УДК 582.746.56:632.935.2:547.963.3

ДИСКРЕТНІСТЬ ПОКАЗНИКІВ ВОДНОГО РЕЖИМУ І ВМІСТУ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ У ЛИСТКАХ ВИДІВ РОСЛИН РОДУ *AESCULUS* L. ЗА ДІЇ КАШТАНОВОЇ МІНУЮЧОЇ МОЛІ

О. С. ПЕНТЕЛЮК, *аспірант**
І. П. ГРИГОРЮК, *доктор біологічних наук, член-кореспондент НАН України*
Національний університет біоресурсів і природокористування України
E-mail: creadleofdeath@gmail.com

Механізми стійкості рослин до стресових чинників середовища є результатом комплексних змін функціонування метаболічних процесів на різних рівнях їх організації. Інтенсивність і спрямованість процесів росту й розвитку рослин залежить від показників водного режиму та вмісту нуклеїнових кислот (НК). Встановлено, що кількість дезоксирибонуклеїнової і рибонуклеїнової кислот (ДНК, РНК) коливається залежно від індивідуального розвитку рослин. Метою роботи було визначення показників денного водного дефіциту (ВД), кількості і співвідношення РНК до ДНК, як складових інтенсивності біосинтетичних процесів й стійкості видів рослин роду Aesculus L. проти каштанової мінуючої молі (КММ) (Cameraria ochridella Deschka et Dimič). Об'єктами досліджень слугували оптимально розвинуті і одновікові листки нижнього, середнього й верхнього ярусів рослин видів рослин роду Aesculus L. 20-30-річного віку, які зростають в зеленій зоні Київського мегаполіса і були відібрані в період масового пошкодження рослин КММ. Показано тісну кореляцію між показниками водного режиму, вмістом РНК і ДНК та ступенем стійкості видів рослин роду Aesculus L. проти КММ на організменному рівні. Якщо біохімічний показник відношення РНК до ДНК в листках у фазу зав'язування плодів становить 1,10-1,40, то види роду Aesculus L. відзначаються низькою інтенсивністю біосинтетичних процесів і стійкістю проти КММ, 4,29-4,56 – середньою та 8,89-10,0 – високою. Відношення РНК до ДНК рекомендовано використовувати як маркер або діагностичну ознаку біологічної стійкості видів рослин роду Aesculus L. проти КММ.

Вступ. Інтенсивність і спрямованість процесів росту й розвитку рослин залежить від показників водного режиму та вмісту нуклеїнових кислот (НК). Встановлено, що кількість дезоксирибонуклеїнової і рибонуклеїнової кислот (ДНК, РНК) коливається залежно від індивідуального розвитку рослин.

* Науковий керівник – член-кореспондент НАН України І.П. Григорюк

Зокрема, НК беруть участь в процесах біосинтезу ферментів, білків, молекулярній організації мітохондрій, хлоропластів, морфо- та онтогенезі рослин. Вони знаходяться переважно в нестійкому і стійкому зв'язках із компонентами цитоплазми, зокрема білками [5].

Найінтенсивніший біосинтез НК виявлено в зоні поділу й ембріонального росту клітин, які виконують функцію регуляторів активності ферментативних процесів у тканинах деревних видів рослин упродовж річного циклу розвитку. В основі функціонування регуляторних процесів лежить самореплікація ДНК, яка локалізована, переважно, в ядрі, і в закодованій формі містить генетичну інформацію щодо біосинтезу речовин та збору структурних компонентів у рослинній клітині. Доведено, що в ядерному геномі розміри, швидкість поділу і росту меристематичних клітин залежить від кількості ДНК.

Функціональна роль РНК в рибосомах полягає в утворенні клітинних структур, внутрішньоклітинному обміні метаболітів і передачі інформації від ядра до цитоплазми, де здійснює ендогенну регуляцію біосинтезу білка. Даний етап онтогенезу контролюється РНК-матрицею, на якому утворюються ферментні системи, які визначають морфологічні, анатомічні і фізіологічні особливості рослинного організму. Зрештою, РНК з її фосфатними зв'язками вважають «зарядженим акумулятором», яка одночасно витрачається і синтезується. Кількість активної форми РНК може збільшуватись внаслідок її вивільнення із клітинних компартментів шляхом розриву міцних зв'язків із білками.

