

УДК 581.1

РОЛЬ ω 3-АЦИЛ-ЛИПИДНЫХ ДЕСАТУРАЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМ ЗАКАЛИВАНИИ *Solanum tuberosum* L.

© 2020 г. В. Н. Попов^а, *, Н. В. Нарайкина^а, В. П. Пчелкин^а

^аФедеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений
им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: vnpopov@mail.ru

Поступила в редакцию 10.11.2019 г.

После доработки 04.12.2019 г.

Принята к публикации 05.12.2019 г.

Исследовали роль ω 3-ацил-липидных десатураз жирных кислот в низкотемпературном закаливании (7 суток при 3°C) растений картофеля (*Solanum tuberosum* L., сорт. Юбилей Жукова). Показано, что транскрипция всех трех имеющихся в геноме картофеля ω 3-ацил-липидных десатураз существенно различалась в ответ на действие низкой температуры. Содержание транскриптов гена *FAD3* резко снижалось в первые сутки и не восстанавливалось до конца периода закаливания, ген *FAD7* экспрессировался конститутивно на протяжении почти всего адаптационного периода, а содержание транскриптов гена *FAD8* резко возрастало в первые сутки закаливания. Суммарная доля триеновых жирных кислот (ЖК), синтез которых осуществляют ω 3-ацил-липидные десатуразы, за время закаливания увеличивалась на 3%, что является существенной величиной для растений картофеля. Закаленные растения отличались от незакаленных повышенным отношением видимый фотосинтез/темновое дыхание, большим содержанием растворимых сахаров (в 2.5 раза) и более высокой устойчивостью к отрицательным температурам (–2 и –3°C). Сделано предположение, что увеличение доли триеновых ЖК, локализованных главным образом в тилакоидных мембранах хлоропластов картофеля, направлено на сохранение процесса фотосинтеза в условиях низких температур. Поддержание фотосинтетической активности во время низкотемпературного закаливания обеспечивало растения фотоассимилятами, которые служат основным источником энергии и метаболитов, необходимых для формирования повышенной устойчивости растений картофеля к гипотермии.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., десатуразы жирных кислот, транскрипция, жирные кислоты, закаливание

DOI: 10.31857/S0015330320040120

ВВЕДЕНИЕ

Среди многообразия абиотических стрессовых воздействий, которым подвергается растение на протяжении всего периода вегетации, одним из самых распространенных является гипотермия, во многом определяющая географическое распространение дикорастущих и сельскохозяйственных растений на планете [1]. Решение вопросов холодоустойчивости растений имеет не только фундаментальное, но и большое практическое значение, т. к. выявление механизмов формирования устойчивости к низким температурам позволит значительно снизить потери урожая сельскохозяйственных культур от действия холода и мороза [2].

Картофель – важная продовольственная культура, сильно страдающая от действия низких температур в условиях умеренного климата. Реаль-

ная урожайность картофеля существенно ниже его потенциальной продуктивности, причем одним из главных ограничивающих урожай факторов является недостаточная устойчивость растений картофеля к весенним заморозкам [3]. Одна из основных причин повреждения растительных клеток при охлаждении – снижение текучести бислоя мембранных липидов [4]. Это явление приводит к потере барьерных свойств мембран, нарушению деления клетки на компартменты, сбоям в функционировании электрон-транспортных цепей хлоропластов и митохондрий и, в конечном итоге, к гибели всей клетки [5, 6]. Однако растительная клетка способна регулировать физические свойства мембран посредством изменения количества двойных связей в цепях жирных кислот (ЖК) мембранных липидов. За образование двойных связей в цепях ЖК липидов отвечают ферменты десатуразы ЖК, которые катализируют превращение одинарной (C–C) связи между атома-

Сокращения: ИН – индекс ненасыщенности; МЭЖК – метиловые эфиры жирных кислот.

ми углерода в ацильных цепях ЖК в двойную (C=C) [7].

