

М.Г. Маркова, научный сотрудник
Е.Н. Сомова, старший научный сотрудник

Удмуртский Федеральный исследовательский центр Уральского отделения РАН
РФ, 426067, Республика Удмуртия, г. Ижевск, ул. Т. Барамзиной, 34
E-mail: ugniish-nauka@yandex.ru

УДК 634.75:635.032.034

DOI: 10.30850/vrsn/2020/4/66-68

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЛИЧИНОК БОЛЬШОЙ ВОСКОВОЙ МОЛИ В КЛОНАЛЬНОМ МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ

*Работы по клональному микроразмножению земляники сводятся к поиску новых регуляторов роста, к которым относится биологически активное вещество — продукт жизнедеятельности восковой моли *Galleria mellonella* L. (ПЖВМ). Приведены данные 2018–2020 годов по влиянию ПЖВМ на эффективность клонального микроразмножения земляники (*Fragaria x ananassa* Duch) в условиях *in vitro* и *in vivo*. Объекты исследований — микрочеренки, укорененные микрочеренки и адаптированные микро растения земляники садовой сорта Корона и ремонтантной сорта Брайтон. Выявлено, что на этапе пролиферации коэффициент размножения по сорту Корона существенно увеличился с внесением в питательную среду ПЖВМ в дозах 4,0 и 6,0 мг/л и составил 4,2 и 3,8 шт/экспл. соответственно; по сорту Брайтон коэффициент при дозе ПЖВМ 2,0 мг/л возрос до 4,6 шт/экспл. На выход пригодных для укоренения микро черенков сорта Брайтон существенное влияние оказало внесение в питательную среду ПЖВМ в дозах 4,0 и 6,0 мг/л: выход составил 95,5 и 94,1 % соответственно, 87,7 % в контроле. По сорту Корона существенного положительного влияния ПЖВМ на данный показатель не отмечено. Укореняемость микро черенков земляники обоих сортов значительно увеличилась с внесением в питательную среду ПЖВМ во всех изучаемых дозах — Корона 86,4–100, Брайтон — 88,9–100 %. Приживаемость адаптируемых микро черенков земляники сорта Корона составила 100 % при опрыскивании водным раствором ПЖВМ в дозе 4,0 мг/л; максимальная приживаемость микро черенков сорта Брайтон — 99,8 % в варианте с опрыскиванием водным раствором ПЖВМ в дозе 6,0 мг/л.*

Ключевые слова: клональное микроразмножение, укоренение, адаптация, продукты жизнедеятельности восковой моли, земляника садовая.

M.G. Markova, researcher
E.N. Somova, senior researcher

Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the RAS
RF, 426067, Respublika Udmurtiya, g. Izhevsk, ul. T. Baramzinoj, 34
E-mail: ugniish-nauka@yandex.ru

USING OF LARGE WAX MOTH LARVAE PRODUCTS EXCRETED IN CLONAL MICROREPRODUCTION OF GARDEN STRAWBERRY

*Work on the clonal micropropagation of strawberries comes down to the search for new growth regulators, which include a biologically active substance — the waste product of the wax moth *Galleria mellonella* L. The effect of the waste product of the wax moth on the efficiency of clonal micropropagation of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch) *in vitro* and *in vivo* conditions in 2018–2020 is shown. The object of research is micro-cuttings, rooted micro-plants of garden strawberries of the Korona variety and of the remontant strawberries of the Brighton variety. It was revealed that at the proliferation stage, the propagation coefficient of the Korona variety increased significantly with the introduction of the waste product of the wax moth in doses of 4.0 mg/L and 6.0 mg/L and amounted to 4.2 and 3.8 pcs./explant, respectively; for Brighton variety, the coefficient increased significantly when the dose of the waste product of the wax moth 2.0 mg/L and amounted to 4.6 pcs./explant. The introduction of the waste product of the wax moth in doses of 4.0 mg/L and 6.0 mg/L into the nutrient medium had a significant effect on the yield of Brighton micro-cuttings suitable for rooting: the yield was 95.5 and 94.1 %, respectively 87.7 % in the control. For the Korona variety, no significant positive effect of the waste product of the wax moth on this indicator was noted. The rooting of micro-cuttings of strawberries of both varieties significantly increased with the introduction of the waste product of the wax moth into the nutrient medium in all studied doses and amounted to 86.4–100 % in the Korona variety, and 88.9–100 % in the Brighton variety. The survival rate of adaptable micro-cuttings of Korona variety strawberries when sprayed with an aqueous solution of the waste product of the wax moth at a dose of 4.0 mg/L was 100 %; the maximum survival rate of micro-cuttings Brighton variety is 99.8 % in the variant with spraying with an aqueous solution of the waste product of the wax moth at a dose of 6.0 mg/L.*

Key words: clonal micropropagation, rooting, adaptation, waste products of the wax moth, garden strawberry.

