

紫外线-B 辐射引起拟南芥内源 H_2O_2 增加及细胞死亡

侍福梅,王 超

(聊城大学 生命科学学院,山东聊城 252059)

摘 要: 研究了 UV-B 辐射对拟南芥内源 H_2O_2 及细胞死亡的影响,结果表明紫外线-B 辐射可引起拟南芥内源 H_2O_2 及细胞死亡的增加,且 C 型拟南芥幼苗比 C24 型表现较强的耐受紫外伤害的能力,推测在拟南芥响应紫外胁迫的反应中, H_2O_2 起到了一种信号分子的作用引发下游的一系列反应。

关键词: UV-B 辐射;拟南芥; H_2O_2 ;细胞死亡

中图分类号: Q345⁺.1

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2009)03-0231-03

Increased H_2O_2 and Cell Death in *Arabidopsis* Caused by UV-B Stress

SHI Fumei and WANG Chao

(School of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng shandong 252059, China)

Abstract: This paper researched the dynamics of H_2O_2 , cell death and growth phenotype under UV-B stress in the two genotype *Arabidopsis* Col-0 and C24. The results indicated that UV-B radiation induced more H_2O_2 accumulation and less cell death in *Arabidopsis* Col-0 than that in C24. And seedlings of Col-0 showed more resistance than C24 under same dose of UV-B radiation. It is deduced that H_2O_2 is a kind of signal molecules with positive effect leading to downstream cell death and resistant response in *Arabidopsis* under UV-B stress.

Key words: UV-B radiation; *Arabidopsis*; H_2O_2 ; Cell death

近年来,大气臭氧层衰减导致地表的中波紫外线-B (UV-B, 280~320 nm)辐射增强,造成植物光合速率降低、蛋白质的合成受抑制、DNA 的结构破坏等严重伤害^[1-4]。活性氧(ROS, reactive oxygen species)作为重要的活性分子被报道参与植物响应多种逆境胁迫的应答,并在其中发挥信号的作用,引起下游的基因表达、蛋白质降解及细胞死亡的发生^[5-7]。本文研究了 UV-B 辐射对拟南芥内源 H_2O_2 水平及细胞死亡的影响。

1 材料与方法

1.1 材料培养

供试植物材料为拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)Columbia(Col-0)及 C24。拟南芥种子经 1%

的次氯酸钠消毒 8 min,后用无菌水漂洗干净,然后用移液枪点播在 MS 培养基上,4℃放置 4 d。后置于温室中培养,温度 22℃,湿度 80%,光强 4 000 lx,日光照 14 h。取 7 日龄的幼苗用于 UV-B 辐射处理,剂量为(时间:0、15、30、60 min;强度:2 000 μ J)。同时设不经 UV-B 辐射的为对照组。然后进行正常培养,观察生长表型并拍照记录。

1.2 H_2O_2 积累的检测

取 7 日龄拟南芥幼苗,浸泡在 pH3.8 的 1 mg/mL 二氨基联苯胺兰(DAB)溶液中。浸泡 8 h 之后,用蒸馏水漂洗干净。然后放入 V(乙酸):V(甘油):V(乙醇)=1:1:3 的脱色液中煮沸 5~10 min,再用蒸馏水漂洗干净。用 60% 的甘油

收稿日期:2008-11-26 修回日期:2008-12-20

基金项目:国家自然科学基金(30800585)。

作者简介:侍福梅(1978—),女,辽宁沈阳人,博士,主要从事植物生理与细胞生物学研究。Email:shifumei@lcu.edu.cn

封片,显微镜镜检。照相分析。有过氧化氢的积累就会被染成棕色的斑点,每个组合至少观察 10 棵幼苗,完全重复 3 次。

1.3 细胞死亡的检测

取 7 日龄拟南芥幼苗,浸泡在 0.5% 的台盼兰溶液中显色 10 min。用清水吸取多余的染色液。然后将其浸泡在无水乙醇溶液中煮沸 5~10 min 脱色。在用 60% 的甘油封片,显微镜镜检。照相分析。每个组合至少统计 20 个叶片,完全重复 3 次。

