

ЗАСТОСУВАННЯ РАСТРОВОЇ ЕЛЕКТРОННОЇ МІКРОСКОПІЇ У ЦИТОГІСТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ СОРТІВ ЛЬОНУ-ДОВГУНЦЯ

Верещагін Ігор Володимирович

кандидат сільськогосподарських наук, старший викладач
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна
ORCID: 0000-0002-6589-5138
igor_vereschahin1986@ukr.net

Кандиба Наталія Миколаївна

кандидат сільськогосподарських наук, доцент
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна
ORCID: 0000-0001-6548-3670
natnik08@meta.ua

Кривошеєва Лариса Михайлівна

кандидат сільськогосподарських наук., старший науковий співробітник
Інститут луб'яних культур НААН України, м. Глухів, Україна
ORCID: 0000-0001-6688-6930
krivosheeva_l_m@ukr.net

Стаття висвітлює проблему вилягання посівів льону-довгунця внаслідок несприятливих погодних умов. В якості об'єкта досліджень використовували сорти як української, так і зарубіжної селекції: Гладіатор, Мерулін, Журавка, Києвський 2. У статті викладено результати досліджень цито-гістологічної структури стебла сортів льону-довгунця різного ступеня стійкості до вилягання з використанням методу растрової електронної мікроскопії, представлено будову та характерні особливості зрізів гіпокотилля стебел рослин льону-довгунця, а також середню товщину клітинних стінок під-сім'ядольного коліна.

Ключові слова: льон-довгунець, сорт, механічні тканини, гіпокотиль, стійкість до вилягання.

DOI: <https://doi.org/10.32845/agrobio.2019.3.2>

Вступ. У переліку сільськогосподарських культур льон-довгунець займає важливе місце. Його волокно давало перший тканий одяг, а насіння – поживну олію. Льон-довгунець з давніх часів є традиційною прядивною культурою поліських та західних регіонів України. Він має великі перспективи багатоцільового промислового використання – отримання волокна для текстильної промисловості, високоякісної олії харчового, технічного і лікувального призначення, а також біологічно цінних харчових та кормових концентратів. Важливе значення цієї культури також у зміцненні економіки сільського господарства на бідних поліських ґрунтах [1].

Льон здатен давати високоякісне волокно, з якого виготовляють тканини різноманітного призначення – від тонких батистових і серветкових до брезентів та мішковини. Лляне волокно є найбільш цінним серед усіх відомих видів луб'яних волокон. Воно має добрі прядивні властивості завдяки своїй гнучкості, міцності, здатності добре розділятися на окремі волоконця. За розривним навантаженням воно в значній мірі перевищує бавовну, вовну та джут [2].

Вміст волокна у сучасних сортів льону-довгунця перевищує 30 %, при цьому урожайність волокна складає 1,5–2,0 т/га. Насіння льону-довгунця (його урожайність за цією ознакою складає 0,5–1,0 т/га) є джерелом високоякісної олії харчового, технічного та лікувального призначення, тому дана культура виявляється важливою складовою вітчизняної текстильної, олійно-жирової та медичної промисловості.

Льон-довгунець є культурою помірного клімату, область його культивування пов'язана переважно із зоною мішаних лісів. Кліматичні умови цієї зони відзначаються

теплим літом та достатнім зволоженням, отже, є сприятливими для вирощування льону-довгунця. У той же час протягом літніх місяців трапляються періоди, коли спекотні дні змінюються зливами з градом і шквалами, котрі призводять до повного вилягання посівів льону-довгунця.

Для культури льону важливим є питання стійкості до вилягання, з чим пов'язана врожайність та якість льонопродукції. Небезпека вилягання льону на ранніх етапах онтогенезу полягає у викривленні стебла, що зумовлює гірше освітлення листків, зниження фотосинтетичного потенціалу рослин. Дефіцит асимілятів у цей період провокує формування тонкостінних елементарних волокон, закладання меншої кількості коробочок на рослині, невивченість насіння. Вилягання льону під час формування і наливання насіння ускладнює технологічний процес збирання, знижує якість волокна та насіння

Тому на сьогоднішній день постає проблема створення сортів льону-довгунця, здатних протистояти несприятливим умовам, що призводять до знищення урожаю. Крім того, необхідне впровадження сучасних методів досліджень механічних тканин льону-довгунця, з метою їх подальшого застосування у селекції на стійкість рослин до вилягання.

