

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20180907001

刘卫国, 霍举颂, 黄廷温, 等. 汞胁迫对齿肋赤藓生物结皮细胞超微结构的影响[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(5): 318-325

Liu W G, Huo J S, Huang T W, et al. Effect of mercury on ultrastructure of mesophyll cells of *Syntrichia caninervis* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(5): 318-325 (in Chinese)

汞胁迫对齿肋赤藓生物结皮细胞超微结构的影响

刘卫国^{1,2}, 霍举颂^{3,*}, 黄廷温^{1,2}, 玛丽亚·努尔兰^{1,2}, 张雨^{1,2}

1. 新疆大学资源与环境科学学院, 乌鲁木齐 830046

2. 绿洲生态教育部重点实验室, 乌鲁木齐 830046

3. 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095

收稿日期: 2018-09-07

录用日期: 2018-12-20

摘要: 细胞器结构是生物细胞功能的基础, 而重金属会对细胞器结构产生毒害效应, 进而破坏生物的组织器官完整性及生理代谢功能, 汞对生物结皮细胞器超微结构的影响尚未见报道。为探究汞胁迫对齿肋赤藓生物结皮叶肉细胞超微结构的影响, 将叶肉细胞暴露于不同浓度的汞溶液中(0、10、20、30、40、50 和 60 mmol·L⁻¹), 连续培养 7 d, 采用透射电镜技术观察叶肉细胞的变化。与对照组相比, 汞浓度在 20 ~ 60 mmol·L⁻¹ 时, 齿肋赤藓生物结皮的细胞器超微结构随汞浓度增加逐渐发生变化, 细胞壁逐渐模糊, 出现质壁分离现象, 液泡出现一定的空泡化, 叶绿体膜破损, 类囊体、基粒及基质片层消失, 细胞核解体及核仁消失。综上所述, 齿肋赤藓生物结皮在低汞浓度时可维持有机体免受毒害, 表明齿肋赤藓生物结皮有一定的重金属胁迫耐受性, 但超过阈值(20 mmol·L⁻¹)时, 出现汞胁迫伤害, 且随汞浓度增加, 胁迫毒害效应加剧。本研究结果可为干旱区非维管植物(齿肋赤藓)适应重金属胁迫环境理论及抗性物种培养提供参考。

关键词: 汞胁迫; 齿肋赤藓生物结皮; 生物土壤结皮; 超微结构

文章编号: 1673-5897(2019)5-318-08

中图分类号: X171.5

文献标识码: A

Effect of Mercury on Ultrastructure of Mesophyll Cells of *Syntrichia caninervis*

Liu Weiguo^{1,2}, Huo Jusong^{3,*}, Huang Tingwen^{1,2}, Maliya Nuerlan^{1,2}, Zhang Yu^{1,2}

1. College of Resource and Environment Sciences, Xinjiang University, Urumqi 830046, China

2. Key Laboratory of Oasis Ecology, MOE, Urumqi 830046, China

3. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Received 7 September 2018

accepted 20 December 2018

Abstract: Organelle structures are the basis of cell function, playing an essential role in the integrity of tissues and organs as well as the physiological and biochemical functions of the organism. Transmission electron microscopy was used to observe the toxic effects of mercury on the ultrastructure of mesophyll cells of *Syntrichia caninervis*. The results are as follows: (1) As the concentration of mercury reaching 20 mmol·L⁻¹, the ultrastructure of the organelles of *Syntrichia caninervis* changed slightly, regarded as the critical concentration of the stress; (2) When the concentration of mercury was between 30 ~ 40 mmol·L⁻¹, the color of the cell wall deepened, and its structure

基金项目: 国家自然科学基金项目(31260112); 新疆联合基金项目(2017D01C058)

作者简介: 刘卫国(1972—), 男, 副教授, 研究方向为荒漠植物生态毒理学, E-mail: wgliuj@126.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: huo_jusong@163.com

blurred partially, showing signs of plasmolysis; vacuoles appeared to be vacuolated; chloroplast was obviously swollen, and its membrane was wrinkled and deformed; while the basal granules and the matrix lamella were blurred, the nucleus was blurred severely; (3) While the concentration of mercury arrived at $50 \sim 60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, the cell wall plasmolyed significantly; chloroplast swelled severely, with its membrane destructed; its thylakoids, basal granules and matrix sheets disappeared completely; nucleus disintegrated and nucleoli vanished. It is indicated that *Syntrichia caninervis* can protect the organism from damage at low concentrations of mercury (less than $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), suggesting that *Syntrichia caninervis* has the ability to resist metal stress to some degree. However, if the concentration of mercury exceeds the threshold of $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, mercury stress damage will occur, and with the increase of mercury concentration, the stress poisoning effect is intensified.

