

ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧНЫХ ИОНОВ АЛЮМИНИЯ НА РЕГЕНЕРАЦИОННУЮ СПОСОБНОСТЬ И МОРФОГЕНЕЗ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА *IN VITRO*

Пролётова Наталья Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Ерофеева Вероника Сергеевна, младший научный сотрудник, аспирант
ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур»

172002, РФ, Тверь, Комсомольский проспект, 17/56, тел.: 8 904 007 48 43, science.trk@fncl.ru

Ключевые слова: лён-долгунец, питательная среда, селективная среда, гипокотильные сегменты, морфогенный каллус, селекция *in vitro*

Для возделывания льна-долгунца необходим оптимальный интервал уровня кислотности почв – pH_{KCl} 5,2-5,6. Однако значительная пестрота почв в основных льносеющих регионах Российской Федерации по агрохимическим показателям и, прежде всего, по показателю уровня кислотности, способствует снижению урожайности культуры в этих условиях. Одним из путей решения проблемы может стать создание сортов, устойчивых к повышенной кислотности почвенного раствора, в том числе, биотехнологическими методами. Целью исследований, проводимых на базе лаборатории селекционных и биотехнологий ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур» (Тверская область) в 2021-2022 годах, являлась разработка методических подходов при селекции *in vitro* на устойчивость к повышенной кислотности почвы для создания новых, устойчивых к этому стрессовому фактору генотипов льна-долгунца. Изучалась возможность использования токсичных ионов алюминия в форме солей $AlCl_3$ и подборе концентраций этого селективного агента для целей селекции *in vitro*. На начальном этапе апробированы три концентрации раствора $AlCl_3$ – 44, 64, 84 мг/л. Выявлено токсическое действие $AlCl_3$ на прорастание семян льна-долгунца сортов Импульс, Феникс, Лидер, С-108, Союз, формирование первичных корешков и проростков - гипокотилей этих сортов. Показатель величины, обозначающей длину первичных корешков у проросших семян льна-долгунца, на седьмые сутки снижался с повышением концентрации раствора $AlCl_3$. Исследования показали, что наибольшую чувствительность к содержанию ионов алюминия проявили сорта С-108, Лидер и Союз. Это выразилось в уменьшении длины гипокотилей при повышении концентрации ионов алюминия в растворе. Отмечено, что у генотипов во всех вариантах исследований на селективной среде, содержащей хлорид алюминия, формировался морфогенный каллус. Однако частота формирования морфогенных каллусов была различной в зависимости от концентрации $AlCl_3$ в среде культивирования. Тенденция к снижению количества морфогенных клеток с повышением концентрации ионов алюминия наблюдалась у всех сортов. Вместе с тем, у менее чувствительных сортов – Импульс и Феникс, количество сформированного морфогенного каллуса было выше, чем у более чувствительных – С-108, Союз, Лидер. В селективных условиях получены побеги льна-долгунца исследуемых сортов, устойчивые к $AlCl_3$ *in vitro*.

Исследования выполнены в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования ФГБНУ ФНЦ ЛК по теме № FGSS 2019-0016.

Введение

Лен-долгунец – основной источник отечественного натурального волокнистого сырья. Влияние неблагоприятных факторов внешней среды является одной из причин низкой реализации биологических возможностей современных сортов льна в производственных условиях [1, 2, 3]. Возделывание льна на почвах с сильнокислой (pH_{KCl} 4,5 и ниже) и нейтральной (pH_{KCl} свыше 6,0) реакцией приводит к существенному снижению продуктивности волокна и семян [4, 5, 6]. Токсичность кислых почв обусловлена рядом факторов. Так, токсичность кислотности (высоких концентраций обменного водорода) проявляется на очень кислых торфяных почвах с рН 2,8-3,9, при низком содержании обменного кальция. Очевидно, что под пашню такие почвы используются крайне редко [7, 8, 9]. Лён-долгунец в основном выращивают в регионах, где преобладающими являются дерново-подзоли-

стые почвы. На таких почвах важнейшей причиной, обуславливающей угнетающее действие на культурные растения, является содержание подвижного алюминия и уровень его токсичности [4, 10, 11, 12, 13]. Дерново-подзолистые почвы содержат огромные валовые количества алюминия (в среднем 9 %). Растворимость алюминия зависит от рН почвенного раствора. В пределах значений рН от 5 до 9 алюминий не растворим. Содержание ионов алюминия и его негативное воздействие уменьшается за счет образования частично диссоциированных форм $Al(OH)_3$ и комплексов между алюминием и органическим веществом [4, 7, 8, 12, 14].

