

## ВЛИЯНИЕ NaCl НА ЛИПИДНЫЙ ПРОФИЛЬ ДЕТЕРГЕНТ-УСТОЙЧИВЫХ МЕМБРАН ХЛОРОПЛАСТОВ И МИТОХОНДРИЙ РАСТЕНИЙ ЭУГАЛОФИТОВ

© 2023 г. В. Н. Нестеров<sup>а</sup>, \*, Е. С. Богданова<sup>а</sup>, О. А. Розенцвет<sup>а</sup>

<sup>а</sup> Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук,  
Институт экологии Волжского бассейна Российской академии наук, Тольятти, Россия

\*e-mail: nesvik1@mail.ru

Поступила в редакцию 03.03.2023 г.

После доработки 10.03.2023 г.

Принята к публикации 24.03.2023 г.

Исследовали влияние 1 М NaCl на липидный профиль детергент-устойчивых мембран хлоропластов и митохондрий растений галофитов соленакпливающего типа – *Salicornia perennans* Willd. и *Suaeda salsa* (L.) Pall. (сем. Amaranthaceae). Состав липидов и жирных кислот в детергент-устойчивых мембранах отличается от липидов мембран хлоропластов и митохондрий большим количеством цереброзидов и стериннов. В заданных условиях засоления среды у *S. perennans* происходило многократное увеличение доли цереброзидов в составе детергент-устойчивых мембран хлоропластов, а у *S. salsa* – в детергент-устойчивых мембранах митохондрий. Противоположный эффект наблюдался в отношении стериннов: снижение их относительного содержания при действии соли. Полученные данные свидетельствуют об участии детергент-устойчивых мембран во взаимодействии хлоропластов и митохондрий в клеточном ответе галофитов на засоление.

**Ключевые слова:** детергент-устойчивые мембраны, липидные рафты, микродомены, митохондрии, хлоропласты, солевой стресс, стерины, сфинголипиды

**DOI:** 10.31857/S0015330323600213, **EDN:** WWQCQE

### ВВЕДЕНИЕ

В последнее время произошли существенные изменения в фундаментальных знаниях о строении и функциональной роли мембранных структур клетки. Биологическая мембрана уже не рассматривается как однородный липидный бислой, в который встроены белки – модель, предложенная С. Сингером и Г. Николсоном [1]. В современной интерпретации мембраны представляют собой мозаику дискретных микромонов [2]. В сравнении с остальными мембранами они отличаются большей стабильностью и плотностью упаковки благодаря специфическому составу липидов [3]. Другое их определение – детергент-устойчивые мембраны (ДУМ, DRM или detergent

resistant membranes) и эта характерная особенность стала основанием для их обнаружения [4]. Известно, что в составе липидов ДУМ преобладают стерины (Стер), сфинголипиды/цереброзиды (Цер) и глицеролипиды с насыщенными жирными кислотами (ЖК) [5]. Некоторые авторы называют подобные участки мембран липидными рафтами, а липиды ответственные за их образование рафтообразующими [4, 5].

В настоящее время известно, что ДУМ связаны с определенными классами белков и участвуют в широком спектре биологических процессов, таких как рост и морфогенез клеток, мембранная поляризация и ответ на воздействие патогенов [6–8]. Установлено также, что ДУМ повышают стабильность и активность белков, связанных с рецепторной функцией [9], влияют на эффективность транспортеров [10], регулируют функционирование каналов [11], участвуют в белковом обмене [12], растительно-бактериальных взаимодействиях [13], везикулярном транспорте [14], а также в регуляторных процессах [15]. Присутствие ДУМ в настоящее время установлено в разных типах мембран – плазмалемме, вакуоли, ап-

**Сокращения:** ГИФЦ – гликозилинозитолфосфорилцерамид; ДГДГ – дигалактозилдиацилглицерин; ДУМ – детергент-устойчивые мембраны; ДФГ – дифосфатидилглицерин; ЖК – жирные кислоты; ИН – индекс двойной связи; С18:3 – линоленовая ЖК; С18:2 – линолевая ЖК; МГДГ – моногалактозилдиацилглицерин; С18:1 – олеиновая ЖК; С16:0 – пальмитиновая ЖК; С18:0 – стеариновая ЖК; Стер – стерины; СХДГ – сульфохиновозилдиацилглицерин; ТСХ – тонкослойная хроматография; ФИ – фосфатидилинозит; ФХ – фосфатидилхолин; ФЭ – фосфатидилэтаноламин; Цер – цереброзиды.

парате Гольджи, эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях, хлоропластах [15–17].

Количество и размер ДУМ, а также их состав, зависят от многих факторов, включая видовые особенности организма, тип ткани, клеточную топологию мембран. При этом структурные и функциональные параметры ДУМ могут меняться при стрессовых воздействиях, например, при холодом [18] или патогенном воздействии [19]. Однако роль ДУМ в условиях солевого стресса неизвестна.

Поступление ионов в растительную клетку осуществляется с помощью ионных каналов [20] и транспортеров, локализованных в мембранах [21]. Механизмы адаптации растений к засолению, связанные с мембранами, наиболее развиты в галофитах соленакапливающего типа (эугалофитах) [22]. Протеомным анализом установлено, что в транспорте ионов  $\text{Na}^+$  эугалофитов задействовано как минимум три типа клеточных мембран: плазмалемма, тонопласт и хлоропласты [21]. Показано также, существование ионопроводящих путей в митохондриях [23].

Хлоропласты и митохондрии в растительных клетках служат основными внутриклеточными центрами, которые снабжают клетку энергией посредством деятельности дыхательных и фотосинтетических цепей, локализованных на мембране. Хорошо известно, что обе органеллы взаимосвязаны метаболическими путями. Например, они играют центральную роль в метаболизме углерода и азота, синтезе кофакторов FeS и ЖК и др., что предполагает их обширное взаимодействие [24].

Мембраны хлоропластов и митохондрий имеют специфичный набор липидов. Тилакоидная мембрана содержит моногалактозилдиацилглицерин (МГДГ), дигалактозилдиацилглицерин (ДГДГ), серосодержащий липид сульфохиновозилдиацилглицерин (СХДГ) и фосфатидилглицерин (ФГ) [25]. Митохондриальные мембраны растений имеют два преобладающих класса липидов – фосфатидилхолин (ФХ) и фосфофатидилэтаноламин (ФЭ). Кроме того, в липидах мембран митохондрий присутствуют ФГ, фосфатидилинозит (ФИ), и специфичный для митохондрий дифосфатидилглицерин (ДФГ) [26]. Строго определенный состав липидов в мембранах хлоропластов и митохондрий обеспечивает их целостность и функциональную активность интегральных белков, вовлеченных в ионное гомеостатирование, фотохимические и электрон-транспортные цепи и др. процессы. Ранее мы обнаружили наличие ДУМ в мембранах хлоропластов и митохондрий в листьях эугалофита *Salicornia perennans* и гликогалофита *Artemisia santonica* [27]. Состав липидов, отвечающих за формирование рафтов зависел от способа регуляции солевого обмена у исследованных галофитов. При этом вопрос о роли липидов ДУМ в ответ на солевой стресс остался открытым.

