

Реакция семян и эксплантов льна на осмотический стресс

Е. Г. Виноградова¹✉

¹ Федеральный научный центр лубяных культур, Тверь, Россия

✉ E-mail: egv.vinogradova@yandex.ru

Аннотация. Цель исследования – получение экспериментальных данных для разработки методики получения форм льна-долгунца, устойчивых к стрессовым факторам (засухе) методами клеточной селекции. **Методы.** Работу проводили в Тверской области в лаборатории селекционных технологий в 2017–2019 гг. В качестве объектов исследований использовали сорта льна Barbara, Belinka, ЛМ-98, Светоч, Дипломат, Symfonia. Семена получены из Национальной коллекции льна Федерального научного центра лубяных культур. Влияние раствора сахарозы на длину первичного корешка выявляли при концентрациях 0, 8,7, 14,9 %. Для возможности оценки энергии прорастания семян в условиях осмотического стресса концентрация сахарозы была снижена и рассматривался диапазон от 0 (контроль) до 9 %. **Результаты.** Сахароза в качестве селективного агента в культуре незрелых зародышей льна *in vitro* в концентрации 5,0–7,0 % может быть селективным только для определенных генотипов, например, сорт Светоч. При культивировании каллусных тканей с использованием в качестве осмотика маннита в концентрациях 0; 30,0; 36,4; 37,0; 37,4; 38,0 мг/л отбор устойчивых каллусных клеток с последующим формированием в меристематических очагах адвентивных почек и побегов можно проводить на средах, содержащих 30,0 либо 36,4 мг/л осмотика. **Научная новизна** исследований заключается в том, что методика получения *in vitro* устойчивых эксплантов к осмотическому стрессу для льна разрабатывается впервые.

Ключевые слова: лен (*Linum usitatissimum* L.), сахароза, маннит, засухоустойчивость, семена, гипокотильные сегменты, незрелые зародыши.

Для цитирования: Виноградова Е. Г. Реакция семян и эксплантов льна на осмотический стресс // Аграрный вестник Урала. 2021. № 02 (205). С. 56–64. DOI: 10.32417/1997-4868-2021-205-02-56-64.

Дата поступления статьи: 18.09.2020.

Постановка проблемы (Introduction)

Лен-долгунец (*Linum usitatissimum* L.) – уникальная техническая культура, обеспечивающая сырьем многие отрасли промышленности. Выделяемые на льноводство в последние годы дотации привели к увеличению посевных площадей льна и расширению их географии.

В последние десятилетия с использованием традиционных методов селекции достигнуты положительные результаты в направлении создания сортов, обладающих высокой потенциальной продуктивностью [1, с. 1921], [2, с. 3], [3, с. 51]. Однако несовершенство и нарушение технологии возделывания, влияние неконтролируемых условий среды позволяют получать только 30–35 % урожайности от потенциала сорта [4, с. 254], [5, с. 42].

В последние годы засуху отмечают на значительных площадях, что может быть связано с изменением климата [6, с. 162]. И даже непродолжительные периоды нехватки влаги (14–21 дней) в совокупности с высокими температурами могут негативно сказываться на формировании урожайности. Для выведения устойчивых форм к засухе возможно использование методов *in vitro*, при условии моделирования трудности поступления жидкости в клетки культуры. Создание высокого осмотического потенциала в питательной среде возможно путем введения сахарозы, маннита, полиэтиленгликоля.

Первое сообщение о выделении клеточных линий табака, устойчивых к стрессу, индуцированному полиэтиленгликолем (ПЭГ), появилось в 1979 г. [7, с. 83]. Позже для селекции на засухоустойчивость Р. Брессан с соавторами использовали клеточные линии томата. Для получения адаптированных к водному стрессу клеточных линий также применялись среды, содержащие в качестве осмотика маннитол [8, с. 59], [9, с. 50]. Во всех системах при определенной концентрации осмотиков полученные клетки обладали повышенной выносливостью к засухе. Учеными России с использованием методов биотехнологии (гаплоидия, клеточная селекция) созданы засухоустойчивые формы и линии яровой мягкой пшеницы [10]. Во Франции создан консорциум, в рамках которого над созданием засухоустойчивых растений работают ученые из 17 стран. Китайскими учеными с использованием методов биотехнологии создано 46 засухоустойчивых линий пшеницы, из которых 4 рекомендованы производству. В Австралии также выведены засухоустойчивые формы пшеницы, обеспечивающие 20-процентную прибавку урожая при проявлении этого лимитирующего урожайность фактора [11]. В Аргентине создан сорт сои, несущий геном устойчивости к засухе [12, с. 18].

При разработке методов отбора на устойчивость к засухе в культуре *in vitro* можно использовать возможность

предварительного скрининга методом проращивания семян в концентрированных растворах осмотиков. На многих культурах была показана прямая корреляция между возможностью прорастания семян под воздействием осмотического стресса и засухоустойчивостью [13, с. 40], [14, с. 289].

В решении проблемы создания новых высокопродуктивных сортов льна устойчивых к стрессовым факторам среды использования биотехнологических методов перспективно.

Цель работы – получение экспериментальных данных по реакции семян и незрелых зародышей на осмотический стресс для разработки методики получения форм льна-долгунца устойчивых к стрессовым факторам (засухе) методами клеточной селекции.

Методология и методы исследования (Methods)

В качестве объектов исследований использовали сорта льна Barbara, Belinka и ЛМ-98, Aurore, Тверской, Светоч, Дипломат, Symfonia. Семена получены из Национальной коллекции льна Федерального научного центра лубяных культур. Лабораторные исследования проводили во Все-

российском научно-исследовательском институте льна (на сегодняшний день – обособленное подразделение г. Торжок ФГБНУ ФНЦ ЛК) в лаборатории селекционных технологий в 2017–2019 гг.

Для создания осмотического стресса, моделирования засухи семена проращивали на растворах сахарозы в чашках Петри по 50 семян на фильтровальной бумаге в трехкратной повторности.

На первом этапе с целью моделирования водного стресса семена проращивали на растворах сахарозы в чашках Петри по 50 семян на фильтровальной бумаге в трехкратной повторности. Концентрация сахарозы составляла 0 (контроль), 8,7 % и 14,9 %. В ходе эксперимента оценивали способность семян формировать первичный корешок, а также его длину.

