

^{60}Co γ 射线对小麦、玉米和黑麦根尖 细胞亚微结构的影响

黄承彦

赵世绪

(山东农科院作物研究所) (北京农业大学)

摘要 本实验对小麦、玉米和黑麦萌发种子进行 ^{60}Co γ 射线照射,取根尖分生组织作电镜制片观察。剂量: 77.20 Gy、144.75 Gy 和 289.50 Gy; 剂量率: 1.42 ± 0.019 Gy/min。结果表明: 随辐照剂量的增加和辐照后时间的延长,细胞的液泡化程度逐渐加强以致呈强烈液泡化状态。内质网膨胀形成带状、环状和网状液泡。内质网和高尔基体的活动与细胞的液化有极为密切的关系。细胞核变形并形成微核。线粒体嵴减少,基质呈电子透明态,最后双层膜局部破裂形成细胞内的残损结构。高尔基体、细胞膜及细胞壁等结构没有明显损伤。本文讨论了辐射处理后细胞的液泡化过程、微核的形成及细胞器的变化等。

关键词 γ 射线; 植物细胞; 亚微结构; 影响。

前 言

长期以来植物电离辐射效应的研究多集中在细胞核及细胞分裂过程上^[4,11,22],而对细胞质中各种结构成份的研究较少。一些作者曾发现细胞质中某些代谢活动在辐射后的异常变化^[5,16,23,26]。然而细胞正常的代谢活动在相当程度上依赖于细胞亚微结构的完整性,那么受电离辐射后细胞内组成成分及代谢活动的异常变化,即可通过与之有关的亚微结构的异常变化直接表现出来。因此深入研究辐射后植物细胞的亚微结构有利于人们把生理、遗传及结构等异常变化进行综合分析,全面正确地解释电离辐射对植物的作用机制。

细胞亚微结构辐射效应的研究以动物为材料的居多^[1,10~13,26]。在植物中 E.T.Graham^[14]曾观察了玉米茎尖细胞,发现浓缩的细胞核以及细胞质内密集缠绕的片层同心状液泡内含物等异常现象。赵世绪等^[6]对黑麦根尖细胞的观察发现: 1.5×2.58 c/kg(15000 R) γ 射线照射后细胞的液泡化程度显著增加,线粒体变形、细胞核变形或形成微核,但对液泡和微核的形成过程及细胞器的变化还不太清楚。本实验在前人工作基础上,进一步观察植物根尖细胞受 ^{60}Co γ 射线照射后液泡化过程、微核的形成及内质网、线粒体、高尔基体等结构的变化。

材 料 和 方 法

为避免种内遗传差异,本实验选用遗传一致的黑麦 AR-98、玉米“北7号”和小麦“京春77号”萌发种子为材料,根长1~2 cm 时用 ^{60}Co γ 射线辐射处理,以未照射材料为对照。

实验分两部分: (1) 以77.20、144.75 和 289.50 Gy 分别处理材料。剂量率: 1.42 ± 0.019 Gy/min。1 小时后取根尖分生组织固定观察。(2) 用 144.75 Gy 的剂量照射小麦萌发种子,照射后 10 min、30 min、1 h、2 h、4 h、6 h 和 12 h 分别取根尖固定观察,在 10 min、4 h 和 12 h 设对照。实验采用 3%戊二醛和 2%锇酸双重固定,系列浓度的丙酮逐级脱水, Epon 812 包埋液渗透包埋,

37℃、45℃和60℃逐渐聚合。LKB-11800型修块机修块，LKB-2088型切片机切片，醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色，JEM-100S和JEM-100CX电子显微镜下观察照像。

为确定实验结果的可靠性，对未照射材料进行了检验性测量观察，并将测量结果与前人资料进行比较。本实验每处理做三个重复，每重复作6个包埋块。全实验共作3次。

结 果 与 讨 论

1. 对照

细胞结构清晰(图1)。核圆形或椭圆形，双层核膜、多核孔。内质网多核糖体附着，高尔基体结构正常。线粒体呈圆、椭圆或柱形，双层膜，嵴丰富；基质均匀，其内可见DNA区和核糖体等(图6)。细胞壁较薄，多胞间连丝。细胞内无液泡或具少许小液泡，游离核糖体丰富，对细胞中诸结构的测量结果见表1。

表1 正常根尖细胞亚微结构测量结果***

Table 1 List of measured ultrastructure of normal root tip cells.