Десатуразы ЖК растений делят на растворимые ацил-АПБ-десатуразы и мембранные ацил-липидные десатуразы. Ацил-АПБ-десатуразы локализируются в строме хлоропластов, ацил-липидные – в тилакоидных мембранах пластид и эндоплазматическом ретикулуме [8]. Порядок работы десатураз имеет строгую последовательность. Первая двойная связь формируется в положении $\Delta 9$. Мононенасыщенные ЖК с одной двойной связью в положении $\Delta 9$ служат субстратом для работы следующих десатураз, образующих двойные связи в положениях $\Delta 12(\omega 6)$. Образовавшиеся в результате десатурации диеновые ЖК с двумя двойными связями, в свою очередь, служат субстратом для $\omega 3(\Delta 15)$ -десатураз, что приводит к появлению ЖК с тремя двойными связями (триеновые ЖК) [9]. В условиях гипотермии для поддержания текучести мембран клеток растений ключевым фактором является температура плавления ЖК, входящих в состав мембранных липидов. Известно, что температура плавления насыщенной стеариновой кислоты (18:0) составляет 70°C, моноеновой олеиновой кислоты (18:1) 13°C, диеновой линолевой кислоты (18:2) –9°C, а триеновой α -линоленовой кислоты (18:3) –17°C [8]. Поскольку именно триеновые ЖК имеют наибольшее значение для сохранения жидкостных свойств мембран при низких температурах, цель работы – исследование роли $\omega 3$ -ацил-липидных десатураз, осуществляющих синтез ЖК с тремя двойными связями, в процессе формирования холодостойкости *Solanum tuberosum* L. при низкотемпературном закаливании.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал. Объектом исследования служили растения картофеля (*Solanum tuberosum* L. сорта Юбилей Жукова), которые выращивали из клубней в течение 3 недель в почвенной культуре при температуре 22°C, освещенности 100 мкмоль/(м² с) и 16-часовом фотопериоде в камере фитотрона ИФР РАН. Закаливание растений проводили в климатической камере KBW-240 (“Binder”, Германия) в условиях 16-часового фотопериода и освещенности 100 мкмоль/(м² с) при температуре 3°C в течение 7 суток. В качестве контроля использовали незакаленные растения того же возраста.

Выделение РНК и ОТ-ПЦР. Для выделения РНК использовали листья 3–4 ярусов с растений контрольной группы (22°C) и растений, которые находились в условиях закаливающей температуры в течение 2 ч, а также 1, 3, 5 и 7 суток. Тотальную РНК из листьев выделяли с использованием набора Spectrum Plant Total RNA Kit (“Sigma”,

США) согласно протоколу производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили с помощью набора реагентов и протокола MMLV RT Kit (“Евроген”, Россия). Полученную кДНК использовали для проведения ПЦР в реальном времени на амплификаторе CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (“Bio-Rad”, США) с набором реагентов qPCRMix-HS SYBR kit (“Евроген”, Россия). Расчет относительного содержания мРНК гена в пробе проводили методом вычисления величины нормализованной экспрессии ($\Delta\Delta Ct$). Показатели эффективности ОТ-ПЦР, рассчитанные методом калибровочных кривых для всех пар праймеров, были учтены при проведении анализа [10]. Праймеры для амплификации генов десатураз ЖК подбирали с использованием базы данных NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) и интернет-ресурса Primer3Plus. Для исследования были взяты следующие гены: ID:102596735 (*FAD3*) (F) GTG-GAAAAGAAGGATCACA, (R) TAAGAACCGC-GAGTGGA; ID:102597672 (*FAD7*) (F) TCTAC-CCTTCCCTTGCTGGCA, (R) CATTGC-CGTCCAGCAGACAGT; ID:102597287 (*FAD8*) (F) CATTGGCTCGCTGCAAGTGC, (R) GGCA-ATTTTTCTTCATGGCCATGG. В качестве референсных были использованы гены фактора элонгации 1- α (*EFla*) ID: 102577640 (F) GGCCAA-CAGACAAACCCCTCC, (R) GCCTCGTGGTG-CATCTCAACA и рибосомального белка L2 (*L2*) ID: DQ252497 (F) GGAGCCAAAAGATTGTGCCC, (R) AGCAGTTCCTCTTCACACGG. Подтверждение данных о субклеточной локализации исследуемых десатураз осуществляли в программе прогнозирования субклеточной локализации эукариотического белка DeepLoc-1.0 (www.cbs.dtu.dk/services/DeepLoc/).

Определение состава ЖК суммарных липидов.

Для определения состава и содержания жирных кислот липидов картофеля, навески по 5 г листьев фиксировали в кипящем изопропанол, содержащем 0.001% антиоксиданта ионола, и затем гомогенизировали. Растворитель отгоняли. Сухой остаток растворяли в CH₃OH, к которому добавляли CH₃COCl в качестве катализатора перэтерификации; полученную смесь выдерживали при точке кипения в течение 1 ч [11]. Метилловые эфиры ЖК (МЭЖК) анализировали методом ГЖХ-МС на приборе Agilent 7890A GC (“Agilent Technologies Inc.”, США) с 60-метровой капиллярной колонкой с внутренним диаметром 0.25 мм (DB-23, № US8897617H) [12]. Для оценки уровня ненасыщенности ЖК в липидах мембран растений картофеля рассчитывали индекс ненасыщенности (ИН): $ИН = \sum P_i e_i / 100$, где P_i – содержание i -той ЖК (%), e_i – число двойных связей в i -той ЖК [13].

