

## 低温驯化对部分丛生竹种叶片膜脂脂肪酸的影响

张 玮<sup>1</sup>, 谢锦忠\*, 吴继林<sup>2</sup>, 林海青<sup>2</sup>

(1 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400; 2 福建省永安市林业局, 福建 永安 366000)

关键词: 丛生竹种; 膜脂脂肪酸; 低温

中图分类号: S795.5 文献标识码: A

### Changes in Membrane Lipid Fatty Acids of Some Sympodial Bamboos in Response to Low Temperature Exposure

ZHANG Wei<sup>1</sup>, XIE Jin-zhong<sup>1</sup>, WU Ji-lin<sup>2</sup>, LIN Hai-qing<sup>2</sup>

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400 Zhejiang China

2. Forestry Bureau of Yong'an City, Fujian Province, Yong'an 366000, Fujian China)

**Abstract** The effect of low temperature on membrane lipid fatty acid composition in the leaves of some sympodial bamboo species was studied. The results showed that the two major lipid fatty acids were palmitic acid and linolenic acid. The ratio of unsaturated fatty acid and the Index of unsaturated fatty acid (I.U.F.A.) of tested sympodial bamboos increased under low temperature treatment, and the ratio of membrane unsaturated fatty acid composition of cold-resistant sympodial bamboos was higher than that of cold-sensitive sympodial bamboos. The results indicated that the content of unsaturated fatty acid of sympodial bamboos had a close relationship with its cold sensitivity after acclimation in winter. Under low temperature stress, the content of membrane unsaturated fatty acid increased significantly to maintain membrane fluidity.

**Key words** sympodial bamboo; lipid fatty acids; low temperature

丛生竹是我国热带和亚热带地区的重要竹类资源。由于丛生竹笋期较迟, 严冬来临之际幼竹尚未充分木质化或仍在生长, 故其耐寒性较差, 至北纬 30°以北仅有孝顺竹 (*Bambusa multiplex* (Lour.) Raeuschel ex J. A. et J. H. Schult.) 等少数丛生竹种能够存活<sup>[1]</sup>。近年来由于竹浆造纸及竹材加工对丛生竹需求量的大幅增长, 很多地方盲目引种丛生竹, 加上极端气象条件的出现, 各地引种的丛生竹冬季发生寒害的报道屡见不鲜, 损失严重<sup>[2-4]</sup>。

生物膜是植物受低温伤害的原初部位, 临界低温引起了膜脂相变, 使膜脂从液晶相变为凝胶相, 从

而导致膜功能的伤害改变。对于外界温度的变化, 生物膜本身能够做出反应, 改变膜脂的组成、结构和状态, 以改善低温下膜的流动性<sup>[5-6]</sup>。不饱和脂肪酸的含量与植物的耐寒性显著相关, 含量高的植物耐寒性相应较高。低温驯化可诱导植物不饱和脂肪酸含量的增高, 提高膜的流动性<sup>[7-9]</sup>。通过对脂肪酸去饱和酶的作用可提高植物的不饱和脂肪酸含量, 对去饱和酶基因进行的遗传操作已证明可提高植物的耐寒性<sup>[10]</sup>。本文根据低温驯化后植物细胞膜膜脂脂肪酸组分发生适应性变化的原理, 利用气相色谱测定方法, 通过对自然低温条件下部分丛生

收稿日期: 2007-12-27

基金项目: 福建省林业厅林业科技项目“优良耐寒丛生竹种选育及其组培快繁技术研究”闽林科(2006)函3号

作者简介: 张玮(1981-), 男, 山西大同人, 硕士研究生。

\* 通讯作者: jzhxi@163.net

竹种叶片膜脂脂肪酸组分含量的比较分析, 阐明低温对丛生竹叶片膜脂脂肪酸的影响, 为今后丛生竹种耐寒性系统评价及耐寒机理研究提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料和取样方法

