

И.М. Жарский, профессор; В.В. Титок, гл. науч. сотрудник ИГиЦ НАНБ;
С.В. Кубрак, аспирант ИГиЦ НАНБ; С.И. Юренкова, вед. науч. сотрудник ИГиЦ
НАНБ; В.Г. Лугин, зав. НИЛ ФХМИ; Л.В. Хотылева, академик ИГиЦ НАНБ

АНАЛИЗ ПРОДУКТИВНОСТИ И КАЧЕСТВА ЛЬНА-ДОЛГУНЦА С ПРИМЕНЕНИЕМ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

A correlation analysis was carried out between morphogenetic characters and productivity in the collection of fiber flax cultivars. Scanning electron microscopical features of flax fiber - microfibrils and structural components of fiber flax stem investigated. The results obtained have shown that application of morphogenetic markers for estimating breeding material gives an opportunity to reveal genotypes exhibiting agronomic properties on the basis of which it is possible to develop competitive and ecologically stable fiber flax cultivars.

Лен культурный – *Linum usitatissimum* L. (долгунец и масличный) – ценная сельскохозяйственная культура, дающая для народного хозяйства два вида продукции – волокно и семена. Изучение динамики морфогенетических признаков в ходе онтогенеза позволяет выявлять наиболее значимые показатели при отборе исходного перспективного в селекционном плане материала и является необходимым для идентификации сортов и оценки их генетической чистоты.

Задача данной работы состояла в изучении коллекции сортообразцов льна-долгунца для выявления морфогенетических маркеров продуктивности при создании конкурентоспособных и экологически стабильных сортов.

Материалом для исследований служила коллекция сортообразцов льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L. ssp. *usitatissimum* convar. *elongatum*) различного эколого-географического и генетического происхождения.

Ультроструктурные исследования проводили в так называемой точке слома стебля, образующейся после удаления апекса. Отдельные волокна получали из льняных стеблей способом росяной мочки [1] и изолировали под бинокляром ($\times 16$). Поперечные срезы стебля ниже зоны слома проводили при помощи микротомы и фрагменты стебля длиной 6–7 мм замораживали в жидком азоте. Исследования морфологических особенностей микрофибрилл льноволокна и структурных компонентов стебля осуществляли с использованием сканирующего электронного микроскопа JSM-5610 LV, оснащенного системой химического анализа EDX JED-2201 JEOL (Япония). Изображения получали в низковакуумном режиме работы электронного микроскопа с использованием детектора обратноотраженных электронов, что позволяло изучать структуру образцов без нанесения проводящих покрытий.

Для исследований использовали растения льна-долгунца на стадиях онтогенеза: «быстрый рост» и «ранняя желтая спелость». Измерение длины стебля и определение его сухой массы на стадии быстрого роста производили после удаления апекса. На стадии «ранняя желтая спелость» определение длины («техническая длина») и сухой массы стебля проводили до неразветвленной части растения. Для корреляционного анализа использовали морфологические показатели, полученные на этих стадиях, величины которых оценивали как средние двухлетних наблюдений.

В растущем растении льна-долгунца имеется специфическая область стебля – зона формирования волокна, находящаяся между верхней частью побега растения и апексом (рис. 1А). Эта зона достаточно легко идентифицируется, благодаря чему появилась реальная возможность определения длины волокна развивающегося стебля [2, 3]. Выше этой точки стебель легко ломается на фрагменты, тогда как ниже он достаточно прочный и может быть разделен на богатую волокнами оболочку и ткани ксилемы [2, 4, 5]. Образование структурных

компонентов различных тканей растущей части побега в это время в большей степени осуществляется за счет поступления ассимилятов из нижних листьев донорной части растения [6].

