文章编号:1000-7601(2023)06-0072-07

**doi**:10.7606/j.issn.1000-7601.2023.06.08

# 盐碱胁迫下产 ACC 脱氨酶促生菌 对绿豆叶片脂质代谢的影响

李 鑫1,张美珍1,郑翘楚1,刘 权2,黄玉兰2,殷奎德1

(1.黑龙江八一农垦大学农学院,黑龙江大庆163319; 2.黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院,黑龙江大庆163319)

摘 要:为探讨盐碱胁迫下产 ACC 脱氨酶促生菌对绿豆叶片脂质代谢的影响,采用液相色谱质谱联用技术分析 盐碱胁迫下接种产 ACC 脱氨酶促生菌(DQJC1)后绿豆叶片内脂类代谢产物的变化。结果表明:盐碱胁迫下接种 DQJC1 可以促进绿豆生长,显著提高了绿豆植株的株高(34.87%)、地上部鲜质量和干质量(44.07%和46.43%)、地 下部鲜质量和干质量(30.56%和23.68%)及叶绿素含量(41.61%)。同时在绿豆叶片中共筛选到61个具有显著性差 异的代谢产物,其中包括32种甘油磷脂类、14种固醇类、4种甘油糖脂类、3种鞘脂类和8种其他脂类;其中上调的 代谢物主要为甘油磷脂(PC、PG、LPC、PI、PE、LPG)、甘油糖脂(SQDG47:11)及鞘脂(CerG1d18:2/16:0+O),下调 的代谢物主要为固醇(TG),甘油糖脂(SQDG:16:0/16:0)及鞘脂(CerG1d34:2+O)。KEGG 通路富集分析发现筛 选出的差异代谢物中有6种代谢物被富集到9条代谢通路中,包括甘油磷脂代谢通路、甘油脂代谢通路、自噬性溶酶 体代谢通路、糖基磷脂酰肌醇代谢通路、醚脂质代谢通路、亚油酸代谢通路、磷脂酰肌醇代谢通路、α-亚油酸代谢通 路和花生四烯酸代谢通路。

# Effects of ACC deaminase-producing bacteria on lipid metabolism of mung bean leaves under saline stress

LI Xin<sup>1</sup>, ZHANG Meizhen<sup>1</sup>, ZHENG Qiaochu<sup>1</sup>, LIU Quan<sup>2</sup>, HUANG Yulan<sup>2</sup>, YIN Kuide<sup>1</sup>

(1. College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China;
2. College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China)

**Abstract**: To investigate the effects of ACC deaminase bacteria under saline stress on the lipid metabolism of mung bean leaves, liquid chromatography mass spectrometry was used to analyze the changes of lipid metabolites in the leaves of ACC (DQJC1). It was found that DQJC1 inoculation under saline stress promoted the growth of mung bean, which significantly increased the plant height (34.87%), aboveground parts fresh weight (44.07%) and 46.43%, underground partsdry weightof mung bean plants (30.56%) and 23.68% in the chlorophyll content (41.61%). At the same time, 61 metabolites with significant differences (P < 0.05) were selected, including 32 glycerophospholipids, 14 sterols, 4 glycerol lipids, 3 sphingolipids and 8 other lipids. The upregulated metabolites were glycerol phospholipids (PC, PG, LPC, PI, PE, LPG), glycerol lipids (SQDG47 : 11) and sphingolipids (CerG1d18 : 2/16 : 0+0). The upregulated metabolites were mainly sterols (TG); glycerol glucolipids (SQDG : 16 : 0/16 : 0) and sphingolipids (CerG1d34 : 2+0). KEGG pathway enrichment analysis found that six of the selected differential metabolites were enriched in 9 metabolic pathway, glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor biosynthesispathway, ether lipid metabolismpathway, linoleic acid metabolismpathway, phosphatidylinositol signaling systempathway, alpha-linolenic acid metabolismpathway and arachidonic acid metabolism pathway.

**基金项目**:黑龙江八一农垦大学研究生创新科研项目(YJSCX2021-Y61);黑龙江省自然科学基金项目(LH2021C064) 作者简介:李鑫(1998-),女,黑龙江鹤岗人,硕士研究生,研究方向为寒地作物逆境生理生态。E-mail:762404958@qq.com 通信作者:殷奎德(1964-),男,黑龙江虎林人,教授,主要从事作物逆境生理研究。E-mail:yinkuide@163.com

收稿日期:2023-02-03 修回日期:2023-03-08

Keywords: mung bean seedling; salt-salinity stress; producing ACC deaminase promoting bacteria; lipid metabolism