Значительная пестрота почв в основных льносеющих регионах Российской Федерации по агрохимическим показателям и, прежде всего, уровню кислотности, а также узкий оптимальный интервал для возделывания льна-долгунца (pH_{KCl} 5,2-5,6) требуют решения проблемы в современ-

ных условиях не столько агрохимическим, сколько селекционным путем. Биотехнологические методы как инструмент классической селекции являются эффективными при создании новых форм с изменёнными признаками и свойствами. Возможность получения таких генотипов продемонстрирована на многих культурах, в том числе и на льне [15, 16, 17, 18]. Поэтому целью исследований являлась разработка методических подходов при селекции *in vitro* на устойчивость к повышенной кислотности почвы для создания новых, устойчивых к этому абиотическому фактору, генотипов льна-долгунца.

Материалы и методы исследований

Исследования по разработке методических подходов при селекции *in vitro* на устойчивость к повышенной кислотности почвы для создания новых генотипов льна-долгунца, устойчивых к токсичному действию ионов алюминия, осуществлялись в лабораторных условиях ФГБНУ ФНЦ ЛК.

Селекцию *in vitro* на устойчивость к токсичным ионам алюминия проводили с использованием биотехнологических методов, разработанных Пролётовой, Виноградовой, Кудрявцевой [19].

Схема проведения исследований в условиях *in vitro*:

- подбор генотипов льна для проведения исследований;
- культивирование семян на 1% растворе сахарозы;
- культивирование гипокотильных сегментов (ГС) на селективной среде, состоящей из компонентов питательной среды MS и солей алюминия в виде $AlCl_3$ в концентрациях 44; 64; 84 мг/л (pH_{KCl} 4,0);
- культивирование каллусных клеток на селективной среде, состоящей из компонентов питательной среды MS и солей алюминия в виде $AlCl_3$ в концентрациях 44; 64; 84 мг/л (pH_{KCl} 4,0);
- отбор устойчивых к токсичным ионам алюминия клеток льна;
- получение побегов и растений-регенерантов, обладающих устойчивостью к токсическому действию алюминия *in vitro*;
- оценка регенерантов в условиях *in vitro* по устойчивости к токсическому действию ионов алюминия.

Исходным материалом при селекции *in vitro* на устойчивость к повышенной кислотности почвы в биотехнологических исследованиях служили семена и гипокотильные сегменты сортов льна-долгунца Импульс, Феникс, Лидер, С-108, Союз.

Селективным агентом в исследованиях токсического действия алюминия в культуре гипокотильных сегментов и каллуса *in vitro* служили соли алюминия в виде $AlCl_3$ в концентрациях 0 (контроль - питательная среда MS без селективного агента),

44 мг/л, 64 мг/л, 84 мг/л (pH_{KCl} 4,0).

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

Результаты исследований

С целью определения порога негативного воздействия семена льна предварительно проращивали на растворе $AlCl_3$ различных концентраций (44, 64, 84 мг/л) и измеряли длину первичного корешка и величину гипокотилиа на 7 сутки с момента помещения на фильтровальную бумагу с раствором. Всхожесть семян у всех сортов была высокой и находилась в пределах 89-94 % (проращивание на дистиллированной воде – контрольный вариант). Энергия прорастания сортов была тоже довольно высокой – уже на вторые сутки семена всех генотипов начинали прорастать, и к окончанию вторых суток большинство семян имело длину первичного корешка около 1 мм. В течение семи суток происходил рост первичного корешка и формирование проростков – гипокотилей.

Выявлено, что используемые для исследований сорта по-разному реагировали на исследуемые концентрации $AlCl_3$. Снижение длины первичного корешка на 2,1 – 4,8 % наблюдали у сортов Феникс, С-108, Союз, Лидер при концентрации раствора $AlCl_3$ 44 мг/л. Сорт Импульс при такой концентрации имел длину первичного корешка на уровне контроля – 1,92 см (табл. 1). Дальнейшее снижение длины первичного корешка происходило у всех сортов: при концентрации 64 мг/л – на 20,8 – 39,2 %, при концентрации 84 мг/л – на 37,0 – 61,4 %. Таким образом выявлено, что раствор $AlCl_3$ оказывал угнетающее действие на прорастание семян и формирование первичного корешка. Длина первичных корешков снижалась с повышением концентрации раствора $AlCl_3$.

