

# 抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂脂肪酸和磷脂组成比较\*

尹田夫 宋英淑 刘丽君 王以芝

(黑龙江省农业科学院大豆研究所)

鲍 风 许文瑞

(中国科学院生物物理所)

## 提 要

抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂,均由12种脂肪酸:月桂酸(12:0)、豆蔻酸(14:0)、棕榈酸(16:0)、棕榈油酸(16:1)、硬脂酸(18:0)、油酸(18:1)、亚油酸(18:2)、亚麻酸(18:3)和4种未知脂肪酸以及7种磷脂:溶血磷脂酸胆碱(LPC)、磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰肌醇(PI)、磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰甘油(PG)和磷脂酸(PA)所组成。

抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂的脂肪酸和磷脂组分相似,但其配比不同。抗旱大豆棕榈酸(16:0)含量和磷脂酰甘油(PG)明显高于不抗旱大豆,而亚麻酸(18:3)和其他磷脂含量却低于不抗旱大豆。

抗旱大豆叶线粒体膜脂的总脂肪酸不饱和度,显著低于不抗旱大豆。此种差异主要是由于棕榈酸(16:0)和亚麻酸(18:3)在总脂肪酸中配比的变化引起。

**关键词** 大豆;线粒体;脂肪酸;磷脂

关于植物线粒体的磷脂组成曾有一些报导(Biale等1966, Fleischer等1967, Park1963, Ongun等1968, Schwertner1973)。然而,关于环境胁迫,尤其是干旱胁迫对大豆叶线粒体膜脂脂肪酸和磷脂组成的影响,据目前所知,尚未见文献报导。本文研究了干旱对大豆叶线粒体膜脂脂肪酸和磷脂组成的影响;比较了抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂脂肪酸和磷脂组成与分布;进而分析了叶线粒体膜脂总脂肪酸饱和度与大豆抗旱性的关

\* 国家自然科学基金资助项目。

本文于1988年10月5日收到。This paper was received on Oct. 5, 1988.

系。

## 材 料 与 方 法

抗旱大豆“呼 80-1001”、“庆选 101”分别由大庆市农科所和哈尔滨市呼兰农科所提供,不抗旱大豆“黑农 11”为生产品种。

### 1. 大豆叶线粒体的制备

从人工模拟旱境的生长室中,剪取大豆主茎顶端第 3—5 节位的三出复叶,去中脉后,剪碎并置于匀浆器中,按着王国强的方法<sup>[1]</sup>,加入适量的 STK 缓冲液(含 0.4M 蔗糖,50mM Tris-HCl, pH8.0; 10mM KCl)匀浆。尔后用 12 层药用沙布过滤。以上操作均在冰水浴中进行。滤液经 1800 转/分钟的高速冰冻离心机离心 5 分钟后,将一级上清液以 5000 转/分钟离心 20 分钟后,再将二级上清液以 12,000 转/分钟离心 30 分钟,弃去上清液,将沉淀用少许 STK 缓冲液洗出,所得沉淀悬浮于悬浮液中,即获得了大豆叶线粒体。

### 2. 大豆叶线粒体膜脂的抽提

取制备的大豆叶线粒体悬浮液 1ml(蛋白含量约 10mg),参照 Bligh-Dyer 方法<sup>[2]</sup>,用含水的甲醇、氯仿(2:1 V/V)溶剂体系进行抽出。抽出后的氯仿层加等容苯用氮气浓缩,然后,加少许精制苯溶解,低温(-30℃)冰箱保存。

### 3. 叶线粒体膜脂脂肪酸组成分析

使用 GC1F18-3 型高温气相色谱仪,分离柱长 2m,内径 4mm,担体:Chromosorb W. AW. DWCS(80-100 目),固定液:18%聚二乙二醇丁二酸酯,柱温 196℃,载气:高纯氮,流速 70ml/分钟。用面积归一化法计算各种脂肪酸组分含量。

### 4. 叶线粒体膜脂磷脂组成定性分析

用硅胶薄层层析,薄板用青岛海洋化工厂生产的硅胶 H 自制。展层剂:C(氯仿):M(甲醇):A(乙酸):E(乙醇):W(水):(25:5:6:2:0.5,V/V/V/V/V),其他见文献(2)。

### 5. 叶线粒体膜脂磷脂组成定量分析

线粒体膜经单向薄层层析后,用 Dittmer-Lester 试剂显色。然后,用 CS-910 型薄层色谱扫描仪扫描,并自动计算结果。

## 结 果 与 讨 论

### 一、抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂脂肪酸组成及其比较

#### 1. 大豆叶线粒体膜脂脂肪酸组分

将抽提的大豆叶线粒体膜脂按 Metcalf 方法脂化后,进行气相色谱分析。气相色谱扫描如图 1 所示。从图 1 可,抗旱大豆与抗旱大豆叶线粒体膜脂脂肪酸组分相同。与已知脂肪酸甲酯样品的比保留值对照,可以看出,抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂的总脂肪酸均由月桂酸(12:0),豆蔻酸(14:0),棕榈酸(16:0),棕榈油酸(16:1),硬脂酸(18:0),油酸(18:1),亚油酸(18:2),亚麻酸(18:3)和 4 种尚未检知脂肪酸等 12 种脂肪酸组成。