2 结果与分析

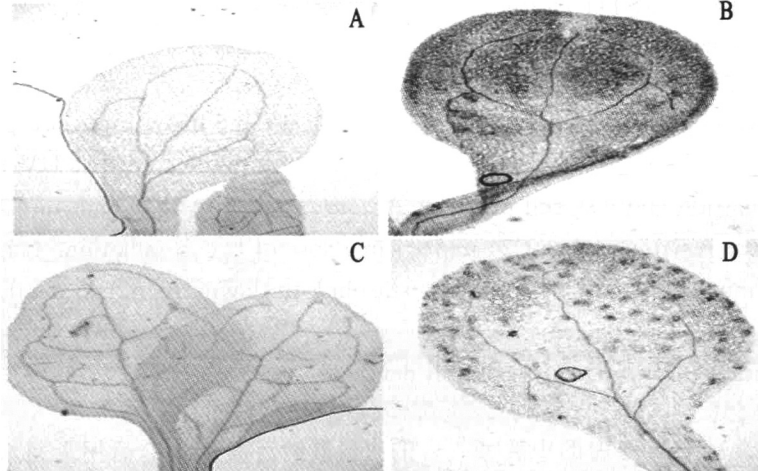
2.1 UV-B 辐射引起拟南芥 C 和 C24 叶片中 H_2O_2 的积累

DAB 染色结果表明,与对照组相比,UV-B

辐射处理引起拟南芥叶片出现明显的棕褐色沉淀,引起 H_2O_2 的增加(图 1)。其中 C 型拟南芥叶片比 C24 型褐色面积更大、颜色更深,表明 H_2O_2 积累的更多(图 1B, D)。每个处理至少观察 20 棵苗。

2.2 UV-B 辐射对拟南芥 C 型和 C24 型叶片细胞存活率的影响

Typan 染色结果表明,与对照组相比,UV-B 辐射处理引起拟南芥叶片出现不同程度的蓝色斑点,表明细胞死亡的发生。分别对 C 型和 C24 型拟南芥幼苗出现细胞死亡的现象进行统计,结果表明,拟南芥 C 型和 C24 型经 UV-B 辐射后均发生细胞死亡现象,其中 C 型拟南芥幼苗发生细胞死亡现象的约为 50%,而 C24 型拟南芥发生细胞死亡现象的达到了 66.7%(图 2),多于 C 型。



A. C 型拟南芥对照 Col-O; B. C 型拟南芥 UV-B 辐射处理 Col-O with UV-B radiation; C. C24 型拟南芥对照 C24 Col-O; D. C24 型拟南芥 UV-B 辐射处理 C24 with UV-B radiation

图 1 UV-B 辐射引起拟南芥叶片中 H_2O_2 水平的变化

Fig. 1 Level of H_2O_2 in *Arabidopsis* leaves indicated by DAB with or without UV-B radiation

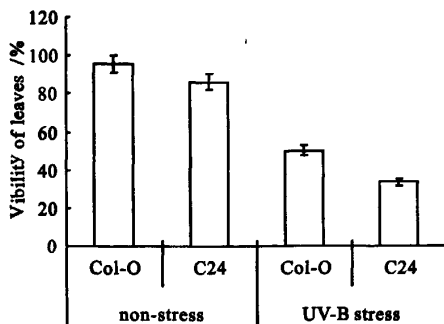


图 2 野生型 C、C24 台盼兰染色

Fig. 2 Effect on leaves cell viability of *Arabidopsis* seedlings under UV-B stress

