

水稻叶片中丙二醛(MDA)含量的测定

Determination of Malondialdehyde (MDA)

Content in Rice Leaves

都浩, 王妮丽, 熊立仲*

作物遗传改良国家重点实验室, 华中农业大学, 武汉

*通讯作者邮箱: lizhongx@mail.hzau.edu.cn

引用格式: 都浩, 王妮丽, 熊立仲. (2018). 水稻叶片中丙二醛(MDA)含量的测定. *Bio-101* e1010148. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010148.

How to cite: Du, H., Wang, N. L. and Xiong, L. Z. (2018). Determination of malondialdehyde (MDA) content in rice leaves. *Bio-101* e1010148. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010148. (in Chinese)

实验原理: 水稻器官衰老或在非生物逆境条件下, 膜脂发生过氧化作用, 丙二醛 (malondialdehyde) 是其产物之一, 通常利用它作为膜脂过氧化指标。MDA 在高温及酸性条件下与 TBA 反应形成有色物, 在 532 nm 波长处有最大吸收值, 600 nm 波长处有最小吸收值。

实验目的: 检测水稻在非生物逆境胁迫前后膜脂的过氧化程度, 检测水稻细胞膜对非生物逆境反应的强弱。

关键词: 水稻, 生理指标, 丙二醛, 非生物逆境

材料与试剂

1. 冰盒
2. 塑料袋
3. 1.5 ml、10 ml 离心管
4. TCA (三氯乙酸)
5. TBA (硫代巴比妥酸)
6. 10% TCA (见溶液配方)
7. 5% TCA (见溶液配方)
8. 0.67% TBA (见溶液配方)

仪器设备

1. 剪刀
2. 研钵
3. 100 ml 容量瓶
4. 天平
5. 冷冻离心机
6. 电磁炉
7. 比色皿及分光光度计(DU640)

实验步骤

1. 冰盒取样水稻叶片样品，置于封闭的塑料袋中，带回实验室立即测定。
2. 天平称取 0.5 g 水稻叶片，剪刀剪碎后加 5% TCA (见溶液配方) 5 ml，用预冷的研钵置于冰上研磨至匀浆状，倒入 10 ml 离心管中。
3. 在 3,000 rpm 下冷冻(4 °C)离心 10 min，取上清液 2 ml 至新的 10 ml 离心管中，向其中加入 0.67% TBA (见溶液配方) 2 ml，混合后在 100 °C 沸水中煮 30 min，室温自然冷却后取 1.5 ml 上清至新 1.5 ml 离心管中，室温 12,000 rpm 离心后取上清。
4. 用分光光度计分别测定上清液在 450 nm、532 nm 和 600 nm 处的吸光度值。并按公式算出 MDA 浓度，再算出单位鲜重组织中的 MDA 含量($\mu\text{mol/g}$)。
5. 结果计算，按公式 $C/\mu\text{mol/L} = 6.45 (A_{532}-A_{600}) - 0.56 A_{450}$
式中 A_{450} 、 A_{532} 、 A_{600} 分别代表 450 nm、532 nm 和 600 nm 波长下的吸光度值。

注意事项

1. 检测生理指标的水稻组织质量应该一致，保证较好的实验结果。
2. 检测植物生理指标所用试剂，最好现配现用。
3. 用分光光度计测定吸光度时应注意分光光度计的测定范围。

溶液配方

1. 10% TCA

称取 10 g TCA，使用 ddH₂O 溶解，转移至 100 ml 容量瓶中定容

2. 5% TCA

将 10%的 TCA 用 ddH₂O 稀释一倍

3. 0.67% TBA

称取 0.67g TBA 用 10%的 TCA 溶解，转移至 100 ml 容量瓶中用 10% TCA 定容