

**СЕЛЕКТИВНАЯ СИСТЕМА IN VITRO «ГРИБ COLLETOTRICHUM LINI – ЛЁН» –
ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ СОЗДАНИЯ ГЕНОТИПОВ,
УСТОЙЧИВЫХ К АНТРАКНОЗУ**

Н. В. Пролётова, кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник

Федеральный научный центр лубяных культур,
Торжок, Россия

E-mail: nataljaprljotva@rambler.ru

Ключевые слова: лён, антракноз, устойчивость, селективный агент, культуральный фильтрат, аминокислоты, незрелый зародыш, каллус

Реферат. Цель исследования заключалась в разработке эффективной селективной системы *in vitro* для создания устойчивых к антракнозу генотипов льна. В качестве объекта исследований использованы сорта и линии льна *Linum usitatissimum* L., различающиеся по устойчивости к антракнозу. Штаммы гриба, включенные в исследования, различались по вирулентности. В исследованиях использовали методики Доспехова, Курчаковой, методические рекомендации по созданию, поддержанию, хранению и практическому использованию коллекции микроорганизмов – возбудителей болезней льна. В результате разработана селективная система *in vitro* «гриб *Colletotrichum lini* Manns et Bolley – лён», позволяющая отбирать клетки льна-долгуна *in vitro*, устойчивые к культуральному фильтрату, из которых с большей эффективностью можно получать растения-регенеранты, устойчивые к патогену. В культуральных фильтратах исследуемых штаммов возбудителя установлено наличие следующих аминокислот: аланин, глицин, аспарагин, цистеин, аспарагиновая и глютаминовая кислоты, аргинин, треонин. Выявлена зависимость отзывчивости клеток льна на присутствие в среде продуктов жизнедеятельности гриба – возбудителя антракноза – от величины экспланта. Клетки пыльников в селективных условиях были более уязвимы, чем клетки незрелых зародышей. Выявлено влияние генотипа льна на потенции клеток к морфогенезу в селективных условиях. Клетки генотипов Л 957–8–7, Алексим, Пенджаб, Зарянка обладали высокой морфогенетической активностью. Морфогенетический потенциал генотипов Л 1506–8–4, Росинка был исчерпан уже ко 2–3-му пассажу. При разработке схемы селекции льна *in vitro* на устойчивость к антракнозу получено 86 побегов, проверка которых на искусственном инфекционно-провокационном фоне показала, что генотипы различались по устойчивости. Наряду с устойчивыми и среднеустойчивыми к антракнозу линиями (на уровне 50–75 %) были и формы, восприимчивые к болезни. У устойчивых и среднеустойчивых генотипов параметры устойчивости были на 12–37 % выше, чем у исходных форм.

**SELECTIVE SYSTEM IN VITRO «FUNGI COLLETOTRICHUM LINI - LINEN»
AS AN EFFICIENT WAY TO FIND OUT GENOTYPES RESISTANT TO THE POD SPOT**

Prolyotova N.V., Candidate of Biology, Senior Research Fellow at Federal Research Centre of
Fibre crop, Torzhok, Russia

Key words: flax, pod spot, resistance, selective agent, culture filtrate, aminoacids, immature embryos, callus.

*Abstract. The research aims at development of an effective selective agent in vitro system for founding linseed genotypes resistant to the pod spot. The authors see the object of research as varieties and lines of flax *Linum usitatissimum* L., which differ in their resistance to the pod spot. Fungi strains differed in their virulence. The authors applied methods of such scientists as Dospekhov and Kurchakova, methodological guidance on foundation, maintenance, storage and practical application of microorganisms, i.e. flax pathogens. This results in creation of selective in vitro system “*Colletotrichum lini* Manns et Bolley fungus – flax”. This system selects in vitro flax cells resistant to culture filtrate, from which it is possible to obtain regenerated plants resistant to the pathogen with greater efficiency. The authors enumerate the aminoacids that were found in the culture filtrates of the investigated pathogen strains; they are alanine, glycine, asparagine, cysteine, asparagine and glutamic acids, arginine and threonine. The authors outline the observed relationship between flax cell responsiveness and fungi pathogen in the environment of the fungus - anthracnose pathogen - on the value of the explant. Anthers cells in selection conditions were less resistant than those of immature embryos. The researchers observed the impact of flax genotype on cells ability to morphogenesis under selection conditions. Genotype cells L 957-8-7, Alexim, Pendzhab, Zaryanka had high morphogenetic activity. Morphogenetic capacities of genotypes L 1506-8-4 and Rosinka were rather low by the 2nd-3rd passages. When designing the scheme of flax selection in vitro for resistance to anthracnotism, 86 shoots were obtained, the check of which on the artificial infectious-provocative background showed that the genotypes differed in their resistance. The authors observed forms less resistant to the disease as well as resistant and medium resistant lines (at the level of 50 - 75%). The parameters of resistance in resistant and medium resistant genotypes were 12 - 37% higher than in the initial forms.*

