

盐胁迫对水稻幼苗类囊体膜脂肪酸组分的影响

王仁雷, 华春, 周峰, 周泉澄, 周斌伟

(1. 江苏食品职业技术学院, 江苏淮安 223003, 2. 南京晓庄学院生命科学系, 江苏南京 211171)

摘要 [目的] 探讨盐胁迫下水稻幼苗类囊体膜脂肪酸组分变化。[方法] 6叶1心的水稻幼苗在不同浓度NaCl胁迫不同时间后用于提取类囊体膜脂肪酸,并用1890气相色谱仪分析脂肪酸组分。[结果] 随着NaCl胁迫浓度增加和时间的延长,2个供试材料Pokkali和Peta水稻类囊体膜14:0,18:0,16:1(3t),18:1脂肪酸组分含量在前4d变化不大,之后略为上升;Pokkali和Peta的16:0、饱和脂肪酸含量(LSFA)前4d变化也不大,之后Pokkali的明显上升,而Peta的呈下降趋势;Pokkali和Peta的18:3组分和不饱和脂肪酸指数(LUFA)一直下降,100 mmol/L较200 mmol/L NaCl处理下降幅度小,且在相同的条件下,Pokkali较Peta的下降幅度小;而Pokkali和Peta的饱和度水平上升,且Peta上升幅度较Pokkali小。[结论] 在不饱和脂肪酸指数方面,Pokkali较Peta耐盐。

关键词 盐胁迫;水稻;脂肪酸

中图分类号 S311 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)28-12108-04

Effects of Salt Stress on Fatty Acid Composition of Thylakoid Membrane of Two Rice Cultivars

WANG Renlei et al (Jiangsu Food Science College, Huai'an, Jiangsu 223003)

Abstract [Objective] The aim of the study is to understand the changes of fatty acid composition of rice thylakoid membrane under salt stress. [Method] Under salt stress of different concentrations of NaCl, rice seedlings of Pokkali and Peta with six leaves and one central leaf were used as experimental materials to extract the fatty acid from their thylakoid membranes, and gas chromatograph (1890) was used to analyze fatty acid composition. [Result] Fatty acid component 14:0, 18:0, 16:1(3t), 18:1 in both the two experimental materials showed little variations in the first four days of salt stress, whereafter they increased slightly; while the fatty acid component 16:0 and level of saturation of fatty acid (LSFA) showed the similar variation trend in the first four days of treatment compared to those of the fatty acid components mentioned above, whereafter they rose in Pokkali and presented an opposite variation trend in Peta; fatty acid component 18:3 and level of unsaturation of fatty acid (LUFA) reduced all the time under stress condition, and the reducing amplitude in 100 mmol/L NaCl treatment group was smaller than that of 200 mmol/L NaCl treatment group, and in Pokkali was smaller than that in Peta under specific conditions. Meanwhile level of saturation of fatty acid in both experimental materials increased, and the rising amplitude in Peta was smaller than that of Pokkali. [Conclusion] With regard to LUFA, Pokkali is endowed with more salt tolerance than Peta.

Key words Salt stress; *Oryza sativa*; Fatty acid

膜系统是植物受逆境伤害的敏感部位,脂肪酸是膜的重要组成部分,其各组份的比例决定着生物膜的流动性^[1]。类囊体膜各组分对盐胁迫十分敏感,如盐胁迫引起PS II外周蛋白部分或完全的脱落,将导致PS II反应中心,特别是放氧复合体失活^[2-3]。Alakhverdov等^[3]对能够合成多聚不饱和脂肪酸的转基因蓝藻(*Synechococcus*)进行了研究,发现不饱和脂肪酸能够增强光合机构的耐盐性和盐胁迫损伤的修复能力。根据生物体成分、结构和功能之间的密切关系,推测这些现象的发生可能与盐胁迫下膜脂组分改变有关。鉴于此,笔者以耐盐性不同的水稻品种幼苗为材料,研究了盐胁迫对其类囊体膜脂肪酸组分的影响,以期对盐胁迫下水稻光合速率及光能转化功能的下降机制的研究提供参考。

1 材料与试验方法

1.1 试验材料 供试材料Pokkali(耐盐)和Peta(盐敏感)由国际水稻研究所提供。

1.2 试验设计 选取籽粒饱满的种子,浮洗后用30% H₂O₂溶液消毒1 h。充分漂洗后于25℃下浸种24 h,然后28℃下黑暗催芽48 h。露白后,挑选长势良好一致的种子播种于铺有纱布的播种盘中,在自然条件下培养,待水稻长至2叶1心时转移到小周转箱(长方形塑料盒30 cm×20 cm×10 cm,内含木村B溶液)中,6叶1心时分别用含100、200 mmol/L NaCl的木村B培养液处理,以不加NaCl的木村B培养液作对照。处理后0、2、4、6、8 d分别取第5叶测定各项指标,每次

