

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ САХАРОЗЫ И МАННИТА ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ГЕНОТИПОВ ЛЬНА ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ОСМОТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ

Виноградова Е.Г.

Реферат. Исследования проводили в 2017–2019 гг. в Тверской области с целью изучения воздействия различных концентраций сахарозы и маннита на семена, незрелые зародыши, каллусные культуры льна для разработки методики получения устойчивых к осмотическому стрессу генотипов. В качестве объектов исследований использовали сорта льна Barbara, Belinka, ЛМ-98, Augore, Тверской, Светоч, Дипломат, Symfonia. Семена взяты из Национальной коллекции льна Федерального научного центра лубяных культур. Влияние раствора сахарозы на длину первичного корешка определяли при концентрациях – 0; 8,7; 14,9 %. Для возможности оценки энергии прорастания семян в условиях осмотического стресса концентрация сахарозы была снижена и рассматривали диапазон от 0 (контроль) до 9 %. Незрелые зародыши, извлеченные из коробочек на 10 сутки после опыления, культивировали на среде MS с сахарозой, в качестве селективного агента, в концентрации 5,0...7,0 %. Каллусные ткани культивировали с использованием в качестве осмотика маннита в концентрациях 0; 30,0; 36,4; 37,0; 37,4; 38,0 мг/л. В качестве осмотического дифференциатора для семян можно использовать концентрации 5,0, 6,0 и 7,0 % сахарозы (у сорта Belinka проросло 10...80 % семян, у сорта Barbara – 80...100 %, у сорта ЛМ-98 – 80...90 %). Сахароза в культуре незрелых зародышей льна *in vitro* в концентрации 5,0...7,0 % может быть селективным агентом только для определенных генотипов, например, сорта Augore. 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, на которых у всех изученных генотипов формировался морфогенный каллус, почки и побеги. У сорта Augore в таких условиях зафиксировано 1,1...1,2 побегов/каллус, Тверской – 0,6...0,8 побегов/каллус, Barbara – 1,0...1,1 побегов/каллус.

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

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

В последние десятилетия с использованием традиционных методов селекции достигнуты положительные результаты в направлении создания сортов, обладающих высокой потенциальной продуктивностью [1, 2, 3]. Однако из-за несовершенства и нарушения технологии возделывания, влияние неконтролируемых условий среды позволяет реализовать их потенциал не более чем на 30...35 % [4, 5].

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

Первое сообщение о выделении клеточных линий табака, устойчивых к стрессу, индуцированному ПЭГ, появилось в 1979 г. [6]. Позже для селекции на засухоустойчивость Р. Брессан с соавторами использовали клеточные линии томата. Для создания адаптированных к

водному стрессу клеточных линий также применяли среды, содержащие в качестве осмотика маннитол [7]. Во всех системах, при определенной концентрации осмотиков, полученные клетки обладали повышенной выносливостью к засухе. Ученые России с использованием методов биотехнологии (гаплоидия, клеточная селекция) создали засухоустойчивые формы и линии яровой мягкой пшеницы [8]. Во Франции организован консорциум, в рамках которого над созданием засухоустойчивых растений работают ученые из 17 стран. Китайские исследователи с использованием методов биотехнологии создали 46 засухоустойчивых линий пшеницы, из которых 4 рекомендованы производству. В Австралии выведены засухоустойчивые формы пшеницы, обеспечивающие 20 %-ную прибавку урожая при проявлении этого лимитирующего урожайности фактора [9]. В Аргентине создан сорт сои, несущий геном устойчивости к засухе [10].

При разработке методов отбора на устойчивость к засухе в культуре *in vitro* целесообразно использование предварительного скрининга методом проращивания семян в концентрированных растворах осмотиков. На многих культурах была показана прямая корреляция между прорастанием семян под воздействием осмотического стресса и засухоустойчивостью [11, 12].

В связи с изложенным при выведении новых высокопродуктивных сортов льна устойчивых к стрессовым факторам среды перспективно использования биотехнологических методов.

Цель работы – оценить влияние и выявить

дифференцирующие концентрации сахарозы и маннита на семена, незрелые зародыши, каллусные культуры льна для разработки методики создания устойчивых к осмотическому стрессу генотипов.

