

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ УСЛОВИЙ *IN VITRO* НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОЗДАВАЕМЫХ ФОРМ ЛЬНА

Н.В. Пролётова, В.С. Зотова

ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур», Тверь, Россия

E-mail: science.trk@fncl.ru

Для цитирования: Пролётова Н.В., Зотова В.С. Влияние селективных условий *in vitro* на изменчивость создаваемых форм льна // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2024. – № 4(73). – С. 95–107. – DOI: 10.31677/2072-6724-2024-73-4-95-107.

Ключевые слова: лен-долгунец, питательная среда, культуральный фильтрат, штамм, патоген, устойчивость, селекция, регенерант, инфекционно-провокационный питомник, селекционный питомник.

Реферат. Лен-долгунец является стратегической культурой. Льнопродукция находит широкое применение в различных отраслях экономики, в том числе при производстве тканей, красок, медицинской ваты, пороха и др. Проявление заболеваний на посевах льна влечет за собой снижение урожайности культуры. Ухудшается качество льноволокна, полученного из пораженной льнотресты, а зараженные семена снижают всхожесть и заложенный биологический потенциал. Наиболее вредоносными болезнями льна-долгунца в настоящее время являются фузариозное увядание, ржавчина, антракноз, пасмо, бактериоз. Целью исследований, проведенных в 2021–2023 гг. на базе лаборатории селекционных и биотехнологий ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур» (Тверская область), являлось создание биотехнологическими методами новых генотипов льна, устойчивых к антракнозу (*Colletotrichum lini*). В результате исследований из генотипов льна, восприимчивых к антракнозу, *in vitro* созданы новые, более устойчивые к патогену формы. Выявлено, что на селективном фоне на основе незрелых зародышей формировались растения с различной степенью устойчивости. Были отмечены как устойчивые, так и средневосприимчивые – восприимчивые формы, сформированные на основе одного и того же генотипа. Отмечено, что большинство регенерантов, полученных при селекции *in vitro* от восприимчивых к антракнозу генотипов, во вновь созданных селективных условиях характеризовались устойчивостью и средней восприимчивостью к культуральному фильтрату. Высказано предположение, что формирование на селективном фоне в культуре незрелых зародышей льна-долгунца растений-регенерантов, отличных от исходных форм, вызвано возникновением спонтанного мутационного процесса, который, по-видимому, не всегда зависит от создания селективных условий. В ходе исследований выявлены различия используемых штаммов возбудителя антракноза по морфологическим признакам. Установлено, что интенсивность спороношения и роста используемых штаммов не зависела от их вирулентности.

INFLUENCE OF SELECTIVE CONDITIONS *IN VITRO* ON VARIABILITY OF CREATED FLAX FORMS

N.V. Prolyotova, V.S. Zotova

Federal Scientific Center of Bast Crops, Russian Federation, Tver

E-mail: science.trk@fncl.ru

Keywords: fiber flax, nutrient medium, cultural filtrate, strain, pathogen gene, resistance, selection, regenerant, infectious-provocative nursery, breeding nursery

Abstract: Fiber flax is a strategic crop. Flax products are widely used in various sectors of the economy, including the production of fabrics, paints, medical cotton wool, gunpowder, etc. The occurrence of diseases on flax crops entails a decrease in crop yield. The quality of flax fiber obtained from the affected flax plant deteriorates, and infected seeds reduce germination and biological potential. The most harmful diseases of fiber flax at present are fusarium wilt, rust, anthracnose, pasmo, and bacteriosis. The goal of the research conducted in 2021–2023 on the basis of the laboratory of breeding and biotechnology of the Federal State Budgetary Institution “Federal Scientific Center for Bast Crops” (Tver Region) was to create new flax genotypes resistant to anthracnose (*Colletotrichum lini*) using biotechnological methods. As a result of research, new forms, more resistant to the pathogen, were created *in vitro* from flax genotypes susceptible to anthracnose. It was revealed that on a selective background, plants with varying degrees of resistance were formed on the basis of immature

embryos. Both resistant and moderately susceptible forms were noted - susceptible forms formed on the basis of the same genotype. It was noted that the majority of regenerants obtained during in vitro selection from genotypes susceptible to anthracnose, under the newly created selective conditions, were characterized by resistance and average susceptibility to the cultural filtrate. It has been suggested that the formation of regenerated plants, different from the original forms, against a selective background in the culture of immature fiber flax embryos, is caused by the occurrence of a spontaneous mutation process, which, apparently, does not always depend on the creation of selective conditions. The studies revealed differences in the used strains of the anthracnose pathogen according to morphological characteristics. It was established that the intensity of sporulation and growth of the strains used did not depend on their virulence.

Исследования выполнены в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ ФГБНУ ФНЦ ЛК по теме № FGSS 2024-0005.

Лен-долгунец является одной из культур, продукция которых широко востребована в производстве. Изделия из льняного волокна всегда имели большую ценность за свою прочность и экологичность. В настоящее время в волокне нуждаются легкая, тяжелая и оборонная промышленности, а в масле – пищевая, фармацевтическая, лакокрасочная как в России, так и за рубежом [1–7]. Трудно переоценить лен как источник линоленовой кислоты. В семенах льна Омега-3, или α -линоленовая кислота, в трехкратном размере превышает содержание ее в рыбе [8–10]. В постоянно изменяющихся условиях окружающей среды роль сорта приобретает решающее значение. Лен-долгунец представлен в Государственном реестре селекционных достижений 72 сортами [11]. За последние восемь лет в Российской Федерации создано и внедрено в производство 13 новых высокопродуктивных сортов льна-долгунца. Доля сортов льна-долгунца отечественной селекции в Госреестре селекционных достижений РФ в 2023 г. достигла 82 %. Однако не все возделываемые сорта полностью отвечают ежегодно возрастающим требованиям сельхозтоваропроизводителей [2, 3, 12]. Многие сорта, несмотря на высокие показатели урожайности, восприимчивы к наиболее опасным грибным заболеваниям, таким как фузариозное увядание, ржавчина, антракноз, пасмо, полиспороз. При проявлении этих патогенов в посевах льна урожайность льнопродукции (льноволокно, семена) резко снижается. При этом снижается качество волокна – основное условие при выборе сорта сельхозтоваропроизводителями для возделывания [1, 2, 13, 14]. Селекционное создание новых, устойчивых к наиболее опас-

