

ЗМІНИ ЛЕКТИНОВОЇ АКТИВНОСТІ ЛЬОНУ ОЛІЙНОГО В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СТАДІЇ РОЗВИТКУ, ОРГАННОЇ ПРИНАЛЕЖНОСТІ, КЛІТИННОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ ТА ГЕНОТИПУ

Г.М. Левчук

Інститут олійних культур НААН

Досліджена динаміка активності лектинів у вегетативних органах льону олійного різних генотипів впродовж вегетації. Встановлено, що рівень лектинової активності залежить як від стадії розвитку, так і від органної належності: на початкових етапах найактивнішими є корені, а починаючи зі стадії бутонізації – листя. За допомогою дисперсійного аналізу встановлена залежність рівня лектинової активності переважно від комплексного впливу генотипу, стадії розвитку, клітинної фракції та органної належності. Аналіз складу цих «найбільш впливових» комплексів свідчить про безперечну перевагу за внеском генотипу і далі (за зменшенням): стадії розвитку, локалізації у клітині та органі.

Ключові слова: *Linum humile* Mill., лектин, органна належність, клітинна локалізація, генотип льону, лектинова активність.

Вступ. Поверхня рослинних клітин містить багато маркерних вуглеводів. Поряд із цим рослинні клітини містять протеїни, які здатні розпізнавати ці вуглеводи, – лектини. Протягом онтогенезу вуглеводні глюкокон'юганти змінюються. В результаті цього лектини змінюють свою конформацію, інформація про яку надходить у геном, що дає змогу рослині адекватно реагувати на зовнішні та внутрішні фактори (Antonyuk 2005). Тому фізіологічна роль лектинів у рослині дуже різноманітна: вони беруть участь у процесах захисту насіння від патогенів при проростанні (Babosha 2008), упізнанні клітин при диференціації (Bezrukova et al. 2011), розпізнанні пилку при запиленні (Kovaleva et al. 1999), формуванні адаптаційної стійкості при зміні умов оточуючого середовища (Timofeeva, 2009) тощо. Встановлено, що обробка насіння екзогенним лектином призводить до збільшення рівня ендогенних лектинів, гормонів ауксинової й цитокінінової природи, хлорофілу та продуктивності рослин пшениці й сої (Kyrychenko 2014). Така багатофункціональність передбачає наявність певного ізоморфного лектинового складу рослинного організму, який змінюється протягом онтогенезу. Просторова локалізація клітинних лектинів обумовлена їх біологічною дією всередині клітин.

Льон олійний (*Linum humile* Mill.) є промисловою, лікарською та олійною культурою, яка слугує джерелом неповторної за своїм складом олії та цілої низки біологічно активних вторинних метаболітів (Optasyuk, Shevera 2011). Фізіологія цієї культури з огляду на її широке застосування достатньо вивчена, однак з приводу лектинової активності – це абсолютно не досліджений об'єкт. Тому дослідження особливостей прояву ефектів лектинів у льону впродовж онтогенезу розширить уявлення про їх фізіологічну роль у рослин в цілому.

Метою роботи було виявлення активності лектинів у органах і компартментах клітини протягом онтогенезу та генотипних особливостях її прояву.

Матеріали та методи досліджень. Матеріалом дослідження слугували наступні генотипи льону олійного різного географічного походження: сорт «Південна ніч» (Україна), сорт «Байкал» (Франція) та лінії: «К-6080» (Португалія), «К-7354» (Австралія), «К-7811» (Венесуела), «СІ-1655» (Ірландія), «К-7099» (Аргентина), «К-6776» (Марокко), «К-1176» (Індія), «К-7481» (Киргизія), «К-8085» (Канада), «К-7276» (Монголія) та «К-6686» (Сицилія). Рослинний матеріал відбирався у польових умовах упродовж онтогенезу, а саме відповідно наступних стадій розвитку: сходи, бутонізація та цвітіння. Рослинний матеріал вирощувався згідно методики польового дослідження для льону (Dyakov, 2006)

Лектини були виділені за методикою Levchuk et al. (2014) з різних вегетативних органів (коріння, стебла та листя) льону олійного У зв'язку з тим, що лектини клітини різняться за локалізацією, окремо аналізувалися лектини наступних клітинних фракцій: мембран, цитозолу та клітинних стінок.

Активність лектинів визначали за допомогою реакції гемаглютинації з 2% суспензією трипсинизованих еритроцитів кроля (Levchuk et al. 2015). Лектинову активність виражали у умовних одиницях як питому лектинову активність (відношення титру гемаглютинації до концентрації лектину – мкг/мл).

Усі дослідження мали чотириохратне біологічне повторення та проводилися протягом 2012-2014 рр. Вплив різних факторів на прояв лектинової активності розраховували за допомогою трьохфакторного дисперсійного аналізу (Zhang 2003).

Результати досліджень та їхнє обговорення. Виявлено, що у процесі розвитку рослин льону (рис. 1) активність лектинів значною мірою змінювалася: на початковому етапі онтогенезу (стадія сходів) питома лектинова активність склала у середньому $1,83 \times 10^5$. При переході до генеративного етапу онтогенезу (стадія бутонізації) активність лектинів різко знижувалася та складала $1,11 \times 10^2$, а на стадії цвітіння значно збільшувалася та сягала рівня $3,80 \times 10^4$.

