

В. В. Бараненко

## Вміст ліпофусцинових сполук у листках *Sium latifolium* L. за різних умов водозабезпечення

(Представлено членом-кореспондентом НАН України Є. Л. Кордюм)

Вивчено утворення ліпофусцинових сполук, так званих пігментів старіння, у листках рослин суходільного та повітряно-водного екотипів *Sium latifolium* L. на стадії цвітіння та плодоношення. Відмічено появу даних сполук у представників обох екотипів вже на стадії цвітіння ще за відсутності явних ознак старіння. На стадії плодоношення мало місце подальше накопичення ліпофусцинів. Рослини суходільного екотипу, що зростали за умов помірного дефіциту вологи у ґрунті, характеризувалися істотнішим утворенням сполук як на стадії цвітіння, так і на стадії плодоношення порівняно з повітряно-водними рослинами, що зростали за умов достатнього зволоження ґрунту. Очевидно, процеси старіння у суходільних рослин настають раніше і їх перебіг інтенсивніший, ніж у повітряно-водних, що може бути обумовлено помірним дефіцитом вологи в ґрунті.

Ліпофусцин — жиробілковий пігмент, що накопичується в цитоплазмі клітин практично всіх тканин та органів людини, тварин та рослин [1–6]. Причому ліпофусцини на початкових стадіях росту та розвитку, тобто у молодих організмів, не визначаються, проте в середньому віці вони починають накопичуватися в клітинах, а під час старіння їх рівень різко зростає. Тому ліпофусцини називають ще “пігментами старіння” [1, 2, 5, 6]. Крім того, накопичення ліпофусцинових сполук відмічено за умов впливу несприятливих факторів у рослинах [7, 8], за патологічних станів людини [1, 9], тому їх ще називають “пігментами зношування”. Утворення даних сполук пов’язують з розвитком вільнорадикального окиснення [10, 11]. Зокрема, їх поява обумовлена взаємодією продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), таких як малонового діальдегіду та гідроксिनоненалу, зі сполуками, що містять вільні аміногрупи, тобто з амінокислотами, нуклеїновими кислотами, білками, ліпідами, вуглеводнями [3, 4, 10, 11]. Ліпофусцинові сполуки мають досить сильну флуоресценцію у видимій частині спектра, завдяки чому можуть бути виявлені навіть у невеликих кількостях. Їх максимуми збудження знаходяться в області 350–370 нм, а випускання флуоресценції — 430–440 нм. До складу ліпофусцинових гранул входять 19–51% ліпідів, 30–50% білків та 9–30% стійких до кислотного гідролізу залишків [10].

Дослідження ліпофусцинових сполук інтенсивно проводиться з використанням тваринних об’єктів та в медицині, зокрема в геронтології [4, 5]. Проте автору вдалося знайти невелику кількість робіт, присвячених вивченню даних сполук у рослинних об’єктах, і, головним чином, це роботи віддалених років [2, 5, 7, 8]. Вивчення динаміки накопичення ліпофусцинових сполук може дати цінну інформацію про фізіологічний стан рослин, їх адаптаційну здатність за умов впливу несприятливих факторів.

Метою проведеного дослідження було вивчення накопичення ліпофусцинових сполук у листках веху широколистої (*Sium latifolium* L.) повітряно-водного та суходільного екотипів. Рослини зростали за різних умов водозабезпечення, зокрема, повітряно-водні — за умов достатнього зволоження ґрунту в прибережній смузі річки Псьол (Полтавська обл.,

