

水稻边缘细胞的生物学特性及对铁毒的响应

宋金敏¹, 章 艺^{1,2}, 刘 鹏^{1,*}, 徐根娣¹, 蔡妙珍¹, 王婷婷¹

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

摘要:以水稻为实验材料,从 19 个品种中筛选出来相对耐亚铁的水稻品种中优 9288 和敏感品种汕优 10 号,研究水稻根边缘细胞的生物学特性及对铁毒的响应。结果表明,第 1 个水稻边缘细胞几乎与初生根同时出现,当根长为 25 mm 时,边缘细胞数目最大,分别为 1165 个(中优 9288)、1311 个(汕优 10 号);两个品种边缘细胞活性随着根长的增加而增强,在根长 20 mm 时活性最强,随着根的进一步伸长,活性下降;根长为 2 mm 时根冠果胶甲基酯酶(PME)活性最高。随着亚铁溶液浓度的增加,中优 9288 的边缘细胞数目先增加后减少,当浓度为 100 mg/L 时达到最大值,汕优 10 号的边缘细胞数则一直呈现减少趋势;两个品种边缘细胞活性随亚铁溶液浓度增加而降低,当亚铁浓度增加到 400 mg/L 时,活性有所回升,但当浓度增加到 800 mg/L 后存活率又下降;根冠 PME 活性随着亚铁溶液浓度的增加先上升后下降。有关铁毒影响水稻根冠 PME 活性的机理进行了讨论。

关键词:边缘细胞;铁毒;活性;根冠 PME

文章编号:1000-0933(2008)07-3284-11 中图分类号:Q945.78; X173 文献标识码:A

Biological characteristics and the toxicity response to ferrous iron of rice border cells

SONG Jin-Min¹, ZHANG Yi^{1,2}, LIU Peng^{1,*}, XU Gen-Di¹, CAI Miao-Zhen¹, WANG Ting-Ting¹

¹ Key Laboratory of Botany, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China

² Quzhou College, Quzhou 324000, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(7): 3284 ~ 3294.

Abstract: Two rice varieties Fe^{2+} tolerant Zhongyou 9288 and Fe^{2+} sensitive Shanyou No. 10 screened from 19 rice varieties were used to study the biological characteristics of rice root border cells and their toxicity responses to ferrous iron stress. The experimental results showed that, the first border cell occurred almost synchronously with the emergence of primary root tip and the numbers of border cells reached maximum (1165 for Zhongyou 9288 and 1311 for Shanyou No. 10) when the root was 25 mm long. The greatest activity of border cells of two rice varieties was observed at 20 mm root of length. The highest relative activity of Pectin methylesterase (PME) was achieved when the root was 2 mm long. With the increasing concentration of Fe^{2+} , the number of root border cells in Zhongyou 9288 increased and reached the maximum at 100 mg/L of Fe^{2+} , then decreased. The number of root border cells in Shanyou No. 10 decreased all through. The activity of two rice varieties root border cells was reduced when concentration of Fe^{2+} was between 0 to 200 mg/L, but increased a little at 400 mg/L compared with that at 200 mg/L and decreased again when the concentration of Fe^{2+} reached 800 mg/L. With the increase of Fe^{2+} concentration, the PME activity of Zhongyou 9288 and Shanyou No. 10 increased and reached the maximum

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(305102)

收稿日期:2007-12-16; 修订日期:2008-04-22

作者简介:宋金敏(1984~), 浙江丽水人, 硕士生, 主要从事植物生理生态研究. E-mail: tswc11@126.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sky79@zjnu.cn

致谢:供试水稻品种种子由中国水稻所和浙江省种子公司提供,特此致谢。

Foundation item: The project was financially supported by Natural Science Foundation of Zhejiang (No. 305102)

Received date: 2007-12-16; **Accepted date:** 2008-04-22

Biography: SONG Jin-Min, Master candidate, mainly engaged in monitoring of physiology and zoology in plant. E-mail: tswc11@126.com

at 200 mg/L and 100 mg/L, respectively, then decreased. The mechanism of ferrous iron toxicity on PME activity was discussed.

Key Words: root border cell; ferrous iron toxicity; activity; Pectin methylesterase

根边缘细胞(root border cell),又称脱落的根冠细胞(sloughed root cap cells),来源于根冠分生组织^[1]。过去,这种细胞被认为没有生物学活性,而仅仅起到润滑作用^[2]。最近几年越来越多的研究证明,根冠脱落细胞具有生物学活性^[3],而且有关植物边缘细胞的生物功能的研究,已成为目前植物学研究的新热点之一。在自然条件下,根的生长导致根与土壤间的摩擦,新生成的根冠细胞不断被转移到根尖后转化为边缘细胞^[4]。这些看上去是浪费地释放到环境中的细胞是高等生物特有的,他们的功能目前还不完全清楚^[5]。目前已发现这些细胞能诱导和控制根际周围微生物的生长,中和根际周围有毒物质,从而调节根部环境^[6],在逆境中起着多种防御和保护功能^[7~10]。到目前为止,已经对 14 个科 49 个物种边缘细胞的数量及其活性进行了检测^[11~23]。

铁毒是广泛分布于热带和亚热带地区常见的生理性病害^[24],亚洲和远东地区是世界铁毒的主要发生地。我国铁毒发生区主要位于南方植稻区,总面积达 400 万 hm^2 以上^[25]。还原性强的低产土壤淹水后,会导致大量的可溶性 Fe^{2+} 积累,铁进入水稻并积累到一定的程度,就会出现毒害症状^[26],从而严重影响了作物产量^[27]。国内外关于铁毒害对水稻的形态、生长发育和产量的影响也有不少研究^[28~31]。铁毒致害的直接作用因子是亚铁离子,亚铁离子是自由基形成的诱发剂^[32],过量 Fe^{2+} 对植物的伤害主要在于 Fe^{2+} 参与的 Fenton 反应^[33],产生毒性极高的羟自由基($\cdot\text{OH}$), $\cdot\text{OH}$ 可迅速与周围的各种生物分子反应,产生各种次生自由基,导致膜脂过氧化,从而使膜的结构和功能以及体内的各种生理过程受损^[34],最终导致膜的渗漏以至膜的彻底破坏^[35]、植物体生长受抑。具有生物活性的边缘细胞在水稻抵御铁胁迫过程也应该有其相应的作用,这对弄清水稻耐铁毒机理有较大的学术意义。已有研究报道了水稻边缘细胞数目为 1600 个^[36],戚伟刚等^[37]研究了铝毒对水稻边缘细胞的影响,发现铝毒明显降低了水稻边缘细胞的存活率。但有关边缘细胞在水稻抵御铁胁迫过程的作用及铁离子对水稻边缘细胞的影响尚未见公开报道,因而研究水稻边缘细胞的生物学特性以及对铁毒的响应,有利于进一步阐述边缘细胞在植物抗逆境胁迫中的作用和机理,为我国南方植稻区的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以 19 个水稻(*Oryza sativa* L.)品种作为品种筛选材料,各品种由中国水稻所和浙江省种子公司提供。将这 19 个水稻品种的种子露白后进行悬空培养,待根尖长到 5 mm 后分别用 2 mg/L 和 200 mg/L 的亚铁溶液($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, pH 4.5)处理 48 h 后测量根长抑制率,结果以中优 9288(zhongyou 9288)的根长抑制率 41% 为最低,汕优 10 号(shanyou No. 10)的根长抑制率 80% 为最高,分别将中优 9288 作为相对耐亚铁品种和汕优 10 号作为相对敏感品种作为本次实验的材料。

