

О.В. Мацнева

Л.В. Ташматова, кандидат сельскохозяйственных наук

Т.М. Хромова, кандидат биологических наук

Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур

РФ, 302530, Орловская обл., Орловский р-н, д. Жилина

E-mail: mazneva@vniispk.ru

УДК 634.75:581.143.6

DOI: 10.30850/vrsn/2022/3/57-60, EDN: beshpq

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА УКОРЕНЕНИЕ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ *IN VITRO*

Земляника садовая – основная ягодная культура с быстрорастущим мировым рынком. При массовом производстве высококачественного посадочного материала возрастает роль биотехнологических методов размножения. Цель работы – изучение воздействия различных ауксинов на ризогенез востребованных коммерческих сортов земляники садовой отечественной и зарубежной селекции в системе производства оздоровленного посадочного материала. Исследования проводили в лаборатории биотехнологии ФГБНУ ВНИИСПК по общепринятым методикам. Изучали сорта: Берегиня, Урожайная ЦГЛ, Царица, Asia, Darselekt, Kimberly, Korona, Marmolada, Frida, Honeoye. Через шесть недель отмечено 100%-е укоренение микророзеток сортов земляники на всех индукторах корнеобразования. Определены оптимальные типы, концентрации и сочетание регуляторов ризогенеза, обеспечивающие интенсивное корнеобразование у растений. У микророзеток сортов Asia и Honeoye выявлено наибольшее количество корней при использовании ИУК 0,5 мг/л (6,8 шт./экспл.). Kimberly и Царица активно формировали объемную корневую систему с ИМК 0,5 мг/л (5,6 и 5,8 шт./экспл. соответственно). Доведение концентрации ИМК до 1,0 мг/л не способствовало увеличению количества корней. Совместное введение в питательную среду ауксинов ИМК и ИУК в концентрации 0,5 мг/л можно рекомендовать для укоренения микророзеток сортов Asia, Берегиня, Darselekt, Marmolada, Урожайная ЦГЛ. Их синергическое действие повлияло на образование большего количества более длинных корней.

Ключевые слова: земляника садовая, микроклональное размножение, *in vitro*, ризогенез, индукторы корнеобразования.

O.V. Matsneva

L.V. Tashmatova, PhD in Agricultural Sciences

Т.М. Khromova, PhD in Biological Sciences

Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding

RF, 302530, Orlovskaya obl., Orlovskij r-n, d. Zhilina

E-mail: mazneva@vniispk.ru

GROWTH REGULATOR INFLUENCE ON GARDEN STRAWBERRY ROOTING *IN VITRO*

Strawberry is the main berry crop with a fast-growing global market. With the mass production of high-quality planting material, the role of biotechnological methods of reproduction increases. The aim of the study was to study the impact of various auxins on the rhizogenesis of popular commercial varieties of domestic and foreign garden strawberries in the system of production of healthy planting material. The research was carried out in the laboratory of biotechnology of the GNU VNIISPК according to generally accepted methods. The objects of the study were varieties of domestic and foreign garden strawberries: Bereginya, Urozhainaya CGL, Tsaritsa, Asia, Darselekt, Kimberly, Korona, Marmolada, Frida, Honeoye. The conducted studies have revealed a high rooting ability of the studied varieties. After 6 weeks, 100 % rooting of strawberry varieties was noted on all inductors of root formation. The optimal types, concentrations and combination of rhizogenesis regulators providing intensive root formation in plants of the studied varieties have been determined. In the microarrays of Asia and Honeoye varieties, the largest number of roots was observed when using IAA at a concentration of 0.5 mg/l (6.8 pcs./explant). Kimberly and Tsaritsa plants more actively formed a voluminous root system with the addition of BMI – 0.5 mg/l (5.6 and 5.8 pcs/exp. respectively). An increase in the concentration of IBA to 1.0 mg/l did not contribute to an increase in the number of roots in the studied varieties. An increase in the concentration of IBA to 1.0 mg/l did not contribute to an increase in the number of roots in the studied varieties. The joint introduction into the nutrient medium of auxins of IBA and IAA at a concentration of 0.5 mg/l can be recommended for rooting micro-rosettes of varieties Asia, Bereginya, Darselekt, Marmolada, Urozhainaya CGL. Their synergistic effect influenced the formation of more longer roots.

Keywords: garden strawberries, microclonal propagation, *in vitro*, rhizogenesis, inducers of root formation.