Лён – ценнейшая техническая культура с расширенным ареалом произрастания. Это уникальное растение, которое является источником полноценного растительного белка, витаминов, микроэлементов и клетчатки. Лён представляет собой сырьевой материал, используемый в разных видах промышленности: бумажной, текстильной, химической, а также автомобильной и военной.

Важная роль в повышении эффективности развития отрасли льноводства принадлежит новым сортам льна-долгунца. В производственных условиях реализация биологического потенциала сортов составляет 30–35 %, что обусловлено не только несоблюдением технологии возделывания культуры, но и влиянием неблагоприятных факторов среды [1–4]. Большинство сортов характеризуются низкой приспособленностью к неблагоприятным абиотическим (засуха, кислотность почвы, низкая температура) и биотическим (болезни – антракноз, бактериоз) факторам среды. Современные сорта льна-долгунца являются устойчивыми к наиболее опасным болезням: ржавчине и фузариозному увяданию льна

[1, 2]. В то же время ежегодные изменения в ценозе болезней льна создают новые, оптимальные условия для их проявления, причём с различной степенью патогенности. К тому же почвенная патогенная микрофлора создаёт барьеры для выращивания льна с высокими качественными параметрами льнопродукции.

Антракноз льна до сих пор является широко распространённым и вредоносным заболеванием. До массового внедрения химических протравителей семян патоген являлся причиной гибели больших массивов льна в фазе всходов. Снижение объёма обработки семян фунгицидными протравителями в последние 15–20 лет способствовало распространению антракноза в начале XXI в. Так, в 2017 г. на территории Российской Федерации антракноз был обнаружен на площади 13,03 тыс. га (в 2016 г. – 16,63 тыс. га) [11]. Вполне достоверным является утверждение австралийских ученых (1998 г.), что во всех странах с сырым и умеренно теплым климатом семенная инфекция в крайне низкой норме, равной 0,001 %, может ежегодно приводить к потерям урожая зерна до 30 % [12]. С появлением

эффективных протравителей вред от антракноза был снижен, однако протравливание семян отрицательно сказывалось на развитии молодых растений льна.

Селекция на устойчивость могла бы снизить уровень заражения семян и сделать технологии возделывания льна более экологически чистыми. Задача повышения устойчивости может быть успешно решена лишь на основе интегрированного подхода к системе «хозяин – паразит – среда» [2, 3, 5]. Только в условиях инфекционного фона, в состав которого введен популяционный состав возбудителя, одинаковый по качеству и количеству для всех испытуемых образцов, возможны дифференциация селекционного материала по степени устойчивости и проведение отбора по этому признаку [2, 6, 7].

В биосистемах растений льна важную роль в регулировании устойчивости к фитопатогенам играют биотехнологические приёмы создания *in vitro* новых, устойчивых генотипов.

Поэтому цель исследования заключалась в разработке эффективной селективной системы *in vitro* для создания устойчивых к антракнозу генотипов льна.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве объекта исследований были использованы сорта и линии льна культурного *Linum usitatissimum* L. Генотипы различались по устойчивости к антракнозу. Штаммы гриба, включенные в исследования, различались по вирулентности.

Л 1506–8–4, Л 957–8–7, Алексим, Зарянка, Росинка – линии и сорта долгунцового типа селекции Института льна с высоким проявлением хозяйственно-ценных признаков, восприимчивые к антракнозу

Пенджаб – сорт индийской селекции межеумочного типа, урожайный по семенам, восприимчив к антракнозу

Эр. 130–3 – линия-донор, обладающая эффективными R-генами, позволяющая обеспечить высокую эффективность отбора на

устойчивость к антракнозу в ранних поколениях, относительно устойчивая к антракнозу.