1.2 材料培养

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进行悬空培养,25 $^{\circ}\text{C}$ 下黑暗静置培养。

1.3 不同根长下边缘细胞的数目、存活率和根冠 PME 活性

1.3.1 不同根长下边缘细胞的数目以及存活率

随机剪取根长为 1,2,3,4,5,7,10,15,20,25 mm 和 30 mm 的水稻根尖,将其浸入 20 μl 蒸馏水中,轻轻搅动 30 s,将边缘细胞洗脱在水中,滴加 20 μl FDA-PI (Fluorescein diacetate-propidium iodide) 染液(FDA 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、PI 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)(边缘细胞溶液与染液以 1:1 混合),用移液枪轻轻吹吸几次,混匀溶液,黑暗放置 15 min 染色,形成 40

μl 染色的边缘细胞溶液。取 $10\ \mu\text{l}$, 用血球计数板计数并统计活细胞数和死细胞数^[38]。荧光显微镜下显绿色荧光的为活细胞, 显红色荧光的为死细胞(存活率的计算方法是: 活细胞/总细胞 $\times 100\%$)。重复 5 次。

1.3.2 不同根长下的根冠果胶甲基酯酶(PME)活性

(1) 根冠 PME 的提取 随机挑选根长为 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20 mm 和 25 mm 的根 40 个, 各剪取 1 mm 根尖, 置于含 $200\ \mu\text{l}$ 的 PME 提取液的研钵中, 冰浴下充分研磨后研磨液倒入 1.5 ml 离心管中, 充分振荡, 冰浴 1 h, 每隔 20 min 振荡 1 次, 置于 4°C , 15000 r/min 下, 离心 10 min, 收集上清液, -20°C 保存。

(2) 根冠 PME 活性的测定 PME 活性测定主要参考 Richard 等^[39]的方法。取上述 PME 提取物样品 $10\ \mu\text{l}$, 加到 4 ml 底物溶液中, 37°C 温水浴 2 h, 用紫外分光光度计(Helios Gamma 9423 UVG 1702E), 在 525 nm 波长下测定 OD 值。在 PME 的作用下, 果胶(Pectin)去甲基化后, 释放出 H^+ , 使溶液 pH 值下降, 甲基红(Methyl red)由黄色变为红色, 再通过分光光度计检测出来。然后利用标准曲线回归方程计算不同 PME 样品的酶活性($\text{mg H}^+ / (\text{rootcap}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$), 以 525 nm 处的光吸收值为横坐标, H^+ mg 数为纵坐标, 做标准曲线, 得到线性方程 $y = 2.3754x - 0.0251$ ($R^2 = 0.9803$)。重复 3 次。

1.4 活体处理下铁毒对边缘细胞数目、存活率和根冠 PME 活性的影响

1.4.1 活体处理下铁毒对边缘细胞数目、存活率的影响

由于同批浸泡水稻种子的萌发有较大差异, 因此将不同批次萌发的种子放在一起, 当其中有根长到达 18 mm 的时候开始用亚铁溶液处理。活体处理: 喷洒亚铁溶液浓度设置为 0 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L, 每隔 1 h 喷洒 1 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 2、6、12、24、48 h 后分别取出各浓度处理下相近长度(约 20 mm)的水稻根进行测定。处理后按 1.3 方法得出边缘细胞数目和存活率。重复 3 次。

1.4.2 活体处理下铁毒对根冠 PME 活性的影响

活体处理方法同 1.4.1, PME 测量方法参考 Richard 等^[39]的方法。

1.5 数据处理

根据重复实验所得数据计算平均值(AVERAGE)和标准偏差(STDEV), 采用 EXCEL2003 和 SPSS12.0 软件进行数据处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 水稻边缘细胞的形态观察

边缘细胞(BC)起源于根冠分生组织细胞, 主要分布在根尖 1~2 mm 处(图 1), 大部分水稻边缘细胞呈椭圆形或长杆状。荧光染色后, 显绿色荧光的细胞为活细胞(图 2), 显红色荧光的细胞为死细胞(图 3)。

2.2 不同根长下边缘细胞的数目、存活率和根冠 PME 活性

同根长下边缘细胞的数目、存活率结果如表 1 所示。中优 9288 和汕优 10 号两个水稻品种的边缘细胞数目随着根的长度的增长而逐渐增加, 根长 25 mm 时边缘细胞数目达到最大值, 分别为 1165 个(中优 9288)、1311 个(汕优 10 号)。随着根长的进一步增加, 边缘细胞的数目减少; 两个水稻品种的边缘细胞的存活率均随着根的伸长而增大, 在根长为 20 mm 时, 存活率达到最大, 根继续伸长, 存活率呈下降趋势, 汕优 10 号边缘细胞的数目及存活率普遍大于中优 9288。

由表 1 可以看出, 根尖露出种皮 2 mm 时, 根冠 PME 活性达到最高值。随着根的伸长, 根冠 PME 活性逐渐下降。中优 9288 根长达到 7 mm, 汕优 10 号根长达到 10 mm 后, 根冠 PME 活性又随着根长的增加逐渐增强, 在 15 mm 处达到第二高峰, 此时 PME 活性分别达到最高值的 96.19% (中优 9288) 和 91.25% (汕优 10 号)。根长达到 20 mm 后根冠 PME 活性开始急剧下降, 中优 9288 在根长为 20 mm、25 mm 时根冠 PME 活性仅为最高值的 83.17%、63.16%。汕优 10 号的根冠 PME 活性普遍比中优 9288 高。

