УДК 633.521:[604+581.1]
DOI https://doi.org/10.32848/agrar.innov.2023.21.24

МОДИФІКАЦІЯ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ *IN VITRO* ІЗОЛЬОВАНИХ ОРГАНІВ, ТКАНИН І КЛІТИН *LINUM USITATISSIMUM* L. CONVAR. *ELONGATUM*

МІЩЕНКО С.В. – доктор сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник
orcid.org/0000-0002-1979-4002
Глухівський національний педагогічний університет імені Олександра Довженка

Постановка проблеми. Напрями дослідження культури ізольованих органів, клітин і тканин конопель *Lin um usitatissimum* L. convar. *elongatum* (льон звичайний різновид довгунець) *in vitro* дуже різноманітні [1–3], дані технології активно розвиваються і мають широкий спектр застосування, зокрема вони можуть бути використані у фізіологічних і селекційно-генетичних дослідженнях з метою вивчення біологічних особливостей виду, стресу і адаптації, мікроклонального розмноження цінних генотипів у значних обсягах, отримання цінних метаболітів, створення нового селекційного матеріалу шляхом використання сомаклональної мінливості чи генної інженерії.

Культивування ізольованих рослинних органів, тканин і клітин *in vitro* за умови моделювання різних умов абіотичного середовища (температури, світла, вологи, елементів живлення тощо) дає змогу встановити окремі особливості протікання фізіологічних процесів і біохімічних реакцій та перенести знання цих закономірностей у практичну площину – підвищення продуктивності та якості агрокультур, розробку заходів подолання абіотичних стресів та ін. Таким чином, існує потреба у розробці оптимального середовища для культивування певного виду рослин в умовах *in vitro* задля прискореного отримання великої кількості експериментального матеріалу.

Окрім того, культивування соматичних тканинних структур і регенерація з них рослин дозволяє отримувати генетично змінені рослини-регенеранти, які можуть генотипово і фенотипово суттєво відрізнятись від своїх вихідних форм і стати цінним селекційним матеріалом. Саме проходження клітинами стадії калюсогенезу веде до появи різного роду змін в генотипі, а рівень сомаклональної мінливості залежить від різних чинників, зокрема вихідного матеріалу, умов культивування *in vitro*, складу живильних середовищ, наявності екзогенних регуляторів росту тощо. При цьому, на відміну від штучно індукованих мутантів, вирощених у польових умовах, є можливість добору корисних і елімінації шкідливих чи небажаних мутантних форм. Особливе значення для селекції має отримання гаплоїдів з подальшим подвоєнням хромосомного набору. Метод подвоєних гаплоїдів дозволяє створити гомозиготний матеріал і підвищити його продуктивність. Таким чином, у селекційно-генетичній роботі з агрокультурами все більш затребуваним стає застосування біотехнологічних методів для отримання принципово нового селекційного матеріалу.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Методики культивування *in vitro* добре розроблені для олійного льону [3–5], у свою чергу льон-довгунець має відмінні особливості росту і розвитку, специфічну генотипову реакцію, потреби в основних елементах живлення та мікроелементах, регуляторах росту екзогенного походження (фітогормонах) тощо за вирощування загалом та в культурі ізольованих клітин і тканин зокрема, тому актуальною є розробка живильного середовища для культивування *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* в умовах *in vitro*, яке б покращувало цей процес.

Найчастіше для культивування льону звичайного використовують живильне середовище Мурасіге і Скуга [6], яке містить неорганічні макро- і мікросолі, органічні сполуки у вигляді вуглеводу сахарози, амінокислот, фітогормонів (за потреби), вітамінів та агару. Як і коноплі посівні [7], так і льон звичайний, як луб'яна культура, добре реагує на застосування екзогенних регуляторів росту, зокрема фітогормонів [8]. Використовуючи цю особливість, модифікуючи середовище Мурасіге і Скуга, було розроблено спосіб розмноження льону звичайного із насіння з низькою схожістю та життєздатністю [9], встановлено вплив типу експланта та генотипу сорту на інтенсивність калюсо- й органогенезу та виділено оптимальні варіанти [10], розроблено рекомендації щодо розмноження дикорослих видів роду [11] тощо.

