

大豆低亚麻酸突变体合成位点 MGDG 的脂肪酸行为*

尹田夫

(中国人民解放军农牧大学 长春 130062)

June H. Nie David F. Hildebrand

(University of Kentucky, U. S. A)

摘 要

本文比较了大豆低亚麻酸突变体 (A_5) 及其诱导前体 (A_6) 亚麻酸合成位点 MGDG 的脂肪酸变化。研究结果表明低亚麻酸突变体 A_5 的下胚轴、子叶、上胚轴和真叶中叶绿体被膜亚麻酸合成位点单半乳糖苷二酯酰 (MGDG) 上亚麻酸 (18:3) 水平均高于 A_6 相应组织。子叶中亚麻酸合成前体磷脂酰胆碱 (PC) 配比 18:0/18:3 ($r_{18:0/18:3} = 0.872^{**}$), 18:1/18:3 ($r_{18:1/18:3} = -0.958^{**}$) 以及 18:2/18:3 ($r_{18:2/18:3} = -0.965^{**}$) 分别呈高度显著正相关或负相关。 A_6 真叶中 18:3 水平皆高于上胚轴、子叶、下胚轴和幼根。诸组织中 16:0/18:2 和 18:3 水平变化尤为明显, 而 18:0 和 18:1 变化较小。幼根中 16:0 和 18:2 水平均高于其他组织, 且 18:2 高于 18:3。

关键词 大豆; 低亚麻酸突变体; PC; MGDG; 脂肪酸

在油用植物发育种子中, 油脂中的亚麻酸 (18:3) 主要是在内质网 (ER) 中合成。前人的研究已证明磷脂酰胆碱 (PC) 为亚油酸 (18:2) 脱饱和成亚麻酸的前体^[1]。在光合组织中, 单半乳糖苷二酯酰甘油 (MGDG) 为叶绿体被膜上亚麻酸形成的位点^[1]。然而, 低亚麻酸突变体幼苗各个组织中 MGDG 位点主要脂肪酸对亚麻酸形成的作用及相互关系研究甚少, 至今尚未见文献报导。

低亚麻酸突变体已从许多植物种中被诱导出来^[2,3,4,5,6]。这些突变体的用途之一是阐明亚麻酸生化合成的调控。本研究旨在评价大豆低亚麻酸突变体及其诱导前体幼苗各组

* 本研究是在美国肯塔基大学完成的。

织中 PG MGDG两个主要层次中亚麻酸合成与其他主要脂肪酸的相关关系

材料与方法

大豆低亚麻酸突变体 A_5 及其诱导前体 A_6 , 在相同条件下盆植于美国肯塔基大学全自动控制的人工气候室中, 昼夜温度分别为 27°C / 21°C 。当苗龄为 21 天, 即第一枚三出复叶展开时, 分别取幼根、下胚轴、子叶、上胚轴和真叶各 15mg, 以氯仿和甲醇为 2: 1(v/v) 的提取液对上述各组织提取总酯。脂肪的甲酯化、脂肪酸组成的分析均采用 Wang-Hildebrand^[6] (1987) 方法。

PC和 MGDG的 TLC分析按照 Norman-St. John (1987)方法^[9 10 11]。

结果与分析

1 大豆幼苗组织中亚麻酸合成位点脂肪酸配比

由图 1- 1. a b c可见幼根、下胚轴、上胚轴其亚麻酸合成位点的棕榈酸 (16: 0)、硬脂酸 (18: 0)、油酸 (18: 1)、亚油酸 (18: 2)及亚麻酸 (18: 3)等主要脂肪酸水平分布趋势呈大熊星座曲线态势。

从图 1- 2 a. b可见幼苗光合组织子叶和真叶亚麻酸合成位点各主要脂肪酸分布近似天蝎座曲线态势。

低亚麻酸突变体 A_5 其各组织中亚麻酸合成位点上硬脂酸 (18: 0)和油酸 (18: 1)趋于平稳, 而棕榈酸 (16: 0)、亚油酸 (18: 2)及亚麻酸 (18: 3)水平变化较为明显。

幼根中饱和脂肪酸中的棕榈酸水平平均高于下胚轴、子叶、上胚轴和真叶 (图 1- 1a),

上胚轴和下胚轴之棕榈酸水平接近 (图 1- 1b. c), 子叶和真叶的棕榈酸水平相仿 (图 1- 2a. b),

不同组织中棕榈酸水平变化, 即根中累积高于上胚轴和下胚轴, 后者又高于子叶和真叶 (图 2 a)

