

水稻根尖边缘细胞对铁毒的形态生理响应

章艺^{1,2}, 刘鹏^{2*}, 宋金敏², 徐根娣², 蔡妙珍², 王婷婷²

(1 衢州学院, 浙江衢州 324000; 2 浙江师范大学植物学实验室, 浙江金华 321004)

摘要:以水稻 (*Oryza sativa* L.) 品种 Azucena(铁耐性)和 IR64(铁敏感)为材料,研究了 Fe^{2+} 毒胁迫下附着于根尖边缘细胞(即原位边缘细胞)的数目、存活率、根尖细胞形态结构、根尖保护酶活性的变化。结果显示, Fe^{2+} 毒对根边缘细胞的产生有抑制作用。相对于敏感性品种而言,一定浓度的 Fe^{2+} (100~200 $\mu\text{mol/L}$)有利于耐性品种边缘细胞的产生, Fe^{2+} 毒对边缘细胞有致死效应。随 Fe^{2+} 浓度的提升,边缘细胞的存活率呈下降趋势,根尖外围细胞壁增厚,并出现细胞程序性死亡特征(敏感性品种)。同时, Fe^{2+} 毒对根尖保护酶活性有一定的影响,200~400 $\mu\text{mol/L}$ Fe^{2+} 处理下,耐性品种过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性都超过对照;敏感品种只有 SOD 活性超过对照。说明 Fe^{2+} 毒胁迫下,水稻根尖可通过增加边缘细胞数目、提高细胞拒铁作用,维持较高水平的 POD、CAT 和 SOD 活性来对抗 Fe^{2+} 毒,缓解铁毒害。

关键词:水稻;边缘细胞; Fe^{2+} 毒;根尖

中图分类号: Q945.78; S511.01

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2009)04-0763-08

Morphological and physiological response of the root tip border cells to Fe^{2+} toxicity in rice

ZHANG Yi^{1,2}, LIU Peng^{2*}, SONG Jin-min², XU Gen-di², CAI Miao-zhen², WANG Ting-ting²

(1 Quzhou College, Quzhou, Zhejiang 324000, China;

2 Key Laboratory of Botany, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China)

Abstract: Toxicity of Fe^{2+} is one of the major constraints for lowland rice production in tropical and subtropical areas. However the mechanism of Fe-induced inhibition of root growth and the reasons for the spatial variations in Fe^{2+} sensitivity among the apical root zones are still poorly understood. The root tip is a primary site of Fe^{2+} toxicity in rice. The root border cells (BC), which originate from the root cap meristem by mitosis, can separately carry out metabolism and resist adverse stress through a series of distinct responses. In this study, the response mechanism of the root tip cells to Fe^{2+} toxicity were tested by comparing response of rice varieties Azucena (Fe-tolerance) and IR64 (Fe-sensitive) known to vary in Fe^{2+} resistance at a whole-root level. Results showed that Fe^{2+} toxicity inhibited the development of BC. However, compared to IR64, Fe^{2+} at 100–200 $\mu\text{mol/L}$ was propitious to the development of BC in Azucena. With increase of Fe^{2+} concentration, the viability of the rice BC became lower, the cell wall of root tip outermost cells became thicker, and some characteristics of programmed cell death were observed in the cells (Fe-sensitive variety). Meanwhile, Fe^{2+} concentration affected the activities of peroxidase (POD), catalase (CAT), and superoxide dismutase (SOD). Higher enzyme activities were found in Fe-tolerance variety under high concentration Fe^{2+} ($\geq 200 \mu\text{mol/L}$) compared to control. These results indicated that, under the Fe^{2+} toxicity, root tip could resist Fe^{2+} toxicity by increasing BC, thickening cell wall, maintaining high POD, CAT and SOD activities.

Key words: rice; border cell (BC); Fe^{2+} toxicity; root tip

收稿日期: 2008-09-08 接受日期: 2009-01-12

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(Y305102)

作者简介: 章艺(1970—),女,浙江金华人,副教授,主要从事植物营养和环境生态研究。Tel: 0570-8015299, E-mail: zyzy20004@163.com

* 通讯作者 Tel: 0579-2282340, E-mail: zyzy.00@163.com

铁是植物必需的微量元素,在植物生命活动,如光合作用、呼吸作用、氮代谢中起着重要的作用。然而,过多的 Fe^{2+} 对植物生长是有害的。 Fe^{2+} 毒害是亚洲和非洲等湿润性热带地区一种主要的生理性病害,可严重影响低洼地作物尤其是水稻的产量^[1]。我国南方植稻区约有 660×10^4 hm² 潜育性不良水稻田(淹水条件下形成的还原性低产水稻土),遭受 Fe^{2+} 毒时,水稻生长受抑,生物量和产量明显下降^[2]。

Fe^{2+} 毒的原初效应是抑制植物根系的伸长。目前有关植物 Fe^{2+} 毒耐性机理的学说中,根的拒铁作用被认为是植物耐铁毒机制中最直接、最有效的方式,即:水稻根把根际周围可溶性的亚铁离子氧化为不溶性的三价铁离子,在根际等形成氧化铁膜^[3-4]。但氧化铁膜一般在距根尖1 cm处开始形成(根毛区、根伸长区及根上较靠后的部位是铁膜形成较多的部位)^[5-7],而不是根尖最前端。Yoshida^[8]认为,水稻的白色新根,尤其根尖是拒铁力最强的部位。预试验显示, Fe^{2+} 毒条件下根尖1.0 cm范围内0~2 mm段铁的含量最高,推测该部位是 Fe^{2+} 毒作用的主要位点。