表 1 不同根长下水稻边缘细胞的数目、存活率及根冠 PME 活性

Table 1 The number and the livability of border cells and PME activity of root cap in different root length in rice

根长 Root length (mm)	边缘细胞总数(个) The total number of BC		存活率 Livability(%)		PME 活性 PME activity (mg H ⁺ /(rootcap ⁻¹ ·h ⁻¹))	
	中优 9288 Zhongyou 9288	汕优 10 号 Shanyou No. 10	中优 9288 Zhongyou 9288	汕优 10 号 Shanyou No. 10	中优 9288 Zhongyou 9288	汕优 10 号 Shanyou No. 10
1	167 ± 25g	205 ± 24h	44.78 ± 2.39e	43.60 ± 0.81h	0.38 ± 0.02abc	0.46 ± 0.02a
2	184 ± 4g	214 ± 22h	47.48 ± 3.68e	48.02 ± 1.92g	0.40 ± 0.01a	0.47 ± 0.02ab
3	359 ± 34f	490 ± 25g	53.16 ± 2.68d	53.61 ± 4.06f	0.39 ± 0.01ab	0.45 ± 0.01bc
4	453 ± 38e	576 ± 21f	54.93 ± 0.98d	59.62 ± 1.58e	0.38 ± 0.02ab	0.44 ± 0.01bcd
5	569 ± 19d	681 ± 27e	55.49 ± 0.54d	63.43 ± 1.31de	0.35 ± 0.03bcd	0.43 ± 0.02cde
7	617 ± 31d	812 ± 25d	61.12 ± 1.50c	65.96 ± 2.60cd	0.33 ± 0.03cd	0.42 ± 0.01e
10	832 ± 9c	949 ± 33c	63.28 ± 0.83bc	68.87 ± 1.10bc	0.34 ± 0.02d	0.41 ± 0.01e
15	931 ± 20b	1192 ± 36b	65.60 ± 1.65ab	71.71 ± 0.46ab	0.36 ± 0.03abcd	0.42 ± 0.01de
20	1104 ± 66a	1283 ± 20a	68.81 ± 1.32a	74.05 ± 2.06a	0.33 ± 0.02d	0.41 ± 0.01e
25	1165 ± 44a	1311 ± 12a	60.74 ± 1.85c	71.24 ± 0.58ab	0.25 ± 0.03e	0.36 ± 0.01f
30	1115 ± 47a	1297 ± 12a	60.11 ± 1.41c	68.54 ± 1.16bc	0.21 ± 0.01f	0.33 ± 0.02g

同一品种不同字母的处理间差异为显著差异($P < 0.05$) Data followed by different letters within a column indicate significant difference at 5% level ($P < 0.05$)

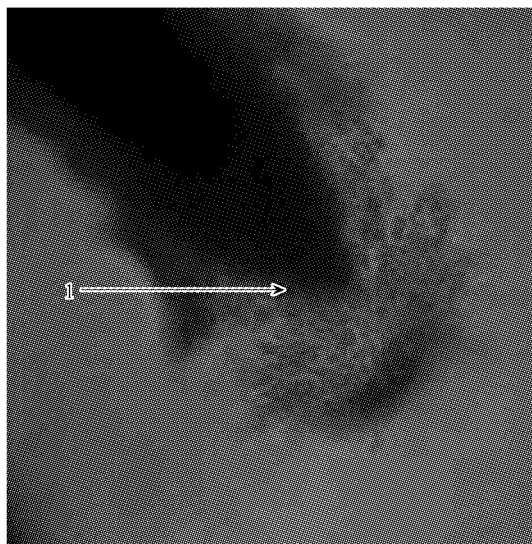


图 1 水稻边缘细胞
Fig. 1 Root border cells of rice
1. 根尖边缘细胞 the border cells at the root tip

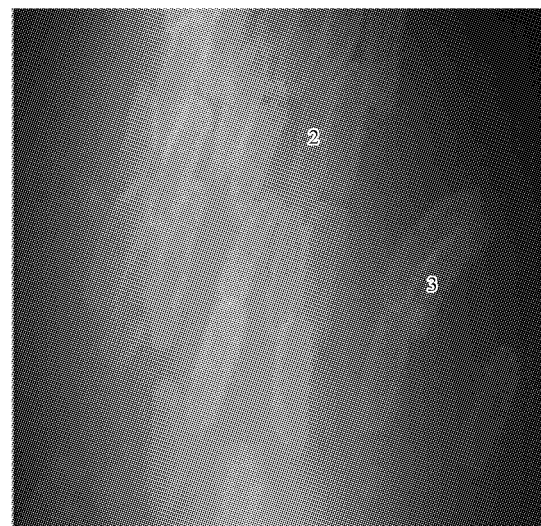


图 2 边缘细胞的形态
Fig. 2 The shape of border cells
2. 存活的边缘细胞 living border cell; 3. 死的边缘细胞 dead border cell

2.3 活体处理下铁毒对边缘细胞数目、存活率和根冠 PME 活性的影响

2.3.1 活体处理下铁毒对边缘细胞数目的影响

由图 4 可知,同一处理时间下,中优 9288 边缘细胞的数目随着亚铁溶液浓度的增高呈现先上升后下降的趋势,当亚铁溶液浓度为 100 mg/L 时边缘细胞的数目达到最大值,在 400 mg/L 的亚铁溶液处理下,边缘细胞的数目下降较明显,每个处理时间下都与其他浓度之间存在显著性差异。当处理浓度为 200 mg/L 和 400 mg/L 时,边缘细胞的数目随着处理时间的增加有所下降,后者下降较明显。而汕优 10 号边缘细胞的数目(见图 5)随着亚铁溶液浓度的增高呈现下降的趋势,且下降较明显,亚铁溶液浓度为 400 mg/L 时,处理 2 h 下,边缘细胞数目为对照组的 13.95%,处理 48 h 下仅为对照组的 5.41%。随着处理时间的增加,汕优 10 号边缘细胞的数目减少(除对照组外),各浓度处理下的边缘细胞数目的差异有增大的趋势,当处理时间达到 12 h 后,5

种处理浓度之间的边缘细胞数目均有显著性差异。中优 9288 边缘细胞的数目在处理浓度达到 400 mg/L 时才有较大抑制,汕优 10 号则在浓度为 100 mg/L 时就受到了明显的抑制,且各浓度处理之间的汕优 10 号边缘细胞数目差异明显比中优 9288 大。