ным болезням сортов льна-долгунца – процесс многолетний и достаточно трудоемкий. Использование биотехнологических приемов, направленных на получение новых, устойчивых к патогенам генотипов льна, позволяет сократить сроки селекционного процесса на устойчивость и создавать новые линии за 1–2 года [15–17]. В связи с этим целью исследований являлось создание биотехнологическими методами новых генотипов льна, устойчивых к антракнозу (*Colletotrichum lini*).

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в 2021–2023 гг. на базе лаборатории селекционных и биотехнологий ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур» (Тверская область).

Создание *in vitro* новых генотипов льна, устойчивых к культуральному фильтрату возбудителя антракноза (*Colletotrichum lini*), проводили с использованием методик, разработанных Н.В. Пролётовой, Л.П. Кудрявцевой, Е.Г. Виноградовой [18].

Исходным материалом при создании *in vitro* новых форм льна-долгунца, устойчивых к антракнозу, служили незрелые зародыши сортов и селекционных линий Л 957-8-7, Л 1506-8-6, Л 2053-5-11, Л 2053-6-10, Эр 130-3 и штаммы возбудителя антракноза: сильновирulentные – 793 и 784, средневирулентный – 780, слабовирулентный – 788.

Схема проведения исследований:

- выбор линий и сортов льна, а также штаммов возбудителя антракноза для проведения исследований;

- выращивание штаммов возбудителя антракноза на питательной среде в течение 30–50 сут и фильтрование жидкости, образующейся в результате жизнедеятельности патогена;

– посев семян в вегетационные сосуды Митчерлиха и уход за растениями льна – донорами незрелых зародышей;

– изолирование из коробочек льна незрелых зародышей на 9–11 сут после опыления, стерилизация и культивирование их на селективной среде, которая состояла из компонентов питательной среды MS (табл. 1) и культуральных фильтратов штаммов, отобранных в равных количествах для достижения концентрации в среде 40 мл/л;

– формирование в селективных условиях морфогенного каллуса и перенос морфогенных участков на свежие селективные среды, состоящие из компонентов питательной среды MS и культуральных фильтратов штаммов, отобранных в равных количествах для достижения концентрации в среде 44 мл/л (рис. 1);

– получение побегов и растений–регенерантов льна (рис. 2);

– культивирование семян льна и получение гипокотилей на их основе;

– культивирование гипокотильных сегментов (отрезков гипокотилей, размером 5–8 мм) на селективной среде, состоящей из компонентов питательной среды MS и культуральных фильтратов штаммов, отобранных в равных количествах для достижения концентрации в среде 48 мл/л;

– получение морфогенного каллуса и проведение оценки растений–регенерантов по устойчивости к культуральному фильтрату в условиях *in vitro* (рис. 3);

– оценка растений–регенерантов по устойчивости к антракнозу на инфекционно-провокационном фоне в полевых условиях (рис. 4);

– оценка растений–регенерантов по основным хозяйственно ценным признакам в селекционном питомнике второго этапа в полевых условиях (рис. 5).

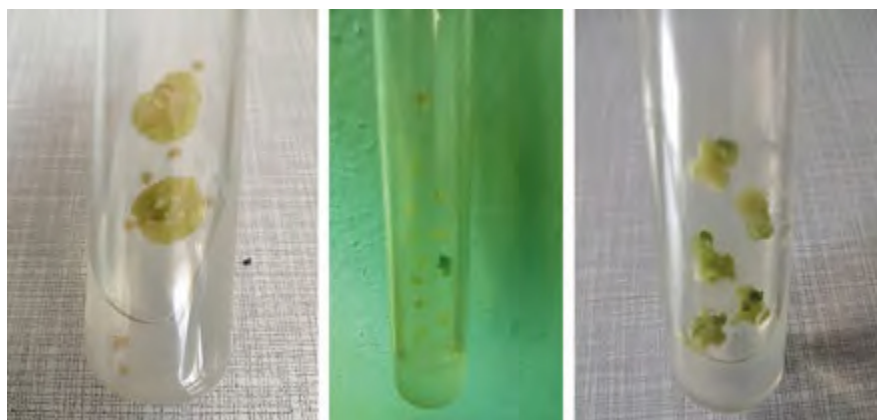


Рис. 1. Культивирование незрелых зародышей и формирование в селективных условиях морфогенного каллуса
Cultivation of immature embryos and formation of morphogenic callus under selective conditions



Рис. 2. Формирование побегов и растений–регенерантов льна
Formation of shoots and regenerated plants of flax

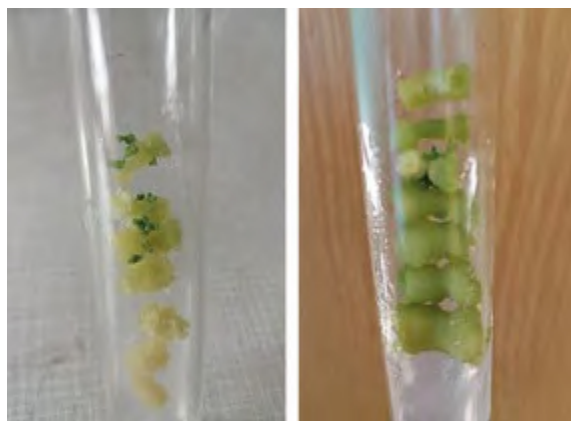


Рис. 3. Формирование морфогенного каллуса на основе гипокотильных сегментов
Formation of morphogenic callus based on hypocotyl segments