Стебло льону-довгунця представляє собою складний комплекс просторово, структурно та функціонально диференційованих тканин, а формування волокнистого пучка є результатом життєдіяльності листового апарату.

Волокно льону – одне з найбільш довгих рослинних волокон, що має велике значення при його використанні тек-

стильною промисловістю. Воно складається із витягнутих веретенеподібних із загостреними кінцями клітин – елементарних волокон. Витягнута форма пучків сприяє більшому дробленню волокна не тільки при прочісуванні, але й при його виділенні зі стебел. На думку одних авторів, їх довжина складає 16–130 мм, а товщина 4–22 мкм, а на думку інших – відповідно понад 120 мм та 15–20 мкм [3–7].

Основною речовиною, з якої складаються луб'яні волокна, є целюлоза. Її вміст в рослині льону перевищує 80 % і саме вона надає волокну міцності на розрив, гнучкості та еластичності. Міцність та гнучкість волокна значною мірою зумовлені також і ступенем здерев'яніння (лігніфікації) елементарних волокон в стеблі. Але лігнін має скоріше негативне, ніж позитивне значення, бо сполучення доброї гнучкості та міцності спостерігається у рослин, що мають найменш здерев'янілі волоконця. Волокно льону-довгунця відрізняється найменшим вмістом лігніну (біля 3 %) серед усіх луб'яних культур, причому різні сорти та гібриди льону-довгунця відмінні за ступенем здерев'яніння волокна [8, 9].

Невлягаючі сорти відрізняються більш низьким вмістом лігніну в стеблі у період інтенсивного росту та бутонізації. В подальшому кількість лігніну досягає рівня вялягаючого сорту, або навіть перевищує його. Сорти, стійкі до вялягання, відрізняються також більш високим середньодобовим приростом вмісту целюлози в період від цвітіння до повної стиглості і здатні синтезувати значно більше речовин, що гальмують ріст [9]. Темпи формування волокна у різних сортів протягом вегетації неоднакові. У більш скоростиглих сортів збільшення кількості елементарних волокон на поперечному зрізі стебел від фази бутонізації до фази цвітіння більш значне.

Таким чином, льон-довгунець цілком може кваліфікуватися як культура багатопольового промислового використання. Однак, ані валові збори його товарної продукції, ані її якість далеко не вичерпують потенційних можливостей культури. Головними чинниками, що викликають недобори і недостатню якість урожаю є невідповідність умов вирощування льону-довгунця його біологічним властивостям, а також дефіцит вітчизняних сортів з генетично закріпленою високою стійкістю до вялягання.

Мета дослідження полягає у дослідженні цитогістологічної структури попережного зрізу підсім'ядольного коліна стебел льону-довгунця методом растрової електронної мікроскопії для визначення їх стійкості до вялягання.

Матеріали і методи досліджень. Вихідним матеріалом для наших досліджень були сорти льону-довгунця української та нідерландської селекції, які було відібрано із колекційних фондів Інституту луб'яних культур НААНУ.

Гладіатор (Україна). Сорт середньостиглий (вегетаційний період – 68–77 діб), високорослий, високоволокнистий, належить до середньостійких до основних патогенів – фузаріозу та антракнозу. Стійкість до вялягання середня. Вміст волокна в стеблах – 28,3 %; урожайність соломи – 7–8 т/га; волокна – 1,9–2,3 т/га; насіння – 0,7–0,9 т/га.

Merylin (Нідерланди). Сорт середньостиглий (вегетаційний період – 68 діб), високорослий, високоволокнистий, належить до середньостійких до основних патогенів – фузаріозу та антракнозу. Стійкість до вялягання середня. Вміст волокна в стеблах – 30,5 %; урожайність соломи – 7–8 т/га; волокна – 1,9–2,3 т/га; насіння

– 0,7–0,9 т/га.

Журавка (Україна). Ранньостиглий сорт. Урожайність насіння 4,2 ц/га, урожай соломи 45,1 ц/га, урожай волокна – 11,4 ц/га. Вміст волокна складає 24,0 %.