盐碱胁迫是影响我国农业发展和生产的主要 非生物胁迫之一,土壤中的高浓度盐和高 pH 值会 使植物体内渗透势改变、离子浓度失衡、植物体内 代谢紊乱、细胞膜严重受损等现象,这些不利因素 将抑制植物的生长发育,甚至直接导致植物死 亡<sup>[1-2]</sup>。构成细胞中生物膜的主要脂质为磷脂、糖 脂和固醇<sup>[3]</sup>。在植物细胞中,甘油磷脂和甘油糖脂 是细胞中磷脂和糖脂的主要成分,在植物细胞器中 甘油磷脂无处不在,而甘油糖脂则仅存在于叶绿体 中的类囊体膜上,是其所特有的成分,因此甘油糖 脂与植物的光合作用息息相关,Liu 等<sup>[4]</sup>发现盐胁 迫下水稻叶片中糖脂含量下降,叶绿素含量显著 降低。

除了以甘油为基础的脂质外,胁迫条件下鞘脂 和固醇的作用也逐渐受到关注。据报道,鞘脂对维 持细胞基本功能至关重要,并在程序性细胞死亡信 号传导中发挥核心作用<sup>[5]</sup>。Guilla 等<sup>[6]</sup>发现,拟南 芥幼苗在低温胁迫下脂质总量显著下降,主要表现 为膜鞘脂类的下降;而植物体内固醇含量的变化可 能与植物抗逆性相关,有研究表明耐盐植物的细胞 膜富含固醇,而不耐盐的品种固醇含量较低<sup>[7-8]</sup>,可 见植物脂质对在植物生长发育及提高植物抗逆性 方面可能发挥着重要作用。

近年来,通过接种植物根际促生菌(PGPR)来 帮助植物抵御盐碱胁迫逐渐成为研究热点。有研 究表明,PGPR 可以通过调节 Na<sup>+</sup>流出、参与诱导植 物抗氧化水平、提高光合效率等多种植物生理活动 来缓解盐碱胁迫给植物带来的伤害<sup>[9]</sup>。PGPR 通常 具有多种促生功能,如固氮、产铁载体、溶磷、产植 物激素(如 IAA)和合成 ACC 脱氨酶等<sup>[10]</sup>。ACC 脱 氨酶产生菌可以将乙烯前体 ACC 分解成 α-酮丁酸 盐和氨,降低植物根内的乙烯浓度,从而缓解胁迫 乙烯对植物生长的不利影响[11-12]。有研究表明,产 ACC 脱氨酶促生菌可以提高绿豆的耐盐碱能力,但 大多数研究都旨在阐明该种菌对盐碱胁迫下绿豆 表型和酶活性的影响[13-15],对盐碱胁迫下绿豆叶片 中脂质代谢的影响还未见报道。本研究利用代谢 组学技术,研究了盐碱胁迫下接种产 ACC 脱氨酶促 生菌对绿豆叶片中脂质代谢的影响,筛选出具有显 著差异的代谢产物,并将这些差异代谢物富集到不 同的代谢通路中去,为揭示 ACC 脱氨酶促生菌提高 绿豆耐盐碱能力的作用机制奠定基础。

# 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 菌株来源 本试验所用的产 ACC 脱氨酶促 生菌(DQJC1)由黑龙江八一农垦大学植物微生物互 作实验室提供,自大庆地区盐碱土中筛选获得,该 菌为假单胞菌属(*Pseudomonas*),产 ACC 脱氨酶能 力为 8.147 U·mg<sup>-1</sup>;该菌具有较强的耐盐碱能力, 可在 pH 值为 11 且 NaCl 浓度为 10% 的 LB 培养基 中生长。

1.1.2 绿豆品种 种植绿豆品种为'小明绿',由国家杂粮工程技术中心提供。

 1.1.3 种植土 用于绿豆盆栽试验的土壤采集自 大庆市植被生长较好的盐碱地草原,土壤 pH 值
 8.46,碱解氮、速效钾和有效磷含量分别为 212.80、
 327.00、13.30 mg・kg<sup>-1</sup>,有机质含量为 41.80 g・kg<sup>-1</sup>,属轻度盐碱土。

1.2 方法

1.2.1 菌液的制备 在先前的试验中发现,当接种 所用的菌株稀释液浓度为 10<sup>7</sup> CFU · mL<sup>-1</sup>时,绿豆 的生根情况最好,因此本试验所用的菌株稀释液浓 度选择 10<sup>7</sup> CFU · mL<sup>-1[16]</sup>。将菌株 DQJC1 接种于 LB 液体培养基,于温度 28℃、转速 175 r · min<sup>-1</sup>条 件下振荡培养 24 h,用无菌水调节细菌数至 10<sup>7</sup> CFU · mL<sup>-1</sup>。