2.3.2 活体处理下铁毒对边缘细胞存活率的影响

从图 6、图 7 可以看出,中优 9288 和汕优 10 号随着亚铁溶液浓度处理的增加,边缘细胞的存活率呈现递减趋势,而在处理浓度为 400 mg/L 时有所回升,但当亚铁溶液浓度增加到 800 mg/L 时存活率又下降。中优 9288 边缘细胞的存活率在 50、100、200 mg/L 和 400 mg/L 的处理浓度下均无显著性差异。汕优 10 号各浓度之间边缘细胞存活率的差异较中优 9288 大。当处理浓度从 100 mg/L 增加到 200 mg/L 时,汕优 10 号边缘细胞存活率下降较明显。随着处理时间的增长,两个品种水稻的边缘细胞存活率整体呈现下降趋势(对照组除外),各处理浓度之间的差异也有增大趋势。

2.3.3 活体处理下铁毒对根冠 PME 活性的影响

活体处理下铁毒对根冠 PME 活性的影响结果如图

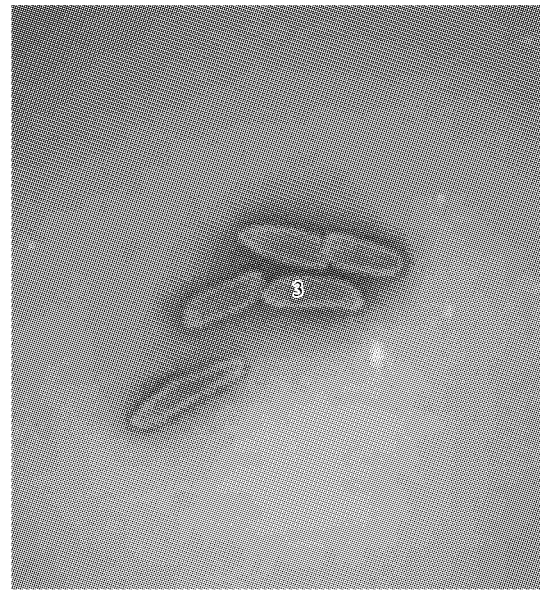


图 3 铁毒处理后的边缘细胞

Fig. 3 Border cells treated with ferrous iron

3. 死的边缘细胞 dead border cell

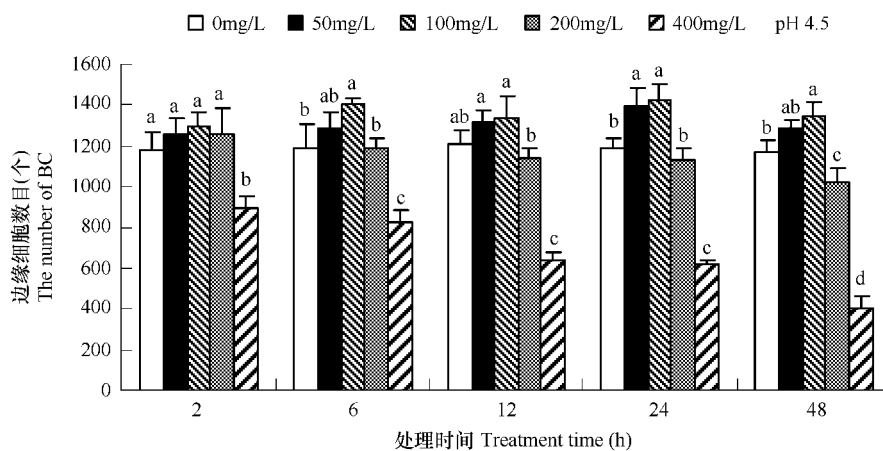


图 4 不同浓度亚铁处理不同时间对“中优 9288”边缘细胞(BC)数目的影响

Fig. 4 The total number of root border cells of rice “Zhongyou 9288” treated with Fe²⁺ for different time(2 ~ 48 h)

8、图 9 所示。中优 9288 根冠 PME 活性随着亚铁溶液浓度的增加先升高后下降,在处理浓度为 200 mg/L 时达到最大值,浓度增加到 400 mg/L 时根冠 PME 活性下降较明显,400 mg/L 处理下的根冠 PME 活性与其余处理浓度之间均差异显著。随着亚铁溶液浓度的增加,汕优 10 号根冠 PME 活性也是先上升后下降,但在处理浓度为 100 mg/L 时达到最大值。当处理时间为 2 h 时,中优 9288 和汕优 10 号在处理浓度为 0、50、100、200 mg/L 下根冠 PME 活性差异不显著,且各处理浓度之间的差异较小,在处理浓度为 50、100、200、400 mg/L 下,中优 9288 的根冠 PME 活性分别是对照的 100.80%、101.40%、102.20%、92.01%,汕优 10 号分别是 101.35%、102.45%、99.66%、94.08%。随着处理时间的增长,中优 9288 和汕优 10 号根冠 PME 活性总体呈现递减的趋势,各处理浓度间的根冠 PME 活性差异随着处理时间的增长而增大,处理时间达到 48 h 时,中优 9288 上述处理浓度下的根冠 PME 活性依次为对照的 103.98%、108.63%、115.00%、49.69%,汕优 10 号分

