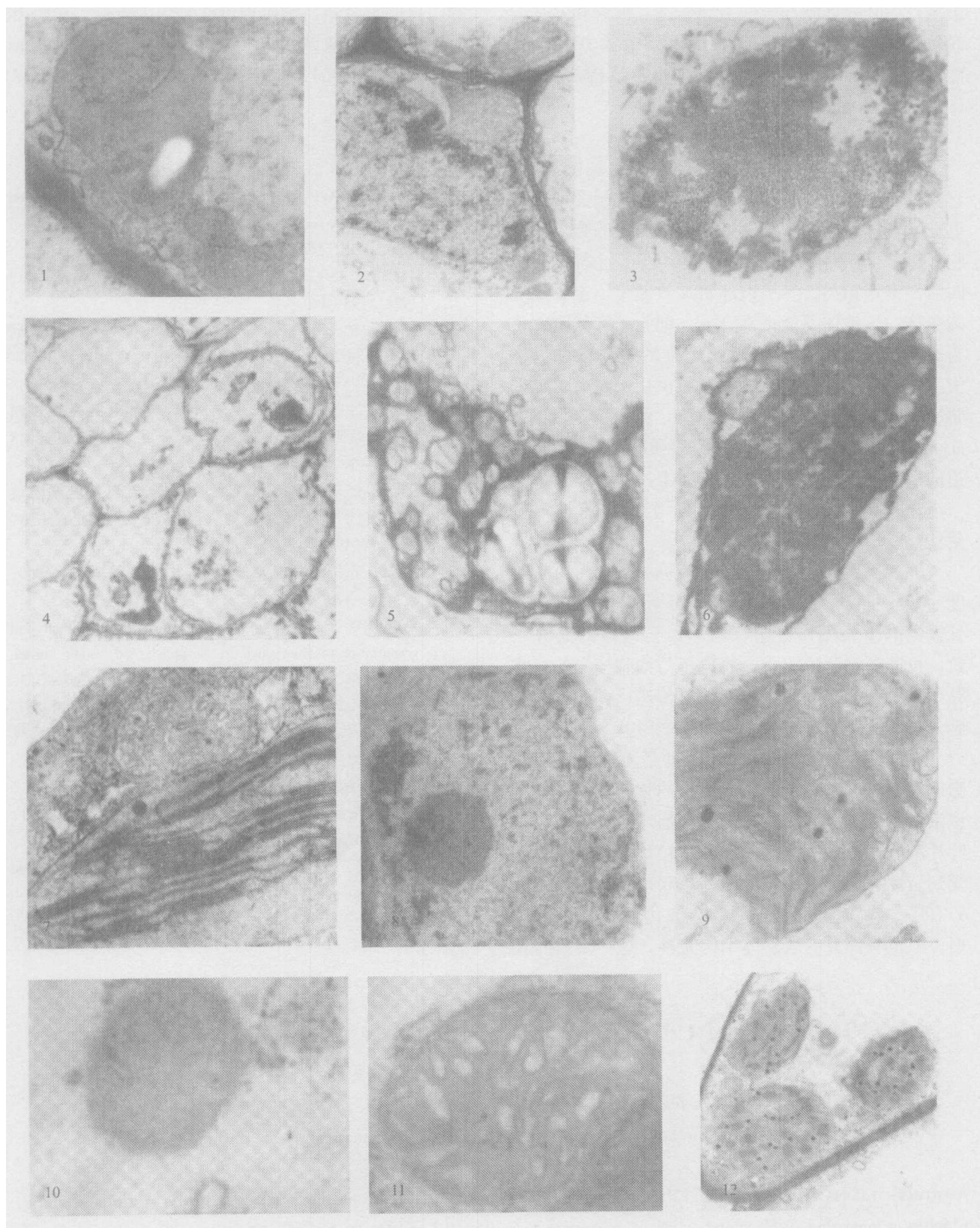


图1 Cd、Cu 对长喙田菁根尖、叶部亚显微结构的影响

Fig.1 The effects of Cd、Cu on ultrastructure of root tips and leaves of *Sesbania rostrata*

1~6 为根尖, 7~12 为叶部

- 1: CK ($\times 4500$); 2: 0.10 mmol/L ($\times 5400$); 3: 0.25 mmol/L Cd ($\times 11350$); 4: 0.25 mmol/L ($\times 2640$);
 5: 0.10 mmol/L Cu ($\times 8540$); 6: 0.25 mmol/L ($\times 10050$); 7: CK ($\times 12390$); 8: CK ($\times 5370$);
 9: 0.25 mmol/L Cd ($\times 9500$); 10: 0.25 mmol/L ($\times 26000$); 11: 0.10 mmol/L ($\times 26000$);
 12: 0.25 mmol/L Cu ($\times 3000$)

影响, 而叶绿体则部分地受到伤害。根尖和叶片的线粒体对 Cu 的反应比 Cd 更敏感, 在 $0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度时便可少量地观察到线粒体结构的变化; Cu 对叶绿体的影响程度则与 Cd 相似。

