

NaCl 胁迫对构树幼苗 内质网膜脂肪酸及蛋白质组成的影响

张 敏^{1,2}, 黄利斌², 蒋泽平², 季永华², 方炎明^{1,①}

(1. 南京林业大学森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037; 2. 江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153)

摘要: 采用气相色谱法和 SDS-PAGE 电泳法研究了经过 50 ~ 150 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫处理后构树 (*Broussonetia papyrifera* (L.) L' Hér. ex Vent.) 组培苗根和叶片内质网膜脂肪酸和蛋白质组成的变化。结果表明, 构树根和叶片内质网膜脂肪酸组成差异较大, 但均为不饱和脂肪酸相对含量较高; 脂肪酸基本成分为棕榈酸、硬脂酸、棕榈油酸、油酸、亚油酸及反亚油酸, 但根中还含花生酸、山萘酸、木蜡酸、亚麻酸和二十碳二烯酸, 叶片中还含反油酸; 根中的不饱和脂肪酸指数 (IUFA) 大于叶片。不同浓度 NaCl 胁迫对构树组培苗根和叶片内质网膜脂肪酸组成和蛋白质组成均有一定的影响。在 NaCl 胁迫条件下, 根内质网膜饱和脂肪酸相对含量呈增加趋势, 不饱和脂肪酸相对含量趋于减少, 且随着 NaCl 浓度的提高, IUFA 逐渐降低; 叶片内质网膜中各脂肪酸成分相对含量的变化趋势各异, 但在低浓度 NaCl 条件下, IUFA 较对照有所提高, 随 NaCl 浓度的升高 IUFA 又低于对照, 且叶片内质网膜 IUFA 的降幅小于根。根和叶片内质网膜中蛋白质组成明显不同; 不同浓度 NaCl 胁迫除对内质网膜各蛋白质组分表达量有一定影响外, 还导致根中相对分子质量 70 000 的蛋白质条带消失, 叶片中则出现了相对分子质量 95 000 的新蛋白质条带。

关键词: 构树; NaCl 胁迫; 内质网膜; 脂肪酸组成; 蛋白质组成

中图分类号: Q945.78; S792 文献标志码: A 文章编号: 1004-0978(2009)02-0009-06

Effects of NaCl stress on fatty acid composition and protein composition in endoplasmic reticulum membrane of *Broussonetia papyrifera* ZHANG Min^{1,2}, HUANG Li-bin², JIANG Ze-ping², JI Yong-hua², FANG Yan-ming^{1,①} (1. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Jiangsu Academy of Forestry, Nanjing 211153, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2009, 18(2): 9-14

Abstract: Changes of fatty acid and protein composition of endoplasmic reticulum (ER) membrane in root and leaf of *Broussonetia papyrifera* (L.) L' Hér. ex Vent. plantlets at stress condition of 50-150 mmol · L⁻¹ NaCl were studied by gas chromatography and SDS-PAGE electrophoresis. The results show that there are obvious differences in fatty acid composition of ER membrane in root and leaf, but the relative content of unsaturated fatty acids in both of them is higher. The fatty acid composition is mainly consisted of palmitic acid, stearic acid, palmitoleic acid, oleic acid, linoleic acid and linoleic acid, and there are also arachidic acid, behenic acid, lignoceric acid, linolenic acid and *cis*-11, 14-eicosadienoic acid in root and elaidic acid in leaf. The index of unsaturated fatty acids (IUFA) is higher in root than in leaf. NaCl stress has a certain influence on fatty acid and protein compositions of ER membrane in root and leaf of *B. papyrifera* plantlets. In root, the relative content of saturated fatty acids of ER membrane increases, while the relative content of unsaturated fatty acids decreases, and the IUFA decreases gradually with the increase of NaCl concentration. In leaf, the variation trend of relative content of each fatty acid varies, the IUFA of ER membrane under low NaCl concentration is higher than that of the control, and then declines with the increase of NaCl concentration. Moreover, the decrease range of IUFA in root is greater than that in leaf. Protein composition of ER membrane in root and leaf is obviously

