

УДК: 573.4:577.115

ДИНАМИКА ЛИПИДОВ В СЕМЕНАХ И ПРОРОСТКАХ СОИ ПРИ ПРОРАСТАНИИ

Е.Ф.Бездудная

Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)

Изучено содержание общих липидов, фосфолипидов, свободных жирных кислот, в частности, ненасыщенных, триацилглицеролов и фитостеринов в семядолях сои на первые, третьи и пятые сутки прорастания. Также были исследованы эти показатели в проростках на третьи и пятые сутки прорастания. Обсуждается роль липидов семян сои в формировании проростка и его дальнейшего развития. Обращается внимание на механизмы мобилизации липидов семян и разнообразные пути их превращения в процессе прорастания.

Ключевые слова: *семена сои, семядоли, проростки, общие липиды, триацилглицеролы, фосфолипиды, жирные кислоты, фитостерины, йодное число.*

Введение

Семена масличных культур запасают значительные количества липидов, преимущественно триацилглицеролов. В семенах сои, например, содержание жира колеблется в пределах 18 – 23% (Бабич, 1993). Гидролиз триацилглицеролов происходит особенно интенсивно при прорастании семян. Синтез углеводов, необходимых для формирования проростка, осуществляется за счет превращения высших жирных кислот в гликозилатном цикле (Полевой, 1989). В жирах сои содержится около 85% ненасыщенных жирных кислот, в том числе около 61% полиненасыщенных. Последние являются предшественниками ряда биологически активных соединений, в том числе, регуляторов роста (Гудвин, Мерсер, 1986). Отмечена интенсивная утилизация ненасыщенных жирных кислот на ранних стадиях прорастания семян (Негруцкий, 1976). Семена сои содержат также значительные количества фосфолипидов и фитостеринов. Фосфолипиды являются компонентами мембранных систем клетки, и их метаболизм связан с процессами внутриклеточной сигнализации. Содержание фосфолипидов в семенах сои колеблется в пределах 1,3–2,5%.

Однако, до настоящего времени недостаточно изучен метаболизм отдельных классов липидов в семенах масличных культур, в частности, структурных и запасных липидов, в процессе прорастания.

Целью настоящей работы являлось изучение содержания общих липидов, триацилглицеролов, фосфолипидов и фитостеринов (ФС) в семенах, семядолях и проростках сои на ранних стадиях прорастания.

Материалы и методы

В эксперименте использовали цельные неповрежденные семена сои сорта *Clark*. Ложем для проращивания служила фильтровальная бумага, смоченная дистиллированной водой. Проращивание проводили в чашках Петри при комнатной температуре ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Для определения брали семядоли на 1-е, 3-и и 5-е сутки, а проростки – на 3-и и 5-е сутки проращивания.

Липиды экстрагировали смесью хлороформ: метанол (2 : 1, по объему) (Финдлей, 1990). Содержание общих липидов определяли с помощью ванилинового реактива (Финдлей, 1990), а свободных жирных кислот по реакции с диэтилтиокарбаматом (Финдлей, 1990). Общие фосфолипиды определяли по фосфору после минерализации в хлорной кислоте (Беззубов, 1975), содержание триацилглицеролов – по реакции с фенилгидразином (Беззубов, 1975), а фитостеринов – методом Станкевича (Беззубов, 1975). Показателем ненасыщенности жира служило йодное число (Беззубов, 1975). Статистическую обработку проводили с использованием пакета программ «Statistica 6.0».

Результаты и обсуждение

На рис. 1 приведены данные содержания общих липидов, фосфолипидов и свободных жирных кислот в семенах сои на первые, третьи и пятые сутки прорастания.

