

TECHNICAL CROPS  
SCIENTIFIC AGRICULTURAL JOURNAL

ТЕХНИЧЕСКИЕ КУЛЬТУРЫ  
НАУЧНЫЙ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЙ  
ЖУРНАЛ

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ  
ОСНОВАН В 2021 ГОДУ

2021(2)

СВИТ@К  
ИЗДАТЕЛЬСТВО

Смоленск  
2021

**Редакционная коллегия:**

Главный редактор – Ростовцев Р.А., д-р техн. наук, профессор РАН;  
зам. главного редактора – Ущиповский И.В., канд. биол. наук, доцент;  
зам. главного редактора – Кольцов Д.Н., канд. с.-х. наук, доцент;  
ответственный секретарь – Гаврилова А.Ю., канд. биол. наук;  
Черников В.Г., д-р техн. наук, профессор, чл.-корр. РАН; Сорокина О.Ю., д-р с.-х. наук, профессор;  
Рожмина Т.А., д-р биол. наук; Тимошкин О.А., д-р с.-х. наук, доцент; Серков В.А., д-р с.-х. наук;  
Прахова Т.Я., д-р с.-х. наук; Шардан С.К., д-р экон. наук, доцент; Самсонова Н.Е., д-р с.-х. наук;  
Романова И.Н., д-р с.-х. наук; Юрина Н.А., д-р с.-х. наук; Рагошный А.Н., д-р с.-х. наук, профессор;  
Осепчук Д.В., д-р с.-х. наук; Никифоров А.Г., д-р техн. наук

Т 33 **ТЕХНИЧЕСКИЕ КУЛЬТУРЫ. НАУЧНЫЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ.** Основан в 2021 году. 2021(2). – Смоленск: Свиток, 2021. – 48 с.

ISSN 2782-2915

ББК 42

## СОДЕРЖАНИЕ

### СЕЛЕКЦИЯ, СЕМЕНОВОДСТВО И АГРОНОМИЯ ТЕХНИЧЕСКИХ И СЕВООБОРОТНЫХ КУЛЬТУР

- Прахова Т.Я.** Оценка коллекционных образцов озимого рыжика по продуктивности и адаптивности . . . . . 4
- Пролетова Н.В., Кудрявцева Л.П.** Оптимизация селективных сред in vitro для отбора устойчивых к антракнозу клеток льна. . . . . 11
- Степин А.Д., Рысев М.Н., Рысева Т.А., Уткина С.В., Романова Н.В.** Комплексная оценка нового сорта льна-долгунца Шанс псковской селекции по основным хозяйственно ценным признакам . . . . . 19
- Трабурова Е.А., Рожмина Т.А.** Анализ адаптивного потенциала современных сортов льна-долгунца в условиях Центрального региона России . . . . . 29
- Шайкова Т.В., Баева В.С., Кузьмина Т.Е.** Новый сорт и перспективные сортообразцы питомников козлятника восточного . . . . . 35

### ТЕХНИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА И ТЕХНОЛОГИИ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ, ПЕРВИЧНОЙ И ГЛУБОКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

- Терентьев С.Е., Лабутина Н.В., Романова И.Н.** Использование технологий глубокой заморозки при производстве хлебобулочных изделий . . . . . 43