Keywords: *Syntrichia caninervis*; mercury stress; biological soil crusts; ultrastructure

重金属污染是当前危害严重及影响范围最广的环境问题之一。我国重金属污染的耕地面积近 $2\,000 \text{ 万 hm}^2$, 约占总耕地面积的 20% [1]。土壤中的重金属会对植物叶肉细胞超微结构产生毒害效应, 抑制细胞核分裂, 导致细胞膜的渗透机制紊乱失调, 致细胞膜破损和抗氧化酶系统损伤等 [2-6]。而植物在含有重金属的土壤环境中生长, 可以进化出抵御金属离子毒害能力和耐胁迫的生态型特征 [7-10]。目前的研究多采用模拟控制的胁迫条件, 揭示重金属对维管束植物的胁迫 [11-13], 而对非维管束植物(苔藓生物结皮)的胁迫研究报道较少。仅开展了干旱和盐胁迫对齿肋赤藓(*Syntrichia caninervis*)细胞器超微结构影响的研究 [14-15], 而重金属胁迫对苔藓生物结皮的研究未见报道。金属汞通过煤炭燃烧、工业生产以及农药喷洒等过程扩散, 常转化为可被生物吸收的脂溶性甲基汞毒性物质 [16], 汞毒害效应广泛存在于生态系统中 [17-18]。汞对不同植物的胁迫, 从生理、基因和细胞结构等方面进行了研究, 目前有关汞对齿肋赤藓叶片细胞超微结构的影响分析尚需深入研究。

生物土壤结皮是细菌、真菌、藻类、地衣和苔藓等与土壤砂砾粘结的复合体, 可有效改善土壤的物理、化学和生物学特性的一类复合生物体 [19-20]。齿肋赤藓结皮是非维管束植物, 在新疆古尔班通古特沙漠南缘广泛分布, 已受到工业产生的重金属污染, 威胁到齿肋赤藓等生物结皮的生存, 使脆弱的生态环境面临更严峻的挑战。鉴于重金属对维管束植物的胁迫伤害效应, 假设汞会对齿肋赤藓生物结皮造成影响, 但其细胞生物学效应如何表达, 与维管束植物的细胞响应机制是否一致, 这需要利用试验进行验证。室内模拟不同汞浓度, 利用扫描电子显微镜技术, 观察齿肋赤藓叶肉细胞的超微结构变化, 揭示齿肋赤藓生物结皮叶片在细胞学上的抗性规律, 为

干旱区非维管植物适应重金属环境补充理论基础, 也为抗性物种的培养提供一定的借鉴, 为荒漠生态系统的固沙及生物多样性保护提供参考意义。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 供试材料

古尔班通古特沙漠南缘 ($44^{\circ}11' \text{ N} \sim 46^{\circ}20' \text{ N}$, $84^{\circ}31' \text{ E} \sim 90^{\circ}00' \text{ E}$), 年均温 $6 \sim 10^{\circ} \text{ C}$, 极端高温高于 40° C , $\geq 10^{\circ} \text{ C}$ 年积温可达 $3\,000 \sim 3\,500^{\circ} \text{ C}$, 年蒸发量超过 $2\,000 \text{ mm}$, 但是年平均降水量不超过 150 mm , 降水主要集中在早春到初夏时节, 其中4—7月的降水量占全年的 47.6% 。南缘地表发育有良好的生物结皮, 主要分布有沼地微鞘藻(*Microcoleus paludosus*)、具鞘微鞘藻(*Microcoleus vaginatus*)和鞘丝异球藻(*Xenococcus lynghyge*)等藻类结皮, 还有胶衣属(*Collema tenex*)、红鳞网衣(*Psora decipiens*)和丽黄地衣(*Xanthoria elegans*)等地衣结皮, 以及以齿肋赤藓(*Syntrichia caninervis*)为主的苔藓结皮。当地植物群落以小半乔木梭梭(*Haloxylon ammodendron*)、白梭梭(*Haloxylon persicum*)和沙拐枣(*Calligonum mongolicum*)为优势建群种, 尖喙牻牛儿苗(*Erodium oxyrhynchum*)、囊果苔草(*Carex physodes*)和角果藜(*Ceratocarpus arenarius*)等草本植物大量分布 [14, 19]。由于毗邻工业园及城镇, 农药施用和洗涤等活动致含汞污染物释放, 重金属潜在污染的土壤面积、生物种类及数量呈增加趋势, 使脆弱的生态环境面临更严峻的挑战。

2016年3月底于样地内选取未受干扰、生长一致且良好的齿肋赤藓生物结皮为对象。取回置于培养箱, 在温度为 $(20 \pm 0.5)^{\circ} \text{ C}$ 下培养以备实验。挑选高约 $0.6 \sim 0.8 \text{ cm}$ 的单个植株, 每100株为一个样本置于培养皿中, 依据当地齿肋赤藓生物结皮的生长特性及预实验结果, 设定出本实验的胁迫浓度为0、

10、20、30、40、50 和 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 每组处理 3 个重复, 培养至 7 d。每次将样本移入已消毒的培养皿, 再进行汞溶液处理。观察样本的长势及变化, 从每个样本中随机选取 3 株个体用于电镜样品的制备。