Цель данной работы – изучить состав липидного профиля ДУМ хлоропластов и митохондрий у растений соленакапливающего типа в ответ на увеличение уровня засоления среды.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Растительный материал.** В качестве объекта исследования выбраны однолетние эугалофиты *S. perennans* Willd. и *Suaeda salsa* (L.) Pall. (сем. Amaranthaceae). Семена дикорастущих растений отбирали в конце октября 2020 г. в районе Приэльтонья (49°07' с.ш., 46°50' в.д.) и хранили при комнатной температуре в течение 6 мес.

**Модельный эксперимент.** Семена проращивали в течение одного–двух дней на дистиллированной воде в чашках Петри при температуре 22–24°C и высевали в сосуды с песком. Полив осуществляли питательным раствором Робинсона (6 мМ  $\text{KNO}_3$ , 4 мМ  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , 2 мМ  $\text{MgSO}_4$ , 1 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 50 мкМ  $\text{FeNa}(\text{ЭДТА})_2$ , 50 мкМ  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 10 мкМ  $\text{MnCl}_2$ , 1 мкМ  $\text{ZnSO}_4$ , 0.5 мкМ  $\text{CuSO}_4$ , 0.1 мкМ  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ ) [28]. Растения выращивали при температуре воздуха 20–22°C, освещенности – 1200 мкмоль/м<sup>2</sup> с, фотопериоде – 10 ч в течение трех месяцев. Затем растения разделяли на две группы: контроль и опыт (NaCl). В сосуды с опытными растениями однократно вносили раствор, содержащий 1 М NaCl до полной влагоемкости почвы, и выдерживали одни сутки. Надземную часть растений срезали и формировали три биологические пробы на каждый из вариантов опытов. Из каждой биологической пробы выделяли фракции хлоропластов и митохондрий, которые подвергали действию детергента с последующим выделением ДУМ.

**Выделение хлоропластов и митохондрий.** Фракции, обогащенные хлоропластами и митохондриями, выделяли методом дифференциального центрифугирования [29]. Листья растений гомогенизировали при +4°C в 15 мл среды, содержащей 0.5 М сахарозы, 5 мМ ЭДТА, 5 мкМ б-меркаптоэтанола и 50 мМ Трис-НСl (pH 7.8) в расчете на 10 г биомассы. Гомогенат центрифугировали 10 мин при 3500 g [27]. Осадок использовали для получения фракции хлоропластов, а супернатант – для фракции митохондрий. Осадок, содержащий фракцию хлоропластов, подвергали двукратной седиментации для получения очищенных хлоропластов.

Супернатант первой стадии центрифугировали при 15000 g в течение 15 мин для выделения фракции митохондрий. Полученный осадок ресуспендировали в среде, содержащей 0.5 М сахарозы и 5 мМ Трис-НСl (pH 7.2), и центрифугировали при 15000 g (при +4°C) в течение 15 мин для получения очищенных митохондрий. В отдельных случаях чистоту фракций проверяли с помощью электронной микроскопии, фиксируя материал в 3.5% рас-

творе глутарового альдегида в фосфатном буфере (рН 7.4).

**Изоляция ДУМ.** Для получения ДУМ применяли модифицированный метод, используемый для выделения липидных рафтов из митохондрий [30]. Для этого полученные фракции органелл (~3 мг белка) солубилизировали в 1 мл буфера, содержащего 1% тритона X-100, 10 мМ Трис-НСl, 5 мМ ЭДТА, 150 мМ NaCl, 1 М сахарозы, 1 мМ фенол-метилсульфонил фторида (рН 7.5) в течение 30 мин при +4°C. Полученную суспензию переносили в центрифужную пробирку и последовательно насливали сахарозу в концентрациях 35% (1 мл), 25%, 15%, 5% (по 2 мл, соответственно). Центрифугирование осуществляли при 200 000 g в течение 30 мин на препаративной ультрацентрифуге UP-65 ("MLW", Германия). ДУМ наблюдали в виде зоны опалесценции в области 15% градиента плотности сахарозы.

**Экстракция и анализ липидов.** Липиды из мембран хлоропластов и митохондрий и их ДУМ экстрагировали смесью хлороформ/метанол 1 : 2 (об/об) [29]. Экстракт массой 1–5 мг отмывали от не липидных примесей, растворитель удаляли на ротаторном испарителе. Фосфолипиды и Цер разделяли методом двумерной тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах с силикагелем 5 × 5 см ("Sorbfil", Россия) с использованием систем растворителей: хлороформ : метанол : бензол : 28% аммиак (130 : 60 : 20 : 12, (об/об), первое направление); и хлороформ : метанол : бензол : ацетон : уксусная кислота (140 : 60 : 20 : 10 : 8 (об/об); второе направление). Гликолипиды разделяли методом одномерной ТСХ на пластинах 10 × 10 см ("Sorbfil", Россия) в системе растворителей: ацетон : бензол : вода 91 : 30 : 8 (об/об). Стер анализировали методом ТСХ на пластинах 10 × 10 см ("Sorbfil", Россия) с использованием последовательной системы растворителей : толуол : гексан : муравьиная кислота (140 : 60 : 1 (об/об); первое направление); гексан : диэтиловый эфир : муравьиная кислота (60 : 40 : 1 (об/об); второе направление). Визуализацию липидов проводили опрыскиванием пластин 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в метаноле с последующим прогревом в течение 15 мин при 180°C. Количество липидов определяли денситометрически с помощью программы ДенСкан ("Ленхром", Россия). Хроматограммы анализировали в режиме параболического приближения по калибровочным кривым. МГДГ, ФХ, сфингомиелин, холестерин ("Sigma", Германия) использовали в качестве стандартов для калибровочных графиков. В ряде случаев результаты анализа подтверждали на спектрофотометре PE-3000 УФ ("PromEco-Lab", Россия).

**Анализ ЖК** осуществляли в виде их метиловых эфиров. Метилирование проводили путем кипячения экстракта липидов в 5% растворе HCl в ме-

таноле в течение 1 ч. После охлаждения полученные эфиры экстрагировали гексаном и очищали с помощью ТСХ. Метиловые эфиры анализировали на газовом хроматографе ("Хроматэк Кристалл 5000.1" Россия) в изотермическом режиме с использованием капиллярной колонки длиной 105 м и диаметром 0.25 мм ("Restek", США). Температура колонки – 180°C, испарителя и детектора – 260°C, скорость тока газа-носителя (гелий) – 2 мл/мин.

Индекс ненасыщенности ЖК (ИН), характеризующий степень ненасыщенности липидов, рассчитывали по формуле:

$$\text{ИН} = ((M \times 1) + (Ди \times 2) + (Три \times 3)) / 100, \text{ где}$$

M – сумма моноеновых ЖК, Ди – сумма диеновых ЖК и Три – сумма триеновых ЖК, выраженных в % от общей суммы ЖК [31].

