

6. Smith S. Identification of Common Molecular Subsequences / S. Smith, M. Waterman // *Journal of Molecular Biology*. – 1981. – Vol. 147. – P. 195–197.
7. Needleman S. A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins / S. Needleman, C. Wunsch // *J. Mol. Biol.* – 1970. – Vol. 48 (3). – P. 443–453.
8. Okonechnikov K. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit / K. Okonechnikov, O. Golosova, M. Fursov // *UGENE team Bioinformatics*. – 2012. – Vol. 28. – P. 1166–1167.
9. Tamura K. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods / K. Tamura, N. Peterson // *Molecular Biology and Evolution*. – 2011. – Vol. 28. – P. 2731–2739.
10. Tajima F. Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA polymorphism / F. Tajima // *Genetics*. – 1989. – Vol. 123. – P. 585–595.
11. Sneath P. Numerical Taxonomy. The Principles and Practice of Numerical Classification / P. Sneath, R. Sokal // *Systematic*. – 1973. – Vol. 24 (2). – P. 263–268.
12. Tamura K. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method / K. Tamura, M. Nei, S. Kumar // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2004. – Vol. 101. – P. 11030–11035.
13. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap / J. Felsenstein // *Evolution*. – 1985. – Vol. 39. – P. 783–791.
14. Bremer B. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III / B. Bremer, K. Bremer, M. Chase // *Botanical Journal of the Linnean Society*. – 2009. – Vol. 161 (2). – P. 105–121.
15. Fu Z. Nucleotide diversity and molecular evolution of the PSy1 gene in *Zea mays* compared to some other grass species / Z. Fu, J. Yan, Y. Zheng [et al.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2010. – Vol. 120. – P. 709–720.

УДК 582.751.42 : 681.151

## ДИНАМІКА ЛЕКТИНОВОЇ АКТИВНОСТІ ХЛОРОПЛАСТІВ ХЛОРОФІЛЬНИХ МУТАНТІВ *LINUM HUMILE* MILL. ПРОТЯГОМ ОНТОГЕНЕЗУ

Левчук Г.М.

*Запорізький національний університет,  
69600, Україна, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66*

anna.levchuck@yandex.ua

На чотирьох мутантних лініях льону олійного з різним морфологічним проявом хлорофільної недостатності був проаналізований рівень лектинової активності двох типів хлоропластів протягом онтогенезу. Встановлено, що в мутантного зразка з рівномірним проявом хлорофільної недостатності (М-28) рівень лектинової активності обох типів хлоропластів є вищим у порівнянні з контролем протягом усього онтогенезу. У хлорофільних мутантів з частковим проявом хлорофільної недостатності (М-80, М-81 та М-84) на початкових етапах онтогенезу лектинова активність значно нижча за контрольний варіант, а на стадії цвітіння – достовірно збільшується в дрібних хлоропластах, а у великих достовірно від контролю не відрізняється.

*Ключові слова: Linum humile Mill, хлорофільна недостатність, лектинова активність, хлоропласти, лектин-пігментний комплекс.*

## ДИНАМИКА ЛЕКТИНОВОЙ АКТИВНОСТИ ХЛОРОПЛАСТОВ ХЛОРОФИЛЛЬНЫХ МУТАНТОВ *LINUM HUMILE* MILL. НА ПРОТЯЖЕНИИ ОНТОГЕНЕЗА

Левчук А.Н.

*Запорожский национальный университет  
69600, Украина, Запорожье, ул. Жуковского, 66*

anna.levchuck@yandex.ua

На четырех мутантных линиях льна масличного с различным морфологическим проявлением хлорофилльной недостаточности был проанализирован уровень лектиновой активности двух типов хлоропластов в течение онтогенеза. Установлено, что у мутантного образца с равномерным проявлением хлорофилльной недостаточности (М-28) уровень лектиновой активности обоих типов

хлоропластов выше по сравнению с контролем в течение всего онтогенеза. У хлорофильных мутантов с частичным проявлением хлорофильной недостаточности (М-80, М-81 и М-84) на начальных этапах онтогенеза лектиновая активность значительно ниже контрольного варианта, а на стадии цветения – достоверно увеличивается в мелких хлоропластах, а у крупных достоверно от контроля не отличается.

*Ключевые слова:* *Linum humile Mill.*, хлорофильная недостаточность, лектиновая активность, хлоропласты, лектин-пигментный комплекс.

## DINAMIKS OF CHLOROPLASTS LECTIN ACTIVITY IN CHLOROPHYLL MUTANTS OF *LINUM HUMILE* MILL. DURING ONTOGENESIS

Levchuk H.M.

*Zaporizhzhya National University*  
69600, Ukraine, Zaporizhzhya, Zhukovsky Street, 66  
anna.levchuck@yandex.ua

The study of photosynthesis and attempts to manage the photosynthetic activity of green plants is more than two centuries, and still is one of the most important questions of modern plant physiology. For many years, for such special studies to use mutant plants with chlorophyll deficient. Significant changes in the composition and the ratio of these pigments in plants lead to physiological first, and then to morphological changes, because the intensity of photosynthesis in most chlorophyll-deficient mutants significantly lower than in green plants. However, at present identified and mutants with well-developed structure of chloroplasts and high performance, which concluded with a possible impact on improving plant productivity by affecting the chloroplasts.

Significant changes in the ratio of pigments and lead to physiological ones, and then to morphological changes. These changes are associated with the color of plants and can be seen in the mutants with chlorophyll deficient. Therefore chlorophyll-deficient mutants of higher plants for many years have used for the study of photosynthesis. Interesting object for such studies is linseed mutants received as a result experimental mutagenesis: M-80, M-84, M-28 and M-81.

From the literature it is known that lectins are involved in photosynthesis. They form pigment-lectin complex with pigments in which the pigments catching light energy and lectins by taking it, change its conformation, which leads to a change in carbohydrate specificity. Modified lectins are able to bind dissolved in the stroma thylakoids Calvin cycle enzymes. This hypothesis was proposed Aleksidze. For it the lectins is the link between light and dark phases of photosynthesis.