Разом з тим, *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* характеризується більш інтенсивним ростом, має підвищену потребу в основних елементах живлення (N, K, P, Na), мікроелементах й антиоксидантах, а за умови використання зазначеного середовища експланти ростуть трохи повільно, іноді пагони є досить слабкими, часто з'являються некротичні плями на листках, швидко сповільнюється ріст у меристематичних зонах і пагони закінчують свій розвиток і відмирають, що унеможливлює їх подальше використання, спостерігається накопичення фенольних сполук, інтенсивність калюсогенезу і органогенезу вимагає істотної активізації. Дане середовище потребує модифікації свого складу для покращення культивування даного біологічного виду та різновиду.

Мета. Розробити на основі живильного середовища Мурасіге і Скуга нове живильне середовище, яке було б більш придатним для культивування *Linum usitatissi mum* L. convar. *elongatum* в умовах *in vitro*, і покращувало процес та результат культивування, підвищувало коефіцієнт розмноження матеріалу, інтенсифікацію росту пагонів, їх потужність та життєздатність, сприяло подовженню тривалості вегетативної стадії розвитку і онтогенезу загалом, яке б збільшувало ефективність калюсогенезу та соматичного ембріогенезу за умови додавання фітогормонів екзогенного походження,

виступало інгібітором накопичення фенольних сполук за рахунок модифікації складу хімічних елементів та органічних складових.

Матеріали та методика досліджень. Дослідження проведені на базі Інституту луб'яних культур НААН. У ролі експлантів використовували незрілі зародки насінин, пиляки, гіпокотильні й епікотильні сегменти, сім'ядольні та справжні листки, сегменти стебел, живці з меристемами декількох сортів льону-довгунця. Базовими живильними середовищами слугували середовища Мурасіге і Скуга, Гамборга і Евелега, Уайта, які модифікували за різними складовими макро- та мікросолей, органічних складових тощо. Експланти культивували за фотоперіоду 16 год, інтенсивності освітлення 2500 лк, відносної вологості повітря 60–80%, температури 22–24°С. Ефективність модифікації середовища оцінювали за інтенсивністю росту пагонів, їх станом, життєздатністю, інтенсивністю калюсо- й органогенезу.

Результати досліджень. Експериментально було встановлено найкращий варіант модифікації середовища Мурасіге і Скуга, до якого внесено наступні зміни складових: 2000 мг/л (25 мМ) NH_4NO_3, 2022 мг/л (20 мМ) KNO_3, 136 мг/л (1 мМ) KH_2PO_4, 156 мг/л (1 мМ) $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$, 33,36 мг/л (0,12 мМ) $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, комплексованого (хелатованого) 44,76 мг/л (0,12 мМ) EDTA-Na_2, 9,27 мг/л (150 мкМ) H_3BO_3, 5,3 мг/л (25 мкМ) $Na_2SiO_3 \cdot 5H_2O$, 0,05 мг/л (0,2 мкМ) $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0,05 мг/л (0,2 мкМ) $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, 2,5 мг/л гліцину, 0,25 мг/л нікотинової кислоти, 1 мг/л піридоксину, 0,2 мг/л тіаміну, 5 мг/л аскорбінової кислоти, 4 мг/л бурштинової кислоти, 10000–30000 мг/л глюкози, 8000 г/л агару.

Нітроген є одним із надзвичайно важливих біогенних макроелементів для рослин, оскільки він входить до складу молекул амінокислот і відповідно білків, фітогормонів, ДНК, РНК, хлорофілу тощо [12]. *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* є досить вимогливим видом і сільськогосподарською культурою до забезпеченості доступними для живлення сполуками даного елементу. Наявність Ніторогену у складі середовища головним чином забезпечується присутністю іонів NH_4^+ та NO_3^-. Саме підвищені, у порівнянні із живильним середовищем Мурасіге і Скуга, концентрації NH_4NO_3 (2000 мг/л) і KNO_3 (2022 мг/л) інтенсифікують ріст експлантів та калюсів, сприяють кращому розвитку вегетативних органів, водночас гальмують розвиток генеративних органів, подовжуючи тривалість їх онтогенезу *in vitro* загалом.

