

随气温下降大头茶膜脂脂肪酸组分 及膜保护系统的适应性变化

梁 莉 谈 锋

(西南师范大学生命科学系,重庆 630715)

摘 要 本实验以自然生长的大头茶为材料,研究了其叶片膜脂脂肪酸组分及膜保护系统随气温下降的变化。结果表明,膜脂脂肪酸不饱和度增加;同时,SOD 活性增强,Vc 含量增加,POX 出现了新的同工酶谱带,而使保护系统清除自由基的能力增强。这两方面的变化有着密切的关系,且都与大头茶的抗冷性发展相适应。

关键词 降温 大头茶 膜脂脂肪酸组分 膜保护系统 适应

THE ADAPTIVE CHANGES OF MEMBRANE FATTY ACID COMPOSITION AND MEMBRANE PROTECTIVE SYSTEM OF *GORDONIA ACUMINATA* ACCOMPANIED WITH THE TEMPERATURE DECREASE

Liang Li and Tan Feng

(Department of life science of Southwest Normal University, Chongqing 630715)

Abstract The changes of membrane fatty acid composition and membrane protective system of *G. acuminata* leaves as the temperature decreases were investigated. The results showed an increase of the unsaturation of membrane fatty acid, and an increase of the SOD activity as well as Vc content, and new isozymes of POX appeared. These strengthened the protective system's ability to sweep away the free radical. The results suggest that changes of unsaturation of membrane fatty acid are closely related with protective system, and are adapted to the chilling resistance development in *G. acuminata*.

Key words Temperature decrease, *Gordonia acuminata*, Membrane fatty acid composition, Membrane protective system, Adaptation

人们普遍注意到膜脂脂肪酸不饱和度的增加能降低膜的相变温度,有利于膜在低温下的稳定性(Douglas *et al.*, 1982)。但膜脂不饱和度的增加亦有其不利的一面(Van *et al.*, 1980; Levitt, 1980): 不饱和脂肪酸本身对氧化作用非常敏感,因而不饱和度的增加使

膜更易于受到膜脂过氧化的伤害。植物自身的保护系统能在一定程度上克服这一负效应 (Van *et al.*, 1972), 但随气温下降, 在膜脂组分发生变化时, 对其保护系统的研究尚少见报道。本文以亚热带常绿阔叶树种大头茶 (*Gordonia acuminata*) 为材料, 研究了自然生长的大头茶随着气温下降, 其膜脂脂肪酸组分, SOD 活性及 V_c 含量的变化, 并对 POX 进行了同工酶分析, 以研究膜脂脂肪酸组分及酶促和非酶促的保护系统在大头茶抗冷性发展中的适应性变化。

1 材料和方法

1.1 供试材料

以重庆缙云海拔 850m, 自然生长的两年生大头茶幼苗为材料。从 1994 年 9 月至翌年 1 月逐月地定点采集 2~4 位叶, 置于 -40℃ 低温保存待测。

1.2 膜脂脂肪酸组分分析

每月取 5g 叶片, 按苏维埃等 (1980) 的方法提取总类脂及去中性脂, 所得极性脂甲基化后用日立 163 气相色谱仪测定脂肪酸组分。层析柱 (玻璃柱) 长 2m, 固定液为 OV-221 (4%), DEGS (8%), 固相担体为 Cromsorb WHP (80~100 目), 柱温 185℃, 气化温度 250℃, 用氢火焰检测器 (FID) 进行检测, 以样品保留时间进行脂肪酸甲脂的定性分析。

1.3 SOD 活性的测定

用 NBT 光还原法 (Stewart and 等, 1980), 检测系统中核黄素改为 $7.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, NBT 改为 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 反应液最终体积为 5ml。

