

Разнообразие форм льна, полученных при селекции *in vitro* на устойчивость к антракнозу (*Colletotrichum lini*)

Н. В. Пролётова[✉], кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

В. С. Зотова, аспирант

ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур»

172002, РФ, Тверь, Комсомольский проспект, 17/56,

[✉]science.trk@fncl.ru

Резюме. Исследования проводили в 2021-2023 гг. на базе лаборатории селекционных технологий ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур» (Тверская область). Осуществляли создание *in vitro* новых генотипов льна, устойчивых к культуральному фильтрату возбудителя антракноза (*Colletotrichum lini*). В ходе исследований выявлены различия используемых штаммов возбудителя антракноза по морфологическим признакам. Интенсивность спороношения и роста используемых штаммов не зависела от их вирулентности. 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. 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. 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. Выделена линия НО-65, которая при устойчивости к антракнозу на уровне 55 % существенно превзошла сорт-стандарт Альфа практически по всем показателям продуктивности: высоте растений – на 16,0 %, весу технической части растения – на 48,8 %, массе волокна – на 40,8 %, количеству коробочек на 1 растении – на 28 % и количеству семян – на 35,3 %.

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

Для цитирования: Пролётова 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 (68). С. 41-49. doi:10.18286/1816-4501-2024-4-41-49

Diversity of flax forms obtained by *in vitro* selection for resistance to anthracnose (*Colletotrichum lini*)

N. V. Proletova[✉], V. S. Zotova

FSBEI HE Federal Scientific Center of Bast Crops

172002, Tver, Komsomolsky Ave., 17/56, [✉]science.trk@fncl.ru

Abstract. The studies were carried out in 2021-2023 at the laboratory of breeding technologies of the Federal Scientific Center for Bast Crops (Tver Region). New flax genotypes resistant to the culture filtrate of the anthracnose pathogen (*Colletotrichum lini*) were created *in vitro*. The studies revealed differences in the used strains of the anthracnose pathogen by morphological features. The intensity of sporulation and growth of the used strains did not depend on their virulence. Plants with varying degrees of resistance were formed on a selective background based on immature embryos. Both resistant and moderately susceptible forms were noted - susceptible forms formed on the basis of the same genotype. Most regenerants obtained by *in vitro* selection from genotypes susceptible to anthracnose were characterized by resistance and moderate susceptibility to the culture filtrate under newly created selective conditions. It was suggested that formation of the regenerated plants different from the original forms on a selective background in the culture of immature flax embryos is caused by a spontaneous mutation process, which apparently does not always depend on selective conditions. Among the flax genotypes susceptible to anthracnose, new, more pathogen-resistant forms NO-65, NE-38, NE-36, NE-16 were created, which were not inferior to the standard variety Alpha in the main parameters of fiber productivity - plant height, weight of the technical part of the plant. The NO-65 line was selected, which, with anthracnose resistance at the level of 55%, significantly surpassed the Alpha standard variety in almost all productivity parameters: plant height - by 16.0%, weight of the technical part of the plant - by 48.8%, fiber mass - by 40.8%, the number of capsules per 1 plant - by 28% and the number of seeds - by 35.3%.

Keywords: flax, nutrient medium, culture filtrate, strain, pathogen, resistance, selection, regenerant, infection-provocative nursery, breeding nursery

For citation: Proletova N. V., Zotova V. S. Diversity of flax forms obtained by *in vitro* selection for resistance to anthracnose (*Colletotrichum lini*) // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2024;4(68): 41-49 doi:10.18286/1816-4501-2024-4-41-49

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

Введение

Лен-долгунец – одна из культур, продукция которых широко востребована в производстве. Изделия из льняного волокна всегда имели большую ценность за свою прочность и экологичность. На сегодняшний день в волокне нуждаются лёгкая, тяжёлая и оборонная промышленности, а в масле – пищевая, фармацевтическая, лакокрасочная как в России [1, 2, 3], так и за рубежом [4]. Трудно переоценить лён как источник линоленовой кислоты. В семенах льна Омега-3 или α -линоленовая кислота в трёхкратном размере превышает содержание её в рыбе [5, 6, 7]. В постоянно изменяющихся условиях окружающей среды роль сорта приобретает решающее значение. Лён-долгунец представлен в Государственном реестре селекционных достижений 72 сортами [8]. За последние 8 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 году достигла 82 %. Однако, не все возделываемые сорта полностью отвечают ежегодно возрастающим требованиям сельхозтоваропроизводителей [1, 2, 9]. 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, 10, 11].