1.2.2 种植条件 绿豆种植试验设1个处理组(T) 和1个对照组(CK),每组4次重复,处理组接种菌 株 DQJC1,对照组加入等量培养基稀释液。将种植 土装入31 cm×25 cm方槽中,每个方槽装7.5 kg 盐 碱土,绿豆种子经次氯酸钠消毒播种,播种密度为 每槽50 株,播种后按照500 ml·盆<sup>-1</sup>的接种量浇灌 菌株稀释培养液,置于室外培养。出苗15 d 后补接 菌液1次,接种量为上一次的50%,适时浇灌等量蒸 馏水。待绿豆生长至30 d 时(此时绿豆植株已长出 两片真叶和三片复叶),剪下绿豆植株完整的两片 真叶用液氮速冻后转存至-80℃储存。

1.2.3 植株生长生理指标测定 绿豆生长 30 d 后, 分别从对照组和处理组中选择长势均匀一致的 15 株绿豆植株,统计植株的株高、地上及地下部分的 干质量和鲜质量;用叶绿素仪(型号为 YT-YA,云唐 智能科技有限公司,山东),测定叶绿素相对含量 SPAD 值。 1.2.4 脂质代谢物提取方法 称取 50 mg 叶片样品 加入 300 μL 甲醇-水后研磨;加入 300 μL 氯仿涡旋 震荡 30 s,超声提取 10 min, -20℃静置 20 min;离心 10 min(13 000 r·min<sup>-1</sup>,4℃)取 200 μL 下层氯仿层 装入液相色谱质谱进样瓶中;在取完下层溶液的离 心管中继续加入 300 μL 氯仿-甲醇,涡旋振荡 30 s, 冰水浴超声提取 10 min; -20℃静置 20 min,离心 10 min(3 000 r·min<sup>-1</sup>,4℃),取 200 μL 下层氯仿层, 在液相色谱质谱进样瓶中挥干溶剂;挥干后的脂质 残渣用异丙醇-甲醇复溶,将溶液转移至 EP 管中,-20℃静置 2 h;离心 10 min(13 000 rpm,4℃),取上 清液用于液相色谱质谱(LC-MS)分析。

1.2.5 LC-MS 分析 色谱条件:液相色谱仪型号为 ACQUITY UPLC I-Class plus(沃特世科技有限公司,上海),试验柱温为 55℃;流动相 A 为乙腈:水 =6:4(v:v,含 10mmol・L<sup>-1</sup>乙酸铵,0.1%甲酸); 流动相 B 为异丙醇:乙腈=9:1(v:v,含 10 mM 乙酸铵,0.1%甲酸);流速为 0.26 mL・min<sup>-1</sup>;进样 量为 2 μL。

质谱条件:分别采用加热电喷雾电离(HESI-Positive)正离子和负离子模式进行检测。样品经 Dionex U3000 UHPLC(Thermo Scientific<sup>™</sup>)分离后采用 Q Exactive Plus(Thermo Scientific<sup>™</sup>)进行质谱分析。

#### 1.3 数据处理

LC-MS 的原始数据经 Analysisbasefileconvert 软件转换格式后导入 MS-DIAL 软件进行预处理,利用主成分分析 PCA、正交偏最小二乘法分析(OPLS-DA)等多元统计分析和 T 检验筛选组间的差异代谢物。差异代谢物通过 KEGG 数据库(https://www.kegg.jp/)比对并注释。

# 2 结果与分析

# 2.1 菌株 DQJC1 对盐碱胁迫下绿豆生长指标的 影响

盐碱胁迫下接种 DQJC1 后,对绿豆的生长指标 进行测定,结果见表 1。绿豆的株高、地上及地下部 分鲜质量、地上及地下部分干质量和叶绿素含量得 到显著提高,分别增加了 34.89%、30.84%、29.83%、 47.42%、25.33%和 41.61%。由此可知,菌株 DQJC1 提高了绿豆在盐碱胁迫下的抗性,促进绿豆生长。

#### 2.2 绿豆植株叶片主成分分析

采用 PCA 法对两组样本的数据进行多维统计分析(图1A),两组样本均处于 95%置信区间内,CK 和 T 处理样本的 PCA 散点组间被很好地区分开,说明对两组样本数据处理是可信的,组间差异明显,两组样本的分布各自较为聚集。