Растения-доноры для получения первичных эксплантов выращивались в сосудах Митчерлиха (50 растений на сосуд) в условиях вегетационного домика на территории Научного центра. Почва была завезена с поля предназначенного для посева льна. Уход за растениями заключался в поливе и подвязывании растений к колышкам.

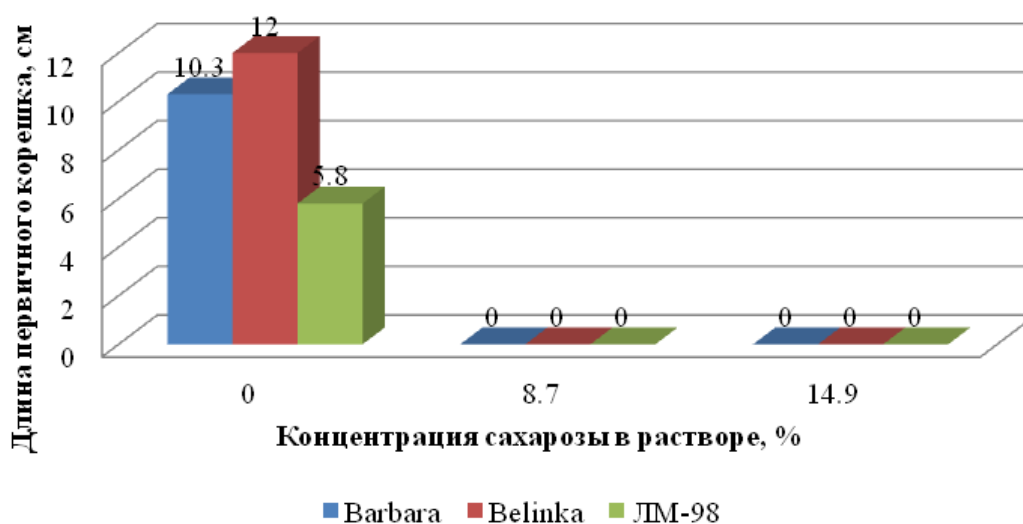


Рис. 1. Влияние сахарозы на длину первичного корешка льна (2-е сутки)

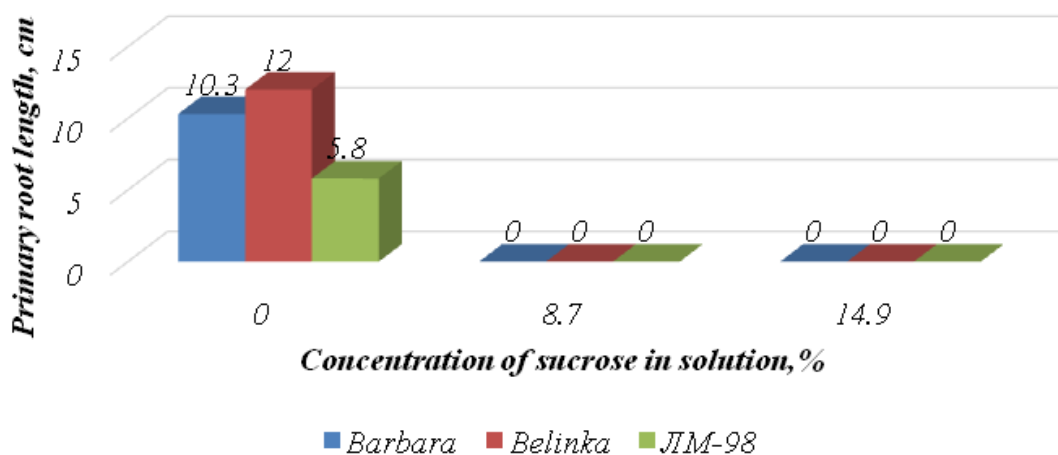


Fig. 1. Influence of sucrose on the length of the primary flax root (2nd day)

Незрелые зародыши изолировали из коробочек на 10-е сутки после цветения. Стерилизацию коробочек проводили в асептических условиях раствором этанола (70 % с экспозицией 1 мин.) и хлорамина «Б» (1 % – 2 мин.) [15, с. 25].

Экспланты культивировали на агаризованной среде MS, pH среды – 5,8, при температуре 24 ± 1 °С, освещенности 4000 люкс и фотопериоде: 16 часов – день и 8 часов – ночь. Концентрация сахарозы в средах для незрелых зародышей составляла 3, 7 и 9 %. Морфогенный каллус, полученный на основе незрелых зародышей, культивировали на средах, содержащих манит в концентрациях 0 (контроль); 30,0; 36,4; 37,0; 37,4; 38,0. Оценку устойчивости каллусов к селективному агенту проводили по количеству сформировавшихся побегов.

Математическую обработку полученных данных выполняли методом дисперсионного анализа с использованием пакета программ «Биостат» и Excel.

Результаты (Results)

Для отбора устойчивых к осмотическому стрессу в культуре *in vitro* растений-регенерантов необходимо на первом этапе подобрать оптимальную концентрацию осмотика. Его действие должно быть достаточно селективным. Однако концентрация не должна быть сублетальной, поскольку в этом случае не удастся провести отбор устойчивых клеток.

В результате исследований выявлено, что при проращивании семян льна на растворах сахарозы в контрольном варианте уже на вторые сутки у всех генотипов льна наблюдали рост первичного корешка. Длина корешка составляла у сорта Barbara – 10,3 мм, у Belinka – 12 мм, у ЛМ-98 – 5,8 мм, в то время как в вариантах концентрации сахарозы 8,7 и 14,9 % рост корешков не был отмечен (рис. 1). На шестые сутки в контрольном варианте рост корешков несколько снизился у генотипов Barbara и Belinka.

У сорта ЛМ-98 наблюдали прирост корешка на 5,4 мм. Отмечен рост корешков в варианте сахарозы в концентрации 8,7%. Так, у Barbara длина корешка на 6-е сутки составляла 0,01 мм, у Belinka – 0,2 мм, у ЛМ-98 – 0,01 мм. Полное ингибирование прорастания семян наблюдали в варианте концентрации сахарозы 14,9 % у всех генотипов (рис. 2). Поэтому дальнейший поиск селективных концентраций мы продолжили в диапазоне от 0 до 9 % с шагом в 1 %.