1.4 V_c 含量的测定

用 2,6-二氯酚靛酚法 (袁武城等, 1982) 测定 V_c 含量, 提取液加活性碳脱色。

1.5 POX 的凝胶电泳

POX 同工酶聚丙烯酰胺垂直平板凝胶电泳按吴少伯 (1979) 法, 用抗坏血酸-联苯胺显色液显色。

2 实验结果

2.1 1994 年 9 月至 1995 年 1 月缙云山气温的变化

从图 1 看出, 1994 年 9 月至 1995 年 1 月期间, 除 11 月下旬到 1 月上旬之间有波动, 气温整体上呈下降趋势, 并在 1 月上旬达到最低点, 即旬平均最高温度 5.5°C , 最低温度 1.9°C , 1 月上旬之后气温开始呈上升趋势。

2.2 膜脂脂肪酸组分的变化

由图 2 看出, 大头茶叶片膜脂脂肪酸

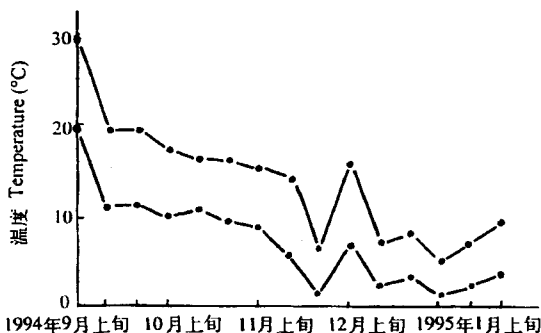


图1 1994年9月至1995年1月缙云山旬平均最高、最低气温

Fig. a The highest and lowest temperature (average of every ten days) of Jin Yun Mountain from Sep. 1994 to Jan. 1995

主要由棕榈酸(16:0)、硬脂酸(18:0)、油酸(18:1)和亚油酸(18:2)组成。其中, 不饱和脂肪酸含量占80%以上。由表1可知, 从1994年9月至翌年1月, 随气温下降, 油酸和亚油酸含量均持续上升, 使膜脂脂肪酸不饱和指数(IUFA)亦呈上升趋势, 而饱和的棕榈酸及硬脂酸随气温下降, 变量变化趋势不明显。

表1 1994年9月至1995年1月大头茶叶片膜脂脂肪酸的组分

Table 1 The membrane fatty acid composition of *G. acuminata* leaves from Sep. 1994 to Jan. 1995

时间 Time	脂肪酸克分子				IUFA*
	16:0	18:0	18:1	18:2	
1994-09	38.10	2.29	176.73	282.12	740.97
1994-10	61.53	4.35	176.73	338.55	853.83
1994-11	68.89	2.29	188.51	394.98	978.47
1994-12	60.25	1.94	274.90	423.20	1121.30
1995-01	111.33	6.87	294.54	507.84	1310.22

$$* IUFA = (18:1)\text{mol}\% + (18:2)\text{mol}\% \times 2$$

2.3 SOD 活性的变化

SOD 作为活性氧清除剂是保护系统重要的酶(王建华等, 1989)。从图3可看出, SOD 活性从9月至翌年1月近似线性地增加, 显示其对气温下降非常敏感。

2.4 V_c 含量的变化

V_c 是非酶促保护系统中重要的还原性物质。从图4可见, 生长在不同月份的大头茶, 其叶片中 V_c 含量随气温下降而增加, 在1994年9、10、11的3个月增长较快, 而12月及翌年1月较平缓, 气温最低的1月较气温最高的9月, V_c 含量增加了120%左右。

2.5 POX 同工酶的凝胶电泳

不同月份大头茶 POX 的酶谱有较大差异, 酶带数在1994年9~12月份分别为3、6、6、9条, 随气温下降有新的谱带出现。10月、11月较9月新出现了3条 R_f 值分别为0.56、0.59、0.65的同工酶谱带, 12月较10月、11月新出现了3条 R_f 值为0.49、

