

УДК 581.13:577.125:577.171.1:581.1.036

В. Г. Блохин

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА ПОД ВЛИЯНИЕМ 6-БАП ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ

Свободнорадикальное окисление молекул, имеющих двойные связи, в нормальных температурных условиях осуществляется во всех компартментах клетки, но наиболее важным субстратом окисления являются мембранные липиды, богатые ненасыщенными жирными кислотами [8]. Низкий уровень перекисления липидов (ПОЛ) мембран, свойственный тканям при оптимальной температуре, свидетельствует о сбалансированности процессов их образования и распада. Он обусловлен как самой структурной организацией мембран, препятствующей доступу кислорода внутрь бислоя [5], так и вследствие наличия антиокислительных систем, тормозящих развитие ПОЛ [5, 7]. К природным антиокислителям относятся токоферол, производные госсипола и пирокатехина, глутатион, β -каротин [5, 7], аскорбиновая кислота и виолаксантиновый цикл [15], фенольные соединения [19], низкомолекулярные растворимые углеводы [1].

ПОЛ является неспецифической ответной реакцией клеток на стресс и активируется при воздействии неблагоприятных условий [11, 14, 15]. В этих условиях расход антиокислителей возрастает, и когда их количество достигает минимального критического уровня, ПОЛ усиливается [7]. Образующиеся гидроперекиси (ГП) и лизопродукты повреждающе влияют на мембранные и клеточные ферменты, реагируя с их тиольными и аминокетильными группами, способствуют образованию в мембранах сквозных пор, повышающих экзосмос веществ из клеток. изменяют активность мембранных и клеточных ферментов, ускоряется механизм «флип-флоп» [11, 16].

Экзогенный цитокинин способствовал снижению содержания ГП и МДА в листьях и корнях кукурузы при нормальной температуре (25°C) [3] и при действии низких положительных повреждающих температур у томатов [13].

Целью данной работы было изучение влияния 6-БАП на динамику содержания разнокачественных ГП и МДА в листьях кукурузы на ранних этапах онтогенеза в процессе формирования мембранных структур в клетках, а также на количество некоторых антиоксидантных веществ при воздействии низких положительных (4°C) и высоких (40°C) стрессовых температур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на растениях кукурузы (*Zea majs L.*) сорт Краснодарская 303. Семена проращивали в пластмассовых кюветах на фильтровальной бумаге во влажной среде при 26°C. Проростки с длиной корешка 1,5-2 см для обоих вариантов высаживали в стеклянные сосуды емкостью 1,2 л на перфорированные пластмассовые пластины с питательной смесью Прянишникова. Опытным растениям вносили 6-БАП 10 мкг/л. Контролем служили растения без 6-БАП.

Растения отбирали по 5 шт. в стаканчики с питательной средой по вариантам и подвергали действию холода (4°C) 3 часа в холодильнике или 3 часа - высокой температуры (40°C) в термостате. В листьях растений определяли содержание МДА [21], извлекали из них ГП и на СФ-16 измеряли их количество с момента добавки фитогормона в течение 5 суток после развертывания первого листа [9, 10, 22]. Определяли содержание аскорбиновой кислоты, глутатиона [21] и фенолов [12]. Цифровой материал обрабатывали статистически.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В процессе образования гидропероксикислот и последующем распаде их на различные продукты по нашим данным (рис. а,б,в,г,д) отмечается нарастающая количественная динамика. В листьях кукурузы содержание различных ГП неуклонно возрастает по мере роста листьев и увеличения в них липидов в процессе формирования мембранных структур растущих клеток и органелл в них в обоих вариантах опыта независимо от условий.

После действия холода ПОЛ активируется и уровень всех видов ГП увеличивается по сравнению с нормальными температурными условиями (25°C) контрольных растений (пунктирная линия 5 на всех рисунках), а после прогревания снижается. По-видимому, при высокой температуре у теплолюбивого растения кукурузы быстрее протекает распад ГП до промежуточных и конечных продуктов по сравнению с нормальной (25°C) и низкой температурой (4°C).