В результате анализа действия растворов сахарозы в указанных концентрациях было отмечено, что прорастание семян сортов Barbara и Belinka наблюдали во всех вариантах, кроме концентрации сахарозы 9 %, а у линии ЛМ-98 кроме вариантов 8 и 9 % (рис. 3). В зависимости от генотипа энергия прорастания колебалась во всех вариантах и составляла в контроле: от 60 % у сорта Belinka до 100 % у ЛМ-98, а, например, в варианте концентрации сахарозы 4 % от 80 % у Barbara до 90 % у двух других сортов. По-видимому, на энергию прорастания семян льна оказывали влияние и генотипические особенности сортов. Не было выявлено прямой корреляции между увеличением концентрации сахарозы и энергией прорастания семян изучаемых сортов. Так энергия прорастания семян у сорта Barbara при концентрациях 5, 6, 7 и 8 % составляла, соответственно 70, 80, 40, 30 %, и полное ингибирование при 9 % сахарозы. На энергию прорастания семян сорта ЛМ-98 увеличение концентрации сахарозы сказывалось незначительно – от 100 % в контроле до 80 % в варианте концентрации сахарозы 7 %, однако при концентрации 8 % и выше прорастания первичного корешка не наблюдали. Семена сорта Belinka прорастали во всех вариантах опыта.

Оценка жизнеспособности семян льна при проращивании их на растворах сахарозы показала, что рост и развитие первичного корешка льна наблюдали у сорта Belinka во всех вариантах, сорта Barbara – во всех вариантах, кроме концентрации сахарозы 9 %, у линии ЛМ-98 – кроме концентрации 8 и 9 % (таблица 1).

Таблица 1

Длина первичного корешка льна в зависимости от концентрации сахарозы при проращивании семян, мм

| Концентрация сахарозы, % | Длина первичного корешка, мм | | |
|--------------------------|------------------------------|---------|-------|
| | Barbara | Belinka | ЛМ-98 |
| 0 (контроль) | 20 | 41,7 | 21 |
| 4 | 6,4 | 40,2 | 12,1 |
| 5 | 6,5 | 18,8 | 41,8 |
| 6 | 7,6 | 4,4 | 23 |
| 7 | 1 | 5,1 | 19,9 |
| 8 | 1 | 2 | 0 |
| 9 | 0 | 1,5 | 0 |

Table 1

Length of the primary flax root depending on the concentration of sucrose during seed germination, mm

| Sucrose concentration, % | Primary root length, mm | | |
|--------------------------|-------------------------|---------|-------|
| | Barbara | Belinka | LM-98 |
| 0 (control) | 20 | 41.7 | 21 |
| 4 | 6.4 | 40.2 | 12.1 |
| 5 | 6.5 | 18.8 | 41.8 |
| 6 | 7.6 | 4.4 | 23 |
| 7 | 1 | 5.1 | 19.9 |
| 8 | 1 | 2 | 0 |
| 9 | 0 | 1.5 | 0 |

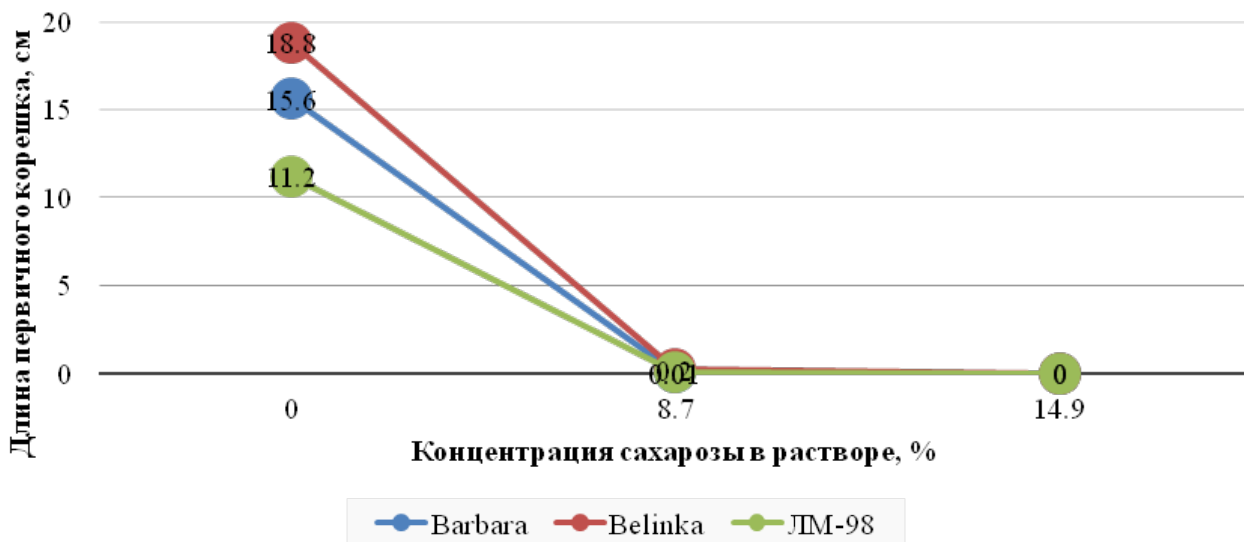
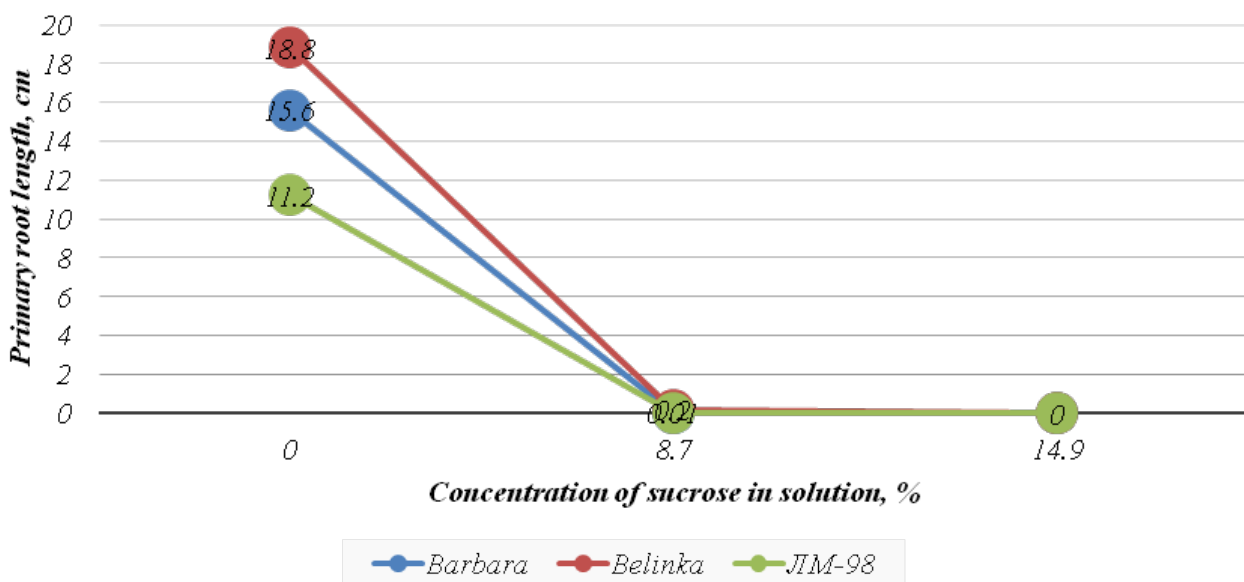


