

# 水稻幼苗根质膜氧化还原系统活性与抗冷性的关系

李美茹 刘鸿先 王以柔  
(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

**摘要** 本试验以水稻幼苗为材料, 研究冷胁迫和钙浸种、低温锻炼、低温锻炼结合钙浸种预处理分别对幼苗根质膜  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  还原活性的影响。实验结果表明: 冷胁迫降低了质膜  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  还原活性; 钙浸种、低温锻炼、低温锻炼结合钙浸种预处理均提高了质膜  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  还原活性, 尤其是削减了冷胁迫降低质膜  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  还原活性的作用。根质膜  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  还原活性与水稻幼苗抗冷力密切相关。

**关键词** 水稻幼苗; 根质膜  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  还原活性; 抗冷性

## STUDY ON THE RELATIONSHIP BETWEEN THE ACTIVITY OF ROOT PLASMA MEMBRANE $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ REDUCTION AND COLD TOLERANCE IN RICE SEEDLINGS

Li Meiru Liu Hongxian Wang Yirou

(South China Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650)

**Abstract** Rice seedlings were used as experimental material to study effects of chilling stress and pretreatments of  $\text{CaCl}_2$  treatment, cold hardening and cold hardening combined with  $\text{CaCl}_2$  treatment on the activity of plasma membrane  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  from roots. Results indicated that the activity of plasma membrane  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  reduction was decreased by chilling stress; The activity of plasma membrane  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  reduction was increased by  $\text{CaCl}_2$  treatment, cold hardening and cold hardening combined with  $\text{CaCl}_2$  treatment, especially, the decrease of plasma membrane  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  reduction activity caused by chilling stress was inhibited by the above pretreatments. It is suggested that root plasma membrane  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  reduction activity is closely associated with cold tolerance of rice seedlings.

**Key words** Rice seedlings; root plasma membrane  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  reduction; cold tolerance

质膜氧化还原系统是质膜中除 ATP 酶外的另一重要的能量转换系统, 它在能量传递、营养物质的吸收和运转、生长发育、信息传导和抵御病原物等方面起着重要的作用<sup>[1]</sup>。该系统对逆境胁迫很敏感。Barr 等<sup>[7]</sup>曾发现盐胁迫下萝卜细胞质膜氧化还原系统对盐胁迫极为敏感, 质膜 NADH 氧化、 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  还原以及  $\text{H}^+$  分泌等受到抑制, 同时细胞的生长也受到影响。邱全胜等也发现水分胁迫下小麦根细胞质膜 NADH 和 NADPH 的氧化速率及  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  和

1997-04-07 收稿

第一作者简介: 李美茹, 女, 1966 年出生, 博士, 助理研究员, 从事植物低温逆境生理生化研究。

©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

EDTA-Fe<sup>3+</sup> 的还原速率明显降低。Zhao 等<sup>[10]</sup> (1995) 首次报道冷锻炼提高了黑松幼苗根细胞质膜氧化还原系统的活性, 推测质膜氧化还原系统在植物冷锻炼中可能起着重要的调节作用。植物遭受冷胁迫伤害时, 其质膜氧化还原系统活性变化如何, 目前还没见这方面的报道。通常以 NAD(P)H 为电子供体, 还原 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup>, 但不能还原 EDTA-Fe<sup>3+</sup>, 被称为标准系统 (standard system), 本文研究冷胁迫对水稻幼苗根细胞质膜氧化还原系统活性 (Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 还原活性) 的影响, 以及钙浸种、低温锻炼等对该活性、该活性冷适应性的影响, 阐明水稻幼苗根细胞质膜氧化还原系统活性与抗冷性的关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料的培养、处理 同前文<sup>[3, 4]</sup>

