

УДК 582.71:581.43

<https://doi.org/10.25221/kl.74.4><https://elibrary.ru/tuuyvr>

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *IN VITRO* *FRAGARIA* × *ANANASSA* DUCH.

А. Ю. Котов, И. В. Гафицкая, О. В. Наконечная

*Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты
Восточной Азии ДВО РАН, г. Владивосток*

Подобраны условия для микроклонального размножения 8 сортов земляники садовой (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) – лекарственного растения со съедобными плодами. Разработка технологий оздоровления и размножения растений *F. ananassa* является исследованием в области продовольственной безопасности. Растения каждого сорта по-разному формировали клоны, число листьев и корни в культуре *in vitro*. Наибольшее число микроклонов выявлено у сортов ‘Альба’, большее число листьев – у сорта ‘Кабрило’ и ‘Мурано’. Успешное формирование микроклонов с хорошо развитой корневой системой отражает эффективность предложенного протокола для сортов ‘Мурано’ и ‘Кабрило’. Массовое корнеобразование на безгормональной питательной среде сортов ‘Альба’, ‘Мурано’ и ‘Русич’ отражает целесообразность использования данного варианта среды на этапе укоренения.

Ключевые слова: *Fragaria* × *ananassa*, *in vitro*, микроклонирование, сорт, культивирование.

CULTIVATION OF *FRAGARIA* × *ANANASSA* DUCH. *IN VITRO*

A. Yu. Kotov, I. V. Gafitskaya, O. V. Nakonechnaya

*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity FEB RAS,
Vladivostok, Russia*

Micropropagation protocols were developed for eight varieties of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.), a medicinal and valuable resource crop. The development of technologies for sanitation and propagation of *F. ananassa* plants is a research project in the field of food security. Plants of each cultivar exhibited varying rates of clone and root formation *in vitro*. The highest number of

microclones was detected in the cv. 'Alba', while the cv. 'Cabrilo' and cv. 'Murano' formed a higher number of leaves. The successful formation of microclones with well-developed root systems reflects the effectiveness of the proposed protocol for the 'Murano' and 'Cabrilo' varieties. Mass root formation on a hormone-free nutrient medium for the 'Alba', 'Murano', and 'Rusich' varieties demonstrates the feasibility of using this medium during the rooting stage, which makes the micropropagation process more efficient in terms of both cost and labor.

Key words: *Fragaria* × *ananassa*, *in vitro*, micropropagation, cultivar, cultivation.

Возобновление численности покрытосеменных растений происходит двумя путями – половым и бесполом. При половом способе размножения происходит расщепление признаков, и потомство может не сохранить характеристики родительских форм.

Земляника садовая (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) является травянистым растением (рисунок 1а), размножение которого традиционным способом происходит с помощью дочерних розеток или делением куста (Поляков, Линник, 2014б). Поскольку *F.* × *ananassa* является межвидовым гибридом *F. chiloensis* (L.) Mill. и *F. virginiana* Mill., октаплоидом, имеющим 56 хромосом (Поляков, Линник, 2014б), размножение семенным способом приведет к потере сортовых характеристик. Вегетативное размножение является основным для культуры *F.* × *ananassa*. Для ремонтантных сортов размножение с помощью дочерних розеток малоэффективно, так как за период вегетации материнский куст образует 1–2 уса (Бородулина, Плаксина, 2014). Кроме того, при любом способе вегетативного размножения от материнского растения передается более 50 вирусных, 8 микоплазменных заболеваний и 122 видов нематод, которые способны снижать урожай на 20–80% (Ламонова, Верзилин, 2015 и др.). Чем старше клон, тем больше он несет различных патогенов (Рябушкина, 2014), ослабляющих развитие молодых растений. Негативное влияние на них оказывают также земляничный клещ, грибы-возбудители трахеомикозов, некоторые виды бактерий. Различные виды насекомых (тли, цикадки, белокрылки, клещи) переносят инфекции. По мнению В.В. Степанова и Н.В. Московенко (2016) борьба с вирусными и фитоплазменными заболеваниями в плодоносящих насаждениях малоэффективна. Только использование оздоровленного безвирусного посадочного материала и его посадка в условиях плантаций дает необходимый результат.

Одним из способов получения и оздоровления посадочного материала является микроклональное размножение. Практическая значимость и результативность применения метода на примере *F.* × *ananassa* неоднократно была обсуждена ранее (Haddadi et al., 2010; Zobayer et al., 2011; Князькина и др., 2011; Линник и др., 2013; Сковородников и др., 2013; Князева и др., 2017; Бородулина и др., 2014; Diengngan et al., 2016; Quiroz et al., 2017 и др.).