收稿日期: 2009-03-10

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD09A04; 2006BAD03A0507)

作者简介: 张 敏(1980—), 女, 内蒙古乌海人, 博士研究生, 助理研究员, 主要从事植物抗逆生理和林木花卉良种繁育研究。

①通讯作者 E-mail: jwu4@njfu.edu.cn

different. NaCl stress with different concentrations not only has an effect on the expression amount of proteins in ER membrane, but also lead to the protein band with a relative molecular weight of 70 000 in root disappearing and a new protein band with a relative molecular weight of 95 000 in leaf appearing.

Key words: *Broussonetia papyrifera* (L.) L' Hérít. ex Vent.; NaCl stress; endoplasmic reticulum membrane; fatty acid composition; protein composition

植物细胞膜系统是盐胁迫应答的敏感位点之一^[1-2]。脂肪酸是膜的重要组成部分,其组分的变化首先影响膜的流动性及稳定性,进而影响膜的通透性及膜蛋白的活性^[3-4]。已有的研究表明,质膜^[5]、类囊体膜^[4]、液泡膜^[6]及线粒体膜^[7-8]的膜脂组成与植物的抗逆性密切相关。内质网是合成分泌蛋白和膜蛋白的细胞器,参与调节细胞内的Ca²⁺稳态平衡和Ca²⁺信号传导过程^[9],因此,研究盐胁迫下内质网膜脂肪酸组分和脂肪酸不饱和度的变化及其与植物耐盐性的关系具有重要的理论意义。目前尚未见有关逆境胁迫对植物内质网膜脂肪酸和膜蛋白组成影响的相关报道。作者以构树 [*Broussonetia papyrifera* (L.) L' Hérít. ex Vent.] 幼苗为实验材料,研究了不同浓度 NaCl 胁迫下细胞内质网膜脂肪酸与蛋白质组成的变化,探讨内质网膜脂肪酸组分与耐盐性之间的关系,旨在了解构树内质网膜系统在盐胁迫下的作用和适应机制,以期为构树耐盐性研究提供新的实验数据,也为深入了解木本植物的耐盐机理提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为构树组培生根苗。以构树嫩枝的腋芽为外植体,建立组织培养无性系。组培苗的继代培养基为含 1.0 mg · L⁻¹ 6-BA、0.1 mg · L⁻¹ IBA、30 g · L⁻¹ 蔗糖和 6.5 g · L⁻¹ 卡拉胶的 MS 培养基 (pH 5.8),置于温度(25 ± 2) °C、光照度 1 500 lx、光照时间 16 h · d⁻¹ 条件下培养,继代周期为 20 d。获得足够数量的健壮继代苗后进行生根培养。生根培养基为含 0.5 mg · L⁻¹ IBA、0.3 mg · L⁻¹ NAA、30 g · L⁻¹ 蔗糖和 6.5 g · L⁻¹ 卡拉胶的 1/2MS 培养基 (pH 5.8),培养条件同继代培养,生根培养天数为 25 d。

1.2 方法

1.2.1 NaCl 胁迫处理方法 选取根系发达、生长

健壮、长势一致的构树组培生根苗移入塑料套盆 (规格为 25.0 cm × 17.5 cm × 6.5 cm) 内,每盆 50 株苗。用添加了不同浓度 NaCl 的培养液培养,培养液为 1/2MS 液体培养基 (采用 MS 基本培养基配方,大量元素和铁盐用量减半,pH 5.8),NaCl 浓度设 50、100、150 mmol · L⁻¹ 3 个水平,对照则用不添加 NaCl (0 mmol · L⁻¹) 的培养液培养,每盆培养液用量 500 mL,每处理 3 盆 (3 次重复),在恒温 (25 ± 2) °C、相对湿度 (65 ± 5) %、光照度 1 500 lx、光照时间 16 h · d⁻¹ 条件下培养,每 2 天更换 1 次培养液,4 d 后取样测定。