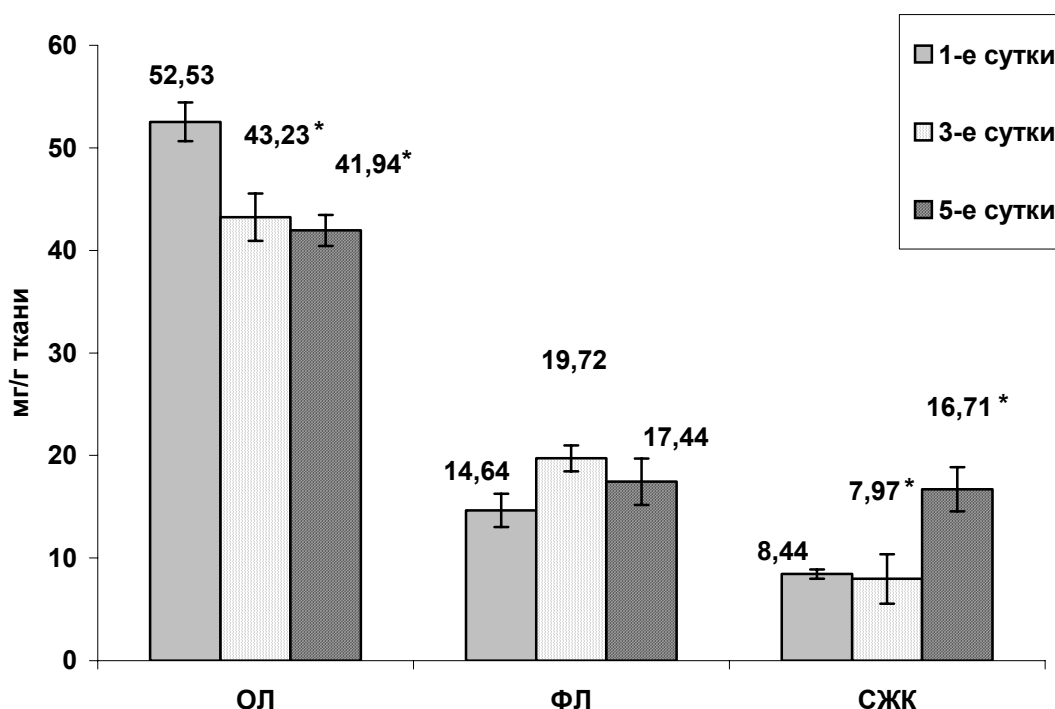


Рис. 1. Содержание общих липидов, фосфолипидов и свободных жирных кислот в семенах сои на разных сроках прорастания

Как видно из этих данных, на третьи сутки прорастания содержание общих липидов снизилось и осталось сниженным в последующие два дня. Содержание фосфолипидов практически не изменилось, а содержание свободных жирных кислот увеличилось почти вдвое на пятые сутки. Это свидетельствует о том, что снижение содержания общих липидов произошло, главным образом, за счет гидролиза запасных липидов, главными из которых в семенах масличных культур являются триацилглицеролы. Это подтверждается результатами, представленными на рис. 2. Как видно из этих данных, содержание ацилглицеролов значительно снизилось на третьи сутки прорастания. В последующие два дня содержание ацилглицеролов оставалось сниженным.

Нами отмечено повышение содержания фитостерина в семядолях на пятые сутки прорастания (рис. 2). Это можно объяснить их синтезом *de novo* из продуктов расщепления жирных кислот. Фитостерины утилизируются в процессах образования различных гликозидов, фитогормонов, алкалоидов и т. д. (Гудвин, Мерсер, 1986).

