

汞胁迫对花生幼苗茎和叶亚显微结构的影响

王 刚¹, 周娜娜¹, 武耀廷^{2,3}, 冯素萍^{3,4*}, 徐良晔³

(1. 海南热带海洋学院生态环境学院, 海南 三亚 572022; 2. 海南大学, 海口 570228; 3. 三亚市热带植物分子育种实验室, 海南 三亚 572022; 4. 海南热带海洋学院食品科学与工程学院, 海南 三亚 572022)

摘 要:以花生幼苗为材料, 透射电子显微镜下观察了0、10、100、1 000、10 000 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 HgCl_2 对花生幼苗茎和叶亚显微结构的影响。结果表明: 当 HgCl_2 浓度为10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 茎叶各细胞器不受影响; 当 HgCl_2 浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 花生幼苗叶的细胞核、茎叶的叶绿体和线粒体开始出现膜损伤; 当 HgCl_2 浓度为1 000 $\mu\text{mol/L}$ 和10 000 $\mu\text{mol/L}$ 时, 花生幼苗茎和叶细胞膜结构破坏严重, 线粒体和叶绿体损伤。随着处理的汞离子浓度的提升, 花生幼苗茎叶细胞内各细胞器都呈现出明显的损伤, 但耐受性略有不同。

关键词:汞胁迫; 花生; 亚显微结构

中图分类号: S565.2

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2023)02-0060-04

Effects of Mercury Stress on the Submicrostructure of Peanut Seedling Stems and Leaves

WANG Gang¹, ZHOU Nana¹, WU Yaoting^{2,3}, FENG Suping^{3,4*}, XU Liangye³

(1. Hainan Tropic Ocean University, College of Ecology and Environment, Hainan Sanya 572022; 2. Hainan University, Haikou 570228; 3. Key Laboratory of Tropical Crop Molecular Breeding of Sanya, Sanya 572022; 4. College of Food Science and Engineering, Hainan Tropic Ocean University, Sanya 572022, China)

Abstract: The effects of HgCl_2 concentration of 0, 10, 100, 1000 and 10,000 $\mu\text{mol/L}$ on the submicrostructure of peanut seedling stems and leaves of were observed under transmission electron microscope. The results showed that when the HgCl_2 concentration was 10 $\mu\text{mol/L}$, the organelles of stems and leaves were not affected. When the HgCl_2 concentration was 100 $\mu\text{mol/L}$, the cell nucleus, chloroplast and mitochondria of stems and leaves began to appear membrane damage. When the HgCl_2 concentration was 1,000 $\mu\text{mol/L}$ and 10,000 $\mu\text{mol/L}$, the membrane structure of stems and leaves cells of peanut seedling was seriously damaged, and the mitochondria and chloroplast were damaged. With the increase of mercury concentration, the organelles in stems and leaves cells of peanut seedlings showed obvious damage, but the tolerance was slightly different.

Key words: Mercury stress; Peanut; Submicrostructure

花生(*Arachis hypogaea* L.)是我国重要的油料和经济作物之一,在我国分布广,种植面积大。国内外关于花生的栽培^[1-2]、新品种选育方面^[3-4]的研究比较丰富,但是汞胁迫对于花生生理方面的研究较少,尤其汞胁迫对花生亚显微结构的研究很少。汞在植物体内积累到一定浓度时,能抑制

植物细胞的分裂和根系伸长,引起细胞膜结构的损伤,影响植物的正常生长^[5]。关于汞胁迫近几年的研究,在对作物的生长生理影响^[6-10]方面比较多。亚显微结构可以直观地看出汞胁迫对花生各营养器官及细胞产生的影响。本试验以花生幼苗为材料,研究不同浓度 HgCl_2 对花生幼苗茎和叶亚显微结构的影响,以期汞胁迫对花生生长的影响提供一定的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

选用海南乐东当地花生品种为试材,花生种子由本课题组收集、繁育和保存。

收稿日期: 2020-03-06

基金项目: 海南省基础与应用基础研究计划(自然科学领域)高层次人才项目(2019RC242); 三亚市农业科技创新项目(2015KJ12); MARS国际合作项目(1001603967)

