

МІЩЕНКО С. В.

Інститут луб'яних культур НААН,

Україна, 41400, Сумська обл., м. Глухів, вул. Терещенків, 45, e-mail: serhii-mishchenko@ukr.net, (068) 798-11-98**ВПЛИВ 1-НАФТИЛОЦТОВОЇ ТА ІНДОЛ-3-ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ КАЛЮСОГЕНЕЗУ І ОРГАНОГЕНЕЗУ *LINUM USITATISSIMUM* L. В УМОВАХ *IN VITRO***

Мета. Дослідження впливу ауксинів екзогенного походження за сталої концентрації 6-бензиламінопурину (БАП) у живильному середовищі на інтенсивність калюсоутворення й органогенезу *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* (сорт Глінум) в умовах *in vitro*.

Методи. Гіпокотильні сегменти культивували на живильному середовищі Мурасіге і Скуга з додаванням 30 г/л сахарози і різних концентрацій фітогормонів, за фотоперіоду 16 год, відносної вологості повітря 60–80 %, температури повітря 22–24°C. **Результати.** Льон звичайний значною мірою здатний до утворення калюсу і пагонів за впливу: 1) лише ауксинів; 2) лише цитокінінів; 3) комбінації ауксинів і цитокінінів. Соматичний ембріогенез можливий також на безгормональному середовищі. **Висновки.** Для соматичного ембріогенезу *in vitro* оптимальні концентрації БАП можна виразити нерівністю $1,0 \leq \text{БАП} \leq 1,75$; оптимальні концентрації БАП за умови додавання до живильного середовища 0,05 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти (НОК) – нерівністю $0,5 \leq \text{БАП} \leq 2,0$; оптимальні концентрації НОК за умови додавання до середовища 1,0 мг/л БАП – нерівністю $0,025 \leq \text{НОК} \leq 0,150$; оптимальні концентрації індол-3-оцтової кислоти (ІОК) за умови додавання до середовища 1,0 мг/л БАП – нерівністю $0,05 \leq \text{ІОК} \leq 0,50$.

Ключові слова: *Linum usitatissimum* L., *in vitro*, фітогормони, калюс, органогенез.

Льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.) є важливою сільськогосподарською культурою комплексного використання. Здебільшого його вирощують для отримання натурального волокна, що може використовуватися у текстильній промисловості, насіння, харчової або технічної олії, але останнім часом цей вид набуває все більшої популярності завдяки здатності до синтезу таких вторинних метаболітів, як лігнани, що використовуються для лікування різних типів онкологічних захворювань. Отримують такі сполуки, використовуючи калюсні культури

льону *in vitro* на основі стеблових і листкових експлантів, інокульованих на середовищі Мурасіге і Скуга, доповненому різними концентраціями 1-нафтилоцтової кислоти (НОК), тидіазурону (ТДЗ) і 6-бензиламінопурину (БАП) [1], гіпокотильних сегментів за впливу ТДЗ і кінетину (КІН) [2] або в клітинній суспензійній культурі [3]. Калюси, отримані із листків (1,0 мг/л НОК у середовищі), накопичують найбільшу біомасу і характеризуються найвищим рівнем антиоксидантної активності, у той же час найвищий рівень синтезу флавоноїдів і фенольних сполук спостерігають у калюсах, які походять зі стеблових експлантів. Такі результати дають певні докази того, що НОК по-різному впливає на продукування лігнанів і неолігнанів у калюсній культурі льону, що відкриває широкі можливості для розробки стратегій зі збільшення виробництва зазначених цінних метаболітів [1]. Протягом багатьох десятиліть досліджень різних рослин було виявлено, що гормони, відомі як ауксини, мають життєво важливе значення у більшості процесів розвитку рослин. Індол-3-оцтова кислота (ІОК) є найбільш розповсюдженим ауксином у рослинах і може бути синтезована із її попередника – триптофану, який утворюється в хлоропластах. Останнім часом з'явилися повідомлення, що багато генів експресуються в хлоропластах і деякі з їх мутантів опосередковуються саме ауксинами [4], тому актуальність дослідження цих фітогормонів не викликає сумнівів, культивування рослинних клітин і тканин *in vitro* супроводжується виникненням значного цитоморфологічного і генетичного різноманіття як у калюсних тканинах, так і в рослинах-регенерантах, що створює основу для їх подальшого використання і в селекції.

