

СЕЛЕКЦИЯ, СЕМЕНОВОДСТВО И БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ / PLANT BREEDING, SEED PRODUCTION AND BIOTECHNOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.51.16>

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА МОРФОГЕНЕЗ РАСТЕНИЙ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ (*FRAGARIA* × *ANANASSA DUCH.*) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Научная статья

Каширина К.А.¹, Булдаков С.А.² *

¹ ORCID : 0009-0006-0646-3593;

² ORCID : 0000-0003-1566-1402;

^{1,2} Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Южно-Сахалинск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (sarsarsar88[at]mail.ru)

Аннотация

В публикации приведены данные по влиянию регуляторов роста 6-БАП (6-бензиламинопурина) и ИМК (индолил-3-масляная кислота) в разных концентрациях на рост и развитие эксплантов земляники садовой сорта Наше Подмосковье в культуре *in vitro*. Изучаемые регуляторы роста добавлялись в питательную среду на основе Мурасиге-Скуга в целях ускорения развития микрорастений и увеличения коэффициента размножения. Установлено, что ИМК в зависимости от концентрации (0,125-0,5 мг/л) увеличивает высоту растений от 14,6 до 36,9%, соответственно, применение 6-БАП в количестве 1 мг/л до 13,1%. Количество побегов и коэффициент размножения по вариантам составлял 2,72-3,51 шт., с максимальным значением на ИМК 0,25 мг/л (прибавка к контролю 29%). Существенное увеличение числа листьев было в вариантах с ИМК 0,125 и 0,25 мг/л, что соответствует прибавке – на 21,9 и 28,7%, при этом наиболее мощная биомасса (больше контроля на 69,2%) была при использовании ИМК 0,25 мг/л. В целом индолил-3-масляная кислота в количестве 0,25 мг, добавленная на 1 л питательной среды, оказала наибольший стимулирующий эффект на рост и развитие микрорастений земляники садовой и может быть рекомендована к применению на этапе массового размножения.

Ключевые слова: земляника садовая, *in vitro*, микрорастения, регулятор роста.

INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS ON MORPHOGENESIS OF GARDEN STRAWBERRY (*FRAGARIA* × *ANANASSA DUCH.*) PLANTS IN *IN VITRO* CULTURE

Research article

Kashirina K.A.¹, Buldakov S.A.² *

¹ ORCID : 0009-0006-0646-3593;

² ORCID : 0000-0003-1566-1402;

^{1,2} N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Yuzhno-Sakhalinsk, Russian Federation

* Corresponding author (sarsarsar88[at]mail.ru)

Abstract

This publication presents data on the effect of growth regulators 6-BAP (6-benzylaminopurine) and IMC (indolyl-3-butyric acid) in different concentrations on the growth and development of strawberry explants of the garden variety Nashe Podmoskovye in *in vitro* culture. The studied growth regulators were added to Murashige and Skoog-based nutrient medium in order to accelerate the development of microplants and increase the reproduction rate. It was found that IA depending on the concentration (0.125-0.5 mg/L) increased plant height from 14.6 to 36.9%, respectively, application of 6-BAP at 1 mg/L to 13.1%. The number of shoots and multiplication ratio of the variants was 2.72-3.51, with maximum value at IA 0.25 mg/l (29% increase over control). A significant increase in the number of leaves was in the variants with IA 0.125 and 0.25 mg/l, corresponding to a gain of 21.9 and 28.7%, with the most vigorous biomass (greater than the control by 69.2%) when IMC 0.25 mg/l was used. In general, indolyl-3-butyric acid in the amount of 0.25 mg added per 1 litre of nutrient medium had the greatest stimulating effect on the growth and development of garden strawberry microplants and can be recommended for use at the stage of mass reproduction.

Keywords: garden strawberry, *in vitro*, microplants, growth regulator.

