

Калусогенез, органогенез і мікроклональне розмноження *in vitro* різних видів роду *Linum* L.

С. В. Міщенко*, Л. М. Кривошеєва

Інститут луб'яних культур НААН України, вул. Терещенків, 45, м. Глухів, Сумська обл., 41400, Україна,
*e-mail: serhii-mishchenko@ukr.net

Мета. Установити частоту та інтенсивність калусо- й органогенезу, ефективність мікроклонального розмноження різних видів роду *Linum* L. (Linaceae) в умовах *in vitro*. **Методи.** Для індукування калусо- й органогенезу в умовах *in vitro* гіпокотильні сегменти видів *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* і convar. *usitatissimum*, *L. tenue* Desf., *L. bienne* Mill., *L. corymbulosum* Pchb., *L. nervosum* Waldst. & Kit., *L. flavum* L., *L. campanulatum* L., *L. perenne* L., *L. austriacum* L., *L. grandiflorum* Desf., *L. strictum* L. культивували на середовищі Мурасіге і Скуга з додаванням 0,05 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти та 1,0 мг/л 6-бензиламінопурину за 16-годинного фотоперіоду, інтенсивності освітлення 2500 лк, відносній вологості 60–80% і температурі повітря 22–24 °С. Для мікроклонального розмноження використовували середовища Мурасіге і Скуга, Уайта, Гамборга і Евелєга та їх модифікації. Результати вимірювань інтерпретували за середнім арифметичним, похибкою вибіркової середньої, найменшою істотною різницею та ранжирували. **Результати.** Різні види роду *Linum* значною мірою здатні до утворення калусу й регенерації пагонів за вказаних умов культивування. Частота калусогенезу для досліджуваних зразків на 35-ту добу культивування змінювалася в межах 81,25–100%, маса калусу з одного експланта – 0,21–1,64 г, частота органогенезу – 12,50–100%, кількість пагонів – 1,8–7,6 шт. і висота пагонів – 0,82–2,12 см. За високою інтенсивністю калусоутворення виділилися такі види: *L. usitatissimum* convar. *elongatum*, *L. tenue*, *L. bienne* і *L. strictum*. Найінтенсивніший органогенез властивий видам *L. tenue*, *L. bienne*, *L. flavum*, *L. austriacum* і *L. grandiflorum*. Ефективність отримання соматиклонів була досить низькою в *L. nervosum* і *L. campanulatum*. Загалом для мікроклонального розмноження видів роду *Linum* оптимальними є середовища Мурасіге і Скуга, Гамборга і Евелєга з додаванням 12,5 г/л глюкози. На завершальних етапах мікроклонального розмноження перед перенесенням мікроклонів *in vivo* доцільно використовувати середовище Уайта, яке сприяє високій частоті ризогенезу. Різновиди *L. usitatissimum* convar. *elongatum* і convar. *usitatissimum* мали різну реакцію на культивування в умовах *in vitro*. **Висновки.** Частота, інтенсивність калусо- й органогенезу, ефективність мікроклонального розмноження залежала від генотипу певного виду, тому для кожного з них доцільно окремо добирати склад поживного середовища і регулятори росту. Деякі види роду *Linum* ще не досліджені в умовах *in vitro*, тому отримані результати надалі дають змогу розширити сферу їх використання у практичній діяльності, зокрема в селекції як новий вихідний матеріал із соматклональною мінливістю, у міжвидових схрещуваннях, у декоративному квітникарстві.

Ключові слова: *Linum* L.; *in vitro*; живильне середовище; фітогормони; пагін.

Вступ

Практичне значення видів роду *Linum* L. (Linaceae) зумовлене наявністю в його представників корисних властивостей, завдяки чому їх використовують як текстильні, олійні, медоносні, лікарські, кормові, ефіроолійні та декоративні рослини [1]. Різні види цього роду за певних умов можуть бути залучені до міжвидових схрещувань із подальшим використанням таких гібридів у селекції. В аграр-

ному виробництві поширені різні сорти льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), які здебільшого вирощують із метою отримання натурального волокна для текстильної промисловості, насіння, харчової або технічної олії.

Незважаючи на те, що льон відомий декілька тисячоліть, він і сьогодні залишається предметом численних наукових досліджень, присвячених філогенезу і таксономії, селекції і технології вирощування, біотехнології тощо. Культуру ізольованих клітин і тканин можна використовувати у практичній селекції. Утворені *in vitro* рослини-регенеранти, порівняно з вихідним матеріалом, характеризуються соматклональною мінливістю, яка в разі позитивних змін може бути

Serhii Mishchenko
<https://orcid.org/0000-0002-1979-4002>
Larysa Kryvosheeva
<https://orcid.org/0000-0001-6688-6930>

використана для створення нових сортів. Небажані мутантні форми можна вибракувати вже на стадії регенерації в культурі *in vitro*.

Методи регенерації рослинних клітин і тканин, соматичного ембріогенезу, культури пиляків та подвоєних гаплоїдів, ізольованих протопластів, клітинних суспензій тощо в селекційних програмах досить добре розроблені та описані саме для *L. usitatissimum*. Зокрема, для індукування соматичного калусо- й органогенезу у льону в умовах *in vitro* відомий успішний досвід використання 1-нафтил-оцтової кислоти (НОК) і 6-бензиламінопури-ну (БАП) [2, 3], 2,4-дихлорфеноксоцтової кислоти (2,4-Д) і БАП [4], тидіазурону (ТДЗ) [5] тощо. У культурі клітинної суспензії оптимальним було додавання фітогормонів НОК (0,1 мг/л) і БАП (0,5 мг/л), водночас висока концентрація БАП у рідкому середовищі обмежувала проліферацію клітин і зменшувала утворення біомаси [6]. Також установлено, що низькомолекулярні п'яти- й шестичленні нітрогеновмісні гетероциклічні сполуки (похідні піридину, піримідину, піразолу та ізофлавонів) виявляють високий стимулювальний вплив на прямий органогенез льону, тобто ці сполуки є перспективними в ролі ефективних заміників традиційних (поширених) ауксину НОК і цитокініну БАП [7].

Ефективність калусо- й органогенезу залежить не лише від визначення оптимальних концентрацій і комбінацій ауксинів та цитокінінів у середовищі. Вона була вищою в тому разі, коли гіпокотильні сегменти перед розміщенням на живильному гормональному середовищі занурювали у стерильну дистильовану воду і злегка струшували протягом 20 хв, порівняно з варіантом, де їх відразу поміщали на середовище; така попередня обробка пом'якшувала шар епідермісу і збільшувала його проникність, що й зумовлювало вищу метаболічну активність тканин завдяки збільшенню поглинання води, елементів живлення і регуляторів росту із середовища [8]. Конкуренції серед експлантів було досягнуто через зміну між ними відстані в чашках Петрі: зокрема за відстані 1,0 см, порівняно з розміщенням через 2,0 см, збільшувалася кількість регенерантів та їх довжина, а в разі зменшення відстані до 0,5 см спостерігали зменшення частоти органогенезу та розмірів утворених пагонів [9]; оптимальним було розміщення експлантів за схемою 1,5 × 1,5 см [10].