Linseed (*Linum humile* Mill.) is the extremely plastic crop. It is widely cultivated in Europe, Asia, North and South America, Australia and even North Africa. And everywhere he has a high potential productivity. Obviously this is due to the efficient work of the photosynthetic apparatus. However, especially his performances in this culture have been insufficiently studied.

When using induced mutagenesis in a number of genotypes of linseed we had been allocated a series of mutations with different types of negative chlorophyll deficient. However, some of chlorophyll mutants were highly and even varieties such as Golden variety.

The aim of this study was to determine the lectin activity dynamics of leaves chloroplasts during ontogeny in linseed Cyan, Antares and K-7487 varieties, and their chlorophyll-deficient mutant lines: M-80, M-84, M-81 and M-28. The objects of study were 4 lines of chlorophyll-deficient (M-80, M-81, M-84 and M-28) and 2 genotypes outgoing – Cyan and K-7487.

Linseed plants were grown in the field conditions. Chloroplasts were isolated from leaves at different stages of development by fractional centrifugation. In chlorophyll-deficient mutants of group 1 (M-80, M-81 and M-84) in the early stages of development ("herring bone" and budding stage) analyzed leaves of different colors: upper leaves for the M-80 and the middle leaves for M-81 and M-84.

Lectins from tylakoyid membranes by standard methods with some modifications were extracted. Activities of lectins were determined by hemagglutination assay with 2% suspension of rabbit erythrocytes, given protein concentration. Protein concentration was determined spectrophotometrically by the method of Warburg-Christian. In the analysis of lectin activity was expressed as the reciprocal of - carbon lectin activity and expressed as (mg / ml)<sup>-1</sup>. Statistical analysis was performed by standard methods.

We have chosen chlorophyll mutants were obtained from different initial genotypes and consists of the following groups: group of Cyan - mutant line M-80, M-81 and M-84 and K-7487 - mutant line M-28.

These mutants for evenness of chlorophyll deficient can be classified into 2 groups. The first group included plants, which chlorophyll deficient is part of the leaves, and the transition to the generative stages of ontogeny plants gradually flourish – a line of M-80, M-81 and M-84. The second group is separated by a line of M-28, chlorophyll deficient which is evenly distributed throughout the plant and changed color persists throughout ontogeny. An interesting feature of these designs is the fact that the mutant lines with varying degrees of depression plants. Thus, according to this index chlorophyll-

deficient studied mutants can be arranged in the following series of the most oppressed in the least: M-81 – M-84 – M-80 – M-28.

In earlier study was shown that mesophyllous of leaves in linseed contains two types of cells: chloroplasts with small and large, are likely to perform different functions in the process of photosynthesis. Studies Aleksidze, it was shown that lectins membranes of chloroplasts involved in the process. In this regard, we have assumed that lectins can optimize the performance of chloroplast pigment apparatus defective chlorophyll mutants.

We analyzed changes in lectin activity of both types of chloroplasts during ontogeny in chlorophyll mutants and output varieties. The study included consecutive stages of development, for which there is a change in color of plants: stairs, "herring bone", budding and flowering stages.

From the results table shows that in most cases chlorophyll mutants of cyan the lectin activity in both types of chloroplasts was significantly reduced compared to the initial variety Cyan. Exceptions are only small chloroplasts at the stage of flowering, when these mutants flourish and chlorophyll deficient almost disappears. In chlorophyll mutant M-28 on the contrary the lectin activity throughout ontogeny in both types of chloroplasts was significantly increased.

Due to these results and the fact that this mutant line M-28 was more productive than the original sample, despite the obvious chlorophyll deficient, we believe that lectins of tylakoyid membrane to contribute to this. Others chlorophyll mutants during ontogeny is depressed and productivity are significantly lower than the original genotype.

An analysis revealed that levels of lectin activity in tylakoyid membranes during ontogeny changes: highest lectin activity with chloroplasts at an early stage of development – the stage stairs, the value of which is almost 10 times the value at other stages of ontogeny.

However, these changes are different in various types of chloroplasts. Thus, the lectin activity of small chloroplasts of Cyan (M-80, M-81, M-84 and Cyan) decreases rapidly at the stage of "tree", and in the later stages (budding and flowering) gradually increases, but does not reach the initial level stage stairs. In plants of K-7487 (M-28 and K-7487) lectin activity of small chloroplasts in the transition to the stage of "herring bone" is greatly reduced in the budding stage – increases, and the transition to flowering stage – returns to the level of "herring bone"

Evolution of lectin activity in large chloroplasts also primarily depends on the genotype and its most important are at an early stage of ontogeny – the stage stairs. Thus, lectin activity in samples of Cyan on stage "herring bone" does not change, and in the future (for budding and flowering stages) is significantly reduced. Exceptions are only large chloroplasts mutant line M-84, which has lectin activity on the stage of "tree" significantly reduced, compared to the stage stairs. In samples of K-7487 – during the transition to the stage of "tree" lectin activity of large chloroplasts significantly reduced, and in the later stages – does not change.

The distribution of activity between the two types of chloroplasts during development took place as follows: at the initial stage of ontogeny (step ladder) greater lectin activity with small chloroplasts, in the later stages – the stage of "herring bone" and budding – most lectin activity with large chloroplasts, and the various stages of bloom chloroplast types have approximately the same level of lectin activity. Moreover, this distribution lectin activity showed no dependence on the genotype: it is observed in chlorophyll mutants and in the original genotypes.

As can be seen from the data in step ladder much higher lectin activity characterized by small chloroplasts compared to large. On stage, the "tree" in all studied genotypes significantly higher lectin activity is characterized by the large fraction of chloroplasts. Vividly can be demonstrated genotypes of Cyan, where the contribution of small chloroplasts is less than 10% of the total lectin activity of tylakoyid membranes.

