

人工老化对莲子活力及抗氧化能力的影响^{*}

汤学军 傅家瑞 黄上志 谢克强 刘光亮
(中山大学生命科学学院, 广州 510275) (江西省广昌白莲研究所)

摘 要 莲子在 40℃、100% 相对湿度下人工加速老化, 去壳者在 4 d 后活力显著降低了 49%, 6 d 后发芽力降低了 23%; 不去壳者在 15 d 内没有变化. 去壳者在老化过程中, SOD 活性降低, 电解质渗漏率、MDA 含量及 LOX 活性逐渐增高; 胚芽中蛋白含量基本不变, 子叶中则降低, 但其中热稳定蛋白都显著增加.

关键词 莲子, 人工老化, 活力, 抗氧化能力

分类号 Q 945

莲子是经科学测定寿命最长的种子. 由于材料成本较高, 外壳 (果皮) 太坚硬很难剥脱, 取材有一定的地域性, 很多特殊的生理现象为表面的坚硬致密外壳的保护作用所掩盖, 所以长期以来, 片面强调外壳的作用而忽略了长寿的生理机制研究. 本文首次探讨人工老化下莲子活力及其一些生理生化指标的变化, 目的在于了解加速老化条件下其抗劣变能力的变化.

1 材料与方法

1.1 材 料

莲子 (*Nelumbo nucifera* Gaertn) 品种赣莲 62, 开花授粉时进行挂牌标记, 授粉后 30 d 采收完全成熟莲子供实验用.

1.2 人工老化处理

将去壳或不去壳莲子放入密闭干燥器 (内盛一薄层水) 于恒温箱中维持恒定的 40℃ 和 100% 相对湿度, 分别于 2, 4, 6, 8 d 后取样分析各项指标, 以未处理者为对照.

1.3 发芽方法及活力测定

将莲子 (带壳者需部分去壳) 在 28℃ 于水中发芽, 每天早晚各换水 1 次, 5 d 后测其发芽率和胚芽长度. 简易活力指数 = 发芽率 (%) × 胚芽长 (cm), 以表示其活力大小.

1.4 提取液制备

取胚或子叶约 1.0 g, 加入 0.05 mol/L (pH 7.0) 磷酸缓冲液 (含 1% PV P) 10 mL, 冰浴上匀浆后, 于 4℃, 3 500 r/min 离心 10 min, 再于 4℃ 10 000 r/min 离心 15 min, 上

^{*} 广东省自然科学基金 (960068) 资助项目

收稿日期: 1997-03-12 汤学军, 男, 32岁, 博士生

清液用于各项测定. 部分上清液于沸水浴中 10 min, 冷却后于 4°C 10 000 r/min 离心 10 min, 上清液用于测定热稳定蛋白 (BSP).

1.5 生理生化指标测定

蛋白质含量测定按 Bradford 的方法^[1], 以牛血清白蛋白为标准蛋白.

丙二醛 (MDA) 含量测定按 Heath 等的硫代巴比妥酸法^[2].

SOD 活性测定按 Giannopolitis 和 Ries 的方法^[3], 利用 SOD 抑制氮蓝四唑的光化还原作用.

电解质渗漏率测定: 取胚 10 个, 加去离子水 15 mL, 于 25°C 5 h 后测电导率值 (R), 再于沸水浴中 10 min, 冷却后再测电导率值 (R'), 以 $R/R'\%$ 表示之.

脂氧合酶 (LOX) 活性测定按 Hidebrand 等的方法^[4]. 以 25°C 、pH 6.8 4 mL h⁻¹ 60% 的乙醇溶液中每毫克蛋白每分钟在 235 nm 处产生 0.1 OD 值为 1 个酶活力单位.

2 结 果

2.1 生活力及活力的变化

图 1 所示, 在 40°C 、相对湿度为 100% 加速老化下, 去壳莲子在 2 d 后活力降低, 4 d 后发芽力下降, 至 6 d 后发芽力为对照的 75%, 活力仅 30%; 8 d 后发芽力降至 44%, 活力仅 3%. 不去壳者在此条件下 15 d 内没有观察到发芽力及活力的变化.

图 1 人工老化对莲子生活力及活力的影响 图 2 人工老化对莲子蛋白质及热稳定蛋白含量的影响

2.2 可溶性蛋白质含量及热稳定蛋白含量的变化

图 2 所示, 在 40°C 、相对湿度为 100% 下老化 6 d 后, 莲胚芽蛋白质含量基本不变, 子叶中降低了 2%; 热稳定蛋白逐渐增加, 在胚和子叶中热稳定蛋白占总蛋白的比例分别提高了 80% 和 50%.

2.3 电解质渗漏率 MDA 含量 SOD 活性及 LOX 活性的变化

图 3、4 所示, 在 40°C 、相对湿度为 100% 加速老化下, 莲胚芽电解质渗漏率逐渐增加, 老化 6 d 后显著增高了 41%, 表明膜已受到严重损伤; 胚芽和子叶 SOD 活性分别降低了 14.7% 和 22.5%, 表明自由基清除能力在逐渐减弱; 胚芽和子叶 MDA 含量分别增加了 20.1% 和 89.2%, 表明膜脂过氧化加强; 胚芽和子叶 LOX 活性分别增高了 18.5% 和

9.4%, 表明自由基增生.

