技术与方法 Techniques and Methods

紫叶水稻叶内丙二醛测定中花青素干扰的排除

戴高兴 张宗琼 邓国富*
广西农业科学院水稻研究所，广西南宁 530007

Exclusion of the Interference of Anthocyanidin in Measuring Malondialdehyde Content in Purple Rice Leaves

DAI Gao-Xing, ZHANG Zong-Qiong, DENG Guo-Fu*
Rice Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China

提要 以紫叶水稻‘IR1552’为材料，对经典的双组分分光光度法进行改进。结果表明，这种改进了的方法能有效去除紫叶稻内中花青素的干扰而又不影响丙二醛含量。

关键词 紫叶水稻；丙二醛；花青素；排除

双组分分光光度法由于简便易行且测定结果较准确而成为测定植物组织中丙二醛(malondialdehyde，MDA)含量的经典方法。但我们应用此法测定紫叶水稻(*Oryza sativa* O. glaberrima)‘IR1552’叶中MDA含量时，由于受花青素干扰，结果出现几十倍的偏差。水稻‘IR1552’的叶片、叶鞘、叶环、茎节和稃尖均含有大量花青素，因而外观呈现为紫色，来源于国际水稻所。花青素的吸收峰位于530 nm (张志良1990)，与MDA吸收峰532 nm很接近，其对‘IR1552’叶中MDA含量测定的影响极大。为此，我们在经典的双组分分光光度法基础上，对如何排除紫叶水稻‘IR1552’叶中花青素干扰而又不影响MDA含量测定的方法进行了探讨。

材料与方法

1 材料

实验材料为紫叶水稻(*Oryza sativa* O. glaberrima)品种‘IR1552’，以水稻(*O. sativa* L.)早籼品种‘特优63’为对照。

2 方法

2.1 材料的速冻 于分化盛期取顶部向下第2完全展开叶，准确称取1 g剪碎的叶片，用液氮速冻后备用。

2.2 花青素的提取 将速冻后的材料置于烧杯中，杯中加入30 mL的95%乙醇和1.0 mol·L^{-1} HCl (85:15)混合液，杯口蒙以透明纸以防水分蒸发，置于室温下分别浸泡12、24和36 h，过滤，留取叶片残渣。

2.3 MDA的提取和显色 参照赵世杰等(1994)的方法，从上述叶片残渣中提取MDA，用经典的双组分分光光度法测定。

3 数据处理

实验设3个重复，采用SPSS 12.0进行数据处理及分析。

结果与讨论

1 液氮速冻处理对MDA含量的影响

如表1所示，作为对照的水稻品种‘特优63’经液氮速冻后再用95%乙醇和1.0 mol·L^{-1} HCl浸泡12、24和36 h与经典的双组分分光光度法测定的MDA含量无显著差异，而未经液氮速冻的MDA含量显著高于经典双组分分光光度法测定的值。

2 不同浸泡时间对MDA含量的影响

如表1所示，液氮处理后用乙醇和HCl混合液浸泡12、24和36 h后测得水稻品种‘特优63’

收稿 2006-10-08 **修定** 2006-11-21
资助 广西农科院发展基金(2002018)和广西农科院水稻所青年基金(2006001)。
*通讯作者(E-mail: dengguofu@gxaas.net, Tel: 0771-3246189)。

的MDA含量与经典双组分分光光度法测定值无显著差异($P<0.05$)，表明这样的处理方法对叶片中MDA含量无明显影响。而对紫叶水稻品种‘IR1552’来说，浸泡12 h的受花青素的影响明显减少，测得MDA含量由双组分分光光度法的78.89 μmol·g^{-1} (FW)降为23.78 μmol·g^{-1} (FW)，说明该法能有效去除花青素的干扰。浸泡24 h的MDA测定值已经比较恒定，为4.23 μmol·g^{-1} (FW)；继续浸泡到36 h的MDA测定值不再显著下降，这显示浸泡24 h是比较合适的时间，基本上可排除花青素的影响。

从上可以得出2个结论：

表1 液氮处理和不同浸泡时间对水稻叶中MDA含量的影响

水稻品种	双组分分光光度法测得MDA含量/μmol·g^{-1} (FW)	改良的方法测得MDA含量/μmol·g^{-1} (FW)		
		浸泡时间/h	未经液氮处理	液氮处理
‘特优63’	3.78±0.13^{a}	12	4.23±0.84^{b}	3.82±0.12^{a}
		24	4.15±0.95^{c}	3.84±0.09^{a}
		36	4.13±0.94^{c}	3.81±0.11^{a}
‘IR1552’	78.89±4.78^{g}	12	25.78±1.24^{f}	23.78±2.35^{g}
		24	6.36±0.99^{d}	4.23±0.14^{b}
		36	6.29±0.97^{d}	4.19±0.23^{bc}

表中的不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

(1)未经液氮速冻处理直接用乙醇和HCl混合液浸泡而测得的MDA含量显著高于经典双组分分光光度法测定的值，其原因可能是叶片在乙醇和HCl浸泡时离体成活了一段时间，并且产生一定量的MDA，以致总MDA含量增加。因此我们认为，在提取花青素之前叶片进行速冻是必要的。

(2)材料经液氮速冻后，再用乙醇和HCl混合液浸泡24 h的效果最好，基本上可以排除花青素的干扰，且不影响MDA含量。从作为对照的水稻品种‘特优63’叶中MDA含量来看，改进了的方法也适用于其它水稻品种叶中MDA含量的测定。此法缺点是实验步骤稍微复杂了一些，实验时间也长些。

参考文献

赵世杰，许长成，邹琦，孟庆伟(1994). 植物组织中丙二醛测定方法的改进. 植物生理学通讯，30 (3)：207~210

张志良主编(1990). 植物生理学实验指导. 第2版. 北京：高等教育出版社，190~192