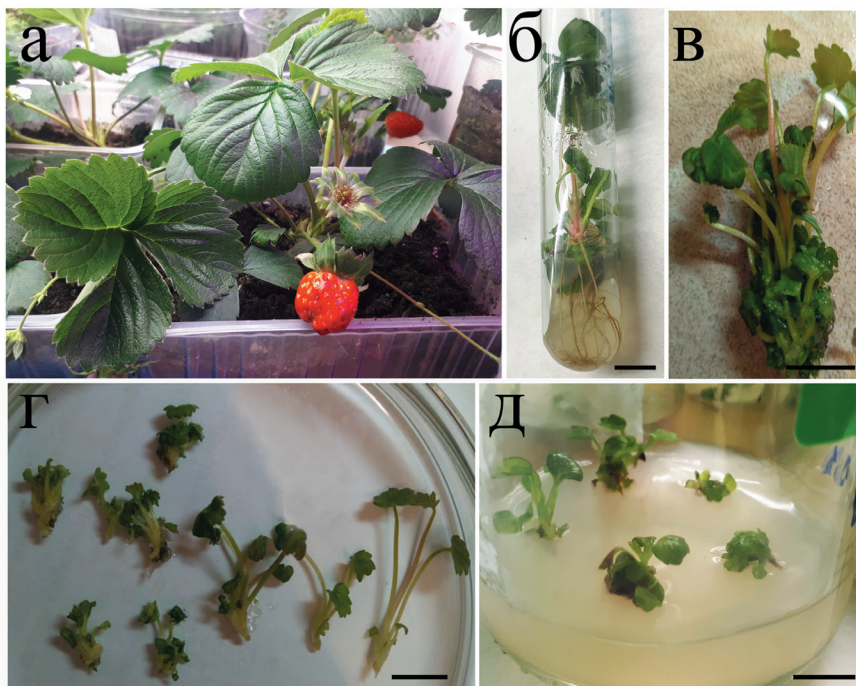


Рисунок. Растения *Fragaria* × *ananassa* Duch. в условиях почвогрунта (а) и *in vitro* (б–д). Масштабная линейка – 1 см. [Figure. *Fragaria* × *ananassa* Duch. plants grown in the soil conditions and *in vitro*. Scale bar – 1 cm.]

Данная технология позволяет вырастить посадочный материал высокого качества; полученный с таких растений урожай характеризуется пищевой ценностью, идентичной *F.* × *ananassa*, получаемой традиционными методами выращивания (Diengngan et al., 2016; Московенко и др., 2017). Кроме того, культивирование *in vitro* позволяет изолировать микрорастения от отрицательного влияния внешних абиотических и биотических факторов, снижает возможность возникновения стресса у посадочного материала при переносе его во внешнюю среду (Степанов, Московенко, 2016) и гарантирует получение большого числа растений на малой площади.

Разработка технологий оздоровления и размножения маточных растений *F.* × *ananassa* разных сортов с помощью метода микрочлонирувания является актуальным направлением по нескольким причинам. Во-первых, *F.* × *ananassa* – ценный объект, ее плоды содержат витамины (А (ретинол), В1 (тиамин), В2 (рибофлавин), В5 (пантотеновая кислота), В6 (пиридоксин), В9 (фолиевая кислота), С (аскорбиновая кислота), РР (никотиновая кислота)), макро- и микроэлементы (железо, йод, калий, магний, селен) (Степанов,

Таблица 1. Типы эксплантов разных сортов *Fragaria* × *ananassa* и питательная среда для их культивирования.
[Table 1. Types of explants of different *Fragaria* × *ananassa* varieties and the nutrient medium for their cultivation].

Сорт	Тип экспланта	Состав среды, мг/л	Ссылка
12 линий	сеянцы	МС + Т(0.5) + В6(0.5) + Гл(2) + СА(20000) + 6–БАП(1) + А(7000) pH 5.6	Morozova, 2002
'Тоуонока', 'Нуохо'	—	МС + 6–БАП(0.125) + Кин(0.25)	Okada et al. 2003
Эдвира, Баунти, Царскосельская	апикальные меристемы	МС + 6–БАП(1) + ИМК(0.1)	Говорова, Говоров, 2004
Сударушка, аркосельская, Отличница, Находка	верхушечные почки или вновь сформированные рожки	МС + С(1.0) + Д(0.5) + В6(0.5) + РР(0.5) + М(100) + СА(30000) + 6–БАП(0.5) + А(7000)	Атрошенко, 2008
Camarosa	верхушечные почки	МС + ТДЗ(0.44) + 6–БАП(0.90)	Haddadi et al., 2010
—	узловые сегменты зрелых растений	МС + 6–БАП(1) + НУК(0.1) + СА(30000) + А(7000) pH 5.7–5.8 МС + 6–БАП(2) + НУК(0.2) + АД(120) + СА(30000) + А(7000) pH 5.7–5.8 МС + ИУК(0.1) + АД(120) + СА(30000) + А(7000)	Hasan et al., 2010
36 сортов	меристемы	МС + 6–БАП(1)	Князькина и др., 2011
Наше Подмосковье	—	½ МС+ИМК(0.5) + ИУК(0.5)	Князева, 2017
RAB1 Strawberry-3	усы	МС + 6–БАП(0.5 и 1) + Кин(1.5 и 2)	Zobayer et al., 2011
Боровицкая	лепестки, изолированные из бутона, основания листовых дисков, апексы усов	МС + 6–БАП(0.5)	Линник, Поляков, 2013
Русич, Студенческая, Альфа	—	МС + 6–БАП(0.5 и 1)	Сковородников и др., 2013
Camarosa, Sweet charley, Giant Mountain, Festival	усы	МС + 6–БАП(1.5) + Кин(0.5)	Ara et al., 2013

