

УДК 582.746.56 : 577.352.333 : 595.782

## СТРУКТУРА І КОМПАРТМЕНТАЦІЯ ПОЛЯРНИХ ЛІПІДІВ МЕМБРАН ХЛОРОПЛАСТІВ У ЗДОРОВИХ ТА УРАЖЕНИХ КАШТАНОВОЮ МІНУЮЧОЮ МІЛЛЮ РОСЛИНАХ РОДУ *AESCULUS L.*

**Т.Л. Демчук**

*молодший науковий співробітник*

**І.П. Григорюк**

*член-кореспондент НАН України, доктор біологічних наук, професор професор кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики*

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

**О.І. Серга**

*кандидат біологічних наук, науковий співробітник*

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

Наведено результати досліджень гетерогенності структури і компартментації основних груп полярних ліпідів мембран хлоропластів у здорових і уражених каштановою мінуючою міллю листках видів рослин роду *Aesculus L.* Визначено зміни вмісту полярних ліпідів і ненасичених жирних кислот у мембранах хлоропластів рослин гіркокаштана звичайного, гіркокаштана звичайного форми Баумані та гіркокаштана червоного або павія, який не уражується каштановою мінуючою міллю. Рідкокристалічний стан полярних ліпідів мембран хлоропластів рекомендовано використовувати як молекулярно-біологічну тест-систему для оцінки ступеня ураження і стійкості видів і гібридів рослин роду *Aesculus L.* до каштанової мінуючої молі.

**Ключові слова:** *гіркокаштан звичайний, структура полярних ліпідів, мембрани хлоропластів, ненасичені жирні кислоти, каштанова мінуюча міль.*

Одним із найагресивніших карантинних шкідників, що уражує влітку листки гіркокаштана звичайного різного віку й стиглості в Україні, а також Європейському Союзу, є каштанова мінуюча міль (КММ) (*Cameraria ochridella* Deschka et Dimié) – вид метеликів довжиною 2,5–3,5 мм, який відноситься до ряду дускокрилих (Lepidoptera) та родини молей строкаток (Gracillariidae) [4, 11]. Для цього адвентивного і інвазійно чужорідного виду характерна наявність достатніх кормових ресурсів, 3–4 генерації за сезон, відсутність природних ворогів і висока швидкість розселення ареалу, що спричиняє масове інфекційне усихання листків та передчасну загибель значної кількості молодих рослин гіркокаштана звичайного в природних умовах зростання. Високий ступінь розмноження шкідника зафіксовано в Степу і Лісостепу України за умов недостатнього й критичного водозабезпечення. У результаті щорічного інтенсивного ураження дерев гіркокашта-

на звичайного КММ відбувається повторне утворення молодих і переважно невеликих за розміром листків із сплячих бруньок і цвітіння рослин у середині літа або на початку осені, що супроводжується зниженням інтенсивності метаболічних процесів, декоративних якостей та врожаю плодів [3]. У зв'язку з високими темпами розмноження КММ не виключена утилізація цим шкідником фонду запасних енергетичних речовин клітинного соку листків інших видів рослин.

За нашими оцінками [3], рослини гіркокаштана звичайного і гіркокаштана звичайного форми Баумані не витримують одночасного стресового впливу КММ, повітряної й ґрунтової посухи, у результаті чого за певних умов може наступати розхитування спадковості, що обумовлено значним витрачанням пулу енергетичних сполук у сітці метаболізму та нестабільністю геному в умовах глобального потепління клімату.

Доведено, що непостійність геному індукує зміни диференціації клітин і систем регуляції активності генів, їх структури та кількості у процесі індивідуального розвитку рослин [12].

З огляду на зазначене, метою даної роботи є з'ясувати структурно-функціональні перебудови сумарних полярних ліпідів як головних постачальників хімічної енергії та їх жирнокислотного складу в мембранах хлоропластів здорових та уражених КММ листків рослин роду *Aesculus L.*

Об'єктами досліджень протягом 2010–2011 рр. були рослини гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum L.*) і гіркокаштана звичайного форми Баумані (*Aesculus hippocastanum L., f. Baumanii*), які уражуються КММ, і гіркокаштана червоного або павія (*Aesculus pavia L.*), що не уражуються КММ та зростають у природних умовах Ботанічного саду НУБіП України.

Для експериментів відбирали по 3 г свіжих листків рослин віком 25–30 років у сонячну погоду за температури повітря 24–26°C і відносній вологості повітря 55–60% до настання (фаза цвітіння рослин) і в період масової появи КММ. Рослинний матеріал фіксували рідинним азотом і розтирали в фарфоровій ступці.