Актуальная проблема современного питомниководства – недостаточный выпуск отечественного оздоровленного посадочного материала плодовых и ягодных культур, в том числе земляники. Качество посадочного материала определяет стабильность, продуктивность маточных и промышленных насаждений, товарность продукции и оказывает существенное влияние на экономические показатели отрасли садоводства. [10, 12] Возможность быстрого производства таких растений обеспечивает метод микроклонального размножения.

Одним из ключевых моментов микроразмножения, завершающим стадию *in vitro*, считается этап укоренения, основанный на серии различных биохимических, физиологических и гистологических процессов. Образование корней проходит в три периода: индукция, инициация, появление корней за пределами побега. Продолжительность первых двух составляет 10...15 дн., полный цикл – четыре-шесть недель в зависимости от культуры. Основная роль в укоренении принадлежит ауксинам, синтезируемым эксплантами. [2] По мнению

Влияние гормонального состава питательной среды на ризогенез сортов земляники

Сорт	Ауксин	Укореняемость через шесть недель, %	Количество корней, шт./экспл.	Длина корней, мм	
<i>Asia</i>	ИМК 0,5 мг/л	100,0	5,7	4,1	
	ИМК 1,0 мг/л	100,0	4,9	7,1	
	ИУК 0,5 мг/л	100,0	6,8	6,0	
	ИМК 0,5 мг/л+ИУК 0,5 мг/л	100,0	5,7	8,1	
Кoeffициент вариации (CV), %		0,0	11,7	23,5	
	<i>Берегиня</i>	ИМК 0,5 мг/л	100,0	4,1	4,6
		ИМК 1,0 мг/л	100,0	3,8	6,5
		ИУК 0,5 мг/л	100,0	3,6	8,6
ИМК 0,5 мг/л+ИУК 0,5 мг/л		100,0	4,6	7,7	
Кoeffициент вариации (CV), %		0,0	9,4	21,9	
	<i>Darselekt</i>	ИМК 0,5 мг/л	100,0	3,8	2,8
		ИМК 1,0 мг/л	100,0	3,1	2,6
		ИУК 0,5 мг/л	100,0	2,6	5,0
ИМК 0,5 мг/л+ИУК 0,5 мг/л		100,0	4,1	5,1	
Кoeffициент вариации (CV), %		0,0	17,3	30,4	
	<i>Kimberly</i>	ИМК 0,5 мг/л	100,0	5,6	3,7
		ИМК 1,0 мг/л	100,0	2,7	2,5
		ИУК 0,5 мг/л	100,0	3,3	3,3
ИМК 0,5 мг/л+ИУК 0,5 мг/л		100,0	3,3	2,8	
Кoeffициент вариации (CV), %		0,0	29,8	15,0	
	<i>Korona</i>	ИМК 0,5 мг/л	100,0	4,7	4,0
		ИМК 1,0 мг/л	100,0	4,3	3,1
		ИУК 0,5 мг/л	100,0	4,9	3,8
ИМК 0,5 мг/л+ИУК 0,5 мг/л		100,0	3,7	4,0	
Кoeffициент вариации (CV), %		0,0	10,4	9,9	
	<i>Marmolada</i>	ИМК 0,5 мг/л	100,0	3,8	4,7
		ИМК 1,0 мг/л	100,0	3,6	2,9
		ИУК 0,5 мг/л	100,0	2,7	3,1
ИМК 0,5 мг/л+ИУК 0,5 мг/л		100,0	5,8	8,1	
Кoeffициент вариации (CV), %		0,0	28,5	44,3	
	<i>Урожайная ЦГЛ</i>	ИМК 0,5 мг/л	100,0	4,3	6,1
		ИМК 1,0 мг/л	100,0	3,5	3,6
		ИУК 0,5 мг/л	100,0	4,1	4,3
ИМК 0,5 мг/л+ИУК 0,5 мг/л		100,0	5,0	19,8	
Кoeffициент вариации (CV), %		0,0	12,7	78,3	
	<i>Frida</i>	ИМК 0,5 мг/л	100,0	3,9	5,6
		ИМК 1,0 мг/л	100,0	2,5	4,6
		ИУК 0,5 мг/л	100,0	4,0	4,1
ИМК 0,5 мг/л+ИУК 0,5 мг/л		100,0	5,6	5,5	
Кoeffициент вариации (CV), %		0,0	27,4	12,7	
	<i>Hopeoue</i>	ИМК 0,5 мг/л	100,0	5,5	5,3
		ИМК 1,0 мг/л	100,0	4,5	4,7
		ИУК 0,5 мг/л	100,0	6,8	6,5
ИМК 0,5 мг/л+ИУК 0,5 мг/л		100,0	5,4	4,3	
Кoeffициент вариации (CV), %		0,0	14,8	16,0	
	<i>Царица</i>	ИМК 0,5 мг/л	100,0	5,8	6,5
		ИМК 1,0 мг/л	100,0	4,5	4,7
		ИУК 0,5 мг/л	100,0	2,4	3,0
ИМК 0,5 мг/л+ИУК 0,5 мг/л		100,0	5,4	4,3	
Кoeffициент вариации (CV), %		0,0	29,0	27,1	
	CV (по сортам)	ИМК 0,5 мг/л	0,0%	17,0%	22,9%
		ИМК 1,0 мг/л	0,0%	20,6%	35,9%
		ИУК 0,5 мг/л	0,0%	37,0%	35,7%
ИМК 0,5 мг/л+ИУК 0,5 мг/л		0,0%	17,4%	66,3%	