Условия, материалы и методы исследований. В качестве объектов исследований использовали сорта льна Barbara, Belinka и ЛМ-98, Aurore, Тверской, Светоч, Дипломат, Symfonia. Семена урожая 2015 г. были взяты из Национальной коллекции льна ФГБНУ ФНЦ ЛК.

Лабораторные исследования проводили в ФГБНУ ВНИИЛ (на сегодняшний день ОП г. Торжок ФГБНУ ФНЦ ЛК) в 2017–2019 гг.

На первом этапе с целью моделирования водного стресса, семена проращивали на растворах сахарозы в чашках Петри по 50 шт. на фильтровальной бумаге в 3-х кратной 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 незрелых зародышей выращивали в сосудах Митчеллиха (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.

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).

Экспланты культивировали на агаризованной среде MS, pH среды – 5,8, температура воздуха – 24 ± 1 °C, освещенность – 4000 люкс, фотопериод – 16 ч день и 8 ч 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 мг/л; 36,4 мг/л; 37,0 мг/л; 37,4 мг/л; 38,0 мг/л. Оценка устойчивости каллусов к селективному агенту проводили по количеству сформировавшихся побегов.

Математическую обработку данных выполняли методом дисперсионного анализа с использованием пакета программ БИОСТАТ и ЕСХЕЛ.

Анализ и обсуждение результатов исследований. Для отбора устойчивых к осмотическому стрессу в культуре *in vitro* растений-регенерантов необходимо на первом этапе подобрать оптимальную концентрацию селективного агента, которая не должна быть сублетальной, поскольку в этом случае не удастся провести отбор устойчивых клеток.

В наших исследованиях с проращиванием семян льна на растворах сахарозы в контроле уже на вторые сутки у всех генотипов наблюдали рост первичного корешка. Его длина у сорта Barbara составляла 10,3 мм, Belinka – 12,0 мм, ЛМ-98 – 5,8 мм. В вариантах с концентрацией сахарозы 8,7 и 14,9 % рост корешков не отмечали (рисунок 1).

На шестые сутки рост корешков генотипов Barbara и Belinka в контроле несколько сни-

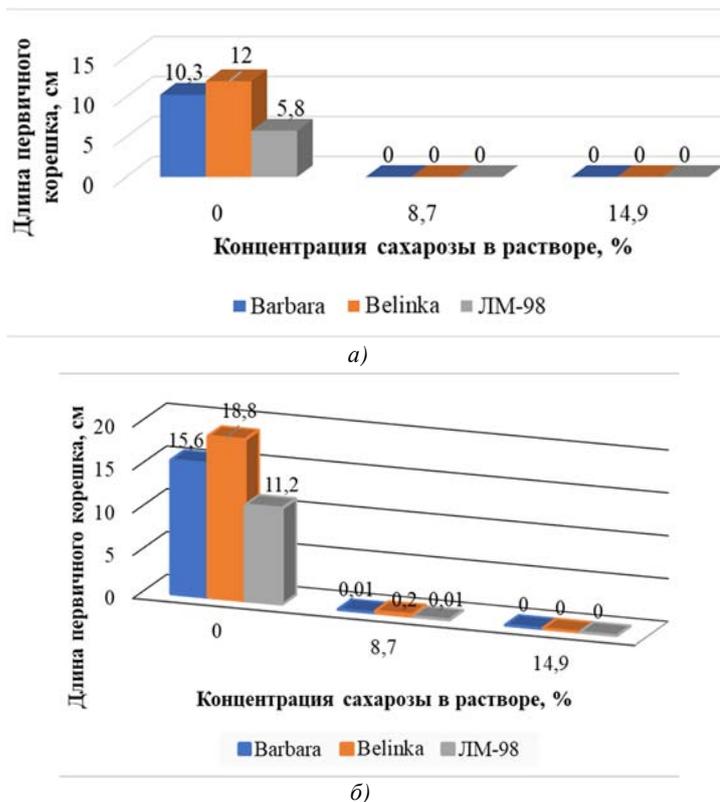


Рисунок 1 – Влияние сахарозы на длину первичного корешка: а) на 2-е сутки; б) на 6-е сутки

Таблица 1 – Длина первичного корешка льна в зависимости от концентрации сахарозы при проращивании семян ($\bar{x} \pm Sp$), мм