Хлоропласти із листків рослин виділяли на холоді в суміші 0,02 М трис-НСІ буфера рН 7,8 і 0,035 М NaCl диференціальним центрифугуванням гомогенату при 1000 та 3000 г. Екстракцію сумарної фракції полярних ліпідів з листків рослин проводили за Г.М. Яковенко і А.І. Міхно [5]. Таким способом екстракції відбувалося повне їх вилучення з рослинного матеріалу в незмінному стані.

Для дослідження рідкокристалічного стану після хроматографічного розділення на силікагелевих платівках з алюмінієвою фольгою відбирали тільки фракцію сумарних полярних ліпідів (за умов розділення фотосинтетичні пігменти розташовуються вище смуг локалізації полярних ліпідів), які екстрагували сумішшю хлороформ – метанол – вода у співвідношенні 65:25:4 [24]. Як найефективніший розчинник використовували двічі перегнаний 96%-ний етиловий спирт у кількості 1 мл на 10 мг маси сухої речовини ліпідів, що встановлено нами експериментально [2], який руйнує комплекси з білками і дезактивує ферменти. Ідентифікацію плям із хроматограм здійснювали

за допомогою розчину нінгідрину. Висушені хроматограми проявляли парами йоду в 5%-ному розчині фосфорномолібденової або сірчаної кислоти в етанолі. Упорядкування рідкокристалічної структури сумарних полярних ліпідів мембран хлоропластів вивчали шляхом їх перегляду на поляризаційному мікроскопі NU-2E фірми «Карл Цейс» (Німеччина).

Для визначення вмісту галактоліпідів (ГЛ) і сульфоліпідів (СЛ) плями із хроматограм екстрагували сумішшю хлороформ-метанол у співвідношенні 65:25, висушували й гідролізували 3N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> на водяній кип'ячій бані. Рівень нагромадження фосфоліпідів (ФЛ) оцінювали за фосфором [10], глюкози – за реакцією з орцином. Уміст ненасичених жирних кислот у складі основних груп полярних ліпідів мембран хлоропластів листків рослин гіркокаштана визначали методом газорідинної хроматографії на приладі «Цвет-106» з полум'яно-іонізаційним детектором. Біологічна та аналітична повторність дослідів чотирикратна. Одержані результати оброблено статистично [8].

Нами досліджено, що ліпідна фракція містить 70% полярних і 30% нейтральних (включаючи пігменти) ліпідів, котрі використовуються як запасні енергетичні речовини у процесах адаптації рослин до стресових чинників [1, 4]. Полярні ліпіди, такі як ГЛ, ФЛ і СЛ, є основними і найрухливішими структурними компонентами фотосинтетичних мембран хлоропластів, а також компонентами створення структурної конфігурації мембран і необхідні для оптимального функціонування фотосинтетичного й дихального електронно-транспортного ланцюга. Водночас доведено, що в тилакоїдних мембранах хлоропластів листків рослин ліпіди постійно оновлюються і за певних умов устанавлюється стаціонарний стан, коли швидкість їх синтезу дорівнює швидкості розпаду [7].

За оптимального рівня життєдіяльності клітин ліпідна фракція в мембранах хлоропластів перебуває в рідкокристалічному стані [1], ступінь формування якої залежить від водного, енергетичного та аденозинфосфатного стану. Вочевидь, механізм утворення кристалів – складний і кооперативний процес, який включає зміни структурної організації та збільшення щільності упакування мембран. Ліпіди рослин формують переважно ламелярні або бішарові структури –