Культура пиляків хоча і є менш ефективною для регенерації рослин льону, порівняно з культурою соматичних клітин, але досить часто використовується в біотехнологічних до-

слідженнях. Саме регенеранти, отримані з клітин пиляків, мають підвищену стійкість проти фузаріозу [11]. На індукцію калусоутворення в культурі пиляків льону значний вплив мали попередня обробка рослин-донорів, генотип (сорт), вид і співвідношення екзогенних регуляторів росту, температура культивування експлантів. Пиляки рослин-донорів, вирощених в умовах більш низьких температур (14–18 °С), значно підвищували інтенсивність калусоутворення, порівняно з пиляками, вирощеними за більш високих температур (18–22 °С). Комбінації фітогормонів доцільно розробляти для кожного генотипу окремо. Зокрема, для певних сортів як ефективні описані такі комбінації: 0,1 мг/л БАП і 0,2 мг/л 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 сахарозою [12–14], мальтозою для ефективної регенерації пагонів [15] чи лактозою, яка підвищує інтенсивність калусогенезу [16]. Кількість пиляків з калусогенезом була більшою за температури культивування 28 °С, порівняно з 33 і 6 °С [17].

Також розробляються прийоми отримання калусної тканини із зародків (зав'язей) льону з подальшою регенерацією пагонів. Установлено, що найінтенсивніше формувався калус і регенерувалися пагони на середовищі, доповненому 1,5 мг/л ІОК і 1,5 мг/л БАП, але ризогенез у такому разі не спостерігався, корені розвивалися на середовищі лише з ауксином 2,4-Д [18]. Іншими дослідженнями продемонстровано, що частота калусоутворення може варіювати у широких межах (9,17–100%), залежно від сорту і фітогормонального складу середовища, а в деяких сортів органогенез не відбувався взагалі. У більшості випадків найвищу частоту регенерації пагонів отримано на середовищі, доповненому 0,1 мг/л НОК і 0,2 мг/л ТДЗ. Цитологічний аналіз свідчить, що 21,88% рослин-регенерантів були гаплоїдами, а решта – диплоїдами або міксоплоїдами (78,12%) [19].

Процеси калусо- й органогенезу *L. usitatissimum* в умовах *in vitro* визначаються генетичними чинниками. На калусогенез і здатність до регенерації впливають неадитивні ефекти генів, водночас ступінь (інтенсивність) калусо- й органогенезу має різну генетичну природу [20].

Представники роду *Linum* характеризуються значним різноманіттям біологічних ознак, особливе місце серед яких займає будова і забарвлення квітки (рис. 1), морфологія стебла та життєва форма. Рід належить до критичних і складних у систематичному

відношенні груп судинних рослин, тому погляди дослідників на його обсяг і статус деяких таксонів, а також діагностичну значимість морфологічних ознак є дискусійними [1]. У своїй роботі подаємо назви видів за класифікацією і версією 1.1 списку «The Plant List» [21]. Поділ *L. usitatissimum* на різновиди здійснено за сучасною поширеною класифікацією [22], згідно з якою види, описані раніше як самостійні, об'єднано в один поліморфний вид із чотирма різновидами; така класифікація є найпридатнішою для селекції, а виокремлення вищих таксонів не

має сенсу, оскільки морфотипи й екоципи сучасних сортів льону звичайного дуже різноманітні [23].

Слід зауважити, що в культурі *in vitro* використовують здебільшого *L. usitatissimum*, який є найпоширенішим в аграрному виробництві і селекційних дослідженнях, а не різні види численного роду, які можуть характеризуватися відмітними особливостями за культивування в зазначених штучних умовах і при цьому дати нові уявлення не тільки про біологічну різноманітність роду *Linum*, а й розширити сферу його викорис-



Рис. 1. Різноманіття генеративних органів різних видів *Linum* L.:
L. usitatissimum L.: цвітіння (1) та окрема квітка (2); *L. flavum* L.: цвітіння (3)
та окрема квітка (4); *L. bienne* Mill. (5) та *L. perenne* L. (6); *L. austriacum* L.:
квітки (7) та розміщення плодів (8); різні забарвлення квіток
L. grandiflorum Desf. (9, 10)

тання у практичній діяльності людини, що визначає актуальність проведення досліджень у цьому напрямі.

Мета досліджень – установити частоту та інтенсивність калусо- й органогенезу, ефективність мікрклонального розмноження різних видів роду *Linum* L. в умовах *in vitro*.

Матеріали та методика досліджень

Об'єктом дослідження слугували зразки з колекції генетичних ресурсів Інституту луб'яних культур НААН України, зокрема 11 видів роду *Linum* L.: *L. usitatissimum* L., *L. tenue* Desf. (номер національного каталогу – UF0401804, країна походження – США), *L. bienne* Mill. (UF0401805, США), *L. corymbulosum* Pchb. (UF0401806, США), *L. nervosum* Waldst. & Kit. (UF0401807, США), *L. flavum* L. (UF0402168, Німеччина), *L. campanulatum* L. (UF0402172, Німеччина), *L. perenne* L. (Україна), *L. austriacum* L. (UF0402192, Україна), *L. grandiflorum* Desf. (UF0401580, Німеччина), *L. strictum* L. (UF0401841, Португалія). Вид *L. usitatissimum* був представлений двома різновидами і двома зразками кожного з них, а саме: *L. usitatissimum* L. convar. *elongatum* – 'Глінум' (UF0401603, Україна), 'Кром' (UF0401494, Росія), *L. usitatissimum* L. convar. *usitatissimum* – 'Ruta' (UF0402228, Литва), 'Опус' (UF0402142, Білорусь).

Насіння стерилізували 3%-м водним розчином натрій гіпохлориту (NaOCl) з експозицією 12,5–15 хв, тричі промивали стерильною дистильованою водою. Насіння кожного виду пророщували на агаризованому безгормональному живильному середовищі Мурасіге і Скуга з 10 г/л сахарози. На 7–15-ту добу гіпокотильні сегменти проростків довжиною 2–3 мм культивували в біологічних пробірках діаметром 2 см на середовищі Мурасіге і Скуга, доповненому 0,05 мг/л НОК і 1,0 мг/л БАП, 30 г/л сахарози, за 16-годинного фотоперіоду, інтенсивності освітлення 2500 лк, відносній вологості 60–80% і температурі повітря 22–24 °С для індукування калусо- й органогенезу.

Для отримання рослин-регенерантів використовували такі варіанти живильних середовищ: I – Мурасіге і Скуга [24], доповнене 12,5 г/л сахарози; II – Мурасіге і Скуга, доповнене 12,5 г/л глюкози; III – Мурасіге і Скуга модифіковане, яке містило 1/2 макро-, 2/1 мікросолей і вітамінів, 0,3 мг/л ІОК, 10,0 г/л сахарози; IV – Уайта (1943), доповнене 12,5 г/л сахарози; V – Гамборга і Евелега [25], доповнене 12,5 г/л сахарози; VI – Гамборга і Евелега, доповнене 12,5 г/л глюкози.

Мікрклональне розмноження рослин-регенерантів проводили за досягнення ними висоти приблизно 10 см.