Штаммы 527, 680, 677* – сильновирulentные штаммы возбудителя антракноза. Быстрорастущие, с обильным спороношением.

Штамм 674 – средневирulentный штамм возбудителя антракноза. Быстрорастущий, с обильным спороношением.

Штаммы 602, 674* – слабовирulentные штаммы возбудителя антракноза Быстрорастущие, с обильным спороношением.

Искусственная полевая популяция биообразцов возбудителя антракноза для заражения льна состояла на 50 % из сильновирulentных штаммов (725, 726, 729, 730, 735, 739) и по 25 % средневирulentных (724, 737, 728, 724) и слабовирulentных (712, 714) штаммов.

Родительские формы выращивали в сосудах Митчерлиха в вегетационном домике согласно методике Б.А. Доспехова [8]. Размножение гибридного материала и семян чистых линий льна осуществляли на светоустановке (осенне-зимний период) и в условиях вегетационного домика (весенне-летний период).

Скрещивания проводили по схеме:

♀	♂Ленок	♂Росинка
НЭ-36	+	+
НЭ-17	+	+
НЭ-17-5	+	+
НЭ-17-2	+	+
НО-85	+	+
НЭ-38	+	+
НО-65	+	+

Объём выборки при обследовании гибридов льна составил: количество учетных растений – 100, повторность – трехкратная.

Оценку растений-регенерантов и линий выполняли с использованием методических рекомендаций по созданию, поддержанию, хранению и практическому использованию коллекции микроорганизмов возбудителей болезней льна [9].

Интенсивность спороношения определяли в капле дистиллированной воды с помощью камеры Горяева под микроскопом МБИ-6. Количество спор в 1 см³ рассчитыва-

ли по формуле: $N / 20 \times 10^6$, где N – количество спор в поле зрения микроскопа в камере Горяева.

Фитотоксические свойства культурального фильтрата (КФ) определяли путём замачивания в нём семян льна в течение 24 ч по методике Л. Н. Курчаковой [10].

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета программ Microsoft Office Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Начальным этапом работы была наработка токсичного КФ гриба – возбудителя антракноза *Colletotrichum lini* Manns et Bolley, штаммов 527 и 602. При этом определено влияние минерального состава питательных сред Чапека и Sh-2 на продолжительность роста гриба на этих средах, на токсичность полученного КФ, и, как следствие, на возможность использования среды Sh-2 для наращивания биомассы возбудителя антракноза льна.

Наблюдения показали, что гриб хорошо развивался как на среде Чапека, так и на среде Sh-2. Культуральные фильтраты, полученные на основе этих сред, после 40 суток культивирования гриба обладали высокой токсичностью. При анализе проростков фиксировали стабильное снижение роста корешков, загнивание их кончика, угнетение и гибель проростков у восприимчивого к антракнозу образца Пенджаб (у 86,7–90,0% проростков) и у относительно устойчивой линии Эр. 130–3 (у 66,7–70,0% проростков).

Отмечено повышение токсичности культуральных фильтратов на обеих средах в течение 40 суток с момента культивирования возбудителя антракноза. При более длительных сроках культивирования гриба токсичность фильтратов практически не изменялась. Вероятно, к 40-м суткам запасы питательных веществ, находящихся в среде, были исчерпаны, и гриб не имел возможности продолжать рост и, как следствие, накапливать токсические метаболиты. Выделяемые

в среду количества продуктов жизнедеятельности были незначительными и не оказывали влияние на изменение токсичности КФ.

Решение вопроса о том, чем была вызвана токсичность КФ антракноза, привело к необходимости определения аминокислотного состава фильтрата в динамике. Проведённые исследования позволили установить наличие в нём таких аминокислот, как аланин, глицин, аспарагин, цистеин, аспарагиновая кислота, глютаминовая кислота, а также аргинин (у штамма 602). По мере роста мицелия гриба в КФ происходило снижение концентраций аланина, аспарагина, глицина, аспарагиновой и глютаминовой кислот, а к 23-м суткам культивирования наблюдали появление треонина – продукта метаболизма гриба. В то же время концентрация цистеина в КФ возрастала и максимальной была у 40-суточного КФ. Эта аминокислота, являющаяся продуктом синтеза фенилаланина, – сильнейший ингибитор роста растительных клеток. Поэтому, возможно, одним из слагающих токсичности является факт наличия данной аминокислоты.