## ОПТИМИЗАЦИЯ СЕЛЕКТИВНЫХ СРЕД *IN VITRO* ДЛЯ ОТБОРА УСТОЙЧИВЫХ К АНТРАКНОЗУ КЛЕТОК ЛЬНА

© 2021. Н. В. Пролётова, Л. П. Кудрявцева

Федеральный научный центр лубяных культур  
г. Тверь, Российская Федерация

*Цель исследований – оптимизация селективных сред для проведения отбора *in vitro* каллусных клеток льна, устойчивых к культуральному фильтрату штаммов возбудителя антракноза и создание *in vitro* новых генотипов, устойчивых к болезни. В результате исследований уточнен состав культурального фильтрата штаммов антракноза. Выявлено, что токсичность культуральных фильтратов не зависела от вирулентности используемых штаммов – более токсичными оказались культуральные фильтраты штаммов 784 (сильновирулентного) и 780 (средневирулентного) (загнивание и отмирание первичных корешков на 5 сутки наблюдали у 67 – 88% проросших семян), менее токсичны – штаммы 793 (сильновирулентный) и 788 (слабовирулентный) (на 5 сутки загнивание и отмирание первичных корешков отмечено у 9 – 15% проросших семян). Установлено, что морфогенные очаги формировались активнее у генотипов, морфогенный каллус которых переносили на среду с аналогичной или более высокой концентрацией культурального фильтрата. Показано, что на 14 сутки во втором пассаже с большей частотой формировались морфогенные каллусы, почки и побеги при использовании в первом и втором пассажах селективной среды, содержащей культуральный фильтрат в концентрации 40 мл/л, или в первом пассаже – 40 мл/л, а во втором – 44 мл/л. Выделены генотипы, сохраняющие устойчивость к антракнозу в течение трёх поколений на уровне 50 – 60%: НО-78 х Ленок, НЛ-103-2 х Ленок, НЛ-40-1 х Ленок, НЭ-38 х Росинка, НЭ-36 х Ленок, НЭ-17 х Ленок, НЭ-16-2 х Росинка.*

**Ключевые слова:** лен (*Linum usitatissimum* L.), антракноз, устойчивость, штамм, культуральный фильтрат, незрелый зародыш, каллусные клетки.

**Благодарности:** работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур» (тема № АААА-А19-119032590050-1).

**Для цитирования:** Пролетова Н.В., Кудрявцева Л.П. Оптимизация селективных сред *in vitro* для отбора устойчивых к антракнозу клеток льна. Технические культуры. Научный сельскохозяйственный журнал. 2021; 2: (11-18). DOI: 10.54016/SVITOK.2021.17.37.002

Поступила: 1.10.2021. Принята к публикации: 18.10.2021. Опубликовано: 25.12.2021.

## OPTIMIZATION OF *IN VITRO* SELECTIVE MEDIA FOR SELECTING ANTHRACNOSIS-RESISTANT FLAX CELLS

© 2021. Natalya V. Proletova, Ludmila P. Kudryavtseva,

Federal Research Center for Bast Fiber Crops  
Tver, Russia Federation

*Research objective – optimization of selective media for *in vitro* selection of flax callus cells resistant to culture filtrate of anthracnose pathogen strains and *in vitro* creation of new disease-resistant genotypes. As a result of the research, the composition of the culture filtrate of anthracnose strains was clarified. It was revealed that the toxicity of cultural filtrates did not depend on the virulence of the strains used - cultural filtrates of strains 784 (highly virulent) and 780 (medium virulent) turned out to be more toxic (decay and death of primary roots on day 5 was observed in 67 - 88% of germinated seeds), less toxic - strains 793*

(strongly virulent) and 788 (weakly virulent) (on the 5th day, decay and death of primary roots was noted in 9-15% of germinated seeds). It was found that morphogenic foci were formed more actively in genotypes, the morphogenic callus of which was transferred to a medium with a similar or higher concentration of the culture filtrate. It was shown that on the 14th day in the second passage, morphogenic callus, buds and shoots were formed with a greater frequency when using in the first and second passages a selective medium containing a culture filtrate at a concentration of 40 ml/l, or in the first passage - 40 ml/l, and in the second - 44 ml/l. Genotypes were identified that retain resistance to anthracnose for three generations at a level of 50 - 60%: NO-78 x Lenok, HJI-103-2 x Lenok, NL-40-1 x Lenok, NE-38 x Rosinka, NE-36 x Lenok, NE-17 x Lenok, NE-16-2 x Rosinka.

**Keywords:** flax, (*Linum usitatissimum* L.), anthracnose, resistance, strain, culture filtrate, immature embryo, callus cells.

**Acknowledgements:** the work was carried out with the support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the framework of the State Task of the Federal State Budget Research Institution – Federal Research Center for Bast Fiber Crops (topic No. AAAA-A19-119032590050-1).

**For citations:** Proletova N.V., Kudryavtseva L.P. Optimization of *in vitro* selective media for selecting anthracnose-resistant flax cells. Technical crops. Scientific agricultural journal. 2021; 2: (11-18). DOI: 10.54016/SVITOK.2021.17.37.002

Received: 1.10.2021. Accepted for publication: 18.10.2021. Published online: 25.12.2021.