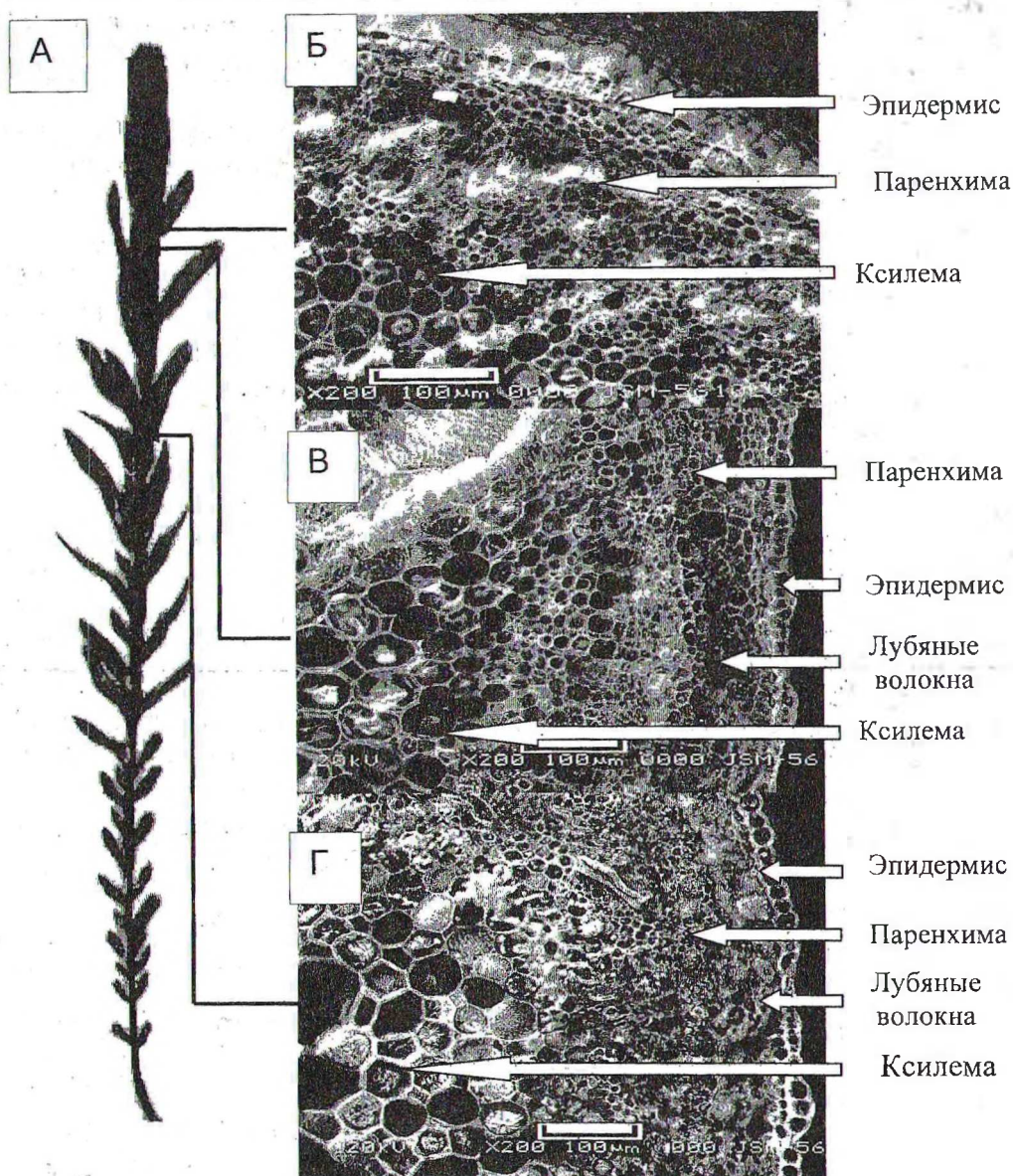
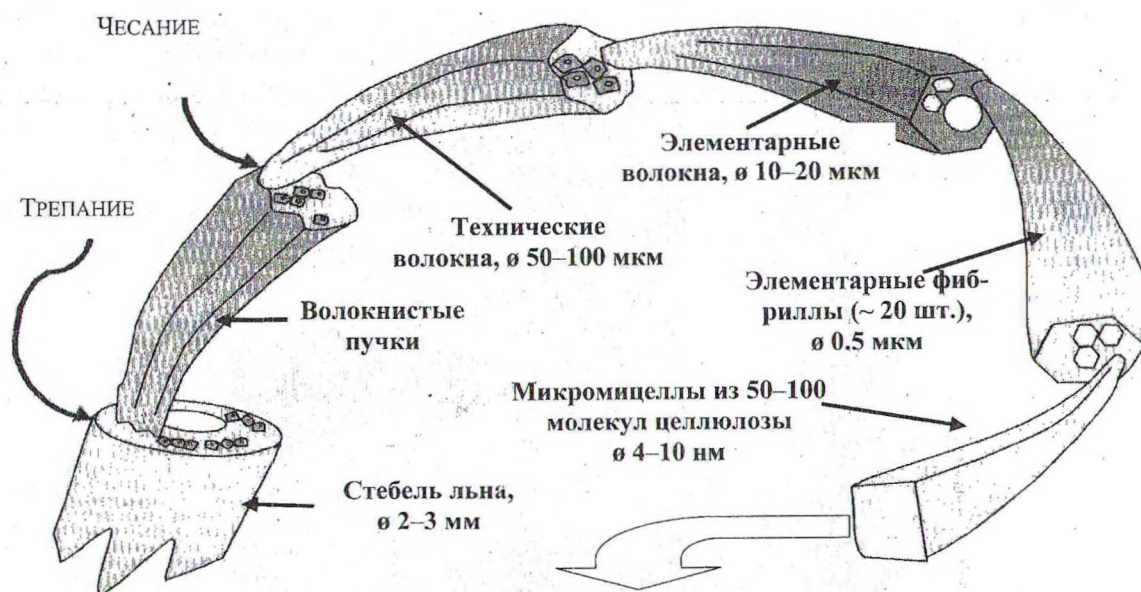