БАП независимо от температурного воздействия снижал в листьях образование гидропероксикислот, кетолов, кетодиенов и конъюгированных диенов по сравнению с контролем.

Количество МДА в листьях после действия стрессовых температур также быстро повышается по мере роста листьев, увеличения в них содержания липидов и их распада (рис. д). В условиях прогревания уровень МДА в начале был ниже, чем при действии холода, а затем поднялся и превысил значения холодного варианта и нормальных условий. Это подтверждает предположение о более быстром распаде ГП при высокой температуре. Особенно это ярко выражено в контрольном варианте без обработки цитокинином. БАП также задерживает образование МДА вследствие снижения фитогормоном образования различных ГП в стрессовых условиях. При воздействии на растения стрессовых температур количество антиоксидантных веществ в листьях также повышается в обоих вариантах по сравнению с оптимальной температурой 25°C (табл.). На третьи сутки после развертывания первого листа семисуточных растений контрольного варианта содержание аскорбиновой кислоты в листьях повысилось на 13-23%, глутатиона – в 3-5 раз при

действии холода (4°C), при прогревании его количества возросло в 5-8 раз, фенольных соединений накопилось на 31-40% больше по сравнению с оптимальной температурой (25°C).

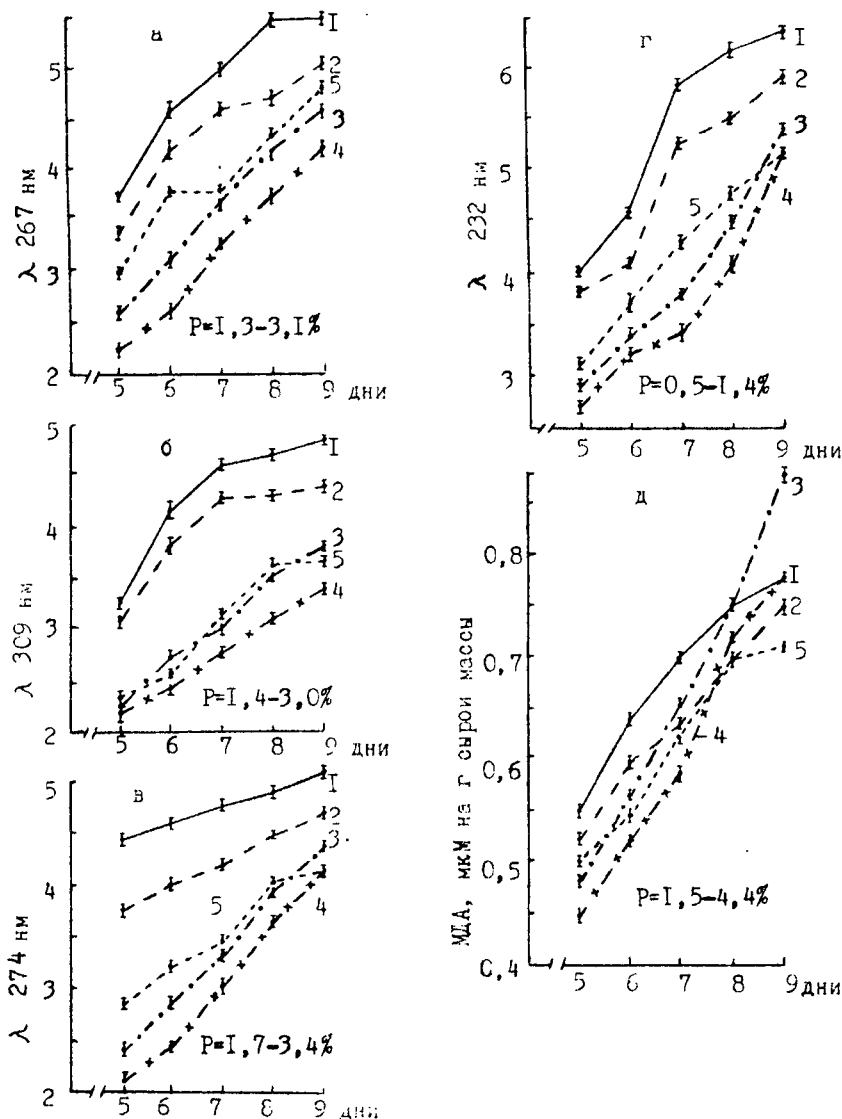


Рис. Содержание различных гидроперекисей липидов мембран (отн. ед на г сырой массы) под влиянием экзогенного БАП в листьях кукурузы Краснодарская 303: а – гидроперокси кислот (267 нм); б – кетолов (309нм); в – кетодиенов(274 нм); г – конъюгированных диенов (232 нм); д – МДА (мкМ на г сырой массы) после действия холода (7°C) (1,2) и высокой температуры (40°C) (3,4). 1,3 – контроль; 2,4 – БАП, 10 мкг/л. Пунктирная линия (5) показывает содержание продукта при нормальной температуре у контрольного растения.

**ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ НА РАННИХ ЭТАПАХ
ОНТОГЕНЕЗА ПОД ВЛИЯНИЕМ 6-БАП ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ**

Таблица 1.

Влияние 6-БАП на содержание антиоксидантных веществ
в листьях семисуточных растений кукурузы, мкг/г сырой массы.