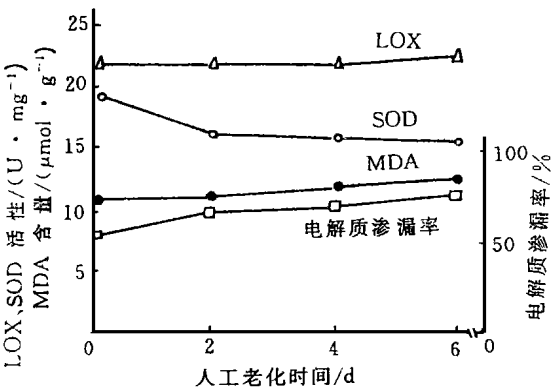


图 3 人工老化对莲胚芽电解质渗漏率、MDA 含量、SOD 和 LOX 活性的影响

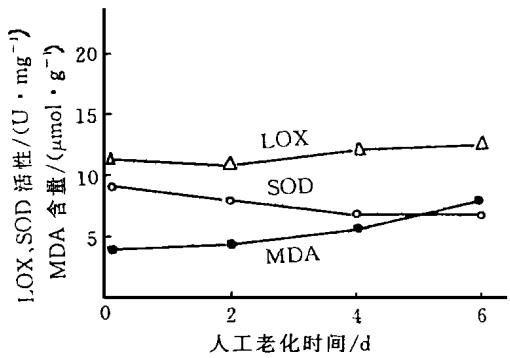


图 4 人工老化对莲子叶 MDA 含量、SOD 活性和 LOX 活性的影响

3 讨 论

老化过程中常常伴随着蛋白质的降解, 但 Dell'Aquila (1994) 指出, 小麦种子人工老化后蛋白质组分发生变化, 有 2 组蛋白质 (相对分子质量为 $84.9 \times 10^3 \sim 69.5 \times 10^3$ 和 $66.6 \times 10^3 \sim 60.2 \times 10^3$) 在老化后能活跃合成^[5]. 本实验条件下莲胚芽中可溶性蛋白含量基本不变, 子叶中明显降低, 但热稳定蛋白则显著增加 (图 2), 这表明老化过程中蛋白质组分已发生改变, 究竟是哪些组分变化, 这些热稳定蛋白是什么, 起何作用, 有待深入研究.

LOX 是一类催化顺, 顺-1, 4 戊二烯结构的不饱和脂肪酸与分子氧产生直接反应生成氢过氧化脂肪酸并产生自由基的酶. LOX 可能通过破坏膜的完整性参与种子劣变过程. 本实验结果表明, 在 40℃, 相对湿度为 100% 老化过程中, LOX 活性增加使自由基增生, 而清除自由基的 SOD 活性降低, 清除能力则减弱, 致使膜脂过氧化加剧, 膜受到损伤, 从而使莲子生活力及活力下降.

不去外壳的莲子在此老化条件下 15 d 没有表现出活力及生活力的降低, 可能是由于其外壳不透水, 在 40℃, 相对湿度为 100% 下实际上只有 40℃ 温度的作用, 而莲子本身具有耐超高温的能力, 所以带壳莲子在高温高湿条件下难以发生劣变, 这可能是其长寿的重要原因之一^[6].

参 考 文 献

- 1 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 1976, 72 248~ 254
- 2 Heath R L, Packer L. Effect of light on lipid peroxidation in chloroplasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 1965, 19 706~ 720
- 3 Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase purification and quantitative relationship with water-stable protein in seedling. *Plant Physiol*, 1977, 59 315~ 318
- 4 Hildebrand D F, Versluya R T, Collins G B. Changes in lipoxygenase isozymes levels during soybean embryo development. *Plant Sci*, 1991, 75 1~ 8
- 5 Dell'Aquila A. Wheat seed ageing and embryo protein degradation. *Seed Sci Res*, 1994, 4 292~ 298
- 6 Tang Xuejun, Fu Jiarui, Huang Shangzhi. Studies on viability and vigor of lotus seeds during development and under temperature stress. The second international conference on seed science and technology (2nd ICSST). *中山大学学报论丛*, 1997 (增刊): 75

Effects of Artificial Ageing on Vigor and Resistance to Oxidation of Lotus Seeds

Tang Xuejun^{*} Fu Jiarui Huang Shangzhi
Xie Keqiang Liu Guangliang

Abstract Lotus seeds (*Nelumbo nucifera* Gaertn) were rapidly aged at 40℃ and 100% relative humidity in a sealed desiccator. The vigor of the seeds without pericarp was highly decreased by 49% after 4 d, and the germination was decreased by 25% after 6 d. During artificial ageing, the SOD activity declined, the lipoxygenase (LOX) activity, MDA content and electrolyte leakage increased gradually. The protein content remained constant in the plumules and decreased in the cotyledons, but the boiling-stable proteins (BSP) increased highly.

Keywords lotus seeds, artificial ageing, vigor, resistance to oxidation

^{*} School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275