

МІЩЕНКО С. В., КРИВОШЕЄВА Л. М.

Інститут луб'яних культур НААН

вул. Терещенків, 45, Глухів, Сумська обл., 41400, Україна

E-mail: serhii-mishchenko@ukr.net

КАЛЮСОГЕНЕЗ І ОРГАНОГЕНЕЗ В УМОВАХ *IN VITRO* РІЗНИХ ЗРАЗКІВ *LINUM USITATISSIMUM L.*

Вид *Linum usitatissimum L.* значною мірою здатний до утворення калюсу і регенерації пагонів в умовах *in vitro* за умови культивування при фотоперіоді 16 год, відносній вологості 60–80 %, температурі повітря 22–24°C на агаризованому живильному середовищі Мурасіге і Скуга, доповненому 0,05 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти (НОК), 1,0 мг/л 6-бензиламінопурина (БАП) та 30 г/л сахарози. Частота і інтенсивність калюсогенезу і органогенезу залежить від генотипу. Частота калюсогенезу в межах досліджуваних зразків складала 15–100 %, маса калюсу з одного експланта – 0,56–1,51 г, частота органогенезу – 10,0–93,8 %, кількість пагонів – 1,4–4,0 шт. і висота пагонів – 0,78–2,37 см. За комплексом ознак (частота калюсоутворення, частота органогенезу і кількість пагонів) виділились колекційні зразки: Глінум (UF0401603), Кром (UF0401494), Visamo (1–356)/L. monnseo (UF0402178), Ручеек (UF0401897) і СКі-1 (UF0402143). Найбільша частота калюсогенезу і органогенезу на гіпокотильних і епикотильних експлантах властива льону-довгунцю і льону олійному. Найбільшу масу калюсу з експланта, кількість регеноерованих пагонів і їх висоту формує льон-межеумок, який має найбільший розмах варіації досліджуваних ознак.

Ключові слова: льон, колекційні зразки, *in vitro*, фітогормони, калюс, органогенез.

ВСТУП

Культивування рослинних клітин і тканин *in vitro* супроводжується виникненням значного цитоморфологічного і генетичного різноманіття як у калюсних тканинах, так і в рослин-регенерантів [1], що створює основу для подальшого використання їх у селекції. Вид льон звичайний (*Linum usitatissimum L.*) в останні роки знаходиться в центрі багатьох як фундаментальних, так і прикладних біотехнологічних досліджень. Обґрунтовуються стратегії застосування явища регенерації рослинних клітин і тканин, методів соматичного ембріогенезу, культури ізольованих протопластів, клітинних суспензій тощо. Важливою галуззю досліджень є використання в селекційних програмах культури пиляків і подвоєних гаплоїдів. Розглядаються нові технології перенесення та експресії генів за допомогою генетичної трансформації, підкреслюючи перспективність даної сільськогосподарської культури [2, 3].

Культура пиляків досить часто використовується в біотехнологічних дослідженнях, хоча вона і є менш ефективною в регенерації рослин льону, порівняно з культурою соматичних клітин, однак регенеранти, отримані саме з клітин пиляків, мають підвищену стійкість до фузаріозного в'янення [4]. При цьому для індукції калюсу більш ефективно застосовувати два джерела вуглеводів – 2,5 % сахарози і 2,5 % глюкози, для утворення пагонів доцільним було використання лише сахарозу і в нижчій концентрації (2,0 %) [4]. За іншими даними найкраща регенерація пагонів була на середовищі з мальтозою, а найліпше утворення коренів спостерігали на середовищі з сахарозою [5], або ж більшу інтенсивність калюсогенезу у пиляків отримано при включенні в середовище лактози, порівняно з

сахарозою [6], однак заміна сахарози іншими вуглеводами може знижувати або повністю пригнічувати утворення пагонів.

Досліджено вплив попередньої обробки рослин-донорів, генотипу (сорт) і екзогенних регуляторів росту на індукцію калюсоутворення в культурі пиляків льону. Пиляки рослин-донорів, вирощених в умовах більш низьких температур (14 – 18°C), значно збільшували калюсоутворення, порівняно з пиляками, вирощеними за більш високих температур (18 – 22°C). Результати спостережень показали, що комбінації регуляторів росту повинні бути розроблені окремо для кожного генотипу. Для певних сортів (зразків) прийнятні наступні комбінації: 0,1 мг/л БАП і 0,2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти (2,4-Д); 0,2 мг/л БАП і 0,1 мг/л НОК; 0,1 мг/л БАП і 0,2 мг/л індол-3-оцтової кислоти (ІОК). Залежно від генотипу потрібно доповнити живильне середовище 6, 9 або 12 % сахарози [7–9]. Температура культивування пиляків впливає на індукцію гаплоїдних новоутворень, а саме – кількість пиляків з калюсогенезом була більшою за температури 28°C, порівняно з 33 і 6°C [10].

