

## Влияние условий произрастания на липидный и жирно-кислотный состав карликовой и высокорослой форм яблони сибирской (*Malus baccata* L.)

А. В. РУДИКОВСКИЙ, Л. В. ДУДАРЕВА, А. В. СТОЛБИКОВА, Е. Г. РУДИКОВСКАЯ, О. Н. ПОТЕМКИН\*

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН  
664033, Иркутск, ул. Лермонтова, 132  
E-mail: prod@sifibr.irk.ru

\*Центральный сибирский ботанический сад СО РАН  
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101  
E-mail: 1964o@mail.ru

### АННОТАЦИЯ

Изложены результаты сравнительного анализа липидного и жирно-кислотного составов корней, листьев и плодов карликовой и высокорослой форм яблони сибирской, произрастающих в условиях разного водообеспечения. Обнаружено, что при адаптации к сниженной влагообеспеченности разных экологических форм яблони внутри одного вида происходят биохимические изменения в количестве и качестве суммарных липидов и фосфолипидов. Показаны заметные различия в химическом составе двух форм яблони по уровню ненасыщенности жирных кислот и фосфолипидов. Наиболее значимые различия в жирно-кислотном составе обнаружены между тканями корней двух форм яблони. Высказывается предположение о том, что эти различия вызваны разной влагообеспеченностью, которая может быть одной из причин формирования карликового статуса яблони сибирской, и о возможном участии липидного пула в этом процессе.

**Ключевые слова:** яблоня сибирская (*Malus baccata* L. Borkh), карликовость, водообеспеченность, липиды, жирные кислоты.

Экспедиционными мероприятиями по выявлению наиболее контрастных экотипов яблони сибирской на территории Селенгинского района Бурятии у подножий южного склона Хамбинского хребта Гусиноозерской котловины обнаружена популяция карликовых растений яблони [1]. Эта форма яблони сибирской, растущей в подлеске редкостойного соснового леса, заметно отличается от высокорослой формы этой же яблони, растущей в дельте Селенги. Причем не только размером, но и рядом других морфологических признаков. Поэтому обнаруженная попу-

ляция представляет интересный материал как для исследования путей экологического видообразования, так и для изучения биохимических основ формирования карликового статуса растений. На такой модели можно исследовать степень влияния на растения неблагоприятных факторов внешней среды и в перспективе попытаться определить, насколько выгодно для деревьев с точки зрения адаптации уменьшение роста.

Наряду с морфологическими различиями между двумя формами существуют различия биохимические, вызванные адаптивными реак-

циями деревьев на разные экологические условия. Наиболее распространенными неблагоприятными для растений факторами являются засуха, высокие и низкие температуры (экстремальные для растений), избыток воды и солей в почве, недостаток кислорода (гипоксия), очень высокая или низкая освещенность, присутствие в атмосфере вредных веществ, ультрафиолетовая радиация, ионы тяжелых металлов. Известно, что недостаток воды в почве может приводить к ограничению роста деревьев [2]. Такое ограничение может рассматриваться как адаптивная реакция растения на стрессовое воздействие. Считается общепризнанным, что суть неспецифических реакций организма на воздействие стрессоров в значительной степени сводится к тем изменениям, которые обнаруживаются в мембранных образованиях клетки [3]. Более того, найдена связь между устойчивостью растений к различным воздействиям и состоянием их мембранных компонентов. Молекулярные сдвиги и структурные перестройки в молекулах мембранных компонентов оказывают глубокое влияние на все формы функциональной активности биологических мембран и влекут за собой каскад сдвигов в метаболических процессах в клетке. При этом изменения в составе клеточных мембран под воздействием внешней среды выступают триггерами сенсорных систем, которые в итоге приводят к запуску антистрессовых механизмов. Для растений, устойчивых к действию стрессоров, показана большая структурная и функциональная стабильность клеточных мембран по сравнению с неустойчивыми. По состоянию мембран (увеличение проницаемости, ПОЛ, изменение индекса ненасыщенности, качественные и количественные изменения в составе липидов и т. д.) можно в определенной степени диагностировать состояние самого растения, находящегося под давлением неблагоприятных факторов. Логично предположить, что адаптация деревьев к недостатку влаги и связанные с этим изменения в липидном и жирнокислотном составе их тканей могут быть одним из звеньев в цепи биохимических событий, участвующих в формировании карликового статуса деревьев. Поэтому задача данной работы – сравнительный анализ липидного и жирнокислотного составов листьев, корней и

плодов высокорослой и карликовой экологических форм яблони сибирской (*Malus baccata* L. Borkh), произрастающих в условиях разного водообеспечения.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали карликовые и высокорослые растения яблони сибирской, произрастающие около оз. Щучье в Селенгинском районе Бурятии. Для изучения липидного и жирнокислотного состава в июне 2007–2009 гг. во время цветения и интенсивного роста отобраны пробы корней и листьев яблони сибирской карликовой и высокорослой форм. Плоды в стадии биологической зрелости с исследуемых деревьев собраны в сентябре тех же годов. Образцы корней, листьев и плодов доставили в лабораторию в специальных контейнерах под жидким азотом и хранили при температуре  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Для определения физических свойств почвы отобрали образцы грунта. Влажность и влагоемкость почвы определяли по стандартным методам горячей сушки и методу трубок [4].

