

低温下水稻幼苗叶片细胞膜膜脂过氧化和膜磷脂脱酯化反应*

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 水稻幼苗遭遇冷胁迫 ($1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 光照强度 $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 2 d, 其叶片丙二醛 (MDA) 含量明显增加, 酸性磷酸酯酶活性也增加, 同时无机磷含量也增加。30 mmol/L 的 CaCl_2 浸泡种子 1 d 则削弱了冷胁迫的这种作用。 H_2O_2 和甲基紫精 (MV) 均有刺激幼苗叶片和离体根质膜酸性磷酸酯酶活性的作用。

关键词 水稻幼苗; 膜脂过氧化; 膜磷脂脱酯化; 冷胁迫

Membrane lipid peroxidation and de-esterification of membrane phosphatide in leaves of rice seedlings under chilling stress

Li Meiru Liu Hongxian Wang Yirou

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

Abstract After chilling stress at $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ under a PFD of $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ for two days, content of MDA, activity of acid phosphatase and content of soluble phosphorus in leaves all increased. Method of rice seeds submerged in 30 mmol/L CaCl_2 solution for one day reduced all the above changes induced by chilling stress. The activities of acid phosphatase in both leaves of seedlings and plasma membrane from roots *in vitro* were induced by both H_2O_2 and MV.

Key words Rice seedlings; membrane lipid peroxidation; de-esterification of membrane phosphatide; chilling stress

冷胁迫导致植物膜损伤的重要机理之一——生物氧自由基伤害理论受到广泛的重视^[5]。对于活性氧伤害的“原初机制”，目前有二种观点：一种认为活性氧加强了膜脂过氧化作用，另一种则认为活性氧激活了磷酸酯酶的活性，从而促进了膜磷脂的脱酯化反应^[8]。冷胁迫诱发的活性氧对细胞的伤害机理，目前的实验着重于前一种观点的研究。但王光洁等^[2]（1993）也曾报道，低温胁迫亦有显著提高玉米幼苗叶片细胞酸性磷酸酯酶活性的现象。酸性磷酸酯酶活性是膜磷脂脱酯

* 1997-10-13 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。

化反应的一个重要指标^[8]。水稻幼苗受冷胁迫的影响是启动了叶片细胞膜脂质过氧化，还是启动了膜磷脂的脱酯化反应，或同时启动两种反应，目前还未见有这方面的报道。本实验基于冷胁迫下活性氧伤害学说，从膜脂质过氧化、膜磷脂脱酯化反应方面，探讨削弱或提高水稻幼苗叶片细胞膜结构功能的可能机制。

1 材料与方法

- 1.1 材料的培养和处理 按前文^[4]。
- 1.2 叶片相对电导率的测定 按刘鸿先等^[3]方法。
- 1.3 叶片 MDA 含量的测定 按王以柔等^[1]。
- 1.4 酸性磷酸酯酶活性的测定 按徐世昌等^[8]。
- 1.5 可溶性磷含量的测定 按 Lin 和 Morales^[10]。
- 1.6 根细胞质膜的制备 按焦新之等^[9]方法。

2 实验结果

2.1 低温对水稻叶片电解质渗出率和 MDA 含量的影响

植物细胞电解质的大量泄漏通常被认为是膜伤害或变性的重要标志，MDA 是细胞膜膜脂质过氧化反应的重要产物，通过以 MDA 含量作为发生膜脂质过氧化反应的主要指标。前文证明冷胁迫明显地降低了水稻幼苗的成活率，而钙浸种有提高幼苗的抗冷力作用^[4]。冷害的发生明显地提高了水稻幼苗叶片细胞电解质的渗漏；钙浸种不影响叶片细胞电解质渗漏，遇冷胁迫时其叶片电解质的泄漏亦增加，但其程度小于未经钙浸种处理的（图 1）。冷胁迫、钙浸种对叶片 MDA 含量的影响与其对叶片电解质渗出率的影响相似（图 2）。

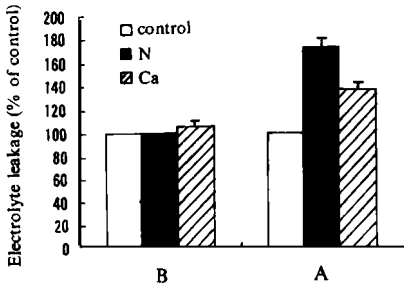


图 1 冷胁迫及钙浸种对水稻幼苗叶片电解质渗出率的影响

Fig. 1 Effects of chilling stress and CaCl₂ treatment on electrolyte leakage from leaves of rice seedlings

