

Особенности роста и развития штаммов гриба — возбудителя антракноза льна (*Colletotrichum lini*) в условиях *in vitro*

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Среди болезней, ежегодно причиняющих значительный ущерб льноводству, особенно вредоносным в последние годы является антракноз. Наиболее серьезные последствия этого заболевания наблюдаются в случае поражения всходов льна, которые могут погибнуть частично или полностью.

Методы. Исследования в условиях *in vitro*. Объекты исследований — штаммы возбудителя антракноза льна *Colletotrichum lini* Manns et Bolley 848, 850 — сильновирulentные, 855 — средневирulentный, 853 — слабовирulentный, линии и сорта льна, восприимчивые к антракнозу.

Результаты. У исследуемых штаммов возбудителя антракноза льна на 7-е сутки на питательной среде Sh-2, на 8–10-е сутки — на среде MS визуально просматривались единичные конидии, которые к 14-м суткам культивирования на среде Sh-2, к 15–16-м суткам — на среде MS образовывали желеобразную биомассу. К 40-м суткам на обеих средах мицелий приобрел плотную консистенцию, обозначились опушенные колонии различного цвета. Выявлено, что интенсивность роста гриба и наращивание биомассы не зависели от вирулентности штамма. На питательной среде MS наиболее интенсивным приростом биомассы с 14-х по 40-е сутки обладал слабовирulentный штамм 853 (25,5%), наименьшим — сильновирulentный штамм 850 (14,6%). На питательной среде Sh-2 наиболее интенсивным приростом биомассы с 14-х по 40-е сутки обладал слабовирulentный штамм 853 (57,8%), наименьшим — сильновирulentный штамм 848 (36,2%). Токсичность культуральных фильтратов не зависела от вирулентности используемых штаммов и среды культивирования штаммов, тогда как интенсивность роста и токсичность культуральных фильтратов были зависимы. Культуральный фильтрат медленнорастущего сильновирulentного 850 штамма был токсичен менее других.

Ключевые слова: лен-долгунец, устойчивость, антракноз, культуральный фильтрат, штамм, возбудитель, сорт, линия, незрелый зародыш

Для цитирования: Пролётова Н.В., Кудрявцева Л.П. Особенности роста и развития штаммов гриба — возбудителя антракноза льна (*Colletotrichum lini*) в условиях *in vitro*. *Аграрная наука*. 2025; 393(04): 137–144.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-393-04-137-144>

Peculiarities of growth and development of strains of the fungus — the causative agent of flax anthracnose (*Colletotrichum lini*) *in vitro*

ABSTRACT

Relevance. Among the diseases that annually cause significant damage to flax growing, anthracnose has been especially harmful in recent years. The most serious consequences of this disease are observed in the case of damage to flax seedlings, which can die partially or completely.

Methods. *In vitro* studies. The objects of the study were strains of the causative agent of flax anthracnose *Colletotrichum lini* Manns et Bolley 848, 850 — highly virulent, 855 — moderately virulent, 853 — weakly virulent, flax lines and varieties susceptible to anthracnose.

Results. In the studied strains of the flax anthracnose pathogen, single conidia were visually visible on the 7th day on the Sh-2 nutrient medium, on the 8th–10th day on the MS medium, which formed a jelly-like biomass by the 14th day of cultivation on the Sh-2 medium, and by the 15th–16th day on the MS medium. By the 40th day, mycelium acquired a dense consistency on both media, and pubescent colonies of various colors appeared. It was revealed that the growth rate of the fungus and the build-up of biomass did not depend on the virulence of the strain. On the MS nutrient medium, the weakly virulent strain 853 (25.5%) had the most intense increase in biomass from the 14th to the 40th day, and the strongly virulent strain 850 (14.6%) had the least. On the Sh-2 nutrient medium, the weakly virulent strain 853 (57.8%) had the most intense increase in biomass from the 14th to the 40th day, and the strongly virulent strain 848 (36.2%) had the least. The toxicity of the culture filtrates did not depend on the virulence of the strains used and the culture medium of the strains, whereas the growth rate and toxicity of the culture filtrates were dependent. The culture filtrate of the slow-growing highly virulent 850 strain was less toxic than others.

Key words: flax, resistance, anthracnose, culture filtrate, strain, pathogen, variety, line, immature embryo

For citation: Proletova N.V., Kudryavtseva L.P. Peculiarities of growth and development of strains of the fungus — the causative agent of flax anthracnose (*Colletotrichum lini*) *in vitro*. *Agrarian science*. 2025; 393(04): 137–144 (in Russian).

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-393-04-137-144>

Введение/Introduction

Лен — ценная лубяная культура, используется на протяжении более 8000 лет как источник волокна, пищевых продуктов, корма для животных, лекарства. Льняное волокно занимало первое место среди товаров России, предназначенных для экспорта. Льняное масло — источник высокого содержания омега-3, альфа-линоленовой кислоты (55–57%), применяют в борьбе с раком молочной железы, толстой кишки, простаты и щитовидной железы, а также его применение снижает факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний.

В настоящее время Российская Федерация входит в десятку лидеров, производящих льнопродукцию высокого качества [1–4]. В то же время в период вегетации льна многие факторы, как биотические, так и абиотические, негативно влияют на рост и развитие растений льна, что в свою очередь приводит к гибели посевов и снижению урожайности и качества волокна и семян.

