

ORIGINAL ARTICLE

Change of fatty-acid composition in plants during adaptation to hypothermia

M.A. Zhivet'ev*, I.A. Graskova, L.V. Dudareva, A.V. Stolbikova,
V.K. Voinikov

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Division of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia

*Corresponding Author: nik.19@mail.ru

Tel.: (395-2)42-50-09

Fax: (395-2)51-07-54

Received October 30, 2010

The study of inter-species variability of fatty acid composition in leaf tissues of three species of medicinal plants growing in Predbaikal'ye showed that this composition has a species-specific character. In the composition of unsaturated fatty acids of all the species studied there prevail poly-unsaturated fatty acids – linoleic and linolenic, which implies high values of double bonds values (up to 2,19 in the yarrow). Along with high values of desaturation ratio (up to 4.7 in yarrow), this fact proves high potential of cold resistance in the species under study.

The analysis of seasonal changes in the fatty acid composition of the three species of medicinal plants demonstrated that with the average daily temperature going down, regular reduction in the content of saturated fatty acids and increase in the content of unsaturated fatty acids take place. Changes in fatty acid composition of lipids and the level of ω 9- and ω 3-desaturases activity in leaf tissues in the course of adaptation to reduction of average daily air temperature in the plants under study were found to have inter-species differences as well.

The data acquired allow to presume that high cold resistance potential in the species under study is, among other things, linked to the processes of fatty acids biosynthesis within lipids.

key words: low temperature stress, fatty acids, activity of acyl-lipid desaturases, Veronica Chamaedrys L., Alchemilla vulgaris L., Achillea sp., Taraxacum sp.

ORIGINAL ARTICLE

Изменение жирнокислотного состава в растениях при гипотермической адаптации

М.А. Живетьев*, И.А. Граскова, Л.В. Дударева, А.В. Столбикова,
В.К. Войников

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

*E-mail: nik.19@mail.ru

Поступила в редакцию 30 октября 2010

Исследование межвидовой изменчивости состава жирных кислот в тканях листьев трех видов лекарственных растений, произрастающих в условиях Предбайкалья, показало, что этот состав имеет видоспецифичный характер. В составе ненасыщенных жирных кислот всех изученных видов преобладают полиненасыщенные жирные кислоты – линолевая и леноленовая, что обуславливает высокие индексы двойных связей (до 2,19 у тысячелистника). Наряду с высокими значениями коэффициента ненасыщенности (до 4,7 у тысячелистника) этот факт свидетельствует о высоком потенциале холодоустойчивости изучаемых видов.

Анализ сезонных изменений в составе жирных кислот трех видов лекарственных растений показал, что по мере снижения среднесуточной температуры происходит закономерное снижение содержания насыщенных и увеличение ненасыщенных жирных кислот. Установлено, что изменения в жирнокислотном составе липидов и уровне активности ω 9- и ω 3-десатураз в тканях листьев при адаптации к понижению среднесуточной температуры воздуха у исследуемых растений также имеют межвидовые отличия.

Полученные данные дают основание полагать, что высокий потенциал холодоустойчивости у изучаемых видов связан, среди прочего, с особенностями процессов биосинтеза жирных кислот в составе их липидов.

Ключевые слова: низкотемпературный стресс, жирные кислоты, активность ацил-липидных десатураз, Veronica Chamaedrys L., Alchemilla vulgaris L., Achillea sp., Taraxacum sp.

Проблема адаптации растений к экологическое значение, т. к. способность низкотемпературному стрессу имеет большое значение для растений адаптироваться к конкретным

условиям – это один из факторов, определяющих ареалы распространения диких видов и возможность их интродукции (Колесниченко, Войников 2003). Считается, что липиды клеточных мембран играют ключевую роль в процессах адаптации и формировании устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды, прежде всего к холоду. Эта устойчивость коррелирует с наличием в клеточных мембранах полиненасыщенных жирных кислот (ЖК) (Лось, 2005). Известно, что именно ненасыщенные жирные кислоты (НН ЖК) в структуре мембран определяют ее текучесть и сохранение жидкостных свойств при данных температурах. В существующей модели молекулярного механизма адаптации клеток к гипотермии первичная роль отводится мембранным липидам, в частности их способности к фазовым переходам в зависимости от температуры окружающей среды, и ферментам десатуразам, катализирующим синтез НН ЖК. В соответствии с этой моделью при снижении температуры уменьшается текучесть мембран, это приводит к усиленному синтезу десатураз в клетке, их активации и, как следствие, к ускорению синтеза полиненасыщенных ЖК в мембранных липидах (Ильинская, Озерецкая, 1998). В результате этих процессов текучесть мембран восстанавливается. Таким образом, именно активность десатураз является одним из ключевых моментов в адаптации растений к низким температурам (Лось, 2001).

Известно, что у высших растений существуют значительные межвидовые различия по холодоустойчивости. Этим объясняется особый интерес к подробному изучению механизмов низкотемпературной адаптации у растений, произрастающих в

суровых климатических условиях. Логично предположить, что анализ жирнокислотного состава суммарных липидов из тканей исследуемых растений, а также оценка активности десатураз при действии низких температур будет способствовать лучшему пониманию их роли в формировании устойчивости растений к этому фактору. Несмотря на изученность биохимических процессов, обеспечивающих адаптивные изменения липидного состава мембран отдельных видов культурных растений, таких как арабидопсис, табак, кукуруза, соя, рис и других при действии низких температур, вопросы устойчивости и липидного метаболизма растений остаются мало исследованными. Кроме того, если по химическому составу эфирных масел, алкалоидов, дубильных веществ изучаемых растений имеются некоторые сведения, то их жирнокислотный состав практически не исследовался. По-этому целью нашей работы было изучить состав ЖК пяти видов лекарственных растений Прибайкалья, активность ферментов, влияющих на взаимопревращения жирных кислот, количественно преобладающих в листьях этих растений, и проследить сезонные изменения в метаболизме ЖК растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили листья 3 видов лекарственных растений из флоры Предбайкалья (вероника дубравная - *Veronica chamardrys* L., манжетка обыкновенная - *Alchemilla vulgaris complex*, тысячелистник обыкновенный - *Achillea milleforium* L., одуванчик лекарственный - *Taraxacum officinale*, подорожник большой - *Plantago major* L.),