测定3次重复,取平均值进行分析和统计。

1.3 试验方法

1.3.1 光合速率的测定。用英国PP-Systems公司生产的CIRAS-2便携式光合系统在PAR 1 000 μmol/(m²·s),CO₂ 350 μ/L, Humidity 25 mbr的恒定条件下测定。

1.3.2 类囊体膜的提取。参照Dunahay等^[4]介绍的方法略加改进。取新鲜叶片,洗净吸干,光照活化,4℃下预冷,称取水稻叶片4.0 g于1新离心管,加入预冷的B₁缓冲液(0.4 mol/L Sucrose、2.0 mmol/L MgCl₂、0.02 mol/L Tricine, pH=8.0),4层纱布过滤,滤液于4℃300 g离心2 min,上清液于4℃4 000 g离心10 min,得破碎叶绿体沉淀,沉淀用B₂缓冲液(0.15 mol/L sucrose、5.0 mmol/L MgCl₂、0.02 mol/L Tricine, pH=8.0)匀浆后再离心(4℃, 4 000 g, 10 min),再用B₃(0.015 mol/L NaCl、5.0 mmol/L MgCl₂、0.02 mol/L MES, pH=6.5)匀浆即得类囊体膜悬浮液,叶绿素浓度应控制为2.0 ng/ml。

1.3.3 膜脂的提取。参照陈志强^[5]的方法进行,取800 μl上述类囊体膜悬浮液于盛有4.5 ml氯仿-甲醇(1:2)的具塞玻璃离心管中,漩涡震荡后3 000 g离心10 min,收集含有膜脂的下层溶剂,减压蒸干或氮气浓缩,于-20℃贮存。

1.3.4 脂肪酸的提取。参照刁丰秋等^[6]的方法,将上述含有膜脂的玻璃管中加入50 μl十七碳酸及1.5 ml硫酸-甲醇(体积比5:95),充入氮气,密封于试管中,85℃水浴1 h,冷却后加入1 ml蒸馏水及2 ml环己烷,剧烈震荡后3 000 g离心10 min,回收富含甲基化脂肪酸的上层溶液。

1.3.5 脂肪酸组分的色谱分析。所用1890气相色谱仪和3295积分仪均为惠普上海分析仪器有限公司产品,氢离子火焰检测器,玻璃色谱柱为交联式石英毛细血管柱(33 m),涂

基金项目 江苏省高校青蓝工程学术带头人项目。

作者简介 王仁雷(1963-),男,江苏丹阳人,博士,教授,从事植物逆境和光合作用的研究。

收稿日期 2008-07-31

聚乙烯乙二醇固定液, 炉温170, 进样器温度和检测器温度均为240, 氮气流速364.2 ml/min 氢气压力0.75 kg/cm²。各指标按下列公式计算。用外标法确定保留时间, 未加校正因子。

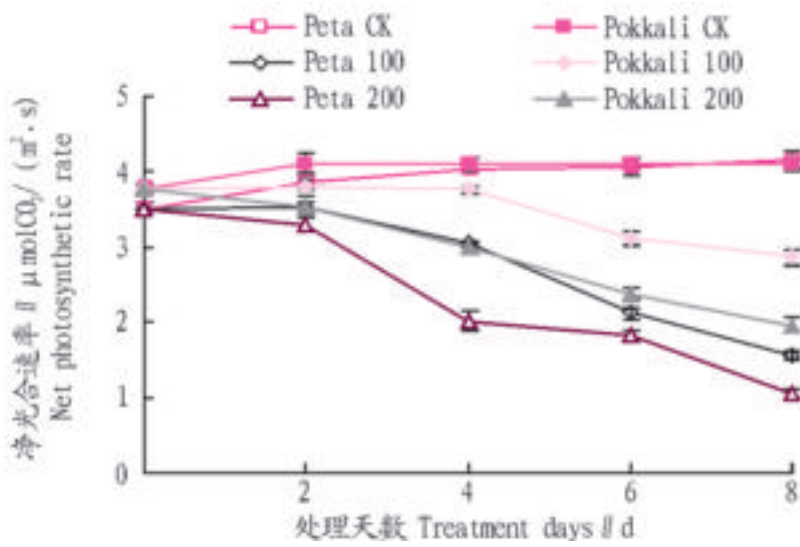
不饱和脂肪酸指数 IUFA = 18:1 + 18:2 × 2 + 18:3 × 3;

饱和脂肪酸含量 LSFA = 14:0 + 16:0 + 16:1(3t) + 18:0;

饱和度水平 = LSFA / (LSFA + 18:1 + 18:2 + 18:3)。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对水稻光合速率的影响 盐胁迫下2个水稻品种的净光合速率随着NaCl浓度的增加及胁迫时间的延长而下降(图1), 且在相同的处理条件下, Pokkali 净光合速率下降的程度比Peta小。



注: Peta CK 为未进行盐胁迫的 Peta 对照, Peta 100 及 Peta 200 分别为 100 及 200 mmol/L 盐胁迫处理; Pokkali CK 为未进行盐胁迫的 Pokkali 对照, Pokkali 100 及 Pokkali 200 分别为 100 及 200 mmol/L 盐胁迫处理。下图同。

Note: Peta CK stands for Peta control without salt stress; Peta 100 and Peta 200 stand for 100 and 200 mmol/L salt stress treatment resp.; Pokkali CK stands for Pokkali control without salt stress; Pokkali 100 and Pokkali 200 stand for 100 and 200 mmol/L salt stress treatments resp. The same as below.