B—Before chilling; A—After chilling stress; control—control seedlings; N—only treated by chilling stress; Ca—Pretreated with submerging seeds in 30 mmol/L CaCl₂ solution

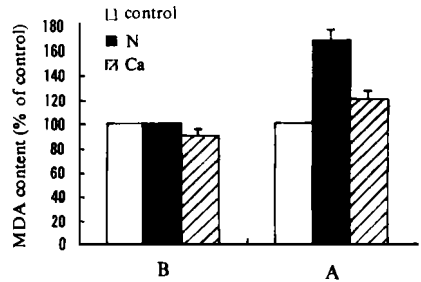


图 2 冷胁迫及钙浸种对水稻幼苗叶片丙二醛含量的影响

Fig. 2 Effects of chilling stress and CaCl₂ treatment on the content of MDA in leaves of rice seedlings

control N, Ca, B and A are as same as Fig. 1

2.2 低温对水稻幼苗叶片细胞酸性磷酸酯酶活性及细胞中可溶性磷含量的影响

酸性磷酸酯酶是一类水解磷脂酰基为游离脂肪酸和可溶性磷的水解酶，它是细胞膜上的束缚酶，因此，可将酸性磷酸酯酶作为脱酯化反应的一个指标^[8]。冷胁迫提高了水稻幼苗叶片细胞酸

性磷酸酯酶的活性(图3),同时也增加了细胞中可溶性磷的含量(图4),钙浸种降低了酸性磷酸酯酶的活性(图3),同时也减少了细胞中可溶性磷的含量(图4),冷胁迫后该酶活性和可溶性磷含量与冷胁迫前一致(图3,4)。

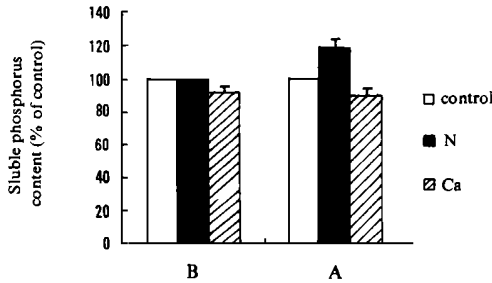


图3 冷胁迫及钙浸种对水稻幼苗叶片酸性磷酸酯酶活性的影响

Fig. 3 Effects of chilling stress and CaCl_2 treatment on the activity of acid phosphatase in leaves of rice seedlings
control, N, Ca, B and A are as same as Fig. 1

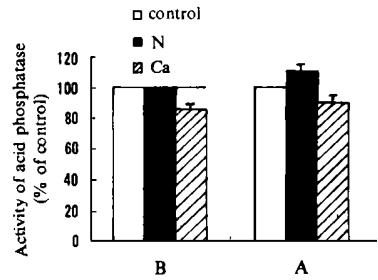


图4 冷胁迫及钙浸种对水稻幼苗叶片中可溶性磷含量的影响

Fig. 4 Effects of chilling stress and CaCl_2 treatment on the content of soluble phosphorus in leaves of rice seedlings
control, N, Ca, B and A are as same as Fig. 1

2.3 H_2O_2 、MV 对酸性磷酸酯酶活性的影响

在启动根细胞质膜酸性磷酸酯酶活性反应前的 5 min, 分别向反应系统加入 5 mmol/L 的 H_2O_2 或 MV, 发现提高了该酶的活性, 而当改用 5 mmol/L H_2O_2 或 MV 浸泡幼苗根 4 h, 亦发现有刺激叶片酸性磷酸酯酶活性的作用, 尤以 MV 效果更显著。说明活性氧有刺激酸性磷酸酯酶活性的作用(表 1)。

3 讨论

当植物处于低温逆境时, 细胞内自由基产生和清除的平衡到破坏, 活性氧的增加首先攻击膜系统, 膜脂脂肪酸中的不饱和键被过氧化, 造成 MDA 含量的增加。林植芳等^[6](1990)证明活性氧和 MDA 均降低了水稻叶绿体膜脂深层的流动性, 这种毒性作用既包括了直接启动膜脂的过氧化损伤作用, 也包括了其过氧化产物 MDA 的次级后效应。活性氧除了有加强膜脂过氧化作用外, 还可以激活酸性磷酸酯酶的活性, 从而促进膜磷脂的脱酯化反应^[8]。本实验证明了 H_2O_2 和 MV 均有激活质膜酸性磷酸酯酶活性和刺激幼苗叶片酸性磷酸酯酶活性的作用(表 1)。活性氧增加酸性磷酸酯酶的原因, 可能与活性氧加强膜脂过氧化、破坏膜结构、导致膜束缚酶的释放有关, 从而加速了膜磷脂的分解反应, 进一步破坏膜结构。