作者简介: 王 刚(1977-),男,高级实验师,硕士,主要从事园艺专业的实验教学和作物栽培生理方面的研究。

通讯作者: 冯素萍,女,博士,教授, E-mail: 84061197@qq.com

1.2 试验方法

1.2.1 材料处理

选取饱满的花生种子 160 粒洗净,用 3% 高锰酸钾浸泡消毒 45 min,用 45 °C 的热水浸泡 2 h,2017 年 11 月播种于内径 50 cm 塑料盆,内装等量的树皮土基质,每盆 8 粒,4 次重复,置于大棚内的台架上。当花生二叶一心时,分别浇施 300 mL 的蒸馏水(对照 CK,0 $\mu\text{mol/L}$),10、100、1 000、10 000 $\mu\text{mol/L}$ 的 HgCl_2 溶液。每 3 天处理一次,共处理 4 次。处理结束 3 天后,摘取各处理花生幼苗第一分枝的顶端小叶和剪取主茎中间 1 cm 小段,分别制作超薄切片,用于观察。

1.2.2 透射电镜观察

材料用 2.5% 戊二醛固定液固定 3 h,再用磷酸缓冲液漂洗 3 次。然后在 4 °C 冰箱内用系列乙醇(50%、70%、90%)和 90% 丙酮脱水,每级 15 min,转入室温再用 100% 丙酮脱水 15 min。用纯丙酮+包埋液(1:2)包埋,烘箱内(37、45、60 °C)固化,用 LKB-V 切片机制出厚 50~60 nm 的超薄切片,醋酸铀-枸橼酸铅双染色^[11],干燥后透射电镜(JEM-2100F)观察、拍照。

2 结果与分析

2.1 汞胁迫对花生叶亚显微结构的影响

2.1.1 细胞核

对花生幼苗叶片进行观察,细胞核核质界限清晰分明,核膜、核仁结构完整,染色质分布均匀(图 1A)。10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 HgCl_2 处理,细胞核膜结构正常,与对照差异不明显(图 1B)。随着 HgCl_2 浓度的增加,核膜逐渐模糊、消退,核质浓度逐渐淡化,核内物质趋于无序(图 1C、图 1D)。10 000 $\mu\text{mol/L}$ 的 HgCl_2 处理,可观察到细胞核膜结构不完

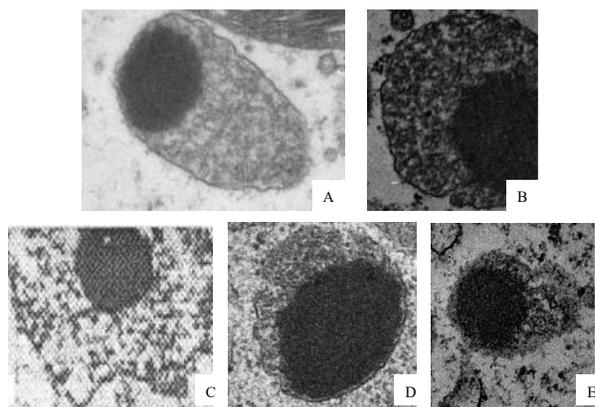


图 1 透射电镜下 0(A 图)、10(B 图)、100(C 图)、1000(D 图)、10 000(E 图) $\mu\text{mol/L}$ HgCl_2 处理后的花生幼苗叶片细胞核形态

整,部分核质扩散到核外,细胞核遭受破坏的程度最明显(图 1E)。 HgCl_2 对于花生幼苗叶片细胞核的膜结构破坏性较大。

2.1.2 叶绿体

花生幼苗叶片内的叶绿体形态呈长椭圆形,基质浓密;基粒和类囊体片层排列整齐,与基质片层连接成为一个整体(图 2A)。用 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 HgCl_2 处理后,叶绿体形状及膜结构都与对照组相似,并未出现结构上的损坏(图 2B)。随着 HgCl_2 浓度的增加,叶绿体基质逐渐稀释;叶绿体内逐渐出现淀粉粒, HgCl_2 浓度越大,淀粉粒越多;叶绿体膜解体,膜结构逐渐不完整(图 2C、图 2D)。用 10 000 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 HgCl_2 处理后,叶绿体膜结构遭到明显破坏,叶绿体整体结构受损较为严重,叶绿体中的类囊体基粒和片层严重扭曲,并依旧可以观察到清晰的淀粉粒的存在(图 2E)。 HgCl_2 诱导花生幼苗叶片叶绿体内淀粉粒的产生,对于叶绿体的膜结构有一定的破坏作用。