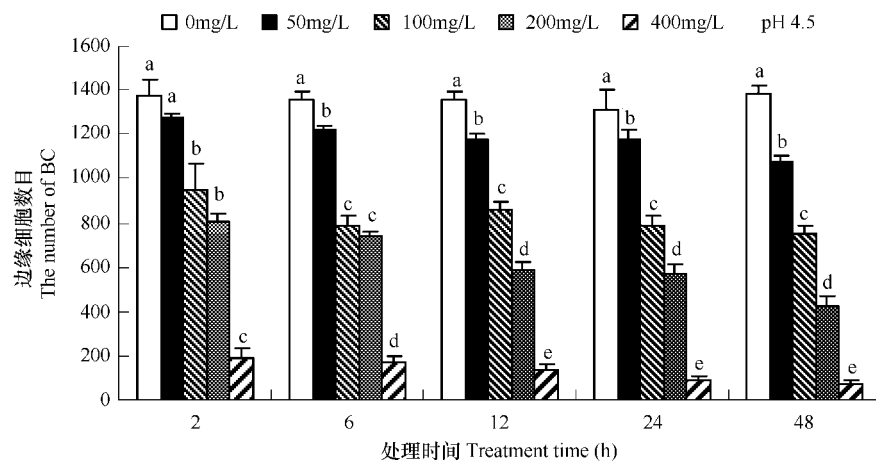


图5 不同浓度亚铁处理不同时间对“汕优10号”边缘细胞(BC)数目的影响

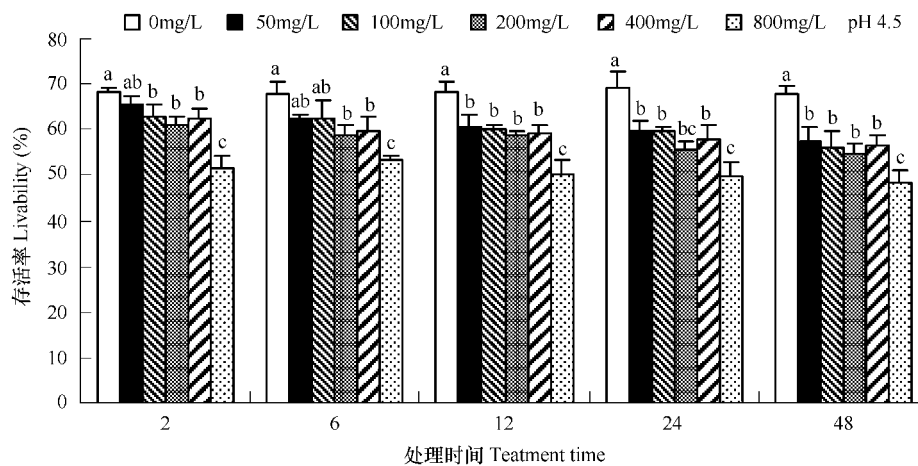
Fig. 5 The total number of root border cells of rice “Shanyou No. 10” treated with Fe^{2+} for different time (2 ~ 48 h)

图6 不同浓度亚铁处理不同时间对“中优9288”边缘细胞存活率的影响

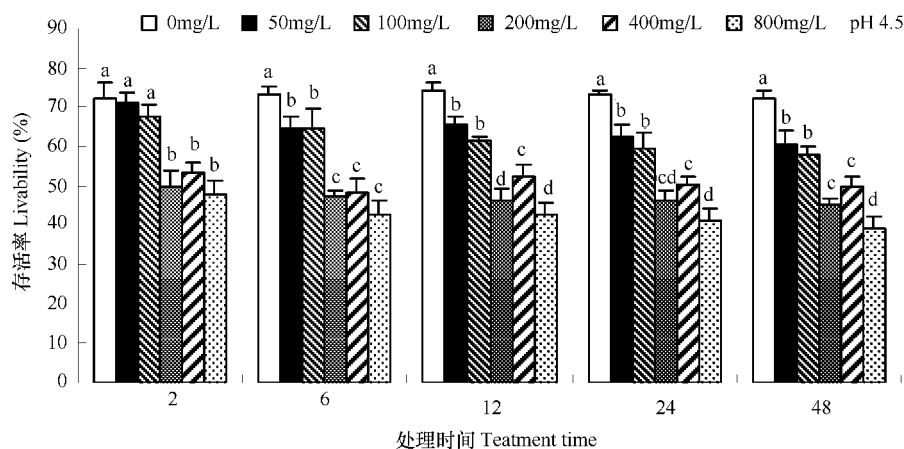
Fig. 6 Influence of Fe^{2+} on the viability of root border cells of rice “Zhongyou 9288” at different time

图7 不同浓度亚铁处理不同时间对“汕优10号”边缘细胞存活率的影响

Fig. 7 Influence of Fe^{2+} on the viability of root border cells of rice “Shanyou No. 10” at different time

别为 103.89%、106.93%、74.48%、33.00%。从两个品种各个处理时间的同一处理浓度与对照相对比可以看出,汕优 10 号各处理浓度之间的差异总的来说较中优 9288 大,表明其对铁的敏感性高于中优 9288。

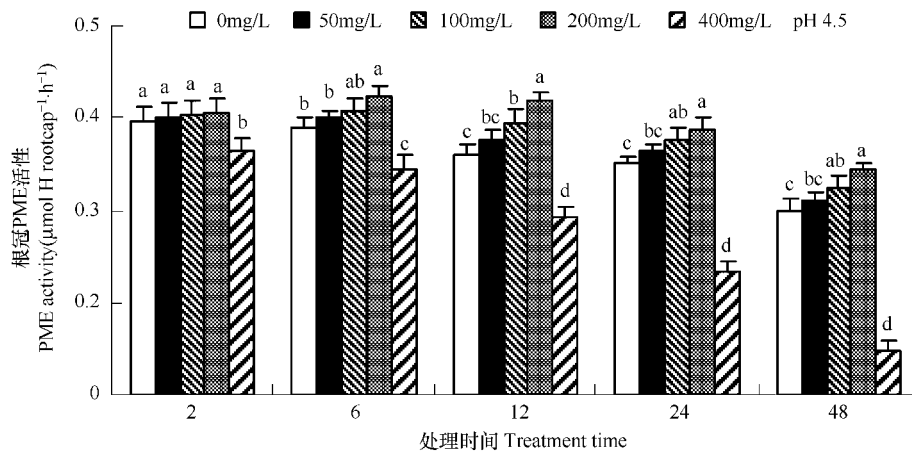


图 8 不同浓度亚铁处理不同时间对“中优 9288”根冠 PME 活性的影响

Fig. 8 Influence of Fe^{2+} on the viability of PME of root cap in rice “Zhongyou 9288” at different time

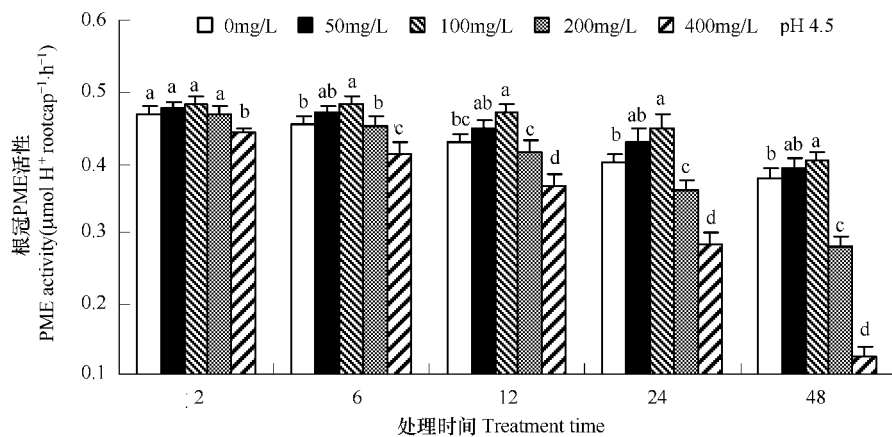


图 9 不同浓度亚铁处理不同时间对“汕优 10 号”根冠 PME 活性的影响

Fig. 9 Influence of Fe^{2+} on the viability of PME of root cap in rice “Shanyou No. 10” at different time

