

大豆原生质膜及混合细胞器膜脂脂肪酸对干旱胁迫的反应*

刘丽君 尹田夫

(黑龙江省农业科学院大豆研究所)

孟 良

(黑龙江省农业科学院栽培所)

摘 要

本文分析了大豆复叶、真叶、子叶和发育子叶原生质膜及混合细胞器膜脂脂肪酸的组成、配比以及脂肪酸不饱和指数对干旱胁迫的反应。研究表明:大豆原生质膜及混合细胞器膜脂中主要有六种脂肪酸:豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸,还有少量的月桂酸和花生酸和一种未标记的脂肪酸。干旱胁迫不改变大豆不同叶类组织原生质膜和混合细胞器膜脂脂肪酸的组成,但配比和组分含量却发生了很大变化。脂肪酸组分中变化最显著的是亚麻酸,其次是亚油酸和棕榈酸。亚麻酸与脂肪酸不饱和指数呈极显著的正相关。耐旱型品种(庆选101)膜脂对干旱的反应,为脂肪酸的饱和化作用较慢,不饱和脂肪酸含量高于不耐旱品种(黑农11)。同一品种不同叶类对干旱的抗性表现的顺序为:复叶>真叶>发育子叶>子叶。

关键词 大豆;干旱;原生质膜;膜脂;脂肪酸不饱和指数

细胞器膜脂脂肪酸组分在研究植物抗性机理方面已越来越受重视。膜类脂和脂肪酸组成决定着生物膜的流动性,其组分的变化必影响着膜的抗逆性。生物膜上的结构物质随着温度的降低而产生物相的变化。膜脂是对低温反应的关键物质^[6]。在15°C--30°C范围

* 国家自然科学基金资助项目

本文于1989年6月5日收到

This paper was received on June 5, 1989.

内抗冷性强的苜蓿品种叶片中双半乳糖二甘油酯中饱和脂肪酸含量少,不饱和脂肪酸含量多,尤其是亚麻酸含量超过70%。不抗冷品种亚麻酸含量只有57%^[5]。王洪春(1980)指出:在干旱条件下,玉米叶片总膜脂饱和脂肪酸含量的增加与干旱条件下植株生理代谢过程有关^[10]。李锦树(1983)证实;用PEG胁迫三叶期的玉米幼苗1天时,线粒体膜脂的棕榈酸(16:0)和亚油酸(18:2)含量下降,亚麻酸(18:3)含量增加。膜脂脂肪酸不饱和度增大。处理3天时,膜脂饱和脂肪酸含量增多。不饱和脂肪酸中亚油酸增多,而亚麻酸含量减少^[12]。目前关于大豆原生质膜膜脂脂肪酸对于干旱胁迫的反应尚未见报导。据此,本文将揭示大豆不同组织原生质膜及混合细胞器膜脂脂肪酸组分对于干旱胁迫的反应,为深入探索逆境胁迫条件下植物细胞各种界面膜的分子结构和生理功能之间的奥秘,以及调控大豆的抗旱力提供其理论依据。

材料和方法

品种:庆选101(耐旱型);黑农11(敏感型)。将大豆种子盆植于人工气候室内,昼夜温差为26°C/16°C,光照时间:12小时;叶片表面的光照强度6700Lux;干旱胁迫强度:中度胁迫(耐旱型植株水势为-10巴左右,敏感型植株水势为-4巴左右)。分别在大豆幼苗的子叶展开期、真叶展开期、第三复叶展开期、结荚鼓粒期进行根际干旱处理。并用幼苗子叶、真叶、复叶及发育子叶进行原生质体游离。

原生质体游离:叶肉细胞原生质体的游离按Schwenk(1981)的方法进行^[1]。子叶细胞原生质体的游离按简玉瑜(1983)的方法进行^[11]。

原生质膜和混合细胞器的分离:将原生质体悬浮于40ml:内含0.25mol/l山梨醇、1mmol/l MgSO₄, 10mmol/l Tris-HCl pH7.4的缓冲液中。用注射器吸入原生质体悬浮液,用力挤压原生质体破裂。悬浮液经9,000 γ 离心20min。沉淀物用于提取混合细胞总膜脂。上清液再经80,000 γ 离心1hr。沉淀用于提取原生质膜总膜脂。