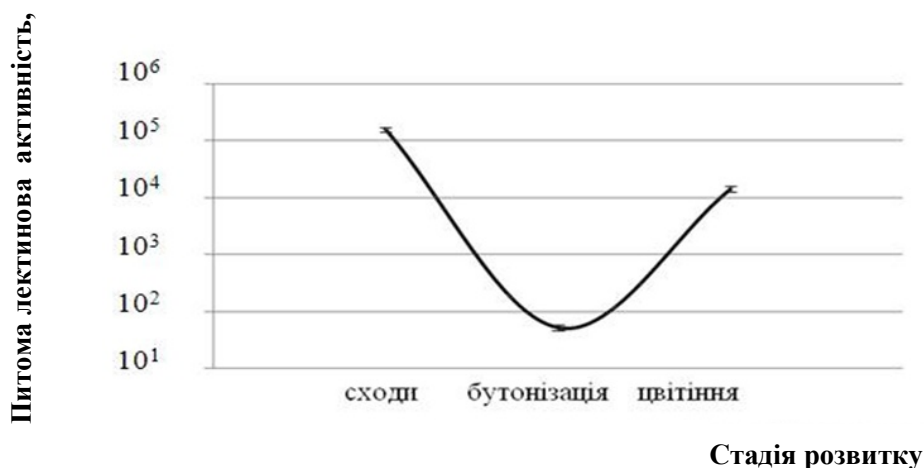


Рис. 1. Динаміка лектинової активності рослин льону олійного протягом вегетації

Зміни лектинової активності відповідають змінам пріоритетних фізіологічних процесів, які відбуваються в рослинах протягом досліджуваних фаз онтогенезу. Так, максимальна активність лектинів спостерігається на початкових етапах розвитку, в період так званого «повільного росту» (Дуаков, 2006), коли в рослин льону відбувається поділ клітин та їх диференціація. Цей період відповідає стадії сходів. Саме в цей період спостерігається пік лектинової активності, що можна пояснити безпосередньою участю лектинів у процесах поділу клітин та їх диференціації.

Зі стадії бутонізації у рослин льону починається період «швидкого росту», коли вже практично не відбувається поділу та диференціювання клітин, а збільшуються в розмірах уже існуючі клітини. Основна кількість лектинів на стадії бутонізації сконцентрована в зачатках бутонів, а не у вегетативних органах, тому загальна активність лектинів листків є найменшою в дану фазу онтогенезу льону. Деяке збільшення активності лектинів при переході до стадії цвітіння можна пояснити їх безпосередньою участю у процесах розпізнавання маточкою пилку та запліднення.

Не зважаючи на схожу загальну динаміку активності лектинів вегетативних органів протягом розвитку рослин, її рівень певною мірою залежить від генотипу льону, органу рослини та клітинної фракції. Тому нами була зроблена спроба проаналізувати зміни лектинової активності протягом онтогенезу рослин льону олійного в залежності від трьох чинників: генотипу, органної належності та клітинної локалізації.

Дослідження динаміки активності лектинів 13 різних за географічним походженням генотипів льону (рис. 2) показало, що у всіх досліджених генотипів, максимальна лектинова активність спостерігалася на стадії сходів, а мінімальна – на стадії бутонізації. Так, середня питома лектинова активність на стадії сходів у залежності від генотипу була у межах від $3,69$ до $5,11 \times 10^3$ мкг/мл.

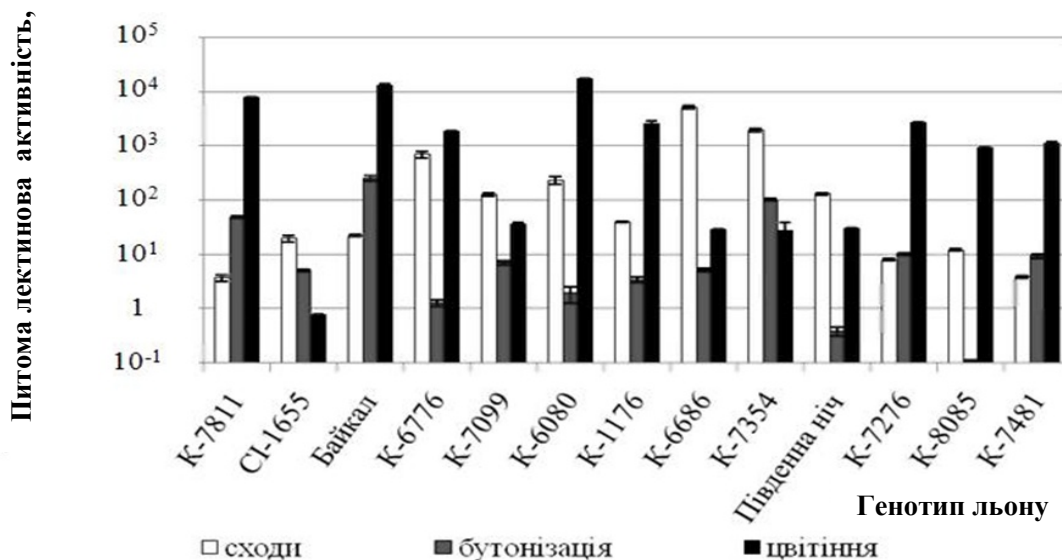


Рис. 2. Динаміка активності мембранних лектинів кореня льону олійного протягом вегетації в залежності від генотипу

При переході до стадії бутонізації цей показник значно знижувався та становив від 0,11 до 102,55, а на стадії цвітіння знову підвищувався та складав від 0,77 до $1,68 \times 10^4$ мкг/мл.

