

镍对水稻离体叶片脂质过氧化作用的影响

石贵玉 周巧劲

(广西师范大学生物系, 桂林 541004)

摘要 杂交水稻离体叶片用 10^{-3} mol/L NiSO_4 处理后, 镍抑制了叶片在衰老过程中 SOD、CAT 酶活性的下降和 AsA 氧化酶活性的上升, AsA 和叶绿素含量的下降得到延缓, 减少了膜脂过氧化程度。

关键词 镍; 杂交水稻; 膜脂过氧化

Effect of nickel on lipid peroxidation in isolated rice leaves

Shi Guiyu Zhou qiaojing

(Department of Biology, Guangxi Normal University, Guilin 541004)

Abstract Applying 10^{-3} mol/L NiSO_4 solution on the isolated hybrid rice leaves, we found it had the effect of delaying the decrease of activities of SOD and CAT, and the increase of activity of ascorbic acid oxidase. NiSO_4 delayed the decrease of ascorbic acid and chlorophyll contents and decreased lipid peroxidation in isolated hybrid rice leaves also showed up in this process.

Key words Nickel; hybrid rice leave; lipid peroxidation

水稻叶片衰老和植物组织衰老一样, 与生物膜的破损有密切关系。研究表明, 生物膜破损原因是体内自由基 (O_2^- 、 OH^\cdot) 及 H_2O_2 累积使膜脂过氧化造成的结果^[1]。当植物体内清除自由基的酶系统如超氧化物歧化酶 (SOD), 过氧化氢酶 (CAT) 等活性较强和抗氧化剂如抗坏血酸 (AsA), 谷胱甘肽较多时, 则脂质过氧化能得到相应的控制^[2]。镍和细胞分裂素一样, 对植物衰老有一定的延缓作用^[3], 为探讨镍延缓衰老的生理作用, 本文研究了杂交水稻离体叶脂质过氧化作用与 SOD、CAT、AsA 氧化酶等活性及 AsA 含量的关系及镍 (Ni^{2+}) 对它们的影响, 为研究延缓杂交水稻叶衰老的措施提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料: 供试水稻 (*Oryza sativa*) 为杂交品种“汕优 64”。以漂白粉消毒, 自来水浸泡 48 h 后, 置于 30°C 培养箱中催芽, 萌芽后均匀播在瓷盆中以水培养, 置于 28°C 光照培养箱内, 每天

光照 (2 000 lx) 12 h。取苗龄三叶期秧苗的叶子置于 10^{-3} mol/L NiSO_4 和蒸馏水中, 28 °C 暗处理 48 h, 然后测定各项生理指标, 每处理至少重复 3 次。

1.2 叶绿素含量测定 采用混合液提取^[4], 按 Arnon 公式计算叶绿素含量。

1.3 SOD 活性测定 按 Giannopolitis 和 Ries 的方法^[11], 以每单位时间内抑制光化还原 50% 的氮蓝四唑 (NBT) 为一个酶活性单位 (U)。

1.4 CAT 活性测定 参照李伯林等方法, 按每单位时间内 H_2O_2 消失量计算酶活性^[5]。

1.5 抗坏血酸含量测定 参照景国安的方法^[6], 1 g 叶片用少量 2% 偏磷酸 (内含 8% 醋酸) 研磨, 再以偏磷酸-醋酸溶液定容至 50 ml, 过滤, 吸取 5 ml 提取液加 1 ml 偏磷酸-醋酸和水 104 ml, 用 0.02% 2,6-二氯酚靛酚溶液滴定。

1.6 抗坏血酸氧化酶活性测定 采用碘量法^[7]。

1.7 丙二醛 (MDA) 含量测定 采用硫代巴比妥酸反应法^[12]。

1.8 膜透性测定 采用电导法^[8], 以电解质外渗百分率表示。

2 结果与讨论

2.1 Ni^{2+} 对水稻叶中叶绿素含量的影响

叶片衰老的显著特征之一是叶绿素含量下降叶色褪绿发黄。从表 1 可见, 叶片离体后, 无论是 Ni^{2+} 处理还是对照叶中叶绿素含量都急剧下降。暗放置 48 h, 对照叶片叶绿素含量下降了 39.6%, 经 Ni^{2+} 处理者下降 26.0%。表明离体叶片经 Ni^{2+} 处理后, 有延缓叶绿素含量减少的趋势和明显的保绿作用。这与聂先舟等的报道一致^[9], 说明 Ni^{2+} 可以延缓水稻叶片衰老。

表 1 Ni^{2+} 对离体水稻叶内几种酶活性、抗坏血酸和叶绿素含量的影响

Table 1 Effect of nickel on activity of zymes and contents of AsA and chlorophyll in isolated rice leaves

处理 treatment	SOD SOD activity (酶活单位/g FW)	CAT CAT activity (mg/g FW·min)	AsA 氧化酶 ascorbic acid- oxidase activity ($\mu\text{g/g FW}\cdot\text{min}$)	AsA ascorbic acid content (mg/100 g FW)	叶绿素 chlorophyll content (mg/g FW)
处理前 ago treatmenting	474.1 (100.0)	182.0 (100.0)	0.507 (100.0)	8.58 (100.0)	1.291 (100.0)
对 照 control	175.9 (37.1)	153.4 (84.3)	0.929 (183.2)	5.88 (68.5)	0.780 (60.4)
Ni^{2+} Nickel	208.4 (44.0)	165.1 (90.7)	0.776 (153.1)	6.90 (80.4)	0.955 (74.0)

