

УДК 582.711.71: 57.082.261

**Поляков А.В., Линник Т.А.***Всероссийский НИИ овощеводства Российской академии  
сельскохозяйственных наук (Московская область)***ПРОИЗВОДСТВО ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА  
СОРТОВ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ (*FRAGARIA X ANANASSA DUCH.*)  
С НИЗКОЙ УСООБРАЗУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТЬЮ МЕТОДОМ  
КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ *IN VITRO***

*Аннотация.* Метод клонального микроразмножения *in vitro* позволяет получить качественный оздоровленный посадочный материал земляники садовой. Культивирование апексов усов наиболее эффективно для сортов с низкой усобразующей способностью. Культивирование лепестка и листа эффективно только для сортов, хорошо размножаемых вегетативно. Растения-регенеранты, полученные *in vitro*, хорошо адаптируются, не уступают или даже превосходят розеточную рассаду по количеству усов, дочерних розеток и продуктивности, значительно меньше поражаются серой гнилью, белой и бурой пятнистостями.

*Ключевые слова:* земляника садовая, сорт, клональное микроразмножение, эксплант, растение-регенерант.

**A. Polyakov, T. Linnik***State Scientific Organization**'All-Russian Research Institute of Vegetable Crops', Moscow region***PRODUCTION OF HEALTHY PLANTING MATERIAL  
OF STRAWBERRY CULTIVARS (*FRAGARIA X ANANASSA DUCH.*)  
WITH WEAK TENDRIL-MAKING ABILITY BY CLONAL  
MICROPROPAGATION *IN VITRO* CONDITIONS**

*Abstract.* The method of clonal micropropagation *in vitro* allows one to obtain a qualitative healthy planting material of garden strawberry. Cultivation of tendril apexes is most effective for cultivars with a weak tendril-making ability. Cultivation of petals and leaves is effective only for cultivars which are well propagated vegetatively. Regenerated plants obtained under *in vitro* conditions have good adapt ability; they are as good as rosette seedlings or even surpass them by the number of tendrils, affiliated rosettes and productivity. In addition, they are significantly less affected by botrytis, white and brown spots.

*Key words:* garden strawberry, cultivar, clonal micropropagation, explant, regenerated plants, tendril-making ability.

Традиционным способом размножения земляники садовой является размножение дочерними розетками.

© Поляков А.В., Линник Т.А., 2014.

Однако некоторые современные ремонтантные сорта при отличном качестве и высоком урожае ягод формируют 1-2 уса за сезон, что крайне

недостаточно для промышленных объемов размножения подобных сортов. В преодолении этих трудностей чрезвычайное значение приобретает использование метода клонального микроразмножения *in vitro*, позволяющего не только значительно ускорить размножение растений сортов, которые плохо размножаются вегетативно, но и получить растения, оздоровленные от фитопатогенов, вирусов и других инфекций [4; 6; 10]. В связи с этим разработана эффективная и воспроизводимая система ускоренного клонального микроразмножения сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью в условиях *in vitro* является необходимым условием для продвижения таких востребованных сортов на рынок.

Для регенерации *in vitro* растений рода *Fragaria* в качестве исходных эксплантов применялись: изолированные меристемы апексов усов, пыльники, листовые диски [3; 6]; меристематические верхушки апикальных и боковых почек, пыльники, цветоложе, листовые диски [5]; базальные участки цветковых почек [1]; апикальные меристемы [4] и др. Информация о регенерации растений рода *Fragaria* из лепестков в литературе отсутствует, а информация о морфогенетической активности листа ограничена, однако на ряде других видов растений показано, что эти типы эксплантов характеризуются высокой морфогенетической активностью [11; 12]. Целью нашего исследования являлось повышение эффективности размножения сортов земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.), характеризующихся слабой усообразующей способностью, за счет оптимизации процесса клонального микроразмножения

*in vitro* и последующая оценка полученных регенерантов в условиях *ex vitro*.

## Материал и методы

Биотехнологические исследования проведены в отделе биотехнологии, изучение полученных растений-регенерантов – в условиях открытого грунта ГНУ ВНИИО Россельхозакадемии. В качестве доноров были использованы растения земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.) новых высокоурожайных сортов с различной интенсивностью усообразования: Тарпан, Эвис делайт, Флорина (ремонтантные) – со слабой (менее 10 усов на растение), Богема (поздний) – со средней (10-20 усов на растение), Боровицкая (поздний) – с высокой (более 20 усов на одно растение) усообразующей способностью.