At the stage of budding lectin activity also dominated by large chloroplasts, but contribute to the overall small chloroplasts is much larger than ascending early stage "tree." Thus, the contribution of small chloroplasts in most studied genotypes increased to 30-40%, but still lectin activity of large chloroplasts stay at a higher level.

In the transition to the stage of flax plants flowering lectin activity of small chloroplasts in chlorophyll mutants in contrast to earlier stages of development mainly increased compared with baseline genotypes. This trend can be observed in all studied lines.

So, summing up, we can say that lectins are involved in photosynthesis of chlorophyll mutants linseed, especially chlorophyll mutants, which lack a chlorophyll in whole plant and its intensity does not decrease during ontogeny – the line M-28. The special role of lectins in photosynthesis should be given, in our opinion, the lectin in line M-28, due to the fact that the level of lectin activity in its chloroplasts (both types) increases greatly compared with the original K-7487 throughout ontogeny. In addition, the mutant line M-28 with a single research was granted the status of a variety ("Gold"), due to the fact that it has better productivity and oil content compared with the original model, and with a sort of standard in Ukraine – "Pivdenna nich."

In mutants of cyan in the early stages of ontogeny lectin activity significantly decreased in both types of chloroplasts, and the flowering stage, when these mutants almost disappears morphological manifestation

chlorophyll deficient significantly increases the activity of chloroplast small in comparison with the original model. We believe that because of that suppressed the early stages of plant development lines M-80, M-81 and M-84 still survive and knotted seeds, but have thus far lower productivity. At the same time, as we have previously found mesophyllous chlorophyll leaves of these mutants have altered plastid apparatus relative initial variety Cyan and respect each other and we believe that these plant genotypes more (especially before flowering) can exist and it is for photosynthetic the score of chloroplasts, and starting from the stage of flowering, in the process also involved lectins.

Thus, we have found that lectins are involved in photosynthesis chlorophyll mutants, but their contribution depends on the type chlorophyll deficient. He expressed most clearly in line M-28, where we believe it lectin causes not only the existence of the genotype, but also improve important traits such as productive oil content with baseline genotype and grade standards.

*Key words: Linum humile Mill, chlorophyll deficient, lectin activity, chloroplast, lectin-pigment complex.*

## ВСТУП

Найважливішим процесом у житті рослини є фотосинтез, завдяки якому вона накопичує органічну масу з води та вуглекислого газу під дією сонячного світла. Здатність рослини до фотосинтезу та його інтенсивність, насамперед, залежить від пігментного складу: хлорофілів «а», «b», а також каротиноїдів. Вміст хлорофілів у листках становить зазвичай 0,6 – 1,2 % від їхньої сухої маси і залежить як від виду рослин, так і від умов їх вирощування (рівень освітлення, температура, забезпеченість елементами мінерального живлення) [1].

Вивчення процесів фотосинтезу та намагання керувати фотосинтетичною діяльністю зелених рослин триває понад два сторіччя, але і досі є одним з найважливіших питань сучасної фізіології рослин. Протягом багатьох років для проведення таких спеціальних досліджень використовують рослини мутантної природи з хлорофільною недостатністю [2]. Значні зміни в складі та співвідношенні пігментів у таких рослин призводять спочатку до фізіологічних, а згодом і до морфологічних змін, тому інтенсивність фотосинтезу в більшості хлорофільних мутантів значно нижча, ніж у зелених рослин [3, 4]. Однак на теперішній час виділені і мутанти з добре розвинутою структурою хлоропластів і високою продуктивністю, що дає підстави зробити висновок про можливий вплив на підвищення продуктивності рослин шляхом впливу на хлоропласти [5]

Різний ступінь стимулювання або інгібування окремих груп пігментів призводить до зміни співвідношення їх в рослині і, внаслідок цього, – до зміни кольору цієї рослини. Залежно від того, яка форма хлорофілу («а» чи «b») змінюється, посилюється синьо-зелене, жовте або зелене забарвлення. При значному чи повному інгібуванні зелених пігментів забарвлення тканини буде визначатися вмістом жовтих пігментів або антоціанів [1].

Значні зміни в складі та співвідношенні пігментів призводять спочатку до фізіологічних, а згодом і до морфологічних змін. Ці зміни пов'язані із забарвленням рослин і їх можна спостерігати на прикладі мутантів з хлорофільною недостатністю. Саме тому хлорофільні мутанти вищих рослин протягом багатьох років використовуються для вивчення процесів фотосинтезу. Цікавим об'єктом для проведення таких досліджень є мутанти льону, отримані в результаті експериментального мутагенезу: M-80, M-81, M-84 та M-28 [6, 7].

Відомо, що лектини беруть безпосередню участь у процесі фотосинтезу. Вони утворюють з пігментами пігмент-лектиновий комплекс, у якому пігменти уловлюють світлову енергію, а лектини, сприйнявши її, змінюють свою конформацію, що призводить до зміни вуглеводної специфічності. Змінені лектини здатні зв'язати розчинені в стромі тілакоїду ферменти циклу Кальвіна. Така гіпотеза була запропонована Алексидзе Г.Я. [8]. За нею лектини – єдина ланка між світловою та темною стадіями фотосинтезу.

Льон олійний (*Linum humile* Mill.) є виключно пластичною культурою. Його широко культивують у Європі, Азії, Північній і Південній Америці, Австралії і навіть в Північній Африці [9, 10]. І скрізь він відрізняється високим потенціалом продуктивності. Очевидно, це пов'язане з ефективною роботою фотосинтетичного апарату. Однак особливості його функціонування в цієї культури вивчені недостатньо.

При використанні індукованого мутагенезу в ряду генотипів льону олійного нами була виділена серія мутацій з різними типами мінус-хлорофільних змін [6, 7]. При цьому деякі з хлорофільних мутантів високопродуктивні і навіть стали сортами, наприклад, сорт Золотистий [11].

Мета цієї роботи – встановити динаміку лектинової активності хлоропластів листя льону олійного сортозразків Циан, Антарес та К-7487, а також їхніх мутантних ліній: М-80, М-84, М-81 та М-28 протягом онтогенезу.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами дослідження були 4 лінії з хлорофільною недостатністю (М-80, М-81, М-84 та М-28) та 2 вихідні генотипи – Циан та К-7487.