С.А. Муратовой [8], эффективность укоренения *in vitro* во многом определяется биологической предрасположенностью генотипов к вегетативному размножению. На процессы ризогенеза влияют регуляторы корнеобразования и их концентрации в питательной среде. [4] Для земляники рекомендуют ауксины ИУК (индолилуксусная кислота), ИМК (индолилмасляная кислота), НУК (нафтилуксусная кислота). НУК применяют меньше из-за обильного каллусообразования, что затрудняет рост корней. ИМК используют в концентрации 0,5...1,0 мг/л или ИУК 1,5 мг/л. [6, 7] В исследованиях S. Sakila с соавторами [13] рекомендуемая концентрация ИМК на стадии укоренения – 1,0 мг/л. Применение 0,5...3,0 мг/л ИМК способствовало образованию развитой корневой системы, обеспечивающей лучшую адаптацию к нестерильным условиям. [1] Одновременное использование двух ауксинов в низких концентрациях приводит к развитию корней без образования каллуса. [5] Авторы указывают на высокую сортоспецифичность поведения в культуре *in vitro* растений разных сортов и их реакцию на изменение экзогенных фитогормонов.

Для земляники в культуре *in vitro* сочетаются процессы закладки адвентивных побегов и корнеобразования, которые зависят от фитогормонов. Разные сорта различаются эндогенным уровнем их содержания. [3] Для укоренения земляники ученые советуют использовать среду без ауксинов, где доля растений с хорошо развитой корневой системой выше, чем на среде с гормоном. [4] Недостаток корневой системы, образованной на безгормональной среде, – ее истонченность и отсутствие корневых волосков. К тому же укоренение происходит преимущественно у крупных растений. [11] Дополнительная проблема – низкая укореняемость отдельных генотипов, что приводит к снижению выхода конечного продукта. [9]

Цель работы – изучение воздействия различных ауксинов на ризогенез высокопродуктивных сортов земляники садовой отечественной и зарубежной селекции в системе производства оздоровленного посадочного материала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в лаборатории биотехнологии ФГБНУ ВНИИСПК по общепринятой методике. Изучали сорта земляники садовой отечественной и зарубежной селекции обычного типа плодоношения: *Берегиня*, *Урожайная ЦГЛ*, *Царица*, *Asia*, *Darselekt*, *Kimberly*, *Korona*, *Marmolada*, *Frida*, *Honeoye*.

Питательная среда для укоренения микророзеток земляники содержала половину и полную концентрацию микросолей среды Мурасиге-Скуга, двойную концентрацию хелата железа и регуляторы корнеобразования (ИМК, ИУК и их сочетание).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При микроклональном размножении землянике свойственно спонтанное образование корней уже на стадии пролиферации. Высадка таких растений в нестерильные условия не снижала их способности

к укоренению и адаптации. Однако целенаправленный массовый переход растений к фазе укоренения возможен лишь с применением ауксинов. Для чистоты эксперимента на среду укоренения высаживали хорошо развитые одномерные микророзетки земляники высотой 1,5...1,7 см. Начало корнеобразования отмечали в зависимости от генотипа через две (*Korona*, *Берегиня*, *Урожайная ЦГЛ*), три (*Marmolada*, *Darselekt*, *Honeoye*, *Frida*) и четыре (*Asia*, *Kimberly*, *Царица*) недели после пересадки. Выявлена высокая способность исследуемых сортов к укоренению – через шесть недель 100%-е укоренение микророзеток сортов земляники на всех индукторах корнеобразования (см. таблицу).