Київський 2 (Україна). Сорт ранньостиглий, доволі високорослий, є середньостійким до основних патогенів – фузаріозу та антракнозу. Вміст волокна в стеблах складає 26,7 %, урожайність соломи 5,5–6,0 т/га, насіння – 0,9–1,0 т/га. Сорт нестійкий до вялягання.

Дослідження проводили на дослідному полі Інституту луб'яних культур НААН (м. Глухів Сумської області).

Погодні умови, що склалися в роки проведення досліджень (2016–2018 рр.) цілком характерні для зони північно-східного Полісся, вони відображали нестабільність гідротермічних режимів вегетації льону-довгунця в цій зоні. Випробування експериментального матеріалу даних досліджень протягом трьох років з контрастними погодними умовами дозволило об'єктивно оцінити реакції сортів льону-довгунця на ці умови.

Для виконання поставлених задач закладали розсадник порівняльного випробування. Попередником льону-довгунця була озима пшениця після багаторічних трав. Основний обробіток ґрунту проводили за типом напівпару; лушпиння стерні, оранка на глибину 22–25 см і дві культивачі по мірі проростання бур'янів на глибину 8–10 та 5–6 см Мінеральні добрива вносили під першу культивування із розрахунку $P_{60}K_{60}$ кг діючої речовини на гектар. Передпосівний обробіток ґрунту складався із культивування та боронування. Азотні добрива вносили під передпосівну культивування в дозі 20 кг діючої речовини на гектар. Заливні ділянки та водні об'єкти поблизу дослідних полів відсутні, ґрунтові води залягають на глибині 15–18 м. Ґрунти темно-сірі опідзолені легкосуглинкові із вмістом гумусу 2,8 %.

Розсадник розташовували на грядках шириною 1 м та довжиною 20 м. З метою найкращого освітлення рядки орієнтували з півночі на південь. Посів проводили в ручною сівалкою із міжряддям 6,5 см і нормою висіву 22 млн. схожих насінин на гектар в оптимальні строки в чотириохватній повторності. При появі повних сходів проводили кількісний облік рослин, що зійшли. При відсутності рослин в гніздах відразу проводили їх підсів і підсіянні гнізда відмічали кілочками. Рослини із цих гнізд при збиранні вибраковувалися. Догляд за посівами в період вегетації здійснювали згідно методичних вказівок по селекції льону-довгунця. Збирання рослин льону-довгунця проводили подільночно у фазі „жовтої“ стиглості. Після обмолоту насіння та зважування соломи, снопи льону-довгунця передавали до контрольної-технологічної лабораторії для визначення якості волокна інструментальним методом.

Для проведення досліджень мікроструктури клітин та тканин рослин льону-довгунця застосовували метод растрової електронної мікроскопії. Дослідження включало наступні етапи:

- 1) нарізання (зламування) гіпокотилу стебел рослин у повітряно-сухому стані;
- 2) фіксація зрізів на карбоновій плівці;
- 3) напилення графітом з використанням вакуумного універсального посту (ВУП-5);
- 4) дослідження за допомогою растрового електронного мікроскопа Селмі-107.

Для вимірювання товщини клітинних стінок механічних тканин та статистичної обробки результатів досліджень

використовували програму Digimizer Image Analysis 4.3.0.0. Для вимірювання вибирали ділянку зрізу гіпокотила як з компактним розташуванням клітин, так і з нещільним.

Результати та їх обговорення. Електронні знімки поперечних зрізів підсід'ядольного коліна вказаних сортів виявляють суттєві відмінності у будові стебел. Механічні тканини у рослин сорту Гладіатор відзначаються ззовні певною щільністю і компактністю, добре помітна ажурність тканин. Особливістю стебел рослин цього сорту є відсутність ситовидних

трубок під епідермісом, які формують волокно (рис. 1, 2).

Дослідження, проведені на поперечних зрізах рослин сорту Merylin засвідчили більш шільну будову механічних тканин. Клітини зібрані у щільні компактні тяжі; внутрішній простір клітин менш об'ємний, ніж у попереднього сорту (рис. 3, 4). На периферії стебла під епідермісом залягає товстий шар елементарних волокон, котрі додають стеблу додаткової міцності та щільності і, як наслідок, стійкості до вилягання.