СО₂-газообмен растений. Изучение СО₂-газообмена растений картофеля проводили на уста-

новке открытого типа с инфракрасным газоанализатором URAS 2T (Германия) при 22 и 3°C для незакаленных и закаленных растений, соответственно, т.е. при температурах, идентичных температурам вегетации и холодового закаливания. Измерения газообмена включали определение скорости видимой ассимиляции CO₂ и темнового дыхания, которые выражали в мг CO₂/г сухой массы в час. Сухую массу проб определяли путем высушивания навески листьев при температуре 80°C до постоянного веса. На основе этих параметров рассчитывали отношение видимый фотосинтез/темновое дыхание [14].

Определение содержания сахаров. Навески листьев (~500 мг) фиксировали 96% кипящим этанолом. Ткань растирали в фарфоровой ступке и сахара извлекали трехкратной экстракцией 80% этанолом. В полученных экстрактах определяли содержание глюкозы – глюкозооксидазным методом, сахарозы и фруктозы – по методу Рое. Полученные результаты выражали в мг/г сырой массы [15].

Устойчивость растений к гипотермии. Для оценки устойчивости *Solanum tuberosum* L. к низким температурам закаленные и незакаленные растения промораживали при температурах –2 и –3°C в течение одних суток в климатической камере MIR-153 (“Sanyo”, Япония). Степень устойчивости незакаленных и закаленных растений оценивали по выходу электролитов (в %) из листовой ткани в водную фазу. Для этого электропроводность водных экстрактов определяли при помощи кондуктометра SG7-ELK (“Mettler Toledo”, Швейцария). Выход электролитов из тканей листьев (*V*, в %) рассчитывали по формуле: $V = 100(L_o/L_k)$, где *L_o* – электропроводность исследуемого образца до или после холодовой экспозиции и *L_k* – электропроводность того же образца после кипячения [16].

Во всех экспериментах биологическая повторность измерений была 6-кратной, аналитическая – 3–4-кратной. Результаты экспериментов обработаны статистически с помощью программы SigmaPlot 12.3. В таблице и на гистограммах представлены средние значения и их стандартные ошибки. Достоверность различий между средними значениями оценена по *t*-критерию Стьюдента для 95% уровня значимости (*P* < 0.05). Достоверно различающиеся между собой величины обозначены разными надстрочными буквами.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Относительное содержание транскриптов генов десатураз

Результаты исследования изменения относительного содержания транскриптов генов ω 3-ацил-липидных десатураз ЖК в динамике низкотемпера-

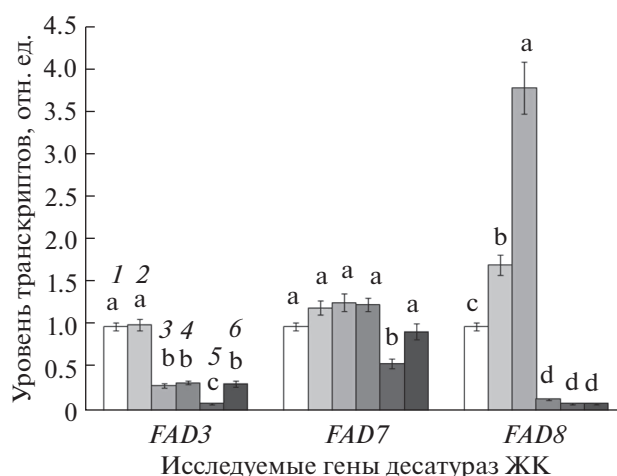


Рис. 1. Изменение относительного содержания транскриптов генов ω 3-ацил-липидных десатураз жирных кислот растений картофеля в динамике низкотемпературного закаливания (1 – незакаленные растения, 2 – 2 ч закаливания, 3 – 1 сут закаливания, 4 – 3 сут закаливания, 5 – 5 сут закаливания, 6 – 7 сут закаливания). Достоверные различия средних значений при *P* < 0.05 отмечены разными латинскими буквами над барами.