研究发现,大多数植物的根尖每天都要代谢产生大量的边缘细胞(Border cell,简称BC),包裹在根冠外围形成一套完整的“套膜结构”。BC在调节根部生态环境,中和根际周围一些有毒化学物质,抵抗各种环境胁迫造成的根尖伤害中起着多种防御和保护功能^[9-10]。Zhu等^[11]报道,菜豆(Snapbean)BC通过分泌黏液来保护或减轻铝对植物的毒害作用;李荣峰等^[12]认为,大豆(*Glycine max* L.)通过增加BC数目和提高根尖蛋白质含量来对抗铝毒胁迫,以缓解植物的铝毒害。这些根尖与铝毒关系的研究发现值得关注。目前有关根尖与 Fe^{2+} 毒的关系,国内外尚少见报道。因此,本试验以 Fe^{2+} 毒敏感和耐性两个品种为对象,研究了 Fe^{2+} 毒胁迫下,水稻根BC数目与活性、根尖细胞超微结构和根内酶的变化,为植物根尖抗 Fe^{2+} 毒生理机制研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试水稻(*Oryza sativa* L.)品种Azucena(耐性)和IR64(敏感)为中国水稻研究所提供的。

Fe^{2+} 液以 $FeSO_4$ 形态供应,pH为4.5。

1.2 培养方法

挑选颗粒均匀饱满的水稻种子,自来水洗净后

用饱和NaClO溶液浸种20 s,用蒸馏水充分清洗,在蒸馏水中浸泡24 h,放到培养皿中露白,将刚露白的水稻种子种在纱窗网上,在25℃下黑暗静置悬空培养^[11]。第2天,选取根长到达18 mm的种子移至另外盆中,开始用 Fe^{2+} 液处理。 Fe^{2+} 液浓度为:0、50、100、200、400 μ mol/L,每隔2 h喷洒一次处理溶液(喷洒方法:用喷壶均匀喷洒,直到根尖出现小液珠但是不落下为止),在处理24 h后,将根长到达20 mm的种子分成两部分。一部分用于取样测BC数目、活性、根尖电镜样品制备、酶活性;另一部分用于BC的收集,把BC洗于2.0 mL离心管(装有超纯水)中,形成BC悬浮液,立刻用来制备电镜样品。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 边缘细胞数目的测定 滴20 μ L蒸馏水均匀地平铺在干净的载玻片上,随机取长度为20 mm的水稻根,分别齐根剪下,在载玻片的水中轻轻搅动30 s,将BC洗脱在水中,用移液枪轻轻吹几次,使BC及其黏液在水中充分展开,然后在显微镜下统计BC数目^[13-14]。

1.3.2 边缘细胞活性 参照文献[15]的方法。BC的活性(%)=活的BC数/BC总数 \times 100%。

1.3.3 电镜样品制备

BC:取装有0、200、400 μ mol/L Fe^{2+} 液处理过的BC悬浮液的离心管,2000 g/min下离心10 min,弃去上清液^[16]。

根尖:取0、200、400 μ mol/L Fe^{2+} 液处理后的根,切下顶端2 mm。

两种样品分别用2.5%戊二醛前固定,1%的锇酸后固定,酒精逐渐脱水,渗透,Epon812包埋,LKB-V超薄切片机制片,醋酸铀和柠檬酸铅双染色,日产JEM-1230型透射电镜下观察和拍照。

1.3.4 酶活性系列 分别剪取20个根的5 mm根尖,称重后进行酶液提取^[17]。采用愈创木酚法测定POD活性^[17],单位为 $\Delta A_{470}/(mg \cdot min)$,protein;采用 $Na_2S_2O_3$ 滴定法测定CAT活性^[18],单位为U/mg,protein;用文献[19]的方法测定SOD活性,以抑制氮蓝四唑(NBT)光氧化还原50%的酶量为1个活力单位U,SOD活性单位为U/mg,protein。

试验重复3次,取平均值,利用SAS分析软件进行方差和LSR分析。

2 结果与分析

2.1 Fe^{2+} 毒对水稻根边缘细胞数目的影响

图1显示, Fe^{2+} 毒抑制水稻根BC的产生。随着

溶液浓度的增高,2个品种对 Fe^{2+} 毒的反应不一致。IR64 BC的数目快速减少;Azucena BC数目先增多后减少,在 $200 \mu\text{mol/L}$ Fe^{2+} 浓度时达到最大值(1382个),比对照增加了14.11%,当 Fe^{2+} 浓度升到 $400 \mu\text{mol/L}$,Azucena BC数目才开始显著下降。 $50 \sim 400 \mu\text{mol/L}$ Fe^{2+} 处理下,耐性品种(Azucena)的BC数目明显超过敏感品种(IR64)。

2.2 Fe^{2+} 毒对水稻根边缘细胞存活率的影响

由图2可知,高 Fe^{2+} 对BC有致死作用。与各

自的无 Fe^{2+} 处理相比, Fe^{2+} 毒降低BC的存活率,但各浓度处理下,BC的存活率仍保持在46%以上。 $50 \sim 200 \mu\text{mol/L}$ Fe^{2+} 处理下,Azucena的BC存活率降幅较IR64显著,从绝对值上看,Azucena的BC存活率仍大于IR64。如 $200 \mu\text{mol/L}$ 处理下,Azucena的BC存活率比对照下降了33.43%,IR64比对照下降了26.24%;但Azucena的BC存活率(50.76%)仍比IR64的存活率(46.22%)高。