Московский Деликатес	апикальные меристемы	МС + 6–БАП(0.11; 0.23; 0.45) МС + ИМК(0.10; 0.20; 0.61)	Бородулина, Плаксина, 2014
Festival	сегменты узлов	МС + ТДЗ (0.5 и 1) МС + ИМК(1)	Diengngan, Murthy, 2014
Sweet charlie	сегменты узлов	МС +6–БАП(1.5) + Кин(0.5) + СА(30000) + А(7000)	Harugade et al., 2014
Тарпан, Эвисделайт, Флорина, Богема, Боровицкая	лепестки, основания листовых дисков, апексы усов	МС + СА(30000) + А(6000) + 6– БАП (0.5) pH 5.6	Поляков, Линник, 2014а
Дана, Королева Елизавета, Полка, Гирлянда, Флориант, Таго, Камароза, Вима Занта, Мармолада, Альбион, Капри, Хонеойе, Эви-2	верхушечные столоны (усы)	МС	Ламонова, Верзилин, 2015
Альфа, Царица, Соловушка, Флоренс	меристемы из концов усов и дочерних розеток первого порядка	МС +6–БАП(0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1.0)	Мацнева, Ташматова, Джафарова, 2016
Кокинская ранняя, Красный берег	—	МС + ИУК(0.5) + 6–БАП(1.0) + П; МС + ИУК(1.0) + 6–БАП(0.5) + П	Лебедева и др., 2017
Festival	верхушечные столоны	МС + ТДЗ(1) МС + ИМК(1)	Diengngan et al., 2016
Даренка	—	МС + ИМК(0.5)	Маркова, Сомова, 2017
Mara de Bois, Merlan	—	МС + 6–БАП(0.45; 0.68)	Заугольниковая, Бородулина, 2018
Sweet Charlie, Winter Dawn	верхушечные столоны (усы)	МС + 6–БАП(1) + Кин(0.01) + СА(40000) + А(0.75%)	Valliath, Mondal, 2023
Sweet Charlie, Winter Dawn	верхушки побегов	МС + 6–БАП(1) + Кин(0.01) + СА(40000) + А(0.75%) МС + ИМК(1)+ У(0.1%)+ СА(6000)	Dhukate et al., 2021
Арома	столоны	МС+С(150)+ М(100)+ 3(1)	Neri et al., 2022

Примечание: — отсутствуют значения параметра. А – Агар, АС – аденин сульфат, Д – диамин, С – аскорбиновая кислота, У – активированный уголь, ИУК –b индолилуксусная кислота, 6-БАП – 6-бензиладенин, З – зеатин, ИМК – индолилмасляная кислота, Кин – кинетин, М – мезоинозит, РР – никотиновая кислота, СА – сахароза, В1 – тиамина гидрохлорид, П – пенициллин, Т – тиамин, Гл – глицин, В6 – пиридоксина гидрохлорид, ТДЗ – тидиазурон, МС – питательная среда по прописи Мурасиге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962). Note. — no parameter values. A – Agar, AG-agargel, AC – adenine sulfate, Д – диамин, С – ascorbic acid (AA), U – activated carbon (AC), IUK – 3-indoleacetic acid (IAA), BAP – 6-benzyladenine (BA), Z – zeatin, IMC – indolebutyric acid (IBA), Kin – kinetin, M – myo-inositol, PP – nicotinic acid, CA – sucrose (SU), B1 – thiamine hydrochloride, П – пенициллин, Т – thiamine, Gl – glycine, B6 – pyridoxine hydrochloride, TDZ – thidiazuron, Abbreviations for the used nutrient media: MS – according to the Murashige-Skoog formula (Murashige, Skoog, 1962).

Московенко, 2016), фенольные соединения (производные гидроксibenзойной и гидроксициннамовой кислот, антоцианы, флавонолы, конденсированные дубильные вещества (проантоцианидины) и гидролизуемые дубильные вещества) (Macheix et al., 1990). Фенолы плодов обладают противораковым, антиоксидантным, противовоспалительным, регуляторным действием на клеточном уровне (Seeram, 2006; Фотина, 2018). Кроме того, разработка технологий оздоровления и размножения растений *F. × ananassa* является исследованием в области продовольственной безопасности, которой в настоящее время уделяется особое внимание.

Для культивирования *in vitro* *F. × ananassa* ранее использовали разные питательные среды, регуляторы роста растений, сорта и типы эксплантов (табл. 1). Для каждого сорта условия культивирования могут отличаться (Шорников и др., 2010; Панкратова, Толоконцев, 2011), поэтому важно подобрать технологию для размножения зимостойких, морозостойких сортов с хорошими потребительскими качествами.