**Введение.** Лен культурный (*Linum usitatissimum* L.,  $2n=2x=30$ ) – одна из важнейших технических культур, возделываемая человеком в течение нескольких тысячелетий и, на сегодняшний день, стратегическая культура России. Актуальным направлением селекционной работы является создание сортов льна, сочетающих высокую урожайность с устойчивостью к наиболее вредоносным болезням. Антракноз является одной из них и проявляется ежегодно и, по данным Адушкевич (2000), Рожминой, Павловой, Понажева, Захаровой (2018) отмечается на 48,9% обследованных площадей с поражением 5-65% растений и развитием болезни от 1 до 19% [1, 2, 15]. Урожайность волокна при сильном поражении льна антракнозом может снижаться до 37,5%. Полученные от больных растений семена могут быть заражены антракнозом на 80% и более [2, 5, 16]. Успех селекционной работы на устойчивость к болезням зависит от многих причин, в частности, от исходного селекционного материала, обладающего этой устойчивостью [17, 19]. Применение биотехнологических приемов и методов, как дополнительного инструмента классической селекции, с использованием генетического разнообразия каллусных клеток позволяет проводить *in vitro* отбор устойчивых к селективному агенту клеток и впоследствии получать на их основе устойчивые к болезни формы [11, 4, 9].

Однако низкая регенерационная активность клеток льна-долгунца в селективных условиях не позволяет получать формы, устойчивые к данным болезням, в массовом количестве [12, 14]. Поэтому в задачу исследований входила оптимизация селективных сред для проведения отбора устойчивых каллусных клеток льна к антракнозу в условиях *in vitro* в первом – третьем пассажах.

**Методика исследований.** Исследования проводили на базе лаборатории селекционных технологий ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур» (Тверская обл.) в 2016-2020 гг. Исследования по созданию новых генотипов льна, характеризующихся устойчивостью к антракнозу, проводились в условиях *in vitro* и вегетационного опыта [8, 13]. Селекцию *in vitro* на устойчивость к антракнозу выполняли согласно методических рекомендаций «Методы создания *in vitro* растений-регенерантов льна-долгунца устойчивых к антракнозу (*Colletotrichum lini* Manns et Volley) и токсичным ионам алюминия» [7]. Интенсивность спороношения определяли в капле дистиллированной воды с помощью камеры Горяева под микроскопом МБИ-6. Количество спор в 1 см<sup>3</sup> рассчитывали по формуле:  $N/20 \times 10^6$ , где N – количество конидий в поле зрения микроскопа в камере Горяева. Визуальную оценку прироста биомассы гриба – возбудителя антракноза проводили на 7, 14, 28, 35 и 40 сутки. Токсичность

культуральных фильтратов определяли по методике Курчаковой Л.Н. путем замачивания семян льна восприимчивого (Пенджаб) и устойчивого (Леона) сортов и проращивания их на фильтровальной бумаге в течение 7 суток [7]. Повторность опыта трехкратная, объём выборки – 10 чашек Петри/1 образец льна. Искусственная полевая популяция биообразцов возбудителя антракноза для заражения льна состояла на 50% из сильновирulentных штаммов (725, 726, 729, 730, 735, 739) и по 25% средне- (724, 737, 728, 724) и слабовирulentных штаммов (712, 714) [3].

Схема проведения исследований в условиях *in vitro*:

- подбор исходного растительного материала льна;

- подбор штаммов гриба – возбудителя антракноза льна;

- культивирование мицелия гриба *Colletotrichum lini* на жидкой среде Мурасиге-Скуга (MS) в течение 40 суток; повторность опыта трехкратная, объём выборки – 5 колб объёмом 1 л/1 штамм антракноза;

- культивирование незрелых зародышей (НЗ) на селективной среде, состоящей из компонентов питательной среды MS и культурального фильтрата (КФ) в концентрации 36; 40 и 44 мл/л (повторность опыта трехкратная, объём выборки – 100 незрелых зародышей каждого генотипа/1 вариант);

- культивирование первичного (полученного на основе незрелых зародышей) и пересадочного (полученного в I – III пассажах) морфогенного каллуса льна на селективной среде, состоящей из компонентов питательной среды MS и культурального фильтрата (КФ) в концентрации 36; 40 и 44 мл/л (повторность опыта трехкратная, объём выборки – 6-15 шт. морфогенных каллусов (в зависимости от генотипа)/1 вариант);

- отбор устойчивых к КФ клеток льна;

- получение растений-регенерантов, обладающих устойчивостью к КФ возбудителя антракноза льна;

- оценка регенерантов на искусственном инфекционно-провокационном фоне и в условиях *in vitro* по устойчивости к антракнозу.