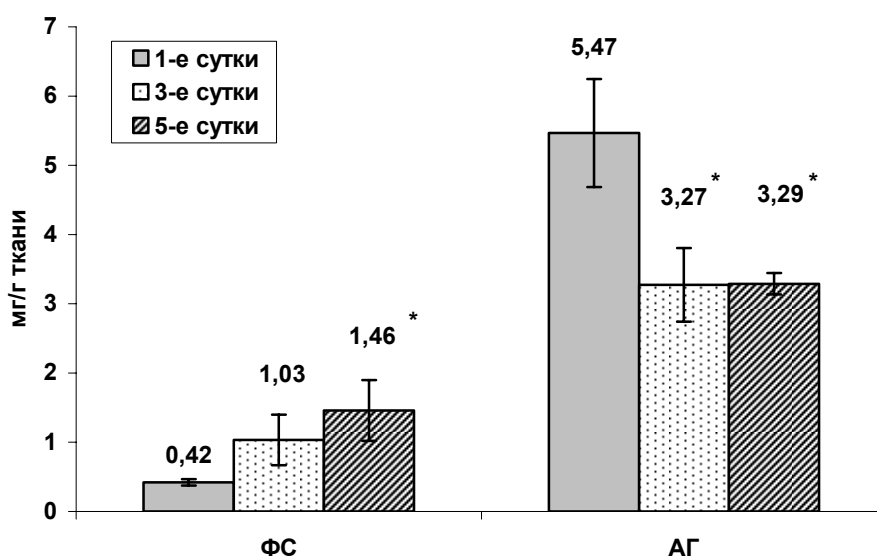


Рис. 2. Содержание фитостерина (ФС) и ацилглицеролов в семенах сои на разных сроках прорастания

На рис. 3 приведены данные содержания общих липидов, фосфолипидов и свободных жирных кислот в трех- и пятисуточных проростках. Как видно из этих данных, содержание общих липидов в пятисуточных проростках снизилось, а содержание фосфолипидов и свободных жирных кислот практически не изменялось.

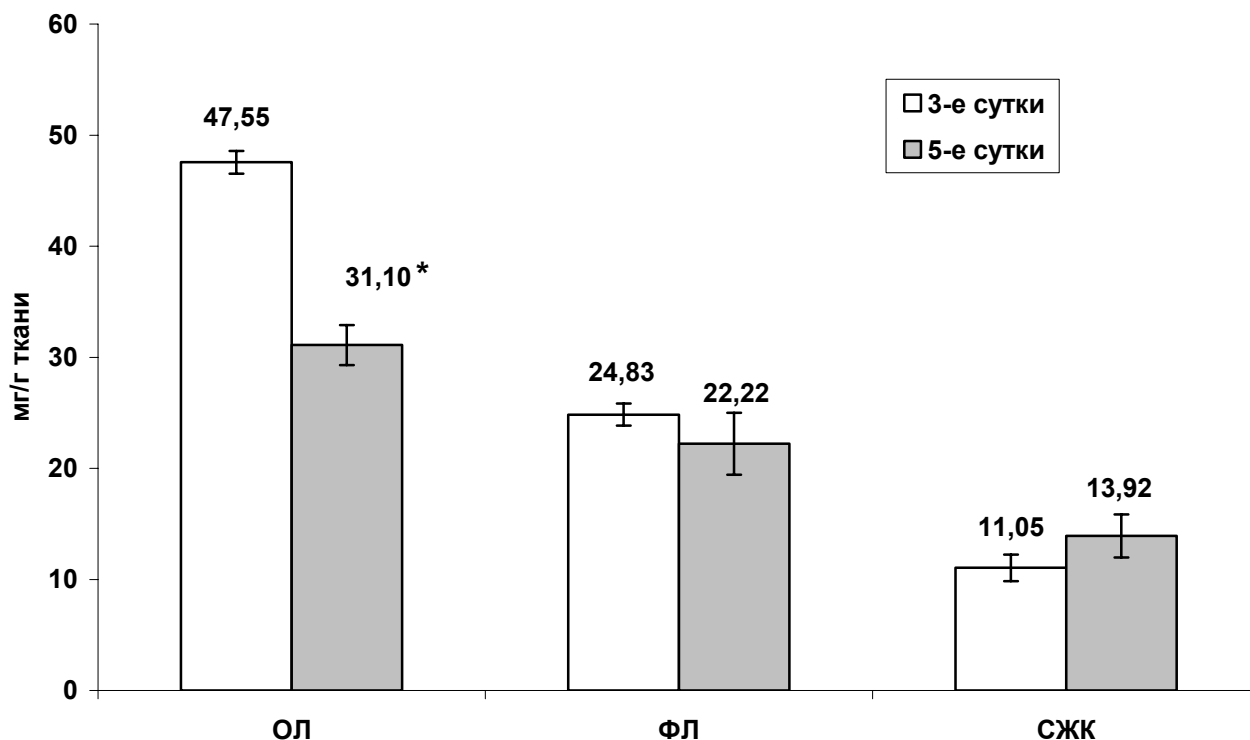


Рис. 3. Содержание общих липидов, фосфолипидов и свободных жирных кислот в проростках сои на разных сроках прорастания