При подборе концентраций гормонов в питательных средах необходимо учитывать риск возникновения соматической изменчивости при использовании высоких доз цитокининов (Sansavini et al., 1990). В следствии изменчивости появляются вариации окраски листьев и карликовость растений (Cameron, Hancock, 1986; Sansavini et al., 1990; Irkaeva, Matveena, 1997). Данные аспекты создают проблему для получения однородных растений (Kumar et al., 1999). Поэтому в нашем исследовании применены низкие концентрации цитокинина.

Целью настоящей работы являлось введение в культуру *in vitro* 8 сортов *F. × ananassa* и выявление разницы их реакции при культивировании на питательной среде с концентрацией гормона 6-БАП (6-бензиламинопурина) в 1 мг/л.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили в секторе микрклонального размножения лесных, сельскохозяйственных и декоративных растений ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН в 2019–2020 гг. Объектами исследования были 8 сортов *F. × ananassa*: ‘Альба’, ‘Виктория’, ‘Джоли’, ‘Кабрило’, ‘Мальвина’, ‘Мурано’, ‘Орлец’, ‘Русич’. В качестве эксплантов использовали у каждого сорта по 25–30 шт. апикальных частей усов 5 мм длиной. Для освобождения исходного материала от сапрофитной микрофлоры проводили его поверхностную стерилизацию. Для этого апикальные части усов очищали от верхних листьев, промывали мыльно-щелочным раствором, далее помещали в 0,1% ди-ацид на 30 сек. и трижды промывали в стерильной дистиллированной воде. Экспланты помещали на питательные среды (рисунок 1 б-д). Для введения в условия культуры *in vitro* использовали безгормональную питательную среду с половинной концентрацией микро- и макросолей по прописи Мура-сиге и Скуга (½ МС, Murashige, Skoog, 1962). На начальных этапах введения *F. × ananassa* в условия *in vitro* в качестве культуральных сосудов использовали стеклянные пробирки с ватно-марлевыми пробками.

Для исследования реакции сортов на введение гормона экспланты культивировали на питательной среде МС с добавлением 1 мг/л 6-бензиламино-пурина (6-БАП), pH=5.2–5.4. Контрольным вариантом стало культивирование эксплантов на питательной среде ½ МС.

Культивирование эксплантов проходило при температуре 24±1 °С, 16-часовом фотопериоде (16/8) и относительной влажности воздуха около 70% согласно рекомендациям для светокультуральных комнат (Катаева, Бутенко, 1983). Для освещения использовали белые люминесцентные лампы OSRAM L 36W/765.

Оценивали следующие показатели: число листьев на растении, число клонов, число корней на всех розетках, число корней в среднем на клон, длина корней. Полученные результаты были обработаны статистически с использованием программы MS Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Введение in vitro. На этапе введения в условия *in vitro* после стерилизации на всех сортах выявлена грибковая или бактериальная инфекция. Данные по получению стерильных эксплантов исследованных сортов *F. × ananassa* представлены в табл. 2. У сортов ‘Орлец’ и ‘Джоли’ отмечены наименьшие доли стерильных эксплантов, что отражает наибольшее их заражение. Апикальные участки усов сортов ‘Альба’ и ‘Мурано’ были менее заражены патогенами, что отразилось на большей доле стерильных эксплантов у данных сортов.

Стерильные экспланты, тронувшиеся в рост (жизнеспособные), были

Таблица 2. Доля стерильных эксплантов 8 сортов *Fragaria × ananassa*.
[Table 2. Proportion of sterile explants of 8 *Fragaria × ananassa* varieties].

Сорт <i>Fragaria × ananassa</i>	Доля стерильных эксплантов, %
Альба	95
Виктория	85
Джоли	80
Кабрило*	90
Мальвина	85
Мурано*	95
Орлец	75
Русич	90

Примечание: * – ремонтантный сорт. Note: * – remontant variety.

Таблица 3. Морфометрические показатели 7 сортов *Fragaria × ananassa*.
[Table 3. Morphometric parameters of 7 *Fragaria × ananassa* varieties].

Сорт	Число микропобегов	Число листьев	Число корней
Альба	13.2±1.1	4.41±0.16	
Альба*	1.67±0.38	6.25±0.74	5±1.35
Виктория	4.67±0.33	12±3.21	
Джоли	5±2.08	9±3.51	
Джоли*	4±0.63	5.72±0.63	
Мурано	4.66±0.46	11.49±1.69	3.92±1.32
Мурано*	3.7±1.28	13.57±2.57	7.09±3.09
Орлец	5.32±0.91	9.89±2.36	
Орлец*	6.1±1.35	7.2±1.54	
Кабрило	7.18±1.3	15.47±3.87	19.5±1.1
Кабрило*	3.08±0,63	4.72±0.69	
Русич*	2.22±0,33	6.66±1.28	6±1.39

Примечание. Данные приведены как средние ±ст. ошибка. * – контроль.
 Note. Data are presented as mean ± standard error. * – control.