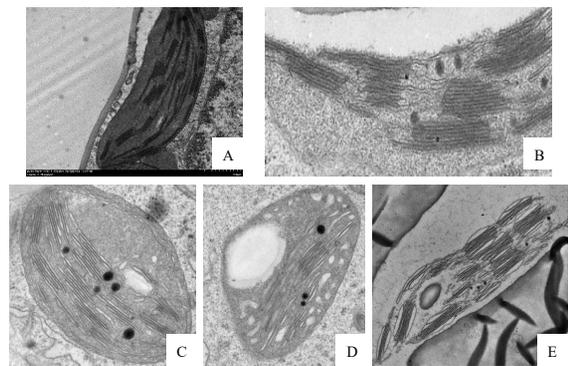


图 2 透射电镜下 0(A 图)、10(B 图)、100(C 图)、1 000(D 图)、10 000(E 图) $\mu\text{mol/L}$ HgCl_2 处理后的花生幼苗叶片叶绿体形态

2.1.3 线粒体

线粒体是细胞的“能量工厂”,花生幼苗叶片内的线粒体形态为椭圆形,膜界限清晰完整,其线粒体嵴分布较为均匀,间质浓密,整个线粒体及其内部结构清晰可辨(图 3A)。10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 HgCl_2 处理,线粒体的结构完整且清晰可辨,与对照差异不明显(图 3B)。 HgCl_2 浓度增加到 100 $\mu\text{mol/L}$ 时,线粒体的膜结构仍然完整,但线粒体基质开始变稀(图 3C)。 HgCl_2 浓度达到 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时,线粒体嵴突排列无序,出现空泡化现象(图 3D)。 HgCl_2 浓度为 10 000 $\mu\text{mol/L}$ 时,线粒体开始出现破损,线粒体膜结构遭到破坏,线粒体基质扩散到细胞中(图 3E)。 HgCl_2 对于花生幼苗叶片线粒体的膜结构有一定的破坏性。

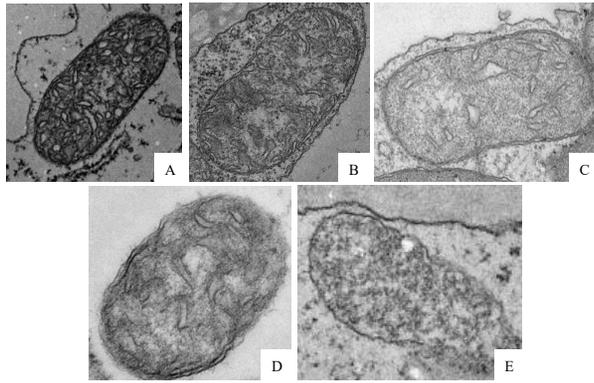


图3 透射电镜下0(A图)、10(B图)、100(C图)、1 000(D图)、10 000(E图) $\mu\text{mol/L}$ HgCl_2 处理后的花生幼苗茎叶片线粒体形态

2.2 汞胁迫对花生茎细胞亚显微结构的影响

2.2.1 细胞核

对花生茎细胞进行透射电镜观察,细胞核核质界限清晰分明,核膜、核仁结构完整,染色质分布均匀(图4A)。用10 $\mu\text{mol/L}$ 和100 $\mu\text{mol/L}$ HgCl_2 处理后,花生茎细胞中细胞核膜结构基本正常,与对照差异不明显(图4B、图4C)。随着汞浓度的继续增加,核膜逐渐模糊、消退,核内物质趋于无序,部分核质扩散到核外(图4D、图4E)。高浓度的 HgCl_2 对花生幼苗茎细胞核的膜结构破坏性较大。

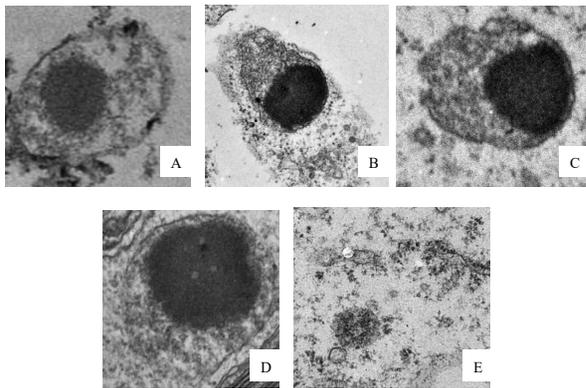


图4 透射电镜下0(A图)、10(B图)、100(C图)、1 000(D图)、10 000(E图) $\mu\text{mol/L}$ HgCl_2 处理后的花生幼苗茎细胞核形态

