

镉离子诱导对洋葱根尖及表皮细胞凋亡的影响研究

赵红梅, 王慧阳

(晋中学院 生物科学与技术学院, 山西 晋中 030600)

摘要:以洋葱根尖细胞和鳞茎内表皮细胞为试材,用不同浓度氯化镉溶液为诱导剂,研究 Cd^{2+} 对洋葱根尖凋亡的影响。结果表明: Cd^{2+} 能诱发根尖细胞凋亡和染色体畸变,且凋亡现象随着 Cd^{2+} 处理浓度的增加和处理时间的延长而严重,有微核出现和细胞核逐渐解体等现象;洋葱表皮细胞随 Cd^{2+} 浓度增高及处理时间的延长,表皮细胞逐渐发生质壁分离,而且越来越严重,并且细胞核发生偏离,逐渐靠近细胞壁等现象。

关键词:细胞凋亡;洋葱根尖;染色体畸变

中图分类号:S 633.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)06-0146-03

细胞凋亡是细胞受到内、外因子刺激后发生的由基因调控的生理性死亡行为,是一个主动和高度有序的过程,对生物体的生长发育有着重要的作用。近年来,它已成为生命科学的热点研究领域,并取得许多突破性进展^[1]。细胞凋亡的研究最早始于对动物的研究^[2],但现在许多研究证明,植物中也普遍存在凋亡现象,如植物正常生长发育过程(胚的发育,导管、筛管的形成,根、茎、叶的发育等),对环境的胁迫反应及被病原体侵入引起的超敏反应(Hypersensitive response, HR)^[3]等,目前植物细胞凋亡的研究尚处于起步阶段。现以洋葱根尖细胞和鳞茎内表皮细胞为材料,用不同浓度 Cd^{2+} 作凋亡诱导剂,研究了 Cd^{2+} 对洋葱根尖细胞凋亡、染色体畸变及表皮细胞凋亡的影响,并获得了良好的效果,为研究植物细胞凋亡的机制提供一些理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选择大小均匀、未萌根也未长绿叶、健康无损伤的洋葱鳞茎为试材,剥去外部的干燥膜质鳞片,洗净、晾干备用。

1.2 试验方法

1.2.1 洋葱根尖细胞凋亡的诱导 取新鲜洋葱室温下清水中培养,待根尖长至 1~2 cm 时,将其分别浸泡在 Cd^{2+} 浓度为 5、10、15 mg/kg 的溶液中培养,设对照。

1.2.2 洋葱鳞茎内表皮细胞凋亡的诱导 取新鲜洋葱

室温下于清水中培养数小时,使其活化。自培养好的洋葱鳞茎上切取 1 cm 左右的内表皮若干,分成 2 组。第 1 组是对照组,为正常细胞。第 2 组是试验组,分 3 管,每管 5 片洋葱内表皮,分别于 Cd^{2+} 浓度为 5、10、15 mg/kg 的溶液中培养。

1.2.3 细胞凋亡的形态学观察 分别于 4、8、12 h 取样,卡宝品红染液染色 15 min 后制片。观察细胞形态变化,照相。

2 结果与分析

2.1 Cd^{2+} 处理对洋葱根尖细胞核凋亡影响

Cd^{2+} 具有明显的诱发洋葱根尖细胞核凋亡的作用(图 1)。与对照(图 1F)相比,用 5 mg/kg 的 Cd^{2+} 浓度处理洋葱根尖 4 h 后,洋葱根尖细胞核开始出现泡状结构(图 1A),随着处理浓度的升高,细胞核开始慢慢解体凋亡,即核解体(图 1B~C)。当同浓度 Cd^{2+} 延长处理时间时,核解体表现为核碎裂为大小不等的若干小核(多呈小球状)或核成空心网状(图 1D~E),核质解体消失,进一步发展导致核完全消失,是最严重的毒害症状。

2.2 Cd^{2+} 处理对洋葱根尖细胞染色体的影响

Cd^{2+} 具有明显的诱发洋葱根尖细胞染色体畸变的效应(图 2)。当采用不同浓度 Cd^{2+} 处理根尖细胞核时发现,根尖细胞中的染色体在 5 mg/kg 的 Cd^{2+} 浓度处理 4 h 后,染色体逐渐发生凝集现象(图 2A),并随着 Cd^{2+} 浓度的增高,如在 10 mg/kg 浓度下及处理时间的延长后,染色体便会发生断裂(图 2B~C)。