1.2.2 内质网膜的分离与纯化 构树内质网膜的分离纯化参照文献 [10] 的方法,略有改动。分别取构树幼苗的根和叶片,以质量体积比 1:2 加入匀浆缓冲液 (含 250 mmol · L⁻¹ 蔗糖、4 mmol · L⁻¹ DTT、7.2 mg · L⁻¹ PMSF、50 mmol · L⁻¹ Tris、8 mmol · L⁻¹ EDTA 和质量体积分数 1.5% 的 PVP,pH 8.0) 研磨,4 层纱布过滤,用 Beckman Optima L-80XP 超速离心机 10 000 g 离心 15 min 后,取上清液再以 100 000 g 离心 30 min;沉淀用悬浮缓冲液 (含 250 mmol · L⁻¹ 蔗糖、2 mmol · L⁻¹ DTT 和 5 mmol · L⁻¹ Pipes,pH 7.2) 溶解,将悬浮液轻铺于质量体积分数 22%/30%/34%/40% 不连续蔗糖密度梯度溶液上,于 80 000 g 离心 3 h 后取位于 22% 界面的组分,加入 5 倍体积的 KCl 混合液 (含 150 mmol · L⁻¹ KCl、2 mmol · L⁻¹ DTT 以及 25 mmol · L⁻¹ Tris-HCl,pH 8.0),100 000 g 离心 30 min,沉淀即为内质网膜微囊。将内质网膜微囊悬浮于适量的悬浮缓冲液中,贮于 -70 °C 超低温冰箱中备用。

1.2.3 脂肪酸提取和甲酯化及气相色谱分析 内质网膜脂肪酸提取参照文献 [11] 的方法,脂肪酸标准品为 Sigma 公司产品。脂肪酸甲酯化参照文献 [12] 的方法。脂肪酸提取物中加入 10 μL 内标正十七碳酸 (1 g · L⁻¹) 和 1 mL 三氟化硼-乙醚:甲醇溶液 (V:V=1:3),于 75 °C 水浴反应 30 min,取出冷却至室温后,再加入 0.5 mL 重蒸水和 1.5 mL 正己

烷,振荡,再以 3 000 g 离心 15 min,取上清液,氮气吹干,20 μ L 正己烷溶解,用于气相色谱分析。

用 Thermo Trace GC Ultra 气相色谱仪分析脂肪酸含量。色谱条件:Sp-2560 石英毛细管色谱柱(100 m \times 0.25 mm \times 0.2 μ m);进样口和检测器的温度均为 220 $^{\circ}$ C;升温程序:起始温度为 140 $^{\circ}$ C,恒温 5 min,以 4 $^{\circ}$ C \cdot min $^{-1}$ 的速率升温至 220 $^{\circ}$ C并保持 25 min,总时间共 50 min;载气为高纯氮气,载气流量 1.5 mL \cdot min $^{-1}$;进样量 1 μ L。

1.2.4 蛋白质组分的 SDS-PAGE 电泳 SDS-PAGE 凝胶电泳分析参照文献[13]的方法进行。电泳采用 Bio-Rad Mini-Protean II 电泳系统,凝胶电泳图像用 Bio-Rad ChemiDocXRSTM 凝胶成像系统获取。储存液包括 30% Acry-0.8% Bis(含 30 g 丙烯酰胺和 0.8 g N,N'-甲叉双丙烯酰胺)、1.5 mol \cdot L $^{-1}$ Tris-HCl(pH 8.8)、0.5 mol \cdot L $^{-1}$ Tris-HCl(pH 6.8)、质量体积分数 10% SDS 及质量体积分数 10% APS;采用 11% 的分离胶和 3% 的浓缩胶;蛋白质分子量标准为 Fermentas 公司产品。