Крім того, різниця між лектиноювою активністю на різних стадіях онтогенезу також є різною в залежності від генотипу (рис. 2). Так, активність мембранних лектинів кореня у зразків К-7099 та Південна ніч найвищою є на стадії сходів, а у зразків СІ-1655 та К-7354 найнижча лектинова активність спостерігається не на стадії бутонізації, а на стадії цвітіння (рис. 2).

Однак, не зважаючи на однакову загальну динаміку протягом онтогенезу в межах одного генотипу, середній рівень лектинової активності у кожного генотипу різнився і знаходився в межах від $2,50 \times 10^3$ у К-8085 до $1,96 \times 10^5$ мкг/мл у К-7099 (рис. 3).

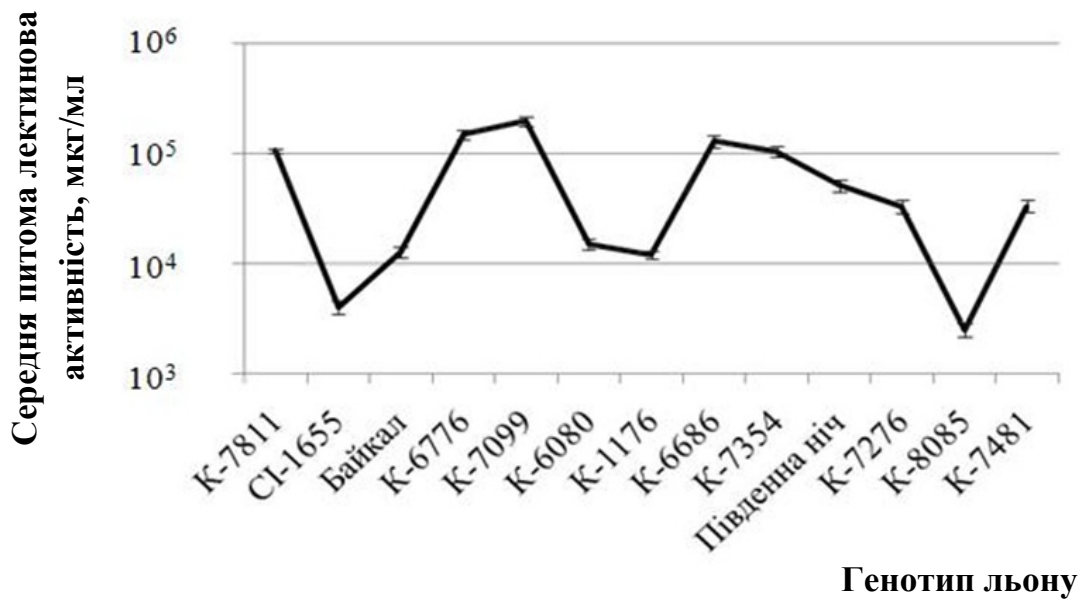


Рис. 3. Середня лектинова активність вегетативних органів льону олійного протягом онтогенезу в залежності від генотипу

Взагалі за рівнем лектинової активності усі генотипи можна поділити на 3 групи: високолектинові, середньолектинові та низьколектинові. До першої групи ми віднесли генотипи, середній рівень лектинової активності у яких коливався у межах 10^5 мкг/мл – К-7811, К-6776, К-7099, К-6686 та К-7354. До низьколектинових ми віднесли генотипи, рівень лектинової активності яких складав 10^3 мкг/мл. Такими виявилися 2 генотипи: СІ-1655 та К-8085. Інші ж 6 генотипів (Байкал, К-6080, К-1176, Південна ніч, К-7276 та К-7481, СІ-1655, Байкал, К-6686, Південна ніч, К-7276 та К-8085) з активністю у межах 10^4 мкг/мл були віднесені нами до групи середньолектинових.

Таким чином, зміни лектинової активності протягом онтогенезу у різних генотипів є дуже схожими, однак при порівнянні між собою генотипи вирізняються різним рівнем лектинової активності. Так, високолектиновими виявилися генотипи К-7811 (Венесуела), К-6776 (Марокко), К-7099 (Аргентина), К-6686 (Сицилія) та К-7354 (Австралія), а низьколектиновими К-8085 (Канада) та СІ-1655 (Ірландія). Особливої уваги привертає географічне походження низько- та високолектинових генотипів: перші мають північне походження (Канада,

Ірландія), а другі – південне (Австралія, Марокко, Сицилія, Аргентина та Венесуела).

Впродовж онтогенезу льону олійного за фізіологічним значенням змінюється внесок того чи іншого органу. Так, на початкових етапах онтогенезу (стадія сходів) домінантним за розмірами, швидкістю росту та фізіологічною роллю є коренева система, а надземна частина у цей період росте дуже повільно. У наступних стадіях онтогенезу (період «швидкого росту») починає активно рости та розвиватися надземна частина, особливо збільшується кількість листя, а коренева система при цьому гальмується у рості й основним за функціонуванням органом у цей період (стадії бутонізації та цвітіння) є листя, розмір якого збільшується у декілька разів. Стебло у льону олійного є органом, який росте та розвивається найповільніше. Так, на стадії сходів його ще немає, на стадії бутонізації він з'являється, росте та проходить диференціація провідної системи. Зі стадії цвітіння фізіологічна роль стебла збільшується та його ріст значно пришвидшується. Але вирішальну роль стебло має на стадії дозрівання, коли листя починає відмирати і стебло, окрім провідної функції, виконує асиміляційну функцію (Dyakov, 2006).