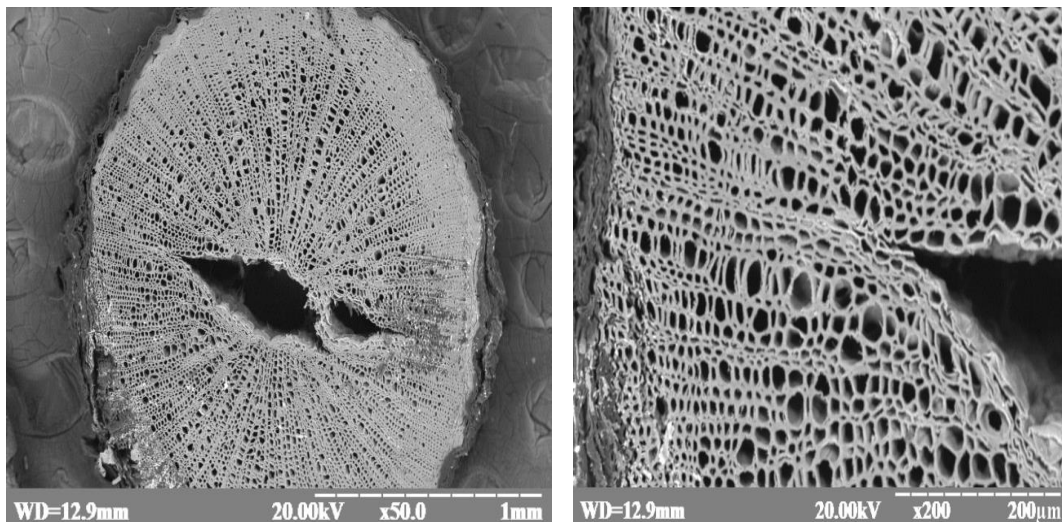


Рис. 1, 2. Поперечний зріз гіпокотила стебел рослин льону-довгунця сорту Гладіатор

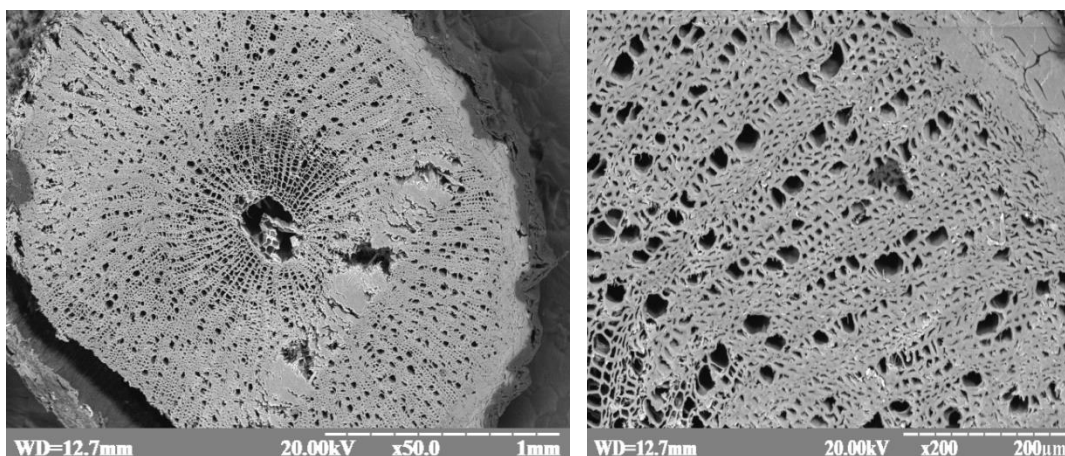


Рис. 3, 4. Поперечний зріз гіпокотила стебел рослин льону-довгунця сорту Merylin

На відміну від попередніх сортів, анатомічна будова стебел рослин сорту Журавка відзначається поганим компонуванням клітин механічних тканин (рис. 5, 6). Клітини непра-

вильної форми, з гофрованими стінками, тяжі ущільнених клітин виражені дуже слабо. Загалом, тканини рихлі, нерівномірно ущільнені. Елементарних волокон на периферії зрізу не виявлено.