собранных на левом берегу реки Выдринная, 600 м от уреза оз. Байкал, стационар СИФБРа, и в г. Иркутске, на территории СИФБРа. Образцы для жирнокислотного анализа фиксировали и растирали в жидком азоте до получения гомогенной массы для экстракции липидов. Экстракцию липидов из тканей исследуемых объектов проводили с использованием системы растворителей хлороформ-метанол-вода (1:2:0,8 v/v/v). Для удаления хлороформа из экстракта липидов использовали роторный испаритель RVO-64 (Чехия). Для получения метиловых эфиров жирных кислот к экстракту липидов после удаления растворителя добавляли 1% метанольный раствор H_2SO_4 и нагревали на водяной бане при $60^{\circ}C$ в течение 30 мин. После охлаждения метиловые эфиры жирных кислот трижды экстрагировали гексаном. Анализ полученных метиловых эфиров жирных кислот проводили методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973N/6890N MSD/DS Agilent Technology. Капиллярная колонка HP-INNOWAX (30м x 250мк x 0.50 мм), градиент температуры: от $100^{\circ}C$ до $150^{\circ}C$ со скоростью $10^{\circ}C$ в мин от $150^{\circ}C$ до $255^{\circ}C$ со скоростью $3^{\circ}C$ в мин. Для расчета эквивалентной длины цепи использовали изократический режим, температура колонки $200^{\circ}C$. Газ-носитель гелий, скорость потока газа 1 мл/мин. Масс-спектрометр - квадруполь, способ ионизации - электронный удар (EI) (энергия ионизации: 70эВ). Для идентификации метиловых эфиров жирных кислот липидов использовали значения индекса удерживания R_f (для стандартных насыщенных и ненасыщенных ЖК) и индекса ECL (эквивалентной длины цепи), а также библиотеку масс-спектров NIST05.

Относительное содержание ЖК определяли в весовых процентах от общего их содержания в исследуемом образце. Для оценки ненасыщенности ЖК в тканях листьев использовали индекс двойных связей (ИДС): $ИДС = \sum P_j n / 100$, где P_j - содержание ЖК (вес. %) и n - количество двойных связей в каждой кислоте. Так же использовали коэффициент ненасыщенности жирных кислот (К) как отношение суммы ненасыщенных ЖК к сумме насыщенных.

Активность ацил-липидных ω_9 , ω_6 и ω_3 мембранных десатураз, участвующих в биосинтезе олеиновой, линолевой и α -линоленовой кислот, определялась соответственно по уравнениям (1, 2 и 3):

$$(1) SDR = (\%C18:1) / (\%C18:0 + \%C18:1)$$

$$(2) ODR = (\%C18:2 + \%C18:3) / (\%C18:1 + \%C18:2 + \%C18:3)$$

$$(3) LDR = (\%C18:3) / (\%C18:2 + \%C18:3)$$

В таблицах представлены средние данные из трех биологических повторностей и их стандартные отклонения. Достоверность различий сравниваемых средних значений оценивали с помощью t-критерия ($P < 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые исследован жирнокислотный состав пяти видов лекарственных растений, произрастающих на юго-восточном побережье Байкала. Из представленных данных (табл. 1) видно, что высокая степень ненасыщенности ЖК в тканях листьев всех трех видов обусловлена, в основном, двумя кислотами – линолевой (ω_6) и α -линоленовой (ω_3). Причем линоленовой ЖК ($C18:3\omega_3$) статистически достоверно больше наблюдалось у тысячелистника и одуванчика (58,51 и 59,06 % соответственно), чем у подорожника (52,1%).

Содержание линоленовой кислоты (C18:2 ω 6) у всех видов статистически не отличалось. Известно, что именно биосинтез диеновых и триеновых кислот 18:2 ω 6 и 18:3 ω 3 осуществляет биохимическую адаптацию растений к низкой температуре. Судя по вычисленным коэффициентам ORD и LRD (табл. 2), активность соответствующих десатураз (ω 6 и ω 3) также имела высокий уровень у представленных видов, особенно активность ω 6-десатуразы.

Из ω 9-жирных кислот в тканях исследуемых растений обнаружены моноеновые кислоты – олеиновая (C18:1 ω 9) и пальмитолеиновая (C16:1 ω 9). В сумме содержания этих кислот составили для тысячелистника $1,59 \pm 0,33$, для подорожника $1,21 \pm 0,25$ и для одуванчика $0,95$

$\pm 0,16$ % веса. Причем содержание олеиновой кислоты у всех пяти видов лекарственных растений было на один порядок выше, чем пальмитолеиновой ЖК (табл. 1).

Содержание ω 5-жирной кислоты C16:1 ω 5 не уступало ω 9-жирным кислотам и достигало у тысячелистника 2,12, у одуванчика 1,68 и у подорожника 1,38 %.

Так же в исследованных растениях обнаружены ω 7-ЖК, но их содержания составляли доли процента, а у одуванчика – десятые доли процента, что может свидетельствовать о меньшей активности ω 7-десатуразы у одуванчика по сравнению с остальными исследованными видами. Максимальное содержание ω 7-ЖК отмечено у тысячелистника (табл. 1).

Таблица 1. Жирнокислотный состав листьев пяти видов лекарственных растений.