турного закаливания представлены на рис. 1. За единицу принято нормализованное содержание транскриптов исследуемых генов у незакаленных растений. Показано, что в течение первых 2 ч действия закаливающей температуры (3°C) относительное содержание транскриптов гена *FAD3* не изменялось, гена *FAD7* увеличилось на 20%, а гена *FAD8* возросло более чем в 1.5 раза. В варианте посуточного отбора проб (1, 3, 5 и 7 суток закаливания) наблюдалось 3-кратное снижение уровня транскриптов гена *FAD3* в период 1–7 суток закаливания. Содержание транскриптов гена *FAD7* первые трое суток периода закаливания поддерживалось примерно на 20% выше уровня незакаленных растений и, преодолев спад на пятые сутки, возросло почти до уровня контроля в конце адаптационного периода. Уровень транскриптов гена *FAD8* возрос почти в 4 раза в первые сутки закаливания, а затем резко снижался в 10 раз по отношению к незакаленным растениям.

Состав жирных кислот суммарных липидов

Данные по составу и содержанию ЖК липидов хлоропластов картофеля представлены в таблице 1. В суммарных липидах, выделенных из листьев незакаленных растений, были идентифицированы десять С₁₅-С₂₀-ЖК, основными представителями которых были пальмитиновая (16:0), гексадекатриеновая (16:3n-3) линолевая (18:2n-6) и α -линоленовая (18:3n-3), причем на долю последней приходилось 37.1% от суммы всех ЖК. После низкотемпературного закаливания (3°C, 7 суток) в

Таблица 1. Изменение содержания жирных кислот липидов листьев растений картофеля при низкотемпературном закаливании

ЖК	Содержание ЖК, % от суммы	
	незакаленные растения	закаленные растения
14:0	—	0.7 ± 0.1 ^a
15:0	0.3 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.1 ^a
16:0	30.8 ± 0.6 ^a	27.0 ± 0.4 ^b
16:1n-9	3.6 ± 0.4 ^a	3.3 ± 0.1 ^a
16:2n-6	0.8 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.2 ^a
16:3n-3	6.8 ± 0.3 ^a	8.3 ± 0.1 ^b
18:0	2.2 ± 0.1 ^a	2.2 ± 0.1 ^a
18:1n-9	1.7 ± 0.1 ^a	2.0 ± 0.2 ^a
18:2n-6	15.5 ± 0.3 ^a	16.3 ± 0.4 ^a
18:3n-3	37.1 ± 0.4 ^a	38.5 ± 0.2 ^b
20:0	1.2 ± 0.2 ^a	0.8 ± 0.2 ^a
ИН	1.696 ± 0.011 ^a	1.799 ± 0.009 ^b

Примечание. Надстрочные латинские буквы обозначают достоверность различий средних значений при $P < 0.05$ по содержанию каждой ЖК

липидов листьев картофеля была обнаружена мистинная кислота (14:0) в незначительном количестве, которая отсутствовала в варианте незакаленных растений. Преобладающими ЖК липидов, как и до закаливания, оставались пальмитиновая (16:0), гексадекатриеновая (16:3n-3) линолевая (18:2n-6) и α -линоленовая (18:3n-3). Анализ содержания ЖК показал, что в процессе закаливания происходило достоверное увеличение содержания гексадекатриеновой и α -линоленовой ЖК с одновременным снижением содержания пальмитиновой ЖК. Такие изменения в ЖК-составе приводили к существенному росту величины ИН (с 1.696 до 1.799) за время закаливания.

CO₂-газообмен растений

При закаливании растений картофеля были обнаружены значительные изменения параметров CO₂-газообмена растений, которые измеряли при температуре 22°C в случае незакаленных и 3°C в случае закаленных растений, то есть при температурах, идентичных температурам вегетации и холодового закаливания. Из данных, представленных на рис. 2, видно, что показатели интенсивности как фотосинтеза, так и дыхания за время закаливания снижались, но в разной степени. Величина видимого фотосинтеза уменьшалась в 2 раза (с 9.2 до 4.4 мг CO₂/г сухой массы в час), а интенсивность темнового дыхания растений картофеля уменьшалась почти в 4 раза (с 6.1 до 1.6 мг CO₂/г сухой массы в час). За счет этого происходило увеличение отношения видимый фотосинтез/темновое дыхание с 1.5 у незакаленных растений картофеля до 2.7 у закаленных.