Лабораторные исследования проведены в соответствии с методическими рекомендациями по получению регенерантов овощных культур и их размножению *in vitro* [6] и по микроразмножению садовых растений [5]. При стерилизации исходного материала использовали гипохлорит натрия в концентрации 1% и экспозиции 7 минут. Для исследования морфогенетического потенциала использовали следующие типы эксплантов: лепестки, изолированные из бутонов длиной 3-4 мм, основания листовых дисков размером 2Ч3 мм, изолированные в фазу раскрытия листа и апексы усов длиной 1-2 мм. Культивирование проводили на питательной среде Мурасиге-Скуга (MS), содержащей 30 г/л сахарозы, 6 г/л агары, 0,5 мг/л 6-бензиладенина (БА), pH 5,6. Полученные в ходе размножения побеги переносили на среду MS, содержащую БА 0,5 мг/л и индолилмасляную кис-

лоту (ИМК) 0,1 мг/л, укоренение проводили на среде с содержанием ИМК 0,5 мг/л. Введенный *in vitro* материал культивировали в течение 4-5 недель, после образования корней длиной 1-2 см регенеранты адаптировали к условиям *ex vitro* – микроклоны высаживали в торфяные таблетки, затем в грунт. Агротехника на опытном участке применена согласно методике опытного дела в овощеводстве и бахчеводстве [2]. Основные учеты проведены согласно методам учета вредителей и болезней плодовых культур [9]. Степень поражения заболеванием вычисляли по общепринятой формуле:

$$R = \sum ab \times 100\% / 5n,$$

где  $R$  – развитие болезни (%);

$\sum ab$  – сумма произведений числа больных растений на соответствующий балл поражения;

5 – высший балл шкалы учёта;

$n$  – общее число учтённых растений (здоровых и больных).

## Результаты и их обсуждение

**Морфогенез различных типов эксплантов в условиях *in vitro*.** Культивирование земляники садовой на среде MS в зависимости от сорта и типа используемого экспланта позволило получить от 7,1% до 85,7% жизнеспособных эксплантов. Наиболее жизнеспособными оказались апексы усов сорта Тарпан. У всех сортов наблюдался морфогенез апексов усов. У сортов с низким усообразованием в среднем сформировалось от 1,6 (сорт Тарпан) до 3,0 (сорта Эвис делайт и Флорина) побегов на эксплант. На этапе культивирования морфогенных конгломератов наибольший коэффициент размножения отмечен у сорта Эвис делайт – 7,2 почек и 6,5 побегов в пересчете на один конгломерат. У сорта Тарпан – 4,7 почек и 4,3 побегов, у сорта Флорина – 4,1 почек и 3,5 побегов на конгломерат (рис. 1).

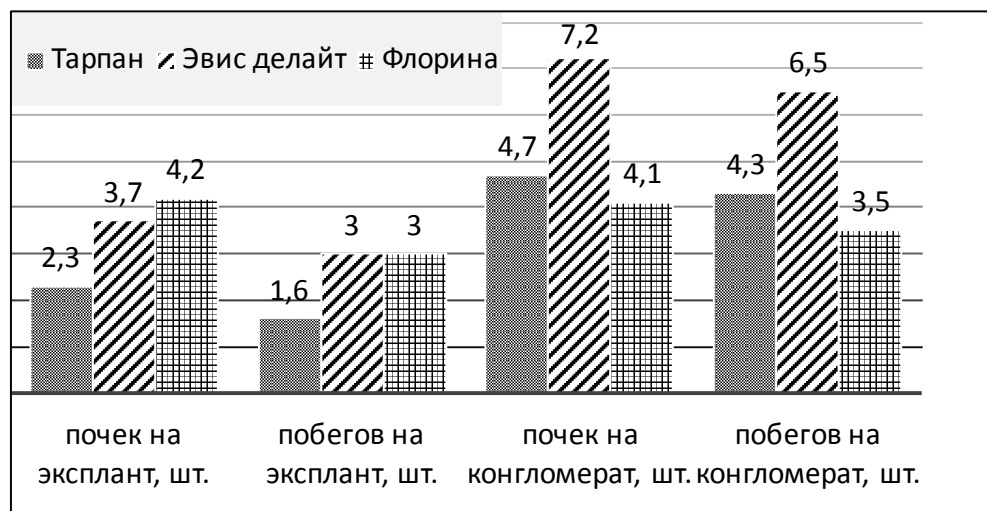


Рис. 1. Регенерационная активность *in vitro* апексов усов земляники садовой сортов с низкой усообразующей способностью

Укореняемость побегов в зависимости от сорта составила 89,5-100%. Наблюдения за адаптацией побегов показали, что от 94,1 до 100% изученных растений-регенерантов успешно адаптируются к условиям *ex vitro*. Максимальный процент укоренения и адаптации отмечен у растений сорта Эвис делайт (рис. 2). Таким образом, культивирование апексов усов *in vitro* эф-

фективно для размножения сортов со слабой усообразующей способностью, позволяющее получить 50,0-85,7% жизнеспособных эксплантов, формирующих 1,6-3,0 побега в пересчете на один эксплант, на этапе культивирования морфогенных конгломератов – от 3,5 до 6,5 побегов, укореняемость которых составляла от 89,5 до 100%.