Метод *in vitro* дает возможность быстро размножать единичные растения, проводить работы независимо от погодных условий и сезонности, получать здоровый материал с увеличенным потенциалом к дальнейшему размножению. [5] Традиционно повышение эффективности клонального микроразмножения растений достигается путем оптимизации состава питательной среды и условий культивирования, для чего используют синтетические регуляторы роста и биологически

активные вещества. Одно из таких веществ — продукт жизнедеятельности восковой моли (ПЖВМ), который функционирует так же, как и биогумус. Поэтому его изучение представляет большой интерес на растительных объектах, в том числе в клональном микроразмножении садовых культур. [2, 3]

ПЖВМ представляет собой рассыпчатое вещество черного цвета (размер частиц от 0,1 мм до 3 мм), с приятным запахом пчелопродуктов содержит зна-

Таблица 1.

Пролиферация микрочеренков земляники в зависимости от продуктов жизнедеятельности восковой моли в условиях *in vitro*

Вариант	Корона		Брайтон	
	Коэффициент размножения, шт/экспл.	Выход пригодных для укоренения микрочеренков, %	Коэффициент размножения, шт/экспл.	Выход пригодных для укоренения микрочеренков, %
МС+6-БАП 0,5мг/л (контроль)	3,3	96,3	3,9	87,7
МС+6-БАП 0,5мг/л + 2,0 мг/л ПЖВМ	3,4	96,2	4,6	90,9
МС+6-БАП 0,5мг/л+ 4,0 мг/л ПЖВМ	4,2	95,2	3,9	95,5
МС+6-БАП 0,5мг/л+ 6,0 мг/л ПЖВМ	3,8	96,5	3,7	94,1
НСР ₀₅	0,5	3,1	0,1	5,4

чительное количество калия, фосфатов, магния, цинка и железа, а также микроэлементы: медь, марганец, селен, хром, молибден, кобальт, следы кремния, ванадия и серебра. [1, 4]

Переход из стерильных условий в нестерильные – стресс для микрорастений. На успех адаптации влияют как оптимальное соотношение развития надземной части и корневой системы, так и использование новых регуляторов роста, обеспечивающих эффективную приживаемость посадочного материала. [6]

Цель исследований – выявить влияние продуктов жизнедеятельности восковой моли на эффективность клонального микроразмножения земляники садовой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клональное микроразмножение земляники выполняли в светокамере лаборатории Удмуртского НИИСХ при освещенности – 75...85 мМоль/м² с⁻¹, температуре 22...25°C, относительной влажности воздуха 70...75 % и 16-часовом световом дне. Адаптация проходила на первом этапе (15 сут.) в субстрате на основе верхового торфа в минипарниках при влажности 100 % и температуре воздуха 22...27°C, на втором – в отдельных контейнерах объемом 0,4 л в субстрате на основе верхового и низинного торфа в соотношении 1:1 и влажности 50...60 %.

На этапе пролиферации, помимо 6-бензиламинопурина (6-БАП) в концентрации 0,5 мг/л, вносили в питательную среду Мурасиге-Скуга (МС) перед автоклавированием – ПЖВМ в концентрациях 2, 4 и 6 мг/л; при укоренении, наряду с добавлением 0,5 мг/л индолил-3-масляной кислоты (ИМК), добавляли – 1, 2 и 3 мг/л Мурасиге-Скуга с половинной дозой макро- и микросолей (МС 1/2). В период адаптации микрорастения двукратно с интервалом 5 дн. опрыскивали водным раствором ПЖВМ – 2, 4, 6 мг/л, в контрольном варианте – дистиллированной водой.

Объекты исследований на этапах: пролиферации – микрочеренки, укоренения – укорененные микрочеренки, адаптации – адаптированные микрорастения земляники сортов *Корона* и *Брайтон*.

Ростовые параметры адаптированных микрорастений определяли согласно ГОСТ Р 54051-2010. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили методом дисперсионного анализа по Доспехову Б.А.