Потреба *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum*, як технічної культури, у Калію дещо вища, порівняно з іншими рослинами. Як правило, Калій підтримує на оптимальному рівні фізико-хімічні властивості протопласта, водний баланс і активізує роботу ферментів [12]. Підвищена, у порівнянні із живильним середовищем Мурасіге і Скуга, концентрація у живильному середовищі іонів K^+, джерелом яких є здебільшого сіль KNO_3 (2022 мг/л), разом з підвищеним вмістом Нітрогену гармонізує інтенсивний ріст рослин у висоту, сприяє формуванню більшої кількості міжвузлів, що важливо для підвищення коефіцієнта розмноження мікроклонів. У той же час, через достатню кількість вуглеводу глюкози (яка дає кращі результати, порівняно з сахарозою) водний баланс (осмотичний тиск) порушується не істотно.

Знижена, у порівнянні із живильним середовищем Мурасіге і Скуга, концентрація KH_2PO_4 (136 мг/л) компенсується шляхом додавання у середовище $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (156 мг/л). Обидві солі є джерелом Фосфору у вигляді іонів ортофосфорної кислоти PO_4^{3-}, але $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ містить іони Na^+, на наявність якого у достатній кількості позитивно реагує льон-довгунець як волокниста (луб'яна) культура, що географічно походить із регіонів зі значним поширенням засолених ґрунтів із високим вмістом іонів Натрію. За наявності Натрію спостерігається кращий ріст рослин внаслідок роботи натрієвих насосів, що забезпечують надходження в рослини найважливіших біогенних елементів і формування якісного волокна.

Для *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* властиве формування молодих пагонів із вузлів при штучному видаленні апікальних меристем, тому підвищена, у порівнянні із живильним середовищем Мурасіге і Скуга, до 33,36 мг/л концентрація $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, комплексованого (хелатованого) EDTA-Na_2, необхідна для попередження розвитку хлорозів у молодих листків, які інтенсивно ростуть *in vitro*.

Експериментально було встановлено, що культивування даного різновиду льону в умовах *in vitro* дає кращі результати при збільшеному вмісті у середовищі таких мікроелементів, як Бор, Купрум і Кобальт, та таких органічних складових як гліцин, піридоксин і тіамін, порівняно із живильним середовищем Мурасіге і Скуга. Концентрацію нікотинової кислоти зменшено у складі живильного середовища, оскільки вона у даного різновиду льону негативно впливала на ріст і розвиток пагонів, соматичний і генеративний калюсогенез і органогенез.

Силіцій в іонній формі ($Na_2SiO_3 \cdot 5H_2O$), якого не було у середовищі-прототипі, за надходження до рослинного організму сприяє загальній стійкості експлантів до зовнішніх стресів, а також збільшенню потужності росту, фотосинтетичної поверхні листків і в результаті – біомаси мікроклонів, сомаклонів (чи калюсних утворень), оскільки даний хімічний елемент впливає на молекулярні процеси, що регулюють як первинний, так і вторинний ріст [12]. Формування волокнистих структур стебла та загальної біомаси ґрунтується на протіканні різних явищ, зокрема переході від подовження до потовщення тканин стебла, синтезу вторинних клітинних стінок, просочених лігніном, багато з яких регулюється фітогормонами, тому стимулюючий вплив Силіцію на формування біомаси пояснюється його дією на біосинтез ендогенних фітогормонів.