Рис. 4. Оценка растений-регенерантов по устойчивости к антракнозу на инфекционно-провокационном фоне в полевых условиях

Evaluation of regenerated plants for resistance to anthracnose against an infectious provocative background in field conditions

Таблица 1

Состав питательных сред, используемых в эксперименте
Composition of the nutrient media used in the experiment

Вещество	Кол-во вещества, мг/л	
	Среда MS для клеток и тканей льна	Среда MS для грибов
1	2	3
NH_4NO_3	1650	1650
KNO_3	1900	1900
KH_2PO_4	170	170
$\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$	370	370
$\text{MnSO}_4 \times 4 \text{H}_2\text{O}$	33,6	33,6
H_3BO_3	62	62
$\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$	15,0	15,0
KJ	0,83	0,83
$\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$	0,5	0,5

1	2	3
$\text{CoCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025
$\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$	27,8	27,8
$\text{Na}_2\text{EDTA} \times \text{H}_2\text{O}$	37,3	37,3
Инозитол	100	-
Никотиновая кислота	1	-
Рибофлавин	0,015	-
Пиридоксин HCl	0,5	-
Тиамин HCl	0,2	-
6-бензиладенин	1	-
α -нафтилукусная кислота	0,05	-
Сахароза	30000	30000
Агар	7000	
pH	5,6–5,8	5,6–5,8

При создании инфекционно-провокационного питомника в полевых условиях для оценки растений-регенерантов по устойчивости к возбудителю антракноза использовали живую культуру патогена, выращенную на зернах овса. Искусственную популяцию патогена составляли из 45–50 % сильновирulentных штаммов и 50–55 % средневирulentных штаммов.

Культуру штаммов, согласно методике, вносили в почву за две недели до посева семян льна, при этом предварительно выполнив весь комплекс мероприятий по подготовке почвы к посеву (вспашка, боронование, внесение минеральных удобрений, культивация) [19].

Для получения гипокотилей семена исследуемых форм льна помещали в пробирки на фильтровальную бумагу, смоченную 1%-м раствором сахарозы, и выращивали до появления семядольных листочков. В зависимости от генотипа этот период составлял 8–10 сут. Гипокотили разрезали на сегменты размером 5–8 мм и культивировали в селективных условиях в течение 14 сут. По количеству сформированного на основе гипокотильных сегментов морфогенного каллуса судили об устойчивости льна, согласно следующей шкале: сформировалось морфогенного каллуса 70 % и более – устойчивые; 51–69 % – средневосприимчивые; 25–50 % – восприимчивые; менее 25 % – сильно восприимчивые. Новые генотипы

выращивали в условиях вегетационного домика в деревянных ящиках с целью размножения и на следующий год оценивали их в полевом инфекционно-провокационном питомнике по устойчивости к антракнозу и в селекционном питомнике второго этапа селекции – по комплексу хозяйственно ценных признаков.

Статистическую обработку экспериментальных данных выполняли с использованием расчета показателей вариации результатов эксперимента: среднее значение, среднее квадратическое отклонение, коэффициент вариации (вариабельность).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Создание новых форм льна осуществлялось в лабораторных условиях *in vitro*. В качестве селективного агента для селекции *in vitro* использовали культуральный фильтрат штаммов возбудителя антракноза, который готовили путем фильтрования жидкости, образующейся в результате жизнедеятельности грибов штаммов 780, 794, 788, 793. Кусочки мицелия размером 1 см² помещали на поверхность жидкой питательной среды MS, которая для выращивания грибов была модифицирована и не содержала витамины и регуляторы роста. В течение роста гриба интенсивность спороношения в зависимости от штамма составляла 14,4–45,6 тыс. спор в 1 мл (рис. 5).

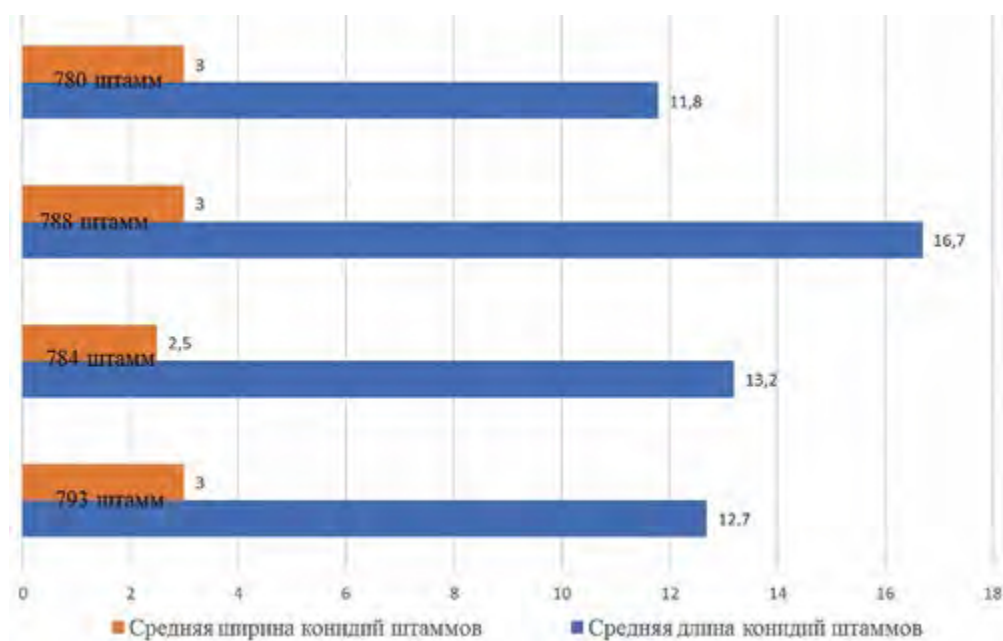


Рис. 5. Средняя длина и ширина конидий используемых штаммов гриба – возбудителя антракноза льна, нм
Average length and width of conidia of the used strains of the fungus – the causative agent of flax anthracnose, nm

