

Т. В. Никитинская, аспирант ИГиЦ НАН Беларуси;
В. З. Богдан, зав. лабораторией НИИ льна;
В. Г. Лугин, зав. лабораторией НИЛ ФХМИ БГТУ;
В. В. Титок, зав. лабораторией ИГиЦ НАН Беларуси

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ВОЛОКНА У ПОДВИДОВ ЛЬНА КУЛЬТУРНОГО (*LINUM USITATISSIMUM* L.)

Anatomic and morphological characteristics of 43 common flax cultivars of five subspecies (*subsp. elongatum*, *subsp. intermedium*, *subsp. humile*, *subsp. latifolium* and *subsp. crepitans*) were investigated. The applied combined approach including methods of electron and light microscopy makes it possible not only to obtain data on structural and functional differences in cells of elementary fibers, but also to reveal relationships between the parameters under study and distinction of fiber formation in common flax subspecies.

Введение. Лен культурный – это вторая по значению прядильная культура после хлопка. Так как льняное волокно вдвое крепче хлопкового, то много льняной пряжи идет на технические ткани (шпагат, веревки, брезент, мешковину, парусину и пр.).

Главный продуктивный орган прядильных льнов – стебель. Основную ценность в стебле имеют волокнистые пучки, которые относятся к механическим тканям, повышающим устойчивость стебля к полеганию, изгибам, переломам и т. п. Они состоят из плотно склеенных пектиновыми веществами элементарных волокон – длинных клеток веретенообразной формы с заостренными концами. Лубяные волокна льна принадлежат к числу наиболее длинных растительных клеток: они достигают нескольких сантиметров при коэффициенте прозенхимности (соотношение между длиной и шириной клетки) более 1000 [1].

Качество волокна зависит от длины, толщины и формы отдельных волокон, что и определяет его эластичность. Чем меньше варьирование величины диаметра, тем длиннее клетки волокна и лучше его качество. В настоящее время все вновь создаваемые сорта оцениваются по этим анатомическим показателям [2].

Вопросы, связанные с формированием, характером роста, развития и созревания элементарных волокон, важны не только с теоретической точки зрения для расшифровки важного аспекта биологии растительной клетки, но и в практическом плане – для решения задач, касающихся регуляции величины и качества урожая технического волокна [1, 3].

Цель данной работы – выявить зависимость признаков качества волокна от морфоанатомических показателей стебля у разных генотипов льна культурного.

Материал и методы. Нами исследовано 43 сорта льна культурного пяти подвидов (*subsp. elongatum*, *subsp. intermedium*, *subsp. humile*, *subsp. latifolium* и *subsp. crepitans*) [4, 5, 6] из коллекции ИГиЦ НАН Беларуси, которая

включала сорта отечественной и зарубежной селекции. Сорта льна культурного выращивались на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси.

Так как метод световой микроскопии недостаточно информативен для изучения тех структурных компонентов клеток лубяного волокна, которые лежат за пределами разрешающей способности, то при анализе коллекции использовали методы световой и сканирующей электронной микроскопии.

Для изучения анатомического строения стебля методом световой микроскопии использовали поперечные срезы, взятые на середине технической длины у 10 одинаковых по длине и толщине зрелых убранных растений. Отрезки стеблей 2–3 см фиксировали в размягчительной смеси спирт: вода: глицерин (1 : 1 : 1). Подсчет числа пучков, элементарных волокон и измерение диаметра среза и элементарных волокон производили с помощью светового микроскопа Amplival при увеличении 15×3,2, а подсчет числа пучков и элементарных волокон в пучке и на срезе и измерения диаметра элементарных волокон в пучке – при увеличении 15×16, с использованием компьютерной программы анализа изображений ImageTool 300.

Электронно-микроскопический анализ волокон растений льна осуществляли при помощи сканирующего электронного микроскопа JSM-5610 LV. Изображения поперечных срезов волокон получали в низковакуумном режиме работы электронного микроскопа с использованием детектора обратно отраженных электронов, что позволяло получать структуру образцов без нанесения проводящих покрытий.