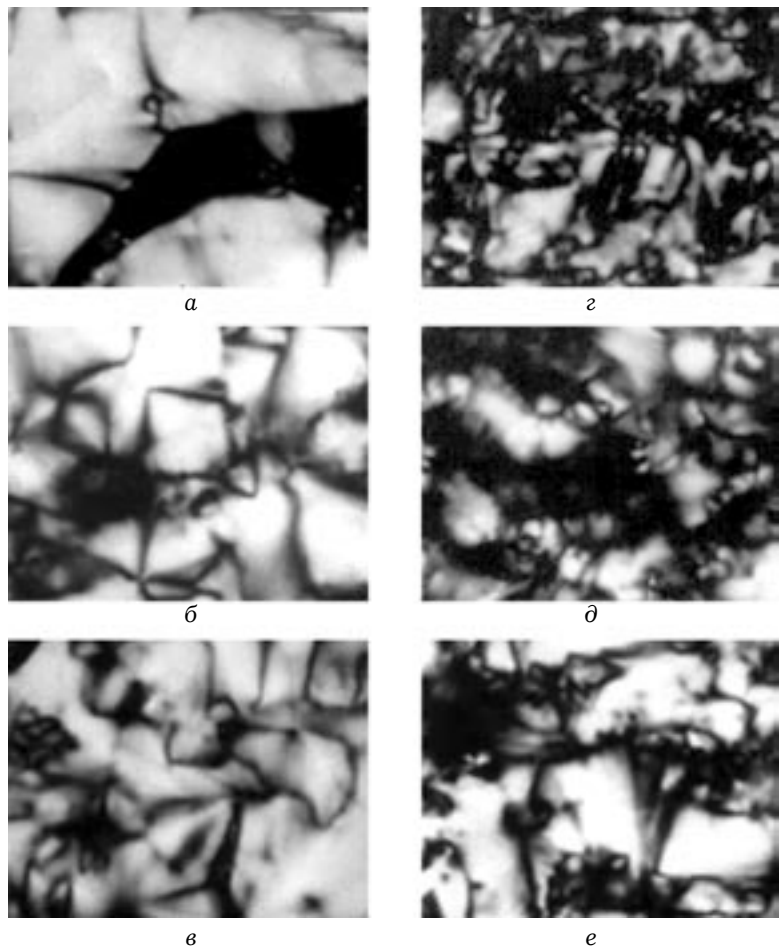
фазу рідких кристалів  $L_{\alpha}$  та впорядковану гель-фазу  $L_{\beta}$  залежно від температури. Проте моногалактозилдіацилгліцерол (МГДГ) утворює небішарові структури обернену гексагональну і кубічну фази. Дигалактозилдіацилгліцерол (ДГДГ) і сульфохіновозилдіацилгліцерол (СХДГ), на відміну від МГДГ, є бішаровими ліпідами, які здатні формувати рідкокристалічну та ламелярну гель-фазу  $L_{\beta}$  [14]. Кубічну фазу можуть формувати також суміші МГДГ і ДГДГ та сумарні ліпіди мембран тилакоїдів [22]. Ліотропні переходи фаз і небішарові ліпідні структури виявлено в мембранах дегідрованих клітин рослин [23]. З урахуванням опублікованих результатів нами висловлено припущення, що стресова дія КММ може індукувати порушення нативної рідкокристалічної структури тилакоїдних мембран хлоропластів рослин гіркокаштана звичайного. В доступній нам літературі фізіолого-біохімічні зміни модифікації рідкокристалічного стану і жирнокислотного складу сумарних полярних мембран хлоропластів видів рослин роду *Aesculus L.* за дії КММ не висвітлено.

Проведені мікроскопічні дослідження виявили, що нативні препарати сумарних полярних ліпідів мембран хлоропластів у листках рослин гіркокаштана звичайного, гіркокаштана звичайного форми Баумані і гіркокаштана червоного або павія, які у фазу масового цвітіння не були уражені КММ, мають типову, упорядковану полігонально-конфокальну рідкокристалічну структуру (проміжну між рідкою і твердою), котра характерна для рідких кристалів (рис. а, б, в).

Під впливом КММ у фазу інтенсивного формування плодів відбувається пригнічення процесів біосинтезу і деструкція нативної рідкокристалічної структури мембранних полярних ліпідів, що пов'язано з переважанням фракції вільної води (темні плями). Не виключена також можливість її локалізації в просторі між біша-

рами, що вміщують СХДГ у тилакоїдній мембрані, інтенсивність якого за умов ураження рослин КММ суттєво збільшується.

Водночас нами зафіксовано зростання частки ізотропної, полідисперсної, менш компактної і місцями зрідженої рідкокристалічної структури сумарних полярних ліпідів мембран хлоропластів листків рослин гіркокаштана звичайного й гіркокаштана звичайного форми Баумані порівняно з гіркокаштаном червоним або павія, які не уражуються КММ (див. рис. з, д). Таке явище обумовлено стримуючим впливом гусені КММ на функціонування ростових процесів



Рідкокристалічна структура сумарних полярних ліпідів мембран хлоропластів ( $\times 500$ ) у листках рослин гіркокаштана звичайного, які не уражені (а) та уражені (з) КММ, гіркокаштана звичайного форми Баумані, що не уражені (б) й уражені (д) КММ, гіркокаштана червоного або павія, котрі не уражуються (в, е) КММ: а, б, в – фаза масового цвітіння рослин; з, д, е – фаза інтенсивного формування плодів; білі плями – зв'язок фракції сумарних полярних ліпідів із фракцією зв'язаної води, темні – вільною

і просторову організацію тилакоїдних мембран хлоропластів унаслідок витіснення з них окремих ліпідних компонентів, які здатні об'єднуватися в замкнуті агрегати – міцели з утворенням крапель у цитоплазмі листків рослин [16]. За таких несприятливих умов може відбуватися розділення ліпідної фази та інших структурних фрагментів тилакоїдної мембрани й утворення небішарових структур, які беруть участь у процесах транспорту речовин та виконують архітектурну роль на міжфазній межі ліпід – білок [6].