根中的亚油酸水平平均高于下胚轴、子叶、上胚轴和真叶; 上胚轴中亚油酸水平略高于下胚轴; 上胚轴之亚油酸水平明显高于子叶; 子叶又明显高于真叶 (图 2. b)。总之, 从各组织中亚油酸水平变化趋势可见自幼根至幼叶呈降低态势, 亦即随着组织的光合能力增强, 亚油酸水平 (除上胚轴外) 一直呈下降趋势。

不同组织中亚麻酸水平变化趋势为真叶中亚麻酸水平皆高于子叶; 子叶高于下胚轴; 下胚轴高于上胚轴; 上胚轴高于根。总的分布趋势为随着组织光合能力的提高, 亚麻酸水平呈明显上升态势 (图 2 c)

低亚麻酸突变体 A_5 各组织中亚麻酸水平变化, 除根中亚麻酸水平略低于 A_6 外, 下胚轴、子叶、上胚轴和真叶之亚麻酸水平均高于其突变前体 A_6 (图 2. c)

各组织中亚油酸与亚麻酸的水平比较指出根中亚油酸水平高于亚麻酸水平; 而下胚轴、上胚轴、子叶和真叶的亚油酸水平低于亚麻酸水平。

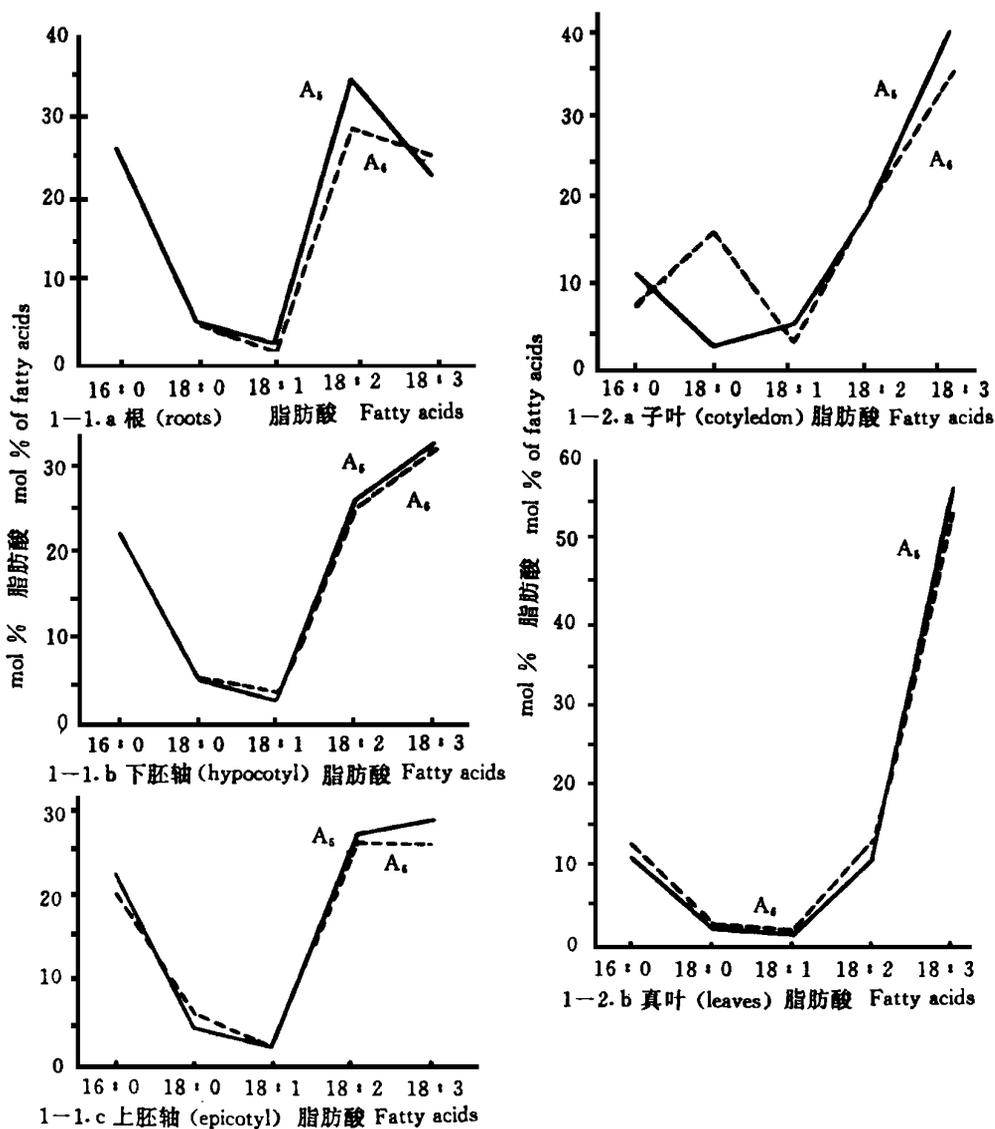


图 1 A_5 和 A_6 相同组织脂肪酸分布

1- 1 a b c 根、下胚轴、上胚轴 1- 2 a b 子叶、真叶

Fig. 1 Distributive curves of fatty acids in same tissues of A_5 and A_6

1- 1. a. roots; b. hypocotyl; c. epicotyl 1- 2 a. cotyledons; b. leaves

2 大豆幼苗组织中亚麻酸合成前体 PC 的配比

由表 1 可知低亚麻突变体 A_5 根中 16:0/18:2 呈显著正相关 ($r_{16:0/18:2} = 0.755^*$)。 A_5 的突变诱导前体 A_6 根中的 18:1/18:2, 18:1/18:3 和 18:2/18:3 分别呈显著 ($r_{18:1/18:2} = 0.828^*$) 和高度显著 ($r_{18:1/18:3} = 0.902^{**}$), $r_{18:2/18:3} = 0.984^{**}$) 正相关 其他磷脂配比呈不显著正相关或负相关。