Для оценки формирования гипокотилей льна-долгунца на основе проростков использовали те же концентрации $AlCl_3$, что для оценки формирования корешков. Гипокотили во всех вариантах формировались, но их длина зависела от генотипа и концентрации раствора $AlCl_3$. На седьмые сутки проращивания семян льна-долгунца гипокотили имели величину длины от 1 до 5 см. Наибольшую чувствительность к содержанию ионов алюминия в растворе проявили сорта С-108, Лидер и Союз. Это выразилось в уменьшении длины гипокотилиа с повышением концентрации ионов алюминия в растворе. Длина гипокотилиа у этих сортов составляла 2 – 3,5 см при использовании концентрации 44 мг/л, 1 – 3,5 см – при концентрации 64 мг/л, 1 – 1,5 см – при концентрации 84 мг/л (табл. 2). У менее чувствительных сортов Импульс и Феникс

Таблица 1

Влияние $AlCl_3$ на длину первичного корешка льна-долгунца

Генотип / Концентрация раствора $AlCl_3$, мг/л	Длина первичного корешка, см, $\pm Sp$			
	0 (контроль)	44,0	64,0	84,0
Импульс	1,92 \pm 0,2	1,92 \pm 0,2	1,57 \pm 0,2	1,21 \pm 0,1
Феникс	1,94 \pm 0,1	1,85 \pm 0,2	1,51 \pm 0,1	1,03 \pm 0,1
С-108	1,91 \pm 0,1	1,84 \pm 0,1	1,27 \pm 0,2	0,83 \pm 0,1
Союз	1,89 \pm 0,1	1,85 \pm 0,1	1,15 \pm 0,2	0,73 \pm 0,2
Лидер	1,91 \pm 0,2	1,82 \pm 0,1	1,51 \pm 0,1	0,77 \pm 0,2

Таблица 2

Влияние $AlCl_3$ на формирование гипокотилей льна-долгунца

Генотип / Концентрация раствора $AlCl_3$, мг/л	Длина гипокотилей, см $\pm Sp$			
	0 (контроль)	44,0	64,0	84,0
Импульс	5,0 \pm 0,1	4,0 \pm 0,3	3,5 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1
Феникс	5,0 \pm 0,2	5,0 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1
С-108	4,5 \pm 0,1	2,0 \pm 0,3	1,0 \pm 0,3	1,0 \pm 0,3
Союз	5,0 \pm 0,1	3,5 \pm 0,2	3,5 \pm 0,1	1,3 \pm 0,2
Лидер	4,8 \pm 0,2	3,0 \pm 0,3	3,1 \pm 0,2	1,5 \pm 0,2

сформировались гипокотили величиной 4 – 5 см в варианте использования концентрации 44 мг/л. В варианте, в котором использовали концентрацию 64 мг/л $AlCl_3$, гипокотили имели длину 3,5 – 4,5 см при концентрации 84 мг/л – 3 – 4,5 см. В контрольном варианте при проращивании семян льна на дистиллированной воде длина гипокотилия у всех сортов, взятых в исследования, была на уровне 4,5 – 5,0 см.

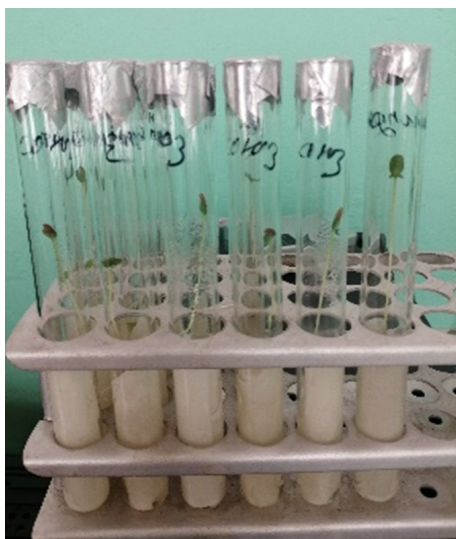


Рис. 1 – Культивирование семян льна на растворе сахарозы и получение проростков

Таким образом, выбранные концентрации оказались рабочими и были включены в дальнейшие исследования по созданию новых форм льна-долгунца, устойчивых к повышенной кислотности почвы.