Нині, одним із наукових напрямів фізіології і екології рослин є розробка високоінформативних методів діагностики, оцінки й механізмів стійкості деревних видів рослин проти абіо- та біотичних стресових чинників середовища [2].

Метою роботи було визначення показників денного водного дефіциту (ВД), кількості і співвідношення РНК до ДНК, яке може характеризувати ступінь інтенсивності біосинтетичних процесів й стійкості видів рослин роду *Aesculus* L. проти каштанової мінуючої молі (КММ) (*Cameraria ochridella* Deschka et Dimič).

Об'єкти і методи досліджень. Об'єктами досліджень слугували види рослин роду *Aesculus* L. 20-30-річного віку, які зростають в зеленій зоні Київського мегаполіса, а саме: гіркокаштан звичайний (*A. hippocastanum* L.), гіркокаштан звичайний, форма Баумані (*A. hippocastanum* var. *beaumanii* C.K.Schneid.), гіркокаштан лісовий або дикий (*A. sylvatica* W. Bartram), гіркокаштан восьмитичинковий або жовтий (*A. flava* Soland. ex Hope), гіркокаштан гладколистий або голий (*A. glabra* Willd.), гіркокаштан забутий (*A. neglecta* Lindl.), гіркокаштан дрібноквітковий (*A. parviflora* Walt.), гіркокаштан червоний або павія (*A. pavia* L.), гіркокаштан м'ясочервоний або кривавo-м'ясний (*A. carnea* Hayne) та гіркокаштан гібридний (*A. hybrida* DC.).

Ґрунти м. Києва належать переважно до урбоземів – помірно небезпечних, із різним складом, властивостями і вмістом забруднюючих елементів живлення. Водночас ґрунти вуличних, паркових і приміських зон відрізняються допустимим рівнем забруднення й несприятливим водним режимом, вміст гумусу в яких коливається в межах від 2,5 до 3,3 %, доступних форм азоту – 6,8-7,2, фосфору – 12,4-13,6, калію – 9,3-10,8 мг/100 г, pH=5,6-6,2, запаси вологи в метровому шарі – 30,2-48,6 %.

Для експериментів відбирали оптимально розвинуті і одновікові листки з нижнього, середнього й верхнього ярусів рослин в період масового пошкодження рослин КММ (фаза зав'язування плодів, 20.07.2016).

У листках видів рослин роду *Aesculus* L. визначали загальну кількість води [6] і денний водний дефіцит (ВД) [1].

Вміст РНК і ДНК у листках видів рослин роду *Aesculus* L. встановлювали за методом Шмідта-Тангаузера [4], в основу якого покладено здатність РНК гідролізуватись теплим 0,5 н КОН, а ДНК – 0,5 н $HClO_4$ за температури 90 °С.

Кількісне розділення НК здійснювали центрифугуванням упродовж 10 хв за 8000 об/хв. В одержаних супернатантах вимірювали вміст НК за допомогою СФ-26, а також модифікованого методу з використанням фенолу хлористого літію [7]. Повторність дослідів – чотириразова. Статистичне обрахування експериментальних результатів здійснювали шляхом використання пакету аналізу даних комп'ютерних програм Microsoft Office Excel 2007 та Statistica 10.0.

Результати досліджень. У проведених нами експериментах встановлено достовірні відміни у показниках водного режиму, умісті і відношенні РНК до ДНК у листках видів рослин роду *Aesculus* L. з різним рівнем стійкості проти КММ (табл. 1).