В результате исследований выявлено, что если в процессе роста средняя ширина конидий у штаммов незначительно различалась и составляла 2,5–3,0 нм, то по длине конидий у штаммов различие было существенным. Наибольшую среднюю длину имели конидии слабовирулентного 788 штамма (16,7 нм), к тому же они были изогнутыми, в отличие от конидий штаммов 780, 793, 794. Наименьшую среднюю длину имели конидии средневирulentного 780 штамма (11,8 нм). Форма конидий была прямой, как и у штаммов 793 и 794. По темпам роста штаммы также различались между собой. Штамм 788 оказался быстрорастущим с наименьшей интенсивностью спороношения (14,4 тыс. спор в 1 мл). Штаммы 793, 784 и 780 были умеренно растущими с высокой интенсивностью спороношения (34,2; 45,6; 32,8 тыс. спор в 1 мл соответственно). Установлено, что интенсивность спороношения и роста используемых штаммов не зависела от их вирулентности.

Культивирование незрелых зародышей на питательной среде MS с культуральным фильтратом смеси штаммов возбудителя антракноза в концентрации 40 мл/л, первичного и пересадочного морфогенного каллус – на питательной среде MS с культуральным фильтратом смеси штаммов возбудителя антракноза в концентрации 44 мл/л позволило провести селекцию *in vitro* и получить растения-регенеранты льна-долгунца, устойчи-

вые к культуральному фильтрату используемых штаммов возбудителя антракноза.

Согласно схеме исследований регенеранты в последующем оценивали по устойчивости к культуральному фильтрату штаммов возбудителя антракноза в условиях *in vitro* и по устойчивости к антракнозу в инфекционно-провокационном питомнике.

При оценке регенерантов на устойчивость к антракнозу в условиях *in vitro* вначале получали морфогенный каллус на основе гипокотильных сегментов из семян растений-регенерантов. По количеству сформированных морфогенных каллусов судили об устойчивости регенерантной линии к культуральному фильтрату во втором поколении. В результате исследований выявлено, что на селективном фоне на основе гипокотильных сегментов формировались как морфогенные каллусы, так и каллусы, не содержащие морфогенные клетки. На основе одного и того же регенеранта льна во вновь созданных селективных условиях сформировались как устойчивые, так и средневосприимчивые – восприимчивые к культуральному фильтрату каллусные культуры. Так, например, у регенеранта НЛ-40-1, полученного на основе линии Л 2053-5-11, устойчивого к культуральному фильтрату возбудителя антракноза, во вновь созданных селективных условиях сформировалось 48 % морфогенных каллусов, характеристика регенеранта по шкале соответствовала крите-

рию «восприимчивый» (табл. 2). У регенеранта НЭ-12, полученного на основе линии Эр 130-3, сформировалось 22 % морфогенных каллусов и характеристика регенеранта по шкале соответствовала критерию «сильновосприимчивый». В то время как у регенеранта НЛ-40-2, полученного на основе линии Л 2053-6-10, в этих условиях сформировался 71 % морфогенных каллусов, характеристика регенеранта по шкале соответствовала критерию «устойчивый».

Отмечено, что большинство регенерантов, полученных при селекции *in vitro* из восприим-

чивых к антракнозу генотипов, во вновь созданных селективных условиях характеризовались устойчивостью и средней восприимчивостью к культуральному фильтрату. Формирование на селективном фоне в культуре незрелых зародышей льна-долгунца растений-регенерантов, отличных от исходных форм, вызвано возникновением спонтанного мутационного процесса, который, по-видимому, не всегда зависит от создания селективных условий.

Таблица 2

Характеристика регенерантов, полученных в результате селекции *in vitro*, по устойчивости к культуральному фильтрату возбудителя антракноза в условиях *in vitro*
 Characteristics of regenerants obtained as a result of *in vitro* selection for resistance to the culture filtrate of the anthracnose pathogen under *in vitro* conditions

Регенерант	Кол-во сформированного морфогенного каллуса, % $\pm$ Sp	Характеристика по устойчивости к антракнозу
НЛ-40-1	48 $\pm$ 1,1	Восприимчивый
НЛ-40-2	71 $\pm$ 1,0	Устойчивый
НЭ-12	22 $\pm$ 1,3	Сильновосприимчивый
НЭ-38	70 $\pm$ 0,9	Устойчивый
НЭ-36	71 $\pm$ 0,8	Устойчивый
НЭ-17	52 $\pm$ 1,1	Средневосприимчивый
НО-85	39 $\pm$ 1,2	Восприимчивый

С целью изучения изменчивости хозяйственно ценных признаков при селекции *in vitro* на устойчивость к антракнозу проведена оценка регенерантов, полученных от селекционных линий Л 957-8-7, Л 1506-8-6, Л 2053-5-11, Л 2053-6-10, Эр 130-3 (всего 21 регенерант) на искусственном инфекционно-провокационном фоне по устойчивости к антракнозу. Параллельно в питомнике 2-го этапа селекции проводилась их оценка по основным хозяйственно ценным признакам, таким как высота растений, длина стебля, число семян и коробочек на растении, содержание волокна.

Погодные условия 2021 г. в период вегетации льна были оптимальными и способствовали как хорошему развитию растений льна, так и проявлению антракноза. В результате анализа растений на инфекционном фоне выявлено, что новые формы, полученные при селекции *in vitro* из восприимчивых к антракнозу линий, по-разному проявляли чувствительность к патогену на искусственном инфекционно-провокационном

фоне. Проведенные исследования показали, что некоторые новые формы проявляли такую же восприимчивость, какой характеризовались исходные линии. Однако большинство полученных генотипов повысили устойчивость к болезни относительно исходной формы и характеризовались как средневосприимчивые и устойчивые с уровнем устойчивости более 50 % (табл. 3).