Мутантна лінія М-80 отримана при опроміненні насіння сорту Циан дозою 400 Гр. Сім'ядольне листя світло-жовте, у процесі розвитку рослина зеленіє, однак його забарвлення відрізняється від нормального зеленого. До стадії бутонізації верхня частина рослини має блідо-жовте забарвлення, а нижня – світло-зелене. На пізніших стадіях розвитку (цвітіння та стиглість) уся рослина має світло-зелене забарвлення. Рослини доживають до кінця вегетації, зберігаючи ознаки пригніченості. Насіннева продуктивність низька. Мутація віднесена до типу *viridis*.

Мутантна лінія М-81 отримана з сорту Циан при опроміненні дозою 400 Гр. Рослини цієї лінії мають характерне біле-жовте забарвлення. Протягом росту яскраво-жовта пігментація стає тьмяною та рослина доживають до кінця вегетації, зберігаючи ознаки сильної пригніченості. На стадії бутонізації верхня частина рослини має яскраве-жовте забарвлення листя, у середній частині листя стають більш тьмяними та зеленіють в області провідних пучків, а в нижній – мають світло-зелене забарвлення. Насіннева продуктивність рослин низька. Мутація віднесена до типу *xantha*.

Рослини мутантної лінії М-84 отримані при опроміненні дозою 700 Гр., насіння сорту Циан. Мають характерне брудно-жовте забарвлення листя. На стадії бутонізації верхня та нижня частини рослин мають світло-зелене забарвлення, а середня – хлорофільне. На пізніших стадіях розвитку (цвітіння та стиглість) уся рослина має світло-зелене забарвлення. Рослини доживають до кінця вегетації, зберігаючи ознаки пригніченості. Насіннева продуктивність низька. Мутація віднесена до типу *xanthoviridis*.

Мутантна лінія М-28 отримана при опроміненні насіння сортозразка К-7487 дозою 700 Гр. Рослини мають характерне жовто-світло-зелене забарвлення листя, майже рівномірне по всій рослині. Така хлорофільна недостатність зберігається майже не зміненою протягом усього онтогенезу. Цей мутантний зразок завдяки підвищеній продуктивності та олійності в порівнянні з контролем та сортом-стандартом, незважаючи на хлорофільну недостатність, у подальшому став сортом «Золотистий».

Рослини льону вирощувалися в польових умовах. Хлоропласти з листя виділяли шляхом фракційного центрифугування на різних стадіях розвитку. У хлорофільних мутантів 1 групи (М-80, М-81 та М-84) на ранніх стадіях розвитку («ялинка» та бутонізація) аналізувалося листя зі зміненим забарвленням: верхнє для ліній М-80 та М-81 та середнє для лінії М-84.

Лектини з тилакоїдних мембран екстрагували стандартними методами [12] з деякими модифікаціями. Активність лектинів визначали за допомогою реакції гемаглютинації з 2% суспензією еритроцитів кроля [13, 14] з урахуванням концентрації білка. Концентрацію білка визначали спектрофотометричним методом Варбурга-Крістіана [15]. При аналізі лектинову активність виражали як обернену величину – коефіцієнт лектинової активності та виражали у  $(\text{мкг/мл})^{-1}$ . Статистичну обробку проводили за стандартними методиками [16].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Обрані нами хлорофільні мутанти отримані з різних вихідних генотипів і складають такі групи: група Циану – мутантні лінії М-80, М-81 та М-84 та група К-7487 – мутантна лінія М-28.

Ці мутанти за рівномірністю хлорофільної недостатності можна розділити на 2 групи. До першої групи віднесено рослини, у яких хлорофільну недостатність має частина листя, а при переході до генеративних стадій онтогенезу рослини поступово зеленіють – це лінії М-80, М-81 та М-84. У другу групу відокремлено лінію М-28, хлорофільна недостатність якої рівномірно розподілена по всій рослині та змінене забарвлення зберігається протягом усього онтогенезу. Цікавою особливістю цих зразків є той факт, що мутантні лінії мають різний ступінь пригніченості рослин. Так, за цим показником досліджувані хлорофільні мутанти можна розташувати в ряд від найбільш до найменш пригнічених: М-81 – М-84 – М-80 – М-28.

У попередніх роботах нами було показано, що мезофіл листя льону олійного містить два типи клітин: із дрібними хлоропластами та з великими, які, ймовірно, виконують різні функції в процесі фотосинтезу [17, 18]. У дослідженнях Г.Я. Алексидзе [8], було показано, що і лектини мембран хлоропластів беруть участь у цьому процесі. У зв'язку з цим, нами було зроблене припущення, що лектини хлоропластів можуть оптимізувати роботу неповноцінного пігментного апарату хлорофільних мутантів.

Нами були проаналізовані зміни лектинової активності обох типів хлоропластів протягом онтогенезу в хлорофільних мутантах та вихідних сортах. У дослідження були включені послідовні стадії розвитку, протягом яких спостерігається зміна забарвлення рослин: стадія сходів, «ялинки», бутонізації та цвітіння (табл. 1).