Нині обґрунтовуються стратегії застосування явища мікроклонального розмноження, регенерації рослинних клітин і тканин льону звичайного, методів соматичного ембріогенезу, культури ізольованих протопластів, клітинних суспензій тощо, важливою галуззю досліджень є

використання у селекційних програмах культури пиляків та подвоєних гаплоїдів, розглядаються нові технології перенесення й експресії генів за допомогою генетичної трансформації, підкреслюється перспективність названої сільськогосподарської культури. При цьому для досягнення поставленої мети використовують досить різні поєднання фітогормонів та вуглеводів у живильному середовищі [5–12]. Ефективність органогенезу залежить ще й від попередньої підготовки експлантів (гіпокотильних сегментів) та конкуренції між ними [13, 14].

Загалом технології *in vitro* щодо льону досить добре розроблені, однак у проаналізованих джерелах у ролі об'єкта досліджень здебільшого використано зразки так званого олійного льону, а не льону-довгунця, який значно відрізняється від першого різновиду за морфологічними, фізіологічними і генетичними ознаками та властивостями. Зважаючи на недостатню розробленість окресленої проблеми, метою нашої роботи було вивчення впливу ауксинів екзогенного походження (НОК, ІОК) за сталої концентрації БАП (1,0 мг/л) у живильному середовищі на інтенсивність калюсоутворення і органогенезу льону-довгунця та визначення оптимальних концентрацій фітогормонів.

Матеріали і методи

Об'єкт досліджень – сорт *L. usitatissimum* L. *convar. elongatum* Глінум. Насіння стерилізували 3,0 %-м водним розчином натрій гіпохлориту (NaOCl) з експозицією 12,5–15 хв, тричі промивали стерильною дистильованою водою. Насіння кожного зразка пророщували на агаризованому безгормональному живильному середовищі Мурасіге і Скуга [15] з 10 г/л сахарози. На 7–15-ту добу з проростків брали гіпокотильні сегменти довжиною 2–3 мм. Сегменти гіпокотилі культивували на згаданому середовищі з 30 г/л сахарози, доповненому ауксинами (НОК, ІОК, 2,4-дихлорфеноксиоцтовою кислотою (2,4-Д)) і цитокінінами (БАП, КІН) з різними концентраціями і поєднаннями, що зазначено в ході викладу матеріалу. Фотоперіод – 16 год, відносна вологість – 60–80 %, температура повітря – 22–24 °С. Обліки проводили на 35-ту добу культивування, вибірка – не менше 30 експлантів і спостережень для кожного варіанта. Статистичну обробку даних проводили методами варіаційного і кореляційно-регресійного аналізу.

Результати та обговорення

Льон звичайний дуже чутливий до культури *in vitro*, за умов культивування гіпокотильних сегментів на безгормональному середовищі за вказаних кліматичних умов і фотоперіоду калюсогенез, хоча і досить слабкий, виявлено у 24,24 % експлантів, частота органогенезу при цьому склала 6,06 %. Слід зазначити, що 69,70–75,00 % гіпокотильних експлантів формували калюсну тканину за культивування на середовищі лише з ауксинами НОК, ІОК чи 2,4-Д. При цьому частота органогенезу була незначною: 6,25 і 12,90 % у варіантах з 0,5 і 1,0 мг/л ІОК відповідно; 12,50 і 12,12 % у варіантах з 0,05 і 0,1 мг/л НОК відповідно; регенерація пагонів майже не відбувалася у варіантах з 2,4-Д. Також калюсо добре формувався на середовищах лише з цитокінінами БАП (0,5, 1,0 і 2,0 мг/л) і КІН (0,15 і 0,30 мг/л). Частота калюсогенезу відповідно становила 93,75, 100, 93,94, 66,66 і 83,87 %, а органогенезу – 81,25, 93,55, 50,00, 48,71 і 48,38 % (табл. 1).

