



УДК 577.152.087:581.2

АКТИВНІСТЬ ЛІПОКСИГЕНАЗИ Й УЛЬТРАСТРУКТУРНА БУДОВА КОРЕНЕВИЩА СПОРОНОСНОГО І ВЕГЕТАТИВНОГО ПАГОНІВ *EQUISETUM ARVENSE* L.

Л. М. Бабенко, М. М. Щербатюк, І. В. Косаківська

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, Київ 01601, Україна
e-mail: lilia.babenko@gmail.com

Досліджено характер змін активності ліпоксигенази (ЛОГ) та ультраструктуру клітин кореневища хвоща польового (*Equisetum arvense* L.) в онтогенезі. Проаналізовано активність ЛОГ в онтогенезі у кореневищ спорозносно і вегетативного пагонів. Встановлено, що вихід зі стану спокою відбувається на тлі зростання активності 9-ЛОГ. У кореневищах вегетативних пагонів ідентифікована активність 9-ЛОГ, тоді як у кореневищах генеративних пагонів виявлено 9-ЛОГ і 13-ЛОГ активності. З'ясовано, що зміни в активності ліпоксигенази в цілому узгоджуються з динамікою метаболізації ліпідів у кореневищі *E. arvense* упродовж онтогенезу. У диференційованому кореневищі *E. arvense*, на відміну від наземного стебла, немає валекулярних каналів і порожнини всередині. Практично весь простір між покривною тканиною та провідними пучками заповнений крупними клітинами основної паренхіми, яка виконує запасуючу функцію. Клітини паренхіми вакуолізовані, містять численні амілопласти, заповнені крохмальними зернами. Виявлені специфічні зміни, що відбувалися в ультраструктурі клітин кореневища хвоща під час виходу зі стану спокою, а саме: зменшення числа крохмальних зерен в амілопластах і збільшення кількості ліпідних крапель, які формують розташовані поруч із плазмолемою характерні скупчення. У клітинах епідерми (ризодерми) та поверхневих шарах клітин паренхіми, що залягають ближче до ризодерми, ідентифіковані численні осмієфільні пігментні гранули значної електронної густини, які зумовлюють темний колір кореневища.

Ключові слова: *Equisetum arvense* L., ліпоксигеназа, жасмонова кислота, ультраструктура.

ВСТУП

Ліпоксигенази (лінолеат:кисень:оксидоредуктази КФ 1.13.11.12, (ЛОГ) – клас негемових залізовмісних діоксигеназ, які каталізують окиснення поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), що містять 1,4-*цис*-, *цис*-пентадієнову систему, з утворенням гідропероксидів *транс*- і *цис*-кон'югованих дієнів [9]. Така реакція є ключовою у циклі окиснення поліненасичених жирних кислот [1, 2, 12, 15, 16]. Подальші перетворення ферментами ліпоксигеназної системи призводять до утворення окислених похідних ПНЖК, у тому числі фізіологічно активних сполук – оксиліпінів, які забезпечують відповідь організму на дію абіотичних і біотичних стресорів, а також

участь у процесах росту, розвитку, старіння клітин і клітинної смерті, захисті від патогенного ураження. До головних фізіологічних функцій ліпоксигеназ належать участь у процесах перекисного окиснення ліпідів і синтезі сигнальних сполук, а також мобілізація ліпідів [12, 21]. Ліпоксигенази знайдені у тканинах тварин, вищих рослин, папоротей, хвощів, водоростей, мохів, дріжджів, грибів і ціанобактерій [2–5, 10, 14, 21, 26, 27]. Більша частина ліпоксигеназ є розчинними цитоплазматичними ензимами, проте окремі з них виявлені у хлоропластах, мітохондріях і вакуолях. Завдяки високому вмісту і відносній стабільності ліпоксигенази вищих рослин виділені й очищені до гомогенного стану, охарактеризовані їхні структура та біологічні властивості [16]. Однак відомості про фізіологічну функцію ЛОГ спорових рослин обмежені та потребують подальшого вивчення.

Хвощі належать до одних із найдавніших рослин, які з'явилися більше 300 млн років тому в девоні палеозойської ери і досягли розквіту в кам'яновугільний період. У наш час відділ хвощеподібних (*Equisetophyta*) представлений одним родом Хвощ (*Equisetum*), який налічує 32 види, із них 9 видів росте в Україні [20]. У попередніх дослідженнях ми виявили дві ізоформи ліпоксигенази – 13-ЛОГ та 9-ЛОГ і встановили характер залежності їхнього розподілу в різних органах надземної частини репродуктивного і вегетативного пагонів *E. arvense* від фази онтогенетичного розвитку [4]. Також було досліджено ультраструктуру клітин вегетативних пагонів *E. arvense* [24] і досить детально вивчено структуру і характер відкладень кремнезему в пагонах цього виду [25]. Вивчена динаміка вмісту хлоропластних пігментів різних органів *E. arvense* в онтогенезі й ультраструктурні особливості його фотосинтезуючих тканин [23].

