

磷脂酰甘油的热致相变与水稻抗冷性

杨玲* 苏维埃

(中国科学院上海植物生理研究所, 上海 200032)

关键词 磷脂酰甘油、差示扫描量热法、电子自旋共振、抗冷性

磷脂酰甘油(PG)只占植物类囊体类脂的3%—5%,在冷敏感植物中,PG因具有较多的饱和脂肪酸(>5%),而决定了整个膜在零上低温下的相变^[1],不同种间PG脂肪酸组成的差异来自3-磷酸甘油转酰酶三种同工酶之一(AT₁)的转酰基选择性差异^[2].1992年Murata成功地将南瓜和拟南芥菜的AT₁基因分别转入烟草中,从而使烟草PG脂肪酸组成因转基因而改变.分别类似于南瓜和拟南芥菜的组成,转基因烟草的耐低温性同时亦因此而改变^[3].至此自1972年以来Lyons和Raison关于植物冷害膜脂相变的学说,至少在类囊体膜流动性方面得到了证实.

然而,苏维埃等1982年以差示扫描量热法发现水稻抗冷性与干胚膜脂的相变温度有关,其中PG是较饱和的膜脂^[4],Murata(1984)以非绿色组织培养细胞^[5],Kenrick和Bishop(1986)以5种冷敏感植物的果实^[6],以及Toriyama等(1988)以水稻和小麦的花粉都发现PG中饱和脂肪酸(16:0+16:1t+18:0)的量比其它磷脂高^[7].本文以差示扫描量热法和电子自旋共振波谱法研究了水稻干胚膜脂及其各磷脂的相变温度和流动性以及不同抗冷水稻的PG脂肪酸差异.

1 材料与方 法

1.1 材料处理

试验采用籼稻广陆矮四号,粳稻诱水二十七号.水稻干胚中极性脂提取按苏维埃等^[3]方法进行,各种类脂组分的分离与纯化参照Murata^[1]的方法.

1.2 差示扫描量热法(DSC)

水稻干胚极性脂及其各组分的热致相变,用Perkin-Elmer DSC-2型差示扫描量热计测试,灵敏度为0.84 mJ/s,扫描速度为10 K/min,样品约12mg.

1.3 电子自旋共振波谱(ESR)的测定

脂质体样品的准备及标记按Raison(1971)^[9]的方法进行,顺磁探针为12NS(12-氮氧基硬脂酸)用日本产JES-FE1XG型电子顺磁共振波谱仪测试,温度显示精确到0.5°C,由ESR图谱计算自旋-自旋弛豫时间 τ_c :

$$\tau_c = 6.5 \times 10^{-10} \times W_0 \left[\left(\frac{h_0}{h_{-1}} \right)^{\frac{1}{2}} - 1 \right],$$

1993-11-29 收稿, 1994-03-08 收修改稿.

* 现在浙江师范大学生物系工作, 金华 321004.

τ_c 的对数对 K 氏温度的倒数作图, 便得到 Arrhenius 图.

1.4 脂肪酸组成分析

PG 脂肪酸组成分析按苏维埃等^[8]方法进行.

2 结果与讨论

2.1 干胚总极性脂的相变比较

图 1 显示 2 个品种干胚总极性脂的 DSC 降温曲线. 两曲线十分相似, 都有两个放热峰, 一个是温度范围较宽, 放热大的低温峰, 另一个为放热变化较小的高温峰, 重复了苏维埃等人^[4]的结果. 广陆矮四号和诱水二十七号在低温区相变起始温度分别为 7.6°C 和 3°C, 同时高温区的相变起始温度分别为 41.8°C 和 37.3°C. 2 个品种两峰起点温度相差约为 5°C. 这表明这 2 个品种的干胚膜脂在热致相变上是有差异的, 这可能与梗稻一般比籼稻抗低温的特性有关.