1.2 样品制备与观察

切去齿肋赤藓生物结皮的底部, 保留顶部 0.4 cm 用于电镜样品制备。将样品投入中 4% 的戊二醛固定液, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存 3~4 d。随后用 pH 7.4 的磷酸缓冲液(PBS)进行冲洗, 每隔一定时间用 PBS 多次冲洗, 总时间为 2 h。之后用 1% 的锇酸溶液固定 1.5 h, 用 PBS 多次冲洗 0.5 h 后, 再用浓度梯度为 30%、50%、60%、70%、80%、90%、95% 和 100% 的乙醇逐级脱水处理, 每个梯度脱水处理不低于 20 min。脱水处理后, 依次用丙酮/乙醇(体积比为 1:1)、丙酮/乙醇(体积比为 4:1)和纯丙酮浸泡 30 min。用体积比为 1:1 的丙酮/环氧树脂固定 1 h 后, 再用体积比为 1:4 的丙酮/环氧树脂固定 3 h, 最后用纯环氧树脂固定, 室内环境下保存过夜。将样品进行包埋处理, 在烘箱中逐级升温至最高温度 60 $^{\circ}\text{C}$, 使环氧树脂凝固。使用 LKB-8800 型超薄切片机切片(瑞典 LKB), 用醋酸铀-柠檬酸铅进行多重染色, 而后利用 JEM-1200EX 透射电子显微镜(日本电子 JEOL)对样品扫描。

2 结果 (Results)

2.1 对齿肋赤藓生物结皮活性特征影响

齿肋赤藓生物结皮经 0、10、20、30、40、50 和 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞溶液处理 7 d。由重金属汞胁迫下齿肋赤藓生物结皮存活率可知(图 1), 随着浓度增加, 齿

肋赤藓由绿色或黄绿色变为黑褐色的死亡态。汞浓度 0~20、30、40~50 和 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 间存在显著差异($P<0.01$)。汞溶液对齿肋赤藓活性产生抑制效应的浓度为 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。前 4 天内, 不同浓度处理间齿肋赤藓活性没有差异, 从第 4 或第 5 天开始出现齿肋赤藓死亡现象, 随着时间的延续, 样本的死亡率显著上升, 第 7 天的存活率至较低水平。汞浓度为 0~20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 齿肋赤藓 7 d 培养后存活率达到 95% 以上; 汞浓度达到 30 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 齿肋赤藓于第 6 天出现死亡现象, 7 d 培养后存活率达到 88%; 而其他浓度的齿肋赤藓活性第 5 天出现死亡现象, 且 7 d 培养后存活率均低于 40%。综上可知, 汞浓度是影响齿肋赤藓生物结皮活性最主要的因素, 同时浓度及时间产生共同影响。

2.2 对齿肋赤藓生物结皮细胞器超微结构的毒害效应

2.2.1 对齿肋赤藓生物结皮细胞壁的影响

不同浓度汞对齿肋赤藓生物结皮叶肉的细胞壁影响如图 2 所示。齿肋赤藓生物结皮在 0~10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下, 细胞壁结构完整, 相邻细胞壁有明显的界限, 细胞膜和原生质层清晰可见; 汞浓度为 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 细胞壁开始发生质壁分离现象, 出现一定的褶皱现象, 但依然观察到完整的细胞壁及原生质体; 当汞浓度达到 30 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 细胞壁逐渐变得模糊, 出现轻微质壁分离现象, 伴有一定的扭曲; 汞浓度 ≥ 40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 质壁分离较明显, 细胞壁两侧的液泡出现空泡化现象, 细胞壁由清晰变得模糊再到颜色加深变黑。随汞浓度的持续增加, 最终导致细胞壁两侧细胞质的空泡化。