Метою цієї роботи було дослідження ліпоксигеназної активності й вивчення ультраструктури клітин кореневища *E. arvense* на різних етапах онтогенезу для з'ясування можливої участі ензиму в мобілізації ліпідів у разі переходу до активного розвитку й у виявленні специфічних структурних перебудов, що відбуваються на тлі активізації метаболічних процесів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження були кореневища *E. arvense*, який ріс на науково-виробничій базі Інституту ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України “Феофанія” (Київ) в умовах Північного Лісостепу України. *E. arvense* – це багаторічна трав'яниста рослина, що має пагони двох типів: репродуктивні (спороносні) і вегетативні (асимілюючі). Спороносні пагони – рожево-бурі, нерозгалужені, членисто-кільчастої будови, складаються з 6–7 міжвузлів і коротких вузлів, від яких відходять розміщені кільцями листки, що зростаються між собою основою, утворюючи потовщені кільцеві піхвові прилистки з 8–10 чорно-бурими зубцями. Спороносні пагони, що з'являються навесні (березень – початок травня), на верхівках містять яйцеподібно-циліндричні стробіли зі спорангіями, в яких утворюються спори. Після дозрівання спор репродуктивні пагони відмирають, а замість них розвиваються вегетативні. Міжвузля вегетативних пагонів зелені, шорсткі, з добре помітними ребрами. У вузлах містяться листки, які при основі зрослися у циліндричні зелені піхви, що нещільно прилягають до міжвузлів і закінчуються опуклими, ланцетними, загостреними, чорно-бурими, вузько-білооблямованими верхівками з більш-менш виразною кільцевою борозною та кільця три-чотиригранних, без порожнини всередині гілок. Листки іноді зростаються по два або три. Гілки, як і стебла, мають членисто-кільчасту будову. У вузлах гілок першого порядку, з нижнього ярусу, згодом, починають формуватися гілки другого порядку і так далі. Пагони досягають у висоту 15–50 см. Гілки, як і стебла, зелені, беруть

участь у процесі фотосинтезу [20]. Кореневище хвоща польового залягає у ґрунті горизонтальними та вертикальними тяжами. Воно бурувато-чорного кольору, без середньої порожнини, повзуче, сильно розгалужене з довгими міжвузлями, які почленовані вузлами, що мають листкові піхви, утворені редукованими листками. Як і на надземних стеблах, на кореневищах під захистом редукованих листків закладаються бруньки майбутніх пагонів і коренів, але, на відміну від надземних пагонів, більшість стеблових бруньок на кореневищах зазвичай залишаються сплячими, а зачатки коренів часто проростають, пробиваючи листкові піхви, тому вузли кореневища частіше мають не відгалуження пагонів, а додаткові відгалуження коренів. Деякі бічні бруньки як на горизонтальних, так і на вертикальних кореневищах, проростаючи, утворюють бульбочки, які являють собою сильно потовщене, видозмінене і вкорочене міжвузля [11, 18].

Зразки тканин відбирали упродовж усього періоду вегетації. У період спокою для аналізу були відібрані тільки зразки кореневища, оскільки взимку надземна частина у *E. arvense* відмирає. Вегетаційні досліді проводили у 2011–2013 рр. Стадії відбору зазначені на рисунках. Для виділення ліпоксигенази наважки тканин гомогенізували в охолодженому до +4 °С 0,1 М фосфатному буфері, рН 6,3 з додаванням 2 мМ фенілметилсульфонілфториду. Після 30-ти хвилин екстракції при перемішуванні гомогенат центрифугували на центрифугу "WPW-310" (Польща) при 10 000 об./хв протягом 20 хв. Отриману надосадову рідину використовували для визначення ензиматичної активності. Визначення активності ферменту проводили за методом [4, 13]. Вміст білка визначали за методом Бредфорд [6].

Анатомічні особливості кореневища *E. arvense* досліджували у сканувальному електронному мікроскопі JEOL JSM-6060 LA (Японія). Для цього вирізали поперечні секції кореневища довжиною 2–3 мм і наклеювали їх на поверхню металевих предметних столиків за допомогою двобічної клейкої стрічки. Приготовані таким чином препарати заморожували за температури рідкого азоту, висушували при температурі –40 °С у вакуумі, потім покривали шаром золота в іонному напилювачі для надання їм кондуктивності.

Для дослідження ультраструктури клітин кореневища проводили відбір фрагментів розміром 1×2 мм, які фіксували розчином 3%-ного глутарового альдегіду "Fluka AG" (ФРН) і 1%-ного чотириокису осмію, потім зневоднювали в серії розчинів етилового спирту зростаючої концентрації і після обробки ацетоном переносили їх у суміш епоксидних смол епону й аралдиту "Fluka AG" (ФРН) згідно з загальноприйнятими методиками [7, 17]. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікромомі LKB-3 (Швеція) й аналізували у мікроскопі JEOL, JEM-1230 (Японія). Досліді проводили у двох біологічних і трьох аналітичних повторях. Відмінності обговорюваних результатів можливі при рівні значення $p \leq 0,05$ відповідно до критерію Стьюдента. На діаграмах представлені середні арифметичні та їхні стандартні помилки.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