Концентрация сахарозы,	Длина первичного корешка, мм		
	Barbara	Belinka	ЛМ-98
0 (контроль)	20,0±1,2	41,7±2,2	21,0±1,6
4	6,4±0,8	40,2±3,1	12,1±1,1
5	6,5±0,7	18,8±2,3	41,8±2,2
6	7,6±0,8	4,4±0,4	23,0±1,9
7	1,0±0,2	5,1±0,5	19,9±1,1
8	1,0±0,3	2,0±0,3	0
9	0	1,5±0,2	0

зился. У сорта ЛМ-98 в этот период наблюдали прирост корешка, по сравнению с зарегистрированным на 2-е сутки, на 5,4 мм. На 6-е сутки отмечали рост корешков в варианте с сахарозой в концентрации 8,7 %. Так, у сорта Barbara их длина составляла 0,01 мм, Belinka – 0,2 мм, ЛМ-98 – 0,01 мм. Полное ингибирование прорастания семян всех генотипов наблюдали в варианте с содержанием сахарозы 14,9 % (см. рисунок 1 б). Поэтому дальнейший поиск селективных концентраций был продолжен в диапазоне 0 ... 9 % с шагом 1 %.

Анализ результатов воздействия растворов сахарозы в указанных концентрациях свидетельствует, что прорастание семян сорта Belinka происходило во всех вариантах, Barbara – во всех, кроме того, где содержание сахарозы в среде составляло 9 %, а у линии ЛМ-98 за исключением вариантов с концентрацией 8 и 9 % (рисунок 2). В зависимости от генотипа энергия прорастания варьировала и составляла в контроле от 60 % у сорта Belinka до 100 % у ЛМ-98, а, например, при концентрации сахарозы 4 % – от 80 % у сорта Barbara до 90 % у двух других. По-видимому, на энергию прорастания семян льна оказывали влияние и генотипические особенности растений. При этом прямой корреляции между изменением концентрации сахарозы и энергией прорастания семян изучаемых сортов не выявлено. Так, у сорта Barbara энергия прорастания семян при концентрациях 5, 6, 7 и 8 % состав-

ляла соответственно 20, 80, 10, 60 % при величине этого показателя в контроле 90 %. На энергию прорастания семян сорта ЛМ-98 увеличение концентрации сахарозы сказывалось незначительно – разброс величины этого показателя составлял от 100 % в контроле до 80 % в варианте с концентрацией сахарозы 7 %. Так как семена сорта Belinka прорастали во всех вариантах опыта, он был оценен, как более устойчивый к осмотическому стрессу, а ЛМ-98 и Barbara – как менее устойчивые.

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

Наибольшая длина первичного корешка у всех сортов отмечена в контроле: Barbara – 20,0 мм, Belinka – 41,7 мм, ЛМ-98 – 21,0 мм. С увеличением концентрации сахарозы в растворе для проращивания семян длина первичного корешка у всех генотипов снижалась. В то же время отмечено некоторое ее увеличение в вариантах с большей концентрацией сахарозы, по сравнению с меньшей. Например, у сорта Barbara при 6,0 % сахарозы длина корешка была на 1,2...1,1 мм больше, чем при концентрации 4 и 5 %.

Реакции клеток *in vivo* и *in vitro* на стрессовые факторы, как правило, похожи, поэтому

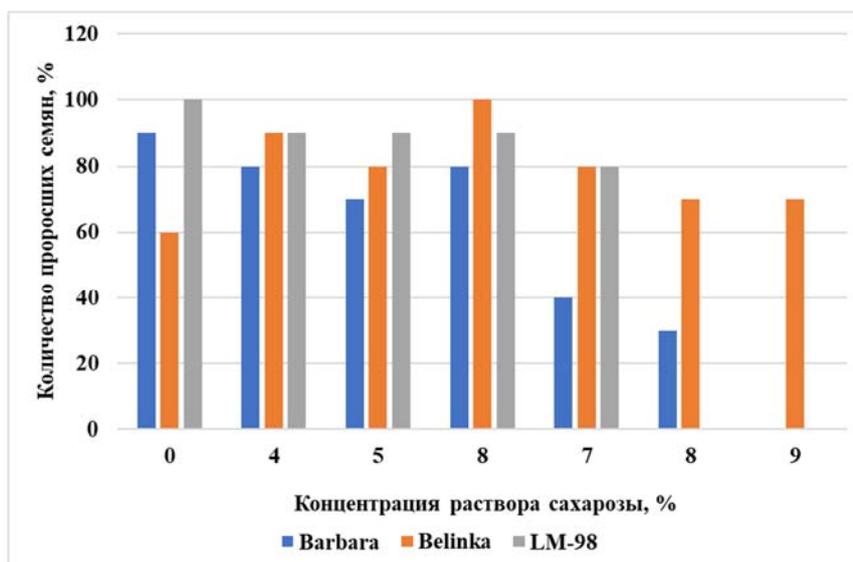


Рисунок 2 – Влияние сахарозы на энергию прорастания семян льна.