Разом з 5,3 мг/л $Na_2SiO_3 \cdot 5H_2O$, включення до середовища 5 мг/л аскорбінової кислоти, 4 мг/л бурштинової кислоти, які характеризуються антиоксидантними властивостями, попереджують утворення фенольних сполук, що спричиняють пригнічення росту і розвитку або ж ведуть до загибелі експлантів. Окрім того, бурштинова кислота у пропонованій концентрації стимулює проростання насіння з низькою схожістю та життєздатністю та ріст пагонів.

Таблиця 1

Концентрація компонентів модифікованого живильного середовища для культивування *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* в умовах *in vitro*

Компонент живильного середовища	Масова концентрація, мг/л	Молярна концентрація	Масова концентрація маточного розчину, мг/л	Об'єм маточного розчину для приготування 1 л живильного середовища, мл
Макроелементи				
NH_4NO_3 *	2000	25 мМ	40000	50
KNO_3 *	2022	20 мМ	40440	
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440	3 мМ	8800	
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370	1,5 мМ	7400	
KH_2PO_4 *	136	1 мМ	2720	
$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ *	156	1 мМ	3120	
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ * EDTA-Na_2 *	33,36 44,76	0,12 мМ 0,12 мМ	6672 8952	5
Мікроелементи				
H_3BO_3 *	9,27	150 мкМ	9270	1
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22,3	100 мкМ	22300	
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8,6	30 мкМ	8600	
$Na_2SiO_3 \cdot 5H_2O$ *	5,3	25 мкМ	5300	
KJ	0,83	5 мкМ	830	
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0,25	1 мкМ	250	
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ *	0,05	0,2 мкМ	50	
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ *	0,05	0,2 мкМ	50	
Органічні складові				
Гліцин *	2,5		2500	1
Мезо-інозіт	100		20000	5
Нікотинова кислота *	0,25		250	
Піридоксин *	1		1000	1
Тіамін *	0,2		200	1
Аскорбінова кислота *	5		5000	1
Бурштинова кислота *	4		4000	1
Глюкоза *	10000–30000			
Агар *	8000			

*Примітки: 1. * – складові, концентрацію яких було змінено чи додано, решта – за прописом Мурасіге і Скуга. 2. Фітогормони вносять залежно від потреби. 3. Для мікроклонального розмноження масова концентрація глюкози становить 10000 мг/л, для індукції калюсогенезу – 30000 мг/л.*

Таблиця 2

Порівняння ефективності модифікованого живильного середовища культивування *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* в умовах *in vitro*

Ознака	Середовище Мурасіге і Скуга	Модифіковане середовище	Рівень значимості різниці (P) за t-критерієм Стьюдента
Висота пагонів, вирощених з насіння на 35-ту добу культивування, см	10,50 ± 0,238	15,75 ± 0,299	P < 0,001
Частота органогенезу, % *	87,6	99,9	
Маса калюсу з одного гіпокотильного сегмента на 35-ту добу культивування, г *	1,54 ± 0,083	3,08 ± 0,075	P < 0,001
Кількість утворених рослин-регенератів на калюсі з одного гіпокотильного сегмента, од.	3,77 ± 0,222	6,81 ± 0,314	P < 0,001
Висота сомаклонів на 35-ту добу культивування, см *	4,01 ± 0,325	7,49 ± 0,533	P < 0,001
Здатність до накопичення фенолів	Наявна	Відсутня	

*Примітка: * – живильне середовище додатково містило екзогенні регулятори росту – 0,05 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти і 1,0 мг/л 6-бензиламінопурину.*

Маточний розчин (шток) компонентів живильного середовища зручно готувати за таблицею 1 (дотримуючись загальноприйнятих правил).

Дані, наведені в таблиці 2, свідчать про ефективність пропонованого живильного середовища.

Порівняно з відомим середовищем Мурасіге і Скуга, вирощені на модифікованому середовищі пагони характеризувались більш інтенсивним ростом, вищими показниками ознак висоти, кількості міжвузлів, маси калюсу, утвореного на гіпокотильних сегментах, здатності до органогенезу, кількості утворених сомаклонів, тривалим періодом онтогенезу тощо.