У кореневищах *E. arvense*, що перебували у стані фізіологічного спокою, виявлено 9-ЛОГ, рН 4,2 (рис. 1). Наявність у кореневищі ЛОГ із низьким значенням оптимуму рН розглядається як одна зі складових механізму адаптації *E. arvense* до існування у кислому ґрунті (рН 4,8) [4]. На зразках кореневищ, зібраних у листопаді-грудні, були знайдені крохмалевмісні бульбочки, діаметр яких становив 2,5–5 мм. На кореневищах, відібраних навесні, бульбочок не було, що пояснюється мобілізацією із них запасних речовин при відновленні ростових процесів. Встанов-

лено, що на вузлах кореневища в усіх відібраних зразків під захистом листових піхв формувалися зачатки пагонів (бруньки) і зачатки коренів. Бруньки являли собою вкорочені спороносні пагони, що містили 6–7 міжвузлів і зачатковий стробіл. Зазвичай у зимовий період більшість бруньок перебуває у сплячому стані, довжина їх дорівнює 0,5–2,5 мм. Виявлену варіабельність у морфометричних показниках можна пояснити аномально високими температурами повітря в першій половині зими досліджуваного періоду. Упродовж осінньо-зимового періоду відбувалось незначне збільшення активності ЛОГ: у кореневищах на 20 % і у бруньках на 12 % та зниження у бульбочках на 25 % (рис. 1).

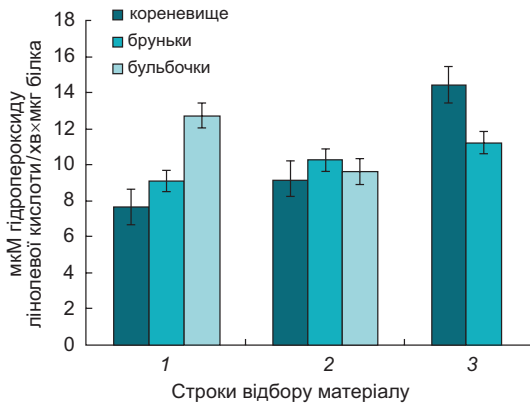


Рис. 1. Активність 9-ЛОГ в органах підземної частини *E. arvense* на різних етапах онтогенезу. Строки відбору матеріалу: 1 – 21.11; 2 – 21.12; 3 – 03.04

Fig. 1. The activity of 9-LOX from underground organs of *E. arvense* at different stages of ontogenesis. Terms of material collection: 1 – 21.11; 2 – 21.12; 3 – 03.04

Ближче до середини весни (03.04.) за умови встановлення позитивної середньодобової температури зачатки пагонів (бруньки) виходили зі стану спокою, відновлюючи ростову активність. Відповідно активність ліпоксигенази у кореневищах зростала майже удвічі, а у бруньках на 25 %. Слідові значення активності 13-ЛОГ (рН 7,2) ($0,23 \pm 0,002$ мкМ гідропероксиду лінолевої кислоти/хв×мкг білка) зафіксовані у бруньках кореневища. У попередніх дослідженнях 13-ЛОГ активність була ідентифікована в надземній (стробіл, міжвузля, листки) і підземній (кореневище) частинах генеративного пагона *E. arvense*, тоді як 9-ЛОГ – тільки у стробілі та кореневищі [4]. Ми встановили, що 9-ЛОГ активність у кореневищі після (під час) висипання спор (на початку процесу відмирання генеративного пагона) значно зростала, а 13-ЛОГ активність, навпаки, знижувалась (рис. 2). 9-ЛОГ активність була ідентифікована лише у кореневищі вегетативного пагона. Подібний тип розподілу ЛОГ активності характерний для вищих рослин, зокрема для картоплі, у якої 13-ЛОГ наявна лише у листках і стеблах, а 9-ЛОГ – у бульбах [15]. У процесі онтогенезу *E. arvense* (в першій половині літа) величина 9-ЛОГ активності в кореневищах вегетуючих рослин майже не змінювалась (рис. 3). Ймовірно, це обумовлено призупиненням активних метаболічних процесів у кореневищі та розгортанням їх у вегетуючих органах пагона в цей період онтогенезу. Відомо, що основними продуктами ліпоксигеназних реакцій є моногідроперокси, які виконують різні фізіологічні функції, при цьому 9-ЛОГ каталізує реакцію утворення 9-гідропероксидів, а 13-ЛОГ – 13-гідропероксидів поліненасичених жирних кислот (ПНЖК). 13-гідроперокси є попередниками біологічно активних речовин, таких як травматин, жасмонова кислота (ЖК) та її похідні [2, 22]. Жасмонати утворюються із лінолевої кислоти через октадеканойдний шлях за допомогою ферментів ліпоксигеназного каскаду. Біосинтез розпочинається у пластидах, а подальше ензиматичне перетворення октадеканойдів відбувається у перокси-

сомах [2, 22]. Жасмонати знайдені у водоростей, мохів, грибів, голонасінних і покритонасінних [8, 22]. Найбільша їх різноманітність властива грибам. Рівень ЖК у рослинах варіює залежно від функції тканин і типу клітин, фази розвитку та дії на них чинників зовнішнього середовища [8, 19]. Доведено, що ЖК у квіткових рослин бере участь у двох принципово різних регуляторних процесах: регуляції вегетативного росту і формуванні імунної відповіді [19]. У судинних спорових рослин фізіологічні функції жасмонатів малодосліджені.