Кислота	Тысячелистник	Подорожник	Одуванчик
	сод. (в % вес.)	сод. (в % вес.)	Сод. (в % вес.)
C14:0	0,58 \pm 0,16	0,75 \pm 0,09	0,42 \pm 0,33
C15:0	0,06 \pm 0,01	0,26 \pm 0,04	0,2 \pm 0,11
C16:0	15,02 \pm 0,29	16,94 \pm 0,94	16,74 \pm 1,49
C16:1(n-9)	0,05 \pm 0,03	0,2 \pm 0,05	0,03 \pm 0,01
C16:1(n-7)	0,18 \pm 0,09	0,08 \pm 0,03	0,03 \pm 0,01
C16:1(n-5)	2,12 \pm 0,52	1,38 \pm 0,16	1,68 \pm 0,42
C17:0	0,15 \pm 0,02	0,26 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01
C18:0	0,92 \pm 0,10	2,17 \pm 0,12	0,92 \pm 0,07
C18:1(n-9)	1,54 \pm 0,30	1,01 \pm 0,20	0,92 \pm 0,15
C18:1(n-7)	0,13 \pm 0,05	0,12 \pm 0,04	0,04 \pm 0,01
C18:2(n-6)	19,92 \pm 0,98	21,04 \pm 1,27	18,82 \pm 3,01
C18:3(n-3)	58,51 \pm 0,81	52,1 \pm 2,59	59,06 \pm 3,55
C18:3(n-6)		0,5 \pm 0,21	
C18:4(n-3)		1,25 \pm 0,43	
C20:0	0,18 \pm 0,09	0,68 \pm 0,12	0,2 \pm 0,06
C20:3(n-6)		0,09 \pm 0,01	
C22:0	0,4 \pm 0,02	0,83 \pm 0,07	0,46 \pm 0,07
C23:0	0,23 \pm 0,06	0,3 \pm 0,02	0,32 \pm 0,04

Таблица 2 Суммы кислот по наличию и числу двойных связей и по длине углеродной цепи, индексы насыщенности и десатуразные соотношения у пяти видов лекарственных растений Прибайкалья.

	Тысячелистник	Подорожник	Одуванчик
Σ_{SFA}	17,54 ± 0,75	22,19 ± 1,41	19,41 ± 2,18
Σ_{UFA}	82,45 ± 2,78	77,77 ± 4,99	80,59 ± 7,16
ИДС	2,19 ± 0,05	2,08 ± 0,13	2,18 ± 0,17
К	4,70 ± 0,04	3,50 ± 0,06	4,15 ± 0,10
SDR	0,64 ± 0,12	0,34 ± 0,07	0,5 ± 0,08
ORD	0,98 ± 0,03	0,99 ± 0,05	0,99 ± 0,11
LRD	0,66 ± 0,01	0,71 ± 0,03	0,76 ± 0,04
$\Sigma C14-15$	0,64 ± 0,17	1,01 ± 0,13	0,62 ± 0,44
$\Sigma C16-17$	17,52 ± 0,95	18,86 ± 1,19	18,63 ± 1,94
$\Sigma C18-19$	81,02 ± 2,24	78,19 ± 4,86	79,76 ± 6,79
$\Sigma C20-23$	0,81 ± 0,17	1,9 ± 0,22	0,98 ± 0,17
$\Sigma C x:0$	17,54 ± 0,75	22,19 ± 1,41	19,41 ± 2,18
$\Sigma C x:1$	4,02 ± 0,99	2,79 ± 0,48	2,7 ± 0,60
$\Sigma C x:2$	19,92 ± 0,98	21,04 ± 1,27	18,82 ± 3,01
$\Sigma C x:3$	58,51 ± 0,81	52,69 ± 2,81	59,06 ± 3,55
$\Sigma C x:4$	0	1,25 ± 0,43	0

Примечание: Σ_{SFA} – сумма насыщенных ЖК, Σ_{UFA} – сумма ненасыщенных ЖК, ИДС – индекс двойных связей, К – коэффициент ненасыщенности, SDR – стеароил-десатуразное соотношение, ORD – олеил-десатуразное соотношение, LDR – линолеил-десатуразное соотношение, $\Sigma C14-15$ – сумма короткоцепочечных ЖК, $\Sigma C16-17$ – сумма ЖК с длиной цепи 16 и 17 атомов углерода, $\Sigma C18-19$ – сумма ЖК с длиной цепи 18 и 19 атомов углерода, $\Sigma C20-23$ – сумма длинноцепочечных ЖК, $\Sigma C x:0$ – сумма насыщенных ЖК, $\Sigma C x:1$ – сумма моноеновых ЖК, $\Sigma C x:2$ – сумма диеновых ЖК, $\Sigma C x:3$ – сумма триеновых ЖК, $\Sigma C x:4$ – сумма тетраеновых ЖК.

Таблица 3 Температуры воздуха и почвы в день отбора проб растений (Выдринная)

Месяц/температура	июль	август	сентябрь
Минимальная температура воздуха, °С	+8.1	+11.5	+2.7
Максимальная температура воздуха, °С	+20.7	+18.9	+5.4
Средне-суточная температура воздуха, °С	+15.1	+14.8	+4.1
Температура почвы (глубина 5 см)	+17.8	+15.1	+5.2

Таблица 4. Жирнокислотный состав и показатели активности десатураз во второй половине лета и начале осени