Одним из факторов, отрицательно влияющих на получение качественной льнопродукции, являются болезни, которые проявляются на посевах льна из года в год. Особую вредоносность для растений льна представляют фузариоз, пасмо, антракноз. В зависимости от погодных условий и количества инфицированного семенного материала проявление этих болезней может носить эпифитотийный характер [2–5].

Антракноз (*Colletotrichum lini* Manns et Bolley) в последние годы проявляется всё чаще, поскольку для посевов из-за рубежа в большом количестве завозят семенной материал, зараженный этим возбудителем. Современные сорта льна неустойчивы к заболеванию, поэтому поражаемость патогеном возрастает в разы. Симптомы заболевания проявляются уже на всходах льна. При этом происходит полная или частичная их гибель. Соответственно, повреждение посевов влечет за собой снижение урожайности льнотресты на 30–35%. Волокно, полученное из такой тресты, имеет низкое качество и не может быть использовано или используется крайне ограниченно.

Льносемена, зараженные спорами гриба при обмолоте, сохраняют инфекцию, и в последующем (при благоприятных условиях) патоген вновь проявляется в посевах [2–5]. К сожалению, протравливание семян перед посевом известными в нашей стране препаратами не в полной мере способствует дезинфекции семян. К тому же использование протравителей повышает экологическую нагрузку производства льнопродукции [6].

Селекционные программы в России и Западной Европе направлены на создание устойчивых к болезням и полеганию сортов, а также на создание сортов льна с высоким содержанием масла из семян и высоким выходом волокна.

Селекционерами ФГБНУ ФНЦ ЛК (Федерального научного центра лубяных культур) создаются сорта льна, устойчивые к фузариозу и

ржавчине [1, 7, 8]. Однако постоянно изменяющиеся погодные условия, использование сельхозтоваропроизводителями ежегодно обновляющихся препаратов для борьбы с болезнями вызывают формирование новых, более приспособленных форм и рас патогенов с различным, более агрессивным уровнем проявления этого признака [2, 6, 7]. Поэтому для предотвращения эпифитотий и повышения уровня экологической безопасности селекционерам необходимо постоянно создавать и внедрять в производство новые, устойчивые к болезням сорта сельскохозяйственных культур (и льна-долгунца в том числе) [1–5, 7, 8].

Помимо классической селекции, использование биотехнологических методов и приемов позволяет с высокой эффективностью создавать *in vitro* новые, устойчивые к различным стрессовым факторам генотипы растений [9–12]. Создание селективных систем *in vitro* «сельскохозяйственная культура — патоген», имитирующих инфекционный или провокационный фон для получения новых форм растений, устойчивых к патогену, является актуальным направлением исследований. При этом обеспечивается проявление генов устойчивости, заложенных в растениях, и создается возможность отбора нужных вариантов клеток, уменьшаются физические объемы экспериментального материала, трудозатраты и сокращаются сроки создания новых высокопродуктивных сортов [13–16].

Для создания селективной системы *in vitro* необходимо иметь надежный селективный агент. В частности, при создании селективной системы «гриб *Colletotrichum lini* — лен» селективным агентом является культуральный фильтрат штаммов гриба — возбудителя антракноза льна [15]. Чтобы выбранный селективный фактор был надежным, необходимо провести изучение исходных штаммов патогена, взятых в исследования, что и являлось целью данных исследований.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

Проведение исследований по изучению штаммов возбудителя антракноза льна (*Colletotrichum lini* Manns et Bolley) осуществляли в лабораторных условиях на базе лаборатории селекционных технологий ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур» (г. Торжок, Тверская обл.) в 2024 году.

Объектом исследований служили штаммы патогена (сильновирulentные — 848 и 850, средневирulentный — 855, слабовирulentный — 853), а также линии и сорта льна Феникс, Импульс, Лидер, Л-2053-5-11, Л-2053-6-10 селекции ФГБНУ ФНЦ ЛК, восприимчивые к антракнозу и различающиеся географической удаленностью. Сорта Пенджаб и Леона служили стандартами по устойчивости к антракнозу (Пенджаб — сильно-восприимчивый к болезни, Леона — устойчивый к

патогену). Их использовали при определении токсичности культуральных фильтратов.

Штаммы патогена отобраны из «Коллекции микроорганизмов — возбудителей болезней льна» (г. Торжок, ОП НИИЛ ФГБНУ ФНЦ ЛК). Используемые штаммы патогена были выделены из остатков растений и льносемян льна-долгунца в 2021–2022 годах и подбирались исходя из их жизнеспособности и культуральных особенностей (интенсивность спороношения, вирулентность) (рис. 1).

Количество штаммов, взятых в исследование, обусловлено их соотношением в инфекционно-провокационном питомнике — 50% сильновирulentных и по 25% средне- и слабовирulentных.

Для определения культурально-морфологических признаков штаммов гриба 848, 850, 853, 855 — возбудителя антракноза льна чистую культуру патогена, предварительно выделенную из семян и растительных остатков льна, культивировали в чашках Петри на среде Чапека [17]. На 14-е сутки с момента культивирования определяли культурально-морфологические признаки штаммов: среднюю длину и ширину конидий, окраску колоний, интенсивность спороношения, темпы роста, вирулентность.

Для получения культурального фильтрата исследуемые штаммы возбудителя культивировали на жидких питательных средах Sh-2, MS (табл. 1), не содержащих регуляторы роста, витамины, аминокислоты, согласно методическим рекомендациям¹. Среда готовили на основе концентратов, разливали по колбам объемом 1 л с объемом среды в них 0,5 л. Кусочки штаммов размером 10 x 10 мм², вырезанных из колоний, растущих на среде Чапека, помещали в колбы на поверхность питательной среды, изолировали крышками из фольги и культивировали в течение 40 суток.