Обліки проводили на 35-ту добу культивування за показниками: частота калусогенезу (відсоток експлантів, на яких утворився калус), маса калусу з одного експланта, частота органогенезу (відсоток калусів, на яких утворилися пагони), кількість пагонів, що утворилися (без урахування меристематичних зон і зачаткових пагонів), і висота нормально розвинених пагонів. Вибірка – не менше 30 експлантів і спостережень для кожного виду льону і варіанта середовища. Визначали середнє арифметичне, похибку вибіркової середньої та найменшу істотну різницю між варіантами дослідів (НІР). Мікрклони за ознаками висоти пагонів і частоти ризогенезу ранжирували в порядку спадання.

Результати досліджень

Різні види роду *Linum* L. виявилися дуже чутливими до культури *in vitro*. Переважна їх більшість у 100% випадків утворювали калус на гіпокотильних сегментах за умови культивування на середовищі Мурасіге і Скуга з додаванням 30 г/л сахарози, 0,05 мг/л НОК і 1,0 мг/л БАП, фотоперіоді 16 год, відносній вологості 60–80%, температурі повітря 22–24 °С. Виняток становили лише *L. campanulatum* (частота калусоутворення – 81,25%) і *L. grandiflorum* (90,62%). При цьому інтенсивність калусогенезу в різних видів була неоднаковою. У середньому маса калусу з експланта змінювалася в межах від $0,21 \pm 0,032$ (*L. grandiflorum*) до $1,64 \pm 0,069$ г (*L. tenue*).

Частота органогенезу, що знаходилася в межах від 12,50 (*L. campanulatum*) до 100% (*L. tenue* і *L. flavum*), не залежала від інтенсивності утворення калусу. На гіпокотильних сегментах *L. grandiflorum* майже не формувался калус (у середньому лише 0,21 г з експланта), однак пагони утворювалися з досить значною частотою (96,88%) і висотою (2,12 см). Ознака частоти органогенезу мала значний розмах варіації (різницю між максимальним і мінімальним значеннями) на рівні 87,5%, що свідчить про значні генотипові відмінності у здатності утворювати пагони з недиференційованої групи клітин в умовах *in vitro* за наявності вищевказаних регуляторів росту або про можливість ініціювання органогенезу за умови додавання інших фітогормонів чи їх концентрацій. Такий показник як кількість пагонів, що утворилися з калусу одного гіпокотильного експланта, також варіював залежно від досліджуваного виду – від $1,8 \pm 0,25$ (*L. grandiflorum*).

florum) до $7,6 \pm 0,28$ шт. (*L. perenne*), тобто більш ніж учетверо. Висота пагонів та їх габітус на 35-ту добу культивування в різних видів, як і у природних умовах, також суттєво відрізнялась (рис. 2), а саме межі варіації становили від $0,82 \pm 0,067$ (*L. nervosum*) до $2,12 \pm 0,351$ см (*L. grandiflorum*). Зв'язок між ознаками кількості пагонів і їх висоти не простежувався (табл. 1).

Мікроклональне розмноження отриманих рослин-регенерантів (див. рис. 2) засвідчило наявність відмінностей у реакції різних видів роду *Linum* L. на склад живильного се-

редовища. Аналогічно до природних умов за середніми даними на всіх живильних середовищах найвищими були пагони в *L. strictum*, *L. tenue*, *L. usitatissimum* convar. *usitatissimum* і *L. corymbulosum* (ранги 1–4); середню висоту мали *L. bienne*, *L. nervosum*, *L. usitatissimum* convar. *elongatum* і *L. campanulatum* (ранги 5–8); до низькорослих належать *L. flavum*, *L. perenne*, *L. grandiflorum* і *L. austriacum* (ранги 9–12). Середня висота пагонів змінювалася в межах від 1,89 до 12,52 см.

Згідно із середніми даними по 12-ти видах і різновидах найінтенсивніше пагони росли

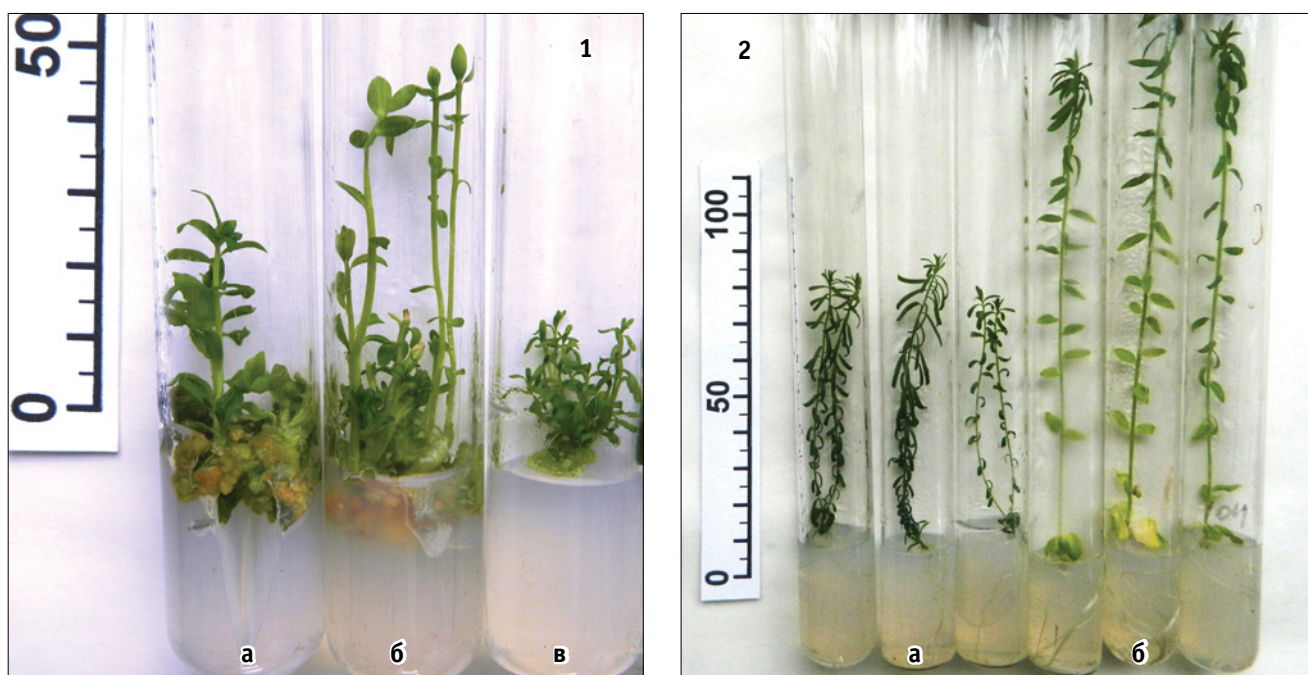


Рис. 2. Регенерація пагонів із калусу та мікроклони різних видів роду *Linum* L.:
 1 – *L. usitatissimum* convar. *usitatissimum* (а), *L. strictum* (б) і *L. perenne* (в);
 2 – *L. perenne* (а), *L. usitatissimum* convar. *elongatum* (б)

Таблиця 1

Здатність до калусо- й органогенезу в умовах *in vitro* в різних видів роду *Linum* L.