王光洁等^[2](1993)实验证明冷胁迫条件下, 玉米叶片细胞酸性磷酸酯酶活性显著提高, 推测可能是由于冷胁迫破坏膜系统结构, 导致这种膜束缚酶释放所引起的。本实验证明了冷胁迫提

表 1 H_2O_2 、MV 对水稻幼苗根质膜和叶片酸性磷酸酯酶活性的影响

Table 1 Effects of H_2O_2 and MV on the activity of acid phosphatase of plasma membrane from roots and the activity in leaves of rice seedlings

	control	H_2O_2	MV
根质膜酸性磷酸酯酶活性	100%	124±4%	120±4%
叶片酸性磷酸酯酶活性	100%	120±1%	133±6%

Control: - H_2O_2 , -MV

高MDA含量(图2),增加了酸性磷酸酯酶的活性(图3),这说明了冷胁迫不仅促进了细胞膜脂过氧化,也促进了膜磷脂的脱酯化反应,使无机磷从膜磷脂中大量游离出来(图4)。冷胁迫促进膜磷脂脱酯化反应的原因,可能是由于冷胁迫下细胞中活性氧水平升高,加强了膜脂过氧化反应,同时冷胁迫下膜流动性发生改变,膜系统发生变化,导致膜束缚酶的释放。因此,冷胁迫损伤水稻幼苗的抗冷力可能是由于冷胁迫刺激了膜脂过氧化和膜磷脂脱酯化的反应,最终导致膜结构和功能的破坏,细胞中电解质的往外泄漏(图1)。

姜亦巍等^[7](1992)证明钙能减轻由于低温胁迫引起的膜脂过氧化对膜的伤害。本实验也证明钙浸种有此作用(图2);同时还证明了钙浸种抑制了酸性磷酸酯酶的活性,相应地减少了细胞中可溶性磷的含量(图3,4),减轻或消除冷胁迫对MDA含量、酸性磷酸酯酶活性的影响(图2,3,4),削弱冷胁迫引起的电解质泄漏程度(图1)。因此,可认为钙浸种提高水稻幼苗抗冷力的原因可能是与其能阻止由冷胁迫诱发的膜脂过氧化和膜磷脂脱酯化反应、稳定了细胞膜系统结构有关。

参考文献

- 1 王以柔,刘鸿先,李平等.在光照和黑暗条件下低温对水稻幼苗光合器官膜脂过氧化作用的影响.植物生理学报,1986,12(3):244~251
- 2 王光洁,林艳,关义新.光下低温对玉米幼苗酸性磷酸酯酶及活性氧清除酶类的影响.中国植物生理学会第六次全国会议学术论文汇编,1993,P357
- 3 刘鸿先,曾韶西,王以柔等.低温对不同耐寒力的黄瓜(*Cucumis sativus*)幼苗子叶各细胞器中超氧化歧化酶(SOD)的影响.植物生理学报,1985,11:48~57
- 4 李美茹,刘鸿先,王以柔等.钙对水稻幼苗抗冷力的影响.植物生理学报,1996,22(4):379~384
- 5 何若韞主编.植物低温逆境生理.北京:中国农业出版社,1995
- 6 林植芳,李双顺,林桂珠等.活性氧对水稻叶绿体膜深层流动性的影响.中国科学院华南植物研究所集刊,1990,6:95~99
- 7 姜亦巍,王光洁.低温对玉米幼苗和线粒体呼吸速率的影响及Ca²⁺的效应.全国植物抗性生理学术讨论会论文汇编,1992,P67
- 8 徐世昌,沈秀瑛,顾慰连等.土壤干旱下玉米叶细胞膜脂过氧化和膜磷脂脱酯化反应以及膜超微结构的变化.作物学报,1994,30(5):564~569
- 9 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
- 10 Lin T-I, Moraes MF. Application of a one-step procedure for measuring inorganic phosphate in the presence of proteins: the actomyosin ATPase system. *Anal Biochem*, 1977, 77: 10~17