Рис. 2. Влияние сахарозы на длину первичного корешка (6-е сутки)

Fig. 2. Influence of sucrose on the length of the primary root (6th day)

Наибольшая длина первичного корешка отмечена в контроле у всех сортов: у сорта Barbara – 20,0 мм, у сорта Belinka – 41,7 мм, у ЛМ-98 – 21,0 мм. С увеличением концентрации сахарозы в растворе для проращивания семян отмечено снижение длины первичного корешка у всех генотипов. В то же время отмечено некоторое увеличение по сравнению с вариантами с меньшим содержанием сахарозы в растворе 16,9 %, длины корешка в варианте 6,0 % сахарозы у сорта Barbara, в варианте 7,0 % сахарозы у сорта Belinka, в варианте 5,0 % сахарозы у линии ЛМ-98. По полученным данным наиболее подходящими для исследований мы определили варианты 5,0, 6,0, 7,0 % сахарозы в растворе для проращивания.

Реакции клеток *in vivo* и *in vitro* на стрессовые факторы, как правило, похожи, поэтому для культивирования незрелых зародышей мы выбрали концентрации 7 % и 9 % сахарозы, для возможности отбора устойчивых эксплантов, клеток. В качестве контрольного варианта использовали питательные среды содержащих 3,0 % – оптимальные для роста и развития клеток льна-долгунца.

В контроле у всех незрелых зародышей наблюдали увеличение размера семядолей в несколько раз по сравнению с исходным. У некоторых эксплантов начинала развиваться апикальная почка. Каллус получен на эксплантах всех сортов, однако активность формирования была различной и изменялась от 43,8 % у сорта Светоч до 89,9 % у сорта Symfonia (таблица 2). Каллус характеризовался плотной консистенцией, зеленым цветом, с очагами новообразований.

Были выявлены и сортовые отличия. Так, сорт Светоч отличался пониженной способностью формировать каллус как в контроле (3 % сахарозы), так и в вариантах с более высокими концентрациями: от 43,8 % в контроле до 2,4 % в варианте с содержанием 9 % сахарозы. Частота формирования каллусных клеток у сортов Дипломат и Symfonia составила в контрольном варианте 87 % и 92 % соответственно.

Таблица 2
Каллусогенез незрелых зародышей льна на селективных средах в культуре *in vitro* (сформировано морфогенных каллусов, % ± Sp)

| Концентрация сахарозы, % | Сформировано морфогенных каллусов, X ± Sp, % | | |
|--------------------------|--|------------|------------|
| | Светоч | Дипломат | Symfonia |
| 3,0 (контроль) | 43,8 ± 2,1 | 78,4 ± 3,3 | 89,9 ± 5,5 |
| 7 | 18,5 ± 3,5 | 56,0 ± 3,8 | 61,0 ± 4,6 |
| 9 | 2,4 ± 0,8 | 38,4 ± 3,4 | 39,8 ± 3,8 |

Table 2

Callusogenesis of immature flax embryos on selective media in *in vitro* culture (morphogenic calli formed, % ± Sp)

| Concentration of sucrose, % | Formed morphogenic calli, X ± Sp, % | | |
|-----------------------------|-------------------------------------|------------|------------|
| | Svetoch | Diplomat | Symfonia |
| 3.0 (control) | 43.8 ± 2.1 | 78.4 ± 3.3 | 89.9 ± 5.5 |
| 7 | 18.5 ± 3.5 | 56.0 ± 3.8 | 61.0 ± 4.6 |
| 9 | 2.4 ± 0.8 | 38.4 ± 3.4 | 39.8 ± 3.8 |

Таблица 3

Морфогенетическая активность каллусов льна, полученных на основе незрелых зародышей, в культуре *in vitro*

| Концентрация раствора сахарозы, % | Количество побегов, сформированных в меристематических очагах, шт/каллус, ± Sp | | |
|-----------------------------------|--|-------------|-------------|
| | Светоч | Дипломат | Symfonia |
| 3,0 (контроль) | 2,0 ± 0,4 | 1,6 ± 0,2 | 1,1 ± 0,2 |
| 7 | – | 0,16 ± 0,02 | 0,29 ± 0,07 |
| 9 | 0,1 ± 0,1 | 1,1 ± 0,4 | 0,8 ± 0,4 |

Table 3

Morphogenetic activity of flax calli obtained from immature embryos in *in vitro* culture

| Concentration of sucrose solution, % | Number of shoots formed in meristematic foci, pcs/callus, ± Sp | | |
|--------------------------------------|--|-------------|-------------|
| | Svetoch | Diplomat | Symfonia |
| 3.0 (control) | 2.0 ± 0.4 | 1.6 ± 0.2 | 1.1 ± 0.2 |
| 7 | – | 0.16 ± 0.02 | 0.29 ± 0.07 |
| 9 | 0.1 ± 0.1 | 1.1 ± 0.4 | 0.8 ± 0.4 |