2.2.2 叶绿体

花生幼苗茎细胞中的叶绿体结构完整,叶绿体膜清晰可辨,叶绿体中的基粒类囊体片层排列整齐、紧凑(图5A)。 HgCl_2 浓度为10 $\mu\text{mol/L}$ 时,叶绿体与对照差异不明显(图5B)。 HgCl_2 浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 时,叶绿体与细胞质基质间的界限开始变得模糊,但叶绿体整体膜结构仍较为完整,少数细胞的叶绿体中出现了少量的淀粉粒(图5C)。 HgCl_2 浓度为1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时,叶绿体结构

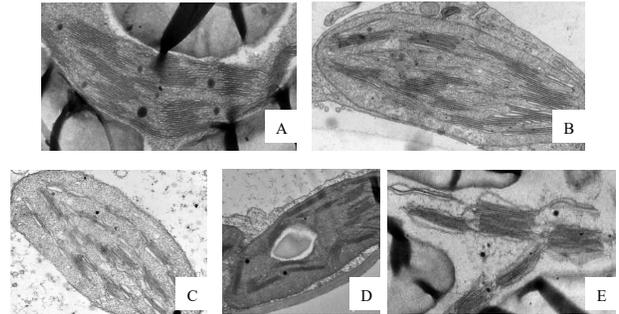


图5 透射电镜下0(A图)、10(B图)、100(C图)、1 000(D图)、10 000(E图) $\mu\text{mol/L}$ HgCl_2 处理后的花生幼苗茎叶绿体形态

出现紊乱,类囊体及基粒排列也较为错乱,可见到清晰的淀粉粒的存在(图5D)。 HgCl_2 浓度为10 000 $\mu\text{mol/L}$ 时,叶绿体整体结构受损严重,基质外渗,类囊体及基粒排列紊乱(图5E)。 HgCl_2 对于花生幼苗茎细胞内叶绿体的膜结构破坏性较大。

2.2.3 线粒体

花生幼苗茎细胞中的线粒体结构完整,线粒体嵴清晰可辨,线粒体的排列紧凑且比较均匀(图6A)。 HgCl_2 浓度为10 $\mu\text{mol/L}$ 时,线粒体结构仍然完整且清晰可辨,与对照差异不明显(图6B)。 HgCl_2 浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 时,线粒体基质的颜色开始变浅,线粒体嵴排列出现紊乱,但大多数细胞中线粒体整体结构仍然较稳定且清晰可辨(图6C)。 HgCl_2 浓度为1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时,部分细胞的线粒体出现了不同程度的损伤,膜结构遭到破坏,线粒体与细胞质的界限也变得模糊,部分线粒体基质溢出到细胞质中(图6D)。 HgCl_2 浓度为10 000 $\mu\text{mol/L}$ 时,观察到的线粒体膜结构基本破损、线粒体基质外流(图6E)。 HgCl_2 浓度越高线粒体受损越严重。

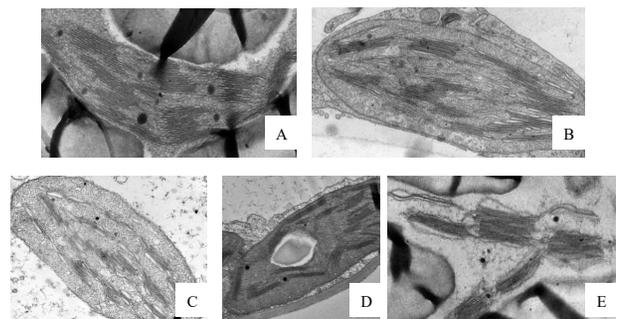


图6 透射电镜下0(A图)、10(B图)、100(C图)、1 000(D图)、10 000(E图) $\mu\text{mol/L}$ HgCl_2 处理后的花生幼苗茎线粒体形态