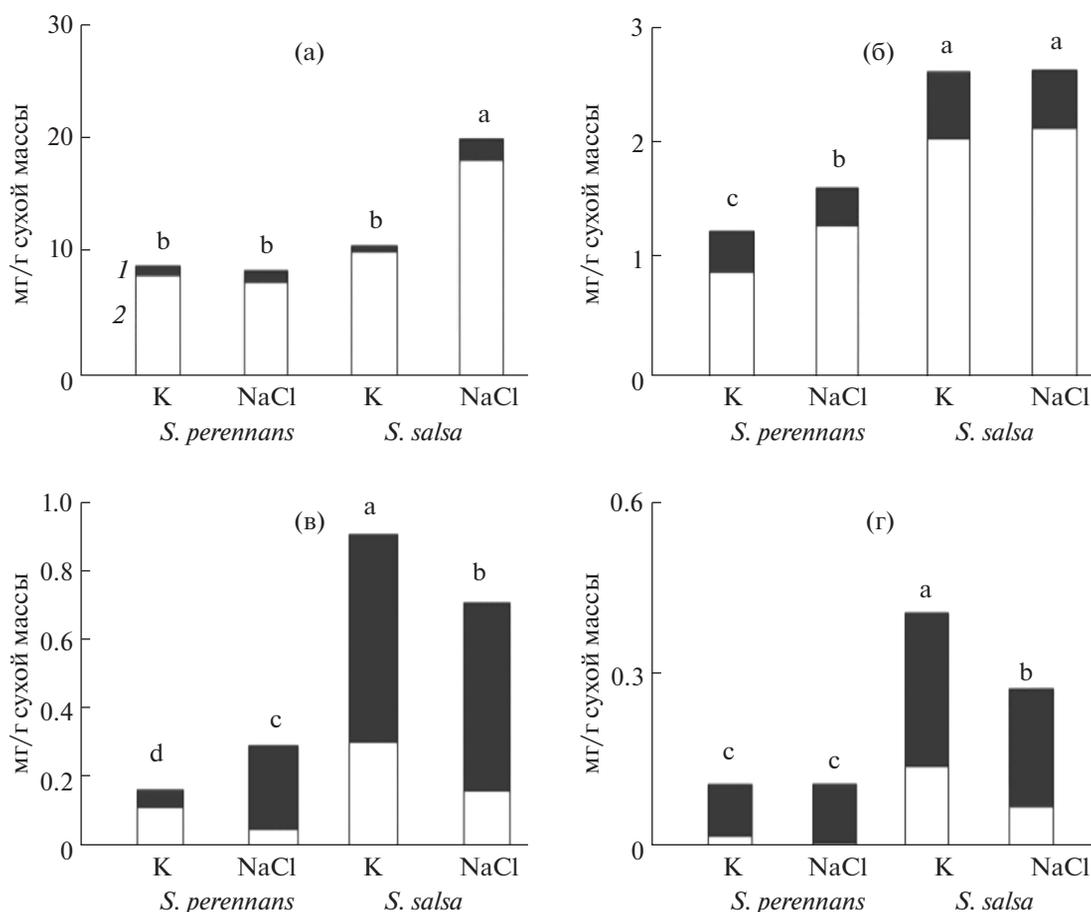
Опыты проводили в трехкратной биологической повторности. Анализ каждого компонента проводили трижды в каждой биологической пробе. Данные в рисунках и таблицах представляют собой средние значения ± стандартные ошибки. Сравнение данных проводилось двухфакторным дисперсионным анализом (Two-way ANOVA) с последующим использованием критерия Тьюки. Разные буквы указывают на различия между образцами ( $P < 0.05$ ). Расчеты выполняли, используя программы Statistica 10.0 for Windows, Microsoft Excel 2007, Past 3.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Содержание общих и рафтообразующих липидов в мембранах хлоропластов и митохондрий и их ДУМ*

Для изучения формирования ДУМ в клетках галофитов были проведены модельные эксперименты с использованием двух видов *S. perennans* и *S. salsa*, выращенных на питательной среде Робинсона с последующим воздействием NaCl. Микродомены, устойчивые к детергенту, выделяли из опалесцирующих зон в области 15% градиента сахарозы после дифференциального центрифугирования.

Количество липидов, экстрагированных из мембран хлоропластов, у двух видов растений без воздействия NaCl не различалось и составляло около 10 мг/г сухой массы (рис. 1а). В отличие от хлоропластов в мембранах митохондрий содержание липидов у *S. salsa* было в два раза выше, чем у *S. perennans*. Действие NaCl приводило к двукратному увеличению количества липидов в мембранах хлоропластов *S. salsa* и 1.5-кратному увеличению количества липидов в мембранах митохондрий *S. perennans* (рис. 1а, б). Суммарное содержание рафтообразующих липидов (Цер + Стер) в мембранах хлоропластов у *S. perennans* составляло 8.5–10% до и после воздействия соли, а у *S. salsa* – 4.5–



**Рис. 1.** Содержание суммарных и рафтообразующих липидов в мембранах хлоропластов (а) и митохондрий (б) и их ДУМ (в, г, соответственно) при влиянии 1 М NaCl. 1 – рафтообразующие липиды, 2 – мембранные липиды, К – контроль. Разными буквами обозначены достоверные различия между видами растений при  $P < 0.05$ .

8.8% (рис. 1а). В мембранах митохондрий содержание этих групп липидов было выше в 2–3 раза, чем в хлоропластах. Под действием соли содержание Цер + Стер снижалось у обоих видов (с 27.3 до 19.8% и с 22 до 18%, соответственно) (рис. 1б).

Сумма липидов, выделенных из ДУМ хлоропластов *S. perennans*, не превышала 2% от липидов мембран хлоропластов до воздействия NaCl. ДУМ хлоропластов *S. salsa* отличались большим содержанием липидов (8% от суммы) по сравнению с *S. perennans* (рис. 1в). Под действием NaCl общее количество липидов ДУМ у *S. perennans* увеличивалось в 1.6 раза, а у *S. salsa* снижалось в 1.3 раза. Одновременно с этим увеличивалась доля рафтообразующих липидов, особенно в ДУМ *S. perennans* (почти в три раза).

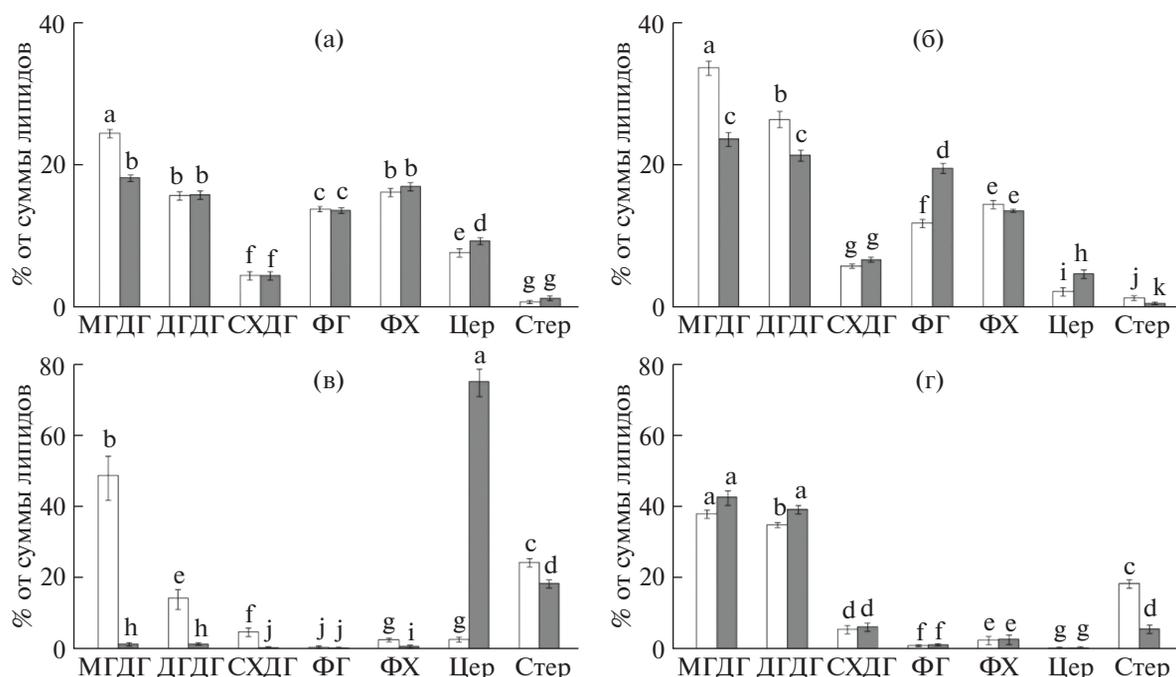
Еще меньшее количество липидов было выделено из ДУМ митохондрий (рис. 1г). Причем рафтообразующие липиды в них доминировали как до воздействия NaCl, так и после него. Также как в случае с хлоропластами, ДУМ митохондрий *S. salsa* характеризовались большей концентрацией липидов по сравнению с *S. perennans* (рис. 1г).