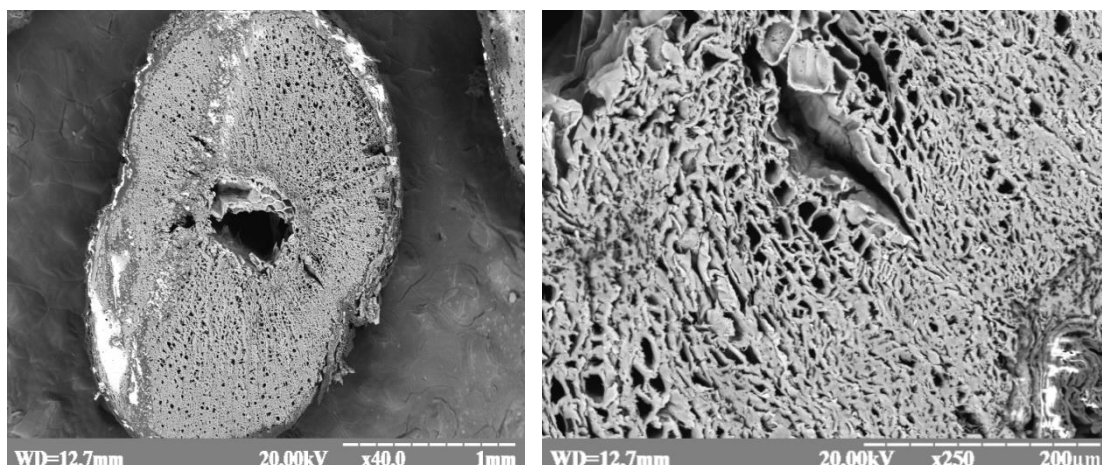


Рис. 5, 6. Поперечний зріз гіпокотіля стебел рослин льону-довгунця сорту Журавка

Анатомічна будова стебел рослин льону-довгунця сорту Київський 2 (рис. 7, 8) відзначається наявністю як ущільнених ділянок, так і значної кількості судинних порожнин.

Під шаром епідермісу подекуди трапляються поодинокі елементарні волокна. Значна кількість клітин має неправильну форму.

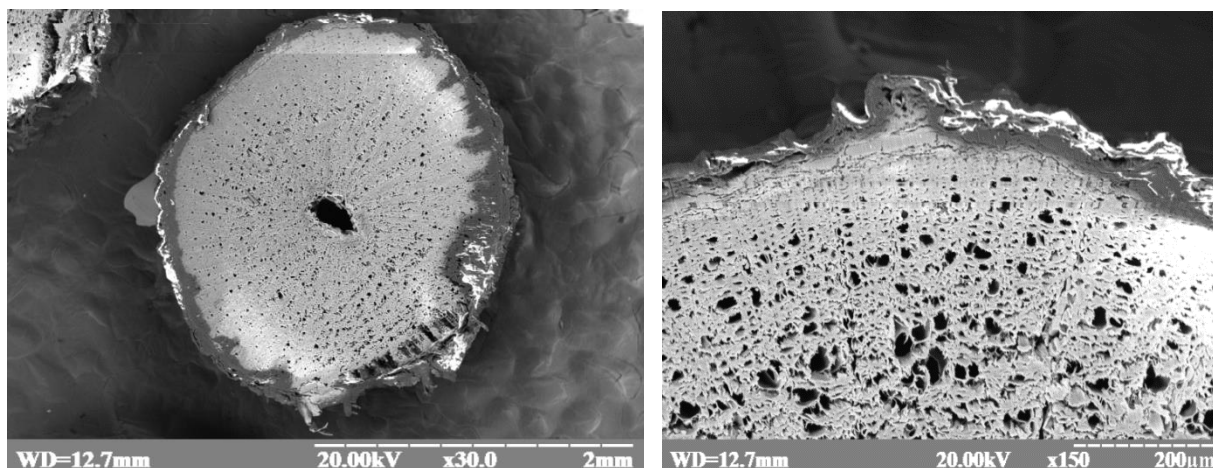


Рис. 7, 8. Поперечний зріз гіпокотіля стебел рослин льону-довгунця сорту Київський 2

Вимірювання товщини клітинних стінок тканин стебел сортів льону-довгунця показало, що найбільші показники зафіксовано у сортів Гладіатор та Merylin – 1,12 та 1,00 μm , як

середньостійких до вилягання. Також помітно, що у цих сортів високі показники максимальної та мінімальної товщини (табл. 1).