Не изменялось также содержание ацилглицеролов, а уровень фитостерина снизился (рис. 4). Установлено, что уже через сутки после замачивания семян значительно повышается содержание ненасыщенных жирных кислот, о чем свидетельствует повышение йодного числа (рис. 5). Содержание ненасыщенных жирных кислот остается высоким в последующие двое суток и затем несколько снижается, хотя значительно превышает их содержание в сухих семенах. Небольшое снижение ненасыщенных жирных кислот на пятые сутки, возможно, связано с тем, что полиненасыщенные жирные кислоты в семенах бобовых и, в частности, в семенах сои, активно окисляются в реакции, катализируемой липоксигеназами (Гудвин, Мерсер, 1986). Липоксигеназный путь превращения полиненасыщенных жирных кислот обеспечивает клетки различными биорегуляторами, среди которых важное место занимают производные полиненасыщенных жирных кислот.

Хотя суммарное содержание свободных жирных кислот в проростках не изменялось, произошло значительное перераспределение их состава, а именно, повысилось содержание полиненасыщенных жирных кислот, о чем свидетельствует йодное число (рис. 6).

Кроме того, насыщенные жирные кислоты могут подвергаться активной десатурации и пополнять фонд полиненасыщенных жирных кислот, которые высвобождаются при гидролизе триацилглицеролов.

В органах зародыша осуществляется преобразование полиненасыщенных жирных кислот при участии циклооксигеназы и липоксигеназы. Эти ферменты катализируют окисление полиненасыщенных жирных кислот, которые содержат 1,4-цис,цис-пентадиеновые фрагменты с образованием биологических регуляторов – простагландинов и лейкотриенов (9).