Висновки. Для підвищення ефективності культивування *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* (льону-довгунця) в умовах *in vitro* ефективним є запропонована модифікація живильного середовища Мурасіге і Скуга, яке включає 440 мг/л (3 мМ) $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 370 мг/л (1,5 мМ) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 22,3 мг/л (100 мкМ) $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, 8,6 мг/л (30 мкМ) $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,83 мг/л (5 мкМ) KJ, 0,25 мг/л (1 мкМ) $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, 100 мг/л мезо-інозиту, а також 2000 мг/л (25 мМ) NH_4NO_3, 2022 мг/л (20 мМ) KNO_3, 136 мг/л (1 мМ) KH_2PO_4, 156 мг/л (1 мМ) $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$, 33,36 мг/л (0,12 мМ) $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, комплексованого (хелатованого) 44,76 мг/л (0,12 мМ) EDTA-Na_2, 9,27 мг/л (150 мкМ) H_3BO_3, 5,3 мг/л (25 мкМ) $Na_2SiO_3 \cdot 5H_2O$, 0,05 мг/л (0,2 мкМ) $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0,05 мг/л (0,2 мкМ) $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, 2,5 мг/л гліцину, 0,25 мг/л нікотинової кислоти, 1 мг/л піридоксину, 0,2 мг/л тіаміну, 5 мг/л аскорбінової кислоти, 4 мг/л бурштинової кислоти, 10000–30000 мг/л глюкози, 8000 г/л агару.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Millam S., Obert B., Pret'ová A. Plant cell and biotechnology studies in *Linum usitatissimum* – a review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2005. Vol. 82, Iss. 1. P. 93–103. doi: 10.1007/s11240-004-6961-6
2. 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
3. Anjum S., Komal A., Drouet S., Kausar H., Hano C., Abbasi B. H. Feasible production of lignans and neolignans inroot-derived *in vitro* cultures of flax (*Linum usitatissimum* L.). *Plants*. 2020. Vol. 9. 409. doi: 10.3390/plants9040409
4. Blinstrubienė A., Burbulis N., Masienė R. Genotypic and exogenous factors affecting linseed ovary culture. *Zemdirbyste-Agriculture*. 2017. Vol. 104, Iss. 3. P. 243–248. doi: 10.13080/z-a.2017.104.031
5. Сорока А. І. Оптимізація процесу калусоутворення у льону *in vitro*. *Науково-технічний бюлетень Інституту олійних культур НААН*. 2022. № 32. С. 26–33. doi: 10.36710/IOC-2022-32-03
6. 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
7. Mishchenko S. V., Laiko I. M., Tkachenko S. M., Lavrynenko Y. O., Marchenko T. Y., Piliarska O. O. The influence of exogenous growth regulators on the cannabinoid content and the main selection traits of hemp (*Cannabis sativa* L. SSP. *sativa*). *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*. 2022. Vol. 67, No. 3. P. 237–251. doi: 10.2298/JAS2203237M
8. Міщенко С. В., Мачульський Г. М. Методичні аспекти збільшення інтенсивності калюсогенезу й органогенезу *Linum usitatissimum* L. в умовах *in vitro*. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2022. Т. 30. С. 96–102. doi: 10.7124/FEEO.v30.1468
9. Mishchenko S., Kryvosheeva L. Possibility of reproduction of *Linum usitatissimum* L. from seeds with low germination and viability *in vitro* conditions. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality.* 2019. No 3. P. 304–311. doi: 10.15414/agrobiodiversity.2019.2585-8246.304-311
10. Mishchenko S. V., Kryvosheeva L. M., Lavrynenko Y. O., Marchenko T. Y. Influence of explant type and variety of *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* on the intensity of callus formation and organogenesis *in vitro*. *Plant Varieties Studying and Protection*. 2023. Vol. 19, No 3. P. 195–201. doi: 10.21498/2518-1017.19.3.2023.287644
11. Mishchenko S. V., Kryvosheieva L. M. Callus formation, organogenesis and microclonal reproduction in different species of the genus *Linum* L. *in vitro*. *Plant Varieties Studying and Protection*. 2019. Vol. 15, No 2. P. 124–134. doi: 10.21498/2518-1017.15.2.2019.173558
12. Злобін Ю. А. Курс фізіології і біохімії рослин. Суми: Університетська книга, 2004. 464 с.