样品采集地福建省永安市大湖竹种园位于  $117^{\circ}32' \sim 117^{\circ}34' E$ ,  $26^{\circ}03' \sim 26^{\circ}06' N$ , 海拔 220 m, 属亚热带海洋性气候。年平均气温  $14 \sim 19.2^{\circ}C$ , 极端低温  $-7.9^{\circ}C$ ,  $\geq 10^{\circ}C$  的年平均活动积温为  $3922 \sim 5766^{\circ}C$ , 无霜期  $250 \sim 302 d$ , 年降水量  $1490 \sim 2050 mm$ , 相对湿度 80% 以上。年日照时数  $1529.8 \sim 2367.2 h$ 。立地条件为背风向阳, 地势平缓, 土壤为山地红壤, 有机质含量较高。采样日 2006 年 12 月 1 日的日平均气温  $13^{\circ}C$ , 最低气温  $6^{\circ}C$ ; 2007 年 2 月 1 日的日平均气温  $7^{\circ}C$ , 最低气温为  $-1^{\circ}C$ 。该年冬季极端低温出现在 2007 年 1 月 29 日, 最低气温为  $-1.5^{\circ}C$ 。

2006 年 12 月 1 日和 2007 年 2 月 1 日对园内的部分丛生竹种进行 2 次重复采样与测定。样品均取自在相同自然条件下生长的 3 年生竹子的完整、无病虫害的成熟叶片。擦净叶样后, 再用  $105^{\circ}C$  杀青 5 min 后带回实验室, 供膜脂脂肪酸测定。

### 1.2 膜脂提取和脂肪酸分析<sup>[13]</sup>

1.2.1 总类脂的提取和膜脂的纯化 使用氯仿: 甲醇 = 1: 2 (V/V) 抽提植物叶片中的总类脂。将已获得的植物类脂溶于 3 mL 饱和甲醇的石油醚中, 加入 3 mL 饱和石油醚的甲醇进行液-液萃取, 收集甲醇相, 再用石油醚清洗 1~2 次, 甲醇相经减压浓缩得膜脂。

1.2.2 膜脂甲基化及气相色谱分析 纯化后的膜脂样品加入  $2 mL 0.4 mol \cdot L^{-1}$  氢氧化钾的甲醇溶液进行甲基化, 并立即进行气相色谱分析。气相色谱仪为 Agilent 6890N, 柱型号 NUK01, 柱长 30 m, 内径 0.32 mm。进样温度为  $195^{\circ}C$ ,  $150^{\circ}C$  保留 1 min 后, 以  $5^{\circ}C \cdot min^{-1}$  的速度升到  $195^{\circ}C$ , 保持 20 min, 氮气恒流  $2 mL \cdot min^{-1}$ , 氢气流量  $30 mL \cdot min^{-1}$ , 空气流速  $400 mL \cdot min^{-1}$ 。以标准脂肪酸的保留时间确定待测样品中脂肪酸的类别; 按面积归一化法自动计算出样品中各脂肪酸的百分含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 丛生竹种叶片膜脂脂肪酸的组成

#### 永安大湖竹种园部分丛生竹种叶片膜脂脂肪酸

测试结果分析表明 (表 1), 各种丛生竹叶片膜脂脂肪酸组分基本相同, 但各种脂肪酸相对含量存在较大差异。丛生竹种叶片膜脂脂肪酸主要由 6 种脂肪酸组成, 即棕榈酸 (16: 0)、硬脂酸 (18: 0)、油酸 (18: 1)、亚油酸 (18: 2)、亚麻酸 (18: 3) 和花生酸 (20: 0)。这 6 种脂肪酸占总膜脂脂肪酸的 95% 左右, 其余 5% 的脂肪酸至少由其他 5 种不同的脂肪酸组成, 因其含量相对较少而不做进一步分析。但主要脂肪酸的相对含量存在明显差异。棕榈酸、硬脂酸、花生酸属于饱和脂肪酸, 而油酸、亚油酸、亚麻酸因其含有 1 个以上的双键, 属于不饱和脂肪酸。在测试竹种的膜脂饱和脂肪酸中, 以棕榈酸为主, 含量占总膜脂脂肪酸的  $23.98\% \sim 45.92\%$ ; 而不饱和脂肪酸中则以亚麻酸相对含量最高, 占总膜脂脂肪酸的  $8.34\% \sim 49.31\%$ 。不饱和脂肪酸含量占总脂肪酸含量的  $18.47\% \sim 57.65\%$ 。