Следующим этапом исследований являлось получение гипокотильных сегментов льна-долгунца для использования их в культуре *in vitro*. Гипокотильные сегменты размером 5-8 мм получали от 14 суточных проростков льна. Для этого семена высевали в пробирки на фильтровальную бумагу с 1 % раствором сахарозы и культивировали их в условиях 16 часового светового дня с освещенностью 4000 люкс (рис. 1), после чего проростки извлекали из пробирки и разрезали на сегменты длиной 5-8 см. Сегменты гипокотилия помещали на селективные среды, содержащие ионы алюминия в концентрациях, используемых при проращивании семян – 44, 64, 84 мг/л $AlCl_3$.

Анализ результатов исследований показал, что на 21 сутки с момента культивирования ГС в условиях *in vitro*, новые каллусные клетки формировались во всех вариантах исследований (рис. 2). Причем в основном консистенция каллуса была рыхлой, от светло-зелёного до светло-коричневого цвета. Отмечено, что у генотипов во всех вариантах исследований формировался морфогенный каллус. Частота формирования морфогенных каллусов в зависимости от концентрации $AlCl_3$ в среде культивирования, была различной. Однако тенденция снижения количества морфогенных клеток с повышением концентрации ионов алюминия наблюдалась у всех сортов. Вместе с тем у менее чувствительных сортов – Импульс и Феникс количество сформированного морфогенного каллуса было выше, чем у более чувствительных – С-108, Союз, Лидер. В варианте использования концентрации $AlCl_3$ 44,0 мг/л количество сформированного морфогенного каллуса у сортов Импульс и Феникс составляло 92,0 и 91,0 %, соответственно, у сортов С-108, Союз, Лидер – 85,5 – 90,1 % (табл. 3).

При использовании концентрации $AlCl_3$ 64,0 мг/л количество сформированного морфогенного каллуса у сортов Импульс и Феникс составляло 87,1 и 88,0 %, соответственно, у сортов С-108, Союз, Лидер – 70,3 – 79,5 %. Количество сформированного морфогенного каллуса при использовании концентрации $AlCl_3$ 84,0 мг/л у сортов Импульс и Феникс составляло 81,2 и 84,8 %, соответственно, у сортов С-108, Союз, Лидер – 65,5 – 71,3 %. Собственно используемые кон-

центрации $AlCl_3$ позволяли получать морфогенные клетки и проводить отбор *in vitro*.

Каллус с морфогенными очагами переносили на свежие среды и после двух пассажей у всех сортов, используемых в исследованиях, наблюдали формирование новообразований – почек и побегов. В результате исследований выявлено, что новообразования на каллусах в форме почек и побегов с более высокой частотой формировались в вариантах добавления в среду $AlCl_3$ в концентрациях 44 и 64 мг/л. Так, у сорта Феникс, в контрольном варианте, на среде без $AlCl_3$ на 21 сутки сформировалось 6 почек и один побег. Частота формирования составила 0,7 шт./каллус (табл. 4).

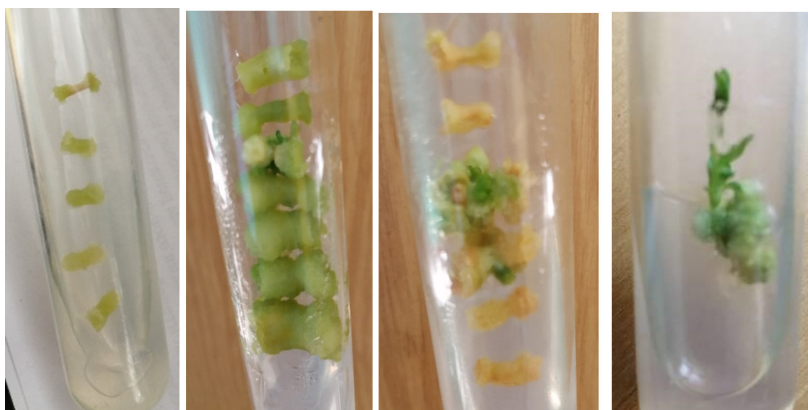


Рис. 2 – Формирование каллуса и морфогенных очагов на основе гипокотильных сегментов льна

этапов отбора морфогенных очагов на селективных средах, переносили на среду MS, содержащую 64,0 мг/л $AlCl_3$ и оценивали на устойчивость к токсичному действию ионов алюминия. Побеги, проявившие устойчивость, продолжали развиваться – образовывали корешки или в месте среза – каллусную ткань с морфогенными очагами. Восприимчивые побеги составили 54 %, и на селективной среде темнели и погибали.