Для індукції соматичного калюсогенезу і органогенезу у льону в умовах *in vitro* описано успішний досвід використання 0,005 мг/л 2,4-Д і 0,1-мг/л БАП [11], а також тїдазурону (ТДЗ) з метою утворення пагонів на гіпокотилі [12]. У культурі клітинної суспензії оптимальним є додавання фітогормонів БАП (0,5 мг/л) і НОК (0,1 мг/л), у той же час висока концентрація БАП у рідкому середовищі обмежувала проліферацію клітин і зменшувала утворення біомаси [13].

Інший напрям досліджень – це отримання калюсної тканини із зародків чи зав'язей льону і подальша регенерація пагонів. Частота калюсоутворення варіювала в широких межах у залежності від сорту і складу середовища (9,2 – 100 %), частота утворення калюсу в 5-ти чутливих сортів знаходилась у межах від 4,2 до 75 %, тоді як у решти 3-х сортів органогенез не відбувався. У більшості випадків найвища частота регенерації пагонів отримана на середовищі, доповненому 0,2 мг/л ТДЗ і 0,1 мг/л НОК. Цитологічний аналіз показав, що 21,9 % рослин-регенерантів були гаплоїдами, а інша група регенерантів – диплоїдами або міксоплоїдами (78,1 %) [14].

Було встановлено, що ефективність органогенезу залежить не лише від визначення оптимальних концентрацій і комбінацій ауксинів і цитокінінів у середовищі, а й від конкуренції серед культивованих експлантів. Різний ступінь конкуренції серед експлантів (гіпокотильних сегментів) був досягнутий шляхом зміни між ними відстані в чашках Петрі. При відстані 1,0 см, порівняно з розміщенням через 2,0 см, збільшувалась кількість регенерантів та їх довжина. При зменшенні відстані до 0,5 см спостерігали явище стресу і зменшення частоти органогенезу та розмірів утворених пагонів [15].

Слід зазначити, що в кожному конкретному дослідженні, описаному вище, у культуру *in vitro* залучено невелику кількість генотипів (сортів), тому актуальним залишилось питання вивчення порівняно великої кількості колекційних зразків льону.

Мета досліджень – встановити частоту й інтенсивність калюсогенезу та органогенезу в колекційних зразків льону звичайного (*L. usitatissimum* L.) різного генетичного походження та відмінності серед групи різновидів: довгунець (convar. *elongatum*), межеумок (convar. *intermedia*), олійний (convar. *humile*); за комплексом ознак виділити цінні генотипи, які найбільш придатні для використання і мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*.

МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИ ТА УМОВИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженнях використано 15 зразків *L. usitatissimum* L. 3 різновидів: довгунець – сорт-стандарт Глінум (UF0401603), Кром (UF0401494), Орион (UF0401867), Есмань (UF0402071), Белита (UF0402134); межеумок – Nor Man (UF0401792), Marun M.A. (UF0401819), Lisa (UF0401830), Taragvi (UF0401864), Visamo (1–356)/*L. monnseo* (UF0402178); олійний – Ручеек (UF0401897), Lirina (UF0401900), Опус (UF0402142), SKi-1 (UF0402143), Ruta (UF0402228). Вони походять з різних країн і належать до різних груп за

габітусом і господарським призначенням. Також для порівняння залучено зразок льону прямого (*L. strictum* L.) (UF0401841) і льону багаторічного (*L. perenne* L.).

Насіння стерилізували 1,5 %-м водним розчином натрій гіпохлориту (NaOCl) з експозицією 12,5 – 15 хв., три рази промивали стерильною дистильованою водою. Насіння кожного зразка пророщували на агаризованому безгормональному живильному середовищі Мурасіге і Скуга [16] з 10 г/л сахарози. На 7 – 15-ту добу з проростків брали гіпокотильні та епикотильні сегменти довжиною 2 – 3 мм, які культивували в однакових умовах – на середовищі Мурасіге і Скуга, доповненому 0,05 мг/л НОК, 1,0 мг/л БАП та 30 г/л сахарози. Це досить поширений фітогормональний склад для індукції калюсогенезу і органогенезу в льону. Фотоперіод становив 16 год, відносна вологість – 60 – 80 %, температура повітря – 22 – 24°C.

Обліки проводили на 35-ту добу культивування за ознаками: частота калюсогенезу (відсоток експлантів, на яких утворився калюс), маса калюсу з одного експланта, частота органогенезу (частка калюсів, на яких утворились пагони), кількість пагонів, що утворились (без урахування меристематичних зон і зачаткових пагонів), і висота нормально розвинених пагонів. Вибірка – не менше 30 експлантів і спостережень для кожного колекційного зразка. До зразків, що виділились за тим чи іншим показником, належало близько третини зразків з найвищим значенням досліджуваної ознаки.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Загалом, рослини роду *Linum* L. і вид *L. usitatissimum* L. за зазначених умов культивування і фітогормонального складу значною мірою здатні до утворення калюсу і пагонів з нього в умовах *in vitro*. Частота й інтенсивність калюсогенезу і в подальшому органогенезу залежить від генотипу (рис. 1, 2).

