

УДК 630.2:582.746.56:595.75:632.938

## АКУМУЛЯЦІЯ ВМІСТУ АДЕНОЗИН ФОСФАТІВ В ЛИСТКАХ СТІЙКИХ І НЕСТІЙКИХ ДО КАШТАНОВОЇ МІНУЮЧОЇ МОЛІ (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimic) РОСЛИН РОДУ *Aesculus* L.

Т.Л. Лук'яненко, молодший науковий співробітник

О.А. Бойко, кандидат біологічних наук

Т.В. Іванова, кандидат сільськогосподарських наук

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Визначено вміст аденозинфосфатів в листках стійких і нестійких до каштанової мінуючої молі рослин роду *Aesculus* L. Розроблено спосіб оцінки стійкості рослин до цієї комахи за величиною енергетичного заряду аденозинфосфатної системи.

**Вступ.** Однією з важливих проблем сучасного садово-паркового господарства України є масове ураження рослин роду *Aesculus* L. каштановою мінуючою мілью (КММ), що призводить до втрати декоративних властивостей та передчасної загибелі дерев.

Важливим є пізнання механізмів функціонування ключових ланок метаболізму в рослинах гіркокаштанів на різних системних рівнях їх організації. Нами уперше досліджено зміни рідкокристалічного стану і компартментацію сумарних полярних ліпідів мембран хлоропластів [1] та метаболізацію цукрів й фітогормонів в листках видів рослин роду *Aesculus* L. за стресової дії КММ [6]. Розроблено спосіб підвищення стійкості рослин роду *Aesculus* L. до КММ шляхом стимуляції синтезу специфічних імуноскладових si/miРНК полікомпонентним

регулятором росту природного походження "Регоплант" [4].

На сьогодні необхідним є вдосконалення наявних і пошук нових способів оцінки і підвищення стійкості рослин роду *Aesculus* L. до КММ.

Якщо аденозинфосфати в клітині містяться у формі АТФ, то система енергетично заповнена до межі і її енергетичний заряд (ЕЗ) дорівнює 1,0. Якщо вони знаходяться у вигляді АМФ, то система не містить високоенергетичних зв'язків і її ЕЗ становить 0,0. У випадку, коли АМФ, АДФ і АТФ виявляються у формі АДФ або в суміші АТФ й АМФ, то система заповнена високоенергетичними зв'язками лише наполовину і її ЕЗ дорівнює 0,5 [2].

Мета роботи — дослідити взаємозв'язок між рівнем енергозабезпечення і стійкістю рослин роду *Aesculus* L. до



КММ шляхом визначення сумарного рівня акумуляції багатих енергією сполук аденілату в листках стійких і нестійких до КММ рослин.

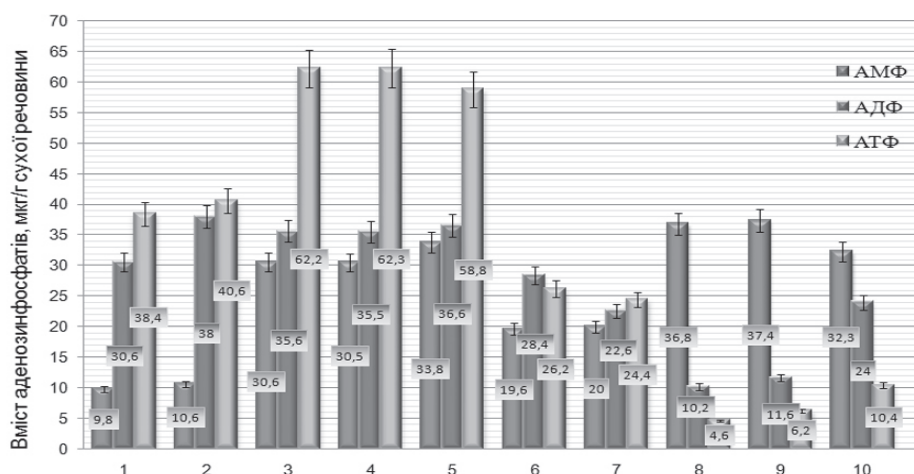
**Об'єкти і методи досліджень.** Об'єктами досліджень слугували рослини роду *Aesculus* L. — гіркокаштан гібридний жовто-рожевий (*Aesculus hybrida* D.C.); гіркокаштан гібридний м'ясочервоний (*Aesculus carnea* Hayne.); гіркокаштан червоний (*Aesculus pavia* L.); гіркокаштан дрібноквітковий (*Aesculus purviflora* Walt.); гіркокаштан восьмитичинковий (*Aesculus octandra* March.); гіркокаштан гладколистий (*Aesculus glabra* Willd.); гіркокаштан забутий (*Aesculus neglecta* Lindl.); гіркокаштан звичайний (*Aesculus hippocastanum* L.); гіркокаштан звичайний, форма Баумані (*Aesculus hippocastanum*, f. *baumanii* C.K. Schneid); гіркокаштан лісовий (*Aesculus silvatica* Bartz.). Для аналізу відбирали листки із нижнього, середнього і верхнього ярусів рослин у фазу повного цвітіння з екологічно чистої зони Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України. Дослідження проводили в 2011–2012 рр. на кафедрі фізіології, біохімії рослин та біоенергетики Національного університету біоресурсів і природокористування України.

