

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ НА ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ВАКУОЛЯРНОЙ МЕМБРАНЫ

В.В. Гурина, Н.В. Озолина, И.С. Нестёркина, Е.В. Спиридонова
ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,
Иркутск, e-mail: nichka.g@bk.ru

Растения постоянно подвергаются действию изменяющихся условий окружающей среды, поэтому они должны быстро реагировать на любые неблагоприятные факторы для минимизации клеточных повреждений. Первыми на стресс реагируют клеточные мембраны, вызывая изменения в липидном и белковом составе (Лось, 2001). Основная роль в формировании бислойной структуры мембран отводится фосфолипидам. В зависимости от количества или соотношения определенных классов фосфолипидов клеточные мембраны могут переходить из бислойной ламеллярной структуры в гексагональную, формируя сквозные поры.

Целью нашего исследования являлось изучение качественного и количественного состава фосфолипидов вакуолярной мембраны столовой свеклы при гипо-, гиперосмотических и окислительном стрессах. Объектом исследования были вакуолярные мембраны корнеплодов столовой свёклы (*Beta vulgaris* L.), выделенные по методу (Саляев и др., 1981). Для создания гиперосмотического стресса корнеплоды подвергали подсушиванию в течение 3-х суток, для гипоосмотического – в течение суток выдерживали в дистиллированной воде. Для создания окислительного стресса кусочки ткани корнеплода инкубировали в растворе перекиси водорода. В контрольном варианте использовали корнеплоды, не подвергнутые стрессам. Для выяснения влияния осмотического и окислительного стресса были использованы разные контроли, для осмотических стрессов корнеплоды, не подвергнутые стрессам, а для окислительного – кусочки ткани корнеплода, инкубированные в дистиллированной воде. Экстрагирование липидов проводили по методу (Bligh and Dyer, 1959). Для разделения липидов использовали двумерную систему: первое направление - хлороформ–метанол–бензол–28 % - NH₄OH (65:30:10:6), второе направление – хлороформ–метанол–уксусная кислота–ацетон–бензол–вода (70:30:4:5:10:1). Обнаружение и идентификацию фосфолипидов в растительном материале проводили специальными реагентами и сравнивали с литературными данными (Макаренко и др., 1996; Новицкая и др., 1976). Фосфолипиды количественно определяли аналитической тонкослойной хроматографией по неорганическому фосфору методом (Vaskovsky et al., 1975).

В результате наших исследований среди фосфолипидов тонопласта в норме и при стрессах были идентифицированы фосфатидилхолины, фосфатидилэтаноламины, фосфатидилинозиты, фосфатидилсерины и фосфатидная кислота. В тонопласте преобладали, как и во всех биологических мембранах, фосфотидилхолины и фосфотидилэтаноламины. В норме было обнаружено большое количество фосфатидной кислоты (20,3 %), относительно высокое содержание этого липида было ранее выявлено только для вакуолей ананаса (Zhou et al., 2014). При изучении других стрессов (солевой, низкотемпературный, раневой) было замечено увеличение фосфатидной кислоты, тогда как в нашем исследовании при стрессовом воздействии происходило снижение фосфатидной кислоты, особенно при гипоосмотическом стрессе (в 6 раз), что вероятно связано со стабилизацией ламеллярной структурой мембраны. При воздействии гиперосмотического стресса содержание фосфотидилхолинов по сравнению с нормой существенно снижалось (на 51 %). При окислительном стрессе количество фосфатидилэтаноламинов достоверно увеличивалось на 35 % от контроля. Интересные результаты были по-

лучены по фосфатидилсеринам – они отсутствовали при окислительном стрессе. Фосфатидилинозиты достоверно увеличивались при осмотических стрессах.

В стрессовых условиях особое значение придается соотношению фосфатидилхолин / фосфатидилэтаноламин в мембранах растений. В наших экспериментах при всех стрессовых воздействиях наблюдалась тенденция к снижению этого соотношения. Снижение соотношения ФХ / ФЭ способствует увеличению проницаемости мембран и приводит к стрессовым повреждениям мембран.

Таким образом, изучен количественный состав фосфолипидов тонопласта корнеплодов красной столовой свеклы при абиотических стрессах. Результаты проведенных экспериментов показали, что динамика фосфолипидов вакуолярной мембраны заметно менялась при стрессовых воздействиях и можно предположить, что выявленные изменения связаны с участием этих мембранных липидов в адаптационных механизмах растительной клетки.

Литература

Лось Д.А. Восприятие сигналов биологическими мембранами: сенсорные белки и экспрессия генов / Д.А. Лось // Соросов. образоват. журн., 2001. – Т. 7, № 9. – С. 14–22.

Макаренко С.П. Химический состав и структура липидов вакуолярных мембран / С.П. Макаренко, Т.А. Коненкина, Р.К. Саляев // Биол. мембраны. – 1992. – Т. 9, № 3. – С. 290–299.

Новицкая Г.В. Количественное определение липидов мембран хлоропластов / Г.В. Новицкая, Л.А. Рущкая // Физиология растений. – 1976. – Т. 23, вып. 5. – С. 899–905.

Саляев Р.К., Кузеванов В.Я., Хаптагаев С.Б., Копытчук В.Н. Выделение и очистка вакуолей и вакуолярных мембран из клеток растений // Физиология растений. – 1981. – Т. 28. – С. 1295–1305.

Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. – 1959. – Can. J. Biochem. Physiol. – V. 37. – P. 911–917.

Vaskovsky V.E., Latyshev N.A. Modified Jungnickel's reagent for detecting phospholipids and other phosphorus compounds on thin-layer chromatograms // J. Chromatogr. – 1975. – V. 115, № 1. – P. 246–249.

Zhou Y., Pan X., Qu H., Underhill S.J. Tonoplast lipid composition and proton pump of pineapple fruit during low-temperature storage and blackheart development // J. Membr. Biol. – 2014. – V. 247. – P. 429–439.