Частота калюсоутворення становила від 15,0 % у зразка Lisa до 100 % у решти зразків, крім Taragvi, тобто гіпокотильні та епикотильні сегменти досліджуваних генотипів завжди формували калюс. У зразка Lisa спостерігалась внутрішньопопуляційна мінливість за здатністю утворювати калюс: з експлантів, взятих з однієї рослини він завжди формується, а з експлантів, взятих з іншої рослини – ніколи. Маса калюсу з одного експланта за 35 днів культивування становила від 0,56 г (Опус) до 1,51 г (Taragvi). Найбільш інтенсивно накопичували калюс наступні зразки: Taragvi (1,51 г), Кром (1,45 г), Нор Ман (1,25 г), Ruta (1,18 г) і Орион (0,97 г) (табл.). Слід зазначити, що від маси калюсу не залежала частота органогенезу ($r = 0,01$), між ознаками маси калюсу з експланта і кількості пагонів існував додатний слабкий взаємозв'язок ($r = 0,29$), а між ознаками маси калюсу і висоти пагонів встановлено додатний середній взаємозв'язок ($r = 0,46$).



Рис. 1. Формування пагонів з калюсної тканини *L. usitatissimum* L. (зразок Глінум)



Рис. 2. Формування пагонів з калюсної тканини різних видів роду *Linum* L.: *L. usitatissimum* L. (1), *L. strictum* L. (2) і *L. perenne* L. (3)

Частота органогенезу коливалась у межах від 10,0 % (зразок Lisa) до 93,8 % (Глінум і Марун М.А.). Найбільш здатними до органогенезу виявились зразки: Глінум, Марун М.А. (93,8 %), Visamo (1–356)/*L. monnseo* (90,6 %), Кром, Ручеек та Lirina (87,5 %). Багато меристематичних зон спостерігали у Taragvi, що походить з Румунії, та Visamo (1–356)/*L. monnseo*, що походить з Чехії. Рівномірний розвиток пагонів був притаманний Nor Man (країна походження – Канада). Кількість пагонів, які формувались із калюсної тканини під впливом фітогормонів, становила від 1,4 шт. (Есмань) до 4,0 шт. (Taragvi та Visamo (1–356)/*L. monnseo*). За даною ознакою можна виділити наступні зразки: Taragvi, Visamo (1–356)/*L. monnseo* (4,0 шт.), Глінум, Кром, Ручеек і СКі-1 (3,0 шт.). Висота регенованих пагонів на 35-ту добу досягала значення від 0,78 см (Есмань) до 2,37 см (Taragvi). Зразки Белита і Опус давали дуже слабкі рослини-регенеранти. Загалом, найбільш інтенсивним ростом пагонів у довжину з калюсної тканини характеризувались колекційні зразки: Taragvi (2,37 см), Visamo (1–356)/*L. monnseo* (1,50 см), Ruta (1,40 см), Марун М.А. (1,31 см) та СКі-1 (1,30 см).

За комплексом ознак (частота калюсоутворення, частота органогенезу і кількість пагонів) виділились зразки: Глінум, Кром, Visamo (1-356)/*L. monnseo*, Ручеек і СКі-1.

Визначення середнього арифметичного різновидів (льон-довгунець, межеумок і олійний) показало, що калюс утворюється у 100 % експлантів у довгунця й олійного, менш чутливим до культури *in vitro* і дії зазначених екзогенних регуляторів росту є межеумок (частота калюсогенезу 75,0 %), однак він характеризується найвищим розмахом варіації (різницею між максимальним і мінімальним значенням) ознаки і масою калюсу з експланта ($1,12 \pm 0,10$ г), порівняно з довгунцем ($0,93 \pm 0,08$ г) і олійним ($0,86 \pm 0,07$ г) (рис. 3).

Подібно частота органогенезу була найвищою в льону олійного (73,9 %), а найменшою в межеумка (63,9 %), але з дуже високим розмахом варіації. При цьому

найбільша кількість пагонів сформувалась у льону-межеумка ($2,6 \pm 0,3$ шт.), порівняно з $2,3 \pm 0,2$ шт. у довгунця й $2,4 \pm 0,2$ шт. в олійного. Висота пагонів льону-межеумка ($1,39 \pm 0,13$ см) значно перевищувала показник довгунця ($0,91 \pm 0,05$ см) і олійного ($1,15 \pm 0,14$ см). До того ж останні мали мінімальний розмах варіації.

