

Cd²⁺胁迫对石龙尾超微结构的影响

赵春

(南通大学 生命科学学院, 江苏 南通 226007)

摘要: 以在不同浓度梯度 Cd²⁺ 溶液中培养 48 h 的石龙尾为实验材料, 用透射电镜观察叶细胞超微结构的损伤, 结果表明: Cd²⁺ 浓度越高, 超微结构的损伤越严重。表现为核糖体数目减少; 高尔基体膨胀或消失; 线粒体出芽或破裂; 质膜收缩产生质壁分离, 胞间连丝断裂; 叶绿体膨胀, 类囊体解体, 进而影响了细胞的整体功能, 造成细胞损伤乃至死亡。

关键词: Cd²⁺; 石龙尾; 超微结构

中图分类号: Q944 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2008)05-0592-04

Effect of Cd²⁺ stress on ultrastructure of *Limnophila sessiliflora*

ZHAO Chun

(College of Life Science, Nantong University, Nantong 226007, China)

Abstract: *Limnophila sessiliflora* was cultivated in water medium polluted with Cd²⁺ of different gradient concentration for 48 h. The ultrastructural damages of leaf cells were observed by using transmission electron microscopy. The results showed: The higher concentration of Cd²⁺, the more serious the damage to ultrastructure. Ribosomes reduced, golgi apparatus slacked or disappeared, mitochondria ruptured or budded, plasma membrane contracted and plasmolysis took place, plasmodesma snapped, chloroplasts swelled and thylakoids disintegrated. These affected the function of cells in all and finally led to the cell damaged or destroyed.

Key words: Cd²⁺; *Limnophila sessiliflora*; ultrastructure

重金属对水环境造成的污染已经引起人们的日益关注, 研究表明, 包括 Cd²⁺ 在内的重金属对水生植物有不利影响(颜素珠等, 1990)。Cd²⁺ 作为重金属污染的“五毒”之一, 被植物体吸收和富集后, 会表现出褪绿、矮化、生物量下降, 甚至死亡等受害症状, 并通过水生食物链的生物放大作用对高营养级的生物及人体健康造成危害。石龙尾(*Limnophila sessiliflora*) 为多年生草本, 具匍匐茎, 茎节生须根; 叶两型, 沉水叶细裂, 挺水叶长椭圆形, 羽状裂; 花单生叶腋。浅水沼泽地生长。具消肿解毒, 杀虫灭虱的功效, 用于主治疮疡肿毒, 为常用的中药材。本文旨在探讨急性 Cd²⁺ 毒害对石龙尾超微结构的影响, 研究水生常见药材在 Cd²⁺ 胁迫下的耐受性规律及其

对药用有效成分的影响, 并为水环境中重金属污染的中药材的监测和防治从理论上提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

石龙尾采集于南通大学钟秀校区池塘内。将石龙尾当年生植株洗净, 以纯净水培养于培养缸内 2d, 取株龄相近、形态相似的植株分别加入 0 (对照)、2、4、6、8、10 mg/L 的 CdCl₂ 溶液(按纯 Cd²⁺ 计), 进行自然光照培养。

1.2 方法

取对照组和各浓度梯度处理的植株叶片, 2%戊

收稿日期: 2007-02-07 修回日期: 2007-05-08

作者简介: 赵春(1973-), 女, 江苏海门人, 讲师, 主要从事植物生理学与形态学研究, (E-mail) cici_zhao@163.com。

二醛固定 48 h, PBS 漂洗 3 次, 2% 锇酸固定 2 h 后丙酮脱水, EPON812 包埋, LKB-V 超薄切片机切片, 醋酸双氧铀—柠檬酸铅双重染色, HITACHI (日立) 600-A-2 透射电子显微镜下观察。

2 结果

2.1 Cd²⁺ 胁迫下石龙尾的外形变化

处理浓度、处理天数及石龙尾的生长情况见表 1。

表 1 不同浓度下根茎的受害情况
Table 1 Injury degree of roots and stems in different cultural concentrations

浓度 Concentration (mg/L)	培养时间 Cultural time (d)			
	2	4	6	8
0	生长正常	生长正常	生长正常	生长正常
2	生长正常	生长正常	生长正常	生长正常
4	生长正常	生长正常	生长正常	生长正常
6	生长正常	生长正常	停止长新根	根黄、茎黄
8	生长正常	水中停止长新根	根微黄、茎出现黄点	根萎蔫、茎末端枯黑
10	水中停止长新根	根微黄、茎出现黄点	根萎蔫、茎发黄	茎末端枯黑、腐烂