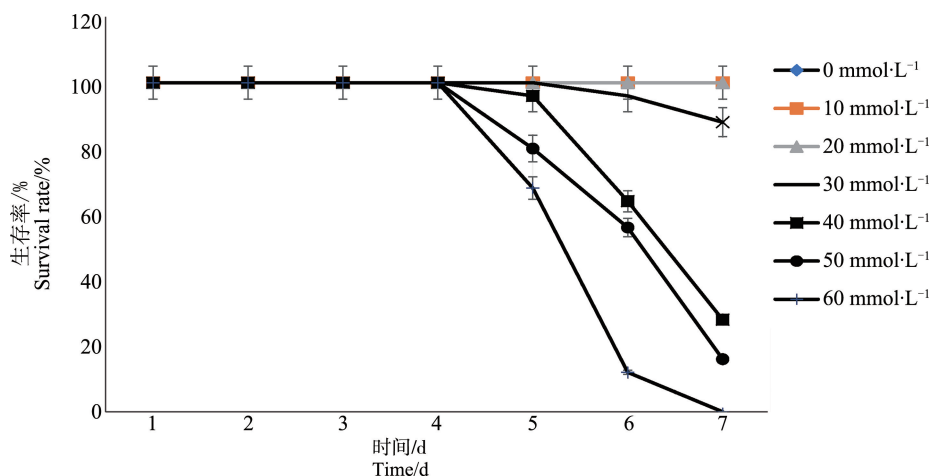


图1 重金属 Hg 胁迫下齿肋赤藓生物结皮存活率随时间的变化

Fig. 1 The survival rate of *Syntrichia caninervis* under the Hg stress

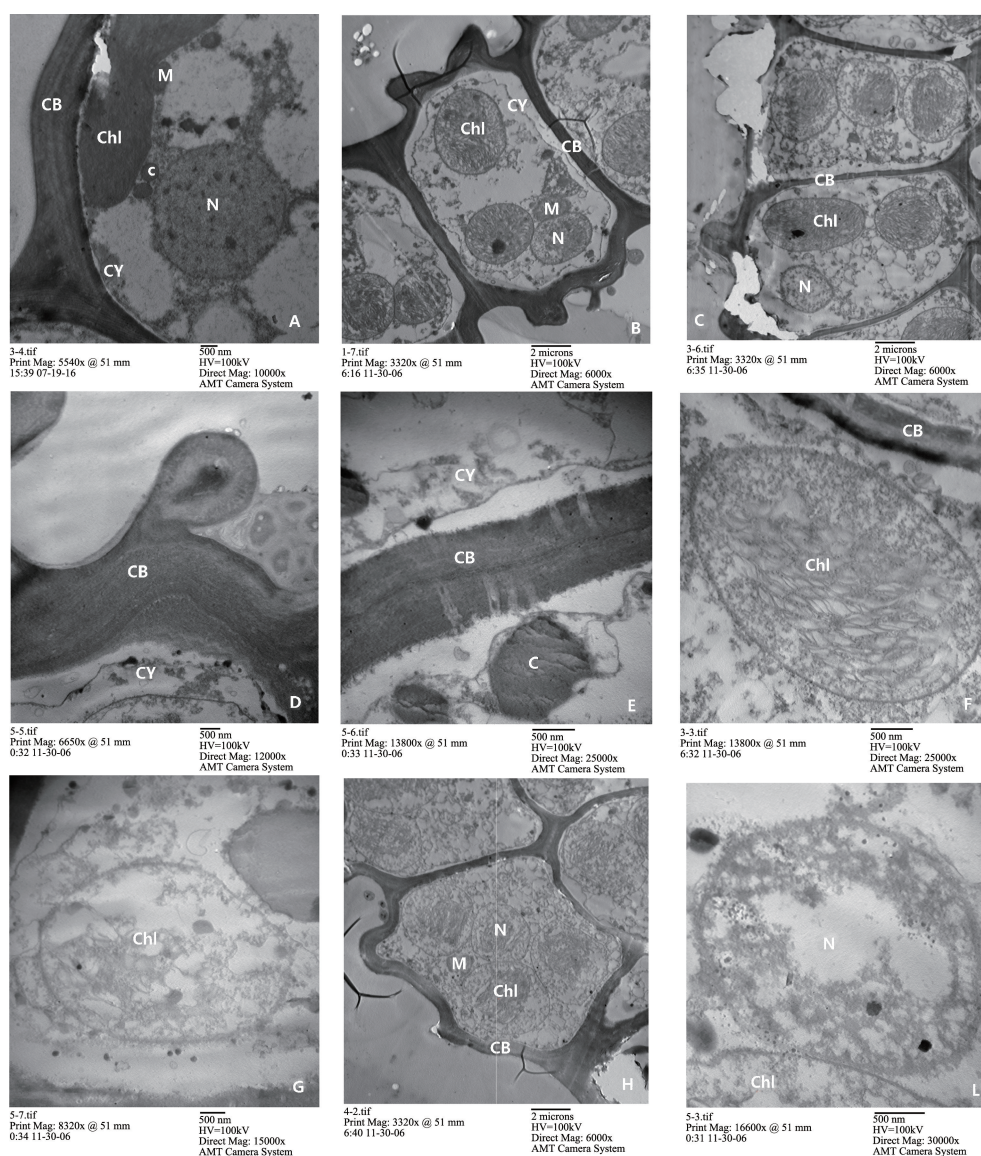


图2 不同 Hg 浓度下齿肋赤藓生物结皮细胞壁、叶绿体和细胞核的变化

注: A. 0 和 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下, 细胞器超微结构正常, 未发生变化; B. 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下, 细胞器出现轻微损伤; C. 30 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下, 细胞器已出现一定程度的毒害损伤; D. 40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下, 细胞质壁分离现象加剧; E. 50 和 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下, 质壁分离现象明显, 细胞器模糊; F. 40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下, 叶绿体损伤程度加剧, 空泡化现象加剧; G. 50 和 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下, 叶绿体空泡化严重甚至出现叶绿体解体现象; H. 40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下, 细胞核损伤程度加剧, 空泡化现象加剧; I. 50 和 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下, 细胞核严重空泡化甚至完全解体, 细胞质出现外溢的现象。M 表示线粒体, CB 表示细胞壁, Chl 表示叶绿体, c 表示圆形颗粒, N 表示细胞核, CY 表示细胞膜。

Fig. 2 Changes of the cell wall, chloroplasts and nuclei of *Syntrichia caninervis* at different concentrations of Hg

Note: Fig.A. 0 and 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg, the normal physiological state of cell structures; Fig.B. 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg, the slight changes of cell structures than the normal; Fig.C. 30 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg, the observed damage of cell structures than the normal; Fig.D. 40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg, cytoplasmic wall separation was intensified; Fig.E. 50 and 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg, cytoplasmic wall separation was more significant, and the cell structure was fuzzy; Fig. F. 40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg, the degree of chloroplast damage was aggravated, and the vacuolization was aggravated; Fig.G. 50 and 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg, the vacuolization of chloroplast was serious and even the disintegration of chloroplasts occurred; Fig.H. 40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg, the degree of nuclei damage was aggravated, and the vacuolization was aggravated; Fig.I. 50 and 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg, the vacuolization of the nuclei was serious or the nuclei was even completely disintegrated, resulting in cytoplasm overflow. M stands for mitochondrial; CB stands for cytoderm; Chl stands for chloroplast; c stands for round granas; N stands for the nucleus; CY stands for cell membrane.