У зв'язку з цим, нами була проаналізована питома активність виділених лектинів різної органної належності (рис. 4). Дані представлені у формі частки лектинової активності певного органу від загальної для всієї рослини.

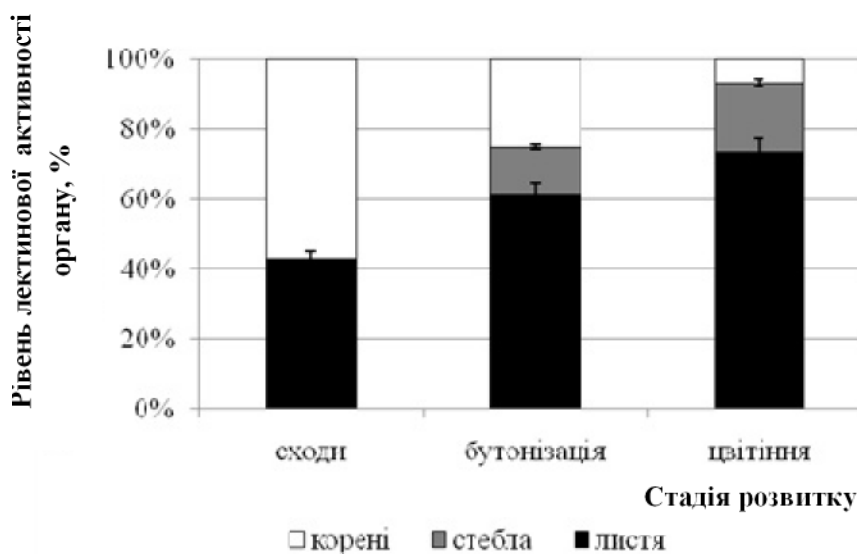


Рис. 4. Питома активність лектинів різної органної належності

У результаті досліджень виявлена залежність активності лектинів від органу виділення. Так, на початковій стадії вегетації (сходи) домінантним за лектиною активністю є корінь. Рівень його лектинової активності складає 60 % від лектинової активності усєї рослини, що можна пояснити фізіологічним домінуванням у цей період онтогенезу саме цього органу. В даний період у кореневій системі переважають процеси поділу клітин та диференціації, а загально відомим є той факт, що лектини безпосередньо приймають участь у цих процесах (Bezrukova, 2011).

При переході до етапу «швидкого росту» (стадії бутонізації та цвітіння) за рівнем лектинової активності домінує листя, де вона складає приблизно 60-75% від загальної лектинової активності рослини відповідно. Цей факт також можна пояснити тим, що у зазначений період основним фізіологічним процесом

у рослині є фотосинтез, а відповідно до цього домінуючим органом є листя. Алексидзе зі співавторами (Aleksidze, 2002) була доведена участь лектинів у цьому найважливішому для рослин фізіологічному процесі. Висунуто гіпотезу, що лектини тилакоїдної мембрани разом з пігментами утворюють пігмент-лектиновий комплекс, роль лектинів у якому заключається у зв'язуванні розчинних у стромі ферментів темної стадії фотосинтезу. Для пшениці було показано (Kyrychenko 2008), що обробка насіння лектинами призводить до збільшення кількості хлорофілів. Крім того, Кириченко О.В. було встановлено, що листя сої має значно вищий рівень лектинової активності на стадії 4 пар справжніх листків та бутонізації у порівнянні з активністю лектинів у корені (Kyrychenko 2011).

Вклад стебла у рівень лектинової активності є мінімальним та майже не змінюється протягом онтогенезу. Так, на стадії бутонізації відбувається формування стебла та утворення провідної системи і рівень лектинової активності на цьому етапі онтогенезу складає приблизно 15 %. При переході на стадію цвітіння вклад стебла в загальний рівень лектинової активності збільшується до 20 %. Ймовірно це може бути пов'язано із закінченням диференціації провідної системи та переважання у стеблі на цьому етапі функції проведення води та поживних речовин. Крім того, у зв'язку зі збільшенням фотосинтетичної активності листя, збільшується і кількість утворених органічних речовин, які потрібно транспортувати у місця потреби, тому і збільшується навантаження на флоему. З літератури відомо, що лектини завдяки їх вуглеводзв'язуючим властивостям приймають безпосередню участь у транспорті поживних речовин по флоемі (Daskalyuk, 2002).

У роботі нами також був проаналізований рівень лектинової активності різних органів 13 генотипів 3 клітинних фракцій: мембран, цитозолу й клітинних стінок та встановлено, що, незалежно від органної належності, стадії розвитку та генотипу найвищу лектинову активність мали клітинні стінки (рис. 5). Розподіл активності серед мембранних та розчинних лектинів залежав від стадії розвитку. Так, на початковому етапі (стадія сходів) активність розчинних лектинів переважала активність мембранних приблизно у 3 рази. Розчинні лектини є достатньо активними на початкових етапах онтогенезу (рис. 5). В цей час рослини є найбільш вразливими до впливу оточуючого середовища, тому найважливішим у цей етап є формування стійкості до різноманітних біотичних та абіотичних чинників. Відомо, що саме розчинні лектини цитозолу беруть участь у процесі адаптації рослинного організму до факторів навколишнього середовища (Timofeeva, 2009).