Объектом исследований при селекции *in vitro* на устойчивость к антракнозу являлись незрелые зародыши, изолированные на 10 сутки после опыления, растения сортов льна и форм, полученных в результате селекции *in*

*vitro* на устойчивость к антракнозу и гибридов третьего – пятого поколений: Л 2053-5-11, НЭ-15, НЭ- 39, ЛМ-98, Ленок, Росинка, F<sub>5</sub> ДБ 121-22, F<sub>5</sub> БД 215-14, F<sub>3</sub> НОЛ-78, F<sub>3</sub> НОР-78, F<sub>3</sub> НЛЛ-103-2, F<sub>3</sub> НЛР-40-2, F<sub>3</sub> НЛЛ-40-1, F<sub>3</sub> НЭЛ-38, F<sub>3</sub> НЭР-38, F<sub>3</sub> НЭЛ-36, F<sub>3</sub> НЭЛ-17, F<sub>3</sub> НЭР-16-2, а также штаммы гриба – возбудителя антракноза льна *C. lini*: сильновирulentные – 793 и 784, средневирulentный – 780, слабовирulentный – 788. В качестве селективного агента при культивировании *in vitro* незрелых зародышей льна вышеуказанных генотипов использовали КФ штаммов гриба – возбудителя антракноза в концентрациях – 0 - контроль (питательная среда MS без селективного агента), 36 мл/л, 40 мл/л, 44 мл/л. Для получения культуральных фильтратов штаммы культивировали на питательной среде в течение 40 суток.

Для культивирования мицелия гриба использовали жидкую питательную среду MS, не содержащую витамины, хелатный комплекс, регуляторы роста. Для контроля состояния мицелия гриба – возбудителя антракноза проводили измерение массы мицелия и, соответственно, прироста в динамике [6, 18]. Повторность опыта трехкратная, объём выборки – 5 колб объёмом 1 л/1 штамм антракноза.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета программ Microsoft Excel, с использованием метода первичной статистической обработки результатов эксперимента – определения выборочной средней величины и стандартного отклонения.

**Результаты и их обсуждение.** Для получения культуральных фильтратов на питательной среде MS проведено культивирование четырёх штаммов гриба – возбудителя антракноза *Colletotrichum lini* Manns et Bolley: двух сильновирulentных – 793 и 784, одного средневирulentного – 780 и одного слабовирulentного – 788.

В результате проведённых исследований выявлено, что у мицелиев всех используемых штаммов гриба на 7-е сутки визуально фиксировались единичные конидии, которые разрастались и к 14 суткам культивирования образовывали желеобразную биомассу. Биомасса различных штаммов возбудителя антракноза имела различную окраску, приобретать которую штаммы начинали с 10-

12 суток. Штамм 793 имел бледно-оранжевую окраску мицелия, серо-белое опушение с вкраплениями черного, которое начинало появляться к 28 суткам. У штамма 784 фиксировали оранжево-коричневую окраску мицелия и бело-серое опушение с желтыми пятнами, которое появлялось уже на 21-23 сутки. 780 штамм имел бледно-розовую с оранжевыми прожилками окраску мицелия, бело-желто-розовое опушение, появляющееся на 21-23 сутки. 788 штамм – с розово-оранжевой окраской мицелия и бело-желтым опушением, которое визуально фиксировалось на 26-28 сутки. К 40 суткам культивирования мицелий у всех исследуемых штаммов приобретал плотную консистенцию и, к расцветкам, которые имели, добавлялся темно-коричневый цвет.

При измерении объема и прироста биомассы мицелия штаммов возбудителя

антракноза установлено, что при культивировании мицелия гриба штаммов 784 (сильновирulentного), 780 (средневирулентного) в течение 40 суток прирост биомассы составлял 32,7 и 30,8%, соответственно, тогда как у штаммов 793 (сильновирulentного), 788 (слабовирulentного) – 10,5 и 9,8% соответственно (табл. 1). Результаты исследований показали, что наращивание биомассы, интенсивность роста гриба не зависели от вирулентности штамма. Сильновирulentный штамм 784 и средневирулентный – 780 к 40 суткам имели большую массу мицелия (14,08 г и 14,32 г) и прирост биомассы, тогда как у сильновирulentного штамма 793 и слабовирulentного – 788 масса мицелия была ниже (12,62 г и 12,00 г) и прирост биомассы гораздо меньше.