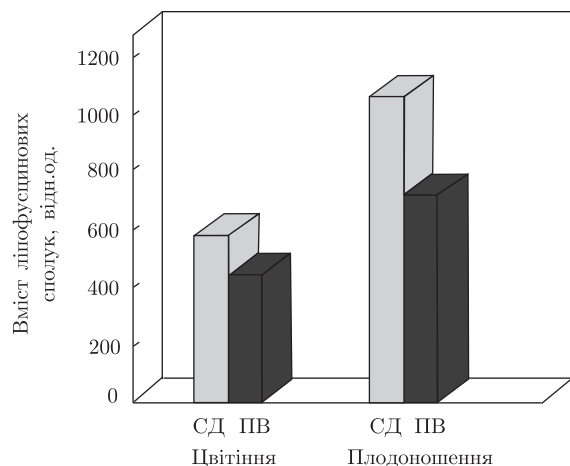


Рис. 1. Вміст ліпофусцинових сполук у листках *Sium latifolium* L. суходільного (СД) та повітряно-водного (ПВ) екотипів на стадії цвітіння та плодоношення рослин

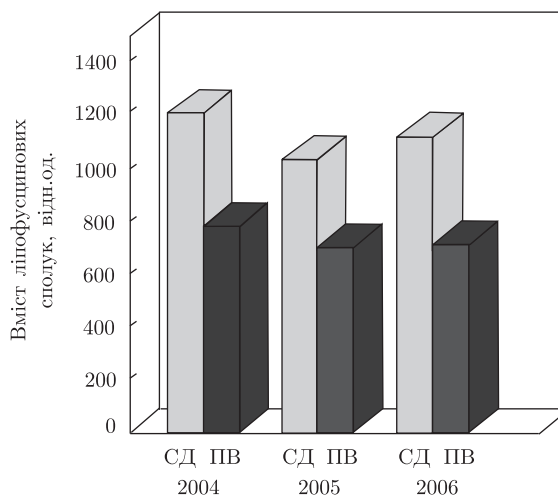


Рис. 2. Вміст ліпофусцинових сполук у листках *Sium latifolium* L. суходільного (СД) та повітряно-водного (ПВ) екотипів на стадії плодоношення у різні роки збору матеріалу

смет Велика Багачка), тоді як суходільні рослини — відповідно, на суходолі, тобто за умов помірного водного дефіциту. При цьому останні характеризувалися значно меншими розмірами та завершували повний цикл розвитку раніше за повітряно-водні рослини. Дослідження проводилися під час цвітіння та плодоношення рослин протягом 2004–2006 рр.

**Матеріал та методи дослідження.** Вміст ліпорозчинних флуоресціюючих сполук визначали як описано в роботі Мерзляка зі співавт. [12]. Спочатку екстрагували ліпіди за методом Фолча [13], потім проводили фазове розділення ліпофусцинових сполук від рослинних пігментів між рівними об'ємами гексану та 80% водного метанолу. Екстракцію гексаном виконували п'ять разів, доки епіфіза не стала безколірною. Відбирали водно-метанольну фазу, що містила ліпофусцинові сполуки, потім до неї добавляли хлороформ та воду, щоб співвідношення хлороформ — метанол — вода становило 8 : 4 : 3. Після розділення фаз відбирали хлороформну фазу та висушували. Спектри флуоресценції реєстрували за допомогою флуорометра ХЕРАМ у суміші хлороформ — метанол (1 : 1) при довжині хвилі флуоресценції 430 нм.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Результати визначення вмісту ліпофусцинових сполук у листках *Sium latifolium* L. показали їх наявність уже на стадії цвітіння рослин, хоча видимих ознак старіння ще не було відмічено (рис. 1). І це було характерно для рослин обох екотипів, проте у суходільних рослин їх вміст був на 27–30% вищим за відповідний у повітряно-водних. Під час плодоношення накопичення ліпофусцинових сполук у листках рослин обох екотипів було ще істотнішим порівняно з попередньою стадією цвітіння. Зокрема, у суходільних рослин їх вміст підвищився в 1,8 раза, тоді як у повітряно-водних — у середньому в 1,6 раза порівняно зі стадією цвітіння. При цьому утворення флуоресціюючих сполук, як і на попередній стадії розвитку, було значнішим у суходільних рослин (у середньому в 1,5 раза) порівняно з повітряно-водними рослинами. Також, залежно від року збору матеріалу, спостерігались певні коливання у вмісті даних сполук. Зокрема, у більш посушливі роки їх кількість зростала, особливо у суходільних рослин, порівняно з роками, коли зволоження ґрунту було більш-менш достатнім (рис. 2).