Таблиця. Здатність різних зразків льону до калюсогенезу й органогенезу в умовах *in vitro*

| Номер Національ- ного каталога | Назва зразка | Країна походження | Інтенсивність калюсогенезу | | Інтенсивність органогенезу | | |
|---|-----------------------------|----------------------|----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | | | Частота калюсоутворення, % | Маса калюсу з експланта, г | Частота органогенезу, % | Кількість пагонів, шт. | Висота пагонів, см |
| Льон звичайний, довгунець | | | | | | | |
| UF0401603 | Глінум | Україна | 100,0 | $0,82 \pm 0,04$ | 93,8 | $3,0 \pm 0,20$ | $1,06 \pm 0,05$ |
| UF0401494 | Кром | Росія | 100,0 | $1,45 \pm 0,14$ | 87,5 | $3,0 \pm 0,28$ | $0,94 \pm 0,08$ |
| UF0401867 | Орион | Росія | 100,0 | $0,97 \pm 0,09$ | 78,1 | $2,5 \pm 0,15$ | $0,94 \pm 0,05$ |
| UF0402071 | Есмань | Україна | 100,0 | $0,70 \pm 0,06$ | 45,4 | $1,4 \pm 0,14$ | $0,78 \pm 0,05$ |
| UF0402134 | Белита | Білорусь | 100,0 | $0,70 \pm 0,05$ | 50,0 | $1,6 \pm 0,14$ | $0,85 \pm 0,04$ |
| Льон звичайний, межеумок | | | | | | | |
| UF0401792 | Nor Man | Канада | 100,0 | $1,25 \pm 0,13$ | 62,5 | $2,1 \pm 0,32$ | $0,98 \pm 0,04$ |
| UF0401819 | Marun M.A. | Аргентина | 100,0 | $0,75 \pm 0,09$ | 93,8 | $1,5 \pm 0,14$ | $1,31 \pm 0,08$ |
| UF0401830 | Lisa | Франція | 15,0 | $1,14 \pm 0,14$ | 10,0 | $1,5 \pm 0,16$ | $0,77 \pm 0,03$ |
| UF0401864 | Taragvi | Румунія | 62,5 | $1,51 \pm 0,09$ | 62,5 | $4,0 \pm 0,31$ | $2,37 \pm 0,33$ |
| UF0402178 | Visamo(1-356) /L.monaseo | Чехія | 100,0 | $0,94 \pm 0,07$ | 90,6 | $4,0 \pm 0,49$ | $1,50 \pm 0,17$ |
| Льон звичайний, олійний | | | | | | | |
| UF0401897 | Ручеек | Росія | 100,0 | $0,83 \pm 0,09$ | 87,5 | $3,0 \pm 0,18$ | $1,22 \pm 0,18$ |
| UF0401900 | Lirina | Германія | 100,0 | $0,92 \pm 0,04$ | 87,5 | $1,6 \pm 0,14$ | $0,94 \pm 0,06$ |
| UF0402142 | Опус | Білорусь | 100,0 | $0,56 \pm 0,07$ | 53,1 | $2,8 \pm 0,60$ | $0,90 \pm 0,05$ |
| UF0402143 | СКi-1 | США | 100,0 | $0,80 \pm 0,06$ | 78,1 | $3,0 \pm 0,14$ | $1,30 \pm 0,17$ |
| UF0402228 | Ruta | Литва | 100,0 | $1,18 \pm 0,10$ | 63,3 | $1,6 \pm 0,13$ | $1,40 \pm 0,25$ |
| HP _{0,05} | | | | | | | |
| | | | 18,3 | 0,22 | 18,3 | 0,7 | 0,33 |

Вивчення колекції генетичних ресурсів *L. usitatissimum* L. за здатністю і інтенсивністю калюсогенезу й органогенезу дозволило виділяти цінні генотипи, які придатні для створення вихідного селекційного матеріалу і мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*, здійснювати пошук співвідношення ауксинів і цитокинінів та зміни складу живильного середовища для більш ефективної індукції калюсогенезу і органогенезу у менш чутливих до *in vitro* генотипів.