Таблиця 1 – Динаміка лектинової активності в різних типах хлоропластів листя льону олійного протягом онтогенезу, (мкг/мл)<sup>-1</sup>

Стадія онтогенезу	Тип хлоропластів	Генотип льону					
		Циан	М-80	М-81	М-84	К-7487	М-28
сходи	дрібні	2,21± 0,218	1,00± 0,024##	0,61± 0,036##	1,03± 0,036##	2,20± 0,086	2,68± 0,087**
	великі	1,43± 0,054	0,82± 0,059##	0,51± 0,039###	0,95± 0,076##	1,77± 0,084	2,22± 0,075*
«ялінка»	дрібні	0,14± 0,013	0,09± 0,005#	0,06± 0,002#	0,09± 0,002#	0,22± 0,018	0,39± 0,020**
	великі	1,39± 0,047	0,27± 0,043###	0,53± 0,170#	0,22± 0,006###	0,47± 0,026	0,52± 0,023**
бутонізація	дрібні	0,34± 0,011	0,23± 0,005##	0,12± 0,002###	0,26± 0,035#	0,28± 0,002	1,01± 0,041***
	великі	0,61± 0,039	0,34± 0,028##	0,42± 0,033#	0,37± 0,015##	0,43± 0,016	5,21± 0,034***
цвітіння	дрібні	0,21± 0,016	0,37± 0,029**	0,28± 0,022*	0,33± 0,013**	0,39± 0,018	0,49± 0,029*
	великі	0,52± 0,041	0,27± 0,009##	0,17± 0,010##	0,25± 0,013##	0,29± 0,011	0,55± 0,046**

Примітка: \*, \*\*, \*\*\* (#, ##, ###) – відмінності від вихідного генотипу суттєві при P < 0,05; 0,01; 0,001 відповідно; # – достовірне зниження; \* – достовірне підвищення.

Із результатів таблиці видно, що в більшості випадків у хлорофільних мутантів групи Циану лектинова активність в обох типах хлоропластів достовірно зменшується в порівнянні з

вихідним сортом Циан. Виняток складають лише дрібні хлоропласти на стадії цвітіння, коли ці мутанти зеленіють, і хлорофільна недостатність майже зникає. У хлорофільного мутанта М-28, навпаки, лектинова активність протягом усього онтогенезу в обох типах хлоропластів достовірно збільшується (табл. 1).

Враховуючи отримані результати та той факт, що саме мутантна лінія М-28 виявилася більш продуктивною, ніж вихідний зразок, незважаючи на явну хлорофільну недостатність, ми вважаємо, що саме лектини тилакоїдних мембран цьому сприяють. Інші ж хлорофільні мутанти протягом онтогенезу є пригніченими та мають продуктивність значно нижчу за вихідний генотип.

У результаті аналізу було виявлено, що рівень лектинової активності тилакоїдних мембран протягом онтогенезу змінюється: найвищу лектинову активність мають хлоропласти на початковому етапі розвитку – стадії сходів, значення якої майже в 10 разів перевищує значення на інших етапах онтогенезу (рис. 1).

Однак ці зміни розрізняються в різних типах хлоропластів. Так, лектинова активність дрібних хлоропластів рослин групи Циану (М-80, М-81, М-84 та Циан) різко знижується на стадії «ялинки», а на пізніших стадіях (бутонізації та цвітіння) поступово підвищується, але не досягає вихідного рівня стадії сходів. У рослин групи К-7487 (М-28 та К-7487) лектинова активність дрібних хлоропластів при переході на стадію «ялинки» значно знижується, на стадію бутонізації – підвищується, а при переході на стадію цвітіння – повертається на рівень «ялинки» (рис. 1, а).

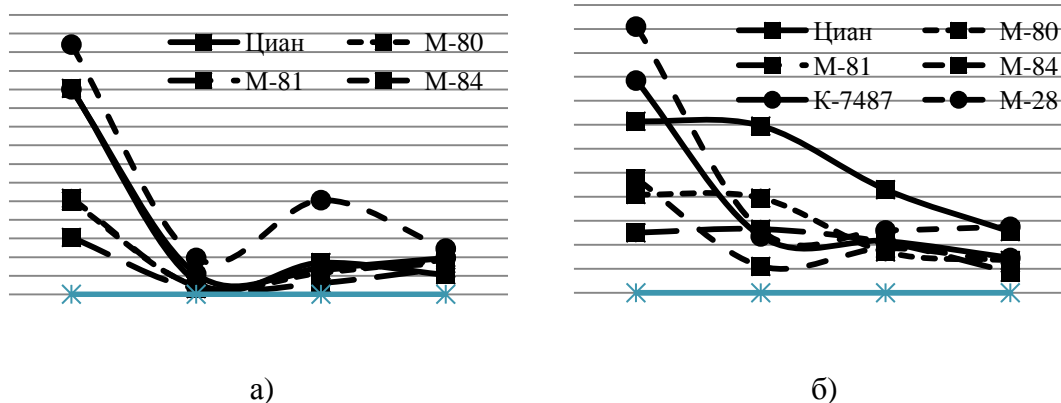


Рис.1 Динаміка лектинової активності різних типів хлоропластів хлорофільних мутантів льону олійного та їх вихідних генотипів протягом онтогенезу: а) дрібні хлоропласти; б) великі хлоропласти

Динаміка змін лектинової активності у великих хлоропластів також в перш чергу залежить від генотипу і найбільше своє значення мають на початковому етапі онтогенезу – стадії сходів. Так, лектинова активність у зразків групи Циану на стадії «ялинки» майже не змінюється, а у подальшому (на стадіях бутонізації та цвітіння) суттєво знижується. Виняток складають лише великі хлоропласти мутантної лінії М-84, у якої лектинова активність на стадії «ялинки» суттєво знижується порівняно зі стадією сходів. У зразків групи К-7487 – при переході на стадію «ялинки» лектинова активність великих хлоропластів суттєво знижується, а на пізніших стадіях – майже не змінюється (рис 1, б).

Розподіл активності між двома типами хлоропластів протягом розвитку відбувався так (рис. 2): на початковому етапі онтогенезу (стадія сходів) більшу лектинову активність мають дрібні хлоропласти, на пізніших стадіях – стадії «ялинки» та бутонізації – більшу лектинову активність мають великі хлоропласти, а на стадії цвітіння різні типи хлоропластів мають приблизно однаковий рівень лектинової активності. Причому такий розподіл лектинової активності не виявив залежності від генотипу: він спостерігається і в хлорофільних мутантах, і у вихідних генотипах.