2.3 Cd^{2+} 处理对洋葱鳞茎表皮细胞的影响

Cd^{2+} 能严重诱发洋葱表皮细胞出现凋亡现象(图 3)。从图 3 中可看出,与对照组(图 1)相比,当采用同浓度 5 mg/kg Cd^{2+} 但处理时间不一样处理洋葱表皮细胞时,随着处理时间的延长,洋葱表皮细胞逐渐发生质

第一作者简介:赵红梅(1979),女,山西榆次人,硕士,讲师,研究方向为细胞生物学。E-mail: hfjn369@163.com。

收稿日期:2010-12-28

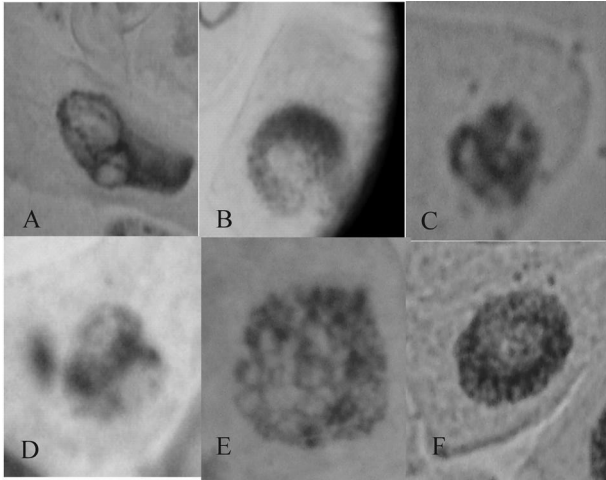


图1 不同Cd²⁺浓度处理的洋葱根尖细胞核(10×100)
注 A: 5 mg/kg Cd²⁺处理洋葱根尖 4 h; B: 10 mg/kg Cd²⁺处理洋葱根尖 4 h; C: 10 mg/kg Cd²⁺处理洋葱根尖 8 h; D: 15 mg/kg Cd²⁺处理洋葱根尖 8 h; E: 15 mg/kg Cd²⁺处理洋葱根尖 12 h; F: 蒸馏水对照。

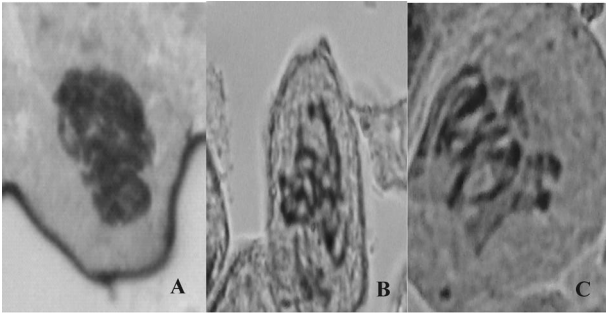


图2 不同Cd²⁺浓度处理的洋葱根尖细胞染色体(10×100)
注 A: 5 mg/kg Cd²⁺处理洋葱根尖 4 h; B: 10 mg/kg Cd²⁺处理洋葱根尖 8 h; C: 10 mg/kg Cd²⁺处理洋葱根尖 12 h。

壁分离现象,而且细胞核形态开始出现变化(图 3A ~ C)。而当加大Cd²⁺浓度(如 10、15 mg/kg)处理洋葱表皮细胞时,发现细胞核的质壁分离现象越来越严重,并且细胞核开始发生偏离,逐渐靠近细胞壁,细胞核的形态出现严重扭曲,呈现出多种不规则的形态(图 3D ~ H)。

2.4 Cd²⁺处理对洋葱细胞的其它影响

试验中每种浓度的Cd²⁺对细胞的毒害表现并非单一,即在某一浓度条件下,核会出现几种异常形态,如出现微核现象(图 4),只是在表现上有主次之别而异。Cd²⁺对洋葱根尖细胞的毒害以浓度和培养时间长者为重,说明Cd²⁺对洋葱根尖细胞的毒害为积累中毒。

