

УДК 582.751.42:581.456:581.132.1

ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ СЕМЯДОЛЬНЫХ ЛИСТЬЕВ ОБРАЗЦОВ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО С ХЛОРОФИЛЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ РАЗНОГО ТИПА

В.В. ЯРАНЦЕВА, В.А. ЛЯХ

Запорожский национальный университет
69063 Запорожье, ул. Жуковского, 66
e-mail: VIKA.yaran@gmail.com

Исследовано содержание фотосинтетических пигментов в семядольных листьях двух зеленых образцов льна масличного и их мутантов с разного типа хлорофилльной недостаточностью на стадии всходов. Установлено, что зеленые образцы льна различались по содержанию хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов. У мутантов с хлорофилльной недостаточностью разного типа содержание и соотношение основных фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b*) определяются типом мутации и не зависят от условий года. У мутанта *xantha* выявлено значительное по сравнению с исходным сортом увеличение содержания хлорофилла *a* и уменьшение содержания хлорофилла *b*. Мутант *xantha-viridis* отличался от зеленого образца существенным уменьшением содержания хлорофилла *b*. Наименьшие отличия от контрольных зеленых растений наблюдали у мутантов с хлорофилльной недостаточностью типа *viridis*.

Ключевые слова: *Linum humile* Mill., лен масличный, семядольные листья, хлорофилльная недостаточность, фотосинтетические пигменты.

Семядольные листья льна масличного обеспечивают рост конуса нарастания побега и закладку новых листьев, в то же время они первыми подвергаются деградационным изменениям в процессе старения растения на более поздних этапах онтогенеза [1]. Данные как о содержании фотосинтетических пигментов в семядольных листьях этой культуры, так и об их хлорофилльных мутациях малочисленны. Интерес к классификации типов хлорофилльных мутаций обусловлен тем, что изменения в содержании и соотношении фотосинтетических пигментов могут приводить и к функциональным изменениям фотосинтетической активности. В связи с этим, целью данной работы была идентификация типов хлорофилльных мутаций семядольных листьев льна масличного на ранних этапах вегетации.

Методика

В генетической коллекции льна масличного кафедры садово-паркового хозяйства и генетики Запорожского национального университета имеются мутантные образцы с хлорофилльной недостаточностью различного типа [3, 4]. В эксперименте исследовали семядольные листья двух образцов льна масличного и их хлорофилльных мутантов на стадии всходов, которые отбирали в апреле—мае в течение 2013—2015 гг. в открытом грунте.

© В.В. ЯРАНЦЕВА, В.А. ЛЯХ, 2018

Контролем были семядольные листья сорта Циан и образца К-7487. Исследованные мутантные образцы характеризовались хлорофилльной недостаточностью различного типа: М-80 — *viridis*, М-81 — *xantha*, М-84 — *xantha-viridis* (контрольный образец — сорт Циан); М-28 — *viridis* (контроль — образец К-7487). На момент исследования на стадии всходов семядольные листья хлорофилльных мутантов визуально отличались от листьев контроля нормального зеленого цвета [7].

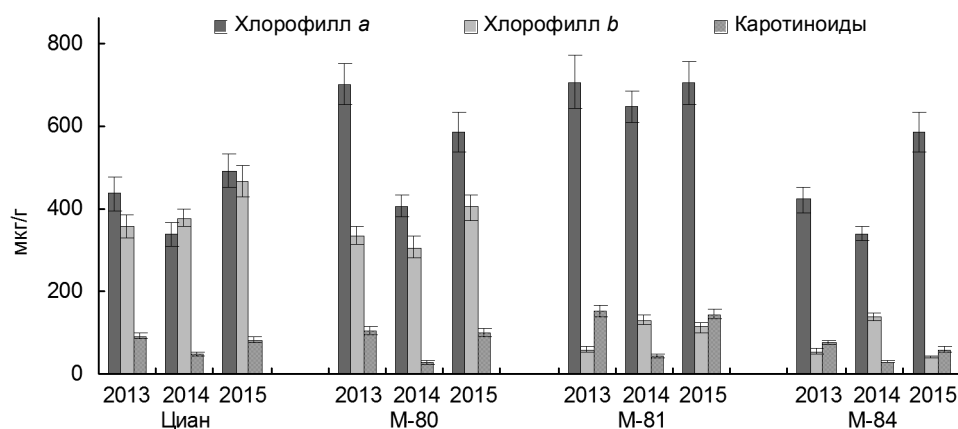
Содержание фотосинтетических пигментов определяли в пятикратной повторности (мкг/г сырого вещества) по стандартной методике на СФ-46. Концентрацию пигментов рассчитывали по формуле для определения хлорофиллов и каротиноидов в 80 %-м ацетоне [1, 5].