**Таблица 1 – Рост мицелия гриба – возбудителя антракноза льна на жидкой питательной среде MS**

Штамм	Масса мицелия, г		Прирост биомассы, % ± Sp
	на 28 сутки ± Sp	на 40 сутки ± Sp	
784 сильновирulentный	10,61 ± 1,1	14,08 ± 0,8	32,7 ± 0,9
793 сильновирulentный	11,43 ± 0,6	12,63 ± 0,7	10,5 ± 0,6
780 средневирулентный	10,95 ± 2,1	14,32 ± 0,9	30,8 ± 1,5
788 слабовирulentный	10,93 ± 0,8	12,00 ± 1,0	9,8 ± 0,9

Оценка токсичности полученных культуральных фильтратов показала, что токсичность КФ не зависела от вирулентности вышеуказанных штаммов. Более токсичными оказались КФ штаммов 784 (сильновирulentного) и 780 (средневирулентного). Загнивание и отмирание первичных корешков наблюдали на 5-е сутки у

67–88% проросших семян как у устойчивого к антракнозу сорта Леона, так и у восприимчивого – Пенджаб. Менее токсичными оказались штаммы 793 (сильновирulentный) и 788 (слабовирulentный). На 5-е сутки загнивание и отмирание первичных корешков отмечено у 9–15 % проросших семян (табл. 2).

**Таблица 2 – Влияние культурального фильтрата штаммов гриба *Colletotrichum lini* на жизнеспособность семян (проращивание на 5-е сутки)**

Культуральные фильтраты штаммов	Количество загнивших первичных корешков, % ± Sp	
	сорт Пенджаб	сорт Леона
784	86,0 ± 0,4	67,0 ± 0,4
793	14,0 ± 0,3	9,0 ± 0,2
780	88,0 ± 0,4	71,0 ± 0,5
788	15,0 ± 0,2	10,0 ± 0,3

Незрелые зародыши культивировали на среде MS, содержащей культуральный фильтрат смеси изучаемых штаммов, по 9 мл/л каждого штамма при концентрации 36 мл/л и по 10 мл/л – при концентрации 40 мл/л. Морфогенные каллусы, полученные на основе незрелых зародышей, через 14 суток переносили на среду MS, содержащую 0, 36, 40, 44 мл/л культурального фильтрата смеси изучаемых штаммов (по 9 мл/л каждого штамма при концентрации 36 мл/л, по 10 мл/л – 40 мл/л, по 11 мл/л – при концентрации 44 мл/л).

Различные генотипы по-разному реагировали на созданные селективные условия. На основе незрелых зародышей было сформировано различное количество морфогенных каллусов (от 25 до 65 шт.). При последующем пассировании морфогенных каллусов на селективные среды было установлено, что морфогенные очаги формировались активнее у генотипов, морфогенный каллус которых переносили на среду с аналогичной или более высокой концентрацией культурального фильтрата. Показано, что в первом и во втором пассажах на 14-е сутки с большей частотой формировались морфогенные каллусы, почки и побеги при использовании селективной среды, содержащей культуральный фильтрат в концентрации 40 мл/л, или в первом пассаже – 40 мл/л, а во втором – 44 мл/л (каллусов 1 шт./каллус). В меньшем количестве морфогенные каллусы формировались при использовании селективной среды, содержащей в первом пассаже культуральный фильтрат в концентрации 40 мл/л, а во втором – 36 мл/л (каллусов от 0,3 до 0,6 шт./каллус). Так, во втором пассаже, при переносе 10 морфогенных каллусов генотипа НЭ-17х Ленок с селективной среды, содержащей 40 мл/л культурального фильтрата, на среду аналогичного состава, на 14-е сутки сформировалось 10 морфогенных каллусов (1 шт./каллус) и 5 шт./каллус зелёных почек. Перенос 10 морфогенных каллусов с селективной среды, содержащей 40 мл/л культурального фильтрата, на среду, содержащую более высокую концентрацию культурального фильтрата (44 мл/л), способствовал возможности формирования на 14 сутки 10 морфогенных каллусов (1 шт./каллус) и 5,75 шт./каллус зелёных почек. В то же время, при переносе 10 морфогенных каллусов с селективной среды,