Обсуждение

Лён-долгунец – основной источник отечественного натурального волокнистого сырья. Влияние неблагоприятных факторов внешней среды является одной из причин низкой реализации биологических возможностей современных сортов льна в производственных условиях [1, 2, 3]. Возделывание льна на почвах с сильнокислой (pH_{KCl} 4,5 и ниже) и нейтральной (pH_{KCl} свыше 6,0) реакцией приводит к существенному снижению продуктивности волокна и семян [4, 5, 6]. Лён-долгунец в основном выращивают в регионах, где преобладающими являются дерново-подзолистые почвы. На таких почвах важнейшей причиной, обуславливающей угнетающее действие на культурные растения, является содержание подвижного алюминия и уровень его токсичности [4, 10, 11, 12, 13]. Значительная пестрота почв в основных льносеющих регионах Российской Федерации по агрохимическим показателям и, прежде всего, уровню кислотности, а также узкий оптимальный интервал для возделывания льна-долгунца (pH_{KCl} 5,2-5,6) требуют решения проблемы в современных условиях не столько агрохимическим, сколько селекционным путем. Использование биотехнологических подходов в селекции позволяет создавать новые изменённые формы льна, что продемонстрировано ранее проводимыми исследованиями [16, 19]. Текущие исследования подтвердили возможность получения растений-регенерантов льна на селективной среде, содержащей токсичные ионы алюминия. Созданные селективные условия по-

Таблица 3

Влияние $AlCl_3$ на каллусогенез льна-долгунца в культуре *in vitro*

Генотип / Концентрация раствора $AlCl_3$, мг/л	Сформировано морфогенных каллусов, % \pm Sp			
	0 (контроль)	44,0	64,0	84,0
Импульс	97,8 \pm 2,2	92,0 \pm 3,0	87,1 \pm 2,1	81,2 \pm 2,8
Феникс	96,9 \pm 3,1	91,0 \pm 4,0	88,0 \pm 3,1	84,8 \pm 1,9
С-108	97,3 \pm 2,0	90,1 \pm 1,2	70,3 \pm 3,2	65,5 \pm 1,4
Союз	97,8 \pm 1,2	85,5 \pm 2,4	73,4 \pm 2,8	70,5 \pm 2,8
Лидер	96,6 \pm 2,6	88,3 \pm 2,6	79,5 \pm 2,6	71,3 \pm 2,9

В вариантах с добавлением 44 и 64 мг/л $AlCl_3$ частота формирования новообразований составила 2 шт./каллус, а в варианте добавления 84 мг/л $AlCl_3$ – 1,5 шт./каллус. У сорта Импульс, в контрольном варианте, на среде без $AlCl_3$ на 21 сутки сформировалось 3 почки. Частота формирования составила 0,8 шт./каллус. В вариантах с добавлением 44, 64 и 84 мг/л $AlCl_3$ частота формирования новообразований составила 1 шт./каллус.

Таблица 4

Формирование новообразований (почек, побегов льна) в селективных условиях *in vitro*

Генотип / Концентрация раствора $AlCl_3$, мг/л	Количество новообразований, сформированных в меристематических очагах, шт./каллус, \pm Sp			
	0 (контроль)	44,0	64,0	84,0
Феникс	0,7 \pm 0,1	2,0 \pm 0,6	2,0 \pm 0,6	1,5 \pm 0,1
Импульс	0,8 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	1,7 \pm 0,3	1,0 \pm 0,1

Побеги льна-долгунца используемых в исследованиях сортов, полученные в результате трёх

зволили дифференцировать исследуемые сорта по чувствительности к селективному агенту – $AlCl_3$. Сорта Феникс и Импульс были менее чувствительны к присутствию $AlCl_3$ в растворах для проращивания семян и в селективных средах в концентрациях 44, 64 и 84 мг/л, а сорта С-108, Лидер и Союз – более чувствительны. Чувствительность выражалась в уменьшении длины корешка и гипокотилей при проращивании семян, снижении морфогенетической активности (формировании морфогенного каллуса) – в культуре *in vitro*.

Заключение

В результате исследований определена реакция *in vitro* пяти сортов льна-долгунца на содержание ионов алюминия в растворах для проращивания семян и на среде для культивирования клеток льна. Исходя из полученных данных, сорта Феникс, Импульс, С-108, Смолич, Лидер проявили способность прорасти и формировать проростки на растворе $AlCl_3$ с pH_{KCl} 4,0. Сорта Феникс и Импульс были менее чувствительными (слабо восприимчивыми) к используемым концентрациям $AlCl_3$, тогда как сорта С-108, Смолич, Лидер – более чувствительными к содержанию ионов алюминия в растворе и селективной среде. Чувствительность выражалась в уменьшении длины корешка и гипокотилей при проращивании семян, снижении морфогенетической активности (формировании морфогенного каллуса) – в культуре *in vitro*. Получены побеги сортов льна-долгунца Феникс и Импульс, не восприимчивые к содержанию ионов алюминия в среде культивирования.