图1 盐胁迫对水稻叶片净光合速率的影响

Fig.1 Effect of salt stress on net photosynthetic rate in rice leaves

2.2 盐胁迫对水稻类囊体膜饱和脂肪酸的影响 2个供试水稻品种叶片类囊体膜饱和脂肪酸的主要成分为豆蔻酸(14:0)、棕榈酸(16:0)、硬脂酸(18:0)。由于16:1(3t)脂肪酸残基的双键是反式的, 其熔点远高于顺式16:1(9c), 所以通常将16:1(3t)作为饱和脂肪酸计算^[7]。不同植物种类及同一植物在不同生长阶段, 各饱和脂肪酸含量有差异。如图2~图5所示, 2种水稻幼苗中棕榈酸(16:0)含量最高, 达20%, 而其他饱和脂肪酸仅为2%左右; 100 mmol/L和200 mmol/L NaCl处理后, Pokkali, Peta类囊体膜14:0、16:1(3t)、18:0含量在前4d变化均不大, 之后都略有上升, Pokkali和Peta的上升幅度也没有差异。4d后 Pokkali类囊体膜16:0含量开始上升, 100 mmol/L和200 mmol/L NaCl处理第8天 Pokkali类囊体膜16:0含量分别上升了32.4%及41.2%, 而Peta类囊体膜16:0含量前6d变化不大, 第8天有所下降, 与 Pokkali存在显著差异。

2.3 盐胁迫对水稻类囊体膜不饱和脂肪酸的影响 如图6~图8所示, 2种水稻叶片类囊体膜不饱和脂肪酸组成中, 18:3含量最高, 达50%, 其次是18:2, 为12%, 18:3和18:2组