### 1.2 NADH 氧化还原速率的测定

按焦新之等<sup>[5]</sup> 方法, 3 ml 含蔗糖 0.25 mol·L<sup>-1</sup> 和 Tris-MES 10 mmol·L<sup>-1</sup> pH 8 的反应介质置石英比色杯中, 依次加入 15 μl NADH 50 mmol·L<sup>-1</sup> 及 30 μl Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 100 mmol·L<sup>-1</sup>, 加入 20 μg 膜蛋白开始反应, 于 Beckman DU-7 记录 340 nm 消光系数的变化, 以不加膜蛋白的为空白, 按 NADH 1 mmol·L<sup>-1</sup> 消光系数为 6.23 计算被氧化的 NADH 量。

### 1.3 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 还原速率的测定

测定方法与测定 NADH 的氧化还原速率相同, 测定波长改为 420 nm, 按 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 1 mmol·L<sup>-1</sup> 消光系数为 1 计算被还原的 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 量。

## 2 结 果

### 2.1 膜制剂的氧化还原活性

当向反应系统加入 0.25 mmol·L<sup>-1</sup> NADH 时, NADH 即被缓慢地氧化, 而当加入人工电子受体 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 时, NADH 被氧化的速率迅速提高。同样地, 当向反应系统单独加入 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 时, Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 被还原的速率比较低, 加入 NADH 则可显著地促进 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 的还原 (表 1), 这表明了水稻根质膜具有氧化 NADH、还原 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 的氧化还原活性。

表 1 外源 NADH 和 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 对水稻幼苗根细胞质膜氧化还原活性的作用

Table 1 Effects of NADH and Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> on the plasma membrane redox activity from roots of rice seedlings

	NADH oxidation (nmol/mg Prot min)	Fe (CN) <sub>6</sub> <sup>3-</sup> reduction (nmol/mg Prot min)
NADH	30	
NADH+Fe (CN) <sub>6</sub> <sup>3-</sup>	229	1300
Fe (CN) <sub>6</sub> <sup>3-</sup>		70

### 2.2 钙与低温锻炼对水稻幼苗根细胞质膜还原 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 活性的影响

实验结果表明冷胁迫处理明显降低了质膜还原 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 的能力; 钙浸种明显提高了质膜还原 Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> 的能力, 而且冷胁迫后, 这种效果仍然明显存在, 说明钙浸种有提高和稳定冷胁迫下质膜氧化还原活性的作用 (图 1); 低温锻炼和低温锻炼结合钙浸种也表现出钙浸种的效果, 并对该系统有更明显的激活作用 (图 2)。

## 3 讨 论

以上实验表明水稻根细胞质膜也具有氧化 NADH 和还原  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  的活性(表 1), 冷胁迫明显降低了质膜  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  还原活性(图 1)。Qiu 和 Liang<sup>[8]</sup>(1995)证明质膜氧化还原系统产生的活性氧自由基引发了膜脂过氧化, 因此, 推测由于水分胁迫中断了质膜氧化还原系统的电子传递<sup>[2, 8]</sup>, 使产生大量活性氧, 引发膜脂过氧化, 损伤细胞膜。冷胁迫致使质膜氧化还原活性受损, 是否因此导致了膜脂过氧化程度的加重, 尚有待进一步的研究。

冷锻炼能提高某些植物的抗冷力, Zhao 等报道冷锻炼提高了黑松幼苗根细胞质膜氧化还原  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  的活性。前文<sup>[3, 4]</sup>报道钙浸种、低温锻炼、低温锻炼结合钙浸种均有提高水稻幼

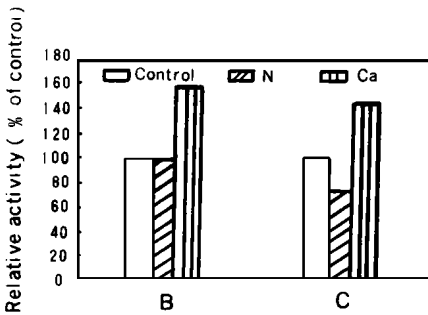


图 1 冷胁迫及钙浸种对水稻幼苗根细胞质膜还原  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  活性的影响

Fig. 1 Effects of chilling stress and  $\text{CaCl}_2$  treatment on the activity of plasma membrane  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  reduction from roots of rice seedlings