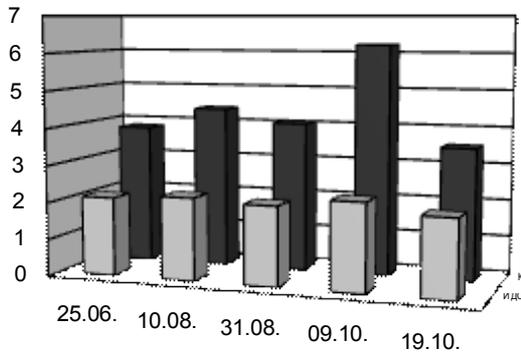
Вид	Показатель	Июль	август	Сентябрь
Тысячелистник	Σ насыщенных ЖК (% вес.)	42,24±9,51	21,98±0,02	17,53±0,05
	Σ ненасыщенных ЖК (% вес.)	57,76±8,43	78,02±0,04	82,47±0,02
	К	1,37±0,20	3,55±0,03	4,7±0,03
	ИДС	1,36±0,15	2,11±0,01	2,19±0,01
	SDR	0,46±0,10	0,51±0,01	0,63±0,01
	ODR	0,96±0,10	0,99±0,01	0,98±0,01
	LDR	0,44±0,10	0,78±0,01	0,75±0,01
Подорожник	Σ насыщенных ЖК (% вес.)	18,13±1,07	18,16±3,95	17,50±3,39
	Σ ненасыщенных ЖК (% вес.)	81,88±1,07	81,86±3,92	82,47±3,46
	К	4,52±0,33	4,64±1,23	4,82±1,13
	ИДС	2,21±0,01	2,20±0,12	2,25±0,10
	SDR	0,66±0,19	0,68±0,07	0,59±0,04
	ODR	0,96±0,02	0,96±0,01	0,98±0,01
	LDR	0,83±0,01	0,81±0,03	0,81±0,07
Одуванчик	Σ насыщенных ЖК (% вес.)	19,94±1,70	19,41±0,95	18,42±2,5
	Σ ненасыщенных ЖК (% вес.)	80,03±1,48	80,59±1,22	81,58±2,45
	К	4,01±0,12	4,15±0,14	4,43±0,24
	ИДС	2,08±0,02	2,18±0,01	2,24±0,03
	SDR	0,66±0,02	0,50±0,01	0,42±0,01
	ODR	0,97±0,01	0,99±0,01	0,99±0,01
	LDR	0,69±0,01	0,76±0,01	0,8±0,01

Индексы LDR, ODR и SDR (табл. 2), отражающие активность ω³-, ω⁶- и ω⁹-десатураз для ЖК с 18-ю атомами углерода, показали одинаково высокую активность ω⁶-десатураз у исследованных видов, соответствующую значениям ODR 0,98-0,99. Активность ω³-десатураз у изученных растений ниже и индекс LDR составляет для одуванчика 0,75, для подорожника 0,71, а у тысячелистника всего 0,66. Индекс SDR, напротив, у тысячелистника максимален (0,64), что свидетельствует об

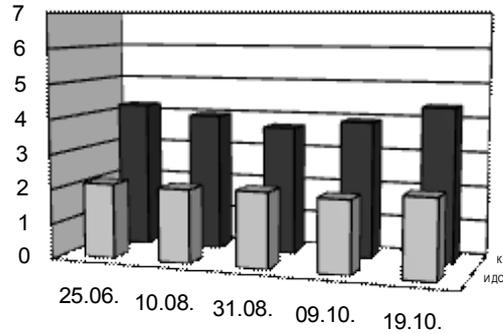
относительно высокой активности ω⁹-десатураз. У остальных изученных растений этот индекс составил 0,50 у одуванчика, а у подорожника и он еще ниже (0,34). По сумме трех индексов (LDR+ODR+SDR) можно сделать вывод, что суммарная активность ω³-, ω⁶- и ω⁹-десатураз наибольшая у тысячелистника и относительно низкая у подорожника. В то же время, у подорожника обнаружены ω³-тетраеновые (1,25%) кислоты. Четыре ненасыщенных связи в этих ЖК могут существенно повышать

устойчивость клеточных мембран к понижениям температур.

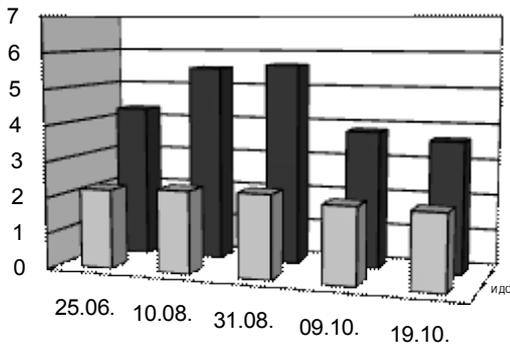
А



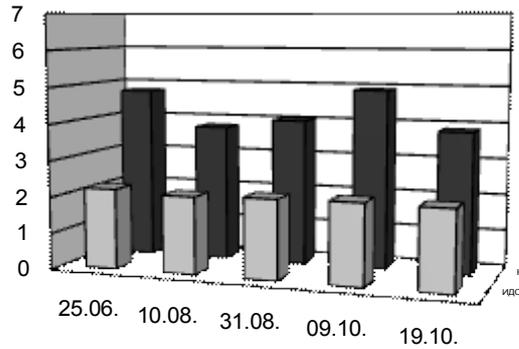
Б



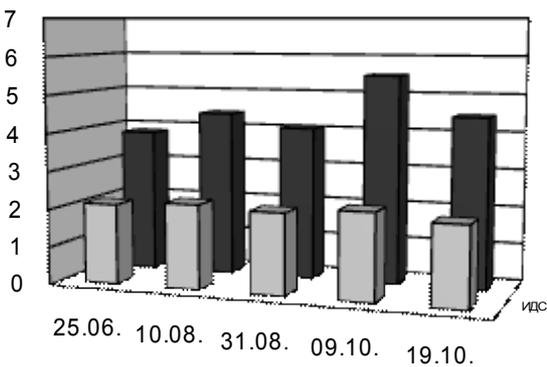
В



Г



Д



Е

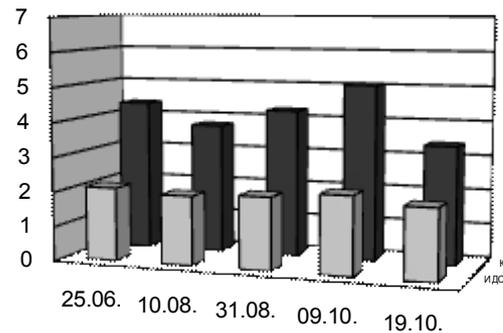


Рис. 1. Индексы двойных связей (ИДС) и коэффициенты ненасыщенности (К) у растений в г. Иркутске и Выдрино в течение периода вегетации