Таблица 2 – Каллусогенез незрелых зародышей льна на селективных средах в культуре *in vitro* ($\bar{x} \pm Sp$), %

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

для отбора устойчивых эксплантов и клеток культивирование незрелых зародышей мы проводили на средах с концентрацией сахарозы 7 % и 9 %. В качестве контроля использовали питательные среды с содержанием сахарозы 3,0 % – оптимальной для роста и развития клеток льна-долгунца. В контроле у всех незрелых зародышей наблюдали увеличение семядолей, по сравнению с исходным, в несколько раз. У некоторых эксплантов начинала развиваться апикальная почка. Каллус получен на эксплантах всех сортов, однако активность его формирования изменялась от 43,8 % у сорта Светоч до 89,9 % у сорта Symfonia (табл. 2). Каллус характеризовался плотной консистенцией, зеленым цветом и наличием очагов новообразований.

Отмечены 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.

При выращивании эксплантов сорта Дипломат хорошо растущий, зеленый, морфогенный каллус был получен во всех вариантах. Частота его формирования для незрелых зародышей в контроле составила 78,4 %, а при содержании повышенных концентраций селективного агента 7,0 и 9,0 % – 56,0 и 38,4 % соответственно. Экспланты сорта Symfonia отличались наименьшей реакцией на увеличение селективной нагрузки. Можно предполо-

жить, что для этих двух сортов порог осмотического стресса находится в более высоком диапазоне концентраций сахарозы.

Для формирования комплектных растений-регенерантов очень важно при культивировании каллусов получить почки и побеги. Морфогенетическая активность у каллусов на основе незрелых зародышей разных сортов была различной. Наименьшее количество почек и побегов отмечено у эксплантов сорта Светоч (табл. 3). На каллусах сортов Дипломат и Symfonia побеги сформировались во всех вариантах. Их количество изменялось у сорта Дипломат от 1,6 шт./калус в контроле до 0,16 шт./калус при концентрации сахарозы 7 %, у сорта Symfonia величина этого показателя была несколько меньше – от 1,1 до 0,29 шт./калус соответственно. Следует отметить, что на средах с концентрацией сахарозы 9 %, число побегов было больше, чем при 7 %.

Согласно результатам этих экспериментов, можно предположить, что экспланты сортов Дипломат и Symfonia обладают большей устойчивостью к осмотическому стрессу, чем у сорта Светоч.

Представляет интерес применение других селективных агентов для получения устойчивых к водному стрессу эксплантов льна. В связи с этим в качестве осмотика использовали маннит. Исследования, проведенные на других культурах [8, 11], показали, что его оптимальная концентрация в питательной среде равна 36,4 мг/л.

В наших экспериментах морфогенный каллус формировался практически во всех вариантах у всех включенных в изучение гено-

Таблица 3 – Морфогенетическая активность каллусов льна, полученных на основе незрелых зародышей, в культуре *in vitro* ($\bar{x} \pm Sp$), шт./калус

Концентрация раствора сахарозы, %	Количество побегов, сформированных в меристематических очагах		
	Светоч	Дипломат	Symfonia
3,0 (контроль)	2,0±0,4	1,6±0,2	1,1±0,2
7,0	-	0,16±0,02	0,29±0,07
9,0	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 ($\bar{x} \pm Sp$), %

Концентрация маннита, мг/л	Сформировано морфогенных каллусов		
	Aurore	Тверской	Barbara
0	53,4±3,5	77,5±6,3	82,8±5,2
30,0	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
37,0	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
38,0	10,5±3,1	0	1,9±0,6

Таблица 5 – Побегообразовательная способность эксплантов льна в культуре *in vitro*

Концентрация маннита, мг/л	Сформировано морфогенных каллусов, % ± Sp		
	Auroge	Тверской	Barbara
0	3,8±1,1	0,7±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	0,6±0,2	1,0±0,2
37,0	0	0	0
37,4	0	0	0
38	0	0	0