Экстракцию липидов проводили по стандартному методу [5]. Для анализа плодов брали мякоть без семенных камер и кожицы. Навеску растительного материала (0,5 г) фиксировали жидким азотом и растирали в фарфоровой ступке до получения гомогенной массы. Липиды экстрагировали смесью хлороформ – метанол – вода в соотношении (2 : 1 : 0,8 v/v/v), содержащей 0,001 % антиоксидант (ионол). Для анализа суммарных липидов отделяли хлороформную фракцию. Количественное определение содержания липидов проводили весовым методом. Выделение фосфолипидов проводили с использованием колоночной хроматографии по методу Роузера [6]. Хлороформ из липидного экстракта удаляли под вакуумом с помощью роторного испарителя RVO-64 (Чехия). Метилловые эфиры ЖК получали по методу [6]. К экстракту липидов после удаления растворителя добавляли 1%-й метанольный раствор  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и нагревали на водяной бане при  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин. После охлаждения к полученной смеси добавляли воду (до 1/2 объема смеси) и трижды экстрагировали метилловые эфиры ЖК гексаном. Дополни-

ную очистку метиловых эфиров ЖК проводили методом ТСХ на стеклянных пластинках с силикагелем КСК (Россия) в камере с бензолом. Анализ метиловых эфиров ЖК проводили методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973N/6890N MSD/DS Agilent Technologies (США). Детектор – масс-спектрометр – квадруполь, способ ионизации – электронный удар (EI), энергия ионизации 70 эВ, для анализа использовали режим регистрации полного ионного тока. Для разделения использовали капиллярную колонку HP-INNOWAX (30 м × 250 мкм × 0,50 мкм). Неподвижная фаза – полиэтиленгликоль. Подвижная фаза: гелий, скорость потока газа 1 мл/мин. Температура испарителя 250 °С, источника ионов – 230, детектора – 150, линии, соединяющей хроматограф с масс-спектрометром – 280 °С. Диапазон сканирования 41–450 а.е.м. Объем вводимой пробы – 1 мкл, разделение потоков 5 : 1. Хроматографирование выполняли в изократическом режиме при 200 °С. Идентификацию метиловых эфиров ЖК проводили с помощью расчета эквивалентной длины алифатической цепи (ECL) [7]. Кроме этого использовали библиотеки масс-спектров NIST 08, Wiley 7, а также сравнение времени их удерживания со временами удерживания стандартных соединений. Относительное содержание ЖК определяли в массовой доле от общего их содержания в исследуемом образце. Для оценки степени ненасыщенности жирных кислот в составе мембранных липидов использовали индекс ненасыщенности (индекс двойной связи – ИДС), который рассчитывали по формуле:

$$\text{ИДС} = \sum P_j \times n_j / 100,$$

где  $P_j$  – содержание жирных кислот (массовая доля, %);  $n_j$  – число двойных связей в каждой кислоте [8].

Активность ацил-липидных  $\omega 9$ ,  $\omega 6$  и  $\omega 3$  мембранных десатураз, участвующих в био-

синтезе олеиновой, линолевой и  $\alpha$ -линоленовой кислот, определялась с помощью уравнений [9]:

- (1)  $\text{SDR} = (\%C18 : 1) / (\%C18 : 0 + \% C18 : 1);$
- (2)  $\text{ODR} = (\%C18 : 2 + \%C18 : 3) / (\%C18 : 1 + \%C18 : 2 + \%C18 : 3);$
- (3)  $\text{LDR} = (\%C18 : 3) / (\%C18 : 2 + \%C18 : 3).$

В таблицах представлены средние данные из 3–6 биологических повторностей и их стандартные отклонения. Достоверность различий сравниваемых средних значений оценивали с помощью  $t$ -критерия ( $P < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для местности, в которой проводилось исследование, – окрестности оз. Щучье Селенгинского района Бурятии характерен резко выраженный континентальный климат с большими амплитудами годовой и средних месячных температур, большим числом солнечных дней в году. Основными особенностями климата района исследований являются: краткий вегетационный период – 100–130 дней; резкие колебания суточных и среднемесячных температур воздуха; майско-июньская засуха, снижающая урожай растений; высокая интенсивность солнечной радиации; недостаточное увлажнение и неравномерное выпадение осадков. В табл. 1 представлены данные по колебанию показателей температуры и влажности воздуха за июнь 2007–2009 гг. в исследуемом регионе [10].

Исследование агрофизических свойств почвы показало, что в местах произрастания карликовой формы яблони плодородный слой занимал всего 10 см, затем следовала дресва (продукт выветривания горных пород), которая, как известно, характеризуется слабой водоудерживающей способностью. Влажность почвы в местах произрастания карликовой яблони составляла  $(62,9 \pm 4,4)$  % от полной полевой влагоемкости почвы (ППВ) и

Т а б л и ц а 1

Температура и влажность воздуха в Гусиноозерске в июне 2007–2009 гг.