Поєднання ауксинів і цитокінінів, зокрема 0,05 НОК і 1,0 мг/л БАП, 0,05 НОК і 0,3 мг/л КІН, 0,5 ІОК і 1,0 мг/л БАП, 0,5 ІОК і 0,3 мг/л КІН, 0,15 2,4-Д і 0,3 мг/л КІН, 0,3 2,4-Д і 0,3 мг/л КІН, 0,3 2,4-Д і 0,6 мг/л КІН, значно сприяло утворенню калюсу у 100 % експлантів; у варіантах із 0,15 2,4-Д і 1,0 мг/л БАП, 0,3 2,4-Д і 2,0 мг/л БАП частота калюсоутворення була дещо нижчою, але більше 96 %. При цьому частота органогенезу мала досить суттєвий розмах варіації (від 3,12 до 96,88 %). Найкращим поєднанням для ініціації утворення пагонів був варіант НОК і БАП, а також ІОК і БАП (звичайно, в межах досліджуваних концентрацій), що і визначило вибір цих фітогормонів для проведення подальших досліджень із більш широким варіаційним рядом їх доз у середовищі. З позицій інтенсивного органогенезу не зовсім вдалими виявилися поєднання НОК і КІН, ІОК і КІН, 2,4-Д і БАП, а також 2,4-Д і КІН.

Дослідження різних концентрацій ауксинів НОК й ІОК за умов наявності у живильному середовищі цитокініну БАП з однаковою концентрацією 1,00 мг/л засвідчило, що певні концентрації ауксинів підвищують ефективність калюсо- і органогенезу. Як за включення у середовище НОК від 0,025 до 1,000 мг/л, так і за включення ІОК від 0,05 до 3,00 мг/л, частота калюсогенезу становила 100 % (табл. 2).

Таблиця 1. Частота калусоутворення і органогенезу льону звичайного залежно від співвідношення фітогормонів у живильному середовищі

Ауксини, мг/л			Цитокініни, мг/л		Частота калусогенезу, %	Частота органогенезу, %
НОК	ІОК	2,4-Д	БАП	КІН		
–	–	–	–	–	24,24	6,06
0,05	–	–	–	–	71,88	12,50
0,10	–	–	–	–	69,70	12,12
–	0,50	–	–	–	71,88	6,25
–	1,00	–	–	–	74,19	12,90
–	–	0,15	–	–	75,00	3,12
–	–	0,30	–	–	75,00	0,00
–	–	–	0,50	–	93,75	81,25
–	–	–	1,00	–	100	93,55
–	–	–	2,00	–	93,94	50,00
–	–	–	–	0,15	66,66	48,71
–	–	–	–	0,30	83,87	48,38
–	–	–	–	0,60	25,00	12,50
0,05	–	–	1,00	–	100	96,88
0,05	–	–	–	0,30	100	6,25
–	0,50	–	1,00	–	100	93,55
–	0,50	–	–	0,30	100	3,12
–	–	0,15	1,00	–	96,77	12,90
–	–	0,30	1,00	–	96,67	10,00
–	–	0,30	2,00	–	96,67	6,67
–	–	0,15	–	0,30	100	15,65
–	–	0,30	–	0,30	100	15,60
–	–	0,30	–	0,60	100	3,12

Таблиця 2. Вплив концентрації НОК та ІОК за умови наявності 1,0 мг/л БАП у живильному середовищі на інтенсивність калусоутворення і органогенезу льону звичайного

Фітогормони, мг/л		Інтенсивність калусогенезу		Інтенсивність органогенезу		
НОК	ІОК	Частота калусогенезу, %	Маса калуса з експланта, г	Частота органогенезу, %	Кількість пагонів, шт.	Висота пагонів, см
0,025	–	100	2,14±0,176	78,12	3,0±0,20	1,60±0,248
0,050	–	100	2,22±0,099	96,88	4,4±0,14	1,62±0,205
0,075	–	100	2,25±0,137	100	4,3±0,15	1,63±0,119
0,100	–	100	2,04±0,076	78,12	2,7±0,18	1,59±0,168
0,150	–	100	1,96±0,098	71,88	2,7±0,18	1,36±0,065
0,250	–	100	1,89±0,072	50,00	2,0±0,20	1,34±0,121
0,500	–	100	1,84±0,172	48,39	2,0±0,09	0,76±0,080
0,750	–	100	0,94±0,101	6,25	1,5±0,14	0,65±0,033
1,000	–	100	0,94±0,084	0,00	–	–
–	0,05	100	0,96±0,090	75,00	1,2±0,10	1,10±0,155
–	0,10	100	1,69±0,071	90,62	1,6±0,27	1,82±0,346
–	0,15	100	1,78±0,115	90,90	1,8±0,12	1,84±0,114
–	0,20	100	1,77±0,055	90,62	1,6±0,13	1,85±0,077
–	0,30	100	2,00±0,158	93,75	2,0±0,16	1,99±0,107
–	0,50	100	2,09±0,164	93,75	2,0±0,07	2,00±0,110
–	1,00	100	1,66±0,102	28,12	2,2±0,12	2,19±0,088
–	2,00	100	1,66±0,140	18,75	2,6±0,14	2,27±0,168
–	3,00	100	1,00±0,036	3,03	3,6 ± 0,24	2,75±0,142