В первый год исследований наибольшую устойчивость к антракнозу (75 %) проявили регенеранты НЭ-36, НЭ-17-5, НЛ-103-1, полученные от линий Эр 130.3 и Л 957-8-7. Семь регенерантов (НЛ-40-2, НЭ-15, НЭ-17-2, НЭ-38, НЭ-17, НЭ-38-8) характеризовались как средневосприимчивые к антракнозу с уровнем устойчивости от 57 до 66,7 %. Для форм льна, проявивших в полевых условиях устойчивость к патогену более 50 %, характеристика «средневосприимчивый» считается допустимой при использовании формы в селекционном процессе как источника устойчивости.

Таблица 3

Характеристика регенерантов, полученных в результате селекции *in vitro*, по устойчивости к антракнозу
 Characteristics of regenerants obtained as a result of *in vitro* selection for resistance to anthracnose

Линия	Устойчивость, % $\pm$ Sp		
	2021 г.	2022 г.	2023 г.
НЛ-40-2	60 $\pm$ 1,7	63 $\pm$ 1,1	58 $\pm$ 2,1
НЭ-15	57 $\pm$ 2,2	39 $\pm$ 3,1	48 $\pm$ 2,7
НЭ-17-5	75 $\pm$ 2,1	24 $\pm$ 2,4	55 $\pm$ 2,4
НЭ-17-2	57 $\pm$ 3,2	34 $\pm$ 2,2	37 $\pm$ 2,8
НО-85	44 $\pm$ 4,4	51 $\pm$ 2,7	48 $\pm$ 3,1
НЭ-38	67 $\pm$ 2,1	63 $\pm$ 1,9	61 $\pm$ 2,4
НО-65	45 $\pm$ 2,8	55 $\pm$ 1,3	55 $\pm$ 2,1
НЭ-36	75 $\pm$ 1,4	48 $\pm$ 3,4	60 $\pm$ 2,1
НЭ-8	27 $\pm$ 1,3	29 $\pm$ 2,6	16 $\pm$ 1,9
НЭ-17	57 $\pm$ 2,2	57 $\pm$ 1,2	48 $\pm$ 1,9
НЭ-38-8	63 $\pm$ 4,1	60 $\pm$ 2,7	67 $\pm$ 3,1
НЛ-103-1	75 $\pm$ 2,4	63 $\pm$ 1,9	57 $\pm$ 1,7
НЭ-15-2	12 $\pm$ 2,1	19 $\pm$ 1,2	15 $\pm$ 1,6
НЭ-12	161,1	10 $\pm$ 2,1	16 $\pm$ 1,9
Леона, ст.	75 $\pm$ 1,7	69 $\pm$ 1,7	74 $\pm$ 1,7
Пенджаб, ст.	28 $\pm$ 1,7	19 $\pm$ 1,7	32 $\pm$ 1,7

Следующий год исследований характеризовался оптимальными погодными условиями для проявления антракноза: температурой воздуха 20–24 °С и большим количеством выпавших осадков в период всходов льна и до фазы «елочка». Поэтому в инфекционно-провокационном питомнике болезнь проявлялась в сильной степени. Даже у высокоустойчивого сорта-стандарта Леона показатель устойчивости снизился с 75 до 69,2 %. У большинства регенерантов в условиях 2022 г. устойчивость к патогену также снизилась, у некоторых – значительно, на 20 % и более (НЭ-17-5, НЭ-17-2, НЭ-36). У регенерантов НЛ-40-2, НО-85, НО-65, НЭ-15-2, НЛ-16, НЛ-8 устойчивость несколько повысилась – на 2–9 %, хотя по шкале устойчивости они по-прежнему характеризовались как восприимчивые.

Условия вегетации в 2023 г. были благоприятны для роста и развития растений льна, но не для развития антракноза. Дополнительный полив инфекционно-провокационного питомника способствовал снижению влияния

засушливых условий и, соответственно, проявлению болезни. Показатели устойчивости к антракнозу у полученных растений-регенерантов были на уровне 2021 г., однако 75%-й устойчивостью не характеризовался ни один регенерант. Устойчивость на уровне 57–62,5 % проявили в сложившихся условиях генотипы НЭ-36, НЛ-103-1, НЭ-38, НЛ-40-2.

Эти и некоторые другие регенеранты в 2023 г. оценивались в искусственных инфекционно-провокационных питомниках по устойчивости к нескольким болезням: фузариозному увяданию, ржавчине и пасмо. В результате исследований выявлено, что форма НЛ-40-2 кроме устойчивости к антракнозу (57,5–62,5% – оценивается как средневосприимчивая) проявила устойчивость к фузариозному увяданию на уровне 98,3 %. Это выше, чем у сорта-стандарта А-93 – на 4,8 % и на 12,6 % выше, чем у сорта-стандарта Альфа (табл. 4). К ржавчине и пасмо все исследованные линии были восприимчивы (устойчивость менее 25 %).