分对2种水稻幼苗类囊体膜脂肪酸不饱和度起着决定性作用。

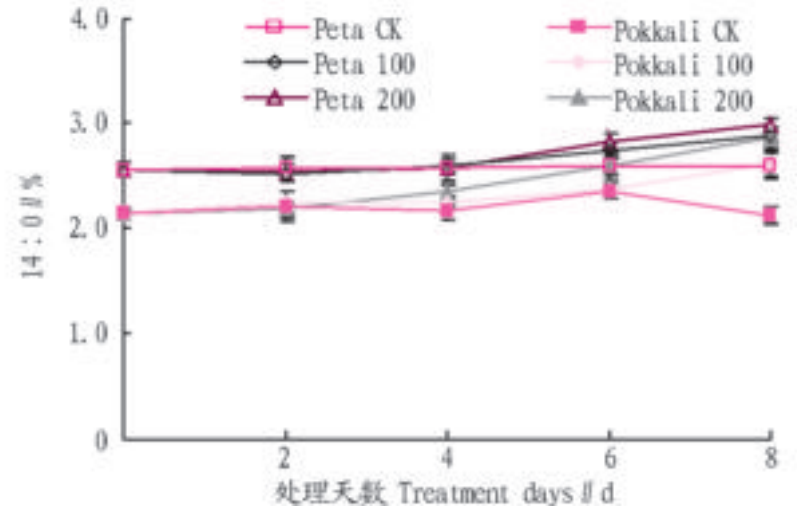


图2 NaCl处理对水稻类囊体膜14:0组分的影响

Fig.2 Effects of NaCl stress on 14:0 in rice thylakoid membrane

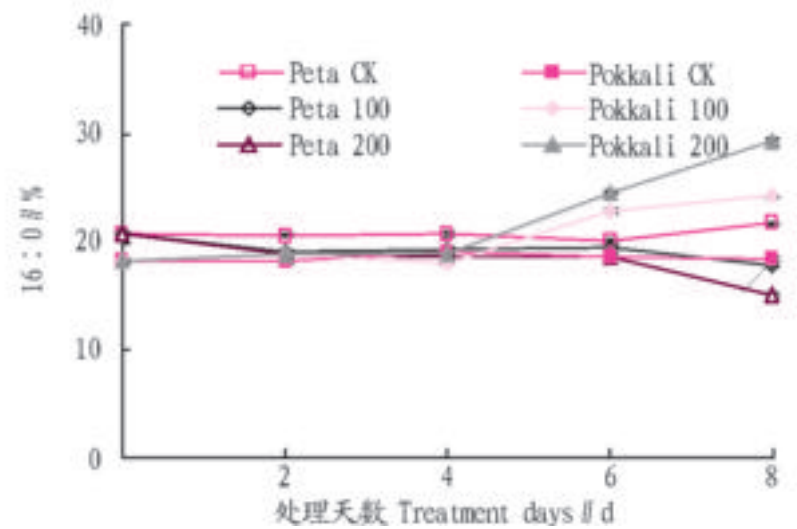


图3 NaCl处理对水稻类囊体膜16:0组分的影响

Fig.3 Effects of NaCl stress on 16:0 in rice thylakoid membrane

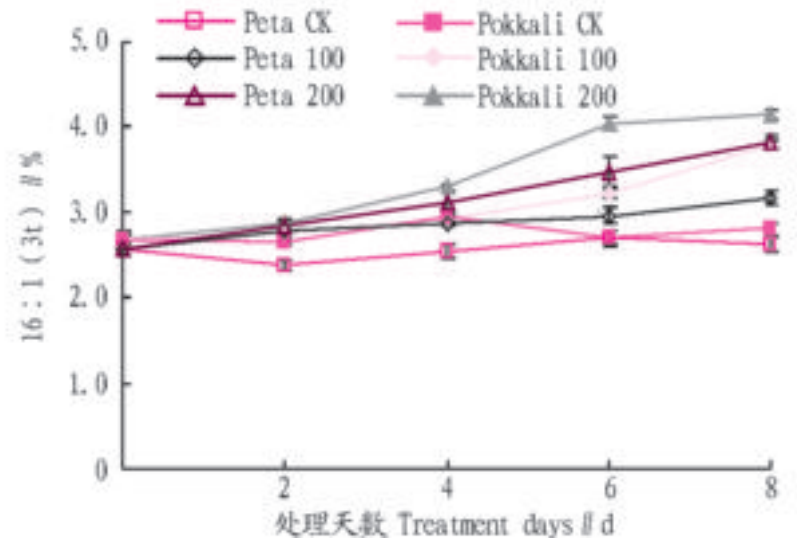


图4 NaCl处理对水稻类囊体膜16:1(3t)组分的影响

Fig.4 Effects of NaCl stress on 16:1(3t) in rice thylakoid membrane

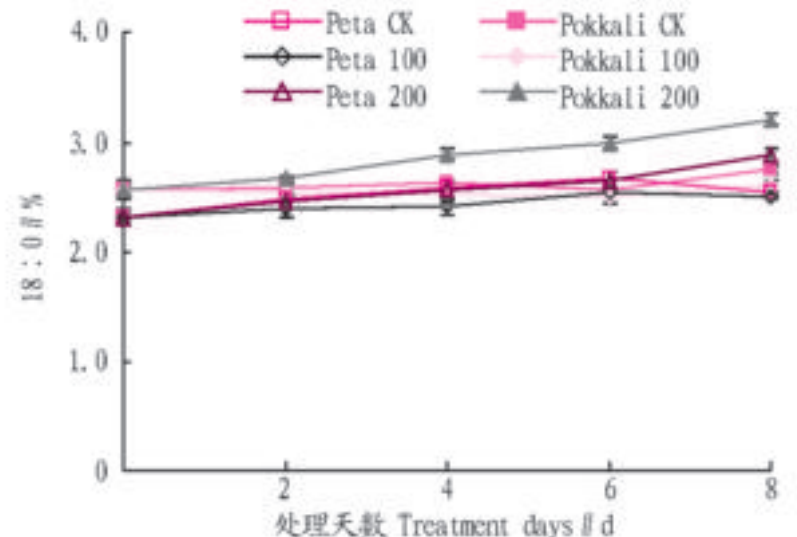


图5 NaCl处理对水稻类囊体膜18:0组分的影响

Fig.5 Effects of NaCl stress on 18:0 in rice thylakoid membrane

18:1 组分在 Pokkali 和 Peta 中的含量不同, Pokkali 中 18:1 含量在 5% 以上, 而 Peta 中不足 3%; 100 mmol/L 和 200 mmol/L NaCl 处理下, 前 4 d Pokkali 和 Peta 中 18:1 组分变化不大, 4 d 后有所上升。盐胁迫的第 8 天, Pokkali 中 18:1 组分含量分别上升了 27.9% 及 17.8%, Peta 的 18:1 组分含量分别上升了 50.1% 及 31.4%。盐胁迫下 Pokkali 和 Peta 中 18:2 组分含量略有上升; Pokkali 中 18:3 组分含量一直下降。100 mmol/L 和 200 mmol/L NaCl 处理的第 6 天及第 8 天, Pokkali 中 18:3 组分含量分别下降了 13.0%、24.1% 和 23.3%、35.4%, 而 Peta 中 18:3 组分含量分别下降了 25.2%、44.3% 和 32.3%、48.9%, 相同条件下, Peta 中 18:3 组分含量下降幅度大于 Pokkali。