У першому випадку (за умови додавання НОК) маса калюсу експланта коливалася в межах від 0,94 до 2,25 г, а різко зменшувалася, починаючи з концентрації 0,750 мг/л. Частота органогенезу становила від 6,25 (варіант з 0,750 мг/л НОК) до 100 % (варіант з 0,075 мг/л НОК), органогенез зовсім не відбувався за наявності у середовищі 1,000 мг/л досліджуваної сполуки. Найбільша кількість пагонів утворилась у середовищах з 0,050 і 0,075 мг/л цієї речовини (4,4 і 4,3 шт. відповідно). З підвищенням концентрації НОК зменшувалася висота пагонів. Загалом найбільш оптимальними виявилися варіанти середовища, які містили у своєму складі 0,050 або 0,075 мг/л НОК і 1,0 мг/л БАП.

У другому випадку (за умови додавання у середовище ІОК) маса калюсу коливалася в межах від 0,96 до 2,09 г. При цьому низькі (0,05 мг/л) і більш високі (3,00 мг/л) концентрації цього ауксину не сприяли інтенсивному збільшенню маси калюсних тканин. Частота органогенезу коливалася в межах від 3,03 (3,00 мг/л ІОК) до 93,75 % (0,30 і 0,50 мг/л ІОК). Ознака кількості пагонів у межах варіантів з ІОК була меншою від середовища з НОК, але з підвищенням концентрації їх кількість значно зростала. Ознака висоти пагонів коливалася в межах від 1,10 до 2,75 см, що перевищувало варіанти з ауксином НОК. Найкращими були варіанти, що поєднували ІОК від 0,10 до 0,50 мг/л і 1,0 мг/л БАП.

Аналіз експериментальних даних показує, що залежність між концентрацією ауксинів у живильному середовищі та інтенсивністю органогенезу і кількістю пагонів є нелінійною можна побудувати графіки та рівняння криволінійної регресії, які дозволяють прогнозувати збільшення чи зменшення частоти органогенезу та інтенсивності утворення пагонів від зменшення чи збільшення величини вмісту фітогормону у середовищі, виділити оптимальну його концентрацію для індукції зазначених явищ і отримання соматиклонів (рис.).

Нашими попередніми дослідженнями вже доведено, що БАП є важливим фітогормоном для росту і розвитку льону, а також диференціації клітин *in vitro*, що активізує протікання відповідних фізіологічних процесів у клітинах і тканинах [16]. Виявлено, що калюс утворювався на середовищах лише з БАП від 0,25 до 3,0 мг/л з високою частотою (у 75,00–100 % експлантів). Слід зазначити, що в межах досліджуваної вибірки частота калюсоутворення становила 100 %

у варіантах з 1,0, 1,25 і 1,5 мг/л БАП. Найнижча частота калюсоутворення була у варіантах з 0,25 і 3,0 мг/л цього цитокініну. Таким чином, подальше зниження концентрації (<0,25 мг/л) чи її підвищення (>3,0 мг/л) з метою індукції калюсогенезу є недоцільним. Найвищу масу калюсу з одного експланта виявлено у варіанті з 1,0 мг/л БАП, вона у середньому становила 3,00 г. Дещо нижчу інтенсивність формування калюсних тканин спостерігали у варіантах з 0,5 і 1,25 мг/л БАП, а найнижчу – у варіантах із крайніми значеннями концентрацій: 0,16 г за 0,25 мг/л БАП і 0,15 г за 3,0 мг/л БАП [16]. Частота органогенезу також залежала від концентрації БАП у живильному середовищі. У 100 % випадків із калюсу відбувалося формування пагонів на середовищі, що містило 1,25 мг/л досліджуваного фітогормону. Загалом висока інтенсивність органогенезу характерна для варіантів, де вміст БАП становив від 1,0 до 1,75 мг/л, що підтверджує аналіз ознак кількості і висоти утворених пагонів (2,4–5,0 шт. і 1,19–3,10 см відповідно). Концентрація БАП 3,0 мг/л не сприяла (або й пригнічувала) диференціації калюсних тканин і в подальшому появі меристематичних зон вегетативних органів льону [16].