В то же время присутствие таких аминокислот, как аспарагин, аланин, глицин, аспарагиновая и глютаминовая кислота, доказывает возможность индуцирования морфогенетической активности клеток льна-долгунца при соответствующем подборе оптимальных концентраций КФ в селективной среде.

В дальнейшем токсичный КФ вносили в среду Sh-2 на нулевом этапе селекции *in vitro* и в среду для субкультивирования каллуса. Было выявлено, что размах варьирования концентрации КФ зависит от величины первоначального экспланта льна.

При добавлении в среду Sh-2 КФ в концентрациях 0–20,0 мл/л с целью последующего культивирования пыльников наблюдали дифференцировку клеток пыльниковых эксплантов во всех вариантах, кроме варианта с концентрацией 20,0 мл/л. Это позволило выделить клеточные клоны, устойчивые к КФ в концентрациях 5,0; 10,0; 15,0 мл/л. Однако в клеточных колониях как восприимчивого сорта Пенджаб, так и устойчивой линии Эр

130–3 морфогенные очаги не формировались. При последующем субкультивировании клетки погибали даже на свободной от токсических метаболитов среде. При использовании в питательной среде КФ в концентрации 15,0 мл/л наблюдали индукцию дифференцировки клеток пыльников (по сравнению с контролем и другими вариантами). В этом варианте быстро формировались каллус и морфогенные очаги. Тем не менее при последующих пересадках морфогенные свойства каллусов утрачивались. Вероятно, в селективных условиях клетки пыльников слишком уязвимы. Влияние продуктов метаболизма гриба на жизнедеятельность клеток пыльниковых эксплантов очень большое. При использованных нами концентрациях культурального фильтрата интоксикация была слишком высокой. Патологический процесс гибели клеток запущался буквально с момента культивирования первичного экспланта. Поэтому мы решили использовать незрелые зародыши льна как более защищенные.

Для культивирования незрелых зародышей на начальном этапе селекции в питательную среду Sh-2 добавляли 0; 4; 8; 12; ... 44 мл/л культурального фильтрата. Использовали КФ, состоящий из смеси штаммов (два сильновирulentных и по одному средне- и слабовирulentному штамму), взятых в равных количествах (по 1, 2, 3, 4, ... 11 мл). После 10–14 суток инкубации незрелых зародышей наблюдалось появление двух типов структур – каллуса и (или) побегов. Стимулирование пролиферации каллуса было отмечено при концентрациях КФ 28; 32 и 36 мл/л. В этих вариантах формировались морфогенные каллусные очаги и стекловидные, слабохлорофилльные побеги. Отобраны морфогенные колонии, устойчивые к действию КФ. На средах с более низкой концентрацией КФ (4; 8; 12; 16; 20; 24 мл/л) наблюдалось стремительное нарастание водянистой клеточной биомассы, при этом морфогенные очаги не формировались либо формировались в единичных количествах. В вариантах, где КФ добавляли в среду в количестве 40

и 44 мл/л, формировался твердый каллус без признаков морфогенеза.

На этапе субкультивирования каллуса использовали три концентрации КФ: 32; 36 и 40 мл/л, которые добавляли в среду Sh-2. В ходе исследований было выявлено, что первичная каллусная ткань, сформированная на селективной среде, обладала пролиферативной способностью и морфогенетической активностью, в отличие от каллусной ткани, сформированной на среде, свободной от КФ. Было отмечено некоторое (0–31 %) ингибирование роста и развития каллуса на среде, содержащей 32 и 36 мл/л КФ. В этих вариантах были получены побеги, однако они были слаборазвитые и уродливые. В варианте использования КФ в концентрации 40 мл/л морфогенные участки не развивались, и клетки каллуса через неделю погибали.

Морфогенная каллусная ткань, перенесенная в дальнейшем на среду Sh-2, не содержащую КФ, продолжала развиваться и формировать морфогенные очаги. В них формировались побеги. В результате селекции были получены побеги льна и растения-регенеранты, устойчивые к культуральному фильтрату *in vitro*.