测量结构 Measured structures	测量长度($\times 10^{-10}\text{m}$) Measured dimensions	资料记载长度($\times 10^{-10}\text{m}$) Data account
核膜厚 Nuclear membrane thickness	80	75
核周腔宽 Width of perinuclear space	300~450	200~400
核孔直径 Nuclearpore diameter	700~800	400~1000
内质网膜 ER. membrane	60	50~70
内质网腔 ER. space	300~500	
线粒体内膜 Mito. inner membranc	60	50~70
线粒体外膜 Mito. outer membrane	60	60~70
线粒体膜间腔 Perimitochondrial space	200~300	200~250
液泡膜 Vacuole membrane	60~90	60~80
高尔基体潴泡膜 Gol. cisterna membrane	50~70	60~80

* 为10次测量的结果或平均值。

** 资料记载以郑国谔编《细胞生物学》，(1980)，为主要参考。

2. 辐射与细胞核及微核

77.2 Gy 辐射，细胞核形状不规则并且发现大小不等的微核，包括有丝分裂末期微核(图2)和分裂间期细胞微核(图4.5)两种。77.2 Gy 照射的小麦材料只见到分裂末期细胞微核，144.75 Gy 照射时才看到间期细胞微核，这提示有丝分裂细胞更容易形成微核，间期细胞微核的

形成需较高剂量的照射。

电离辐射导致微核形成多有报道^[7,21],其形成过程及机理尚无定论。I. V. Sudhakaran^[17],发现辐射后分裂细胞的纺锤体形成和染色体组定向移动受阻,分裂后期多染色体或染色单体片段及染色体桥等,末期形成不同数量和大小微核。我们发现:144.75 Gy、289.50 Gy 辐射时间期间细胞双层核膜区段性破坏,异染色质减少且分散,核膜外突形成突泡(图3)或内陷形成沟。这与肃佩新^[4]、郭宝江^[7]等所叙核出芽相似。Yonei^[24]的研究表明:辐射引起质膜的过氧化作用及DNA结合产物形成,这种物质不仅损伤膜,而且损伤DNA分子。陈德仑等^[3]认为:在真核细胞中核内大分子原是处于紧密联系相互制约的一个稳定平衡系统,电离辐射破坏了平衡使核从形状上作出相应反应。由此可见核出芽与核膜及染色质的损伤有关并有可能进一步发展成微核。

3. 辐射与细胞器

线粒体:77.2 Gy 照射时线粒体变化不明显,个别变形、内嵴减少。144.75 Gy、289.5 Gy 照射时内嵴明显减少或消失,双层膜局部破裂(图7、8),基质呈电子透明态。线粒体是动力工厂,主要为细胞内各种代谢活动提供能源物质—ATP。线粒体结构的损伤会大大影响ATP的合成,同时也给细胞增加了负担(破损线粒体的消化、清除等),这可能是导致植物生长抑制和死亡的一个主要原因。

内质网和高尔基体:77.2 Gy 照射或144.75 Gy 照射后10 min,高尔基及内质网小泡明显增多(图9、10),同时可见内质网局部膨胀和核糖体脱落。1小时后多见内质网膨大环(图12)。高剂量辐射使细胞某一区域内质网多处膨胀形成网状空泡(图13),这可能标志着内质网结构的损伤,但此时高尔基体结构正常。看来二者早期的变化不一定是损伤性变化,而是生理功能上的反应,这对受损生物大分子的修复或损伤结构的消化水解可能有一定的积极作用。