А – одуванчик г. Иркутск, Б – одуванчик Выдрино,

В – подорожник г. Иркутск, Г – подорожник Выдрино,

Д – тысячелистник Иркутск, Е – тысячелистник Выдрино

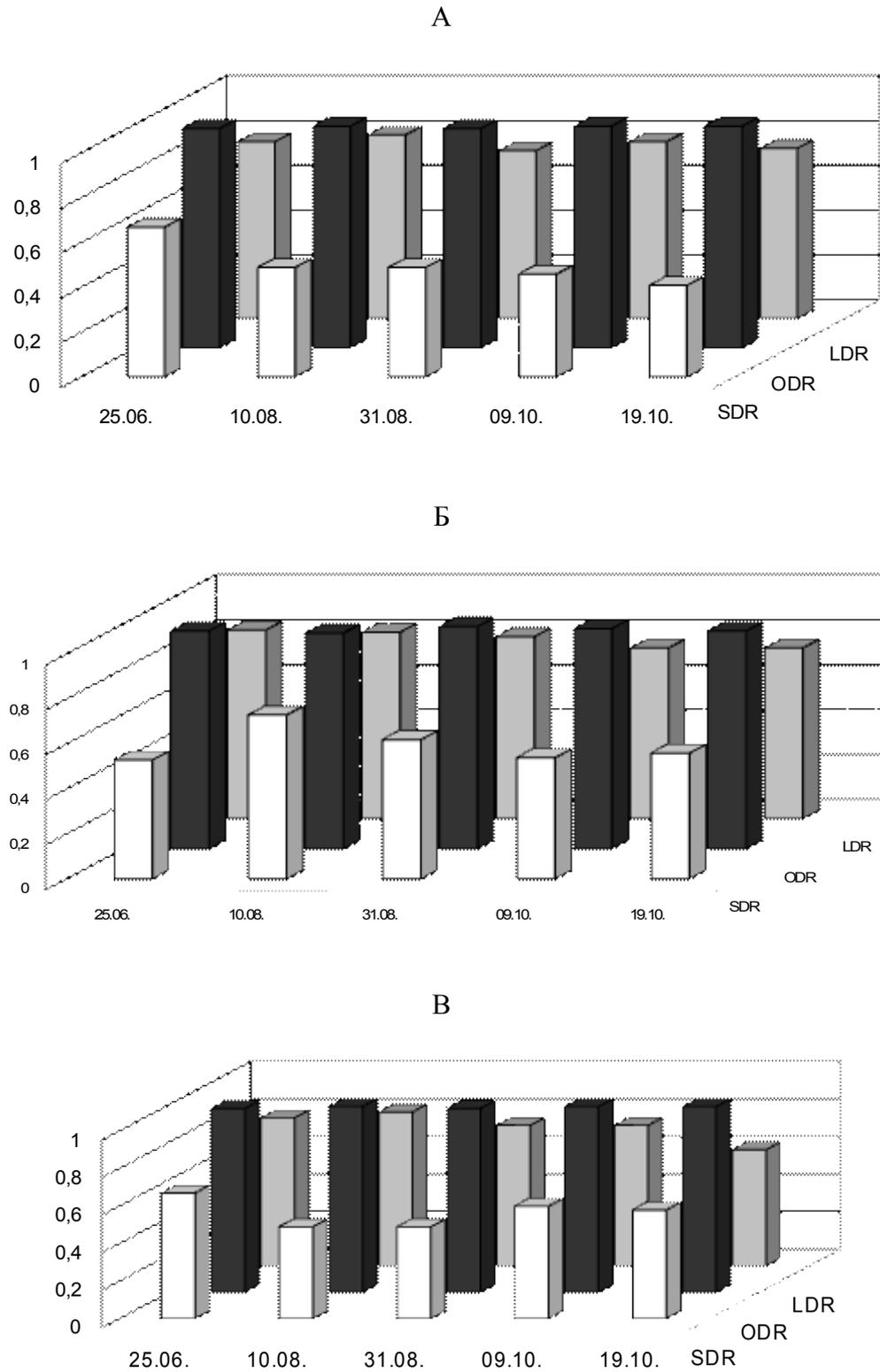
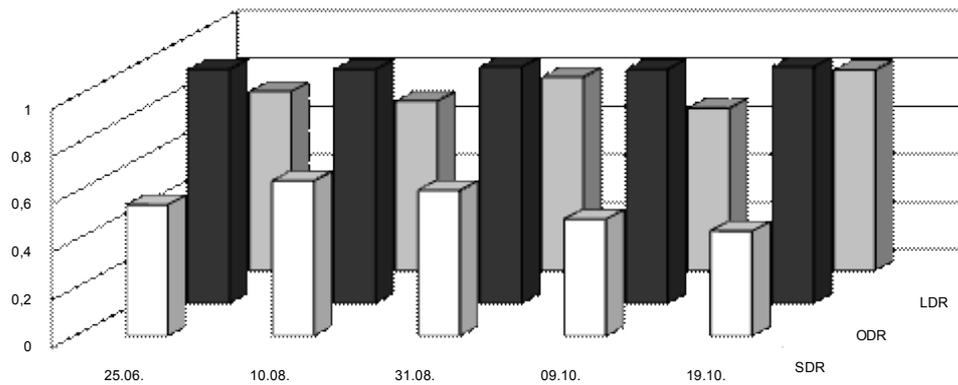