Вариант опыта	Аскорбиновая к-та	Увеличение по сравнению с контролем, %	Глутатион	Увеличение по сравнению с контролем, %	Фенолы	Увеличение по сравнению с контролем, %
25°C						
Контроль	217,2 ± 2,6		17,2 ± 1,2		1135,7 ± 7,0	
БАП	276,9 ± 4,3	23	40,0 ± 1,6	132	1374,6 ± 7,1	27
7°C						
Контроль	267,7 ± 4,4		93,6 ± 1,6		1492,4 ± 15,0	
БАП	323,0 ± 3,6	20	136,3 ± 2,1	45	2002,0 ± 14,2	34
40°C						
Контроль	246,2 ± 2,8		139,0 ± 1,5		1492,5 ± 16,1	
БАП	304,1 ± 6,2	23	212,2 ± 3,1	53	2052,1 ± 13,0	37

БАП заметно повысил биосинтез антиоксидантов в листьях кукурузы независимо от температурного стресса. Аскорбиновой кислоты увеличилось на 20-23%, глутатиона – на 45-132%, фенольных соединений на 27-37% по сравнению с контролем.

Как было установлено ранее, БАП повышает общее количество липидов, среди них – фосфолипидов при нормальной температуре 25° [4]. Среди фосфолипидов повышает количество фосфатидилхолина при действии низких толерантных закалывающих температур (4°C) [20]. Важным свойством фосфатидилхолина является ингибирование активности ключевого фермента ПОЛ типоксигеназы [6], таким же свойством обладает и цитокинин [23]. В итоге экзогенный 6-БАП понижает содержание ГП и МДА в растениях путем ингибирования активности липооксигеназы, изменения качественного и количественного состава липидов мембран, устойчивых к окислению, и путем повышения различных антиоксидантов. Таким путем фитогормон стабилизирует цитоплазматические мембраны клеток листьев, уменьшает повреждающее действие ГП и МДА на них и на мембранные ферменты.

Таким образом, изучена динамика содержания разнокачественных ГП и МДА в процессе роста листьев кукурузы и формирования в них мембранных структур. Установлено изменение их содержания при температурном стрессе и снижение повреждающего действия ГП и МДА на мембраны при обработке растений экзогенным цитокинином 6-БАП.

Список литературы

1. Аверьянов А.А., Лапикова В.П. Взаимодействие сахаров с гидроксильными радикалами в связи с фунгистатичностью выделений листьев // Биохимия. - 1989. - Т.54. - № 10. - С. 1646-1651.
2. Антонов В.Ф. Липиды и ионная проницаемость мембран. - М.: Наука, 1982. – 150 с.