2.3 UV-B 辐射对拟南芥 C 型和 C24 型幼苗表型的影响

进一步分析两种生态型拟南芥对紫外辐射的耐受性表明,C 型和 C24 型拟南芥幼苗经紫外辐射 15 min 以内没有明显的变化,当紫外辐射超过 30 min 以上均出现较为明显的生长受抑制现象。而且,C 型拟南芥幼苗比 C24 型生长受抑制现象较轻,表现较强的耐受性(图 3)。C24 型拟南芥经紫外辐射超过 30 min 后出现明显的黄化现象,并在后期的培养中陆续死亡,死亡率接近 100%。而 C 型拟南芥在相等剂量的紫外伤害下仍有小于 10% 的幼苗可以存活,表现较强的耐受紫外伤害的能力。

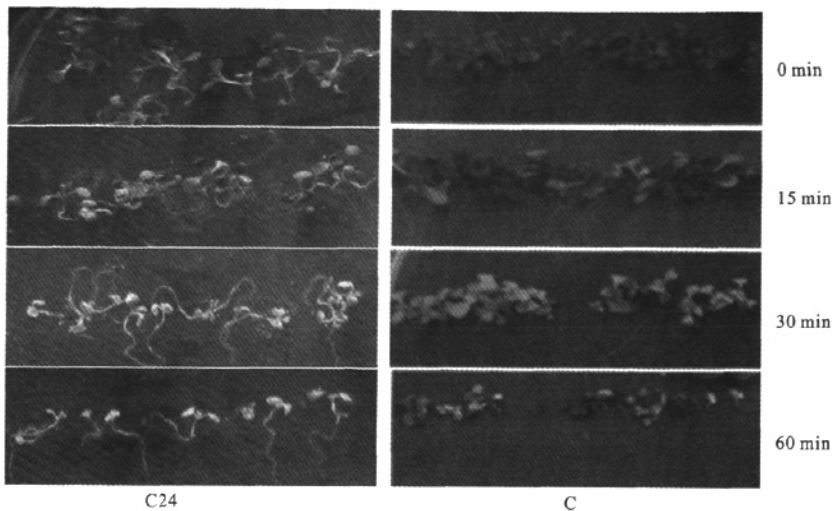


图3 拟南芥C型和C24型经不同剂量紫外辐射的表型分析

Fig. 3 Growth phenotype of *Arabidopsis* seedlings Col-O and C24 exposed to 0, 15, 30, 60 min UV-B radiation

3 讨论

活性氧作为信号分子参与多种植物抵抗生物和非生物胁迫的防卫反应^[8-11]。我们的研究结果表明,拟南芥经紫外辐射后会引发 H_2O_2 的大量积累和细胞死亡的发生,其中C型拟南芥幼苗在相等剂量的紫外辐射下比C24型幼苗释放较多的 H_2O_2 ,发生细胞死亡的数量比C24型幼苗要大,尤其是在直接进行紫外伤害下的C型幼苗比C24型幼苗表现出较强的抗紫外伤害的能力。这些结果表明,紫外辐射诱导释放的 H_2O_2 充当了拟南芥响应紫外胁迫的内源信号分子,进一步引发了细胞死亡的发生,其中 H_2O_2 释放较多的C型幼苗死亡较少,抗性较强。较短时间伤害下释放的 H_2O_2 起到了保护的正面作用,而较长时间的辐射引发的大量 H_2O_2 积累则造成了对植物较强的伤害,这与前人报道认为活性氧具有剂量依赖的双元性特征是一致的。因此,我们认为,在拟南芥响应紫外胁迫的反应中, H_2O_2 起到了一种信号传递的作用并通过调节 H_2O_2 剂量引发下游的一系列反应。

参考文献:

- [1] Booi-James, Dube S K, Jansen M A, *et al.* Ultraviolet-B radiation impacts light-mediated turnover of the photosystem II reaction center heterodimer in *Arabidopsis* mutants altered in phenolic metabolism[J]. *Plant Physiol*, 2000, 124:1275-1284.
- [2] Xiong, Day T A. Effect of solar ultraviolet-B radiation during springtime ozone depletion on photosynthesis and biomass production of antarctic vascular plants[J]. *Plant Physiol*, 2001, 125:738-751.
- [3] Takeuchi A, Yamaguchi T, Hidema J, *et al.* Changes in synthesis and degradation of Rubisco and LHCII with leaf age in rice (*Oryza sativa* L.) growing under supplementary UV-B radiation[J]. *Plant Cell and Environ*, 2002, 25:695-706.
- [4] McKenzie R, Connor B, Bodeker G. Increased summertime UV radiation in New Zealand in response to ozone loss[J]. *Science*, 1999, 285:1709-1711.
- [5] Desikan R, Neill S J, Hancock J T. Hydrogen peroxide-induced gene expression in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Free Radical Biol Med*, 2000, 28:773-778.
- [6] Prasad T K, Anderson M D, Martin B A, *et al.* Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide[J]. *Plant Cell*, 1994, 6:65-74.
- [7] Levine A, Tenhaken R, Dixon R, *et al.* H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response[J]. *Cell*, 1994, 79:583-593.
- [8] Tenhaken R, Levine A, Brisson L F, *et al.* Function of the oxidative burst in hypersensitive disease resistance[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92:4158-4163.
- [9] Bi Y M, Kenton P, Mur L, *et al.* Hydrogen peroxide does not function downstream of salicylic acid in the induction of PR protein expression[J]. *Plant J*, 1995, 8:235-245.
- [10] Mellersh D G, Foulds I V, Higgins V J, *et al.* H_2O_2 plays different roles in determining penetration failure in three diverse plant-fungal interactions[J]. *Plant J*, 2002, 29:257-268.
- [11] Lamb C, Dixon R A. The oxidative burst in plant disease resistance[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997, 48, :251-275.

紫外线-B辐射引起拟南芥内源H2O2增加及细胞死亡

作者: 侍福梅, 王超, SHI Fumei, WANG Chao
作者单位: 聊城大学, 生命科学学院, 山东聊城, 252059
刊名: 西北农业学报 
英文刊名: ACTA AGRICULTURAE BOREALI-OccIDENTALIS SINICA
年, 卷(期): 2009, 18(3)
被引用次数: 1次

参考文献(11条)

- 1.Booij-James;Dube S K;Jansen M A [Ultraviolet-B radiation impacts light-mediated turnover of the photosystem II reaction center heterodimer in Arabidopsis mutants altered in phenolic metabolism](#)[外文期刊] 2000(3)
- 2.Xiong;Day T A [Effect of solar ultraviolet-B radiation during springtime ozone depletion on photosynthesis and biomass production of antarctic vascular plants](#)[外文期刊] 2001(2)
- 3.Takeuchi A;Yamaguchi T;Hidema J [Changes in synthesis and degradation of Rubisco and LHCII with leaf age in rice\(Oryza sativa L\)growing under supplementary UV-B radiation](#) 2002
- 4.Mckenzie R;Connor B;Bodeker G [Increased summertime UV radiation in New Zealand in response to ozone loss](#)[外文期刊] 1999(5434)
- 5.Desikan R;Neill S J;Hancock J T [Hydrogen peroxide-induced gene expression in Arabidopsis thaliana](#) 2000
- 6.Prasad T K;Anderson M D;Martin B A [Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide](#) 1994
- 7.Levine A;Tenhaken R;Dixon R [H2O2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response](#) 1994
- 8.Tenhaken R;Levine A;Brisson L F [Function of the oxidative burst in hypersensitive disease resistance](#)[外文期刊] 1995
- 9.Bi Y M;Kenton P;Mur L [Hydrogen peroxide does not function downstream of salicylic acid in the induction of PR protein expression](#) 1995
- 10.Mellersh D G;Foulds I V;Higgins V J [H2O2 plays different roles in determining penetration failure in three diverse plant-fungal interactions](#)[外文期刊] 2002(3)
- 11.Lamb C;Dixon R A [The oxidative burst in plant disease resistance](#)[外文期刊] 1997(0)