Рис. 1. Схематическое изображение растения и электронно-микроскопические фотографии поверхностей слема стебля льна-долгунца на стадии «быстрый рост»: А – общий вид растения льна-долгунца; Б – нижняя поверхность апекса; В – верхняя поверхность стебля растения после удаления апекса; Г – поперечное сечение стебля растения на 1,5 см ниже точки слема. На всех снимках $\times 200$, бар = 100 мкм

На микрофотографии верхней поверхности растущего стебля растения льна-долгунца (зона слема), полученной после удаления апекса, можно различить: эпидермис, паренхиму, ксилему и лубяные волокна (рис. 1В). Поперечный срез стебля на 1,5 см ниже точки слема отличался внешним видом от предыдущего снимка; ксилема стала более разросшейся и одревесневшей, а клетки лубяного волокна имели достаточно толстые оболочки (рис. 1Г). Микроснимок нижней поверхности апекса выявил наличие всех вышеперечисленных тканей стебля растения за исключением клеток лубяного волокна (рис. 1Б). Полученные данные подтверждают результаты исследований ультраструктуры тканей стебля льна-долгунца в зоне формирования лубяных клеток и утолщения вторичных оболочек элементарного волокна других авторов [1–3].

Основной продуктивный орган растений льна-долгунца – стебель, который состоит из пучков удлиненных клеток (рис. 2).



Состав элементарных волокон [8]:

Целлюлоза ~ 70.0%
 Гемицеллюлоза ~ 15.0%
 Пектин ~ 1.5%
 Лигнин ~ 2.0%
 Воск ~ 1.5%
 Вода ~ 10.0%



Рис. 2. Схематическое строение структурных компонентов стебля и химический состав элементарных лубяных волокон льна-долгунца

Количество элементарных волокон в волокнистом пучке колеблется от 10 до 50 шт. Волокна стебля льна-долгунца являются специализированными многоядерными клетками без перегородок, обладающими большой длиной (в среднем 2–5 см) и толщиной вторичной клеточной стенки (5–15 мкм) [7, 8]. Волокна льна-долгунца представляют собой модель трубчатой структуры с высоким пределом прочности на разрыв и низкой упругостью, что указывает на их ведущую роль в обеспечении устойчивости стебля растения к полеганию [9–11]. Лубяное волокно является механической тканью флоэмы, специализированной для биосинтеза целлюлозы и других полисахаридов. Древесная часть стебля не представляет практической ценности, но обеспечивает растениям вертикальную устойчивость благодаря относительно высокому содержанию лигнина. Известно, что от устойчивости растений льна-долгунца к полеганию во многом зависит величина урожая и качество волокна. Волокнистые пучки связаны друг с другом элементарными волокнами, переходящими из одного пучка в другой, в результате чего обеспечивается прочное продольное соединение всей волокнистой системы лубяного стебля. На рис. 3А представлена микрофотография, показывающая организацию волокна в пучках стебля растения льна-долгунца сорта Викинг на стадии «ранняя желтая спелость».

