УДК 633.521: 631.52: 632.4

Научная статья

Открытый доступ

DOI: 10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-172-177

Н.В. Пролетова

Федеральный научный центр лубяных культур, Тверь, Российская Федерация

✉ *science.trk@fnclk.ru*

Поступила в редакцию:
05.03.2022

Одобрена после рецензирования:
02.08.2022

Принята к публикации:
22.08.2022

Зависимость морфогенеза льна *in vitro* в селективных условиях от минерального состава среды

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Лен-долгунец — *Linum usitatissimum L.* — одна из основных лубяных культур, которую широко возделывают в различных странах мира для производства волокна и масла. До революции Россия была главным производителем этой культуры в мире (80% мировых посевов, 70% всего сбора — до 360 тыс. т), однако на сегодняшний день Российская Федерация сдает позиции. Этому способствует ряд причин. Одной из них является то, что возделываемые сорта льна-долгунца не в полной мере соответствуют требованиям сельхозпроизводителей. Поражаемость льна грибными болезнями составляет основную трудность в получении стабильно высоких урожаев волокна и семян, сохранении их товарности и, соответственно, качества получаемой продукции. Ежегодная потеря урожая льнопродукции от болезней составляет более 40%. Ситуация усугубляется появлением резистентных изолятов фитопатогенов, что делает нецелесообразным регулярное использование фунгицидов. Поражение посевов льна грибами рода *Colletotrichum lini Manns et Bolley* приводит к снижению урожая волокна на 20–35% и накоплению инфекции. Отбор устойчивых к антракнозу форм льна традиционными методами сопровождается определенными трудностями.

Методы. Основными методами, используемыми в исследованиях, являлись: микробиологические, клеточная селекция, культура незрелых зародышей и гипокотильных сегментов.

Результаты. Для получения культуральных фильтратов штаммов гриба — возбудителя антракноза льна возможно использование питательных сред Гамборга, MS, Sh-2, не содержащих витамины, хелатный комплекс, фитогормоны. Установлена зависимость формирования морфогенного каллуса на основе первичных эксплантов от морфгенетического потенциала генотипа. Формирование морфогенного каллуса в селективных условиях находилось в зависимости от минерального состава селективной среды. Среда Гамборга менее других подходила для проведения исследований по селекции *in vitro*. Установлен высокий морфогенетический потенциал у линий Л 2053-5-11 и Л 957-8-7.

Ключевые слова: лен, питательная среда, селективная среда, культуральный фильтрат, незрелые зародыши, гипокотильные сегменты, морфогенный каллус

Для цитирования: Пролетова Н. В. Зависимость морфогенеза льна in vitro в селективных условиях от минерального состава среды. https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-172-177

© Пролетова Н. В.

Research article

Open access

DOI: 10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-172-177

Nataliya V. Proletova

Federal Scientific Center of Bast Cultures, Tver, Russian Federation

✉ *science.trk@fnclk.ru*

Received by the editorial office:
05.03.2022

Accepted in revised:
02.08.2022

Accepted for publication:
22.08.2022

Influence of the mineral composition of a selective environment on flax morphogenesis *in vitro* culture

ABSTRACT

Relevance. Fiber flax — *Linum usitatissimum L.* — is one of the main bast crops, which is widely cultivated in various countries of the world for the production of fiber and oil. Before the revolution, Russia was the main producer of this crop in the world (80% of the world's crops, 70% of the total harvest — up to 360 thousand tons), but today the Russian Federation is losing ground. A number of reasons contribute to this. One of them is that the cultivated varieties of fiber flax do not fully meet the requirements of agricultural producers. The susceptibility of flax to fungal diseases is the main difficulty in obtaining consistently high yields of fiber and seeds, maintaining their marketability and, accordingly, the quality of the products obtained. The annual loss of flax crop due to diseases is more than 40%. The situation is aggravated by the appearance of resistant isolates of phytopathogens, which makes the regular use of fungicides inappropriate. Infection of flax crops with fungi of the genus *Colletotrichum lini Manns et Bolley* leads to a decrease in fiber yield by 20–35% and the accumulation of infection. The selection of anthracnose-resistant forms of flax by traditional methods is accompanied by certain difficulties.

Methods. The main methods used in the research were: microbiological, cell selection, culture of immature embryos and hypocotyl segments.