Для получения очищенных элементарных волокон был использован химический метод, основанный на применении хелатирующих агентов и автоклавирования [7]. Сухие стебли льна, отрезки по 4–5 см из средней части 20–25 растений, погружали в дистиллированную воду (350 мл) с хелатирующими агентами (0,05 М ЭДТА в 0,05 М трис-буфере, pH 8,0). Фрагменты стеблей автоклавировали при 120°C в течение 30 мин, отмы-

вали в проточной воде и ополаскивали дистиллированной водой. Высушивание проводили в условиях 23°C в течение 2 дней, затем вычесывали для лучшего разделения элементарных волокон.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что качество волокна положительно коррелирует с длиной междоузлий и отрицательно с количеством волокна [8]. Также было выявлено, что слабое притенение способствовало увеличению длины растений (с 60 до 65 см), некоторому уменьшению диаметра стеблей, повышению процента выхода волокна из стебля [9].

В результате проведенных нами исследований было установлено, что у подвидов льна культурного (долгунцы, межеумки) увеличение технической длины растения приводило к увеличению диаметра и утолщению клеточной стенки волокна, у льна-кудряша и крупносемянного увеличение технической длины растения вело к уменьшению толщины клеточной стенки, а у крупносемянных льнов – и к уменьшению диаметра волокна (табл. 1). Также у трех подвидов льна (межеумки, кудряши, крупносемянные) была выявлена положительная корреляция между диаметром и толщиной клеточной стенки волокна, а у подвидов долгунцы, кудряши и крупносемянные была обнаружена достоверная положительная корреляция между диаметром стебля и диаметром волокна (табл. 1). У долгунцов и межеумков увеличение длины междоузлий вело к уменьшению диаметра волокна, у долгунцов – к уменьшению диаметра стебля, а у межеумков – к утолщению клеточной стенки

волокна. Также у межеумков техническая длина растения положительно коррелировала с длиной междоузлий, а увеличение диаметра стебля приводило к увеличению толщины клеточной стенки волокна (табл. 1).

Обработка электронных микроснимков поперечных срезов волокон льна разных подвидов проводилась с использованием полуавтоматического алгоритма системы анализа изображений AutoScan 3.0 (см. рисунок). Программа выдавала автоотчет по шести количественно-геометрическим признакам элементарного волокна: площадь, периметр, длина, ширина, округлость и фактор формы.

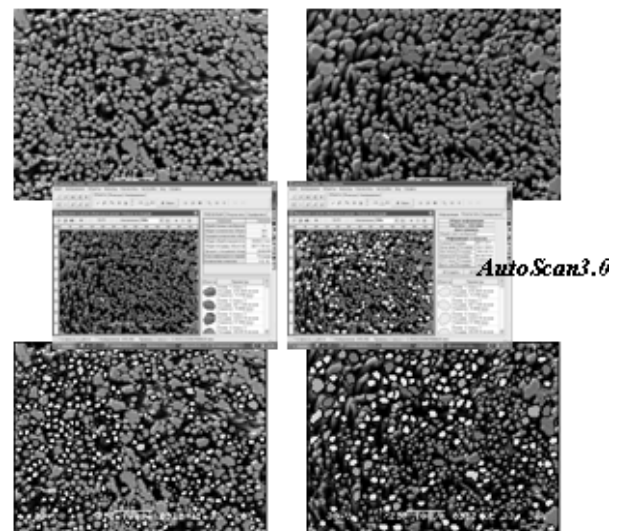


Рисунок. Пример анализа электронно-микроскопических изображений программным комплексом AutoScan 3.0

Таблица 1

Корреляции между анатомо-морфологическими параметрами у подвидов льна культурного

Признаки	Лен-долгунец	Лен-межеумок	Лен-кудряш	Лен крупносемянный
Техническая длина × длина междоузлий	0,49	0,66 *	0,17	0,45
Техническая длина × диаметр стебля	0,48	-0,51	-0,17	0,24
Техническая длина × диаметр волокна	0,87 *	0,69 *	-0,57	-0,67 *
Техническая длина × толщина клеточной стенки	0,85 *	0,89 *	-0,68 *	-0,76 *
Длина междоузлий × диаметр стебля	-0,97 *	-0,60	-0,55	0,41
Длина междоузлий × диаметр волокна	-0,70 *	-0,71 *	-0,34	-0,32
Длина междоузлий × толщина клеточной стенки	0,30	0,93 *	0,53	0,30
Диаметр стебля × диаметр волокна	0,85 *	-0,36	0,62 *	0,74 *
Диаметр стебля × толщина клеточной стенки	-0,06	-0,79 *	-0,32	-0,53
Диаметр волокна × толщина клеточной стенки	0,47	0,79	0,80 *	0,66 *

* $P \leq 0,05$.