Содержание сахаров

На рис. 3 приведены результаты определения содержания сахаров в листьях растений картофеля до и после закаливания. Хорошо видно, что в процессе закаливания в листьях картофеля происходило накопление растворимых сахаров. После 7 суток закаливания при 3°C содержание глюкозы в листьях возрастало на 70%, сахарозы более чем в 2 раза, а фруктозы — почти в 7 раз. Столь значительное накопление фруктозы объясняется тем, что исходное ее содержание в исследуемых растениях до закаливания было значительно ниже по сравнению с уровнем других растворимых сахаров. При этом суммарное количество растворимых сахаров (фруктозы, глюкозы и сахарозы) за время низкотемпературного закаливания уве-

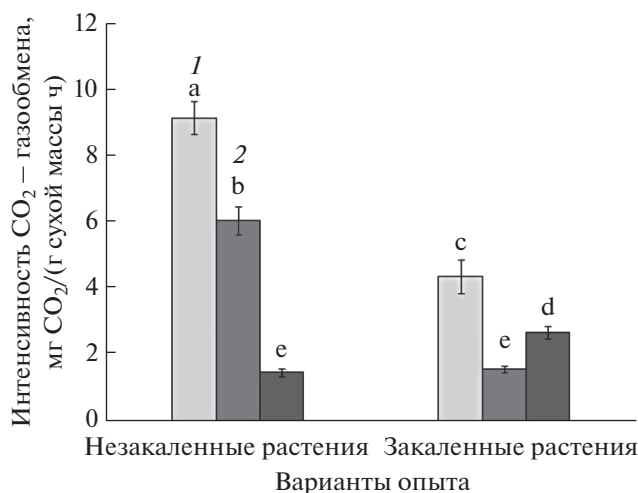


Рис. 2. Изменение параметров CO₂-газообмена растений картофеля при низкотемпературном закаливании (1 — видимый фотосинтез, 2 — темновое дыхание, 3 — отношение видимый фотосинтез/темновое дыхание). Достоверные различия средних значений при $P < 0.05$ отмечены разными латинскими буквами над барами.

личилось в 2.5 раза, что является очень существенным повышением для растений картофеля.

Устойчивость растений к гипотермии

Для определения эффективности низкотемпературного закаливания растения картофеля промораживали при температурах -2 и -3°C в течение одних суток с последующим определением выхода электролитов в водную фазу из тканей листьев. Незакаленные и закаленные растения до промораживания практически не отличались по выходу электролитов ($\sim 7\%$) (рис. 4). После промораживания при температурах -2 и -3°C выход электролитов у незакаленных растений резко возрастал (до 73 и 89%, соответственно), что свидетельствует об очень высокой степени повреждения клеток и гибели целых растений. У растений, прошедших процедуру закаливания (3°C , 7 суток), выход электролитов не превышал 25% (при температуре промораживания -2°C) и 49% (при температуре промораживания -3°C), что свидетельствует о сохранении жизнеспособности данных растений.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее подробно десатуразы ЖК и их вклад в формирование устойчивости организма к охлаждению изучены у цианобактерий [17, 18]. Для высших растений большая часть информации о роли десатураз в устойчивости к гипотермии получена при изучении мутантов *Arabidopsis thaliana* с инактивированными генами различных десатураз [19, 20]. Что касается объекта нашего исследования *Solanum tuberosum*, то в его геноме аннотировано около 50 генов, кодирующих различные виды десатураз. Имеется 17 генов, кодирующих растворимые стеароил-АПБ десатуразы, которые создают первую двойную связь в положении $\Delta 9$ ЖК в связанной с ацил-переносающим белком (АПБ) форме. Еще 19 генов кодируют $\Delta 12$ -ацил-липидные десатуразы. Также имеется несколько специфических $\Delta 8$ - и $\Delta 4$ -десатураз сфинголипидов. При этом в геноме картофеля обнаружено всего 3 гена, кодирующих $\omega 3$ -десатуразы, две из которых локализованы в эндоплазматическом ретикулуме (*FAD3*, *FAD8*) и одна в хлоропластах (*FAD7*), что делает эти десатуразы привлекательным объектом для исследования методом ОТ-ПЦР с последующим анализом содержания транскриптов соответствующих генов.

Наши исследования показали, что транскрипция всех имеющихся в геноме *Solanum tuberosum* L. $\omega 3$ -ацил-липидных десатураз существенно различалась в ответ на действие низкой температуры. Содержание транскриптов гена *FAD3* резко снижалось уже в первые сутки и не восстанавливалось до конца периода закаливания; ген *FAD7*

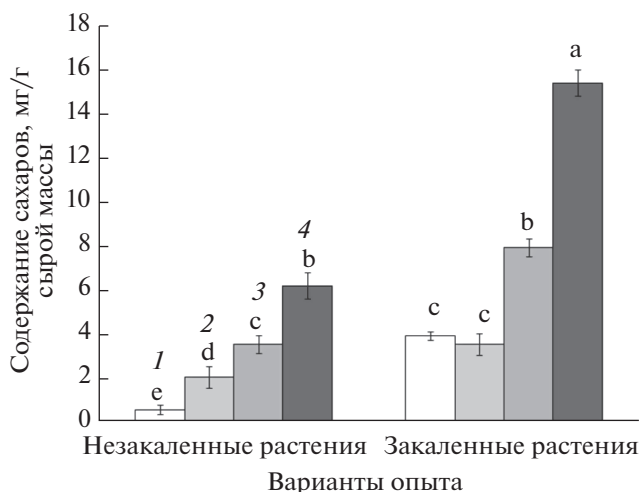


Рис. 3. Изменение содержания сахаров в листьях растений картофеля при низкотемпературном закаливании (1 – фруктоза, 2 – глюкоза, 3 – сахароза, 4 – сумма сахаров). Достоверные различия средних значений при $P < 0.05$ отмечены разными латинскими буквами над барами.