液泡:随辐射剂量增加和辐射后时间的延长,细胞内液泡数逐渐增多、体积增大,最后几个较大液泡相互联结使细胞呈强烈液泡化状态(图19、20)。液泡除圆形、椭圆形和环形外还发现带状液泡和液泡网(图14、18)。环形液泡由双层膜环绕一团原生质或分解的电子致密物质团形成,膜间腔较大,(图16、15),从形态上看与内质网膨大环有较直接的联系。电子致密物质或膜状结构常发现于圆形液泡中,并有液泡融合现(图17)。带状液泡有时和内质网相连,可能由内质网膨胀形成,这由膜上少许核糖体的存在而证实(图11)。液泡网由许多长形、椭圆形或环形液泡之间以内质网状结构联系构成。

细胞壁及细胞质:两者对辐射似乎很大敏感。144.75 Gy 和289.5 Gy 照射后细胞局部向内凹陷,144.75 Gy 照射后6小时观察到质壁分离现象,但细胞膜并无转化成液泡膜的迹象,相反在细胞膜和细胞壁之间常可看到一些泡状和膜层状结构,似乎是排出的液泡内含物。

4. 辐射与细胞液泡化

液泡属于细胞内膜系统的一个组成部分,可以推测:辐射后液泡迅速增多及液泡化过程与膜系统中其它成员的变化有关。我们对细胞内膜系统进行了大量观察,结果表明:辐射处

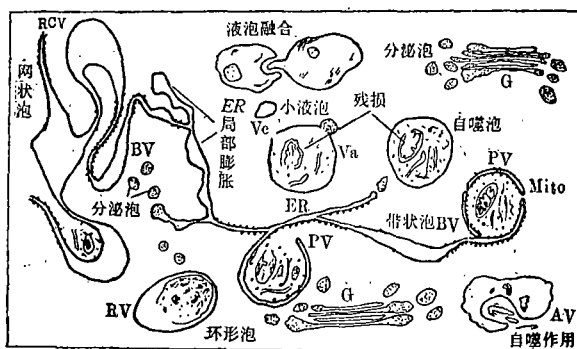


图 21 ^{60}Co γ 射线照射后根尖细胞液泡的形成模式图

Fig. 21 Formation of vacuoles in root tip cells exposed to gamma rays.

G 高尔基体; ER 内质网, Mito 线粒体, BV 带状液泡, AV 自体吞噬泡, PV 前液泡, RV 环状液泡, RCV 液泡网, Va 液泡, Ve 小泡, 残损 Mito.