1.3 数据处理

采用内标法确认所有脂肪酸成分,再计算出各脂肪酸成分在总脂肪酸中的摩尔分数(%),并计算总不饱和脂肪酸与总饱和脂肪酸相对含量的比值(U/S)及不饱和脂肪酸指数(IUFA);用 SPSS 10.0 统计软件进行相关性分析。

$U/S = \text{总不饱和脂肪酸摩尔分数} / \text{总饱和脂肪酸摩尔分数}$ 。

$IUFA = 1 \times \text{单不饱和脂肪酸摩尔分数} + 2 \times \text{双不饱和脂肪酸摩尔分数} + 3 \times \text{三不饱和脂肪酸摩尔分数}$ 。

2 结果和分析

2.1 NaCl 胁迫对构树内质网膜脂肪酸组成与含量的影响

2.1.1 对根内质网膜脂肪酸组成与含量的影响 不同浓度 NaCl 胁迫下构树根内质网膜脂肪酸组分的变化见表 1。由表 1 可见,在构树根部内质网膜的饱和脂肪酸中,棕榈酸(C16:0)的相对含量最高,其次为硬脂酸(C18:0)、木蜡酸(C24:0)、山萘酸(C22:0),还含有少量花生酸(C20:0);不饱和脂肪酸主要为棕榈油酸(C16:1)、油酸(C18:1n9c)、反亚油酸(C18:2n6t)、亚油酸(C18:2n6c),还含有少量亚麻酸(C18:3n3)和二十碳二烯酸(C20:2)。在对照组及各处理组中,构树根内质网膜中棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、反亚油酸及亚油酸的相对含量均占到总脂肪酸相对含量的 94.86%~98.80%,说明在构树根内质网膜脂的组成及其对 NaCl 胁迫发生适应性响应的过程中,这 6 种脂肪酸所起的作用最大。此外,对照组构树根内质网膜不饱和脂肪酸相对含量较高,达到 73.14%。

由表 1 还可见,经 50、100 及 150 mmol \cdot L $^{-1}$ NaCl 胁迫处理后,构树根内质网膜中饱和脂肪酸(棕榈酸和硬脂酸)的相对含量明显高于对照,其中棕榈酸的相对含量随 NaCl 浓度的提高逐渐增加,50、100 及 150 mmol \cdot L $^{-1}$ NaCl 处理组棕榈酸的相对含量分别是对照的 1.49、1.36 和 2.15 倍;在低浓度 NaCl 胁迫条件下(50 mmol \cdot L $^{-1}$),硬脂酸的相对含量达到最高值,但随 NaCl 浓度的提高,硬脂酸的相对含量有所降低,特别是经 150 mmol \cdot L $^{-1}$

表 1 不同浓度 NaCl 胁迫条件下构树根内质网膜脂肪酸组成的变化

Table 1 Change of fatty acid composition in endoplasmic reticulum membrane of *Broussonetia papyrifera* (L.) L' Hérit. ex Vent. root at NaCl stress with different concentrations

NaCl 浓度/ mmol \cdot L $^{-1}$ Conc. of NaCl	脂肪酸相对含量(摩尔分数)/% ¹⁾											U/S ²⁾	IUFA ³⁾
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
0(CK)	23.09	20.02	0.48	2.54	41.10	7.63	0.04	1.35	0.50	1.61	1.64	2.72	125.07
50	34.30	22.01	13.14	1.62	24.80	2.84	-	0.03	-	1.17	-	1.06	79.09
100	31.43	40.36	10.64	4.41	8.82	1.18	-	1.96	-	-	1.20	1.31	70.65
150	49.74	20.70	3.80	4.44	9.81	8.78	0.78	1.97	-	-	-	0.84	68.23

