

# 不同低温处理对黄瓜子叶极性脂组成的影响

杨 玲

(浙江师范大学生命与环境科学学院, 金华 321004)

**摘 要:** 研究了黄瓜子叶极性脂的组分及其脂肪酸组成于不同温度 (25、20、15、10 ℃) 处理下的变化。结果表明: 黄瓜子叶在 15 ℃ 处理条件下虽无可见冷伤害症状, 但类脂成分已发生显著变化。双半乳糖甘油二酯 (DGDG) 含量明显升高, 而磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE) 大幅度减少; 且主要类脂 MGDG、DGDG 及 PC 中不饱和度高的分子种含量增多, 最终导致总类脂的不饱和脂肪酸, 尤其是亚麻酸增多。说明黄瓜子叶在 15 ℃ 下处理 7 d, 已经对低温产生了冷适应性。

**关键词:** 黄瓜; 子叶; 极性脂; 脂肪酸; 分子种; 低温

**中图分类号:** S 661.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2001) 01-

冷敏感植物的低温伤害源于生物膜脂区域性的相分离, 从而改变细胞膜的半透性, 电解质大量外渗, 细胞器的生理功能丧失<sup>[1]</sup>。生物膜的流动性取决于膜脂所含的极性端基和疏水性脂肪酸链饱和度。尽管由特定基因表达所形成的磷脂酰甘油分子种决定了植物的冷敏感性<sup>[2,3]</sup>, 但一些抗寒性研究证明生物膜结构是一动态平衡体系, 随外界温度的变化, 其内部成分也随之进行适应性调整<sup>[4,5]</sup>, 如类脂组成的变化, 脂肪酸去饱和化, 膜脂脂肪酸不饱和度增大, 进而改善低温下膜的流动性。这种代谢性冷适应可通过在适度的低温下处理一段时间而获得<sup>[4]</sup>。

试验以冷敏感性植物黄瓜的子叶为材料, 比较其在不同温度处理下膜脂成分及其脂肪酸的组成, 寻找其在低温下适应性变化规律, 以便为提高其抗冷性的研究提供理论基础。

## 1 材料与方法

试材为黄瓜品种‘津研 4 号’ (*Cucumis sativus* L. cv. Jin-yan 4), 培养于光照培养箱中。在 25 ℃ 下, 浸种 24 h, 取出放在铺有 4 层纱布的搪瓷盘暗萌发 2 d, 待胚根长至 2 cm 左右, 放在不锈钢丝网上用 Hoagland 水培 5 d, 光照 12 h/d, 光照强度 4 000 lx 左右。随后把幼苗分别在 25、20、15、10 ℃ 下继续培养 4、5、7 和 9 d, 保证各温度组的幼苗第 1 真叶长度基本一致。

子叶类脂的提取按照文献 [6] 进行。用 Waters 高效液相色谱系统 (由 Waters Mellinnium 2010 色谱工作站、两台 510 型泵、U6K 进样器、486 紫外检测器等组成, 3.9 mm × 300 mm 的硅胶色谱柱) 梯度洗脱分离和分析类脂组分<sup>[7]</sup>。人工收集组分, 用 3.9 mm × 300 mm 的 C<sub>18</sub> 柱分析分子种组成<sup>[7]</sup>, 用岛津 GC-9A 分析各组分及总类脂脂肪酸组

收稿日期: 2000 - 05 - 08; 修回日期: 2000 - 10 - 30

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (398052)

成<sup>[6]</sup>。磷脂和脂肪酸标准样品均为美国 Sigma 公司产品。

抗冷性鉴定: 各温度处理的 20 株黄瓜幼苗置于 (4 ± 2) °C 下处理 24 h, 取样测定含水量和总叶绿素含量<sup>[8]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 黄瓜子叶类脂组成