Рис. 2. Активність ізоформ ліпоксигенази в кореневищі генеративного пагона *E. arvense* (матеріал збирали у другій половині квітня) на різних стадіях онтогенезу. Стадії відбору: 1 – стадія меристематичного пагона; 2 – пагін на стадії закритого стробілу; 3 – пагін на стадії відкритого стробілу

Fig. 2. The activity of lipoxygenase isoforms from rhizome generative shoot *E. arvense* (material collected in the second half of April) at different stages of ontogenesis. Stages of material collection: 1 – stage of meristematic shoot; 2 – shoot at the stage when strobilus closed; 3 – shoot at the stage of strobilus opening

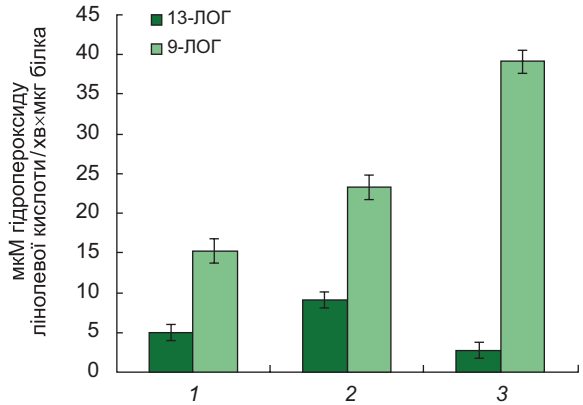
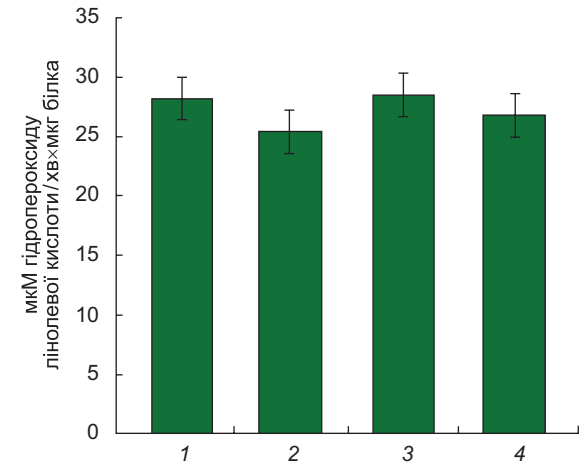


Рис. 3. Активність 9-ЛОГ у кореневищі вегетативного пагона *E. arvense* на різних етапах онтогенезу (матеріал збирали у другій половині липня). Стадії відбору: 1 – стадія 15 см пагона; 2 – стадія 25 см пагона; 3 – стадія 30 см пагона; 4 – стадія 40 см пагона

Fig. 3. The activity of 9-LOX in vegetative rhizome of *E. arvense* at different stages of ontogenesis (the material collected in the second half of July). Stages of material collection: 1 – stage of 15 cm shoot; 2 – stage of 25 cm shoot; 3 – stage of 30 cm shoot; 4 – stage of 40 cm shoot



9-Гiдроперокси ПНЖК вищих рослин є попередниками сполук, які стимулюють синтез кетолів, що індукують цвітіння, забезпечуючи забарвлення квітів, захист і апоптоз листків у разі ураження патогенами, регулюють бульбоутворення. В умовах *in vivo* продукти ліпоксигеназної реакції індукували бульбоутворення, викликаючи переорієнтацію мікротрубочок, що призводило до збільшення радіального розтягування клітин і сприяло розвитку бульби [15]. Фізіологічна функція 9-гiдропероксиду ПНЖК у хвощів поки що не встановлена. У наших дослідженнях було встановлено, що в період переходу до стану спокою найвищий показник активності 9-ЛОГ був у бульбочках хвоща (рис. 1).

E. arvense належить до багаторічних рослин, які взимку залишають у ґрунті лише розгалужене кореневище. У кореневищі відсутні продихи, а також фотосинтезуюча паренхіма (хлоренхіма) і тяжі механічної тканини такого ж типу, як у надземних вегетативних пагонах [11]. У вегетаційному досліді виявилось, що максимум ростової активності припадав на липень. Суха речовина нагромаджувалась у кореневищах до жовтня. З наближенням до зими суха маса тканин кореневища трохи знижувалася. Бульбочки, ініційовані протягом серпня, збільшувались у розмірах і кількісно до листопада, після періоду активного росту пагона. Їхня маса стабілізувалася з початком процесу відмирання надземної частини рослин [18].

Під епідермою (ризодермою) міжвузлів кореневища залягає кілька шарів відносно товстостінних паренхімних клітин, що не дерев'яніють, і в клітинних стінках яких може відкладатися кремнезем [11]. Під ними розташовані більш тонкостінні клітини основної паренхіми (рис. 4).