Results. To obtain cultural filtrates of strains of the fungus — the causative agent of flax anthracnose, it is possible to use nutrient media Gamborg, MS, Sh-2, which do not contain vitamins, chelate complex, phytohormones. The dependence of the formation of morphogenic callus on the basis of primary explants on the morphogenetic potential of the genotype has been established. The formation of morphogenic callus under selective conditions depended on the mineral composition of the selective medium. Gamborg's medium was the least suitable for in vitro selection studies. A high morphogenetic potential was established in lines L 2053-5-11 and L 957-8-7

Key words: flax, nutrient medium, selective medium, culture filtrate, immature embryos, hypocotyl segments, morphogenic callus

For citation: Proletova N.V. Influence of the mineral composition of a selective environment on flax morphogenesis in vitro culture. https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-172-177 (In Russian).

© Proletova N.V.

Введение/Introduction

Лен-долгунец — *Linum usitatissimum L.* — одна из основных лубяных культур, которую широко возделывают в различных странах мира для производства волокна и масла. До революции Россия была главным производителем этой культуры в мире (80% мировых посевов, 70% всего сбора — до 360 тыс. т), однако на сегодняшний день Российская Федерация сдает позиции [1, 2]. Этому способствует ряд причин. Одной из них является то, что возделываемые сорта льна-долгунца не в полной мере соответствуют требованиям сельхозпроизводителей. Поражаемость льна грибными болезнями составляет основную трудность в получении стабильно высоких урожаев волокна и семян, сохранении их товарности и, соответственно, качества получаемой продукции. Ежегодная потеря урожая льнопродукции от болезней составляет более 40%. Ситуация усугубляется появлением резистентных изолятов фитопатогенов, что делает нецелесообразным регулярное использование фунгицидов [3, 4, 5]. К тому же применение сильнодействующих фунгицидов способствует ускоренному отбору наиболее агрессивных рас в популяции возбудителя и поэтому является неэффективным и опасным для окружающей среды [6]. Самые распространенные и вредоносные болезни льна — фузариоз, ржавчина, антракноз и пасмо. Поражение грибами рода *Colletotrichum lini Manns et Bolley* приводит к отмиранию корешков и точки роста у 70–80% растений льна, вследствие чего урожай волокна может снижаться на 20–35%, а инфекция — накапливаться в семенах и поражать всходы будущих посевов [3, 4]. И если селекция на устойчивость к фузариозному увяданию и ржавчине успешно проводится, то отбор устойчивых к антракнозу и пасмо форм льна сопровождается определенными трудностями. В связи с этим возникает необходимость создания сортов с комплексной толерантностью к болезням. Они должны стать основой интегрированной защиты, что особенно важно в период применения новых технологий сельскохозяйственного производства [7, 8].

Для получения новых устойчивых к болезням форм растений активно применяют биотехнологические методы. Эффективным способом повышения генетического разнообразия растений является направленная селекция клеточных культур в стрессовых условиях и получение сомаклонов. Однако несмотря на продолжительное время использования сомаклональной изменчивости в селекционной практике, сортов на этой основе создано мало. Широкому применению клеточной селекции растений препятствует низкая регенерационная способность в селективных условиях *in vitro* и нестабильность проявления целевых признаков у растений-регенерантов [9, 10].

Материалы и методы/Materials and methods

Исследования по оптимизации минерального состава селективной среды проводились в лабораторных условиях *in vitro*. Растения-доноры, регенеранты и их потомства в осенне-весенний период выращивали на светоустановке в искусственных климатических условиях (фотопериод: 8 часов — день, 16 часов — ночь, температура 18–20 °С), в весенне-летний период — в условиях вегетационного домика с естественным освещением, температурным режимом и искусственным поливом сосудов до полной влагоемкости почвы [11].

Объектом исследований являлись незрелые зародыши, изолированные из коробочек льна, сформированных на 10-е сутки после опыления; семена; гипокотильные сегменты, полученные от стерильных 7–8-суточных проростков сортов и линий льна, любезно предоставленных сотрудниками лаборатории селекции, — Ленок, Росинка, Зарянка, Л 2053-5-11, Л 957-8-7, а также штаммы гриба — возбудителя антракноза льна *C. lini*: сильновирулентные — 793 и 784, средневирулентный — 780, слабовирулентный — 788. Штаммы были выделены из растительных остатков и семян льна в 2015 г. и подбирались исходя из их состояния на момент культивирования, жизнеспособности, интенсивности спороношения.