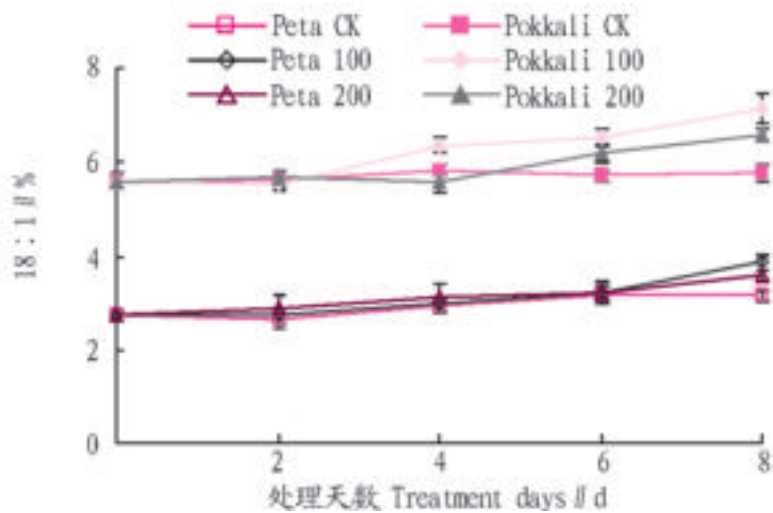


图6 NaCl 处理对水稻类囊体膜 18:1 组分的影响

Fig.6 Effects of NaCl stress on 18:1 in rice thylakoid membrane

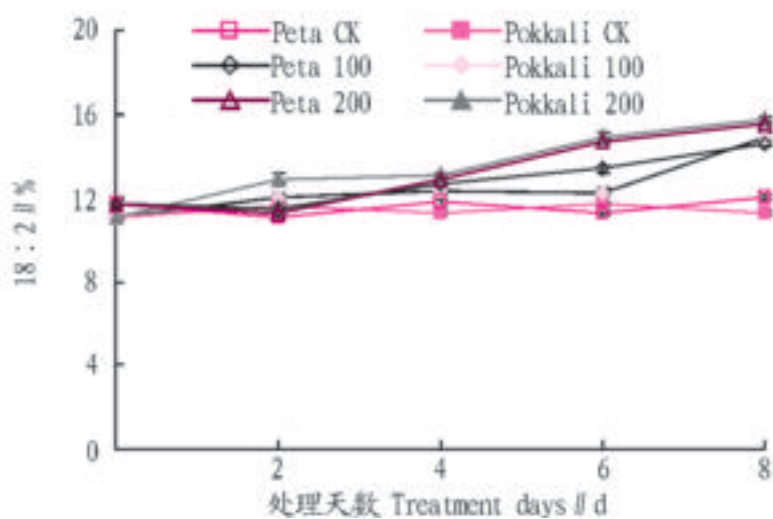


图7 NaCl 处理对水稻类囊体膜 18:2 组分的影响

Fig.7 Effects of NaCl stress on 18:2 in rice thylakoid membrane

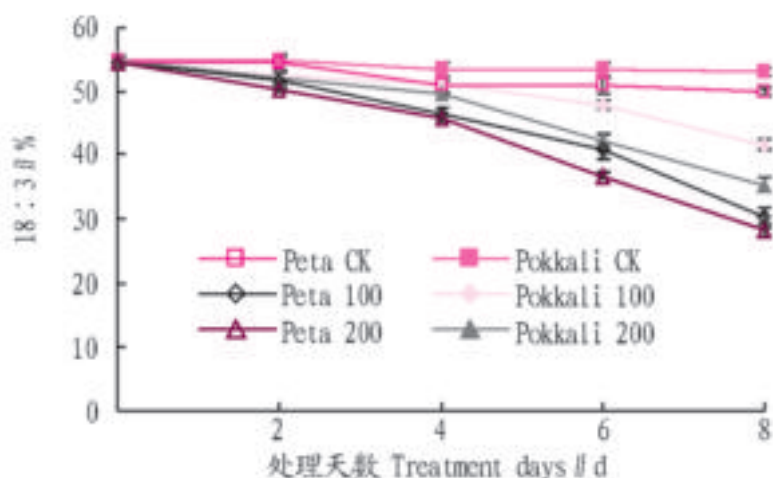


图8 NaCl 处理对水稻类囊体膜 18:3 组分的影响

Fig.8 Effects of NaCl stress on 18:3 in rice thylakoid membrane

2.4 盐胁迫对水稻类囊体膜不饱和脂肪酸指数(IUFA)的影响 水稻叶片类囊体膜中 IUFA 与类囊体膜稳定性和功能息息相关。如图 9 所示, Pokkali 和 Peta 的 IUFA 随着胁迫浓度的增加和胁迫时间的延长不断下降, 且在相同的条件下,