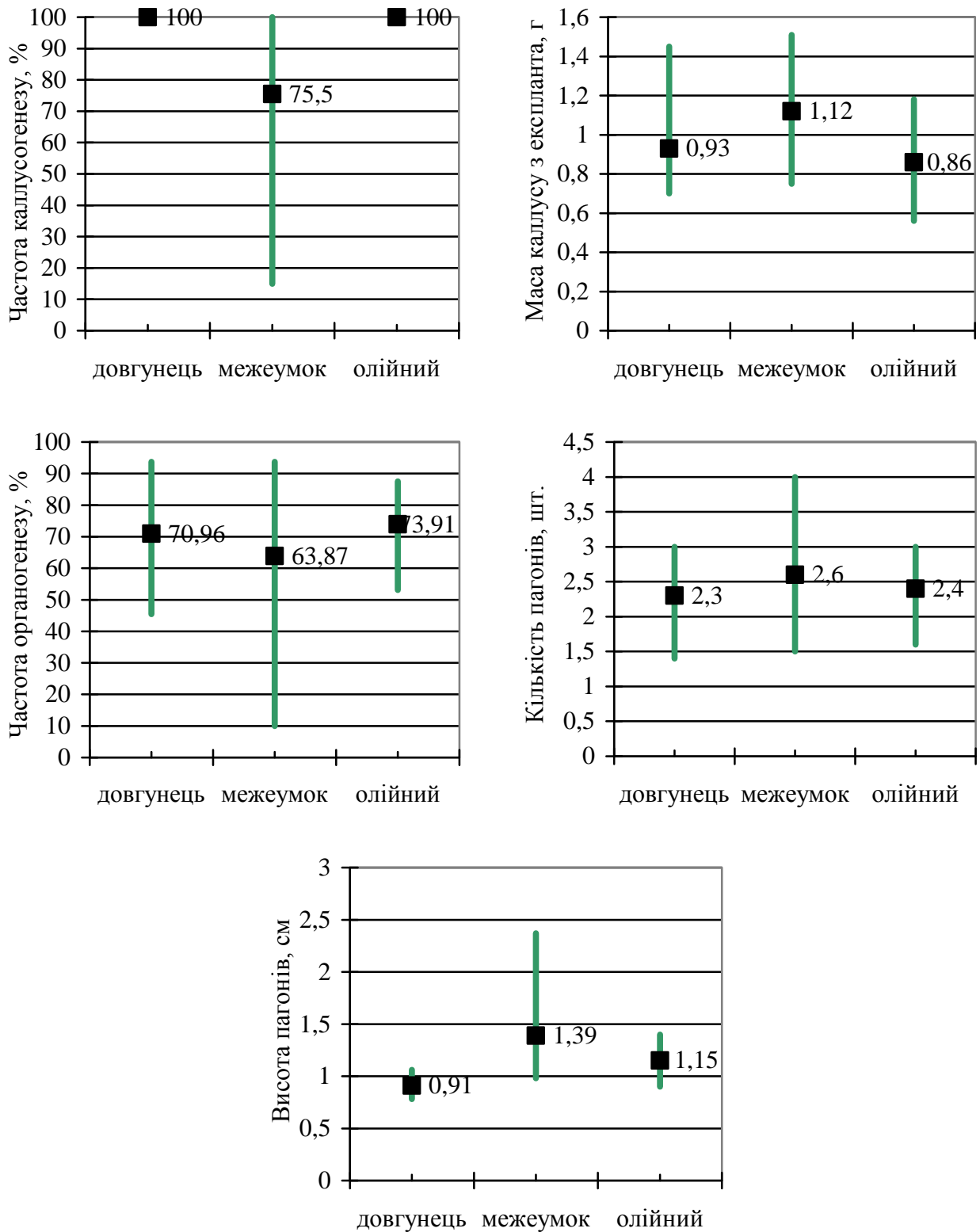


Рис. 3. Середні та граничні значення ознак інтенсивності калусогенезу і органогенезу в умовах *in vitro* різновидів *L. usitatissimum* L.

ВИСНОВКИ

Рослини виду *L. usitatissimum* L. значною мірою здатні до утворення калусу і регенерації пагонів в умовах *in vitro* за умови культивування при фотоперіоді 16 год, відносній вологості 60 – 80 %, температурі повітря 22 – 24°C на агаризованому живильному середовищі Мурасіге і Скуга, доповненому 0,05 мг/л НОК, 1,0 мг/л БАП та 30 г/л сахарози.

Частота і інтенсивність калюсогенезу й органогенезу залежить від генотипу. Частота калюсогенезу в межах досліджуваних зразків складала 15,0 – 100 %, маса калюсу з одного експланта – 0,56 – 1,51 г, частота органогенезу – 10,0 – 93,8 %, кількість пагонів – 1,4 – 4,0 шт. і висота пагонів – 0,78 – 2,37 см.