Показано, що кількість загальної води у листках рослин різних генотипів гіркокаштана о 14-15 год дня, коли температура повітря становила упродовж 4 год 30-33 °С і відносна вологість повітря 50-60 %, коливалась в діапазоні від 55,3 до 77,5 % до сирої речовини маси. За даних умов найбільшим відсотком води відзначались листки видів рослин гіркокаштана забутого, гіркокаштана гладколистого або

1. Модуляція показників водного режиму і вмісту нуклеїнових кислот в листках видів рослин роду *Aesculus* L. за дії високої температури. Фаза масового квітування рослин (M±m).

Вид	Уміст води в листках, %	Денний водний дефіцит листків, %	РНК	ДНК	РНК/ДНК	Ступінь стійкості рослин проти КММ
			мг фосфору на 1 г сирої речовини маси		Відносні одиниці	
Гіркокаштан звичайний	61,4±0,6	20,4±1,2	0,84±0,07	0,76±0,24	1,10	Нестійкий
Г.звичайний, ф. Баумані	56,2±0,4	18,8±1,4	0,82±0,08	0,70±0,26	1,17	Нестійкий
Г. лісовий	55,3±0,7	17,2±0,9	0,98±0,06	0,70±0,23	1,40	Нестійкий
Г. м'ясочервоний	60,2±1,1	10,6±0,8	1,05±0,15	0,23±0,04	4,56	Стійкий
Г. китайський	62,1±0,9	11,2±0,7	1,30±0,24	0,30±0,07	4,33	Стійкий
Г. червоний	64,7±0,3	11,8±0,6	0,90±0,12	0,21±0,03	4,29	Стійкий
Г. дрібноквітковий	68,4±1,2	9,6±0,5	1,60±0,33	0,20±0,02	8,00	Стійкий
Г. восьмитичинковий	74,0±0,8	8,8±0,7	1,60±0,42	0,18±0,01	8,89	Стійкий
Г. гладколистий	75,1±0,6	8,0±0,4	0,98±0,09	0,10±0,04	9,98	Стійкий
Г. забутий	77,5±0,9	7,3±0,3	1,00±0,03	0,10±0,01	10,0	Стійкий

голого і гіркокаштана восьмитичинкового або жовтого, що зумовлено формуванням високих адаптивних властивостей до повітряної посухи й швидким відновленням процесів водообміну у нічний час, найменшим – гіркокаштана лісового або дикого, гіркокаштана звичайного й гіркокаштана звичайного, форма Баумані. Нижчий ступінь обводнення тканин деяких видів гіркокаштана спричинена швидким випаровуванням пулів вільної форми води і широким відкриттям продихів на адаксіальному боці листків (рис. 1) у спекотні години дня, що супроводжувалось гальмуванням надходження води з кореневої системи в надземну частину. У даному випадку рівень розкриття продихів залежав від обводнення клітинних і тканинних структур листків видів гіркокаштана різних екотипів.

У польових умовах нами прослідковано кількісні зміни величин ВД в листках рослин роду *Aesculus* L., первинними реакціями яких на високотемпературний стрес є їхнє зів'янення, скручування і пожовтіння. Зокрема, найвищими значеннями показників денного ВД відзначались листки рослин гіркокаштана лісового або дикого, гіркокаштана звичайного і гіркокаштана звичайного, форма Баумані, що не стійкі проти КММ й високої температури повітря. Суттєво меншими вони були в листках гіркокаштана забутого, гіркокаштана гладколистого або голого, гіркокаштана восьмитичинкового або жовтого і гіркокаштана дрібноквіткового з високою стійкістю проти КММ.

Одним із регуляторних чинників формування низького ступеня стійкості наявних видів гіркокаштана проти пошкоджувальної дії КММ є швидкий розпад АТФ до АДФ і АМФ та низькі значення величин енергетичного заряду аденілатної системи в листках рослин [3]. Необхідно зазначити, що деяке зменшення величини ВД відбувалось також в листках гіркокаштана м'ясо-червоного або кривавo-м'ясного, гіркокаштана китайського і гіркокаштана червого або павії, які відзначались високою екологічною пластичністю й не пошкоджувались КММ.