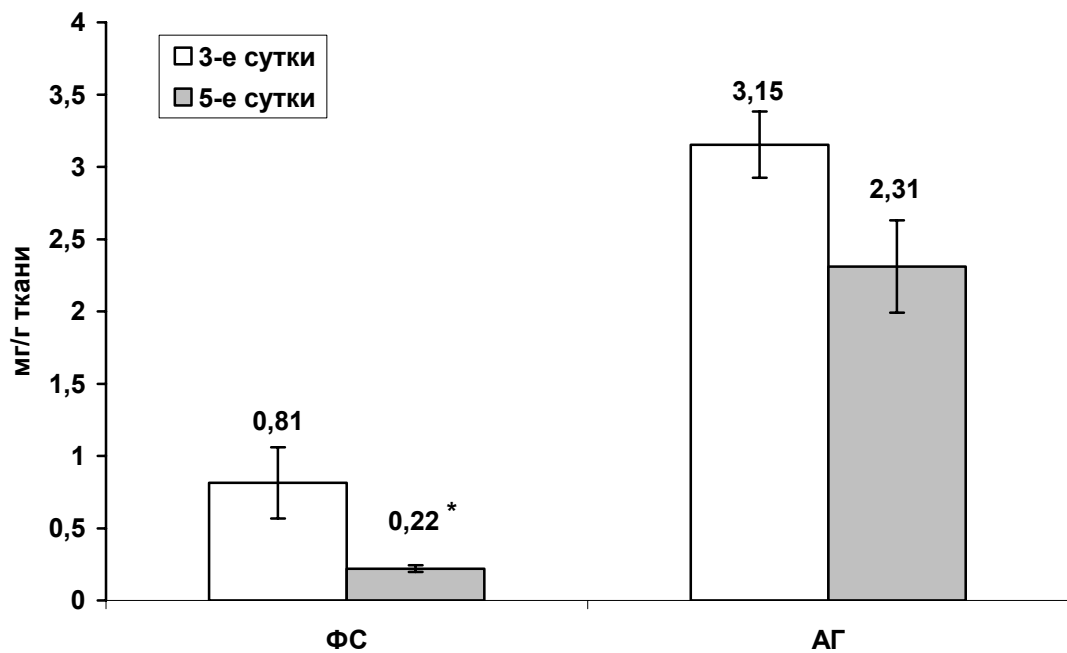


Рис. 4. Содержание фитостеринов (ФС) и ацилглицеролов в проростках сои на разных сроках прорастания