Библиографический список

1. Великанова, И.В. Региональные особенности развития льняного подкомплекса в условиях нарастающих кризисных явлений / И.В. Великанова, Р.А. Попов // Вестник АПК Верхневолжья. – 2020. – № 2 (50). – С. 66-71.
2. Анализ состояния и перспективные направления развития селекции и семеноводства технических культур : научно аналитический обзор / И. В. Уцаповский, А. С. Васильев, Т. А. Щеголихина, В. Ф. Федоренко, Н. П. Мишуров, И. Г. Голубев. – Москва : ФГБНУ Росинформагротех, 2019. – 72 с. – ISBN 978-5-73-67-1533-6.
3. Кишлян, Н. В. Оценка генофонда льна культурного (*Linum usitatissimum* L.) по кислотоустойчивости / Н. В. Кишлян, Т. А. Рожмина // Сельскохозяйственная биология. – 2010. – № 1. – С. 96-103.
4. Кишлян, Н. В. Механизмы адаптации льна-долгунца к повышенной кислотности почвы : обзор / Н. В. Кишлян, Н. В. Мельникова, Т. А. Рожмина // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2020. – № 181(4). – С. 205-212.
5. Региональная система земледелия Смоленской области : монография / А. М. Конова, А. Ю. Гаврилова, Э. С. Рекашус [и др.]. – Смоленск: Агронаучсервис, 2013. – 277 с. – ISBN 978-5-85941-491-8.
6. Куземкин, И. А. Скрининг образцов коллекции масличного льна по урожайности и их адаптивность в условиях Северо-Запада России / И. А. Куземкин, Т. А. Рожмина // Достижения науки и техники АПК. – 2022. – № 36 (8). – С. 30-36.
7. Современные проблемы использования почв и повышения их плодородия: сборник статей по материалам Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию кафедры почвоведения БГСХА: в 2 ч. / Белорусская государственная сельскохозяйственная академия; редкол.: В. В. Великанов (гл. ред.) [и др.]. – Горки, 2022. – Ч. 1. – 314 с.
8. Слюсарь, И. А. Динамика показателей почвенного плодородия и использование средств химизации в Смоленской области / И. А. Слюсарь, О. П. Силаева, З. П. Бабурченкова. // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – № 4. – С. 10-15.
9. Суховеркова, В.П. Кислотность почвы: тенденции и борьба. <https://agbz.ru/articles/kislotnost-pochvyi-tendentsii-i-borba/> (дата обращения 12.12.2022).
10. Чуюн, О.Г. Система поддержки принятия решений по рациональному использованию природно-ресурсного потенциала в агроландшафтах ЦЧР / О.Г. Чуюн, А.Н. Золотухин, Л.Н. Караулова, О.А. Митрохина // Достижения науки и техники АПК. – 2022. – № 36 (9). – С.5-12.
11. Четверикова, Н. С. Мониторинг плодородия черноземов лесостепной зоны / Н. С. Четверикова, С. В. Лукин, Л. В. Марциневская // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. – 2011. – № 9(104). – С. 184-190.
12. Пономарева, Л.В. Содержание подвижного алюминия и кислотность почвы на фоне бактериализации алюмотолерантными штаммами как приема повышения устойчивости растений / Л.В. Пономарева, В.Ф. Дричко, Н.П. Цветкова, Д.В. Кудрявцев // Сельскохозяйственная биология. – 2010. – 45(1). – С.104-109.
13. Трабурова, Е.А. Результаты изучения коллекционных образцов льна-долгунца в Центральном регионе Нечерноземной зоны России / Е.А. Трабурова, Т.А. Рожмина // Достижения науки и техники АПК. – 2022. – № 36 (3). – С. 79-84.
14. Кедрова, Л.И. Влияние почвенной кислотности на урожайность озимой ржи и возможности эдафической селекции / Л.И. Кедрова, Е.И. Уткина // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2018. – Т. 67. – № 6. – С. 17-25.
15. Черкасова, Н.Н. Разработка оптимальных условий *in vitro* для повышения устойчивости регенерантов сахарной свёклы к засухе / Н.Н. Черка-

сова, Т.П. Жужжалова, И.П. Ткаченко // Технология высоких урожаев. – 2020. – № 9. – С. 50-52.