использованы для следующего этапа эксперимента. Экспланты сорта 'Мальвина', несмотря на высокий процент стерильности, в дальнейшем остановились в росте и не развились, в эксперименте не использованы.

Культивирование in vitro. Данные по развитию растений разных сортов *F. ananassa* приведены в таблице 3 и рисунке 1. Анализ результатов показал, что экспланты каждого сорта по-разному формировали микропобеги и корни в культуре *in vitro*. Так экспланты сорта 'Русич' не развивались на экспериментальном варианте среды. При культивировании на питательной среде с гормоном наибольшее число микропобегов выявлено у сортов 'Альба' и 'Кабрило', наименьшее – у сортов 'Виктория' и 'Мурано'. В тоже время, микропобеги у сортов 'Альба' имели минимальные размеры и были плохо развиты, что отразилось на числе листьев. Значение данного параметра у сорта минимальное. Максимальное число листьев выявлено у сортов 'Виктория' и 'Кабрило'. В тоже время у немногочисленных микроклонов сорта 'Мурано' развились множественные листья, что привело к получению среднего результата параметра. Массовое корнеобразование отмечено только у сорта 'Кабрило' и единичное – у 'Мурано'.

ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено, что сорта по-разному реагировали на добавление гормона в состав питательной среды. Наибольший отклик зафиксирован для сорта 'Альба'. Добавление гормона привело к массовому формированию мелких микропобегов (в 8 раз превышающих их число в контроле). Культивирование на контрольной $\frac{1}{2}$ МС вело к получению единичных розеток с хорошо развитыми листьями и несколькими корнями, что сделало данный вариант культивирования более эффективным для получения микрорастений.

Сходное с сортом 'Альба' формирование микроклонов отмечено для сорта 'Кабрило'. Так в экспериментальном варианте число микроклонов в 2.3 раза превышает данный параметр по сравнению с контролем. Микроклоны были развиты и имели более 2 листьев. Важно отметить спонтанное корнеобразование, полностью отсутствующее в контроле. Можно сделать вывод о положительном влиянии гормона в питательной среде на развитие полноценно сформированных микроклонов у сорта.

Присутствие гормона в питательной среде при культивировании эксплантов сортов 'Джоли' и 'Мурано' незначительно увеличило показатель «число клонов» по сравнению с контрольными данными. Формирования корней у сорта 'Джоли' не наблюдали. В тоже время формирование корней у сорта 'Мурано' в двух вариантах питательной среды с большим их числом в контроле свидетельствует об отсутствии необходимости добавлять гормон для получения микрорастений. Культивирование сорта 'Орлец' в контрольном варианте среды привело к формированию большего числа хорошо

сформированных микропобегов с развитыми листьями, чем в эксперименте. В данном случае применение 6-БАП для формирования микропобегов не целесообразно, но необходим дополнительный этап укоренения. Для сорта 'Русич' в контроле выявили небольшое число клонов с несколькими листьями и корнями, что делает данный вариант культивирования приемлемым для получения микроклонов.

Питательная среда с добавлением 6-БАП в разных концентрациях ранее применена группой авторов (табл. 1). Как показал анализ литературы, 6-БАП чаще всего используется для пролиферации побегов *F. ananassa in vitro*.

Сорт 'Соловушка' наибольшую пролиферативную активность проявлял также при концентрации 6-БАП 0.4 мг/л. Коэффициент размножения составил 5.4 (Мацнева и др., 2016). Добавление в питательную среду МС 0.5 мг/л 6-БАП позволило получить 2.69 ± 1.30 клон с общим числом листьев 10.09 ± 1.44 шт. у сорта 'Aroma' (Neri et al., 2022).

Для размножения сортов земляники 'Царица' и 'Флоренс' оптимальной является питательная среда, содержащая 0,8 мг/л 6-БАП. Коэффициент пролиферации составил соответственно 3.2 и 2.9. Наибольшее количество растений земляники высотой более 5 мм наблюдалось у сорта 'Царица' при всех используемых концентрациях 6-БАП (от 25 до 34% всех эксплантов) (Мацнева и др., 2016).

При увеличении концентрации 6-БАП до 1 мг/л коэффициент размножения за один пассаж достигал величины 15–20 (Атрошенко, 2008). Ранее отмечены высокие показатели облиственности (25–45 шт./регенерант), выявленные при исследовании 9 сортов, при этом максимальные значения параметра отмечены у ремонтантного сорта 'Mara de Bois' (36–45 шт.). Авторы для сорта отмечают параболическую зависимость количества листьев от содержания цитокинина в питательной среде. Так с увеличением концентрации до 0.7 мг/л количество листьев возрастало свыше 38, с дальнейшим увеличением регулятора роста до 0.90–1.35 мг/л облиственность розеток снижалась до 33–38 шт./регенерант (Заугольников, Бородулина, 2018).