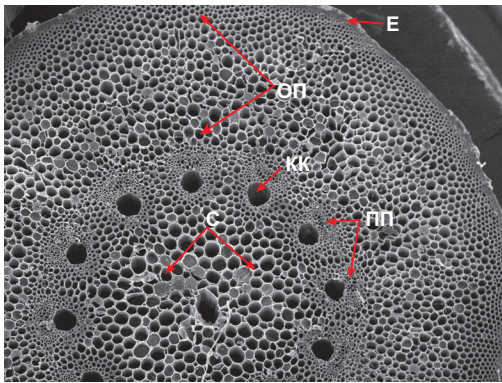


Рис. 4. Фрагмент поперечного зрізу диференційованого кореневища *E. arvense*: Е – епідерма (ризодерма) з масивним кутикулярним шаром; КК – коринальний канал; ОП – основна паренхіма кореневища; ПП – провідні пучки; С – серцевина. Сканувальний електронний мікроскоп (СЕМ 35 ×)

Fig. 4. Fragment of cross-section of mature rhizome *E. arvense*: E – epidermis with massive cuticle; КК – carinal canal; ОП – ground tissue of rootstock (parenchyma); ПП – vascular bundles; С – pith. Scanning electron microscope (SEM 35 ×)

Треба зазначити, що у диференційованому кореневищі *E. arvense*, на відміну від наземного стебла, відсутні валекулярні канали та порожнина всередині. Практично весь простір між покривною тканиною та провідними пучками заповнений крупними клітинами основної паренхіми, яка виконує запасуючу функцію. Клітини паренхіми вакуолізовані, містять численні амілопласти, заповнені крохмальними зернами (рис. 5). На мікрофотографіях тканин зимового кореневища, отриманих за допомогою сканувального електронного мікроскопа, видно сферичні крохмальні зерна, які залишаються в сухому матеріалі (рис. 5). З аналізу зображень, отриманих на трансмісійному електронному мікроскопі, зрозуміло, що крохмальні зерна містяться в амілопластах по одному, рідше по два в одній органелі. Саме такий характер відкладання крохмальних зерен мають амілопласти асиміляційних пагонів (рис. 6). Клітини кореневища у зимовий період містять значну кількість амілопластів, наповнених крохмалем. По мірі виходу зі стану спокою і з початком формування генеративних пагонів в амілопластах відбувається зменшення кількості крохмальних зерен, збільшується число ліпідних крапель, які формують ланцюжки, розташовані поруч із плазмолемою (рис. 7). Наявність таких пов'язаних із метаболізмом змін свідчить про відновлення ростових процесів у кореневищі. Також у клітинах основної паренхіми, у зразках кореневищ, відібраних навесні, добре візуалізуються ядра з ядерцями (рис. 8). У трансмісійному електронному мікроскопі виявлено, що у клітинах епідерми (ризодерми) та поверхневих шарах клітин паренхіми, що залягають ближче до ризодерми, містяться численні осмієфільні пігментні гранули значної електронної густини, які зумовлюють темний колір кореневища *E. arvense* (рис. 9).

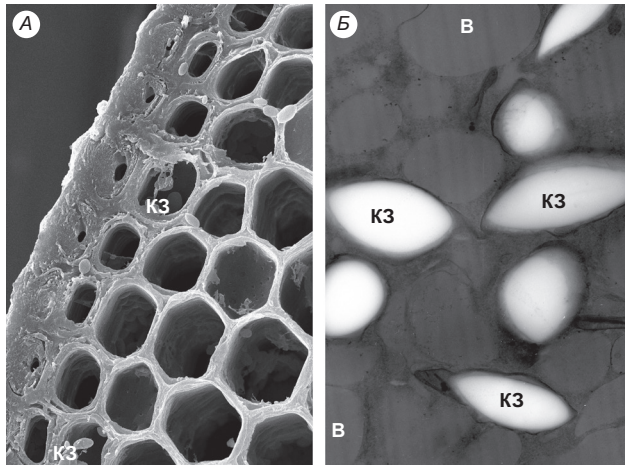


Рис. 5. Локалізація крохмалю в клітинах кореневища *E. arvense*: А – мікрофотографія, отримана у сканувальному електронному мікроскопі (СЕМ 750 ×); Б – мікрофотографія фрагмента клітини паренхіми кореневища, отримана на трансмісійному електронному мікроскопі (ТЕМ 15000 ×). Позначення: КЗ – крохмальні зерна; В – компартментизована вакуоля

Fig. 5. The localization of starch in cells of *E. arvense* rhizome: А – micrograph obtained by the scanning electron microscope (SEM 750 ×). Б – Image of fragments parenchyma cells of rhizome obtained by transmission electron microscope (TEM 15,000 ×). Legend: КЗ – starch grains; В – splitted vacuole

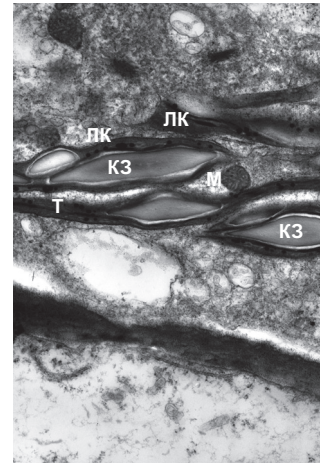


Рис. 6. Ультроструктура клітин міжвузля асиміляційного (вегетативного) пагона *E. arvense*. Позначення: ЛК – ліпідні краплі; КЗ – крохмальні зерна; М – мітохондрія; Т – тилакоїди (ТЕМ 8000 ×)