При переході до етапу активної вегетації (стадії бутонізації та цвітіння) за активністю значно переважали мембранні лектини, рівень якої наближався до активності лектинів клітинних стінок та був вищим за цей показник у розчинних лектинів у 1,5 – 5 разів.

Останній факт можна пояснити тим, що при переході до етапу «швидкого росту» у льону активізуються такі важливі фізіологічні процеси, як фотосинтез та дихання, у яких приймають безпосередню участь лектини хлоропластів та мітохондрій відповідно. Ці лектини відносяться до мембранних та виконують в основному рецепторну функцію: зв'язують розчинні ферменти у стромі хлоропластів та матриксі мітохондрій у єдині поліферментні комплекси, що дозволяє ефективно функціонувати циклу Кальвіна та циклу Кребса відповідно (Aleksidze, 2002).

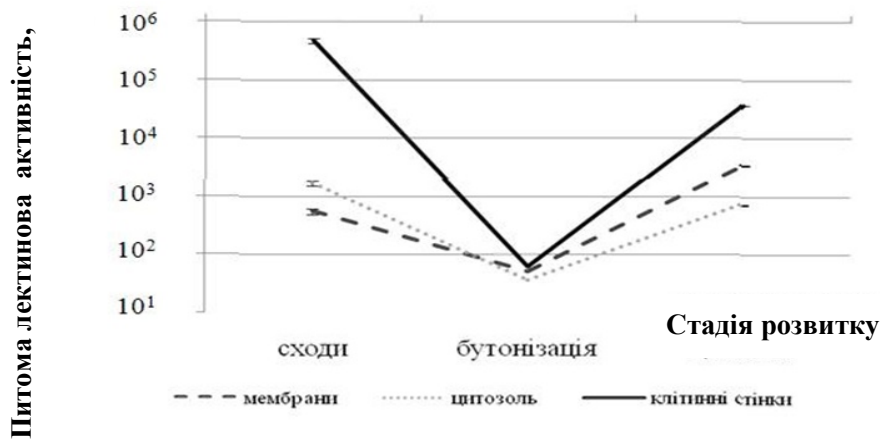


Рис. 5. Питома активність лектинів різної клітинної локалізації

За допомогою трьохфакторного дисперсійного аналізу було визначено вплив комплексу досліджених факторів (стадії розвитку, органу виділення, клітинної локалізації та генотипу) й розрахований можливий вплив кожного з компонентів на загальний рівень лектинової активності.

При аналізі активності лектинів різних органів у залежності від стадії розвитку (A), клітинної локалізації (B) та генотипу рослин (C) (табл. 1) було виявлено, що на коефіцієнт лектинової активності майже не впливає клітинна локалізація (близько 2 %).

Таблиця 1

Ступінь впливу стадії розвитку, клітинної локалізації та генотипу на рівень активності лектинів льону олійного, % (2012-2014 рр.)

фактор	Рівень активності лектинів різних органів льону		
	листіків	коренів	стебел
<i>A</i>	4,46	3,56	8,45
<i>B</i>	1,91	1,88	2,13
<i>C</i>	6,57	6,74	6,97
Взаємодія факторів			
<i>AB</i>	2,72	5,63	4,26
<i>AC</i>	19,68	20,24	13,94
<i>BC</i>	15,72	13,98	20,20
<i>ABC</i>	47,28	41,95	40,41

Примітка: A – стадія розвитку; B – клітинна локалізація; C – генотип

Натомість, значно вищими був вплив комплексу факторів. Так, взаємний вплив на лектинову активність комплексу «стадія розвитку-генотип» (AC) та «клітинна локалізація-генотип» (BC) складає 14-20 % в залежності від органу виділення, тобто ці два фактори на 14-20 % визначають прояв досліджуваної ознаки, тоді як для AB отримано незначну (2,7-5,6 %) частку впливу. Представлені результати свідчать про вирішальну роль генотипу (фактор C) у долі впливу комплексів (AC, BC). Вплив генотипу складає приблизно 6 %, а вплив стадії розвитку залежить від органу виділення і коливається від 3,5 % у коренів до 8,5 % у стеблі. Вирішальною за об'ємом впливу для лектинової активності виявилась комбінація усіх трьох факторів (ABC), показник якої становив від 40 до 47 %.

При аналізі залежності рівня лектинової активності на кожній із досліджених стадій онтогенезу від органної належності, клітинної локалізації та генотипу було виявлено (табл. 2), що найбільше на цей показник впливає не один фактор, а їх комплекс. Так, визначальною для рівня лектинової активності виявилась комбінація усіх трьох показників (10-40 % в залежності від стадії). Вплив генотипу у поєднанні з іншими двома факторами можна оцінити у 5-29 %.

Таблиця 2

Ступінь вплив органної належності, клітинної локалізації та генотипу на рівень активності лектинів льону олійного, % (2012-2014 рр.)