При отделении волокна от древесины выделяются сплошные ленты волокнистого слоя, представляющие собой техническое волокно, длина которого находится в прямой за-

в зависимости от длины неразветвленной части стебля – основной характеристики качества льняного волокна. Необходимо отметить, что чем плотнее волокнистые пучки сливаются в сплошное кольцо и чем длиннее (при средней толщине) стебли льна-долгунца, тем выше урожай волокна. На снимке, полученном при помощи сканирующего электронного микроскопа ($\times 1000$), показаны элементарные лубяные волокна и их реальные морфометрические параметры (рис. 3Б). На микрофотографии также можно обнаружить инкрустацию микрофибрилл, обусловленную присутствием нецеллюлозных полисахаридов и пектина (отмечены стрелками). Однако по сравнению с результатами других исследователей [3, 12] инкрустация не столь значительна, так как на поверхности лубяных волокон большинство биополимеров гидролизованы в результате росной мочки [1].

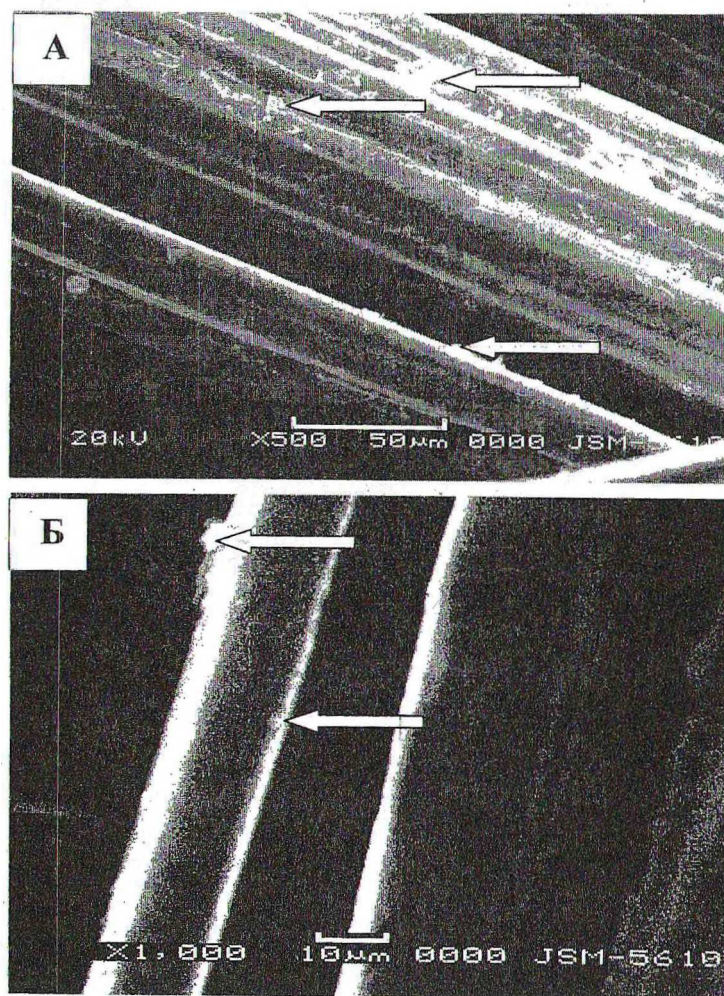


Рис. 3. Электронно-микроскопические фотографии элементарных волокон (А – $\times 1000$, бар = 10 мкм) и волокнистого пучка (Б – $\times 500$, бар = 50 мкм) из стебля растения льна-долгунца сорта Викинг на стадии «ранняя желтая спелость»

На стадии «быстрый рост» у льна-долгунца происходит интенсивное увеличение высоты растений, числа листьев и листовой поверхности, что обусловлено, по данным ряда исследователей [13, 14], активизацией клеточного метаболизма, оказывающей существенное влияние на развитие и формирование клеточных стенок в тканях стебля льна-долгунца. В период быстрого роста до стадии «бутонизация» прирост растений в высоту достигает 4 см в сутки, образуется до 75% сухих веществ и 60% волокна. Продолжительность этой фазы определяется генотипическими особенностями сортов льна-долгунца и составляет примерно

12–20 дней. В табл. 1 представлены данные по морфогенетическим признакам на стадиях «быстрый рост» и «ранняя желтая спелость» коллекции сортов образцов льна-долгунца.