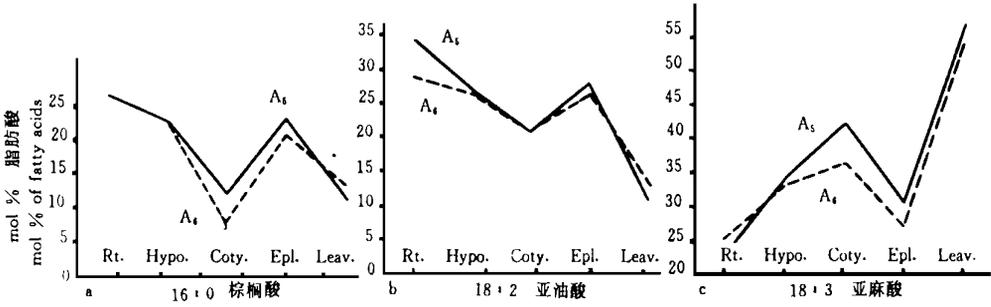


图 2 A₅和 A₆不同组织脂肪酸分布

Fig. 2 Distributive curves of fatty acids in different tissues of A₅ and A₆

a. 16: 0; b. 18: 2; c. 18: 3

低亚麻酸突变体 A₅子叶中 18: 0/18: 1, 18: 0/18: 2和 18: 0/18: 3分别呈高度显著或显著负相关 ($r_{18: 0/18: 1} = -0.972^*$, $r_{18: 0/18: 2} = -0.763^*$) 以及高度显著正相关 ($r_{18: 0/18: 3} = 0.872^*$) 18: 1/18: 2, 18: 1/18: 3和 18: 2/18: 3则分别呈高度显著正、负相关 ($r_{18: 1/18: 2} = 0.868^*$, $r_{18: 1/18: 3} = -0.958^*$, $r_{18: 2/18: 3} = -0.965^*$), 而其他磷脂配比呈不显著正相关或负相关

突变诱导前体 A₆子叶中的 16: 0/18: 1, 18: 0/18: 3, 18: 1/18: 3及 18: 2/18: 3均呈显著或高度显著负相关 ($r_{16: 0/18: 1} = -0.777^*$, $r_{18: 0/18: 3} = -0.968^*$, $r_{18: 1/18: 3} = -0.906^*$, $r_{18: 2/18: 3} = -0.780^*$). 其他磷脂 PC配比呈不显著正、负相关)

低亚麻酸突变体 A₅真叶中除 18: 1/18: 2呈显著正相关 ($r_{18: 1/18: 2} = 0.826^*$) 外, 其余磷脂 PC配比呈不显著正负相关。