Результаты и обсуждение

Комплексу фотосинтетических пигментов, в первую очередь хлорофиллам, принадлежит основная роль в преобразовании энергии света в химическую. Абсолютное содержание пигментов и их соотношение в любом растении не постоянны. Они могут значительно изменяться в зависимости от интенсивности и качества света, климатических условий, структуры листовой пластинки и т.д. [9].

В 2013 г. содержание хлорофилла *a* в контрольном образце сорта Циан было на уровне 400 мкг/г (рисунок). Примерно такое же количество пигмента обнаружено и в семядольных листьях мутантного образца М-84 (*xantha-viridis*). У мутантных образцов М-80 и М-81 (*viridis*, *xantha*) содержание данного фотосинтетического пигмента превышало контрольные показатели в 1,5 раза. У контрольного образца К-7487 количество хлорофилла *a* превышало показатели контрольного образца Циан в 2 раза, однако показатель 900 мкг/г (таблица) также является допустимой нормой для растений льна [8]. У мутантного образца М-28 с хлорофилльной недостаточностью типа *viridis* количество хлорофилла *a* существенно не отличалось от контрольного образца К-7487.

В 2014 г. количество хлорофилла *a* в контроле было несколько ниже, чем в 2013 г., образец М-81 содержал почти в 2 раза больше хлорофилла *a*, чем контрольный, а у мутанта М-80 содержание хлорофилла *a* по сравнению с контролем было повышено незначительно (см. рису-



Содержание пигментов в семядольных листьях на стадии всходов у контрольного сорта Циан и его мутантных линий с разным типом хлорофилльной недостаточности

Содержание фотосинтетических пигментов (мкг/г) в семядольных листьях контрольного сорта К-7487 и мутантного образца М-28

Генотип	Год исследования	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды	Хлорофилл <i>a</i> /хлорофилл <i>b</i>
К-7487	2013	893,9±54,1	310,5±26,5	130,1±11,5	2,9
	2014	425,1±34,1	150,2±13,4	121,6±10,7	2,8
	2015	724,2±43,8	145,2±12,7	265,2±21,8	5,0
М-28	2013	791,8±63,7	64,9±10,2*	143,3±10,4	12,2
	2014	424,1±30,2	173,6±14,1	148,6±12,4	2,4
	2015	861,2±60,5	134,6±12,7	243,6±19,6	6,4

Примечание. *Отличия от контрольного образца К-7487 существенны при $p < 0,001$.

нок). Количество хлорофилла *a* в контрольном образце К-7487 в 2014 г. было в 2 раза меньше, чем в 2013 г. и существенно не отличалось от показателей сорта Циан. У мутантного образца М-28 существенных изменений по сравнению с контролем не обнаружено (см. таблицу).

В отличие от предыдущих лет в 2015 г. во всех трех исследованных мутантных формах содержание хлорофилла *a* было повышенным (у мутанта М-81 в 1,5 раза) по сравнению с контролем (см. рисунок). В контрольном образце К-7487 хлорофилла *a* содержалось в 1,5 раза больше, чем у сорта Циан этого года. Мутантный образец М-28, как и в прошлые годы, существенно не отличался от контроля (см. таблицу).

Согласно литературным данным, количество хлорофилла *b* в семядольных листьях льна составляет около 250 мкг/г [3, 9]. Полученные нами результаты исследований представлены ниже.

Содержание хлорофилла *b* в контрольном образце Циан в 2013 г. составляло около 350 мкг/г. Значительно не отличалось от контроля количество этого фотосинтетического пигмента у мутантного образца М-80. У мутантных образцов М-81 и М-84 содержание хлорофилла *b* уменьшалось в 2,5 раза (см. рисунок). Примерно столько же, как у сорта Циан, его обнаружено и в контрольном образце К-7487. Количество хлорофилла *b* в мутантном образце М-28 снижалось в 4,5 раза по сравнению с контрольным К-7487 (см. таблицу).

В 2014 г. содержание хлорофилла *b* у образцов М-81 и М-84 было почти в 3 раза меньшим по сравнению с контролем (см. рисунок), у сорта К-7487 — в 2 раза меньше, чем годом ранее. У мутантного образца М-28 существенных отличий от контрольных показателей не наблюдалось (см. таблицу).