3 讨论与结论

细胞凋亡是高等植物生长发育及新陈代谢的一个重要的组成部分,对植物的生长具有重要的意义。诱导植物细胞凋亡的诱导因子种类很多,凡是对细胞有损伤的因子都可诱导细胞出现凋亡现象。试验采用Cd²⁺作

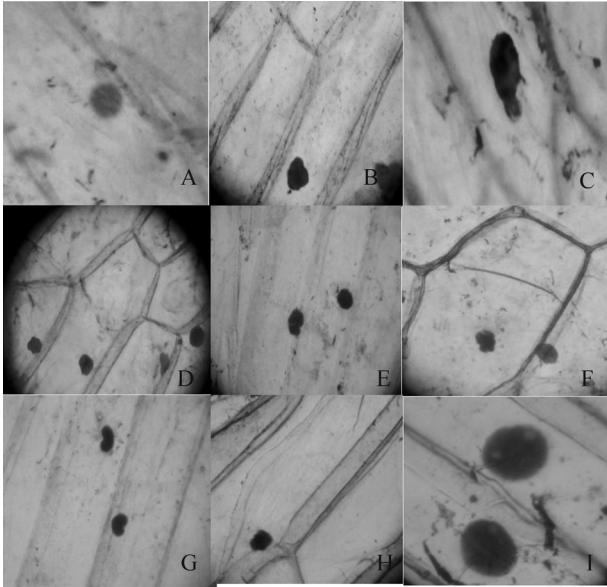


图3 不同Cd²⁺浓度处理的洋葱表皮细胞(10×100)
注 A: 5 mg/kg Cd²⁺处理洋葱根尖 4 h; B: 5 mg/kg Cd²⁺处理洋葱表皮细胞 8 h; C: 5 mg/kg Cd²⁺处理洋葱表皮细胞 12 h; D: 10 mg/kg Cd²⁺处理洋葱表皮细胞 4 h; E: 10 mg/kg Cd²⁺处理洋葱表皮细胞 8 h; F: 10 mg/kg Cd²⁺处理洋葱表皮细胞 12 h; G: 15 mg/kg Cd²⁺处理洋葱表皮细胞 8 h; H: 15 mg/kg Cd²⁺处理洋葱表皮细胞 12 h; I: 蒸馏水对照。

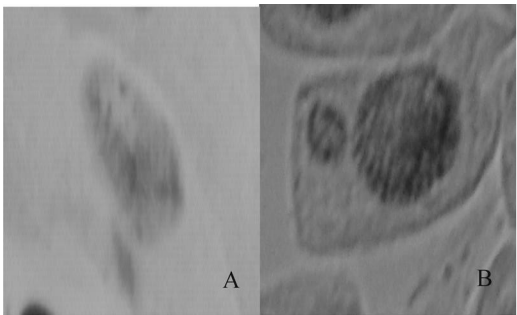


图4 不同Cd²⁺浓度处理的洋葱根尖细胞核(10×100)
注: A: 15 mg/kg Cd²⁺处理洋葱根尖 8 h; B: 15 mg/kg Cd²⁺处理洋葱根尖 12 h。

为诱导因子,初步研究其对植物细胞凋亡的诱导作用。结果表明,当Cd²⁺浓度小于 5 mg/kg 时,对洋葱根尖细胞没有造成明显的抑制作用,当Cd²⁺浓度大于 5 mg/kg 时,洋葱根尖细胞核开始出现少量的细胞凋亡现象例如出现泡状结构等,并且随着浓度的增大,细胞凋亡现象表现的越来越明显,且凋亡数量增加。表明重金属Cd²⁺可能已经与细胞内的物质结合,从而严重影响到细胞的正常分裂。从Cd²⁺对洋葱根尖细胞核中的染色体的影响看,染色体出现凝集现象和断裂,表明Cd²⁺能诱发染色体畸变,且畸变率随Cd²⁺浓度的升高而呈现上升趋势。说明Cd²⁺已经对洋葱根尖细胞核染色体的主要组成物质DNA的结构、组成造成了一定的影响。在对洋