Отримані результати дають підставу стверджувати, що в першу чергу пошкоджуються низько обводнені і біохімічно слабо адаптовані до КММ мембранні полярні ліпиди, які за умов гідратації набувають гексагональної структури, що зберігається й за відсутності білків. У роботі [19] з'ясовано, що більшість ліпідів у фотосинтетичній мембрані утворює рідкокристалічні бішари, окремі молекулярні види фосфатидилгліцерину (ФГ) – ламелярні гель-фази, а моногалактоліпід – гексагональну форму. Зумовлені дією КММ модифікації ліпідного складу можуть також змінювати фізичні властивості тилакоїдних мембран. За таких умов відбуваються переходи полярних ліпідів з рідкокристалічного стану в желеподібний і, навпаки, з ламелярної в гексагональну структуру, що супроводжується змінами в'язкості, мікророзривами та проникністю тилакоїдних мембран хлоропластів (див. рис. 2, д).

Найглибші деформації та утворення поодиноких і слабонасичених ділянок рідкокристалічної структури сумарних полярних ліпідів мембран хлоропластів простежувались у листках нестійких до КММ рослин гіркокаштана звичайного та гіркокаштана звичайного форми Баумані, що зростали в аналогічних екологічних умовах. Високий ступінь руйнації сумарних полярних ліпідів унаслідок несприятливої дії КММ обумовлений значною мірою стримуванням процесів перенесення електронів, біосинтезу АТФ і ендогенних фітогормонів, що спричиняє порушення донорно-акцепторних міжклітинних зв'язків, і розбалансованості метаболічних процесів у клітинах рослинного організму. У фазу цвітіння та інтенсивного формування плодів зафіксовано наявність стабільних структур сумарних полярних ліпідів мембран хлоропластів листків рослин гіркокаштана червоного або павія (див.

рис. в, е), що пов'язано із збереженням високого рівня гомеостазу, фізіологічних процесів та функцій тканин рослинного організму. Обґрунтовано висновок, що за ступенем деструкції, кристалізації і відновлення рідкокристалічної структури сумарної фракції полярних ліпідів мембран хлоропластів можна оцінювати стійкість рослин роду *Aesculus L.* до КММ на молекулярному рівні.

Клітинна компартментація залежить від умісту і співвідношення полярних ліпідів, що утворюють бішар, який запобігає вільній дифузії гідрофільних молекул між клітинними органоїдами й запобігає проникненню речовин у клітину. Узагальнення літературних джерел свідчить, що до фракції полярних ліпідів фотосинтетичних мембран хлоропластів рослин належать МГДГ, ДГДГ, СХДГ, фосфатидна кислота (ФК), фосфатидилгліцерин (ФГ), фосфатидилхолін (ФХ), фосфатидилетаноламін (ФЕА), фосфатидилсерин (ФС) та фосфатидилінозитол (ФІ) [9]. Ліпідна фракція зовнішньої мембрани оболонки поверхні листка рослин збагачена на ФХ і ДГДГ, специфічна взаємодія яких із транзитними білками визначає місце й характер дислокації їх попередників у пластидах рослин.

Біохімічними експериментами (табл. 1) виявлено, що в мембранах хлоропластів здорових і уражених КММ листків видів рослин роду *Aesculus L.* міститься різна кількість МГДГ й ДГДГ. Найбільш високі їх концентрації характерні для мембран хлоропластів рослин гіркокаштана червоного або павія, що не уражуються КММ. Пролонгована дія КММ індукувала достовірне зменшення вмісту окремих фракцій полярних ліпідів мембран хлоропластів листків видів рослин гіркокаштана звичайного і гіркокаштана звичайного форми Баумані. Виявлені зміни кількості окремих груп полярних ліпідів носили коливальний характер і спричиняли структурні перебудови тилакоїдних мембран хлоропластів у нових умовах для забезпечення оптимального функціонування фізіолого-біохімічних процесів рослинного організму. Отже, уміст і співвідношення ГЛ й ФЛ у мембранах хлоропластів можуть бути інтегральними біохімічними характеристиками рівня стійкості видів рослин роду *Aesculus L.* до стресової дії КММ. У роботі [17], ГЛ в молярній пропорції 2:5 частково відновлювали активність фотосистеми I,

Таблиця 1

Вміст сульфоліпідів і галактоліпідів у мембранах хлоропластів листків видів рослин  
роду *Aesculus L.*, мг/мг хлорофілу