Селекционный процесс создания новых, устойчивых к наиболее опасным болезням сортов льна-долгунца многолетний и достаточно трудоёмкий. Использование биотехнологических приёмов, направленных на получение новых, устойчивых к патогенам генотипов льна, позволяет сократить сроки селекционного процесса на устойчивость и создавать новые линии за 1...2 года [12, 13, 14].

Цель исследований – создание биотехнологическими методами новых источников устойчивости льна к антракнозу (*Colletotrichum lini*).

Материалы и методы

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 Пролётовой, Виноградовой, Кудрявцевой [15].

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, средневирulentный – 780, слабовирulentный – 788.

В качестве селективного агента для селекции *in vitro* использовали культуральный фильтрат штаммов возбудителя антракноза, который готовили путём фильтрования жидкости, образующейся в результате жизнедеятельности грибов штаммов 780, 794, 788, 793. Кусочки мицелия размером 1 см² помещали на поверхность жидкой питательной среды MS (табл. 1), которая для выращивания грибов была модифицирована и не содержала витамины и регуляторы роста.

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 суток 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 сутки после опыления, стерилизация и культивирование их на селективной среде, которая состояла из компонентов питательной среды MS 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;
- получение побегов и растений-регенерантов льна;

- 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*;
- оценка растений-регенерантов по устойчивости к антракнозу на инфекционно-провокационном фоне в полевых условиях;
- оценка растений-регенерантов по основным хозяйственно-ценным признакам в селекционном питомнике второго этапа в полевых условиях.

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 (*Селекция и первичное семеноводство льна-долгунца: методические указания* / В. П. Понажев, Л.Н. Павлова, Т.А. Рожмина и др. // Тверь: Тверской гос. ун-т. 2014.

140 с.), 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)

Для получения гипокотилей семена исследуемых форм льна помещали в пробирки на фильтровальную бумагу, смоченную 1 %-ным раствором сахарозы и выращивали до появления семядольных листочков. В зависимости от генотипа этот период составлял 8...10 суток. Гипокотили разрезали на сегменты размером 5...8 мм и культивировали в селективных условиях в течение 14 суток. 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 путем расчета среднего значения признака, среднеквадратичного отклонения, вариативности.

Таблица 1. Состав питательных сред, используемых в эксперименте

Наименование вещества	Количество вещества, мг/л	
	Среда MS для клеток и тканей льна	Среда MS для грибов
NH ₄ NO ₃	1650	1650
KNO ₃	1900	1900
KH ₂ PO ₄	170	170
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	370	370
MnSO ₄ x 4 H ₂ O	33,6	33,6
H ₃ BO ₃	62	62
ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	15,0	15,0
KJ	0,83	0,83
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,025	0,025
Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,5	0,5
CoCl ₂ x 6 H ₂ O	0,025	0,025
FeSO ₄ x 7 H ₂ O	27,8	27,8
Na ₂ EDTA x H ₂ 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-нафтилуксусная кислота	0,05	-
Сахароза	30000	30000
Агар	7000	-
pH	5,6-5,8	5,6-5,8

Результаты

Результаты наблюдения за ростом и развитием мицелиев гриба показали, что в течение роста патогена интенсивность спороношения в зависимости от

штамма составляла 14,4...45,6 тыс. спор в 1 мл. 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 (рис. 1). 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 мл). Штаммы 793, 784 и 780 были умеренно растущие с высокой интенсивностью спороношения (34,2; 45,6; 32,8 тыс. спор в 1 мл, соответственно). Интенсивность спороношения и роста используемых штаммов не зависела от их вирулентности.