2.2 Cd²⁺ 胁迫下石龙尾叶的超微结构的变化

对照组石龙尾叶结构正常, 原生质紧贴细胞壁; 未见大型液泡; 胞间连丝正常; 叶绿体大多呈椭圆形, 分布在细胞外周, 基质在电镜下观察电子密度较低, 基粒中类囊体结构紧密, 呈圆盘状, 各基粒之间有基质类囊体; 细胞中有大量线粒体, 在电镜下为内外两层膜包裹的囊状细胞器, 外膜平整无折叠, 内膜向内折入形成许多嵴; 在细胞质内有大量彼此相通的片状或管状的内质网, 有些内质网膜与细胞核核被的外膜相通, 糙面内质网分布广泛; 高尔基体分布于细胞的边缘, 由一系列扁平的囊和小泡组成, 每个高尔基体两端均膨大, 周围有大量的分泌小泡; 细胞核较圆, 附着在核膜内面有深染团块的异染色质, 有核仁(图版 I : 1, 2)。2 mg/L 组处理 48 h, 叶绿体结构未见明显变化; 线粒体中嵴开始减少; 胞间连丝完好(图版 I : 3)。4 mg/L 组处理 48 h, 有高尔基体; 叶绿体开始肿胀, 呈球形; 少量嵴开始解体; 核糖体数目减少; 质膜开始有内陷收缩趋势, 胞间连丝完好(图版 I : 4)。6 mg/L 组处理 48 h, 叶绿体基粒类囊体圆盘状结构开始松散, 基质类囊体无明显变化; 线粒体中嵴的数目进一步减少; 游离的核糖体数急剧减少。高尔基体结构松散, 反面高尔基体不再

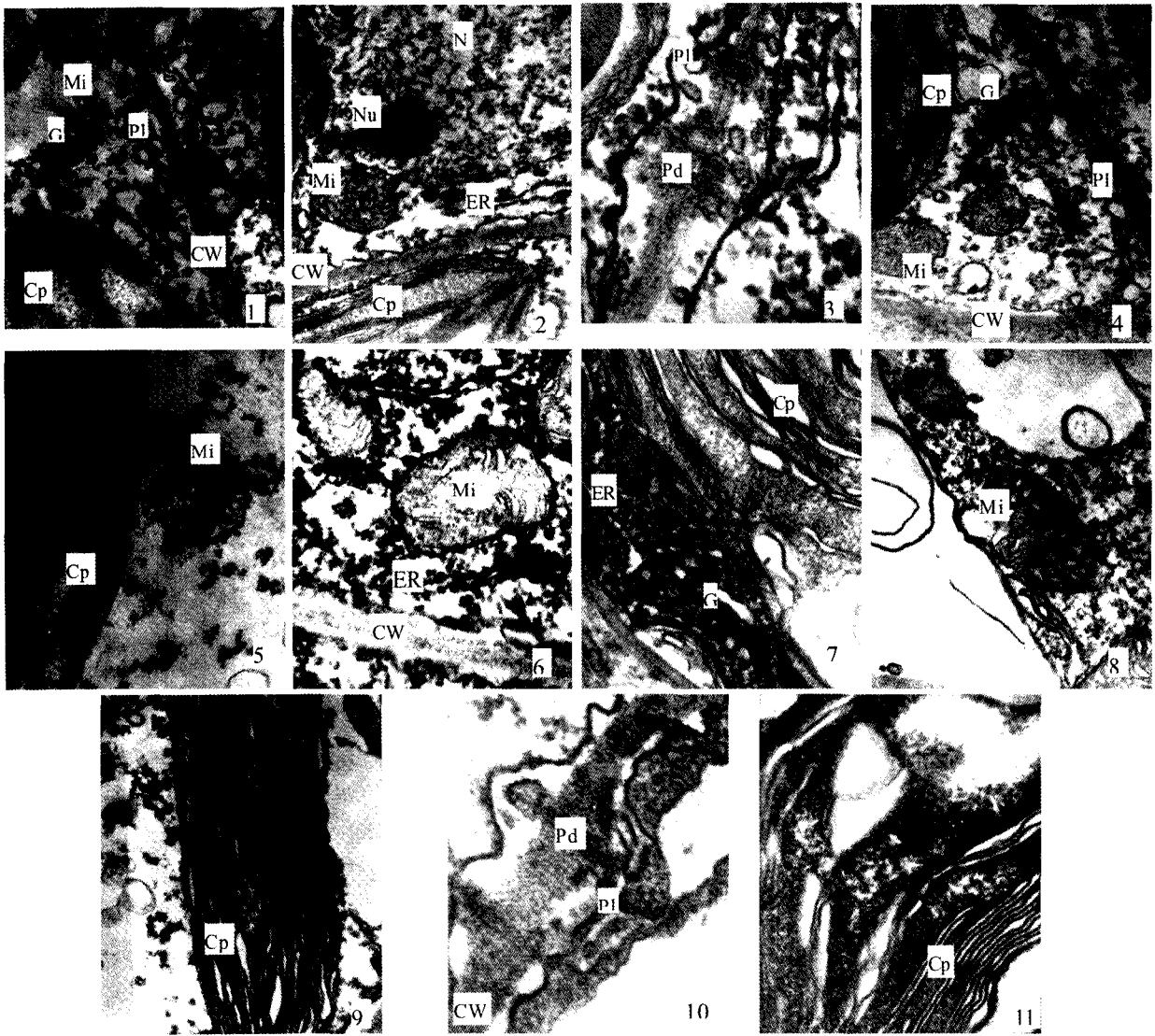
分泌小泡, 顺面高尔基体虽然分泌小泡, 但小泡的折光性较弱; 细胞核在 Cd²⁺ 的作用下产生缢缩而变形(图版 I : 5, 6, 7)。8 mg/L 组处理 48 h, 叶绿体中基粒类囊体开始解体, 片层结构呈现出平行排列的波浪状; 线粒体中嵴大部分解体, 产生出芽, 少量线粒体中央呈空泡状; 高尔基体消失; 内质网数量急剧减少; 胞间连丝被拉断(图版 I : 8, 9, 10)。10 mg/L 组处理 48 h, 叶绿体基粒类囊体和基质类囊体都呈波浪状平行排列, 无外观区别, 嗜铁颗粒逐渐增多, 外被双层膜出现破裂, 细胞基质聚集成高电子密度的絮状残留物, 其他细胞器消失(图版 I : 11)。