3 结 论

透射电子显微镜下花生幼苗茎叶细胞内各细

胞器构成清晰可辨、结构完整、排列均匀有序。但随着处理的 HgCl_2 浓度的提升,花生幼苗茎叶细胞内各细胞器都呈现出明显的损伤,但耐受性略有不同。在 HgCl_2 浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 时,各细胞器结构表现正常; $100 \mu\text{mol/L}$ 时,除花生幼苗茎细胞核表现正常外,叶细胞核、茎叶的叶绿体和线粒体都开始出现异常。高于 $100 \mu\text{mol/L}$ 时,膜结构开始破坏,细胞质清晰度下降,细胞核的核质界限模糊、核内物质趋于无序状态;叶绿体的膜结构出现不同程度损伤,基质出现淀粉粒,位于叶绿体中的类囊体基粒和片层扭曲;线粒体嵴随着 HgCl_2 浓度的增加,排列逐渐混乱,膜结构破坏,线粒体基质也扩散到线粒体外。

HgCl_2 对花生幼苗茎、叶细胞的细胞核、线粒体、叶绿体等细胞器造成不可逆性的损伤,汞胁迫对于细胞整体的膜结构系统破坏较为明显,导致细胞层面上各个结构及生理生化的失衡及紊乱,影响到细胞正常的生命活动,从而影响到整个花生植株的生长,重则导致花生植株死亡。

参考文献:

- [1] 厉广辉,王兴军,石 素,等.我国鲜食花生研究现状及展望[J].中国油料作物学报,2018,40(4):604-607.
- [2] 栾天浩,翟 季,孙祎龙,等.密度与氮、磷、钾用量对花生吉花1号产量的影响[J].东北农业科学,2017,42(4):23-26.
- [3] 吕建伟,胡廷会,成良强,等.高油酸花生遗传选育的研究进展[J].贵州农业科学,2019,47(11):10-17.
- [4] 刘海龙,周玉萍,王绍伦,等.高油花生新品种吉花20选育报告[J].东北农业科学,2018,43(5):11-12.
- [5] 王义超.硅对镉和汞胁迫下大蒜生理生化代谢的影响及机理研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2014.
- [6] 杜建雄,李剑峰,张淑卿,等.汞胁迫对4个草坪草品种幼苗生理特性及养分积累的影响[J].西南农业学报,2019,32(8):1767-1772.
- [7] 徐小蓉,周 敏,时艳龙,等.汞胁迫对辣椒种子萌发和幼苗生长的影响[J].安徽农业科学,2008,36(2):420-422.
- [8] 李春龙.汞胁迫对萝卜种子萌发、幼苗根际土壤酶活性及土壤微生物的影响[J].江苏农业科学,2018,46(7):142-144.
- [9] 孙永娣,巢建国,谷 巍,等.汞胁迫对茅苍术光合特性及生理指标的影响[J].南方农业学报,2018,49(3):448-453.
- [10] 齐文靖,于 晗,张佳慧,等.不同重金属胁迫对绿豆种子萌发和幼苗部分生理指标的影响[J].北方园艺,2018(21):1-5.
- [11] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2006:134-136.
- (责任编辑:刘洪霞)
-
- (上接第54页)
- [11] 徐琳杰,刘培磊,李文龙,等.国际转基因标识制度变动趋势分析及对我国的启示[J].中国生物工程杂志,2018,38(9):94-98.
- [12] 金永梅,马 瑞,于志晶,等.转基因水稻吉生梗2号的外源基因旁侧序列分离及事件特异性PCR检测方法[J].东北农业科学,2016,41(1):14-19.
- [13] 王颢潜,陈 锐,李夏莹,等.转基因产品成分检测技术研究进展[J].生物技术通报,2018,34(3):31-38.
- [14] 易小平,贺萍萍,夏启玉,等.定性PCR方法检测转基因玉米MON810转化事件的研究[J].热带作物学报,2014,35(12):2384-2390.
- [15] 李葱葱,谢 苹,董立明,等.抗虫耐除草剂玉米GH5112E-117C定性PCR检测方法[J].生物技术通报,2020,36(5):1-5.
- [16] 辛 艳,刘 何,常雪艳,等.农作物种子转基因成分实时荧光PCR盲检技术要点与应用[J].天津农林科技,2018(1):35-38.
- [17] Nelly D, Tamara K, Inga G, et al. New multiplex PCR methods for rapid screening of genetically modified organisms in foods [J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 1-8.
- [18] 王 永,兰青阔,赵 新,等.数字PCR在转基因水稻拷贝数鉴定中的应用[J].生物技术通报,2018,34(3):53-58.
- (责任编辑:刘洪霞)