黄瓜子叶极性脂组分主要有单半乳糖甘油二酯 (MCG)、双半乳糖甘油二酯 (DCG)、磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰肌醇 (PI) 和少量的磷脂酰甘油 (PG), 糖脂的含量达 75 % (表 1)。MCG 和 DCG 的主要脂肪酸为亚麻酸 (C 18 3), 饱和脂肪酸 (TS) 所占比例很低, 分别为 4.9 和 10.6, 不饱和指数 (U/S) 则分别达到 19.4 和 8.4; 而棕榈酸 (C 16 0) 和亚油酸 (C 18 2) 在 PC、PE 和 PI 中更为重要, 使得三者的 U/S 均小于 2; PG 则以饱和脂肪酸——棕榈酸、反式 - 3 - 十六烷酸 (C 16 1<sup>t</sup>) 和硬脂酸 (C 18 0) 为主 (表 2)。两个糖脂 MCG 和 DCG 富含含有 6 个双键的分子种, C 18 3/C 18 3 含量分别高达 80 % 和 71 %; 而磷脂 PC 中, C 18 3/C 18 3、C 18 2/C 18 3、C 16 0/C 18 3、C 16 0/C 18 2、C 18 2/C 18 2 是主要的分子种 (表 4)。

### 2.2 不同低温处理对黄瓜子叶类脂组分的影响

由表 1 可以看出, 20 °C 处理过的黄瓜子叶极性脂各组分相对含量同 25 °C 处理没有明显差异。当处理温度下降到 15 °C 时, 糖脂中 DCG 含量增加了 40 %, MCG 含量变化不大; 磷脂组分中 PC、PE 的含量分别下降了 58 % 和 56 %, 只有 PI 略增加。含高比例多聚不饱和脂肪酸糖脂的大量增加, 提高了总类脂的脂肪酸不饱和度, 从而增大了膜脂的流动性, 有利于抗冷性的提高<sup>[9]</sup>。MCG 倾向于形成非双层的反圆柱形六角排列相, 而 DCG 和 PC 则倾向于形成膜脂的双层构型。MCG 与 DCG + PC 比值由 1.11 下降为 1.01, 有利于维持

表 1 不同温度处理对黄瓜子叶极性脂含量的影响

Table 1 Effects of treated temperature on polar lipid contents of cucumber cotyledons

温 度 Temperature ( °C )	膜脂组分 Content of polar lipid ( % )					MCG/ (DCG + PC)
	MCG	DCG	PC	PE	PI	
25	46.18	29.23	12.17	9.35	3.07	1.12
20	46.09	29.03	12.36	9.48	3.04	1.11
15	46.63	40.86	5.09	4.13	3.29	1.01
10	43.21	26.21	16.18	10.91	3.48	1.02

MCG, 单半乳糖甘油二酯; DCG, 双半乳糖甘油二酯; PC, 磷脂酰胆碱; PE, 磷脂酰乙醇胺; PI, 磷脂酰肌醇。

MCG, Monogalactosyl diglyceride; DCG, Digalactosyl diglyceride; PC, Phosphatidyl choline; PE, Phosphatidyl ethanolamine; PI, Phosphatidyl inositol.

表 2 黄瓜子叶各类脂组分的脂肪酸组成

Table 2 Fatty acid compositions in polar lipids of cucumber cotyledons

类 脂 Lipids	脂肪酸组成 Fatty acid composition ( % )							TS	U/S
	C16 0	C16 1 <sup>t</sup>	C18 0	C18 1	C18 2	C18 3			
MCG	2.8	—	2.1	2.5	5.8	86.8	4.9	19.4	
DCG	8.2	—	2.4	3.2	7.3	78.9	10.6	8.4	
PC	26.7	—	7.2	12.1	30.4	23.6	33.9	1.9	
PE	33.2	—	5.6	11.8	29.2	20.2	38.8	1.6	
PI	41.5	—	6.7	3.4	25.3	23.1	48.2	1.1	
PG	30.0	24.1	11.2	12.4	8.2	14.1	65.3	0.5	

C 16 0, 棕榈酸; C 16 1<sup>t</sup>, 反式 - 3 - 十六烷酸; C 18 0, 硬脂酸; C 18 1, 油酸; C 18 2, 亚油酸; C 18 3, 亚麻酸; TS, 总饱和脂肪酸; U/S = 不饱和脂肪酸/饱和脂肪酸; MCG, DCG, PC, PE 和 PI 参照表 1 注解。

C 16 0, palmitic acid; C 16 1<sup>t</sup>, trans-<sup>3</sup>-hexadecenoic acid; C 18 0, stearic acid; C 18 1, oleic acid; C 18 2, linoleic acid; C 18 3, linolenic acid; TS, total saturated fatty acid; U/S = unsaturated/saturated fatty acid ratio; MCG, DCG, PC, PE and PI refer to the caption of Table 1.