Действие NaCl приводило к небольшому увеличению доли рафтообразующих липидов в ДУМ митохондрий у обоих видов.

#### Состав индивидуальных классов липидов в мембранах хлоропластов и митохондрий и их ДУМ

Более подробный анализ состава липидов показал, что главными липидами хлоропластов обоих видов галофитов были МГДГ и ДГДГ, а доля рафтоспецифичных липидов Цер и Стер у *S. perennans* составляла 8 и 1% от суммы липидов, а у *S. salsa* 2 и 1%, соответственно (рис. 2а, б). Под действием NaCl наблюдали снижение относительного вклада гликолипидов, главным образом МГДГ. При этом у *S. salsa* обнаружено небольшое увеличение доли фосфолипидов. Содержание Цер в мембранных липидах увеличивалось у обоих видов.

Кардинально другая картина наблюдалась в составе липидов ДУМ хлоропластов. До воздействия соли в их составе по-прежнему доминировали гликолипиды (рис. 2в, г). Их суммарное содержание составляло 68 и 75% у *S. perennans* и *S. salsa* соответ-



**Рис. 2.** Влияние 1 М NaCl на состав индивидуальных классов липидов в мембранах и ДУМ хлоропластов *S. perennans* (а, в) и *S. salsa* (б, г). 1 – контроль, 2 – NaCl. Цер и Стер – рафтообразующие липиды. Разными буквами обозначены достоверные различия между видами растений при  $P < 0.05$ .

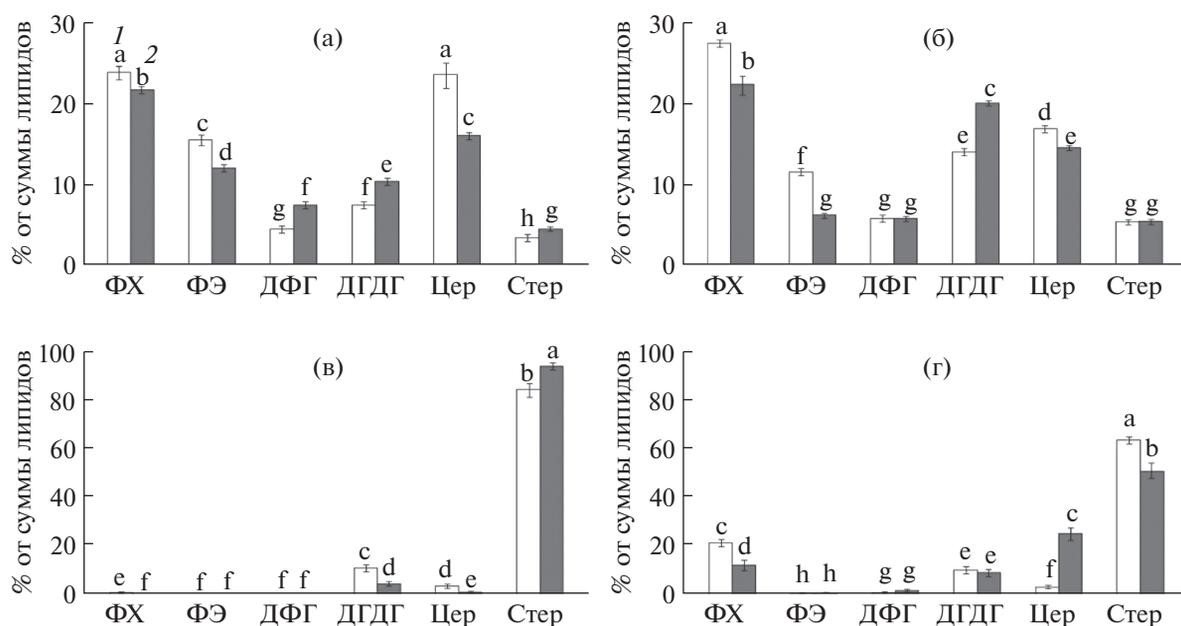
ственно. Второе место по вкладу в состав липидов принадлежало сумме компонентов, ответственных за образование рафтов – Стер и Цер, а вклад фосфолипидов не превышал 5%. Среди фосфолипидов ДУМ доминировали ФГ и ФХ. В ответ на действие NaCl у *S. perennans* на фоне многократного увеличения содержания Цер уменьшалось содержание МГДГ и ДГДГ – в 10 и в 4 раза, соответственно, а также содержание Стер (рис. 2в). В отличие от *S. perennans* в ДУМ хлоропластов *S. salsa* при действии NaCl вклад гликолипидов и фосфолипидов, а также Цер практически не менялся, но уменьшалось содержание Стер относительно других групп липидов (рис. 2г). При этом если у *S. perennans* доля Стер снижалась на 20%, то у *S. salsa* – на 68% в сравнении с контролем. Судя по сумме Стер + Цер, хлоропластные ДУМ у *S. perennans* оказались более чувствительными к засолению, чем у *S. salsa*.

Липиды в мембранах митохондрий обоих видов в целом имели схожий состав и одинаковый характер изменений под действием NaCl (рис. 3а, б), но количество рафтообразующих липидов (Стер и Цер) в них до воздействия NaCl было выше, чем в хлоропластах. В их составе идентифицированы ФХ, ФЭ и маркерный для данной органеллы липид ДФГ. Кроме того, среди липидов митохондрий у обоих видов растений содержание гликолипида ДГДГ составляло 10–15%.

В липидном профиле ДУМ как в отсутствие NaCl, так и под ее воздействием, рафтообразующие липиды становятся главными липидами. Однако у *S. perennans* эту роль на 90% выполняли Стер, содержание которых под действием NaCl практически не менялось. В свою очередь суммарное содержание Цер и Стер у *S. salsa* составляло около 70%, но под действием NaCl доля Цер увеличивалась в 8 раз по сравнению с контролем, а доля Стер снижалась (рис. 3в, г). Общее содержание фосфолипидов в ДУМ митохондрий у *S. perennans* было очень низким не более 1% от суммы мембранных липидов. В то же время ДУМ *S. salsa* в отсутствие соли имели более высокое содержание фосфолипидов, главным образом, за счет ФХ (20%) (рис. 3г). Под влиянием NaCl содержание ФХ снижалось практически вдвое у этого вида растений.