Культивирование первичных эксплантов и морфогенного каллуса выполняли согласно методическим рекомендациям «Методы создания *in vitro* растений-регенерантов льна-долгунца, устойчивых к антракнозу (*Colletotrichum lini Manns et Bolley*) и токсичным ионам алюминия» [11]. Токсичность культуральных фильтратов определяли по методике Курчаковой Л.Н. путем замачивания семян льна восприимчивого (Пенджаб) и устойчивого (Леона) сортов и проращивания их на фильтровальной бумаге в течение 7 суток [12].

Схема проведения исследований в условиях *in vitro*:

- подбор исходного растительного материала льна;
- подбор штаммов гриба — возбудителя антракноза льна;
- культивирование мицелия гриба *Colletotrihum lini* на жидкой среде Мурасиге — Скуга (MS), Гамборга и Sh-2 [13], не содержащих витамины, хелатный комплекс и фитогормоны, в течение 40 суток;
- культивирование семян льна на жидкой питательной среде Sh-2, не содержащей фитогормоны (концентрация сахарозы составляла 1,0%), в течение 7–8 суток;
- получение стерильных проростков;
- культивирование незрелых зародышей (НЗ), изолированных из коробочек, сформированных на 10-е сутки с момента опыления; гипокотильных сегментов, размером 5–8 мм, полученных от 7–8-суточных проростков; первичного и пересадочного морфогенного каллуса льна на селективной среде, состоящей из компонентов питательной среды MS, или Sh-2, или Гамборга (табл. 1) и культурального фильтрата (КФ) в концентрации 36 (для культивирования первичных эксплантов); 40 (для культивирования первичного морфогенного каллуса) и 44 мл/л (для культивирования пересадочного морфогенного каллуса);
- получение растений-регенерантов и их адаптация к условиям *in vivo*.

Каллусную ткань пересаживали в возрасте 3–4 недель (в зависимости от скорости развития культуры). Через 21–24 дня проводили учет числа рыхлых (но не водянистых) каллусов насыщенного зеленого цвета с видимыми участками роста (морфогенный каллус) (табл. 1).

Некротизированные культуры с проявлением ризогенеза выбраковывали, а оставшийся каллус без признаков регенерации переносили на свежую среду без селективного агента (без КФ) для стимулирования морфогенетического потенциала.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета программ «Microsoft Excel» с использованием метода первичной статистической обработки результатов эксперимента — определения выборочной средней величины. Долю морфогенного каллуса рассчитывали как процент от общего количества каллусных линий.

Таблица 1. **Состав питательных сред для культивирования изолированных клеток и тканей льна**
Table 1. **Composition of nutrient media for cultivation of isolated flax cells and tissues**

Компоненты питательной среды	Концентрация, мг/л		
	Мурасиге — Скуга	Гамборга	Sh-2
NH_4NO_3	1650	2500	1650
KNO_3	1900	-	1900
$CaCl_2$ — $2H_2O$	440	150	435
$MgSO_4$ — $7H_2O$	370	250	370
$(NH_4)2SO_4$	-	130	-
KH_2PO_4	170	-	170
Na_2ЭДТА	37,3	37,3	37,3
$FeSO_4$ — $7H_2O$	27,95	27,35	27,8
NaH_2PO_4 – H_2O	-	150	-
H_3BO_3	6,2	3,0	6,2
$MnSO_4$ – $4H_2O$	22,3	10,0	22,3
$ZnSO_4$ — $7H_2O$	8,6	2,0	8,6
KI	0,83	0,75	0,75
Na_2MoO_4 – $2H_2O$	0,25	0,25	0,25
$CuSO_4$ – $5H_2O$	0,025	0,025	0,025
CoU_2 – $6H_2O$	0,025	0,025	0,025
Глицин	2,0	-	2,0
Мезоинозит	100	100	100
Никотиновая кислота	0,5	1,0	0,5
Пиридоксин HCl	0,5	1,0	0,5
Тиамин HCl	1	10,0	0,1
2,4-Д	-	0,1–1,0	-
Кинетин	-	0,1	-
Глутамин	-	-	25,0
Аспарагин	-	-	250,0
Глицин	-	-	2,0
L-серин	-	-	125,0
6-бензиладенин	1,0	-	1,0
НУК	0,05	-	0,05
Сахароза	30 000	30 000	30 000
Агар-агар	7 000	7 000	7 000
pH	5,6–5,8	5,6–5,8	5,6–5,8

