

УДК 577.1

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ He-Ne-ЛАЗЕРА НА СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ ФОСФОЛИПИДОВ И СТЕРИНОВ В ТКАНЯХ КАЛЛУСОВ ПШЕНИЦЫ *Triticum aestivum* L.

© 2024 г. Л. В. Дударева^а, Е. Г. Рудиковская^{а, *}, Н. В. Семенова^а, А. В. Рудиковский^а,
В. Н. Шмаков^а

^а Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, 664033 Россия

*e-mail: rudal69@mail.ru

Поступила в редакцию 19.09.2023

После доработки 20.10.2023

Принята к печати 08.11.2023

Методами хроматомасс-спектрометрии и тонкослойной хроматографии изучено влияние облучения светом He-Ne-лазера на состав и содержание компонентов клеточных мембран в каллусных тканях пшеницы: фосфолипидов (ФЛ) и стеринов. Показано, что облучение каллусов светом лазера в дозе 3.6 Дж/см² приводило к значительным изменениям в содержании этих компонентов. Так, содержание фосфатидилинозита увеличилось в облученных каллусах в 8 раз, фосфатидилэтоноламина в 2 раза, содержание фосфатидной кислоты снизилось на 20% от суммы ФЛ. Для стеринов установлено, что наиболее существенные изменения облучение вызвало в содержании доминирующего в растениях β -ситостерина (увеличение с 1453 ± 170 мкг/г сухого веса в необлученном контроле до 2001 ± 111 мкг/г сухого веса через час после воздействия) и за счет этого в суммарном содержании стеринов. Анализ полученных результатов позволяет предположить, что ФЛ и стерины, в первую очередь те, для которых известны регуляторные и сигнальные функции, участвуют в реакции растительной ткани на воздействие низкоинтенсивным лазерным излучением He-Ne-лазера. Это участие реализуется как стрессовый (неспецифический) ответ на интенсивное излучение.

Ключевые слова: фосфолипиды, стерины, He-Ne-лазер, культура ткани, *Triticum aestivum* L.

DOI: 10.31857/S0233475524020064 , **EDN:** xppxnu

ВВЕДЕНИЕ

Свет является одним из важнейших факторов окружающей среды, определяющих рост, развитие и метаболизм растений как в целом растении, так и в культуре растительной ткани [1–7]. Наличие или отсутствие света, его количество и качество, а также периодичность освещения является одним из важнейших факторов, определяющих метаболизм культуры растительной ткани на всех стадиях ее развития. Поэтому изучение влияния такого источника света, как низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) на растения, интересно как с практической, так и с теоретической точек зрения. Важными направлениями таких исследований являются количественная оценка эффективности воздействия НИЛИ на процессы каллусогенеза, морфогенеза и последующей регенерации растения, а также изучение качественных и количественных биохимических изменений

в культивируемой ткани, вызванных облучением. В отличие от естественного (рассеянного) света и излучения светодиодных ламп, широко используемых в агрокультуре, свет лазера является когерентным, монохроматическим, поляризованным и узконаправленным. Хотя механизмы влияния НИЛИ на растения все еще остаются предметом дискуссии, оно достаточно широко используется (в настоящее время, наряду со светодиодными лампами) для стимуляции процессов роста и развития в растительной ткани *in vivo* и *in vitro*. При этом наличие положительного (при определенных условиях) действия НИЛИ на растения, в том числе на семена, считается доказанным [6–13]. Однако роль физических характеристик излучения, а также ключевые соединения, участвующие в реализации действия света лазера, по-прежнему изучены недостаточно. Литературные данные и результаты наших собственных исследований показывают, что воздействие низкоинтенсивного

лазерного излучения на растения и на культуру растительной ткани вызывает в ряде случаев реакцию, аналогичную стрессовой, особенно на ранней стадии ответа на облучение. Нами было продемонстрировано усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в облученных каллусах пшеницы [14], разнонаправленное влияние света He-Ne-лазера на активность двух гидролитических ферментов H^+ -АТФ-азы и пирогосфатазы [15], на содержание и структуру липидных компонентов в клетках каллусов пшеницы [16, 17], на состав и содержание фотопротекторных соединений в листьях *A. thaliana* [18]. Для более глубокого понимания путей действия НИЛИ He-Ne-лазера и подтверждения стрессовой природы ответа растительной ткани на облучение необходим анализ изменений в составе и содержании ключевых соединений, для которых показано участие в стрессовых реакциях растительного организма. Такие изменения происходят, среди прочего, в составе и содержании липидных соединений. Известно, что липиды — главные структурные компоненты мембран и участники многих сигнальных каскадов у растений [19]. Липиды мембран являются частью “интерфейса” взаимодействия между клеткой и внешней средой и служат субстратами для генерации множества сигнальных липидов: фосфатидной кислоты (ФК), фосфатидилинозитов, сфинголипидов, лизофосфолипидов, оксипинов, N-ацилэтаноламинов, свободных жирных кислот (ЖК) и некоторых других [19, 20]. Общеизвестно, что суть многих неспецифических реакций организма на воздействие стрессоров в значительной степени сводится к тем изменениям, которые обнаруживаются в мембранных структурах, в том числе в их липидной составляющей [19, 21–23]. По состоянию мембран (увеличение их проницаемости, повышение активности процессов перекисного окисления липидов, изменение индекса ненасыщенности ЖК, качественные и количественные изменения в составе липидов и их производных) можно, в определенной степени, диагностировать состояние растения, находящегося под давлением неблагоприятных факторов. Поэтому логично предположить, что комплексный анализ динамики изменения содержания мембранных липидов при действии света лазера может внести ясность в понимание механизмов его влияния и, возможно, дать новые доказательства стрессового характера реакции растений на облучение НИЛИ. Три основных типа мембранных липидов — это фосфолипиды (ФЛ), гликолипиды и стеринны [24, 25]. Биосинтез и метаболизм сигнальных молекул регулируются, среди прочего, внешними условиями и быстро активируются при абиотическом стрессе. ФЛ

занимают среди активных участников сигнальных сетей липидной природы особое место. Абиотические воздействия, такие как низкая или высокая температура, интенсивное освещение или дефицит воды, запускают фосфолипид-зависимую передачу сигналов, которые контролируют экспрессию генов кластеров и включают адаптационные процессы [26–30]. Другими словами, ФЛ являются важными участниками быстрого ответа растений на изменения условий среды [19, 31, 32]. Логично предположить, что и сильный свет, в частности НИЛИ, также активирует связанные с липидами сигнальные сети. Избыточное освещение индуцирует стресс в растительных тканях [26, 33–35]. Поэтому поглощение квантов света He-Ne-лазера при облучении может инициировать не только уже показанные ранее реакции растительной ткани (усиление ПОЛ, изменения в конформации мембранных белков и т.д.), но также и изменения в составе и содержании фосфолипидов.