Таким чином, для індукції калюсогенезу і органогенезу у досліджуваного виду загалом і окресленого генотипу зокрема (сорт Глінум) достатнім для органогенезу є синтез ауксинів ендогенного походження за наявності цитокінінів екзогенного походження (безперечно, це питання потребує подальшого вивчення і встановлення фізіологічних механізмів відповідних процесів у рослинних клітинах і тканинах), однак дослідження впливу різних концентрацій БАП на частоту та інтенсивність калюсо- й органогенезу за умови присутності у середовищі НОК з однаковою концентрацією 0,05 мг/л засвідчило, що загалом частота утворення калюсу і появи пагонів зростає порівняно з відповідними варіантами, в яких був лише цитокінін. Водночас оптимальні концентрації БАП розширюються від 0,5 до 2,0 мг/л. Калюс утворився на 100 % експлантів у варіантах з 1,0, 1,25, 1,5 і 1,75 мг/л БАП, а органогенез спостерігали у 100 % калюсів у варіанті з 1,5 мг/л зазначеної сполуки. Низька (0,25 мг/л) або ж висока (3,0 мг/л) доза БАП за умови додавання до середовища 0,05 мг/л НОК давали низьку частоту регенерації пагонів. Вона становила лише 6,25 % маси калюсу з експланта, кількості і висоти пагонів на середовищах, які містили

НОК (порівняно з середовищами без ауксину екзогенного походження), відрізнялися несуттєво.

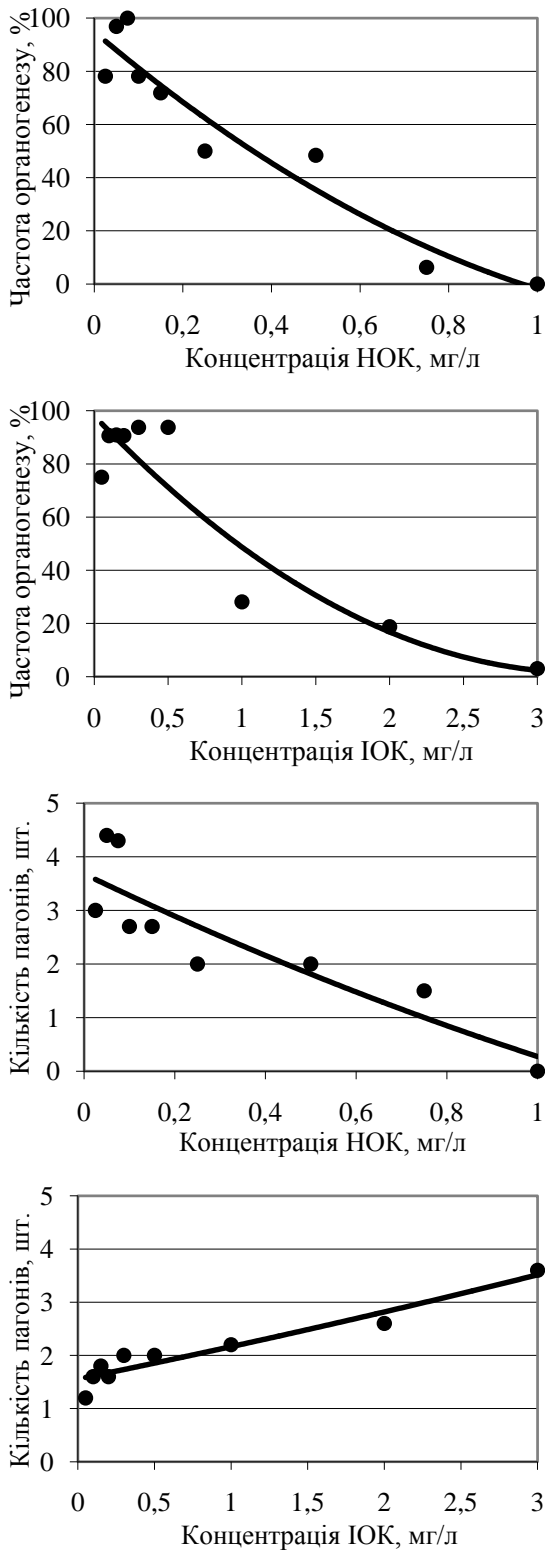


Рис. Криволінійна регресійна залежність частоти органогенезу льону звичайного від концентрації НОК й ІОК у живильному середовищі Мурасіге і Скуга, яке містить 1,0 мг/л БАП.

