

赵锦慧,周琳. 钠离子对洋葱细胞程序性死亡的诱导[J]. 江苏农业科学,2016,44(11):189-191.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.11.056

钠离子对洋葱细胞程序性死亡的诱导

赵锦慧,周琳

(周口师范学院生命科学与农学院,河南周口 466001)

摘要:对洋葱进行活化培养,探讨钠离子不同诱导浓度与时间对洋葱鳞茎内表皮细胞程序性死亡的影响。结果表明:随着钠离子诱导浓度的升高及诱导时间的延长,细胞形状和结构均会发生不同程度的变化,细胞凋亡数目增加,细胞中丙二醛含量上升,且细胞凋亡率及丙二醛含量在不同处理间均差异显著。说明钠离子在一定诱导浓度与时间下,对洋葱鳞茎内表皮细胞形态、结构、细胞凋亡率、丙二醛含量均有不同程度的影响。

关键词:钠离子;洋葱;细胞程序性死亡;细胞凋亡率;丙二醛

中图分类号: Q942 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)11-0189-02

20 世纪 90 年代初国际上才把细胞程序性死亡(PCD)概念引入到植物学,随后有关研究遍布植物发育生物学、植物生理学等各个领域^[1-5]。PCD 和细胞凋亡意义相同,均属于细胞生理性死亡,它贯穿高等植物生长发育的一生,具有重要的生命意义。中国每年的农作物和瓜果蔬菜都会受到各种逆境因子不同程度的影响,因此对植物的抗逆性机制及调控进行研究,既有理论意义又有实际应用价值。盐胁迫是植物经常遇到的逆境之一,Katsuhara 研究发现盐胁迫诱导的大麦根部细胞凋亡表现出典型的凋亡特征^[6],揭示了根部细胞凋亡可能是植物抗盐胁迫的一种生理机制。本试验选用洋葱鳞茎内表皮作为材料,对钠离子不同诱导浓度及诱导时间下洋葱细胞程序性死亡现象进行研究,主要观察凋亡细胞在形态学上发生的变化,并统计细胞凋亡率及测定细胞中丙二醛含量。旨在探索钠离子不同处理浓度及处理时间诱导洋葱细胞程序性死亡的效果。

1 材料与方法

1.1 试验材料

市售隔年洋葱。

1.2 试剂

0.1、0.3、0.5、0.7 mol/L 氯化钠溶液、PBS 缓冲液、改良苯酚品红染液、10% 三氯乙酸、0.6% 硫代巴比妥酸等。

1.3 试验方法

1.3.1 洋葱的预处理 取隔年洋葱,室温下于清水中培养 2~3 d,每天换水,直到露出幼嫩的白根,表明洋葱已被活化。

1.3.2 细胞程序性死亡观察 取活化后的洋葱鳞茎,切取约 1 cm² 的内表皮若干,分成 3 组进行处理。第 1 组是正对照,在 PBS 缓冲液中处理 1 h;第 2 组是钠离子诱导组,分别用 0.1、0.3、0.5、0.7 mol/L NaCl 诱导 1、4 h;第 3 组是负对照,

在沸水中处理 5 min。各组处理结束后,将洋葱鳞茎内表皮用改良苯酚品红染液染色 10~15 min,染色完成后制成玻片标本,光学显微镜下观察细胞形态变化。选择染色效果好、背景干净、细胞分散良好的视野进行拍照,并对凋亡细胞进行计数统计。细胞凋亡率 = 凋亡细胞数/视野中观察的细胞总数 × 100%。每个处理观察 3 个玻片标本,细胞凋亡率用 3 个视野统计的平均值表示。

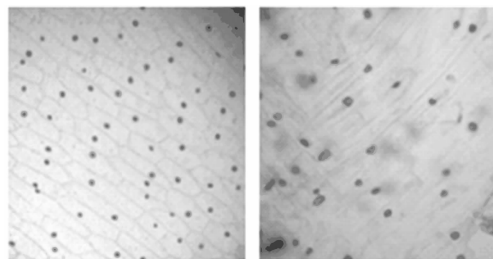
1.3.3 丙二醛(MDA)含量的测定 参照刘萍等的方法^[7],用硫代巴比妥酸法测定细胞中丙二醛(MDA)含量,测定时设置 3 个重复,最终含量用平均值表示。

1.3.4 数据统计分析 采用 Excel 2003 对实验数据进行作图,运用 SPSS 16.0 统计软件,在 95% 水平上进行 One-Way ANOVA 分析处理间差异显著性。