Вторым важным классом мембранных липидов, задействованным во многих клеточных процессах и обеспечивающим стабильность мембран растительной клетки, являются стеринны [36, 37]. Так, например, стеринны играют важную роль в регуляции текучести мембраны и ее проницаемости, β -ситостерин и кампестерин являются наиболее эффективными соединениями для ограничения подвижности фосфолипидных жирных ацильных цепей. Кроме того, β -ситостерин и кампестерин, в отличие от стигмастерина, снижают проницаемость мембран [37]. Изменения в составе стериннов являются частью реакции растительных клеток на большинство воздействий внешней среды. Поэтому можно думать, что интенсивный свет НИЛИ He-Ne-лазера способен оказывать влияние на состав и содержание стериннов в тканях каллусов пшеницы. Поскольку гликолипидов, являющихся основными липидами фотосинтетических мембран [26], в тканях каллусов, культивируемых в темноте, содержится незначительное количество, то реакцию на облучение этого типа липидов в представляемой работе не рассматривали.

Итак, на основании литературных и собственных данных целевыми липидами для анализа влияния НИЛИ на липидный обмен в каллусной культуре ткани пшеницы *T. aestivum* были выбраны основные компоненты клеточных мембран — первой линии защиты клеток и от стрессирующих воздействий: фосфолипиды и стеринны. Каллусы пшеницы нами были использованы в качестве объекта исследования в комплексной работе по изучению влияния низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) He-Ne-лазера на растительные ткани. Представляемая работа

является частью этих исследований [6, 7, 12–15]. Мы предположили, что подробный анализ влияния НИЛИ He-Ne-лазера на состав и содержание этих, наиболее значимых в отношении реакции на различные стрессоры, липидных компонентов в тканях каллусов пшеницы может дать важную информацию об участии липидов в ответе растительных тканей в культуре *in vitro* на облучение лазерным светом. Проведенный анализ позволяет рассматривать изменения в составе и содержании липидов как один из возможных путей действия НИЛИ на растительные ткани в культуре *in vitro*. С практической точки зрения такая информация может быть полезной для оптимизации условий культивирования растений при выборе условий освещения (интенсивности, длины волны и периодичности), обеспечивающих получение растений с полезными признаками.

Поэтому целью настоящей работы был анализ влияния НИЛИ He-Ne-лазера в стимулирующей морфогенетические процессы дозе (3.6 Дж/см²) на состав и содержание фосфолипидов и стероидов в тканях каллусов пшеницы *T. aestivum*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экстракция липидов. Для экстракции липидов использовали модифицированный метод [38]. навеску растительного материала (0.2 г) фиксировали в жидком азоте, добавляли 0.001% ионола и растирали до получения гомогенной массы. Затем добавляли 10 мл смеси хлороформ: метанол (1:2 по объему), тщательно перемешивали и оставляли на 30 мин до полной диффузии липидов в растворитель. Раствор переносили количественно в делительную воронку через фильтр, трижды промывая ступку и фильтр той же смесью растворителей. Для лучшего расслаивания водной и органической фаз добавляли воду. Для анализа суммарных липидов и липидов отдельных групп отделяли нижнюю хлороформную фракцию. Хлороформ (ос.ч., стабилизированный 0.005% амилена) из липидного экстракта удаляли под вакуумом с помощью ротационного испарителя RVO-64 (Микротехна, Чехия). Для контроля экстрагируемости липидов использовали не содержащуюся в образце нонадекановую кислоту (C19:0), добавляя ее известное количество на этапе гомогенизации (выход оценивали в % от добавленного).

Фосфолипиды. Для обнаружения и идентификации ФЛ в растительном материале использовали специфические реагенты: для фосфорсодержащих компонентов молибденовый синий [39], для липидов, содержащих аминогруппу, — 0.2% раствор нингидрина в ацетоне [40], пластинки проявляли над

водяным паром кипящей водяной бани. ФЛ количественно определяли с помощью аналитической тонкослойной хроматографии по неорганическому фосфору методом Васьковского [39]. Для этого на ТСХ-пластинку (Sorbfil ПТСХ-АФ-В, Россия) наносили экстракт липидов. Для разделения липидов использовали двумерную систему: первое направление — хлороформ—метанол—28% NH₄OH—бензол (65:30:10:5), второе направление — хлороформ—метанол—ацетон—уксусная кислота—вода—бензол (70:30:5:4:1:10). После разделения смеси липидов, ФЛ обнаруживали обработкой 10% серной кислотой в этаноле с последующим нагреванием пластинки до проявления пятен. Силикагель из зон, содержащих разделенные ФЛ, переносили микрошпателем в жаростойкие пробирки, добавляли в каждую 0.05 мл 72% хлорной кислоты. Для холостых проб отбирали силикагель, взятый с чистого участка нижней части хроматограммы, площадью, равной средней величине площади хроматографической зоны. Сжигание проводили на песчаной бане при 180–200°C в течение 20 мин. После охлаждения в пробирки вносили по 0.45 мл рабочего реагента, для получения которого к 5.5 мл исходного молибдатного реагента добавляли 26 мл 1N серной кислоты и доводили объем до 100 мл дистиллированной водой. Исходный молибдатный реагент готовили следующим образом: к 10 г молибдата натрия добавляли 60 мл 4N HCl, 0.4 г гидразина солянокислого добавляли к 14 мл 4N HCl, два реактива соединяли и нагревали 20 мин на кипящей водяной бане, затем добавляли к холодному раствору 14 мл концентрированной серной кислоты и доводили объем до 100 мл дистиллированной водой (реактив хранился в посуде из темного стекла при комнатной температуре). Смесь в пробирке тщательно перемешивали с помощью шейкера. Пробирки помещали на кипящую водяную баню на 15 мин, охлаждали, силикагель удаляли центрифугированием (10 мин при 700 g). Количество фосфора в ФЛ определяли по калибровочной кривой, используя для ее построения аликвотные части стандартного раствора фосфата (Na₂HPO₄), содержащего от 0.1 до 0.5 мкг фосфора, путем измерения величины оптической плотности при 815 нм (спектрофотометр УФ-ВИД — Specord S100, Analytic Jena, Германия). Для перерасчета использовали коэффициенты, которые представляют собой отношение молекулярной массы каждого ФЛ к атомной массе фосфора. В данном исследовании использовали пересчет фосфора в ФЛ путем умножения на средний коэффициент 25. Результаты представлены в мг ФЛ / г сухого веса образца.