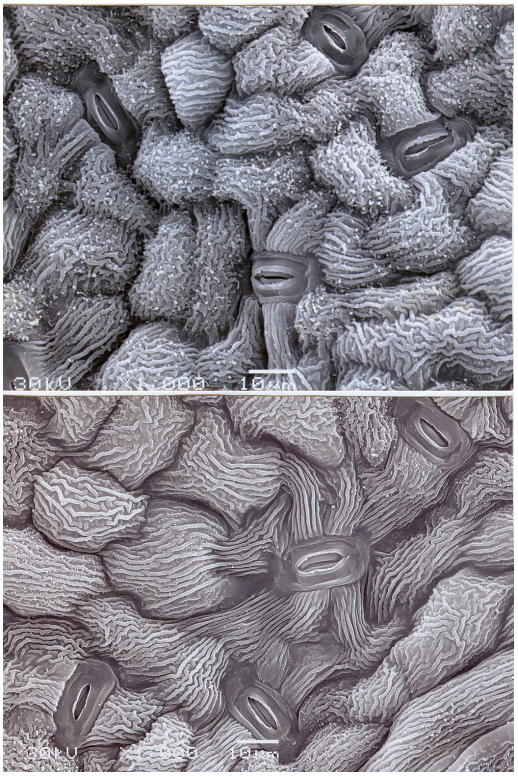

Рис. 1. Структурно–функціональний стан продихів на адаксіальному боці листків гіркокаштана звичайного (вгорі) і і гіркокаштана лісового або дикого (внизу) за дії каштанової мінуючої молі. Фаза зав'язування плодів.

Аналіз отриманих нами даних свідчить, що листки видів рослин гіркокаштана, які стійкі проти КММ, мають найвищі величини денного ВД порівняно з пошкодженими. Зростання рівня ВД до максимальних значень зумовлено порушенням процесів надходження, транспорту й утилізації пулів води, поживних речовин, акумуляції квантів світлової енергії в мітохондріях та гальмування функціонування систем життєдіяльності рослин [3].

За даних умов у листках видів рослин роду *Aesculus* L. невеликі ділянки геному можуть ампліфікуватись, зазнавати мутацій, делецій, перегрупування і переміщуватись у нові місця на хромосомах.

Стійкі проти КММ види рослин гіркокаштана мають розвинутішу провідну систему і потужніші сховища внутрішньоклітинної води й мінеральних речовин, ніж нестійкі, що спричиняє зростання інтенсивності метаболічних процесів на організменному рівні. Нами з'ясовано, що у листках видів рослин гіркокаштана, які пошкоджуються КММ, простежується різний ступінь акумуляції кількості РНК. Так, найбільший її рівень виявлено в листках рослин гіркокаштана дрібноквіткового, гіркокаштана восьмитичинкового або жовтого і гіркокаштана китайського, які не пошкоджуються КММ й відзначаються низькими величинами ВД. В листках видів рослин гіркокаштана забутого, гіркокаштана гладколистого або голого, гіркокаштана восьмитичинкового або жовтого і гіркокаштана дрібноквіткового, які також стійкі проти КММ, визначено найменшу кількість ДНК.

Показано, що відношення РНК до ДНК в листках видів роду *Aesculus* L. коливається в діапазоні від 1,10 до 10,0 залежно від видових особливостей та ступеня пошкодження рослин КММ. Найменшою акумуляцією вмісту ДНК відзначались листки видів рослин гіркокаштана забутого, гіркокаштана гладколистого або голого, гіркокаштана восьмитичинкового або жовтого і гіркокаштана дрібноквіткового, потім гіркокаштана м'ясо-червоного або криваво-м'ясного, гіркокаштана китайського й гіркокаштана червоного або павії порівняно з РНК. В аналогічних екологічних умовах зростання у листках рослин гіркокаштана лісового або дикого, гіркокаштана звичайного і гіркокаштана звичайного, форма Баумані, які пошкоджуються КММ, відбувалось максимальне нагромадження кількості ДНК.