表 1 A₅和 A₆相同组织 PC的相关

Table 1 Correlative coefficients between PC of same tissue of A₅ and A₆

PC/PC	根 Roots		子叶 Cotyledon		真叶 Leaves	
	A ₅	A ₆	A ₅	A ₆	A ₅	A ₆
16: 0/18: 0	0.519	0.135	0.514	-0.724	0.404	0.988 [*]
16: 0/18: 1	0.103	0.457	-0.579	-0.777	0.197	0.997 [*]
16: 0/18: 2	0.755	0.136	-0.515	-0.363	0.026	-0.105
16: 0/18: 3	0.365	0.273	0.621	0.574	-0.767	0.983 [*]
18: 0/18: 1	0.306	0.374	-0.972 [*]	0.942 [*]	-0.163	0.997 [*]
18: 0/18: 2	0.145	0.735	-0.763	0.826	0.199	0.052
18: 0/18: 3	-0.583	0.656	0.872 [*]	-0.966 [*]	-0.599	1.000 [*]
18: 1/18: 2	0.488	0.828	0.868 [*]	0.694	0.826	-0.025
18: 1/18: 3	-0.027	0.902 [*]	-0.958 [*]	-0.906 [*]	-0.548	0.995 [*]
18: 2/18: 3	0.628	0.984 [*]	-0.965 [*]	-0.780	-0.487	0.079

* r0.05= 0.754, ** r0.01= 0.874

突变诱导前体 A_6 真叶中 $16:0/18:0$, $16:0/18:1$, $16:0/18:3$, $18:0/18:1$, $18:0/18:3$ 及 $18:1/18:3$ 均呈高度显著正相关 ($r_{16:0/18:0} = 0.988^*$, $r_{16:0/18:1} = 0.997^*$, $r_{16:0/18:3} = 0.983^*$, $r_{18:0/18:1} = 0.995^*$)。

讨 论

低亚麻酸突变体 A_5 下胚轴、子叶、上胚轴及真叶亚麻酸合成位点的亚麻酸水平均高于其突变前体 A_6 , 此乃说明 A_5 亚麻酸合成位点的脱饱和酶活性普遍高于 A_6 。

光合组织叶片亚麻酸合成位点上亚麻酸水平皆高于子叶、下胚轴、上胚轴和根, 由此说明光合组织中亚麻酸合成能力高于其它组织, 同时, 进一步说明光合组织亚麻酸合成位点上脱饱和酶活性高于其它组织。

低亚麻酸突变体 A_5 子叶中亚麻酸合成前体磷脂酰胆碱 (PC) 配比的 $18:0/18:1$, $18:0/18:2$ 分别呈高度显著或显著负相关, $18:0/18:3$ 则呈高度显著正相关; 此外, $18:1/18:2$ 呈高度显著正相关, 而 $18:1/18:3$ 及 $18:2/18:3$ 分别呈高度显著负相关。上述这些 PC 配比的相关性充分说明硬脂酸 ($18:0$) - 油酸 ($18:1$) - 亚油酸 ($18:2$) - 亚麻酸 ($18:3$) 在生化合成系统中前者依次为后者脱饱和和前体。同时, 还说明由于各种脂肪酸脱饱和酶活性有利, 因而诸 PC 之间呈现正负相关关系。

低亚麻酸突变体 A_5 及其诱导前体 A_6 子叶亚麻酸 ($18:3$) 合成途径以 A_5 和 A_6 PC 的 $18:0/18:3$, $18:1/18:3$, $18:2/18:3$ 配比 (表 2) 可见低亚麻酸突变体 A_5 子叶亚麻酸合成除了按着亚油酸脱饱和途径外, 可能还通过硬脂酸 ($18:0$) 双重脱饱和和途径合成亚麻酸。

表 2 A_5 及 A_6 子叶和真叶的 $18:0/18:3$, $18:1/18:3$ 及 $18:2/18:3$ 配比

Table 2 $18:0/18:3$, $18:1/18:3$ and $18:2/18:3$ in cotyledon and leaves of A_5 and A_6