#### 表 1 菌株 DQJC1 对绿豆植株生长的影响

处理     株高/cm     茎叶鲜质量/g     根鲜质量/g     茎叶干质量/g     根干质量/g     叶绿素含量       Treatment     Stem length     Fresh weight of stems and leaves     Root fresh     Dry weight of stems     Root dry     Chlorophyll content									
	处理 Treatment	株高/cm Stem length	茎叶鲜质量/g Fresh weight of stems and leaves	根鲜质量/g Root fresh weight	茎叶干质量/g Dry weight of stems and leaves	根干质量/g Root dry weight	叶绿素含量 Chlorophyll content (SPAD)		
CK 10.21±0.34 0.59±0.04 0.36±0.015 0.056±0.003 0.038±0.002 22.88±0.69	СК	$10.21 \pm 0.34$	$0.59 \pm 0.04$	$0.36 \pm 0.015$	$0.056 \pm 0.003$	$0.038 \pm 0.002$	22.88±0.69		
DQJC1 13.77±0.40* 0.85±0.034* 0.47±0.023* 0.082±0.008* 0.047±0.004* 32.40±1.19*	DQJC1	$13.77 \pm 0.40$ *	0.85±0.034*	$0.47 \pm 0.023$ *	$0.082 \pm 0.008$ *	$0.047 \pm 0.004$ *	32.40±1.19*		

m 11 1	T100	• . •	DOIGI	.1	.1	c	1	1 .
Table 1	Effects of	t strain	DQJCI	on th	e growth	of mung	bean	plant

注:表中数据为'平均值±标准误',\*代表差异水平显著(P<0.05)。

Note: The data in the table is "mean  $\pm$  standard error". \* represents a significant difference level (P < 0.05).



图 1 盐碱胁迫下接种 DQJC1 的绿豆叶片(T)与对照组(CK)代谢产物 PCA 散点图(A)与 OPLS-DA 散点图(B) Fig.1 Scatter plot of PCA of mung bean leaves(T) and control (CK) metabolites vaccinated with DQJC1 under saline stress(A) and OPLS-DA scatter diagram(B)

OPLS-DA 模型是有监督的判别分析统计方法, 可滤除与分类信息无关的噪音,最大化地凸显组别 间的差异,能增强在 PCA 分析中观察到的组间分离 情况(图1B)。OPLS-DA 模型显示两组样本均处于 95%置信区间内,CK 组和 T 组样本沿中心轴明显分 开,组间样本分散,表明组间代谢物水平差异显著, 同时两组样本分布各自较为聚集,通过 PCA 及 OPLS-DA 模型表明对照组和处理组样品代谢物有 明显差异。

选择部分样本作为交互验证,发现原模型 R<sup>2</sup>的 纵坐标非常接近 1,说明建模符合样本数据的真实 情况;Q<sup>2</sup>表示模型的可预测性,两组样本之间存在 明显差异;同时 Q 的回归线与纵轴的截距在 0 以 下,体现了原模型具有良好的稳定性(图 2)。



DQJC1(CK) under saline stress

#### 2.3 绿豆植株叶片脂质差异代谢物筛选

盐碱胁迫下接种产 ACC 脱氨酶菌株的绿豆样 本与对照样本中一共筛选出 498 种差异代谢的产 物,其中上调的代谢物有 395 个、下调的代谢物为 103 个。OPLS-DA 分析中,变量权重值(Variable important in projection, VIP)大于 1 的代谢物被认为 是差异代谢物。采用 OPLS-DA 方法对 CK 组和 T 组进行分析,结合 VIP 值(>1),独立样本 t 检验 P< 0.05,与标准库中物质的匹配度在 80%以上寻找差 异代谢物,并绘制火山图。由图 3 可知,盐碱胁迫下 接种产 ACC 脱氨酶菌株后绿豆叶片中共有 61 个具 有显著性差异(P<0.05)的代谢产物,其中 32 个代 谢物为甘油磷脂类、7 个代谢物为耳他脂类,上调代 谢物为甘油糖脂类、7 个代谢物为其他脂类,上调代

根据 VIP 值及差异倍数整理了 61 个显著差异

代谢物中上调和下调排行前10位的代谢物(表2), 总体来看,盐碱胁迫下土壤接种DQJC1后,绿豆叶 片中上调的脂质代谢产物有硫代异鼠李糖基单酰 基甘油(SQDG47:11)、磷脂酰乙醇(PEt)、卵磷脂 (PC)、磷脂酰甘油(PG)、溶血磷脂酰胆碱(LPC)、 磷脂酰肌醇(PI)、糖鞘脂(CerG1d18:2/16:0+ O);下调的代谢产物有硫代异鼠李糖基单酰基甘油 (SQDG16:0/16:0)、糖鞘脂(CerG1d34:2+O)、 甘油三酯(TG)、磷脂酰甲醇(PMe)、磷脂酸(PA), 虽然有不同分子组成的SQDG和CerG1 表现出下调 趋势,但从总量来看SQDG和CerG1呈上调趋势。