Показатель	2007	2008	2009	Среднее	Max	Min
Температура, °С	19,4	19,0	16,8	18,4	30,2	6,0
Влажность воздуха, %	47,3	54,3	64,0	55,2	97	16

(77,0 ± 4,2) % – в местах произрастания высокорослой яблони. Как видно из приведенных данных, популяция карликовых растений существует в условиях меньшей влагообеспеченности по сравнению с высокорослыми деревьями.

Поскольку устойчивость мембран растений связывают, в частности, с качественными и количественными изменениями в составе их липидов, прежде всего полярных липидов и жирных кислот, то при изучении липидного состава тканей двух экологических форм проводили сравнительный анализ содержания не только суммарных, но и фосфолипидов как основных липидных составляющих клеточных мембран. В результате выявлены значимые различия в содержании как суммарных, так и фосфолипидов у этих двух форм.

Показано, что относительное содержание суммарных липидов в листьях высокорослой и карликовых форм яблони составляет соответственно (10 ± 0,5) % и (7 ± 0,3) % от сухой массы образца. Определено, что ткани листьев высокорослой яблони содержали (58 ± 1,4) %, а образцы карликовой яблони – (48 ± 0,9) % фосфолипидов от общего количества липидов соответственно.

В химическом составе липидов листьев и корней яблони сибирской наблюдали характерные различия, связанные с органоспецифичностью образцов. Качественный анализ липидного состава показал, что листья высокорослой и карликовой яблони имеют приблизительно одинаковый состав нейтральных

липидов (в табл. 2 представлен результат единичного характерного эксперимента). Закономерной особенностью листьев обеих форм является наличие восков, которые, как известно, принимают участие в защите листовой поверхности от излишней потери воды [11]. В корнях в отличие от листьев присутствовали жирные альдегиды. Наличие этих соединений в корнях некоторые авторы объясняют их ингибирующим действием на прорастание чужеродных семян и антибиотическими свойствами [12]. Результаты ТСХ суммарной липидной фракции показывают, что большую часть липидов исследуемых тканей составляют полярные (фосфо- и гликолипиды), которые остаются на стартовой линии.

Как уже говорилось выше, устойчивость мембран растений связывают в том числе с качественными и количественными изменениями в составе их жирных кислот. В связи с изучением адаптации яблони к условиям дефицита воды особый интерес представляет анализ жирно-кислотного состава корней и листьев, а также и соотношение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в мембранных липидах, которые, как известно, являются одной из критических мишеней стрессового воздействия.

Как видно из табл. 3, жирно-кислотный состав суммарных липидов корней представлен 18 кислотами с числом углеродных атомов в диапазоне C14–C23, причем по сравнению с жирно-кислотным составом суммарных и фосфолипидов листьев и суммарных

Т а б л и ц а 2

Распределение нейтральных липидов на одномерной ТСХ\*

Липиды	Rf		
	Листья	Корни	
		карлик	высок.
Фосфолипиды	На стартовой линии		
Диглицериды	0,17		0,18
Стерины	0,25	0,26	0,26
Жирные спирты	0,36	0,34	0,34
Свободные жирные кислоты	0,45	0,40	0,40
Триглицериды	0,47	0,52	0,52
Жирные альдегиды		0,64	0,64
Углеводороды и воски	0,91		

\*Система: гексан : диэтиловый эфир : уксусная кислота (80 : 20 : 1).

Т а б л и ц а 3

## Жирно-кислотный состав суммарных липидов корней двух экологических форм яблони сибирской

Кислота	Карликовая	Высокорослая
	Массовая доля, %	
<b>14 : 0</b>	<b>1,14 ± 0,06</b>	0,88 ± 0,16
15 : 0	0,93 ± 0,10	0,53 ± 0,07
<b>16 : 0</b>	<b>20,6 ± 1,04</b>	<b>21,12 ± 0,81</b>
<b>16 : 1ω9</b>	<b>4,33 ± 0,76</b>	<b>1,7 ± 0,49</b>
16 : 1ω7	1,22 ± 0,01	0,38 ± 0,04
16 : 1ω5	0,77 ± 0,08	0,3 ± 0,01
15-m-16 : 0i	0,44 ± 0,12	–
14-m-16 : 0a	0,3 ± 0,05	0,49 ± 0,28
17 : 0	0,34 ± 0,12	0,95 ± 0,09
17 : 0i	0,20 ± 0,1	–
18 : 0	9,37 ± 1,60	6,6 ± 0,34
<b>18 : 1ω9</b>	<b>14,58 ± 2,08</b>	<b>5,74 ± 0,99</b>
<b>18 : 1ω7</b>	<b>2,48 ± 0,43</b>	<b>1,2 ± 0,30</b>
<b>18 : 2ω6</b>	<b>22,69 ± 1,96</b>	<b>40,87 ± 0,21</b>
<b>18 : 3ω3</b>	<b>12,66 ± 0,44</b>	<b>12,99 ± 1,20</b>
20 : 0	2,51 ± 0,66	2,41 ± 2,41
21 : 0	0,52 ± 0,04	0,75 ± 0,12
22 : 0	4,02 ± 0,99	2,49 ± 0,83
23 : 0	1,11 ± 0,40	0,62 ± 0,15
$\Sigma_{SFA}$	<b>41,48 ± 1,42</b>	<b>36,84 ± 1,01</b>
$\Sigma_{USFA}$	<b>58,73 ± 2,04</b>	<b>63,18 ± 0,41</b>
$\Sigma_{USFA}/\Sigma_{SFA}$	<b>1,42 ± 0,03</b>	<b>1,71 ± 0,05</b>
<b>ИДС</b>	<b>1,07 ± 0,02</b>	<b>1,30 ± 0,03</b>
<b>SDR</b>	<b>0,65 ± 0,01</b>	<b>0,51 ± 0,03</b>
<b>ODR</b>	<b>0,67 ± 0,02</b>	<b>0,89 ± 0,02</b>
<b>LDR</b>	<b>0,36 ± 0,01</b>	<b>0,24 ± 0,02</b>