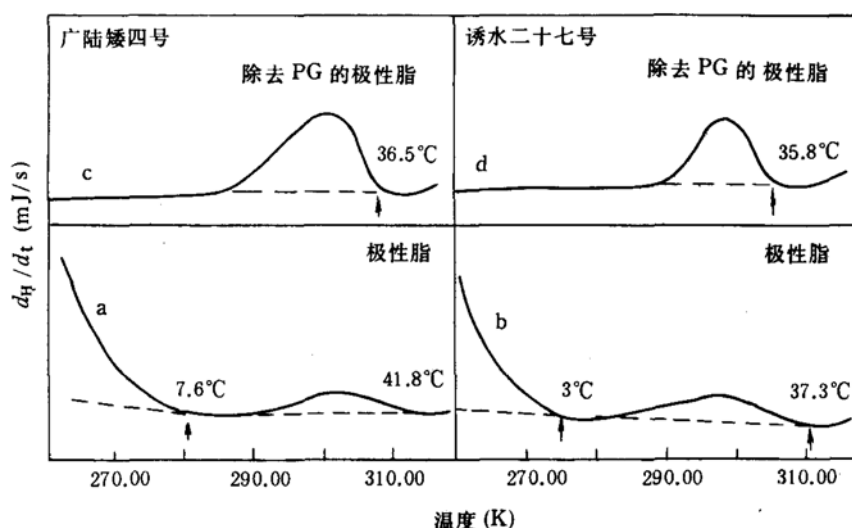


图 1 2 种水稻干胚极性脂的 DSC 图谱

a, b 为极性脂, c, d 为除去 PG 的极性脂

2.2 干胚极性脂主要组分的相变

水稻干胚极性脂中主要组分为 PG(磷脂酰甘油)(4%—5%)、PC(磷脂酰胆碱)(56%—45%)、PE(磷脂酰乙醇胺)(18%—19%)、PI(磷脂酰肌醇)(12%)、MGDG(单半乳糖甘油二酯)(5%—9%)和 DGDG(双半乳糖甘油二酯)(5%—10%)。图 2 为 2 种水稻干胚极性脂各主要组分的 DSC 图谱. 从中可以看出, 在常温(−10—45°C)条件下 PC, PE, PI, MGDG 及 DGDG 均没有相变现象, 只有 PG 发生了相变, 并且广陆矮四号、诱水二十七号 2 个品种 PG 相变的起始温度与相对应的总极性脂高温区结晶峰起点接近. 因此, 我们推断 PG 是引发总极性脂 DSC 图谱高温区结晶峰的因素, PG 与其它脂共同作用导致低温区相变的发生. 为了验证此推论, 我们利用柱层析和薄板层析技术除去 PG, 而基本上不改变极性脂其它组分间比例, 去 PG 极性脂的 DSC 曲线示为图 1c 和 d. 结果 2 个品种低温区的相变起始温度降至 −10°C 以下, 而原来高温区的相变起始温度下降, 且 2 个品种的差异由 5°C 缩小到 0.7°C. 由此可以认为, PG 的存在导致低温敏感植物在 0°C 以上发生相变, 从而可能产生一系列的冷害生理反应.

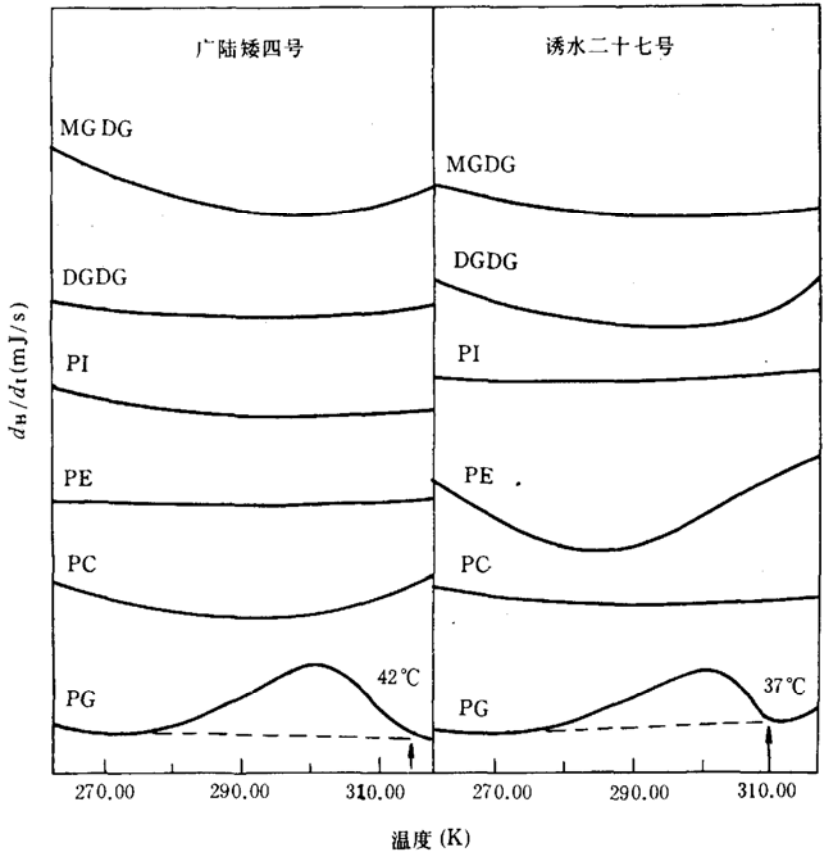


图 2 2 种水稻干胚极性脂主要组分的 DSC 图谱

2.3 干胚总极性脂及其 PG 的自旋共振 Arrhenius 图

电子自旋共振探针 12NS 的 Arrhenius 折点被认为是膜脂相变的反映^[9]。图 3 显示, 广陆矮四号与诱水二十七号干胚极性脂和 PG 脂质体的 Arrhenius 折点温度与 DSC 图谱峰起点温度有较好的吻合, 从而进一步验证了冷敏感植物中 PG 与抗冷性的关系。由于水稻干胚糖脂(MGDG, DGDG 和 SQDG)只占 10%—20%, 说明水稻胚中的膜脂大部分来自线粒体, 因此, 线粒体系统的 PG 同样在膜脂相变中起主要作用^[4]。