Вид	Інтенсивність калусогенезу		Інтенсивність органогенезу		
	Частота калусогенезу, %	Маса калусу з експланта, г	Частота органогенезу, %	Кількість пагонів, шт.	Висота пагонів, см
<i>L. usitatissimum</i> convar. <i>elongatum</i>	100	$1,14 \pm 0,092$	90,62	$3,0 \pm 0,24$	$1,00 \pm 0,062$
<i>L. usitatissimum</i> convar. <i>usitatissimum</i>	100	$0,87 \pm 0,080$	58,22	$2,2 \pm 0,36$	$1,15 \pm 0,062$
<i>L. tenue</i>	100	$1,64 \pm 0,069$	100	$2,6 \pm 0,14$	$1,62 \pm 0,238$
<i>L. bienne</i>	100	$1,10 \pm 0,091$	93,75	$2,8 \pm 0,13$	$1,28 \pm 0,091$
<i>L. corymbulosum</i>	100	$0,48 \pm 0,068$	65,62	$2,2 \pm 0,13$	$0,83 \pm 0,076$
<i>L. nervosum</i>	100	$0,73 \pm 0,075$	50,00	$2,0 \pm 0,07$	$0,82 \pm 0,067$
<i>L. flavum</i>	100	$0,40 \pm 0,050$	100	$3,8 \pm 0,24$	$0,90 \pm 0,071$
<i>L. campanulatum</i>	81,25	$0,42 \pm 0,046$	12,50	$3,7 \pm 0,22$	$1,04 \pm 0,078$
<i>L. perenne</i>	100	$0,60 \pm 0,058$	53,33	$7,6 \pm 0,28$	$1,76 \pm 0,158$
<i>L. austriacum</i>	100	$0,54 \pm 0,029$	93,75	$2,0 \pm 0,08$	$1,54 \pm 0,175$
<i>L. grandiflorum</i>	90,62	$0,21 \pm 0,032$	96,88	$1,8 \pm 0,25$	$2,12 \pm 0,351$
<i>L. strictum</i>	100	$0,94 \pm 0,105$	87,50	$2,6 \pm 0,41$	$1,51 \pm 0,243$

Таблиця 2

Інтенсивність росту пагонів у різних видів роду *Lilium L.* в умовах *in vitro* залежно від середовища культивування

Вид	Довжина пагонів, см						Середнє значення довжини, см	НІР _{0,05}	Ранг у порядку спадання
	I*	II	III	IV	V	VI			
<i>L. usitatissimum</i> convar. <i>elongatum</i>	10,37±0,856	9,37±0,736	3,82±0,346	9,33±0,996	9,09±1,018	8,66±0,699	8,44	3,30	7
<i>L. usitatissimum</i> convar. <i>usitatissimum</i>	10,55±0,748	11,16±0,704	12,41±0,718	13,04±0,840	9,15±0,588	10,39±0,812	11,12	2,01	3
<i>L. tenue</i>	13,10±0,721	13,80±0,609	11,00±0,828	11,00±0,414	12,00±0,592	12,10±0,633	12,17	1,59	2
<i>L. bienne</i>	11,82±0,882	13,31±0,674	7,05±0,505	7,80±0,809	7,70±0,984	12,58±0,725	10,04	3,99	5
<i>L. corymbulosum</i>	11,60±0,875	10,60±0,822	7,96±0,455	10,50±0,538	12,11±0,766	11,81±0,874	10,76	2,15	4
<i>L. nervosum</i>	8,40±0,898	9,10±1,038	8,05±0,719	9,00±0,927	8,50±0,804	8,00±0,639	8,51	0,65	6
<i>L. flavum</i>	5,52±0,250	5,49±0,331	4,33±0,169	5,99±0,352	4,50±0,418	4,38±0,330	5,04	1,01	9
<i>L. campanulatum</i>	5,52±0,247	6,42±0,293	4,20±0,377	6,00±0,356	4,54±0,277	4,64±0,287	5,22	1,26	8
<i>L. perenne</i>	4,81±0,632	4,49±0,492	2,46±0,083	3,00±0,105	4,69±0,462	4,71±0,288	4,03	1,45	10
<i>L. austriacum</i>	2,46±0,429	2,37±0,384	1,00±0,071	1,50±0,205	2,00±0,198	2,00±0,101	1,89	0,78	12
<i>L. grandiflorum</i>	4,40±0,441	4,44±0,412	1,80±0,150	2,05±0,120	2,32±0,290	3,60±0,271	3,10	1,69	11
<i>L. strictum</i>	12,60±0,471	11,70±0,604	11,11±0,411	15,42±0,139	12,60±0,657	11,70±0,909	12,52	2,17	1
Середнє	8,43	8,52	6,26	7,88	7,43	7,88	–	–	–

*Середовище: I – Мурасіге і Скуга, 12,5 г/л сахарози; II – Мурасіге і Скуга, 12,5 г/л глюкози; III – Мурасіге і Скуга, 1/2 макро-, 2/1 мікросолей і вітаміни, 0,3 мг/л ІОК, 10,0 г/л сахарози; IV – Уайта, 12,5 г/л сахарози; V – Гамборга і Евелєга, 12,5 г/л сахарози; VI – Гамборга і Евелєга, 12,5 г/л глюкози.

Таблиця 3

Частота ризиогенезу в різних видів роду *Lilium L.* залежно від середовища культивування

Вид	Частота ризиогенезу, %						Середнє	НІР _{0,05}	Ранг у порядку спадання
	I*	II	III	IV	V	VI			
<i>L. usitatissimum</i> convar. <i>elongatum</i>	90,62	81,25	68,75	93,75	93,75	90,62	86,46	13,88	5
<i>L. usitatissimum</i> convar. <i>usitatissimum</i>	90,62	87,50	100	100	93,75	93,75	94,27	7,08	3
<i>L. tenue</i>	81,25	93,75	87,50	100	100	87,50	91,67	10,71	4
<i>L. bienne</i>	87,50	100	37,50	43,75	62,50	100	71,88	39,43	7
<i>L. corymbulosum</i>	100	87,50	87,50	100	100	93,75	94,79	8,69	2
<i>L. nervosum</i>	56,25	75,00	56,25	75,00	62,50	68,75	62,62	12,18	8
<i>L. flavum</i>	43,75	43,75	37,50	50,00	43,75	52,94	45,28	7,71	10
<i>L. campanulatum</i>	43,75	50,00	37,50	100	43,75	94,44	61,57	39,53	9
<i>L. perenne</i>	50,00	50,00	31,25	50,00	50,00	25,00	42,71	16,22	11
<i>L. austriacum</i>	81,25	81,25	66,67	75,00	80,00	75,00	76,53	7,96	6
<i>L. grandiflorum</i>	31,25	31,25	13,33	50,00	25,00	25,00	29,30	17,07	12
<i>L. strictum</i>	100	100	100	100	100	100	100	–	1
Середнє	71,35	73,44	60,31	78,12	71,25	75,56	–	–	–

*Середовище: I – Мурасіге і Скуга, 12,5 г/л сахарози; II – Мурасіге і Скуга, 12,5 г/л глюкози; III – Мурасіге і Скуга, 1/2 макро-, 2/1 мікросолей і вітаміни, 0,3 мг/л ІОК, 10,0 г/л сахарози; IV – Уайта, 12,5 г/л сахарози; V – Гамборга і Евелєга, 12,5 г/л сахарози; VI – Гамборга і Евелєга, 12,5 г/л глюкози.