2 结果与分析

2.1 对照组细胞形态结构观察

图 1 显示,正对照组细胞轮廓清晰,细胞之间的界限分明,细胞膜完整无损,细胞质透明,背景干净,细胞核呈球形。负对照组细胞轮廓及细胞之间的界限消失,细胞膜、细胞壁完全裂解,部分细胞核也发生裂解并且其形状和位置均发生一定变化,细胞质内出现碎末状物质,背景不干净,细胞不能保持结构的完整。



正对照 负对照
图1 对照组细胞形态结构(10×10)

2.2 不同浓度钠离子诱导 1 h 后细胞程序性死亡观察

图 2 显示,不同浓度 Na⁺ 诱导 1 h 后,随着 Na⁺ 浓度的增加,细胞轮廓及细胞之间的界限逐渐模糊,质壁分离程度加深,形状及位置发生变化的细胞核增多,细胞质内出现的碎末

收稿日期:2015-09-26

基金项目:国家自然科学基金(编号:41271280)。

作者简介:赵锦慧(1979—),女,河南周口人,硕士,讲师,主要从事生物技术及植物逆境生理研究。E-mail:zhaojinhui2005@126.com。

通信作者:周琳,副教授,主要从事细胞分子生物学研究。
E-mail:zszz1966@sina.com.cn。

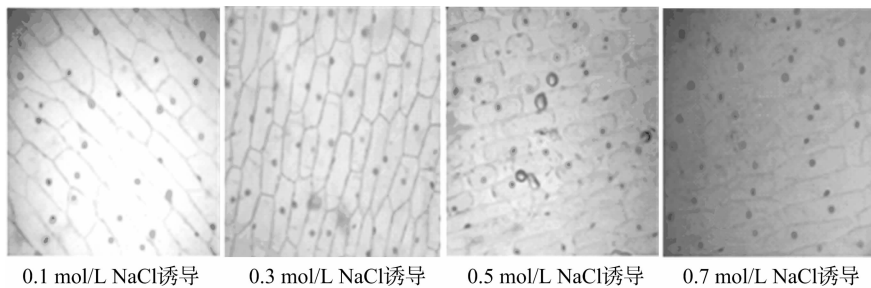


图2 钠离子诱导 1 h 后的细胞形态结构(10×16)

状或块状物质越来越多,细胞背景不干净。

2.3 不同浓度钠离子诱导 4 h 后细胞程序性死亡观察

图 3 显示,不同浓度 Na^+ 诱导 4 h 后,细胞形态特征发生

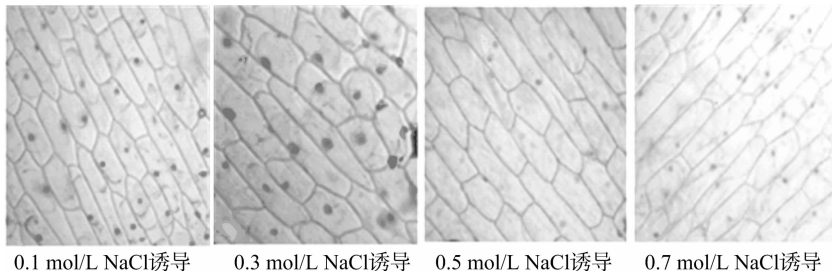
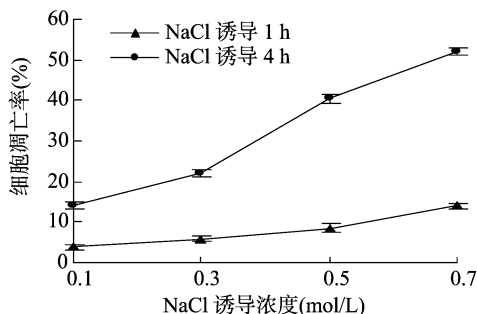


图3 钠离子诱导 4 h 后的细胞形态结构(10×16)

2.4 不同浓度钠离子诱导下洋葱内表皮细胞凋亡情况

图 4 显示,随着 Na^+ 诱导浓度的增加及诱导时间的延长,细胞凋亡率呈上升趋势,并且各处理间差异显著。这说明不同浓度的 Na^+ 诱导不同时间对细胞的生命活动产生了不同程度的影响。