#### Состав ЖК липидов ДУМ хлоропластов и митохондрий

Не менее значимые результаты получены при анализе состава ЖК в липидах ДУМ. В мембранах хлоропластов двух видов галофитов содержание ненасыщенных ЖК составляло более 80%, большая часть из которых представлена линоленовой кислотой (С18:3) (данные не приводятся). Под действием NaCl в составе главных ЖК в липидах мембран хлоропластов каких-либо изменений не обнаружено.



**Рис. 3.** Влияние 1 М NaCl на состав индивидуальных классов липидов в мембранах митохондрий *S. perennans* (а) и *S. salsa* (б) и их ДУМ (в, г). 1 – контроль, 2 – NaCl. Цер и Стер – рафтообразующие липиды. Разными буквами обозначены достоверные различия между видами растений при  $P < 0.05$ .

Другая картина наблюдается в ДУМ, выделенных из мембран хлоропластов. В контрольных растениях обнаружено высокое содержание пальмитиновой кислоты (С16:0): в ДУМ хлоропластов *S. salsa* – 45.7%, а у *S. perennans* – 34.1% от суммы ЖК (табл. 1). Под действием NaCl концентрация С16:0 увеличивалась, но только у *S. perennans* и становилась равной 40.3% от суммы ЖК. В опытных растениях *S. salsa* под действием NaCl увеличивалось относительное содержание стеариновой кислоты (С18:0) с 7.7 до 9.7%. У растений *S. perennans*, как в контроле, так и при добавлении NaCl в корнеобитаемую среду, была отмечена низкая концентрация С18:3 – не более 1.5% от суммы ЖК. В тоже время у двух видов эугаллофитов под действием NaCl содержание ненасыщенных ЖК либо не менялось, как в случае с линолевой кислотой (С18:2), либо снижалось – в случае с олеиновой кислотой (С18:1).

Как в контрольных, так и в опытных вариантах липиды ДУМ митохондрий *S. perennans* и *S. salsa* обогащены кислотой С18:1 по сравнению с ДУМ хлоропластов (табл. 1, 2). Кроме того, у *S. perennans* под действием NaCl концентрация С18:2 увеличивалась, а насыщенных кислот – С16:0 и С18:0 – не менялась (табл. 2). В ДУМ митохондрий *S. salsa* напротив, увеличивалась концентрация насыщенных ЖК С18:0 и С16:0, тогда как снижалась концентрация всех ненасыщенных ЖК. Также в ДУМ митохондрий двух видов выявлено низкое содержание С18:3 – не более 10% от суммы ЖК.

В целом реакция ДУМ митохондрий у *S. salsa* на NaCl была более выраженной и комплексной – было выявлено снижение в 1.5 раза уровня ННЖК и повышение НЖК в 1.2 раза. Соответственно ненасыщенность ЖК липидов ДУМ митохондрий у *S. salsa* снизилась на 43% после воздействия NaCl.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В модельных экспериментах изучено формирование ДУМ в хлоропластах и митохондриях двух видов солеустойчивых растений *S. perennans* и *S. salsa*. Оба вида являются эугаллофитами суккулентного типа и способны выдерживать высокие концентрации солей без ущерба для фотосинтеза [32]. Используемая нами концентрация 1 М NaCl не является оптимальной для роста растений. Однако ее применение в течение 1 сут не вызывало внешних симптомов повреждения, что, по-видимому, не приводило к нарушению физиологических реакций на солевой стресс [33]. Чтобы получить более полное представление о липидах, необходимых для образования микромоменов, мы выделили фракции хлоропластов и митохондрий, а также области мембран, устойчивых к детергенту из этих органелл. Наличие ДУМ у хлоропластов и митохондрий, как контрольных растений, так и подверженных воздействию NaCl, свидетельствует о том, что ДУМ являются конститутивным признаком исследованных галофитов. Идентификация молекулярных компонентов этих ДУМ показала, что их липидный состав значительно отличается

**Таблица 1.** Влияние 1 М NaCl на состав ЖК липидов ДУМ хлоропластов *S. perennans* и *S. salsa*, % от суммы ЖК

ЖК	Виды			
	<i>S. perennans</i>		<i>S. salsa</i>	
	контроль	NaCl	контроль	NaCl
<C14:0	1.9 ± 0.2a	1.8 ± 0.1a	1.9 ± 0.1a	1.3 ± 0.1b
C14:0	6.2 ± 0.5a	5.5 ± 0.5a	2.9 ± 0.3b	3.9 ± 0.2c
C15:0	2.4 ± 0.1a	2.3 ± 0.1a	0.3 ± 0b	0.8 ± 0c
C16:0	34.1 ± 2.9b	40.3 ± 3.2ab	45.7 ± 4.3a	44.9 ± 3.7a
C16:1	7.2 ± 0.6a	5.3 ± 0.5b	0.6 ± 0c	1.6 ± 0.1d
C17:0	0.8 ± 0a	0.8 ± 0.1a	0.2 ± 0b	0.3 ± 0.1b
C17:1	0.6 ± 0a	0.4 ± 0b	0.4 ± 0.1b	0.1 ± 0c
C18:0	13.1 ± 0.8a	12.8 ± 1.1a	7.7 ± 0.5b	9.7 ± 0.4c
C18:1	15.4 ± 1.5a	14.5 ± 1.0a	13.6 ± 1.4a	8.7 ± 0.9b
C18:2	5.7 ± 0.3a	5.6 ± 0.2a	6.0 ± 0.4a	6.4 ± 0.6a
C18:3	0.7 ± 0a	1.4 ± 0.1b	18.0 ± 0.5c	18.9 ± 1.9c
C20:0	0.5 ± 0a	0.5 ± 0.1a	1.4 ± 0.1b	1.2 ± 0.1b
>C20:0	6.5 ± 0.4a	7.8 ± 0.6b	0.9 ± 0.2c	1.8 ± 0.1d
X	4.9 ± 0.5a	1.0 ± 0.1b	0.4 ± 0c	0.4 ± 0c
ИН	0.4	0.4	0.8	0.8
Σ МЖК	23.2	20.2	14.6	10.4
Σ НЖК	57.1	62.2	58.2	60.8
Σ ННЖК	29.6	27.2	38.6	35.7

Примечание. Разные буквы указывают на разницу между образцами ( $P < 0.05$ ). X – сумма неидентифицированных ЖК, ИН – индекс ненасыщенности ЖК, МЖК – сумма C16:1, C17:1 и C18:1, НЖК – сумма насыщенных ЖК, ННЖК – сумма ненасыщенных ЖК.