Изучение влияния 6-БАП на коэффициент размножения генотипов земляники (Бородулина и др., 2014) показало, что более интенсивно регенерационные процессы происходили при использовании низких концентраций цитокинина (0.11–0.45 мг/л) — на микророзетках развивались 1.5–2.1 пазушные почки. Ранее было показано, что при использовании МС с 6-БАП 2 мг/л у разных сортов (исследовано 36 сортов и гибридов) коэффициент размножения — 5–10 шт. При высоком коэффициенте размножения (более 10 шт.) дочерние растения часто бывают плохо развиты, имеют низкий потенциал развития. Коэффициент размножения в культуре колеблется от 1.9 до 9–10 шт., он специфичен для каждого сорта (Князькина и др., 2011). У сорта 'Альфа' наибольшее значение коэффициента размножения 7.1 шт. отмечено на питательной среде, содержащей 0.4 мг/л 6-БАП (Мацнева и др., 2016).

Другой регулятор роста растений тидиазурон (ТДЗ) используют для регенерации побегов у ограниченного числа сортов земляники (Passey et al., 2003; Landi, Mezzetti, 2006). Его применяют отдельно (Svensson, Johansson, 1994; Sutter et al, 1997; Mohamed et al, 2007) и в сочетании с ауксинами, такими как индол-3-масляная кислота (ИМК) (Yonghua et al., 2005; Landi, Mezzetti, 2006; Haddadi et al., 2010).

При культивировании сорта ‘Camarosa’ выявлено, что в отсутствие 6-БАП концентрация ТДЗ от 0.88 до 1.8 мг/л является оптимальной для получения большого количества побегов (Haddadi et al., 2010).

Результаты работы с сортом ‘Festival’ показали, что максимальное количество побегов на эксплант (6.40 ± 0.37) и длина побегов (3.50 ± 0.07 см) были получены в среде MS, дополненной 1 мг/л ТДЗ. На среде MS с добавлением 0.5 мг/л ИМК был отмечен самый высокий процент укоренения (100%) (Diengngan, Murthy, 2014). Морозова Т. (Morozova, 2002) сделала вывод, что высокая концентрация 6-БАП является наилучшей для микроклонального размножения 12 линий *F. ananassa*.

Сорта ‘Hokowase’, ‘Toyonoka’ и ‘Nyoho’ культивировали на среде MS с 6-БАП 0,125 мг/л и кинетин (Кин) 0.25 мг/л. Авторы выявили, что при размножении на этой питательной среде полученные микропобеги ‘Toyonoka’ успешно укоренялись, что позволило исключить этап укоренения *in vitro* и снизило трудозатраты (Okada et al. 2003).

В нашем эксперименте отмечено, что некоторые сорта укоренялись в контрольном варианте среды. Число корней превышало 5. Ранее при работе с сортом ‘Festival’ было показано, что наибольшее количество корней на микрочеренках составило 5.00 ± 0.21 на среде с добавлением 1 мг/л ИМК (Diengngan, Murthy, 2014).

Нами показано, что у каждого сорта наблюдается индивидуальная реакция на условия культивирования, что выражается в разных морфометрических характеристиках микроклонов. Ряд исследователей (Деменко и др., 2010; Шорников и др., 2010; Мацнева и др., 2016) так же указывают на разницу в потребностях к факторам культивирования растений разных сортов и видов. Поэтому возникает необходимость оптимизации состава питательных сред и совершенствовании методов размножения и адаптации применительно к каждой новой форме в условиях *in vitro* (Шорников и др., 2010; Панкратова, Толоконцев, 2011).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что для каждого сорта характерна индивидуальная реакция на состав питательной среды. Получение большого числа микроклонов у сортов ‘Альба’, ‘Кабрило’ и ‘Мурано’ позволяет рекомендовать применение данного протокола для их размножения. Полагаем, что для других сортов необходима работа по дополнительному подбору концентраций,

комбинаций цитокининов и ауксинов для получения развитых микроклонов. Применение контрольного варианта среды для развития микроклонов сортов 'Альба', 'Мурано' и 'Русич' целесообразно, экономически выгодно из-за отсутствия отдельного этапа по укоренению, что сокращает период получения полноценного посадочного материала и снижает себестоимость среды при ее безгормональном варианте.