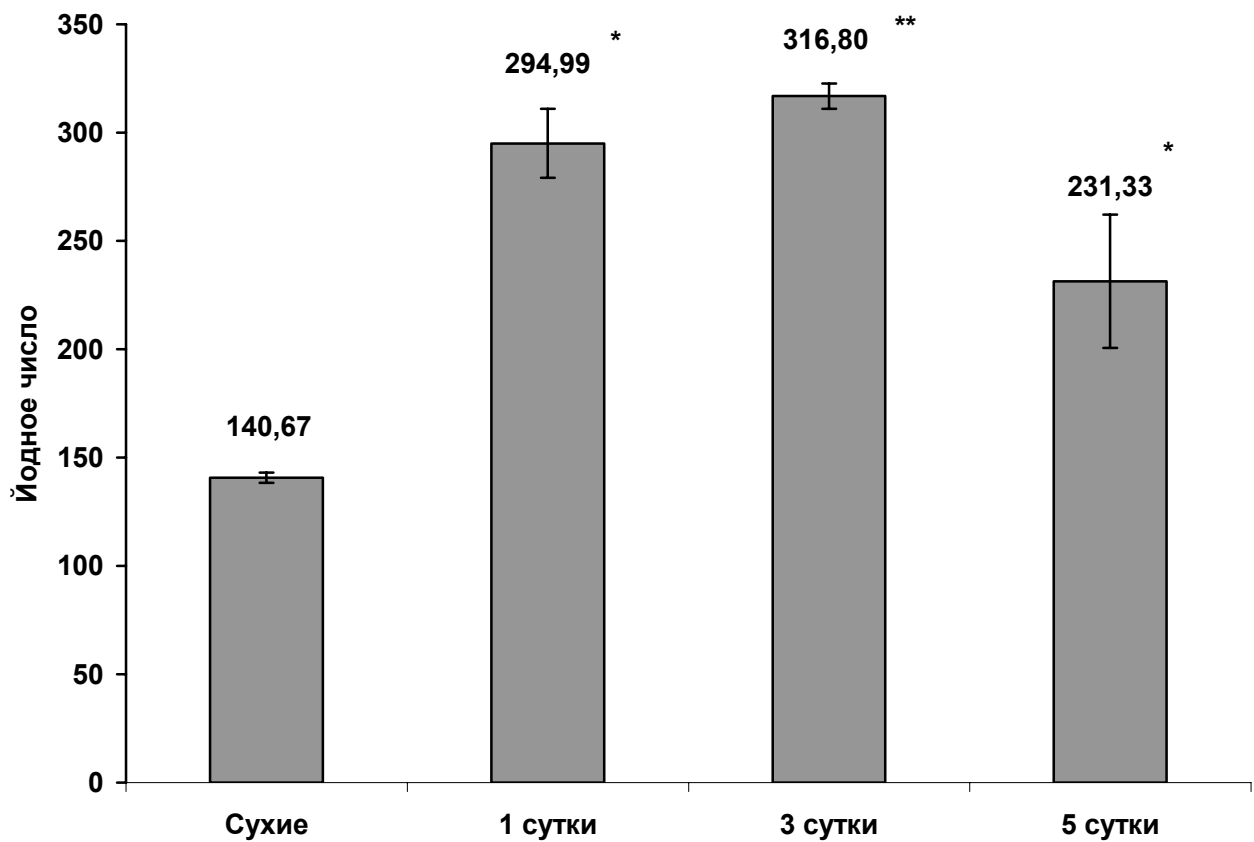


Рис. 5. Йодное число липидов семян сои на разных сроках прорастания

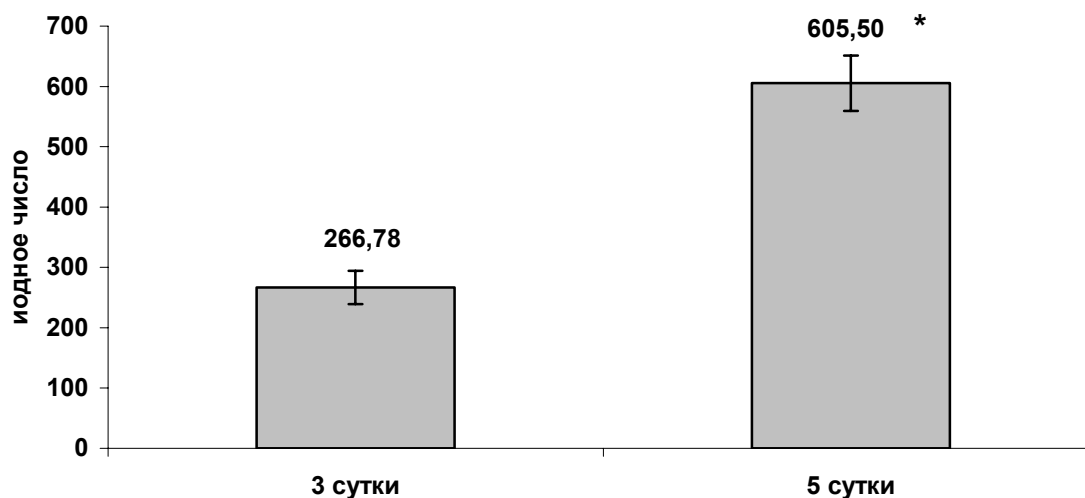


Рис. 6. Йодное число липидов проростков сои на разных сроках прорастания

О значительной роли липоксигеназного пути окисления полиненасыщенных жирных кислот в регуляции прорастания семян свидетельствуют данные (Grechkin, 1988) об изменениях активности и изоферментного спектра липоксигеназ в прорастающих семенах.

Наши данные согласуются с данными (Handbook of pharmaceutical excipients, 1994), в которых показано, что в прорастающих семенах сои наблюдалась постепенная убыль жира и накопление свободных жирных кислот на ранних стадиях прорастания.

Активация липолиза и значительное повышение содержания ненасыщенных жирных кислот была отмечена в прорастающих семенах льна на восьмой день прорастания (Иванов, 1986) и дальнейшая активация липолиза продолжалась, хотя содержание полиненасыщенных кислот несколько снижалось на двенадцатые сутки.

Метаболизм липидов в прорастающих семенах осуществляется различными путями. Мобилизация запасных липидов осуществляется при участии липаз, которые катализируют гидролитическое расщепление эфирных связей с образованием глицерола и свободных жирных кислот. Эти реакции необходимы, прежде всего, для образования фонда свободных жирных кислот (Гудвин, Мерсер, 1986). Последние утилизируются в энергетическом обмене при β -окислении и служат источником образования двухуглеродных фрагментов, необходимых для глиоксилатного цикла. Глиоксилатный цикл в семенах растений выполняет функцию глюконеогенеза, а именно, образования глюкозы из жирных кислот. В реакциях глиоксилатного цикла образуются углеводные компоненты, необходимые как для формирования проростков и подготовки их к фотосинтезу (Полевой, 1989), так и для гликолиза. Таким образом, процесс β -окисления жирных кислот предоставляет субстрат для глиоксилатного цикла, а последний – для цикла трикарбонных кислот. Восстановительные эквиваленты, образующиеся в перечисленных выше реакциях, окисляются в дыхательной цепи и обеспечивают энергией и строительным материалом ранние стадии прорастания.