Рослинний матеріал фіксували рідким азотом; повторність — 4-кратна. Екстракцію і очищення вільних аденозинфосфатів (АМФ, АДФ, АТФ) здійснювали за [3], а їх вміст в листках — за допомогою тонкошарової хроматографії. Метод ґрунтується на екстракції аденозинфосфатів з листків рослин і подальшому їх очищенні шляхом багаторазової хроматографії в некоригуючих системах розчинників. Ідентифікацію і кількісне детектування аденозинфосфатів проводили із тонкого шару сорбенту із застосуванням сканувального спектроденситометра "Camag TLC Scanner II" (Швейцарія), що до мінімуму зменшує їх втрати та розпад під час

аналізу [5]. ЕЗ аденозинфосфатної системи в листках рослин роду *Aesculus* L. розраховували за формулою  $(АТФ+1/2АДФ)/(АМФ+АДФ+АТФ)$  [2, 7]; його величина переважно стабільна, що є передумовою метаболічного гомеостазу [8]. Доведено, що ЕЗ може бути індикатором стресового стану організму, визначати можливості синтезу рослинами нових сполук, контролювати значну кількість елементів азотного і вуглецевого метаболізму, наприклад, через фітохромну систему [9, 10].

**Результати досліджень.** У серії експериментів проведено порівняльну оцінку вмісту АМФ, АДФ і АТФ й величин ЕЗ аденозинфосфатної системи в листках рослин роду *Aesculus* L. з метою визначення рівня їх стійкості до КММ (табл.).

В листках гіркокаштана звичайного, гіркокаштана звичайного форма Баумані і гіркокаштана лісового спостерігались найбільш високі концентрації АМФ й найменш низькі — АТФ та величини ЕЗ аденозинфосфатної системи, що засвідчує високий рівень витрачання запасних енергетичних ресурсів на процеси адаптації рослин до КММ. Зменшення значень величини ЕЗ аденозинфосфатної системи в листках рослин активує біосинтез аденозину із АМФ, антистресова дія якого спричинена блокадою входження йонів  $Ca^{2+}$  до клітин. Нами показано, що у листках нестійких до КММ рослин відбувається розбалансування енергетичних процесів і пригнічення генерування сумарного пулу енергії у вигляді АТФ, при гідролізі фосфатного зв'язку якої вивільнюється енергія, котра витрачається на функціонування адаптивних процесів (рис. 1). Із наведених даних видно, що аденозинфосфатна система в листках гіркокаштана звичайного, гіркокаштана звичайного форма Баумані й гіркокаштана лісового запов-


**Рис. 1. Акумуляція вмісту аденозинфосфатів в листках рослин роду *Aesculus L.*:**

1 - гірकोкаштан гібридний жовто-рожевий; 2 - гірकोкаштан гібридний м'ясочервоний; 3 - гірकोкаштан червоний; 4 - гірकोкаштан дрібноквітковий; 5 - гірकोкаштан восьми тичинковий; 6 - гірकोкаштан гладколистий; 7 - гіркокаштан забутий; 8 - гіркокаштан звичайний; 9 - гіркокаштан звичайний форма Баумані; 10 - гіркокаштан дикий

нена високоенергетичними фосфатними зв'язками менше половини і її ЕЗ дорівнює 0,14, 0,21 та 0,33, отже, вони нестійкі до КММ (див. табл.). Головним чинником низької стійкості даних видів гіркокаштана до КММ є швидкий розпад

АТФ до АДФ й АМФ, що спричиняє зменшення ЕЗ в листках рослин.