本文读者也读过(10条)

1. 魏金凤. 郭敬功. 张清德. 李坤. 白玲. WEI Jin-feng. GUO Jing-gong. ZHANG Qing-de. LI Kun. BAI Ling [UV辐射对拟南芥叶片抗氧化酶系统和膜系统的影响](#)[期刊论文]-河南大学学报(自然科学版) 2009, 39(5)
2. 覃怀莉. 薛建明. 赖江南. 王建勇. 苗琦. 张伟明. 马磊. 颜莎. 赵渭江. 顾红雅. 王宇钢. Qin Huai-Li. Xue Jian-Ming. Lai Jiang-Nan. Wang Jian-Yong. Miao Qi. Zhang Wei-Ming. Ma Lei. Yan Sha. Zhao Wei-Jiang. Gu Hong-Ya. Wang Yu-Gang [拟南芥胚的不同区域对MeV离子辐照的响应](#)[期刊论文]-物理学报2006, 55(11)
3. 谢全喜. 吴春霞 [UV-C辐射对拟南芥基因组完整性及蛋白表达的影响](#)[期刊论文]-安徽农业科学2008, 36(20)
4. 王静. 蒋磊. 王艳. 李韶山. Jing Wangi. Lei Jiang. Yan Wang. Shaoshan Li [UV-B辐射对拟南芥细胞周期G1/S期转变的影响](#)[期刊论文]-植物学报2009, 44(4)

5. [张根发](#), [石小明](#), [聂艳丽](#), [李珂](#), [周宏余](#), [陆挺](#), [Lu Ting](#), [Zhang Genfa](#), [Shi Xiaoming](#), [Nie Yanli](#), [Li Ke](#), [Zhang Yanfen](#), [Zhou Hongyu](#), [Lu Ting](#) 低能N⁺注入与 γ 辐射拟南芥对可溶性蛋白和淀粉酶(AMY)、酯酶(EST)酶活和同工酶影响的比较分析[期刊论文]-[高技术通讯](#)2005, 15(2)
6. [孙姝兰](#), [左建儒](#), [SUN Shu-Lan](#), [ZUO Jian-Ru](#) 拟南芥抗凋亡突变体fbr136的分离鉴定与分析[期刊论文]-[生物化学与生物物理进展](#)2008, 35(3)
7. [舒海燕](#), [曹刚强](#), [凌华](#), [袁保梅](#), [田宝明](#) 拟南芥种子发芽新方法研究[期刊论文]-[安徽农业科学](#)2009, 37(6)
8. [刘月](#), [杨红玉](#), [张学琴](#), [LIU Yue](#), [YANG Hong-yu](#), [ZHANG Xue-qin](#) 拟南芥WDR蛋白家族结构与功能的多样性[期刊论文]-[江苏农业学报](#)2011, 27(2)
9. [马立安](#), [江涛](#), [张忠明](#), [MA Lian](#), [JIANG Tao](#), [ZHANG Zhong-ming](#) 拟南芥Ran小GTP结合蛋白在细胞有丝分裂中的定位[期刊论文]-[华中农业大学学报](#)2008, 27(6)
10. [王传海](#), [郑有飞](#), [何都良](#), [吴国民](#) 小麦不同指标对紫外辐射UV-B增加反应敏感性差异的比较[期刊论文]-[中国农学通报](#)2003, 19(6)

引证文献(1条)

1. [李晓阳](#), [陈慧泽](#), [韩榕](#) UV-B辐射对拟南芥种子萌发和幼苗生长的影响[期刊论文]-[植物学报](#) 2013(1)

引用本文格式: [侍福梅](#), [王超](#), [SHI Fumei](#), [WANG Chao](#) 紫外线-B辐射引起拟南芥内源H₂O₂增加及细胞死亡[期刊论文]-[西北农业学报](#) 2009(3)