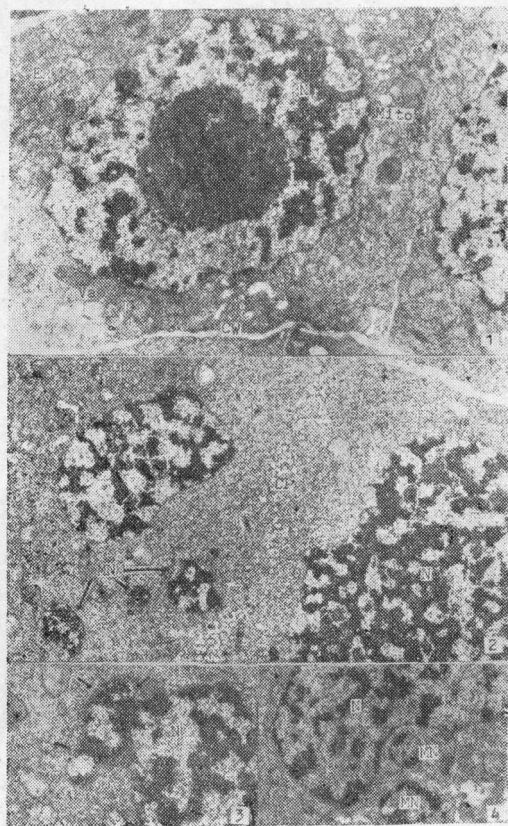


图 1~4

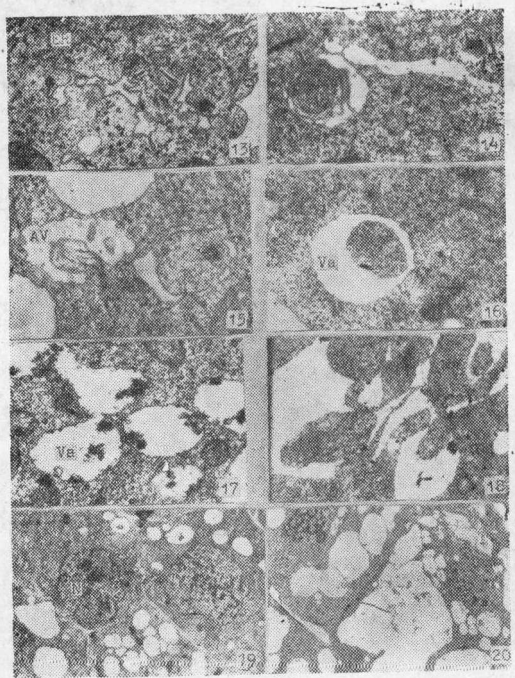


图 13~20

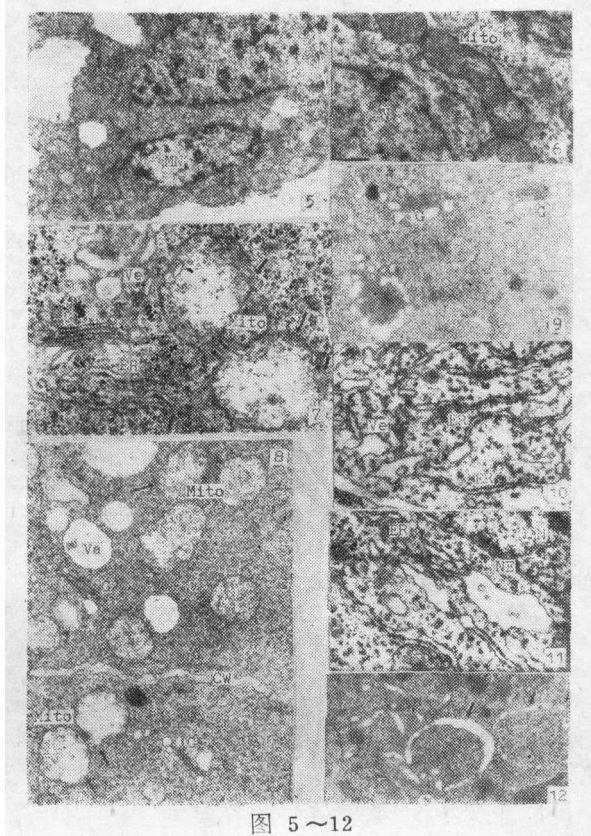


图 5~12

电镜照片说明: 图 1~20

N: 细胞核(nucleus), Mito: 线粒体(mitochondria), ER: 内质网(endoplasmic reticulum), G: 高尔基体(golgi body), CW: 细胞壁(cell wall), MN: 微核(micronucleus), CP: 细胞板(cell plate), Va: 液泡(vacuole), Ve: 小液泡(vesicle), NE: 核膜(nuclear envelope), AV: 自体吞噬泡(autophagic vacuole)

1. 细胞及细胞核(对照, 小麦), $\times 3,000$
2. 分裂末期细胞微核(77.2 Gy, 小麦), $\times 3,000$
3. 核出芽现象(144.75 Gy, 小麦), $\times 15,000$
4. 间期细胞微核(144.74 Gy, 黑麦), $\times 10,000$
5. 间期微核(77.2 Gy, 黑麦), $\times 8,000$
6. 线粒体(对照, 玉米), $\times 20,000$
7. 线粒体(289.5 Gy, 玉米), $\times 30,000$
8. 线粒体(144.75 Gy, 2 小时, 小麦), $\times 10,000$
9. 高尔基体(144.75 Gy, 10 min, 小麦), $\times 20,000$
- 10.11. 内质网(144.75 Gy, 30 min, 小麦), $\times 10,000$
12. 内质网膨大环(289.5 Gy, 黑麦), $\times 15,000$
13. 网状泡(289.5 Gy, 玉米), $\times 30,000$
14. 液泡(144.75 Gy, 30 min, 小麦), $\times 10,000$
15. 自体吞噬泡(144.75 Gy, 玉米), $\times 20,000$
16. 液泡(289.5 Gy, 玉米), $\times 20,000$
17. 液泡(144.75 Gy, 1 h, 小麦), $\times 15,000$
18. 液泡网(289.5 Gy, 小麦), $\times 4,000$
19. 细胞(144.75 Gy, 黑麦), $\times 2,000$
20. 细胞(289.5 Gy, 玉米) $\times 2000$

Explanation of figures, Fig. 1~20

N: Nucleus, Mito: Mitochondria, ER: Endoplasmic Reticulum, G: Golgi body, CW: Cell Wall, MN: Micro-Nucleus, CP: Cell Plate, Va: Vacuole, Ve: Vesicle, NE: Nuclear Envelope, AV: Autophagic Vacuole.

