

重金属 Pb^{2+} 对玉米苗叶片亚显微结构的影响

骆建敏¹, 侯江涛²

(1. 新疆大学 理化测试中心, 新疆 乌鲁木齐 830046; 2. 商丘学院, 河南 商丘 476000)

摘要:为了揭示植物响应重金属胁迫的机制, 试验以日本甜玉米为材料, 采用透射电镜观察硝酸铅溶液处理后玉米叶片叶肉细胞亚显微结构的变化。结果表明: Pb^{2+} 污染使玉米细胞核变形, 核仁解体; 叶绿体基粒片层结构紊乱以及消失, 类囊体肿胀, 部分叶绿体外膜解体; 线粒体嵴消失, 空泡化, 外膜消失; 细胞膜和细胞壁之间可見到许多沉积的深色颗粒。由于 Pb^{2+} 破坏了细胞正常生理活动所需的结构基础, 进而对植物造成不可逆伤害。

关键词:玉米; 亚显微结构; Pb^{2+}

中图分类号: S513 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2017)05-0039-03 DOI: 10.11942/j.issn1002-2767.2017.05.0039

由于人类长期对环境问题的忽视, 而引发了一系列的环境问题, 其中重金属污染已成为公害。直接或间接的重金属污染物在自然中沉积毒性很大、储蓄性强、难降解, 对人类健康具有潜在的危害性, 已成为世界范围的重要问题^[1-2]。目前在中国已有约 2 000 万 hm^2 的耕地受到了重金属的污染, 以 Pb、Hg、Cd、Cu 及其复合污染最为突出^[3]。

重金属 Pb 是一种具有柔和性的有毒物质, 是一种不可降解的环境污染物^[4]。Pb 对人体的毒害是积累性的, 通过食物链进入生物体内, 有 5%~10% 被人体吸收累积, 进而影响生物体正常生理代谢活动, 危害人体健康^[5]。当植物受重金属胁迫时, 其细胞超微结构改变是植物一系列生理活动异常的细胞学基础^[3], 其中研究最多的是

叶肉细胞中叶绿体、线粒体以及其它细胞器等^[6-8]。叶绿体和线粒体是植物光合作用和能量流动最为重要的细胞器, 并且叶绿体和线粒体对逆境胁迫比较敏感^[9]。因此研究植物受金属 Pb 毒害后细胞超微结构的变化, 对揭示植物响应重金属胁迫的机制有着重要意义^[6]。目前, 关于重金属 Pb^{2+} 对常规农作物影响的研究比较多, 但关于重金属 Pb 对日本甜玉米的研究还不多, 日本甜玉米粒黄白相间、甜度高、果皮薄、无渣、口感清甜等特点, 深受消费者欢迎。本试验以日本甜玉米为材料, 用 $200\ \mu g\cdot mL^{-1}$ 硝酸铅溶液处理, 研究重金属 Pb^{2+} 对叶片超微结构的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为日本甜玉米, 于 2016 年 6 月在新疆大学进行, 采用温室水培法, 室内温度为 $(25\pm 1)^{\circ}C$, 湿度均为 62%, 溶液 pH 为 6.4~6.5。

收稿日期: 2017-03-20
第一作者简介: 骆建敏(1959-), 女, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市人, 高级实验师, 从事电子显微镜制片工作。E-mail: 417759328@qq.com。

Effect of Different Initial Water Amount on Wheat Germination

DU You-ying

(Pratacultural Science Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: To find the optimum initial amount of water suitable for wheat germination, taking 50 mixed samples of wheat as test materials, BP germination test was set up six initial water amount: standard amount, 6, 8, 10, 12 and 14 mL. Effects of different initial water amount on germination rate, stability, germination speed were studied. The results showed that germination rate of standard amount was the best; 8 mL water amount had the best stability; 10 mL water amount had the fastest to germinate.

Keywords: wheat; water; germination

1.2 方法

取叶片中部的叶样,将叶片切成 0.1 mm^3 的小块,室温下快速放入4%戊二醛中固定,抽气直到材料下沉,固定24 h后用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH 7.2)冲洗3次,然后用1%的锇酸固定3 h, $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH 7.2)冲洗20 min。经过乙醇系列脱水,丙酮置换,Epon812环氧树脂包埋,LEICA ULTRACUT R型超薄切片机切片,经醋酸铀-柠檬酸铅双染后,在日立H-600透射电子显微镜下观察,拍照。

2 结果与分析

正常生长条件下日本甜玉米叶肉细胞细胞核超微呈球形,结构完整(见图1A)。叶绿体呈椭圆形,紧贴细胞壁,呈梭形,基粒和类囊体排列整齐

紧密(见图1C)。线粒体在细胞边缘均匀分布,呈圆形或椭圆形,双层被膜结构完整,内部嵴较丰富(见图1E)。叶肉细胞壁界限清晰,表面光滑,厚薄均匀(见图1G)。 Pb^{2+} 污染使玉米的生长受到了严重的阻碍,细胞组织遭到破坏。电镜观察显示, Pb^{2+} 对玉米叶肉细胞亚显微结构损伤极大,主要表现为细胞核变形,核仁解体,核质分布不均匀以及核中央出现大空泡,核膜解体(见图1B);叶绿体基粒片层结构紊乱,出现溶解及消失现象,类囊体肿胀,部分叶绿体外膜解体(见图1D);线粒体的伤害主要表现为嵴模糊甚至消失,线粒体空泡化,外膜消失(见图1F);细胞膜和细胞壁之间可见到许多沉积的深色颗粒(见图1H)。