содержащей 40 мл/л культурального фильтрата, на среду, содержащую 36 мл/л культурального фильтрата, на 14-е сутки сформировалось 6 морфогенных каллусов (0,6 шт./каллус) и 1,6 шт./каллус зелёных почек. Аналогичные результаты получены для всех генотипов, используемых в исследованиях. У генотипов НЭ-36х Ленок и Росинка получены нормально развивающиеся побеги, в то время как у НЭ-17х Ленок, Л 2053-5-11, F<sub>3</sub> НЛ 103-2х Ленок формировались слабохлорофильные утолщенные побеги, которые в течение 5-7 суток темнели и отмирали. У генотипа НЭ-17 во втором пассаже образование побегов не зафиксировано.

В результате последующих отборов *in vitro* устойчивых каллусов льна, которые на селективном фоне не утратили морфогенетические свойства, получены растения-регенеранты, устойчивые к действию культурального фильтрата *in vitro*. Проверка полученных в ходе исследований растений-регенерантов на искусственном инфекционно-провокационном фоне показала, что генотипы различались по устойчивости. Наряду с устойчивыми и среднеустойчивыми к антракнозу линиями НЭ-38, НЛ-40-1, НЛ-103-2 и др. (устойчивость на уровне 50,0 – 75,0%) были и формы, восприимчивые к болезни – НЭ-15, НЭ-25, НЭ-36 и др. (устойчивость менее 50%). У устойчивых и среднеустойчивых генотипов параметры устойчивости были выше, чем у исходных форм на 12,0–37,0%. Дальнейшие исследования гибридов первого – третьего поколения, полученных от скрещивания устойчивых *in vitro* форм с восприимчивыми сортами Ленок и Росинка в инфекционно-провокационном питомнике позволили выявить, что устойчивость некоторых генотипов льна к патогену сохраняется до третьего поколения на уровне 51,2–59,4%. Так, например, в третьем поколении гибридов, полученных от скрещивания устойчивой к антракнозу *in vitro* формы НО-78 (устойчивость 58 – 60%) и восприимчивого сорта Ленок (устойчивость 32–35%), устойчивость составила 55% (табл. 3). В первом и втором поколении устойчивость этой формы составляла 55–60%. В третьем поколении гибридов, полученных от скрещивания устойчивой к антракнозу *in vitro* формы НЭ-38 (устойчивость 50–59%) и восприимчивого сорта Росинка (устойчивость



32–35%), устойчивость составила 51,7%. В первом и втором поколении устойчивость этой формы составляла 50 и 59%. Стандартами по устойчивости к антракнозу являлись

сорта межеумочного типа Леона (устойчивый на уровне 75–77%) и Пенджаб (устойчивый на уровне 30–38%).

**Таблица 3 – Устойчивость к антракнозу образцов льна, полученных при отборе *in vitro***

Генотип льна	Степень устойчивости, %		
	Первое поколение	Второе поколение	Третье поколение
Ленок♀ р.ф.*	35,3	35,2	35,7
Росинка♀ р.ф.*	34,9	35,4	35,0
НО-78х Ленок	<b>60,0</b>	<b>55,0</b>	<b>55,0</b>
НО-78х Росинка	53,1	42,5	33,3
НО-78 р.ф.*	58,0	59,0	60,0
НЛ-103-2х Ленок	<b>53,3</b>	<b>52,1</b>	<b>51,2</b>
НЛ-103-2 р.ф.*	50,0	53,1	52,6
НЛ-40-2х Росинка	42,5	38,9	43,8
НЛ-40-1 х Ленок	<b>58,3</b>	<b>58,3</b>	<b>59,4</b>
НЛ-40 р.ф.*	55,6	56,5	58,3
НЭ-38х Росинка	<b>50,0</b>	<b>59,0</b>	<b>51,7</b>
НЭ-38х Ленок	43,9	48,3	38,9
НЭ-38 р.ф.*	58,0	53,3	57,6
НЭ-36х Ленок	<b>60,0</b>	<b>58,7</b>	<b>59,6</b>
НЭ-36 р.ф.*	55,3	55,6	57,6
НЭ-17х Ленок	<b>55,0</b>	<b>55,0</b>	<b>55,0</b>
НЭ-17 р.ф.	58,2	56,5	58,8
НЭ-16-2х Росинка	<b>59,6</b>	<b>59,0</b>	<b>58,3</b>
НЭ-16 р.ф.*	60,2	58,3	58,3
Леона ст.**	73,0	75,0	72,0
Пенджаб ст.**	31,3	30,9	31,3