3 讨论

过量的 Cd²⁺ 会导致氧化反应, 破坏细胞的膜结构(Shainbergo 等, 2001)。植物由于接触重金属产生过量的自由基(赵春, 2000), 而攻击细胞膜上的不饱和脂肪酸, 使细胞膜上的磷脂双分子层松散, 导致膜结构的胞间连丝断裂, 细胞内一些物质外流(代全林, 2006), 使细胞迅速失水干燥, 细胞膜透性增强, 重金属更容易进入细胞内, 导致更严重的毒害。此外, Cd²⁺ 可以与蛋白质结合而使蛋白质变性, 使膜蛋白的功能改变和功能丧失, 通过破坏细胞的膜系统而对植物造成伤害(徐勤松等, 2002)。

在不同浓度 Cd²⁺ 对石龙尾细胞的毒害过程中, 低浓度胁迫下细胞器中首先出现变化的是高尔基体膨胀, 线粒体出现受害症状总是先于叶绿体, 这说明线粒体对重金属的敏感度要高于叶绿体。线粒体嵴突数目的减少, 往往是由于 K⁺ 和水分子从线粒体的内腔渗透到外腔所造成(解凯彬等, 2000), 重金属还会抑制线粒体膜上 ATP 酶的活性, 从而使线粒体内的氧化磷酸化受到影响(彭鸣等, 1991)。由于线粒体结构被破坏以及重金属对参与呼吸作用的各种酶的抑制, Cd²⁺ 直接会导致细胞呼吸机能出现障碍。

受 Cd²⁺ 毒害的植物叶片都会出现缺铁性褪绿(陈立松等, 2001), 叶绿体是植物细胞特有的能量转换细胞器, 它受重金属的影响也较明显, 随着处理浓度的增大, 植物叶绿素 a、b 的含量及叶绿素 a/b 值都与处理剂量出现负相关(赵春, 2000)。叶绿体中, PS I 主要分布于基质片层和基粒片层的非叠合区, PS II 主要分布于基粒类囊体膜的叠合部分, Cd²⁺ 对叶绿体的毒害首先造成基粒类囊体的解体, 使叶绿体捕获光能的能力下降, 影响光合作用, 从结构学上