### 2.2 低温驯化对部分丛生竹种叶片膜脂脂肪酸组分的影响

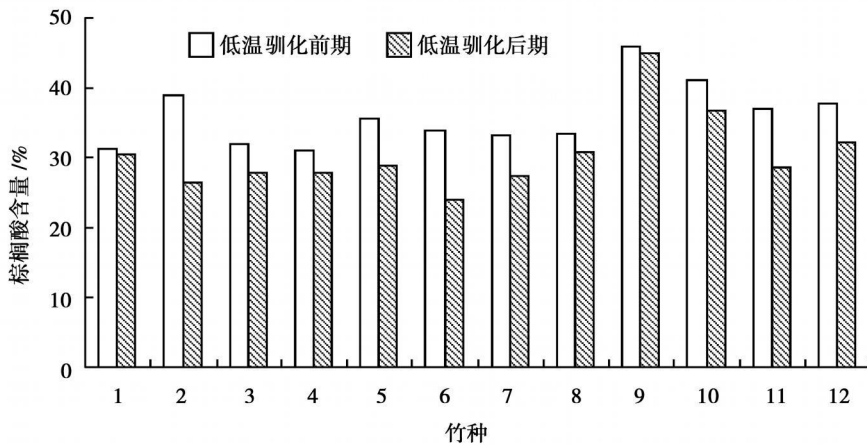
在整个越冬阶段, 永安大湖竹种园的丛生竹种经历了低温驯化的过程, 从低温驯化前后部分竹种叶片膜脂各种脂肪酸的相对含量可以看出 (表 1), 各种丛生竹随着冬季气温的下降, 膜脂脂肪酸配比发生较大变化。2 月 1 日与 12 月 1 日相比, 丛生竹种膜脂脂肪酸中的饱和脂肪酸 (棕榈酸 (16: 0)、硬脂酸 (18: 0)、花生酸 (20: 0)) 比例有所下降, 占饱和脂肪酸比例最大的棕榈酸 (16: 0) 相对含量下降较为明显 (图 1)。其中变化最明显的青皮竹、孝顺竹、金丝慈竹与椴竹, 棕榈酸相对含量分别比驯化前期下降了  $32.23\%$ 、 $29.39\%$ 、 $23.00\%$  和  $19.17\%$ ; 而小佛肚竹和鼓节竹的棕榈酸相对含量与驯化前期差异不显著。

低温驯化后不饱和脂肪酸的增加主要由亚麻酸 (18: 3) 增加所引起 (图 2), 其中变化最明显的青皮竹、孝顺竹、金丝慈竹的亚麻酸相对含量分别比低温驯化前期增加了  $124.5\%$ 、 $81.4\%$  和  $105.2\%$ , 其余竹种也都有不同程度的升高。不饱和脂肪酸中的油酸 (18: 1) 在经历低温驯化后在很多竹种中的相对含量都有所下降, 如青皮竹、椴竹、孝顺竹的油酸相对含量分别比驯化前期降低了  $47.5\%$ 、 $42.7\%$  和  $31.1\%$ 。这可能与油酸在去饱和酶的作用下形成不饱和度更高的亚油酸或亚麻酸有关。