Таблица 2. **Рост мицелия штаммов гриба *Colletotrichum lini* на различных питательных средах**
Table 2. **Growth of mycelium of strains of the fungus *Colletotrichum lini* on various nutrient media**

Штамм гриба	Среда культивирования	Масса мицелия, r±Sp			
		7-е сутки	21-е сутки	28-е сутки	40-е сутки
793	MS	Единичные клетки	5,6± 1,2	10,7± 2,2	14,6± 1,5
	Гамборга	Единичные клетки	4,7± 2,1	10,5± 2,2	13,9± 2,0
	Sh	Единичные клетки	5,8± 1,9	11,0± 2,1	14,7± 2,2
784	MS	Единичные клетки	4,3± 2,2	9,9± 3,2	13,9± 1,9
	Гамборга	Единичные клетки	4,5± 1,3	9,3± 2,1	14,1± 2,1
	Sh	Единичные клетки	4,8± 0,9	9,8± 2,4	15,6± 0,6
780	MS	Единичные клетки	4,9± 1,6	10,6± 1,9	14,9± 1,6
	Гамборга	Единичные клетки	3,9± 1,1	10,3± 2,1	14,8± 2,2
	Sh	Единичные клетки	5,2± 1,0	10,8± 2,3	15,1± 1,4
788	MS	Единичные клетки	5,1± 1,1	10,3± 2,0	13,9± 1,6
	Гамборга	Единичные клетки	4,9± 1,2	10,3± 1,1	13,4± 2,1
	Sh	Единичные клетки	5,1± 1,3	10,4± 2,3	14,0± 2,3

Результаты и обсуждение / Results and discussion

В связи с тем, что культуральный фильтрат в процессе исследований добавляли в различные по минеральному составу питательные среды, штаммы решено было выращивать на аналогичных средах. Для получения культуральных фильтратов проводили культивирование штаммов гриба Colletotrichum lini на жидкой среде MS, Гамборга и Sh-2. Кусочки агаризованного мицелия размером 1 × 1 см высаживали на поверхность жидкой среды в объеме 1 л. Спороношение грибов начиналось на 5–7-е сутки и единичные клетки-споры в фильтрате можно было определить уже на 7-е сутки. По скорости роста и нарастанию биомассы гриба варианты культивирования различались недостоверно (табл. 2). Рост мицелия фиксировали от единичных клеток на 7-е сутки культивирования до плотного спорулирующего мицелия массой 13,4–15,6 г — на 40-е сутки. Токсичность 40-суточных культуральных фильтратов, полученных на различных средах, была высокой и составляла в зависимости от штамма 86,3–88,0%. В дальнейших исследованиях использовали культуральные фильтраты штаммов 793, 784, 780, 788, взятых в равных концентрациях — по 9 мл/л (в сумме 36 мл/л) — для культивирования незрелых зародышей и гипокотильных сегментов, по 10 мл/л (в сумме 40 мл/л) — для культивирования первичного морфогенного каллуса, по 11 мл/л (в сумме 44 мл/л) — для культивирования пересадочного морфогенного каллуса.

Таким образом, для получения токсичных культуральных фильтратов на основе штаммов гриба — возбудителя антракноза возможно использование питательных сред различного минерального состава — Гамборга, MS, Sh-2, не содержащих витамины, хелатный комплекс и фитогормоны. Культуральные фильтраты, полученные на основе таких сред, обладают высокой токсичностью и позволяют использовать их в исследованиях в качестве селективного агента (табл. 2).

В результате проведенных исследований выявлено, что первичные экспланты, выбранные нами для формирования морфогенного каллуса на селективной среде, по-разному реагируют на созданные селективные условия. Каллус, сформированный на основе гипокотильных сегментов, имел более

высокую способность к морфогенезу, чем каллус, сформированный на основе незрелых зародышей. Так, например, у сорта Ленок на основе незрелых зародышей, в зависимости от минерального состава селективной среды, сформировалось от 1,1 до 6,3% морфогенного каллуса, тогда как на основе гипокотильных сегментов сформировано от 4,7 до 10,4% морфогенного каллуса (табл 3). У селекционной линии Л 2053-5-11 на основе незрелых зародышей сформировалось от 2,9 до 3,3% морфогенного каллуса, тогда как на основе гипокотильных сегментов сформировано от 14,9 до 16,2% морфогенного каллуса.