Анализ полученных результатов выявил достоверные различия по исследуемым признакам (табл. 2). Значение площади поперечного среза лубяных волокон у анализируемых сортов колебалось в пределах от 103,60 мкм² (Славный 82, лен-долгунец) до 447,71 мкм² (К-4821, лен растрескивающийся). Наиболее высокие значения площади поперечного среза обнаружены у сорта К-4821 (447,71 мкм²) и сортов подвида лен крупносемянный К1210 (365,81 мкм²), Ocean (339,00 мкм²) и сорта Lirina (301,63 мкм², кудряш). Относительно низкими величинами этого параметра характеризовались сорта подвида лен-долгунец Славный 82 (103,60 мкм²), А-29 (150,65 мкм²), Блакит (185,93 мкм²) и сорта Leona (176,23 мкм²) и Culbert (199,30 мкм²) подвида лен-межеумок. Остальные изученные генотипы по величине этого признака занимали промежуточное положение, что подтверждается результатами, представленными в табл. 2.

Не менее важным показателем для характеристики волокна является периметр поперечного среза элементарного волокна. Высокие значения этого признака свидетельствует о более крупных (с утолщенной клеточной стенкой) волокнах, которые характеризуются низким качеством. Средние значения (50–69 мкм) периметра среза элементарного волокна харак-

терны для 37 сортов, у 4 генотипов этот показатель колебался в пределах 30–50 мкм, а у 2 образцов он достигал 69–80 мкм.

Известно, что у качественного волокна величины параметров длина и ширина поперечного среза элементарного волокна должны иметь достаточно близкие значения. В данной выборке сортов длина поперечного среза элементарного волокна изменялась от 13,48 мкм (у сорта Славный 82) до 77,81 мкм (у сорта К-4821), а ширина поперечного среза колебалась в пределах 10,42–20,28 мкм (у сортов Славный 82 и К-4821 соответственно) (табл. 2). Минимальная разница между параметрами длина и ширина были у сортов Блакит (2,85 мкм), А-29 (3,48 мкм), Славный 82 (3,06 мкм) подвида лен-долгунец, а максимальная – у сорта К-4821 (8,32 мкм) подвида лен растрескивающийся, сорта Ocean (7,62 мкм) подвида лен крупносемянный и сорта Ручеек (7,09 мкм) подвида лен-кудряш.

Качество технического волокна зависит от строения элементарных клеток. Если элементарные волокна не выровнены по диаметру на поперечном срезе, то это является свидетельством их низкого качества [8, 9]. Другими словами, у высококачественных сортов величина параметров округлость поперечного среза и фактор формы элементарных клеток должна приближаться к единице.

Таблица 2

Количественно-геометрические признаки элементарного волокна льна по данным электронной микроскопии