图4 不同浓度 Na^+ 诱导下洋葱内表皮细胞凋亡率

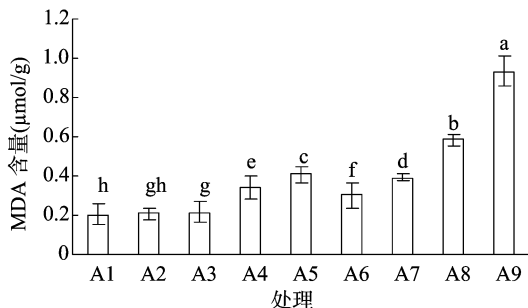
2.5 不同处理下洋葱鳞茎内表皮细胞中丙二醛(MDA)含量的变化

MDA 是脂质过氧化物的代谢产物,其生物活性强,化学性质稳定,它的含量可以间接反映氧自由基对植物细胞的损伤程度。图 5 显示, Na^+ 诱导组丙二醛含量均高于正对照组,并且 A3~A9 与 A1 间均表现出显著差异。同样诱导浓度下,随着诱导时间的延长,MDA 含量快速增加;同样诱导时间下,随着诱导浓度的增加,诱导时间短时 MDA 含量增加幅度小,诱导时间长时 MDA 含量增加幅度大。这说明一定浓度的 Na^+ 作用一定时间,会对植物细胞造成明显伤害,并且 Na^+ 诱导时间对丙二醛的产生影响更大。

3 结论与讨论

本研究结果表明,正对照组细胞轮廓清晰,形态正常,结构完整;负对照组细胞轮廓消失,形态和结构均发生明显变

了更明显的变化,部分细胞的细胞膜已经破裂,细胞核轮廓模糊,着色变浅,细胞质壁分离现象更明显,细胞质内块状或碎末状物质更多,细胞背景极不干净。



A1—正对照; A2—0.1 mol/L NaCl 诱导 1 h; A3—0.3 mol/L NaCl 诱导 1 h; A4—0.5 mol/L NaCl 诱导 1 h; A5—0.7 mol/L NaCl 诱导 1 h; A6—0.1 mol/L NaCl 诱导 4 h; A7—0.3 mol/L NaCl 诱导 4 h; A8—0.5 mol/L NaCl 诱导 4 h; A9—0.7 mol/L NaCl 诱导 4 h。

不同小写字母表示各处理间的差异显著 ($P < 0.05$)

图5 不同处理下洋葱内表皮细胞中丙二醛(MDA)含量

化,细胞不能保持完整; Na^+ 诱导组细胞轮廓发生变化,细胞质壁出现不同程度的分离,细胞核、细胞质、细胞膜等细胞结构发生不同程度的变化, Na^+ 诱导浓度和时间与细胞凋亡率及细胞中丙二醛含量成正比。

NaCl 之所以能够诱导细胞程序性死亡,其可能机制是: (1) 细胞程序性死亡需要大量的 ATP,而线粒体是能不断产生 ATP 的一种重要的细胞器,位于线粒体外膜上的受体可以被 NaCl 刺激,导致膜通透性孔不断保持开放状态,最终使得线粒体的膜通透性增强,使细胞色素 C、一些凋亡诱导因子等被释放,从而加快细胞程序性死亡。(2) Na^+ 浓度升高时,膜质过氧化物会在细胞内形成,这会破坏细胞膜上钙离子与钠离子的相对平衡状态,造成细胞膜上的 Ca^{2+} 被 Na^+ 替换掉,从而改变 Ca^{2+} 的流向,使得 Ca^{2+} 由细胞内向细胞外流动,最终导致细胞膜的透性增强,使细胞内的某些凋亡诱导因子等物质被释放,进而加快细胞程序性死亡。(3) Na^+ 浓度越高,细胞发生质壁分离的程度越高,达到一定程度后会导致细胞

王夏雯,吴绍军,孟佳丽,等.江苏省自主选育西瓜新组合与进口西瓜新品种比较试验[J].江苏农业科学,2016,44(11):191-193.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.11.057

江苏省自主选育西瓜新组合与进口西瓜新品种比较试验

王夏雯,吴绍军,孟佳丽,周玲玲,余翔,姜若勇

(江苏省农业科学院宿迁农科所,江苏宿迁 223831)

摘要:以西瓜品种小兰和京欣 1 号为对照,对江苏省自主选育的 6 个最新西瓜组合和 3 个进口西瓜新品种进行了生育期、果实性状及产量鉴定。结果表明:江苏省自主选育的小果型黄瓢新组合苏 11-03、YS14 和中果型红瓢新组合苏创 3 号、苏蜜 11 号、RM13 在早熟性、商品性、产量等方面均有较大优势,适合春早熟设施栽培,有望替代老旧和进口品种在江苏地区大面积推广。