Згідно з даними літератури, початок утворення ліпофусцинових сполук у клітинах рослин відбувається на ранніх етапах процесу старіння, коли ще не помітно зниження тургору листків, а кількість пошкодженого хлорофілу не перевищує 10% його вмісту в інтактних листках [12]. У наших дослідженнях на стадії цвітіння листки рослин обох екотипів були інтенсивного зеленого кольору і помітної різниці між їх забарвленням не виявлено, проте на рівні клітин вже мало місце накопичення так званих пігментів старіння у рослин обох екотипів, причому інтенсивніше у суходільних рослин, що зростали за умов помірного дефіциту вологи. І це зрозуміло, адже саме вони зазнають істотнішого коливання метеорологічних факторів, таких як висока температура, інтенсивне сонячне випромінювання, дефіцит вологи, особливо в посушливі роки, тоді як повітряно-водні рослини постійно зростають за умов достатнього зволоження ґрунту.

Накопичення ліпофусцинових сполук розглядають як доказ посилення інтенсивності процесів ПОЛ у клітинах і тканинах рослин [3, 4, 6, 10]. Результати наших досліджень узгоджуються з отриманими раніше даними щодо перебігу ПОЛ у листках *Sium latifolium* L. [14]. Зокрема, відмічено підвищення рівнів ПОЛ у рослин обох екотипів на стадії цвітіння, і ще істотніше — під час плодоношення, особливо у суходільних рослин [14]. Отже, появу ліпофусцинових сполук у листках *Sium latifolium* можна пояснити інтенсифікацією ПОЛ, що, у свою чергу, обумовлено розвитком процесів старіння, причому вже на стадії цвітіння. Відомо, що старіння є генетично детермінованим процесом, який характеризується значним посиленням продукування активних форм кисню та інтенсифікацією ПОЛ, що спричиняє окиснювальну деструкцію важливих внутрішньоклітинних компонентів, зокрема молекул хлорофілу, білків, ліпідів, вуглеводнів, ДНК тощо [10, 15]. Істотніше накопичення ліпофусцинових сполук у суходільних рослин свідчить про інтенсивніший перебіг у них процесів старіння, причому починаючи зі стадії цвітіння, порівняно з повітряно-водними рослинами. І це, очевидно, є адаптаційною реакцією суходільних рослин на дефіцит вологи у ґрунті. Тобто, суходільні рослини за короткий термін проходять усі етапи онтогенезу і в них раніше настають процеси старіння.

Таким чином, згідно з одержаними результатами досліджень, у листках рослин обох екотипів *Sium latifolium* вже на стадії цвітіння відбувається накопичення ліпофусцинових сполук, причому інтенсивніше у суходільних рослин, хоча видимі ознаки старіння в цей період ще не виявляються. Істотніше накопичення даних сполук у листках суходільних рослин як на стадії цвітіння, так і в період плодоношення свідчить про інтенсивніший розвиток у них процесів старіння порівняно з повітряно-водними рослинами, тобто суходільні рослини випереджають у своєму рості та розвитку повітряно-водні рослини. І це, очевидно, є адаптаційною реакцією суходільних рослин на помірний дефіцит вологи в ґрунті.