Ступінь акумуляції і утилізації енергії є тією базою, на якій формуються адаптивні механізми стійкості рослин роду *Aesculus L.* до КММ. Встановлено, що лис-

**Таблиця. Оцінка ступеня стійкості рослин роду *Aesculus L.* до каштанової мінуючої молі за величиною енергетичного заряду аденозинфосфатної системи**

Вид	АМФ	АДФ	АТФ	ЕЗ (відн. од.)	Ступінь стійкості до КММ
	M±m	M±m	M±m		
мкг/г сирої маси речовини					
1. Гіркокаштан гібридний жовто-рожевий	9,8±0,5	30,6±1,0	38,4±0,9	0,68	Стойкі
2. Гіркокаштан гібридний м'ясочервоний	10,6±0,9	38,0±1,4	40,6±0,8	0,67	
3. Гіркокаштан червоний	30,6±2,8	35,6±2,9	62,2±4,3	0,62	
4. Гіркокаштан дрібноквітковий	30,5±2,0	35,5±2,7	62,3±3,5	0,62	
5. Гіркокаштан восьми тичинковий	33,8±2,6	36,6±2,1	58,8±4,4	0,60	
6. Гіркокаштан гладколистий	19,6±1,3	28,4±1,6	26,2±1,4	0,54	
7. Гіркокаштан забутий	20,0±1,5	22,6±1,7	24,4±2,0	0,53	
8. Гіркокаштан звичайний	36,8±2,2	10,2±0,8	4,6±0,4	0,14	Нестійкі
9. Гіркокаштан звичайний форма Баумані	37,4±1,9	11,6±0,7	6,2±0,8	0,21	
10. Гіркокаштан лісовий	32,3±1,4	24,0±0,9	10,4±0,3	0,33	



тки рослин гіркогоаштанів гібридного жовто-рожевого, гібридного м'ясочервоного, червоного, дрібно-квіткового, восьмитичинкового, гладколистого й забутого відзначаються високим вмістом АДФ і, особливо, АТФ та величинами ЕЗ аденозинфосфатної системи (0,68, 0,67, 0,62, 0,62, 0,60, 0,54, 0,53), які є стійкими до ураження КММ в природних умовах (рис. 2). У даному випадку аденозинфосфатна система в листках наявних рослин заповнена високоенергетичними фосфатними зв'язками більше ніж наполовину, що означає значно меншу ступінь витрачання та високу швидкість генерування пулів енергії у вигляді АТФ під час первинних реакцій фотосинтезу.

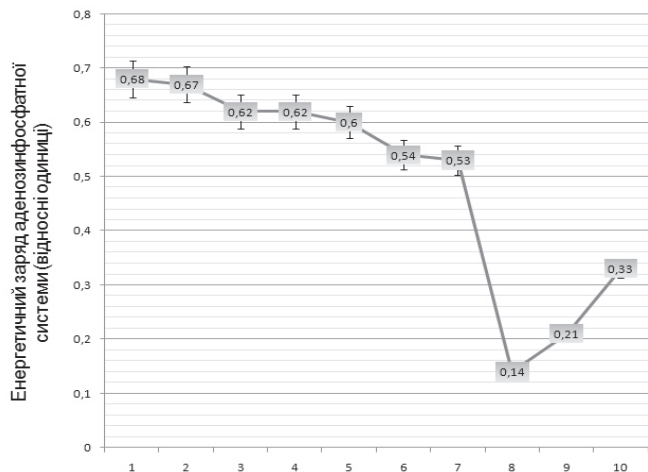
Встановлено також, що листки рослин гіркогоаштанів червоного, дрібноквіткового і восьмитичинкового відзначаються значно більшою сумарною кількістю АМФ, АДФ й АТФ та дещо меншою величиною ЕЗ, ніж гіркогоаштана гібридного жовто-рожевого та гіркогоаштана гібридного м'ясочервоного (див. рис. 1).