Для успешной адаптации к условиям *ex vitro* немаловажный фактор – объем корневой системы, образованной на этапе укоренения, что способствует лучшей приживаемости в нестерильных условиях. В эксперименте не прослежена зависимость количества корней от применяемого ауксина, что можно объяснить его различным эндогенным содержанием в зависимости от генотипа. Так, у микророзеток *Asia* и *Honeoye* наибольшее количество корней при использовании ИУК 0,5 мг/л (6,8 шт./экспл.). Растения сортов *Kimberly* и *Царица* более активно формировали объемную корневую систему при добавлении ИМК 0,5 мг/л (5,6 и 5,8 шт./экспл. соответственно). Увеличение концентрации ИМК до 1,0 мг/л не влияло на количество корней. Совместное введение в питательную среду ауксинов ИМК и ИУК в концентрации 0,5 мг/л можно рекомендовать для укоренения микророзеток сортов *Asia*, *Берегиня*, *Darselekt*, *Marmolada*, *Урожайная ЦГЛ*. Их синергическое действие повлияло на образование большего количества более длинных корней, что может стать решающим фактором при адаптации к условиям *in vitro*.

Таким образом, для успешного корнеобразования микророзеток земляники в культуре *in vitro* предпочтительны гормоны ризогенеза. Их тип и концентрацию подбирают экспериментальным путем в зависимости от генотипа. Качественная корневая система эксплантов станет решающим фактором для дальнейшей адаптации микрорастений к нестерильным условиям. Полученные результаты используют при получении оздоровленного посадочного материала для закладки маточников земляники.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бородулина, И.И. Микроразмножение земляники садовой сорта Московский деликатес/ И.И. Бородулина, Т.В. Плаксина// Известия Алтайского государственного университета. – 2014. – № 3 – 2(83). С. 25–29.
2. Деменко, В.И. Укоренение – ключевой этап размножения растений *in vitro*/ В.И. Деменко, К.А. Шестибратов, В.Г. Лебедев// Известия ТСХА. – 2010. – Вып. 1. – С. 78–85.
3. Князькина, М.С. Получение сортового посадочного материала земляники садовой методом клонального микро размножения *in vitro*/ М.С. Князькина, Л.М. Денисенко, В.В. Заякин и др. // Вестник БГУ. – 2011. – № 4. – С. 153–157.
4. Кухарчик, Н.В. Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro*/ Н.В. Кухарчик, М.С. Кастрюк, С.Э. Семенов и др.; под общ. ред. Н.В. Кухарчик// Минск: Беларуская навука, 2016. – 208 с.