липидов плодов в корнях сумма насыщенных кислот наибольшая, а сумма ненасыщенных – наименьшая. Основные кислоты корней яблони сибирской – пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая и линоленовая. Основными насыщенными кислотами (SFA) у обеих форм были пальмитиновая (C16 : 0) и стеариновая (C18 : 0). Характерная особенность корней – наличие некоторого количества изомеров кислот с нечетным числом атомов углерода C15–C17, их содержание не превышало 1 % от суммы кислот. Следует отметить, что корни яблони сибирской наряду с неразветвленными жирными кислотами содержали в небольшом количестве их изомерные формы (изо- и антеизокислоты).

В составе жирных кислот корней и карликовой, и высокорослой форм яблони преобладали ненасыщенные жирные кислоты (USFA).

Их содержание относительно суммы кислот составляло (58,73 ± 2,04) и (63,17 ± 0,41) % соответственно. Среди ненасыщенных жирных кислот идентифицированы моноеновые, диеновые и триеновые кислоты, в основном образующие ω9-, 2ω6- и 3ω3- семейства жирных кислот с *цис*-конфигурацией двойных связей. Среди моноеновых кислот обнаружены в небольшом количестве кислоты семейства ω7-. Преобладающей среди моноеновых кислот у обеих форм была олеиновая. Ее содержание составляло (14,58 ± 2,08) % от суммы кислот у карликовой и (5,74 ± 0,99) % – у высокорослой. Содержание стеариновой и олеиновой кислот в корнях карликовой формы заметно выше, чем в корнях высокорослой.

Как видно из табл. 3 параметры, характеризующие степень ненасыщенности жирных кислот – индекс ненасыщенности (ИДС) и отношение количества ненасыщенных и насыщенных кислот ( $\Sigma_{USFA}/\Sigma_{SFA}$ ) у двух типов яблони заметно отличались. У высокорослой формы оба показателя достоверно выше. Так, индекс ненасыщенности жирных кислот в корнях карликовой и высокорослой форм яблони составлял (1,07 ± 0,02) (самый низкий показатель из всех исследуемых тканей) и (1,30 ± 0,03) соответственно.

Расчет десатуразных отношений показал, что активности ω9- (SDR), ω6- (ODR) и ω3- (LDR) десатураз для тканей корней двух экологических форм существенно различались. Активность ω3-десатуразы в нефотосинтезирующих органах – корнях обеих форм яблони была закономерно более низкой, чем в листьях. Сравнительно высокую активность наблюдали только у ω6-десатуразы в высокорослой яблоне. Активность ω9-десатуразы была выше для корней карликовой яблони, что согласуется с заметно более высоким относительным содержанием в них олеиновой и пальмитолеиновой кислот. И хотя активность ω3-десатуразы у карликовой формы была более высокой, содержание линоленовой кислоты у обеих форм было примерно одинаковым, что может быть связано с более высокой активностью ω6-десатуразы у высокорослой формы. Кроме того, многими авторами [13, 14] отмечается, что содержание триеновых жирных кислот в корневых тканях растений зависит главным образом от активности *Fad3*-десатуразы, локализованной