膜脂中双层和非双层形成脂的平衡,从而稳定膜双层结构<sup>[9]</sup>。

处理温度继续下降到 10℃ 时,已能观察到明显的冷害损伤症状,子叶尖部失绿及子叶卷曲。其膜脂组分含量也发生了显著变化:糖脂 MGDG 及 DGDG 含量降低,以 DGDG 下降幅度大;磷脂组分含量均上升,甚至超过了 25℃ 下的相对含量,其中增加幅度以 PC > PE > PI;但 MGDG 与 DGDG+PC 比值不再下降。

### 2.3 不同低温处理对黄瓜子叶总类脂和极性脂脂肪酸组成的影响

总类脂的脂肪酸组成变化见图 1。与 25℃ 下的黄瓜子叶相比较,在没有可见的冷害损伤情况下,20℃ 处理组的总类脂脂肪酸组成已开始发生变化,尤以 15℃ 处理的变化更为显著,不饱和脂肪酸含量增加了 16%,其中 C 18:3 上升了 37%,饱和脂肪酸含量相应减少,U/S 由 2.14 上升到 3.81。Kodama<sup>[12]</sup>认为冷适应过程中,三烯脂肪酸含量的增加是叶片在低温下正常发育的先决条件。当处理温度下降到 10℃,不饱和脂肪酸反而比 15℃ 有所减少,U/S 下降到 2.86。温度对脂肪酸组成的影响取决于脂肪酸的合成和去饱和化过程中涉及的酶的活性。许多研究表明低温对脂肪酸合成的抑制作用大于对去饱和作用的影响<sup>[11]</sup>。由于植物的脂肪酸合成酶系统不能合成不饱和脂肪酸,多聚不饱和脂肪酸是由酰基酯化酶酯化成甘油酯之后,再经各类脂的专一性不饱和化酶作用,饱和脂肪酸进一步不饱和化而成。多聚不饱和脂肪酸水平的提高,在相当程度上是酰基酯不饱和化酶作用的结果<sup>[10,11]</sup>,膜流动性的改变则是驱动膜脂不饱和化的原初分子机制<sup>[12]</sup>。

综合黄瓜子叶类脂组分及其脂肪酸组成在不同温度处理下的变化结果,表明 20℃ 处理 5 d 不足以诱导黄瓜幼苗的冷适应,而 10℃ 处理 9 d 又对黄瓜幼苗造成了冷害,只有 15℃ 是黄瓜合适的冷适应温度。为了进一步验证此结论,我们做了抗冷性鉴定实验,结果只有 15℃ 处理组的幼苗失水和失绿最少(表 3),表现出的冷害症状最轻,说明 15℃ 处理 7 d 确实提高了黄瓜幼苗对低温的耐受能力。

### 2.4 15℃ 处理对黄瓜子叶 MGDG、DGDG 和 PC 主要分子种的影响

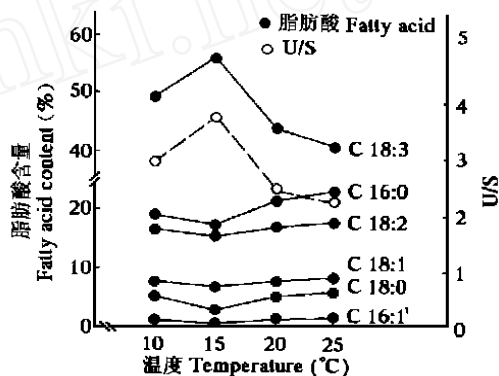


图 1 不同温度下黄瓜子叶总类脂脂肪酸组成的变化

Fig. 1 Changes in the fatty acid composition of the total lipids from cucumber cotyledons at four different temperatures

表 3 (4 ± 2)℃ 处理 1 天对黄瓜叶含水量和叶绿素含量的影响

Table 3 Effect of 1 day chill at (4 ± 2)℃ on the water and chlorophyll content in leaves of cucumber seedlings

生长温度 Growth temperature (°C)	处 理 Treatment	含 水 量 Water content (%)	叶 绿 素 Total chlorophyll (mg g <sup>-1</sup> DW)
25	对照 Control	88.2 Aa	15.0 Aa
	(4 ± 2) 1 d	60.9 Cd	10.7 Bc
20	对照 Control	88.8 Aa	15.1 Aa
	(4 ± 2) 1 d	62.6 Cd	11.0 Bc
15	对照 Control	87.7 Aa	14.7 Aa
	(4 ± 2) 1 d	71.5 Bc	13.9 Aa
10	对照 Control	84.3 Ab	12.3 Bb
	(4 ± 2) 1 d	58.0 Ce	8.3 Cd

小写和大写字母分别表示 5% 和 1% 的显著水平。

The letters in lower case or capitals denote significantly different at 5% or 1% levels respectively.