За комплексом ознак (частота калюсоутворення, частота органогенезу і кількість пагонів) виділились колекційні зразки: Глінум, Кром, Visamo (1-356)/L. monnseo, Ручеек і СКі-1. Найбільша частота калюсогенезу й органогенезу на гіпокотильних і епикотильних експлантах властива льону-довгунцю і олійному, найбільшу масу калюсу з експланта, кількість регенованих пагонів і їх висоту формує межеумок, який має найбільших розмах варіації досліджуваних ознак.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кунах В. А. Изменчивость растительного генома в процессе дедифференцировки и калусообразования *in vitro*. Физиология растений. 1999. Т. 46, № 6. С. 919–929.
2. Millam S., Obert B., Pret'ová A. Plant cell and biotechnology studies in *Linum usitatissimum* – a review. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2005. Vol. 82, Iss. 1. P. 93–103. DOI: 10.1007/s11240-004-6961-6
3. Evtimova M., Vlahova M., Atanasov A. Flax improvement by biotechnology means. Journal of Natural Fibers. 2005. Vol. 2, Iss. 2. P. 17–34. DOI: 10.1300/J395v02n02_02
4. Rutkowska-Krause I., Mankowska G., Lukaszewicz M., Szopa J. Regeneration of flax (*Linum usitatissimum* L.) plants from anther culture and somatic tissue with increased resistance to *Fusarium oxysporum*. Plant Cell Reports. 2003. Vol. 22, Is. 2. P. 110–116. DOI: 10.1007/s00299-003-0662-1
5. Millam S., Davidson D., Powell W. The use of flax (*Linum usitatissimum*) as a model system for studies on organogenesis *in vitro*: the effect of different carbohydrates. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 1992. Vol. 28, Iss. 2. P. 163–166. DOI: 10.1007/BF00055512
6. Chen Y., Dribnenki P. Effect of genotype and medium composition on flax *Linum usitatissimum* L. anther culture. Plant Cell Reports. 2002. Vol. 21, Iss. 3. P. 204–207. DOI: 10.1007/s00299-002-0500-x
7. Burbulis N., Blinstrubienė A., Sliesaravičius A., Venskutonienė E. Influence of genotype, growth regulators, sucrose level and preconditioning of donor plants on flax (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. Acta Biologica Hungarica. 2005. Vol. 56, Iss. 3–4. P. 323–331. DOI: 10.1556/ABiol.56.2005.3-4.15
8. Burbulis N., Blinstrubienė A. Genotypic and exogenous factors affecting linseed (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. Journal of Food, Agriculture and Environment. 2011. Vol. 9, Iss. 3–4. P. 364–367. DOI: 10.1234/4.2011.2285
9. Burbulis N., Blinstrubienė A., Masienė R., Jonytienė V. Influence of genotype, growth regulators and sucrose concentration on linseed (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. Journal of Food, Agriculture and Environment. 2012. Vol. 10, Iss. 3–4. P. 764–767. DOI: 10.1234/4.2012.3509
10. Сорока А. И. Особенности подготовки материала и культивирования *in vitro* пыльников льна при получении гаплоидных растений. Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. 2010. № 2. С. 13–18.
11. Siegień I., Adamczuk A., Wróblewska K. Light affects *in vitro* organogenesis of *Linum usitatissimum* L. and its cyanogenic potential. Acta Physiologiae Plantarum. 2013. Vol. 35, Iss. 3. P. 781–789. DOI: 10.1007/s11738-012-1118-4
12. Mundhara R., Rashid A. TDZ-induced triple-response and shoot formation on intact seedlings of *Linum*, putative role of ethylene in regeneration. Plant Science. 2006. Vol. 170, Iss. 2. P. 185–190. DOI: 10.1016/j.plantsci.2005.06.015
13. Seta-Koselska A., Skórzyńska-Polit E. Optimization of *in vitro* culture conditions for obtaining flax (*Linum usitatissimum* L. cv. Modran) cell suspension culture. BioTechnologia. 2017. Vol. 98, Iss. 3. P. 183–188. DOI: 10.5114/bta.2017.70796

14. Blinstrubienė A., Burbulis N., Masiene R. Genotypic and exogenous factors affecting linseed ovary culture. *Zemdirbyste-Agriculture*. 2017. Vol. 104, No. 3. P. 243–248. DOI: 10.13080/z-a.2017.104.031
15. Yildiz M., Sağlık C., Telci C., Erkiliç E. G. The effect of *in vitro* competition on shoot regeneration from hypocotyl explants of *Linum usitatissimum*. *Turkish Journal of Botany*. 2011. Vol. 35, Iss. 2. P. 211–218. DOI: 10.3906/bot-1005-26
16. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15, Iss. 3. P. 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