В то же время выявлено, что минеральный состав селективной среды существенно влияет на формирование морфогенного каллуса, полученного на основе первичных эксплантов — гипокотильных сегментов и незрелых зародышей. На селективной среде, состоящей из минеральных солей среды Гамборга и культурального фильтрата, доля сформированного морфогенного каллуса была наименьшей у всех генотипов, взятых в исследования, и составила 0,1–6,8%. На селективных средах, состоящих из минеральных солей сред MS, Sh-2 и КФ, формировались морфогенные каллусы с большей частотой. Доля сформированного морфогенного каллуса была не ниже 1,7% и возрастала, в зависимости от генотипа, до 16,5%. В то же время более насыщенная аминокислотами среда Sh-2 не обладала преимуществами перед средой MS. Так, например, у сорта Росинка, проявившего на начальном этапе пониженную способность к морфогенезу, на селективной среде, состоящей из минеральных солей среды Гамборга + КФ, формировалось 1,1% (НЗ) и 4,7% (ГС) морфогенного каллуса; на селективной среде, состоящей из минеральных солей среды MS + КФ, — 1,7% (НЗ) и 11,6% (ГС) морфогенного каллуса; на селективной среде, состоящей из минеральных солей среды Sh-2 + КФ, — 2,1% (НЗ) и 7,3% (ГС) морфогенного каллуса.

В процессе отбора выживших в селективных условиях клеток льна визуально отмечено, что морфогенные и неморфогенные участки каллусов отличались по цвету, консистенции и скорости роста. Клетки каллусов, которые имели водянистую или очень плотную консистенцию и светло-желтый — светло-зеленыйцвет с коричневыми вкраплениями, в течение 14–28

Таблица 3. **Формирование морфогенного каллуса на основе первичных эксплантов на различных селективных средах (*n* = 50)**

Table 3. **Formation of morphogenic callus based on primary explants on various selective media (*n* = 50)**

Генотип	Эксплант	Среда культивирования + 36 мл/л КФ	Доля морфогенного каллуса, %±Sp
Ленок	НЗ	MS	6,3±1,2
		Гамборга	1,1± 0,5
		Sh-2	2,9± 0,5
	ГС	MS	10,4± 2,1
		Гамборга	4,7± 0,9
		Sh-2	6,4± 1,7
Росинка	НЗ	MS	1,7± 0,1
		Гамборга	0,1± 0,1
		Sh-2	2,1± 0,8
	ГС	MS	11,6± 2,2
		Гамборга	3,2± 1,1
		Sh-2	7,3± 3,1
Зарянка	НЗ	MS	2,4± 0,8
		Гамборга	0,1± 0,1
		Sh-2	6,8± 1,6
	ГС	MS	16,5± 3,5
		Гамборга	2,2± 1,3
		Sh-2	14,8± 4,2
Л 2053-5-11	НЗ	MS	3,3± 1,1
		Гамборга	3,2± 0,9
		Sh-2	2,9± 1,1
	ГС	MS	15,1± 2,4
		Гамборга	4,9± 2,3
		Sh-2	16,2± 3,1
Л 957–8-7	НЗ	MS	5,8± 1,6
		Гамборга	2,8± 0,3
		Sh-2	4,7± 1,1
	ГС	MS	8,9± 1,7
		Гамборга	6,8± 2,3
		Sh-2	7,9± 1,9

Примечание: НЗ — незрелый зародыш, ГС — гипокотильный сегмент.

Таблица 3. **Влияние различных селективных сред на формирование морфогенных клеток на основе первичного каллуса (*n* = 50)**

Table 3. **Effect of various selective media on the formation of morphogenic cells based on primary callus (*n* = 50)**

Генотип	Среда культивирования + 40 мл/л КФ	Доля морфогенного каллуса, %±Sp
Ленок	MS	6,1±1,1
	Гамборга	1,3± 0,2
	Sh-2	5,0± 1,2
Росинка	MS	4,3± 1,7
	Гамборга	0,1+0.3
	Sh-2	5,0± 1,1
Зарянка	MS	3,3± 1,6
	Гамборга	1,0± 0,1
	Sh-2	4,1± 1,3
Л 2053-5-11	MS	7,2± 1,2
	Гамборга	2,2± 0,9
	Sh-2	3,4± 0,6
Л 957–8-7	MS	8,0± 1,1
	Гамборга	1,1± 0,2
	Sh-2	8,1± 2,2