РЕЗУЛЬТАТЫ

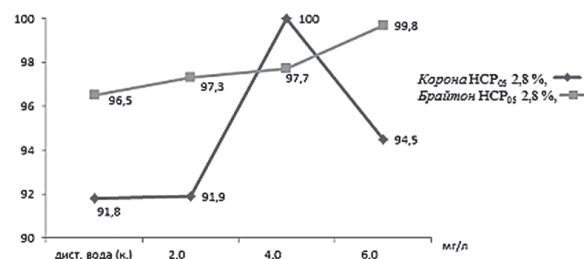
При культивировании микрочеренков земляники садовой сорта *Корона* положительное воздей-

ствие оказало внесение в питательную среду ПЖВМ в дозах 4,0 и 6,0 мг/л: в сравнении с контролем (3,3 шт/экспл.), коэффициент размножения составил 4,2 и 3,8 шт/экспл. соответственно при НСР₀₅ 0,5 шт/экспл. (табл. 1). На выход пригодных для укоренения микрочеренков земляники внесение в питательную среду ПЖВМ не оказало влияния. Коэффициент размножения по сорту *Брайтон* существенно увеличился с добавлением ПЖВМ только в дозе 2,0 мг/л и составил 4,6 шт/экспл. при НСР₀₅ 0,1 шт/экспл. На выход пригодных для укоренения микрочеренков сорта *Брайтон* существенно подействовало внесение в питательную среду ПЖВМ в дозах 4,0 и 6,0 мг/л: выход – 95,5 и 94,1 % соответственно, при 87,7 % в контроле и НСР₀₅ 5,4 %.

Значительному увеличению укореняемости микрочеренков сорта *Корона* (86,4...100 % при НСР₀₅ 3,1 %) способствовало внесение в питательную среду ПЖВМ во всех дозах (контроль 76,6 %). Отмечено также положительное влияние ПЖВМ во всех изучаемых дозах на количество нормально развитых листьев и корней укорененных микрочеренков, на высоту розеток и длину корней сорта *Корона* положительного действия ПЖВМ не выявлено (табл. 2).

Аналогичная тенденция прослеживается по сорту *Брайтон*: в сравнении с контролем (80,0 %), укореняемость микрочеренков возросла до 88,9...100 % во всех изучаемых вариантах внесения ПЖВМ в питательную среду при НСР₀₅ 1,7 %. Положительное влияние ПЖВМ отмечено как на число нормально развитых листьев, так и на количество корней укорененных микрочеренков. Высота розеток и длина корней сорта не зависели от доз ПЖВМ.

На этапе адаптации укорененных микрочеренков *in vivo* земляники сорта *Корона* при опрыскивании водным раствором ПЖВМ в дозе 4,0 мг/л, приживаемость составила 100 %, контроль – 91,8 % и НСР₀₅ – 2,8 % (см. рисунок).



Влияние продуктов жизнедеятельности восковой моли (ПЖВМ) на приживаемость микрорастений земляники в условиях *in vivo*, %.

Таблица 2.

Укореняемость и биометрические показатели укорененных микрочеренков земляники в зависимости от внесения ПЖВМ в условиях *in vitro*

Вариант	Укореняемость, %	Высота розеток, мм	Число листьев, шт.	Длина корней, мм	Количество корней, шт.
<i>Корона</i>					
МС 1/2 + ИМК 0,5мг/л (контроль)	76,6	25	2,8	17	3,5
МС 1/2 + ИМК 0,5мг/л + 1,0 мг/л ПЖВМ	89,4	21	3,2	15	4,6
МС 1/2 + ИМК 0,5мг/л + 2,0 мг/л ПЖВМ	100	21	3,8	16	5,8
МС 1/2 + ИМК 0,5мг/л + 3,0 мг/л ПЖВМ	97,0	21	3,6	16	5,9
МС 1/2 + ИМК 0,5мг/л + 4,0 мг/л ПЖВМ	86,4	20	3,0	15	4,8
НСР ₀₅	2,1				
<i>Брайтон</i>					
МС 1/2 + ИМК 0,5мг/л (контроль)	80,0	24	3,2	19	3,8
МС 1/2 + ИМК 0,5мг/л + 1,0 мг/л ПЖВМ	94,7	22	3,5	15	5,6
МС 1/2 + ИМК 0,5мг/л + 2,0 мг/л ПЖВМ	100	21	4,2	16	6,8
МС 1/2 + ИМК 0,5мг/л + 3,0 мг/л ПЖВМ	98,6	22	4,3	16	6,7
МС 1/2 + ИМК 0,5мг/л + 4,0 мг/л ПЖВМ	88,9	20	4,0	14	5,8
НСР ₀₅	1,7				

Приживаемость адаптируемых укорененных микрочеренков земляники сорта *Брайтон* достоверно, в сравнении с контролем (96,3 %), увеличилась при обработке растений водным раствором ПЖВМ в дозе 6,0 мг/л до 99,8 %, НСР₀₅ 2,8 %. Все адаптированные микрорастения земляники к концу этапа соответствовали ГОСТ Р 54051-2010, то есть число нормально развитых листьев было не менее 3,0 шт/раст., а высота розеток – не менее 2,0 см.