Заключение

Результаты, полученные в настоящем исследовании, свидетельствуют о том, что в ходе прорастания семян сои питательные вещества, накопленные в семядолях в виде запасных липидов, используются для формирования проростка, который должен укорениться и в последующем сформировать первый листочек и перейти на автотрофное питание. Однако, еще в этиолированном проростке происходят сложные биосинтетические процессы образования протохлорофиллидбелкового комплекса (голохрома). В ходе его образования используется сукцинил-КоА – промежуточный продукт цикла трикарбонных кислот и НАДФН, образующийся в пентозном цикле. При этом интенсивно утилизируются продукты окисления жирных кислот. При кратковременном освещении происходит быстрое стехиометрическое восстановление протохлорофиллида до хлорофиллида, который затем этерифицируется и превращается в хлорофилл а. Семядоли при этом постепенно уменьшаются, вянут и опадают, а дальнейший рост и развитие растения осуществляется за счет фотосинтеза.

Список литературы

- Бабич А.О. Сучасне виробництво і використання сої. - Київ: Урожай, 1993. – 405с.
Беззубов Л.П. Химия жиров. М.: Пищевая промышленность, 1975. – 280с.
Биологические мембраны. Методы: Пер. с англ. – М.: Мир, 1990. – 424с.
Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений: В 2-х т. Пер. с англ. – М.: Мир, 1986. – 393с.
Иванов С.Л. Цитировано по Кретович В.Л. Биохимия растений. - М.: Высшая школа, 1986. – 503с.
Негруцкий С.Ф. Липидный обмен растений. Донецк, 1976. – 96с.
Полевой В.В. Физиология растений. М.: Высшая школа, 1989. – 464с.
Handbook of pharmaceutical excipients / Ed. by Anley Wade and Paul Weller. - Washington/London: Amer. Pharm. Association / The Pharm Press, 1994. – 651p.
Grechkin A. Recent development in biochemistry of the plant lipoxygenase pathway // Piog Lipid Res. – 1998. – Vol.17. - P. 317-352.
Lipoxygenase and lipoxygenase pathway enzymes / Ed. G.Piazzе. – Hardbound, 1996. – 248p.

ДИНАМІКА ЛІПІДІВ В НАСІННІ І ПАРОСТКАХ СОЇ ПРИ ПРОРОСТАННІ**О.Ф.Бездудна**

Вивчено вміст загальних ліпідів, фосфоліпідів, вільних жирних кислот, зокрема ненасичених, триацилгліцеролів і фітостеринів в сім'ядолях сої на першу, третю і п'яту добу проростання. Також були досліджені ці показники в проростках на третю та п'яту добу пророщування. Обговорюється роль ліпідів насіння сої в формуванні проростка і його подальшого розвитку. Звертається увага на механізми мобілізації ліпідів насіння та різноманітні шляхи їх перетворення в процесі проростання.

Ключові слова: *насіння сої, сім'ядолі, паростки, загальні ліпіди, триацилгліцероли, фосфоліпіди, жирні кислоти, фітостерини, йодне число.*

LIPID DYNAMICS IN SOYA SEEDS AND SEEDLINGS DURING GERMINATING**E.F.Bezdudna**

The article presents the study of composition of general lipids, phospholipids, free fatty acids including unsaturated as well as triacylglycerols and phytosterins in seed-lobes on the first, third and fifth days of germinating. The same parameters were investigated in seedlings on the third and fifth day of germinating. The role of lipids in the plant seeds for development and further growth of the seedling is discussed. Special consideration is given to the mechanism of seed lipids mobilization and various methods of its transformation in the course of germination.

Key words: *soya seeds, soybean, soybean leaves, general lipids, phospholipids, fatty acids, triacylglycerols, phytosterins.*

Представлено В.І.Жуковим

Рекомендовано до друку Є.Е.Перським