1. cell and nucleus, (ck. wheat) $\times 3,000$
2. micronuclei of dividing cell (77.20 Gy, wheat), $\times 3,000$
3. change of nuclear shape (144.75 Gy, 1 h, wheat), $\times 15,000$
4. micronucleus in interphase cell (144.75 Gy, rye) $\times 10,000$
5. micronucleus in interphase cell (77.20 Gy, rye), $\times 8,000$
6. mitochondria (ck., maize), $\times 20,000$
7. mitochondria (289.50 Gy, maize), $\times 30,000$
8. mitochondria (144.75 Gy, 2 h., wheat), $\times 10,000$
9. golgi body (144.75 Gy, 10 min., wheat), $\times 20,000$
10. 11. endoplasmic reticulum (144.75 Gy, 30 min., wheat), $\times 10,000$
12. ring-like structure derived from ER. (289.50 Gy, rye), $\times 15,000$
13. reticular structure derived from ER. (289.50 Gy, wheat), $\times 30,000$
14. vacuole (144.75 Gy, 30 min., wheat), $\times 10,000$
15. autophagic vacuole (144.75 Gy, maize), $\times 20,000$
16. vacuole (289.50 Gy, maize), $\times 20,000$
17. vacuoles (144.75 Gy, 1 h., wheat) $\times 15,000$
18. reticular vacuoles (289.50 Gy, wheat), $\times 4,000$
19. vacuolized cell (144.75 Gy, maize), $\times 2,000$
20. vacuolized cell (289.50 Gy, rye), $\times 2,000$

理早期高尔基体分泌功能增强与液泡的形成有间接的关系, 无高尔基体向液泡转变的证据。内质网膨大环(图 12)与环形液泡(图 14、16)形态相似, 似乎是液泡形成的不同阶段。一般认为内质网膨大环是一种前液泡(provacuole), 内含多种水解酶^[15]。另外, 高剂量辐射时内质网膨大形成的带状泡(图 11、14)和网状泡(图 13)与液泡网比较, 前者可能是后者的前身。据此推测: 液泡的形成在结构上与内质网的变化有直接关系。并可作模式图(见图 21)。

144.75 Gy 照射后不同时间固定材料的观察结果进一步揭示了细胞液泡化过程: 辐射早期高尔基体和内质网小泡增多, 30 min 后内质网开始膨胀, 带状泡和网状泡逐渐增多, 环形液泡内含物水解, 较小液泡融合形成较大的圆形液泡。网状泡在照射后一小时最早发现, 两小时后随着圆形液泡增多内质网膨大环减少。以后液泡之间相互融合, 液泡内含物分解, 细胞呈强烈液泡化状态。

液泡化是细胞分化衰老的象征。我们认为受辐射细胞的急剧液泡化并非是一个消极被动的过程, 它包含着受损大分子的修复、损伤结构的消化水解、及废物的清除等一系列主动的过程, 也是细胞由合成、分裂为主的代谢类型转变为分解为主的过程。这既节约了能源又加强了修复保护功能。当损伤完全修复后会再度表现出分生细胞的特性^[22]。当损伤严重时细胞将失去分裂能力, 逐渐衰老死亡。细胞受辐射后液泡迅速增多正是其代谢转化的结果。