На 7-е и 14-е сутки культивирования штаммов на жидких питательных средах, а на 14-е сутки — на агаризованной среде Чапека определяли

интенсивность спороношения штаммов антракноза в капле дистиллированной воды с помощью камеры Горяева под микроскопом МБИ-6 с ахроматическим объективом 10 x 0,30 согласно методическим указаниям по фитопатологическим работам со льном-долгунцом².

Расчет концентрации спор патогена в 1 мл проводили по формуле:

$$C = (N/20) \times 10^6,$$

где N — количество конидий в поле зрения микроскопа в камере Горяева, C — концентрация.

Определение биомассы используемых штаммов возбудителя антракноза (848, 850, 853, 855), растущих на жидких питательных средах Sh-2, MS, проводили путем взвешивания колб с грибами на лабораторных весах ВЛКТ-500 (1987 г., Россия) на 7-е, 14-е, 28-е, 32-е, 40-е сутки.

Биомассу штаммов рассчитывали по формуле:

$$X = A - B,$$

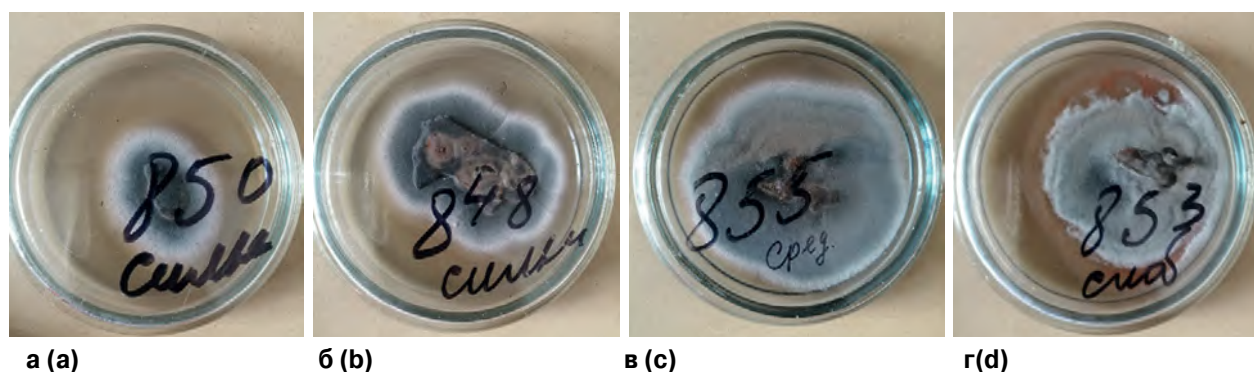
где x — масса мицелия, A — вес колбы с мицелием в день определения биомассы, B — первичный вес колбы с кусочком мицелия (в день культивирования).

Культуральный фильтрат штаммов гриба с целью дальнейшего использования его в качестве селективного агента готовили путем отделения биомассы гриба от среды, на которой он развивался, через фильтровальную бумагу, разливали порционно в колбы объемом 100–200 мл, хранили в морозильной камере холодильника при температуре -6–8 °С.

Определение токсичности культуральных фильтратов, полученных на различных питательных средах, проводили по методике Л.Н. Курчаковой³.

Рис. 1. Штаммы гриба — возбудителя антракноза льна, используемые в исследованиях: а — 850 сильновирulentный, б — 848 сильновирulentный, в — 855 средневирulentный, г — 853 слабовирulentный. Фото авторов

Fig. 1. Strains of the fungus — the causative agent of flax anthracnose, used in research: а — 850 highly virulent, б — 848 highly virulent, в — 855 moderately virulent, г — 853 weakly virulent. Author's photo



¹ Методы создания *in vitro* растений-регенерантов льна-долгунца, устойчивых к антракнозу *Colletotrichum lini* Manns et Bolley и токсичным ионам алюминия. Методические рекомендации. Тверь. 2014; 18.

² Методические указания по фитопатологическим работам со льном-долгунцом. М.: РАСХН. 2000; 35.

³ 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 трудов ВНИИЛ. 1994; 28–29: 125–130.

Для этого семена сорта Леона, устойчивого к антракнозу, и восприимчивого сорта Пенджаб раскладывали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную культуральным фильтратом по 10 мл/чашку. Количество семян — по 100 шт/чашку в 3-кратной повторности. Подсчет проросших семян и поражение патогеном (загнивание и отмирание кончика корешка у проросшего семени, утолщение его) проводили на 7-е сутки с момента культивирования.

Для проведения селекции *in vitro* готовили селективную среду, состоящую из компонентов питательной среды Sh-2 и культурального фильтрата штаммов возбудителя антракноза в концентрациях 36, 40 и 44 мл/л путем смешивания компонентов питательной среды и культуральных фильтратов штаммов, взятых в равных концентрациях (по 9 мл/л) для достижения концентрации 36 мл/л, по 10 мл/л — концентрации 40 мл/л, по 11 мл/л — концентрации 44 мл/л.

Незрелые зародыши сортов и линий льна-долгунца Феникс, Импульс, Лидер, Л-2053-5-11,

Л-2053-6-10, изолированные из коробочек льна на 10-е сутки с момента опыления, культивировали на селективных средах. Отбор морфогенных клеток, сформированных в селективных условиях, проводили через 30 суток с момента культивирования. Морфогенный каллус переносили на свежие среды через 25–30 суток в течение 3–4 пассажей. Отбор прекращали после формирования в морфогенных участках побегов.