3.3 重金属对细胞核的影响

细胞核是遗传信息贮存、复制和表达的场所, 它控制着细胞的遗传和代谢活动。细胞核变形会严重影响正常基因的活动和细胞内蛋白质的合成及细胞分化^[10]。细胞核和核仁的结构状态与细胞的代谢活性密切相关, 其被破坏将导致遗传信息不能准确表达, 核糖体不能正常合成, 细胞正常代谢的主要成分缺失^[10], 最终影响细胞的生命活动。本实验中根尖的细胞核在中浓度 ($0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) Cd 胁迫时, 核膜破损, 内容物外流, 经高浓度 ($0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) Cd 胁迫的根尖细胞核质凝集, 经 Cu 胁迫的根尖, 在浓度为 $0.10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 细胞核有空泡化, 高浓度 ($0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时细胞核内呈絮状。

外观上, 在中浓度 ($0.10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和高浓度 ($0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 Cd 和 Cu 处理条件下观察到根尖的生长缓慢受阻, 与赵凤云^[6]等的研究一致, 可能是与胁迫时重金属离子与细胞核内的核酸等大分子结合, 阻碍了细胞信息传递, 因此根尖细胞分裂无法进行, 导致根尖生长受阻甚至停止。

总体而言, $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度是 Cd 和 Cu 对长喙田菁亚显微结构造成明显损伤的临界浓度, 但在该浓度条件下, 并非所有的细胞器均受到破坏, 如叶片细胞中叶绿体内的一部分基粒片层和基质片层受到破坏, 但仍有一部分的基粒和基质片层排列整齐有序, 线粒体有部分发生空泡化等结构上的破损, 但也有部分的线粒体结构完整, 这一现象与长

喙田菁的重金属耐性机理可能有很大关系, 在胁迫时间尺度上亚显微结构可能发生的变化 (因自我适应而发生的变化) 也令人关注, 这些问题均有待今后进一步探讨。

参考文献:

- [1] BAZZAZ F A, ROLFE G L, CARLSON R M. Effects of Cd on photosynthesis and transpiration of excised leaves of corn and sunflower[J]. *Physiol Plant*, 1974, 32: 372 - 376.
- [2] HAGHIRI F. Cadmium uptake by plants[J]. *Environ Qual*, 1973, 2: 93 - 96.
- [3] 施国新, 杜开和, 解凯彬, 等. 汞、镉污染对黑藻叶细胞伤害的超微结构研究[J]. *植物学报*, 2000, 42(4): 373 - 378.
- [4] 常学秀, 王焕校, 文传浩. Cd^{2+} 、 Al^{3+} 对蚕豆胚根根尖细胞遗传学毒性效应研究[J]. *农业环境保护*, 1999, 18(1): 1 - 3.
- [5] 徐勤松, 施国新, 杜开和. Hg^{2+} 对睡莲幼叶细胞超微结构的损伤[J]. *南京师范大学学报 (自然科学版)*, 2002, 25(1): 33 - 37.
- [6] 赵凤云. 铅锌对蒜根尖的毒害作用[J]. *河南科学*, 1999, 17: 116 - 120.
- [7] ALBERTE R S. Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in Mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize[J]. *Plant Physiol*, 1997, 59: 351 - 353.
- [8] 杨顶田, 施国新, 尤文鹏, 等. Cr^{6+} 污染对莼菜冬芽茎尖细胞超微结构的影响[J]. *南京师范大学学报 (自然科学版)*, 2000, 23(3): 91 - 95.
- [9] 彭鸣, 王焕校, 吴玉树. 镉、铅诱导的玉米 (*Zea mays* L.) 幼苗细胞超微结构的变化[J]. *中国环境科学*, 1991, 11(6): 426 - 431.
- [10] Van ASSCHE F, CLIJSTERS H. Effects of metal on enzyme activity in plants[J]. *Plant Cell Environ*, 1990, 13: 195 - 206.

The Effect of Cd and Cu on Ultrastructure of *Sesbania rostrata*

CHEN Fu-hua¹, ZHENG Yun², ZHENG Zheng-wei¹, YANG Zhong-yi¹

(School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Effects of heavy metals Cd and Cu on ultrastructures of root tip and leaf cell of *Sesbania rostrata* seedling, which was incubated in Hoagland solutions containing respective Cd and Cu for 6 days, were determined. It was seemed that the concentration $0.10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ was critical for what seedling of *S. rostrata* tolerates to both Cd and Cu. The coexistence of the damaged and undamaged organelles in the seedlings exposed to the concentration of Cd or Cu indicated that there were some mechanism, which help the seedlings tolerate to the toxicities from Cd and Cu, processed in *S. rostrata*, so that the seedlings could be kept to grow.

Key words: *Sesbania rostrata*, cadmium, copper, ultrastructure