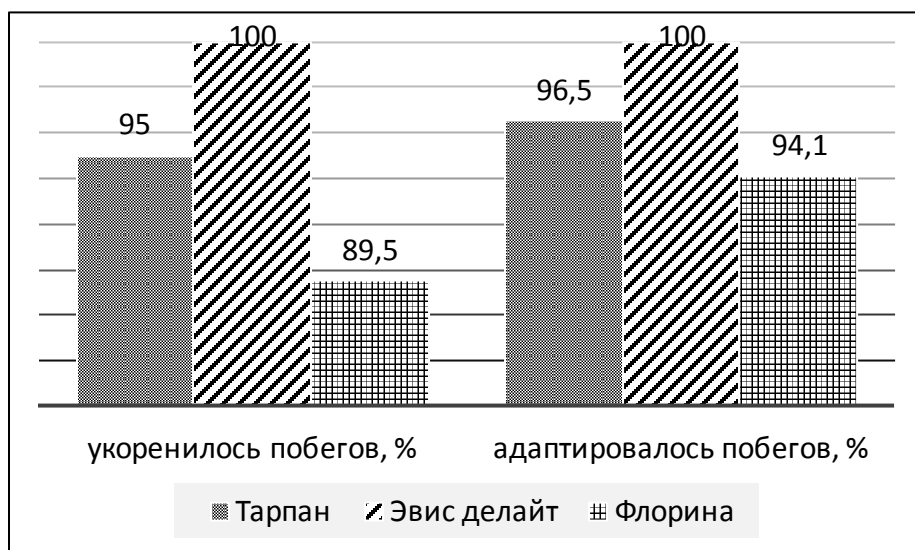


Рис. 2. Укоренение побегов *in vitro* и адаптация растений-регенерантов земляники садовой сортов с низкой усообразующей способностью к условиям *ex vitro*

Регенерация из лепестков и фрагментов листа наблюдалась только у сорта Боровицкая. Доля жизнеспособных эксплантов при культивировании лепестков составила 7,1%, на которых сформировалось в среднем 2,0 побега на эксплант. При культивировании листа получено 58,3% жизнеспособных эксплантов и образовалось 3,3 побега на эксплант. Вероятно, культивирование этих типов эксплантов (лепесток, лист) эффективно только для сортов, хорошо размножаемых вегетативно. В процессе размножения у сорта Боро-

вицкая наибольшее количество почек (8,3) и побегов (7,4) на конгломерат получено при культивировании сегментов листа. При культивировании апексов усов сформировалось 5,2 почки и 4,7 побегов, а при культивировании лепестков – 4,0 почки и 3,0 побега на конгломерат. Укореняемость побегов в зависимости от типа экспланта составила 89,5-100%. К условиям *ex vitro* успешно адаптировались от 85,7 до 99% высаженных растений-регенерантов. Таким образом, для сорта Боровицкая возможна регенерация из лепестков,

однако более эффективно культивирование листовых эксплантов (3,3 побега на эксплант и 7,4 на конгломерат) и апексов усов (3,0 побега на эксплант и 4,7 на конгломерат).

**Изучение растений-регенерантов в условиях открытого грунта.** Растения-регенеранты сортов Тарпан и Боровицкая, полученные *in vitro*, изучали в условиях открытого грунта на фоне растений этих же сортов, полученных традиционным способом размножения из розеток. Стандартом служили растения сорта Богема, полученные из розеток. Отмечены благоприятные изменения показателей растений-регенерантов сорта Тарпан, а именно: сформировалось в 1,2 раза больше дочерних розеток, чем у растений, полученных традиционным вегетативным способом размножения (до четырех розеток на растение); показатели продуктивности растений-регенерантов уже на первом году жизни значительно превышали таковые у растений, полученных из розеток: количество цветоносов и ягод было больше в 1,4 раза, средняя масса ягод была больше на 13%. Общая продуктивность и урожайность были выше в 1,5 раза: у растений-регенерантов было получено до 440 г ягод с растения или 2,6 кг/м<sup>2</sup>, в то время как показатели растений, полученных из розеток, были ощутимо меньше – 280 г ягод с растения или 1,7 кг/м<sup>2</sup>. В сравнении со стандартом, показатели продуктивности растений-регенерантов сорта Тарпан оказались в 5 раз выше, чем у растений сорта Богема, полученных из розеток.

Обнаружено, что растения сорта Боровицкая, полученные *in vitro*,

сформировали примерно такое же количество усов и дочерних розеток, как и растения, полученные традиционным способом размножения. В сравнении с сортом Богема усообразование было выше в 2 раза. При этом в первый год жизни растений-регенеранты хуже плодоносили – продуктивность снизилась в 2,6 раза по сравнению с показателями растений, полученными из розеток, и в 2,5 раза была меньше продуктивности сорта Богема.