3 讨论

在水稻^[37]的研究中发现,在根长为 20 ~ 25 mm、25 ~ 30 mm 时边缘细胞数达到最大(1143 个和 600 个)。本实验发现,当根长达到 25 mm 时边缘细胞数目达到最大值,分别为 1165 个(中优 9288)、1311 个(汕优 10 号),这与 Hawes 等^[36]报道的水稻最大边缘细胞数目(1600 个)和戚伟刚等^[37]报道的水稻最大边缘细胞数目(600 个)有较大的区别;戚伟刚等^[37]报道的水稻不同根长下边缘细胞的存活率为 66.16% ~ 82.17%,与本实验中得出水稻不同根长下边缘细胞的存活率有差异,说明同一物种的不同品种之间边缘细胞的数目和存活率存在着差异,与 Hawes 等^[24]得出的同科不同属物种或同一属不同种间存在着差异结论相一致。本实验得出水稻根冠 PME 活性在根长为 2 mm 时最大,由于边缘细胞对根尖起着重要的保护作用,初生根尖形成边缘细胞的速率相对较大,而 PME 在边缘细胞游离过程中起着重要的作用^[12],可能导致了初生根的 PME 活性相对较高。

实验结果表明,铁毒耐性不同的水稻品种的边缘细胞对铁毒的响应存在较大的差别。活体处理下对两个品种边缘细胞数目的影响存在很大的差别,随着亚铁溶液浓度的升高,中优 9288 边缘细胞的数目先上升后下降,而汕优 10 号边缘细胞的数目则呈现下降的趋势,说明中优 9288 的铁毒耐性较高,低浓度的亚铁处理促进

了边缘细胞的生长,而铁毒处理下敏感品种汕优 10 号边缘细胞的生长却一直受到抑制;同一处理时间的不同处理浓度之间,铁毒敏感品种汕优 10 号的边缘细胞数目显著性差异大于中优 9288。在研究活体处理下铁毒对根冠 PME 活性的影响中发现,中优 9288 的根冠 PME 活性在亚铁溶液浓度处理达到 200 mg/L 后由促进转为抑制,而汕优 10 号则在 100 mg/L 后转为抑制作用,这是由于汕优 10 号比中优 9288 对铁毒较敏感所导致。Tanaka^[40]和 Winslow^[41]认为水稻抗铁毒能力主要由基因型决定。祝金明^[42]、周建林^[43]、万建林^[44]等都对水稻的铁毒基因型进行了研究,取得了一定的成果。 Fe^{2+} 毒害被认为是潜育性水稻土中水稻生长的重要限制因素^[45],在我国潜育性水稻土的面积高达 400 万 hm^2 以上^[25],因此,研究水稻各品种之间的亚铁敏感性有较大的实际应用前景。

许多学者研究发现,低亚铁溶液浓度处理下对水稻生长的某些方面有促进作用,如:水稻幼苗的根长和株高、POD 活性、CAT 活性和 SOD 活性等^[28,46,47]。在研究铁毒对中优 9288 边缘细胞存活率的影响中发现低亚铁溶液浓度短时间的作用可以刺激边缘细胞的产生。结果同李荣峰等在研究边缘细胞对大豆根尖铝毒害的缓解作用相类似^①。研究中还发现水稻边缘细胞存活率随着亚铁溶液浓度的升高呈现下降趋势,但在浓度为 400 mg/L 时边缘细胞存活率稍有回升,推测可能是由于水稻边缘细胞对亚铁毒害产生了一定的抵御能力,当处理浓度为 800 mg/L 边缘细胞存活率又明显下降,表明水稻边缘细胞在 400 mg/L 处理浓度下的边缘细胞存活率回升是一种短暂的应激反应,其机理有待于进一步研究。

Micheli^[48]的研究表明,果胶和 PME 是同时被分泌到胞外,其中 PME 是以酶原的形式分泌,PME 分泌到胞外后才被剪切成成熟的 PME,这时才有可能使细胞壁果胶去甲基化。Darley 等^[49]认为 PME 使果胶去甲基化有两个重要作用,一方面,游离羧基的形成提高了多聚物的净电荷,促进了与阳离子如 Ca^{2+} 等结合形成交联的能力,使细胞壁变硬,细胞壁一定程度的变硬可加强细胞与细胞之间的粘附。目前普遍认为,根冠 PME 活性是促进边缘细胞脱离根系表面的主要因素^[14,50],且已有学者研究了铝毒对根冠 PME 活性的影响及机理^[51]。目前尚未报道有关铁毒对根冠 PME 活性的影响及机理。本实验研究发现水稻根冠 PME 酶在低浓度铁毒胁迫下活性上升,高浓度的亚铁胁迫下它的活性急剧下降。已有研究表明,二价阳离子如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等能促进 PME 的活性,但一价阳离子没有这种促进作用^[52,53]。实验中发现低浓度的亚铁溶液能促进根冠 PME 活性上升,可能是 Fe^{2+} 直接与 PME 作用,使 PME 结合到细胞壁上,增加了 PME 对果胶底物的亲和力,从而提高了 PME 的活性,已有研究表明,结合于细胞壁上的 PME 活性远比可溶性 PME 高^[54]。高浓度的亚铁溶液抑制根冠 PME 活性可能是由于过量 Fe^{2+} 参与的 Fenton 反应^[33],产生毒性极高的羟自由基($\cdot\text{OH}$), $\cdot\text{OH}$ 迅速与周围的各种生物分子反应,产生各种次生自由基,导致根尖细胞的膜脂过氧化,从而使膜的结构和功能以及体内的各种生理过程受损^[34],最终导致膜的渗漏以至膜的彻底破坏^[35],抑制了 PME 等分泌到胞外的过程。本实验中还发现随着亚铁溶液处理时间的增长,根冠 PME 活性总体呈现下降的趋势,这可能是由于处理时间增长水稻根尖积累的 Fe^{2+} 增多,根冠 PME 活性下降的机理可能类似于上述高浓度亚铁溶液处理后过量 Fe^{2+} 参与 Fenton 反应的机理。

References:

- [1] Feldman L J. Development and dynamics of the root apical meristem. *American Journal of Botany*, 1984, 7: 1308—1314.
- [2] Rogers H T, Pearson R W, Pierre W H. The source and phosphatase activity of exoenzyme systems of corn and tomato roots. *Soil Science*, 1942, 54: 353—365.
- [3] Knudson L. Viability of detached root cap cells. *American Journal of Botany*, 1979, 6: 309—310.
- [4] Cai W C, Liu P, Xu G D, *et al.* Effect of aluminum stress on root border cells of mung bean. *Hubei Agricultural Sciences*, 2006, 45(2): 180—182.
- [5] Woo H H, Kuleck G, Hirsch A M, *et al.* Flavonoids: signal molecules in plant development. *Advanced Experiments for Medicinal Biology*, 2002,