В 2015 г. количество этого фотосинтетического пигмента у мутанта М-80 уменьшалось незначительно, у мутанта М-81 — в 4,5 раза, у мутанта М-84 вообще было выявлено лишь остаточное количество хлорофилла *b*, которое составляло меньше 10 % контрольных показателей (см. рисунок). Содержание хлорофилла *b* у сорта К-7487 было в 3 раза меньше, чем у сорта Циан, у мутантного образца М-28 существенных отличий от показателей контрольного образца не обнаружено (см. таблицу).

В контрольном образце Циан в 2013 г. содержание каротиноидов составляло около 100 мкг/г, в мутантном образце М-80 существенно не

отличалось от контроля, у М-81 было достоверно выше, а у М-84 несколько снижалось (см. рисунок). В контрольном образце К-7487 количество каротиноидов было больше, чем у сорта Циан, однако мутантный образец М-28 существенно не отличался от контроля (см. таблицу).

В 2014 г. содержание каротиноидов в контрольном образце уменьшилось вдвое по сравнению с 2013 г., у мутантных образцов М-80 и М-84 было достоверно ниже, чем в контроле, у мутанта М-81 — на уровне контрольных показателей (см. рисунок). В контрольном образце К-7487 количество каротиноидов было втрое больше, чем у сорта Циан, мутантный образец М-28 существенно не отличался от контроля (см. таблицу).

В 2015 г. содержание каротиноидов у всех исследуемых мутантных линий сорта Циан было близким к значениям 2013 г. (см. рисунок, таблицу).

Что касается соотношения фотосинтетических пигментов, то в контрольном образце сорта Циан количества хлорофиллов *a* и *b* находились примерно на одном уровне (см. таблицу), а количество каротиноидов было почти в 4 раза меньше.

У мутантного образца М-80 (*viridis*) содержание хлорофилла *b* уменьшалось, хлорофилла *a* — повышалось, количество каротиноидов было на уровне контроля. Соотношение хлорофиллов *a/b* варьировало от 1,3 до 2.

У мутантного образца М-81 (*xantha*) количество хлорофилла *a* повышалось в 1,5—2 раза, количество хлорофилла *b* снижалось более чем в 3 раза, количество каротиноидов увеличивалось незначительно. Соотношение хлорофиллов *a/b* у мутанта М-81 было самым высоким среди исследованных мутантных форм и в разные годы составляло от 5 до 12.

Мутантный образец М-84 (*xantha-viridis*) также характеризовался значительным дефицитом хлорофилла *b* по сравнению с контролем, хотя количество хлорофилла *a* у этого мутанта не отличалось от контроля. Соотношение хлорофиллов *a/b* имело средние показатели среди мутантов сорта Циан (2,5—7,8) за исключением 2015 г., когда количество хлорофилла *b* существенно уменьшалось.

В контрольном образце К-7487 содержание хлорофилла *a* было значительно выше по сравнению с сортом Циан, содержание хлорофилла *b* — значительно ниже, чем хлорофилла *a*.

Контрольный зеленый образец К-7487 содержал втрое больше каротиноидов, чем контрольный образец сорта Циан. Соотношение хлорофиллов *a/b* у К-7487 составляло от 3 до 5, что является классическим соотношением для зеленых растений [14].

У мутантного образца М-28 существенных различий в соотношении пигментов по сравнению с контролем не обнаружено за исключением количества хлорофилла *b* в 2014 г. Мутантный образец являлся дефицитным по хлорофиллу *b* и содержал повышенное количество каротиноидов в семядольных листьях (особенно при снижении количества хлорофилла *b*). Изменение соотношения хлорофиллов *a/b* не имело четких закономерностей (см. таблицу).

Ранее было исследовано содержание пигментов у хлорофилльных мутантов льна масличного на ранних этапах онтогенеза и установлено, что несмотря на различное соотношение пигментов у всех исследованных мутантных линий соотношение хлорофиллов *a/b* повышалось [7], что согласуется с представленными результатами.

Во всех изученных хлорофилльных мутантах льна сорта Циан зависимость между количествами хлорофиллов была пропорциональной: при повышении содержания хлорофилла *a* количество хлорофилла *b* уменьшалось. Такую же закономерность наблюдали при исследовании содержания пигментов в листьях пшеницы [2]. Считается, что уменьшение количества хлорофилла *b* у хлорофилльных мутантов может быть положительным фактором для эффективного функционирования фотосинтетического аппарата [10].