#### 2.4 绿豆植株叶片脂质差异代谢通路分析

利用 KEGG 数据库对绿豆叶片脂类差异代谢 物富集的通路进行分析,应用超几何检验,找出与 整个背景相比发生显著变化的代谢通路条目(图 4),61 种显著差异代谢物中有 6 种被注释到 9 个代 谢通路中,改变的代谢通路包括甘油磷脂代谢通 路、甘油酯代谢通路、自噬性溶酶体代谢通路、糖基 磷脂酰肌醇代谢通路、醚脂质代谢通路、亚油酸代 谢通路、磷脂酰肌醇代谢通路、α-亚油酸代谢通路 和花生四烯酸代谢通路,变化最显著的为花生四烯 酸代谢通路,富集到该通路的代谢物为卵磷脂;代 谢物富集最多的通路为甘油磷脂代谢通路,富集到 该通路的代谢物为卵磷脂、磷脂酰乙醇胺、溶血磷 脂酰胆碱、磷脂酸。

### 3 讨 论

脂质对维持植物在盐碱胁迫下的正常生长有 重要作用,有研究表明,在不耐盐的植物中,盐碱胁 迫会导致细胞膜中的电解质外渗,总脂含量降低, 细胞膜的完整性丧失,而耐盐的植物中脂质含量则 受盐碱胁迫影响较小[17]。植物细胞膜中的甘油脂 是植物细胞中的结构分子和信号分子,在胁迫条件 下,植物器官中甘油磷脂的数量和种类会发生改 变。如 Salama 等<sup>[18]</sup>发现,在盐胁迫下,耐盐玉米品 种根中的甘油磷脂含量比不耐盐的玉米品种高出 1.7倍,这表明甘油磷脂含量与植物耐盐性呈正相 关。在腰果幼苗中也有类似的发现,耐盐品种的甘 油磷脂含量占总脂质含量的比例明显高于不耐盐 品种<sup>[19]</sup>。另外,叶绿体内膜中甘油磷脂的合成对光 合作用非常重要,如 PG 在类囊体膜光合系统功能 中起着关键作用。PG 被认为是光合作用中唯一必 需的脂质,而其他脂质都可以由糖脂替代<sup>[20]</sup>。 Bejaoui 等<sup>[21]</sup>通过电镜观察到盐胁迫下甘蓝叶片中 PG 含量显著下降,可能是类囊体膜超微结构受损的

#### 表 2 盐碱胁迫下接种 DQJC1 后绿豆叶片中脂质上、下调排名前 10 位的代谢物

	Table 2 Top 10 lipi	d-and downregu	lated metabolites in m	ung bean le	eaves after I	OQJC1 inoc	ulation uno	ler saline st	ress
序号 Number	代谢物 Metabolite	缩写 Abbreviation	分类 Classification	质荷比 m∕z	保留时间 Rt/min	变量投影 重要度 VIP	P值 P value	差异倍数 FC	趋势 Trend
1	硫代异鼠李糖基 单酰基甘油酯 Thiotopicrhamnose group monoacylglycerides	SQDG (47:11)	甘油糖脂类 Glycerol sugar lipids	981.58	5.38	6.04	0.0286	0.68	
2	磷脂酰乙醇 Phosphatidylethanol	PEt (18:3/24:7)	其他脂类 Other lipids	797.51	5.71	4.70	<0.001	0.50	
2	卵磷脂	PC(34:2)		758.57	6.47	4.10	0.002	0.34	
3	Phosphatidylcholine	PC(35:3)	甘油磷脂类	738.53	6.22	3.03	0.023	0.65	
4		PC(36:2)	Glycerophospholipids	770.57	6.45	2.43	<0.001	0.50	上调
5	溶血磷脂酰胆碱	PC(34:1)		786.60	6.98	2.09	0.005	0.46	Up
6 7	Lyso-phosphatidylcholine	LPC(16:0)	甘油磷脂类 Glycerophospholipids	496.34	2.06	2.02	<0.001	0.30	regulation
8	磷脂酰肌醇 Phosphatidylinositol	PI (26:6/16:0)	甘油磷脂类 Glycerophospholipids	939.60	6.47	1.99	<0.001	0.61	
9	糖鞘脂 Glycosphingolipid (	CerG1 d18 : 2/16 : 0+0)	鞘脂类 Sphingolipid	714.55	6.10	1.97	0.042	0.88	
10	磷脂酰甘油 Phosphatidyl glycerol	PG (16:0/16:1)	甘油磷脂类 Glycerophospholipids	760.58	6.88	1.87	0.025	0.54	
11	硫代异鼠李糖基 单酰基甘油酯 Thiotopicrhamnose group monoacylglycerides	SQDG (16:0/16:0)	甘油糖脂类 Glycerol sugarlipids	793.51	6.29	5.10	0.003	1.58	
12	TG(	18:3/18:2/18:	3)	892.74	9.17	4.12	<0.001	1.42	
13	甘油三酯 TG(	18:3/18:2/18:2		661.48	6.65	3.95	0.015	1.63	
14	Glycerin TG(	18:1/18:2/18:2	3) DIFI指尖 Storoid linida	894.75	9.46	3.89	<0.001	1.63	
15	trilaurate TG(	18:0/18:2/18:	3)	661.48	6.64	3.81	0.027	1.61	下油
16	TG(	16:0/18:2/18:	3)	896.77	9.75	3.75	<0.001	1.98	下 师 Down
17	磷脂酸 Phosphatidate	PA (16:0/17:0)	甘油磷脂类 Glycerophospholipids	898.79	10.02	2.59	<0.001	2.07	regulation
18	糖鞘脂 Glycosphingolipid	CerG1 (d34:2+0)	鞘脂类 Sphingolipid	736.53	6.07	2.59	0.015	2.11	
19	磷脂酰甲醇 Phosphatidyl methanol	PMe (16:0/16:0)	其他脂类 Other lipids	870.75	9.69	2.59	0.023	1.46	
20	溶血磷脂酰甘油 Lysophosphatidyl glycerol	LPG (16:1)	甘油磷脂类 Glycerophospholipids	481.26	1.72	2.50	0.002	0.55	