Як видно з представлених даних (рис. 2, а), на стадії сходів значно вищою лектиновою активністю характеризуються дрібні хлоропласти в порівнянні з великими. На стадії ж «ялинки» у всіх досліджених генотипів значно вищою лектиновою активністю характеризується фракція великих хлоропластів. Особливо яскраво це можна продемонструвати на прикладі генотипів групи Циану (рис. 2 б), де вклад дрібних хлоропластів складає менше 10 % від загальної лектинової активності тилакоїдних мембран.

На стадії бутонізації також переважає лектинова активність у великих хлоропластах, але внесок в загальний рівень дрібних хлоропластів є значно суттєвішим у порівнянні з більш ранньою стадією «ялинки». Так, внесок дрібних хлоропластів у більшості досліджуваних генотипів підвищується до 30-40 % (рис. 2 в), однак лектинова активність великих хлоропластів залишається на більш високому рівні.

При переході рослин льону до стадії цвітіння лектинова активність дрібних хлоропластів у хлорофільних мутантів на відміну від більш ранніх стадій розвитку переважно збільшується (рис. 2 г) у порівнянні з вихідними генотипами. Таку тенденцію ми можемо спостерігати у всіх досліджуваних ліній.

Підсумовуючи отримані дані, можна сказати, що лектини беруть участь у процесі фотосинтезу хлорофільних мутантів льону олійного, особливо це стосується хлорофільних мутантів, у яких хлорофільну недостатність має уся рослина та її інтенсивність не зменшується протягом онтогенезу – лінія М-28. Особливу роль лектинам у процесі фотосинтезу слід відвести, на нашу думку, лектинам у лінії М-28, у зв'язку з тим, що рівень лектинової активності в його хлоропластах (обох типах) збільшується значною мірою у порівнянні з вихідним К-7487 протягом усього онтогенезу. Крім того, мутантній лінії М-28, єдиній з досліджених, був наданий статус сорту («Золотистий»), у зв'язку з тим, що вона має вищу продуктивність та олійність у порівнянні з вихідним зразком, а також з сортом стандартом на території України – Південна ніч.

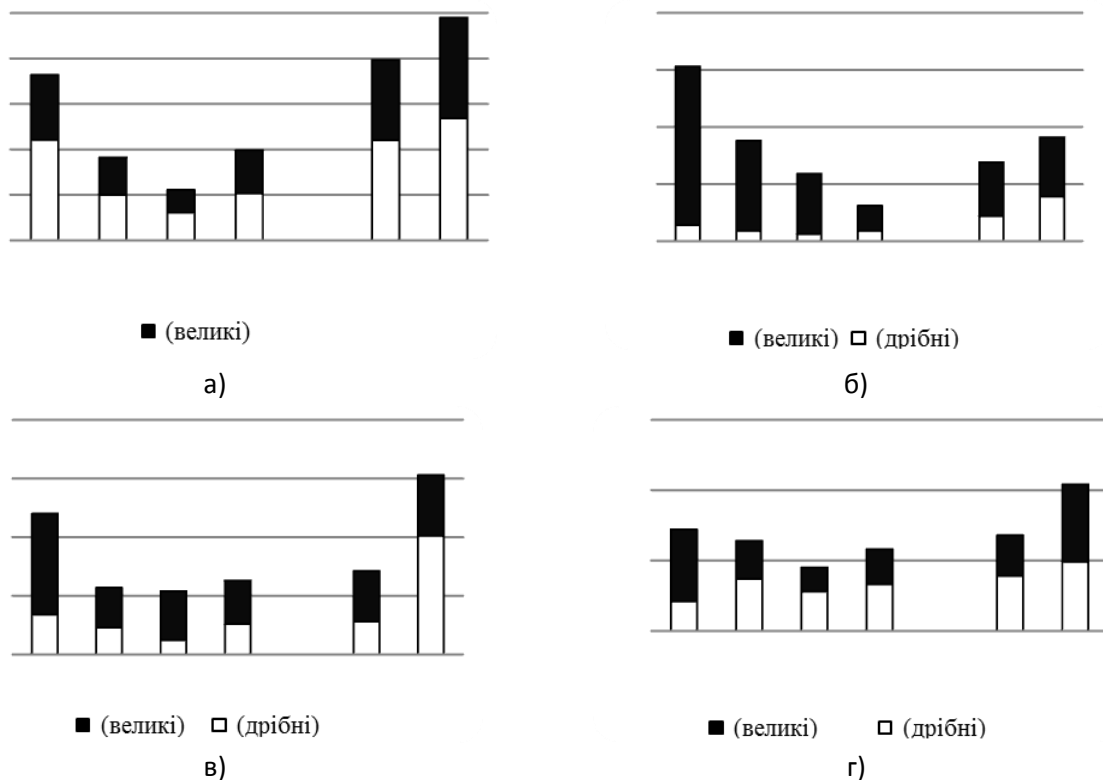


Рис. 2 Лектинова активність різних типів хлоропластів в мезофілі хлорофільних мутантів льону олійного та їх вихідних генотипів протягом онтогенезу: а) на стадія сходів; б) на стадії «ялинки»; в) на стадії бутонізації; г) на стадії цвітіння.



У мутантів групи Циану на початкових стадіях онтогенезу лектинова активність значно знижувалася у обох типах хлоропластів, а на стадії цвітінні, коли в цих мутантах майже зникає морфологічний прояв хлорофільної недостатності, значно збільшується активність дрібних хлоропластів у порівнянні з вихідним зразком. Ми вважаємо, що саме завдяки цьому пригнічені на початкових етапах розвитку рослини ліній М-80, М-81 та М-84 все ж таки виживають та зав'язують насіння, але мають при цьому значно нижчу продуктивність. Як нами було раніше встановлено [17], мезофіл хлорофільного листя цих мутантів має змінений пластидний апарат відносно вихідного сорту Циан, а також відносно один одного і ми вважаємо, що рослини цих генотипів більшою мірою (особливо до цвітіння) здатні існувати та фотосинтезувати саме за рахунок змінених хлоропластів, а починаючи зі стадії цвітіння, у цьому процесі беруть участь також і лектини.