Вид рослин	СХДГ*	МГДГ	ДГДГ	МГ ДГ ДГ ДГ
Гірकोкаштан звичайний	$1,64 \pm 0,05^{**}$ $0,77 \pm 0,03$	$2,58 \pm 0,09$ $1,56 \pm 0,08$	$1,74 \pm 0,06$ $1,22 \pm 0,04$	$1,48$ $1,28$
Гірकोкаштан звичайний форми Баумані	$1,86 \pm 0,08$ $0,98 \pm 0,02$	$2,87 \pm 0,09$ $1,75 \pm 0,06$	$1,96 \pm 0,07$ $1,42 \pm 0,05$	$1,48$ $1,23$
Гірकोкаштан червоний або павія (не уражується КММ)	$1,94 \pm 0,07$	$3,02 \pm 1,00$	$2,00 \pm 0,09$	151

\* СХДГ – сульфохіновозилдіацилгліцерол, МГДГ – моногалактозилдіацилгліцерол, ДГДГ – дигалакто-зилдіацилгліцерол. \*\* Чисельник – листки не уражені КММ, знаменник – уражені.

що підтверджує їх структурну функцію в мембранах хлоропластів рослин. Специфічна взаємодія ГЛ і ФЛ з світлозбиральними комплексами фотосистеми II *in vitro* захищає його від денатурації [21].

Із отриманих даних (див. табл. 1) випливає, що співвідношення МГДГ і ДГДГ у мембранах хлоропластів залежить від видових особливостей і ступеня ураженості листків рослин гіркогокаштанів КММ, яке коливається від 1 до 3 [9]. Однак найсуттєвіше його зменшення простежувалось у мембранах хлоропластів листків рослин гіркогокаштана звичайного форми Баумані та гіркогокаштана звичайного, які уражуються КММ, що стримує фотосистему II, процеси фосфорилювання та утворення гексагональних структур.

У мембранах хлоропластів рослин гіркогокаштана червоного або павія нами виявлено найбільш високий рівень вмісту ДГДГ та його співвідношення із ДГДГ, що приводить до активації головки ГЛ зв'язувати пули вільної води й підвищення стійкості рослин до стресових чинників. Водночас високе співвідношення МГДГ і ДГДГ індукує утворення типової двомірної кубічної фази розгалужених мембранних трубок у хлоропластах рослин [22].

З'ясовано, що найбільша кількість СХДГ міститься в мембранах хлоропластів листків рослин гіркогокаштана червоного або павія. За стресової дії КММ його вміст у мембранах хлоропластів рослин гіркогокаштана звичайного й гіркогокаштана звичайного форми Баумані знижувався майже в два рази порівняно з неураженими.

Однією із характерних особливостей СХДГ є наявність залишку сульфонові кислоти у С<sub>6</sub> положенні 6-дезоксиглюкози, уміст якого в тилакоїдній мембрані хлоропластів рослин близький до ДГДГ і суттєво збагачений пальмитиновою кислотою. СХДГ тісно асоційований із білковим комплексом тилакоїдних мембран хлоропластів, який визначає орієнтацію молекул хлорофілу, а його стабілізація відбувається шляхом електростатичної взаємодії між негативно зарядженою сульфонатною групою та позитивним зарядом у молекулах білків [13].

ГЛ і СЛ – основні полярні ліпіди тилакоїдних мембран хлоропластів вищих рослин, які мають у своєму складі МГДГ (близько 50%), ДГДГ (близько 30), СХДГ (5–12) та ФГ (7–10%) [18]. Описано два молекулярних види МГДГ: перший і головний із залишком лінолевої кислоти в положеннях sn-1 й sn-2 гліцеролу та другий, що має 18:3 у положенні sn-1 і залишок гексадекатрієнової кислоти (16:3) виключно в позиції sn-2 гліцеролу (18:3/16:3), який локалізований у мембранах хлоропластів вищих рослин. Експериментально підтверджено, що форма молекули ДГДГ є вирішальною для формування структури мембрани тилакоїдів, яка обумовлює близьку асоціацію світлозбирального комплексу із стержневим комплексом фотосистеми II. Невеличка за розміром галактозна головна частина МГДГ і ненасичені ланцюги створюють конусоподібну молекулу, яка бере участь у формуванні не ламелярних гексагональних агрегатів, що має важливе значення для просторового розташування тилакоїдних мембран у хлоропластах рослин.