¹⁾ 1. 棕榈酸 Palmitic acid(C16:0); 2. 棕榈油酸 Palmitoleic acid(C16:1); 3. 硬脂酸 Stearic acid(C18:0); 4. 油酸 Oleic acid(C18:1n9c); 5. 反亚油酸 Linolelaidic acid(C18:2n6t); 6. 亚油酸 Linoleic acid(C18:2n6c); 7. 花生酸 Arachidic acid(C20:0); 8. 亚麻酸 Linolenic acid(C18:3n3); 9. 二十碳二烯酸 *cis*-11,14-eicosadienoic acid(C20:2); 10. 山萘酸 Behenic acid(C22:0); 11. 木蜡酸 Lignoceric acid(C24:0); -, 未检出 Undetected. ²⁾ U/S: 不饱和脂肪酸相对含量与饱和脂肪酸相对含量的比值 The ratio between relative contents of unsaturated fatty acids and saturated fatty acids. ³⁾ IUFA: 不饱和脂肪酸指数 Index of unsaturated fatty acids.

NaCl 胁迫处理后硬脂酸的相对含量降幅较大,但仍高于对照。随 NaCl 胁迫浓度的提高,构树根内质网膜中棕榈油酸的相对含量表现出先升后降的趋势;经 50、100 及 150 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫处理后,反亚油酸和亚油酸的相对含量明显低于对照组;此外,随 NaCl 浓度的提高,不饱和脂肪酸指数 (IUFA) 逐渐降低,构树根内质网膜脂趋于饱和化。相关性分析结果显示,构树根内质网膜中棕榈酸相对含量与 IUFA 显著负相关 ($R^2 = -0.7489$),反亚油酸相对含量与 IUFA 显著正相关 ($R^2 = 0.9442$)。

2.1.2 对叶片内质网膜脂肪酸组成与含量的影响
不同浓度 NaCl 胁迫下构树组培苗叶片内质网膜脂肪酸组分的变化见表 2。由表 2 可以看出,构树叶片内质网膜脂肪酸主要成分为棕榈酸 (C16:0)、硬脂酸 (C18:0)、棕榈油酸 (C16:1)、油酸 (C18:1n9c)、反油酸 (C18:1n9t) 和亚油酸 (C18:2n6c),还有少量的反亚油酸 (C18:2n6t),主要脂肪酸成分与根基本一致,但各脂肪酸的相对含量不同。对照组构树根内质网膜中反亚油酸相对含量较高,摩尔分数高达 41.10%,而叶片中仅为 0.82%。对照组构树叶片内

质网膜的脂肪酸组成也以不饱和脂肪酸为主,不饱和脂肪酸相对含量与饱和脂肪酸相对含量的比值 (U/S) 达到 2.17。

由表 2 还可以看出,在低浓度 NaCl 胁迫条件下 (50 mmol · L⁻¹),构树叶片内质网膜中棕榈酸的相对含量较对照有所降低,当 NaCl 浓度达到 150 mmol · L⁻¹ 时,棕榈酸的相对含量则明显高于对照;随着 NaCl 浓度的提高,硬脂酸的相对含量表现出先升后降的变化趋势,在 150 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫条件下,其相对含量接近于对照水平。在不同浓度 NaCl 胁迫下,构树叶片内质网膜不饱和脂肪酸相对含量的变化趋势各不相同。经 50 和 100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫处理后,叶片内质网膜的 U/S 较对照略有上升,但当 NaCl 浓度提高至 150 mmol · L⁻¹ 时,U/S 降低至 0.68;在 50 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫条件下,叶片的 IUFA 较对照有所提高,但随着 NaCl 浓度的提高,IUFA 逐渐降低。相关性分析结果表明,构树叶片内质网膜中棕榈酸相对含量与 IUFA 显著负相关 ($R^2 = -0.9174$),反亚油酸相对含量与 IUFA 显著正相关 ($R^2 = 0.8677$)。

表 2 不同浓度 NaCl 胁迫条件下构树叶片内质网膜脂肪酸组成的变化

Table 2 Change of fatty acid composition in endoplasmic reticulum membrane of *Broussonetia papyrifera* (L.) L' Hérit. ex Vent. leaf at NaCl stress with different concentrations