表 1 低温驯化前后部分丛生竹种叶片膜脂脂肪酸组成变化

竹种	采样时间	膜脂脂肪酸组分 %						不饱和脂 肪酸 %	UFA
		棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸	花生酸		
小佛肚竹 ( <i>B. ventricosa</i> McClure)	2006-12-01	31.25	5.12	7.03	6.36	30.95	14.55	44.34	112.6
	2007-02-01	30.64	5.53	5.79	6.95	31.13	14.73	43.87	113.08
青皮竹 ( <i>B. textilis</i> McClure)	2006-12-01	38.94	8.20	4.06	6.29	19.07	14.47	29.42	73.85
	2007-02-01	26.39	6.22	2.13	6.72	42.82	7.57	51.67	144.03
紫青皮竹 ( <i>B. textilis</i> cv. <i>Maculata</i> )	2006-12-01	32.06	5.64	2.83	8.94	35.62	11.32	47.39	127.57
	2007-02-01	27.81	4.73	2.35	5.99	49.31	5.49	57.65	162.26
长毛米筛竹 ( <i>B. pachinensis</i> var. <i>hirsutissima</i> (Odashima) W. C. Lin)	2006-12-01	30.94	6.46	3.72	9.73	32.12	11.64	45.57	119.54
	2007-02-01	27.87	5.98	2.76	9.66	36.89	12.73	49.31	132.75
椴竹 ( <i>B. textilis</i> var. <i>fasu</i> McClure)	2006-12-01	35.63	7.67	3.60	7.08	29.89	9.40	40.57	107.43
	2007-02-01	28.80	6.62	2.06	7.43	42.25	9.16	51.74	143.67
孝顺竹	2006-12-01	33.96	7.64	4.05	7.50	25.29	15.55	36.84	94.92
	2007-02-01	23.98	5.60	2.79	8.77	45.87	8.92	57.43	157.94
河边竹 ( <i>B. multiplex</i> (Lour.) Rausch. var. <i>strigosa</i> (Wen) Keng f.)	2006-12-01	33.20	6.09	3.38	7.99	31.30	11.90	42.68	113.27
	2007-02-01	27.41	5.46	2.77	6.38	36.89	12.01	46.04	126.19
小叶琴丝竹 ( <i>B. multiplex</i> (Lour.) Rauschel ex J. A. et J. var. <i>multiplex</i> cv. <i>Stripstem</i> Fendler, A. Young)	2006-12-01	33.51	5.11	5.26	8.05	24.96	16.74	38.27	96.24
	2007-02-01	30.87	4.82	4.73	7.81	30.70	15.75	43.24	112.45
鼓节竹 ( <i>B. tulkooides</i> cv. <i>Swollen in temode</i> )	2006-12-01	45.92	7.71	5.22	4.91	8.34	20.22	18.47	40.06
	2007-02-01	44.98	6.55	6.01	5.53	12.32	18.14	23.86	54.03
黄金碧玉竹 ( <i>B. vulgaris</i> cv. <i>Vitata</i> )	2006-12-01	41.09	5.91	11.33	4.40	8.37	19.85	24.10	45.24
	2007-02-01	36.72	5.09	11.13	4.89	9.15	24.64	25.17	48.36
金丝慈竹 ( <i>Neosinoackmus affinis</i> cv. <i>Viridiflavus</i> )	2006-12-01	37.09	7.16	7.07	7.45	16.84	15.81	31.36	72.49
	2007-02-01	28.56	5.71	5.28	8.40	34.56	12.76	48.24	125.76
苦绿竹 ( <i>Dendrocalanopsis basihirsuta</i> (McClure) Keng f. et W. T. Lin)	2006-12-01	37.73	5.25	5.59	6.50	21.18	17.77	33.27	82.13
	2007-02-01	32.17	5.68	3.60	4.52	34.58	12.96	42.69	116.36

注: 不饱和脂肪酸 (%) = 18.1% + 18.2% + 18.3%; UFA (Index of unsaturated fatty acid 不饱和脂肪酸指数) = [18.1% + (18.2% × 2 + (18.3%) × 3)] × 100.



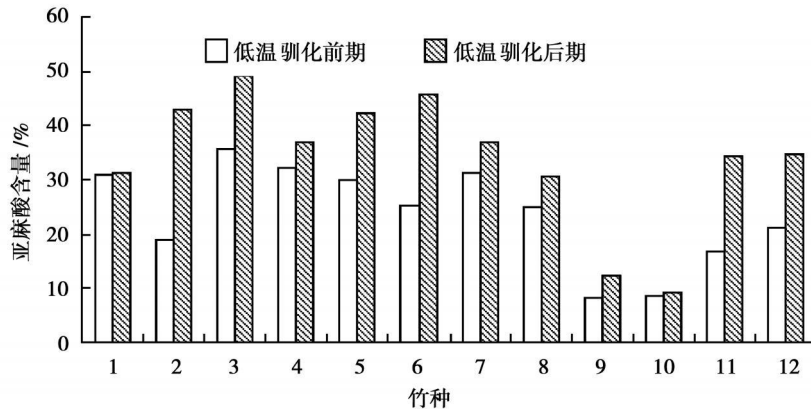
竹种编号: 1小佛肚竹, 2青皮竹, 3紫青皮竹, 4长毛米筛竹, 5椴竹, 6孝顺竹, 7河边竹, 8小叶琴丝竹, 9鼓节竹, 10黄金碧玉竹, 11金丝慈竹, 12苦绿竹