Оценка устойчивости к заболеваниям (серая гниль, белая, бурая пятнистости) на естественном инфекционном фоне показала, что растения-регенеранты, полученные *in vitro*, более устойчивы, чем растения, полученные традиционным способом размножения. У растений-регенерантов сорта Тарпан степень поражения серой гнилью была в 2,5 раза меньше, белой пятнистостью – в 2,2 раза меньше, чем у растений, полученных из розеток, а поражения бурой пятнистостью вообще не было обнаружено. У растений-регенерантов сорта Боровицкая степень поражения серой гнилью и белой пятнистостью была в 1,6 раза меньше, а бурой пятнистостью – в 1,7 раза меньше в сравнении с растениями из розеток (табл. 1). По результатам оценки посадочный материал сорта Тарпан, полученный *in vitro*, характеризуется как высокоустойчивый к поражению серой гнилью и белой пятнистостью и не поражающийся бурой пятнистостью. Посадочный материал сорта Боровицкая – как относительно устойчивый к серой гнили, среднеустойчивый к белой пятнистости и высокоустойчивый к бурой пятнистости.

Таблица 1

**Степень поражения болезнями растений-регенерантов  
и розеточной рассады земляники садовой**

Сорт	Способ получения растений	Степень поражения, %		
		серой гнилью	пятнистостью	
			белой	бурой
Тарпан	<i>in vitro</i>	7,50	8,33	0,00
	традиционный	18,75	18,33	5,42
Боровицкая	<i>in vitro</i>	17,50	25,83	5,83
	традиционный	27,50	40,83	10,00
Богема	традиционный	16,67	6,65	0,83

Метод клонального микроразмножения *in vitro* эффективен для получения оздоровленного посадочного материала сортов земляники садовой, плохо размножаемых вегетативно из-за низкой усообразующей способности. Культивирование *in vitro* апексов усов этих сортов позволяет получить 50,0-85,7% жизнеспособных эксплантов, формирующих 1,6-3,0 побега в пересчете на один эксплант, на этапе культивирования морфогенных конгломератов – от 3,5 до 6,5 побегов, укореняемость которых составляла от 89,5 до 100%. Полученные растения-регенеранты хорошо адаптируются, не уступают или даже превосходят розеточную рассаду по количеству усов, дочерних розеток (в 1,2 раза) и продуктивности (в 1,5 раза), а также меньше поражаются серой гнилью (в 2,5 раз), белой (в 2,2 раза) и бурой пятнистостями.

**ЛИТЕРАТУРА:**

1. Алексеевко Л.В. Особенности размножения нейтральнодневных и ремонтантных сортов земляники *in vitro*: дис. ... канд. с.-х. наук. – М., 1998. – 168 с.
2. Белик В.Ф. Методика опытного дела в овощеводстве и бахчеводстве. – М.: Агропромиздат, 1992. – 319 с.
3. Высоккий В.А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровленного посадочного материала и селекции плодовых и ягодных растений: дис. ... д-ра. с.-х. наук. – М., 1998. – 321 с.
4. Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н. Земляника: прошлое, настоящее, будущее. – М.: ФГНУ Росинформагротех, 2004. – 348 с.
5. Деменко В.И. Микроклональное размножение садовых растений: учебное пособие. – М.: МСХА, 2007. – 55 с.
6. Поляков А.В. Получение регенерантов овощных культур и их размножение *in vitro*: методические рекомендации. – М.: ГНУ ВНИИО РАСНХ, 2005. – 36 с.
7. Поляков А.В., Линник Т.А. Регенерация растений земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch.) из лепестка и листа // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: сб. науч. трудов РАЕН [Вып. 20]. – 2012. – С. 43–46.
8. Поляков А.В., Линник Т.А., Таланова Л.А. Повышение эффективности размножения сортов земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch.), характеризующихся низкой усообразующей способностью // Вестник Рязанского гос. агротехнологического ун-та им. П.А. Костычева: научно-производств. журнал. – 2013. – № 3 (19). – С. 42–46.
9. Титов Д.А. Основные методы учета вредителей и болезней плодовых культур

- тур // Защита растений. – 1992. – № 2. – С. 42–44.
10. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А. Сельскохозяйственная биотехнология. – М.: Высшая школа, 2003. – 469 с.
11. Torne J.M. Embryogenesis induction in petals of *Araujia sericifera* / J.M. Torne, P. Rodriques, A. Manich at al. // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1997. – Vol. 51. – P. 95–100.
12. Wojciechowicz M.K. Comparison of regenerative potential of petals, stamens and pistils of five *Sedum* species *in vitro* // Biodiversity, Research and Conservation. – 2007. – Vol. 5 (№ 8). – P. 87–94.