图版 I Cp-叶绿体; Mi-线粒体; G-高尔基体; ER-内质网; Pl-质膜; CW-细胞壁; Pd-胞间连丝; N-细胞核; Nu-核仁。1. 对照叶细胞的超微结构, 示正常叶绿体、线粒体、高尔基体、细胞壁、细胞膜(35×500); 2. 对照叶细胞的超微结构, 示正常叶绿体、线粒体、核、核仁(30×500); 3. 2 mg/L 处理的叶细胞, 示胞间连丝完好(80×500); 4. 4 mg/L 处理的叶细胞, 示球形叶绿体、线粒体肿胀、高尔基体和细胞壁正常、细胞膜(箭头)开始内陷收缩(25×500); 5. 6 mg/L 处理的叶细胞, 示叶绿体和线粒体肿胀、核糖体减少(30×500); 6. 6 mg/L 处理的叶细胞, 示线粒体出现空泡(60×500); 7. 6 mg/L 处理的叶细胞, 示叶绿体肿胀、基粒类囊体圆盘状结构松散、高尔基体结构松散(60×500); 8. 8 mg/L 处理的叶细胞, 示线粒体开始解体(40×500); 9. 8 mg/L 处理的叶细胞, 示叶绿体基粒类囊体开始解体(35×500); 10. 8 mg/L 处理的叶细胞, 示胞间连丝被拉断(100×500); 11. 10 mg/L 处理的叶细胞, 示叶绿体被膜破裂、解体、其它细胞器消失(60×500)。

Plate I Cp-chloroplast; Mi-mitochondria; G-golgi apparatus; ER-endoplasmic reticulum; Pl-plasmalemma; CW-cell Wall; Pd-plasmodesma; N-nucleus; Nu-nucleolus. 1. Ultrastructure of control leaf cells, showing normal chloroplast, normal mitochondria, normal golgi apparatus, normal cell wall, normal plasma membrane(35×500); 2. Ultrastructure of control leaf cells, showing normal chloroplast, normal mitochondria, normal nucleus, normal nucleolus(30×500); 3. Leaf cells treated with 2 mg/L Cd²⁺ for 48 h, showing normal plasmodesma(80×500); 4. Leaf cells treated with 4 mg/L Cd²⁺ for 48 h, showing round chloroplasts, swollen mitochondria, normal golgi apparatus and cell wall, plasmalemma begins to (arrows) contraction(25×500); 5. Leaf cells treated with 6 mg/L Cd²⁺ for 48 h, showing swollen chloroplast and mitochondria, ribosomes shows reduction(30×500); 6. Leaf cells treated with 6 mg/L Cd²⁺ for 48 h, showing vacuolation of mitochondria(60×500); 7. Leaf cells treated with 6 mg/L Cd²⁺ for 48 h, showing swollen chloroplast, thylakoids and golgi apparatus begin to loosen(60×500); 8. Leaf cells treated with 8 mg/L Cd²⁺ for 48 h, showing disintegration of mitochondria(40×500); 9. Leaf cells treated with 8 mg/L Cd²⁺ for 48 h, showing disintegration of thylakoids(35×500); 10. Leaf cells treated with 8 mg/L Cd²⁺ for 48 h, showing plasmodesmata snapped(100×500); 11. Leaf cells treated with 10 mg/L Cd²⁺ for 48 h, showing disappearance of all organelles except chloroplas, disruption of chloroplast membrane and chloroplast disintegrated(60×500).

证明了杨丹慧(1991)关于 Cd²⁺ 对光系统I和II均有影响, 对后者影响更为显著的结论。另外, 由于膜系统

往往是酶的排列支架, 基粒类囊体膜垛叠犹如形成一个长的代谢传送带, 使代谢顺利进行(潘瑞炽, 2001),

基粒类囊体的解体,也会使整个代谢过程受阻。

高尔基体是内质网上合成的蛋白质的加工和包装场所,并且能够转运膜蛋白和溶酶体中的水解酶类(吴相钰,2005)。随着内质网数目的减少,从内质网形成的运输小泡也急剧减少,高尔基体丧失了来自内质网的分泌源而随之膨胀,直至消失。

核糖体是合成蛋白质的场所,其毒害耐受性大于高尔基体和线粒体,与低浓度 Cd²⁺ 处理下,可溶性蛋白有所增加相吻合(赵春,2003)。这可被看作植物在一定限度下对外来毒害的一种具自我保护作用的应激性反应,可能包括一些抗氧化酶(SOD、POD)等的表达和翻译(常福辰等,2002)。而蛋白质在叶绿体中最重要的功能是作为代谢过程的催化剂,且叶绿体中起电子传递作用的细胞色素、质体蓝素也是与蛋白质结合的。核糖体数量减少,直接抑制了叶绿体酶系统、光合器官结构以及线粒体等一系列细胞器的合成。