16. Пролётова, Н. В. Использование биотехнологических методов для создания новых генотипов льна, устойчивых к антракнозу / Н. В. Пролётова // Достижения науки и техники АПК. – 2019. – № 33(8). – С. 24-28.

17. Шуплецова, О.Н. Эффекты неспецифической устойчивости генотипов ячменя, полученных путем клеточной селекции / О.Н. Шуплецова, С.Ю. Огородникова, Я.И. Назарова // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2020. –

№181(4). С. 192-199.

18. Корж, С.О. Биотехнологические подходы в селекции томата на устойчивость к *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* / С.О. Корж, Е.В. Дубина // Достижения науки и техники АПК. – 2022. – № 36(7). – С. 31-35.

19. Пролётова, Н. В. Методы создания *in vitro* растений-регенерантов льна-долгунца устойчивых к антракнозу (*Colletotrichum lini* Manns et Bolley) и токсичным ионам алюминия: методические рекомендации / Н. В. Пролётова, Е. Г. Виноградова, Л. П. Кудрявцева. – Тверь, 2014. – 19 с.

INFLUENCE OF TOXIC ALUMINUM IONS ON FIBRE FLAX REGENERATIVE ABILITY AND MORPHOGENESIS IN VITRO

Proletova N.V., Erofeeva V.S.

FSBSI "Federal Scientific Center of Bast Crops"

172002, Russian Federation, Tver, Komsomolsky ave., 17/56, tel.: 8 904 007 48 43, science.trk@fncl.ru

Keywords: fiber flax, nutrient medium, selective medium, hypocotyl segments, morphogenic callus, *in vitro* selection

The studies were carried out on the basis of the laboratory of selection and biotechnologies of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center of Bast Crops" (Tver Region) in 2021-2022. The aim of the study was to develop methodological approaches for *in vitro* selection for resistance to high soil acidity in order to create new fiber flax genotypes resistant to this stress factor. The possibility of using toxic aluminum ions in the form of AlCl₃ salts and selecting the concentrations of this selective agent for the purposes of *in vitro* selection was studied. At the initial stage, three concentrations of AlCl₃ solution were tested - 44, 64, 84 mg/l. The toxic effect of AlCl₃ on germination of seeds of Impulse, Phoenix, Leader, S-108, Soyuz fiber flax varieties, the formation of primary roots and seedlings - hypocotyls of these varieties was revealed. The length of primary roots in germinated fiber flax seeds decreased on the seventh day with an increase of AlCl₃ solution concentration. The studies revealed that C-108, Leader and Soyuz varieties showed the greatest sensitivity to the content of aluminum ions. This was expressed in a decrease of hypocotyl length with an increase of concentration of aluminum ions in the solution. It was noted that morphogenic callus was formed in genotypes in all variants of studies on a selective medium containing aluminum chloride. However, the frequency of formation of morphogenic calli was different depending on the concentration of AlCl₃ in the cultivation medium. A tendency to a decrease in the number of morphogenic cells with an increase of concentration of aluminum ions was observed in all varieties. At the same time, the amount of formed morphogenic callus was higher in less sensitive varieties - Impulse and Phoenix, than in more sensitive ones - S-108, Soyuz, Leader. Fiber flax shoots of the studied varieties resistant to AlCl₃ *in vitro* were obtained under selective conditions.

Bibliography:

1. Velikanova, I. V. Regional features of the development of flax subcomplex in the conditions of the growing crisis / I. V. Velikanova, R. A. Popov // Vestnik of the AIC of the Upper Volga Region. - 2020. - № 2 (50). - P. 66-71.
2. Analysis of the state and promising development directions of selection and seed production of industrial crops: scientific and analytical review / I. V. Ushchapovsky, A. S. Vasiliev, T. A. Shchegolikhina, V. F. Fedorenko, N. P. Mishurov, I. G. Golubev. - Moscow: FSBSI Rosinformagrotech, 2019. - 72 p. - ISBN 978-5-73-67-1533-6.
3. Kishlyan, N. V. Evaluation of the gene pool of cultural flax (*Linum usitatissimum* L.) by acid resistance / N. V. Kishlyan, T. A. Rozhmina // Agricultural biology. - 2010. - № 1. - P. 96-103.
4. Kishlyan, N.V. Mechanisms of fiber flax adaptation to increased soil acidity: a review / N.V. Kishlyan, N.V. Melnikova, T.A. Rozhmina // Scientific works on applied botany, genetics and breeding. - 2020. - № 181(4). - P. 205-212.
5. Regional system of agriculture of Smolensk region: monograph / A. M. Konova, A. Yu. Gavrilova, E. S. Rekashev [and others]. - Smolensk: Agronauchservis, 2013. - 277 p. - ISBN 978-5-85941-491-8.
6. Kuzemkin, I. A. Screening of oil flax collection samples for yield and their adaptability in the conditions of the North-West of Russia / I. A. Kuzemkin, T. A. Rozhmina // Achievements of science and technology of the AIC. - 2022. - № 36 (8). - P. 30-36.
7. Modern problems of soil usage and soil fertility increase / editors Yu. L. Tibets, V. V. Kopytovskiy, V. I. Titova [and others]; editor-in-chief V.V. Velikanov; Belarusian State Agricultural Academy // Collection of articles based on the materials of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 100th anniversary of the Department of Soil Science of the BSAA. In 2 parts. - Gorki, 2022. - Part 1. - 314 p.
8. Slyusar, I. A. Dynamics of soil fertility parameters and usage of chemicals in Smolensk region // Achievements of science and technology of the AIC. - 2018. - № 4. - P. 10-15.
9. Sukhoverkova, V.P. Soil acidity: tendencies and struggle. - URL: https://agbz.ru/articles/kislotnost-pochvyi_tendentsii-i-borba/
10. Chuyan, O.G. Decision support system for rational use of natural resource potential in agrolandscapes of the Central Black Soil Region / O.G. Chuyan, A.N. Zolotukhin, L.N. Karaulova, O.A. Mitrokhina // Achievements of science and technology of the agro-industrial complex. - 2022. - № 36 (9). - P.5-12.
11. Chetverikova, N. S. Fertility monitoring of black soils of the forest-steppe zone / N. S. Chetverikova, S. V. Lukin, L. V. Martsinevskaya // Scientific Vestnik of Belgorod State University. Series: Natural Sciences. - 2011. - № 9 (104). - P. 184-190.
12. Mobile aluminium content and soil acidity against the background of bacterization with aluminotolerant strains as a method of plant resistance increase / L. V. Ponomareva, V. F. Drichko, N. P. Tsvetkova, D. V. Kudryavtsev // Agricultural Biology. - 2010. - № 45(1). - P. 104-109.
13. Traburova E.A. The results of the study of collection samples of fiber flax in the Central region of the Non-Black Soil zone of Russia / E.A. Traburova, T.A. Rozhmina // Achievements of science and technology of the agro-industrial complex. - 2022. - № 36 (3). - P. 79-84.
14. Kedrova, L. I. Influence of soil acidity on winter rye yield and possibilities of edaphic selection / L. I. Kedrova, E. I. Utkina // Agrarian science of the Euro-North-East. - 2018. - V. 67, № 6. - P. 17-25.
15. Cherkasova, N. N. Development of appropriate conditions *in vitro* for resistance improvement of sugar beetroot regenerants to drought / N. N. Cherkasova, T. P. Zhuzhalova, I. P. Tkachenko // High yield technology. - 2020. - № 9. - P. 50-52.
16. Proletova, N.V. Usage of biotechnological methods for creation of new flax genotypes resistant to anthracnose / N.V. Proletova // Achievements of science and technology of the AIC. - 2019. - V. 33, № 8. - P. 24-28.
17. Shupletsova O.N. Effects of nonspecific resistance of barley genotypes obtained by cell selection / O. N. Shupletsova, S. Yu. Ogorodnikova, Ya. I. Nazarova // Scientific works on Applied Botany, Genetics and Breeding. - 2020. - № 181(4). - P. 192-199.
18. Korzh, S.O. Biotechnological approaches in tomato breeding for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* / S.O. Korzh, E.V. Dubina // Achievements of science and technology of the agro-industrial complex. - 2022. - № 36 (7). - P. 31-35.
19. Proletova, N. V. Methods for creating of *in vitro* regenerated plants of fiber flax resistant to anthracnose (*Colletotrichum lini* Manns et Bolley) and toxic aluminum ions: instructional guidelines / N. V. Proletova, E. G. Vinogradova, L. P. Kudryavtseva. - Tver, 2014. - 19 p.