на середовищі Мурасіге і Скуга (8,43 см у варіанті з додаванням 12,5 г/л сахарози і 8,52 см із додаванням 12,5 г/л глюкози). Дещо меншою висота мікроклонів виявилася на середовищі Уайта з додаванням 12,5 г/л сахарози та Гамборга і Евелега, яке містило 12,5 г/л глюкози (по 7,88 см). На середовищі Уайта спостерігався ріст у висоту, але відмирили листки і латеральні меристеми на 2/3 нижньої частини пагона, що унеможливило подальше мікроклональне розмноження. Не ефективним виявилось модифіковане середовище Мурасіге і Скуга з половиною дози макросолей, подвійною дозою мікросолей і вітамінів, 0,3 мг/л ІОК, 10,0 г/л сахарози.

Той чи інший склад середовища на певний вид льону може впливати по-різному. Наприклад, у *L. usitatissimum* convar. *elongatum* різке пригнічення росту спостерігали на модифікованому середовищі Мурасіге і Скуга з половиною дози макросолей, подвійною дозою мікросолей і вітамінів, 0,3 мг/л ІОК і 10,0 г/л сахарози, а пагони *L. usitatissimum* convar. *usitatissimum* були найвищими за культивування на цьому середовищі (табл. 2).

Подібно до ознаки висоти, ризогенез у різних видів досліджуваного роду проходив із неоднаковою інтенсивністю. За середніми даними найбільшу частоту ризогенезу мали мікроклони *L. strictum*, *L. corymbulosum*, *L. usitatissimum* convar. *usitatissimum* і *L. tenue* (ранги 1–4); середня частота утворення нормально розвинених коренів була в *L. usitatissimum* convar. *elongatum*, *L. austriacum*, *L. bienne* і *L. nervosum* (ранги 5–8); найменшу частоту ризогенезу спостерігали в *L. campanulatum*, *L. flavum*, *L. perenne* і *L. grandiflorum* (ранги 9–12). Середня частота ризогенезу була в межах 29,30–100%.

Найчастіше мікроклони утворювали корені на середовищі Уайта з 12,5 г/л сахарози (78,12%), що було цілком прогнозованим, позитивні результати отримано на середовищах Мурасіге і Скуга, Гамборга і Евелега (від 71,25 до 75,56%). При цьому глюкоза, як джерело вуглеводів у середовищі й осмотичного тиску в клітинах, певною мірою підвищувала ін-

тенсивність ризогенезу. Модифіковане середовище, хоча й містило ауксин ІОК, виявилось менш придатним для індукції коренеутворення в регенованих пагонів льону (табл. 3).

Подібно до того, як у межах одного виду *L. usitatissimum* утворення калусних тканин, регенерація, ріст, розвиток і вкорінення пагонів в умовах *in vitro* залежить від генотипу (вихідного матеріалу) [2, 12–14, 16, 19, 20], так і в межах цілого роду спостерігаються значні відмінності в перебігу зазначених явищ. Загалом, за інтенсивністю калусоутворення (комплексом ознак) виділились такі види: *L. usitatissimum* convar. *elongatum*, *L. tenue*, *L. bienne* і *L. strictum*. Найінтенсивніший органогенез (за комплексом ознак) властивий видам: *L. tenue*, *L. bienne*, *L. flavum*, *L. austriacum* і *L. grandiflorum*. Ефективність отримання соматиклонів *in vitro* за описаних умов культивування була досить низькою в *L. nervosum* і *L. campanulatum* (частота органогенезу становила 50,00 і 12,50% відповідно). Незважаючи на те, що найчастіше описують поєднання НОК і БАП як оптимальне для калусо- й органогенезу льону [2, 13], у менш чутливих видів до культури *in vitro* і цих регуляторів росту екзогенного походження залишаються відкритими можливості підвищення отримання рослин-регерантів у разі зміни, наприклад, фітогормонального складу середовища.

Загалом, для мікроклонального розмноження видів роду *Linum* оптимальними виявились середовища Мурасіге і Скуга, Гамборга і Евелега з додаванням 12,5 г/л глюкози. На завершальних етапах мікроклонального розмноження перед перенесенням мікроклонів *in vivo* доцільно використовувати середовище Уайта, яке сприяє високій частоті ризогенезу. Для кожного виду серед досліджуваних середовищ і модифікацій за комплексом ознак можна виділити оптимальні – ті, що сприяють інтенсивному росту й розвитку пагонів, та ті, на яких спостерігається активний ризогенез (табл. 4).

Різні різновиди *L. usitatissimum* – довгунець і олійний – мають відмітні тенденції в

Таблиця 4

Оптимальні середовища для мікроклонального розмноження видів роду *Linum* L.

Середовище			
Мурасіге і Скуга	Мурасіге і Скуга (модифіковане)	Уайта	Гамборга і Евелега
<i>L. bienne</i> , <i>L. nervosum</i> , <i>L. perenne</i> , <i>L. austriacum</i> , <i>L. grandiflorum</i> , <i>L. strictum</i>	<i>L. usitatissimum</i> convar. <i>usitatissimum</i>	<i>L. usitatissimum</i> convar. <i>usitatissimum</i> , <i>L. nervosum</i> , <i>L. flavum</i> , <i>L. campanulatum</i> , <i>L. strictum</i>	<i>L. bienne</i> , <i>L. corymbulosum</i> , <i>L. strictum</i>

інтенсивності калусоутворення, органогенезу, росту мікроклонів, що необхідно враховувати в сільськогосподарській біотехнології та за використання її в селекційних програмах.

Практично неможливо підібрати універсальне живильне середовище для ефективного калусо-, органогенезу і мікроклонального розмноження різних видів рослин в умовах *in vitro*, навіть якщо вони належать до одного роду. Морфогенетичні реакції в культурі *in vitro* можуть відрізнятися не лише від віку й типу обраного в дослідженні експланта, а навіть від досліджуваного сорту чи зразка одного і того ж самого виду, тому дуже часто дослідникам доводиться окремо для кожного досліджуваного сорту (генотипу) добирати як склад живильних середовищ, так і відповідні регулятори росту (концентрацію (ї) фітогормону (ів) та/або їх співвідношення) для ефективної індукції соматичного органогенезу (пагоно- і коренеутворення) чи ембріогенезу в культурі *in vitro*.