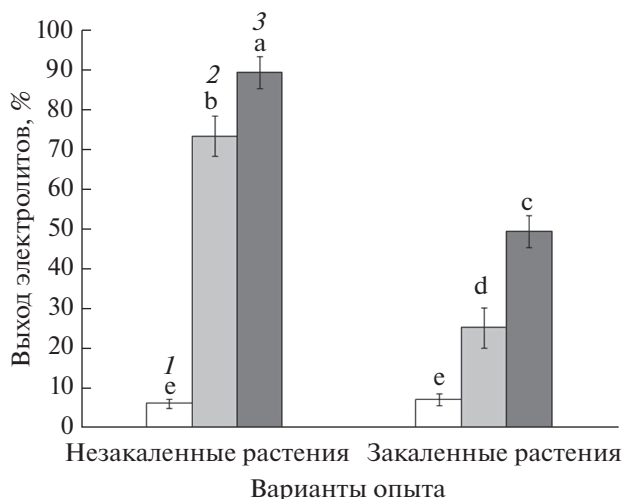


Рис. 4. Выход электролитов (%) из клеток листьев незакаленных и закаленных растений картофеля, подвергнутых промораживанию (1 – до промораживания, 2 – после промораживания при температуре -2°C в течение 1 сут, 3 – после промораживания при температуре -3°C в течение 1 сут). Достоверные различия средних значений при $P < 0.05$ отмечены разными латинскими буквами над барами.

экспрессировался конститутивно на протяжении почти всего адаптационного периода, и только содержание транскриптов гена *FAD8* резко возросло в первые сутки закаливания. В литературе имеется много свидетельств индукции транскрипции $\omega 3$ -десатураз низкими температурами у разных видов растений [21, 22]. Судя по полученным нами данным, у картофеля к числу индуцируемых низкими температурами на уровне тран-

скрипции генов можно отнести только ген *FAD8*, кодирующий ω3-ацил-липидную десатуразу, работающую в эндоплазматическом ретикулуме.

Поскольку синтез мРНК является первым звеном в цепочке целого каскада реакций “транскрипция → синтез белков десатураз → синтез ненасыщенных ЖК”, мы провели исследование изменений ЖК-состава липидов листьев картофеля при закаливании. Из всех ЖК, идентифицированных в листьях картофеля, достоверный рост относительного содержания продемонстрировали лишь гексадекатриеновая и α-линоленовая ЖК (~1.5% каждая). Это свидетельствует о том, что стратегия закалывания клеток картофеля направлена на увеличение в составе мембранных липидов доли ЖК с тремя двойными связями, которые имеют наименьшую температуру плавления и наиболее эффективны для поддержания текучести мембран. Феномен повышения степени ненасыщенности ЖК липидов биологических мембран при понижении температуры окружающей среды описан для многих живых организмов. В максимальной степени он проявляется у цианобактерий, в клетках которых при снижении температуры с 38 до 22°C содержание 18:3 ЖК возрастает на 10–15% [23]. У растений рост относительного содержания триеновых ЖК ограничивается, как правило, всего лишь несколькими процентами от их общей суммы, что объясняется, по-видимому, конститутивно высоким уровнем α-линоленовой ЖК в мембранных липидах растений [24].

Среди всех мембран растительной клетки, хлоропластные мембраны играют особую роль в формировании устойчивости растений к низким температурам, поскольку именно в хлоропластах происходит фотосинтез – основной источник энергии, необходимой для перестройки метаболизма клетки в период закалывания. Тилакоиды хлоропластов отличаются максимальным уровнем ненасыщенности ЖК, главным образом, за счет высокого относительного содержания α-линоленовой кислоты. Эта ЖК отличается от прочих своей способностью принимать спиральную конформацию, что позволяет включающим ее липидам образовывать комплексы с мембранными белками и пигментами при построении фотосинтетических субъединиц, которые обеспечивают возможность переноса электронов по электронтранспортной цепи хлоропластов в процессе фотосинтеза [25]. Важная роль триеновых ЖК в работе фотосинтетического аппарата при гипотермии была показана с использованием тройного мутанта *A. thaliana fad3-2/fad7-2/fad8*, оказавшегося очень чувствительным к фотоингибированию [26]. В наших экспериментах интенсивность видимого фотосинтеза растений картофеля за 7 суток закалывания уменьшалась существенно меньше, чем интенсивность темнового дыхания. Такой характер