Fig. 6. The ultrastructure of cells of *E. arvense* vegetative shoot's internode. Legend: ЛК – lipid droplets; КЗ – starch grains; М – mitochondrion; Т – thylakoids (TEM 8000 ×)

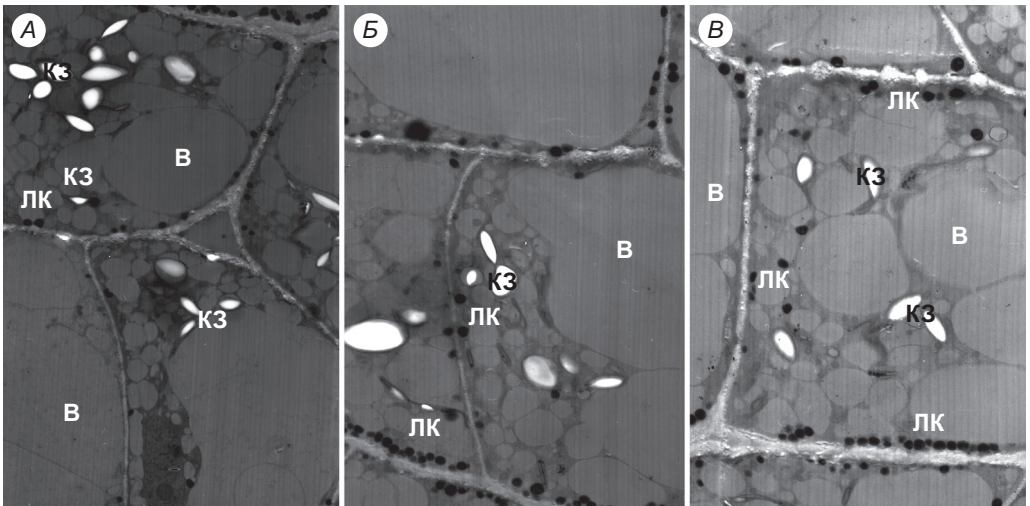


Рис. 7. Ультроструктура тканин кореневища *E. arvense* на різних етапах онтогенезу: А – 21.11; Б – 21.12; В – 3.04. Позначення: ЛК – ліпідні краплі, КЗ – крохмальні зерна; В – компартментизована вакуоля (ТЕМ 3000 ×)

Fig. 7. The ultrastructure of *E. arvense* rhizome tissues at different stages of ontogeny: А – 21.11; Б – 21.12; В – 3.04. Legend: ЛК – lipid droplets; КЗ – starch grains; В – splitted vacuole (TEM 3000 ×)

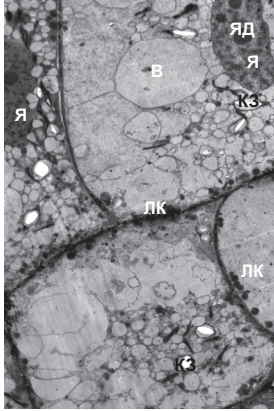


Рис. 8. Загальний вигляд клітини основної паренхіми кореневища *E. arvense*. Позначення: ЛК – ліпідні краплі; КЗ – крохмальні зерна; В – компартментизована вакуоля; Я – ядро; ЯД – ядрець (TEM 2000 ×)

Fig. 8. The image of parenchyma cells of *E. arvense* rhizome. Legend: ЛК – lipid droplets; КЗ – starch grains; В – splitted vacuole; Я – nucleus; ЯД – nucleolus (TEM 2000 ×)

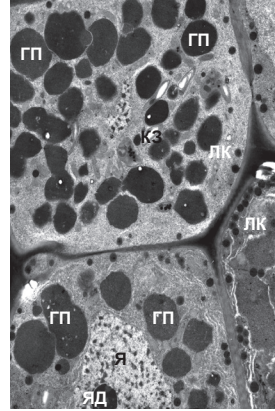


Рис. 9. Зріз клітин епідерми (ризодерми) кореневища *E. arvense* в зимовий період. Позначення: ЛК – ліпідні краплі; КЗ – крохмальні зерна; ГП – осмієфільні гранули пігменту; Я – ядро; ЯД – ядрець (TEM 4000 ×)

Fig. 9. The section of epidermal (rhizodermis) cells of *E. arvense* rhizome in the winter. Legend: ЛК – lipid droplets; КЗ – starch grains; ГП – osmiumphylic pigment granules; Я – nucleus; ЯД – nucleolus (TEM 4000 ×)