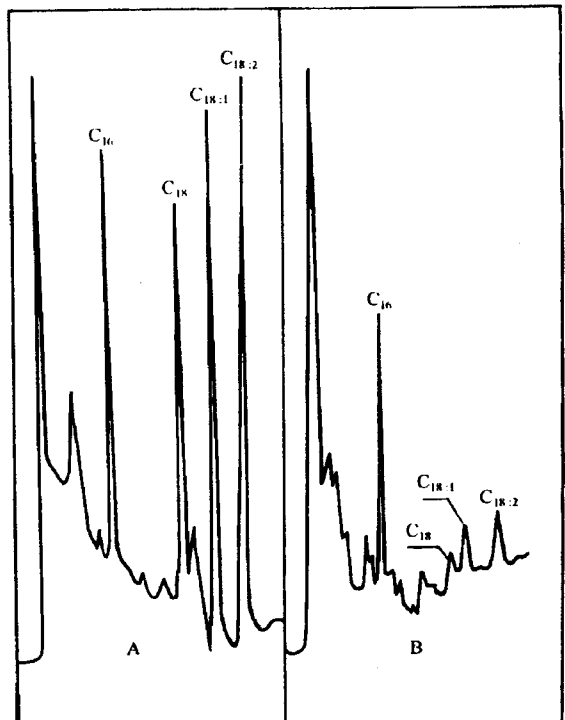


图2 1994年9月大头茶叶片膜脂脂肪酸气相色谱图

Fig. 2 Gas chromatography plot of membrane fatty acid composition of *G. acuminata* Leaves in September

A: 标样 Standard sample B: 大头茶叶片 *G. acuminata* leaves

0.51、0.62的同工酶谱带。而各月均具有9月的3条基本谱带,其 R_f 值为0.17、0.24、0.69。

3 讨论

从1994年9月至1995年1月,样地气温呈下降趋势,并在1995年1月上旬达到最低。此时我们用导电法测得大头茶两年生幼苗叶片半致死温度为 -4.6°C ,其自然环境温度始终高于其半致死温度。我们研究了这段时期内随气温下降大头茶抗冷性的发展。