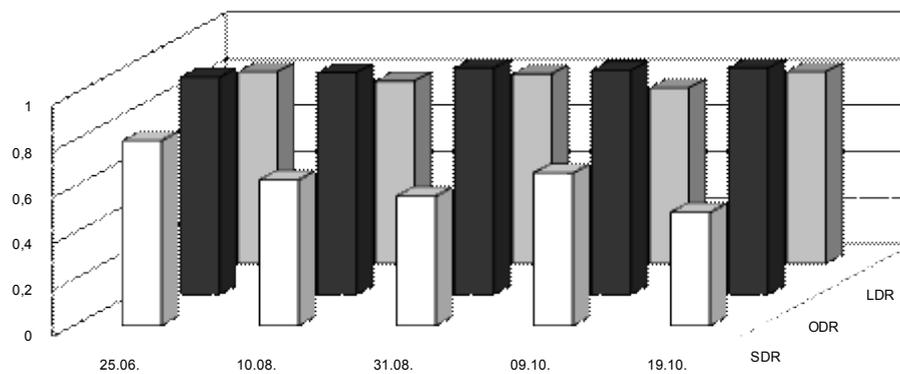
Рис. 2 Индексы SDR, ODR и LDR у растений в Иркутске в течение периода вегетации

А – одуванчик, Б – подорожник, В – тысячелистник

А



Б



В

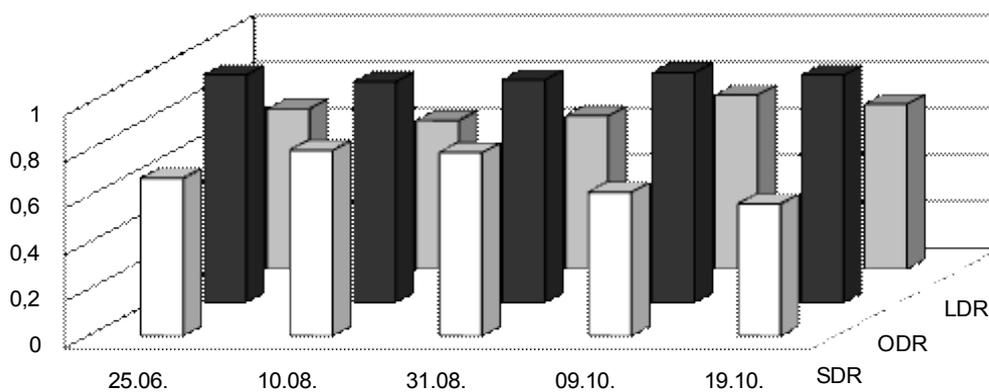


Рис. 3 Индексы SDR, ODR и LDR у растений в Выдрино в течение периода вегетации
А – одуванчик, Б – подорожник, В – тысячелистник

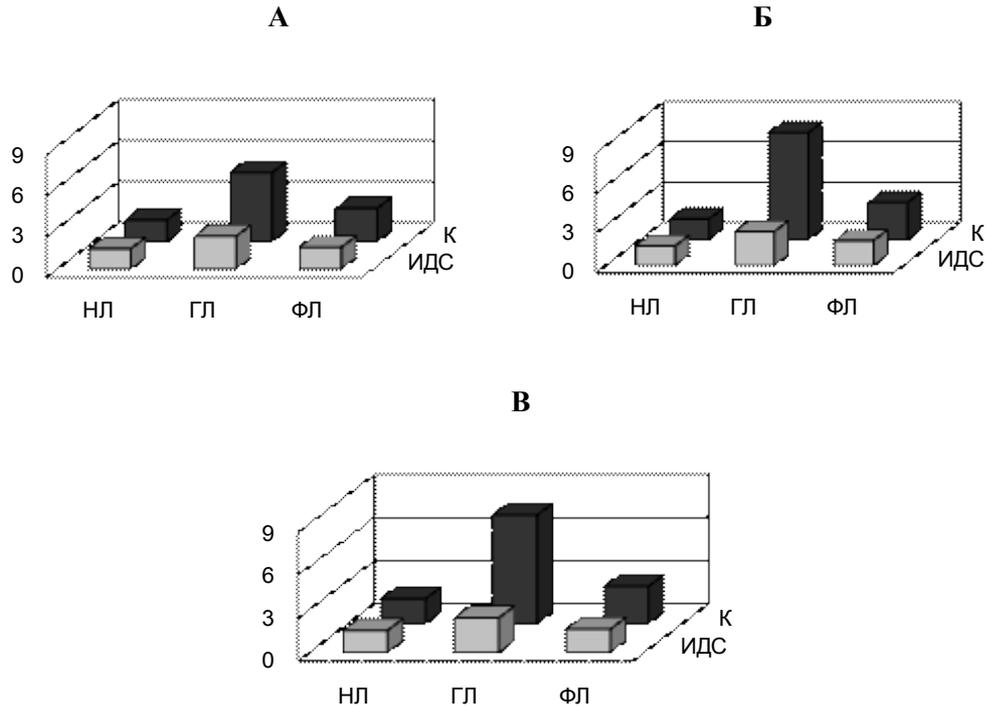


Рис. 4 Индексы ИДС и коэффициенты К одуванчика, тысячелистника и подорожника в сентябре у разных классов липидов: нейтральных липидов (НЛ), гликолипидов (ГЛ), фосфолипидов (ФЛ)
 А – одуванчик, Б – подорожник, В – тысячелистник