Анализ полученных результатов показал, что по длине стебля без апекса в период онтогенеза сортов образцы льна-долгунца значительно отличались друг от друга (табл. 1). Наибольшая величина этого показателя отмечена у сортов Визит, Оршанский-2 и Дымок (>50 см), наименьшая – у Л-41, Фибра и Лазер (<30 см). Аналогичные данные обнаружены и по признаку «высота растений». Длина апекса у анализируемых генотипов изменялась незначительно, и только у четырех сортов (Лазер, Светоч, Викинг, Балтучья) этот показатель значительно выше (4–6 см). Сравнительный анализ признака «сухая масса стебля», определяемый до апекса, показал, что максимальная величина этого показателя выявлена у сорта российской селекции Визит (0,36 г). У остальных генотипов она колебалась от 0,13 до 0,23 г. Минимальная сухая масса стебля отмечена у сортов образцов Фибра, К-65, Дашковский, Призыв-2 и Славный-82 (0,10–0,12 г).

Период созревания (стадии «зеленая спелость», «ранняя желтая спелость» и «полная желтая спелость») характеризуется формированием коробочек и семян, быстрым одревеснением тканей стебля, продолжающимся до полного созревания семян. На стадии «ранняя желтая спелость» наблюдается пожелтение стебля, листьев и созревание сформированных лубяных волокон. Необходимо подчеркнуть, что уборку льна-долгунца на волокно проводят именно на этой стадии, так как к этому периоду оно полностью сформировано, но все еще остается мягким и эластичным.

По данным ряда исследователей, высота растений льна-долгунца в зависимости от внешних факторов варьирует в достаточно широком диапазоне (от 70 до 125 см), а при благоприятных условиях может достигать 130–140 см [6, 8]. По нашим данным, на стадии «ранняя желтая спелость» наиболее высокие растения (признак «высота растений») были обнаружены у сортов Батист, Новоторжский, К-6 и К-65 (табл. 1). Минимальная величина этого показателя отмечена у сортов образцов К-6307 и Лазер.

Таблица 1

Величины морфологических признаков на стадии «быстрый рост» и конечная продуктивность сортов льна-долгунца

Сорта	«Быстрый рост»				«Ранняя желтая спелость»		
	длина апекса (см)	длина стебля (см)	сухая масса стебля (г)	высота растения (см)	техническая длина стебля (см)	сухая масса стебля (г)	высота растения (см)
Дашковский	2,97	35,24	0,11	38,21	66,03	1,09	83,70
Л-1120	3,03	36,83	0,17	39,86	68,17	0,97	86,63
Новоторжский	2,98	38,70	0,18	41,68	79,93	1,24	96,60
К-6297	2,61	44,41	0,21	47,02	62,30	0,62	80,07
Бисон	2,87	35,73	0,14	38,60	51,27	0,58	67,33
Руда	2,97	40,17	0,16	43,14	52,67	0,77	71,63
К-4096	2,99	36,85	0,15	39,84	56,07	0,82	76,13
Родник	2,83	37,67	0,16	40,50	76,97	1,00	92,90
Вита	2,47	39,74	0,16	42,21	78,53	0,78	89,33
Фортуна	2,79	41,62	0,17	44,41	71,87	1,03	86,87
Криста	2,74	46,57	0,20	49,31	69,80	0,62	82,47
Успех	2,99	42,41	0,16	45,40	73,87	0,69	89,13
Тверца	3,38	44,67	0,22	48,05	72,77	0,70	87,37
Горан	3,00	44,87	0,18	47,87	65,10	0,62	78,50
Вера	3,21	43,62	0,20	46,83	57,83	0,64	71,20
Заря	3,32	46,19	0,26	49,51	67,40	0,87	79,43
Белочка	2,88	39,70	0,13	42,58	69,17	0,72	84,73
Архангельский кряж	2,70	41,13	0,23	43,83	57,67	0,55	71,90