Ошибку выборочной доли Sp — меру отклонения доли признака выборочной совокупности P его по всей генеральной совокупности V — вычисляли по формуле:

$$Sp = Vp \times g / n,$$

где p и g — выборочные доли признака, выраженные в частях единицы или процентах, n — объем выборки.

Вероятность встретить p (или g) в интервале $p \pm Sp$ составляет 68%, в интервале $p \pm 2Sp$ — около 95%⁴.

Таблица 1. Состав питательных сред, используемых в исследованиях

Table 1. Composition of nutrient media used in research

Компоненты среды	Наименование питательной среды	
	Мурасиге — Скуга ⁵ (модифицированная)	Sh-2 ⁶ (модифицированная)
NH ₄ NO ₃	1650	1650
KNO ₃	1900	1900
KH ₂ PO ₄	170	170
CaCl ₂ × 2H ₂ O (6 H ₂ O)		435
MgSO ₄ × 7H ₂ O	370	370
MnSO ₄ × 4H ₂ O	33,6	22,3
H ₃ BO ₃	62	6,2
ZnSO ₄ × 7H ₂ O	15,0	8,6
KJ	0,83	0,75
CuSO ₄ × 5H ₂ O	0,025	0,025
Na ₂ MoO ₄ × 2H ₂ O	0,5	0,25
CoCl ₂ × 6H ₂ O	0,025	0,025
Сахароза	30 000	30 000
Агар	8000	8000
pH	5,6–5,8	5,6–5,8

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Для проведения исследований первоначально необходимо было определить культурально-морфологические признаки выбранных штаммов возбудителя антракноза. С этой целью штаммы культивировали на среде Чапека. По мере роста и развития штаммов проводили визуальные наблюдения, а на 14-е сутки определяли культурально-морфологические признаки используемых штаммов.

Анализ таблицы 2 показал, что штаммы различались не только по вирулентности, но и по форме и длине конидий, интенсивности спороношения и темпам роста. В отличие от 848, 850, 855 штаммов со слегка изогнутой формой конидий, у штамма 853 она была прямая.

Наибольшей длиной конидий обладал штамм 848 (19,9 м), наименьшей — штамм 855 (12,4 м). По ширине конидий наибольшие параметры имел штамм 848 (4,2 м),

Таблица 2. Культурально-морфологические признаки штаммов возбудителя антракноза льна. 2024 г.

Table 2. Cultural and morphological characteristics of strains of the causative agent of flax anthracnose. 2024

№ штамма	Форма конидий	Средняя длина конидий м	Средняя ширина конидий м	Доминирующая окраска колоний	Интенсивность спороношения, тыс. спор в 1 мл	Темпы роста	Вирулентность штаммов (степень развития болезни, %)	
							Леона	Пенджаб
848	слегка изогнутая	19,9	4,2	светло-серая, середина коричневая	23,6 обильная	быстрорастущий	75,0	100
850	слегка изогнутая	18,7	3,0	серая, середина коричневая	18,2 обильная	медленнорастущий	50,0	100
853	прямая	15,7	1,2	светло-серая	28,3 обильная	быстрорастущий	0	4,5
855	слегка изогнутая	12,4	1,4	светло-серая	34,5 обильная	быстрорастущий	50,0	75,0

⁴ Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд. (доп. и перераб.). М.: Агропромиздат. 1985; 351: илл.

⁵ Сельскохозяйственная биотехнология: учебник / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, С.В. Дегтярев и др.: Под ред. В.С. Шевелухи. М.: Высшая школа. 1998; 416 (с. 13–14).

⁶ Поляков А.В., Пролетова Н.В. Питательная среда для культивирования пыльников льна. Патент на изобретение RU 2120741 С1, 27.10.1998. Заявка от 27.06.1996 № 96112871/13.

наименьшие — 853 1,2 μ). В основном все штаммы на 14-е сутки имели светло-серую окраску конидий, однако у сильновирulentных штаммов 848 и 850 в центре колонии проявлялась коричневая окраска. Все штаммы (кроме 850) были быстрорастущими и с обильным спороношением. Соответственно, меньшее количество спор образовывал на 14-е сутки штамм 850 — 18,2 тыс. спор в 1 мл. Большее количество спор определялось у штамма 855 — 34,5 тыс. спор в 1 мл.

С целью усовершенствования методики оценки и отбора клеток льна, устойчивых к антракнозу, в условиях *in vitro* на жидких питательных средах Sh-2 и MS проведено культивирование различных по вирулентности штаммов гриба — возбудителя антракноза льна *Colletotrichum lini* Manns et Bolley в течение 40 суток. Для контроля состояния мицелия гриба — возбудителя антракноза проводили измерение массы и, соответственно, прироста ее в динамике.

Визуальные наблюдения показали, что на 7-е сутки на питательной среде Sh-2, а на среде MS — на 8–10-е сутки у штаммов просматривались единичные конидии, которые разрастались, и к 14-м суткам культивирования (на среде Sh-2), к 15–16-м суткам — на среде MS образовывали желеобразную биомассу.