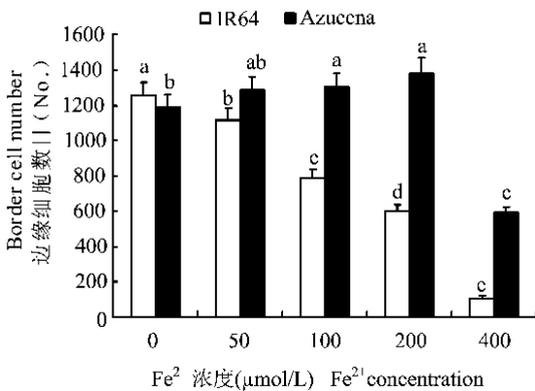


图1 不同 Fe^{2+} 处理对水稻根尖BC数目的影响

Fig.1 Influence of Fe^{2+} on the total number of root border cells in rice

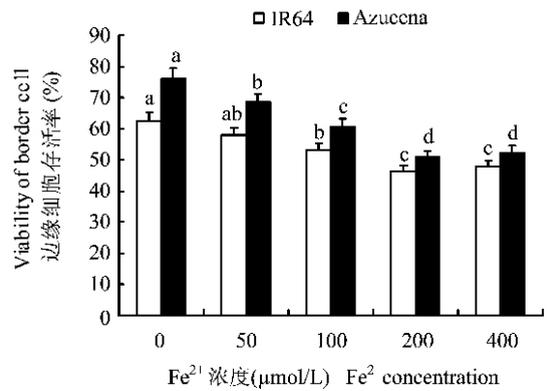


图2 Fe^{2+} 对根尖BC存活率的影响

Fig.2 Influence of Fe^{2+} on the viability of the root tip border cells in rice

[注 (Note): 方柱上不同字母表示差异达到5%显著水平,下同 Different letters above bars indicate significant at 5% level. The same below.]

2.3 Fe^{2+} 毒对水稻根尖细胞超微结构的影响

一般情况下,BC包裹在根尖外围,在水溶性粘胶层中松散地与根冠相连,直到由于水的搅动或机械性摩擦而脱离下来^[20]。图3是2个水稻品种BC的电镜照片(A、B、C是IR64,D、E、F是Azucena)。正常情况下BC呈椭圆形,大多数细胞中央有一个大液泡(图3A、D);在 $200 \mu\text{mol/L}$ Fe^{2+} 胁迫下,BC液泡内可见深色沉积物(图3B、E);在 $400 \mu\text{mol/L}$ 浓度下,细胞内出现大量碎片(图3C、F)。说明 Fe^{2+} 毒明显破坏水稻BC结构,且敏感和耐性品种的BC对 Fe^{2+} 毒的反应相似。

图4是2个品种洗脱BC后的水稻根尖细胞(包括根尖和根冠分生组织),对照中细胞大多呈六边形,内容物丰富,细胞排列紧密(图4A、G),外围细胞壁较薄(图4B、H)。 $200 \mu\text{mol/L}$ Fe^{2+} 中,2个品种的外围细胞壁都增厚(图4C、I); $400 \mu\text{mol/L}$ 浓度中,IR64的外围细胞中出现程序性死亡特征,细胞缩小变形(图4D),液泡膜破裂,内质网库槽膨大,其外膜上结合的核糖体减少(图4E)。同样浓度胁迫下,

Azucena的外围细胞未见明显变形(图4J),液泡和内质网未见异常(图4K)。 Fe^{2+} 毒对2个品种根尖内层细胞影响不明显(图4F、L)。可见, Fe^{2+} 毒对细胞结构的影响分别是:BC > 外围细胞 > 内层细胞。

2.4 Fe^{2+} 毒对水稻根尖POD活性的影响

Fe^{2+} 毒处理24 h后,从根尖保护酶(POD)活性的变化看,两个品种对胁迫反应的趋势不一致(图5)。随着 Fe^{2+} 浓度的升高,敏感品种POD活性呈缓慢下降趋势($0 \sim 100 \mu\text{mol/L}$ 处理间无明显差异);而耐性品种POD活性呈明显递增趋势,在 $200 \mu\text{mol/L}$ 浓度处达到峰值, $400 \mu\text{mol/L}$ Fe^{2+} 处理后,酶活性显著下降,但仍高于对照。各浓度处理下,耐性品种根尖POD活性都大于敏感品种。

2.5 Fe^{2+} 毒对水稻根尖CAT活性的影响

随着 Fe^{2+} 处理浓度的增加,两个品种水稻根尖的CAT活性都呈现出先升高后降低的趋势(图6)。统计结果表明,IR64根尖的CAT活性在 $50 \mu\text{mol/L}$ Fe^{2+} 处理时达到最高点,比对照增加了19.17%,之后显著下降;而Azucena根尖的CAT活性是在 200