5. Лебедев, В.Г. Оптимизация этапов клонального микро-размножения при массовом производстве растений/ В.Г. Лебедев, Ф.Б. Азарова, А.А. Алпатова и др. // Плодоводство и ягодоводство России. – 2011. – Т. 26. – С. 397–314.
6. Матушкина, О.В. Клональное микроразмножение плодовых и ягодных культур и перспективы его использования/ О.В. Матушкина, И.Н. Пронина// Тамбов, 2001. – С. 103–115.
7. Матушкина, О.В. Технология клонального микроразмножения яблони и груши (методические рекомендации)/ О.В. Матушкина, И.Н. Пронина// Мичуринск-научноград РФ. – 2008. – 32 с.
8. Муратова, С.А. Оптимизация методов клонального микроразмножения садовых культур/ С.А. Муратова, М.Б. Янковская, Н.В. Соловых и др. // Плодоводство и ягодоводство России. – 2011. – Т. 24. – С. 375–382.
9. Муратова, С.А. Клональное микроразмножение растений – перспективный метод современного питомниководства/ Мат. конф. «Основы повышения эффективности агроценозов»/ С.А. Муратова, Ю.В. Хорошкова// Мичуринск: ООО «Бис». – 2015. – С. 367–373.
10. Пронина, О.В. Экономические аспекты использования клонального микроразмножения в системе производства посадочного материала плодовых и ягодных культур / И.Н. Пронина, О.В. Матушкина// Плодоводство и ягодоводство России. – 2011. – Т. 26. – С. 82–88.
11. Сквородников, Д.Н. Влияние состава питательной среды на эффективность размножения земляники садовой in vitro/ Д.Н. Сквородников, Н.В. Леонова, Н.В. Андропова// Вестник аграрной науки. – 2013. – № 1(13). – С. 89–92.
12. Kryukov, L.A. Micropropagation of Grapevine and Strawberry from South Russia: Rapid Production and Genetic Uniformity/ L.A. Kryukov, D.I. Vodolazhsky, R. Kamenetsky-Goldstein//Agronomy. – 2022. – 12(2). 308. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020308>.
13. Sakila, S. Micropropagation of Strawberry (Fragaria ananassa Duch.) A Newly Introduced Crop in Bangladesh/ S. Sakila, M.B. Ahmed, U.K. Roy et al. // American-Eurasian Journal of Scientific Research. – 2007. – № 2(2). – P. 151–154.
14. Borodulina, I.I. Mikrorazmnozhenie zemlyaniki sadovoj sorta Moskovskij delikates/ I.I. Borodulina, T.V. Plakšina// Izvestiya Altajskogo gosudarstvennogo universiteta. – 2014. – № 3 – 2(83). S. 25–29.
15. Demenko, V.I. Ukorenenie – klyuchevoj etap razmnozheniya rastenij in vitro/ V.I. Demenko, K.A. Shestibratov, V.G. Lebedev// Izvestiya TSKHA. – 2010. – Vyp. 1. – S. 78–85.
16. Knyaz'kina, M.S. Poluchenie sortovogo posadochnogo materiala zemlyaniki sadovoj metodom klonal'nogo mikrorazmnozheniya in vitro/ M.S. Knyaz'kina, L.M. Denisenko, V.V. Zayakin i dr. // Vestnik BGU. – 2011. – № 4. – S. 153–157.
17. Kuharchik, N.V. Razmnozhenie plodovyh i yagodnyh rastenij v kul'ture in vitro/ N.V. Kuharchik, M.S. Kastrickaya, S.E. Semenas i dr.; pod obshch. red. N.V. Kuharchik// Minsk: Belaruskaya navuka, 2016. – 208 s.
18. Lebedev, V.G. Optimizaciya etapov klonal'nogo mikrorazmnozheniya pri massovom proizvodstve rastenij/ V.G. Lebedev, F.B. Azarova, A.A. Alpatova i dr. // Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii. – 2011. – Т. 26. – С. 397–314.
19. Matushkina, O.V. Klonal'noe mikrorazmnozhenie plodovyh i yagodnyh kul'tur i perspektivy ego ispol'zovaniya/ O.V. Matushkina, I.N. Pronina// Тамбов, 2001. – С. 103–115.
20. Matushkina, O.V. Tekhnologiya klonal'nogo mikrorazmnozheniya yablони i grushi (metodicheskie rekomendacii)/ O.V. Matushkina, I.N. Pronina// Michurinsk-naukograd RF. – 2008. – 32 s.
21. Muratova, S.A. Optimizaciya metodov klonal'nogo mikrorazmnozheniya sadovyh kul'tur/ S.A. Muratova, M.B. Yankovskaya, N.V. Solovyh i dr. // Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii. – 2011. – Т. 24. – С. 375–382.
22. Muratova, S.A. Klonal'noe mikrorazmnozhenie rastenij – perspektivnyj metod sovremennogo pitomnikovodstva/ Мат. конф. «Основы повышения эффективности агроценозов»/ S.A. Muratova, Yu.V. Horoshkova// Michurinsk: ООО «Бис». – 2015. – С. 367–373.
23. Pronina, O.V. Ekonomicheskie aspekty ispol'zovaniya klonal'nogo mikrorazmnozheniya v sisteme proizvodstva posadochnogo materiala plodovyh i yagodnyh kul'tur / I.N. Pronina, O.V. Matushkina// Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii. – 2011. – Т. 26. – С. 82–88.
24. Skovorodnikov, D.N. Vliyanie sostava pitatel'noj sredy na effektivnost' razmnozheniya zemlyaniki sadovoj in vitro/ D.N. Skovorodnikov, N.V. Leonova, N.V. Andronova// Vestnik agrarnoj nauki. – 2013. – № 1(13). – С. 89–92.
25. Kryukov, L.A. Micropropagation of Grapevine and Strawberry from South Russia: Rapid Production and Genetic Uniformity/ L.A. Kryukov, D.I. Vodolazhsky, R. Kamenetsky-Goldstein//Agronomy. – 2022. – 12(2). 308. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020308>.
26. Sakila, S. Micropropagation of Strawberry (Fragaria ananassa Duch.) A Newly Introduced Crop in Bangladesh/ S. Sakila, M.B. Ahmed, U.K. Roy et al. // American-Eurasian Journal of Scientific Research. – 2007. – № 2(2). – P. 151–154.

LIST OF SOURCES