葱鳞茎表皮细胞的凋亡诱导中表明,在不同 Cd^{2+} 浓度诱导下,表皮细胞出现不同的凋亡现象如质壁分离现象,细胞核形态出现明显变形如贴壁现象等,并随着 Cd^{2+} 浓度的增高,凋亡现象越明显,说明 Cd^{2+} 影响了细胞的运动及细胞与细胞间的联系。如今关于植物细胞凋亡的发生机制仍在研究中,随着研究的进展,人们有望在分子水平全面深刻地揭示植物细胞凋亡的调控机制以及特殊途径,为实现人工控制植物生长发育及开辟植物抗病育种新途径奠定基础。

参考文献

- [1] 李昊文,李鹏,印莉萍.离子胁迫诱导洋葱鳞茎内表皮细胞凋亡[J].生物技术通报,2006(1):69-72.
- [2] Kerr J F R, Wyllie A H, Currie A R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics[J]. Br J Cancer, 1972, 26: 239-257.
- [3] 金钢,叶建仁.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(自然科学版),2008,39(1):125-128.
- [4] 何俊瑜,任艳芳,朱诚.等. Cd^{2+} 对水稻根尖细胞的遗传损伤效应[J].农业环境科学通报,2008,27(6):2303-2307.
- [5] 覃宁顺,斌瑞. H_2O_2 诱导玉米根尖细胞凋亡的形态、生化及分子生物学证据[J].湖北民族学院学报,1999,17(3):1-7.

- [6] 刘东华,蒋梧生,李懋学.镉对洋葱生长和细胞分裂的影响[J].环境科学学报,1992,12(4):439-446.
- [7] 宁顺斌,宋运淳,王玲.等.药物诱导的玉米根尖细胞凋亡[J].植物学报,2002,42(7):693-696.
- [8] 段昌群,王焕校.重金属对蚕豆的细胞遗传学毒理作用和对蚕豆根尖微核技术的探讨[J].植物学报,1995,37(1):14-24.
- [9] Greenberg J T, Guo A, Klessig D F, et al. Programmed cell death in plant: A pathogen triggered response activated coordinately with multiple defense function[J]. Cell, 1994(77):551-563.
- [10] Yang Y J, Cheng L M, Liu Z H. Rapid effect of cadmium on lignin biosynthesis in soybean roots[J]. Plant Sci., 2007(172):632-639.
- [11] Zhang Y X, Yang X L. The toxic effects of cadmium on cell division and chromosomal morphology of *Hordeum vulgare*[J]. Mutant Research, 1994(312):121-126.
- [12] Kozhevnikova A D, Seregin I V, Bystrova E I, et al. Effects of heavy-metals and strontium on division of root cap cells and meristem structural organization[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2007, 54(2):257-266.
- [13] Morgan P W, Drew M C, Jordan W R, et al. Ethylene signal transduction and programmed cell death during aerenchyma formation in maize roots[J]. Plant Physiol, 1997, 114(3):10.
- [14] Glińska S, Bartczak M, Oleksiak S, et al. Effects of anthocyanin-rich extract from red cabbage leaves on meristematic cells of *Allium cepa* L. roots treated with heavy metals[J]. Ecotoxicol Environ Safety, 2007(68):343-350.

Apopotosis Induced by Cd^{2+} in Root Tips and Endocuticle Cells of Onion

ZHAO Hong-mei, WANG Hui-yang

(School of Life Science and Technology, Jinzhong University, Jinzhong, Shanxi 030600)

Abstract: Different concentrations of cadmium chloride solution on root tip cell and endocuticle cells of onion were treated. The results showed that Cd^{2+} could induce apoptosis of root tip and chromosome aberration. Apoptosis was greatly induced with increasing Cd^{2+} concentration and treatment time. The different phenomenon was appeared including micronucleus and the dissolution of cell nuclei and so on. When treated by the same Cd^{2+} concentration and treatment time endocuticle cells nuclei of onion were highly vacuolated and gradually approached the cell wall. Plasmolysis phenomenon became seriously with increasing Cd^{2+} concentration, too.

Key words: apoptosis; onion root tip; chromosome aberration