膜脂的抽提和脂肪酸甲酯化:基本参照Dligh-Dyer和三氟化硼的方法^[2]。

脂肪酸组分的分析采用岛津GC-9A气相色谱仪。分离柱长:1.6m,担体:Chromosorb. W. AW. DMCS60-80目,固定液:12%DEGS,柱温:195°C,载气:高纯N₂,流速:35ml/min;H₂:0.5kg/cm²,空气:0.5kg/cm²。进样器温度:240°C。

脂肪酸各组分计算采用峰面积归一化的方法。

结果与分析

一、大豆原生质膜、混合细胞器膜脂脂肪酸的组分与配比:

大豆不同叶类(真叶、复叶、子叶、发育子叶)原生质膜和混合细胞器膜脂脂肪酸组成是相同的,主要的脂肪酸有六种:豆蔻酸(14:0)、棕榈酸(16:0)、硬脂酸(18:0)、油酸(18:1)、亚油酸(18:2)和亚麻酸(18:3)。还有少量的月桂酸(12:0)、花生酸(20:0)和一种未知的脂肪酸。发育子叶原生质膜中C_{18:2}含量较高,其次是C_{16:0}。幼苗子叶原生质

膜中 $C_{18:2}$ 、 $C_{18:1}$ 和 $C_{16:0}$ 所占的比例较大,但三者间差异不显著(LSD 测验)。真叶原生质膜中 $C_{18:3}$ 含量较高,其次是 $C_{18:2}$ 和 $C_{15:1}$ 。(图 1)即不饱和脂肪酸占有较高的比例,饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸的比约为 1:7,其它组分含量较低。复叶原生质膜中 $C_{18:2}$ 比例较大, $C_{18:1}$ 、 $C_{18:3}$ 、 $C_{16:0}$ 含量相近。混合细胞器膜脂脂肪酸配比在组织中的表现为:子叶混合细胞器膜脂脂肪酸中 $C_{18:2}$ 含量较高,其次是 $C_{18:1}$ 、 $C_{16:0}$ 。真叶、复叶中 $C_{18:3}$ 所占比例较高, $C_{18:2}$ 以复叶组织中占的比例较高。

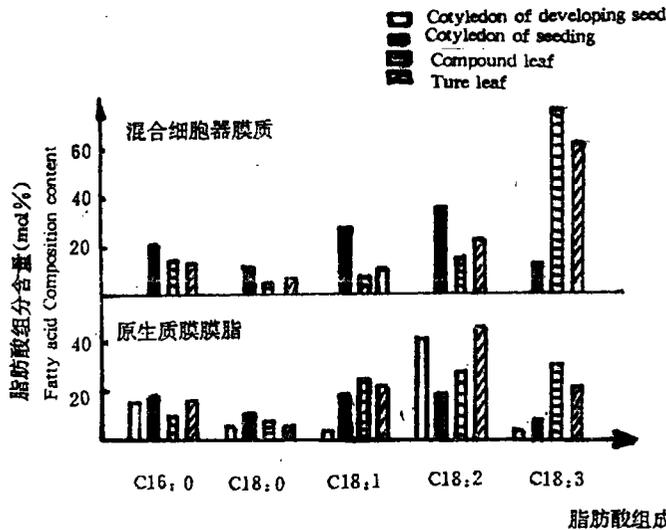


图 1 庆选 101 原生质膜及混合细胞器膜脂脂肪酸在不同组织中的分布

Fig. 1 Fatty acid composition of membrane lipid of plasmic membrane and mix organelle in different plant tissues (Qing Xuan 101)

总趋势为:大豆原生质膜中亚油酸含量较高。混合细胞器膜脂中 $C_{18:3}$ 含量较高,但组织间差异较大,亚油酸次之。 $C_{16:0}$ 在膜脂饱和脂肪酸的配比中所占的配比较高,不同叶类间比较,LSR 测验表明: $C_{16:0}$ 在真叶、复叶中差异不显著,但低于子叶中的含量,达极显著水准。

二、干旱对大豆原生质膜膜脂脂肪酸配比的影响。

大豆不同叶类组织原生质膜膜脂脂肪酸配比对干旱胁迫的反应是不同的。同组织中两品种间反应趋势一致,组分含量各异。干旱胁迫使真叶、复叶原生质膜膜脂中的脂肪酸配比发生改变。 $C_{18:3}$ 和 $C_{16:0}$ 增加,脂肪酸不饱指数增加。 $C_{18:3}$ 含量的变化与对照相比达极显著水准。耐旱型(庆选 101)品种复叶、真叶中 $C_{18:3}$ 含量增加达 83.2%—165.2%。发育子叶中干旱胁迫后原生质膜膜脂脂肪酸配比与对照相似,仍以 $C_{18:2}$ 含量为最高。耐旱型品种(庆选 101) $C_{18:3}$ 和 $C_{16:0}$ 含量有降低的趋势, $C_{18:3}$ 含量降低了 4.9%,但与对照相比差异不显著。不耐旱品种(黑农 11) $C_{18:3}$ 则降低 16.7%。饱和脂肪酸与对照相比有增加的趋势。