Таблица 5. **Влияние различных селективных сред на формирование морфогенных клеток на основе пересадочного каллуса (*n* = 50)**

Table 5. **Effect of various selective media on the formation of morphogenic cells based on transplant callus (*n* = 50)**

Генотип	Среда культивирования + 44 мл/л КФ	Доля морфогенного каллуса, %±Sp
Ленок	MS	3,0±1,0
	Гамборга	3,0± 0,6
	Sh-2	5,2± 1,5
Росинка	MS	5,4± 1,1
	Гамборга	3,1± 0,9
	Sh-2	3,0± 1,1
Зарянка	MS	2,4± 1,2
	Гамборга	0,1± 0,1
	Sh-2	4,3± 1,2
Л 2053-5-11	MS	5,5± 1,2
	Гамборга	3,1± 0,6
	Sh-2	4,4± 0,9
Л 957–8-7	MS	6,1± 1,1
	Гамборга	7,0± 1,3
	Sh-2	7,4± 1,2

суток не проявляли признаков морфогенеза и либо отмирали, либо продолжали наращивать водянистую биомассу. Каллусные клетки, имеющие насыщенный зеленый цвет и рыхлую консистенцию, через 14–21 сутки формировали морфогенные очаги, которые в последующем переносили на свежие селективные среды в течение 2–3 пассажей. После пересадки первичного морфогенного каллуса на селективную среду с различным минеральным составом и более высокой концентрацией селективного агента — КФ, наблюдали уменьшение доли морфогенных каллусов на среде Гамборга + КФ по сравнению со средами MS + КФ и Sh-2 + КФ. В зависимости от генотипа доля морфогенных каллусов, сформированных на среде Гамборга + КФ, составила 0,1–2,2%, на среде MS + КФ — 3,3–8,0%, на среде Sh-2 + КФ — 3,4–8,1% соответственно (табл. 4). Наибольший морфогенетический потенциал при формировании морфогенных клеток на основе первичного каллуса проявила селекционная линия Л 957-8-7. Доля сформированного морфогенного каллуса составила 1,1% на среде Гамборга + КФ, 8,0% — на среде MS + КФ, 8,1% — на среде Sh-2 + КФ.

В результате исследований выявлено, что на формирование морфогенного каллуса на основе первичного каллуса оказывает влияние минеральный состав селективной среды и морфгенетический потенциал генотипа. Селективная среда, состоящая из минеральных солей среды Гамборга и КФ штаммов возбудителя антракноза, была менее эффективна для формирования морфогенного каллуса, чем среды MS + КФ и Sh-2 + КФ.

Дальнейшая селекция *in vitro* на устойчивость к КФ штаммов возбудителя антракноза предполагала перенос первичного морфогенного каллуса на селективную среду с более высокой концентрацией селективного агента — культурального фильтрата. Внесение КФ в концентрации 44 мл/л в питательные среды различного минерального состава позволило проводить отбор в селективных условиях *in vitro*. На этапе формирования морфогенных клеток на основе пересадочного каллуса минеральный состав селективной среды не оказывал существенного влияния. Доля морфогенного каллуса составляла 3,0–5,2% у сорта Ленок, 3,0–5,4% — у сорта Росинка, 0,1–4,3% — у сортаЗарянка, 3,1–5,5% — у линии Л 2053-5-11, 6,1–7,4% — у линииЛ 957-8-7 (табл. 5).

На данном этапе большее влияние оказывал заложенный в генотипе морфогенетический потенциал сортов и линий льна. Высоким морфогенетическим потенциаломв течение всего селекционного процесса обладали селекционные линии Л 2053-5-11 и Л 957-8-7. Сорта льна Ленок, Росинка, Зарянка снижали морфогенетический потенциал, и дальнейшая селекция *in vitro* на устойчивость к антракнозу у этих сортов была менее эффективна.

В результате исследований получены растения-регенеранты сортов и линий льна, устойчивые к КФ в условиях *in vitro*.

Выводы/Conclusion

В результате исследований установлено, что для получения культуральных фильтратов штаммов гриба — возбудителя антракноза льна возможно использование питательных сред Гамборга, MS, Sh-2, не содержащих витамины, хелатный комплекс, фитогормоны. Культуральные фильтраты, полученные на основе этих сред, обладали высокой токсичностью (86,3–88,0%, в зависимости от штамма) и позволяли использовать их при селекции *in vitro*.