СО₂-газообмена приводил к увеличению отношения видимый фотосинтез/темновое дыхание, что может рассматриваться как положительное свойство, позволяющее растению накапливать значительное количество сахаров в процессе низкотемпературного закалывания [27]. Действительно, закаленные растения картофеля в 2.5 раза превосходили незакаленные по содержанию растворимых сахаров (фруктозы, глюкозы и сахарозы), что является одним из важнейших факторов, обеспечивающих устойчивость растений к низким температурам [28]. Результаты наших экспериментов по морозоустойчивости растений картофеля полностью подтверждают эти данные. Так, на фоне накопления сахаров в клетках происходил существенный рост устойчивости закаленных растений к отрицательным температурам (–2 и –3°C), что свидетельствует о высокой эффективности закалывания растений картофеля.

Таким образом, на основе полученных данных можно предположить следующую схему работы ω3-ацил-липидных десатураз в клетках растений картофеля при гипотермии. Локализованная в эндоплазматическом ретикулуме ω3-десатураза *FAD8* реагировала на закалывающую температуру резким транзиторным ростом содержания транскриптов в начальный период закалывания. Это, по-видимому, создавало предпосылки для синтеза *de novo* белка десатуразы *FAD8* и десатурации ЖК в эндоплазматическом ретикулуме, откуда триеновые ЖК в липид-связанной форме могут транспортироваться в плазмалемму [29]. Локализованная в хлоропластах ω3-десатураза *FAD7* экспрессировалась конститутивно на протяжении почти всего периода закалывания, что создавало условия для стабильного синтеза триеновых ЖК в тилакоидных мембранах хлоропластов. В этих мембранах происходили процессы поглощения квантов света и переноса электронов по электронтранспортной цепи, приводившие к синтезу АТФ и НАДФ·Н, которые затем расходовались в реакциях темновой стадии фотосинтеза [30]. Стабильная работа электронтранспортной цепи хлоропластов критически зависит от жидкостных свойств тилакоидных мембран, которые определяются содержанием триеновых ЖК. Увеличение доли триеновых ЖК, локализованных главным образом в тилакоидных мембранах хлоропластов картофеля, по-видимому, было направлено на сохранение процесса фотосинтеза в условиях низких температур. Поддержание фотосинтетической активности во время низкотемпературного закалывания обеспечивало растения фотоассимилятами – основным источником энергии и метаболитов, необходимых для формирования повышенной устойчивости растений картофеля к гипотермии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках государственного задания (номер темы АААА-А19-119080690056-3).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Xin Z., Browse J.* Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures // *Plant Cell Environ.* 2000. V. 23. P. 893.
2. *Jan N., Mahboob-ul-Hussain, Andrab K. I.* Cold resistance in plants: A mystery unresolved // *J. Biotechnol.* 2009. V.12. P. 1.
3. *Титов А.Ф., Акимова Т.В., Таланова В.В., Тончиева Л.В.* Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М.: Наука, 2006. 143 с.
4. *Lyons J.M.* Chilling injury in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol.* 1973. V. 24. P. 445.
5. *Лось Д.А.* Молекулярные механизмы холодоустойчивости растений // *Вестник РАН.* 2005. Т. 75. С. 338.
6. *Moller I.M., Jensen P.E., Hansson A.* Oxidative modifications to cellular components in plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2007. V. 58. P. 459.
7. *Harwood J.L.* Lipids: structure and function // *The biochemistry of plants* / Ed. P.K.Stumpf. New York: Acad. Press, 1980. P. 1.
8. *Лось Д.А.* Десатуразы жирных кислот. М.: Научный мир, 2014. 372 с.
9. *Los D.A., Murata N.* Structure and expression of fatty acid desaturases // *Biochim. Biophys. Acta.* 1998. V. 1394. P. 3.
10. *Rao X., Huang X., Zhou Z., Lin X.* An improvement of the $\Delta\Delta$ CT method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis // *Biostat. Bioinform. Biomath.* 2013. Vol. 3. P. 71.