К 40-м суткам культивирования на обеих средах мицелий приобретал плотную консистенцию, обозначились опушенные колонии различного цвета. Так, штамм 855 имел опушение темно-серого цвета, у штаммов 850 и 848 опушение было светло-серым с интенсивным белым цветом по краям, а опушение штамма 853 носило бледно-серый оттенок по всей площади культивирования. У всех штаммов места соприкосновения с колбой, в которой происходили рост и развитие гриба, образовывался розово-оранжевый налет спор, характерный для колоний антракноза.

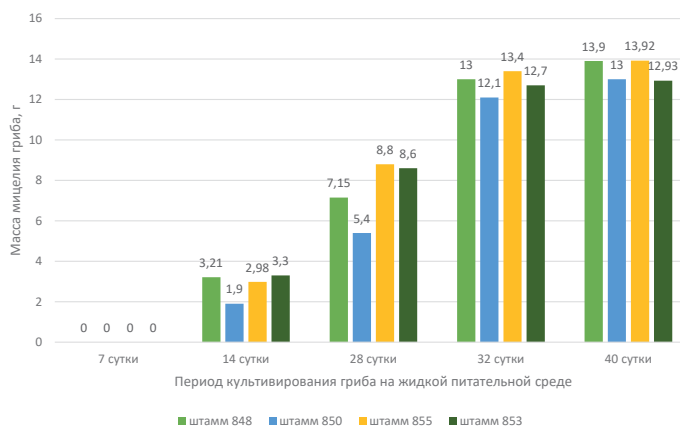
В результате исследований установлено, что культивирование штаммов на жидкой среде MS позволило получить прирост биомассы гриба всех штаммов, взятых в исследования. Желеобразная масса, частично сформированная к 14-м суткам, имела небольшой вес. Наименьшая биомасса (1,9 г) сформировалась у штамма 850, у других штаммов масса была примерно одинаковой (2,98–3,3 г).

Наиболее интенсивно проходил рост штаммов с 28-х по 32-е сутки, когда прирост биомассы составил: 55% — у штамма 848, 44,6% — у штамма 850, 65,7% — у штамма 855, 67,7% — у штамма 853. С 32-х по 40-е сутки биомасса штаммов выросла незначительно (рис. 2).

Анализ результатов показал, что на питательной среде MS наращивание биомассы и интенсивность роста гриба не зависели от вирулентности штамма. В целом наиболее интенсивным

Рис. 2. Изменение массы мицелия гриба — возбудителя антракноза на жидкой питательной среде MS

Fig. 2. Change in the mycelium mass of the fungus — the causative agent of anthracnose on liquid nutrient medium MS



приростом биомассы с 14-х по 40-е сутки обладал слабовирулентный штамм 853 (25,5%), а наименьшим — сильновирulentный штамм 850 (14,6%), что соответствовало их культурально-морфологическим характеристикам: штамм 853 — быстрорастущий, штамм 850 — медленнорастущий.

При культивировании мицелия гриба на жидкой среде Sh-2 было выявлено, что к 14-м суткам штаммы имели небольшую массу. Более разросшимся был мицелий штамма 853 (слабовирулентного) — 7,3 г, масса мицелия остальных штаммов была в пределах 4,6–5,5 г (рис. 3). Наиболее интенсивно рост гриба происходил с 14-х по 28-е сутки. За этот период прирост биомассы составил у штамма 853 66,8%, у штамма 855 — 50,2%, у штамма 850 — 40,2%, у штамма 848 — 48,1%.

К 28-м суткам культивирования все штаммы имели практически одинаковую массу (10,61–11,43 г). К 40-м суткам культивирования наибольшей массой обладал штамм 855 (средневирулентный) — 14,32 г, наименьшей — штамм 850 (сильновирulentный) — 12,2 г. Результаты исследований показали, что и на питательной среде Sh-2 интенсивность роста гриба и наращивание биомассы не зависели от вирулентности штамма. Наибольшим приростом биомассы с 14-х по 40-е сутки обладал слабовирулентный штамм 853 (57,8%), а наименьшим — сильновирulentный штамм 848 (36,2%). По культурально-морфологическим характеристикам оба штамма были быстрорастущие.

На 40-е сутки культивирования штаммов возбудителя жидкость отделяли от мицелия с помощью кружков, изготовленных из фильтровальной бумаги. Токсичность полученных культуральных фильтратов определяли по методике Л.Н. Курчаковой путем замачивания семян льна сорта Пенджаб (восприимчивого) и сорта Леона (устойчивого) и проращивания их на фильтровальной бумаге, смоченной культуральным фильтратом, в течение 7 суток.

Рис. 3. Изменение массы мицелия гриба — возбудителя антракноза на жидкой питательной среде Sh-2

Fig. 3. Change in the mycelium mass of the fungus — the causative agent of anthracnose on liquid nutrient medium Sh-2

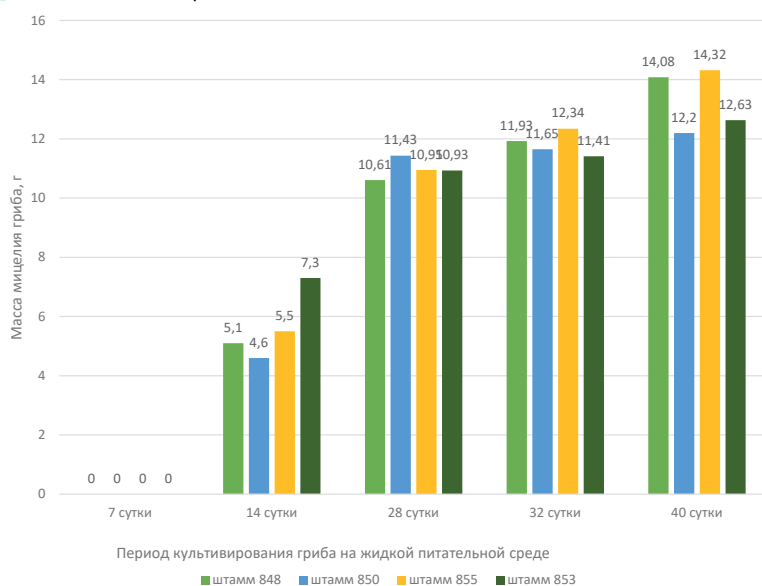


Таблица 3. Токсичность культуральных фильтратов различных штаммов возбудителя антракноза льна на жидких питательных средах