Таблица 4

Морфогенетическая активность эксплантов льна на среде МС, содержащей различные концентрации маннита

| Концентрация маннита, мг/л | Сформировано морфогенных каллусов, % ± Sp | | |
|----------------------------|---|------------|------------|
| | Светоч | Дипломат | Symfonia |
| 0 | 53,4 ± 3,5 | 77,5 ± 6,3 | 82,8 ± 5,2 |
| 30 | 45,3 ± 2,2 | 69,0 ± 5,5 | 82,0 ± 8,3 |
| 36,4 | 27,7 ± 6,1 | 35,8 ± 2,3 | 42,2 ± 8,4 |
| 37 | 20,0 ± 5,2 | 23,9 ± 2,2 | 15,5 ± 6,9 |
| 37,4 | 6,2 ± 1,1 | 17,7 ± 2,0 | 3,0 ± 1,9 |
| 38 | 10,5 ± 3,1 | 0 | 1,9 ± 0,6 |

Table 4

Morphogenetic activity of flax explants on MS medium containing various concentrations of mannitol

| Mannitol concentration, mg/L | Morphogenic calli formed, % ± Sp | | |
|------------------------------|----------------------------------|------------|------------|
| | Svetoch | Diplomat | Symfonia |
| 0 | 53.4 ± 3.5 | 77.5 ± 6.3 | 82.8 ± 5.2 |
| 30 | 45.3 ± 2.2 | 69.0 ± 5.5 | 82.0 ± 8.3 |
| 36.4 | 27.7 ± 6.1 | 35.8 ± 2.3 | 42.2 ± 8.4 |
| 37 | 20.0 ± 5.2 | 23.9 ± 2.2 | 15.5 ± 6.9 |
| 37.4 | 6.2 ± 1.1 | 17.7 ± 2.0 | 3.0 ± 1.9 |
| 38 | 10.5 ± 3.1 | 0 | 1.9 ± 0.6 |

Побегообразовательная способность эксплантов льна в культуре *in vitro*

| Концентрация маннита, мг/л | Сформировано морфогенных каллусов, % ± Sp | | |
|----------------------------|---|-------------|-----------|
| | Светоч | Дипломат | Symfonia |
| 0 | 3,8 ± 1,1 | 0,68 ± 0,02 | 1,5 ± 0,3 |
| 30 | 1,0 ± 0,4 | 0,8 ± 0,2 | 1,1 ± 0,5 |
| 36,4 | 1,2 ± 0,6 | 0,63 ± 0,2 | 1,0 ± 0,2 |
| 37 | 0 | 0 | 0 |
| 37,4 | 0 | 0 | 0 |
| 38 | 0 | 0 | 0 |

Table 5

Shoot-forming ability of flax explants in *in vitro* culture

| Mannitol concentration, mg/L | Morphogenic calli formed, % ± Sp | | |
|------------------------------|----------------------------------|-------------|-----------|
| | Svetoch | Diplomat | Symfonia |
| 0 | 3.8 ± 1.1 | 0.68 ± 0.02 | 1.5 ± 0.3 |
| 30 | 1.0 ± 0.4 | 0.8 ± 0.2 | 1.1 ± 0.5 |
| 36.4 | 1.2 ± 0.6 | 0.63 ± 0.2 | 1.0 ± 0.2 |
| 37 | 0 | 0 | 0 |
| 37.4 | 0 | 0 | 0 |
| 38 | 0 | 0 | 0 |

Для сорта Дипломат не было отмечено ингибирования морфогенеза ни в одном варианте. Хорошо растущий, зеленый, морфогенный каллус был получен во всех вариантах. Частота его формирования составила для незрелых зародышей сорта Дипломат в контрольном варианте 78,4 %, а в вариантах, содержащих повышенные концентрации селективного агента (7,0 и 9,0 %), – 56,0 и 38,4 % соответственно. Экспланты сорта Symfonia отличались наименьшей реакцией на увеличение селективной нагрузки. Можно предположить, что для этих сортов порог осмотического стресса находится в более высоком диапазоне концентраций сахарозы.

Для получения комплектных растений-регенерантов очень важно при культивировании каллусов получить почки и побеги.

Морфогенетическая активность у каллусов, полученных на основе незрелых зародышей, разных сортов была различной. Наименьшее количество почек и побегов было получено у эксплантов сорта Светоч (таблица 3). На каллусах сортов Дипломат и Symfonia во всех вариантах получены побеги, их количество изменялось от 1,6 шт/каллус в контрольном варианте у сорта Дипломат до 1,1 шт/каллус в варианте с максимальной концентрацией сахарозы у сорта Symfonia.

По полученным данным можно предположить, что экспланты сортов Дипломат и Symfonia обладают большей устойчивостью к осмотическому стрессу по сравнению с реакцией эксплантов сорта Светоч.

Представляет интерес применение других селективных агентов для получения устойчивых к водному стрессу эксплантов льна. В связи с этим в качестве осмотика мы решили включить в исследование маннит. Исследования, проведенные на других культурах [6, 9], выявили оптимальную концентрацию маннита в питательной среде – 36,4 мг/л. Мы расширили диапазон концентраций маннита и провели культивирование каллусных тканей на селективных средах, содержащих этот осмотик в концентрациях 0; 30,0; 36,4; 37,0; 37,4; 38,0 мг/л.

В результате было выявлено, что морфогенный каллус был сформирован практически во всех вариантах у всех генотипов, за исключением эксплантов сорта Дипломат. У него в варианте 38,0 мг/л маннита каллус не был получен (таблица 4). В вариантах 0 (контроль), 30,0 и 36,4 мг/л маннита наблюдали образование зеленого плотного каллуса с ярко выраженными меристематическими очагами, однако их количество стабильно снижалось (по сравнению с контрольными вариантами).