Таким образом, в период пролиферации коэффициент размножения сорта *Корона* существенно увеличился с внесением в питательную среду ПЖВМ в дозах 4,0 и 6,0 мг/л и составил 4,2 и 3,8 шт/экспл. соответственно; у *Брайтона* коэффициент значительно возрос при дозе ПЖВМ 2,0 мг/л – 4,6 шт/экспл. Укореняемость микрочеренков земляники обоих сортов значительно увеличилась с внесением в питательную среду ПЖВМ во всех изучаемых дозах: *Корона* – 86,4...100, *Брайтон* – 88,9...100 %. Максимальная приживаемость адаптируемых микрочеренков земляники сорта *Корона* – 100 %, *Брайтон* – 99,8 % при опрыскивании водным раствором ПЖВМ в дозе 4,0 и 6,0 мг/л соответственно.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Дыкман, Л.А. Взаимодействие растений с наночастицами благородных металлов / Л.А. Дыкман, С.Ю. Щегелев // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – Т. 52. – № 1. – С. 13–24.
2. Маркова, М.Г. Способ укоренения ремонтантной земляники в культуре *in vitro* / М.Г. Маркова, Е.Н. Сомова, А.С. Осокина, Л.М. Колбина – патент № 2715695 Российская Федерация. № 2019116042: заявл. 24.05.2019; опубл. 02.03.2020. Бюл. № 7.
3. Осокина, А.С. Биологические основы разведения большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) как источника биологически активных веществ / А.С. Осокина, Л.М. Колбина, А.В. Гущин – монография. Ижевск: Издательство Анны Зелениной. – 2019. – 166 с. ISBN 978-5-6042106-5-9.
4. Осокина, А.С. Влияние спиртового экстракта большой восковой моли (*Galleria mellonella*) на внутренние

органы мышей / А.С. Осокина, Е.А. Михеева, Т.В. Бабинцева // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. – 2018. – № 2 (47). – С. 91–101.

5. Технология получения оздоровленного от вирусов посадочного материала плодовых и ягодных культур: метод. указания. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2013. – 92 с.
6. Subin, A. Adaptation of regenerated strawberry plants to ex vitro using biological preparations / A. Subin, G. Tkalenko, V. Boroday, A. Likhanov // Агробиология. – 2016. – № 2 (128). – С. 85–90.

LIST OF SOURCES

1. Dykman, L.A. Vzaimodejstvie rastenij s nanochasticami blagorodnyh metallov / L.A. Dykman, S.Yu. Shchegolev // Sel'skohozyajstvennaya biologiya. – 2017. – Т. 52. – № 1. – С. 13–24.
2. Markova, M.G. Sposob ukoreneniya remontantnoj zemlyaniki v kul'ture in vitro / M.G. Markova, E.N. Somova, A.S. Osokina, L.M. Kolbina – patent № 2715695 Rossijskaya Federaciya. № 2019116042: zayavl. 24.05.2019; opubl. 02.03.2020. Byul. № 7.
3. Osokina, A.S. Biologicheskie osnovy razvedeniya bol'shoj voskovoju moli (*Galleria mellonella* L.) kak istochnika biologicheski aktivnyh veshchestv / A.S. Osokina, L.M. Kolbina, A.V. Gushchin – monografiya. Izhevsk: Izdatel'stvo Anny Zeleninoj. – 2019. – 166 s. ISBN 978-5-6042106-5-9.
4. Osokina, A.S. Vliyanie spirtovogo ekstrakta bol'shoj voskovoju moli (*Galleria mellonella*) na vnutrennie organy myshej / A.S. Osokina, E.A. Miheeva, T.V. Babinceva // Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2018. № 2 (47). – С. 91–101.
5. Tekhnologiya polucheniya ozdorovlennogo ot virusov posadochnogo materiala plodovyh i yagodnyh kul'tur: metod. ukazaniya. – М.: FGBNU «Rosinformagrotekh», 2013. – 92 s.
6. Subin, A. Adaptation of regenerated strawberry plants to ex vitro using biological preparations / A. Subin, G. Tkalenko, V. Boroday, A. Likhanov // Агробиология. – 2016. – № 2 (128). – С. 85–90.