2.2.2 对齿肋赤藓生物结皮叶绿体的影响

不同浓度汞对齿肋赤藓生物结皮叶肉细胞叶绿体的影响如图2所示。在 $0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下,细胞叶绿体形态清晰,呈狭长的梭状,叶绿体膜结构完整,基质均匀,类囊体片层结构有规律地排列,内部附少量的淀粉粒;在 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时,细胞叶绿体结构仍趋完整,未发生变化,清楚观察到完整的基粒及基质片层结构,叶绿体仅轻微肿胀;汞浓度达到 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,叶绿体持续肿胀,淀粉颗粒消失,基粒与基质片层也相应减少,基质片层轻微降解及扭曲模糊,双层膜结构轻微损伤;在 $30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下,叶绿体肿胀明显,叶绿体明显空泡化,基粒与基质片层模糊,叶绿体周围细胞器解体; $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时,叶绿体空泡化加剧、严重肿胀,叶绿体膜出现褶皱变形及内外模糊严重;当汞浓度 $\geq 50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,叶绿体空泡化严重至解体,被膜结构模糊而消失,叶绿体内物质出现外溢,类囊体、基质和基粒片层结构消失。

2.2.3 对齿肋赤藓生物结皮细胞核的影响

不同汞浓度对齿肋赤藓生物结皮叶肉细胞核的影响如图2所示。在 $0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下,可清晰观察到细胞核结构及核膜; $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞浓度下,细胞核整体仅微小变化,仍为完整的细胞核;当汞浓度为 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,细胞核萎缩,核膜开始出现模糊现象; $30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时,细胞核严重模糊,有一定解体现象出现; $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下,细胞内各细胞器呈模糊化,大部分细胞器出现空泡化;当汞浓度 $\geq 50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,细胞核严重空泡化甚至完全解体,细胞质出现外溢现象。

3 讨论 (Discussion)

植物长期生长在重金属环境中,重金属离子进入细胞,影响细胞组织代谢活动的多个细胞器,干扰细胞正常的物质合成,造成直接的毒害效应^[21]。实验结果表明,受 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 汞胁迫时,齿肋赤藓生物结皮的叶肉细胞器清晰可见,结构完整,未见明显损伤,表明齿肋赤藓生物结皮有弱耐汞性。随着汞浓度和胁迫时间的增加,齿肋赤藓生物结皮细胞器受破坏程度增加,这与维管束植物叶片受重金属毒害效应的结果相似,且与非维管束植物受其他胁迫(干旱和盐)时叶肉细胞器的变化相似。

齿肋赤藓生物结皮叶肉细胞器是与外界物质交换、运输的重要组织,外界胁迫会导致细胞器(细胞壁、叶绿体和细胞核)损伤。细胞壁是重金属离子进

入细胞内的第一道屏障,能够沉淀、抵御重金属离子进入细胞或富集在细胞壁外部,直接削弱重金属影响细胞的代谢活动^[22-23]。进入叶肉细胞内的重金属离子,对光合作用场所——叶绿体产生影响,类囊体可维系膜电荷稳定,传递光能和维持光合系统正常功能。受毒害的类囊体会降低及扰乱植物对光量子的吸收传递和转化,削弱光合作用^[24]。嗜饿颗粒是评价植物叶肉细胞受损害的指标之一,叶绿体内嗜饿颗粒的增多,表征细胞合成较多的脂类物质,对膜结构完整性及正常代谢活动起到保护作用^[25],这也是对胁迫响应的反馈。将齿肋赤藓生物结皮叶肉细胞超微结构变化和存活率的结果综合分析,发现齿肋赤藓生物结皮叶肉细胞在低浓度($\leq 20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)时未受伤害,可能是齿肋赤藓生物结皮有较厚的细胞壁,将重金属部分离子阻隔在细胞壁外,或富集在细胞壁上,降低重金属离子进入细胞质的量,减弱细胞器的损伤。随着浓度增加,细胞壁被损坏,失去保护作用,叶绿体明显肿胀,空泡化严重,叶绿体膜出现褶皱变形,基粒与基质片层模糊,嗜饿颗粒增多变大,细胞核解体及核仁消失,最终整个细胞器完全破损。这与人对植物叶肉细胞器超微结构的观测是一致的^[6,26]。

在低汞浓度($\leq 20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)下,齿肋赤藓生物结皮叶肉细胞无显著性变化,汞浓度为 $30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,叶肉细胞器逐渐受胁迫伤害,且存活率与低浓度时比较有显著性差异,可以推测 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 是齿肋赤藓生物结皮受汞胁迫的阈值。当汞浓度较低时,叶肉细胞器会限制重金属离子进入细胞,或将其富集在细胞壁外,这与Gao等^[6]得出的细胞壁的阻隔作用可维护细胞器结构的完整性的结论一致。倪才英^[26]发现铜胁迫下海州香薷(*E. splendens*)和紫云英(*A. sinicus*)的细胞壁出现裂隙模糊等损伤,这与本研究中观察到的现象相似。但是齿肋赤藓生物结皮是非维管束植物,不同类型的植物损伤机理是否一致,仍需进一步深入研究。当汞浓度 $\geq 50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,富集在细胞壁中重金属离子浓度超过阈值,致使质壁分离现象明显,叶绿体膨胀严重,膜结构完全破裂,类囊体、基粒及基质片层结构完全消失,细胞核解体及核仁消失,这与前人的研究结果一致^[27-30]。这由于突破了细胞壁对重金属离子阻隔及富集的有限作用,重金属离子直接伤害叶肉细胞器,使组织代谢功能消失而致其死亡。已有研究表明,重金属抑制了叶绿素合成相关酶的活性,引起细胞