ЛИТЕРАТУРА

- Атрощенко Г.П.** Биотехнологические аспекты оздоровления и размножения земляники сортов селекции ЛПООС // АгроЭкоИнженерия (=Технологии и технические средства механизированного производства продукции растениеводства и животноводства). 2008. N 80. С. 85–92.
- Бородулина И.Д., Плаксина Т.В.** Микроразмножение земляники садовой сорта Московский Деликатес // Известия АлтГУ. 2014. Т. 2. N 3. С. 25–29.
- Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н.** Земляника: прошлое, настоящее, будущее (таксономия, эволюция, биология, агротехника, болезни, генетика, селекция, биотехнология, сорта). М.: ФГНУ " Росинформагротех", 2004. 347 с.
- Деменко В.И., Шестибратов К.А., Лебедев В.Г.** Укоренение – ключевой этап размножения растений *in vitro* // Известия ТСХА. 2010. Вып. 1. С. 73–85.
- Заугольникова М.А., Бородулина И.Д.** Клональное микроразмножение ремонтантных сортов земляники садовой. 2018. Магистерская диссертация. Барнаул. 90 с.
- Катаева Н.В., Бутенко Р.Г.** Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. 97 с.
- Князева И.В.** Адаптация полученных *in vitro* растений земляники садовой к нестерильным условиям // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2017. N 45. Вып. 3. С. 159–166.
- Князькина М.С., Денисенко Л.М., Заякин В.В., Нам И.Я.** Получение сортового посадочного материала земляники садовой методом клонального микроразмножения *in vitro* // Вестник БГУ. 2011. N 11. С. 51–54.
- Ламонова И.А., Верзилин А.В.** Влияние стерилизатора на введение в культуру *in vitro* земляники садовой // Вестник Мичуринского ГАУ. 2015. Т. 4. С. 57–61.
- Лебедева Н.В., Федорова Л.Н., Макеенко К.Н.** Получение оздоровленного материала земляники садовой в условиях псковской области // Известия Великолукской ГСХА. 2017. N 2. С. 2–7.
- Линник Т.А., Поляков А.В.** Регенерационная активность различных типов эксплантов земляники садовой (*Fragaria* × *ananassa* Dush.) *in vitro* // Известия Городского ГАУ. 2013. Т. 50. N 2. С. 15–18.

- Мацнева О.В., Ташматова Л.В., Джафарова В.Е.** Проллиферативная активность сортов земляники садовой в культуре *in vitro* // Современное садоводство. 2016. N 1. С. 77–82.
- Маркова М.Г., Сомова Е.Н.** Приемы повышения укореняемости микропобегов земляники садовой в культуре *in vitro* // Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». 2017. Т. 3, N 2. Вып. 10. С. 34–38.
- Московенко Н.В., Тихонов С.Л., Тихонова Н.В.** Изучение показателей качества земляники садовой, выращенной путем биотехнологии микроклонирования // Безопасность и качество сельскохозяйственного сырья и продуктов питания. Матер. Всеросс. научно-практической конференции. Лесниково: Курганская государственная сельскохозяйственная академия им. Т.С. Мальцева (Лесниково). 2017. С. 184–188.
- Панкратова А.А., Толоконцев Д.В.** Оценка сортовых особенностей земляники садовой сортов Троицкая и Боровицкая в процессе размножения *in vitro* и *in vivo* с применением эпина // Плодоводство и ягодоводство России. 2011. Т. 27. С. 309–323.
- Поляков А.В., Линник Т.А.** Производство оздоровленного посадочного материала сортов земляники садовой (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) с низкой усообразующей способностью методом клонального микроразмножения *in vitro* // Вестник МГОУ. Серия: Естественные науки. 2014а. N 3. С. 35–41.
- Поляков А.В., Линник Т.А.** Эффективность способов размножения ремонтантных сортов земляники садовой (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) // Вестник РАЕН. 2014б. N 6. С. 62–66.
- Рябушкина Н.А.** Клональная и микроклональная изменчивость растений // Eurasian Journal of Applied Biotechnology. 2014. N 2. С. 17–27.
- Сковородников Д.Н., Леонова Н.В., Андропова Н.В.** Влияние состава питательной среды на эффективность размножения земляники *in vitro* // Вестник Орел ГАУ. 2013. Т. 40. N 1. С. 89–92.
- Степанов В.В., Московенко Н.В.** Изучение показателей качества земляники садовой, выращенной путем биотехнологии микроклонирования // Научные труды КубГТУ. 2016. N 14. С. 621–628.
- Фотина Н.В.** Научно-практические аспекты расширения производства земляники садовой при помощи микроклонального размножения в условиях *in vitro* // Пищевые инновации в биотехнологии. 2018. С. 136–138.
- Шорников Д.Г., Брюхина С.А., Муратова С.А., Янковская М.Б., Папихин Р.В.** Оптимизация условий культивирования *in vitro* ягодных и декоративных культур // Вестник ТГУ. Серия: Естественные и технические науки. 2010. Т. 15. N 2. С. 640–645.