关键词:西瓜;自主选育;新品种;比较试验

中图分类号: S651.037 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)11-0191-03

西瓜(*Citrullus lanatus*)原产于非洲,因其营养丰富、清甜爽口,深受广大消费者喜爱^[1]。随着市场需求的扩大和农业产业结构的不断调整,江苏省西瓜栽培面积逐年扩大,早熟设施西瓜栽培已成为部分地区农民收入的主要来源,尤其在苏北地区,盐城、连云港、宿迁、徐州等地都有较大的栽培面积^[2]。然而生产上所用品种还多以老旧或进口品种为主,如京欣 1 号、早佳、小兰等^[3]。这些品种在江苏省大面积栽培已久,虽然品质优异,但由于对本地春季多雨、弱光等气候条件适应性较差,坐果困难且皮脆易裂,严重影响生产效益^[4]。江苏省开展西瓜育种工作历史悠久,自主创新能力一直居全

国前列,也不乏优秀品种的涌现。本研究通过与最新的进口品种进行比较,对江苏省自主选育的最新西瓜品种进行鉴定,查找优缺点,以筛选出综合性状表现良好、适宜本地栽培的优秀品种。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验于 2015 年春季在江苏省农业科学院宿迁农科所运河湾试验基地进行。试验地土壤为沙壤土。委托江苏省农业科学院农业质量安全检测研究中心测定土壤基础肥力,结果为 pH 值 7.2,电导率 416.1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 、有机质 3.160%,全氮 0.180%,全磷 0.158%,全钾 4.110%,速效氮 98.700 mg/kg,速效磷 69.500 mg/kg,速效钾 456.800 mg/kg。试验地从未种植过瓜类作物。

1.2 试验材料

试验西瓜材料分为小果型黄瓢和中果型红瓢 2 个组别,选取了 5 个省内西瓜育种单位的 6 个具有代表性的自主选育

收稿日期:2015-09-21

基金项目:2014 年江苏省宿迁市农业科技自主创新项目;江苏省农业科学院科技服务专项[编号:KF(15)2011]。

作者简介:王夏雯(1982—),女,甘肃平凉人,硕士,副研究员,从事西瓜新品种选育与栽培技术研究。E-mail:xiawen77@163.com。

通信作者:姜若勇,副研究员,从事蔬菜栽培技术研究。E-mail:jssyjry@163.com。

内液泡裂解,然后液泡中的酸性水解酶等就会被释放出来,它的释放可以使细胞内的细胞核、高尔基体、核糖体、细胞膜、线粒体等被分解,细胞结构发生明显改变后诱发了细胞程序性死亡的发生^[7-9]。

目前对 PCD 有关的基因、PCD 的调节途径、各信号分子的调节机理以及信号分子之间的关系等均获得了一些了解。但是对洋葱内表皮细胞发生 PCD 时,相关酶和蛋白质之间是怎样联系并发挥作用的还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Greenberg J T, Guo A, Klessig D F, et al. Programmed cell death in plants: a pathogen-triggered response activated coordinately with multiple defense functions[J]. Cell, 1994, 77: 551-563.
- [2] McCabe P F, Levine A, Meijer P J, et al. A programmed cell death pathway activated in carrot cell cultured at low cell density[J]. Plant

- J, 1997, 12: 267-280.
- [3] Pennell R I, Lamb C. Programmed cell death in plants[J]. Plant Cell, 1997, 9: 1157-1168.
- [4] Yen C H, Yang C H. Evidence for programmed cell death during leaf senescence in plants[J]. Plant Cell Physiol, 1998, 39: 922-927.
- [5] Xu Y, Hanson M R. Programmed cell death during pollination-induced petal senescence in petunia[J]. Plant Physiol, 2000, 122: 1323-1333.
- [6] Katsuhara M. Apoptosis-like cell death in barley roots under salt stress[J]. Plant Cell Physiol, 1997, 38: 1091-1093.
- [7] 刘萍,李明军. 植物生理学实验技术[M]. 北京:科学出版社, 2007: 150-152.
- [8] 肖军,高杰. 高等植物细胞凋亡的诱因及生物学意义[J]. 山东农业大学学报, 2008, 39(1): 125-128.
- [9] 李云霞,程晓霞,代小梅,等. 植物在逆境胁迫中的细胞程序性死亡[J]. 生物技术通报, 2009(4): 7-11.