过氧化,造成膜结构损伤^[31-32]。本实验观察到的叶绿体内嗜锲颗粒增多,也是细胞过氧化的现象,因没有涉及细胞酶活性的考察,所以只能通过膜结构的损伤来进行对比,结果仍具有一定的相似性。另有研究表明,重金属胁迫会影响叶绿素的合成^[33],降低类囊体膜上电子传递和希尔反应活性,抑制光合作用^[34-35]。本实验观察到类囊体膜的损伤和随后消失,是其内部生理代谢活性转变的过程,具体机制的确定还需借助其他技术手段进一步研究。叶肉细胞内叶绿体在重金属胁迫下,由细胞边缘位置向细胞中央移动,这可能是细胞的内含物或其他细胞器受到伤害,产生形态变形或位于细胞内发生偏移,还可能因为细胞内渗透压大小不均衡使叶绿体发生了位移^[32,36-43],这还有待进一步确定。

完整的细胞器结构是维系细胞功能的保障,重金属对植物细胞超微结构的伤害不仅是破坏某个或几个细胞器,而是对细胞内膜结构及非膜结构系统的复合伤害。植物的毒害效应是诊断重金属污染的重要依据^[39]。不少学者提出,重金属浓度不同对植物细胞造成的毒害效应有所差异^[40],本研究结果也显示,重金属对细胞超微结构的毒害效应与离子浓度密切相关。细胞器通过减少重金属离子的跨质膜运输,降低原生质体中重金属离子浓度,维持细胞的正常生理代谢^[41],当遭受高浓度重金属胁迫时,细胞质膜容纳重金属离子的功能损坏,细胞膜受损^[42],膜结构和流动性改变^[43]。植物通过长期的适应和演化,可进化出抵抗重金属毒害的机制,形成解毒过量的痕量元素的精细体系^[44]。

齿肋赤藓生物结皮是所研究荒漠系统中重要的优势群落,本研究从叶肉细胞超微结构层面揭示了齿肋赤藓对重金属汞的细胞生物学抗性机制,确定了 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的耐受性阈值;随着汞浓度和培养时间的增加,齿肋赤藓生物结皮的存活率可反映叶肉细胞器的毒害程度;不同浓度的汞对齿肋赤藓生物结皮叶肉细胞器的毒害效应、致死率具有差异性。同时,还需从生理生态等视角分析齿肋赤藓生物结皮对汞的耐受性原理和机制。

致谢:本研究受新疆大学绿洲与生态重点实验室、国家自然科学基金项目(31260112)和新疆联合基金项目(2017D01C058)资助。

通讯作者简介:霍举颂(1991—),男,生态学博士,主要研究方向为土壤生态学和植物生理生态学。

参考文献(References):

- [1] 杨国远, 万凌琳, 雷学青, 等. 重金属铅、铬胁迫对斜生栅藻的生长、光合性能及抗氧化系统的影响[J]. 环境科学学报, 2014, 34(6): 1606-1614
Yang G Y, Wan L L, Lei X Q, et al. Effects of lead and chromium on the growth, photosynthetic performance, and antioxidant activity of *Scenedesmus obliquus* [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2014, 34(6): 1606-1614 (in Chinese)
- [2] Bojórquez-Quintal E, Velarde-Buendía A, Ku-González Á, et al. Mechanisms of salt tolerance in habanero pepper plants (*Capsicum chinense* Jacq.): Proline accumulation, ions dynamics, root-shoot partition and compartmentation [J]. Frontiers in Plant Science, 2014, 5: 605
- [3] 郭瑞, 李峰, 周际, 等. 亚麻响应盐、碱胁迫的生理特征[J]. 植物生态学报, 2016, 40(1): 69-79
Guo R, Li F, Zhou J, et al. Eco-physiological responses of linseed (*Linum usitatissimum*) to salt and alkali stresses [J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2016, 40(1): 69-79 (in Chinese)
- [4] 刘祖祺, 张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京: 农业出版社, 1994: 371-372
- [5] 赵可夫. 植物抗盐生理[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993: 222-223
- [6] Gao H J, Yang H Y, Bai J P, et al. Ultrastructural and physiological responses of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets to gradient saline stress [J]. Frontiers in Plant Science, 2014, 5: 787
- [7] Hall J L, Williams L E. Transition metal transporters in plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54: 2601-2613
- [8] 朱金方, 刘京涛, 陆兆华, 等. 盐胁迫对中国柽柳幼苗生理特性的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(15): 5140-5146
Zhu J F, Liu J T, Lu Z H, et al. Effects of salt stress on physiological characteristics of *Tamarix chinensis* Lour. Seedlings [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(15): 5140-5146 (in Chinese)
- [9] Lewis S, Handy R D, Cordi B, et al. Stress proteins (HSPs): Methods of detection and their use as an environmental biomarker [J]. Ecotoxicology, 1999, 8: 351-368
- [10] Chai T Y, Didierjean L, Burkard G, et al. Expression of a green tissue-specific 11 kDa proline-rich protein gene in bean in response to heavy metals [J]. Plant Science, 1998, 133: 47-46
- [11] 郭华, 陈俊任, 钟斌, 等. 毛竹根际与非根际土壤重金属、理化性质及酶活性特征[J]. 生态学报, 2017, 37(18): 6149-6156
Guo H, Chen J R, Zhong B, et al. Heavy metal concentra-