На этапе субкультивирований проявлялось влияние генотипа на потенции к морфогенезу в селективных условиях. Клетки генотипов Л 957–8–7, Алексим, Пенджаб, Зарянка обладали высокой морфогенетической активностью. В течение семи пассажей у них формировались морфогенные очаги и были отобраны устойчивые к КФ клетки. Морфогенетический потенциал генотипов Л 1506–8–4, Росинка был исчерпан уже ко 2–3-му passage.

При разработке схемы селекции льна *in vitro* на устойчивость к антракнозу с использованием эмбриокультуры было получено 86 побегов различной степени приживаемости.

Растения оценивали по устойчивости к антракнозу в условиях *in vitro* и на искусственном инфекционно-провокационном фоне. Для проведения оценки *in vitro* в питательную среду Sh-2 добавляли смесь КФ, состоящую из КФ сильновирulentных (680, 677*), средневи-

рулентного (674) и слабовирулентного (674*) штаммов, взятых в равных концентрациях – по 9 мл/л каждого штамма. Установлено, что процентное количество сформированного морфогенного каллуса в 1-м и 2-м пассажах было

близким по значению к полевой устойчивости растений к антракнозу. Так, на селективном фоне *in vitro* у линии НП-8 сформировано в 1-м пассаже 31 % морфогенных каллусов, во 2-м – 24 %. Полевая устойчивость на искусственном

Таблица 1

Формирование морфогенного каллуса в культуре незрелых зародышей после 1–3 пассажей в зависимости от генотипа льна, концентрация КФ 36 мл/л
Formation of morphogenic callus in immature embryos after 1- 3 passages in relation to the flax genotype, concentration is KF 36 ml/l

Генотип	Полевая устойчивость к антракнозу, %	Количество морфогенного каллуса (%) после пассажа		
		1-го	2-го	3-го
Росинка	29,00	45,0±3,3	40,0±3,2	20,0±4,4
Ленок	38,00	54,0±5,2	40,0±3,2	18,0±5,1
НП-8	23,80	31,0±4,4	24,0±3,3	25,0±4,6
НЭ-38	63,90	54,0±2,8	62,0±3,5	55,0±2,2
НЭ-17–2	54,14	60,0±4,4	60,0±3,7	53,0±3,4

инфекционно-провокационным фоне была отмечена на уровне 23,8 % (генотип неустойчив к антракнозу). У линии НЭ-38 в 1-м пассаже сформировано 54 % морфогенных каллусов, во 2-м – 62 %. Полевая устойчивость – 62,5 % (генотип устойчив к антракнозу) (табл. 1).

Проверка полученных в ходе исследований растений-регенерантов на искусственном

инфекционно-провокационным фоне показала, что генотипы различались по устойчивости. Наряду с устойчивыми и среднеустойчивыми к антракнозу линиями (на уровне 50,0–75,0 %) были и формы, восприимчивые к болезни (табл. 2). У устойчивых и среднеустойчивых генотипов параметры устойчивости были на 12,0–37 % выше, чем у исходных

Таблица 2

Устойчивость к антракнозу некоторых линий льна, полученных при селекции *in vitro* на инфекционно-провокационном фоне, %
Resistance of some flax lines received by means of *in vitro* crossbreeding to the pod spot on infection background, %

Линия	1-й год	2-й год	3-й год
НЭ-36	75,0±1,7	51,3±1,1	45,0±2,1
НЭ-17	57,0±2,2	39,2±3,1	48,3±2,7
НЭ-17–5	75,0±2,1	23,6±2,4	54,6±2,4
НЭ-17–2	57,0±3,2	34,0±2,2	36,6±2,8
НО-85	43,7±4,4	51,0±2,7	48,3±3,1
НЭ-38*	66,7±2,1	62,5±1,9	62,5±2,4
НО-65	45,0±2,8	54,6±1,3	49,0±2,1
НЭ-36	75,0±1,4	48,3±3,4	62,5±2,1
НП-8	26,7±1,3	28,5±2,6	16,3±1,9
НЭ-17*	57,0±2,2	57,1±1,2	48,3±1,9
НЭ-38–8	62,5±4,1	60,0±2,7	66,7±3,1
НО-65	45,0±3,4	48,3±2,1	45,0±3,2
НО-85	43,7±1,5	43,0±2,1	39,0±3,2
НЭ-17–5	75,0±2,4	62,5±1,9	58,0±1,7
НЭ-15	12,3±2,1	18,6±1,2	15,3±1,6
НП-16	6,3±1,1	10,3±2,1	6,3±1,9

* – Генотипы льна, проявившие стабильность в течение 3 лет.