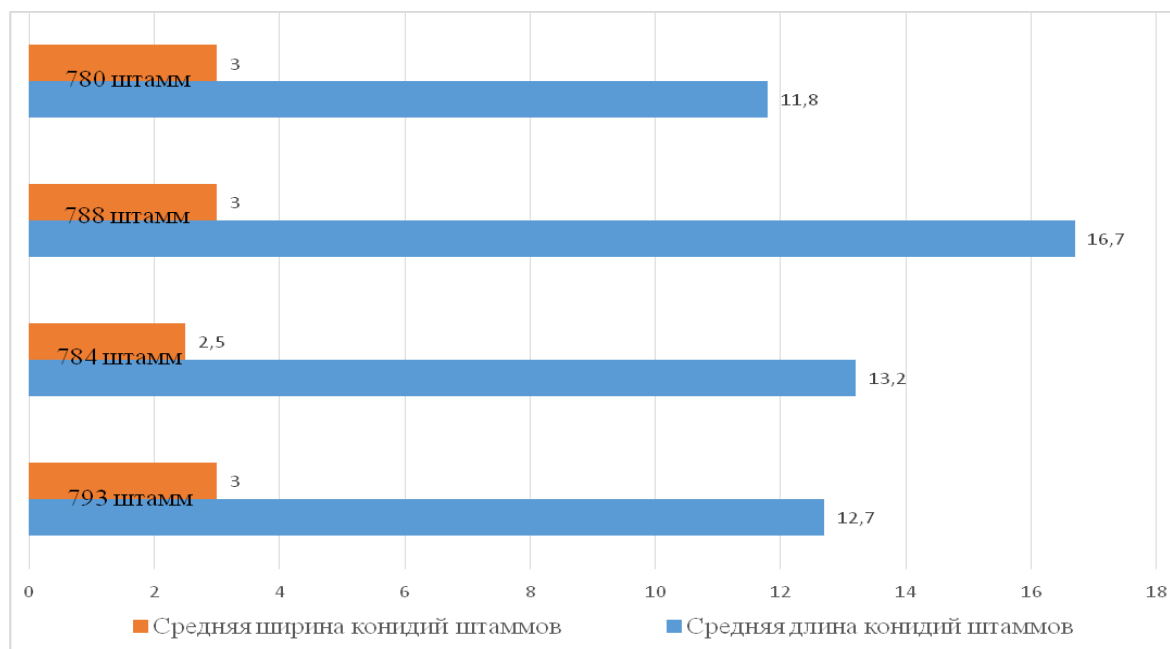


Рис. 1. Средняя длина (нм) и ширина (нм) конидий используемых штаммов гриба – возбудителя антракноза льна

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, устойчивые 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.

Для оценки регенерантов на устойчивость к антракнозу в условиях *in vitro* вначале получали морфогенный каллус на основе гипокотильных сегментов, полученных от гипокотилей проростков семян потомств 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 и характеристика регенеранта по шкале соответствовала критерию «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 сформировалось 71 % морфогенных каллусов, и характеристика регенеранта по шкале соответствовала критерию «устойчивый».

Большинство регенерантов, полученных при селекции *in vitro* из восприимчивых к антракнозу генотипов, во вновь созданных селективных условиях характеризовались устойчивостью и средней восприимчивостью к культуральному фильтрату. По всей вероятности, на селективном фоне в культуре

незрелых зародышей льна-долгунца у растений-регенерантов рецессивный признак восприимчивости к антракнозу после селективного фона не исчезал, а только подавлялся и проявлялся во втором поколении. Также формирование в селективных условиях

клеток, отличных от клеток исходных регенерантов, вызвано возникновением спонтанного мутационного процесса, который, по-видимому, не всегда зависил 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*

Регенерант	Количество сформированного морфогенного каллуса, %± Sp	Характеристика по устойчивости к антракнозу
НЛ-40-1	48,0±1,1	восприимчивый
НЛ-40-2	71,0±1,0	устойчивый
НЭ-12	22,0±1,3	сильновосприимчивый
НЭ-38	70,1±0,9	устойчивый
НЭ-36	71,0±0,8	устойчивый
НЭ-17	52,1±1,1	средневосприимчивый
НО-85	39,1±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 селекционном питомнике 2 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).