пов, за исключением эксплантов сорта Тверской. У него при концентрации 38,0 мг/л маннита каллус отсутствовал (табл. 4). В контроле, а также при содержании маннита 30,0 и 36,4 мг/л наблюдали образование зеленого, плотного каллуса, с ярко выраженными меристематическими очагами, однако при добавлении маннита их количество стабильно снижалось (по сравнению с контрольными вариантами). Так, у сорта Auroge в контроле было сформировано 53,4 % морфогенных каллусов, а в варианте с 36,4 мг/л маннита – только 27,7 %. Дальнейшее снижение морфогенетической активности происходило волнообразно. При концентрации 37,0, 37,4 и 38,0 мг/л маннита, наряду с зеленым морфогенным каллусом, отмечали формирование желтого водянистого каллуса без визуально просматривающихся меристематических очагов. Аналогичную картину наблюдали в этих вариантах у сортов Тверской и Barbara. У сорта Тверской количество сформированных морфогенных каллусов уменьшилось с 77,5 % (контроль) до 17,7 % (концентрация маннита 37,4 мг/л). У сорта Barbara снижение величины этого показателя начиналось с содержания маннита 36,4 мг/л (42,2 %) и достигало 1,9 % в варианте с 38,0 мг/л маннита.

Результаты анализа свидетельствуют, что побеги в меристематических очагах формировались только в трех вариантах – в контроле,

при концентрации маннита 30,0 и 36,4 мг/л. Их количество снижалось с увеличением содержания маннита в среде (табл. 5). Так, у сорта Auroge в контроле было сформировано 3,8 побегов/каллус, а в варианте с 36,4 мг/л маннита только 1,2 шт./каллус.

У сорта Тверской побегообразовательная способность была самой низкой и составляла в контроле 0,68 побегов/каллус, при концентрации маннита 30,0 мг/л – 0,8 шт./каллус; 36,4 мг/л маннита – 0,63 шт./каллус. У сорта Barbara величина этого показателя была равна соответственно 1,5, 1,1 и 1,0 шт./каллус.

Выводы. Лучше всего для определения влияния концентрации сахарозы на энергию роста и развитие корешков семян льна подходят растворы с ее содержанием 5,0, 6,0 и 7,0 %. В этих вариантах проросло 10...80 % семян сорта Belinka, 80...100 % семян сорта Barbara, 80...90 % семян 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 или 36,4 мг/л осмотика. Культивирование растений на средах с такой концентрацией селективного агента приводит к формированию у всех изученных генотипов морфогенного каллуса, почек и побегов: у сорта Auroge – 1,1...1,2 побега на каллус, Тверской – 0,6...0,8 побега на каллус, Barbara – 1,0...1,1

Литература

1. Glutathione S-transferases and UDP-glycosyltransferases Are Involved in Response to Aluminum Stress in Flax / A. A. Dmitriev, G. S. Krasnov, T. A. Rozhmina, et al. // Front. Plant. Sci. 2016. Vol. 7. P. 1920. doi: jrg./10.3389/fpls.2016.-1920.
2. MIR319, MIR390, and MIR393 Are involved in aluminum response in flax (*Linum usitatissimum* L.) / A. A. Dmitriev, A. V. Kudryavtseva, N. L. Bolsheva, et al. // Bio Med Research International. Vol. 2017. P. 4975146. Article ID 4975146. doi: 10.1155/2017/4975146.
3. Внутривидовое разнообразие льна культурного (*Linum usitatissimum* L.) и его роль в решении проблемы сырьевого обеспечения страны // Т.А. Рожмина, А.И. Рыжов, И.А. Куземкин и др. // Достижения науки и техники АПК. 2017. Т. 31. № 12. С. 17-20.
4. Differential gene expression in response to Fusarium oxysporum infection in resistant and susceptible of flax (*Linum usitatissimum* L.) / A. A. Dmitriev, G. S. Krasnov, T. A. Rozhmina, et al. // BMC Plant Biol. 2017. Vol. 17. P. 253. doi 10.1186/s12870-017-1192-2.
5. Урожайность льна-долгунца в длительном полевом опыте / И.И. Дмитриевская, Д.С. Степанова, С.Л. Белоухов и др. // Земледелие. 2016. № 7. С. 42-44.
6. Егорова Н. А. Влияние осмотического стресса на развитие каллусных культур лаванды // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2012. Вып. 105. С. 139–143.
7. Пакуль В. Н., Плиско Л. Г. Засухоустойчивость сортов яровой мягкой пшеницы // Международный научно-исследовательский журнал. 2018. № 12 (78). Ч. 2. С. 49–52. doi: 10.23670/IRJ.2018.78.12.046.
8. Identification of drought tolerant wheat genotypes under water deficit conditions / Z. Chachar, N. A. Chachar, Q. I. Chachar, et al. // International Journal of Research – Granthaalayah. 2016. Vol. 4. No. 2. P. 206–214.
9. Rueda G. D. Record para la historia: tras 20 anos, la produccion de maiz superó a la de soja // Diario La Nueva SRL. [Электронный ресурс]. URL: www.lanueva.com/nota/2020-8-11-6-30-53-record-para-la-historia-tras-20-anos-la-produccion-de-maiz-superó-a-la-de-soja (дата обращения 10.09.2020).
10. Оценка адаптивности генотипов озимой пшеницы к засушливым условиям предгорной зоны центрального Кавказа / И. Р. Манукян, М. А. Басиева, Е. С. Мирошникова и др. // Аграрный вестник Урала.