Сорта	«Быстрый рост»				«Ранняя желтая спелость»		
	длина апекса (см)	длина стебля (см)	сухая масса стебля (г)	высота растения (см)	техниче- ская длина стебля (см)	сухая масса стебля (г)	высота растения (см)
Дымок	3,20	50,02	0,23	53,22	69,37	0,79	82,67
Визит	3,50	58,60	0,36	62,10	74,43	0,91	88,80
Батист	3,71	42,04	0,22	45,75	83,67	0,96	101,00
Вандер	3,09	40,43	0,16	43,52	53,33	0,74	68,20
Фану	3,20	42,89	0,21	46,09	62,23	1,08	79,17
Ева	3,55	32,84	0,14	36,39	58,60	0,80	73,87
Дага	2,96	37,18	0,18	40,14	60,13	0,70	75,87
Сильва	3,26	47,59	0,25	50,85	72,40	1,05	88,67
Мирный	3,34	39,46	0,15	42,80	50,10	0,40	64,53
Мадонна	3,56	44,62	0,20	48,18	67,80	0,85	81,80
Регина	3,66	44,16	0,21	47,82	66,43	0,70	82,97
Гера	3,10	45,04	0,19	48,14	60,57	0,54	77,57
Хильда	3,27	45,72	0,22	48,99	72,90	0,95	88,70
М-12	3,18	36,19	0,13	39,37	65,90	0,65	80,70
К-6	3,16	40,45	0,15	43,61	79,30	0,74	95,33
К-65	2,65	31,70	0,10	34,35	78,70	0,86	93,10
Призыв-2	3,16	32,71	0,11	35,87	65,80	0,60	82,63
Томский-10	3,25	38,51	0,15	41,76	63,90	0,68	76,07
Славный-82	3,03	33,70	0,12	36,73	64,13	0,74	79,53
Фибра	2,97	28,47	0,10	31,44	47,23	0,41	64,47
Виера	3,50	47,80	0,22	51,30	57,47	0,39	64,67
К-6307	2,89	33,75	0,15	36,64	45,70	0,51	59,47
Леорковский	3,24	30,20	0,17	33,44	51,53	0,67	65,57
Белинка	3,31	41,75	0,14	45,06	67,50	0,73	82,43
Могилевский-1	3,00	37,33	0,13	40,33	72,47	0,93	88,13
Оршанский-2	3,48	53,41	0,21	56,89	72,30	0,88	85,43
Л-41	2,83	27,84	0,16	30,67	57,70	0,65	76,97
Лазер	4,03	29,64	0,13	33,67	44,27	0,78	61,77
Викинг	5,01	30,52	0,15	35,53	68,57	1,00	83,83
Светоч	4,48	36,17	0,14	40,65	63,83	1,01	84,87
Балтучяй	5,79	40,77	0,22	46,56	64,87	0,80	80,90
НСР ₀₅	0,40	4,32	0,05	—	3,45	0,196	4,41

Техническая длина стебля льна-долгунца является важным показателем его продуктивности: от величины этого признака зависит урожай волокна – основного вида продукции этой культуры. По данным табл. 1, у большинства сортов исследуемой коллекции льна-долгунца техническая длина стебля на стадии «ранняя желтая спелость» колебалась в пределах 62–78 см. Следует отметить, что наибольшая и наименьшая величины этого признака обнаружены у тех же сортообразцов, что и для показателя «высота растений».

Для анализа продуктивности льна-долгунца имеет значение не только оценка признака «техническая длина» стебля на стадии «ранняя желтая спелость», но и его сухая масса, так как этот морфологический показатель косвенно указывает на количественное содержание волокна в стебле растения. Результаты табл. 1 показали, что максимальная величина признака «сухая масса стебля» растений выявлена у сорта Новоторжский. У сортов Дашковский, Фортуна, Светоч, Викинг и Родник значения этого показателя несколько ниже. Данные сортообразцы также характеризовались относительно высокими величинами признака «техническая длина» стебля: По результатам лабораторных исследований технологических характеристик льносолом, полученных из БелНИИ льна, у этих же сортов об-