REFERENCES:

1. Millam, S., Obert, B., & Pret'ová, A. (2005). Plant cell and biotechnology studies in *Linum usitatissimum* – a review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *82*(1), 93–103. doi: 10.1007/s11240-004-6961-6
2. 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
3. Anjum, S., Komal, A., Drouet, S., Kausar, H., Hano, C., & Abbasi, B. H. (2020). Feasible production of lignans and neolignans inroot-derived *in vitro* cultures of flax (*Linum usitatissimum* L.). *Plants*, *9*(4), Article 409. doi: 10.3390/plants9040409
4. 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
5. Soroka, A.I. (2022). Optymizatsiia protsesu kalusoutvorennia u lonu *in vitro* [Optimization of the callus formation process in flax *in vitro*]. *Scientific and Technical Bulletin of the Institute of Oil Crops of NAAS*, *32*, 26–33. doi: 10.36710/IOC-2022-32-03 [in Ukrainian].
6. 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
7. Mishchenko, S.V., Laiko, I.M., Tkachenko, S.M., Lavrynenko, Y.O., Marchenko, T.Y., & Piliarska, O.O. (2022). The influence of exogenous growth regulators on the cannabinoid content and the main selection traits of hemp (*Cannabis sativa* L. SSP. *sativa*). *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade),* 67(3), 237–251. doi: 10.2298/JAS2203237M

8. Mishchenko, S.V., & Machulskyi, H.M. (2022). Metodychni aspekty zbilshennia intensyvnosti kaliusohenezu y orhanohenezu Linum usitatissimum L. v umovakh *in vitro* [Methodical aspects of increasing the intensity of callus formation and organogenesis of *Linum usitatissimum* L. *in vitro* conditions]. *Factors in Experimental Evolution of Organisms*, *30*, 96–102. doi: 10.7124/FEEO.v30.1468 [in Ukrainian]
9. Mishchenko, S., & Kryvosheeva, L. (2019). Possibility of reproduction of *Linum usitatissimum* L. from seeds with low germination and viability *in vitro* conditions. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality, 3,* 304–311. doi: 10.15414/agrobiodiversity.2019.2585-8246.304-311
10. Mishchenko, S.V., Kryvosheeva, L.M., Lavrynenko, Y.O., & Marchenko, T.Y. (2023). Influence of explant type and variety of *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* on the intensity of callus formation and organogenesis *in vitro*. *Plant Varieties Studying and Protection*, *19*(3), 195–201. doi: 10.21498/2518-1017.19.3.2023.287644
11. 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. doi: 10.21498/2518-1017.15.2.2019.173558
12. Zlobin, Yu.A. *Kurs fiziolohii i biokhimii roslyn [Physiology and biochemistry course of plants].* Sumy: Universytetska knyha, 2004. 464 p. [in Ukrainian]

Міщенко С.В. Модифікація живильного середовища для культивування *in vitro* ізольованих органів, тканин і клітин *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum*