Висновки

Різні види роду *Linum* L. за невеликим винятком значною мірою здатні до утворення калусу і регенерації пагонів в умовах *in vitro* в разі культивування за 16-годинного фотоперіоду, 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. Частота, інтенсивність калусо- й органогенезу, ефективність мікроклонального розмноження залежали від генотипу певного виду, тому для кожного з них доцільно окремо добирати склад поживного середовища і регулятори росту. Частота калусогенезу досліджуваних зразків на 35-ту добу культивування змінювалася в межах 81,25–100%, маса калусу з одного експланта – 0,21–1,64 г, частота органогенезу – 12,50–100%, кількість пагонів – 1,8–7,6 шт. і висота пагонів – 0,82–2,12 см. За високою інтенсивністю калусоутворення виділилися такі види: *L. usitatissimum* convar. *elongatum*, *L. tenue*, *L. bienne* і *L. strictum*. Найінтенсивніший органогенез властивий видам: *L. tenue*, *L. bienne*, *L. flavum*, *L. austriacum* і *L. grandiflorum*. Ефективність отримання пагонів була досить низькою в *L. nervosum* і *L. campanulatum*. Загалом для мікроклонального розмноження видів роду *Linum* L. оптимальними є середовища Мурасіге і Скуга, Гамборга і Евелєга з додаванням 12,5 г/л глюкози. На завершальних етапах мікроклонального розмноження перед перенесенням мікроклонів *in vivo* доцільно використовувати середовище Уайта,

яке сприяє високій частоті ризогенезу. Різновиди *L. usitatissimum* convar. *elongatum* і convar. *usitatissimum* мали різну реакцію на культивування в умовах *in vitro*.