大豆不同叶类组织(庆选 101;黑农 11)原生质膜膜脂脂肪酸配比对干旱胁迫的一个共同的反应:硬脂酸、亚油酸含量降低。(参见图 2)亚油酸含量的变化达显著性水准(LSD 测验)。即原生质膜膜脂中的亚油酸的脱饱和作用增强。

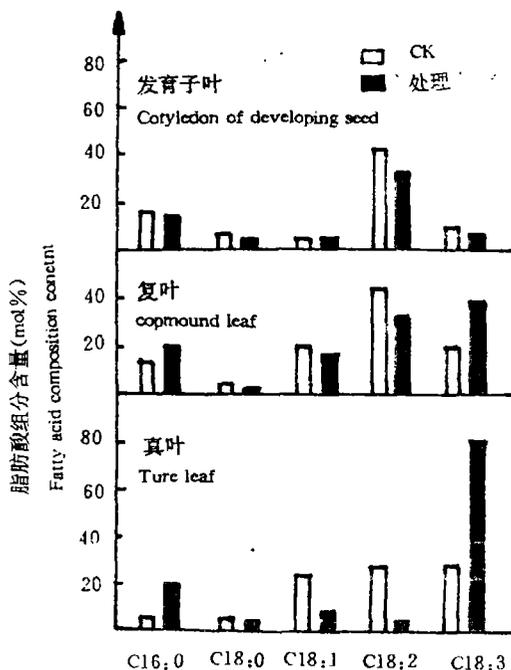


图 2 干旱对大豆(庆选 101)不同叶类组织中原生质膜脂脂肪酸配比的影响
 Fig. 2 Effect of drought on fatty acid composition of membrane lipid

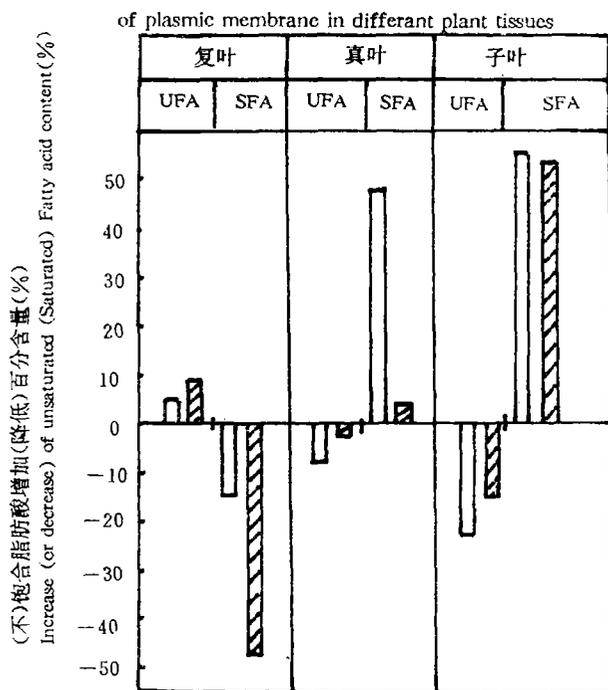


图 3 混合细胞器膜脂(不)饱和脂肪酸在不同组织中的变化情况
 Fig. 3 Change of the unsaturated fatty acid of membrane lipid of mix organelle in different plant tissues
 黑农 11; Hei Nong 11. 庆选 101; Qing Xuan 101.