Обобщив полученные данные, отметим, что разные зеленые образцы льна масличного характеризуются разным содержанием (а следовательно, и их соотношением) в семядольных листьях основных фотосинтетических пигментов. При этом изменения затрагивают не только оба хлорофилла, но и каротиноиды. Мутанты с хлорофилльной недостаточностью разного типа имеют генотипно-специфичные, независимые от условий года, особенности содержания хлорофиллов *a* и *b*, тогда как содержание каротиноидов у них практически не изменяется. Наибольшие вариации отмечены для мутанта *xantha* (М-81), в котором значительно повышается содержание хлорофилла *a* при одновременном значительном снижении содержания хлорофилла *b*. У мутанта *xantha-viridis* (М-84) содержание хлорофилла *a* по сравнению с зеленым растением не изменяется, однако количество хлорофилла *b* существенно меньше. Мутанты с хлорофилльной недостаточностью типа *viridis* (М-80, М-28) наименьше отличаются от контрольных зеленых растений. Так, у образца М-80 лишь незначительно повышено содержание хлорофилла *a* по сравнению с контролем, а у М-28 существенных отличий от зеленого растения вообще не обнаружено.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Берестяная А.Н. Динамика концентрации хлорофилла в онтогенезе семядольных листьев *Linum usitatissimum*, подвергшихся УФ-В облучению. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2012. № 4. С. 137–141.
2. Даштон Ю.В. Метамерные особенности развития мезофилла и содержания пигментов пластид листьев пшеницы: дис. ... канд. биол. наук / Саратовский гос. ун-т им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, 2009. 172 с.
3. Лях В.А., Полякова И.А., Сорока А.И. Индуцированный мутагенез масличных культур. Запорожье: Изд-во Запорож. нац. ун-та, 2009. 266 с.
4. Лях В.А., Сорока А.И. Ботанические и цитогенетические особенности видов рода *Linum* и биотехнологические пути работы с ними. Запорожье: Изд-во Запорож. нац. ун-та, 2008. 182 с.
5. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. 271 с.
6. Полякова И.А., Яранцева В.В., Левчук А.Н., Лях В.А. Фенотипическое проявление мутаций хлорофиллдефицитности на ранних этапах онтогенеза льна масличного. *Актуальні питання біології, екології та хімії.* 2013. 5, № 1. С. 49–57.
7. Полякова И.А., Онуфриева Н.В., Лях В.А. Особенности изменений пигментного комплекса у хлорофилльных мутантов льна масличного на ранних этапах онтогенеза. *Физиология и биохимия культ. растений.* 2007. 39, № 6. С. 531–537.
8. Попова Г.А. Сравнительное изучение подвидов *Linum usitatissimum* L. в условиях Западной Сибири: дис. ... канд. биол. наук / Гос. науч. учреждение Томская гос. с.-х. опытная станция СО РАСХН, Томск, 2005. 135 с.
9. Рахимов М.М. Физиолого-биохимические показатели у генотипов пшеницы в зависимости от природно-климатических зон прорастания: дис. ... канд. биол. наук / Ин-т ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан, Душанбе, 2016. 148 с.

10. Чекалин Е.И., Амелин А.В., Кондыков И.В. Содержание пигментов в листьях и прилистниках у разных по степени окультуренности сортообразцов гороха полевого. *Вестн. Орлов. гос. аграр. ун-та*. 2010. **24**, № 3. С. 2—4.
11. Яранцева В.В., Лях В.О. Стан пластидного апарату як індикатор рівня продуктивності рослин льону олійного. *Acta Carpathica*. Rzeszow: Mitel. 2013. N 1. P. 43—48.