Peta 下降幅度比 Pokkali 大; 200 mmol/L NaCl 处理的第 8 天, Pokkali 和 Peta 的 IUFA 分别下降了 25.0%、36.9%, 说明高浓度的盐胁迫破坏了水稻叶片类囊体膜原有的稳定性, 且盐胁迫对 Peta 类囊体膜的影响程度比 Pokkali 大。

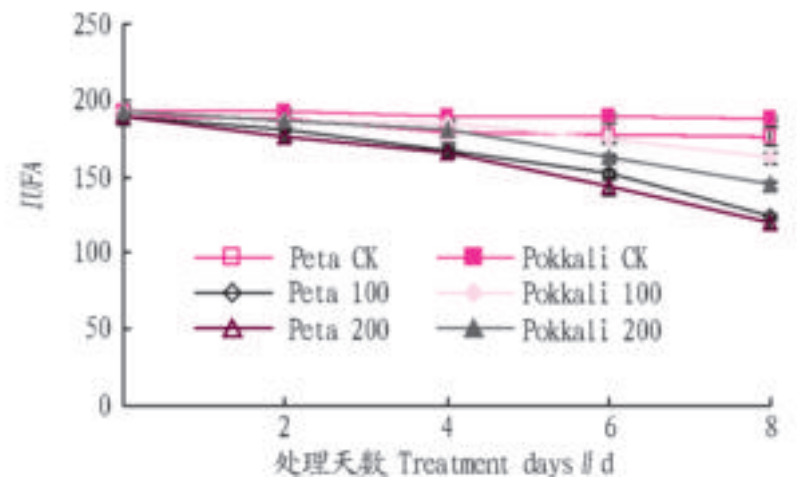


图9 NaCl 处理对水稻类囊体膜 IUFA 的影响

Fig.9 Effects of NaCl stress on IUFA in rice thylakoid membrane

2.5 盐胁迫对水稻类囊体膜饱和脂肪酸含量及饱和度(LSFA)的影响 如图 10 及图 11 所示, 随着胁迫时间的延长, Pokkali 的 LSFA 上升, 且 200 mmol/L NaCl 处理较 100 mmol/L 上升幅度大; 而 Peta 的 LSFA 前 4 d 变化不明显, 之后呈现下降的趋势。Pokkali 和 Peta 的脂肪酸饱和度随胁迫时间延长不断上升, 但在相同的条件下 Pokkali 较 Peta 上升幅度大。

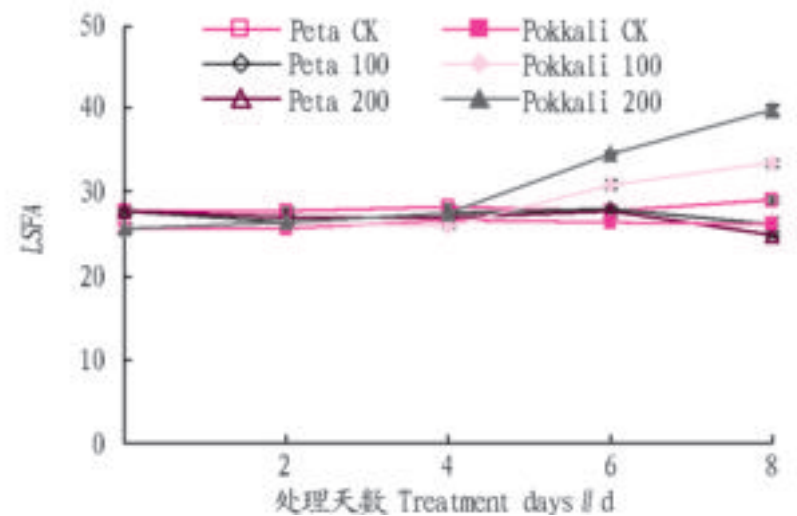


图10 NaCl 处理对水稻类囊体膜 LSFA 的影响

Fig.10 Effects of NaCl stress on LSFA in rice thylakoid membrane

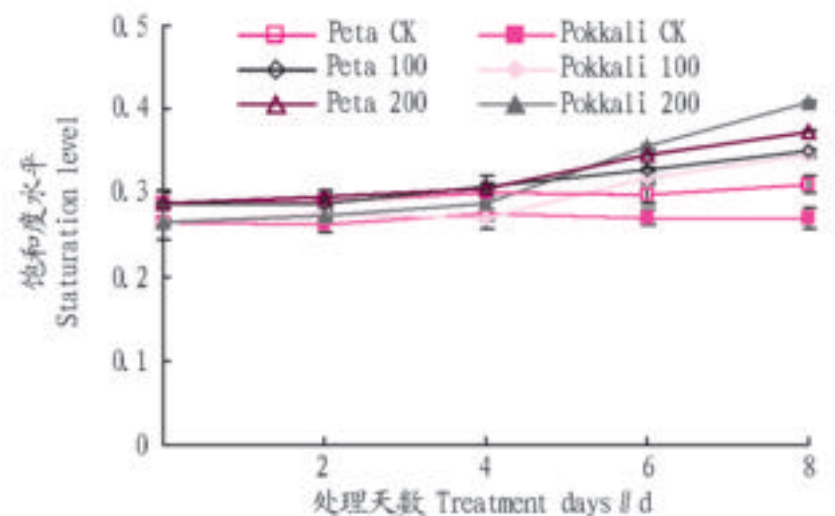


图11 NaCl 处理对水稻类囊体膜脂肪酸饱和度水平的影响

Fig.11 Effects of NaCl stress on fatty acid saturation level in rice thylakoid membrane