1. Большая медицинская энциклопедия / Под ред. Б. В. Петровского. – Москва: Сов. энцикл., 1980. – Т. 13. – С. 198.
2. Duggelin T., Bortlik K., Gut H. et al. Leaf senescence in *Festuca pratensis*: accumulation of lipofuscinlike compounds // *Physiol. plant.* – 1988. – **74**, No 1. – P. 131–136.
3. d'Ischia M., Costantini C., Prota G. Lipofuscin-like pigments by autoxidation of polyunsaturated fatty acids in the presence of amine neurotransmitters: the role of malondialdehyde // *Biochim. et biophys. acta.* – 1996. – **1290**, No 3. – P. 319–326.
4. Itakura K., Oya-Ito T., Osawa T. et al. Detection of lipofuscin-like fluorophore in oxidized human low-density lipoprotein: 4-Hydroxy-2-nonenal as a potential source of fluorescent chromophore // *FEBS Lett.* – 2000. – **473**, No 2. – P. 249–253.
5. Hütter E., Skovbro M., Lener B. et al. Oxidative stress and mitochondrial impairment can be separated from lipofuscin accumulation in aged human skeletal muscle // *Aging Cell.* – 2007. – **6**, No 2. – P. 245–256.

6. Kumar G. N. M., Knowles N. R. Changes in Lipid Peroxidation and Lipolytic and Free-Radical Scavenging Enzyme Activities during Aging and Sprouting of Potato (*Solanum tuberosum*) Seed-Tubers // Plant Physiol. – 1993. – **102**, No 1. – P. 115–124.
7. Barka E. A., Kalantar S., Makhlouf J., Arul J. Effects of UV-C irradiation on lipid peroxidation markers during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruits // Austral. J. Plant Physiol. – 2000. – **27**, No 2. – P. 147–152.
8. Röderer G. On the toxic effects of tetraethyl lead and its derivatives on the chrysophyte *Poterioochromonas malhamensis* V. Electron microscopical studies // Environ. and Exp. Bot. – 1984. – **24**, No 1. – P. 17–30.
9. Gündüz K., Pulido J. S., Bakri S. J. et al. Fundus autofluorescence of choroidal melanocytic lesions and the effect of treatment // Trans. Amer. Ophthalmol. Soc. – 2007. – **172**, No 8. – P. 178–179.
10. Мерзляк М. Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки. – Москва: ВИНТИ, 1989. – 167 с. – (Итоги науки и техники. Сер. физиология растений; Т. 6).
11. Kikugawa K. Involvement of lipid oxidation products in the formation of lipofuscin // Lipofuscin – 1987: State of the Art / Ed. I. Zs. Nagy. – Amsterdam; New York; Oxford: Experta Medica, 1988. – P. 51–68.
12. Мерзляк М. Н., Погосян С. И., Румянцева В. Б. и др. Хроматографические и спектральные характеристики липорастворимых флуоресцирующих соединений, накапливающихся при повреждении и старении тканей растений // Биохимия. – 1982. – **47**, вып. 3. – С. 425–433.
13. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue // J. Biol. Chem. – 1957. – **226**, No 3. – P. 497–509.
14. Кордюм Е. Л., Ситник К. М., Бараненко В. В. Интенсивность свободно-радикального окисления липидов и состояние системы защиты // Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. – Киев: Наук. думка, 2003. – С. 111–136.
15. Prochzkova D., Sairam R. K., Srivastava G. C., Sing D. V. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves // Plant Sci. – 2001. – **161**, No 4. – P. 765–771.

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного  
НАН України, Київ

Надійшло до редакції 29.12.2008

**V. V. Baranenko**

### **Lipofuscin content in leaves of *Sium latifolium* L. under different water conditions**

*The content of lipofuscins, the so-called aging pigments, has been studied in leaves of terrestrial and air-watering Sium latifolium L. ecotypes at the stages of flowering and fertility of plants. The lipofuscins were detected at the flowering of plants, but the senescence symptoms were not detected in plants of both ecotypes. More considerable content of lipofuscins took place at the stage of plant fertility. The terrestrial plants grown under temperate water deficit had higher content of lipofuscins on both stages of ontogenesis in comparison with air-watering plants grown under sufficient watering. We conclude that the terrestrial plants are characterized by more intense senescence processes than air-watering plants.*