NaCl 浓度 / mmol · L ⁻¹ Conc. of NaCl	脂肪酸相对含量 (摩尔分数) / % ¹⁾ Relative content (mol fraction) of fatty acids ¹⁾							U/S ²⁾	IUFA ³⁾
	1	2	3	4	5	6	7		
0 (CK)	18.18	44.69	13.36	2.51	3.60	0.82	16.84	2.17	86.12
50	8.63	26.13	20.37	0.50	18.16	1.87	24.34	2.44	97.21
100	10.07	27.31	17.37	15.89	22.02	0.38	6.96	2.64	79.9
150	47.23	3.53	12.43	1.47	20.30	-	15.02	0.68	55.34

¹⁾ 1. 棕榈酸 Palmitic acid (C16:0); 2. 棕榈油酸 Palmitoleic acid (C16:1); 3. 硬脂酸 Stearic acid (C18:0); 4. 反油酸 Elaidic acid (C18:1n9t); 5. 油酸 Oleic acid (C18:1n9c); 6. 反亚油酸 Linolelaidic acid (C18:2n6t); 7. 亚油酸 Linoleic acid (C18:2n6c); -: 未检出 Undetected. ²⁾ U/S: 不饱和脂肪酸相对含量与饱和脂肪酸相对含量的比值 The ratio between relative contents of unsaturated fatty acids and saturated fatty acids. ³⁾ IUFA: 不饱和脂肪酸指数 Index of unsaturated fatty acids.

2.2 NaCl 胁迫对构树内质网膜蛋白质组成的影响

构树组培苗根和叶片内质网膜蛋白质组分的 SDS-PAGE 电泳结果见图 1 和图 2。在不同浓度 NaCl 胁迫条件下,构树组培苗根和叶片内质网膜蛋白质组分和表达量均存在一定的差异。

如图 1 所示,根中内质网膜蛋白质组分较少,除相对分子质量为 70 000 的蛋白质条带随 NaCl 浓度的提高而逐渐消失外,其余蛋白质条带均表现为表达量的变化。经过 NaCl 胁迫处理后,相对分子质量

55 000 的蛋白质条带表达量有所降低;而经过 100 和 150 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫处理后,相对分子质量 17 000 的蛋白质条带表达量增强。

如图 2 所示,经过 100 和 150 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫处理后,叶片内质网膜中相对分子质量 40 000 和 51 000 的蛋白质条带的表达量明显增加。与对照相比,经过 NaCl 胁迫处理后,叶片内质网膜蛋白质中多出 1 条相对分子质量为 95 000 的条带,且随 NaCl 胁迫浓度的提高,这一条带的表达量有所增加。

3 结论和讨论

构树组培苗内质网膜脂肪酸基本组成为棕榈酸(C16:0)、硬脂酸(C18:0)、棕榈油酸(C16:1)、油酸(C18:1n9c)、亚油酸(C18:2n6c)及反亚油酸(C18:2n6t)等成分,除此以外,根内质网膜中还检测出少量花生酸(C20:0)、山萘酸(C22:0)、木蜡酸(C24:0)、亚麻酸(C18:3n3)和二十碳二烯酸(C20:2),叶片内质网膜膜脂中还含有反油酸(C18:1n9t)。根和叶片的内质网膜脂肪酸组成差异较大,根中的不饱和脂肪酸指数(IUFA)大于叶片。