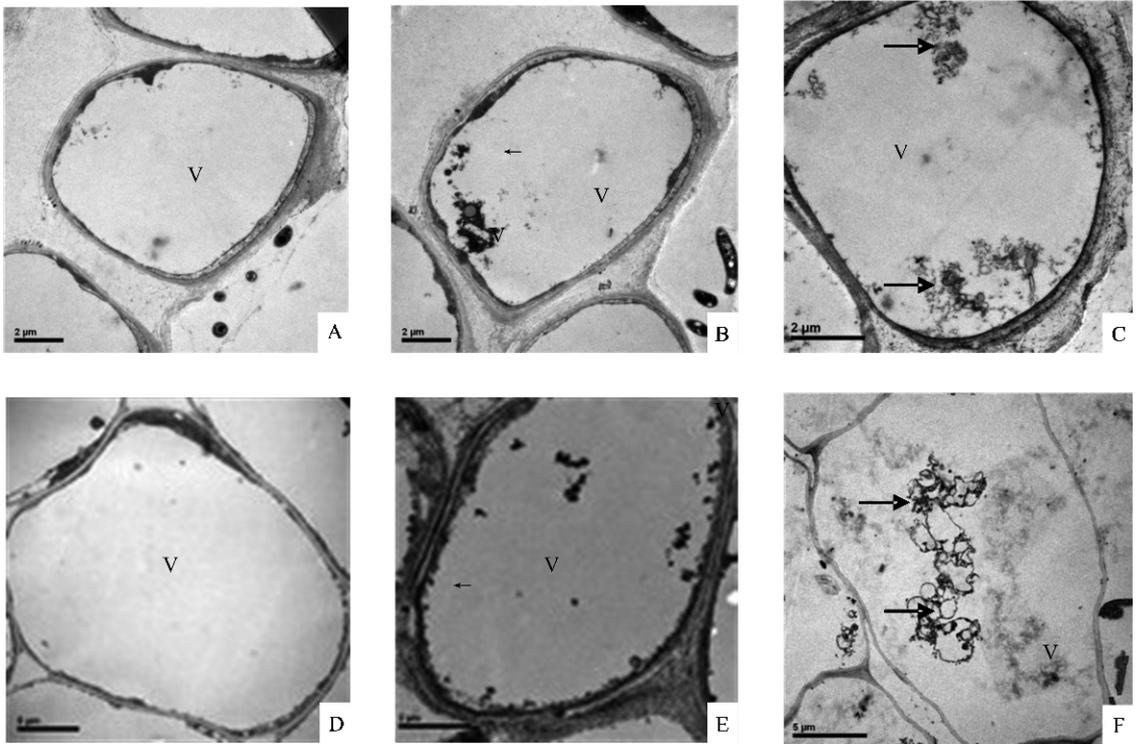


图3 Fe^{2+} 毒对水稻根尖 BC 超微结构的影响

Fig.3 Influence of Fe^{2+} on BC ultrastructure in rice

[A. IR64(对照),B,C 中央有一个大液泡(V),X=10000;B. IR64(200 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$),有沉积物堆积在中央液泡内(V),X=10000;C. IR64(400 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$)细胞内部出现大量碎片,X=15000;D. Azucena(对照),中央有一个大液泡(V),X=5000;E. Azucena(200 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$),有沉积物堆积在中央液泡周边(V),X=15000;F. Azucena(400 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$),细胞内部出现大量碎片,X=6000。A. IR64 BC(control), a central vacuole (V) was in it. Bar = 2 μm ;B. IR64 BC(200 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), some deposits(arrows) were accumulated in the central vacuole(V). Bar = 2 μm ;C. IR64 BC(400 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), cells were destroyed and some fragment could be seen(arrow in C). Bar = 2 μm ;D. Azucena BC(control), a central vacuole (V) was in it. Bar = 5 μm ;E. Azucena BC(200 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), some deposits(arrows) were accumulated in the central vacuole(V) along the tonoplast. Bar = 2 μm ;F. Azucena BC(400 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), cells were destroyed and only their fragment could be seen(arrow in F). Bar = 5 μm .]

$\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$ 处理时才达到最高点,比 IR64 高出 76.24%,当浓度继续增加到 400 $\mu\text{mol/L}$ 时,其活性开始大幅下降,但仍明显高出 IR64。

2.6 Fe^{2+} 毒对水稻根尖 SOD 活性的影响

从图 7 可以看出, Fe^{2+} 毒胁迫下,水稻根尖 SOD 活性总体呈上升趋势。在 100~200 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$ 处理下,IR64 的 SOD 活性比对照显著升高,400 $\mu\text{mol/L}$ 时则下降到对照水平;200~400 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$ 处理使耐性 Azucena 根尖 SOD 活性显著增大。在 0~100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内,IR64 的 SOD 活性普遍比 Azucena 高;但 200~400 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 Fe^{2+} 处理下,Azucena 的活性明显高出 IR64。

3 讨论

已知 BC 起源于根冠分生组织的有丝分裂。传统观点认为,BC 只是根系的结构和功能性组成部

分,仅在根冠穿越土壤时起润滑作用,没有生命力。现在认为,BC 不仅具有生命力(90% 以上有活性),而且有一套自己的 mRNA 和蛋白质合成系统^[20-21]。BC 从根尖脱离后,能够自主进行新陈代谢,在遭受逆境时做出反应,形成一个独立的胞际空间^[11,22]。通过对附着于水稻根尖的 BC 数目、存活率和超微结构的研究,得出水稻 BC 对 Fe^{2+} 毒的反应主要为:首先,同一物种的不同品种对 Fe^{2+} 毒的响应有较大差异。50~200 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$ 处理,促进耐性品种 Azucena 根 BC 的发育,使之产生更多的 BC,但显著抑制敏感品种 IR64 根 BC 的发育(图 1)。其次, Fe^{2+} 毒严重破坏 BC 结构(图 3),对 BC 有致死效应,但 400 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$ 处理下,两个品种的存活率仍保持在较高水平(图 2),这可能与 BC 黏液层有关。 Fe^{2+} 处理浓度越高,黏液层越厚^[23],使 BC 具有较高的渗透压,利于存活^[10]。另外,通过比较可见

