

ВЛИЯНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ НА АКТИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ЛИСТЯХ ВИНОГРАДА

Н.Н. Волынчук, аспирант
Полесский государственный университет

Актуальность. В процессе своей жизнедеятельности растения постоянно получают биотические и абиотические сигналы из окружающей среды, поэтому вынуждены различать безвредные сигналы и потенциально опасные. Как следствие, у растений развились различные адаптивные иммунные механизмы, которые обеспечивают им естественную защиту к стрессорам [3]. Как известно, перекисное окисление липидов может оказывать существенное влияние на жизнедеятельность клетки, в частности, изменять свойства мембран, активность мембранно-связанных ферментов, участвовать в регуляции клеточного деления, индукции транскрипции определенных генов. Недавно появились предположения и о сигнальной роли продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активных форм кислорода при стрессе. В связи с этим представляется весьма вероятной возможность участия ПОЛ в регуляции активности систем поддержания гомеостаза клеток растений. ПОЛ прежде всего повреждает клеточные мембраны, что в свою очередь приводит к нарушениям функций мембранных белков и внутриклеточной компартментации веществ. Продукты окислительной модификации липидов вызывают мутации и блокируют клеточное деление. Прежде ПОЛ считали исключительно спонтанным процессом, протекающим без участия ферментов. Затем было показано, что важную роль в ПОЛ играют и ферментативные реакции, в частности, реакции, катализируемые липоксигеназами. Активация этого фермента наблюдается при стрессах, связанных с повреждением растений, при нападении насекомых или травоядных животных. Окисление липидов с помощью этих ферментов приводит к образованию специфических веществ – эйкозаноидов, выполняющих функцию сигнальных молекул при экспрессии генов. Таким образом, в результате перекисного окисления липидов мембран возникает каскад свободнорадикальных реакций с образованием разнообразных спиртов, эфиров, альдегидов. Среди данных соединений могут быть и токсичные. Например, 4-гидрокси-2-гексанал и малоновый диальдегид (МДА) оказывают токсическое действие в клетках растений, модифицируя структуру белков и ДНК.

Цель исследования – характеристика активности перекисного окисления липидов в листьях винограда, инокулированных разными дрожжевыми грибами.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служили укорененные черенки винограда культурного (*Vitis vinifera*) сорта Альфа. Для инокуляции были выбраны штаммы дрожжевых грибов, выделенные их разных эконисх винограда того же сорта и демонстрирующие наилучшие показатели ингибирования роста фитопатогенных грибов *Fusarium oxysporum* БИМ F-609 и *Botrytis cinerea* БИМ F-71 из коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси. Далее штаммы дрожжей обозначены номерами 32,37,17,27 и 64. Обработку почвы проводили суспензией микроорганизма (10^{-6} на 1 мл) из расчета 5 мл на растение. Растения выращивали при комнатной температуре в грунте на основе предварительно простерилизованного торфа «Универсальный». Анализ проводили через 1,5 месяца после инокуляции. Контролем служили растения, обработанные дистиллированной водой.

Активность ПОЛ тестировали по количеству образовавшегося стабильного продукта перекисления липидов мембран – малонового диальдегида (МДА), определенного спектрофотометрически по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [2]. Растительный материал (0,15 г) в трех повторях для каждого варианта гомогенизировали в 5 мл 5мМ фосфатном буфере (pH 7,2). К полученному гомогенату добавляли равный объем 0,5% ТБК в 20% трихлоруксусной кислоте (ТХУ). Полученные образцы нагревали на кипящей водяной бане в течение 20 минут, охлаждали и центрифугировали при 3000 об/мин. Оптическую плотность супернатанта регистрировали фотометрически при 532 нм с учетом на неспецифическое поглощение при 650 нм на спектрофотометре «Shimadzu-UV 2401 PC» (Япония). Количество МДА рассчитывали с учетом миллимолярного коэффициента экстинкции комплекса МДА с ТБК, который с поправкой на неспецифическое поглощение при $\lambda = 600$ нм ($1,5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) составил $1,55 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [1]. Достоверность различий средних

значений определяли с использованием компьютерных программ Statistica (версия 10.0) и Excel 2010. Статистически достоверными считались различия между показателями при $p \leq 0,05$ (отмечены звездочкой).

Результаты исследования. Данные о развитии ответной защитной реакции растений при инокуляции их разными штаммами дрожжевых грибов, связанные с накоплением в клетке продуктов ПОЛ вследствие изменения состояния мембран и перекисления липидов в ответ на действие стресс-факторов, что свидетельствует о стабилизации окислительных процессов представлены в таблице.

Таблица – Содержание продуктов ПОЛ в листьях винограда сорта Альфа, инокулированного дрожжевыми грибами

| Вариант | Содержание МДА | |
|----------|---------------------|--------------|
| | нмоль/г сырой массы | % к контролю |
| контроль | 161,93 | 100 |
| штамм 32 | 155,44 | 95,99 |
| штамм 37 | 143,10 | 88,37 |
| штамм 17 | 173,10 | 106,89 |
| штамм 27 | 181,12 | 112,28 |
| штамм 64 | 123,39* | 76,20 |

Содержание МДА в листьях винограда контрольных растений составило 162 нмоль/г сырой массы. Достоверное его уменьшение на 24% в сравнении с контролем отмечено при инокуляции дрожжевым грибом под №64, выделенным из эписферы ягод винограда на стадии сбора урожая. Известно, что в клетке при нормальных условиях ее жизнедеятельности постоянно происходят процессы ПОЛ, способные приводить к разнообразным структурно-функциональным нарушениям в ней, однако благодаря многоуровневой антиоксидантной системе защиты данные процессы удерживаются на определенном уровне. Дрожжевые грибы по №17 и №27 увеличивают содержание МДА от 6,9% до 12,3% соответственно. Повышенный уровень ПОЛ, по-видимому, свидетельствует о том, что в определенной степени имеются стрессовые условия, в результате чего может происходить дестабилизация клеточных мембран.

Список использованных источников

1. Мерзляк, М. Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки / М. Н. Мерзляк // Итоги науки и техники. Сер. Физиология растений. – 1989 – Т. 6 – С. 111–123.
2. Heath, R. L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation / R. L. Heath, L. Packer // Arch. Biochem. Biophys. – 1968 – Vol. 125, N 1 – P. 189–198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1).
3. Spoel, S. H. How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells / S. H. Spoel, X. Dong // Nat. Rev. Immunol. – 2012 – Vol. 12, N 2 – P. 89–100. <https://doi.org/10.1038/nri3141>