Використана література

1. Оптасюк О. М., Шевера М. В. Під *Linum* L. у флорі України. Київ : Альтерпрес, 2011. 276 с.
2. Шиша Е. Н., Емец А. И., Гузенко Е. В. и др. Изучение регенерационной способности и корнеобразования у сортов льна-долгунца украинской и белорусской селекции. *Физиология и биохимия культ. растений*. 2011. Т. 43, № 1. С. 57–64.
3. Janowicz J., Niemann J., Wojciechowski A. The effect of growth regulators on the regeneration ability of flax (*Linum usitatissimum* L.) hypocotyl explants in *in vitro* culture. *BioTechnologia*. 2012. Vol. 93, Iss. 2. P. 135–138. doi: 10.5114/bta.2012.46578
4. Siegień I., Adamczuk A., Wróblewska K. Light affects *in vitro* organogenesis of *Linum usitatissimum* L. and its cyanogenic potential. *Acta Physiol. Plant*. 2013. Vol. 35, Iss. 3. P. 781–789. doi: 10.1007/s11738-012-1118-4
5. Mundhara R., Rashid A. TDZ-induced triple-response and shoot formation on intact seedlings of *Linum*, putative role of ethylene in regeneration. *Plant Sci*. 2006. Vol. 170, Iss. 2. P. 185–190. doi: 10.1016/j.plantsci.2005.06.015
6. 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
7. Tsygankova V. A., Bayer O. O., Andrushevich Ya. V. et al. Screening of five and six-membered nitrogen-containing heterocyclic compounds as new effective stimulants of *Linum usitatissimum* L. organogenesis *in vitro*. *Int. J. Med. Biotechnol. Genetics*. 2016. S2:001. P. 1–9. doi: 10.19070/2379-1020-SI02001
8. Yildiz M., Özgen M. The effect of a submersion pretreatment on *in vitro* explant growth and shoot regeneration from hypocotyls of flax (*Linum usitatissimum*). *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 2004. Vol. 77, Iss. 1. P. 111–115. doi: 10.1023/B:TTCU.0000016493.03592.c3
9. Yildiz M., Sağlık C., Telci C., Erkilich E. G. The effect of *in vitro* competition on shoot regeneration from hypocotyl explants of *Linum usitatissimum*. *Turk. J. Bot.* 2011. Vol. 35, Iss. 2. P. 211–218. doi: 10.3906/bot-1005-26
10. Beyaz R., Yildiz M. The effect of inter-plantal competition on *in vitro* seed germination and seedling growth in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Eskişehir Technical Univ. J. of Sci. and Tech. C – Life Sci. and Biotech.* 2019. Vol. 8, Iss. 1. P. 61–68. doi: 10.18036/abtdc.427128
11. 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 Rep.* 2003. Vol. 22, Iss. 2. P. 110–116. doi: 10.1007/s00299-003-0662-1
12. Burbulis N., Blinstrubienė A., Sliasaravičius A., Venskutonienė E. Influence of genotype, growth regulators, sucrose level and preconditioning of donor plants on flax (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. *Acta Biol. Hung.* 2005. Vol. 56, Iss. 3–4. P. 323–331. doi: 10.1556/ABiol.56.2005.3-4.15
13. Burbulis N., Blinstrubienė A. Genotypic and exogenous factors affecting linseed (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. *J. Food Agricult. Environ.* 2011. Vol. 9, Iss. 3–4. P. 364–367. doi: 10.1234/4.2011.2285
14. Burbulis N., Blinstrubienė A., Masiénė R., Jonytienė V. Influence of genotype, growth regulators and sucrose concentration on linseed (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. *J. Food Agricult. Environ.* 2012. Vol. 10, Iss. 3–4. P. 764–767. doi: 10.1234/4.2012.3509
15. 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 Tiss. Organ. Cult.* 1992. Vol. 28, Iss. 2. P. 163–166. doi: 10.1007/BF00055512
16. Chen Y., Dribnenki P. Effect of genotype and medium composition on flax *Linum usitatissimum* L. anther culture. *Plant Cell Rep.* 2002. Vol. 21, Iss. 3. P. 204–207. doi: 10.1007/s00299-002-0500-x
 17. Сорока А. И. Особенности подготовки материала и культивирования *in vitro* пыльников льна при получении гаплоидных растений. *Вісн. Запорізького нац. ун-ту. Біологічні науки.* 2010. № 2. С. 13–19.
 18. Sakhare S. P., Mendhulkar V. D. Embryo excised callus induction and rhizogenesis in *Linum usitatissimum* L. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 2016. Vol. 7, Iss. 3. P. 507–511.
 19. Blinstrubienė A., Burbulis N., Masienė 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
 20. Bonell M., Lassaga S. L. Genetic analysis of the response of linseed (*Linum usitatissimum* L.) somatic tissue to *in vitro* cultivation. *Euphytica.* 2002. Vol. 125, Iss. 3. P. 367–372. doi: 10.1023/A:1016013609068
 21. The Plant List. URL: <http://www.theplantlist.org>
 22. Diederrichsen A., Richards K. Cultivated flax and the genus *Linum* L.: Taxonomy and germplasm conservation. *Flax: The genus Linum* / A. D. Muir, N. D. Westcott (Eds.). Boca Raton : CRC Press, 2003. P. 39–42.
 23. Зеленцов С. В., Зеленцов В. С., Мошненко Е. В., Рябенко Л. Г. Современные представления о филогенезе и таксономии рода *Linum* L. и льна обыкновенного (*Linum usitatissimum* L.). *Масличные культуры. Науч.-техн. бюл. ВНИИ масличных культур.* 2016. Вып. 1. С. 106–121.
 24. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15, Iss. 3. P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
 25. Gamborg O. L., Eveleigh D. E. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem. Cell B.* 1968. Vol. 46, Iss. 5. P. 417–421. doi: 10.1139/o68-063
- References**
1. Optasiuk, O. M., & Shevera, M. V. (2011). *Rid Linum L. u flori Ukrainy* [The genus *Linum* L. in the flora of Ukraine]. Kyiv: Alterpres. [in Ukrainian]
 2. Shisha, E. N., Emets, A. I., Guzenko, E. V., Lemesh, V. A., Kartel', N. A., & Blyum, Ya. B. (2011). Study of the regeneration capability and root formation in Ukrainian and Belarusian flax cultivars. *Fiziol. Biokhim. Kul't. Rast.* [Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants], 43(1), 57–64. [in Russian]
 3. Janowicz, J., Niemann, J., & Wojciechowski, A. (2012). The effect of growth regulators on the regeneration ability of flax (*Linum usitatissimum* L.) hypocotyl explants in *in vitro* culture. *BioTechnologia*, 93(2), 135–138. doi: 10.5114/bta.2012.46578
 4. Siegień, I., Adamczuk, A., & Wróblewska, K. (2013). Light affects *in vitro* organogenesis of *Linum usitatissimum* L. and its cyanogenic potential. *Acta Physiol. Plant.*, 35(3), 781–789. doi: 10.1007/s11738-012-1118-4
 5. Mundhara, R., & Rashid, A. (2006). TDZ-induced triple-response and shoot formation on intact seedlings of *Linum*, putative role of ethylene in regeneration. *Plant Sci.*, 170(2), 185–190. doi: 10.1016/j.plantsci.2005.06.015
 6. Seta-Koselska, A., & Skórzyńska-Polit, E. (2017). Optimization of *in vitro* culture conditions for obtaining flax (*Linum usitatissimum* L. cv. Modran) cell suspension culture. *BioTechnologia*, 98(3), 183–188. doi: 10.5114/bta.2017.70796
 7. Tsygankova, V. A., Bayer, O. O., Andrushevich, Ya. V., Galkin, A. P., Brovarets, V. S., Yemets, A. I., & Blume, Ya. B. (2016). Screening of five and six-membered nitrogen-containing heterocyclic compounds as new effective stimulants of *Linum usitatissimum* L. organogenesis *in vitro*. *Int. J. Med. Biotechnol. Genetics*, 52:001, 1–9. doi: 10.19070/2379-1020-SI02001
 8. Yildiz, M., & Özgen, M. (2004). The effect of a submersion pretreatment on *in vitro* explant growth and shoot regeneration from hypocotyls of flax (*Linum usitatissimum*). *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.*, 77(1), 111–115. doi: 10.1023/B:TICU.0000016493.03592.c3
 9. Yildiz, M., Sağlık, C., Telci, C., & Erkilich, E. G. (2011). The effect of *in vitro* competition on shoot regeneration from hypocotyl explants of *Linum usitatissimum*. *Turk. J. Bot.*, 35(2), 211–218. doi: 10.3906/bot-1005-26
 10. Beyaz, R., & Yildiz, M. (2019). The effect of inter-plantal competition on *in vitro* seed germination and seedling growth in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Eskişehir Technical Univ. J. of Sci. and Tech. C – Life Sci. and Biotech.*, 8(1), 61–68. doi: 10.18036/aubtdc.427128
 11. Rutkowska-Krause, I., Mankowska, G., Lukaszewicz, M., & Szoza, J. (2003). Regeneration of flax (*Linum usitatissimum* L.) plants from anther culture and somatic tissue with increased resistance to *Fusarium oxysporum*. *Plant Cell Rep.*, 22(2), 110–116. doi: 10.1007/s00299-003-0662-1
 12. Burbulis, N., Blinstrubienė, A., Sliesaravičius, A., & Venskutoniene, E. (2005). Influence of genotype, growth regulators, sucrose level and preconditioning of donor plants on flax (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. *Acta Biol. Hung.*, 56(3–4), 323–331. doi: 10.1556/ABiol.56.2005.3-4.15
 13. Burbulis, N., & Blinstrubienė, A. (2011). Genotypic and exogenous factors affecting linseed (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. *J. Food Agricult. Environ.*, 9(3–4), 364–367. doi: 10.1234/4.2011.2285
 14. Burbulis, N., Blinstrubienė, A., Masienė, R., & Jonytiene, V. (2012). Influence of genotype, growth regulators and sucrose concentration on linseed (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. *J. Food Agricult. Environ.*, 10(3–4), 764–767. doi: 10.1234/4.2012.3509
 15. Millam, S., Davidson, D., & Powell, W. (1992). The use of flax (*Linum usitatissimum*) as a model system for studies on organogenesis *in vitro*: the effect of different carbohydrates. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.*, 28(2), 163–166. doi: 10.1007/BF00055512
 16. Chen, Y., & Dribnenki, P. (2002). Effect of genotype and medium composition on flax *Linum usitatissimum* L. anther culture. *Plant Cell Rep.*, 21(3), 204–207. doi: 10.1007/s00299-002-0500-x
 17. Soroka, A. I. (2010). Peculiarities of donor plant preparation and flax anther cultivation *in vitro* for haploid plant production. *Visnik Zaporiz'kogo nacional'nogo universitetu. Biologični nauki* [Visnyk of Zaporizhzhya National University. Biological Sciences], 2, 13–19. [in Russian]
 18. Sakhare, S. P., & Mendhulkar, V. D. (2016). Embryo excised callus induction and rhizogenesis in *Linum usitatissimum* L. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.*, 7(3), 507–511.
 19. Blinstrubienė, A., Burbulis, N., & Masienė, R. (2017). Genotypic and exogenous factors affecting linseed ovary culture. *Zemdirbyste-Agriculture*, 104(3), 243–248. doi: 10.13080/z-a.2017.104.031
 20. Bonell, M., & Lassaga, S. L. (2002). Genetic analysis of the response of linseed (*Linum usitatissimum* L.) somatic tissue to *in vitro* cultivation. *Euphytica*, 125(3), 367–372. doi: 10.1023/A:1016013609068
 21. *The Plant List*. (n.d.). Retrieved from <http://www.theplantlist.org>
 22. Diederrichsen, A., & Richards, K. (2003). Cultivated flax and the genus *Linum* L.: Taxonomy and germplasm conservation. In A. D. Muir, & N. D. Westcott (Eds.), *Flax: The genus Linum* (pp. 39–42). Boca Raton: CRC Press.
 23. Zelentsov, S. V., Zelentsov, V. S., Moshnenko, E. V., & Ryabenko, L. G. (2016). Modern understanding of the phylogeny and taxonomy of genus *Linum* L. and flax (*Linum usitatissimum* L.). *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskij byulleten' VNIIMK* [Oil Crops. Scientific and technical bulletin of All-Russia Research Institute of Oil Crops], 1, 106–121. [in Russian]

24. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15(3), 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
25. Gamborg, O. L., & Eveleigh, D. E. (1968). Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem. Cell B.*, 46(5), 417–421. doi: 10.1139/o68-063