Так, у сорта Светоч в контроле было сформировано 53,4 % морфогенных каллусов, а в варианте 36,4 мг/л маннита – 27,7 % морфогенных каллусов. Дальнейшее снижение морфогенетической активности происходило волнообразно. В вариантах 37,0, 37,4 и 38,0 мг/л маннита наряду с зеленым морфогенным каллусом наблюдали формирование желтого водянистого каллуса без визуально просматривающихся меристематических очагов. Такую же картину наблюдали в этих вариантах у сортов Дипломат и Symfonia. У сортов Дипломат и Symfonia отмечено стабильное снижение морфогенетической активности каллусных клеток по сравнению с контрольным вариантом. У сорта Дипломат количество сформированных морфогенных каллусов снизилось от 77,5 % (в контроле) до 17,7 % (вариант 37,4 мг/л маннита). У сорта Symfonia снижение количества морфогенных каллусов было отмечено с варианта 36,4 мг/л маннита от 82,0 % до 1,9 % (вариант 38,0 мг/л маннита).

Анализируя способность генотипов на селективном фоне с маннитом формировать почки и побеги, было выявлено, что побеги в меристематических очагах формировались только в трех вариантах: контрольном, 30,0 и 36,4 мг/л маннита. Количество сформированных побегов снижалось с возрастанием концентрации маннита в среде (таблица 5).

Так, у сорта Светоч в контрольном варианте было сформировано 3,8 побегов на каллус, а в варианте 36,4 мг/л маннита – только 1,2 шт/каллус.

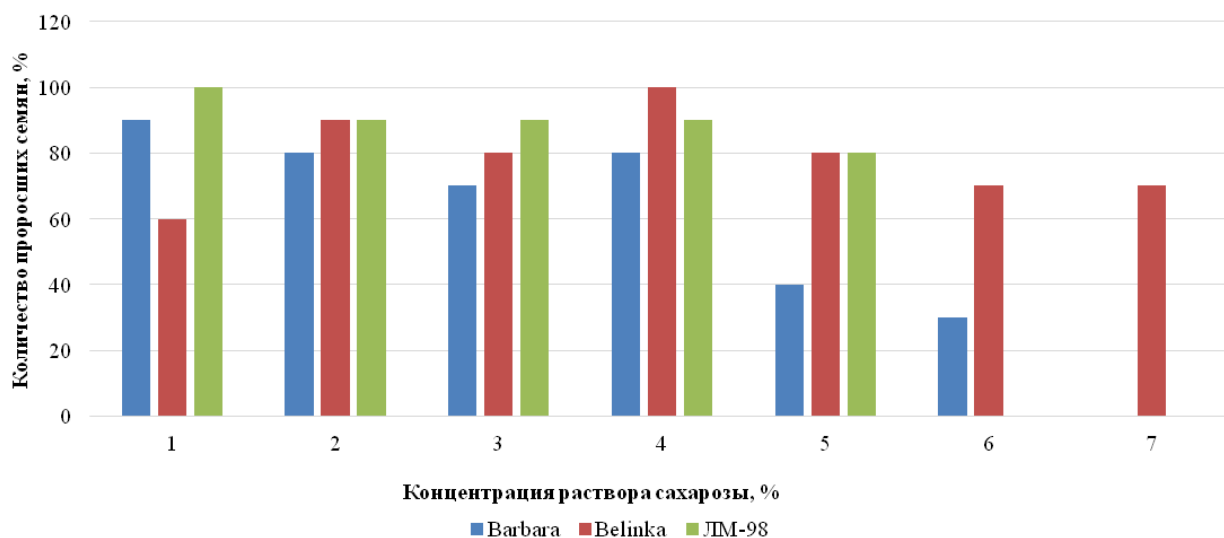


Рис. 3. Влияние сахарозы на энергию прорастания семян льна

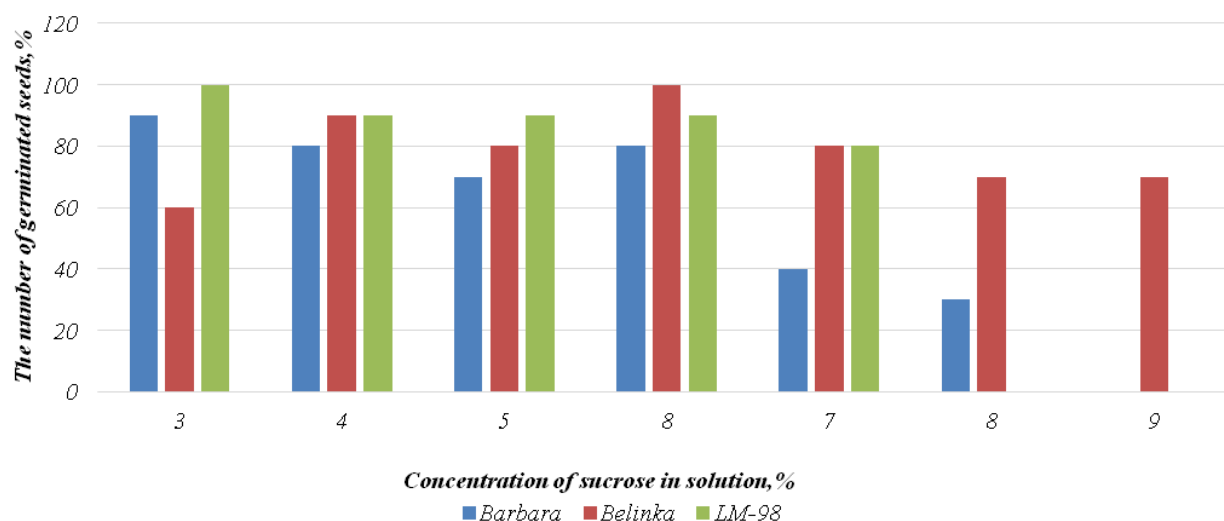


Fig. 3. Influence of sucrose on the germination energy of flax seeds

У сорта Дипломат побегообразовательная способность была самая низкая и составила в контрольном варианте 0,68 побегов на каллус, в варианте 30,0 мг/л маннита – 0,8 шт/каллус; в варианте 36,4 мг/л маннита – 0,63 шт/каллус.

У сорта Symfonia в контрольном варианте было сформировано 1,5 шт/каллус, в варианте 30,0 мг/л маннита – 1,1 шт/каллус; в варианте 36,4 мг/л маннита – 1,0 шт/каллус.

Результаты исследований показали, что отбор устойчивых к манниту каллусных клеток с последующим формированием в меристематических очагах адвентивных почек и побегов можно проводить на средах, содержащих 30,0 либо 36,4 мг/л осмотика.