Сорт/подвид	Площадь, мкм ²	Периметр, мкм	Длина, мкм	Ширина, мкм	Округлость	Фактор формы
Блакит	185,93	49,45	17,24	14,39	1,04	0,92
А-29	150,65	46,43	16,36	12,88	1,10	0,86
Славный 82	103,60	37,48	13,48	10,42	1,07	0,87
Ariane	212,28	53,20	19,08	14,81	1,05	0,91
<i>subsp. elongatum</i> (среднее значение)	163,12	46,64	16,54	13,13	1,07	0,89
Koto	238,22	56,51	19,96	15,98	1,06	0,89
Leona	176,23	48,62	17,66	13,20	1,07	0,88
Cree	326,31	65,83	23,48	18,34	1,05	0,91
Norlin	205,44	52,63	19,28	14,19	1,06	0,89
Culbert	199,30	51,46	18,39	14,43	1,05	0,91
<i>subsp. intermedium</i> (среднее значение)	229,10	55,01	19,75	15,23	1,06	0,90
Ручеек	326,93	66,46	24,46	17,37	1,08	0,86
Lirina	301,63	62,39	22,45	17,07	1,06	0,89
<i>subsp. humile</i> (среднее значение)	314,28	64,43	23,46	17,22	1,07	0,88
Ocean	339,00	69,30	25,67	18,03	1,09	0,85
K1210	365,81	69,72	24,95	19,32	1,06	0,90
Endress Oljlen	283,01	61,78	22,53	16,51	1,07	0,88
<i>subsp. latifolium</i> (среднее значение)	329,27	66,93	24,38	17,95	1,07	0,88
К-4821 Чехия	447,71	77,81	28,80	20,28	1,07	0,87
<i>subsp. crepitans</i> (среднее значение)	421,06	76,54	26,98	18,90	1,08	0,86

Сравнительный анализ полученных результатов по критериям округлость и фактор формы существенных различий между подвидами не выявил. Значение признака округлость варьировало в пределах от 1,04 (Блакит) до 1,10 (А-29) и значение признака фактор формы – от 0,85 (Ocean) до 0,92 (Блакит).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования электронной микроскопии в сочетании с обработкой полученных изображений в программе AutoScan 3.0 для проведения сравнительного анализа перспективных сортов и скрининга уникальных генотипов льна культурного.

Заключение. Использование комплексного подхода, включающего методы электронной и световой микроскопии, позволило получить данные о структурно-функциональных различиях клеток элементарных волокон у подвигов льна культурного.

Оценка анатомо-морфологических признаков и выявление корреляционных зависимостей между исследованными характеристиками позволили выявить особенности формирования волокна у разных подвигов.

Литература

1. Стадии формирования лубяных волокон *Linum usitatissimum* (Linaceae) / Т. А. Горшкова [и др.] // Ботанический журнал. – 2003. – Т. 88, № 12. – С. 1–11.
2. Онтогенетическое развитие клеток волокна у разных генотипов льна-долгунца / Н. Л. Трухановец [и др.] // Доклады Нац. акад. наук Беларуси. – 2001. – Т. 45, № 2. – С. 86–89.
3. Ультраструктурный анализ лубяных волокон / В. В. Сальников [и др.] // Физиология растений. – 1993. – Т. 40, № 3. – С. 458–464.
4. Diederichsen, A. Phenotypic and molecular (RAPD) differentiation of four infraspecific groups of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L. subsp. *usitatissimum*) / A. Diederichsen, Yong-Bi Fu // Genetic Resources and Crop Evolution. – 2006. – Vol. 53. – P. 77–90.
5. Diederichsen, A. Variation of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L. subsp. *usitatissimum*) and its wild progenitor pale flax (subsp. *angustifolium* (Huds.) Thell.) / A. Diederichsen, K. Hammer // Genetic Resources and Crop Evolution. – 1995. – Vol. 42. – P. 263–272.
6. Лемеш, В. А. RAPD-анализ межвидового полиморфизма льна / В. А. Лемеш, М. В. Шут, Л. В. Хотылева // Вестник ВОГиС. – 2005. – Т. 9, № 4. – С. 490–494.
7. Improved method for fibre content and quality analysis and their application to flax genetic diversity investigations / M. J. A. van den Oever [et al.] // Industrial crop and products. – 2003. – Vol. 18. – P. 231–243.
8. Тихвинский, С. Ф. Методы оценки качества льняного волокна на первых этапах селекции / С. Ф. Тихвинский, С. В. Доронин, А. Н. Дудина // Вестник ВНИИЛК. – 2003. – № 1. – С. 73–75.
9. Тихвинский, С. Ф. Влияние различных факторов на анатомическое строение стебля льна-долгунца в связи с содержанием и качеством волокна: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук: 16.12.1968 / С. Ф. Тихвинский; НИИР им. Н. И. Вавилова. – Л., 1968. – 65 с.