ДГДГ асоційований із мембранами і відіграє визначальну роль у структурно-функціональній організації фотосинтетичного апарату вищих рослин, причому пов'язаний із структурами оксидного комплексу, а зміни його вмісту мають модифікуючий вплив на світлозбиральні комплекси [20]. Стає очевидним, що МГДГ і ДГДГ є переддомінантними ліпідними компонентами, які відіграють специфічну роль у морфології та фізіології хлоропластів [15].

Ступінь рухливості мембранних структур у рослинах залежить від складу і співвідношення насичених і ненасичених жирних кислот. У проведених нами дослідях фізіологічна реакція видів рослин роду *Aesculus L.* виявлялась у зміні вмісту ненасичених жирних кислот в окремих групах полярних ліпідів мембран хлоропластів (табл. 2). Зокрема, за ушкоджувальної дії КММ визначено достовірне зниження кількості олеїнової, лінолевої і ліноленої ненасичених жирних

Таблиця 2

Компартментация ненасичених жирних кислот у складі основних груп сумарних полярних ліпідів мембран хлоропластів листків видів рослин роду *Aesculus L.*, моль, %

Полярний ліпід	Кислота				
	миристоолеїнова (C <sub>14:1</sub> )	пальмітоолеїнова (C <sub>16:1</sub> )	олеїнова (C <sub>18:1</sub> )	лінолева (C <sub>18:2</sub> )	ліноленова (C <sub>18:3</sub> )
<i>Гірकोкаштан звичайний</i>					
МГДГ	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{4,6 \pm 0,03}{3,0 \pm 0,2}$	$\frac{4,2 \pm 0,2}{2,1 \pm 0,1}$	$\frac{84,8 \pm 1,9}{48,8 \pm 1,4}$
ДГДГ	$\frac{0,6 \pm 0,01}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{3,5 \pm 0,5}{2,2 \pm 0,9}$	$\frac{5,2 \pm 0,3}{2,2 \pm 0,2}$	$\frac{63,8 \pm 1,7}{32,4 \pm 0,8}$
СХДГ	$\frac{1,8 \pm 0,03}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{10,7 \pm 0,8}{4,3 \pm 0,7}$	$\frac{2,7 \pm 0,4}{2,1 \pm 0,3}$	$\frac{38,4 \pm 1,5}{15,1 \pm 1,2}$
ФГ	$\frac{0,4 \pm 0,02}{0}$	$\frac{33,4 \pm 1,8}{26,6 \pm 0,9}$	$\frac{3,2 \pm 0,1}{2,7 \pm 0,2}$	$\frac{8,2 \pm 0,2}{1,5 \pm 0,6}$	$\frac{33,8 \pm 1,8}{10,9 \pm 0,5}$
ФХ	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{6,8 \pm 1,6}{3,8 \pm 1,0}$	$\frac{14,4 \pm 0,6}{5,5 \pm 1,1}$	$\frac{2,2 \pm 0,3}{1,2 \pm 0,2}$
<i>Гірकोкаштан звичайний форми Баумані</i>					
МГДГ	$\frac{0,5 \pm 0,02}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{6,4 \pm 0,02}{3,6 \pm 0,3}$	$\frac{5,3 \pm 0,3}{2,4 \pm 0,2}$	$\frac{88,5 \pm 2,4}{46,6 \pm 1,5}$
ДГДГ	$\frac{0,3 \pm 0,01}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{3,8 \pm 0,9}{2,4 \pm 0,6}$	$\frac{2,9 \pm 0,4}{5,6 \pm 0,6}$	$\frac{67,8 \pm 1,9}{35,4 \pm 0,8}$
СХДГ	$\frac{0,4 \pm 0,05}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{11,4 \pm 0,8}{4,0 \pm 0,6}$	$\frac{2,2 \pm 0,5}{2,7 \pm 0,3}$	$\frac{38,8 \pm 1,6}{12,2 \pm 1,4}$
ФГ	$\frac{0,6 \pm 0,02}{0}$	$\frac{35,2 \pm 1,6}{26,6 \pm 1,2}$	$\frac{4,2 \pm 0,3}{3,5 \pm 0,4}$	$\frac{1,6 \pm 0,2}{9,6 \pm 0,7}$	$\frac{35,6 \pm 1,3}{8,8 \pm 0,6}$
ФХ	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{10,2 \pm 1,0}{4,7 \pm 2,2}$	$\frac{14,8 \pm 0,7}{7,9 \pm 1,8}$	$\frac{13,2 \pm 0,3}{1,2 \pm 0,4}$
<i>Гірकोкаштан червоний або павія (не уражується КММ)</i>					
МГДГ	0,8±0,05	0	7,2±0,05	5,6±0,3	86,7±2,2
ДГДГ	1,4±0,06	0	4,2±0,06	6,3±0,5	72,4±2,1
СХДГ	1,2±0,03	0	14,5±1,2	2,9±0,6	43,4±1,5
ФГ	1,0±0,02	40,6±1,7	4,4±0,3	10,8±0,3	41,2±1,2
ФХ	0	0	19,3±1,2	16,4±0,8	3,3±0,8

\* Чисельник – листки, не уражені КММ, знаменник – уражені.