有研究表明,脂肪酸不饱和度与植物的抗逆性有关^[14]。不同植物膜脂脂肪酸的组成各异,逆境胁迫对脂肪酸含量及脂肪酸不饱和度影响效应的大小也存在较大差异。杨亚军等^[15]认为,不饱和脂肪酸含量与植物耐寒性呈正相关;柴团耀等^[8]的研究结果表明,渗透胁迫下,豇豆[*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]叶片、线粒体及叶绿体膜脂中不饱和脂肪酸含量下降,饱和脂肪酸含量上升;郭延平等^[16]研究了干旱胁迫下杏(*Armeniaca vulgaris* Lam.)叶片膜脂脂肪酸组分的变化后认为,随着干旱时间的延长,IUFA 逐渐下降。何开跃等^[17]对乐昌含笑(*Michelia chapensis* Dandy)等5种木兰科(Magnoliaceae)树种经干旱胁迫后的生理指标变化进行了研究,认为干旱胁迫条件下,饱和脂肪酸比例升高,不饱和脂肪酸比例下降。作者的研究结果表明,经过NaCl胁迫后,构树内质网膜脂肪酸组成的变化较小,而脂肪酸相对含量发生了明显变化,且在不同组织中存在一定差异;在NaCl胁迫下,根部饱和脂肪酸相对含量呈增加趋势,不饱和脂肪酸相对含量趋于减少;随着NaCl胁迫浓度的提高,IUFA 逐渐降低。这与Magdy等^[18]对NaCl胁迫后冬小麦(*Triticum aestivum* 'Vivant')质膜脂肪酸组成变化的研究结果一致。而在低浓度NaCl胁迫下,构树叶片的内质网膜的IUFA有所增大,随着NaCl胁迫浓度的提高,IUFA 又低于对照。构树根和叶片内质网膜IUFA 与其脂肪酸相对含量间的相关分析结果表明,棕榈酸的相对含量与IUFA 显著负相关,反亚油酸相对含量与IUFA 显著正相关。受到NaCl胁迫后构树根内质网膜IUFA 下降幅度大于叶片,膜脂更趋于饱和化。

M: 蛋白质分子量标准 Protein molecular weight marker;
1: 0 mmol · L⁻¹ NaCl (CK);
2: 50 mmol · L⁻¹ NaCl;
3: 100 mmol · L⁻¹ NaCl;
4: 150 mmol · L⁻¹ NaCl.

图1 不同浓度NaCl胁迫条件下构树根内质网膜蛋白质的SDS-PAGE电泳谱

Fig. 1 SDS-PAGE pattern of proteins in endoplasmic reticulum membrane of *Broussonetia papyrifera* (L.) L' Hérit. ex Vent. root at NaCl stress with different concentrations

M: 蛋白质分子量标准 Protein molecular weight marker;
1: 0 mmol · L⁻¹ NaCl (CK);
2: 50 mmol · L⁻¹ NaCl;
3: 100 mmol · L⁻¹ NaCl;
4: 150 mmol · L⁻¹ NaCl.

图2 不同浓度NaCl胁迫条件下构树叶片的内质网膜蛋白质的SDS-PAGE电泳图谱

Fig. 2 SDS-PAGE pattern of proteins in endoplasmic reticulum membrane of *Broussonetia papyrifera* (L.) L' Hérit. ex Vent. leaf at NaCl stress with different concentrations

膜蛋白是膜的关键组分之一, NaCl 胁迫使内质网膜蛋白质组分发生了一定的变化。Fisher 等在研究 *Dunaliella salina* 的盐诱导蛋白质时发现, 随介质盐度的增加, 相对分子质量 60 000 和 150 000 的 2 种质膜蛋白质含量显著增加, 其功能可能在于调节体内的离子平衡^[2]。本研究结果表明, 经过 NaCl 胁迫处理后, 构树叶片内质网膜蛋白质 SDS - PAGE 电泳谱带中多了 1 条相对分子质量 95 000 的蛋白质条带, 但其具体功能尚未明确, 推测可能与构树的耐盐性有关; 而构树根内质网膜中相对分子质量 70 000 的蛋白质条带的消失以及蛋白质表达量的增加或降低都是构树对 NaCl 胁迫的适应表现。