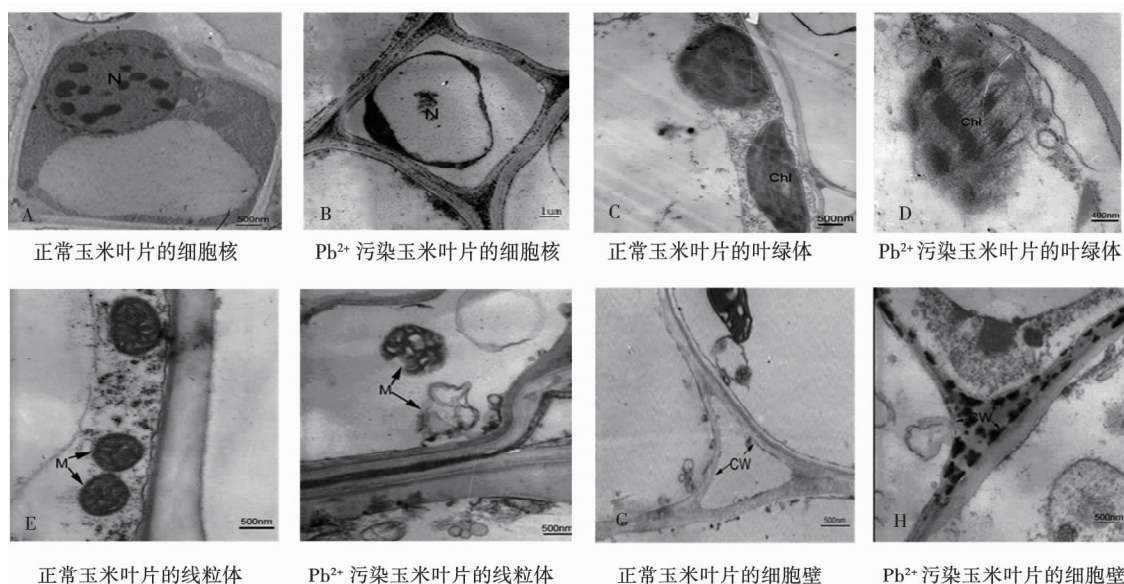


图1 正常生长条件(A,C,E,G)和 Pb^{2+} 污染(B,D,F,H)玉米叶片的超微结构

Fig.1 The ultrastructure of maize leaves under normal growth conditions(A,C,E,G) and Pb^{2+} pollution

3 结论与讨论

叶绿体是植物进行光合作用的主要细胞器,叶绿体超微结构变化是引起植物生长不良甚至死亡的原因之一。正常叶绿体中氧自由基的产生和消除是处于动态平衡的,当生物受到胁迫后这种平衡被打破,细胞体内会产生大量的活性氧和膜脂过氧化物,引起叶绿体膜系统的紊乱和破坏^[8,10-11]。叶绿体结构的正常与否是判断植物细胞活性的一个重要指标^[10]。本研究表明,正常条件下生长的日本甜玉米叶绿体呈椭圆形,结构完整,基粒和类囊体排列整齐紧密。一旦受到重金属Pb胁迫,叶绿体超微结构发生明显改变。叶

绿体膨大,基粒片层结构紊乱,出现溶解以及消失现象,类囊体肿胀,部分叶绿体外膜解体,这表明叶绿体超微结构对重金属Pb比较敏感。

线粒体是植物体内产生ATP的细胞器。正常条件下,线粒体呼吸释放的能量,通过膜转运到细胞的其它部位,提供各种代谢活动的需要^[11]。线粒体作为细胞内另外一个较为重要的细胞器,它的结构变化也反映出植物对逆境的适应^[12]。本试验研究表明,正常情况下日本甜玉米的线粒体结构整齐且嵴清晰。当受到金属Pb胁迫后,线粒体超微结构发生了明显的变化,嵴消失,线粒体空泡化,外膜消失。线粒体结构破坏,影响植物