**Жирно-кислотный состав суммарных липидов листьев двух экологических форм яблони сибирской**

Кислота	Карликовая	Высокорослая
	Массовая доля, %	
12 : 0	0,39 ± 0,01	–
14 : 0	0,11 ± 0,01	0,64 ± 0,19
15 : 0	–	0,12 ± 0,02
<b>16 : 0</b>	<b>18,14 ± 0,70</b>	<b>18,91 ± 2,13</b>
<b>16 : 1<math>\omega</math>9</b>	2,07 ± 0,25	1,61 ± 0,28
16 : 1 $\omega$ 7	0,09 ± 0,01	0,23 ± 0,11
16 : 1 $\omega$ 5	0,14 ± 0,02	0,14 ± 0,01
17 : 0-а	0,04 ± 0,01	0,19 ± 0,02
17 : 0	0,19 ± 0,01	–
<b>16 : 3<math>\omega</math>3</b>	0,29 ± 0,09	0,39 ± 0,17
<b>18 : 00</b>	<b>3,84 ± 0,39</b>	<b>2,67 ± 0,45</b>
<b>18 : 1<math>\omega</math>9</b>	<b>5,12 ± 0,19</b>	<b>5,46 ± 1,16</b>
<b>18 : 1<math>\omega</math>7</b>	0,26 ± 0,04	0,33 ± 0,12
<b>18 : 2<math>\omega</math>6</b>	<b>18,04 ± 1,26</b>	<b>16,43 ± 1,81</b>
18 : 3 $\omega$ 3	48,11 ± 1,64	50,47 ± 1,88
20 : 0	1,75 ± 0,53	1,41 ± 0,71
20 : 1	0,31 ± 0,06	–
21 : 0	0,13 ± 0,03	–
22 : 0	0,72 ± 0,27	0,51 ± 0,44
$\Sigma_{SFA}$	<b>25,31 ± 0,84</b>	<b>24,45 ± 0,78</b>
$\Sigma_{USFA}$	<b>74,59 ± 1,95</b>	<b>74,99 ± 1,23</b>
$\Sigma_{USFA}/\Sigma_{SFA}$	2,95 ± 0,12	3,07 ± 0,10
ИДК	1,89 ± 0,04	1,93 ± 0,03
SDR	0,58 ± 0,02	0,68 ± 0,03
ODR	0,92 ± 0,01	0,92 ± 0,01
LDR	0,73 ± 0,01	0,76 ± 0,01

в эндоплазматическом ретикулуме, высокий уровень которой приводит к увеличению содержания  $\alpha$ -линоленовой кислоты и уменьшению содержания линолевой. Например, анализ жирно-кислотного состава липидов в тканях трансгенных растений показал, что экспрессия ацил-липидной  $\omega$ 3 жирно-кислотной десатуразы приводила к более чем 10-кратному увеличению уровня  $\alpha$ -линоленовой кислоты в липидах семян *A. thaliana* и корнях моркови (*Daucus carota* L.) [15]. Высокий уровень олеиновой и пальмитолеиновой кислот в корнях карликовой формы яблони сибирской может указывать на важную роль соответствующих генов семейства *fad* жирно-кислотной  $\omega$ 9 десатуразы в реакции карликовых деревьев на условия пониженной влагообеспеченности.

Относительно низкое значение ODR для корней карликовых деревьев может считаться особенностью этих тканей, поскольку это значение составляло 0,90–0,95 для обеих форм во всех других исследованных случаях. Известно, что на молекулярном уровне важную роль в адаптивных процессах играют липиды, образующие в клеточных и внутриклеточных мембранах растений липидный бислой. Он включает в себя различные ферменты, в том числе ацил-липидные десатуразы, катализирующие синтез ненасыщенных ЖК, роль которых в адаптации растений к различным стрессорам неоднократно доказана. Логично предположить, что липидная адаптация корней к дефициту воды у двух форм яблони, связанная с индукцией синтеза ПНЖК, определяется экспрессией разных генов семейства *fad*. Значительное преобладание линолевой, моноеновых – олеиновой и цис-вакценовой кислот в корнях по сравнению с листьями, также указывает на органоспецифичность состава жирных кислот.

Жирно-кислотный состав суммарных липидов листьев обеих форм представлен в табл. 4. Из 20 кислот с числом углеродных атомов от 12 до 23 доминирующими (содержание более 3 %) насыщенными были пальмитиновая и стеариновая, а доминирующими ненасыщенными – олеиновая, линолевая и линоленовая кислоты. Среди насыщенных кислот присутствовала короткоцепочечная лауриновая кислота (C12 : 0). В целом обе формы яблони имели характерный для фотосин-

тезирующих органов состав жирных кислот с высоким содержанием  $\alpha$ -линоленовой кислоты. При этом достоверных различий между двумя формами по составу и относительному содержанию жирных кислот не наблюдали, за исключением активности у суммарных липидов  $\omega$ 9-десатуразы, отвечающей за формирование первой двойной связи. Она была достоверно выше у высокорослой формы, нежели у карликовой – (0,68 ± 0,03) и (0,58 ± 0,02) соответственно. Этот факт может быть косвенным свидетельством в пользу предположения о несколько более высокой интенсивности синтетических процессов в липидах листьев высокорослой формы.