### Висновки

У листках стійких до КММ рослин роду *Aesculus* L. формується потужний біоенергетичний потенціал шляхом активнішого і тривалішого функціонування "стресових програм геному" та швидкості переходу на енергоекономний режим. Ефект формування вищих адаптивних

### Література

1. Демчук Т.Л., Григорюк І.П., Серга О.І. Структура і компартиментация полярних ліпідів мембран хлоропластів у здорових та уражених каштановою мінуючою мілью рослинах роду *Aesculus* L. // Збалансоване природокористування. — 2013. — № 1. — С. 83–90.
2. Ленинджер А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функции клетки. — М.: Мир, 1976. — 957 с.
3. Никулина Г.Н. Методы определения нуклеотидов в растениях. — Л.: Наука, 1989. — 88 с.
4. Підвищення імунізаційних властивостей видів рослин роду *Aesculus* L до каштанової мінуючої молі (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimi) за допомогою біостимулянта "Регоплант" / Циганкова В.А., Демчук Т.Л., Григорюк І.П. та ін. // Біоресурси і природокористування. — 2013. — 5, № 1–2. — С. 5–10.
5. Разделение и прямое определение свободных аденозинфосфатов в растениях методом тонкослойной хроматографии / Ткачев В.И., Савинский С.В., Серга О.И., Григорюк И.А. // Физиология и биохимия культ. растений. — 1999. — 31, №2. — С. 157–159.



**Рис. 2. Величини енергетичного заряду аденозинфосфатної системи в листках рослин роду *Aesculus* L:**

1 - гіркогоаштан гібридний жовто-рожевий; 2 - гіркогоаштан гібридний м'ясочервоний; 3 - гіркогоаштан червоний; 4 - гіркогоаштан дрібноквітковий; 5 - гіркогоаштан восьмитичинковий; 6 - гіркогоаштан гладколистий; 7 - гіркогоаштан забутий; 8 - гіркогоаштан звичайний; 9 - гіркогоаштан звичайний форма Баумані; 10 - гіркогоаштан дикий

властивостей обумовлений підсиленням процесів біосинтезу АДФ і АТФ, що підтверджується вірогідним збільшенням величини ЕЗ аденозинфосфатної системи.

Виявлено пускові механізми, які забезпечують у стійких до КММ видів рослин роду *Aesculus* L. ефективніший ніж у нестійких синтез АТФ й АДФ та акумуляцію достатньої кількості енергії для супротиву несприятливому впливу КММ.

6. Demchuk T.L., Hrygoryuk I.P. Metabolism of sugars and phytohormones in leaves of plant species of genus *Aesculus* L. during stressful influence of horse chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimi) // *Annals of Agrarian Science*. – 2013. – **11**, № 2. – P. 35–40.
7. Hoffmann P. Photosynthesis and biomass production in higher plants // *Photosynthesis solar energy conversion and storages: Proceed. 18 th Conf. SEV-Problem (Warszawa 1–18.02.1980)*. – Warszawa: Univ.Press, 1983. – P. 239.
8. Miginiac-Maslow M., Hoarou A. The adenine nucleotide levels and the adenylate energy charge values of different *Triticum* and *Aegilops* species // *Z. Pflanzenphysiol.* – 1979. – **93**, №5. – P. 387–394.
9. Quebedeaux B. Adenylate and nicotianamide nucleotides in developing soybean seeds during seed-till // *Plant Physiol.* – 1981. – **68**, №1. – P. 23–27.
10. Stitt M.R., Lilley Mc., Heldt H.W. Adenine nucleotide levels in the cytosol chloroplasts and mitochondria of wheat leaf protoplasts // *Plant Physiol.* – 1982. – **70**, №4. – P. 971–977.

**АННОТАЦІЯ**

Лук'яненко Т.Л., Бойко О.А., Іванова Т.Л. Аккумуляция содержания аденозинфосфатов в листьях устойчивых и неустойчивых к каштановой минирующей моли (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimic) растений рода *Aesculus* L. // *Биоресурсы и природопользование*. – 2014. – **6**, № 1–2. – С. 120–124.

Определено содержание аденозинфосфатов в листьях устойчивых и неустойчивых к каштановой минирующей моли растений рода *Aesculus* L. Разработан способ оценки устойчивости растений к этому насекомому по величине энергетического заряда аденозинфосфатной системы.

**SUMMARY**

T. Lukianenko, O. Boiko, T. Ivanova *Accumulation of adenosine phosphates in plant leaves Aesculus L. stable and unstable to chestnut leaf miner moth (Cameraria ohridella Deschka et Dimic) // Biological Resources and Nature Management*. – 2014. – **6**, № 1–2. – P. 120–124.

The level of adenosine monophosphates in the leaves stable and unstable to chestnut leaf miner mola of plants of the genus *Aesculus* L. has been determined. The method to asses the sustainability of plants to chestnut leaf miner mola by energy charge adenosinephosphate system has been developed.