Ознаки Межі їх варіювання становили 0,48–2,82 г, 1,1–5,0 шт. і 1,52–2,02 см відповідно [16]. У відомих нам наукових літературних джерелах для калусоутворення і органогенезу досліджуваного виду здебільшого рекомендують використовувати поєднання НОК і БАП [6, 17].

Висновки

L. usitatissimum L. convar. *elongatum* (сорт Глінум) значною мірою здатний до утворення калусу на гіпокотильних сегментах за умови культивування на живильному середовищі Мурасіге і Скуга з додаванням 30 г/л сахарози, фотоперіоду 16 год, відносної вологості повітря 60–80 %, температури повітря 22–24 °С і за впливу: 1) лише ауксинів; 2) лише цитокінінів; 3) комбінації ауксинів і цитокінінів екзогенного походження. Соматичний ембріогенез можливий і на безгормональному середовищі. Найвища частота органогенезу спостерігалася за впливу БАП або КІН, тобто лише цитокінінів, поєднання БАП і ауксинів, зокрема НОК або ІОК. Збільшення концентрації НОК до 1,0 мг/л, ІОК до 3,0 мг/л і БАП до 3,0 мг/л пригнічувало ріст калусу і регенерацію пагонів. Фітогормон 2,4-Д сприяв порівняно інтенсивному калусогенезу, але за його наявності у живильному середовищі пагони майже не утворювалися. Для досліджуваного виду загалом і конкретного генотипу зокрема достатнім для органогенезу є синтез ауксинів ендогенного походження за наявності цитокінінів екзогенного походження.

Для соматичного ембріогенезу в культурі *in vitro* оптимальні концентрації БАП можна виразити нерівністю $1,0 \leq \text{БАП} \leq 1,75$; оптимальні концентрації БАП за умови додавання до живильного середовища 0,05 мг/л НОК – нерівністю $0,5 \leq \text{БАП} \leq 2,0$; оптимальні концентрації НОК за умови додавання до середовища 1,0 мг/л БАП – нерівністю $0,025 \leq \text{НОК} \leq 0,150$; оптимальні концентрації ІОК за умови додавання до середовища 1,0 мг/л БАП – нерівністю $0,05 \leq \text{ІОК} \leq 0,50$. Найбільша результативність калусогенезу і органогенезу нами виявлена у таких варіантах: 1) 1,25 мг/л БАП; 2) 1,5 БАП і 0,05 мг/л НОК; 3) 1,0 БАП і 0,075 мг/л НОК; 4) 1,0 БАП і 0,50 мг/л ІОК. Реакція *L. usitatissimum* L. convar. *elongatum* на вплив фітогормонів, порівняно з *L. usitatissimum* L. convar. *mediterraneum*, відрізняється. Установлені закономірності доцільно використовувати в селекційно-біотехнологічних дослідженнях.