Фактор	Рівень активності лектинів на різних стадіях онтогенезу		
	<i>сходи</i>	<i>бутонізація</i>	<i>цвітіння</i>
<i>A</i>	1,40	0,49	1,70
<i>B</i>	9,44	0,41	3,45
<i>C</i>	14,46	2,65	11,02
Взаємодія факторів			
<i>AB</i>	2,80	0,87	3,30
<i>AC</i>	13,96	5,15	20,42
<i>BC</i>	29,39	5,14	20,12
<i>ABC</i>	27,89	10,34	40,24

Примітка: А – орган виділення; В – клітинна локалізація; С – генотип

Залежність рівня лектинової активності від окремих факторів не є однозначною. Так, вклад виключно генотипу складає від 3 до 15 %, що залежить від стадії розвитку. Окремо орган, з якого лектини були виділені, практично не впливає на їх активність (залежність оцінюється у 0,5-2 %). Треба зауважити, що рівень окремого впливу того чи іншого фактора залежав від стадії онтогенезу і був найбільшим на стадії сходів, а найменшим – на стадії бутонізації.

Таблиця 3

Ступінь впливу на активність лектинів у льону олійного залежно від стадії розвитку, органу їх виділення (або органу рослини) та генотипу, % (2012-2014рр.)

Фактор	Рівень активності лектинів за клітинною локалізацією		
	<i>мембрана</i>	<i>цитозоль</i>	<i>клітинна стінка</i>
<i>A</i>	4,28	9,03	4,62
<i>B</i>	1,32	0,13	1,58
<i>C</i>	7,24	6,53	7,96
Взаємодія факторів			
<i>AB</i>	3,99	0,40	4,74
<i>AC</i>	21,71	19,61	23,90
<i>BC</i>	15,14	15,86	12,81
<i>ABC</i>	45,41	47,50	38,38

Примітка: А – стадія розвитку; В – органна належність; С – генотип

Стадія бутонізація виявилась єдиною, коли рівень лектинової активності не визначався лише проаналізованими факторами. Залишкова кількість ознаки становила приблизно 75 %. Можливим поясненням цього явища може бути дуже низька абсолютна активність лектинів на цій стадії розвитку.

Нами також був проаналізований вплив органу виділення (А), стадії розвитку (В) та генотипу (С) в залежності від клітинної локалізації на рівень лектинової активності (табл. 3). Виявлено, що найбільше на рівень лектинової активності впливає комплекс усіх трьох факторів (від 38 до 47%). Виявлено досить суттєвий сумісний вплив двох факторів («генотип-стадія розвитку» або «генотип-органна належність»). Так, перша пара визначає рівень лектинової активності на 19-24 %, а друга – на 13-16 %.

Як і у наведених вище формах скринінгу залежності лектинової активності (табл. 1-2) визначальним серед досліджених факторів є «генотип», який визначає прояв ознаки на 6-8 %, що є найбільшим для впливу окремого фактору. Виявлено, що вплив одночасно декількох з аналізуємих факторів є не сумою впливу окремих. Так, найбільше впливають на рівень лектинової активності такі фактори як «генотип» та «стадія розвитку», які визначають прояв ознаки на 8 та 6 % відповідно, а їх сумісна дія складає біля 20 %. Таким чином, на рівень лектинової активності впливали усі чотири аналізуємих фактори: стадія розвитку, орган виділення, клітинна локалізація та генотип. Було розраховано середні показники впливу (табл. 4). Найсуттєвіше впливає на прояв лектинової активності генотип (8,55 %), вплив стадії розвитку складає 4,98 %, клітинної локалізації 3,15, а вплив органної належності є найменшим та складає 1,33 %.

Таблиця 4

**Рівень активності лектинів льону олійного залежно від стадії розвитку, органу, клітинної локалізації та генотипу, %
(2012-2014 рр.)**

<i>Фактор</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>
<i>A</i>	4,98	3,04	3,60	20,04
<i>B</i>	-	1,33	2,82	14,85
<i>C</i>	-	-	3,15	18,35
<i>D</i>	-	-	-	8,55
<i>Взаємодія факторів</i>				
<i>BD</i>	45,76	-	-	-
<i>CD</i>	-	32,21	-	-
<i>AD</i>	-	-	43,21	-

Примітка: А – стадія розвитку; В – органна належність; С – клітинна локалізація; D – генотип

Отже вплив окремого фактору (навіть генотипу) на лектинову активність є незначним у порівнянні з комплексним впливом усіх досліджуємих факторів. Так, найбільш суттєвий фактор «генотип» визначає прояв лектинової активності на 8,5%, а у поєднанні з будь-яким іншим фактором – на 14-20%. Сумісна ж дія 3-х факторів визначає прояв лектинової активності від 32 до 44%. Окрім генотипу також і стадія розвитку (як складова дво- і трьохфакторних комплексів) суттєво впливає на лектинову активність.

Таким чином, за рівнем впливу окремого фактору та за комплексної дії факторів на рівень лектинової активності можна ранжувати у наступний ряд від тих, що найбільше впливають на рівень лектинової активності до тих, які впливають найменше:

- «стадія розвитку-органна належність-генотип»;
- «стадія розвитку-клітинна локалізація-генотип»;
- «органна належність-клітинна локалізація-генотип»;
- «стадія розвитку-генотип»;
- «генотип-клітинна локалізація»;
- «генотип-органна належність»;
- «генотип»;
- «стадія розвитку»;
- «стадія розвитку-клітинна локалізація»;
- «клітинна локалізація»;
- «стадія розвитку-органна належність»;
- «органна належність-клітинна локалізація»;
- «органна належність».