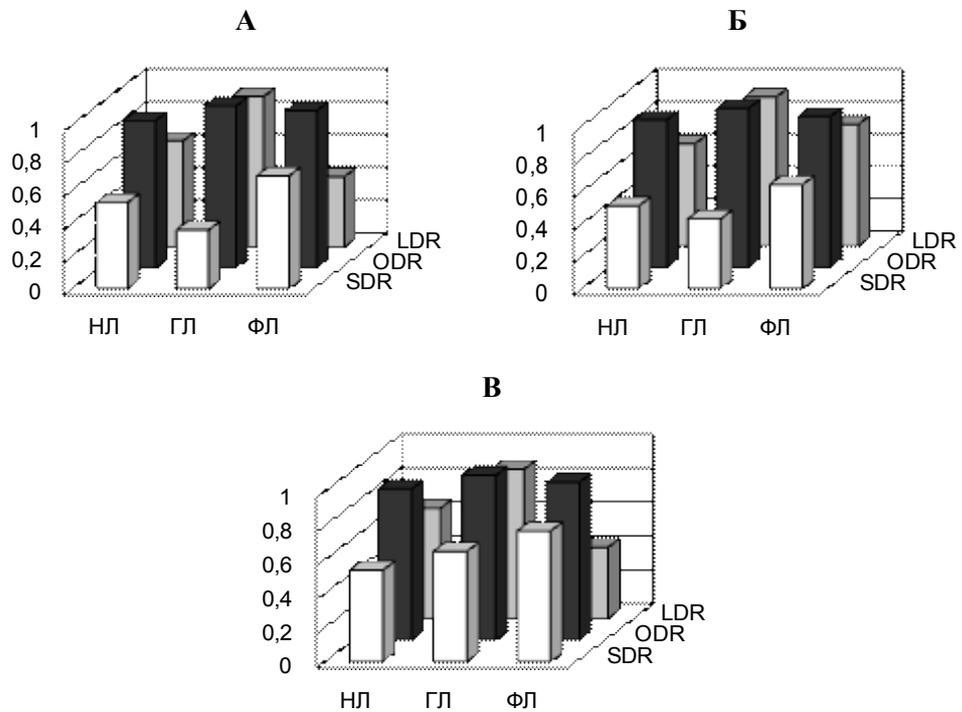


Рис. 5 SDR, ODR и LDR одуванчика, подорожника и тысячелистника в сентябре у разных классов липидов: нейтральных липидов (НЛ), гликолипидов (ГЛ), фосфолипидов (ФЛ)
 А – одуванчик, Б – подорожник, В – тысячелистник

Индекс ИДС, интегральная величина, характеризующая степень ненасыщенности жирных кислот, и, по-видимому, связанный напрямую с устойчивостью растений к холоду, был максимальным (2,19) у тысячелистника, как и коэффициент ненасыщенности (4,7 соответственно). Таким образом, у тысячелистника содержание ненасыщенных ЖК в 4,7 раз больше, чем насыщенных. Для сравнения, у одуванчика коэффициент ненасыщенности составил 4,2, а у подорожника – 3,5.

Длина углеродной цепи ЖК также может влиять на свойства клеточных мембран, в том числе и на их холодостойкость (Лось Д.А., 2005). В таблице 2 также представлены суммарные содержания короткоцепочечных ЖК (С14-15), ЖК с длинами цепей в 16-17 и 18-19 атомов углерода, а также длинноцепочечных ЖК с углеродными цепочками более 20 атомов (С20-23). Обращает на себя внимание высокое содержание длинноцепочечных ЖК у подорожника, различие с двумя другими видами статистически достоверно. У всех исследованных видов преобладали 16- и 18-углеродные ЖК, что в целом характерно для зеленых листьев растений, причем сумма 16С- и 18С-ЖК составила 97–98,5 % веса всех ЖК.

Также в таблице 2 представлены суммы ЖК не по длине цепи, а по числу двойных связей в молекуле. У всех растений преобладали триеновые ЖК. Их содержание было достоверно выше у тысячелистника и одуванчика, чем у подорожника. Содержание диеновых кислот у исследованных растений статистически не отличалось. Моноеновых кислот у всех трех видов растений мало и их содержания достоверно не отличаются. Тетраеновые кислоты

встречены в небольшом количестве у подорожника, и у остальных двух видов пока не обнаружены.

Далее было изучено изменение жирнокислотного состава лекарственных растений в связи с наступлением осенних холодов (табл 3).

В таблице 4 представлены результаты анализа сезонной динамики содержания насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в тканях листьев и активности десатураз для тысячелистника, одуванчика и подорожника.

Как видно из представленных данных (табл. 4), степень ненасыщенности жирных кислот в тканях листьев изучаемых растений меняется в процессе вегетации. Во всех случаях по мере снижения среднесуточной температуры (табл. 3) наблюдали снижение содержания насыщенных и увеличение содержания ненасыщенных ЖК, что было наиболее выражено у тысячелистника (табл. 4). Индексы содержания двойных связей К и ИДС постепенно увеличивались по мере снижения среднесуточной температуры, причем у тысячелистника отмечается наиболее сильная вариабельность этих показателей. Возможно, это связано с более широкой нормой реакции этого растения и свидетельствует о высокой способности тысячелистника к низкотемпературной адаптации.

Установлены также изменения в активности десатураз, в ответ на снижение среднесуточной температуры (табл. 4). Адаптация мембранных липидов к понижению среднесуточной температуры воздуха у исследованных растений носила видоспецифичный характер и была связана с активностью разных десатураз. Так, у одуванчика по мере снижения температуры возрастала активность ω 3-десатуразы (LDR

менялся с 0,69 до 0,80) при понижении активности ω 9-десатуразы, а высокий уровень ненасыщенности в тканях листьев тысячелистника поддерживается, по всей видимости, активностью и ω 9- (SDR меняется от 0,46 до 0,63) и ω 3-десатуразы. У подорожника наблюдается снижение активности и ω 9- и ω 3-десатуразы, но активируется ω 6-десатураза. В целом, активность ω 6-десатуразы оставалась неизменно высокой у всех изучаемых видов.

На третьем этапе исследований кроме растений, произрастающих на юго-восточном побережье Байкала, анализировался состав растений, собранных в Иркутске. Это позволяет сравнить адаптационные особенности изучаемых растений в разных климатических условиях произрастания.

Среднемесячные температуры мест отбора проб приведены в таблице 5, а данные по ЖК и активности десатураз – на рисунках 1,2 и 3.