REFERENCES

1. Kunakh VA. Variability of the plant genome in the process of dedifferentiation and callus formation *in vitro*. *Fiziologiya Rasteniy*. 1999. 46(6): 919–929.
2. Millam S, Obert B, Pretova A. Plant cell and biotechnology studies in *Linum usitatissimum* – a review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2005. 82(1): 93–103. DOI: 10.1007/s11240-004-6961-6
3. Evtimova M, Vlahova M, Atanasov A. Flax improvement by biotechnology means. *Journal of Natural Fibers*. 2005. 2(2): 17–34. DOI: 10.1300/J395v02n02_02
4. Rutkowska-Krause I, Mankowska G, Lukaszewicz M, Szopa J. Regeneration of flax (*Linum usitatissimum* L.) plants from anther culture and somatic tissue with increased resistance to *Fusarium oxysporum*. *Plant Cell Reports*. 2003. 22(2): 110–116. DOI: 10.1007/s00299-003-0662-1
5. Millam S, Davidson D, Powell W. The use of flax (*Linum usitatissimum*) as a model system for studies on organogenesis *in vitro*: the effect of different carbohydrates. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1992. 28(2): 163–166. DOI: 10.1007/BF00055512
6. Chen Y, Dribnenki P. Effect of genotype and medium composition on flax *Linum usitatissimum* L. anther culture. *Plant Cell Reports*. 2002. 21(3): P. 204–207. DOI: 10.1007/s00299-002-0500-x
7. Burbulis N, Blinstrubiene A, Sliesaravicius A, Venskutoniene E. Influence of genotype, growth regulators, sucrose level and preconditioning of donor plants on flax (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. *Acta Biologica Hungarica*. 2005. 56(3–4): 323–331. DOI: 10.1556/ABiol.56.2005.3-4.15
8. Burbulis N, Blinstrubiene A. Genotypic and exogenous factors affecting linseed (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 2011. 9(3–4): 364–367. DOI: 10.1234/4.2011.2285
9. Burbulis N, Blinstrubiene A, Masiene R, Jonytiene V. Influence of genotype, growth regulators and sucrose concentration on linseed (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 2012. 10(3–4): 764–767. DOI: 10.1234/4.2012.3509
10. Soroka AI. Peculiarities of donor plant preparation and flax anther cultivation *in vitro* for haploid plant production. *Visnyk Zaporizkoho Natsionalnoho Universytetu. Biological Sciences*. 2010. 2: 13–18.
11. Siegien I, Adamczuk A, Wróblewska K. Light affects *in vitro* organogenesis of *Linum usitatissimum* L. and its cyanogenic potential. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2013. 35(3): 781–789. DOI: 10.1007/s11738-012-1118-4
12. Mundhara R, Rashid A. TDZ-induced triple-response and shoot formation on intact seedlings of *Linum*, putative role of ethylene in regeneration. *Plant Science*. 2006. 170(2): 185–190. DOI: 10.1016/j.plantsci.2005.06.015
13. Seta-Koselska A, Skorzynska-Polit E. Optimization of *in vitro* culture conditions for obtaining flax (*Linum usitatissimum* L. cv. Modran) cell suspension culture. *BioTechnologia*. 2017. 98(3): 183–188. DOI: 10.5114/bta.2017.70796
14. Blinstrubiene A, Burbulis N, Masiene R. Genotypic and exogenous factors affecting linseed ovary culture. *Zemdirbyste-Agriculture*. 2017. 104(3): 243–248. DOI:

10.13080/z-a.2017.104.031

15. Yildiz M, Health C, Telci C, Erkilich EG. The effect of *in vitro* competition on shoot regeneration from hypocotyl explants of *Linum usitatissimum*. Turkish Journal of Botany. 2011. 35(2): 211–218. DOI: 10.3906/bot-1005-26
16. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 1962. 15(3): 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

Мищенко С. В., Кривошеева Л. М.
 Інститут лубяних культур НААН
 ул. Терещенков, 45, Глухов, Сумская обл., 41400, Украина
 E-mail: serhii-mishchenko@ukr.net

КАЛЛУСОГЕНЕЗ И ОРГАНОГЕНЕЗ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* РАЗЛИЧНЫХ ОБРАЗЦОВ *LINUM USITATISSIMUM* L.

Цель. Установить частоту и интенсивность каллусогенеза и органогенеза в условиях *in vitro* коллекционных образцов льна обыкновенного (*Linum usitatissimum* L.) различного генетического происхождения и отличия между группами разновидностей: долгунец (convar. *elongatum*), межеумок (convar. *intermedia*), масличный (convar. *humile*).

Результаты и обсуждение. Вид *L. usitatissimum* L. значительной степени способен к образованию каллуса и регенерации побегов в условиях *in vitro* при культивировании при фотопериоде 16 ч, относительной влажности 60 – 80 %, температуре воздуха 22 – 24°C на агаризированной питательной среде Мурасиге и Скуга, дополненной 0,05 мг/л 1-нафтилуксусной кислоты, 1,0 мг/л 6-бензиламинопурина и 30 г/л сахарозы. Частота и интенсивность каллусогенеза и органогенеза зависит от генотипа. У образцов Глинум (UF0401603), Кром (UF0401494), Орион (UF0401867), Есмань (UF0402071), Белита (UF0402134), Nor Man (UF0401792), Marun M.A. (UF0401819), Lisa (UF0401830), Taragvi (UF0401864), Visamo (1–356)/L. monnseo (UF0402178), Ручеек (UF0401897), Lirina (UF0401900), Опус (UF0402142), SKi-1 (UF0402143), Ruta (UF0402228) установлены минимальные и максимальные значения признаков: частота каллусогенеза (15 – 100 %), масса каллуса с одного экспланта (0,56 – 1,51 г), частота органогенеза (10,0 – 93,8 %), количество побегов (1,4 – 4,0 шт.) и высота побегов (0,78 – 2,37 см).

Выводы. По комплексу признаков (частота каллусогенеза, частота органогенеза и количество побегов) среди исследуемых выделились следующие коллекционные образцы: Глинум (Украина), Кром (Россия), Visamo (1-356)/L. monnseo (Чехия), Ручеек (Россия) и SKi-1 (США). Наибольшая частота каллусогенеза и органогенеза на гипокотильных и эпикотильных эксплантах свойственна льну-долгунцу и масличному, наибольшую массу каллуса с экспланта, количество регенерированных побегов и их высоту формирует межеумок, который имеет наибольший размах вариации исследуемых признаков.