Выделение стериновых компонентов. Обнаружение и выделение стеринов осуществляли с помощью метода тонкослойной хроматографии (ТСХ). Фракцию, содержащую суммарные липиды, повторно растворяли в 200 мкл хлороформа и наносили тонкой полосой на высокоэффективную пластинку Sorbfil ПТСХ-АФ-В (Россия) (сорбент силикагель СТХ-1ВЭ, зернение 8–12 мкм, толщина слоя 80–100 мкм), операцию нанесения пробы повторяли дважды. Пластины помещали в хроматографическую камеру и осуществляли хроматографирование элюентом следующего состава: гексан–диэтиловый эфир–уксусная кислота (80:20:1 v/v/v). По окончании хроматографирования (когда элюент доходил до края пластины) пластину вынимали из камеры и высушивали. Для обнаружения стериновых компонентов край пластины (0.5 см) обрабатывали 10% раствором серной кислоты в этаноле, а затем нагревали до 110°C. Зоны обнаружения стериновых компонентов проявлялись на пластинке розово-голубыми пятнами. Рассчитанные значения R_f для свободных стеринов ($R_f = 0.19$) совпадали со значениями R_f для стандартных образцов (холестерин, стигмастерин, кампестерин (Sigma, США), β -ситостерин (European pharmacopoeia reference standard, Франция)) и с табличными значениями. После хроматографирования с высушенной необработанной пластины шпателем удаляли сорбент в зонах обнаружения стериновых компонентов. Сорбент с хроматографической пластины количественно переносили в центрифужные пробирки (10 мл) и добавляли в них по 1.5 мл хлороформа. Извлечение стериновых компонентов с адсорбента в среду хлороформа осуществляли с помощью облучения ультразвуком (с частотой 35 кГц и мощностью 80 Вт, 15 мин), используя ультразвуковую ванну (Bandelin Sonorex, Германия). Суспензию адсорбента в хлороформе центрифугировали (5 мин) при 3000 об/мин (центрифуга ЦЛК-1, Россия). После центрифугирования надосадочный раствор переносили в стеклянные флаконы (2 мл). Из полученных растворов упаривали (досуша) хлороформ в инертной атмосфере (в токе азота) во избежание окисления выделяемых субстанций. Для полноты выделения стериновых компонентов к сорбенту, оставшемуся в пробирке, добавляли 1.5 мл этилацетата и повторяли экстракцию с использованием ультразвукового воздействия дважды. К полученным стеринам в качестве внутреннего стандарта добавляли эргостерин (20 мкг) (Sigma, США) – соединение, не встречающееся в объектах исследования. Для получения необходимых для анализа методом ГХ–МС (газовой хроматографии–масс-спектрометрии) летучих производных стерина подвергали

модификации – силилированию путем обработки N, O-бис-(триметилсилил)трифторацетамидом с триметилхлорсиланом (200 мкл) (Fluka, США). Силилирование проводили в сушильном шкафу (Binder, Германия) в течение 30 мин при 70°C. Полученные триметилсилил – производные целевых компонентов анализировали с помощью метода ГХ–МС.

ГХ–МС-анализ стеринов. Анализ проводили с помощью хроматомасс-спектрометра Triple Quad, Agilent Technologies (США), в состав которого входят: 1) газовый хроматограф 7890А (колонка HP-5MS, 30 м × 250 мкм × 0.25 мкм со стационарной фазой метилполисилоксан) и 2) масс-селективный детектор 7000 QQQ с трехквadrupольным масс-анализатором (в режиме квадруполь). Температурная программа хроматографирования: при 70°C – изотерма 1 мин; далее программируемый нагрев до 280°C со скоростью 5°C/мин; при 280°C – изотерма 5 мин; далее программируемый нагрев до 300°C со скоростью 20°C/мин; при 300°C – изотерма 3 мин. Инжектор с делением потока 1:5. Температура инжектора 250°C; температура детектора 150°C; температура зоны сопряжения хроматографа с масс-спектрометром 280°C. Газ-носитель – гелий; скорость потока 1 мл/мин. Объем вводимой пробы 1 мкл. Хроматограмма образцов – по полному ионному току (SCAN). Условия масс-спектрометрического детектирования: энергия ионизирующих электронов 70 эВ; регистрация масс-спектров положительных ионов в диапазоне (m/z) от 50 до 600 а.е.м. со скоростью 1.9 скан/с. Программное обеспечение – MassHunter GC/MS Acquisition B.05.00.412 и Mass Hunter Workstation Software Qualitative Analysis Version B.03.01 Build 3.1.346.14 Service Pack 3 (Agilent Technologies, Inc., США).

Детектирование и количественный анализ стеринов. Идентификацию компонентного состава (качественный анализ) проводили в соответствии с базой данных полных масс-спектров (NIST08 и Wiley7), с учетом фрагментных диагностических пиков, присутствующих в масс-спектрах и характеризующих структурные особенности исследуемых соединений, а также в соответствии со значениями хроматографических времен удерживания (Retention Time, RT) стандартных образцов. В качестве стандартных образцов использовали холестерин, стигмастерин, кампестерин и β -ситостерин. Количественный анализ исследуемых компонентов проводили методом внешней калибровки с учетом отклика внутреннего стандарта по формуле:

$$C_{\text{СТЕРИНА}} = \frac{C_{\text{СТ}} \cdot S_{\text{СТЕРИНА}}}{a \cdot S_{\text{СТ}} + b \cdot S_{\text{СТЕРИНА}}},$$

где $C_{\text{СТЕРИНА}}$ — концентрация искомого стерина, $C_{\text{СТ}}$ — концентрация стандарта, $S_{\text{СТЕРИНА}}$ — площадь искомого стерина, $S_{\text{СТ}}$ — площадь стандарта, a и b — поправочные коэффициенты.

Статистическая обработка. В таблицах представлены средние данные из четырех-пяти биологических повторностей и их стандартные отклонения. В одну биологическую повторность входили 2–3 каллуса. Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с использованием пакета статистического анализа в среде Microsoft Office Excel 2010. Нормальность распределения полученных значений проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Статистическую значимость различий сравниваемых средних значений оценивали с помощью t -критерия ($p < 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из результатов, представленных в табл. 1, соотношение абсолютных и относительных (в %) содержаний основных липидных групп в тканях каллусов пшеницы *T. aestivum* L. характерно для нефотосинтезирующих тканей: гликолипидов, главных липидов фотосинтетического аппарата, содержится существенно меньше, чем нейтральных и фосфолипидов.