的呼吸作用,导致植物生长不良。

不同植物对 Pb 的耐受性有很大的差异,小白菜对 Pb 伤害的耐受性大于萝卜大于空心菜^[13],乌麦抵抗铅胁迫的能力强于普通小麦^[14],香根草对重金属铅离子反应比较敏感^[15],且不同作物吸收 Pb 的机理不同及运送的部位不同^[16]。本研究发现玉米对 Pb^{2+} 比较敏感, Pb^{2+} 能改变玉米苗叶肉细胞亚显微结构,特别是对叶绿体、线粒体和细胞核结构有较强损伤及诱变作用,与李荣春等^[17]和李大辉等^[18]研究烟草叶片和菱体细胞得到相似的结论。本试验研究还表明在细胞膜与细胞壁之间有大量的 Pb^{2+} 在此沉积,这表明细胞膜可以阻止部分进入原生质体的内部。同时 Pb^{2+} 也在细胞质中积累。 Pb^{2+} 穿过叶绿体的膜而沉积在叶绿体内,使其结构改变,破坏了细胞正常生理活动所需的结构基础,其毒害机理可能是物理作用,如附着作用使被附着物的结构改变,功能丧失,这对细胞核、叶绿体和线粒体的损伤是不可逆转的^[17-18]。

参考文献:

- [1] 李春烨,丁国华,刘保东. 重金属影响植物细胞超微结构和功能的研究进展[J]. 中国农学通报, 2013, 29 (18): 114-118.
- [2] Alloway B J. Sources of heavy metals and metalloids in soils[M]//Alloway B J. Heavy Metals in Soils. Springer, 2013:11-50.
- [3] Li T Q, Yang X E, Jin X F, et al. Root responses and metal accumulation in two contrasting ecotypes of *Sedum alfredii* Hance under lead and zinc toxic stress[J]. Journal of Environmental Science and Health, 2005, 40: 1081-1096.
- [4] 甲田善生,林宏,玉化信. 重金属毒性的顺序[J]. 环境科学

情报, 1984(1): 82-87.

- [5] 钱华. 环境铅污染源及其对人体健康的影响[J]. 环境监测管理和技术, 1998, 10(6): 14-17.
- [6] 胡金朝,郑爱珍. 重金属胁迫对植物细胞超微结构的损伤[J]. 商丘师范学院学报, 2005, 21(5): 126-128.
- [7] 宇克莉,孟庆敏,邹金华. 镉对玉米生长、叶绿素含量及细胞超微结构的影响[J]. 华北农学报, 2010, 25(3): 118-123.
- [8] 史静,潘根兴,李恋卿. 外加 Cd 对两水稻品种细胞超微结构的影响研究[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(4): 403-409.
- [9] Endress A G, Sjolund R D. Ultrastructural cytology of callus cultures of *Streptanthus tortuosus* as affected by temperature[J]. American Journal of Botany, 1976, 63 (9): 1213-1224.
- [10] 郁慧,刘中亮,胡宏亮,等. 干旱胁迫对 5 种植物叶绿体和线粒体超微结构的影响[J]. 植物研究, 2011, 31 (2): 152-158.
- [11] 蒋明义,杨文英,徐文江,等. 渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿素降解的活性氧损伤作用[J]. 植物学报, 1994, 36 (4): 289-295.
- [12] 郑敏娜,李向林,万里强,等. 水分胁迫对 6 种禾草叶绿体、线粒体超微结构及光合作用的影响[J]. 草地学报, 2009, 17(5): 643-649.
- [13] 张杏辉,方超,李小敏,等. 三种蔬菜对 Pb^{2+} 伤害的耐受性研究[J]. 广西园艺, 2004, 15(6): 9-10.
- [14] 马文丽,王转花. 铅胁迫对乌麦及普通小麦抗氧化酶的影响[J]. 山西农业科学, 2004, 27(2): 202-204.
- [15] 韩露,张小平,刘必融. 香根草对重金属铅离子的胁迫反应研究[J]. 应用生态学报, 2005, 16(11): 2178-2181.
- [16] 刘秀梅. 6 种植物对 Pb 的吸收与耐性研究[J]. 植物生态学报, 2002, 26(5): 553-537.
- [17] 李荣春. Ca, Pb 及复合污染对烤烟叶片生理生化及细胞亚显微镜结构的影响[J]. 植物生态学报, 2000, 24 (2): 238-242.
- [18] 李大辉. Ca^{2+} 或 Hg^{2+} 水污染对菱体细胞的细胞核及叶绿体超微结构的影响[J]. 植物资源与环境, 1999, 8 (2): 43-48.

Effect of Heavy Metal Pb^{2+} on Ultrastructure of Maize Seedling Leaves

LUO Jian-min¹, HOU Jiang-tao²

(1. Physics and Chemistry Detecting Center of Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830046; 2. Shangqiu University, Shangqiu, Henan 476000)

Abstract: In order to reveal the mechanism of plant response to heavy metal stress, sweet maize with $Pb(NO_3)_2$ treatment was used as experimental materials to study the changes of microstructure and ultrastructure of mesophyll cell by transmission electron microscope. It was found that the figure of nuclear change, nucleolus dissolved; Chloroplast were damaged to varying extent, thylakoids became swollen and disorder; mitochondria cristae became swollen, mitochondria cristae became obscured or even dissolved, the membrane of Chloroplast dissolved. There were lots of grain during cell membrane and cell wall. The Pb^{2+} had influence on the submicroscopic structure of the in the maize. Irreversible harm could be caused by Pb^{2+} in plant cell for destroying the normal structure of the cell.

Keywords: maize; submicroscopic structure; Pb^{2+} ; pollution