Отже, нами було встановлено, що лектини беруть безпосередню участь у процесі фотосинтезу хлорофільних мутантів, однак їхній вклад залежить від типу хлорофільної недостатності. Найяскравіше він виражений у лінії М-28, де, на нашу думку, саме лектин зумовлює не тільки існування цього генотипу, а й підвищення таких важливих ознак, як продуктивність та олійність порівняно з вихідним генотипом, а також сортом-стандартом.

Надалі планується дослідити рівень лектинової активності в інших хлорофільних мутантах, а також дослідити динаміку лектинової активності не тільки в хлорофіл-дефіцитних частинах мутантних рослин льону, а й у зеленій частині цих рослин. Крім того, планується дослідити динаміку активності головного ферменту циклу Кальвіна – рибулозобифосфаткарбоксілази у листі мутантних рослин у порівнянні з зеленими рослинами льону.

### ВИСНОВКИ

1. Показано, що активність лектинів хлоропластів хлорофільних мутантів змінюється в порівнянні з контролем, а рівень цих змін залежить від типу хлорофільної недостатності.
2. Встановлено, що в мутантного зразка з рівномірним проявом хлорофільної недостатності (М-28) рівень лектинової активності обох типів хлоропластів є вищим у порівнянні з контролем протягом усього онтогенезу.
3. Виявлено, що в хлорофільних мутантах з частковим проявом хлорофільної недостатності (М-80, М-81 та М-84) на початкових етапах онтогенезу лектинова активність значно нижча за контрольний варіант, а на стадії цвітіння – достовірно збільшується в дрібних хлоропластах, а у великих достовірно від контролю не відрізняється.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Алехина Н.Д. Физиология растений / Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. – М. : «Академия», 2005. – 640 с.
2. Гостимский С.А. Цитогенетический анализ хлорофильных мутантов гороха / С.А. Гостимский // Теория химического мутагенеза. – М. : Наука, 1971. – С. 64-69.
3. Гостимский С.А. Характеристика фотосинтетического аппарата жизнеспособных хлорофильных мутантов гороха / С.А. Гостимский, Т.Е. Кренделева, Г.П. Кухарский, Н.В. Низовская, Г.А. Храмова // Физиология растений. – 1991. – Т. 38, № 1. – С. 31-37.
4. Ладыгин В.Г. Структурно-функциональная организация хлоропластов у мутанта *xantha-702* хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. / В.Г. Ладыгин, Г.А. Семёнова, И.Д. Шегай // Цитология. – 2006. – Т. 48, № 7. – С. 537-553.
5. Ладыгин В.Г. Фотосинтез и продукционный процесс / Ладыгин В.Г., Тагеева С.В., Семенова Г.А. – М., 1988. – С.252-257.
6. Лях В.А. Генетическая коллекция вида *Linum usitatissimum* L.: [каталог] / Лях В.А., Мищенко Л.Ю., Полякова И.А. – Запорожье, 2003. – 60 с.

7. Лях В.А. Индуцированный мутагенез масличных культур: / Лях В.А., Полякова И.А., Сорока А.И. – Запорожье : ЗНУ, 2009. – 266 с.
8. Алексидзе Г.Я. Модель организации на мембране тилакоидов комплекса ферментов цикла Кальвина с участием лектина фотосистемы I / Г.Я. Алексидзе, А.И. Литвинов, Э.И. Выскребенцева // Физиология растений. – 2002. – Т. 49, № 1. – С. 155-159.
9. Кутузова С.Н. Генетика льна / С.Н. Кутузова // Генетика культурных растений. – 1998. – С. 6-52.
10. Лях В.А. Ботанические и цитогенетические особенности видов рода *Linum* и биотехнологические пути работы с ними / В.А. Лях, А.И. Сорока. – Запорожье : ЗНУ, 2008. – 182 с. – (монография)
11. Лях В.О. А.с. 05131, Украина. Сорт льону олійного Золотистий / В.О. Лях, Л.Ю. Міщенко, І.О. Полякова. – № 03094002. Занесений до реєстру сортів України в 2005 р.
12. Комарова Э.М. Активность лектиноподобных белков клеточных стенок и внешних мембран органелл и их связь с эндогенными лигандами в проростках озимой пшеницы при холодной адаптации / Э.М. Комарова, Э.И. Выскребенцева, Т.И. Трунова // Физиология растений. – 2003. – Т.50, № 4. – С. 511-516.
13. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела / Володимир Олександрович Антонюк. – Львів, 2005. – 554 с.
14. Луцик М.Д. Лектины / Луцик М.Д., Панасюк В.М., Луцик А.Д. – Львов : Вища школа, 1981. – 156 с.
15. Handbook of biochemistry / [Dosen R., Eliot D., Eliot U., Jons K.]. – М., 1991. – 464 p.
16. Лакин Г.Ф. Биометрия / Лакин Г.Ф. – М.: Высшая школа, 1990. – 351 с.
17. Полякова И.А. Сравнительная морфология хлорофилльных мутантов льна масличного и их пластидного аппарата / И.А. Полякова, А.Н. Левчук, В.В. Яранцева, В.А. Лях // Актуальні питання біології, екології та хімії: електронне наукове видання [Електронний ресурс] / Запорізький національний університет. – 2011. – Т. 3, № 1 – С.66-74.
18. Левчук А.Н. Особенности морфологии пластидного аппарата хлорофилльных мутантов льна масличного / А.Н. Левчук, И.А. Полякова, Е.Н. Войтович, В.А. Лях // Физиология и биохимия культурных растений – 2012. – Т.44, № 3. – С. 232-239.