Мета. Розробити на основі живильного середовища Мурасіге і Скуга нове живильне середовище, яке було б більш придатним для культивування *Linu m usitatissimum* L. convar. *elongatum* в умовах *in vitro*, і покращувало процес та результат культивування. **Методи.** Біотехнологічні (культивування ізольованих органів, тканин і клітин *in vitro*, модифікація живильного середовища, морфометричні обліки), статистичні (встановлення середнього арифметичного, похибки вибіркового середнього, ступеня істотності різниці за t-критерієм Стьюдента). **Результати.** Для підвищення ефективності культивування *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* (льону-довгунця) в умовах *in vitro* ефективним є запропонована модифікація живильного середовища Мурасіге і Скуга, яке включає 440 мг/л (3 мМ) $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 370 мг/л (1,5 мМ) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 22,3 мг/л (100 мкМ) $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, 8,6 мг/л (30 мкМ) $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,83 мг/л (5 мкМ) KJ, 0,25 мг/л (1 мкМ) $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, 100 мг/л мезо-інозиту, а також 2000 мг/л (25 мМ) NH_4NO_3, 2022 мг/л (20 мМ) KNO_3, 136 мг/л (1 мМ) KH_2PO_4, 156 мг/л (1 мМ) $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$, 33,36 мг/л (0,12 мМ) $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, комплексованого (хелатованого) 44,76 мг/л (0,12 мМ) EDTA-Na_2, 9,27 мг/л (150 мкМ) H_3BO_3, 5,3 мг/л (25 мкМ) $Na_2SiO_3 \cdot 5H_2O$, 0,05 мг/л (0,2 мкМ) $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0,05 мг/л (0,2 мкМ) $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, 2,5 мг/л гліцину, 0,25 мг/л нікотинової кислоти, 1 мг/л піридоксину, 0,2 мг/л тіаміну, 5 мг/л аскорбінової кислоти, 4 мг/л бурштинової кислоти, 10000–30000 мг/л глюкози, 8000 г/л агару. **Висновки.** Вирощені на модифікованому середовищі пагони *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* характеризувались більш інтенсивним ростом, вищими показниками ознак висоти, кількості міжвузлів, маси калюсу, утвореного на гіпокотильних сегментах, здатності до органогенезу, кількості утворених сомаклонів, тривалим періодом онтогенезу тощо.

Ключові слова: льон-довгунець, ріст і розвиток, калюсогенез, органогенез, спадковість, мінливість.

Mishchenko S.V. Modification of nutrient medium for *in vitro* cultivation of isolated organs, tissues and cells of *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum*

Purpose. To develop a new nutrient medium on the basis of the Murashige and Skoog nutrient medium, which would be more suitable for the cultivation of *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum in vitro* and improved the process and result of cultivation was the aim of the study. **Methods.** Biotechnological (cultivation of isolated organs, tissues and cells *in vitro*, modification of nutrient medium, morphometric calculations), statistical (establishment of the arithmetic mean, errors of the sample mean, degree of significance of the difference according to the Student's t-criterion). **Results.** Modification of Murashige and Skoog nutrient medium, which includes 440 mg/L (3 mM) $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 370 mg/L (1.5 mM) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 22.3 mg/L (100 μM) $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, 8.6 mg/L (30 μM) $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.83 mg/L (5 μM) KJ, 0.25 mg/L (1 μM) $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, 100 mg/L meso-inositol, and 2000 mg/L (25 mM) NH_4NO_3, 2022 mg/L (20 mM) KNO_3, 136 mg/L (1 mM) KH_2PO_4, 156 mg/L (1 mM) $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$, 33.36 mg/L (0.12 mM) $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, complexed (chelated) 44.76 mg/L (0.12 mM) EDTA-Na_2, 9.27 mg/L (150 μM) H_3BO_3, 5.3 mg/L (25 μM) $Na_2SiO_3 \cdot 5H_2O$, 0.05 mg/L (0.2 μM) $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0.05 mg/L (0.2 μM) $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, 2.5 mg/L glycine, 0.25 mg/L nicotinic acid, 1 mg/L pyridoxine, 0.2 mg/L thiamine, 5 mg/L ascorbic acid, 4 mg/L succinic acid, 10,000–30,000 mg/L glucose, 8,000 g/L agar, is effective for increasing cultivation efficiency *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* (flax) *in vitro*. **Conclusions.** Shoots of *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* grown on a modified medium were characterized by more intensive growth, higher indicators of height traits, the number of internodes, the mass of callus formed on hypocotyl segments, the ability to organogenesis, the number of somaclones formed, a long period of ontogenesis, etc.

Key words: flax, growth and development, callusogenesis, organogenesis, heredity, variability.