3 讨论

类囊体膜是植物进行光合作用光化学反应的场所, 主要由膜脂和不同蛋白(色素)复合体组成, 其中膜脂是光合膜的基本骨架, 色素和与光合电子传递有关的蛋白复合体以及 ATP 合成酶按一定顺序镶嵌在光合膜上。完整的膜双分子

层内部的疏水区与膜蛋白互相作用,保证色素吸收的光能能引起光合电子的产生和传递以及光合磷酸化的正常进行。类囊体膜对环境胁迫极为敏感,其结构与功能的改变是植物对环境胁迫最初与最基本的反应^[8],而脂肪酸是类囊体膜的重要组成部分。对 Pokkali(耐盐)和 Peta(盐敏感)2种水稻幼苗类囊体膜脂肪酸组成的测定结果表明,其脂肪酸主要由14 0、16 0、16 1、18 0、18 1、18 2、18 3等7种脂肪酸组成。各组分的比例决定着膜的流动性,其中饱和脂肪酸中16 0含量最高,不饱和脂肪酸中以18 3含量最高。

盐胁迫下,LSFA变化趋势与16 0组分变化相同,这与饱和脂肪酸中16 0含量最高有关。Pokkali中LSFA增加使生物膜易形成凝胶态,发生质膜的相分离,能使双层膜的流动性变小;对NaCl的透性也变小;利用稳态荧光极化法可直接测定膜的流动性,表明盐胁迫导致膜流动性下降。生物膜为适应盐胁迫通过降低双层膜的流动性来减少对NaCl的透性^[9],这也是Pokkali抵御盐胁迫的一种方式。Kuper等^[10]认为脂肪酸饱和度增加虽然降低了膜流动性和膜结合酶活性并提高了膜相变温度,但脂肪酸饱和度增加,可增加水分子通过膜的能力,从而有效地吸收和输导水分。随着盐胁迫浓度的增加和时间的延长,Pokkali和Peta脂肪酸饱和度水平上升,100 mmol/L和200 mmol/L NaCl处理的第6天及第8天Pokkali饱和度分别上升了28.0%、45.0%和49.2%、83.1%,而Peta分别上升了21.1%、36.0%和26.6%、34.4%,这些差异可能导致盐胁迫后Peta中Na⁺和Cl⁻含量比Pokkali的高。

Mansour^[11]认为植物受盐害后脂肪酸的饱和度会发生明显增加,不饱和指数下降;McConn^[12]的研究表明,盐胁迫引起的小麦类囊体膜各类脂脂肪酸不饱和度的改变会严重影响类囊体膜的功能;Pastori和Tripp^[13]发现,脂肪酸不饱和度与品种的抗逆性有关。IUFA降低可能减慢了重新合成的D1蛋白装配到PSⅡ反应中心的速率,引起PSⅡ反应中心的光化学功能减弱^[14]。不饱和脂肪酸成份中以18 2、18 3的含

量最高,所以膜的流动性主要由18 2、18 3的含量决定,即可以从IUFA的数值得到反映,100 mmol/L、200 mmol/L NaCl处理下Pokkali和Peta的18:3组分和IUFA一直下降,100 mmol/L较200 mmol/L NaCl处理下降幅度小,但在相同的条件下,Pokkali较Peta的下降幅度小,这说明在不饱和脂肪酸指数方面Pokkali较Peta耐盐。