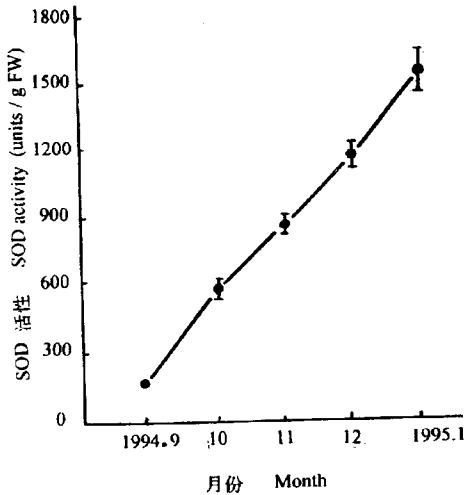


图3 不同月份大头茶叶片 SOD 活性

Fig. 3 The SOD activity of *G. acuminata* leaves from Sep. 1994 to Jan. 1995

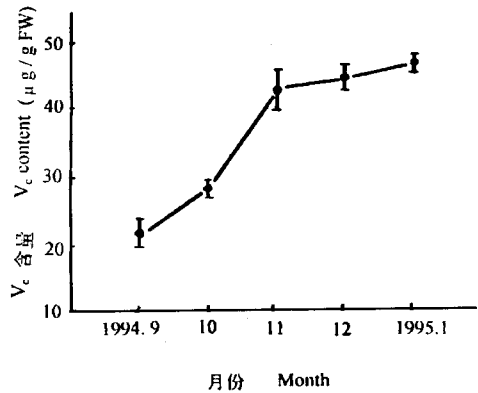


图4 不同月份大头茶叶片 Vc 含量

Fig. 4 The V_c content of *G. acuminata* leaves from Sep. 1994 to Jan. 1995

在植物抗冷性发展的过程中,膜脂脂肪酸不饱和度的增加一直被认为是一个关键(Loyons, *et al.*, 1979),而对于其不利的一面及其克服都少有重视。本实验结果表明,随气温下降,大头茶叶片中膜脂脂肪酸不饱和度逐渐增加,同时其叶片内膜保护系统亦表现出增强的趋势,SOD 被认为是保护系统的指示酶,其活性增加增强了其清除 O_2^- 的能力;POX 亦是活性氧清除剂之一,其同工酶随气温降低出现新的谱带,可能与合成了对低温稳定性更高的同工酶有关;而 V_c 是植物体内普遍存在的一种还原性物质, V_c 含量的增加有助于清除自由基,排除过氧化物(曾韶西等,1993;王以柔等,1993)。酶促和非酶促保护系统清除自由基的能力的增长(图3、4、5)有助于克服膜脂过氧化,说明保护系统的变化是与植物抗冷性的发展过程相适应的。

低温下植物受到伤害的原因是复杂的,与之相应的植物对冷害的适应性也是多方面的。我们认为抗冷植物的冷适应过程至少有两个方面是关键:即膜脂脂肪酸组分的改变及酶促和非酶促的保护系统的变化。而后者的适应性变化对于克服膜脂脂肪酸组分改变的负效应尤为关键。

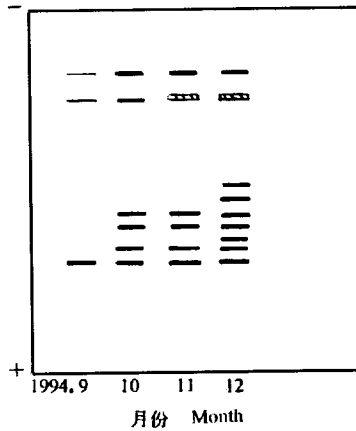


图5 不同月份大头茶叶片 POX 同工酶垂直平板凝胶电泳

Fig. 5 Vertical flat gel electrophoresis of POX isozymes of *G. acuminata* leaves from Sep. 1994 to Nov. 1994

参 考 文 献

- 王以柔、刘鸿先、曾韶西等,1993:冷锻炼对水稻和黄瓜幼苗 SOD、GR 活性及 GSH、ASA 含量的影响,见:中国植物生理学会第六次全国会议学术论文汇编,上海,363。
- 王建华、刘鸿先、徐同,1989:超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用,植物生理学通讯,(1) 1~7。
- 吴少伯,1979:植物组织中的蛋白质及同工酶——聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳。植物生理学通讯,(1)30-34。
- 苏维埃、王文英、李树锦,1980:植物类脂及其脂肪酸的分析技术,植物生理学通讯,(3) 54~56。
- 袁武城、袁厚积主编,1982:生物物质常用化学分析法,北京:科学出版社,162~163。
- 曾韶西、王以柔、刘鸿先等,1993:冷锻炼和 ABA 诱导水稻幼苗提高抗寒力期间膜保护系统的变化,见:中国植物生理学会第六次全国会议学术论文汇编,上海,363。
- Douglas O., Brain DP 1982: Responses of plant to low, nonfreezing temperature: protein metabolism, and acclimation. *Ann rew plant physiol.* **33**:347~372。
- Levitt J. Response of plants to enviromental stress. 1980: Vol 1 chilling, freezing and high temperature stress. 2nd edition. New York: Academic Press, 20~47。
- Lyons JM, Raison JK, Steponkus PL, 1979: The plant membrane in response to low temperature. In: Lyons JM, RAison JK, Graham D, ed Low temperature stress in crop plant; the role of membrane. New York, 1~24。
- Stewartland RC, Bewley JD 1980: Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant physiol.* **65**:245~248。
- Van Hasselt PR 1972: Photooxidation of leaf pigment in cucumis leaf discs chilling. *Acta Bot Neerl* **21**:539~543。
- Van Hasselt PR, Van Berko HAG 1980: Photooxidation damage to the photosynthetic apparatus during chilling. *Physiol plant* **50**:52~56。