Table 3. Toxicity of culture filtrates of various strains of the flax anthracnose pathogen on liquid nutrient media

Штамм	Среда культивирования	Количество загнивших и отмерших первичных корешков, % $\pm$ Sp	
		Пенджаб	Леона
848 сильновирулентный	Sh-2	88,0 $\pm$ 0,2	66,9 $\pm$ 0,5
	MS	86,5 $\pm$ 0,4	63,9 $\pm$ 0,4
850 сильновирулентный	Sh-2	69,5 $\pm$ 0,5	58,3 $\pm$ 0,8
	MS	68,8 $\pm$ 0,4	55,6 $\pm$ 0,5
855 средневирулентный	Sh-2	86,4 $\pm$ 0,6	67,0 $\pm$ 0,3
	MS	87,2 $\pm$ 0,3	65,7 $\pm$ 0,6
853 слабовирулентный	Sh-2	66,3 $\pm$ 0,6	59,3 $\pm$ 0,6
	MS	67,2 $\pm$ 0,4	58,4 $\pm$ 0,5

Выявлено, что токсичность культуральных фильтратов не зависела от вирулентности вышеуказанных штаммов и среды культивирования штаммов. Однако анализ показал, что интенсивность роста и токсичность культуральных фильтратов зависят. Более токсичными оказались культуральные фильтраты штамма 848 (сильновирулентного) и штамма 855 (средневирулентного), причем независимо от среды культивирования штаммов. Эти штаммы по культурально-морфологическим характеристикам были быстрорастущими.

Проращивание семян сильновосприимчивого сорта Пенджаб и устойчивого сорта Леона на культуральных фильтратах этих штаммов способствовало загниванию и отмиранию, соответственно, 86,4–88,0% и 63,9–67% первичных корешков (табл. 3). Культуральный фильтрат медленно растущего штамма 850 (сильновирулентного) был токсичен менее других.

Культуральные фильтраты сильновирулентных штаммов (848, 850) и слабовирулентного штамма 853 были агрессивными, поскольку количество

загнивших и отмерших первичных корешков у сорта Пенджаб было высоким: 68,8–88,0% — при использовании сильновирулентных штаммов, 66,3–67,2% — при использовании слабовирулентного штамма. Соответственно, количество загнивших и отмерших первичных корешков у сорта Леона при использовании культуральных фильтратов сильновирулентных штаммов составило 55,6–66,9%, слабовирулентного — 58,4–59,3%.

Культуральные фильтраты других штаммов тоже обладали высокой токсичностью независимо от среды культивирования. Поэтому для дальнейших исследований для получения культуральных фильтратов принято решение использовать питательную среду Sh-2 и селективные среды, полученные на ее основе.

На селективной среде, состоящей из компонентов питательной среды Sh-2 и культурального фильтрата штаммов возбудителя антракноза, культивировали незрелые зародыши различных сортов и линий льна-долгунца, различающихся географической отдаленностью.

Для осуществления селекции льна на устойчивость к антракнозу льна в условиях *in vitro* проведены исследования с использованием питательной среды Sh-2 и культурального фильтрата возбудителя антракноза штаммов 848, 850, 855 и 853 с целью адаптирования концентраций культурального фильтрата 36, 40 и 44 мл/л

на первичном и последующем этапах отбора морфогенных клеток.

В результате исследований выявлено, что незрелые зародыши у всех генотипов, включенных в исследования, формируют первичный морфогенный каллус при использовании питательной среды Sh-2 и культурального фильтрата штаммов возбудителя антракноза в вышеуказанных концентрациях. Однако наиболее жизнеспособные морфогенные клетки и в большем количестве формировались у сорта Феникс и линии Л-2053-6-10. Сорта Импульс и Лидер, а также линия Л-2053-5-11 обладали менее выраженной морфогенетической активностью в созданных селективных условиях.

Выводы/Conclusions

В результате исследований выявлено, что у различных штаммов возбудителя антракноза льна визуально просматривались единичные конидии на 7-е сутки на питательной среде Sh-2, на 8–10-е сутки — на среде MS. К 14-м суткам культивирования на среде Sh-2, к 15–16-м

суткам — на среде MS штаммы образовывали желтообразную биомассу. К 40-м суткам культивирования на обеих средах мицелий приобретал плотную консистенцию, обозначились опушенные колонии различного цвета.

Выявлено, что на питательной среде MS наращивание биомассы, интенсивность роста гриба не зависели от вирулентности штамма. Наименее интенсивным приростом биомассы с 14-х по 40-е сутки обладал слабовирулентный штамм 853 (25,5%), а наименьшим — сильновирулентный штамм 850 (14,6%), что соответствовало их культурально-морфологическим характеристикам: штамм 853 — быстрорастущий, штамм 850 — медленнорастущий.