Влияние НИЛИ на содержание фосфолипидов в каллусах пшеницы

Среди ФЛ в тканях каллусов пшеницы были идентифицированы следующие типы: фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилинозит (ФИ), фосфатидилглицерин (ФГ), дифосфатидилглицерин (ДФГ), фосфатидная кислота (ФК). Как видно из рис. 1, содержание отдельных ФЛ в тканях облученных каллусов заметно отличалось от их содержания в тканях контрольных образцов.

Таблица 1. Абсолютное (мг/г сухого веса) и относительное (%) содержание основных липидных групп в тканях каллусов пшеницы *Triticum aestivum* L.

Тип липидов	Содержание	
	мг/г сухого веса	%
Нейтральные	22.8±1.1	52.6±2.8
Гликолипиды	2.7±0.1	6.2±0.2
Фосфолипиды	17.9±0.8	41.2±1.9

Примечание. В таблице приведены средние арифметические величины четырех биологических повторностей и их стандартные отклонения.

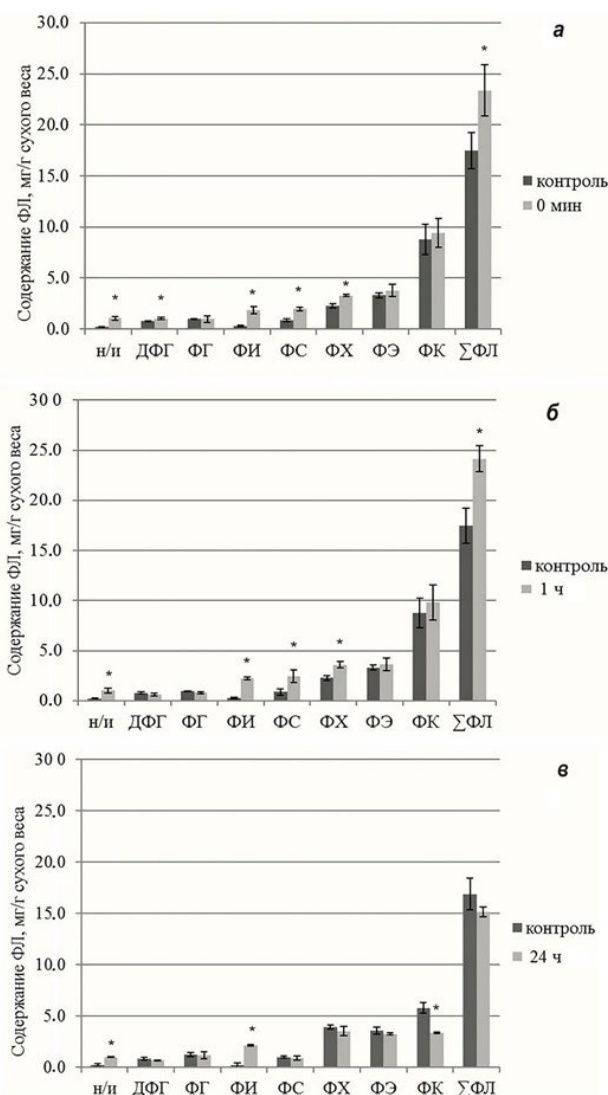


Рис. 1. Содержание фосфолипидов в тканях каллусов пшеницы (*T. aestivum*) сразу (а), через 1 (б) и 24 ч (в) после облучения НИЛИ He-Ne-лазера дозой 3.6 Дж/см². Приведены средние арифметические величины пяти биологических повторностей и их стандартные отклонения. Достоверность различий оценивали с помощью t -критерия ($p < 0.05$).

Анализ полученных результатов показал, что содержание ФИ в облученных каллусах значительно, в 8 и более раз, превышало содержание этого ФЛ в контрольных образцах на протяжении всего времени наблюдения. В ранней работе [41] было впервые показаны изменения в составе ФИ в ответ на гиперосмотический шок. К настоящему времени известно, что содержание этого липида и его активных изоформ быстро изменяется как в ответ на стрессирующие воздействия, так и в процессах эндогенного развития растения [19, 42]. Обнаруженное нами значительное увеличение его содержания в ответ на облучение НИЛИ He-Ne-лазера может служить одним из доказательств стрессирующего влияния этого излучения на ткани каллусов пшеницы. Таким образом, облучение вызвало значительное увеличение содержания одного из ключевых регуляторных соединений липидной природы, что свидетельствует о его участии в реакции растительной ткани на действие НИЛИ.

В отношении фосфатидной кислоты, одного из важных сигнальных липидов [17] и ключевого посредника в синтезе всех глико- и фосфолипидов [19, 30], следует отметить, что в нашем объекте она являлась мажорным фосфолипидом, так как ее содержание было самым высоким среди остальных ФЛ в тканях каллусов пшеницы на протяжении всего эксперимента. Оно составляло от 40 до 50% от суммарного содержания ФЛ в контроле и в облученных каллусах на начальных этапах наблюдения. Через сутки после облучения содержание ФК снизилось в контроле до 30%, и еще более значительное снижение наблюдали в опыте: до 20% от суммы ФЛ. Снизилось и абсолютное содержание ФК. В целом, ее высокое относительное содержание может быть связано как с видовой специфичностью, так и с фазой культивирования. Например, в каллусной культуре яблони *Malus sylvestris* содержание этого ФЛ составляло всего 8,4% от суммарного содержания фосфолипидов [43]. Однако в отличие от наших образцов, отобранных для анализа на 36-й день культивирования, это была долгоживущая культура — образцы были взяты для анализа на 130-й день. Достоверных различий между облученными и контрольными образцами по содержанию ФК выявлено не было, однако наблюдалась некоторая тенденция к увеличению ее содержания сразу после облучения и через 1 ч. Через сутки после воздействия содержание этого ФЛ было достоверно ниже в облученных каллусах. Возможно, что это связано с расходом ФК в процессе биосинтеза других ФЛ, в первую очередь ФИ, содержание которого в облученных каллусах значительно возросло после воздействия НИЛИ. Содержание

кардиолипина —ДФГ, одного из основных липидов внутренней мембраны митохондрий, достоверно увеличивалось сразу после облучения. В дальнейшем, через 1 и 24 ч после воздействия, содержание этого ФЛ снизилось и оставалось более низким, чем в контроле. Митохондрии называют “сигнальным хабом” внутри растительной клетки. Эти органеллы являются частью сложных метаболических путей, взаимосвязанных с другими клеточными компартментами [44]. Митохондрии считаются ключевой органеллой при формировании ответа растений на изменения условий внешней среды, они входят в первую линию защиты растения от стрессирующего воздействия. Поэтому обнаруженные нами изменения в содержании митохондриального фосфолипид ДФГ после облучения НИЛИ, по-видимому, свидетельствуют об участии митохондрий в реакции на это воздействие. На ранних (0 мин; 5 мин после облучения) этапах ответа каллусной ткани на действие света He-Ne-лазера заметно выросло содержание ФХ — одного из основных ФЛ в мембранах эукариот, а также содержание ФС, для которого показано активное участие в реакции растений на абиотические стрессоры, например, на солевой стресс [45].