Таблица 4

Характеристика некоторых генотипов льна, полученных при селекции *in vitro* по устойчивости к комплексу болезней
Characteristics of some flax genotypes obtained by *in vitro* selection for resistance to a complex of diseases

Генотип	Устойчивость, % $\pm$ Sp					
	Антракноз			Фузариозное увядание	Ржавчина	Пасмо
	2021 г.	2022 г.	2023 г.	2023 г.		
НЛ 29-2	58 $\pm$ 1,5	63 $\pm$ 1,2	65 $\pm$ 1,3	42 $\pm$ 1,7	1 $\pm$ 0,7	25 $\pm$ 1,7
НЛ 40-2	60 $\pm$ 1,7	63 $\pm$ 1,1	58 $\pm$ 2,1	98 $\pm$ 1,7	1 $\pm$ 0,6	1 $\pm$ 0,7
НЛ 103-1	75 $\pm$ 2,4	63 $\pm$ 1,9	57 $\pm$ 1,7	54 $\pm$ 1,7	1 $\pm$ 0,3	1 $\pm$ 0,6
Стандарты						
Леона, ст.	75 $\pm$ 1,1	69 $\pm$ 1,3	74 $\pm$ 1,6			15 $\pm$ 1,7
Пенджаб, ст.	28 $\pm$ 1,2	19 $\pm$ 1,0	32 $\pm$ 1,5			8 $\pm$ 1,7
И-7, ст.			53 $\pm$ 1,7	29 $\pm$ 1,9		10 $\pm$ 1,7
А-93, ст.				93 $\pm$ 1,2		
Альфа, ст.		38 $\pm$ 1,1	45 $\pm$ 1,3	86 $\pm$ 1,4	98 $\pm$ 2,0	32 $\pm$ 1,7
Полесский, ст.4					1 $\pm$ 0,5	
Белинка, ст.	45 $\pm$ 1,1	49 $\pm$ 1,1	51 $\pm$ 1,3			68 $\pm$ 1,7

При оценке хозяйственно ценных признаков у выделенных линий было выявлено, что все они в основном несколько уступали исходным формам по показателям продуктивности. В то же время у ряда линий некоторые характеристики (масса технической части стебля, количество коробочек на одном растении, количество семян с одного растения) превосходили сорт-стандарт Альфа. Так, по массе стебля исходную форму не превосходил ни один регенерант. Тогда как сорт-стандарт Альфа по этому показателю превзошли НЛ-40-2 – на 7,9 %, НЛ-40-1 – на 6,5 % (табл. 5). По количеству коробочек на одном растении все регенеранты кроме НЛ-40-2 превзошли исходные формы на 5–20 %. В то же время все

регенеранты по этому признаку превосходили сорт-стандарт Альфа. По массе волокна с одного растения и по содержанию волокна все полученные регенеранты несколько уступали исходным формам и сорту-стандарту Альфа. Выделен регенерант НЭ-17, который на 11 % по содержанию волокна превосходил исходную форму Эр 130-3. Проведенные исследования позволили выделить регенеранты НЛ-40-2 и НЛ-40-1, полученные от линий Л 2053-6-10 и Л 2053-5-11 соответственно, которые по трем показателям – масса технической части стебля, количество коробочек на растении, количество семян с одного растения – превосходили сорт-стандарт Альфа.

Таблица 5

Характеристика регенерантов, полученных в результате селекции *in vitro*, по основным хозяйственно ценным признакам, 2022 г.
Characteristics of regenerants obtained as a result of *in vitro* selection, according to the main economically valuable traits, 2022

Генотип	Масса тех. части стебля, мг $\pm$ Sp	Кол-во коробочек на растении, шт. $\pm$ Sp	Кол-во семян с одного растения, шт. $\pm$ Sp	Масса волокна с одного растения, мг $\pm$ Sp	Содержание волокна, % $\pm$ Sp
1	2	3	4	5	6
НЛ-103-2	382 $\pm$ 14,1	4 $\pm$ 0,8	23 $\pm$ 2,6	202 $\pm$ 3,3	28 $\pm$ 1,0
в % к и.ф.*	96,4	120,0	128,8	94,6	95,9
в % к ст.**	99,4	103,3	104,8	99,8	98,0
НЛ-40-2	277 $\pm$ 12,3	2 $\pm$ 0,7	11 $\pm$ 2,2	179 $\pm$ 4,0	27 $\pm$ 1,2

1	2	3	4	5	6
в % к и.ф.	92,1	98,0	101,6	96,9	93,6
в % к ст.	107,9	105,0	104,2	97,1	99,5
НЛ-40-1	272±13,1	2±0,7	13±2,9	176±3,5	2±1,2
в % к и.ф.	97,9	105,0	104,2	97,1	99,5
в % к ст.	106,5	111,7	112,3	95,0	98,9
НЭ-38	286±4,3	3±0,9	19±6,5	173±2,9	26±0,7
в % к и.ф.	88,1	110,0	106,9	98,0	98,0
в % к ст.	89,5	106,7	104,6	98,3	99,0
НЭ-17	397±9,1	4±1,7	24±9,5	197±4,6	27±,7
в % к и.ф.	99,6	118,7	115,3	96,1	111,0
в % к ст.	99,1	105,3	106,3	99,3	97,6

Примечание: и.ф.* – исходная форма; ст.** – сорт-стандарт Альфа.

Новые генотипы льна НО-65, НЭ-38, НЭ-36, НЭ-16, полученные в результате селекции *in vitro*, дополнили коллекцию генофонда в качестве источников устойчивости к антракнозу. Выявлено, что эти линии в 2023 г. не уступали сорту-стандарту Альфа по основным параметрам продуктивности волокна: высоте растений, весу технической

части растения. Превышения составили 2–16,01 % и 16,56–48,84 % соответственно. При этом линия НЭ-38 не уступала сорту-стандарту по семенной продуктивности (количество коробочек на одном растении, количество семян на одном растении), а линия НО-65 превосходила стандарт на 35,3 % (табл. 6).