Выявлено, что на питательной среде Sh-2 наращивание биомассы, интенсивность роста гриба

не зависели от вирулентности штамма. Наибольшим приростом биомассы с 14-х по 40-е сутки обладал слабовирулентный штамм 853 (57,8%), а наименьшим — сильновирулентный штамм 848 (36,2%). По культурально-морфологическим характеристикам оба штамма быстрорастущие.

Выявлено, что токсичность культуральных фильтратов не зависела от вирулентности используемых штаммов и среды культивирования штаммов, тогда как интенсивность роста и токсичность культуральных фильтратов зависимы. Более токсичными оказались культуральные фильтраты штамма 848 (сильновирулентного) и штамма 855 (средневирулентного), причем независимо от среды культивирования штаммов. Культуральный фильтрат медленнорастущего штамма 850 (сильновирулентного) был токсичен менее других.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследования выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Федерального научного центра лубяных культур по теме № FGSS 2023-0001.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Понажев В.П., Козьякова Н.Н. Методы ускоренного создания обновленных семян льна высокого качества в первичном семеноводстве. *Аграрная наука*. 2024; (9): 114–118. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-386-9-114-118>
2. Кудрявцева Л.П. Грибная и бактериальная инфекции семян льна. *Аграрная наука*. 2022; (5): 82–86. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-359-5-82-86>
3. Голуб И.А. Перспективы возделывания и переработки льна-долгунца в Республике Беларусь. *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук*. 2017; (3): 91–98. <https://www.elibrary.ru/zeojcf>
4. Rozhmina T., Bankin M., Samsonova A., Kanapin A., Samsonova M. A comprehensive dataset of flax (*Linum uitaissimum* L.) phenotypes. *Data in Brief*. 2021; 37: 107224. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.107224>
5. Трабунова Е.А., Рожмина Т.А. Результаты изучения коллекционных образцов льна-долгунца в Центральном регионе Нечерноземной зоны России. *Достижения науки и техники АПК*. 2022; 36(3): 79–84. https://doi.org/10.53859/02352451_2022_36_3_79
6. Кудрявцев Н.А. Испытание фунгицидных обработок семян и посевов льна. *Аграрная наука*. 2023; (8): 98–105. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-373-8-98-105>
7. Герасимова Е.Г., Павлова Л.Н., Кудрявцева Л.П., Рожмина Т.А., Пролетова Н.В. Этапы создания нового сорта льна-долгунца с высокими прядильными свойствами. *Кормопроизводство*. 2023; (9): 11–15. <https://www.elibrary.ru/buvajo>
8. Степин А.Д., Рысев М.Н., Рысева Т.А., Уткина С.В., Романова Н.В. Новый раннеспелый сорт льна-долгунца Стриж для условий северо-запада России. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2023; 24(4): 572–580. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.4.572-580>
9. Шуплетцова О.Н., Огородникова С.Ю., Назарова Я.И. Эффекты неспецифической устойчивости генотипов ячменя, полученных путем клеточной селекции. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2020; 181(4): 192–199. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-4-192-199>
10. Kielkowska A., Adamus A. Peptide Growth Factor Phytosulfokine-α Stimulates Cell Divisions and Enhances Regeneration from *B. oleracea* var. *capitata* L. Protoplast Culture. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2019; 38(3): 931–944. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9903-y>
11. Домблидес Е.А., Шмыкова Н.А., Белов С.Н., Коротцева И.Б., Солдатенко А.В. Получение DH-растений огурца (*Cucumis sativus* L.) в культуре неопыленных семян *in vitro*. *Овощи России*. 2019; (6): 3–9. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-6-3-9>
12. Lardon R., Geelen D. Natural Variation in Plant Pluripotency and Regeneration. *Plants*. 2020; 9(10): 1261. <https://doi.org/10.3390/plants9101261>

FUNDING

The research was carried out within the framework of the State task of the Ministry of Science and Higher Education of the Federal Scientific Center of Bast Crops on the topic No. FGSS 2023-0001.

REFERENCES

1. Ponazhev V.P., Kozyakova N.N. Methods for the accelerated creation of updated high-quality flax seeds in primary seed production. *Agrarian science*. 2024; (9): 114–118 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-386-9-114-118>
2. Kudryavtseva L.P. Fungal and bacterial infections of flax seeds. *Agrarian science*. 2022; (5): 82–86 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-359-5-82-86>
3. Golub I.A. Aspects of cultivation and processing of fiber flax in the Republic of Belarus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, agrarian series*. 2017; (3): 91–98 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/zeojcf>
4. Rozhmina T., Bankin M., Samsonova A., Kanapin A., Samsonova M. A comprehensive dataset of flax (*Linum uitaissimum* L.) phenotypes. *Data in Brief*. 2021; 37: 107224. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.107224>
5. Traburova E.A., Rozhmina T.A. Examination results of fiber flax samples in the Central region of the Nonchernozem zone of Russia. *Achievements of science and technology in agribusiness*. 2022; 36(3): 79–84 (in Russian). https://doi.org/10.53859/02352451_2022_36_3_79
6. Kudryavtsev N.A. Testing of fungicidal treatments of flax seeds and crops. *Agrarian science*. 2023; (8): 98–105 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-373-8-98-105>
7. Gerasimova E.G., Pavlova L.N., Kudryavtseva L.P., Rozhmina T.A., Proletova N.V. The breeding of the new variety of flax with top spinning properties. *Fudder journal*. 2023; (9): 11–15 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/buvajo>
8. Stepin A.D., Rysev M.N., Ryseva T.A., Utkina S.V., Romanova N.V. New early ripe variety of fiber flax Strizh for the conditions of the North-West of Russia. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2023; 24(4): 572–580 (in Russian). <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.4.572-580>
9. Shupletsova O.N., Ogorodnikova S.Yu., Nazarova Ya.I. Effects of nonspecific resistance in barley genotypes obtained by cell selection. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2020; 181(4): 192–199 (in Russian). <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-4-192-199>
10. Kielkowska A., Adamus A. Peptide Growth Factor Phytosulfokine-α Stimulates Cell Divisions and Enhances Regeneration from *B. oleracea* var. *capitata* L. Protoplast Culture. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2019; 38(3): 931–944. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9903-y>
11. Domblides E.A., Shmykova N.A., Belov S.N., Korotseva I.B., Soldatenko A.V. DH-plant production in culture of unpolinated ovules *in vitro* of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Vegetable crops of Russia*. 2019; (6): 3–9 (in Russian). <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-6-3-9>
12. Lardon R., Geelen D. Natural Variation in Plant Pluripotency and Regeneration. *Plants*. 2020; 9(10): 1261. <https://doi.org/10.3390/plants9101261>