PC/PC	子叶 (Cotyledon)		真叶 (Leaves)	
	A_5	A_6	A_5	A_6
$18:0/18:3$	0.872 *	- 0.966 *	- 0.599	1.000 *
$18:1/18:3$	- 0.958 *	- 0.906 *	- 0.548	0.995 *
$18:2/18:3$	- 0.965 *	- 0.780 *	- 0.487	0.079

诱导前体 A_6 真叶和子叶 $18:3$ 合成过程中, 磷脂酰胆碱 PC 配比之作用 (表 2) 具有十分明显的差异, A_6 子叶的 PC 配比 ($18:0/18:3$, $18:1/18:3$, $18:2/18:3$) 均呈高度显著负相关, 而真叶的 $18:0/18:3$ 和 $18:1/18:3$ 则呈高度显著正相关, 显而易见子叶和真叶 PC 配比对 A_6 亚麻酸合成的作用是不同的。

参 考 文 献

[1] Roughan, P. C. and Slack, C. R. Cellular organization of glycerolipid metabolism. Annu. Rev. Plant Physiol. 1982, 33, 97-132

[2] Roughan, P. C. and Slack, C. R. Glycerolipid synthesis in leaves. Trends Biochem. Sci. 1984, 9, 383-386

- [3] Browse, J., McCourt, P. et al. A mutant of arabidopsis deficient in C18: 3 and C16: 3 leaf lipid. *Plant Physiol.* 1986, 81 859– 864
- [4] Green A. G., and Marshall, D. R. Isolation of induced mutants in linseed (*linum usitatissimum*) having reduced linolenic acid content. *Euphytica.* 1984, 33, 321– 328
- [5] Hammond, E. G., and Fehr W. R. Registration of A6 germplasm line of soybean. *Crop Sci.* 1983, 23, 192
- [6] Wang, X. M., Hildebrand, D. F., Norman, H. D. et al. Reducton of linolenate content in soybean cotyledons by a substituted pyridazinone. 1987, *Phytochemistry*, 26, 955– 960
- [7] Martin, B. A., and Rinne, R. W. Relationship between fatty acid composition of vegetative and reproductive structures of six soybean genotypes. *Crop Sci.* 1985, 25, 1055– 1058
- [8] Martin, B. A. and Rinne, R. W. A comparison of oleic acid metabolism in the soybean (*Glycine max* L. Merr.) genotypes Williams and A5, a mutant with decreased linoleic acid in the seed. *Plant Physiol.* 1986, 81. 41– 44
- [9] Norman, H. A., John, S. T. JB. Metabolism of unsaturated monogalactosyl– diacylglycerol molecular species in *Arabidopsis thaliana* reveals different sites and substrated for linolenic acid synthesis. *Plant Physiol.* 1986, 81, 731– 736
- [10] Norman H. A. and John, JB. ST. Separation and quantitation of molecular species of palnt phosphatidylcholine by high– performance liquid chromatography with flame ionization detection. *J. Lipid Res.* 1986, 27, 1104– 1107
- [11] Norman, H. A. and John, JB. ST. Differential effects of a substitute pyridazinone, BASF 13– 338 on pathways of Monogalactosyldiacylglycerol synthesis in arabidopsis. *Plant Physiol.* 1987, 85, 684– 688

FATTY ACIDS IN BIOSYNTHETIC POINT MGDG OF 18: 3 OF LOW LINOLENATE MUTANTS A5 OF SOYBEAN

Yin Yianfu

(PLA University of Agriculture and Animal Science, Changchun 130062)

June H. Nie David F. Hildebrand

(University of Kentucky, Lexington, KY 40546– 0091, USA)

Abstract

A comparative analysis of the composition of PC and MGDG molecular species together with determination of total fatty acids was conducted in the soybean cv A6 and in A5, a low 18: 3 mutant, to evaluate the expression of this mutation in the two classes of lipids among various tissues. 16: 0 and 18: 2 levels in roots were higher than in hypocotyl, cotyledons, epicotyl and leaves. 18: 3 level was lower than 18: 2 level in roots. 18: 3 level in leaves was higher than in other tissues. 18: 3 level in hypocotyl, cotyledons, epicotyl and leaves of A5 were higher than that of A6. The amount(mol%) of 18: 0/18: 3($r=0.872^*$), 18: 1/18: 3($r=-0.958^*$), and 18: 2/18: 3($r=-0.965^*$) were negative and positive relation at 1% level.

Key words *Glycine max*; Fatty acid; Low linolenic acid mutants; PC; MGDG.