2019. №5 (184). С. 17–22. doi: 10.32417/article_5d5151b14b9cf7.14014444.

11. Кокина Л. П., Щенникова И. Н., Зайцева И. П. Оценка коллекционных образцов ячменя на устойчивость к осмотическому стрессу // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока* 2018. Т. 66. № 5. С. 40–44. doi: 10.30766/2072-9081.66.5.40-44.

12. 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. doi:10.26456/vtbio92.

Сведения об авторе:

Виноградова Елена Григорьевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник (e-mail: egv.vinogradova@yandex.ru).

Федеральный научный центр лубяных культур, г. Тверь, Российская Федерация

USE OF SUCROSE AND MANNITOL FOR DIFFERENTIATION OF FLAX GENOTYPES BY RESISTANCE TO OSMOTIC STRESS

Vinogradova E. G.

Abstract. The studies were carried out with the aim of studying the effect of various concentrations of sucrose and mannitol on seeds, immature embryos, and callus cultures of flax to develop a method for obtaining genotypes resistant to osmotic stress. The work was carried out in the Tver region in the laboratory of breeding technologies in 2017–2019. Flax varieties Barbara, Belinka, LM-98, Aurore, Tverskoy, Svetoch, Diplomat, Symfonia were used as objects of research. The seeds were obtained from the National Flax Collection of the Federal Scientific Center for Bast Crops. The effect of sucrose solution on the length of the primary root was detected at concentrations - 0; 8.7; 14.9%. To assess the germination energy of seeds under osmotic stress, the concentration of sucrose was reduced and the range 0 (control) ... 9% was considered. Immature embryos removed from the capsules on the 10th day after pollination were cultivated on MS medium with sucrose, as a selective agent, at a concentration of 5.0 ... 7.0%. Callus tissues were cultured using mannitol as an osmotic at concentrations of 0; 30.0; 36.4; 37.0; 37.4; 38.0 mg/l. Concentrations of 5.0, 6.0 and 7.0% of sucrose can be used as an osmotic differentiator for seeds (10 ... 80% of seeds germinated in the Belinka variety, 80 ... 100% in the Barbara variety, 80 ... 90% in the variety LM-98). Sucrose, as a selective agent, in a 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 Aurore variety. The selection of resistant callus cells, followed by the formation of adventive buds and shoots in the meristematic foci, can be carried out on media containing 30.0 or 36.4 mg / L of osmosis, which allows obtaining morphogenic callus, buds, shoots in all studied genotypes, as well as in the Aurore variety 1.1 ... 1.2 byp./callus, in the Tverskoy variety - 0.6 ... 0.8, in the Barbara variety - 1.0 ... 1.1.