Control—control seedlings N—untreated with  $\text{CaCl}_2$  but treated with chilling stress; Ca—treated by  $\text{CaCl}_2$   
B—before chilling stress C—after chilling stress

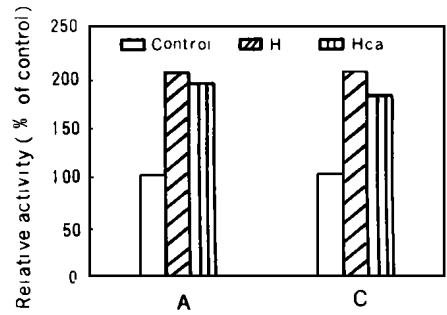


图 2 低温锻炼及结合钙浸种对水稻幼苗根细胞质膜还原  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  活性的影响

Fig. 2 Effects of cold hardening and  $\text{CaCl}_2$  treatment on the activity of plasma membrane  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  reduction from roots of rice seedlings

H—pretreated by cold hardening Hca—pretreated by  $\text{CaCl}_2$  combined with cold hardening A—after cold hardening  
Control and C are as same as Fig. 1.

苗的抗冷力。本实验的这几种提高水稻幼苗抗冷力的方法亦均相同地有提高质膜  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  活性, 特别是消除冷胁迫削减该系统活性的作用, 维持或稳定了该系统结构的完整, 使该系统活性在冷胁迫后仍处于高水平(图 1, 2)。提高水稻幼苗抗冷力的措施也表现了有提高细胞内源抗氧化剂(抗坏血酸(AsA), 还原型谷胱甘肽(GSH))含量的作用<sup>[3, 4]</sup>, 现已证明 GSH、AsA 可以充当质膜氧化还原系统的电子供体<sup>[6]</sup>。据此, 推测提高水稻幼苗抗冷力的方法(钙浸种、低温锻炼等)提高了质膜氧化还原系统活性可能与这些方法有提高细胞中 GSH、AsA 的含量有关。Rubinstein 和 Luster<sup>[9]</sup>认为质膜氧化还原系统活性氧的产生可能为逆境信号诱导所致, 并且成为逆境信号传导的一部分而共同完成细胞的防御功能。质膜氧化还原系统是否有积极调节细胞冷适应性的代谢, 它在植物冷适应或冷反应中的作用如何, 尚有待进一步深入的研究。

## 参考文献

- 1 陈思学, 焦新之. 植物质膜氧化还原系统的生理作用. 生命科学, 1995, 7 (4): 24~31
- 2 邱全胜, 李琳, 梁厚果等. 水分胁迫对小麦根细胞质膜氧化还原系统的影响. 植物生理学报, 1994, 20 (2): 145~151

- 3 李美茹, 刘鸿先, 王以柔等. 水稻幼苗冷锻炼过程中钙的效应. *植物学报*, 1996, **38** (9): 735~742
- 4 李美茹, 刘鸿先, 王以柔等. 钙对水稻幼苗抗冷性的影响. *植物生理学报*, 1996, **22** (4): 379~384
- 5 焦新之, 李琳, 倪晋山. 花生幼苗下胚轴质膜氧化还原系统. *植物生理学报*, 1992, **18** (1): 63~68
- 6 陈珈, 岳才军. 依赖于谷胱甘肽的跨质膜电子传递和质子运输. *中国植物生理学会第七次全国会议学术论文汇编*, 1996, P271
- 7 Barr R. The possible role of redox<sup>-</sup> associated protons in growth of plant cells. *J Bioenerg Biomembr*, 1991, **23**: 443~450
- 8 Qiu Q S, Liang H G. Lipid peroxidation caused by the redox system of plasma membrane from wheat roots. *J Plant Physiol* 1995, **145**: 261~265
- 9 Rubinstein B, Luster D G. Plasma membrane redox activity: components and role in plant processes. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1993, **44**: 131~155
- 10 Zhao S, Colombo S J, Blumwald E. The induction of freezing tolerance in jack pine seedlings: the role of root plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase and redox activities. *Physiol Plant*, 1995, **93**: 55~60