Получено 25.07.2017

REFERENCES

1. Berestyanyaya, A. N. (2012). Dynamics of chlorophyll concentration in ontogenesis of *Linum usitatissimum* cotyledon leaves exposed to UV-B irradiation. *Dopov. Nac. akad. nauk Ukr.*, No. 12, pp. 137-141 [in Russian].
2. Dashton, Yu.V. (2009). Metameric features of mesophyll development and pigment content in leaf plastids of wheat (Unpublished candidate thesis). Saratovskiy gosudarstvennyy universitet im. N.G. Chernyshevskogo. Saratov, Russia [in Russian].
3. Lyakh, V.A., Polyakova, I.A. & Soroka, A.I. (2009). Induced Mutagenesis of Oilseeds. Zaporozhye: Izd-vo Zaporozhskogo nats. un-ta.
4. Lyakh, V.A. & Soroka, A.I. (2008). Botanical and cytogenetic features of species of the genus *Linum* and biotechnological ways of working with them. Zaporozhye: Izd-vo Zaporozhskogo nats. un-ta.
5. Pausheva, Z.P. (1988). Workshop on plant cytology. M.: Agropromizdat.
6. Polyakova, I. A., Yarantseva, V. V., Levchuk, A. N. & Lyakh, V. A. (2013). Phenotypic manifestations of chlorophyll deficiency mutations at the early stages of ontogeny in oil flax. *Aktualni pitannya biologii, ekologii ta khimii*, 5, No. 1, pp. 49-57 [in Russian].
7. Polyakova, I.A., Onufriyeva, N.V. & Lyakh, V.A. (2007). Peculiarities of changes in the pigment complex in chlorophyll mutants of oil flax at the early stages of ontogeny. *Fiziologiya i biokhimiya kult. rastenii*, 39, No. 6, pp. 531-537 [in Russian].
8. Popova, G.A. (2005) Comparative study of subspecies of *Linum usitatissimum* L. in the conditions of Western Siberia. (Unpublished candidate thesis). Gosudarstvennoye nauchnoye uchrezhdeniye Tomskaya gosudarstvennaya selskokhozyaystvennaya opytная stantsiya SO RASKhN. Tomsk, Russia [in Russian].
9. Rakhimov, M.M. (2016). Physiological and biochemical parameters in wheat genotypes depending on natural and climatic zones of germination. (Unpublished candidate thesis). Institut botaniki, fiziologii i genetiki rasteniy Akademii nauk Respubliki Tadzhikistan, Dushanbe, Respublika Tadzhikistan [in Russian].
10. Chekalin, E.I., Amelin, A.V. & Kondykov, I.V. (2010). The content of pigments in leaves and stipules in different in the degree of domestication varieties of *Pisum arvense*. *Vestnik Orlovskogo gosudarstvennogo agrarnogo un-ta*, 24, No. 3, pp. 2-4 [in Russian].
11. Yarantseva, V.V. & Lyakh, V.O. (2013). The state of the plastid apparatus as indicator of the productivity level in oil flax plantus. *Acta Carpathica*, Rzeszów: Mitel, No. 1, pp. 43-48 [in Ukrainian].

Received 25.07.2017

ПІГМЕНТНИЙ СКЛАД СІМ'ЯДОЛЬНИХ ЛИСТКІВ ЗРАЗКІВ ЛЬОНУ ОЛІЙНОГО З ХЛОРОФІЛЬНОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ РІЗНОГО ТИПУ

В.В. Яранцева, В.О. Лях

Запорізький національний університет

Досліджено вміст фотосинтетичних пігментів у сім'ядольних листках двох зелених зразків льону олійного та їх мутантів із різного типу хлорофільною недостатністю на стадії сходів. Установлено, що зелені зразки льону різнилися за вмістом хлорофілів *a*, *b* і каротиноїдів. У мутантів із хлорофільною недостатністю різного типу вміст і співвідношення основних фотосинтетичних пігментів (хлорофілів *a*, *b*) визначаються типом мутації і не залежать від умов року. У мутанта *xantha* виявлено значно збільшений порівняно з вихідним сортом вміст хлорофілу *a* і зменшений вміст хлорофілу *b*. Мутант *xantha-viridis* відрізнявся від зеленого зразка істотним зменшенням вмісту хлорофілу *b*. Найменші відмінності від контрольних зелених рослин спостерігали у мутантів з хлорофільною недостатністю типу *viridis*.

PIGMENTS COMPOSITION OF COTYLEDONS IN DIFFERENT SAMPLES OF FLAX WITH DIFFERENT TYPE OF CHLOROPHYLL DEFICIENCY

V.V. Yarantseva, V.O. Lyakh

Zaporizhzhya National University
66 Zhukovskogo St., Zaporizhzhya, 69600, Ukraine
e-mail: VIKA.yaran@gmail.com

The photosynthetic pigments content in the cotyledon leaves of 2 green samples of oil flax and their mutants with different types of chlorophyll deficiency was studied at the germination stage. It was found that both green samples of flax differed in the content of chlorophylls *a*, *b* and carotenoids. In mutants with chlorophyll deficiency of different types, the content and ratio of the main photosynthetic pigments (chlorophylls *a*, *b*) are determined by the type of mutation and do not depend on the year conditions. The *xantha* mutant showed a significant increase in chlorophyll *a* content and a decrease in chlorophyll *b* compared to the initial variety. The mutant *xantha-viridis* differs from the green sample by a significant decrease in the chlorophyll *b* content. The least differences from the control green plants were observed in mutants with chlorophyll deficiency of the *viridis* type.

Key words: *Linum humile* Mill., flax, cotyledon leaves, chlorophyll deficiency, photosynthetic pigments.