Известно, что 80 % мембранных липидов растений приходится на фосфолипиды, а устойчивость к различным стрессам в первую очередь связана с изменением жирно-

Т а б л и ц а 5

**Жирно-кислотный состав фосфолипидов листьев  
двух экологических форм яблони сибирской**

Кислота	Карликовая	Высокорослая
	Массовая доля, %	
14 : 0	0,32 ± 0,18	0,18 ± 0,08
15 : 0	0,05 ± 0,03	0,08 ± 0,02
<b>16 : 0</b>	<b>20,87 ± 1,19</b>	<b>15,68 ± 1,50</b>
<b>16 : 1<math>\omega</math>9</b>	<b>3,78 ± 1,26</b>	<b>2,88 ± 0,43</b>
16 : 1 $\omega$ 7	0,17 ± 0,06	0,25 ± 0,02
16 : 1 $\omega$ 5	0,1 ± 0,05	0,18 ± 0,06
C17 : 0	0,22 ± 0,04	0,2 ± 0,02
<b>16 : 3<math>\omega</math>3</b>	<b>0,21 ± 0,1</b>	<b>0,64 ± 0,21</b>
<b>18 : 0</b>	<b>3,52 ± 0,50</b>	<b>2,64 ± 0,28</b>
<b>18 : 1<math>\omega</math>9</b>	<b>3,53 ± 0,72</b>	<b>3,11 ± 0,18</b>
<b>18 : 1<math>\omega</math>7</b>	<b>0,33 ± 0,04</b>	<b>0,31 ± 0,04</b>
<b>18 : 2<math>\omega</math>6</b>	<b>11,94 ± 1,21</b>	<b>8,66 ± 1,46</b>
<b>18 : 3<math>\omega</math>3</b>	<b>53,33 ± 2,04</b>	<b>63,49 ± 1,1</b>
C20 : 0	0,6 ± 0,15	0,5 ± 0,09
20 : 1(n-9)	0,24 ± 0,09	0,14 ± 0,03
C21 : 0	0,06 ± 0,03	0,05 ± 0,01
20 : 3(n-3)	0,2 ± 0,04	0,36 ± 0,04
C22 : 0	0,3 ± 0,09	0,32 ± 0,04
C23 : 0	0,08 ± 0,04	0,07 ± 0,01
$\Sigma_{SFA}$	<b>26,02 ± 2,01</b>	<b>19,72 ± 1,95</b>
$\Sigma_{USFA}$	<b>73,83 ± 2,11</b>	<b>80,02 ± 1,74</b>
$\Sigma_{USFA}/\Sigma_{SFA}$	<b>2,84 ± 0,15</b>	<b>4,06 ± 0,23</b>
<b>ИДС</b>	<b>1,93 ± 0,02</b>	<b>2,18 ± 0,05</b>
SDR	<b>0,52 ± 0,01</b>	<b>0,56 ± 0,01</b>
ODR	<b>0,94 ± 0,01</b>	<b>0,95 ± 0,01</b>
LDR	<b>0,82 ± 0,02</b>	<b>0,88 ± 0,01</b>

кислотного состава именно мембранных липидов. Поэтому следующей задачей исследования был сравнительный анализ относительного содержания жирных кислот в фосфолипидах листьев карликовой и высокорослой форм. В результате такого анализа (табл. 5) установлено, что в фосфолипидах карликовой формы яблони содержание ненасыщенной пальмитиновой кислоты выше, что отразилось в интегральных показателях степени ненасыщенности. И отношение содержания насыщенных и ненасыщенных кислот, и индекс ненасыщенности у высокорослой формы были заметно выше, чем у карликовой. В целом индекс ненасыщенности для листьев обеих форм был высоким (2,18 ± 0,05 для высокорослой формы и 1,93 ± 0,02 для карликовой) за счет большого содержания полиненасыщенных кислот. Разница между двумя экологическими формами по этому пара-

метру у фосфолипидной фракции закономерно более выражена, чем во фракции суммарных липидов. У обеих форм наблюдали присутствие некоторого количества изомеров мононенасыщенных кислот ряда C16 : 1 и C18 : 1, а также длинноцепочечных ненасыщенных кислот ряда C20, относительное содержание которых при этом не превышало 0,5 %. Суммарное содержание ненасыщенных жирных кислот по мере увеличения карликовых свойств достоверно снижалось от 80,02 ± 1,74 до (73,83 ± 2,11) %.

Результаты анализа жирно-кислотного состава суммарных липидов плодов высокорослой и карликовой форм представлено в табл. 6. Основными насыщенными кислотами в плодах обеих форм являются пальмитиновая и стеариновая. Насыщенные кислоты с числом углеродных атомов менее 16 составляют не более 1,33 % от суммы кислот. В плодах обеих форм обнаружили в небольших количествах короткоцепочечную C12 : 0 (лауриновую) кислоту. Как видно из таблицы, преобладающими в тканях плодов обеих форм были ненасыщенные кислоты. Мононенасыщенные представлены олеиновой, *цис*-вакценовой и следовыми количествами пальмитоолеиновой кислоты. Основными полиненасыщенными кислотами были диеновая линолевая и триеновая  $\alpha$ -линоленовая. Обращает на себя внимание соотношение содержания линолевой и линоленовой кислот. Если у высокорослой формы содержание линолевой кислоты заметно выше, чем линоленовой (42,20 ± 1,41 и 26,98 ± 2,11 соответственно), то у карликовой содержание этих кислот практически одинаково (33,82 ± 1,14 и 32,18 ± 2,11 соответственно). По-видимому, это связано с более высокой активностью  $\omega$ 3-десатуразы в плодах карликовой формы, которая подтверждается более высоким значением линолеил-десатуразного отношения для этих плодов.