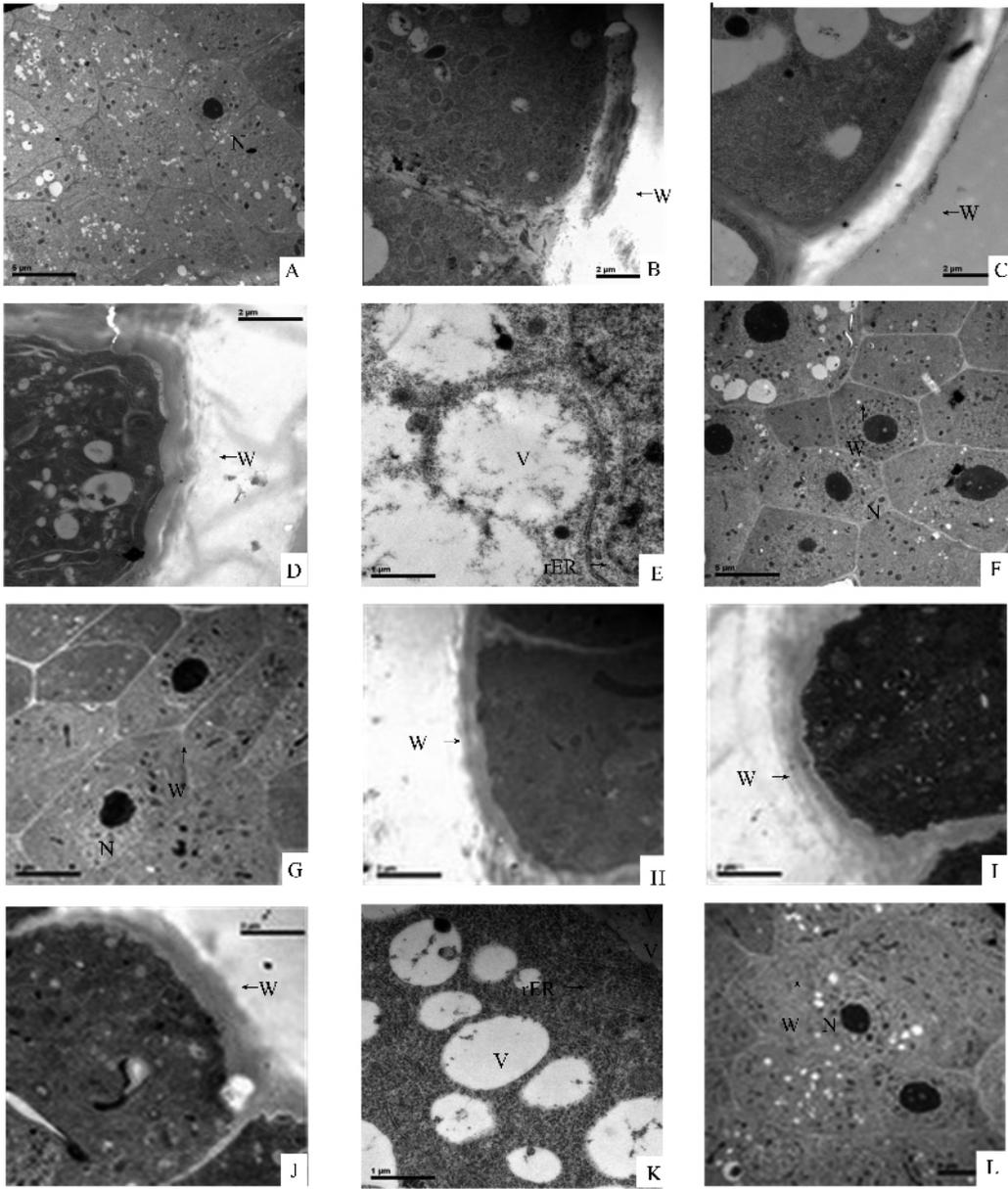


图 4 水稻根尖细胞电镜照片

Fig.4 TEM micrographs of root tip cells

[A. IR64 根尖细胞(对照)细胞呈六边形, $X=6000$; B. IR64 根尖外围细胞壁(对照), $X=15000$; C. IR64 根尖外围细胞($200 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$)细胞壁增厚, $X=15000$; D. IR64 根尖外围细胞明显变形($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), $X=15000$; E. IR64 根尖外围细胞($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$)细胞内液泡膜破损, 内质网槽肿胀, 上面结合的核糖体减少, $X=30000$; F. IR64 根尖内层细胞($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), 大多呈六边形, 排列紧密, $X=6000$; G. Azucena 根尖细胞(对照)细胞呈六边形, $X=6000$; H. Azucena 根尖外围细胞壁(对照), $X=15000$; I. Azucena 根尖外围细胞($200 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$)细胞壁增厚, $X=15000$; J. Azucena 根尖外围细胞($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$)细胞壁增厚, $X=15000$; K. Azucena 根尖外围细胞($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$)细胞内小液泡和内质网结构正常, $X=30000$; L. Azucena 根尖内层细胞($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$)排列紧密, $X=6000$; N - 细胞核; W - 细胞壁; rER - 粗面内质网; V - 液泡。 A. Root tip cells of IR64(control) which were hexagon. Bar = $5 \mu\text{m}$; B. The cell at the root tip periphery of IR64(control), the cell wall. Bar = $2 \mu\text{m}$; C. The cell at the root tip periphery of IR64($200 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), thickening of the cell wall. Bar = $2 \mu\text{m}$; D. The cell at the root tip periphery of IR64($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), distorting of the cell wall. Bar = $2 \mu\text{m}$; E. The cell at the root tip periphery of IR64($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), the vacuole membrane were broken and the rER were swelling up and the ribosome were reduce. Bar = $1 \mu\text{m}$; F. The cell at the root tip endothecium of IR64($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), remained intact. Bar = $5 \mu\text{m}$; G. Root tip cells of Azucena(control) which were hexagon. Bar = $5 \mu\text{m}$; H. The cell at the root tip periphery of Azucena(control), the cell wall. Bar = $2 \mu\text{m}$; I. The cell at the root tip periphery of Azucena($200 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), thickening of the cell wall. Bar = $2 \mu\text{m}$; J. The cell at the root tip periphery of Azucena($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), much thicker cell wall. Bar = $2 \mu\text{m}$; K. The cell at the root tip periphery of Azucena($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), normal vacuole and rER in it. Bar = $1 \mu\text{m}$; L. The cell at the root tip endothecium of Azucena($400 \mu\text{mol/L Fe}^{2+}$), remained intact. Bar = $5 \mu\text{m}$; N - nucleolus; W - cell wall; rER - rough endoplasmic reticulum; V - vacuole.]