- Ara T., Karim M.R., Aziz M.A., Karim R., Islam R., Hossain M.** Micropropagation and field evaluation of seven strawberry genotypes suitable for agro-climatic condition of Bangladesh // *Afr. J. Agric. Res.* 2013. Vol. 8. N 13. P. 1194–1199.
- Cameron J.S., Hancock J.F.** Enhanced vigor in vegetative progeny of micropropagated strawberry plants // *HortScience*. 1986. Vol. 21. P. 1225–1226.
- Diengngan S., Murthy B.N.S.** Influence of plant growth promoting substances in micropropagation of strawberry cv. Festival // *The Bioscan*. 2014. Vol. 9. N 4. P. 1491–1493.
- Diengngan S., Mahadevamma M., Murthy B.N.** Efficacy of in vitro propagation and crown sizes on the performance of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch) cv. 'Festival' under field condition // *J. Agric. Sci. Technol.* 2016. Vol. 18. N 1. P. 255–264.
- Dhukate M.R., Kher M.M., Vadawale A.V., Giri P.** Protocol for micropropagation of strawberry (*Fragaria x ananassa*) cv. 'Sweet Char lie' and 'Winter Dawn' // *Environmental and Experimental Biology*. 2021. Vol. 19. P. 1–6.
- Haddadi F., Aziz M.A., Saleh G., Rashid A.A., Kamaladini H.** Micropropagation of Strawberry cv. Camarosa: Prolific shoot regeneration from *in vitro* shoot tips using Thidiazuron with N6-benzylamino-purine // *HortScience*. 2010. Vol. 45. N 3. P. 453–456.
- Harugade S., Tabе R.H., Chaphalkar S.** Micropropagation of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) // *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2014. Vol. 3. N 3. P. 344–347.
- Hasan M.N., Nigar S., Rabbi M.A. K., Mizan S.B., Rahman M.S.** Micropropagation of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) // *Int. J. Sustain. Crop Prod.* 2010. Vol. 5. N 4. P. 36–41.
- Irkaeva N.M., Matveeva T.V.** Response of strawberry (*Fragaria vesca* L.) strains to cytokinin *in vitro* // *Genetika*. 1997. Vol. 33. P. 495–500.
- Kumar M.B., Barker R.E., Reed B.M.** Morphological and molecular analysis of genetic stability in micropropagated *Fragaria* × *ananassa* cv. Pocahontas // *In vitro cellular & developmental biology-plant*. 1999. Vol. 35. N 3. P. 254–258.
- Landi L., Mezzetti B.** TDZ, auxin and genotype effects on leaf organogenesis in *Fragaria* // *Plant Cell Rep.* 2006. Vol. 25. P. 281–288.
- Macheix J.J., Fleuriot A., Billiot J.** Changes and metabolism of phenolic compounds in fruits // *Fruit Phenolics*. Boca Raton FL: CRC Press. 1990. P. 149–221.
- Mohamed F.H., Beltai M.S., Ismail M.A., Omar G.F.** High frequency, direct shoot regeneration from greenhouse-derived leaf disks of six strawberry cultivars // *Pak. J. Biol. Sci.* 2007. Vol. 10. P. 96–100.
- Morozova T.** Genetic stability of Pure lines of *Fragaria vesca* L. in micropropagation and longterm storage *in vitro* // *Acta Hort.* 2002. Vol. 567. P. 85–87.

- Murashige T., Skoog F.** A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. P. 473–497.
- Neri J.C., Meléndez-Mori J.B., Tejada-Alvarado J.J., Vilca-Valqui N.C., Huaman-Huaman E., Oliva M., Goñas M.** An optimized protocol for micropropagation and acclimatization of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) variety ‘Aroma’ // *Agronomy.* 2022. Vol. 12. N 4. P. 968.
- Okada K., Arai S., Asao H.** Effect of cytokinin on strawberry plantlets micropropagated by axillary buds // *Bulletin of the Nara Prefectural Agricultural Experiment Station.* Japan. 2003. N 34. P. 15–24.
- Passey A.J., Barrett K.J., James D.J.** Adventitious shoot regeneration from seven commercial strawberry cultivars (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) using a range of explant types // *Plant Cell Rep.* 2003. Vol. 21. P. 397–401.
- Quiroz K.A., Berríos M., Carrasco B., Retamales J.B., Caligari P.D., García-González R.** Meristem culture and subsequent micropropagation of Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.) // *Biol. Res.* 2017. Vol. 50. N 20. P. 1–11.
- Sansavini S., Rosati P., Gaggioli D., Toshi M.F.** Inheritance and stability of somaclonal variation in micropropagated strawberry // *Acta Hort.* (Wageningen). 1990. Vol. 280. P. 375–384.
- Seeram N.P.** 2006. Berries, PP. 615–625. In: D. Heber *et al.* (eds). *Nutritional Oncology*, 2nd ed. Academic Press, London, UK.
- Svensson M., Johansson L.B.** Anther culture of *Fragaria ananassa*: Environmental factors and medium components affecting microspore divisions and callus production // *J. Hort. Sci.* 1994. Vol. 69. P. 417–426.
- Sutter E.G., Ahmadi H., Labavitch J.M.** Direct regeneration of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) from leaf disks // *Acta Hort.* 1997. Vol. 447. P. 243–245.
- Valliath A.S., Mondal R.** Micropropagation of strawberry crop (*Fragaria ananassa*): A review // *Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika.* 2023. Vol. 38. N 1. P. 41–44.
- Yonghua Q., Shanglong Z., Asghar S., Lingxiao Z., Qiaoping Q., Kunsong C., Changjie X.** Regeneration mechanism of Toyonoka strawberry under different color plastic films // *J. Peanut Sci.* 2005. Vol. 168. P. 1425–1431.
- Zobayer N., Prodhan S.H., Sikdar S.U., Azim F., Ashrafuzzaman M.** Study of shoot multiplication of strawberry (*Fragaria ananassa*) // *Int. J. Agric. Res., Innovation Technol.* 2011. Vol. 1. N 1–2. P. 69–72.