Таблица 3. Характеристика регенерантов, полученных в результате селекции *in vitro*, по устойчивости к антракнозу

Линия	Устойчивость, % ± Sp		
	2021 год	2022 год	2023 год
НЛ-40-2	59,6±1,7	62,5±1,1	57,5±2,1
НЭ-15	57±2,2	39,2±3,1	48,3±2,7
НЭ-17-5	75±2,1	23,6±2,4	54,6±2,4
НЭ-17-2	57±3,2	34±2,2	36,6±2,8
НО-85	43,7±4,4	51±2,7	48,3±3,1
НЭ-38	66,7±2,1	62,5±1,9	60,9±2,4
НО-65	45±2,8	54,6±1,3	55±2,1
НЭ-36	75±1,4	48,3±3,4	59,8±2,1
НЭ-8	26,7±1,3	28,5±2,6	16,3±1,9
НЭ-17	57±2,2	57,1±1,2	48,3±1,9
НЭ-38-8	62,5±4,1	60±2,7	66,7±3,1
НЛ-103-1	75,0±2,4	62,5±1,9	57,2±1,7
НЭ-15-2	12,3±2,1	18,6±1,2	15,3±1,6
НЭ-12	16,3±1,1	10,3±2,1	16,3±1,9
Леона, ст.	75,0±1,7	69,2±1,7	73,9±1,7
Пенджаб, ст.	28,3±1,7	19,2±1,7	32,3±1,7

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.

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 «ёлочка». Поэтому в инфекционно-провокационном питомнике

4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки)

болезнь проявлялась в сильной степени, и 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, НП-16, НП-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 % – ной

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. оценивали 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 % – выше, чем у сорта-стандарта А-93 – на 4,8 %, на 12,6 % – 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

Генотип	Устойчивость, %± Sp					
	антракноз			фузариозное увядание	ржавчина	пасмо
	2021 г.	2022 г.	2023 г.		2023 г.	
НЛ 29-2	58,4±1,5	62,5±1,2	64,7±1,3	41,7±1,7	0,3±0,7	25,0±1,7
НЛ 40-2	59,6±1,7	62,5±1,1	57,5±2,1	98,3±1,7	0,4±0,6	0,3±0,7
НЛ 103-1	75,0±2,4	62,5±1,9	57,2±1,7	54,2±1,7	0,7±0,3	0,4±0,6
Стандарты:						
Леона, ст.	75,0±1,1	69,2±1,3	73,9±1,6			15,4±1,7
Пенджаб, ст.	28,3±1,2	19,2±1,0	32,3±1,5			8,3±1,7
И-7, ст.			53,0±1,7	29,1±1,9		10,0±1,7
А-93, ст.				93,1±1,2		
Альфа, ст.		37,5±1,1	44,9±1,3	85,7±1,4	98,0±2,0	31,5±1,7
Полесский, ст.4					0,5±0,5	
Белинка, ст.	45,0±1,1	48,5±1,1	51,4±1,3			67,6±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 1 растении, количество семян с 1 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. Проведённые 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 трём показателям – масса технической части стебля, количество

коробочек на растении, количество семян с одного растения превосходили сорт-стандарт Альфа.

Новые генотипы льна НО-65, НЭ-38, НЭ-36, НЭ-16, полученные в результате селекции *in vitro*,полнили 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 1 растении, количество семян на 1 растении), а линия НО-65 – превосходила стандарт на 35,3 % (табл. 6).

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 стандарт – сорт Альфа практически по всем показателям продуктивности: высоте растений (на 16,0 %), весу технической части растения (на 48,8 %), массе волокна (на 40,8 %), количеству коробочек на 1 растении (на 28 %) и количеству семян на 1 растении (на 35,3 %).

Таблица 5. Характеристика регенерантов, полученных в результате селекции *in vitro*, по основным хозяйственно-ценным признакам, 2022 г.