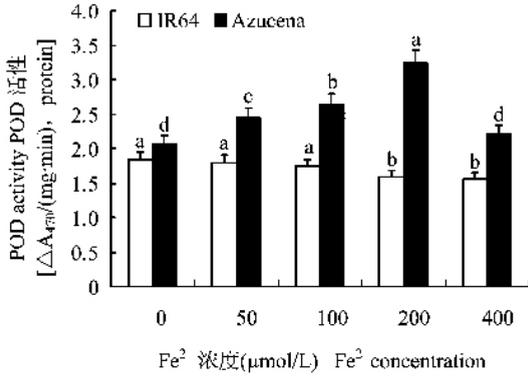


图5 Fe²⁺处理对水稻根尖 POD 活性的影响

Fig.5 Influence of Fe²⁺ on the activity of POD in rice root tips

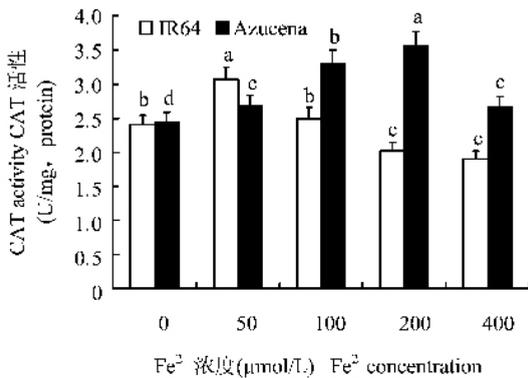


图6 Fe²⁺处理对水稻根尖 CAT 活性的影响

Fig.6 Influence of Fe²⁺ on the activity of CAT in rice root tips

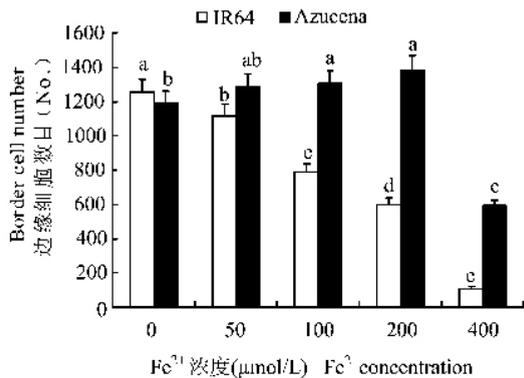


图7 Fe²⁺处理对水稻根尖 SOD 活性的影响

Fig.7 Influence of Fe²⁺ on the activity of SOD in rice root tips

(图3、4), Fe²⁺对细胞超微结构的影响随细胞与毒性离子位置关系的不同而不同。BC排列在根冠外围的细胞,比内层细胞忍受更激烈的变化。总之,BC对根尖具有保护作用,Fe²⁺毒条件下水稻耐性品种产生更多的BC,应该是其有效缓解Fe²⁺毒的途径之一。

一般认为,Fe²⁺毒胁迫下,植物体有各种防御机

制提高其耐性,除了根的拒铁作用外,Harrison等^[24]提出,当植物对铁吸收较慢,细胞壁及与之相结合的多糖对Fe²⁺有很高的亲和能力时,可阻止Fe²⁺进入共质体,使之在质外体中氧化,释放的自由基不易通过细胞壁进入细胞中,就不会出现细胞的损伤。

本试验中,观察到200~400 μmol/L Fe²⁺条件下,2个品种根尖外层细胞壁变厚(图4C、I)。这可能是由于皮层细胞的分泌作用,细胞壁里沉积的多聚糖与Fe²⁺结合,使细胞壁增厚。与Vázquez等^[25]铝胁迫中观察到的现象一致。该结果为Fe²⁺毒环境中细胞的拒铁作用提供了有力证据。