由于 Cd²⁺ 破坏了细胞的细胞膜及各种细胞器,进而影响细胞的整体功能,造成细胞损伤乃至死亡。

参考文献:

吴相钰. 2005. 陈阅增普通生物学[M]. 第2版. 北京:高等教育出版社:31

赵春. 2003. Ca²⁺ 对石龙尾生理生化特性的影响[J]. 淮阴师范学院学报·自然科学版,2(3):241-244

潘瑞炽. 2001. 植物生理学[M]. 第4版. 北京:高等教育出版社:59

Chang FC(常福辰), Shi GX(施国新), Wu GR(吴国荣), et al. 2002. Effects of the combinative pollution of mercury and cadmium on *Ceratophyllum demersum* and preliminary studies of its mechanism(汞、镉复合污染对金鱼藻的影响及其抗性机制的

探讨)[J]. *Guihaia*(广西植物),22(5):453-457

Chen LS(陈立松), Liu XH(刘星辉). 2001. Heavy metal toxicity and mechanisms of resistance in fruit trees(果树重金属毒害及抗性机理)[J]. *J Fujian Agric Univ*(福建农业大学学报),30(4):462-469

Dai QL(代全林). 2006. A review of toxicant mechanisms of heavy metals against plants(重金属对植物毒害机理的研究进展)[J]. *Subtrop Agric Res*(亚热带农业研究),2(2):49-52.

Peng M(彭鸣), Wang HX(王焕校), Wu YS(吴玉树). 1991. Ultrastructural changes induced by cadmium and lead in corn seedling cell(镉、铅诱导的玉米幼苗细胞超微结构的变化)[J]. *China Environ Sci*(中国环境科学),11(6):426-431

Shainbergo, Rubinb, Rabinowitchhd, et al. 2001. Loading beans with sublethal levels of copper enhances conditioning to oxidative stress[J]. *J Plant Physiol*,158:1 415-1 421

Xu QS(徐勤松), Shi GX(施国新), Du KH(杜开和). 2002. Effects of Cr(VI) on physiological and ultrastructural changes in leaves of *Ottelia alism oides* Pers(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]. *Guihaia*(广西植物),22(1):92-96

Xie KB(解凯彬), Shi GX(施国新), Du KH(杜开和), et al. 2000. Ultrastructural changes in leaf cells of *Euryale ferox* Salisb. by the stress of Hg²⁺ (Hg²⁺ 胁迫下灰实叶超微结构的变化)[J]. *J Nanjing Normal Univ; Nat Sci*(南京师大学报·自然科学版),23(3):100-103

Yan SZ(颜素珠), Liang D(梁东), Peng XJ(彭秀娟). 1990. A research on the tolerance and purification ability of eight aquatic plants in heavy metal (cu) contaminated sewage(8种水生植物对污水中重金属——铜的抗性及其净化能力探讨)[J]. *China Environ Sci*(中国环境科学),10(3):166-170

Yang DH(杨丹慧). 1991. The effects of heavy metals on the structure and function of photosynthetic membranes in higher plants(重金属离子对高等植物光合膜结构与功能的影响)[J]. *Chin Bull Bot*(植物学通报),8(3):26-29

(上接第 588 页 Continue from page 588)

Acharius E. 1803. *Methodus lichenum*[M]. *Stockholm*:153

Culberson CF, Kristinsson H. 1970. A standardized method for the identification of lichen products[J]. *J Chromatography*,46: 85-93

Culberson WL, Culberson CF. 1994. Secondary metabolites as a tool in ascomycete systematics lichenized fungi[M]. New York: Plenum Press:155-163

Esslinger Theodore L. 1977. A chemosystematic revision of the

Brown Parmeliae[J]. *J Hattori Bot*,42(5):1-211

Hale ME. 1983. *The Biology of Lichens*[M]. Third Edition. London:Edward Arnold Ltd:108-118

Moberg R. 1977. *The Lichen Genus Physcia and Allied Genera in Fennoscandia*[M]. New York: Symb Bot Upsal; Almqvist & Wiksel International Stockholm:9,11

Wei JC. 1991. *An Enumeration of Lichens in China*[M]. Beijing: International Academic Publishers,152