原因;也有研究表明,盐胁迫下耐盐植物营养器官中 PG含量会显著增加<sup>[22]</sup>。本研究中,盐碱胁迫下接种 DQJC1后,绿豆叶片中总甘油磷脂的含量上调,表明 接种 DQJC1可能提高了绿豆植株的耐盐碱能力,PG 的上调以及叶绿素含量的增加说明接种 DQJC1可以 保护绿豆叶片在盐碱胁迫下的光合功能。

甘油糖脂也与植物光合作用密切相关, SQDG 是唯一发现的只与光合膜相关的糖脂物种<sup>[23]</sup>。许 多研究表明,植物中 SQDG 的积累通常与植物的耐 盐性有关<sup>[24-25]</sup>。耐盐植物细胞膜中 SQDG 水平的 提高能维持植物中蛋白质与脂质的平衡,确保植物 在高盐条件下光合作用的稳定性<sup>[26]</sup>。尽管 SQDG 是一个含量较低的糖脂物种,但它的上调可能是提 高植物耐盐性所必需的。本研究中显著上调的差 异代谢物排名第一的物质就是 SQDG, 虽然有其他 不同分子结构的 SQDC 有下调趋势,但总体来看接种 DQJC1 后绿豆叶片中 SQDC 的含量呈上调趋势, SQDC 含量的提高保证了绿豆叶片在盐碱胁迫条件下的正常光合作用。

除了以甘油为基础的脂质外,胁迫下鞘脂和固醇的变化也越来越受到关注。据报道,鞘脂对基本 细胞功能至关重要,其是膜的一般成分,影响膜的 完整性和通透性<sup>[27]</sup>。鞘脂在植物非生物胁迫下信 号转导中的作用是近年来研究的热点。例如,拟南 芥幼苗低温胁迫导致脂质总量显著下降,主要表现 为膜鞘脂类的下降<sup>[28]</sup>。本研究中共检测出两种不 同分子组成的糖鞘脂(CerG1),其中一种 CerG1 (d18:2/16:0+0)呈上调趋势,另一种 CerG1(d34 :2+0)呈下调趋势,但总含量保持相对增加。另 外,高等植物细胞中也含有大量的固醇,现在不仅 关注固醇的结构作用,而且对其在植物细胞膜中的 调节作用表现出极大的兴趣。例如,β-谷固醇和菜 油固醇在膜内脂肪酸链的排列中起着重要的作用, 其影响着细胞膜水和离子的通透性以及细胞膜蛋 白的活性<sup>[29]</sup>。甘油三酯(TG)又称为三脂酰甘油 (TAG),是植物油脂的主要成分,有研究表明在非 生物胁迫下植物营养组织中的TG会大量积 累<sup>[30-31]</sup>。在衰老的植物叶片中也经常观察到TG的 大量积累<sup>[32]</sup>。因此植物中TG的积累可能与植物 抗逆性相关。本研究中,盐碱胁迫下接种 DQJC1 后 绿豆叶片中TG含量显著下调,在30种显著下调的 差异代谢物中,有12种为不同分子组成的TG,表明 接种 DQJC1 增强了盐碱胁迫下绿豆的抗逆性。