① 李荣峰,生态学报,待发表。

- 505: 51—60.
- [6] Xu G D, Liu P, Zhou Z H. A progress of studies on development and functions of border cells. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2004, 20 (5): 28—32.
- [7] Hawes M C, Gunawardena U, Miyasaka S, *et al.* The role of root border cells in plant defense. *Trends in Plant Science*, 2000, 5(3): 128—133.
- [8] Hawes M C, Brigham L A. Impact of root border cells on microbial populations in the rhizosphere. *Advances in Plant Pathology*, 1992, 8: 119—148.
- [9] Bengough A G, Barlow P W, Cooke D E L, *et al.* Root border cells in plant-soil interactions. *Environment*, 2005, 160—161.
- [10] Hawes M C. Function root border cells in plant health: pioneers in the rhizosphere. *Annual Review of Phytopathology*, 1998, 36: 311—327.
- [11] Hawes M C, Lin H J. Correlation of pectolytic enzyme activity with the programmed release of cells from root caps of pea (*Pisum sativum*). *Plant Physiology*, 1990, 94: 1855—1859.
- [12] Sun D L, Cui J C, Xu G D, *et al.* Biological characteristics of border cell of tomato and effect of aluminum on its viability. *Semitropical Plant Science*, 2006, 35(2): 1—4.
- [13] Cai M Z, Liu P, Xu G D, *et al.* Effect of Al^{3+} toxicity on root border cells in vitro of buckwheat. *Journal of Jiangsu University(Natural Science Edition)*, 2006, 27(4): 293—298.
- [14] Wen F, Zhu Y, Hawes M C. Effect of pectin methylesterase gene expression on pea root development. *Plant Cell*, 1999, 11: 1129—1140.
- [15] Stephenson M B, Hawes M C. Correlation of pectin methylesterase activity in root caps of pea with root border cell separation. *Plant Physiology*, 1994, 106: 739—745.
- [16] Zhu M Y, Ahn S, Matsumoto H. Inhibition of growth and development of root border cells in wheat by Al. *Plant Physiology*, 2003, 117: 359—367.
- [17] Brigham L A. Mesistem-specific suppression of mitosis and a global switch in gene expression in the root cap of pea by endogenous signals. *Plant Physiology*, 1998, 118: 1223—1231.
- [18] Hawes M C, Bengough G, Cassab G, *et al.* Root caps and rhizosphere. *Plant Growth Regulation*, 2003, 2: 352—367.
- [19] Pan J W, Zhu M Y, Peng H Z, *et al.* Developmental regulation and biological functions of root border cells in higher plants. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44(1): 1—8.
- [20] Feng Y M, Yu M, Wang C Q, *et al.* Aluminum toxicity induced cell responses in higher plants. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2005, 24(3): 320—324.
- [21] Stubbs V E C. Root border cells take up and release glucose-C. *Annals of Botany*, 2004, 93: 221—224.
- [22] Zhao X W, Mark Schmitt. Species-dependent effects of border cell and root tip exudates on nematode behavior. *Nematology*, 2000, 90(11): 1239—1245.
- [23] Zhao X. Stimulation of border cell production in response to increased CO_2 levels. *Plant Physiology*, 2000, 122: 181—188.
- [24] Sahrawat L J. Elemental composition of the rice plant as affected by iron toxicity under field condition. *Communications of Soil Science and Plant Analytics*, 2000, 31(17&18): 2819—2827.
- [25] Gong Z T, Zhang X P, Wei Q P. The fashion of gleyic paddy soil and their potential of yield increasing. *Scientia Agricultura Sinica*, 1990, 23 (1): 45—53.
- [26] Ponnamperna F N, Bradfield R, Peech M. Physiological disease of rice attributable to iron toxicity. *Nature*, 1955, 175: 265.
- [27] Zhou F L, Jiang L, Wang S F, *et al.* Amelioration of Fe^{2+} toxicity by K^+ in rice. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2005, 28(4): 6—10.
- [28] Cai M Z, Lin X Y, Luo A C, *et al.* Effects of excessive Fe^{2+} on growth and physiological characters of rice. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2002, 8(1): 96—99.
- [29] Feng S H, Jia L H, Su Y R. The effect of growth and yield in rice by different concentration of Fe^{2+} . *Research of Agriculture Modernization*, 1992, 13(6): 361—365.
- [30] Jugsujinda A, Patrick W H. Evaluation of toxic conditions associated with orange symptoms of rice in a flooded *Oxisol* Sumatra, Indonesia. *Plant and Soil*, 1993, 152: 237—243.