Полученные данные (рис. 1) показывают сильное увеличение индекса ненасыщенности ИДС у одуванчика в августе и особенно в начале октября в Иркутске, что скорее всего связано с адаптацией к понижению температур. Сильное снижение К во второй половине октября может быть связано с истощением защитных механизмов растения. У подорожника так же к концу августа увеличивается адаптация к пониженным температурам за счет НН ЖК, но уже даже в первых числах октября наблюдается сильное истощение защитных ресурсов растительного организма. В Выдрино, наоборот, в середине лета наблюдали относительно более высокие значения обоих индексов, которые к августу снижались, а осенний пик был смещен на конец октября у одуванчика и на начало октября у подорожника. У тысячелистника в Иркутске отмечалось высокое содержание НН ЖК и

высокие значения ИДС и К, которое к концу месяца значительно снижалось. В Выдрино наблюдались высокие показатели ненасыщенности ЖК тысячелистника в июне, спад к началу августа и постепенный рост к началу октября с минимумом в конце месяца. Таким образом, у растений, произрастающих в непосредственной близости от Байкала, в июне наблюдалась более сильная жирнокислотная адаптация к низким температурам по сравнению с иркутскими растениями, в августе, наоборот, растения из Выдрино были приспособлены к более теплему климату, а в октябре дольше сохраняли устойчивость к морозам.

Коэффициенты, отражающие активность десатураз в изучаемых растениях (рис. 2, 3), показали для одуванчика пик активности ω 3-десатуразы в июле для Иркутска и в августе для Выдрино, а пики активности ω 9-десатуразы в Иркутске шли в противофазе с Иркутскими. Для подорожника в Иркутске отмечалось закономерное уменьшение активности ω 6-десатуразы с приходом осенних морозов, в то время как для Выдрино было характерно, чередование пиков активности этого фермента, причем в конце октября также наблюдалось увеличение активности этой десатуразы. В свою очередь, активность ω 3-десатуразы подорожника в Иркутске была максимальной в начале августа, после чего ее значения постепенно снижались, в то время как в Выдрино наблюдалось два максимума – в июле и начале октября. У тысячелистника в Выдрино наблюдали постепенное увеличение LDR с июня по октябрь, а в Иркутске, наоборот, его уменьшение по мере уменьшения среднесуточных температур.

Также в сентябрьских пробах были исследованы отдельные классы липидов в изучаемых растениях: нейтральные липиды (НЛ)

и глико- (ГЛ) и фосфолипиды (ФЛ) мембран. Для каждой фракции липидов были определены коэффициенты ИДС, К, SDR, ODR и LDR (рис. 3, 4). Видно, что степень ненасыщенности ЖК распределена неравномерно как по классам липидов, так и по видам растений. В целом, ИДС и К наиболее высоки у гликолипидов, что вполне закономерно, так как эти липиды являются основными составляющими мембран хлоропластов, которым присуще высокое содержание α -линоленовой кислоты. При этом у подорожника наибольший ИДС, составивший 2,56 (у одуванчика и тысячелистника 2,41 и 2,43 соответственно). Менее показательный, но более переменный коэффициент К наибольший также у подорожника (8,04), чуть меньше он у тысячелистника (7,59) и наименьший у одуванчика (5,07).

Из нейтральных липидов и фосфолипидов преобладает ненасыщенность ФЛ. Ее значение также максимально у подорожника, а минимально у одуванчика.

В то же время, индексы SDR были максимальными для всех трех классов у тысячелистника. Из данных (рис. 4) видно, что из трех индексов, отражающих активность десатураз, SDR является самым переменным и видоспецифичным, в то время как остальные два почти одинаковы у всех трех видов и максимальны для ГЛ.

В контексте современных представлений о вкладе липидов биологических мембран клетки в холодо- и морозоустойчивость (Макаренко С.П. и др., 2003) полученные данные дают основание полагать, что изученные виды обладают высоким потенциалом холодоустойчивости, связанным с особенностями жирнокислотного состава мембранных липидов.

ВЫВОДЫ

Впервые определен жирнокислотный состав тысячелистника, одуванчика и подорожника. В связи со снижением среднесуточной температуры, выявлено снижение содержания насыщенных и увеличение содержания ненасыщенных жирных кислот. Низкотемпературная адаптация мембранных липидов изучаемых растений оказалась видоспецифичной и была связана с увеличением активности разных десатураз. На побережье Байкала отмечалась более высокая насыщенность мембранных липидов растений по сравнению с Иркутском, в то время как поздним летом и осенью в Иркутске жирнокислотная термоадаптация развивалась сильнее и раньше, чем в Выдрино. Показано, что из трех классов липидов, максимальный вклад в холодовую адаптацию вносят гликолипиды и заметно меньшую – фосфолипиды.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 07-04-01055-а, РФФИ р Сибирь а 08-04-98040.

ЛИТЕРАТУРА

- Ильинская Л.И., Озерецковская О.Л. (1998) Продукты липоксигеназного окисления жирных кислот как сигнальные молекулы в индуцированной устойчивости растений (обзор) *Прикл. биохимия и микробиология*. 34(5) 467-479.
- Колесниченко А.В., Войников В.К. (2003) Белки низкотемпературного стресса растений. Иркутск: Арт-Пресс, 196.
- Лось Д.А. (2001) Структура, регуляция экспрессии и функционирование десатураз жирных кислот *Успехи биологической химии*. 41. 163-198.

Лось Д.А. (2005) Молекулярные механизмы холодоустойчивости растений *Вестник РАН*. 75(4) 338-345.

Макаренко С.П., Константинов Ю.М., Хотимченко С.В., Коненкина Т.А., Арзиев

А.Ш. (2003) Жирнокислотный состав липидов митохондриальных мембран у представителей культурных (*Zea mays*) и дикорастущих (*Elymus sibiricus*) злаков *Физиология растений*. 50(4) 548-553.