Висновки

Встановлено тісну кореляцію між показниками водного режиму, вмістом РНК і ДНК та ступенем стійкості видів рослин роду *Aesculus* L. проти КММ на організменному рівні. Якщо біохімічний показник відношення РНК до ДНК у листках у фазу зав'язування плодів становить 1,10-1,40, то види роду *Aesculus* L. відзначаються низькою інтенсивністю біосинтетичних процесів і стійкістю проти КММ, 4,29-4,56 – середньою та 8,89-10,0 – високою. Відношення РНК до ДНК рекомендовано використовувати як маркер або діагностичну ознаку біологічної стійкості видів рослин роду *Aesculus* L. проти КММ.

Література

1. Григорюк, И. А. Современные методы исследования и оценки засухо- и жароустойчивости растений / И. А. Григорюк, В. И. Ткачев, С. В. Савинский, Н. Н. Мусиенко. – К.: Наук. світ, 2003. – 139 с.
2. Григорюк, І. П. Біологія каштанів / І. П. Григорюк, С. П. Машковська, П. П. Яворовський, О. В. Колесніченко – К.: Логос, 2004. – 380 с.
3. Григорюк, І. П. Фізіологічні і молекулярні основи стійкості видів рослин роду Aesculus L. проти каштанової мінуючої молі / І. П. Григорюк, Т. Л. Лук'яненко – К.: ЦП «Компринт», 2015. – 174 с.
4. Дэвидсон, Дж. Биохимия нуклеиновых кислот / Дж. Дэвидсон. – М.: Мир, 1976. – 371 с.
5. Конарев, В. Г. Методы определения состояния рибонуклеиновых кислот в клетке: 2-я научная конференция по нуклеиновым кислотам у растений 23-25 октября 1962 г. / В. Г. Конарев, Р. Р. Ахметов, Т. Н. Елеакова, И. Ф. Чекман // Биология нуклеинового обмена у растений.– М.: Наука, 1964. – С. 145-151.
6. Методы биохимического исследования растений. Изд. 2-е, перераб. и доп. / Под ред. д-ра биол. наук А.И. Ермакова. – Л.: «Колос», Ленинградское отд-ние, 1972. – 456 с.
7. Raha, S. Stimultaneus isolation of total cellular RNA and DNA from tissue culture cells using phenol and lithium chloride / S. Raha, F. Merante, Y. Proteau, L. Reed // Genetic Analysis. – 1990. – Vol. 7, №7. – P. 173-177.

References

1. Grigoryuk, I.A., Tkachev, V.I., Savinskiy, S.V., Musienko, N.N. (2003). Sovremennye metody issledovaniya i otsenki zasukho- i zharoustoychivosti rasteniy [Modern methods of investigation and assessment of drought and heat resistance of plants]. Kyiv, Naukovyy svit, 139.
2. Hryhoriuk, I. P., Mashkovska, S. P., Yavorovskyi, P. P., Kolesnichenko, O.V. (2004). Biolohiia kashtaniv [Chestnut`s biology]. Kyiv, Lohos, 380.
3. Hryhoriuk, I.P., Luk'ianenko, T.L. (2015). Fiziolohichni i molekuliarni osnovy stiikosti vydiv roslyn rodu Aesculus L. proty kashtanovoi minuiuchoi moli [The physiological and molecular basis of plant resistance genus Aesculus L. against horse-chestnut miner moth]. Kyiv, Komprynt, 174.
4. Djevidson, Dzh. (1976). Biohimija nukleinovyh kislot [The biochemistry of nucleic acids]. Moscow, Russia: Mir, 371.
5. Konarev, V. G., Ahmetov, R. R., Eleakova, T. N., Chekman, I. F. (1964). Metody opredelenija sostojanija ribonukleinovyh kislot v kletke [Methods of determining the state of ribonucleic acids in the cell]. 2-ja nauchnaja konferencija po nukleinovym kislotam u rastenij. [2nd Scientific Conference on nucleic acids in plants]. Moskow, Russia: Nauka, 145-151.
6. Ermakov, A. I. ed. (1972). Metody biohimicheskogo issledovanija rastenij [Methods of Biochemical Plant Research]. Lviv: Kolos, 456.
7. Raha, S., Merante, F., Proteau, Y., Reed, L.K. (1990). Stimultaneus isolation of total cellular RNA and DNA from tissue culture cells using phenol and lithium chloride. Genetic Analysis, 7 (7), 173-177.