#### REFERENCE

1. Alehina N.D. Fiziologija rastenij / N.D. Alehina, Ju.V. Balnokin, V.F. Gavrilenko i dr. [pod red. Ermakova I.P.] – М.: Izdatel'skij centr «Akademija», 2005. – 640 s.
2. Gostimskij S.A. Citogeneticheskij analiz hlorofil'nyh mutantov goroha / S.A. Gostimskij // Teorija himicheskogo mutageneza. – М.: Nauka, 1971. – S.64-69.
3. Gostimskij S.A. Harakteristika fotosinteticheskogo apparata zhiznesposobnyh hlorofil'nyh mutantov goroha / S.A. Gostimskij, T.E. Krendeleva, G.P. Kuharskij, N.V. Nizovskaja, G.A. Hramova // Fiziologija rastenij. – 1991. – t. 38 (1). – S. 31-37.
4. Ladygin V.G. Strukturno-funcional'naja organizacija hloroplastov u mutanta xantha-702 hlochatnika *Gossypium hirsutum* L. / V.G. Ladygin, G. A. Semjonova, I.D. Shegaj // Citologija. – 2006. – Т. 48, № 7. – S. 537-553.
5. Ladygin V.G. Fotosintez i produkcijnyj process / V.G. Ladygin, S.V. Tageeva, G.A. Semenova. – М., 1988. – S.252-257.
6. Ljah V.A. Geneticheskaja kollekcija vida *Linum usitatissimum* L. / V.A. Ljah, L.Ju. Mishhenko, I.A. Poljakova (katalog). – Zaporozh'e, 2003. – 60 s.

7. Ljah V.A. Inducirovannyj mutagenез maslichnyh kul'tur / V.A. Ljah, I.A. Poljakova, A.I. Soroka. – Zaporozh'e: ZNU, 2009. – 266 s.
8. Aleksidze G.Ja., Litvinov A.I., Vyskrebenceva Je.I. Model' organizacii na membrane tilakoidov kompleksa fermentov cikla Kal'vina s uchastiem lektina fotosistemy I / G.Ja. Aleksidze, A.I. Litvinov, Je.I. Vyskrebenceva // Fiziologija rastenij – 2002. – T. 49, № 1. – S. 155-159.
9. Kutuzova S.N. Genetika l'na / S.N. Kutuzova // Genetika kul'turnyh rastenij. – Sankt-Peterburg, 1998. – S. 6-52.
10. Ljah V.A. Botanicheskie i citogeneticheskie osobennosti vidov roda *Linum* i bioteknologicheskie puti raboty s nimi (monografija) / V.A. Ljah, A.I. Soroka. – Zaporozh'e: ZNU, 2008. – 182 s.
11. Ljah V.O. A.s. 05131, Ukraina. Sort l'onu olijnogo Zolotistij / V.O. Ljah, L.Ju. Mishhenko, I.O. Poljakova. – № 03094002. Zanesenij do reestru sortiv Ukraïni v 2005 r.
12. Komarova Je.M. Aktivnost' lektinopodobnyh belkov kletocnyh stenok i vneshnih membran organell i ih svjaz' s jendogennymi ligandami v prorostkah ozimoi pshenicy pri holodovoi adaptacii / Je.M. Komarova, Je.I. Vyskrebenceva, T.I. Trunova // Fiziologija rastenij. 2003. T.50, № 4. S. 511 – 516.
13. Antonjuk V.O. Lektini ta ih sirovinni dzherela / V.O. Antonjuk. – L'viv. – 2005. – 554 s.
14. Lucik M.D. Lektiny / M.D. Lucik, V.M. Panasjuk. A.D. Lucik. – L'vov: Vishha shkola, 1981. – 156 s.
15. Doson R. Handbook of biochemistry / R. Doson, D. Eliot, U. Eliot, K. Jons. – M., 1991. – 464 p.
16. Lakin G.F. Biometrija / G.F. Lakin – M.: Vysshaja shkola, 1990. – 351 s.
17. Poljakova I.A. Sravnitel'naja morfologija hlorofill'nyh mutantov l'na maslichnogo i ih plastidnogo apparat / I.A. Poljakova, A.N. Levchuk, V.V. Jaranceva, V.A. Ljah // Aktual'ni pitannja biologii, ekologii ta himii: elektronne naukovе vidannja [elektronnij resurs] / Zaporiz'kij nacional'nij universitet. – 2011. – T. 3, № 1 – S.66-74.
18. Levchuk A.N. Osobennosti morfologii plastidnogo apparata hlorofill'nyh mutantov l'na maslichnogo / A.N. Levchuk, I.A. Poljakova, E.N. Vojtovich, V.A. Ljah // Fiziologija i biohimija kul'turnyh rastenij – 2012. – T.44, № 3. – S. 232-239.

УДК 633.854.54: 631.524.7

## НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ ЦВЕТКА МЕЖВИДОВЫМИ ГИБРИДАМИ F<sub>1</sub> ЛЬНА

Поляков В.А.,<sup>1</sup> Лях В.А.

*Институт масличных культур НААН  
70417, Украина, Запорожский район, Запорожская область,  
пос. Солнечный, ул. Институтская, 1  
<sup>1</sup>Запорожский национальный университет  
69600, Украина, Запорожье, ул. Жуковского, 66*

eradan\_90@mail.ru

В статье представлены результаты изучения наследования признаков цветка межвидовыми гибридами льна, полученными от скрещивания белоцветкового сорта Золотистый с однолетними дикими видами с n=15 *L. angustifolium*, *L. bienne*, *L. hispanicum* и *L. crepitans*. Установлено, что голубая окраска венчика доминирует над белой у гибрида с участием *L. angustifolium*, и является более насыщенной при вовлечении в скрещивания *L. bienne*, *L. hispanicum* и *L. crepitans*. У всех межвидовых гибридов доминировали голубая окраска пыльников, наличие окраски у жилок основания лепестка венчика и открытая форма венчика. У гибрида с участием *L. hispanicum* полная степень раскрытия цветка доминирует над полусвернутой, тогда как у гибрида F<sub>1</sub> комбинации скрещивания Золотистый x *L. crepitans* полусвернутость цветка доминирует над его открытостью. Во всех комбинациях скрещивания цветков гибридных растений по диаметру был существенно меньше культурного родителя и ближе к дикой родительской форме.

*Ключевые слова:* *L. humile*, *L. angustifolium*, *L. bienne*, *L. hispanicum*, *L. crepitans*, межвидовые гибриды,