

DOI: 10.33184/dokbsu-2020.6.2

Изменение липидного профиля детергент устойчивых микродоменов (липидных рафтов) клеточных органелл растений эугалофитов в условиях засоления

В. Н. Нестеров*, О. А. Розенцвет, Е. С. Богданова

*Институт Экологии Волжского бассейна РАН – филиал СамНЦ РАН
Россия, 445003 г. Тольятти, улица Комзина, 10.*

**Email: nesvik1@mail.ru*

Исследовали влияние NaCl в концентрации 1000 мМ на липидный профиль микродоменов мембран хлоропластов и митохондрий растений эугалофитов. Установлено, что при засолении среды основные изменения среди рафто-специфичных липидов связаны с ростом относительного содержания цереброзидов (ЦЕР) и снижением относительного содержания стерина (СТ). Полученные данные свидетельствуют об участии микродоменов внутриклеточных мембран в адаптации галофитов к засолению почвы.

Ключевые слова: липидные рафты, эугалофиты, хлоропласты и митохондрии, солеустойчивость, липиды.

В настоящее время наблюдается стойкая мировая тенденция увеличения количества засоленных земель [1]. В связи с этим все более актуальным становится использование потенциала растений, способных переносить высокий уровень засоления почвы и температурного режима. С этой задачей способны справиться растения галофиты, эволюционно приспособленные к существованию при высоких концентрациях соли.

Показано, что фундаментальной основой адаптации галофитов является способность клеток контролировать транспорт соли через мембраны [2]. Механизмы контроля поглощения ионов наиболее развиты в мембранах галофитов соленакапливающего типа – эугалофитах. Поступление Na⁺ в растительную клетку осуществляется с помощью ионных каналов и транспортеров, локализованных в мембранах [3].

Детергент устойчивые участки мембран или липидные рафты – это функциональные платформы с сигнальными молекулами и транспортными системами, встроенные в липидный бислой клеточных мембран [4]. Считают, что рафты отличаются большей плотностью упаковки, благодаря специфическому составу липидов в сравнении с остальными участками мембран. Установлено, что в составе рафтов преобладают так называемые рафтообразующие липиды – стерин (СТ), сфинголипиды или цереброзиды (ЦЕР), а также глицеролипиды с насыщенными жирными кислотами (ЖК) [5].

Соотношение рафтообразующих липидов СТ и ЦЕР может влиять на физические и химические свойства рафтов, модулировать передачу сигналов и защитные реакции растений [6]. Например, изменения состава липидов в рафтах при холодной акклиматизации в экспериментальных условиях приводило к изменениям термодинамических свойств и физиологических функций микродоменов, что, в свою очередь, влияло на устойчивость растений к низким температурам [7]. В отношении дикорастущих солеустойчивых растений были обнаружены различия в относительном содержании рафтоспецифичных липидов в микродоменах эндомембран галофитов с разными механизмами регуляции солевого обмена – эугалофитах и гликогалофитах [8]. Понятие липидные рафты предполагает, что липиды, наряду с белками, выступают в качестве незаменимой структурно-функциональной группировки в формировании и функционировании мембранных микродоменов. Сейчас принято считать, что динамическая латеральная разнородность имеет решающее значение для мембранного транспорта, а именно для концентрирования специфичных транспортных белков. Особое значение липидным рафтам придается как платформе для сигнальных молекул. Однако в отношении галофитов известно, что их клетки, хлоропласты и вакуоль могут накапливать Na^+ [9]. То есть в растительной клетке эугалофитов в транспорте ионов Na^+ задействовано как минимум три типа клеточных мембран: плазмалемма, мембраны вакуоли и хлоропластов. Что касается митохондрий, существование ионопроводящих путей было ранее продемонстрировано рядом исследований, но белки, ответственные за эти действия не идентифицированы [10].

Цель данной работы – исследовать состав липидного профиля микродоменов в мембранах внутриклеточных органелл – хлоропластов и митохондрий, у растений эугалофитов в ответ на увеличение уровня засоления почвы.

Материалы и методы

В модельных экспериментах исследовали влияние NaCl в концентрациях 1000 мМ на липидные рафты хлоропластных и митохондриальных мембран. В качестве объекта исследования выбраны фотосинтетические органы галофитов соленакапливающего типа – побеги *Salicornia perennans* Willd., так как листья у него редуцированы и фотосинтезируют стебли и листья *Suaeda salsa* (L.) Pall. (сем. Amaranthaceae). Семена дикорастущих растений отбирали в конце октября 2018 г. в районе Приэльтона и хранили при комнатной температуре в течение 6 месяцев. Перед началом эксперимента семена проращивали на дистиллированной воде в чашках Петри при температуре 22–24° С, а затем высевали в сосуды с песком. Полив осуществляли питательным раствором Робинсона. Растения выращивали при температуре воздуха 20–22°С, освещенности – 1200 мкмоль/м² с⁻¹, фотопериоде – 10 ч. в течение трех месяцев (ювенильная стадия). Затем растения разделяли на две группы: контроль и опыт (NaCl). В сосуды с опытными растениями однократно вносили раствор, содержащий 1000 мМ NaCl до полной влагоемкости почвы. Через 1 сутки надземную массу растений срезали и использовали

для выделения липидных рафтов. Опыт повторяли трижды. Всего было обработано по 100 г сырой массы контрольных и опытных растений каждого вида. Из надземной массы растений выделяли фракции хлоропластов и митохондрий, которые подвергали действию детергента и затем высокоскоростному центрифугированию в градиенте плотности сахарозы для обнаружения микродоменов.