KEGG 通路分析发现绿豆叶片脂类差异代谢物 主要富集在9条代谢通路中,富集到这9条代谢通 路的6种代谢物分别为卵磷脂、磷脂酸、溶血磷脂酰 胆碱、磷脂酰乙醇胺、甘油三酯及磷脂酰肌醇。在9 个差异代谢通路中,显著性排名第一的是花生四烯 酸代谢通路,富集到该通路的代谢物为卵磷脂,虽 然本研究中没有检测到花生四烯酸含量有显著变 化,这可能是因为植物细胞中游离的花生四烯酸含



注:散点大小代表 OPLS-DA 模型的 VIP 值;红色点表示代谢 物含量增加;蓝色点表示代谢物含量降低;灰色点表示代谢物含量 无显著差异。

Note: The scatter size represents the VIP value of the OPLS-DA model; red points indicate increased metabolite content; blue points indicate decreased metabolite content; and gray points indicate no significant difference in metabolite content.

#### 图 3 正/负离子模式数据火山图

Fig.3 Volcano plots of the positive / negative ion patterns data



注:图中每个图形为一个 KEGG 通路,纵坐标为 KEGG 通路名称,横坐标为富集因子,大小表示数量多少,颜色 越红 P/Q 值越小。

Note: Each figure in the figure is a KEGG pathway, the ordinate is the KEGG pathway name, the abscissa is the en-

richment factor, the size indicates the number of ways, the red the color, the smaller the P/Q value.

图 4 盐碱胁迫下接种 DQJC1 后绿豆叶片中差异脂质代谢通路气泡图

Fig.4 Bubble diagram of differential lipid metabolism pathway in mung bean leaves after DQJC1 inoculation under saline stress

量较少,绝大多数都结合在植物细胞膜磷脂中(如 肌醇磷脂、卵磷脂)<sup>[33]</sup>。卵磷脂是植物细胞膜的主 要成分之一,与植物抗逆性息息相关。有研究发 现,对耐盐番茄品种进行愈伤组织培养,发现细胞 膜中的卵磷脂含量显著增加<sup>[34]</sup>。Mansour等<sup>[35]</sup>也 发现,添加卵磷脂生物合成的关键底物胆碱可以提高小麦的耐盐性。本研究中,接种 DQJC1 后绿豆叶 片中的卵磷脂也富集到甘油磷脂代谢、亚油酸代 谢、α-亚油酸代谢通路中,参与了多条代谢通路。 通过检测接种 DQJC1 后绿豆叶片中的差异脂质代 谢物,并分析这些化合物参与的代谢途径,为后续 研究提高绿豆抗逆性及产 ACC 脱氨酶促生菌的促 生机制提供参考。

# 4 结 论

盐碱胁迫下接种产 ACC 脱氨酶促生菌 DQJC1 可以促进绿豆生长,增加绿豆植株的株高、地上和 地下部分的鲜质量及干质量、叶绿素含量;绿豆叶 片中共鉴定出 61 种显著差异脂质代谢物(上调 31 个、下调 30 个),其中 6 个显著差异代谢物被富集到 9 条代谢通路中。变化最显著的为花生四烯酸代谢 通路,富集到该通路的代谢物为卵磷脂;代谢物富 集最多的通路为甘油磷脂代谢通路。接种 DQJC1 后绿豆叶片中总甘油磷脂(PC、PG、LPC、PI、PE、 LPG)、甘油糖脂(SQDG)及鞘脂(CerG1)含量表现 为上调;固醇(TG)含量表现下调,说明接种 DQJC1 可以改善绿豆脂类代谢从而提高绿豆的耐盐碱 能力。

#### 参考文献:

- PANTA S, FLOWERS T, LANE P, et al. Halophyte agriculture: success stories[J]. Environmental and Experimental Botany, 2014, 107: 71-83.
- [2] RAHNESHAN Z, NASIBI F, MOGHADAM A A. Effects of salinity stress on some growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (*Pistaciavera* L.) rootstocks [J]. Journal of Plant Interactions, 2018, 13(1): 73-82.
- [3] 姚楠. 植物脂质生物学进展[J]. 植物生理学报, 2018, 54 (12): 1747.
  YAO N. Advances in plant lipid biology[J]. Plant Physiology Communications, 2018, 54(12): 1747.
- [4] LIU D X, PEI A W, ZHANG R, et al. Photosynthetic rate of function leaf of strong gluten wheat with nitrogen, phosphorus, potassium fertilizer management in the semi-moisten farm ecological region [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2007, 27(4); 761-768.
- [5] 戴光义, 王铃艳, 黄骊群, 等. 植物鞘脂结构、代谢和功能的研究 进展[J]. 植物生理学报, 2018, 54(12): 1748-1762.
  DAI G Y, WANG L Y, HUANG L Q, et al. Research advances in plant sphingolipid structures, metabolisms and functions [J]. Plant Physiology Communications, 2018, 54(12): 1748-1762.
- [6] GUILLAS I, GUELLIM A, REZÉ N, et al. Long chain base changes triggered by a short exposure of *Arabidopsis* to low temperature are altered by AHb1 non-symbiotic haemoglobin overexpression [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 63: 191-195.
- [7] KERKEB L, DONAIRE J P, VENEMA K, et al. Tolerance to NaCl induces changes in plasma membrane lipid composition, fluidity and H<sup>+</sup>-ATPase activity of tomato calli[J]. Physiologia Plantarum, 2001, 113(2): 217-224.
- [8] BLITS K C, GALLAGHER J L. Effect of NaCl on lipid content of plasma membranes isolated from roots and cell suspension cultures of the dicot halophyte *Kosteletzkya virginica* (L.) Presl [J]. Plant Cell Reports, 1990, 9(3): 156-159.