* – flax genotypes that appeared to be resistant during 3 years

форм. Однако линии, проявившие вначале высокую устойчивость к антракнозу, в последующие годы снизили её на 10,0–50,0%. Линии же, характеризовавшиеся как среднеустойчивые, повысили устойчивость на 2,2–26,8%. В течение последующих двух лет устойчивость к антракнозу у полученных линий была на уровне среднеустойчивых – устойчивых (50,0–62,0%). Ряд полученных линий, кроме устойчивости к антракнозу, характеризовались устойчивостью к ржавчине и фузариозному увяданию. Это связано с тем, что родительские формы в основном были высокоустойчивыми к этим возбудителям.

При оценке хозяйственно-ценных признаков у выделенных линий было выявлено, что они в основном несколько уступают исходным формам. В то же время у ряда линий некоторые показатели (высота растения, масса технической части стебля, количество семян с 1 растения, содержание волокна) превосходили сорт-стандарт Алексим на 1,0–38,9%.

Согласно полученным данным, приобретенные изменения носили относительно стабильный характер. Возможно, это было связано с различной по годам инфекционной

нагрузкой в инфекционно-провокационном питомнике (годы значительно различались по метеоусловиям в период вегетации льна при проявлении болезни).

При оценке гибридов F_{1-3} и их родительских форм на искусственном инфекционно-провокационном фоне в полевых условиях, выявлено, что степень устойчивости гибридов НЭ-38 х Ленок и НЭ-38 х Росинка составила 62,5% и находилась практически на одном уровне с исходной формой НЭ-38 (66,7%) при устойчивости восприимчивых родительских форм 38 (сорт Ленок) и 29% (сорт Росинка) (табл. 3). При анализе других гибридных комбинаций от скрещивания контрастных по устойчивости форм наблюдалась преимущественно высокая степень поражения гибридов (устойчивость 0–25%). Следовательно, при скрещивании устойчивых линий льна-долгунца, полученных при селекции *in vitro*, с восприимчивыми сортами, устойчивость в последующих поколениях в основном не наследуется. Исключение составили комбинации НЭ-38 х Ленок и НЭ-38 х Росинка с участием устойчивой формы НЭ-38.

Таблица 3

Устойчивость к антракнозу гибридов льна первого – третьего поколений на инфекционно-провокационном фоне

Resistance of flax hybrids of I-III generations to the pod spot on infection background, %

Гибрид $F_1 - F_3$	Устойчивость, %	Родительская форма	Устойчивость, %
НЭ-36 х Ленок	25,0±2,5	НЭ-36	75,0±1,7
НЭ-17 х Ленок	0,0±1,4	НЭ-17	57,0±2,2
НЭ-17-5 х Ленок	25,0±3,3	НЭ-17-5	75,0±2,1
НЭ-17-2 х Ленок*	41,7±3,7	НЭ-17-2	57,0±3,2
НО-85 х Ленок	25,0±1,9	НО-85	43,7±4,4
НЭ-38 х Ленок*	62,5±4,4	НЭ-38	66,7±2,1
НО-65 х Ленок	25,0±2,6	НО-65	45,0±2,8
НЭ-36 х Росинка	25,0±2,8	НЭ-36	75,0±1,4
НЭ-38 х Росинка*	62,5±3,1	НЭ-38	66,7±1,3
НЭ-17 х Росинка	0,0±1,1	НЭ-17	57,0±2,2
НЭ-38-8 х Росинка	0,0±1,8	НЭ-38-8	62,5±4,1
НО-65 х Росинка	25,0±2,2	НО-65	45,0±3,4
НО-85 х Росинка	0,0±0,5	НО-85	43,7±1,5
НЭ-17-5 х Росинка	0,0±1,1	НЭ-17-5	75,0±2,4
		Росинка	29,0±2,4
		Ленок	38,0±2,6

* Гибриды, проявившие устойчивость на уровне устойчивого родителя.