参考文献

- [1] 李青云,葛会波,胡淑明,等.盐胁迫下钙对草莓叶片脂肪酸含量及组成的影响[J].河北农业大学学报,2004,27(6):56-59.
- [2] GARDI MT, CONA A, GHKEN B, et al. Long-term drought stress induces structural and functional reorganization of photosystem [J]. *Harta*, 1996, 199:118-125.
- [3] ALLAKHMERDEV SI, KINOSHITA M, INABA M, et al. Unsaturated fatty acids in membrane lipids protect the photosynthetic machinery against salt induced damage in *Syechococcus* [J]. *Hart Physid*, 2001, 125:1842-1853.
- [4] DUNAHAYT G, STAEHELIN L A, SHBERT M, et al. Structural, biochemical and biophysical characterization of four oxygen evolving photosystem from spiraea [J]. *BBA*, 1984, 764:179-193.
- [5] 陈志强.膜脂在类囊体膜不同功能区的分布及其与植物抗寒性的研究[D].中国科学院植物研究所,1991.
- [6] 刁丰秋,章文华,刘友良.盐胁迫对大麦叶片类囊体膜组成和功能的影响[J].植物生理学报,1997,23(2):105-110.
- [7] 马海艳,许亦农,高丽红.高温逆境对菜豆类囊体膜脂的影响[J].中国农学通报,2003,19(3):1-4.
- [8] WANG HC. Plant stress resistant physiology [J]. *Hart Physidogy Communications*, 1981, 17:72-81.
- [9] WUJ, SEISKAR D M, GALLAGHER J L. Stress tolerance in the marsh plant *Spartanopers*: Impact of NaCl on growth and root plasma membrane lipid composition [J]. *Physid Hart*, 1998, 102:307-317.
- [10] KUPER P J G. Water transport across membranes [J]. *Annual Review of Hart Physidogy*, 1972, 23:157-172.
- [11] MANSOUR M M F, VAN HASSELT P R, KUPER P J C. Hasna membrane lipid alterations induced by NaCl in winter wheat roots [J]. *Physid Hart*, 1994, 92:473-478.
- [12] MCCONN M, BROWSE J. Polyunsaturated membrane are required for photosynthetic competence in a mutant of *Arabidopsis* [J]. *Hart J*, 1998, 15:521-530.
- [13] PASTORI G M, TRIPP V. Fatty acid composition in water and oxygen stressed leaves of maize and wheat strains [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40:45-48.
- [14] VIJAYANP, BROWSE J. Photoinhibition in mutants of *Arabidopsis* deficient in thylakoid unsaturation [J]. *Hart Physid*, 2002, 129:876-885.
- [15] 157.
- [30] 张明才,李召虎,田晓莉,等.植物生长调节剂SHK6对大豆叶片氮素代谢的调控效应[J].大豆科学,2004,23(1):15-20.
- [31] 周天,胡永军,周晓梅,等.DIA-6对野大麦幼苗光合作用和生长的影响[J].草业科学,2004,21(4):31-35.
- [32] 周天,胡勇军,王萍,等.新型植物生长调节剂DA6与TKE对羊草幼苗生长的影响[J].吉林农业大学学报,2004,26(3):242-244.
- [33] 张文元,廖汝玉.若干栽培技术对板栗生长和结果的影响[J].福建果树,2001(2):26-28.
- [34] 陈敏资.二烷氨基乙醇羧酸酯对紫罗兰生理活性的影响[J].园艺学报,1995,22(2):201-202.
- [35] 林永顺,陈睦传,沈明山,等.DIA-6对甜菊叶片糖苷含量和组分影响研究[J].中国糖料,1998(3):12-15.
- [36] 沈明山,林永顺,陈睦传,等.DIA-6对甜菊叶片细胞超微结构的影响研究[J].中国糖料,1999(4):1-3.
- [37] 黄钧如,严润泉,王冬华.桔园喷施高效生长调节剂“飞扬”显奇效[J].江西园艺,2000(2):18.
- [38] 吕建洲,张琴,李桂琴,等.二烷氨基乙醇羧酸酯对瓜叶菊生长及生理活性的影响[J].辽宁师范大学学报:自然科学版,1999,22(2):153-157.
- [39] 吕建洲,薛秀春,张爱莲.DIA-6对圆柏生长及生理活性的调控[J].木本植物研究,2000,20(1):73-78.
- [40] 王俊平,翟志席,何钟佩,等.DIA-6对紫花苜蓿粗蛋白和氨基酸含量的调控作用[J].中国农业大学学报,2003,8(3):25-28.
- [41] 张子龙,梁颖.DIA-6对水稻种子萌发和幼苗生长的影响[J].西南农业大学学报,2001,23(3):219-221.
- [42] 张子龙.DIA-6浸种对水稻幼苗生长及抗寒性的影响[J].贵州农业科学,2001,29(4):14-16.
- [43] 徐秋曼,陈宏,胡义文.二乙氨基乙基己酸酯的柠檬酸盐浸种对小麦幼苗生长的影响[J].植物生理学通讯,1998,34(4):261.
- [44] 徐秋曼,程景胜,高虹.DIA-6浸种对水稻幼苗的生理效应初探[J].天津师范大学学报:自然科学版,2001,21(2):57-60.
- [45] 刘祥英,柏连阳.DIA-6缓解胺苯磺隆对后茬水稻伤害的作用[J].现代农药,2005,4(3):31-35.
- [46] TOURNAIRE C. Athid protease and an anionic peroxidase are induced by lowering cytokinins during callus growth in petunia [J]. *Hart Physiology*, 1996, 11(1):159-168.
- [47] MIISU S. Cytokinin binding protein complex from tobacco leaves [J]. *J Hart Growth Regl*, 1996, 18:39-43.

(上接第12107页)