References

- Anjum S., Abbasi B.H., Hano C. Trends in accumulation of pharmacologically important antioxidant-secondary metabolites in callus cultures of *Linum usitatissimum* L. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2017. Vol. 129 (1). P. 73–87. doi: 10.1007/s11240-016-1158-3.
- Khan I., Khan M.A., Shehzad M.A. et al. Micropropagation and production of health promoting lignans in *Linum usitatissimum*. *Plants.* 2020. Vol. 9 (6), 728. P. 1–18. doi: 10.3390/plants9060728.
- Zahir A., Nadeem M., Ahmad W. et al. Chemogenic silver nanoparticles enhance lignans and neolignans in cell suspension cultures of *Linum usitatissimum* L. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2019. Vol. 136 (3). P. 589–596. doi: 10.1007/s11240-018-01539-6.
- Salazar-Irbe A., De-la-Peña C. Auxins, the hidden player in chloroplast development. *Plant Cell Rep.* 2020. Vol. 39. P. 1595–1608. doi: 10.1007/s00299-020-02596-y.
- Blinstrubienė A., Burbulis N., Kuprienė R. Effect of genotype and medium composition on linseed (*Linum usitatissimum*) ovary culture. *Biologia.* 2011. Vol. 66 (3). P. 465–469. doi: 10.2478/s11756-011-0028-z.
- Burbulis N., Blinstrubienė A. Genotypic and exogenous factors affecting linseed (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. *J. Food, Agric. Environ.* 2011. Vol. 9 (3–4). P. 364–367. doi: 10.1234/4.2011.2285.
- Burbulis N., Blinstrubienė A., Masienė R., Jonytienė V. Influence of genotype, growth regulators and sucrose concentration on linseed (*Linum usitatissimum* L.) anther culture. *J. Food, Agric. Environ.* 2012. Vol. 10 (3–4). P. 764–767. doi: 10.1234/4.2012.3509.
- 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 (2). P. 135–138. doi: 10.5114/bta.2012.46578.
- 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 (3). P. 781–789. doi: 10.1007/s11738-012-1118-4.
- Sakhare S.P., Mendhulkar V.D. Embryo excised callus induction and rhizogenesis in *Linum usitatissimum* L. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 2016. Vol. 7 (3). P. 507–511.
- Blinstrubienė A., Burbulis N., Masienė R. Genotypic and exogenous factors affecting linseed ovary culture. *Zemdirbyste-Agriculture.* 2017. Vol. 104 (3). P. 243–248. doi: 10.13080/z-a.2017.104.031.
- 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. Vol. 3. P. 304–311. doi: 10.15414/agrobiodiversity.2019.2585-8246.304-311.
- 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 (2). P. 211–218. doi: 10.3906/bot-1005-26.
- 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 (1). P. 61–68. doi: 10.18036/aubtdc.427128.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15 (3). P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- Mishchenko S.V. Influence of 6-benzylaminopurine on intensity of callusogenesis and organogenesis of *Linum usitatissimum* L. under *in vitro* conditions. *The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology.* 2019. Vol. 2 (47). P. 92–100. doi: 10.35550/vbio2019.02.092. [in Ukrainian]
- 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 (3). P. 183–188. doi: 10.5114/bta.2017.70796.

MISHCHENKO S.V.

Institute of Bast Crops of the NAAS,

Ukraine, 41400, Sumska obl., Hlukhiv, Tereshchenkiv, 45, e-mail: serhii-mishchenko@ukr.net

EFFECT OF 1-NAPHTHYLACETIC AND INDOL-3-ACETIC ACID ON THE INTENSITY OF CALLUSOGENESIS AND ORGANOGENESIS OF *LINUM USITATISSIMUM* L. *IN VITRO*

Aim. Investigate the effect of auxins of exogenous origin in nutrient medium *in vitro* on the germination and organogenesis intensity in *Linum usitatissimum* L. convar. *elongatum* ('Hlinum' variety) at the constant concentration of 6-benzylaminopurine (BAP). **Methods.** Hypocotyl segments were cultured on Murashige and Skoog nutrient medium supplemented with sucrose (30 g/l) and phytohormones at various concentrations. Other conditions: photoperiod 16 hours, relative humidity 60–80%, air temperature 22–24°C. **Results.** Common flax has a great capacity to form callus and shoots under the effect of the following factors: 1) only auxins, 2) only cytokines, 3) combinations of auxins and cytokines. Somatic embryogenesis is also possible on a nonhormonal nutrient medium. **Conclusions.** For somatic embryogenesis *in vitro*, the optimal concentrations of BAP can be expressed as $1.0 \leq \text{BAP} \leq 1.75$, the optimal concentrations of BAP for the medium supplemented with 1-naphthylacetic (NAA, 0.05 mg/l) $0.5 \leq \text{BAP} \leq 2.0$, the optimal concentration of NAA for the medium supplemented with BAP (1.0 mg/l) $0.025 \leq \text{NAA} \leq 0.150$, and the optimal concentrations of indol-3-acetic acid (IAA) for the medium supplemented with BAP (1.0 mg/l) $0.05 \leq \text{IAA} \leq 0.50$.

Keywords: *Linum usitatissimum* L., *in vitro*, phytohormones, callus, organogenesis.