Выделение микродоменов или липидных рафтов из хлоропластов и митохондрий, анализ липидов и их ЖК проводили как описано ранее [8].

Результаты представлены в виде средних величин. Расчеты проводили с помощью программ Past 3 и Microsoft Excel 2003, 2007. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента. Различия считали значимыми при $p \leq 0.05$.

Результаты и обсуждение

Растения *S. perennans* и *S. salsa* являются типичными эугалофитами суккулентного типа. Воздействие NaCl в концентрации 1000 мМ в течение 1 суток не вызывало видимых симптомов повреждения надземных органов в сравнении с контрольными вариантами. После обработки фракций хлоропластов и митохондрий детергентом Тритоном и последующего центрифугирования в градиенте плотности сахарозы были получены зоны опалесценции, характеризующие наличие липидных рафтов в мембранах соответствующих органелл. В составе липидных рафтов хлоропластов контрольных вариантов обоих видов растений доминировали галактоглицеролипиды (ГЛ) – 68 и 75%, соответственно (рис. 1). Второе место по вкладу в состав липидов принадлежит сумме компонентов, ответственных за образование рафтов – СТ и ЦЕР, а вклад фосфолипидов (ФЛ) не превышает 5%. Действие NaCl приводило к существенному и видоспецифичному изменению соотношения групп липидов. Так, в липидном профиле рафтов хлоропластов у *S. perennans* доля ЦЕР достигала 75% от состава мембранных липидов. При этом более чем в 15 раз снижался вклад ГЛ. В меньшей степени снижалась доля и других групп липидов – СТ и ФЛ (рис. 1).

В отличие от *S. perennans* в липидных рафтах хлоропластов *S. salsa* при действии NaCl вклад ФЛ и ЦЕР мало менялся, ГЛ – увеличивался и уменьшалось содержание СТ. При этом доля СТ у *S. perennans* снижалась в 1.3 раза, а у *S. salsa* в 3.2 раза в сравнении с контролем. Судя по сумме ЦЕР+СТ, рафты хлоропластов у *S. perennans* оказались более чувствительными к засолению, чем у *S. salsa*.

Исследование липидных рафтов в мембранах митохондрий выявило противоположную картину. В составе рафтов митохондрий *S. perennans* доля рафтоспецифичных ЦЕР+СТ составляла 90% от суммы мембранных липидов. В опытных вариантах под действием NaCl у *S. perennans* содержание суммы ЦЕР+СТ мало менялось, однако содержание ГЛ снижалось в два раза. В свою очередь в составе липидов рафтов мембран митохондрий *S. salsa* доля ЦЕР увеличивалась в 8 раз по сравнению с контролем (рис. 2).

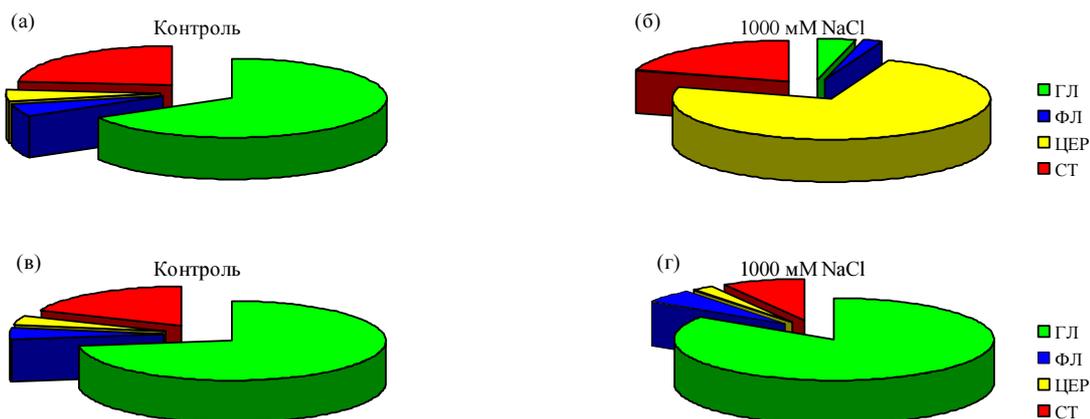


Рис. 1. Влияние NaCl на состав основных групп мембранных липидов рафтов хлоропластов эугаллофитов *S. perennans* (а, б) и *S. salsa* (в, г).