2.2 Ni^{2+} 对水稻叶中 SOD 和 CAT 活性的影响

杂交水稻离体叶片暗放置 48 h 后, SOD 和 CAT 活性均呈下降趋势, 其中经 Ni^{2+} 处理的叶片, SOD 活性下降 56.0%, 对照的下降 62.9%, CAT 活性下降 9.3%, 对照的下降 15.7% (表 1)。说明 Ni^{2+} 对杂交水稻离体叶片中的 SOD 和 CAT 活性的下降, 有一定的延缓作用, 从而减少了 O_2^- 和 H_2O_2 的积累, 降低了叶片组织中 MDA 积累量和脂质过氧化的程度。

2.3 Ni^{2+} 对水稻叶中 MDA 产生量和膜透性的影响

MDA 是脂质过氧化的产物, 而膜透性增加是膜系统损伤的表现之一。从表 2 可知, 杂交水稻离体叶片暗放置 48 h 后, MDA 产生量和质膜透性均有增加。 Ni^{2+} 处理的叶片 MDA 产生量明显低于对照的, 膜透性的增加亦明显低于对照。说明 Ni^{2+} 对水稻离体叶片 MDA 产生量和膜透性

的增加具有显著的阻抑作用, 这可能与 Ni^{2+} 处理的叶片内 SOD 和 CAT 活性高于对照水平, 及时清除过多的自由基, 减轻膜伤害有关。

2.4 Ni^{2+} 对水稻叶中 AsA 含量和 AsA 氧化酶活性的影响

从表 1 可见, 杂交水稻离体叶片暗放置 48 h 后, AsA 氧化酶活性呈上升趋势, 其中对照叶内 AsA 氧化酶活性的增加高于 Ni^{2+} 处理叶的增加量。相反, AsA 含量则呈现下降趋势, 经 Ni^{2+} 处理的叶片 AsA 量下降较少。Mukherjee 等指出, 眉豆叶片经抗氧化剂处理后, 在水分胁迫下, 其 H_2O_2 含量和 AsA 氧化酶活性降低, 调节了 H_2O_2 和 AsA 的水平^[13]。本实验亦见, 由于 Ni^{2+} 处理的叶片 AsA 氧化酶活性增加幅度小于对照, 保持了较高的 AsA 含量。

AsA 是重要的抗氧化剂, 对植物组织衰老有一定的延缓效应, 这可能是由于 AsA 通过清除体内过多的 H_2O_2 , 使产生 $\cdot\text{OH}$ 的底物减少, 从而对膜结构和功能起到一定的保护作用^[10]。本实验也表明, Ni^{2+} 处理的水稻叶片保持较高水平的 AsA, 并与 SOD、CAT 协同作用, 可能阻抑了体内自由基的积累, 从而减轻膜伤害, 延缓了杂交水稻叶片的衰老过程。

廖静、邵文、林小丰、林德芬和桂小红等同志参加部分测试工作, 特此致谢!

参考文献

- 1 王建华, 刘鸿先, 徐同. 超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用. 植物生理学通讯, 1989, (1): 1
- 2 林植芳, 李双顺, 林桂珠等. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶及脂质过氧化作用的关系. 植物学报, 1984, 26(6): 605
- 3 聂先舟, 徐竹生, 刘道宏等. 镍(Ni^{2+})银(Ag^+)对延缓水稻叶片衰老的效应. 湖北农业科学, 1988, (9): 8
- 4 陈福民, 陈顺伟. 混合液法测定叶绿素含量的研究. 林业科技通讯, 1984, (2): 4
- 5 李伯林, 梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系. 植物生理学报, 1989, 15(1): 6
- 6 景国安, 忻秋萍, 卢帽芬. 2,6-二氯酚靛酚测定果蔬还原型抗坏血酸方法的改进. 植物生理学通讯, 1985, (5): 41
- 7 波钦诺克 X H. 植物生物化学分析方法(荆家海等译). 北京: 科学出版社, 1981. 209
- 8 上海植物生理学会编. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科技出版社, 1985. 67
- 9 聂先舟, 刘道宏, 徐竹生. 水稻离体叶片衰老过程中膜脂组分的变化. 植物生理学通讯, 1989, (4): 30
- 10 赵会杰, 林学梧. 抗坏血酸对小麦旗叶衰老过程中膜脂过氧化的影响. 植物生理学通讯, 1992, 28(5): 351
- 11 Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutation I. occurrence in higher plants *Plant Physiol*, 1977, 59: 315
- 12 Dhindsa R S, Matove W. Drought tolerance in two mosses: Correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation. *J Exp Bot*, 1981, 32: 79
- 13 Mukherjee S P, Choudhuri M A. Implications of water stress induced changes in the levels of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide *in vitro* seedlings. *Plant Physiol*, 1983, 58: 166

表 2 Ni^{2+} 对离体水稻叶 MDA 产生量和膜透性影响
Table 2 Effect of Nickel on MDA yield and membrane permeability in isolated rice leaves

处理 treatment	MDA MDA yield (nmol/g FW)	膜透性 membrane permeability (%)
处理前 ago treatmenting	18.67 (100.0)	12.70
对 照 control	31.27 (167.5)	16.50
Ni^{2+} Nickel	21.84 (117.0)	14.63