Генотип	Масса тех. части стебля, мг $\pm$ Sp	Количество коробочек на растении, шт. $\pm$ Sp	Количество семян с 1 растения, шт. $\pm$ Sp	Масса волокна с 1 растения, мг $\pm$ Sp	Содержание волокна % $\pm$ Sp
НЛ-103-2	382,8 $\pm$ 14,1	3,8 $\pm$ 0,8	22,7 $\pm$ 2,6	202,2 $\pm$ 3,3	27,7 $\pm$ 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	277,1 $\pm$ 12,3	2,1 $\pm$ 0,7	10,8 $\pm$ 2,2	179,1 $\pm$ 4,0	26,5 $\pm$ 1,2
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	272,3 $\pm$ 13,1	1,7 $\pm$ 0,7	11,3 $\pm$ 2,9	176,3 $\pm$ 3,5	25,3 $\pm$ 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	286,2 $\pm$ 4,3	2,8 $\pm$ 0,9	18,8 $\pm$ 6,5	173,2 $\pm$ 2,9	25,7 $\pm$ 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	397,4 $\pm$ 9,1	3,8 $\pm$ 1,7	24,0 $\pm$ 9,5	197,4 $\pm$ 4,6	27,2 $\pm$,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

Таблица 6. Характеристика линий льна, полученных при селекции *in vitro* на устойчивость к антракнозу, по параметрам продуктивности, 2023 г.

Генотип	Устойчивость к антракнозу, %	Высота растений, см	Вес техн. части растения, мг	Количество коробочек на 1 растении, шт.	Количество семян на 1 растении, шт.	Масса волокна с 1 растения, мг	Содержание волокна, %
Альфа-ст.		57,14*	260,14	4,50	38,86	73,21	28,32
		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	66,29	387,18	5,76	52,59	103,06	26,75
		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	59,00	257,41	4,29	38,65	64,59	25,29
		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	58,27	303,23	3,69	31,77	80,46	26,48
		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	58,82	234,00	3,00	28,27	61,64	26,30
		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, ** среднеквадратичное отклонение, *** вариабельность

Обсуждение

Лён-долгунец считается стратегической культурой. Льнопродукция находит широкое применение в различных отраслях экономики, в том числе при производстве тканей, красок, медицинской ваты, пороха и др. [1, 2, 3]. Проявление заболеваний на посевах льна влечёт за собой снижение урожайности культуры. Ухудшается качество льноволокна, полученного из пораженной льнотресты, а зараженные семена снижают всхожесть и заложенный биологический потенциал [1, 2, 11], поэтому создание новых сортов льна, устойчивых к болезням с использованием методов селекции, в том числе биотехнологических приемов, является актуальным направлением исследований. А поскольку такое заболевание как антракноз льна (*Colletotrichum lini*) проявляется в посевах ежегодно, то селекция *in vitro* на устойчивость к этому патогену перспективна. В результате исследований из генотипов льна, восприимчивых к антракнозу, созданы новые более

устойчивые к патогену формы. Эти линии пополнили генетическую коллекцию и могут использоваться в селекционном процессе как источники устойчивости к антракнозу.

Заключение

В ходе исследований выявлены различия используемых штаммов возбудителя антракноза по морфологическим признакам. Интенсивность спороношения и роста используемых штаммов не зависела от их вирулентности. 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. 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 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. Выделена линия НО-65, которая при устойчивости к антракнозу на уровне 55 % существенно превзошла сорт-стандарт Альфа практически по всем показателям продуктивности: высоте растений – на 16,0 %, весу технической части растения – на 48,8 %, массе волокна – на 40,8 %, количеству коробочек на 1 растении – на 28 % и количеству семян – на 35,3 %.