SUMMARY

O. S. Penteliuk, I. P. Grigoryuk. *Readability indicators of water regime and content of nucleic acids in leaves of plant genus Aesculus L. action by horse-chestnut miner moth// Biological Resources and Nature Managment.– 2016. – **8**, №5–6. – P.5–10.*

Mechanisms of plant resistance to stressful environmental factors are the result of complex changes in the metabolic processes functionating at various levels of their organization. The intensity and trend of growth and development of plants depends on the parameters of the water regime and the content of nucleic acids (NA). It is established that the number of deoxyribonucleic and ribonucleic acids (DNA, RNA) varies depending on the individual development of plants. The aim of work was to determine the parameters of daily water deficiency (WD), the number and ratio of RNA to DNA, as components of biosynthetic processes intensity and stability of plant genus Aesculus L. against horse-chestnut miner moth (HCMM) (Cameraria ochridella Deschka et Dimič). The objects of research is served optimally developed and coeval leaves of the lower, middle and upper tiers of plant species genus Aesculus L. 20-30-years of age, who are growing in the green zone of Kiev's megapolis were selected during the massive damage to plants HCMM. The close correlation was shown between indicators of water regime, RNA and DNA content and degree of stability of plant genus Aesculus L. against HCMM in organismal level. If the biochemical ratio of RNA to DNA in the leaves in the fruit phase is 1,10-1,40, the species of the genus Aesculus L. characterized by low intensity biosynthetic processes and resistance to HCMM, 4,29-4,56 - secondary and 8,89-10,0 - high. The ratio of RNA to DNA was recommended as diagnostic marker or as indication of biological stability of species to genus Aesculus L. HCMM.

АННОТАЦИЯ

Е. С. Пентелюк, И. А. Григорюк. *Дискретность показателей водного режима и содержания нуклеиновых кислот в листьях видов растений рода Aesculus L. под влиянием каштановой минирующей моли//Биоресурсы и природопользование. – 2016. – **8**, №5–6. – С.5–10.*

Механизмы устойчивости растений к стрессовым факторам среды являются результатом комплексных изменений функционирования метаболических процессов на различных уровнях их организации. Интенсивность и направленность процессов роста и развития растений зависит от показателей водного режима и содержания нуклеиновых кислот (НК). Установлено, что количество дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой кислот (ДНК, РНК) колеблется в зависимости от индивидуального развития растений. Целью работы было определение показателей дневного водного дефицита (ВД), количества и соотношения РНК к ДНК, как составляющих интенсивности биосинтетических процессов и устойчивости видов растений рода Aesculus L. против каштановой минирующей моли (КММ) (Cameraria ochridella Deschka et Dimič). Объектами исследований служили оптимально развитые и одновозрастные листья нижнего, среднего и верхнего ярусов растений видов растений рода Aesculus L. 20-30-летнего возраста, которые растут в зеленой зоне Киевского мегаполиса, и были отобраны в период массового повреждения растений КММ. Показано тесную корреляцию между показателями водного режима, содержанием РНК и ДНК и степенью устойчивости видов растений рода Aesculus L. против КММ на организменном уровне. Если биохимический показатель отношения РНК к ДНК в листьях в фазу завязывания плодов составляет 1,10-1,40, то виды рода Aesculus L. отмечаются низкой интенсивностью биосинтетических процессов и устойчивостью против КММ, 4,29-4,56 - средней и 8,89-10,0 - высокой.