Примечание: \*- родительская форма, \*\*- сорт-стандарт

Таким образом, в результате исследований, с использованием биотехнологических методов и приёмов в результате клеточной селекции *in vitro* получены устойчивые к культуральному фильтрату возбудителя антракноза растения-регенеранты и созданы новые формы льна, устойчивые к антракнозу – одному из вредоносных заболеваний льна-долгунца. Новые формы льна проявляли устойчивость к антракнозу в течение трёх поколений.

Исследования, проведенные с целью создания *in vitro* новых генотипов льна, характеризующихся устойчивостью к антракнозу,

позволили оптимизировать состав селективной среды для проведения отбора устойчивых каллусных клеток льна к антракнозу в условиях *in vitro* и выявить параметры мицелия для получения токсичных культуральных фильтратов.

**Выводы.** В результате исследований уточнен состав культурального фильтрата возбудителя антракноза для использования в качестве селективного агента при отборе *in vitro* устойчивых к антракнозу клеток льна.

Токсичность полученных культуральных фильтратов не зависела от вирулентности используемых в исследованиях штаммов. Куль-

туральные фильтраты штаммов 784 (сильновирulentного) и 780 (средневирулентного) оказались более токсичными, чем культуральные фильтраты штаммов 793 (сильновирulentного) и 788 (слабовирулентного).

Установлено, что морфогенные очаги формировались активнее у генотипов, морфогенный каллус которых переносили на среду с более высокой концентрацией культурального фильтрата штаммов возбудителя антракноза. Возможно, это явилось результатом отбора в популяции более устойчивых клеток в пределах нормы реакции используемых в исследованиях генотипов.

Получены жизнеспособные растения-регенеранты и выделены генотипы, которые в течение трёх поколений сохраняли устойчивость к антракнозу на уровне 50 – 60%: НО-78 х Ленок, НЛ-103-2 х Ленок, НЛ-40-1 х Ленок, НЭ-38 х Росинка, НЭ-36 х Ленок, НЭ-17 х Ленок, НЭ-16-2 х Росинка.