值得注意的是,在400 μmol/L Fe²⁺浓度下,敏感IR64的外围细胞中出现程序性死亡特征:细胞缩小变形,液泡膜破裂,内质网库槽膨大,其外膜上结合的核糖体减少(图4D、E)。关于细胞的程序性死亡过程,植物中人们还知之甚少。大量实验证明,液泡在许多植物程序性死亡中起着十分重要的作用。它是程序性死亡发动阶段各种水解酶和其他死亡执行者的集散地。液泡破裂释放内含物是死亡开始的标志^[26-29]。Wang等^[30]发现,即将死亡的洋葱根冠细胞皱缩,细胞核发生凝聚等现象;但未见粗面型内质网的有关报道。近年研究初步揭示,细胞程序性死亡是由十分复杂的信号传导通路调控的,目前已知3个主要的信号传导通路是:线粒体通路、死亡受体通路和内质网通路。其中内质网通路是指:通过内质网的应激来调节细胞的死亡程序。内质网通路的具体机理研究主要集中在非折叠蛋白反应(Unfolded protein reaction, UPR)和钙离子起始信号(Calcium signaling)^[31]上。UPR的启动在早期是保护作用,使大部分蛋白质合成停滞,减轻内质网负荷;加速内质网伴侣基因、蛋白质表达;发生内质网相关降解,清除不能正确折叠的蛋白质等^[32-34],从而积极重建细胞内稳态。核糖体是合成蛋白质的场所,附着于内质网上的核糖体与游离于细胞基质中的核糖体不同,主要是合成某些输送到细胞外面的分泌物,如酶原等。本试验电镜下观察到内质网膨大,说明它正处于高负荷状态,上面核糖体的减少可以直接减少蛋白质的合成,减轻负荷。可见,Fe²⁺毒胁迫下,水稻敏感品种根尖细胞内发生了由UPR启动的内质网通路,后期引发细胞程序性死亡。然而,同样浓度胁迫下,耐性品种Azucena细胞中并未出现这些程序性死亡特征。

Mittler等^[35-36]认为,活性氧是诱导植物细胞发生程序性死亡的重要内在因子。Fe²⁺毒能诱发产生

多种有毒活性氧自由基,而植物体内存在的保护酶系统可清除此类自由基,保护酶主要有 SOD、POD、CAT 等。本试验数据显示,200~400 $\mu\text{mol/L}$ Fe^{2+} 条件下,耐性品种根尖 CAT、POD、SOD 活性明显高出敏感品种(图 5、图 6、图 7)。说明耐性品种根尖细胞能积极启动酶保护系统来清除活性氧自由基,有效抑制了细胞程序性死亡进程。

通过敏感和耐性品种的对比研究可知,水稻根尖可以通过增加 BC 数目、提高细胞拒铁作用,维持较高水平的 POD、CAT 和 SOD 活性来对抗 Fe^{2+} 毒胁迫,这是水稻根尖抗 Fe^{2+} 毒的重要机制之一。

参考文献:

- [1] Ottow J C G, Benckiser G, Watanabe I. Iron toxicity of rice as multiple nutritional soil stress[J]. Trop. Agric. Res. Series, 1982, 15: 167-179.
- [2] 李达模,唐建军,李阳生. 水稻耐(抗)潜育性土壤逆境的生理生态机制及抗逆品种选育进展[J]. 水稻文摘, 1991, 10(2): 1-4.
- Li D M, Tang J J, Li Y S. Ecological and physiological mechanism of rice tolerance to gleyic paddy soil and prospects of breeding rice varieties for problem soil[J]. Rice Rev. Abstr., 1991, 10(2): 1-4.
- [3] Green M S, Etherington J R. Oxidation of ferrous iron by rice (*Oryza sativa* L.) roots: a mechanism for waterlogging tolerance[J]. J. Exp. Bot., 1977, 28(104): 678-690.
- [4] Golden D C, Turner F T, Sittertz-Bhatkar H *et al.* Seasonally precipitated iron oxides in a vertisol of southeast Texas[J]. Soil Sci. Soc. Am. J., 1997, 61: 958-964.
- [5] Batty L C, Baker A J M, Curtis C D *et al.* Aluminium and phosphate uptake by *Phragmites australis*: The role of Fe, Mn and Al root plaques[J]. Ann. Bot., 2000, 89: 443-449.
- [6] Chabbi A. *Juncus bulbosus* as a pioneer species in acidic lignite mining lakes: Interactions, mechanism and survival strategies[J]. New Phytol., 1999, 144: 133-142.
- [7] Chabbi A, Hines M E, Rumpel C *et al.* The role of organic carbon excretion by bulbous rush and its turnover and utilization by bacteria under iron plaque in extremely acid sediments[J]. Environ. Exp. Bot., 2001, 46(3): 237-245.
- [8] Yoshida S. Fundamentals of rice crop science[M]. Manila, Philippines: International Rice Research Institute, 1981. 115.
- [9] Hawes M C, Brigham L A, Wen F *et al.* Function of root border cells in plant health: pioneers in the rhizosphere[J]. Ann. Rev. Phytopathol., 1998, 36: 311-327.
- [10] Pan J W, Zhu M Y, Chen H *et al.* Inhibition of cell growth caused by aluminum toxicity results from aluminum-induced cell death in barley suspension cells[J]. Plant Nutr., 2002, 25(5): 1063-1073.
- [11] Zhu M Y, Ahn S J, Matsumoto H. Inhibition of growth and development of root border cells in wheat by Al[J]. Physiol. Plant., 2003, 117(3): 359-367.
- [12] 李荣峰,蔡妙珍,刘鹏,等. 边缘细胞对大豆根尖铝毒害的缓解效应[J]. 作物学报, 2008, 34(1): 318-325.
- Li R F, Cai M Z, Liu P *et al.* Border cells alleviating aluminum toxicity in soybean root tips[J]. Acta Agron. Sin., 2008, 34(1): 318-325.
- [13] Hawes M C, Pueppke S G. Sloughed peripheral root cap cells: Yield from different species and callus formation from single cells[J]. Am. J. Bot., 1986, 73: 1466-1473.
- [14] Pan J W, Ye D, Wang L L *et al.* Root border cell development is a temperature-insensitive and Al-sensitive process in barley[J]. Plant Cell Physiol., 2004, 45(6): 751-760.
- [15] 蔡妙珍,刘鹏,徐根娣,等. Al^{3+} 对荞麦离体根边缘细胞的作用[J]. 江苏大学学报(自然科学版), 2006, 27(4): 293-298.
- Cai M Z, Liu P, Xu G D *et al.* Effect of Al^{3+} toxicity on root border cells in vitro of buckwheat[J]. J. Jiangsu Univ. (Nat. Sci. Ed.), 2006, 27(4): 293-298.
- [16] 朱茂艳,陈惠萍,杨俊伟. 培养细胞凋亡的半薄与超薄切片比较[J]. 电子显微学报, 2000, 19(5): 739-742.
- Zhu M Y, Chen H P, Yang J W. Comparisons of apoptosis in semithin and ultrathin sections[J]. J. Chin. Elect. Microsc. Soc., 2000, 19(5): 739-742.
- [17] Amako K, Chen G X, Asade K. Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants[J]. Plant Cell Physiol., 1994, 35: 497-504.
- [18] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社, 1990. 210-212.
- Zhang Z L. Experimental guide for plant physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 1990. 210-212.
- [19] 王爱国,罗广华,邵从本,等. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究[J]. 植物生理学报, 1983, 9(1): 77-84.
- Wang A G, Luo G H, Shao C B *et al.* A study on the superoxide dismutase of soybean seeds[J]. Acta Phytophysiol. Sin., 1983, 9: 77-84.
- [20] Brigham L A, Woo H H, Hawes M C. Differential expression of proteins and mRNAs border cells and root tips of pea[J]. Plant Physiol., 1995, 109: 457-463.
- [21] Hawes M C. The role of root border cells in plant defense[J]. Trends Plant Sci., 2000, 5: 128-133.
- [22] Miyasaka S C, Hawes M C. Possible role of root border cells in detection and avoidance of aluminum toxicity[J]. Plant Physiol., 2001, 125: 1978-1987.
- [23] 章艺,刘鹏,宋金敏,等. 高 Fe^{2+} 对水稻离体根边缘细胞的影响[J]. 生态学报, 2008, 28(6): 2925-2930.
- Zhang Y, Liu P, Song J M *et al.* Effect of excessive Fe^{2+} on root border cells in vitro of rice[J]. Acta Ecol. Sin., 2008, 28(6): 2925-2930.
- [24] Harrison P M, Treffry A, White J L *et al.* Ferritin and bacterioferritin: Iron sequestering molecules from man to microbe[A]. In: Winkelmann G, Van der Helm D, Neilands J H (eds). Iron transport in microbes, plants and animals[C]. VCH, Weinheim, 1989. 445-475.
- [25] Vázquez M D, Poschenrieder C, Corales I *et al.* Change in apoplas-