13. Zaytseva Y.G., Poluboyarova T.V., Novikova T.I. Effects of thidiazuron on *in vitro* morphogenic response of *Rhododendron sichotense* Pojark. and *Rhododendron catawbiense* cv. Grandiflorum leaf explants. *In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2016; 52(1): 56–63.
<https://doi.org/10.1007/s11627-015-9737-2>

14. Lardon R., Wijnker E., Keurentjes J., Geelen D. The genetic framework of shoot regeneration in *Arabidopsis* comprises master regulators and conditional fine-tuning factors. *Communications Biology*. 2020; 3: 549.
<https://doi.org/10.1038/s42003-020-01274-9>

15. Пролетова Н.В., Зотова В.С. Разнообразие форм льна, полученных при селекции *in vitro* на устойчивость к антракнозу (*Colletotrichum lini*). *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2024; (4): 41–49.
<https://www.elibrary.ru/qzhodx>

16. Bidabadi S.S., Jain S.M. Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of *in vitro* Plant Regeneration. *Plants*. 2020; 9(6): 702.
<https://doi.org/10.3390/plants9060702>

17. Шарапова И.Э. Влияние состава питательных сред на продуктивность и биологическую активность штамма энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana*. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2021; 22(6): 91–927.
<https://doi.org/10.30766/2072-9081.2021.22.6.918-927>

ОБ АВТОРАХ

Наталья Викторовна Пролётова

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник, заведующая отделом селекционных и биотехнологий
science.trk@fncl.ru

Людмила Платоновна Кудрявцева

кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник
l.kudryavtseva.trk@fncl.ru

Федеральный научный центр лубяных культур,
 Комсомольский пр-т, 56/17, Тверь, 172002, Россия

13. Zaytseva Y.G., Poluboyarova T.V., Novikova T.I. Effects of thidiazuron on *in vitro* morphogenic response of *Rhododendron sichotense* Pojark. and *Rhododendron catawbiense* cv. Grandiflorum leaf explants. *In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2016; 52(1): 56–63.
<https://doi.org/10.1007/s11627-015-9737-2>

14. Lardon R., Wijnker E., Keurentjes J., Geelen D. The genetic framework of shoot regeneration in *Arabidopsis* comprises master regulators and conditional fine-tuning factors. *Communications Biology*. 2020; 3: 549.
<https://doi.org/10.1038/s42003-020-01274-9>

15. Proletova N.V., Zotova V.S. Diversity of flax forms derived through *in vitro* selection for resistance to anthracnose (*Colletotrichum lini*). *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2024; (4): 41–49 (in Russian).
<https://www.elibrary.ru/qzhodx>

16. Bidabadi S.S., Jain S.M. Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of *in vitro* Plant Regeneration. *Plants*. 2020; 9(6): 702.
<https://doi.org/10.3390/plants9060702>

17. Sharapova I.E. Influence of the composition of nutrient media on the productivity and biological activity of the strain of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2021; 22(6): 918–927 (in Russian).
<https://doi.org/10.30766/2072-9081.2021.22.6.918-927>

ABOUT THE AUTHORS

Natalia Viktorovna Proletova

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Leading Researcher, Head Department of Breeding and Biotechnology
science.trk@fncl.ru

Lyudmila Platonovna Kudryavtseva

Candidate of Agricultural Sciences, Senior Researcher, Leading Researcher
l.kudryavtseva.trk@fncl.ru

Federal Scientific Center of Bast Crops,
 17/56 Komsomolsky Ave., Tver, 172002, Russia



Подпишитесь на Telegram канал ИД «Аграрная наука»



Ежедневно вы будете получать свежие новости АПК и сельского хозяйства, анонсы отраслевых событий, знакомиться с результатами научных исследований, репортажами и интервью.



Оформите подписку на информационные e-mail рассылки



Дважды в неделю на ваш e-mail ящик будут приходить уведомления о топовых событиях АПК, аналитика, прогнозы, приглашения на выставки и конференции.

Через наши рассылки вы можете познакомиться со своими товарами и услугами потенциальных клиентов.

Связаться с редакцией:
 Тел. +7 (495) 777 67 67
 (доб. 1453)
agrovetpress@inbox.ru