#### Список использованной литературы

1. Адушкевич Л.Л. Распространенность и развитие антракноза льна на территории Беларуси // Защита растений. – 2000. – Выпуск XIX/XXIII. – С.125-127.
2. Карпунин Б. Ф. Антракноз льна: селекция на устойчивость. – Lap Lambert academic publishing, 2016. – 113 с.
3. Клейн Р.М., Клейн Д.Т. Методы исследования растений / Пер. с англ. и предисл. В.И. Мельгунова. – М.: Колос, 1974. – 528 с.
4. Коваленко Н. Н., Поливарова Н. В. Оптимизация питательных сред для культивирования *in vitro* зародышей из гибридов рода *Cerasus Mill.* // Плодоводство и ягодоводство России. – 2017. – Т. 49. – С. 18-21.
5. Котова В.В., Кунгурцева О.В. Антракноз сельскохозяйственных растений (Приложения к журналу «Вестник защиты растений», №11). – Санкт-Петербург: ВИЗР, 2014. – 132 с.
6. Курчакова Л. Н. Методика получения культуральных фильтратов гриба *Fusarium oxysporum* и *F. semitectum* и их применение в культуре *in vitro* для получения фузариозоустойчивых форм льна-долгунца // Сборник науч. трудов ВНИИЛ. – 1994. – Вып. 28-29. – С. 127–128.
7. Методы создания *in vitro* растений-регенерантов льна-долгунца устойчивых к антракнозу (*Colletotrichum lini* Manns et Volley) и токсичным ионам алюминия (Методические рекомендации) / Пролётова Н.В., Виноградова Е.Г., Кудрявцева Л.П. – Тверь, 2014. – 19 с.
8. Миллер С.А. Методы культуры тканей в фитопатологии: грибы // В кн.: Биотехнология растений: культура клеток / Пер.с англ. В.И. Негрука. Под ред. Р.Г. Бутенко. – М.: ВО Агропромиздат, 1989. – С. 259 – 274.
9. Никитина Е.Д., Хлебцова Л.П., Соколова Г.Г., Ерещенко О.В. Создание стрессоустойчивого материала яровой мягкой пшеницы с использованием клеточной селекции *in vitro* // Известия Алтайского Государственного университета. – 2013. – № 3-2 (79). – С. 95-98.
10. Полуэктова Е. В., Берестецкий А. О. Грибы рода *Colletotrichum* как продуценты биологически активных соединений и биогербицидов // Микология и фитопатология. – 2018. – Т. 52. – № 6. – С. 367–381.
11. Пролётова Н.В. Использование биотехнологических методов для создания новых генотипов льна, устойчивых к антракнозу // Достижения науки и техники АПК. – 2019. – Т.33. – № 8. – С. 24-28.
12. Пролётова Н.В. Повышение устойчивости льна-долгунца к антракнозу (*Colletotrichum lini* Manns et Volley) методами *in vitro* // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2018. – №3 (175). – С. 128-131.
13. 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 С2, 10.04.2013. Заявка № 2011115728/10 от 20.04.2011.
14. Проценко М.А., Костина Н.Е., Теплякова Т.В. Подбор питательных сред для глубинного культивирования дереворазрушающего гриба *Daedaleopsis tricolor* (Bull.) Bondartsev et singer // Биотехнология. – 2018. – Т. 34. – № 1. – С. 45-51.
15. Рожмина Т.А., Павлова Л.Н., Понажев В.П., Захарова Л.М. Льняная отрасль на пути к возрождению // Защита и карантин растений. – 2018. – № 1. – С. 3-8.
16. Рожмина Т.А., Мельникова Н.В., Головлев М.Г., Смирнова М.И., Куземин И.А. Скрининг образцов генофонда льна на устойчивость к неблагоприятным факторам // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – Т. 32. – № 10. – С. 11-14.
17. Рожмина Т.А., Жученко А.А., Рожмина Н.Ю., Киселева Т.С., Герасимова Е.Г. Новые источники селекционно-значимых признаков

льна, адаптивные к условиям Центрального Нечерноземья // Достижения науки и техники АПК. – 2020. – Т. 34. – № 8. – С. 50-55.

18. Colletotrichum: Biological control, biocatalyst, secondary metabolites and toxins / R.S. Jayawardena, X.H. Li, M. Liu, W. Zhang and J.Y. Yan et al. // Mycosphere. – 2016. – Vol. 7 (8). – P. 1164–1176.

19. Novakovskiy R.O., Dvorianinova E.M., Rozhmina T.A., Pushkova E.N., Povkhova L.V., Snezhkina A.V., Krasnov G.S., Kudryavtseva A.V., Melnikova N.V., Dmitriev A.A., Kudryavtseva L.P., Gryzunov A.A. et al Data on genetic polymorphism of flax (*Linum usitatissimum* L.) pathogenic fungi of *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Aureobasidium*, *Septoria*, and *Melampsora* genera // Data in Brief. – 2020. – Т. 31. – P. 105710.

#### **Сведения об авторах**

**Пролётова Наталья Викторовна**, кандидат биол. наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный научный центр лубяных культур –

обособленное подразделение Институт льна, д. 35, ул. Луначарского, г. Торжок, Тверская область, Российская Федерация, 172002, e-mail: n.proletova.trk@fnclk.ru

**Кудрявцева Людмила Платоновна**, кандидат с.-х. наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный научный центр лубяных культур – обособленное подразделение Институт льна, д. 35, ул. Луначарского, г. Торжок, Тверская область, Российская Федерация, 172002, e-mail: l.kudryavtseva.trk@fnclk.ru

**Natalya V. Proletova**, PhD in Biological Sciences, leading researcher, Federal Research Center for Bast Fiber Crops – Separate Division Institute of the Flax, 35, Lunacharsky str., Tver region, Federation, 172002, e-mail: n.proletova.trk@fnclk.ru

**Ludmila P. Kudryavtseva**, PhD in Agricultural Sciences, leading researcher, Federal Research Center for Bast Fiber Crops – Separate Division Institute of the Flax, 35, Lunacharsky str., Tver region, Federation, 172002, e-mail: l.kudryavtseva.trk@fnclk.ru