Якщо відокремити комплекси з трьох факторів, то можна сказати, що вони мають найбільший вплив, коли до їх складу входить по-перше, генотип, а по-друге, стадія розвитку. При аналізі двофакторних комплексів, можна сказати, що мають найбільший вплив комплекси, до складу яких входить генотип, причому комплекс «генотип-стадія розвитку» проявляє найбільший вплив, а «генотип-органна належність» – найменший. Отже, найбільше на рівень лектинової активності впливає комплекс з трьох факторів, а найменше кожний фактор окремо. Однак, якщо порівнювати вплив кожного з досліджених факторів, то слід зауважити, що найбільш впливовим є генотип, вплив якого інколи навіть більший, ніж одночасно двох інших факторів. Аналіз складу цих «найбільш впливових» комплексів свідчить про безперечну перевагу за внеском генотипу і далі (за зменшенням): стадії розвитку, локалізації у клітині та органі.

Висновки

1. Виявлено, що найбільшу активність у вегетативних органах лектини проявляють на стадії сходів, а найменшу – бутонізації. Дані зміни корелюють з інтенсивністю ростових процесів у льону олійного: максимальна лектинова активність спостерігається на початкових етапах розвитку (стадія сходів), в період так званого «повільного росту», коли в рослин льону відбувається поділ клітин та їх диференціація. Зі стадії бутонізації рослин льону починається період «швидкого росту», коли вже практично не відбувається поділ клітин, а тільки збільшуються в розмірах уже існуючі. Саме на цій стадії рівень лектинової активності є мінімальним.

2. Найбільшим рівнем лектинової активності володіють лектини клітинних стінок, рівень активності мембранних та розчинних лектинів залежить від стадії розвитку: на початкових етапах розвитку переважають розчинні лектини, а при формуванні генеративних органів – мембранні лектини.

3. За допомогою дисперсійного аналізу встановлена залежність рівня лектинової активності переважно від комплексного впливу факторів -генотипу, стадії розвитку, клітинної фракції та органної належності. Аналіз складу цих «найбільш впливових» комплексів свідчить про безперечну перевагу за внеском генотипу (найбільшою лектиновою активністю характеризуються генотипи південного походження, а найменшою – північного) і далі (за зменшенням): стадії розвитку, локалізації у клітині та органі.

References

1. Aleksidze GYa, Litvinov AI, Vyskrebentseva EI (2002) Model of organization on the membrane of thylakoids of a complex of Calvin cycle enzymes with the participation of the lectin of the photosystem I (In Russian). Russian Journal of Plant Physiology 49(1):155–159
2. Antonyuk VO (2005) Lectins and their raw sources (In Ukrainian). Lviv
3. Babosha AV (2008) Lectins and the problem of recognition of the phytopathogenic host plant (In Russian). Journal of General Biology 69(5):379–396
4. Bezrukova MV, Lubyanova AR, Fatkhutdinova RA (2011) The participation of wheat lectins and beans in the regulation of cell division of the apical meristem of the roots of different plants (In Russian). Russian Journal of Plant Physiology 58(1):144–151
5. Daskaluk YuA, Artenie VG, Kirichenko OV (2002) Lectin activity of proteins of the *Vitis vinifera* L. (In Ukrainian). Ukrainian Botanical Journal 59(4):460–463
6. Dyakov AB (2006) Physiology and ecology of flax (In Russian). Krasnodar
7. Kovaleva LV, Komarova EN, Vyskrebentseva EI (1999) Sporophytic-gametophytic interactions in the pollen-pestle system. 1. Cell wall lectins (In Russian). Russian Journal of Plant Physiology 46(1):98–101
8. Kyrychenko OV (2008) Effect of presowing treatment of spring wheat seeds with wheat germ agglutinin on the chlorophyll content, lectin activity in leaves and nitrogen-fixing capacity of rhizospheric microorganisms (In Ukrainian). Ukrainian Biochemical Journal 80(1):107–112
9. Kyrychenko OV (2011) Changes in endogenous lectin activity of soybean plants under seeds treatment with exogenous lectin (In Ukrainian). Physiology and biochemistry of cultivated plants 43(6):520–526
10. Kyrychenko OV (2014) Crop Biotechnology (In Russian). Ilion, Nikolaev
11. Levchuk H, Voitovych H, Lyakh V (2014) The method of extraction of lectin-like proteins in plants (In Ukrainian). Ukraine Patent 104385, 27 Jan 2014
12. Levchuk H, Voitovych H, Lyakh V (2014) Method of determination of lectin activity (In Ukrainian). Ukraine Patent 108242, 10 Apr 2015
13. Optasyuk OM, Shevera MV (2011) The Genus *Linum* L. in the Flora of Ukraine (In Ukrainian). Alterpres, Kyiv
14. Timofeeva OA (2009) Lectins as active components of adaptive reactions of winter wheat to adverse environmental conditions. Dissertation, Kazan (Volga Region) Federal University
15. Zhang QJ (2003) DAD, an innovative tool for income distribution analysis. Journal for Economic Inequality 1:281–284

ИЗМЕНЕНИЯ ЛЕКТИНОВОЙ АКТИВНОСТИ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ РАЗВИТИЯ, ОРГАННОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ, КЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ И ГЕНОТИПА

А.Н. Левчук

Институт масличных культур НААН

Лектины – это вещества белковой природы, которые способны распознавать углеводы на клеточных поверхностях растений и связываться с ними. В связи с этим физиологическая роль лектинов в растении очень разнообразна, что предусматривает наличие

определенного изоморфного лектинового состава растительного организма, который изменяется в течение онтогенеза.