图 1 低温驯化前后永安大湖竹种园丛生竹种棕榈酸含量变化

### 2.3 低温驯化后丛生竹种不饱和脂肪酸指数与其耐寒性关系

由于多不饱和脂肪酸 (18:2, 18:3) 对脂肪酸不饱和度的贡献率相对较大, 可用脂肪酸不饱和指数 UFA 来衡量膜脂在低温下的流动性。因亚麻酸 (18:3) 在不饱和脂肪酸中所占比例较大, 故参试丛生竹

种 UFA 在低温驯化前后的变化趋势与其亚麻酸相对含量的变化趋势大体一致。不同丛生竹种之间在低温环境中所表现出来的脂肪酸不饱和指数存在着较大的差异 (表 1)。根据低温驯化后脂肪酸不饱和指数 (UFA) 的大小, 人为地把脂肪酸不饱和指数分成 3 个级别。分在一级 (UFA 143~163) 的包括紫



竹种编号: 1小佛肚竹, 2青皮竹, 3紫青皮竹, 4长毛米筛竹, 5椽竹, 6孝顺竹, 7河边竹, 8小叶琴丝竹, 9鼓节竹, 10黄金碧玉竹, 11金丝慈竹, 12苦绿竹

图 2 低温驯化前后永安大湖竹种园丛生竹种亚麻酸含量变化

青皮竹、孝顺竹、青皮竹、椽竹 4 个竹种, 分在二级 (UFA 112~143) 的有长毛米筛竹、河边竹、金丝慈竹、苦绿竹、小佛肚竹、小叶琴丝竹 6 个竹种, 分在三级 (UFA < 112) 的有鼓节竹、黄金碧玉竹 2 个竹种。不饱和脂肪酸相对含量较高的丛生竹种如孝顺竹、青皮竹、紫青皮竹、椽竹, 与不饱和脂肪酸相对含量较低的竹种如黄金碧玉竹、鼓节竹在田间的耐寒性表现有很大差异。孝顺竹、紫青皮竹等竹种是公认的耐寒性较强的丛生竹种之一, 而黄金碧玉竹、鼓节竹的耐寒性相对较弱。因此, 不饱和脂肪酸含量的高低可以作为评价丛生竹种耐寒的指标之一。本身具有较高的不饱和脂肪酸, 或在低温条件下不饱和脂肪酸相对含量大幅提高的竹种其耐寒性较强; 而耐寒性弱的竹种在越冬期间的不饱和脂肪酸含量及变化都相对较低。这说明低温驯化对于丛生竹种耐寒性的累积提高是一个关键过程。

低温锻炼后, 丛生竹叶片膜脂中棕榈酸、亚麻酸含量多少及其变化方向决定着不饱和度的大小, 可作为丛生竹膜脂脂肪酸中的抗寒指示性脂肪酸。许多植物种都存在着特有的抗寒指示性脂肪酸, 如在水稻 (*Oryza sativa* L.) 干胚膜中, 以亚油酸和油酸为抗寒指示性脂肪酸<sup>[14]</sup>, 而葡萄 (*Vitis* spp.) 茎膜以棕榈酸和亚油酸为抗寒指示性脂肪酸<sup>[15]</sup>。这说明在低温胁迫条件下, 丛生竹膜脂脂肪酸所发生的适应性变化具有区别于其他植物的生理代谢特征。

### 3 小结与讨论

(1) 丛生竹叶片中的脂肪酸组分主要由棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸和花生酸等组成, 其中饱和脂肪酸中以棕榈酸为主, 含量占总膜脂脂

肪酸的 23.98%~45.92%; 而不饱和脂肪酸中则以亚麻酸相对含量最高, 占总膜脂脂肪酸的 8.34%~49.31%。不同丛生竹种脂肪酸组成基本相同, 但各种脂肪酸相对含量存在较大差异。