Судя по литературным данным [16, 17], для плодов высокорослых культивируемых и дикорастущих яблонь характерно более высокое содержание линолевой кислоты по сравнению с  $\alpha$ -линоленовой. Повышенное содержание  $\alpha$ -линоленовой кислоты в плодах карликовых яблонь, возможно, объясняется условиями недостаточной влагообеспеченности в местах произрастания таких яблонь,

Т а б л и ц а 6

**Жирно-кислотный состав суммарных липидов  
плодов двух экологических форм яблони сибирской**

Кислота	Карликовая	Высокорослая
	Массовая доля, %	
C12 : 0	0,47 ± 0,07	0,3 ± 0,22
C14 : 0	0,69 ± 0,06	0,48 ± 0,13
C15 : 0	0,17 ± 0,02	0,18 ± 0,10
<b>C16 : 0</b>	<b>19,71 ± 1,08</b>	<b>18,21 ± 0,70</b>
<b>16 : 1<math>\omega</math>9</b>	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,01
16 : 1 $\omega$ 7	0,25 ± 0,04	0,18 ± 0,03
C17 : 0	0,46 ± 0,04	0,38 ± 0,09
<b>C18 : 0</b>	<b>5,01 ± 0,90</b>	<b>5,05 ± 1,50</b>
<b>18 : 1<math>\omega</math>9</b>	<b>2,8 ± 0,13</b>	<b>2,6 ± 1,19</b>
<b>18 : 1<math>\omega</math>7</b>	<b>1,17 ± 0,11</b>	<b>0,93 ± 0,01</b>
<b>18 : 2<math>\omega</math>6</b>	<b>33,82 ± 0,92</b>	<b>42,2 ± 1,41</b>
<b>18 : 3<math>\omega</math>3</b>	<b>32,18 ± 1,14</b>	<b>26,98 ± 2,11</b>
<b>C20 : 0</b>	<b>2,2 ± 0,78</b>	<b>1,82 ± 1,03</b>
C21 : 0	0,29 ± 0,12	0,26 ± 0,20
C22 : 0	0,68 ± 0,37	0,39 ± 0,38
$\Sigma_{SFA}$	<b>29,68 ± 1,10</b>	<b>27,07 ± 0,82</b>
$\Sigma_{USFA}$	<b>70,29 ± 0,59</b>	<b>72,93 ± 0,63</b>
$\Sigma_{USFA} / \Sigma_{SFA}$	<b>2,37 ± 0,10</b>	<b>2,69 ± 0,12</b>
<b>ИДС</b>	<b>1,68 ± 0,09</b>	<b>1,69 ± 0,10</b>
<b>SDR</b>	<b>0,44 ± 0,01</b>	<b>0,41 ± 0,01</b>
<b>ODR</b>	<b>0,94 ± 0,02</b>	<b>0,95 ± 0,01</b>
LDR	0,49 ± 0,01	0,39 ± 0,02

которые стимулируют экспрессию гена *Fad3*, отвечающего за синтез  $\omega$ 3-десатураз, обеспечивающих введение третьей двойной связи в углеродную цепь. Какое преимущество это может давать растению в плане адаптации, еще предстоит выяснить. Возможно, что это способ сохранения генеративного аппарата от последствий воздействия стрессирующих факторов.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что карликовая яблоня имеет меньшее количество липидов и фосфолипидов по сравнению с высокорослой. Меньшее относительное содержание суммарных липидов и фосфолипидов в тканях низкорослых форм может свидетельствовать о том, что такие условия являются для них стрессирующими. Более того, выявляются определенные различия и в качественном жирно-кислотном составе фосфолипидов листьев исследуемых форм. В

первую очередь обращает на себя внимание заметное различие в отношениях содержания насыщенных и ненасыщенных кислот. Количественно это выражается в разнице индексов ненасыщенности и отношений содержания ненасыщенных кислот к насыщенным, что, по-видимому, также может свидетельствовать о стрессовом состоянии клеточных мембран карликовых растений.

Карликовость в данном случае, вероятно, может быть рассмотрена как адаптивная модификация, которая расширяет возможности организма для выживания и размножения в конкретных условиях внешней среды. Возникающие в подобных условиях наследственные изменения могут подхватываться естественным отбором, и таким путем вид может более активно осваивать новые экологические ниши и достигать более эффективной приспособляемости к ним. Высокие индексы ненасыщенности, характерные для тканей листьев в растениях, обеспечиваются большим содержанием полиненасыщенных кислот, что дает растениям определенный “запас прочности” для существования в суровых условиях. Несмотря на некоторую разницу в жирно-кислотном составе, обе изучаемые формы яблони сибирской поддерживали уровень ненасыщенности жирных кислот в вегетативных органах на оптимальном уровне.

В связи с разными условиями увлажненности почвы в местах произрастания особое внимание привлекают различия в составе жирных кислот в тканях корней обеих форм. Агрофизическое изучение почв и уровня влагообеспеченности в местах произрастания яблони сибирской показало, что карликовые деревья растут в условиях сниженной влагообеспеченности почвы. Безусловно, в первую очередь это сказывается на состоянии и функционировании корней, поэтому наибольшие отличия в жирно-кислотном и липидном составе двух форм мы наблюдали именно для корней.