11. *Маали Амири Р., Голденкова-Павлова И.В., Юрьева Н.О., Пчелкин В.П., Цыдендамбаев В.Д., Верещагин А.Г., Дерябин А.Н., Трунова Т.И., Лось Д.А., Носов А.М.* Жирнокислотный состав липидов растений картофеля, трансформированных геном $\Delta 12$ -десатуразы цианобактерий // *Физиология растений.* 2007. Т. 54. С. 678.
12. *Сидоров Р.А., Жуков А.В., Верещагин А.Г., Цыдендамбаев В.Д.* Низшие алкиловые эфиры жирных кислот из плодов бересклета // *Физиология растений.* 2012. Т. 59. С. 362.
13. *Lyons J.M., Weaton T.A., Pratt H.K.* Relationship between the physical nature of mitochondrial membranes and chilling sensitivity in plants // *Plant Physiol.* 1964. V. 39. P. 262.
14. *Климов С.В.* Холодовое закаливание растений – результат поддержания повышенного отношения фотосинтез/дыхание при низких температурах // *Известия РАН. Серия биологическая.* 2003. Т. 30. С. 57.
15. *Туркина М.В., Соколова С.В.* Методы определения моносахаридов и олигосахаридов // *Биохимические методы в физиологии растений* / Под ред. Павлиновой О.А. М.: Наука, 1971. С. 7.
16. *Campos P.S., Quartin V., Ramalho J.C., Nunes M.A.* Electrolyte Leakage and Lipid Degradation Account for Cold Sensitivity in Leaves of *Coffea* sp. *Plants* // *J. Plant Physiol.* 2003. V. 160. P. 283.
17. *Los D.A., Ray M.K., Murata N.* Differences in the control of the temperature-dependent expression of four genes for desaturases in *Synechocystis* sp. PCC 6803 // *Mol. Microbiol.* 1997. V. 25. P. 1167.
18. *Mironov K.S., Sidorov R.A., Kreslavski V.D., Bedbenov V.S., Tsydendambaev V.D., Los D.A.* Cold-induced gene expression and ω 3 fatty acid unsaturation is controlled by red light in *Synechocystis* // *J. Photochem. Photobiol.* 2014. V. 137 P. 84.
19. *Iba K.* Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance // *Ann. Rev. Plant Biol.* 2002. Vol. 53. P. 225. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100201.160729>
20. *Chen M., Thelen J.J.* ACYL-LIPID DESATURASE2 is required for chilling and freezing tolerance in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2013. V. 25. P. 1430.
21. *Teixeira M.C., Carvalho I.S., Brodelius M.* ω -3 fatty acid desaturase genes isolated from purslane (*Portulaca oleracea* L.): expression in different tissues and response to cold and wound stress // *J. Agric. Food Chem.* 2010. V. 58. P. 1870.
22. *Matteucci M., D'Angeli S., Errico S., Lamanna R., Perrotta G., Altamura M.M.* Cold affects the transcription of fatty acid desaturases and oil quality in the fruit of *Olea europaea* L. genotypes with different cold hardness // *J. Exp. Bot.* 2011. V. 62. P. 3403.
23. *Wada H., Murata N.* Temperature-induced changes in the fatty acid composition of the cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803 // *Plant Physiol.* 1990. V. 92. P. 1062.
24. *Lee S.H., Ahn S.J., Im Y.J., Cho K., Chung C.-C., Cho B.H., Han O.* Differential Impact of Low Temperature on Fatty Acid Unsaturation and Lipoxygenase Activity in Fingleaf Gourd and Cucumber Roots // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. V. 330. P. 1194.
25. *Верещагин А.Г.* Липиды в жизни растений. 66-е Тимирязевское чтение. М.: Наука, 2007. 78 с.
26. *Vijayan P., Browse J.* Photoinhibition in Mutants of *Arabidopsis* Deficient in Thylakoid Unsaturation // *Plant Physiol.* 2002. V.129. P. 876. <https://doi.org/10.1104/pp.004341>
27. *Климов С.В.* Повышенное соотношение фотосинтез/дыхание при низких температурах – важное условие холодного закаливания озимой пшеницы // *Физиология растений.* 1998. Т. 45. С. 419.
28. *Zuther E., Schulz E., Childs L.H., Hincha D.K.* Clinal variation in the non-acclimated and cold-acclimated freezing tolerance of *Arabidopsis thaliana* accessions // *Plant Cell Environ.* 2012. V. 35. P. 1860. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02522.x>
29. *Aronel V., Kader J.C.* Lipid transfer in plants // *Experientia.* 1990. V. 46. P. 579.
30. *Бухов Н.Г.* Динамическая световая регуляция фотосинтеза // *Физиология растений.* 2004. Т. 51. С. 825.