(2) 丛生竹叶片中不饱和脂肪酸含量和 UFA 值随低温驯化而发生有规律性的变化。低温驯化条件下, 丛生竹种饱和脂肪酸相对含量降低而不饱和脂肪酸则相反, 使膜的相变温度降低, 流动性增加, 有利于提高竹种的耐寒性。

(3) 丛生竹经历低温驯化后其不饱和脂肪酸含量与其耐寒性关系密切, 不饱和脂肪酸含量的高低可以作为评价丛生竹种耐寒的指标之一。

(4) 本次测试的丛生竹种中, 籼竹属 (*Bambusa* Retz. corr. Schreber) 孝顺竹亚属 (*Subgen. Leleba* (Nakai) Keng f.) 和单竹亚属 (*Subgen. Lingnania* (McClure) Chia et H. L. Fung) 以及慈竹属 (*Neosinocalamus* Keng f.) 的部分竹种的不饱和脂肪酸相对含量及 UFA 值都相对较高。因此在今后的引种中应优先考虑耐寒性较强的属的丛生竹种; 在丛生竹引种栽培的北缘区, 可选择孝顺竹、椽竹、青皮竹、慈竹 (*N. affinis* (Rendle) Keng f.) 等竹种, 并通过耐寒锻炼可有效提高其耐寒能力, 解决丛生竹北移的问题。

### 参考文献:

- [1] 朱石麟, 马乃训, 傅懋毅. 中国竹类植物图志 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1994: 8-9
- [2] 苏护春. 永安大湖竹种园丛生竹冻害情况的调查与分析 [J]. 华东森林经理, 2006, 20(4): 20-22
- [3] 纪成据. 1999年福建遭受极端低温冻害丛生竹调查分析 [J]. 福建林学院学报, 2002, 22(3): 278-282

- [ 4 ] 孙 鹏, 吴越华, 马光良, 等. 四川秦巴山区引种丛生竹冻害初报 [ J ]. 世界竹藤通讯, 2006 4(2): 14- 17
- [ 5 ] Kasano K, Kagita F, Yamaniishi H, *et al*. Low temperature induced changes in the thermotropic properties and fatty acid composition of the plasma membrane and tonoplast of cultured rice (*Oryza sativa* L.) cells [ J ]. *Plant and Cell Physiology*, 1992, 33: 609- 616
- [ 6 ] Lyons J M, Wheaton T A, Pratt H K. Relationship between the physical nature of mitochondrial membranes and chilling sensitivity in plants [ J ]. *Plant Physiology*, 1964, 39: 262- 268
- [ 7 ] St John J B, Christiansen M N. Inhibition of linolenic acid synthesis and modification of chilling resistance in cotton seedlings [ J ]. *Plant Physiology*, 1976, 57: 257- 259
- [ 8 ] Yoshida S. Chemical and biophysical changes in the plasma membrane during cold acclimation of mulberry bark cells (*Morus bombycis* Koiz. cv Goroji) [ J ]. *Plant Physiology*, 1984, 76: 257- 265
- [ 9 ] 王 萍, 张成军, 陈国祥, 等. 低温对水稻幼苗类囊体膜脂肪酸组分和膜脂过氧化的影响 [ J ]. *中国水稻科学*, 2006 20(4): 401- 405
- [ 10 ] 林 萍, 齐力旺, 汪阳东, 等. 植物耐寒工程中脂肪酸去饱和酶研究进展 [ J ]. *分子植物育种*, 2006, 4(3): 404- 410
- [ 11 ] 刘秋芳, 张旭东, 周金星, 等. 我国竹子耐寒性研究进展 [ J ]. *世界林业研究*, 2006 19(5): 59- 62
- [ 12 ] 刘国华, 栾以玲, 张艳华. 自然状态下竹子的耐寒性研究 [ J ]. *竹子研究汇刊*, 2006 25(2): 10- 14
- [ 13 ] 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(3): 54- 60
- [ 14 ] 王洪春, 汤章城, 苏维埃, 等. 水稻干胚膜脂脂肪酸组分差异性分析 [ J ]. *植物生理学报*, 1980, 6(3): 227- 236
- [ 15 ] 邓令毅, 王洪春. 葡萄的膜脂和脂肪酸组分与抗寒性关系研究 [ J ]. *植物生理学报*, 1982 8(3): 273- 283