Значительные изменения вызвало облучение НИЛИ и в суммарном содержании фосфолипидов в тканях каллусов пшеницы (табл. 2).

Этот показатель увеличился на 30% по сравнению с контролем после 5 мин воздействия светом лазера и оставался более высоким, чем в необлученных образцах, по крайней мере, в течение часа после облучения. Затем, через сутки после воздействия, суммарное содержание фосфолипидов в тканях облученных каллусов не отличалось от контрольных. Изменения в суммарном содержании ФЛ происходили в основном за счет значительного увеличения количества фосфатидилинозита, фосфатидилхолина и фосфатидилсерина. Соотношение содержания двух фосфолипидов ФХ/ФЭ используют в качестве параметра, отражающего особенности структуры мембран, связанные с их функциональностью. Так, для ламеллярных мембранных структур характерны более высокие значения соотношения ФХ/ФЭ, в то время как снижение этого показателя может указывать на формирование гексагональных структур в мембране. Снижение значения ФХ/ФЭ сопровождается дегидратацией, увеличение проницаемости мембран, приводящее к нарушению их целостности [44]. На первом этапе реакции каллусной ткани на облучение этот показатель достоверно увеличивался, что, возможно, свидетельствовало о снижении проницаемости мембран. По истечении

Таблица 2. Динамика изменений в суммарном содержании ФЛ и соотношении ФХ/ФЭ в тканях каллусов пшеницы после облучения НИЛИ He-Ne-лазера

	Контроль	0 мин	Контроль	1 ч	Контроль	24 ч
Σ ФЛ	17.5±1.0*	23.4±1.2*	17.9±0.9*	24.2±1.2*	15.2±1.4	16.9±1.3
ФХ/ФЭ	0.7±0.0*	0.9±0.0*	0.7±0.0*	1.0±0.0*	1.1±0.1	1.1±0.1

Примечание. В таблице приведены средние арифметические величины пяти биологических повторностей и их стандартные отклонения. Достоверность различий оценивали с помощью *t*-критерия ($p < 0.05$).

суток соотношение ФХ/ФЭ было одинаковым в опыте и контроле.

В целом, анализ полученных данных показал, что облучение каллусной культуры тканей пшеницы светом He-Ne-лазера в дозе, стимулирующей морфогенетические процессы, вызвало заметные изменения в количественном составе и соотношении содержаний фосфолипидов. В первую очередь, это касалось тех из них, которые активно участвуют в процессах адаптации растений к биотическим и абиотическим стрессорам. Известно, что липиды, в том числе фосфолипиды, не имеют специфических полос поглощения в видимой области спектра, где излучает гелий-неоновый лазер, поэтому логично предположить, что влияние НИЛИ такого лазера на состав и содержание липидов происходит сходным со стрессовой реакцией образом: известно, что при действии абиотических стрессоров в растительных тканях повышается активность процессов ПОЛ, увеличивается содержание “стрессовых” липидных компонентов: жирных кислот, некоторых стерина, ФИ, ФК, ДФГ [19, 31, 32]. Изменяется и работа ферментов биосинтеза липидов. Прямых свидетельств влияния НИЛИ на такие ферменты нет, но есть, например, сведения о действии облучения на ферменты антиоксидантной защиты, такие как аскорбатпероксидаза, пероксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза, ферменты глутатионового метаболизма [46]. Логично предположить, что и сильный свет, в частности, НИЛИ также активизирует связанные с липидами сигнальные сети. Как уже упоминалось выше, избыточное освещение индуцирует стресс в растительных тканях [33–35]. Поэтому поглощение квантов света He-Ne-лазера при облучении может инициировать не только уже показанные ранее реакции растительной ткани: усиление ПОЛ [14], изменения в составе и содержании жирных кислот [17], но также и изменения в составе и содержании липидных компонентов, что мы и наблюдали в наших экспериментах, по крайней мере, в отношении ФИ, ФК, ДФГ и ФХ на разных этапах ответа на облучение.

Влияние НИЛИ на содержание свободных стерина в каллусах пшеницы

Данные, представленные на рис. 2, показывают, что основными стеринами в тканях каллусов пшеницы были (по порядку увеличения содержания в необлученных образцах) холестерин, стигмастерин, кампестерин и β -ситостерин.

Такое распределение соответствует сведениям о содержании преобладающих мембранных стерина в тканях высших растений [34]. Содержание холестерина достоверно не изменялось сразу (0 мин) и в течение часа после облучения. Через 4 ч количество этого стерина увеличилось относительно точки 1 ч. Более существенные изменения под влиянием НИЛИ He-Ne-лазера были обнаружены в содержании кампестерина: оно значительно снизилось по сравнению с контролем и оставалось более низким на протяжении времени наблюдения. Количество стигмастерина, считающегося стрессовым стерина, не имело достоверных различий с необлученным контролем, демонстрируя тенденцию к снижению

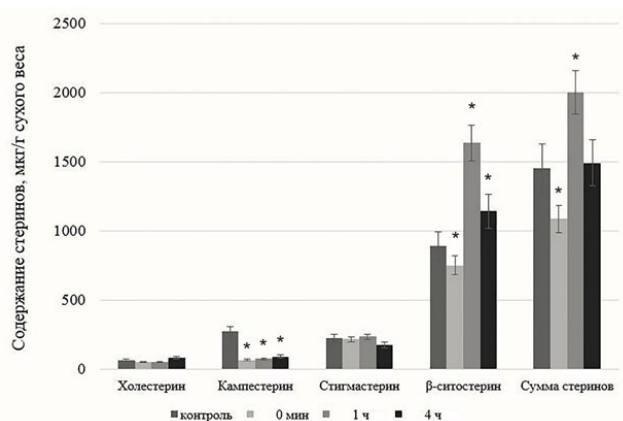


Рис. 2. Динамика изменений в содержании свободных стерина в тканях каллусов пшеницы (*T. aestivum*), вызванных облучением НИЛИ He-Ne лазера дозой 3.6 Дж/см². Приведены средние арифметические величины пяти биологических повторностей и их стандартные отклонения. Достоверность различий оценивали с помощью *t*-критерия ($p < 0.05$).