наружены высокие величины таких важных для культуры льна-долгунца признаков, как «масса волокна» и «% выхода волокна». На основании сопоставления полученных результатов вышеперечисленные сортообразцы можно отнести к высокопродуктивным формам. Минимальные значения показателя «сухая масса стебля» обнаружены у сортов Фибра и Виера. Величина признака «техническая длина» у них невысокая, т. е. эти генотипы низкоурожайные, что также подтверждается данными БелНИИ льна. Следует отметить, что у высокорослых сортов Батист, К-65 и К-6 «сухая масса стебля» растений имеет средние значения среди исследуемой выборки сортообразцов льна-долгунца. Эти результаты свидетельствуют о длинно- и тонкостебельности вышеназванных сортов, что, по-видимому, и снижает их урожайность по массе волокна.

С целью выявления связей исследуемых морфогенетических показателей в ходе онтогенетического развития растений был проведен корреляционный анализ (табл. 2).

Таблица 2

Коэффициенты корреляции (r) между величинами морфогенетических показателей на стадии «быстрый рост» (БР) и признаками продуктивности на стадии «желтая спелость» (ЖС)

Признаки	r					
	1	2	3	4	5	6
1. Длина стебля на БР	×					
2. Высота растения на БР	0,99**	×				
3. Отношение апекс/ стебель на БР	-0,83**	-0,76**	×			
4. Сухая масса стебля на БР	0,78**	0,79**	-0,60**	×		
5. Техническая длина стебля на ЖС	0,55**	0,57**	-0,42*	0,29	×	
6. Высота растения на ЖС	0,69**	0,69**	-0,54**	0,36*	0,94**	×
7. Сухая масса стебля на ЖС	0,25	0,29	-0,04	0,17	0,60**	0,48**

* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$.

На стадии «быстрый рост» обнаружена достоверная положительная корреляция между признаками «высота растений» и «длина стебля» без апекса ($r = 0,99^{**}$) и отрицательная между вышеназванными показателями и удельной долей апекса – отношение апекс/стебель в % ($r = -0,83^{**}$ и $r = -0,76^{**}$ соответственно). Признак «сухая масса стебля» положительно связан с длиной стебля и высотой растений ($r = 0,78^{**}$ и $r = 0,79^{**}$) и отрицательно с удельной долей апекса ($r = -0,60^{**}$). Проведенные нами исследования активности биоэнергетических процессов показали, что на стадии «быстрый рост» величины показателей энергетического метаболизма и акцепторные свойства листьев растений льна-долгунца достигают максимальных значений [15]. Эти результаты указывают, что на стадии «быстрый рост» с высокой активностью протекают процессы, влияющие на рост и развитие растений льна. Таким образом, высокие коэффициенты корреляции между морфогенетическими показателями можно объяснить высокой метаболической активностью.

На стадии «ранняя желтая спелость» обнаружена достоверная прямая связь признаков «высота растений» и «техническая длина» ($r = 0,94^{**}$), а также между этими показателями и сухой массой, определяемой до разветвления стебля растения ($r = 0,48^{**}$ и $r = 0,60^{**}$ соответственно) (табл. 2). При анализе корреляционных связей между физиолого-биохимическими показателями у исследуемых форм льна-долгунца и продуктивностью нами обнаружена прямая зависимость конечной урожайности от содержания макроэнергетических компонентов и восстановительных эквивалентов (ADP, ATP, NADH₂ и NADPH₂), а также от потенциальной мощности адениловой и никотинамидной систем [16]. Выявлено, что активность реакций, продуцирующих энергетические и восстановительные эквиваленты, на стадии «ранняя желтая спелость» определяется интенсивностью внутриклеточного метаболизма, который тесно связан с ростом и развитием растения [15]. Эти факты свидетельствуют о сбалансированности биоэнергетических и морфогенетических процессов.

Следует отметить наличие высокодостоверной прямой корреляции между признаками «длина стебля» растений на стадии «быстрый рост» и «техническая длина» на стадии «ранняя желтая спелость» (табл. 2). Выявленная корреляция указывает на зависимость продуктивности в коллекции сортов льна-долгунца (в частности, технической длины стебля) от величины маркерных морфогенетических показателей развивающихся побегов на ранних этапах онтогенеза. Полученные результаты, на наш взгляд, могут быть использованы для идентификации длиностебельных генотипов льна-долгунца.