- tion, enzyme activity, and physical and chemical properties of rhizosphere and non-rhizosphere soils containing Moso bamboo [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(18): 6149-6156 (in Chinese)
- [12] 魏美丽, 张元明. 脱水对生物结皮中齿肋赤藓光合色素含量和叶绿体结构的影响[J]. *中国沙漠*, 2010, 30(6): 1311-1318
- Wei M L, Zhang Y M. Effects of dehydration on photosynthetic pigment content and chloroplast ultrastructure of *Syntrichia caninervis* in biological soil crusts [J]. *Journal of Desert Research*, 2010, 30(6): 1311-1318 (in Chinese)
- [13] 刘卫国, 丁俊祥, 邹杰, 等. NaCl 对齿肋赤藓叶肉细胞超微结构的影响[J]. *生态学报*, 2016, 36(12): 3556-3563
- Liu W G, Ding J X, Zou J, et al. Ultrastructural responses of *Syntrichia caninervis* to a gradient of NaCl stress [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(12): 3556-3563 (in Chinese)
- [14] Mason R P, Morel F M M, Hemond H F. The role of microorganisms in elemental mercury formation in natural waters [J]. *Water Air and Soil Pollution*, 1995, 80: 775-787
- [15] Parks J M, Johs A, Podar M, et al. The genetic basis for bacterial mercury methylation [J]. *Science*, 2013, 339: 1332-1335
- [16] Podar M, Gilmour C C, Brandt C C, et al. Global prevalence and distribution of genes and microorganisms involved in mercury methylation [J]. *Science Advances*, 2015, 1: e1500675
- [17] Christensen G A, Wymore A M, King A J, et al. Development and validation of broad-range qualitative and clade-specific quantitative molecular probes for assessing mercury methylation in the environment [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82: 6068-6078
- [18] Carrasco-Gil S, Alvarez-Fernández A, Sobrino-Plata J, et al. Complexation of Hg with phytochelatins is important for plant Hg tolerance [J]. *Plant Cell and Environment*, 2011, 34(5): 778-791
- [19] 张元明, 陈晋, 王雪芹, 等. 古尔班通古特沙漠生物结皮的分布特征[J]. *地理学报*, 2005, 60(1): 53-60
- Zhang Y M, Chen J, Wang X Q, et al. The distribution patterns of biological soil crust in Gurbantunggut Desert [J]. *Acta Geographica Sinica*, 2005, 60(1): 53-60 (in Chinese)
- [20] Belnap J, Phillips S L, Miller M E. Response of desert biological soil crusts to alterations in precipitation frequency [J]. *Oecologia*, 2004, 141: 306-316
- [21] Zhang Y. Toxicity of heavy metals to *Hordeum vulgare* [J]. *Actaentiae Circumstantiae*, 1997, 17: 21-30
- [22] Qureshi S, Richards B K, Hay A G, et al. Effect of microbial activity on trace element release from sewage sludge [J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37: 3361-3366
- [23] Lebeau T, Bagot D, Jézéquel K, et al. Cadmium biosorption by free and immobilized microorganisms cultivated in a liquid soil extract medium: Effects of Cd, pH and techniques of culture [J]. *Science of the Total Environment*, 2002, 291: 73-83
- [24] Verkleij J A C, Koevoets P L M, Blake-Kalff M M A, et al. Evidence for an important role of the tonoplast in the mechanism of naturally selected zinc tolerance in *Silene vulgaris* [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1998, 153: 188-191
- [25] 赵曼容, 贾恢先. 几种典型盐地植物超微结构的研究[J]. *干旱区资源与环境*, 1993(Z1): 334-337
- Zhao M R, Jia H X. Studies on the ultrastructure of several typical halophytes [J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 1993(Z1): 334-337 (in Chinese)
- [26] 倪才英. 海州香薷(*E. splendens*)和紫云英(*A. sinicus*)对铜胁迫的响应及根际活化机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2004: 6-7
- Ni C Y. Response and rhizosphere mechanism of *E. splendens* and *A. sinicus* under Cu stress [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2004: 6-7 (in Chinese)
- [27] Nir I, Klein S, Poljakoff-Mayber A. Changes in fine structure of root cells from maize seedlings exposed to water stress [J]. *Australian Journal of Biological Sciences*, 1970, 23: 489-492
- [28] 张黛静, 马建辉, 杨淑芳, 等. 硅对铜胁迫下小麦幼根细胞超微结构的影响[J]. *应用生态学报*, 2014, 25(8): 2385-2389
- Zhang D J, Ma J H, Yang S F, et al. Effects of silicon on the ultrastructures of wheat radical cells under copper stress [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(8): 2385-2389 (in Chinese)
- [29] 王钧, 邬卉, 薛生国, 等. 锰胁迫对杠板归细胞超微结构的影响[J]. *生态学报*, 2014, 34(4): 798-806
- Wang J, Wu H, Xue S G, et al. Manganese stress on the ultrastructures of a manganese tolerant plant, *Polygonum perfoliatum* L. [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(4): 798-806 (in Chinese)
- [30] 王毅, 杨士杰. 植物细胞核的凹入和核液泡的形成[J]. *植物学报*, 1994, 36(12): 963-966
- Wang Y, Yang S J. Nuclear invagination and nuclear vacuole formation in several plants [J]. *Acta Botanica Sinica*, 1994, 36(12): 963-966 (in Chinese)
- [31] 徐向华. 超积累植物商陆吸收累积锰机理研究[D]. 杭