кислот у складі МГДГ, ДГДГ, СХДГ, ФГ і ФХ мембран хлоропластів листків гіркокаштана звичайного та гіркокаштана звичайного форми Баумані.

У загальній фракції полярних ліпідів, за виключенням ФГ, не виявлено пальмітоолеїнової (транс-3-гексадецевої) ненасиченої жирної кислоти в здорових і уражених КММ листках рослин гіркокаштана звичайного форми Баумані та гіркокаштана червоного або павія. Водночас у складі ФГ зафіксовано нагромадження значної кількості пальмітоолеїнової ненасиченої жирної кислоти мембран хлоропластів видів рослин роду *Aesculus L.* Це головний фосfolіпід тилакоїдних мембран хлоропластів, який сприяє підтриманню оптимальних умов для забезпечення транспорту електронів і пов'язаних з ними реакцій, що задіяні в біогенезі світлозбирального комплексу фотосистеми II [9]. Він містить транс-3-гексадецеву кислоту, яка етерифікована в sn-2 положенні гліцеролу і виявлена лише в мембранах еукаріотичних організмів. У ФГ мембран хлоропластів видів рослин гіркокаштана виявлено також наявність миристоолеїнової, пальмітоолеїнової, олеїнової, лінолевої та ліноленової ненасичених жирних кислот.

У мембранах хлоропластів рослин гіркокаштана червоного або павія, які не уражуються КММ, локалізована значно більша кількість ненасичених жирних кислот в основних групах полярних ліпідів, ніж гіркокаштана звичайного форми Баумані (див. табл. 2). Отримані дані підтверджують високу пластичність і постійну здатність рослин гіркокаштана червоного або павія зберігати нативну рідкокристалічну структуру мембран хлоропластів у природних умовах зростання. Установлено факт, що вміст пальмітоолеїнової кислоти характерний лише для ФГ мембран хлоропластів листків рослин роду *Aesculus L.*, який є одним із механізмів фотосинтетичного апарату протистояти КММ. Характерно, що у складі ФХ мембран хлоропластів листків рослин нестійких і стійкого до ураження КММ гіркокаштана червоного або павія не виявлено миристоолеїнової та пальмітоолеїнової ненасичених жирних кислот. Під дією КММ вміст ненасичених жирних кислот у складі основних груп полярних ліпідів мембран хлоропластів суттєво зменшувалася внаслідок їх деградації. За таких умов лінолева

і гексадекатрієнова жирні кислоти можуть відігравати провідну роль у функціонуванні шляхів передавання сигналів через утворення жасмонатів як рослинних гормонів та вторинних месенджерів [9].

## ВИСНОВКИ

Сумарні полярні ліпіди мембран хлоропластів видів рослин роду *Aesculus L.*, які не уражені КММ, мають типову впорядковану полігонально-конфокальну рідкокристалічну структуру, що характерна для рідких кристалів. Стрессова дія КММ спричиняє динамічні перебудови, деструкцію і формування ізотропної, менш компактної й зрідженої рідкокристалічної структури сумарних полярних ліпідів мембран хлоропластів у рослинах гіркокаштана звичайного та гіркокаштана звичайного форми Баумані порівняно з гіркокаштаном червоним або павією. Визначено зниження вмісту ненасичених жирних кислот у складі основних груп полярних ліпідів мембран хлоропластів рослин гіркокаштана звичайного, яке індуковано КММ. Гетерогенність рідкокристалічного стану сумарних полярних ліпідів мембран хлоропластів, котрі задіяні в реалізації адаптивного потенціалу, рекомендовано використовувати як молекулярно-біохімічну тест-систему для оцінки ступеня ураження і стійкості видів та гібридів рослин роду *Aesculus L.* до КММ.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Браун Г. Жидкие кристаллы и биохимические структуры / Г. Браун, Д. Уолкер. – М.: Мир, 1982. – 198 с.
2. Влияние полистимулина К на структуру полярных липидов мембран хлоропластов озимой пшеницы и картофеля при дефиците влаги / [И.А. Григорюк, М.В. Курик, И.Г. Шматько и др.] // Физиология и биохимия культурных растений. – 1990. – № 3. – С. 211–215.
3. Біологія каштанів / [І.П. Григорюк, С.П. Машковська, П.П. Яворовський, О.В. Колесніченко]. – К.: Логос, 2004. – 380 с.
4. Каштановая минирующая моль в Украине / [М.Д. Зерова, Г.Н. Никитенко, Н.Б. Нарольский и др.]. – К.: Велес, 2007. – 87 с.
5. Кейтс М. Техника липидологии / М. Кейтс. – М.: Мир, 1975. – 322 с.
6. Структурные свойства липидов и их функциональная роль в биологических мембранах / [П.Р. Куллис, Е. Круиф, Дж. Хоун и др.] // Текучесть мембран в биологии. Концепция