Отже, в результаті проведеного дослідження встановлено, що зміни в активності ліпоксигенази в цілому узгоджуються зі змінами метаболізації ліпідів у кореневищі *E. arvense* упродовж онтогенезу. Взимку активність перебуває на низькому стабільному рівні. З весняним потеплінням відбувається активація ліпідного обміну, що супроводжується зростанням активності ліпоксигенази. Підтвердженням цього також є збільшення числа осмієфільних крапель (пластоглобул), що формують ланцюжки у цитоплазмі клітин, розташовані поруч із плазмолемою. Виявлено значну кількість крохмалю у клітинах паренхіми кореневища, відкладення якого спостерігалось протягом зимового періоду. З відновленням ростової активності відбувається гідроліз цього полісахариду. *E. arvense* як вид характеризується високою біологічною пластичністю і здатністю накопичувати запасні речовини в пагонах, кореневищі та бульбах під час короткого періоду активного росту. Завдяки унікальній архітектурі кореневища, що глибоко залягає у ґрунті (маса його перевищує масу надземної частини рослини в кілька разів), хвощ ефективно протидіє впливові несприятливих чинників довкілля й успішно конкурує з іншими рослинами.

1. Andreou A., Feussner I. Lipoxygenases – Structure and reaction mechanism. **Phytochemistry**, 2009; 70(13–14): 1504–1510.
2. Babenko L.M., Kosakivska I.V., Skaterna T.D., Kharchenko O.V. Plant lipoxygenases in adaptation to abiotic stresses. **The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University (Ser. Biology)**, 2013; 2 (29): 6–19. (In Ukrainian).
3. Babenko L.M., Kosakivska I.V., Akimov Yu.A. et al. Effect of temperature stresses on pigment content, lipoxygenase activity and cell ultrastructure of winter wheat seedlings. **Genetics and Plant Physiology**, 2014; 4(1–2): 117–125.
4. Babenko L.M., Voytenko L.V., Skaterna T.D., Musatenko L.I. Lipoxygenase activity in *Equisetum arvense* L. ontogenesis. **Physiologia Rasteniy i Genetika**, 2014; 46(1): 37–44. (In Ukrainian).
5. Beneytout J., Andrianarison R., Tixiu I. Properties of a lipoxygenase in green algae (*Oscillatoria* sp.). **Plant Physiol**, 1989; 9(1): 367–372.

6. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem**, 1976; 72 (2): 248–254.
7. Carde Jean-Pierre. Electron microscopy of plant cell membranes. **Methods in Enzymology**, 1987; 148. Plant cell membranes: 599–625.
8. Chehab E.W., Kaspi R., Savchenko T. et al. Distinct roles of jasmonates and aldehydes in plant-defense responses. **PLoS One**, 2012; 34: 1904–1915.
9. Feussner I., Wasternack C. The lipoxygenase pathway. **Annu. Rev. Plant Biol**, 2002; 53: 275–297.
10. Hamberg M. Isolation and structure of lipoxygenase from *Saprolegnia parasitica*. **Biochem. Biophys. Acta**, 1986; 876: 688–692.
11. Holzhter G., Narayanan K., Gerber T. Structure of silica in *Equisetum arvense*. **Anal. Bioanal. Chem**, 2003; 372: 512–517.
12. Joo Y.-C., Oh D.-K. Lipoxygenases: Potential starting biocatalysts for the synthesis of signaling compounds. **Biotechnology Advances**, 2012; 30: 1524–1532.
13. Kopich V.M., Kretinin O.V., Kharchenko O.V. Effect of 24-epibrassinolida on lipoxygenase activity in maize seedlings under cold stress. **Biopolimers and Cell**, 2010; 26(3): 218–224.
14. Kosakivska I.V., Babenko L.M., Ustinova A. Yu. et al. Effect of temperature control on the activity of lipoxygenase seedlings rape *Brassica napus var. Oleifera*. **Dopovidi NAN Ukrainy**, 2012; 6: 134–137. (In Ukrainian).
15. Lemeza O., Zubo Y., Kuznetsov V. Regulation of gene expression in the mini-lipoxygenase potato tubers under the influence of phytohormones. **Russian Journal Plant Physiology**, 2010; 57(5): 765–770.
16. Liavonchanka A., Feussner I. Lipoxygenases: Occurrence, functions and catalysis. **J. Plant Physiol**, 2004; 99(1): 37–42.
17. Lotova L.I. **Morphology and anatomy of higher plants**. Moscow: Editoreal URSS, 2001. 528 p. (In Russian).
18. Marshall G. Growth and Development of Field Horsetail (*Equisetum arvense* L.). **Weed Science**, 1986; 34: 271–275.
19. Paniuta O.O., Shabliy V.A., Belawa V.N. Jasmonic acid its participatio in defence reaction of plant organism. **Ukrainian Biochem. J**, 2009; 81 (2): 14–26. (In Ukrainian).
20. Parfyonov V.I. **Flora of Belarus. Vascular plants. V1**. Minsk: Belaruskaya Nauka, 2009. 197 p. (In Russian).
21. Porta H., Rocha-Sosa M. Plant lipoxygenases. Physiological and molecular features. **Plant Physiol**, 2002; 130(1): 15–21.
22. Parthier B. Jasmonates: hormonal regulators or stress factors in leaf senescence? **J. Plant Growth Regul**, 1990; 9: 57–63.
23. Sytnikov D.M., Babenko L.M., Shcherbatiuk M.M. Photosynthetic pigments and ontogenes of *Equisetum arvense* L. **Odesa National University Herald**, 2013; 2(31): 50–60. (In Russian).
24. Stahiv M.P., Shcherbatiuk M.M., Voitenko L.V., Musatenko L.I. Ultrastructural features of the surface of internodes horsetail (*Equisetum arvense* L.) **Modern Phytomorphology**, 2013; 4: 355–358. (In Ukrainian).
25. Voytenko L.V. Shcherbatiuk M.M. Stahiv M.P., Musatenko L.I. Ultrastructural features of internode cells of field horsetail (*Equisetum arvense* L.) **Dopovidi NAN Ukrainy**, 2012; 2: 170–173. (In Ukrainian).
26. Yamamoto S. Mammalian lipoxygenases: molecular structures and functions. **Biochim. Biophys. Acta**, 1992; 1128: 117–131.
27. Yamamoto S., Katsukawa M., Nakano A. et al. Arachidonate 12-lipoxygenases with reference to their selective inhibitors. **Biochem. Biophys. Res. Commun**, 2005; 338(1): 122–127.