**Таблица 2.** Влияние 1 М NaCl на состав ЖК липидов ДУМ митохондрий *S. perennans* и *S. salsa*

ЖК	ЖК, % от суммы			
	<i>S. perennans</i>		<i>S. salsa</i>	
	контроль	NaCl	контроль	NaCl
<C14:0	3.4 ± 0.2a	1.1 ± 0.1b	1.9 ± 0.2c	1.6 ± 0.2c
C14:0	6.7 ± 0.5a	4.3 ± 0.4b	4.6 ± 0.5bc	5.3 ± 0.5c
C15:0	2.4 ± 0.2a	2.0 ± 0.2a	1.2 ± 0.1b	1.7 ± 0c
C16:0	35.9 ± 2.4a	31.1 ± 2.5a	39.6 ± 2.0a	44.1 ± 2.2b
C16:1	7.9 ± 0.5a	6.0 ± 0.4b	3.1 ± 0.2c	2.4 ± 0.2d
C17:0	0.6 ± 0a	0.6 ± 0a	0.4 ± 0b	0.7 ± 0c
C17:1	0.7 ± 0a	0.8 ± 0.1a	–	–
C18:0	11.7 ± 1.1a	12.3 ± 0.8a	8.4 ± 0.6b	13.9 ± 1.2a
C18:1	16.0 ± 1.4a	18.4 ± 1.8a	18.0 ± 1.5a	12.2 ± 1.2b
C18:2	7.9 ± 0.7a	14.0 ± 1.2b	9.7 ± 1.0c	6.7 ± 0.7a
C18:3	0.8 ± 0a	0.7 ± 0.1a	9.6 ± 0.9b	4.9 ± 0.5c
C20:0	0.5 ± 0c	0.3 ± 0b	0.6 ± 0.1ac	0.8 ± 0.1a
>C20:0	4.9 ± 0.4a	4.4 ± 0.3a	2.3 ± 0.2b	4.2 ± 0.3a
X	0.6 ± 0a	4.0 ± 0.2b	0.6 ± 0a	1.5 ± 0.1c
ИН	0.4	0.5	0.7	0.4
Σ МЖК	24.6	25.2	21.1	14.6
Σ НЖК	57.8	50.6	54.8	66.5
Σ ННЖК	33.3	39.9	40.4	26.2

Примечание. Разные буквы указывают на разницу между образцами ( $P < 0.05$ ). X – сумма неидентифицированных ЖК, ИН – индекс ненасыщенности ЖК, МЖК – сумма C16:1, C17:1 и C18:1, НЖК – сумма насыщенных ЖК, ННЖК – сумма ненасыщенных ЖК.

от такового для фракций хлоропластов и митохондрий. Обогащение липидов Стер, Цер и насыщенными ЖК, как и следовало ожидать, является главным признаком, отличающим ДУМ от мембран митохондрий и хлоропластов соответствующих органелл. Аналогичные исследования, проведенные на растениях *Arabidopsis thaliana* и *Allium porrum*, показали 4-, 5-кратное увеличение количества Цер в ДУМ по сравнению с мембранами плазмалеммы, микросомальных мембран и мембран Гольджи [3, 7].

Как показали наши исследования, под действием NaCl менялся количественный состав рафтообразующих липидов. Характер изменений зависел, прежде всего, от видовых особенностей галофитов. Наиболее значимые изменения в составе рафтообразующих липидов в ДУМ хлоропластов отмечены у *S. perennans*, а в ДУМ митохондрий – у *S. salsa*. Это подтверждает сделанный нами ранее вывод о том, что разные виды растений, даже близкие между собой по степени солеустойчивости, могут иметь свои особенности организации фотосинтетического аппарата, транспорта ионов и метаболической активности [27]. Так растения вида *S. perennans* имеют недифференцированную по форме клеток хлоренхимы в фотосинтезирующих органах. Внутренняя архитектура листа вида *S. salsa* характеризуется четким разделением тканей на палисадный и губчатый мезофилл, которые содержат более крупные клетки по сравнению с *S. perennans* [34]. В клетках *S. perennans* обнаружено вдвое большее число хлоропластов, чем у *S. salsa*. Все это могло отразиться на структурной организации мембран и ДУМ в хлоропластах [34].

Относительно митохондрий известно, что митохондриальная среда динамически модулируется посредством метаболических взаимодействий и окислительно-восстановительного обмена с хлоропластами. Особенно, когда растения подвергаются сильному стрессу [24]. Эти эффекты, по-видимому, в большей степени отразились на ДУМ митохондрий *S. salsa*.

Одновременно с этим наши результаты показали существование перекрестного взаимодействия между хлоропластами и митохондриями на основе разнонаправленного характера изменений рафтообразующих липидов. В ДУМ хлоропластов и митохондрий растений обоих видов до воздействия NaCl среди рафтообразующих липидов доминируют Стер, затем следуют Цер и глицеролипиды. При действии NaCl в ДУМ мембран хлоропластов и митохондрий роль Цер усиливалась, поскольку их количество претерпело большие изменения по сравнению со Стер. При этом отмечено, что под действием NaCl в ДУМ хлоропластов у *S. perennans* доля Цер увеличивалась, а в митохондриях уменьшалась. Напротив, у

*S. salsa* в ДУМ митохондрий доля Цер увеличивалась, а в ДУМ хлоропластов не менялась. По-видимому, микродомены осуществляют координацию взаимодействия хлоропластов и митохондрий путем обмена рафтообразующими липидами.

ДУМ тесно связаны с физиологическими функциями мембран и ответом на различные стрессовые воздействия. Например, изменения соотношения Стер и Цер при холодной акклиматизации приводило к изменениям термодинамических свойств и физиологических функций микродоменов, что, в свою очередь, влияло на устойчивость растений к низким температурам [18]. Однако выполняемые при этом роли Стер и Цер, по-видимому, различны. Цер являются растительными сфинголипидами, включающими сфингоидную основу, длинноцепочечные насыщенные ЖК и углеводный фрагмент [7]. Они обладают высоким сродством к Стер, обусловленным взаимодействием боковых цепей Стер с насыщенными алкильными цепями сфинголипидов. Это позволяет им создавать плотную упаковку и облегчает образование липидных микродоменов. Данные о роли Цер в липидных рафтах немногочисленны. Известно, что Цер вовлечены в клеточную сигнализацию, процесс апоптоза, реакции растений на охлаждение, гипоксию и патогены [18, 35]. Они составляют около 40% от общего количества липидов в плазматической мембране растений [36]. В аппарате Гольджи, ЭПР, тонопласте доля Цер составляет от 7 до 30% в зависимости от вида растения и типа органов [5]. Однако их биосинтез напрямую связан с метаболическими реакциями, происходящими в хлоропластах [35]. Кроме того, нарушение синтеза Цер в растительной клетке может приводить к изменению ультраструктуры хлоропластов и к деградации фотосинтетических пигментов [37]. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что Цер концентрируются именно в микродоменах мембран, устойчивых к действию детергента.

Цер, участвующие в формировании микродоменов, могут способствовать аккумуляции определенных белков в упорядоченной фазе мембраны. Например, при изучении солеустойчивости *A. thaliana* были получены мутанты, дефектные по основным ранним событиям передачи сигналов соли, и выделен мутант *Moca1* с повышенной чувствительностью к солевому стрессу [38]. Липидным анализом установлено, что специфичные для растений гликозилинозитолфосфорилцерамиды (ГИФЦ) участвуют в восприятии сигнала плазматической мембраной ионного стресса. Авторы заключили важность ГИФЦ – как особого класса сфинголипидов – для регуляции (и модуляции) сигнальных процессов на плазматической мембране, связанных с засолением. Наши результаты позволяют предположить, что, увеличение концентрации Цер в ДУМ хлоропластов и мито-

хондрий способствует реализации сигнальной функции этих доменов у галофитов в ответ на солевой стресс.