生物膜主要由处于高度活动状态的脂类和蛋白质分子共同组成, 膜结构和功能主要取决于膜脂和蛋白质的相互作用^[19]。虽然对 NaCl 胁迫下构树组培苗内质网膜脂肪酸和蛋白质组成的变化进行了初步研究, 但产生这些变化的原因以及在 NaCl 胁迫下膜脂与蛋白质分子的相互作用机制还有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] Leopold A C, Willing R P. Evidence for toxicity effects of salt on membranes[M] // Staples R C, Toenniessen G H. Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement. New York: John Wiley & Sons, 1984: 67 - 76.
- [2] 刘友良, 汪良驹. 植物对盐胁迫的反应和耐盐性[M] // 于叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学. 北京: 科学出版社, 1998: 752 - 769.
- [3] 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.
- [4] 杨秀梅, 刘训言, 董新纯, 等. 类囊体膜脂不饱和度的增加对番茄耐盐性的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3177 - 3183.
- [5] 宫海军, 陈坤明, 陈国仓, 等. 缓慢干旱下春小麦叶片质膜脂肪酸组成、H⁺-ATPase 及 5'-AMPase 活力的变化[J]. 植物生态学报, 2003, 27(4): 459 - 465.
- [6] 龚红梅, 於丙军, 刘友良. 脂肪酸对盐胁迫大麦幼苗液泡膜微囊膜脂组分及功能的影响[J]. 植物学报, 1999, 41(4): 414 - 419.
- [7] 刘丽君, 尹田夫, 孟良. 大豆原生质膜及混合细胞器膜脂肪酸对干旱胁迫的反应[J]. 大豆科学, 1991, 10(1): 46 - 52.
- [8] 柴团耀, 荆家海. 豇豆大豆细胞器膜脂肪酸组分对渗透胁迫的反应[J]. 干旱地区农业研究, 1993, 11(3): 55 - 59.
- [9] 李明辉, 孙颖, 赵春梅, 等. 番茄 calnexin 基因的克隆及胁迫表达分析[J]. 武汉植物学研究, 2006, 24(2): 100 - 105.
- [10] Dupont F M, Tanaka C K, Hurkman W J. Separation and immunological characterization of membrane fractions from barley roots[J]. Plant Physiology, 1988, 86(3): 717 - 724.
- [11] 苏维埃, 王文英, 李锦树. 植物类脂及其脂肪酸的分析技术——TLC - GLC 技术[J]. 植物生理学通讯, 1980, 16(3): 54 - 60.
- [12] 谭力, 鞠焯先, 黎介寿, 等. 血清总磷脂脂肪酸组分的固相萃取 - 气相色谱法分析[J]. 分析科学学报, 2006, 22(2): 125 - 128.
- [13] 谷瑞升, 刘群录, 陈雪梅, 等. 木本植物蛋白提取和 SDS - PAGE 分析方法的比较和优化[J]. 植物学通报, 1999, 16(2): 171 - 177.
- [14] Pastori G M, Trippi V S. Fatty acid composition in water- and oxygen-stressed leaves of maize and wheat strains [J]. Phytochemistry, 1995, 40(1): 45 - 48.
- [15] 杨亚军, 郑雷英, 王新超. 低温对茶树叶片膜脂肪酸和蛋白质的影响[J]. 亚热带植物科学, 2005, 34(1): 5 - 9.
- [16] 郭延平, 李嘉瑞. 干旱胁迫下杏叶片膜脂肪酸组分和乙烯释放及 LOX 活性的变化[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2002, 28(5): 513 - 517.
- [17] 何开跃, 李晓储, 黄利斌, 等. 干旱胁迫对木兰科 5 树种生理生化指标的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2004, 13(4): 20 - 23.
- [18] Magdy M, Mansour F, van Hasselt P R, et al. Plasma membrane lipid alterations induced by NaCl in winter wheat roots [J]. Physiologia Plantarum, 1994, 92(3): 473 - 478.
- [19] 隋森芳. 膜分子生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 2 - 19.