为了探讨冷适应中主要类脂的脂肪酸组成变化结果，我们进一步比较了 25 与 15 处理组的 MGDG、DGDG 和 PC 的分子种。由表 4 可知，MGDG 的 C 18 3/C 18 3 显著增加，C 18 2/C 18 3 下降了一半，C 18 2/C 18 2、C 16 0/C 18 2 均已检测不出；DGDG 的分子种 C 18 3/C 18 3、C 18 2/C 18 3、C 18 2/C 18 2 和 C 16 0/C 18 2 的变化规律与 MGDG 中的一样，只是 C 16 0/C 18 3 有所增加；PC 中，除 C 18 3/C 18 3 增加了近 28 %外，C 18 2/C 18 3、C 16 0/C 18 3 也略有上升，而 C 18 2/C 18 2、C 16 0/C 18 2、C 18 1/C 18 2 和 C 18 0/C 18 3 均有不同程度的下降。总体上看，15 处理使得双不饱和分子种变为 6 个双键的分子种，使单不饱和分子种变为 3 个双键的分子种。

表 4 25 和 15 下黄瓜子叶主要极性脂的分子种组成  
Table 4 Molecular species found in main polar lipid from cucumber cotyledons at 25 and 15 (%)

分子种 Molecular species	MGDG		DGDG		PC	
	25	15	25	15	25	15
C 18 3/C 18 3	79.9	90.3	71.2	78.6	23.2	29.8
C 18 2/C 18 3	6.7	3.2	7.2	3.5	25.7	27.5
C 18 2/C 18 2	4.1	—	1.4	—	12.7	9.2
C 16 0/C 18 3	3.8	3.4	11.5	13.7	18.3	20.9
C 16 0/C 18 2	1.9	—	4.3	0.8	14.4	10.5
C 18 1/C 18 2	—	—	—	—	2.9	—
C 18 0/C 18 3	—	—	—	—	1.8	—
Others	3.6	3.1	4.4	3.4	1.0	2.1

3 讨论

黄瓜是典型的冷敏感植物，差示热分析显示其类囊体膜极性脂的相变温度为 12<sup>[9]</sup>。黄瓜幼苗在 15 下处理 7 d，即经过生理允许的低温适应后，使膜脂进行了适应性调整，含有高比例不饱和脂肪酸的 DGDG 增多，加上 MGDG、DGDG 和 PC 脂肪酸的去饱和作用，使得总类脂的不饱和脂肪酸增多，膜脂不饱和度提高。大量的试验表明，冷适应可促进类囊体膜不饱和度的提高，使类囊体膜尤其是 PSII 部分在低温环境下保持流动性<sup>[12]</sup>，保证了 D1 蛋白的合成<sup>[13]</sup>及其它蛋白质在膜上的代谢运动，避免或减少 PSII 在低温条件下可能引起的损伤，有利于因受低温产生光抑制的光合机制失活后的恢复<sup>[12]</sup>；同时冷适应使线粒体内膜的 C 18 不饱和脂肪酸含量上升，提高了其流动性，促进了细胞色素 C 氧化酶及线粒体过氧化酶的活性，重组脂质体的 ATP 交换速率上升<sup>[14]</sup>，从而改善了植物对低温的耐受能力。