- мембранной структуры. – К.: Наукова думка, 1989. – С. 49–84.
7. *Ленинджер А.* Основы биохимии / А. Ленинджер; [пер. с англ.]. Т. 2. – М.: Мир, 1985. – 386 с.
  8. *Молостов А.С.* Элементы вариационной статистики / А.С. Молостов. – К.: Урожай, 1965. – 181 с.
  9. *Оканенко О.А.* Гліколіпіди рослин / О.А. Оканенко, Н.Ю. Таран. – К.: Ленвіт, 2005. – 111 с.
  10. *Радионон В.С.* Определение фосфолипидов листьев растений с помощью двумерной хроматографии в тонких слоях силикагеля / В.С. Радионон, Н.Н. Холопцева // Физиология и биохимия культурных растений. – 1974. – № 2. – С. 201–204.
  11. *Трибель С.О.* Каштанова мінуюча міль / С.О. Трибель, О.М. Гаманова, Я. Свентославські. – К.: Колобів, 2008. – 70 с.
  12. *Косик Р.Б.* Непостоянство генома / Р.Б. Косик. – М.: Наука, 1984. – 472 с.
  13. *Anderson S.M.* The molecular organization of chloroplast thylakoids / S.M. Anderson // Biochimica et Biophysica Acta. – 1975. – № 416. – P. 191–235.
  14. *Cullis P.R.* Lipid polymorphism and the functional roles of lipids in biological membranes / P.R. Cullis, B. de Kruijff // Biochimica et Biophysica Acta. – 1979. – № 559. – P. 399–420.
  15. The biochemical machinery of plastid envelope membranes / [J. Joyard, E. Teyssier, C. Miège et al] // Plant Physiology. – 1998. – № 118. – P. 715–723.
  16. *Kramer P.S.* Water relations of plants / P.S. Kramer. – N. Y.: Academ press, 1983. – 489 p.
  17. *Krupa Z.* Requirement of galactolipids for photosystem of activity in lyophilized spinach chloroplasts / Z. Krupa, T. Boszynski // Biochimica et Biophysica Acta. – 1975. – № 408. – P. 26–34.
  18. *Murata N.* Lipids in photosynthesis: an overview / N. Murata, P.A. Siegenthaler // Lipid in photosynthesis: structure, function and genetics. Advances in photosynthesis / N. Murata, P.A. Siegenthaler // The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 1998. – P. 1–20.
  19. *Qulnn P.J.* The phase behavior of membrane lipids and the organization of the photosynthetic membrane / P.J. Qulnn // Biol. Role Plants Lipids: Proc. 8th Jnt. Symp. Budapest, July 25–28, 1988. – Budapest, 1989. – P. 209–213.
  20. *Reifarh F.* Modification of the water oxidizing complex in leaves of the dgd 1 mutant of Arabidopsis thaliana deficient in the galactolipid galactosyldiacylglycerol / F. Reifarh, G. Chisten, A. G. Seeliger et al. // Biochemistry. – 1997. – № 3. – P. 11769–11776.
  21. *Reinsberg D.* Folding, assembly and stability of the major light harvesting complex of higher plants, LHCII, in the presence of native lipids / D. Reinsberg, P.J. Booth, C. Jegerschoold // Biochemistry. – 2000. – № 39. – P. 14305–14313.
  22. *Selstum E.* Chloroplast lipids and the assembly of membranes / E. Selstum // Sundgvist C., Ryberg M. Pigment-protein complexes in plastids: synthesis and assembly / E. Selstum, A. Widell-Wigge. – San Diego: Acad. press, 1993. – P. 241–277.
  23. *Uemura M.* Cold acclimation of Arabidopsis thaliana (Effect of plasma membrane lipid composition and freeze-induced lesions) / M. Uemura, R.A. Joseph, P.L. Steponkus // Plant Physiology. – 1995. – № 109. – P. 15–30.
  24. *Wagner H.* Dünnschichtchromatographie von Phosphatiden und Glycolipiden / H. Wagner, L. Hörhammer, P. Wolf // Biochem. J. – 1961. – № 2. – S. 175–184.