- tic aluminium during the initial growth response to aluminium by roots of a tolerant maize variety [J]. *plant Physiol.* , 1999 , 119 : 435-444.
- [26] Alan M J. Programmed cell death in development and defense [J]. *Plant Physiol.* , 2001 , 125 (1) : 94-97.
- [27] Hiroo F. Programmed cell death of tracheary elements as a paradigm in plants [J]. *Plant Mol. Biol.* , 2000 , 44 : 245-253.
- [28] Obara K , Kuriyama H , Fukuda H. Direct evidence of active and rapid nuclear degradation triggered by vacuole rupture during programmed cell death in zinnia [J]. *Plant Physiol.* , 2001 , 125 (2) : 615-626.
- [29] Young T E , Gallie D R. Programmed cell death during endosperm development [J]. *Plant Mol. Biol.* , 2000 , 44 (3) : 283-301.
- [30] Wang H , Li J , Bostock R M *et al.* Apoptosis : A functional paradigm for programmed plant cell death induced by a host-selective phototoxin and invoked during development [J]. *Plant Cell* , 1996 , 8 (3) : 375-391.
- [31] Milhavel O , Martindale J L , Camandola S *et al.* Involvement of Gadd153 in the pathogenic action of presenilin-1 mutations [J]. *J. Neurochem.* , 2002 , 83 : 673-681.
- [32] Ma Y , Hendershot L M. Herp is dually regulated by both the ER stress-specific branch of the UPR and a branch that is shared with other cellular stress pathways [J]. *J Biol. Chem.* , 2004 , 279 : 13792-3799.
- [33] Zong W X , Li C , Hatzivassiliou G *et al.* Bax and Bak can localize to the endoplasmic reticulum to initiate apoptosis [J]. *J. Cell. Biol.* , 2003 , 162 : 59-69.
- [34] Vázquez-Martínez O , Cañedo-Merino R , Díaz- Muñoz M *et al.* Biochemical characterization , distribution and phylogenetic analysis of *Drosophila melanogaster* ryanodine and IP3 receptors , and thapsigargin sensitive Ca^{2+} ATPase [J]. *J. Cell Sci.* , 2003 , 116 : 2483-2494.
- [35] Mittler R , Feng X , Cohen M. Post-transcriptional suppression of cytosolic ascorbate peroxidase expression during pathogen-induced programmed cell death in tobacco [J]. *Plant Cell* , 1998 , 10 : 461-473.
- [36] Lennon S V , Martin S J , Cotter T G. Dose-dependent induction of apoptosis in human tumor cell lines by widely diverging stimuli [J]. *Cell Prolif.* , 1991 , 24 : 203-214.