Таблиця 1

Товщина клітинних стінок механічних і провідних тканин гіпокотіля рослин сортів льону-довгунця

Сорт	Кількість вимірювань	Товщина клітинної стінки, μm			Примітка
		середня	Мах	Мін	
Гладіатор	250	1,12	2,38	0,38	Клітини не деформовані
Merylin	250	1,00	1,91	0,27	Клітини не деформовані
Журавка	250	0,55	1,34	0,17	Клітини сильно деформовані
Київський 2	-	-	-	-	Клітини сильно деформовані, вимірювання ускладнене

Висновки. Дослідження цитогістологічної структури поперечного зрізу підсім'ядольного коліна стебел рослин льону-довгунця методом растрової електронної мікроскопії

встановило, що сорти з середньою стійкістю до вилягання відзначаються більшою товщиною клітинних стінок і зберігають форму клітин, ніж нестійкі сорти.

Бібліографічні посилання:

- Lohinov, M. I. (2007). Etapi rozvitku ta pidsumki selekcii l'onu-dovguncja v Ukraini [Stages of development and results of breeding flax in Ukraine]. Zb. nauk. pr. Institutu lub'janih kul'tur UAAN, 64–69 (in Ukrainian).
- Kryvosheieva, L. M. (2011). Oznakova kolekcija l'onu-dovguncja – dzherelo vihidnogo materialu dlja selekcii na jakist' volokna [Characteristic collection of flax – a source of material for breeding for fiber quality]. Genetichni resursi roslin. Harkiv, 9, 54–60. (in Ukrainian).
- Aleksandrova, T. A., & Marchenkov A. N. (1994). Rezul'taty u perspektivy selekcyi l'na-dolgunca [Results and prospects of selection of flax]. Selekcija, semenovodstvo, vzdelyvanye u pervychnaja obrabotka l'na-dolgunca. Torzhok: VNYIL, 28–29, 34–37 (in Russian).

4. Mahhyt, M. (1932). Jetjud po sravnitel'noj anatomii ljubnyh rastenij [A sketch on the comparative anatomy of bast plants]. Trudy instituta novogo ljubjanogo syr'ja. Moskva, II(1), 62–64 (in Russian).
5. Mahhyt, M. (1948) Osnovy tehniczeskoj anatomii ljubnyh kul'tur [Fundamentals of technical anatomy of bast crops]. Legkaja promyshlennost', Moskva (in Russian).
6. Aleksandrov, V. G., & Abesadze, K. Ju. (1932). Principy stroenija steblja nekotoryh travjanistyh lubvoloknistyh tekstil'nyh rastenij i metody ego izuchenija [Principles of stem structure of some herbaceous bast fibers and methods of its study]. Trudy po prikladnoj botanike, genetike i selekcii, 3(2), 122–135 (in Russian).
7. Aviom, S. M. (1932). Metody issledovanija jelementarnogo volokna ljubnyh rastenij [Methods for the investigation of bast fibers]. Izvestija tekstil'noj promyshlennosti, 12, 18–23 (in Russian).
8. Ponazhev, V.P. (2015). Sovremennye dostizhenija selekcii i semenovodstva dlja vyrashhivaniya l'na [Modern achievements of breeding and seed production for flax cultivation]. Dostizhenija nauki i tehniki APK, 29(9), 36–39 (in Russian).
9. Poljakov, V.A. (2011). Izuchenie belkovogo kompleksa semjan l'na [Study of flax seed protein complex]. Visnik Zaporiz'kogo nacional'nogo universitetu, 2, 23–28 (in Russian).

Vereshchahin I. V., PhD (Agricultural Sciences), Senior Lecturer, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Kandyba N. M., PhD (Agricultural Sciences), Associate Professor, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Kryvosheeva L. M., PhD (Agricultural Sciences), Senior Researcher, Institute of bast crops of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Glukhov, Ukraine