参考文献：

1 Lyons J M. Chilling injury in plants. Ann. Rev. Plant Physiol., 1973, 24: 445 ~ 466  
2 关世英, 苏维埃. 与磷脂酰甘油有关的植物抗冷机理研究进展. 植物生理学通讯, 1995, 31 (3): 167 ~ 173  
3 杨 玲, 苏维埃. 磷脂酰甘油的热致相变与水稻抗冷性. 科学通报, 1994, 39 (16): 1522 ~ 1525  
4 Ronghan P G, Holland R, Slack C R. The role of chloroplasts and microsomal fractions in polar-lipid synthesis [1-<sup>14</sup>C] acetate by cell-free preparation from spinach (*Spinacia oleracea*) leaves. Biochem J., 1980, 188: 17 ~ 22  
5 王洪春. 植物抗逆性与生物膜结构功能研究的进展. 植物生理学通讯, 1985, (1): 60 ~ 66  
6 苏维埃, 王文英, 李锦树, 等. 植物类脂及其脂肪酸的分析技术. 植物生理学通讯, 1980 (3): 54 ~ 60  
7 Demandre C, Tremolieres A, Justin A M, et al. Analysis of molecular species of plant polar lipids by high performance and gas liquid chromatography. Phytochemistry, 1985, 24 (3): 481 ~ 485  
8 张志良主编. 植物生理学实验指导 (第二版). 北京: 高等教育出版社, 1990. 1 ~ 2, 88 ~ 91  
9 Uemura M, Steponkus P L. Effect of cold acclimation on membrane lipid composition and freeze-induced membrane destabilization. In Plant Cold Hardiness: Molecular Biology, Biochemistry and Physiology. P. H. Li and T. H. H. Chen eds., New York:

Plenum Press, 1997. 171 ~ 179

- 10 Kodama H, Horiguchi G, Nishiuchi T, et al. Fatty acid desaturation during chilling acclimation is one of the factors involved in conferring low-temperature tolerance to young tobacco leaves. *Plant Physiol.*, 1995, 107: 1177 ~ 1185
- 11 Xu YN, Siegenthaler P A. Effect of non-chilling temperature and light intensity during growth of squash cotyledons on the composition of thylakoid membrane lipids and fatty acids. *Plant Cell Physiol.*, 1996, 37 (4): 471 ~ 479
- 12 Nishida I, Murata N. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: The crucial contribution of membrane lipids. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1996, 47: 541 ~ 568
- 13 Kanervo E, Tasaka Y, Murata N, et al. Membrane lipid unsaturation modulates processing of the photosystem II reaction-center protein D1 at low temperatures. *Plant Physiol.*, 1997, 114: 841 ~ 849
- 14 Santis A D, Landi P, Genchi G. Changes of mitochondrial properties in maize seedlings associated with selection for germination at low temperature. Fatty acid composition, cytochrome c oxidase, and adenine nucleotide translocase activities. *Plant Physiol.*, 1999, 119 (2): 743 ~ 754

## Effects of Different Low Temperature Treatments on Compositions of Polar Lipids in Cucumber Cotyledons

Yang Ling

(College of Life and Environment Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004)

**Abstract :** This paper studied the changes of polar lipid and fatty acid compositions in cucumber cotyledons under different temperature (25 , 20 , 15 , 10 ) treatments. Though there was no visible injury from chilling, polar lipid compositions in cucumber cotyledons changed. Under 15 , the relative content of DGDG significantly increased; PC, PE decreased greatly. Molecular species of main polar lipids also changed, more unsaturated molecular species in MGDG, DGDG and PC increased. These changes resulted in the increase of unsaturated fatty acids of total lipid, especially linolenic acid. Therefore, the chilling acclimation of cucumber cotyledons could be achieved by pre-exposure to 15 for seven days.

**Key words :** Cucumber cotyledon; Polar lipid; Fatty acid; Molecular species; Low temperature

### 信 息

## 无公害农业生态系统与农业可持续发展 国际研讨会在广西北海市召开

由联合国教科文组织、中国农业工程学会和广西北海市政府联合主办,北海国发海洋生物产业股份有限公司承办的“无公害农业生态系统与农业可持续发展国际研讨会”于2000年11月6~10日在北海市召开,来自海内外的农业专家80多人出席了会议。围绕无公害可持续发展这一中心议题,进行了15个大会专题报告。介绍了无公害蔬菜规范化栽培技术、农业废弃物综合利用技术及农业生产专家管理网络系统等新技术及一批新开发的生物菌肥、稀土肥、生物农药等新产品,其中新型海洋生物农药OS-施特灵(一种由甲壳素降解的氨基寡糖素)在防治作物病害上的应用受到了与会专家学者的关注。会议认为,利用无公害的生物有机肥、生物农药结合生物防治,发展新型有机农业,是世界农业发展的总趋势,也是入世后中国农产品走向国际市场的质量保证。世纪之交举办这次会议将对我国无公害有机农业的发展起到积极的促进作用。

贺超兴 (中国农业科学院蔬菜花卉研究所,北京100081)