Мембранные Стер рассматриваются как одно из ключевых звеньев регуляции ионной проницаемости растительных мембран. При действии ни-статина, специфически связывающегося со Стер, наблюдали значительное увеличение мембранной проводимости для воды, ионов калия, а также усиление потребления клетками кислорода и увеличения скорости тепловыделения [19]. Благодаря наличию тетрациклического стеранового кольца, Стер представляют гидрофобное ядро, внедренное в алифатические цепи ЖК в бислойной мембране. Наряду со структурной ролью Стер выполняют важные регуляторные функции. Как предшественники растительных гормонов они участвуют в регуляции роста и развития растений [39].

По общим оценкам содержание Цер вместе со свободными Стер может составлять 20–40% от общего содержания липидов в ДУМ [3, 5]. Как показали наши эксперименты, эта величина в ДУМ может достигать 75–90%. При этом пути биосинтеза Стер и Цер пересекаются. Так, ингибирование функционирования фермента НМGR, определяющего запуск биосинтеза Стер у растений *A. thaliana*, приводило к снижению не только активности НМGR и подавлению синтеза Стер, но и к снижению содержания Цер [40].

В отношении ЖК – еще одного критерия, характеризующего ДУМ, следует отметить, что их состав находился в большей зависимости от вида растений, от локализации ДУМ в эндо- и мембранах и в меньшей степени от влияния засоления. Общая тенденция в изменении состава ЖК под действием NaCl – увеличение уровня насыщенных ЖК и изменение соотношения ненасыщенных ЖК в сторону снижения полиненасыщенности. Синтез ЖК, также как синтез Стер и Цер, требует тесной координации между пластидами и экстрапластидными мембранами. По-видимому, микродомены на мембранах органелл, имеют решающее значение для их взаимодействия.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, были обнаружены ДУМ в хлоропластах и митохондриях однолетних эу-галлофитов *S. perennans* и *S. salsa* как в контроле, так и при воздействии NaCl. Состав липидов и ЖК в ДУМ отличается от липидов мембран хлоропластов и митохондрий. Изменение состава рафтообразующих липидов – Стер и Цер – свидетельствует об участии этих структур в ответе на действие NaCl. Характер изменений зависел от состава рафтообразующих липидных молекул, внутриклеточной локализации мембран и видовых особенностей

растительного объекта. Многократное увеличение доли Цер в ДУМ хлоропластов у *S. perennans* и в ДУМ митохондрий у *S. salsa* при засолении среды доказывает участие этого типа липидов в клеточном ответе галофитов на засоление. Противоположный эффект наблюдался в отношении Стер: снижение их относительного содержания при действии соли. В целом наши данные говорят о том, что у галофитов, кроме известных механизмов солеустойчивости, существует набор дополнительных хорошо организованных и взаимодополняющих клеточных механизмов для борьбы со стрессом, вызванным NaCl.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ темы 1021060107217-0-1.6.19).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследований.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Singer S.J., Nicolson G.L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes // *Sci.* 1972. V. 175. P. 720. <https://doi.org/10.1126/science.175.4023.720>
2. Nickels J.D., Chatterjee S., Stanley C.B., Qian S., Cheng X., Myles D.A.A., Standaert R.F., Elkins J.G., Katsaras J. The in vivo structure of biological membranes and evidence for lipid domains // *PLOS Biol.* 2017. V. 15. e2002214. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2002214>
3. Laloi M., Perret A.-M., Chatre L., Melser S., Cantrel C., Vaultier M.-N., Zachowski A., Bathany K., Schmitter J.-M., Vallet M., Lessire R., Yartmann M.-A., Moreau P. Insights into the role of specific lipids in the formation and delivery of lipid microdomains to the plasma membrane of plant cells // *Plant Physiol.* 2007. V. 143. P. 461. <https://doi.org/10.1104/pp.106.091496>
4. Hibino H., Kurachi Y. Distinct detergent-resistant membrane microdomains (lipid rafts) respectively harvest K<sup>+</sup> and water transport systems in brain astroglia // *Eur. J. Neurosci.* 2007. V. 26. P. 2539. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05876.x>
5. Mongrand S., Stanislas T., Bayer E.M.F., Lherminier J., Simon-Plas F. Membrane rafts in plant cells // *Trends Plant Sci.* 2010. V. 15. P. 656. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.09.003>
6. Lingwood D., Simons K. Lipid rafts as a membrane-organizing principle // *Sci.* 2010. V. 347. P. 46. <https://doi.org/10.1126/science.117462>
7. Cacas J.-L., Furt F., Le Guédard M., Schmitter J.-M., Buré C., Gerbeau-Pissot P., Moreau P., Bessoule J.-J., Simon-Plas F., Mongrand S. Lipids of plant membrane rafts // *Prog. in Lipid Res.* 2012. V. 51. P. 272. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2012.04.001>
8. Bessueille L., Sindt N., Guichardant M., Djerbi S., Teeri T.T., Bulone V. Plasma membrane microdomains from hy-