Литература

1. 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.
2. Новый раннеспелый сорт льна-долгунца Стриж для условий Северо-Запада России / А. Д. Степин, М. Н. Рысев, Т. А. Рысева и др. // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2023. № 4 (24). С. 572-580.
3. 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.
4. Dudarev I. A. Review of Fibre Flax Harvesting: Conditions, Technologies, Processes and Machines // J. Nat. Fibers. 2020. Vol. 1. P.13.
5. 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. Vol. 14. P. 8-29.
6. 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. Vol. 27. P. 5211-221.
7. Миневич И. Э., Гончарова А. А., Ушаповский В. И. Влияние сортовой вариативности на эффективность водной экстракции белка из нативных семян льна // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. 2023. № 1 (55). С. 3-9.
8. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. Сорта растений (официальное издание). М. ФГБНУ «Росинформагротех». 2023. 631 с.
9. 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.
10. Mańkowska G., Mańkowski J. The Influence of Selected Habitat and Agronomic Factors on the Yield of Flax (*Linum usitatissimum* L.) // J. Nat. Fibers. 2020. Vol. 1. P.11.
11. Кудрявцева Л. П. Устойчивость сортов – важный элемент интегрированной защиты льна-долгунца от болезней // Аграрный вестник Урала. 2021. № 11 (214). С. 36-44.
12. Пролётова Н. В. Влияние минерального состава селективной среды на морфогенез льна в культуре *in vitro* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2022. № 2 (58). С.87-93.
13. 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.
14. Пролётова Н. В., Кудрявцева Л. П., Виноградова Е. Г. Способ получения регенерантов льна-долгунца, устойчивых к антракнозу, методами *in vitro* // Патент на изобретение RU 2478282 C2. 2013. 6 с.
15. 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.

References

1. Rozhmina, T.A., Yanyshina A.A. Variability of fiber content in stems of different varieties of fiber flax // Agrarian Science of the Euro-North-East. 2023. No. 4 (24). P. 562-571.
2. New early-ripening flax variety Strizh for the conditions of the North-West of Russia / A. D. Stepin, M. N. Rysev, T. A. Ryseva, et al. // Agrarian science of the Euro-North-East. 2023. No. 4 (24). P. 572-580.
3. Traburova E. A., Rozhmina T. A. Results of the study of collection samples of fiber flax in the Central region of the Non-Black Soil Zone of Russia // Achievements of science and technology of the agro-industrial complex. 2022. No. 36 (3). P. 79-84.
4. Dudarev I. A. Review of Fiber Flax Harvesting: Conditions, Technologies, Processes and Machines // J. Nat. Fibers. 2020. Vol. 1. P.13.
5. 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. Vol. 14. P. 8-29.

6. 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. Vol. 27. P. 5211-221.
7. Minevich I. E., Goncharova A. A., Ushchapovsky V. I. Influence of varietal variability on the efficiency of aqueous extraction of protein from native flax seeds // Scientific journal of NRU ITMO. Series: Processes and equipment for food production. 2023. No. 1 (55). P. 3-9.
8. State register of selection achievements approved for use. V. 1. Plant varieties (official publication). Moscow FSBSI "Rosinformagrotech". 2023. 631 p.
9. Ponazhev V. P., Proletova N. V. State and prospects for development of selection and seed production of fiber flax in the Russian Federation // Technical crops. Scientific agricultural journal. 2023. No. 4 (10). P. 30-38.
10. Mańkowska G., Mańkowski J. The Influence of Selected Habitat and Agronomic Factors on the Yield of Flax (*Linum usitatissimum* L.) // J. Nat. Fibers. 2020. Vol. 1. P.11.
11. Kudryavtseva L. P. Resistance of varieties is an important element of integrated protection of fiber flax from diseases // Agrarian Vestnik of the Urals. 2021. No. 11 (214). P. 36-44.
12. Proletova N. V. Influence of mineral composition of the selective medium on flax morphogenesis in vitro culture // Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy. 2022. No. 2 (58). P.87-93.
13. Shupletsova O. N., Ogorodnikova S. Yu., Nazarova Ya. I. Effects of non-specific resistance of barley genotypes obtained by cell selection // Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020. No. 181 (4). P. 192-199.
14. Proletova N. V., Kudryavtseva L. P., Vinogradova E. G. Method for obtaining flax regenerants resistant to anthracnose using in vitro methods // Patent for invention RU 2478282 C2. 2013. 6 p.
15. Korzh S. O., Dubina E. V. Biotechnological approaches in tomato breeding for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* // Achievements of science and technology in the agro-industrial complex. 2022. No. 36 (7). P. 31-35.