- [9] MISRA S, DIXIT V K, KHAN M H, et al. Exploitation of agro-climatic environment for selection of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase producing salt tolerant indigenous plant growth promoting rhizobacteria[J]. Microbiological Research, 2017, 205: 25-34.
- [10] WANG W F, WU Z S, HE Y H, et al. Plant growth promotion and alleviation of salinity stress in *Capsicum annuum* L. by *Bacillus* isolated from saline soil in Xinjiang[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 164: 520-529.
- [11] RAVANBAKHSH M, SASIDHARAN R, VOESENEK L A C J, et al. Microbial modulation of plant ethylene signaling: ecological and evolutionary consequences[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 52.
- [12] GAMALERO E, GLICK B R. Bacterial modulation of plant ethylene levels[J]. Plant Physiology, 2015, 169(1): 13-22.
- [13] WANG Q Y, DODD I C, BELIMOV A A, et al. Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase growth and photosynthesis of pea plants under salt stress by limiting Na<sup>+</sup> accumulation [J]. Functional Plant Biology, 2016, 43 (2): 161-172.
- [14] 王艳宇,向君亮,周妍,等.耐盐碱细菌 DQSA1 的分离鉴定及盐 碱胁迫下对绿豆的促生作用[J].微生物学通报,2021,48(8): 2653-2664.
  WANG Y Y, XIANG J L, ZHOU Y, et al. Isolation and identification of saline-alkali tolerance bacteria DQSA1 and its growth-promoting effect on mung bean under saline-alkali stress [J]. Microbiology,

2021, 48(8); 2653-2664.

- [15] 王艳宇,刘爽,李鑫,等.3 株耐盐碱促生菌对绿豆根际微生态的 影响[J].干旱地区农业研究,2022,40(1):139-145.
  WANG Y Y, LIU S, LI X, et al. Effects of three saline-alkali tolerant growth-promoting bacteria on the rhizosphere microecology of mung bean[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2022, 40 (1):139-145.
- [16] 李鑫,张美珍,郑翘楚,等. 盐碱胁迫下产 ACC 脱氨酶促生菌对 绿豆插条生根的作用[J]. 河南农业科学, 2023, 52(7): 52-59.
  LI X, ZHANG M Z, ZHENG Q C, et al. Effect of ACC deaminaseproducing bacteria on rooting of mung bean cuttings under salinealkali stress[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2023, 52 (7): 52-59.
- [17] GUO Q, LIU L, BARKLA B J. Membrane lipid remodeling in response to salinity [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(17): 4264.
- [18] SALAMA K H A, MANSOUR M M F, ALI F Z M, et al. NaCl-induced changes in plasma membrane lipids and proteins of *Zea mays* L. cultivars differing in their response to salinity [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2007, 29(4): 351-359.
- [19] ALVAREZ-PIZARRO J C, GOMES-FILHO E, DE LACERDA C F, et al. Salt-induced changes on H<sup>+</sup>-ATPase activity, sterol and phospholipid content and lipid peroxidation of root plasma membrane from dwarf-cashew (*Anacardium occidentale* L.) seedlings [J]. Plant Growth Regulation, 2009, 59(2): 125-135.
- [20] LI J L, LIU L N, MENG Q W, et al. The roles of chloroplast membrane lipids in abiotic stress responses[J]. Plant Signaling & Behavior, 2020, 15(11): 1807152.
- [21] BEJAOUI F, SALAS J J, NOUAIRI I, et al. Changes in chloroplast lipid contents and chloroplast ultrastructure in *Sulla carnosa* and *Sulla coronaria* leaves under salt stress[J]. Journal of Plant Physiology, 2016, 198: 32-38.