Таблица 6

Характеристика линий льна, полученных при селекции *in vitro* на устойчивость к антракнозу, по параметрам продуктивности, 2023 г.
Characteristics of flax lines obtained through *in vitro* selection for resistance to anthracnose, according to productivity parameters, 2023

Генотип	Устойчивость к антракнозу, %	Высота растений, см	Вес техн. части растения, мг	Кол-во коробочек на одном растении, шт.	Кол-во семян на одном растении, шт.	Масса волокна с одного растения, мг	Содержание волокна, %
Альфа-ст.		57*	260	5	39	73	28
		2,46**	57,96	1,30	11,19	16,95	1,53
		4,30***	22,28	28,79	28,79	23,15	5,47
НО-65	55	66*	387	6	53	103	27
		5,21**	121,80	2,36	21,88	31,56	1,25
		7,86***	31,46	41,02	41,62	30,62	4,67
НЭ-38	60,9	59*	257	4	39	65	25
		5,39**	78,55	1,52	14,07	18,62	1,25
		9,14***	30,51	35,51	36,40	28,83	4,93
НЭ-36	59,8	58*	303	4	32	80	26
		4,75**	113,53	1,49	13,08	31,09	0,99
		8,16***	37,44	40,29	41,17	38,65	3,76
НЭ-16	53,9	59*	234	3	28	62	26
		3,63**	50,75	1,13	11,01	14,32	1,74
		6,16***	21,69	37,61	38,95	23,23	6,62

Примечание. * – среднее значение, ** – среднее квадратическое отклонение, *** – коэффициент вариации (вариабельность).

Из созданных источников устойчивости к антракнозу в культуре *in vitro* наибольший интерес представляет линия НО-65, которая при устойчивости к антракнозу на уровне 55 % существенно превзошла сорт-стандарт Альфа практически по всем показателям продуктивности: по высоте растений на 16,0 %, по весу технической части растения на 48,8 %, по массе волокна на 40,8 %, по количеству коробочек на одном растении на 28 %, по количеству семян на одном растении на 35,3 %.

ВЫВОДЫ

1. В ходе исследований выявлены различия используемых штаммов возбудителя антракноза по морфологическим признакам. Установлено, что интенсивность спороношения и роста используемых штаммов не зависела от их вирулентности.

2. Выявлено, что на селективном фоне на основе незрелых зародышей формировались растения с различной степенью устойчивости. Были отмечены как устойчивые, так и средневосприимчивые – восприимчивые формы, сформированные на основе одного и того же генотипа.

3. Отмечено, что большинство регенерантов, полученных при селекции *in vitro* от восприим-

чивых к антракнозу генотипов, во вновь созданных селективных условиях характеризовались устойчивостью и средней восприимчивостью к культуральному фильтрату. Высказано предположение что формирование на селективном фоне в культуре незрелых зародышей льна-долгунца растений-регенерантов, отличных от исходных форм, вызвано возникновением спонтанного мутационного процесса, который, по-видимому, не всегда зависит от создания селективных условий.

4. В результате исследований из генотипов льна, восприимчивых к антракнозу, созданы новые, более устойчивые к патогену формы НО-65, НЭ-38, НЭ-36, НЭ-16, которые не уступали сорту-стандарту Альфа по основным параметрам продуктивности волокна: высоте растений, весу технической части растения.

5. Выделена линия НО-65, которая при устойчивости к антракнозу на уровне 55 % существенно превзошла сорт-стандарт Альфа практически по всем показателям продуктивности: по высоте растений на 16,0 %, по весу технической части растения на 48,8 %, по массе волокна на 40,8 %, по количеству коробочек на одном растении на 28 %, по количеству семян на 35,3 %.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Трабурова 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). – С. 79–84.
2. Рожмина Т.А., Янышина А.А. Изменчивость содержания волокна в стеблях у различных сортов льна-долгунца // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2023. – № 4 (24). – С. 562–571.
3. Новый раннеспелый сорт льна-долгунца Стриж для условий Северо-Запада России / А.Д. Степин, М.Н. Рысев, Т.А. Рысева, С.В. Уткина, Н.В. Романова // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2023. – 4 (24). – С. 572–580.
4. Dudarev I. A Review of Fibre Flax Harvesting: Conditions, Technologies, Processes and Machines // J. Nat. Fibers. – 2020. – P. 1–13.
5. Perspective on oil flax yield and dry biomass with reduced nitrogen supply / Q. Zhang, Y. Gao, B. Yan [et al.] // Oil Crop Sci. – 2020. – № 5 – P. 42–46.
6. Omer T.A., El-Borhamy A.M.A., Abd El-adek M.S. Effect of Harvesting rates and Seeding Rates on Yield and Yield Components of some Flax Varieties // J. Plant Prod. – 2020. – № 11. – P. 1501–1505.
7. Growth, yield and quality improvement of flax (*Linum usitatissimum* L.) grown under tarai region of Uttarakhand, India through integrated nutrient management practices / A. Kumar, B. Pramanick, B. Mahapatra [et al.] // Ind. Crop. Prod. – 2019. – № 140. – P. 111710.
8. Straw, Seed Yield and Quality of Three *Linum usitatissimum* L. Cultivars in Relation to Nitrogen Fertilizer Rate and Plant Density / E.-S.M. El Gedwy, G.Y.M. Hammam, S.A.H. Allam [et al.] // Asian J. Adv. Agric. Res. – 2020. – № 14. – P. 8–29.
9. Copper-induced oxidative stress, initiation of antioxidants and phytoremediation potential of flax (*Linum usitatissimum* L.) seedlings grown under the mixing of two different soils of China / M.H. Saleem, S. Fahad, S.U. Khan [et al.] // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2020. – № 27. – P. 5211–5221.
10. Миневич И.Э., Гончарова А.А., Уцяповский В.И. Влияние сортовой вариабельности на эффективность водной экстракции белка из нативных семян льна // Научный журнал НИУ ИТМО. Сер. Процессы и аппараты пищевых производств. – 2023. – № 1 (55). – С. 3–9.

11. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. Сорты растений (офиц. Изд.). – М., 2023. – 631 с.
12. Понажев В.П., Пролётова Н.В. Состояние и перспективы развития селекции и семеноводства льна-долгунца в Российской Федерации // Технические культуры. Научный сельскохозяйственный журнал. – 2023. – № 4 (10). – С. 30–38.
13. Mańkowska G., Mańkowski J. The Influence of Selected Habitat and Agronomic Factors on the Yield of Flax (*Linum usitatissimum* L.) // J. Nat. Fibers. – 2020. – P. 1–11.
14. Кудрявцева Л.П. Устойчивость сортов – важный элемент интегрированной защиты льна-долгунца от болезней // Аграрный вестник Урала. – 2021. – № 11 (214). – С. 36–44.
15. Пролётова Н.В. Селективная система *in vitro* «Гриб *Colletotrichum lini* – лен» – эффективный способ создания генотипов, устойчивых к антракнозу // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2019. – № 2. – С. 42–50.
16. Шуплецова 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). – С. 192–199.
17. Корж С.О., Дубина Е.В. Биотехнологические подходы в селекции томата на устойчивость к *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* // Достижения науки и техники АПК. – 2022. – № 36 (7). – С. 31–35.
18. Пролётова Н.В., Кудрявцева Л.П., Виноградова Е.Г. Способ получения регенерантов льна-долгунца, устойчивых к антракнозу, методами *in vitro* // пат. на изобретение RU 2478282 С2. – 2013. – 6 с.
19. Селекция и первичное семеноводство льна-долгунца: метод. указ. / В.П. Понажев, Л.Н. Павлова, Т.А. Рожмина [и др.]. – Тверь: Тверской гос. ун-т, 2014. – 140 с.

REFERENCES

1. Traburova E.A., Rozhmina T.A., *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*, 2022, No. 36 (3), pp. 79–84. (In Russ.)
2. Rozhmina T.A., Yanyshina A.A., *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*, 2023, No. 4 (24), pp. 562–571. (In Russ.)
3. Stepin A.D., Rysev M.N., Ryseva T.A., Ut-kina S.V., Romanova N.V., *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*, 2023, No. 4 (24), pp. 572–580. (In Russ.)
4. Dudarev I.A., Review of Fiber Flax Harvesting: Conditions, Technologies, Processes and Machines, *J. Nat. Fibers*, 2020, pp. 1–13.
5. Zhang Q., Gao Y., Yan B. [et al.], Perspective on oil flax yield and dry biomass with reduced nitrogen supply, *Oil Crop Sci.*, 2020, No. 5, pp. 42–46.
6. Omer T.A., El-Borhamy A.M.A., Abd El-adek M.S., Effect of Harvesting rates and Seeding Rates on Yield and Yield Components of some Flax Varieties, *J. Plant Prod.*, 2020, No. 11, pp. 1501–1505.
7. Kumar A., Pramanick B., Mahapatra B., Singh S., Shukla D., Growth, yield and quality improvement of flax (*Linum usitatissimum* L.) grown under tarai region of Uttarakhand, India through integrated nutrient management practices, *Ind. Crop. Prod.*, 2019, No. 140, pp. 111710.
8. El Gedwy E.-S.M., Hammam G.Y.M., Allam S.A.H., Mostafa S.H.A., Shimy K.S.S.E., Straw, Seed Yield and Quality of Three *Linum usitatissimum* L. Cultivars in Relation to Nitrogen Fertilizer Rate and Plant Density, *Asian J. Adv. Agric. Res.*, 2020, No. 14, pp. 8–29.
9. Saleem M.H., Fahad S., Khan S.U. [et al.] Copper-induced oxidative stress, initiation of antioxidants and phytoremediation potential of flax (*Linum usitatissimum* L.) seed-lings grown under the mixing of two different soils of China, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2020, No. 27, pp. 5211–5221.
10. Minevich I.E., Goncharova A.A., Ushchapovsky V.I., *Nauchnyy zhurnal NIU ITMO. Ser. Protsessy i apparaty pishchevykh proizvodstv*, 2023, No. 1 (55), pp. 3–9. (In Russ.)
11. *Gosudarstvennyy reestr selektsionnykh dostizheniy, dopushchennykh k ispol'zovaniyu. T. 1. Sorta rasteniy* (State register of selection achievements approved for use. V. 1. Plant varieties), Moscow, 2023, 631 p.
12. Ponahev V.P., Proletova N.V., *Tekhnicheskie kul'tury. Nauchnyy sel'skokhozyaystvennyy zhurnal*, 2023, No. 4 (10), pp. 30–38. (In Russ.)
13. Mańkowska G., Mańkowski J., The Influence of Selected Habitat and Agronomic Factors on the Yield of Flax (*Linum usitatissimum* L.), *J. Nat. Fibers*, 2020, pp. 1–11.
14. Kudryavtseva L.P., *Agrarnyy vestnik Urala*, 2021, No. 11 (214), pp. 36–44. (In Russ.)
15. Proletova N.V., *Vestnik NGAU (Novosibirskiy gosudarstvennyy agrarnyy universitet)*, 2019, No. 2, pp. 42–50. (In Russ.)
16. Shupletsova O.N., Oгородnikova S.Yu., Nazarova Ya.I., *Trudy po prikladnoy botanike, genetike i selektsii*, 2020, No. 181 (4), pp. 192–199. (In Russ.)
17. Korzh, S.O., Dubina E.V., *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*, 2022, No. 36 (7), pp. 31–35. (In Russ.)

18. Proletova N.V., Kudryavtseva L.P., Vinogradova E.G., Method for obtaining fiber flax regenerants resistant to antracnose using *in vitro* methods, *Patent for invention RU 2478282 C2*, 2013, 6 p. (In Russ.)
19. Ponazhev V.P., Pavlova L.N., Rozhmina T.A. [et al.], *Selektsiya i pervichnoe semenovodstvo l'na-dolguntsa* (Selection and primary seed production of fiber flax), Tver: Tver State. univ., 2014, 140 p.

Информация об авторах:

Н.В. Пролётова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
В.С. Зотова, аспирант

Contribution of the authors:

N.V. Prolyotova, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
V.S. Zotova, Postgraduate Student

Вклад авторов:

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.