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

По результатам исследований получены экспериментальные данные о воздействии осмотиков (сахароза, маннит) на развитие семян, гипокотилей и каллуса льна, выявлены генотипические различия изучаемых сортов.

При подборе оптимальных концентраций сахарозы для определения ее влияния на энергию роста и развитие корешков семян льна, выявлены наиболее оптимальные – 5,0, 6,0 и 7,0 %. В этих вариантах проросло 10–80 % семян у сорта Belinka, 80–100 % семян у сорта Barbara, 80–90 % семян у линии ЛМ-98.

Отбор устойчивых к манниту каллусных клеток с последующим формированием в меристематических очагах адвентивных почек и побегов можно проводить на средах, содержащих 30,0 либо 36,4 мг/л осмотика.

Библиографический список

1. Dmitriev A. A., Krasnov G. S., Rozhmina T. A., et al. Glutathione S-transferases and UDP-glycosyltransferases Are Involved in Response to Aluminum Stress in Flax // *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. Article number 1920. DOI: 10.3389/fpls.2016.01920.
2. Dmitriev A. A., Kudryavtseva A. V., Bolsheva N. L., et al. MIR319, MIR390, and MIR393 are involved in aluminum response in flax (*Linum usitatissimum* M. L.) // *Bio Med Research International*. 2017. Vol. 2017. Article number 4975146. DOI: 10.1155/2017/4975146.

3. Понажев В. П. Влияние методов отбора растений на эффективность создания оригинальных семян льна-долгунца в первичном семеноводстве // *Аграрный вестник Верхневолжья*. 2020. № 2 (31). С. 51–56.
4. Dmitriev A. A., Krasnov G. S., Rozhmina T. A., et al. Differential gene expression in response to *Fusarium oxysporum* infection in resistant and susceptible of flax (*Linum usitatissimum* L.) // *BMC Plant Biologi*. 2017. No. 17. Supp. 2. Article number 253. DOI: 10.1186/s12870-017-1192-2.
5. Пролетова Н. В. Селективная система *in vitro* «ГРИБ *COLLETOTRICHUM LINI* – ЛЁН» – эффективный способ создания генотипов, устойчивых к антракнозу // *Вестник Новосибирского государственного аграрного университета*. 2019. Т. 2. С. 42–50.
6. Тищенко В. А., Козельцева В. Ф., Кузнецова Н. Н. Повторяемость засушливых периодов в Москве в теплое полугодие // *Труды гидрометеорологического научно-исследовательского центра Российской Федерации*. 2016. № 359. С. 161–177.
7. Бугара И. А., Юнусова Э. А. Клеточная селекция каллусных культур *Glycine max* на устойчивость к осмотическому стрессу // *Экосистемы*. № 8 (38). 2016. С. 83–87.
8. Сельдимирова О. А. Тестирование селективных агентов для оценки яровой мягкой пшеницы на устойчивость к засухе // *Экобиотех*. 2019. Т. 2. № 1. С. 51–62.
9. Пакуль В. Н., Плиско Л. Г. Засухоустойчивость сортов яровой мягкой пшеницы // *Международный научно-исследовательский журнал*. 2018. № 12 (78). Ч. 2. С. 49–52.
10. В Австралии начнут испытывать устойчивую к засухе пшеницу [Электронный ресурс] // *Крестьянские ведомости*. Газета агробизнеса. URL: <https://kvedomosti.ru/news/43819.html> (дата обращения: 25.08.2020).
11. Rueda D. G. Récord para la historia: tras 20 años, la producción de maíz superó a la de soja [Электронный ресурс]. URL: <https://www.lanueva.com/nota/2020-8-11-6-30-53-record-para-la-historia-tras-20-anos-la-produccion-de-maiz-supero-a-la-de-soja> (дата обращения: 25.08.2020).
12. Манукян И. Р., Басиева М. А., Мирошникова Е. С., Абиев В. Б. Оценка адаптивности генотипов озимой пшеницы к засушливым условиям предгорной зоны центрального Кавказа // *Аграрный вестник Урала*. 2019. № 5 (184). С. 17–22.
13. Кокина Л. П., Щенникова И. Н. Зайцева И. П. Оценка коллекционных образцов ячменя на устойчивость к осмотическому стрессу // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2018. Том 66. № 5. С. 40–44.
14. Виноградова Е. Г. К разработке методики клеточной селекции получения устойчивых эксплантов льна к абиотическим факторам среды // *Вестник Тверского государственного университета*. Серия: Биология и экология. 2019. № 2 (54). С. 289–296.
15. Пролетова 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.

Об авторах:

Елена Григорьевна Виноградова¹, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник, ORCID 0000-0002-0209-1626, AuthorID 317437; +7 (48251) 9-18-44, +7 904 007-32-68, egv.vinogradova@yandex.ru

¹ Федеральный научный центр лубяных культур, Тверь, Россия

Reaction of flax seeds and explants to osmotic stress

E. G. Vinogradova¹✉

¹ Federal Scientific Center of Bast Crops, Tver, Russia

✉ E-mail: egv.vinogradova@yandex.ru

Abstract. Purpose. Obtaining experimental data for the development of methods for obtaining fiber flax forms resistant to stress factors (drought) by cell selection methods. **Methods.** The work was carried out in the Tver region in the laboratory of breeding technologies in 2017–2019. The flax varieties Varbara, Belinka, LM-98, Svetoch, Diplomat, Symfonia were used as objects of research. The seeds were obtained from the National Flax Collection Federal state budgetary scientific institution “Federal scientific center of lubyakultur”. The effect of sucrose solution on the length of the primary root was detected at concentrations of 0, 8.7, 14.9 %. To assess the energy of seed germination under osmotic stress, the concentration of sucrose was reduced and the range from 0 (control) to 9 % was considered. **Results.** Sucrose as a selective agent in the culture of immature flax embryos *in vitro* at a concentration of 5.0–7.0 % can be selective only for certain genotypes, for example, the Svetoch variety. When culturing callus tissues, using mannitol as an osmotic at concentrations of 0; 30.0; 36.4; 37.0; 37.4; 38.0 mg/l, selection of resistant callus cells with subsequent formation in meristematic foci of adventive buds and shoots can be carried out on media containing 30.0 or 36.4 mg/l osmotic. **The scientific novelty** of the research lies in the fact that the method for obtaining *in vitro* resistant explants to osmotic stress for flax is being developed for the first time.