三、干旱对大豆混合细胞器膜脂脂肪酸配比影响

干旱对大豆混合细胞器膜脂脂肪酸配比的影响较大。因品种和组织而不同。干旱胁迫使复叶组织中 $C_{18:3}$ 含量增加,增加的幅度为6.1%—35.5%。耐旱型品种(庆选101) $C_{18:3}$ 增加的量是不耐旱品种(黑衣11)的5倍,脂肪酸不饱和指数则是黑衣11的11.1倍。干旱胁迫后,复叶组织混合细胞器膜脂中饱和脂肪酸含量降低,耐旱型品种降低了47.6%,而不耐旱品种(黑衣11)饱和脂肪酸含量仅降低了13.7%。

真叶组织中:耐旱型品种混合细胞器膜脂中不饱和脂肪酸 $C_{18:2}$ 、 $C_{18:1}$ 含量在干旱胁迫后增加, $C_{18:3}$ 含量降低,不饱和脂肪酸总含量降低3.7%,饱和脂肪酸增加4.4%。不耐旱品种(黑衣11)混合细胞器膜脂中不饱和脂肪酸组分中 $C_{18:2}$ 、 $C_{18:1}$ 含量降低, $C_{18:3}$ 含量增加,不饱和脂肪酸总含量降低6.6%,饱和脂肪酸增加了46.4%(图3)。

子叶混合细胞器中,干旱胁迫使两品种混合细胞器膜脂中 $C_{18:3}$ 、 $C_{18:2}$ 含量降低, $C_{18:1}$ 含量增加。不饱和脂肪酸含量的降低表现为:耐旱型品种(庆选101)下降15.06%,而不耐旱品种(黑衣11)为23.3%。两品种混合细胞器膜脂中饱和脂肪酸含量增加的量相近。

耐旱与不耐旱品种混合细胞器膜脂脂肪酸对干旱胁迫的共同表现为:硬脂酸含量间差异不显著、亚油酸、亚麻酸在子叶组织中受水分胁迫而降低,并与对照相比达极显著水准(LSR法)。混合细胞器膜脂脂肪酸组分含量高于同组织中原生质膜中的含量, $C_{18:3}$ 含量的差异更为显著。

综上所述,耐旱型品种对于旱的反应为不饱和脂肪酸含量高于不耐旱品种(黑衣11),其含量受干旱胁迫降低的幅度较小。而不耐旱品种不饱和脂肪酸降低幅度较大,(图3)植株受害较重,饱和脂肪酸增加较快。饱和脂肪酸含量的相对增加,证明了基质中脂肪酸脱饱和酶活力下降。同一品种不同组织中混合细胞器膜脂对于旱的抗性为复叶>真叶>子叶。

讨 论

脂肪酸不饱和指数(IUFA)反映了脂肪酸的不饱和情况,脂肪酸不饱和度的增加是植物适应性的一种表现。研究结果指出:不同组织混合细胞器膜脂中IUFA高于同组织中原生质膜膜脂中IUFA。干旱胁迫使复叶组织中原生质膜和混合细胞器膜脂中IUFA增加。而在真叶组织中只有原生质膜膜脂中IUFA增加,而混合细胞器膜脂中IUFA与对照相比差异不显著。子叶和发育子叶膜脂中IUFA受干旱胁迫而降低,达极显著水准(LSR法)。通过对大豆不同组织原生质膜、混合细胞器膜脂IUFA与其脂肪酸组分之间的相关分析表明:亚麻酸与IUFA成正相关。亚油酸与子叶、发育子叶膜脂中IUFA成负相关(表1)。而其它组分没有表现一致的趋势。据此,我们可以看出:左右IUFA增加(降低)的主要组分是膜脂中不饱和脂肪酸中亚麻酸的含量,其次是亚油酸。我们知道,在生物组织中,氧化去饱和酶是与微粒体或膜颗粒连结的。NADPH或NADH和 O_2 是硬脂酰-coA生成油酰-coA所必需的。由于不同组织对中度干旱胁迫的反应不同。因此,组织膜脂中所形成

表1 大豆原生质膜及混合细胞器膜脂脂肪酸组分与 IUFA 的相关分析

Table 1 Correlation between IUFA and fatty acid composition of membrane lipid of plasmic membrane and mix organelle

脂 肪 酸 材 料	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
大豆子叶原生质膜 Plasmic membrane of cotyledon	r=-0.0899	r=-0.169	r=0.3022	r=0.842 **	r=0.918 **
大豆发育子叶原生质膜 Plasmic membrane of developing cotyledon	r=-0.2354	—	r=0.0851	r=0.6583 **	r=0.214
大豆真叶原生质膜 Plasmic membrane of ture leaf	r=0.904 **	r=-0.838	r=-0.422	r=-0.404	r=0.2296 **
大豆复叶原生质膜 Plasmic membrane of compound leaf	r=0.874 **	r=0.295	r=-0.847 **	r=-0.77 **	r=0.935 **
大豆子叶混合细胞器 Mix organelle of seeding cotyledon	r=-0.763 **	r=-0.296	r=-0.6502	r=0.792 **	r=0.8509 **
大豆真叶混合细胞器 Mix organelle of ture leaf	r=0.962 **	r=-0.088	r=-0.864 **	r=-0.857 *	r=0.957 **
大豆复叶混合细胞器 Mix organelle of compound leaf	r=-0.897 **	r=-0.282	r=-0.355	r=-0.767 **	r=0.727 *