参 考 文 献

- [1] 马淑亭, 叶忠全, 张树林, 细胞生物学杂志, 4(1), 30~31 (1982)。
- [2] 刘昭, 赵光, 许肇梅, 刘景祥, 王占田, 郭安熙, 原子能科学技术, 1, 109~111 (1964)。
- [3] 陈德仑, 中国科学(B辑), 2, 136~142 (1985)。
- [4] 肃佩新, 杨思普, 生物化学与生物物理进展, 5, 15~18(1977)。
- [5] 杨福愉, 林芝焕, 李玉熙, 李生广, 实验生物学报, 9(1), 261~268 (1964)。

- [6] 赵世绪, 敖光明, 刘瑞凝, 林庆文, 刘海虹, 冯继东, 北京农业大学学报, 9(1), 21~26 (1983).
- [7] 郭宝江, 李淑娟, 植物学报, 26(2), 134~139 (1984).
- [8] 赵继英, 王清芝, 李景福, 实验生物学报, 15(3), 305~314 (1982).
- [9] 顾瑞琦, 植物生理学通讯, 5, 1~6 (1981).
- [10] 龚伊红, 李昆, 司静懿, 马积庆, 钱昌年, 生物化学与生物物理学报, 6(1), 1~12 (1966).
- [11] A. J. Miah and A. Brunori, Radiat. Bot., 10, 87~94 (1970).
- [12] D. R. Holsten, Strahlentherapie, 139, 51~72 (1970).
- [13] E. Scherer and W. Vogell, Strahlentherapie, 106, 202~211 (1958).
- [14] E. T. Graham and E. G. Estela, Radiat. Bot., 11, 73~74 (1971).
- [15] F. Marty, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 75 (2), 852~856 (1978).
- [16] H. N. Ananthaswamy, U. K. Vakil and A. Sreenivasan, Radiat. Bot., 11, 1~12 (1971).
- [17] I. V. Sudhakaran, Cytologia, 36, 67~69 (1971).
- [18] J. E. Scaife and B. Hill, Can. J. Bioch. Physiol., 40, 1025~1042 (1962).
- [19] J. Remy, M. Martin and J. Haag, Mut. Res., 128, 169~175 (1984).
- [20] M. D. Ford, L. Martin and M. F. Lavin, Mut. Res., 125, 118~122 (1984).
- [21] M. Inoue, H. Hasegawa and S. Hori, Environ. Expe. Bot., 20, 27~30 (1980).
- [22] P. L. Webster and J. Van't Hof, Radiat. Bot., 10, 145~154 (1970).
- [23] S. Nano, Radiat. Bot., 11, 219~224 (1971).
- [24] S. Yonei, J. Radiat. Res., 23, 3 (1982).
- [25] T. Nakazawa, M. Miyahara and O. Yukawa, J. Radiat. Res., 24, 38 (1983).
- [26] W. A. Bari and G. D. Sorenson, Path. Microbiol., 27, 257~275 (1964).
- [27] W. U. Müller and C. Streffer, Mut. Res., 125, 65~70 (1984).
- [28] Y. Fujiwara, J. Radiat. Res., 23, 3 (1982).

(1986年8月6日收到)

INFLUENCE OF GAMMA-RAYS ON THE ULTRASTRUCTURES OF ROOT TIP CELLS OF RYE, MAIZE AND WHEAT

Huang Chengyan

(Shan Tong Provincial Academy of Agricultural Science)

Zhao Shixu

(Beijing Agricultural University)

ABSTRACT In this experiment, seedlings of rye, maize and wheat were exposed to gamma rays with the doses of 77.2 Gy, 144.75 Gy and 289.5 Gy and a dose rate of 1.42 Gy/min. Root tips were taken for electron microscopic studies. The results indicated: As the increase of exposures and elongation of time after exposure, the degree of vacuolation in the root tip cells were increased up to intense vacuolation. The endoplasmic reticulum swelled gradually. Band-like and reticular vacuoles were formed from swelled endoplasmic reticulum. Endoplasmic reticulum and golgi apparatus were responsible for the vacuolization of the cells. Nucleus changed their shapes irregularly and sometimes micronucleus or micronuclei could be observed. Mitochondria cristae decreased, even disappeared, the matrix turned to light and outer and inner membrane broke forming disabled structures. No obvious structure damages were found on the golgi apparatus and cell wall.

KEY WORDS Gamma rays; Cells; Ultrastructure; Influence.