На основании полученных результатов можно заключить, что использование морфогенетических маркеров для оценки селекционного материала дает возможность выявлять генотипы, обладающие хозяйственно полезными свойствами, и на их основе создавать высокопродуктивные сорта льна-долгунца. Наличие в стебле растения льна-долгунца зоны формирования волокна – четко идентифицируемого морфогенетического маркера – может служить тест-критерием ранней селекционной оценки перспективных сортообразцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sharma H.S.S., Faughey G., Lyons G. Comparison of physical, chemical, and thermal characteristics of water-, dew-, and enzyme-retted flax fibers // *J. Appl. Polym. Sci.* – 1999. – Vol. 74. – N 1. – P. 139–143.
2. Gorshkova T.A., Wyatt S.E., Salnikov V.V. et al. Cell-wall polysaccharides of developing flax plants // *Plant Physiol.* – 1996. – Vol. 110. – N 4. – P. 721–729.
3. Salnikov V.V., van Dam J.E.G., Lozovaya V.V. Microscopy of cell wall formation in flax bast fibre // *Natural Fibres.* – 1998. – Vol. 2. – P. 187–194.
4. Gorshkova T.A., Salnikov V.V., Chemiksova S.B. et al. The snap point: a transition point in *Linum usitatissimum* bast fiber development // *Industr. Crops Prod.* – 2003. – Vol. 18. – N 3. – P. 213–221.
5. Чиков В.И., Бакирова Г.Г., Иванова Н.П. и др. Ассимиляция меченого углерода отдельными частями растений льна-долгунца и его распределение // *Физиол. биохим. культ. раст.* – 1997. – Т. 29. – № 2. – С. 93–99.
6. Ebskamp J.M. Engineering flax and hemp for an alternative to cotton // *Trends Biotechnol.* – 2002. – Vol. 20. – N 6. – P. 229–230.
7. Baley C. Analysis of the flax fibers tensile behaviour and analysis of the tensile stiffness increase // *Composites: Appl. Sci. Manuf.* – 2002. – Vol. 33. – N 7. – P. 939–948.
8. Morvan C., Andème-Onzighi C., Girault R. et al. Building flax fibres: more than one brick in the walls // *Plant Physiol. Biochem.* – 2003. – Vol. 41. – N 11–12. – P. 935–944.
9. McDougall G.J., Morrison I.M., Stewart D. et al. Plant fibres: botany, chemistry and processing for industrial use // *J. Sci. Food Agric.* – 1993. – Vol. 62. – N 1. – P. 1–20.
10. Baley C. Influence of kink bands on the tensile strength of flax fibers // *J. Mater. Sci.* – 2004. – Vol. 39. – N 1. – P. 331–334.
11. Sharma H.S.S., McCall D., Kernaghan K. Scanning electron microscopy, X-ray microanalysis, and thermogravimetric assessment of linen fabrics treated with crease-resisting compounds // *J. Appl. Polym. Sci.* – 1999. – Vol. 72. – N 9. – P. 1209–1219.
12. Faughey G.J., Sharma H.S.S., McCall D. Determining fiber fineness in flax using derivative thermogravimetric analysis, scanning electron microscopy, and airflow methods // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2000. – Vol. 75. – N 4. – P. 508–514.
13. Горшкова Т.А., Агеева М.В., Сальников В.В. и др. Стадии формирования лубяных волокон *LINUM USITATISSIMUM (LINACEAE)* // *Ботанический журнал.* – 2003. – Т. 88. – № 12. – С. 1–11.
14. Gorshkova T.A., Salnikov V.V., Pogodina N.M. et al. Composition and distribution of cell wall phenolic compounds in flax (*Linum usitatissimum* L.) stem tissue // *Ann. Bot.* – 2000. – Vol. 85. – N 4. – P. 477–486.
15. Титок В.В. Биоэнергетические процессы в онтогенезе льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) при гетерозисе // *Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2002. – № 3. – С. 45–49.
16. Titok V.V., Yurenkova S.I. Dynamics of energy metabolism parameters in fiber flax ontogenesis // *Natural Fibres.* – 1998. – N 2. – P. 241–243.