Ключевые слова: лен, коллекционные образцы, *in vitro*, фитогормоны, каллус, органогенез.

Mishchenko S.V., Krivosheeva L.M.
 Institute of Bast Crops of NAAS
 45, Tereshchenkiv str., Hlukhov, Sumaska reg., 41400,
 Ukraine E-mail: serhii-mishchenko@ukr.net

IN VITRO CALLUSOGENESIS AND ORGANOGENESIS OF DIFFERENT *LINUM USITATISSIMUM* L. ACCESSIONS

Goal. The study of different genetic origin collection samples of flax (*Linum*

usitatissimum L.) for the frequency and intensity of callusogenesis and organogenesis in vitro conditions, the establishment of differences in convar. *elongatum*, *intermedia* and *humile* was the goal of our research.

Results and Discussion. The *L. usitatissimum* L. species is significantly capable of forming callus and shoot regeneration in vitro under cultivation conditions with a photoperiod of 16 hours, relative humidity of 60 – 80 %, air temperature of 22 – 24°C and agarized Murashige and Skoog medium, supplemented 0.05 mg/L of 1-naphthylacetic acid, 1.0 mg/L of 6-benzylaminopurine and 30 g/L of sucrose. The frequency and intensity of callusogenesis and organogenesis depends on the genotype. Minimum and maximum values of signs were set for Гліну́м (UF0401603), Кром (UF0401494), Орион (UF0401867), Есмань (UF0402071), Белита (UF0402134), Нор Ман (UF0401792), Марун М.А. (UF0401819), Лиса (UF0401830), Таравгі (UF0401864), Вісамо (1–356)/*L. monnseo* (UF0402178), Ручеек (UF0401897), Ліріна (UF0401900), Опус (UF0402142), СКі-1 (UF0402143), Рута (UF0402228) samples. The frequency of callusogenesis was 15.0 – 100 %, the calus mass from one explant was 0.56 – 1.51 g, the frequency of organogenesis was 10.0 – 93.8 %, the number of shoots was 1.4 – 4.0 pieces and the height of the shoots was 0.78 – 2.37 cm.

Conclusions. Collection samples of Гліну́м (Ukraine), Кром (Russia), Вісамо (1-356)/*L. monnseo* (Czech Republic), Ручеек (Russia) and СКі-1 (USA) were the best of complex signs (callusogenesis frequency, organogenesis frequency and number of shoots). *Elongata* flax and *humile* flax are characterized by the highest frequency of callusogenesis and organogenesis on hypocotyl and epicotyl explants, *intermedia* flax forms the largest mass of callus from the explant, the number of regenerated shoots and their height, *intermedia* flax has the greatest variation of the studied signs.

Key words: *flax, collection accessions, in vitro, phytohormones, callus, organogenesis.*

УДК 635.263:631.527

БІЛЕНЬКА О. М.

Інститут овочівництва і багтанництва НААН

Інститутська 1, Селекційне, Харківський р-н,

Харківська обл., 62478, Україна

E-mail: ovoch.iob@gmail.com

ОЦІНКА КОЛЕКЦІЙНИХ ЗРАЗКІВ ЦИБУЛІ ШАЛОТ У СЕЛЕКЦІЇ НА ВРОЖАЙНІСТЬ

У статті наведено результати оцінки 25 зразків цибулі шалот за врожайністю та стійкістю до вірусних хвороб. Виділено 5 зразків із дуже високим рівнем урожайності цибулин (більше 135 % до стандарту) із різних областей України: Д-135 (13,1 т/га) – із Дніпропетровської, Д-127 (13,9 т/га) – Полтавської, Д-15 (14,0 т/га) і Д-34 (14,9 т/га) – Харківської та Bonilla (15,9 т/га) – із Нідерландів. З високим рівнем урожайності (116 – 135 % до стандарту) виділились зразки з Дніпропетровської області: Д-136 (11,2 т/га), сорти Ольвія (12,3 т/га) та Кущівка харківська (12,6 т/га). За масою цибулини кращими були 10 зразків: Д-33 (14,2 г), Ольвія (14,5 г), Д-4 (14,7 г), Д-133 (15,1 г), Д-137 (15,2 г), Д-130 (15,7 г), Д-127 (15,9 г), Д-15 (16,6 г), Д-34 (18,3 г) та Bonilla (19,5 г). За «гніздністю» виділено 7 зразків із Дніпропетровської області – Д-136 (6,1 шт.), Д-137 (6,4 шт.) Д-123 (7,0 шт.), Д-124 (7,4 шт.), Д-135 (7,4 шт.), та Д-129 (8,0 шт.) і зразок із Нідерландів – Bonilla (6,1 шт.). За ступенем