2.4 干胚中 PG 的脂肪酸组成

与叶片 PG 的脂肪酸组成不同, 水稻干胚 PG 的脂肪酸主要由 16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3 组成, 16:1(3t) 量很少。较不抗冷的广陆矮四号的饱和脂肪酸水平 (16:0+18:0+16:1 (3t)) 为 26%, 大于较抗冷的诱水二十七号的 23%。Murata^[3] 发现类囊体 PG 的种间差异主要

表 1 2 种水稻干胚 PG 的脂肪酸组成 (mol%)^{a)}

品 种	脂 肪 酸						饱和脂肪酸
	16:0	16:1 (3t)	18:0	18:1	18:2	18:3	16:0+18:0+16:1 (3t)
广陆矮四号	21	tr	5	12	55	7	26
诱水二十七号	19	tr	4	10	59	8	23

a) tr, 小于 1%。16:0 棕榈酸, 16:1 (3t) 反式- Δ^3 -棕榈酸, 18:0 硬脂酸, 18:1 油酸, 18:2 亚油酸, 18:3 亚麻酸。

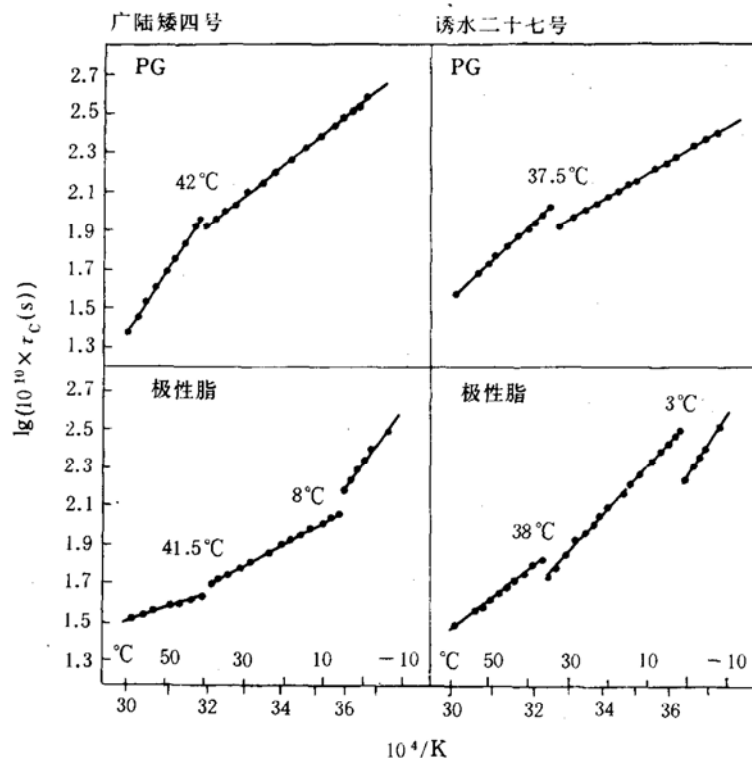


图 3 干胚总极性脂及其 PG 的 Arrhenius 图

表现 PG 甘油骨架的 C-2 饱和脂肪酸差异。在 9 种低温敏感植物中饱和脂肪酸水平为 26%—65%，而几种抗低温植物中只有 3%—19%，至于造成本文中植物种间 PG 差异的分子种基础尚待进一步研究。

综上所述，水稻抗冷性的差异与它们膜脂中的 PG 相变温度有关；PG 的饱和脂肪酸水平 (16:0+18:0+16:1(3t)) 影响着 PG 的相变温度，考虑到 Murata 等在类囊体膜上证实 PG 热致相变与植物抗冷性关系的成功^[3]，可以推想，水稻干胚 PG 热致相变可能被用于水稻的抗冷性鉴定。

致谢 南京林业大学电子顺磁共振室封维忠先生给予本工作大力协助，特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Murata, N., Sato, N., Takahashi, N. et al., *Plant Cell Physiol.*, 1982, **23**: 1071—1079.
- [2] Frentzen, M., Nishida, I., Murata, N., *Plant Cell Physiol.*, 1987, **28**(7): 1195—1201.
- [3] Murata, N., Ishizaki-Nishizawa, O., *Nature*, 1992, **356**: 710.
- [4] 苏维埃、王洪春，科学通报，1983，**28**(6): 373—376.
- [5] Murata, N., Hoshi, H., *Plant Cell Physiol.*, 1984, **25**: 1241—1245.
- [6] Kenrick, J. K., Bishop, D. G., *Phytochemistry*, 1986, **25**(6): 1293—1295.
- [7] Toriyama, S., Hinata, K., Nishida, I. et al., *Plant Cell Physiol.*, 1988, **24**(4): 815—821.
- [8] 苏维埃、王文英、李锦树，植物生理学通讯，1980，(3): 54—60.
- [9] Raison, J. K., Lyons, J. M., Mehlhorn, R. J. et al., *J. Biol. Chem.*, 1971, **246**: 4036—4040.