3. Блохин В.Г. Некоторые механизмы регуляции цитокинином устойчивости культурных растений к неблагоприятным экологическим факторам / Актуал. вопросы экологии Азово-Черноморского региона и Средиземноморья.- Симферополь, 1993.- С. 144-148
4. Блохин В.Г. Особенности действия экзогенного цитокинина на растения в условиях нормальных и низких закаливающих температур / Актуальные вопросы экологии и охраны природы.- Краснодар, 1995.- С. 127-130.
5. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии.- 1985.- 54.- № 9.- С. 1540-1558.
6. Бутович И.А., Паршикова Т.В., Бабенко В.И. и др. Регуляторная роль фосфолипидов в реакции окисления линоленовой кислоты // Биологич. мембраны.- 1992.- Т 9.- № 6.- С. 611-616.
7. Веселовский В.А. О роли биоантиоксидантов в устойчивости растений к неблагоприятным условиям существования // Биоантиокислители и регуляция метаболизма в норме и патологии. Труды МОИП.- М., 1982.- С. 150-162.
8. Владимиров И.Н., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов биологических мембран.- М.: Наука, 1972.- 273 с.
9. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови//Лаб. дело.-1983.- №3.-С.33-35.
10. Гречкин А.Н., Курамшин Р.А., Ефремов Ю.Я. и др. Новые продукты окисления линоленовой кислоты липооксигеназой из клубней картофеля // Докл. АН СССР.- 1990.- Т.134.- № 5.- С. 1247-1249.
11. Жибоедов М.П., Жиров В.Г., Руденко С.М. Белковый состав и мембранные липиды интродуцированных растений в Заполярье.- Апатиты: Кольский филиал АН СССР, 1987.- 114 с.
12. Запромстов М.Н. Фенольные соединения // Биохимические методы в физиологии растений.- М., 1971.- С. 171-173.
13. Колоша О.И. Рябокляч В.А., Великожон Л.Г. Устойчивость томатов к низким температурам.- К.: Наукова думка, 1993.- 135 с.
14. Лукаткин А.С., Голованова В.С. Интенсивность перекисного окисления липидов в охлажденных листьях теплолюбивых растений // Физиология растений.- 1988.- Т.35.- № 4.- С. 773-780.
15. Мерзляк М.Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и техники ВИНТИ. Сер. Физиология растений.- 1989.- №6.- 168 с.
16. Насырова Г.Ф., Капрельянц А.С., Палладица Т.А. Влияние фосфолипазы L_2 на динамические свойства липидного бислоя плазматических мембран растительных клеток // Биохимия.- Т.56.- № 7.- С. 1264-1271.
17. Плохинский А.Н. Биометрия.- Новосибирск: Наука СО РАН, 1961.- С. 40-100.
18. Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений.- К.: Наукова думка, 1976.- 334 с.
19. Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты.- М.: Наука, 1988.- 247 с.
20. Родионов В.С., Ньюппиева К.А., Захаров Л.С. Изменение концентрации галакто- и фосфолипидов в листьях картофеля в результате воздействия пониженной температуры // Физиология растений.- 1973.- Т.20, № 3.- С. 525-531.
21. Стальная И.Л., Гаришвили Т.Г. Метод отделения МДА с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии.- М., 1977.- С. 66-68.
22. Шведова А.А., Полянский Н.Б. Метод определения конъюгантов гидроперекисей липидов в экстрактах из тканей // Исследование синтетических и природных антиоксидантов *in vitro* и *in vivo*.- М., 1992.- С. 72-76.
23. Wurzbarger J., Frimer A.A., Leshem Y.Y. Inhibition of oxidative catabolism and oxy free radical production as a possible mode of cytokinin control of foliar senescence // Plant Growth Regul.- 1984.- V. 2, № 2.- P. 143-146.

Поступила в редакцию 15.06.2002 г.