Проведенные исследования позволили установить, что морфгенетический потенциал генотипа оказывал влияние на формирование морфогенного каллуса на основе первичных эксплантов. Каллус, сформированный на основе гипокотильных сегментов, имел более высокую способность к морфогенезу относительно каллуса, сформированного на основе незрелых зародышей.

Результаты исследований позволили сделать вывод, что формирование морфогенного каллуса в селективных условиях находилось в зависимости от минерального состава селективной среды.

Автор несет ответственность за свою научную работу и представленные данные в научной статье.

The author is responsible for his scientific work and the data presented in the scientific article.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследования выполнены в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования Федеральный научный центр лубяных культур по теме № FGSS 2019-0016.

FUNDING

The research was carried out within the framework of the StateAssignment of the Ministry of Science and Higher Education Federal Scientific Center for Bast Crops on the topic No. FGSS 2019-0016.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Понажев В.П. Влияние методов отбора растений и способов посева на эффективность создания оригинальных семян льна-долгунца в первичном семеноводстве. Аграрный вестник Верхневолжья. 2020; 2 (31): 51-56

2. Великанова И.В., Попов Р.А. Региональные особенности развития льняного подкомплекса в условиях нарастающих кризисных явлений. Вестник АПК Верхневолжья. 2020; 2 (50): 66-77

3. Карпунин Б. Ф. Антракноз льна: селекция на устойчивость. *Lap Lambert Academic Publishing*. 2016; 113 с.

4. Кудрявцева Л. П., Прасолова О.В. Групповая устойчивость сортов — важный приоритет селекции льна-долгунца. *Аграрный вестник Верхневолжья*. 2018; 3(24): 25–30

5. Nicot P.C., Stewart A., Bardin M., Elad Y. Biological Control and Biopesticide Suppression of Botrytis-Incited Diseases. Botrytis — the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems. *Springer International Publishing Switzerland*. 2016; 165-187 The online version of the updated original chapter can be found at http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0_9.

6. Lorenzini M., Zapparoli G. Characterization and pathogenicity of Alternaria spp. strains associated with grape bunch rot during post-harvest withering. *International journal of food microbiology*. 2014; 186: 1-5. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.008.

7. Czislowski E., Fraser-Smith S., Zander M., O'Neill W.T., Meldrum R.A., Tran-Nguyen L.T., et al. Investigation of the diversity of effector genes in the banana pathogen, *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*, reveals evidence of horizontal gene transfer. *Molecular plant pathology*. 2018; 19(5): 1155-1171. doi: 10.1111/mpp.12594. Epub 2017 Nov. 10.

8. Ущаповский И.В., Васильев А.С., Щеголихина Т.А., Федоренко В.Ф., Мишуров Н.П., Голубев И.Г. Анализ состояния и перспективные направления развития селекции и семеноводства технических культур: науч. аналит. обзор. — М.: ФГБНУ «Росинформагротех». 2019. 72 с.

9. Пролетова Н. В. Использование биотехнологических методов для создания новых генотипов льна, устойчивых к антракнозу. Достижения науки и техники АПК. 2019; 33(8): 24-28

10. Соколова Л.М., Егорова А.А. Экспресс-оценка устойчивости моркови столовой к грибным болезням рр. *Alternaria* и *Fusarium* на фильтрат культуральной жидкости. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета.* 2019; 3(173): 36-42

11. Пролетова Н. В., Виноградова Е.Г., Кудрявцева Л.П. Методы создания *in vitro* растений-регенерантов льна-долгунца устойчивых к антракнозу (*Colletotrichum lini* Manns et Bolley) и токсичным ионам алюминия: методические рекомендации. 2014; 19 с.

12. Курчакова Л. Н. Методика получения культуральных фильтратов гриба *Fusarium oxysporum* и *F. semitectum* и их применение в культуре *in vitro* для получения фузариозоустойчивых форм льна-долгунца. *Сборник научных трудов ВНИИЛ*. 1994; 28-29: 127–128.

13. Патент № 2478282 Российская Федерация, RU 2120741 C1, 27.10.1998. Питательная среда для культивирования пыльников льна: заявка № 96112871/13 от 27.06.1996 / Поляков А.В., Пролетова Н. В.; Всероссийский научно-исследовательский институт льна. 4 с.