APPLICATION OF RAST ELECTRONIC MICROSCOPY IN CYTOHISTOLOGICAL STUDIES OF FLAX

The article highlights the problem of lodging of flax due to adverse weather conditions. The features of the growing zone, the economic value of flax and its products are updated, as well as the damage caused by bad weather during the growing season. Flax resistance to lodging is directly related to the anatomical structure of the stem, but the authors specify that this feature is related to the structure of the submucosa (hypocotyl). The theoretical part of the article describes the flax fiber and its technological properties. Therefore, the purpose of the article was to investigate the cytohistological structure of the transverse section of the subunit knee of stems of flax-gland by scanning electron microscopy to determine the resistance to lodging. As the object of research used varieties of Ukrainian and foreign selection: Gladiator, Merylin, Zhuravka, Kievsky 2. The weather conditions during the years of research (2016–2018) are quite characteristic of the area of the northeast Polesie and reflect the instability of hydrothermal modes of vegetation of flax-liqueur in this zone. Testing the experimental material of these studies over three years with contrasting weather conditions allowed us to objectively evaluate the responses of flax varieties to these conditions. To perform the tasks assigned to the job laid a nursery of a comparative test. The predecessor of flax was winter wheat after many years of herbs. The main tillage was carried out according to the type of half-soil; stubble peeling, plowing to a depth of 22–25 cm, and two cultivations as weeds germinated to a depth of 8–10 and 5–6 cm. Slice studies were performed using a scanning electron microscope. The article presents the results of studies of the cytologic and histological structure of stems of varieties of flax-shoots of various degrees of resistance to lodging using the method of scanning electron microscopy, presents the structure and features of sections of hypocotyl stems of plants of flax – duckweed and also the average thickness. The authors carried out 250 measurements of the thickness of the cell walls of the sections of the submucosa. It was found that in flax varieties, more resistant to lodging, cells of conductive and mechanical tissues are not deformed, unlike unstable varieties. In addition, the average cell wall thickness of resistant varieties is greater than unstable ones.

Key words: flax, variety, mechanical tissues, hypocotyl, resistance to lodging.

Верещагин И. В., кандидат сельскохозяйственных наук, старший преподаватель, Сумской национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

Кандыба Н. Н., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, Сумской национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

Кривошеева Л. М., кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Институт лубяных культур НААН Украины, г. Глухов, Украина

ПРИМЕНЕНИЕ РАСТРОВОЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ В ЦИТОГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА

В статье освещается проблема полегаемости льна вследствие неблагоприятных погодных условий. Отмечены особенности зоны выращивания, экономическая ценность льна и его продукция, а также ущерб, вызванный негативными погодными явлениями в период вегетации. Устойчивость льна к полеганию напрямую связана с анатомической структурой стебля, в том числе и со структурой подсемядольного колена (гипокотыля). Теоретическая часть статьи описывает льноволокно и его технологические свойства. Целью статьи было исследование цитогистологической структуры поперечного среза подсемядольного колена льняных стеблей методом сканирующей электронной микроскопии для определения их устойчивости к полеганию. В качестве объекта исследования использованы сорта украинской и зарубежной селекции: Гладиатор, Мерилин, Журавка, Киевский 2. Погодные условия в годы исследований (2016 – 2018 гг.) типичны для района северо-восточного Полесья и отражают нестабильность гидротермального режима вегетации льна-долгунца в этой зоне. Изучение экспериментального материала в течение трех лет с контрастными погодными условиями позволило нам объективно оценить реакцию сортов льна на эти условия. Для выполнения поставленных заданий был заложен питомник сравнительного испытания. Предшественником льна была озимая пшеница после многолетних трав. Основная обработка почвы осуществлялась по типу полупара; пущение стерни, вспашка на глубину до 22–25 см и две культивации

по мере прорастания сорняков на глубину 8–10 и 5–6 см. Исследования срезов проводили с использованием сканирующего электронного микроскопа. В статье представлены результаты исследования цитологического и гистологического строения стеблей сортов льна различной степени устойчивости к полеганию методом сканирующей электронной микроскопии, представлена структура и особенности срезов гипокотыля стеблей растений льна-долгунца, а также их средней толщины. Авторами проведено 250 измерений толщины клеточных стенок срезов подсемядольного колена. Было установлено, что у сортов льна, более устойчивых к полеганию, клетки проводящих и механических тканей не деформируются, в отличие от неустойчивых сортов. Кроме того, средняя толщина клеточных стенок устойчивых сортов больше, чем у неустойчивых.

Ключевые слова: лен-долгунец, сорт, механические ткани, гипокотиль, устойчивость к полеганию.

Дата надходження до редакції: 25.07.2019 р.