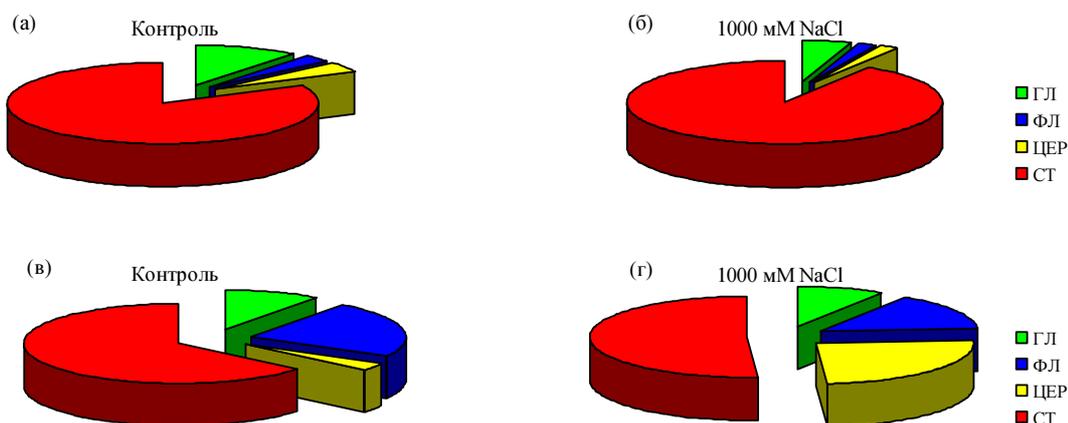


Рис. 2. Влияние NaCl на состав основных групп мембранных липидов рафтов митохондрий эугаллофитов *S. perennans* (а, б) и *S. salsa* (в, г).

На основании полученных данных следует заключить, что наличие липидных рафтов в мембранах клеточных органелл – хлоропластов и митохондрий – является характерным признаком мембран эугаллофитов. Увеличение содержания ЦЕР в липидных рафтах вероятно способствует, в частности – сохранению целостности мембран хлоропластов и митохондрий и солеустойчивости растений в целом.

Литература

1. Lokhande V. H., Suprasanna P. Prospects of halophytes in understanding and managing abiotic stress tolerance // Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change / Ed. P Ahmad, M. N. V. Prasad, New York: Springer, 2012. Pp. 29–56.

2. Flowers T. J., Glenn E. P., Volkov V. Could vesicular transport of Na⁺ and Cl⁻ be a feature of salt tolerance in halophytes? // *Annals of Botany*. 2019. Vol. 123. Pp. 1–18.
3. Khan M. S. Role of sodium and hydrogen (Na⁺/H⁺) antiporters in salt tolerance of plants: Present and future challenges // *African Journal of Biotechnology*. 2011. Vol. 10. Pp.
4. Simons K., Sampaio J. L. Membrane organization and lipid rafts // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2011. Vol. 3. a004697.
5. Mongrand S., Stanislas T., Bayer E. M., Lherminier J., Simon-Plas F. Membrane rafts in plant cells // *Trends in Plant Science*. 2010. Vol. 15 Pp. 656–663.
6. Valitova J. N., Sulkarnayeva A. G., Minibayeva F. V. Plant sterols: diversity, biosynthesis and physiological function // *Biochemistry*. 2016. Vol. 81. Pp. 819–834.
7. Takahashi D., Imai H., Kawamura Y., Uemura M. Lipid profiles of detergent resistant fractions of the plasma membrane in oat and rye in association with cold acclimation and freezing tolerance // *Cryobiology*. 2016. Vol. 72. Pp. 123–134.
8. Rozentsvet O., Nesterkina I., Ozolina N., Nesterov V. Detergent-resistant microdomains (lipid rafts) in endomembranes of the wild halophytes // *Functional Plant Biology*. 2019. Vol. 46. Pp. 869–876.
9. Cossentino C. Na⁺/H⁺ transporters of the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* L.: PhD thesis. Vom Fachbereich Biologie der Technischen Universität Darmstadt, Darmstadt, 2008. 72 p.
10. Trono D., Laus M. N., Soccio M., Pastore D. Transport pathways-proton motive force inter-relationship in durum wheat mitochondria // *International journal of molecular sciences*. 2014. Vol. 15. Pp. 8186–8215.

Статья рекомендована к печати кафедрой биохимии и биотехнологии БашГУ
(д.б.н., проф. Р. Г. Фархутдинов)

Changes in the lipid profile of detergent resistant microdomains (lipid rafts) of cell organelles of euhalophyte plants under salinization conditions

V. N. Nesterov*, O. A. Rozentsvet, E. S. Bogdanova

*Institute of Ecology of the Volga River Basin – Branch of Samara Federal Research Scientific Center of Russian Academy of Science
10 Komzin Street, 445003 Togliatti, Russia.*

*Email: nesvik1@mail.ru

The effect of NaCl on the lipid profile of microdomains of chloroplast and mitochondria membranes of euhalophyte plants was studied. It was found that during salinization of the medium, the main changes among raft-specific lipids are associated with an increase in the relative content of sphingolipids (cerebrosides). The data obtained indicate the participation of microdomains of intracellular membranes in the adaptation of halophytes to soil salinization.

Keywords: lipid rafts, euhalophyte, chloroplast and mitochondria, salt-tolerance, lipids.