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

References

1. Glutathione S-transferases and UDP-glycosyltransferases Are Involved in Response to Aluminum Stress in Flax. / A. A. Dmitriev, G. S. Krasnov, T. A. Rozhmina and others. // *Front.Plant.Sci.* 21 December 2016. Vol. 7 P. 1920. // doi.jrg./10.3389/fpls.2016.-1920.
2. MIR319, MIR390, and MIR393 Are involved in aluminum response in flax (*Linum usitatissimum M.L.*) / A. A. Dmitriev, A. V. Kudryavtseva, N. L. Bolsheva, et al. // *Bio Med Research International*. Vol. 2017. P. 4975146 Article iD 4975146, 6p.//doi.org/10.1155/2017/4975146.
3. Intraspecific diversity of cultivated flax (*Linum usitatissimum L.*) and its role in solving the problem of raw material supply of the country. [Vnutrividovoe raznoobrazie lna kulturnogo (*Linum usitatissimum L.*) i ego rol v reshenii problemy syrevogo obespecheniya strany]. // T.A. Rozhmina, A.I. Ryzhov, I.A. Kuzemkin and others. // *Dostizheniya nauki i tekhniki APK. - Achievements of science and technology of the agro-industrial complex*. 2017. Vol. 31. № 12. P. 17-20.
4. Differential gene expression in response to Fusarium oxysporum infection in resistant and susceptible of flax (*Linum usitatissimum L.*). / A. A. Dmitriev, G. S. Krasnov, T. A. Rozhmina and others. // *BMC Plant Biol.* 2017. Vol. 17. P. 253. doi 10.1186/s12870-017-1192-2.
5. Productivity of fiber flax in a long field experiment. [Urozhaynost lna-dolguntsa v dlitelnom polevom opyte]. / I.I. Dmitrevskaya, D.S. Stepanova, S.L. Belopukhov and others. // *Zemledelie. – Agriculture*. 2016. № 7. P. 42-44.
6. Egorova N. A. Vliyaniye osmoticheskogo stressa na razvitiye kallusnykh kultur lavandy. // *Byulleten Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada*. [Influence of osmotic stress on the development of lavender callus cultures. // *The Herald of State Nikitsky Botanical Garden*]. 2012. Issue 105. P. 139–143.
7. Pakul V. N., Plisko L. G. Drought tolerance of spring soft wheat varieties. [Zasukhoustouchivost sortov yarovoy myagkoy pshenitsy]. // *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal. - International scientific research journal*. 2018. № 12 (78). Ch. 2. P. 49–52. doi: 10.23670/IRJ.2018.78.12.046.
8. Identification of drought tolerant wheat genotypes under water deficit conditions / Z. Chachar, N. A. Chachar, Q. I. Chachar, et al. // *International Journal of Research – Granthaalayah*. 2016. Vol. 4. No. 2. P. 206–214.
9. Rueda G. D. Record para la historia: tras 20 anos, la produccion de maiz supero a la de soja // *Diario La Nueva SRL*. [Электронный ресурс]. Available at: 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 access 10.09.2020).
10. Assessment of the adaptability of winter wheat genotypes to the arid conditions of the foothill zone of the Central Caucasus. [Otsenka adaptivnosti genotipov ozimoy pshenitsy k zasushlivym usloviyam predgornoy zony tsentralnogo Kavkaza]. / I. R. Manukyan, M. A. Basieva E. S. Miroshnikova and others. // *Agrarnyy vestnik Urala. - Agrarian Herald of the Urals*. 2019. №5 (184). P. 17–22. doi: 10.32417/article_5d5151b14b9cf7.14014444.
11. Kokina L. P., Schennikova I. N., Zaytseva I. P. Assessment of collection barley samples for resistance to osmotic stress. [Otsenka kollektсионnykh obraztsov yachmenya na ustoychivost k osmoticheskomu stressu]. // *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka - Agrarian science of Euro-North-East*. 2018. Vol. 66. № 5. P. 40–44. doi: 10.30766/2072-9081.66.5.40-44.
12. Vinogradova E. G. To the development of a method of cell selection for obtaining resistant flax explants to abiotic environmental factors. [K razrabotke metodiki kletochnoy seleksii polucheniya ustoychivykh eksplantov lna k abioticheskim faktoram sredy]. // *Vestnik Tverskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya i ekologiya. – The herald of Tver State University. Series: Biology and Ecology*. 2019. № 2 (54). P. 289–296. doi:10.26456/vtbio92.

Authors:

Vinogradova E.G. – Ph.D. of Biology, leading researcher, e-mail: egv.vinogradova@yandex.ru
Federal Scientific Center of Bast-Fiber Crops Breeding, Tver, Russia