REFERENCES

1. Ponazhev V.P. Influence of plant selection methods and sowing methods on the efficiency of creating original fiber flax seeds in primary seed production. *Agrarian Bulletin of the Upper Volga Region*. 2020; 2 (31): 51-56 (In Russian.).

2. Velikanova I.V., Popov R.A. Regional features of the development of the flax subcomplex in the context of growing crisis phenomena. *Bulletin of the Upper Volga Agroindustrial Complex*. 2020; 2 (50): 66-71(In Russian.).

3. Karpunin B. F. Anthracnose of flax: breeding for resistance. *Lap Lambert Academic Publishing*. 2016. 113 p. (In Russian.).

4. Kudryavtseva L.P., Prasolova O.V. Group resistance of varieties is an important priority in fiber flax breeding. *Agrarian Bulletin of the Upper Volga Region*. 2018; 3(24): 25–30 (In Russian.)

5. Nicot P.C., Stewart A., Bardin M., Elad Y. Biological Control and Biopesticide Suppression of Botrytis-Incited Diseases. Botrytis — the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems. *Springer International Publishing Switzerland*. 2016; 165-187 The online version of the updated original chapter can be found at http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0_9.

6. Lorenzini M., Zapparoli G. Characterization and pathogenicity of Alternaria spp. strains associated with grape bunch rot during post-harvest withering. *International journal of food microbiology*. 2014; 186: 1-5. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.008.

7. Czislowski E., Fraser-Smith S., Zander M., O'Neill W.T., Meldrum R.A., Tran-Nguyen L.T., et al. Investigation of the diversity of effector genes in the banana pathogen, *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*, reveals evidence of horizontal gene transfer. *Molecular plant pathology*. 2018; 19(5): 1155-1171. doi: 10.1111/mpp.12594. Epub 2017 Nov. 10.

8. Ushchapovsky I.V., Vasiliev A.S., Shchegolikhina T.A., Fedorenko V.F., Mishurov N.P., Golubev I.G. Analysis of the state and prospective directions of development of selection and seed production of industrial crops: scientific. analit. review. — M.: FGBNU "Rosinformagrotech". 2019. 72 p. (In Russian.).

9. Proletova N.V. The use of biotechnological methods for the creation of new flax genotypes resistant to anthracnose. *Achievements of Science and Technology of the APK*. 2019; 33(8): 24-28 (In Russian.).

10. Sokolova L.M., Egorova A.A. Express-assessment of the resistance of table carrots to fungal diseases *Alternaria* and *Fusarium* for culture fluid filtrate. *Bulletin of the Altai State Agrarian University.* 2019; 3 (173): 36-42(In Russian.).

11. Proletova N.V., Vinogradova E.G., Kudryavtseva L.P. Methods for creating *in vitro* fiber flax regenerated plants resistant to anthracnose (*Colletotrichum lini* Manns et Bolley) and toxic aluminum ions: guidelines. 2014;19 p. (In Russian.).

12. Kurchakova LN Method of obtaining cultural filtrates of the fungus *Fusarium oxysporum* and *F. semitectum* and their use in culture in vitro to obtain fusarium-resistant forms of fiber flax. *Collection of scientific works of VNIIL*. 1994; 28-29: 127–128. (In Russian.).

13. Patent No. 2478282 Russian Federation, RU 2120741 C1, 10/27/1998. Nutrient medium for cultivation of flax anthers: Application No. 96112871/13 dated 06/27/1996 / Polyakov A.V., Proletova N.V.; All-Russian Research Institute of Flax. 4 s. (In Russian.).

ОБ АВТОРЕ:

Наталья Викторовна Пролетова,
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник лаборатории селекционных технологий
Федеральный научный центр лубяных культур, 17/56. Комсомольский проспект, Тверь, 172002, Российская Федерация
https://orcid.org/: 0000-0002-4137-9622. AuthorID: 415465
e-mail: science.trk@fnclk.ru

ABOUT THE AUTHOR:

Natalia Viktorovna Proletova,
Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, laboratory of Breeding Technologies
Federal Scientific Center of Bast Culture, 17/56, Komsomolsky prospect, Tver, 172002, Russian Federation

https://orcid.org/0000-0002-4137-9622, AuthorID: 415465
e-mail: science.trk@fnclk.ru