LIPOXYGENASE ACTIVITY AND RHIZOMES ULTRASTRUCTURE OF VEGETATIVE AND GENERATIVE SHOOTS OF *EQUISETUM ARVENSE* L.

L. M. Babenko, M. M. Shcherbatiuk, I. V. Kosakivska

M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, 2, Tereshchenkivska St., Kyiv, 01661, Ukraine
e-mail: lilia.babenko@gmail.com

The pattern of changes of lipoxygenase activity (LOX) and cell ultrastructure of the horsetail rhizome (*Equisetum arvense* L.) in ontogenesis was studied. LOX activity in the rhizome of spore-bearing and vegetative shoots in ontogenesis was analyzed. Dormancy

release was found to occur against the background of 9-LOX activity increase. In vegetative shoot rhizomes there was identified 9-LOX activity while generative shoot rhizomes displayed 9-LOX and 13-LOX activity. It is shown that changes in the activity of lipoxygenase consistent with the dynamics of lipid metabolizing rhizome *E. arvense* throughout ontogeny. In contrast to a ground stem, a differentiated rhizome of *E. arvense* has no internal valecular channels and hollows. The whole space between integumentary tissue and conducting bundles is filled with large cells of the main parenchyma, which functions as storing tissue. Parenchyma cells are vacuolated and contain numerous aminoplasts filled with starch grains. Specific changes were found in the horsetail rhizome cell ultrastructure during dormancy release, viz: reduction of starch grains in aminoplasts and increase in the number of lipid drops that form typical accumulations close to the plasmolemma. In epidermis (rhyzodermis) cells and parenchyma cell surface layers located closer to the rhyzodermis numerous osmiumphylic pigment granules were identified. The are characterized by a considerable electronic density which determine the rhizome colour.

Keywords: *Equisetum arvense* L., lipoxygenase, jasmonic acid, ultrastructure.

АКТИВНОСТЬ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ И УЛЬТРАСТРУКТУРА КОРНЕВИЩА СПОРОНОСНОГО И ВЕГЕТАТИВНОГО ПОБЕГА *EQUISETUM ARVENSE* L.

Л. М. Бабенко, Н. Н. Щербатюк, І. В. Косаковская

Институт ботаники им. М. Холодного НАН Украины
ул. Терещенковская, 2, Київ 01601, Украина
e-mail: lilia.babenko@gmail.com

Исследован характер изменений активности липоксигеназы (ЛОГ) и ультраструктуры клеток корневища хвоща полевого (*Equisetum arvense* L.) в онтогенезе. Проанализированы активность ЛОГ в онтогенезе у корневищ спороносного вегетативного побегов. Установлено, что выход из состояния покоя происходит на фоне роста активности 9-ЛОГ. В корневищах вегетативных побегов идентифицирована активность 9-ЛОГ, тогда как в корневищах генеративных побегов обнаружены 9-ЛОГ и 13-ЛОГ активности. Показано, что изменения в активности липоксигеназы согласуются с динамикой метаболизации липидов в корневище *E. arvense* на протяжении онтогенеза. В отличие от наземного стебля, в дифференцированном корневище *E. arvense* отсутствуют валекулярные каналы и полости внутри. Практически все пространство между покровной тканью и проводящими пучками заполнено крупными клетками основной паренхимы, которая выполняет запасную функцию. Клетки паренхимы вакуолизованные, содержат многочисленные амилопласты, которые заполнены крахмальными зёрнами. Выявлены специфические изменения, которые происходили в ультраструктуре клеток корневища хвоща при выходе из состояния покоя, а именно: уменьшение числа крахмальных зёрен в амилопласты и увеличение количества липидных капель, которые формируют расположенные рядом с плазмолеммой характерные скопления. В клетках эпидермиса (ризодермы) и поверхностных слоях клеток паренхимы, залегающих ближе к ризодерме, идентифицированы многочисленные осмиефильные пигментные гранулы значительной электронной плотности, которые обуславливают цвет корневища.

Ключевые слова: *Equisetum arvense* L., липоксигеназа, жасмоновая кислота, ультраструктура.

Одержано: 13.02.2015