Целью работы было установление зависимости лектиновой активности от стадии развития, генотипа, органа выделения и клеточной локализации на уровень лектиновой активности.

Материалом исследования служили следующие генотипы льна масличного различного географического происхождения: сорт «Пивденна нич» (Украина), сорт «Байкал» (Франция) и линии: «K-6080» (Португалия), «K-7354» (Австралия), «K-7811» (Венесуэла), «CI-1655» (Ирландия), «K-7099» (Аргентина), «K-6776» (Марокко), «K-1176» (Индия), «K-7481» (Киргизия), «K-8085» (Канада), «K-7276» (Монголия) и «K-6686» (Сицилия). Растительный материал (корни, стебли и листья) отбирался в полевых условиях в течение онтогенеза (всходы, бутонизация и цветение). Отдельно анализировались лектины следующих клеточных фракций: мембран, цитозоля и клеточных стенок. Активность лектинов определяли с помощью реакции гемагглютинации с 2% суспензией трипсинизованных эритроцитов кролика. Лектиновую активность выражали как удельную лектиновую активность.

В результате исследований установлено, что наибольшую активность в вегетативных органах лектины проявляют на стадии всходов, а наименьшую – бутонизации. Данные изменения коррелируют с интенсивностью ростовых процессов у льна масличного: максимальная лектиновая активность наблюдается на начальных этапах развития (стадия всходов), в период так называемого «медленного роста», когда у растений льна происходит деление клеток и их дифференциация. Со стадии бутонизации растений льна начинается период «быстрого роста», когда уже практически не происходит деление клеток, а только увеличиваются в размерах уже существующие. Именно на этой стадии уровень лектиновой активности является минимальным.

Установлена также закономерность лектиновой активности от клеточной локализации: наибольшим уровнем лектиновой активности обладают лектины клеточных стенок, уровень активности мембранных и растворимых лектинов зависит от стадии развития: на начальных этапах развития преобладают растворимые лектины, а при формировании генеративных органов – мембранные лектины.

С помощью дисперсионного анализа установлена зависимость уровня лектиновой активности преимущественно от комплексного воздействия факторов -генотипу, стадии развития, клеточной фракции и органной принадлежности. Анализ этих «наиболее влиятельных» комплексов свидетельствует о бесспорном преимуществе по вкладу генотипа (самой лектиновой активностью характеризуются генотипы южного происхождения, а наименьшей – северного) и далее (по убыванию): стадии развития, локализации в клетке и органе.

Ключевые слова: лен масличный, лектины, органная принадлежность, клеточная локализация, генотип льна, лектиновая активность.

CHANGES IN LECTIN ACTIVITY OF OIL FLAX DEPENDING ON THE DEVELOPMENTAL STAGE, ORGAN AFFILIATION, CELL LOCALIZATION AND GENOTYPE

Hanna Levchuk

Institute of Oilseed Crops of the NAAS

Lectins are proteins that are able to recognize carbohydrates on the cell surfaces of plants and bind to them. In this regard, the physiological role of lectins in plants is very diverse, which implies the presence of a

certain isomorphic lectin composition of the plant organism, which changes during ontogenesis.

The aim of the research was to establish the dependence of lectin activity on the developmental stage, genotype, organ and cell localization. The research material was the following oil flax genotypes of various geographical origin: variety "Pivdenna Nich" (Ukraine), variety "Baikal" (France) and lines: "K-6080" (Portugal), "K-7354" (Australia), "K-7811" (Venezuela), "Cl-1655" (Ireland), "K-7099" (Argentina), "K-6776" (Morocco), "K-1176" (India), "K-7481" (Kyrgyzstan), "K-8085" (Canada), "K-7276" (Mongolia) and "K-6686" (Sicilia). Plant material (roots, stems and leaves) was plant in field conditions during ontogenesis (seedling stage, budding and flowering). The lectins of the following cellular fractions were analyzed separately: membranes, cytosol, and cell walls. The activity of lectins was determined using hemagglutination assay with a 2% suspension of rabbit trypsinized erythrocytes. Lectins activity was expressed as specific lectin activity.

As a result of research, it has been established that the lectins are most active in the vegetative organs at the seedling stage, and the least activity is budding. These changes correlate with the intensity of growth processes in oil flax: maximum lectin activity is observed at the initial stages of development (seedling stage), during the so-called "slow growth", when flax plants undergo cell division and differentiation. From the stage of budding flax plants, a period of "rapid growth" begins, when cell division practically does not occur, and the existing ones only increase in size. It is at this stage that the level of lectin activity is minimal.

The pattern of lectin activity from cell localization was also established: the lectins of cell walls have the highest level of lectins, the activity level of membrane and soluble lectins depends on the stage of development: soluble lectins dominate in the initial stages of development, and membrane lectins dominate in the formation of generative organs.

Using the analysis of variance, the dependence of the lectin level of activity was established, mainly on the complex effect of factors — genotype, developmental stage, cell fraction and organ affiliation. The analysis of these "most influential" complexes indicates an indisputable advantage in terms of the contribution of the genotype (the lectins themselves are characterized by genotypes of southern origin, and the lowest - by northern) and then (in descending order): developmental stages, localization in the cell and organ.

Key words: oil flax, lectin, organ affiliation, cell localization, flax genotype, lectin activity.