к концу эксперимента. Наиболее значимые изменения облучение вызвало в содержании доминирующего в растениях β -ситостерина. Сразу после воздействия оно снизилось на 25%, к исходу 1 ч наблюдения повысилось на 80% относительно необлученного контроля, а затем к концу эксперимента этот показатель снизился, но был все еще достоверно выше, чем в контрольных образцах. Такие колебания в содержании характерны для ответной реакции растительной ткани на стрессирующие воздействия. Вероятно, в данном случае после снижения содержания этого стерина на первом этапе реакции на облучение, последующее увеличение вызвано активацией его биосинтеза в процессе адаптации к воздействию интенсивного света лазера. Это, возможно, объясняется участием β -ситостерина в процессах стабилизации и восстановления мембран. В пользу этого предположения говорят некоторые литературные данные. Так, увеличение содержания β -ситостерина показано для процесса холодовой адаптации [47] и для раневого стресса [48]. За счет повышения содержания β -ситостерина с такой же временной динамикой повышается и общее содержание стерина в тканях облученных каллусов. Следует отметить большой разброс величин в результатах анализа стерина. Это обстоятельство позволяет говорить лишь о тенденциях в динамике изменений их содержания в реакции на НИЛИ He-Ne-лазера. О влиянии света на биосинтез стерина известно немного. Например, в работе [49] показано влияние интенсивности освещения и соотношения света и темноты на способность растений *Medicago sativa* к накоплению стерина: свет инициирует накопление мононенасыщенных Δ^7 -стерина, а темнота — диненасыщенных. Спектры поглощения стерина располагаются в ультрафиолетовом диапазоне, у них, как и у ФЛ, нет характерных полос поглощения в красной области спектра. Поэтому возможное влияние НИЛИ He-Ne-лазера на содержание этих соединений в каллусной ткани может быть связано, вероятно, только с относительно высокой интенсивностью этого излучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ полученных результатов показал, что облучение НИЛИ He-Ne-лазера в стимулирующей морфогенетические процессы дозе (3.6 Дж/см²) приводило к существенным изменениям в составе и содержании ФЛ в тканях каллусов пшеницы *T. aestivum*. Характерной реакцией на воздействие были изменения в содержании тех ФЛ, для которых доказаны регуляторные и сигнальные функции и активное участие в ответе растительных тканей

на стрессоры: ФИ, ФК, соотношения содержаний ФХ/ФЭ, ДФГ и ФГ. Наиболее существенные изменения в составе ФЛ каллусных тканей облучение вызвало в содержании ФИ, оно было выше в 8 и более раз по сравнению с необлученным контролем. ФИ и его производные — это важный класс сигнальных липидов, баланс состава и содержания которых быстро изменяется в ответ на стимуляцию внешними факторами. Они являются предшественниками многих вторичных мессенджеров, тем самым оказывая влияние на большинство ключевых клеточных процессов [28]. Другой важный сигнальный липид — фосфатидная кислота была основным фосфолипидом в каллусных тканях пшеницы (40–50% суммы ФЛ). Хотя известно, что ФК является активным участником стрессовых реакций у растений, однако достоверных различий между облученными и контрольными образцами по содержанию ФК выявлено не было, за исключением тенденции к увеличению ее количества на раннем этапе ответа на облучение. Мы полагаем, что ФК активно расходовалась в биосинтезе ФИ, содержание которого в облученных каллусах значительно возросло после воздействия НИЛИ. Заметно увеличивалось на раннем этапе ответа каллусной ткани на облучение и содержание ДФГ, основного ФЛ митохондрий, ключевых клеточных органелл при формировании ответа растений на изменения условий среды. Изменения в содержании стерина в тканях каллусов пшеницы под влиянием облучения происходили в основном за счет колебаний в содержании β -ситостерина, которое снижалось на первом этапе ответа на облучение, затем, к исходу первого часа после воздействия, по-видимому, на этапе адаптации тканей к стрессу, вызванному облучением, значительно увеличивалось. Известно, что стерин, обеспечивая структурную целостность мембран клеток и клеточных органелл, активно участвует в формировании стрессоустойчивости растительных организмов [36, 37]. У стерина нет характерных полос поглощения в красной области спектра. Поэтому влияние НИЛИ He-Ne-лазера на содержание этих соединений в каллусной ткани может быть связано с относительно высокой интенсивностью этого излучения. На справедливость этого предположения указывает характерный для стрессового ответа колебательный характер изменений в суммарном содержании стерина в облученных каллусах пшеницы.

Итак, по-видимому, интенсивный свет гелий-неонового лазера вызывает в тканях каллусов пшеницы реакцию, сходную со стрессовой. Полученные результаты дают основание полагать, что липидные компоненты мембран принимают

Таблица 3. Динамика изменений в содержании свободных стероидов в тканях каллусов пшеницы после облучения НИЛИ He-Ne-лазера (длина волны 632.8 нм, доза 3.6 Дж/см²)

Вариант опыта (время после облучения)	Содержание стероидов, мкг/г сухого веса				
	Холестерин	Кампестерин	Стигмастерин	β-ситостерин	Сумма стероидов
Контроль	65±7	273±71*	223±13	889±78*	1453±170*
0 мин	51±18	66±15*	217±49	752±11*	1087±131*
1 ч	53±2*	75±34*	236±16	1636±88*	2001±111*
4 ч	81±13*	92±23*	176±55	1142±93*	1492±173

Примечание. В таблице приведены средние арифметические величины пяти биологических повторностей и их стандартные отклонения. Достоверность различий оценивали с помощью *t*-критерия ($p < 0.05$).