- brid aspen cells are involved in cell wall polysaccharide biosynthesis // *Biochem. J.* 2009. V. 420. P. 93. <https://doi.org/10.1042/bj2008211>
9. Sun J., Nanjundan M., Pike L.J., Wiedmer T., Sims P.J. Plasma membrane phospholipid scramblase 1 is enriched in lipid rafts and interacts with the epidermal growth factor receptor // *Biochem.* 2002. V. 41. P. 6338. <https://doi.org/10.1021/bi0256101>
  10. Blakeslee J.J., Bandyopadhyay A., Lee O.R., Mravec J., Titapiwatanakun B., Sauer M., Makam S.N., Cheng Y., Bouchard R., Adamec J., Geisler M., Nagashima A., Sakai T., Martinoia E., Friml J., et al. Interactions among PIN-FORMED and P-glycoprotein auxin transporters in *Arabidopsis* // *Plant Cell Online.* 2007. V. 19. P. 131. <https://doi.org/doi:10.1105/tpc.106.040782>
  11. Demira F., Horntricha C., Blachutzjka J.O., Scherzera S., Reindersc Y., Kierszniowska S., Schulze W.X., Harmsb G.S., Hedricha R., Geigera D., Kreuzera I. *Arabidopsis* nanodomain-delimited ABA signaling pathway regulates the anion channel SLAH3 // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2013. V. 110. P. 8296. <https://doi.org/doi:10.1073/pnas.1211667110>
  12. Yang H., Richter G.L., Wang X., Młodzińska E., Carraro N., Ma G., Jenness M., Chao D., Peer W.A., Murphy A.S. Sterols and sphingolipids differentially function in trafficking of the *Arabidopsis* ABCB19 auxin transporter // *Plant J.* 2012. V. 74. P. 37. <https://doi.org/10.1111/tpj.12103>
  13. Ott T. Membrane nanodomains and microdomains in plant – microbe interactions // *Cur. Opin. Plant Biol.* 2017. V. 40. P. 82. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.08.008>
  14. Flowers T.J., Glenn E.P., Volkov V. Could vesicular transport of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> be a feature of salt tolerance in halophytes? // *Ann. Bot.* 2019. V. 123. P. 1. <https://doi.org/10.1093/aob/mcy164>
  15. Ozolina N.V., Kapustina I.S., Gurina V.V., Nurminsky V.N. Role of tonoplast microdomains in plant cell protection against osmotic stress // *Planta.* 2022. V. 255. P. 65. <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03800-3>
  16. Bhat R.A., Miklis M., Schmelzer E., Schulze-Lefert P., Panstruga R. Recruitment and interaction dynamics of plant penetration resistance components in a plasma membrane microdomain // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2005. V. 102. P. 3135. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500012102>
  17. Nesterov V.N., Nesterkina I.S., Rozentsvet O.A., Ozolina N.V., Salyaev R.K. Detection of lipid-protein microdomains (rafts) and investigation of their functional role in the chloroplast membranes of halophytes // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2017. V. 476. P. 303. <https://doi.org/10.1134/S1607672917050040>
  18. 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 // *Cryobiol.* 2016. V. 72. P. 123. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2016.02.003>
  19. Valitova J.N., Sulkarnayeva A.G., Minibayeva F.V. Plant sterols: diversity, biosynthesis, and physiological function // *Biochem. (Moscow).* 2016. V. 81. P. 819. <https://doi.org/10.1134/S0006297916080046>
  20. Dreyer I., Uozumi N. Potassium channels in plant cells // *FEBS J.* 2011. V. 278. P. 4293. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08371.x>
  21. Rahman Md. M., Mostofa M.G., Keya S.S., Siddiqui Md.N., Ansary Md.M.U., Das A.K., Rahman Md.A., Tran L.S.-P. Adaptive mechanisms of halophytes and their potential in improving salinity tolerance in plants // *IJMS.* 2021. V. 22. P. 10733. <https://doi.org/10.3390/ijms221910733>
  22. Shabala S., Mackay A. Ion transport in halophytes // *Advan. Bot. Res.* 2011. V. 57. P. 151. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-387692-8.00005-9>
  23. Trono D., Laus M.N., Soccio M., Pastore D. Transport pathways – proton motive force interrelationship in durum wheat mitochondria // *IJMS.* 2014. V. 15. P. 8186. <https://doi.org/10.3390/ijms15058186>
  24. He C., Berkowitz O., Hu S., Zhao Y., Qian K., Shou H., Whelan J., Wang Y. Co-regulation of mitochondrial and chloroplast function: Molecular components and mechanisms // *Plant Commun.* 2023. V. 4. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2022.100496>
  25. Wang Z., Benning C. Chloroplast lipid synthesis and lipid trafficking through ER-plastid membrane contact sites // *Biochem. Society Trans.* 2012. V. 40. P. 457. <https://doi.org/10.1042/BST20110752>
  26. Horvath S.E., Daum G. Lipids of mitochondria // *Prog. Lipid Res.* 2013. V. 52. P. 590. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.07.002>
  27. Rozentsvet O., Nesterkina I., Ozolina N., Nesterov V. Detergent-resistant microdomains (lipid rafts) in endomembranes of wild halophytes // *Func. Plant Biol.* 2019. V. 46. P. 869. <https://doi.org/10.1071/FP18263>
  28. Robinson S.P., Downton W.J.S. Potassium, sodium, and chloride content of isolated intact chloroplasts in relation to ionic compartmentation in leaves // *Arch. Biochem. Biophys.* 1984. V. 228. P. 197. [https://doi.org/doi:10.1016/0003-9861\(84\)90061-4](https://doi.org/doi:10.1016/0003-9861(84)90061-4)
  29. Rozentsvet O.A., Nesterov V.N., Sinyutina N.F. The effect of copper ions on the lipid composition of subcellular membranes in *Hydrilla verticillata* // *Chemosphere.* 2012. V. 89. P. 108. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.034>
  30. Mellgren R.L. Detergent-resistant membrane subfractions containing proteins of plasma membrane, mitochondrial, and internal membrane origins // *J. Biochem. Biophys. Meth.* 2008. V. 70. P. 1029. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2007.08.001>
  31. Нестеров В.Н., Розенцвет О.А., Богданова Е.С. Влияние абиотических факторов на состав жирных кислот *Ulva intestinalis* // *Сибирский экологический журнал.* 2013. № 4. С. 587.
  32. Розенцвет О.А., Нестеров В.Н., Богданова Е.С. Структурные и физиолого-биохимические аспекты солеустойчивости галофитов // *Физиология растений.* 2017. Т. 64. С. 251. <https://doi.org/10.7868/S001533031704011X>
  33. Lv S., Jiang P., Chen X., Fan P., Wang X., Li Y. Multiple compartmentalization of sodium conferred salt tolerance in *Salicornia europaea* // *Plant Physiol. Biochem.*

2012. V. 51. P. 47.  
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.10.015>
34. *Rozentsvet O., Nesterov V., Bogdanova E., Kosobryukhov A., Subova S., Semenova G.* Structural and molecular strategy of photosynthetic apparatus organization of wild flora halophytes // *Plant Physiol. Biochem.* 2018. V. 129. P. 213.  
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.06.006>
35. *Chen M., Cahoon E.B.* Plant sphingolipids: structure, synthesis and function // *Lipids in photosynthesis: essential and regulatory functions* / Eds. Wada H., Murata N., Dordrecht: Springer. 2009. P. 77.  
[https://doi.org/10.1007/978-90-481-28631\\_5](https://doi.org/10.1007/978-90-481-28631_5)
36. *Sperling P., Heinz E.* Plant sphingolipids: structural diversity, biosynthesis, first genes and functions // *Biochim. Biophys. Acta.* 2003. V. 1632. P. 1.  
[https://doi.org/10.1016/S1388-1981\(03\)00033-7](https://doi.org/10.1016/S1388-1981(03)00033-7)
37. *Jiang Z., Zhou X., Tao M., Yuan F., Liu L., Wu F., Wu X., Xiang Y., Niu Y., Liu F., Li C., Ye R., Byeon B., Xue Y., Zhao H., et al.* Plant cell-surface GIPC sphingolipids sense salt to trigger  $\text{Ca}^{2+}$  influx // *Nature.* 2019. V. 572. P. 341.  
<https://doi.org/10.1038/s41586-019-1449-z>
38. *Abbas H.K., Paul R.N., Boyette C.D., Duke S.O., Vesonder R.F.* Physiological and ultrastructural effects of fumonisin on jimsonweed leaves // *Can. J. Bot.* 1992. V. 70. P. 1824.  
<https://doi.org/10.1139/b92-226>
39. *Lindsey K., Pullen M.L., Topping J.F.* Importance of plant sterols in pattern formation and hormone signaling // *Tren. Plant Sci.* 2003. V. 8. P. 521.  
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2003.09.012>
40. *Nieto B., Fores O., Arro M., Ferrer A.* Arabidopsis 33hydroxy33methylglutaryl CoA reductase is regulated at the posttranslational level in response to alterations of the sphingolipid and the sterol biosynthetic pathways // *Phytochem.* 2009. V. 70. P. 53.  
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.10.010>  
<https://doi.org/10.1016/j>