УДК 633.521:58.085

Мищенко С. В.*, **Кривошеева Л. М.** Каллусогенез, органогенез и микроклональное размножение *in vitro* разных видов рода *Linum* L. // Plant Varieties Studying and Protection. 2019. Т. 15, № 2. С. 124–134. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.15.2.2019.173558>

Институт лубяных культур НААН Украины, ул. Терещенков, 45, г. Глухов, Сумская обл., 41400, Украина, *e-mail: serhii-mishchenko@ukr.net

Цель. Установить частоту и интенсивность каллусо- и органогенеза, эффективность микроклонального размножения различных видов рода *Linum* L. (Linaceae) в условиях *in vitro*. **Методы.** Для индуцирования каллусо- и органогенеза в условиях *in vitro* гипокотильные сегменты видов *Linum usitatissimum* L. (convar. *elongatum* и convar. *usitatissimum*), *L. tenue* Desf., *L. bienne* Mill., *L. corymbulosum* Pchb., *L. nervosum* Waldst. & Kit., *L. flavum* L., *L. campanulatum* L., *L. perenne* L., *L. austriacum* L., *L. grandiflorum* Desf., *L. strictum* L. культивировали на среде Мурасиге и Скуга с добавлением 0,05 мг/л 1-нафтилуксусной кислоты и 1,0 мг/л 6-бензиламинопурина при 16-часовом фотопериоде, интенсивности освещения 2500 лк, относительной влажности 60–80% и температуре воздуха 22–24 °С. Для микроклонального размножения использовали среды Мурасиге и Скуга, Уайта, Гамборга и Эвелгеа и их модификации. Результаты измерений интерпретировали по среднему арифметическому, погрешности выборочной средней, наименьшей существенной разнице и ранжировали. **Результаты.** Различные виды рода *Linum* в значительной мере способны к образованию каллуса и регенерации побегов в условиях *in vitro* при указанных условиях культивирования. Частота каллусогенеза для исследуемых образцов на 35-е сутки культивирования колебалась в пределах 81,25–100,00%, масса каллуса с одного экспланта – 0,21–1,64 г, частота органогенеза – 12,50–100%, количество побегов – 1,8–7,6 шт. и высота побегов – 0,82–2,12 см. По высокой интенсив-

ности каллусообразования выделились следующие виды: *L. usitatissimum* convar. *elongatum*, *L. tenue*, *L. bienne* и *L. strictum*. Наиболее интенсивный органогенез свойственный видам *L. tenue*, *L. bienne*, *L. flavum*, *L. austriacum* и *L. grandiflorum*. Эффективность получения соматоклонов была достаточно низкой у *L. nervosum* и *L. campanulatum*. В целом для микроклонального размножения видов рода *Linum*. оптимальными являются среды Мурасиге и Скуга, Гамборга и Эвелгеа с добавлением 12,5 г/л глюкозы. На завершающих этапах микроклонального размножения перед переносом микроклонов *in vivo* целесообразно использовать среду Уайта, которая способствует высокой частоте ризогенеза. Разновидности *L. usitatissimum* convar. *elongatum* и convar. *usitatissimum* имели разную реакцию на культивирование в условиях *in vitro*. **Выводы.** Частота, интенсивность каллусо- и органогенеза, эффективность микроклонального размножения зависела от генотипа определенного вида, поэтому для каждого из них целесообразно отдельно подбирать состав питательной среды и регуляторы роста. Отдельные виды рода *Linum* не исследованы в условиях *in vitro*, поэтому полученные результаты дают возможность в дальнейшем расширить сферу их использования в практической деятельности, в частности в селекции как новый исходный материал с соматоклональной изменчивостью, в межвидовых скрещиваниях, в декоративном цветоводстве.

Ключевые слова: *Linum* L.; *in vitro*; питательная среда; фитогормоны; побег.

UDC 633.521:58.085

Mishchenko, S. V.*, & **Kryvosheieva, L. M.** (2019). Callus formation, organogenesis and microclonal reproduction in different species of the genus *Linum* L. *in vitro*. *Plant Varieties Studying and Protection*, 15(2), 124–134. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.15.2.2019.173558>

Institute of Bast Crops, NAAS of Ukraine, 45 Tereshchenkiv St., Hlukhiv, Sumy region, 41400, Ukraine, *e-mail: serhii-mishchenko@ukr.net

Purpose. To reveal the frequency and intensity of callus formation and organogenesis, the effectiveness of microclonal reproduction of various species of the genus *Linum* L. (Linaceae) *in vitro*. **Methods.** For *in vitro* induction of callus formation and organogenesis, hypocotyl segments of species *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* and convar. *usitatissimum*, *L. tenue* Desf., *L. bienne* Mill., *L. corymbulosum* Pchb., *L. nervosum* Waldst. & Kit., *L. flavum* L., *L. campanulatum* L., *L. perenne* L., *L. austriacum* L., *L. grandiflorum* Desf., *L. strictum* L. were cultivated on Murashige and Skoog medium supplemented with 0.05 mg/l 1-naphthylacetic acid and 1.0 mg/l 6-benzyl aminopurine at 22–24 °C, relative humidity of 60–80%, with 16 hours photoperiod (2500 flux). For microclonal reproduction Murashige and Skoog, White, Gamborg and Eveleigh media and their modifications were used. The measurement results were

interpreted by the arithmetic mean, standard error for the sample mean, the least significant difference and ranked. **Results.** Different species of the genus *Linum* to a large extent are capable of forming callus and regenerating shoots under the specified cultivation conditions. The frequency of callus formation for the studied samples on the 35th day of cultivation varied within 81.25–100%, the mass of callus from one explant – 0.21–1.64 g, the frequency of organogenesis – 12.50–100%, the number of shoots – 1.8–7.6 pcs. and the height of the shoots was 0.82–2.12 cm. The following species: *L. usitatissimum* convar. *elongatum*, *L. tenue*, *L. bienne* and *L. strictum* were distinguished by a high intensity of callus formation. Intensive organogenesis was peculiar to *L. tenue*, *L. bienne*, *L. flavum*, *L. austriacum* and *L. grandiflorum*. The efficiency of somaclonal obtaining was quite low in *L. nervosum* and *L. campanula-*

tum. In total, for the microclonal reproduction of species of the genus *Linum* Murashige and Skoog, Gamborg and Eveleigh media supplemented with 12.5 g/l glucose were optimal. At the final stages of microclonal propagation, before transferring microclones *in vivo*, it is advisable to use White medium, which contributes to a high frequency of rhizogenesis. Varieties of *L. usitatissimum* convar. *elongatum* and convar. *usitatissimum* had different responses to *in vitro* culture. **Conclusions.** The frequency and intensity of callus formation and organogenesis, the effectiveness of

microclonal reproduction depended on the genotype of a particular species; therefore it is advisable to select the composition of the nutrient medium and growth regulators for each of them. Some species of the genus *Linum* have not yet been studied *in vitro*, so the obtained results allow expanding the scope of their use in practice, in particular in breeding as a new source material with somaclonal variation, interspecific crosses, and ornamental floriculture.

Keywords: *Linum* L.; *in vitro*; nutrient medium; phytohormones; shoot.

Надійшла / Received 13.03.2019

Погоджено до друку / Accepted 14.05.2019