участие в реакции растительной ткани на облучение. Эта реакция выражается в увеличении содержания таких фосфолипидов, как ФИ, ФХ, ФС, основного липида митохондрий ДФГ, снижении содержания ФК и повышении содержания ситостерина на этапе адаптации к воздействию облучения. В практическом отношении, полученные сведения о динамике изменения мембранных липидов в каллусной ткани *T. aestivum* в ответ на облучение НИЛИ He-Ne-лазера в стимулирующей процессы морфогенеза дозе могут дать возможность целенаправленно влиять на продукцию липидных компонентов в культуре растительных тканей, а также могут быть использованы при выборе оптимальных условий освещения для успешного культивирования растений.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП “Биоаналитика” Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Соответствие принципам этики. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kreslavski V.D., Carpentier R., Klimov V.V., Allakhverdiev S.I. 2009. Transduction mechanisms of photoreceptor signals in plant cells. *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* **10**, 63–80.
- Kreslavski V.D., Fomina I.R., Los D.A., Carpentier R., Kuznetsov V.V., Allakhverdiev S.I. 2012. Red and near infra-red signaling: Hypothesis and perspectives. *J. Photochem. Photobiol.* **13**, 190–203. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2012.01.002>
- Demotes-Mainard S., Péron T., Corot A., Bertheloot J., Gourrierc J.L., Pelleschi-Travier S., Crespel L., Morel P., Huché-Théliér L., Boumaza R., Vian A., Guérin V., Leduc N., Sakr S. 2016. Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture. *Environ. Exp. Bot.* **121**, 4–21. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.010>
- Huché-Théliér L., Crespel L., Gourrierc J.L., Morel P., Sakr S., Leduc N. 2016. Light signaling and plant responses to blue and UV radiations – Perspectives for applications in horticulture. *Environ. Exp. Bot.* **121**, 22–38. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.06.009>
- Cavallaro V., Pellegrino A., Muleo R., Forgione I. 2022. Light and plant growth regulators on in vitro proliferation. *Plants*. **11** (7), 844. <https://doi.org/10.3390/plants11070844>
- Салаяев Р.К., Дударева Л.В., Ланкевич С.В., Сумцова В.М. 2001. Влияние низкоинтенсивного когерентного излучения на морфогенетические процессы в каллусной культуре пшеницы. *ДАН.* **376**, 830–832.
- Салаяев Р.К., Дударева Л.В., Ланкевич С.В., Сумцова В.М. 2001. Влияние низкоинтенсивного когерентного излучения на каллусогенез у дикорастущих злаков. *ДАН.* **379**, 819–820.
- Hernández-Aguilar C., Dominguez P.A., Cruz O.A., Ivanov R., Carballo C.A., Zepeda B.R. 2010. Laser in agriculture. *Int. Agrophys.* **24**, 407–422.
- Gao L., Li Y-F., Z. Shen Z., Han R. 2018. Responses of He-Ne laser on agronomic traits and the crosstalk between UVR8 signaling and phytochrome B signaling pathway in *Arabidopsis thaliana* subjected to supplementary ultraviolet-B (UV-B) stress. *Protoplasma*. **255** (3), 761–771. <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1184-y>
- Klimek-Kopyra A., Czech T. 2022. Complementary photostimulation of seeds and plants as an effective tool for increasing crop productivity and quality in light of new challenges facing agriculture in the 21st century – A case study. *Plants*. **11**, 1649. <https://doi.org/10.3390/plants11131649>

11. Klimek-Kopyra A., Neugschwandtner R.W., Ślizowska A., Kot D., Dobrowolski J.W., Pilch Z., Dacewicz E. 2022. Pre-sowing laser light stimulation increases yield and protein and crude fat contents in soybean. *Agriculture*. **12**, 1510. <https://doi.org/10.3390/agriculture12101510>
12. Korrani M.F., Amooaghaie R., Ahadi A. 2023. He–Ne laser enhances seed germination and salt acclimation in *Salvia officinalis* seedlings in a manner dependent on phytochrome and H₂O₂. *Protoplasma*. **260**, 103–116. <https://doi.org/10.1007/s00709-022-01762-1>
13. Swathy P.S., Kiran K.R., Joshi M.B., Mahato K.K., Muthusamy A. 2021. He–Ne laser accelerates seed germination by modulating growth hormones and reprogramming metabolism in brinjal. *Sci. Rep.* **11**, 7948. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86984-8>
14. Салаяев Р.К., Дударева Л.В., Ланкевич С.В., Екимова Е.Г., Сумцова В.М. 2003. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на процессы перекисного окисления липидов в культуре ткани пшеницы. *Физиол. растений*. **50** (4), 498–500.
15. Озолина Н.В., Прадедова Е.В., Дударева Л.В., Салаяев Р.К. 1997. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на гидролитическую активность протонных насосов вакуолярной мембраны. *Биол. мембраны*. **14**, 125–127.
16. Салаяев Р.К., Дударева Л.В., Ланкевич С.В., Макаренко С.П., Сумцова В.М., Рудиковская Е.Г. 2007. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на химический состав и структуру липидов в культуре ткани пшеницы. *ДАН*. **412** (3), 422–423.
17. Дударева Л.В., Рудиковская Е.Г., Шмаков В.Н. 2014. Влияние низкоинтенсивного излучения гелий-неонового лазера на жирнокислотный состав каллусных тканей пшеницы (*Triticum aestivum* L.). *Биол. мембраны*. **31** (5), 364–370. <https://doi.org/10.7868/S0233475514050041&>
18. Dudareva L., Tarasenko V., Rudikovskaya E. 2020. Involvement of photoprotective compounds of a phenolic nature in the response of *Arabidopsis thaliana* leaf tissues to low-intensity laser radiation. *Photochem. Photobiol.* **96** (6), 1243–1250. <https://doi.org/10.1111/php.13289>
19. Hou Q., Ufer G., Bartels D. 2016. Lipid signalling in plant responses to abiotic stress. *Plant, Cell and Environ.* **39**, 1029–1048. <https://doi.org/10.1111/pce.12666>
20. Munnik T., Irvine R.F., Musgrave A. 1998. Phospholipid signalling in plants. *Biochim. Biophys. Acta*. **1389**, 222–272.
21. Los D.A., Mironov K.S., Allakhverdiev S.I. 2013. Regulatory role of membrane fluidity in gene expression and physiological functions. *Photosynth. Res.* **343**, 489–509. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9823-4>
22. Cassim A.M., Mongrand S. 2019. Lipids light up in plant membranes. *Nat. Plants*. **5**, 913–914. <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0494-9>
23. Жуков А.В. 2021. О качественном составе липидов мембран растительных клеток. *Физиол. растений*. **68** (2), 206–224. <https://doi.org/10.31857/S001533032101022X>
24. Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. 2002. *Biochemistry*. 5th edition. New York: W.H. Freeman. 1050 p. <https://doi.org/www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22361>
25. Reszczyńska E., Hanaka A. 2020. Lipids composition in plant membranes. *Cell Biochem. Biophys.* **78**, 401–414. <https://doi.org/10.1007/s12013-020-00947-w>
26. Klyachko-Gurvich G.L., Tsoglin L.N., Doucha J., Kopetskii J., Ryabykh I.B.S., Semenenko V.E. 1999. Desaturation of fatty acids as an adaptive response to shifts in light intensity. *Physiol. Plant.* **107**, 240–249. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1999.100212.x>
27. Ruelland E., Kravets V., Derevyanchuk M., Martinecc J., Zachowski A., Pokotylo I. 2015. Role of phospholipid signalling in plant environmental responses. *Envir. Exp. Bot.* **114**, 129–143. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.08.009>
28. Heilmann I. 2016. Plant phosphoinositide signaling – dynamics on demand. *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Biol. Lipids*. **1861** (9), 1345–1351. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2016.02.013>
29. Lim G.H., Singhal R., Kachroo A., Kachroo P. 2017. Fatty acid- and lipid-mediated signaling in plant defense. *Ann. Rev. Phytopathol.* **55**, 505–536. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516-035406>
30. Pokotylo I., Kravets V., Martinecc J., Ruelland E. 2018. The phosphatidic acid paradox: Too many actions for one molecule class? Lessons from plants. *Prog. Lipid Res.* **71**, 43–53. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.05.003>
31. Rogowska A., Szakiel A. 2020. The role of sterols in plant response to abiotic stress. *Phytochem. Rev.* **19**, 1525–1538. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09708>
32. Lu J., Xu Y., Wang J., Singer S.D., Chen G. 2020. The role of triacylglycerol in plant stress response. *Plants*. **9**, 472. <https://doi.org/10.3390/plants9040472>
33. Banerjee A., Roychoudhury A. 2016. Plant responses to light stress: Oxidative damages, photoprotection, and role of phytohormones. In: *Plant Hormones under Challenging Environmental Factors*. Eds. Ahammed G., Yu J.Q. Dordrecht: Springer, p. 181–213. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7758-2_8
34. Pascual J., Rahikainen M., Kangasjärvi S. 2017. Plant light stress. *eLS*. 1–6. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001319.pub3>
35. Roeber V.M., Bajaj I., Rohde M., Schmulling T., Corleaven A. 2021. Light acts as a stressor and influences abiotic and biotic stress responses in plants. *Plant Cell Environ.* **44** (3), 645–664. <https://doi.org/10.1111/pce.13948>
36. Schaller H. 2003. The role of sterols in plant growth and development. *Prog. Lipid Res.* **42** (3), 163–75. [https://doi.org/10.1016/s0163-7827\(02\)00047-4](https://doi.org/10.1016/s0163-7827(02)00047-4)