* Hybrids that appeared to be resistant as a resistant parental form

ВЫВОДЫ

1. Разработанные нами селективные условия *in vitro* (селективная система «гриб *Colletotrichum lini* Manns et Bolley – лён») были эффективны при селекции льна-долгунца на устойчивость к антракнозу и позволили получить формы, более устойчивые к болезни, чем исходные.

2. В культуральных фильтратах исследуемых штаммов возбудителя антракноза установлено наличие следующих аминокислот: аланин, глицин, аспарагин, цистеин, аспарагиновая кислота, глютаминовая кислота, аргинин, треонин. Сделано предположение о взаимосвязи между присутствием в культуральных фильтратах аминокислоты цистеина и токсичностью.

3. КФ, добавляемый в питательную среду при дифференцировке генотипов льна по устойчивости к антракнозу, может состоять из смеси КФ сильновирulentных (680, 677*), средневирулентного (674) и слабовирулентного (674*) штаммов, взятых в равных концентрациях – по 9 мл/л каждого штамма. В этом случае количе-

ство сформированного морфогенного каллуса и полевая устойчивость генотипа к антракнозу близки по значению и можно делать заключение о характере устойчивости.

4. Выявлена зависимость отзывчивости клеток льна на присутствие в среде продуктов жизнедеятельности гриба – возбудителя антракноза – от величины экспланта. Клетки пыльников в селективных условиях были более уязвимы, чем клетки незрелых зародышей.

5. Выявлено влияние генотипа льна на потенции клеток к морфогенезу в селективных условиях. Клетки генотипов Л 957–8–7, Алексим, Пенджаб, Зарянка обладали высокой морфогенетической активностью. Морфогенетический потенциал генотипов Л 1506–8–4, Росинка был исчерпан уже ко 2–3-му пассажу.

6. При скрещивании устойчивых линий льна-долгунца, полученных при селекции *in vitro*, с восприимчивыми сортами устойчивость в последующих поколениях в основном не наследуется. Исключение составили комбинации НЭ-38 х Ленок и НЭ-38 х Росинка с участием устойчивой формы НЭ-38.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Павлова Л.Н., Герасимова Е.Г., Румянцев В.Н. Инновации в селекции льна-долгунца // Инновационные разработки производства и переработки лубяных культур: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Тверь: Твер. гос. ун-т, 2016. – С.46–49.
2. Кудрявцева Л.П., Пролётова Н.В. Методологическое обеспечение селекции льна на устойчивость к антракнозу // Фундаментальные и прикладные исследования в биоорганическом сельском хозяйстве России, СНГ и ЕС: материалы междунар. науч.-практ. конф. (9–12 авг. 2016 г.). – М., 2016. – Т. 2. – С. 149–158.
3. Пролётова Н.В. Повышение устойчивости льна-долгунца к антракнозу (*Colletotrichum lini* Manns et Bolley) методами *in vitro* // Масличные культуры: науч.-техн. бюл. ВНИИ маслич. культур. – 2018. – № 3 (175). – С. 128–131.
4. Трабурова Е.А., Рожмина Т.А. Изучение коллекционных образцов коллекции льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – № 11. – С. 40–42.
5. Агрономическая и организационно-экономическая разработка способов применения средств, снижающих проявление сорняков и болезней в посевах льна, как элементов технологии его возделывания в Центральном федеральном округе РФ / Ф.В. Алырчиков, О.А. Савоськина, Н.А. Кудрявцев, Л.А. Зайцева // АгроЭкоИнфо: электрон. науч.-произв. журн. – 2018. – № 1 (31). – С. 3.
6. Пролётова Н.В., Кудрявцева Л.П. Создание *in vitro* новых, устойчивых к болезням сортов льна – один из способов повышения биоразнообразия культуры // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты): материалы VII Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 30-летию отдела биотехнологии растений Никитского ботанического сада. – Ялта; Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2016. – С. 50–51.
7. Чекалин Н.М. Генетические основы селекции зернобобовых культур на устойчивость к патогенам. – Полтава: Интерграфика, 2003. – 186 с.

8. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – Изд. 5-е, перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
9. Методические рекомендации по созданию, поддержанию, хранению и практическому использованию коллекции микроорганизмов возбудителей болезней льна. – Торжок, 2006. – 10 с.
10. 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 // Сб. науч. тр. ВНИИЛ. – Торжок, 1994. – Вып. 28–29. – С. 127–128.
11. Обзор фитосанитарного состояния посевов сельскохозяйственных культур в Российской Федерации в 2017 году и прогноз развития вредных объектов в 2018 году / ФГБОУ Россельхозцентр. – М., 2018. – 978 с.
12. Nirenberg H.I., Feiler U., Hagedorn G. Description of *Colletotrichum lupini* comb. nov. in modern terms // Mycologia. – 2002. – Vol. 94, N 2. – P. 307–320.

REFERENCES

1. Pavlova L.N., Gerasimova E.G., Rumyantseva V.N. Innovation in fiber flax breeding, *Innovative developments in the production and processing of bast crops*: Proceeding of the International and Practical Conference, Tver: Tver. state Univ. 2016. pp. 46–49. (In Russ.)
2. Kudryavtseva L.P., Prolyotova N.V. Methodological support for the selection of flax for resistance to anthracnose, *Basic and applied research in bioorganic agriculture in Russia the CIS and the EU*, Proceeding of the International Scientific and Practical Conference (August 9–12, 2016), Materials reports, reports, M. 2016, Vol. 2, pp. 149–158. (In Russ.)
3. Proletova N.V. Increasing the resistance of flax to anthracnose (*Colletotrichum lini* Manns et Bolley) by *in vitro* methods, *Oilseeds. Scientific and technical bulletin of the All-Russian Scientific Research Institute of Oilseeds*, 2018, No. 3 (175), pp. 128–131. (In Russ.)
4. Traburova, EA, Rozhmina, T.A. Study of collection samples of flax-flax collection (*Linum usitatissimum* L.), *Achievements of science and technology of the agro-industrial complex*, 2018, No.11, pp. 40–42. (In Russ.)
5. Alirchikov F.V., Savoskina O.A., Kudryavtsev N.A., Zaytseva L.A. Agronomical and organizational-economic development of methods for applying means that reduce the manifestation of weeds and diseases in flax crops, as elements of the technology of its cultivation in the Central Federal District of the Russian Federation, *Electronic Scientific and Production Journal, «AgroEcoInfo»*, 2018, No. 1 (31), 3 p.
6. Proletova, N.V., Kudryavtseva, L.P. Creating *in vitro* new, disease-resistant flax varieties is one of the ways to increase the biodiversity of crops *Biotechnology as a tool for preserving the biodiversity of the plant world (physiological, biochemical, embryological, genetic and legal aspects)*: Proceeding of the VII International Scientific and Practical Conference dedicated, The 30th anniversary of the plant biotechnology department of the Nikitsky Botanical Garden, Yalta, Simferopol: IT «ARIA», 2016, p. 50–51.
7. Chekalin N.M. *Genetic bases of breeding leguminous crops for resistance to pathogens*, Poltava: Intergraphika publishing house, 2003, 186 p.
8. Dospekhov, B.A. *Methods of field experience (with the basics of statistical processing of research results)*, M., «Agropromizdat», 1985, 351 p.
9. *Methodical recommendations on the creation, maintenance, storage and practical use of the «Collection of microorganisms of flax pathogens»*, Torzhok, 2006, 10 p.
10. Kurchakova, L.N. Methods of obtaining the culture filtrates of the fungus *Fusarium oxysporum* and *F. semitectum* and their use in *in vitro* culture for the production of *Fusarium*-resistant forms of flax, *Collection of scientific works VNIIL*, Issue 28–29, Torzhok, 1994, pp. 127–128. (In Russ.)
11. Review of the phytosanitary status of crops in the Russian Federation in 2017 and the forecast of the development of harmful objects in 2018, *FSBEI Rosselkhoztsentr*, M., 2018, 978 p.
12. Nirenberg H.I., Feiler U., Hagedorn G. Description of *Colletotrichum lupini* comb. nov. in modern terms, *Mycologia*, 2002, No. 2 (94), pp. 307–320.