的不饱和脂肪酸是不同的。从实验结果可以推测:复叶膜脂脂肪酸不饱和度的增大,可能是由于初生的复叶对干旱的抗性较强。虽然叶肉细胞间隙的水分减少,但气体量增加,氧含量也增加,由于叶片的光合作用,又使氧分子与还原型铁氧还蛋白作用,导致脱饱和酶和硬脂酰-ACP的脱饱和反应,使饱和脂肪酸转化为不饱和脂肪酸,IUFA增加。而子叶和发育子叶的光合作用能力较弱,受干旱胁迫后,细胞脱水,呼吸作用大于光合作用。致使细胞间隙中氧的相应减少,导致脂肪酸脱饱和酶活力下降,饱和脂肪酸含量相对增加,IUFA降低。

综上所述:我们认为大豆膜脂中不饱和脂肪酸含量的变化特别是亚麻酸、亚油酸含量的变化左右着品种的抗旱力。耐旱型品种膜脂对干旱的反应为脂肪酸饱和化作用较慢,不饱和脂肪酸含量高于不耐旱品种。同一品种不同叶类组织膜脂对干旱的抗性为:复叶>真叶>发育子叶>幼苗子叶。

参 考 文 献

- [1] Schwenk, F. W. et al., 1981, Plant Science Letters 23:153-155
- [2] Bligh, E. G and Dyer, W. J., 1959, Can. J. Biochem. Physiol., (37)911
- [3] Deyoe, D. R., Brown, G. N., 1979, Plant Physiol, 63:5-8
- [4] John, J. B. et al., 1976, Plant Physiol, 57:257-259
- [5] Kuiper, P. J., 1970, Plant Physiol, 45:684-686

- [6] Lyons, J. M. , 1973, *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24:445—446
 [7] Willemot C. L. Pelletier, 1979, *Canad. J. Plant Sci.* 59:639—643
 [8] Willson, J. M. , et al, 1974, *New Phytol.* 73:815—820
 [9] Siminovitch, D. et al. , 1975. *Cryobiology.* 12:144—153
 [10] 王洪春等, 1980, *植物生理学报*, 6:227—236
 [11] 简玉瑜, 1983, *大豆科学*, 2(2):101—103
 [12] 李锦树等, 1983, *植物生理学报*, 9(3):223—229
 [13] 郭金铨等, 1983, *植物生理学报*, 9(4):331—337
 [14] 杨福愉等, 1983, *科学通报*, (6):370—372

EFFECT OF DROUGHT ON FATTY ACID OF MEMBRANE LIPID OF PLASMIC MEMBRANCE AND MIX ORGANELLE IN SOYBEAN

Liu Lijun Yin Tianfu

(The soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Science)

Meng Liang

(The Crop Cultivation Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Science)

Abstract

In this paper we report the effect of drought on membranous fatty acid pattern, composition of membrane lipid and the index of unsaturated fatty acid (IUFA) in plasmic membrane and mix organelle from cotyledon, ture leaf, copmound leaf and cotyledon of developing seed of soybean. The results showed that the fatty acid composition of membrane lipid consisted of the myristic acid (14 : 0), stearic acid (16 : 0), palmitic acid (18 : 0), oleic acid (18 : 1), linolic acid (18 : 2), linolenic acid (18 : 3), and a little lauric acid (12 : 0) and the arachidic acid (20 : 0), and other kind of fatty acid. The fatty acid composition did not change during drought, but the content ratio of different fatty acids changed markedly. The change of the linolenic acid content was most obvious. The linolenic acid and the palmitic acid the second. There was significant positive correlation between the linolenic acid and the IUFA. The saturation of the fatty acid from the drought—resistant cultivar (Qing Xuan 101) was lower under drought condition, therefore, its content of the unsaturated fatty acid was higher than that of the drought—sensitive cultivar (Hei Hong 11). The sequence of drought—resistance of differeent leaf tissues of the same cultivar is: compound leaf > ture leaf > cotyledon of developing seed > cotyledon of seedling.

Key Words Soybean; Drought; Plasmic membrane; The index of unsatarated fatty acid (IUFA); Membrane lipid