37. Валитова Ю.Н., Сулкарнаева А.Г., Минибаева Ф.В. 2016. Растительные стеролы: многообразие, биосинтез, физиологические функции. *Биохимия*. **81** (8), 1050–1068.
<https://doi.org/10.1134/S0006297916080046>
38. Bligh E.C., Dyer W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**, 911–917.
39. Vaskovsky V.E., Latyshev N.A. 1975. Modified Jungnickel's reagent for detecting phospholipids and other phosphorus compounds on thin-layer chromatograms. *J. Chromatog.* **115**, 246–249.
40. Kates M. 1986. *Techniques of lipidology: Isolation, analysis and identification of lipids*. 2 ed. Amsterdam-NY-Oxford: Elsevier. 464 p.
41. Einspahr K.J., Peeler T.C., Thompson G.A. Jr. 1988. Rapid changes in polyphosphoinositide metabolism associated with the response of *Dunaliella salina* to hyposmotic shock. *J. Biol. Chem.* **263**, 5775–5779.
42. Meijer H.J.G., Munnik T. 2003. Phospholipid-based signaling in plants. *Ann. Rev. Plant Biol.* **54**, 265–306.
<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.134748>
43. Prabha T.N., Raina P.L., Patwardhan M.V. 1988. Lipid profile of cultured cells of apple (*Malus sylvestris*) and apple tissue. *J. Biosci.* **13** (1), 33–38.
44. Welchen E., Canal M.V., Gras D.E., Gonzalez D.H. 2021. Cross-talk between mitochondrial function, growth, and stress signaling pathways in plants. *J. Exp. Bot.* **72** (11), 4102–4118.
<https://doi.org/10.1093/jxb/eraa608>
45. Yu Y., Kou M., Gao Z., Liu Y., Xuan Y., Liu Y., Tang Z., Cao Q., Li Z., Sun J. 2019. Involvement of phosphatidylserine and triacylglycerol in the response of sweet potato leaves to salt stress. *Front. Plant Sci.* **10**, 1086–1092.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01086>
46. Qiu Z., He Y., Zhang Y., Guo J., Wang L. 2018. Characterization of miRNAs and their target genes in He-Ne laser pretreated wheat seedlings exposed to drought stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **164**, 611–617.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.077>
47. Uemura M., Steponkus P.L. 1994. A contrast of the plasma membrane lipid composition of oat and rye leaves in relation to freezing tolerance. *Plant Physiol.* **104**, 479–496.
48. Гордон Л.Х. 1992. Дыхательный газообмен и содержание структурных липидов в процессе роста каллусных клеток. *Физиол. биохим. культ. растений*. **24**, 24–29.
49. Huang L.S., Grunwald C. 1988. Effect of light on sterol changes in *Medicago sativa*. *Plant Physiol.* **88** (4), 1403–1406.
<https://doi.org/10.1104/pp.88.4.1403>

Influence of Low-Intense Laser Radiation He-Ne Laser on the Composition and Content of Phospholipids and Sterols in the Tissue of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Callus Tissues

© 2024 г. L. V. Dudareva¹, E. G. Rudikovskaya¹, *, N. V. Semenova¹, A. V. Rudikovskii¹, V. N. Shmakov¹

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, 664032 Russia

*e-mail: rudal69@mail.ru

Using chromatography-mass spectrometry and thin-layer chromatography, the effect of irradiation with He-Ne laser light on the composition and content of cell membrane components – phospholipids and sterols – in wheat callus tissues was studied. It was shown that irradiation of callus with laser light at a dose of 3.6 J/cm² led to significant changes in the content of these components. Thus, the content of phosphatidylinositol increased in irradiated callus by 8 times, phosphatidylethanolamine by 2 times, the content of phosphatidic acid decreased by 20% of the sum of phospholipids. For sterols, it was established that irradiation caused the most significant changes in the content of β -sitosterol, which is dominant in plants (an increase from 1453 $\pm$ 170 μ g/g of dry weight in the non-irradiated control to 2001 $\pm$ 112 μ g/g of dry weight 1 h after exposure) and, due to this, in the total content of sterols. Analysis of the results obtained suggests that phospholipids and sterols, primarily those for which regulatory and signaling functions are known, are involved in the response of plant tissue to exposure to low-intensity laser radiation from a He-Ne laser. This participation is realized as a stressful (nonspecific) response to intense radiation.

Keywords: phospholipids, sterols, He-Ne laser, callus tissues, *Triticum aestivum* L.