Keywords: flax (*Linum usitatissimum* L.), sucrose, mannitol, drought resistance, seeds, hypocotyl segments, immature embryos.

For citation: Vinogradova E. G. Reaktsiya semyan i eksplantov l'na na osmoticheskiy stress [Reaction of flax seeds and explants to osmotic stress] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2021. No. 02 (205). Pp. 56–64. DOI: 10.32417/1997-4868-2021-205-02-56-64. (In Russian.)

Paper submitted: 18.09.2020.

References

1. Dmitriev A. A., Krasnov G. S., Rozhmina T. A., et al. Glutathione S-transferases and UDP-glycosyltransferases Are Involved in Response to Aluminum Stress in Flax // *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. Article number 1920. DOI: 10.3389/fpls.2016.01920.
2. Dmitriev A. A., Kudryavtseva A. V., Bolsheva N. L., et al. MIR319, MIR390, and MIR393 are involved in aluminum response in flax (*Linum usitatissimum* M. L.) // *Bio Med Research International*. 2017. Vol. 2017. Article number 4975146. DOI: 10.1155/2017/4975146.
3. Ponazhev V. P. Vliyaniye metodov otbora rasteniy na effektivnost' sozdaniya original'nykh semyan l'na-dolguntsa v pervichnom semenovodstve [The influence of methods of creating original fiber flax seeds on their yield and quality] // *Agrarnyy vestnik Verkhnevolzh'ya*. 2020. No. 2 (31). Pp. 51–56. (In Russian.)
4. Dmitriev A. A., Krasnov G. S., Rozhmina T. A., et al. Differential gene expression in response to *Fusarium oxysporum* infection in resistant and susceptible of flax (*Linum usitatissimum* L.) // *BMC Plant Biologi*. 2017. No. 17. Supp. 2. Article number 253. DOI: 10.1186/s12870-017-1192-2.
5. Proletova N. V. Selektivnaya sistema in vitro "GRIB COLLETOTRICHUM LINI – LEN" – effektivnyy sposob sozdaniya genotipov, ustoychivyykh k antraknozu [Selective system in vitro "FUNGI COLLETOTRICHUM LINI – LINEN" as an efficient way to find out genotypes resistant to the pod spot] // *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University)*. 2019. T. 2. Pp. 42–50. (In Russian.)
6. Tishchenko V. A., Kozel'tseva V. F., Kuznetsova N. N. Povtoryaemost' zasushlivyykh periodov v Moskve v teploe polugodie [Repeatability of periods of aridity in moscow during the warm half of the year] // *Proceedings of the Hydrometeorological Research Center of the Russian Federation*. 2016.No. 359. Pp. 161–177. (In Russian.)
7. Bugara I. A., Yunusova E. A. Kletochnaya selektsiya kallusnykh kul'tur *Glycine max* na ustoychivost' k osmoticheskomu stress [Cell selection of callus cultures *glycine max* for resistance to osmotic stress] // *Ekosistemy*. 2016. No. 8 (38). Pp. 83–87.
8. Sel'dimirova O. A. Testirovaniye selektivnykh agentov dlya otsenki yarovoy myagkoy pshenitsy na ustoychivost' k zasukhe [Testing of selective agents for evaluation of spring soft wheat for drought resistance] // *Ekobiotech*. 2019. T. 2. No. 1. Pp. 51–62. (In Russian.)
9. Pakul' V. N., Plisko L. G. Zasukhoustoychivost' sortov yarovoy myagkoy pshenitsy [Drought-resistance of varieties of spring soft wheat] // *International Research Journal*. 2018. No. 12 (78). Ch. 2. Pp. 49–52. (In Russian.)
10. V Avstralii nachnut ispytyvat' ustoychivuyu k zasukhe pshenitsu [Australia will start testing drought-resistant wheat] [e-resource] // *Krest'yanskije vedomosti. Gazeta agrobiznesa*. URL: <https://kvedomosti.ru/news/43819.html> (date of reference: 25.08.2020). (In Russian.)
11. Rueda G. D. Récord para la historia: tras 20 años, la producción de maíz superó a la de soja [e-resource]. URL: <https://www.lanueva.com/nota/2020-8-11-6-30-53-record-para-la-historia-tras-20-anos-la-produccion-de-maiz-supero-a-la-de-soja> (date of reference: 25.08.2020).
12. Manukyan I. R., Basieva M. A., Miroshnikova E. S., Abiev V. B. Otsenka adaptivnosti genotipov ozimoy pshenitsy k zasushlivym usloviyam predgornoy zony tsentral'nogo Kavkaza [Assessment of ecological plasticity of winter wheat varieties in the conditions of a foothill zone of the central Caucasus] // *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2019. No. 5 (184). Pp. 17–22. (In Russian.)
13. Kokina L. P., Shchennikova I. N., Zaytseva I. P. Otsenka kolleksiionnykh obraztsov yachmenya na ustoychivost' k osmoticheskomu stressu [Estimation of barley collection samples on resistance to osmotic stress] // *Agricultural Science Euro-North-East*. 2018. T. 66. No. 5. Pp. 40–44. (In Russian.)
14. Vinogradova E. G. K razrabotke metodiki kletochnoy selektsii polucheniya ustoychivyykh eksplantov l'na k abioticheskim faktoram sredy [To the development of a method of cell selection for obtaining flax explants stable to abiotic factors of the environment] // *Bulletin of Tver State University. Series: Biology and Ecology*. 2019. No. 2 (54). Pp. 289–296. (In Russian.)
15. Proletova N. V. Ispol'zovaniye biotekhnologicheskikh metodov dlya sozdaniya novyykh genotipov l'na, ustoychivyykh k antraknozu [Use of biotechnological methods for the development of new flax genotypes resistant to anthracnose] // *Achievements of Science and Technology of AIC*. 2019. T. 33. No. 8. Pp. 24–28. (In Russian.)

Authors' information:

Elena G. Vinogradova¹, candidate of biological sciences, senior researcher, leading researcher, ORCID 0000-0002-0209-1626, AuthorID 317437; +7 (48251) 9-18-44, +7 904 007-32-68, egv.vinogradova@yandex.ru

¹ Federal Scientific Center of Bast Crops, Tver, Russia