- 州: 浙江大学, 2006: 9-11
- Xu X H. Study on absorption and accumulation mechanisms of manganese in hyperaccumulator *Phytolacca acinosa* Roxb. (Phytolaccaceae) [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006: 9-11 (in Chinese)
- [32] 刘文娟, 袁澍, 林宏辉. 高等植物的光系统 II 蛋白磷酸化机制及其对环境胁迫的响应[J]. 植物生理学报, 2007, 43(6): 995-1001
- Liu W J, Yuan S, Lin H H. Mechanism of phosphorylation of photosystem II proteins in higher plants and its response to environmental stress [J]. Plant Physiology Journal, 2007, 43(6): 995-1001 (in Chinese)
- [33] 王泽港, 骆剑峰, 刘冲, 等. 单一重金属污染对水稻叶片光合特性的影响[J]. 上海环境科学, 2004(6): 240-243
- Wang Z G, Luo J F, Liu C, et al. Effects of individual heavy metals on photosynthetic characteristics in rice leaves [J]. Shanghai Environmental Sciences, 2004 (6): 240-243 (in Chinese)
- [34] 徐静, 唐运来, 王建宝, 等. Cs 对菠菜叶片光合作用影响的研究[J]. 核农学报, 2015, 29(5): 986-994
- Xu J, Tang Y L, Wang J B, et al. Study on the effects of cesium on photosynthesis of spinach [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2015, 29(5): 986-994 (in Chinese)
- [35] 赵文赛, 孙永林, 刘西平. 干旱-复水-再干旱处理对玉米光合能力和生长的影响[J]. 植物生态学报, 2016, 40(6): 594-603
- Zhao W S, Sun Y L, Liu X P. Effects of drought-rewatering-drought on photosynthesis and growth of maize [J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2016, 40(6): 594-603 (in Chinese)
- [36] 王占军, 王静, 焦小雨, 等. 盐胁迫及外源钙处理对盐肤木种子萌发的影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(3): 706-714
- Wang Z J, Wang J, Jiao X Y, et al. Effects of salt stress and exogenous calcium on seed germination of *Rhus chinensis* [J]. Genomics and Applied Biology, 2016, 35(3): 706-714 (in Chinese)
- [37] 赵琪, 戴绍军. 蛋白质组学研究揭示的植物根盐胁迫响应机制[J]. 生态学报, 2012, 32(1): 274-283
- Zhao Q, Dai S J. Salt-responsive mechanisms in the plant root revealed by proteomic analyses [J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(1): 274-283 (in Chinese)
- [38] 王佳珍, 刘倩, 高娅妮, 等. 植物对盐碱胁迫的响应机制研究进展[J]. 生态学报, 2017, 37(16): 5565-5577
- Wang Q Z, Liu Q, Gao Y N, et al. Review on the mechanisms of the response to salinity-alkalinity stress in plants [J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(16): 5565-5577 (in Chinese)
- [39] 赵景联. 环境修复原理与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 55-69
- [40] 徐勤松, 施国新, 杜开和. 锌胁迫下水车前叶细胞自由基过氧化损伤与超微结构变化之间关系的研究[J]. 植物学报, 2001, 18(5): 597-604
- Xu Q S, Shi G X, Du K H. Studies on correlation between peroxidation damage by free radicals and ultra-structural changes of mesophyll cells in *Ottelia alismoides* (L.) Pers induced by Zn pollution [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2001, 18(5): 597-604 (in Chinese)
- [41] Gardea-Torresdey J L, Tiemann K J, Gonzalez J H, et al. Phytoremediation of hazardous metal ions by alfalfa: A study of calcium and magnesium interferences [J]. Journal of Hazardous Materials, 1997, 56: 169-179
- [42] Quartacci M F, Cosi E, Navariizzo F. Lipids and NADPH-dependent superoxide production in plasma membrane vesicles from roots of wheat grown under copper deficiency or excess [J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52: 77-84
- [43] Meharg A A. The role of the plasmalemma in metal tolerance in angiosperms [J]. Physiologia Plantarum, 1993, 88: 191-198
- [44] 薛生国. 超积累植物商陆的锰富集机理及其对污染水体的修复潜力[D]. 杭州: 浙江大学, 2005: 5-8
- Xue S G. Mechanism of manganese hyperaccumulation by *Phytolacca acinosa* and potential for phytoremediation of metal-contaminated waters [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2005: 5-8 (in Chinese) ◆