Таким образом, проведенными исследованиями количественного и качественного состава липидов и жирных кислот в тканях двух форм яблони сибирской выявлены существенные различия в содержании суммарных липидов и в жирно-кислотном составе тканей корней карликовых и высокорослых деревьев. Вероятно, эти различия обусловлены разной



влагообеспеченностью, недостаток которой может быть одной из причин формирования карликового статуса у яблони сибирской.

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ – проект № 11-04-00793.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Рудиковский А. В., Рудиковская Е. Г., Дударева Л. В., Кузнецова Е. В. Уникальные и редкие формы яблони сибирской Селенгинского района Бурятии // Сиб. экол. журн. 2008. № 2. С. 327–333.
2. Крамер Д. П., Козловский Т. Т. Физиология древесных растений. М.: Лесная пром-сть, 1983. 464 с.
3. Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2002. 244 с.
4. Вадюнина А. Ф., Корчагина З. А. Методы исследования физических свойств почвы. М.: Агропромиздат, 1986. 416 с.
5. Bligh E. G., Dyer W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol. 1959. Vol. 37. P. 911–917.
6. Christie W. W. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis // Advances in Lipid Methodology. Two. Oily Press. Dundee. 1993. P. 69–111.
7. Christie W. W. Equivalent chain lengths of methyl ester derivatives of fatty acids on gas chromatography: A reappraisal // J. Chromatogr. 1988. Vol. 447. P. 305–314.
8. Lyons J. M., Wheaton T. A., Pratt H. K. Relationship between the physical nature of Mitochondrial membranes and chilling sensitivity in plants // Plant Physiol. 1964. Vol. 39. P. 262–268.
9. Cartea M. E., Midgal M., Galle A. M., Pelletier G., Guerche P. Comparison of sense and antisense methodologies for modifying the fatty acid composition of *Arabidopsis thaliana* oilseed // Plant Sci. 1998. Vol. 136. P. 181–194.
10. <http://rp5.ru/>
11. Samuels L., Kunst L., Jetter R. Sealing plant surfaces cuticular wax formation by epidermal cells // Ann. Rev. Plant Biol. 2008. Vol. 59. P. 683–707.
12. Zhuang H., Hamilton-Kemp T. R., Andersen R. A., Hildebrand D. F. The impact of alteration of polyunsaturated fatty acid levels on C6-aldehyde formation of *Arabidopsis thaliana* leaves // Plant Physiol. 1996. Vol. 111, N 3. P. 805–812.
13. Hamada T., Iba K., Shimada T. Reduction of trienoic fatty acid content by expression of a double-stranded RNA of a plastid  $\omega$ -3 fatty acid desaturase gene in transgenic tobacco // Biotechnol. Lett. 2006. Vol. 28. P. 779–785.
14. Horigushi G., Fuse T., Kawakami N., Kodama H., Iba K. ER  $\omega$ -3 fatty acid desaturase gene in wheat root tips. // Plant J. 2000. Vol. 24. P. 805–813.
15. Yadav N. C., Wierzbicki A., Aegerter M. Cloning of higher plant  $\omega$ -3 fatty acid desaturases. // Plant Physiol. 1993. Vol. 103. P. 467–476.
16. Shioh Y. Wang and Miklos Faust. Variation in lipid composition of apples in relation to watercore // J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1992. Vol. 117. P. 829–833.
17. Prabha T. N., Raina P. L., Patwardhan M. V. Lipid profile of cultured cells of apple (*Malus sylvestris*) and apple tissue // J. Biosci. 1988. Vol. 13, N1. P. 33–38.

## Effect of Growing Conditions on the Composition of Lipids and Fatty Acids in Dwarf and Tall Forms of Siberian Apple (*Malus baccata* L.)

A. V. RUDIKOVSKY, L. V. DUDAREVA, A. V. STOLBIKOVA,  
E. G. RUDIKOVSKAYA, O. N. POTEKIN\*

*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS  
664033, Irkutsk, Lermontov str., 132  
E-mail: prod@sifibr.irk.ru*

\* *Central Siberian Botanical Garden SB RAS  
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101  
E-mail: 1964o@mail.ru*

Results of the comparative analysis of lipid and fatty acid composition of the roots, leaves and fruit of the dwarf and tall forms of Siberian apple growing under the conditions of different water supply are described. It was discovered that adaptation to decreased water supply in different ecological forms of apple within the same species involves biochemical changes in the amount and quality of total lipids and phospholipids. Noticeable differences in the chemical composition of the two forms of apple were demonstrated in the level of unsaturation of fatty acids and phospholipids. The most significant differences in the fatty acid composition were detected between the root tissues of the two apple forms. It is assumed that these differences are caused by differences in water supply, which can be one of the reasons of the formation of the dwarf status of Siberian apple; possible participation of the lipid pool in this process is also assumed.

**Key words:** Siberian apple (*Malus baccata* L. Borkh), dwarfism, water supply, lipids, fatty acids.