#### 2. 抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂脂肪酸组分的比较

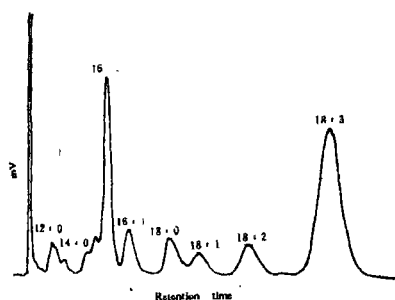


图1 大豆叶线粒体膜脂的总脂肪酸组成的气相色谱图

Fig. 1 Gas chromatogram of total fatty acid of mitochondria membrane lipids in soybean

根据大豆叶线粒体膜脂脂肪酸组成的图谱按面积归一化法计算出各种脂肪酸组分的mole%含量如表1(三次以上实验的平均值)所示。

从表1可见,抗旱大豆与不抗旱大豆叶线粒体膜脂脂肪酸组成的配比是很近似的。主要脂肪酸组分棕榈酸(16:0)含量20—26mole%之间,棕榈油酸(16:1)含量为5.0,mole%左右,硬脂酸(18:0)含量约在7—8mole%之间,油酸(18:1)为4.3mole%,亚油酸(18:2)含量为8.0mole%左右,亚麻酸(18:3)含量约在48—53mole%之间。

此外,还含有微量的月桂酸(12:0)、豆蔻酸和4种未检出脂肪酸。

由表1还可见,抗旱与不抗旱大豆之间在脂肪酸组分含量差异方面,除棕榈酸(16:0)和亚麻酸(18:3)含量具有较明显差异外,其他组分的差异不明显。

表1 抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂脂肪酸组分的比较

Table 1 Composition of fatty acid of mitochondria membrane in drought tolerant and susceptible soybean

类 型 Types	总 脂 肪 酸 Total fatty acids (mol%)						
	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	UIFA
抗 旱 型 Drought tolerant	26.1	5.4	8.3	4.3	8.1	47.6	169
不抗旱型 Susceptible	20.4	5.0	7.4	4.3	7.8	53.1	184

从表1还可知,抗旱大豆与不抗旱大豆叶线粒体膜脂的总脂肪酸的不饱和指数具有明显差异。抗旱大豆叶线粒体膜脂的总脂肪酸的不饱和指数(VIFA=169),低于不抗旱大豆(VIFA=184)。这种差异主要由棕榈酸和亚麻酸含量的差异所致。抗旱大豆叶线粒体膜脂的棕榈酸高于不抗旱大豆,而亚麻酸却低于不抗旱大豆。

## 二、抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂的磷脂组成及其比较

### 1. 大豆叶线粒体膜脂的磷脂组分

大豆叶线粒体膜脂经单向薄层层析,分离出7个脂质组分。与参考磷脂样品的R<sub>f</sub>值对照,结果可见此等组分的R<sub>f</sub>分别与溶血磷脂酰胆碱(LPC)、磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰肌醇(PI)、磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰甘油(PG)和磷脂酸(PA)等参考

样品的  $R_f$  几乎完全一致。经 Dittmer—Lester 试剂显色, 以上 7 种脂质组分和原点(0)均显兰色, 而其他组分均未显色, 由此表明抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂的磷脂质中均含有以上 7 个脂质组分。

用吸光度比例系数校正法<sup>[4]</sup>进行薄层色谱扫描, 可见抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂中均出现 7 个磷脂峰, 如图 2 所示:

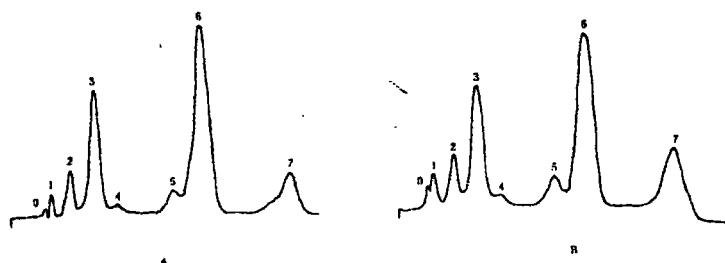


图 2 抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂的磷脂组分的 TLC 扫描

Fig. 2 TLC of phospholipids of mitochondria membrane in leaves of both drought resistant and susceptible soybeans

A: 抗旱大豆 B: 不抗旱大豆

0 原点, 1: LPC, 2: PC, 3: PI, 4: PS, 5: PE, 6: PG, 7: PA

由图 2 可充分证明抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂的磷脂质皆具有相同的 7 种脂质组分。

## 2. 抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂磷脂组分的比较

以上述薄层扫描方法, 对抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂的各种磷脂组分含量进行定量分析的结果(3 次以上实验的平均值)列入表 2:

表 2 抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂的磷脂组成

Table 2 Composition of phospholipids of mitochondria membrane in drought tolerant and susceptible soybean

类 型 Types	磷 脂 Phospholipids (mol%)						
	LPC	PC	PI	PS	PE	PG	PA
抗 旱 型 Drought tolerant	1.6	5.8	22.1	1.4	0.6	60.7	7.7
不抗旱型 Susceptible	5.9	8.8	23.3	2.2	3.4	42.4	14.0

由表 2 可知, 抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂的主要磷脂组分为磷脂酰甘油(PG), 含量约在 42.0—61.0%之间; 其次为磷脂酰肌醇(PI), 含量在 22.0—23.0%左右; 磷脂酸

(PA)含量在 8.0—14.0%之间;磷脂酰胆碱约 6.0—9.0%左右。以上 4 种组分平均约占磷脂的 92.5%左右。除此之外,还含有少量的溶血磷脂酰胆碱(LPC)、磷脂酰丝氨酸(PS)和磷脂酰乙醇胺(PE)。

抗旱与不抗旱大豆叶线粒体膜脂的主要磷脂组分种类虽然相同,但其含量有别。抗旱大豆的磷脂酰甘油(PG)占总磷脂的 60.7%,而不抗旱大豆占 42.4%,抗旱大豆磷脂酰甘油含量为不抗旱大豆的 1.4 倍左右。显而易见,抗旱大豆磷脂酰甘油(PG)明显高于不抗旱大豆。除磷脂酰甘油(PG)以外,其他磷脂组分含量抗旱大豆均低于不抗旱大豆。据此可以认为磷脂酰甘油(PG)含量的高低不仅可作为鉴定大豆抗旱性的指标,同时还可推测磷脂酰甘油对大豆脂类物质形成的贡献。

### 参 考 文 献

- [1] 王国强等,1984,调节磷对玉米线粒体生化活性的效应,植物生理学通讯,(3)32—35
- [2] 鲍凤等,1981,大豆磷脂组成的研究 I. 磷脂组成的薄层色谱分析,生物化学与生物物理学报,13,373
- [3] 杨福愉等,1983,抗冷与不抗冷水稻线粒体膜流动性的比较,科学通报,(6),370—372
- [4] 鲍凤等,1985,生物膜磷脂的快速定量分析,科学通报,(20),1574—1576
- [5] 王洪春等,1980,水稻干胚膜脂脂肪酸组分差异性分析,6(3),227—236
- [6] 李锦树等,1983,干旱对玉米叶片细胞透性及膜脂的影响,植物生理学报,9(3),223—229
- [7] 尹田夫等,1987,干旱对大豆下胚轴细胞界膜形态变化及透性的影响,作物学报,13(4),310—313
- [8] Bligh, E. G. et al. 1959, A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol., (37)911
- [9] Dittmer, J. C. et al. 1964, A simple specific spray for the detection of phospholipids on thinlayer chromatograms, J. Lipid Res., 5, 126
- [10] Lyons, J. M. et al. 1965, Solidification of undaturated saturated fatty acid mixtures and its relationship to chilling sensitivity in plant, J. Amer. Oil Chem. Soc., 42, 1056—1058
- [11] Miller, K. W. et al. 1974, Structural and functional responses of wheat mitochondrial membranes to growth at low temperature, Plant Physiol., 53, 426—433

COMPARISON ON THE COMPOSITION OF FATTY ACIDS AND  
PHOSPHOLIPIDS OF MITOCHONDRIA IN DROUGHT  
RESISTANT AND IN SUSCEPTABLE SOYBEAN LEAF CELLS

Yin Tianfu Song Yingsu Liu Lijun Wang Yizhi  
(*Soybean Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences*)

Bao Feng Xu Wenrun

(*Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing*)

Abstract

Seven phospholipids components: Lysophosphatidyl choline (LPC), phosphatidyl choline (PC), phosphatidyl ethanolamine (PE), phosphatidyl inositol (PI), phosphatidyl serine (PS), phosphatidyl glycerol (PG), phosphatidyl acid (PA), and twelve fatty acids: lauric acid (12:0), myristic acid (14:0), palmitic (16:0), palmitoleic (16:1), stearic (18:2), oleic (18:1), linoleic (18:0), linolenic acid (18:3), and four fatty acids unidentified were separated from mitochondria of soybean leaf cell.

The composition of the phospholipids and fatty acid of mitochondria from drought resistant and susceptible soybeans were compared. The composition was same but the ratio was different. PA and palmitic (16:0) was higher in drought resistant varieties than in susceptible, but others phospholipids and linolenic acid (18:3) was lower.

The UIFA from mitochondria membrane lipid in drought resistant soybean leaf cell was lower than susceptible soybean. The difference of UIFA between drought resistant and susceptible soybeans was on ratio of components. This difference was caused by changes of composition in palmitic (16:0) and linolenic acid (18:3).

**Key words** Soybean; Mitochondria; Fatty acid; Phospholipid