- [31] Albano J P, Miller W B. Iron toxicity stress causes bronze speckle, a specific physiological disorder of marigold (*Tagete erecta* L.). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1996, 121: 430—437.
- [32] Ota Y. Studies on the occurrence of the physiological disease called “bronzing”. *Bulletin of Natural Institute and Agriculture Science*, 1968, 18: 104.
- [33] Halliwell B, Gutteridge M C. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 1984, 21(9): 1—14.
- [34] Cai M Z, Lin X Y, Luo A C, *et al.* Amelioration of Fe^{2+} toxicity by phosphorous in rice. *Chinese Journal of Rice Science*, 2002, 16(3): 247—251.
- [35] Peng X X, Shan N N. The fastness mechanism of plant in Fe^{2+} toxicity. *Plant Physiology Communications*, 1996, 32(6): 465—469.
- [36] Hawes M C, Pueppke S G. Sloughed peripheral root cap cells: yield from different species and callus formation from single cells. *American Journal of Botany*, 1986, 73: 1466—1473.
- [37] Qi W G, Liu P, Xu G D, *et al.* Aluminum toxicity to root border cells of rice. *Journal of Henan Agricultural Science*, 2006, 3: 22—24.
- [38] Du X, Liu P, Xu G D, *et al.* Response of root border cell in red cowpea to aluminum stress. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2006, 12(5): 722—726.
- [39] Richard L, Qin L X, Gadal P, *et al.* Molecular cloning and characterization of a putative pectin methylesterase cDNA in *Arabidopsis thaliana* L. *FEBS Letters*, 1994, 355: 135—139.
- [40] Tanaka A. Some mechanisms involved in the development of iron toxicity systems in the rice plant. *Soil Science and Plant Nutrition*, 1956, 12: 32—38.
- [41] Winslow M D, Yamauchi M. Reducing iron toxicity in rice with resistant genotype and ridge planting. *Agronomic Journal*, 1989, 81: 25—30.
- [42] Zhu J M, Luo A C, Wu Y R, *et al.* Effect of high iron stress on shoot element absorption of different genotype of rice DH population. *Journal of Zhejiang Agriculture University*, 1997, 23(4): 481—484.
- [43] Zhou J L, Li Y S, Li D M. Analysis on RAPD pattern and iron-toxicity tolerance of variants induced by introducing *Echinochloa crusgalli* DNA into rice. *Acta Agronomica Sinica*, 2001, 27(4): 529—532.
- [44] Wan J L, Qu H Q, Wan J M. Mapping of QTLs for ferrous iron toxicity tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(11): 1156—1166.
- [45] Hu B, Wu P, Liao C Y, *et al.* Effect of Ascorbate-specific H_2O_2 -scavenging on tolerance to iron toxicity in rice. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1999, 25(1): 43—48.
- [46] Wang K M, Chen G X, Yang Y H, *et al.* Effects of EDTA-Fe^{2+} on growth and physiochemical characteristic of hybrid rice seedling. *Journal of Nanjin Normal University(Natural Science)*, 2003, 26(2): 56—60.
- [47] Shao L X, Huang B Z, Ding S J. Effects of zinc manganese ferrous and copper on growth and superoxide dismutase activity of rice seedlings. *Seed*, 2001, 6: 16—19.
- [48] Micheli F. Pectin methylesterases: cell wall enzymes with important roles in plant physiology. *Trends in Plant Science*, 2001, 6(9): 414—419.
- [49] Darley C P, Forrester A M, McQueen-Mason S J. The molecular basis of plant cell wall extension. *Plant Molecular Biology*, 2001, 47: 179—195.
- [50] Driouch A, Durand C, Gibouin M V. Formation and separation of root border cells. *Trends in Plant Science*, 2006, 12(1): 14—19.
- [51] Zhou N, Chen W R, Liu P, *et al.* Biological characteristic and the response to aluminum toxicity of cucumber border cells. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, 33(5): 1117—1120.
- [52] Nari J, Noat G, Ricard J. Pectin methylesterases, metal ions and plant cell-wall extension. Hydrolysis of pectin by plant cell-wall pectin methylesterase. *Biochemical Journal*, 1991, 279: 343—350.
- [53] Goldberg R, Pierron M, Durand L, *et al.* In vitro and in situ properties of cell wall pectin methylesterases from mung bean hypocotyls. *Journal of Experimental Botany*, 1992, 43: 41—46.
- [54] Bordendave M, Goldberg R. Immobilized and free apoplastic pectinmethylesterases in mung bean hypocotyls. *Plant Physiology*, 1994, 106: 1151—1156.

参考文献:

- [4] 蔡文春, 刘鹏, 徐根娣, 等. 铝胁迫对绿豆根边缘细胞的影响. *湖北农业科学*, 2006, 45(2): 180—182.

- [6] 徐根娣, 刘鹏, 周志华. 植物边缘细胞发育和功能的研究进展. 中国农学通报, 2004, 20(5): 28~32.
- [12] 孙达丽, 崔洁晨, 徐根娣, 等. 番茄根边缘细胞生物学特性及铝对其活性的影响. 亚热带植物科学, 2006, 35(2): 1~4.
- [13] 蔡妙珍, 刘鹏, 徐根娣, 等. Al^{3+} 对荞麦离体边缘细胞的作用. 江苏大学学报(自然科学版), 2006, 27(4): 293~298.
- [20] 冯英明, 喻敏, 王昌全, 等. 铝毒诱导植物细胞反应研究进展. 华中农业大学学报, 2005, 24(3): 320~324.
- [25] 龚子铜, 张效朴, 韦启璠. 我国潜育性水稻土的形成、特性及增产潜力. 中国农业科学, 1990, 23(1): 45~53.
- [27] 周锋利, 江玲, 王松凤, 等. 钾离子对水稻亚铁毒害的缓减作用. 南京农业大学学报, 2005, 28(4): 6~10.
- [28] 蔡妙珍, 林咸永, 罗安程, 等. 过量 Fe^{2+} 对水稻生长和某些生理性状的影响. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(1): 96~99.
- [29] 冯双华, 贾凌辉, 苏以荣. 不同浓度亚铁培养液对水稻生长发育及产量构成的影响. 农业现代化研究, 1992, 13(6): 361~365.
- [34] 蔡妙珍, 林咸永, 罗安程, 等. 磷对水稻高 Fe^{2+} 胁迫的缓解作用. 中国水稻科学, 2002, 16(3): 247~251.
- [35] 彭新湘, 山内稔. 植物对铁毒的抗性机理. 植物生理学通讯, 1996, 32(6): 465~469.
- [37] 戚伟刚, 刘鹏, 徐根娣, 等. 铝毒对水稻边缘细胞的影响. 河南农业科学, 2006, 3: 22~24.
- [38] 杜幸, 刘鹏, 徐根娣, 等. 红豇豆根缘细胞对铝胁迫的响应. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(5): 722~726.
- [42] 祝金明, 罗安程, 吴运荣, 等. 亚铁胁迫影响不同基因型水稻地上部养分吸收的研究. 浙江农业大学学报, 1997, 23(4): 481~484.
- [43] 周建林, 李阳生, 李达模. 稗草 DNA 导入水稻产生的变异体的耐铁毒特性和 RAPD 分析. 作物学报, 2001, 27(4): 529~532.
- [44] 万建林, 翟虎渠, 万建民. 水稻耐亚铁毒 QTLs 的定位. 遗传学报, 2005, 32(11): 1156~1166.
- [45] 胡彬, 吴平, 廖春燕, 等. 水稻依赖抗坏血酸 H_2O_2 清除系统在抗铁毒中的作用. 植物生理学报, 1999, 25(1): 43~48.
- [46] 王贵民, 陈国祥, 杨艳华, 等. 亚铁对杂交水稻幼苗生长和部分生理生化特性的影响. 南京师大学报(自然科学版), 2003, 26(2): 56~60.
- [47] 邵邻相, 黄伯钟, 丁淑静. 锌、铁、锰和铜离子对水稻幼苗生长及 SOD 活性的影响. 种子, 2001, 6: 16~19.
- [51] 周楠, 陈文荣, 刘鹏, 等. 黄瓜边缘细胞生物学特性及其对铝毒的响应. 园艺学报, 2006, 33(5): 1117~1120.