Введение

Производство ягодной продукции как в стране, так и в Сахалинской области ежегодно возрастает. Из всего широкого видового разнообразия наибольшую долю представляет земляника садовая (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). Увеличение площадей под ягодники требует от сельскохозяйственных предприятий и крестьянских (фермерских) хозяйств закупку посадочного материала или самостоятельное его выращивание. При этом из большого сортового разнообразия высокой популярностью пользуются сорта со слабой усобразовательной способностью [1], [2]. Поэтому для их быстрого размножения применяют биотехнологический способ или микрклональное размножение в культуре *in vitro*, который широко себя зарекомендовал в зарубежных странах. Такой современный метод дает ряд преимуществ: быстрое получение однородного посадочного материала, исключение вирусных инфекций, экономическая выгода [3], [4], [5].

Многие исследования направлены на поиск новых и усовершенствование традиционных приемов размножения земляники садовой. Один из наиболее популярных – это применение регуляторов роста разной направленности действия [6], [7], [8]. Так, например, на первых этапах размножения рекомендуют использовать регулятор роста ауксиновой природы индолил-3-масляную кислоту (или ИМК) в концентрации 1,0 мг/л, что позволяет увеличить ростовые процессы у растений. Также часто применяют цитокининовый фитогормон 6-БАП (6-бензиламинопурин), который эффективен для увеличения коэффициента размножения в дозах у разных исследователей от 0,5 до 1,5 мг/л в зависимости от сорта [9], [10], [11], [12]. Учитывая, что одни и те же вещества в одинаковых концентрациях по-разному действуют на микрорастения у разных сортов, требуется определять оптимальную дозу для каждого сорта.

Цель работы – изучить влияние регуляторов роста растений на ускоренное размножение земляники садовой в культуре *in vitro*

Методы и принципы исследования

Опыт по определению действия регуляторов роста на морфогенез земляники садовой проведен в биотехнологической лаборатории СахНИИСХ – филиала ВИР за период 2023-2024 гг. В качестве объекта исследований служил сорт земляники садовой – Наше Подмосковье (включен в реестр селекционных достижений РФ в 2021 г; патентообладатели ФГБНУ ФНЦ Садоводства и ФГБОУ ВО «Брянский государственный аграрный университет»), среднераннего срока созревания. За основу был взят классический рецепт питательной среды Мурасиге-Скуга (сокр. – МС), в которой добавлялись регуляторы роста в следующих соотношениях:

1. Контроль (МС + 6-БАП 0,5 мг/л).
2. МС + 6-БАП 1 мг/л.
3. МС + ИМК 0,5 мг/л.
4. МС + ИМК 0,25 мг/л.
5. МС + ИМК 0,125 мг/л.

В последующем в стерильных условиях бокса в пробирку каждого варианта помещался экплант земляники садовой. Расчерченные штативы помещались в фитотрон на 28 дней с условиями выращивания: температура +22-24 °С, влажность воздуха 60%, освещенность 3600 Лк, фотопериод 16 часов. Наблюдения состояли из измерений высоты растений, количества побегов и листьев. В конце эксперимента определяли общий вес микрорастений.

Статистическая обработка данных сделана с использованием пакета анализа в программе Microsoft Excel.

Основные результаты

Исследуемые препараты в разных концентрациях оказали существенное влияние на высоту микрорастений земляники садовой с первых дней роста (таблица 1).

На вторую неделю изучаемые регуляторы роста имели разнонаправленное действие. Высокая доза ИМК 0,5 мг/л немного замедляла рост растений на 3%. Понижения концентрации индолил-3-масляной кислоты до 0,25 мг/л оказало наибольшее стимулирующее влияние на увеличение высоты растений – на 17,8% от контроля. Через неделю во всех вариантах ИМК произошло улучшение показателей, с максимальной прибавкой на 30% в дозе 0,25 мг/л. К концу опыта установленная доза увеличивала высоту земляники садовой на 36,9%. При этом удвоение концентрации ИМК или ее двойное уменьшение были менее эффективны в 2,3 и 2,5 раза. Также 6-БАП в количестве 1 мг/л оказал благоприятное влияние на рост растений на каждую дату наблюдений в 13,1-13,8% от контроля.

Таблица 1 - Влияние регуляторов роста растений на высоту микрорастений земляники садовой в культуре *in vitro*

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.51.16.1>

Вариант	14 день		21 день		28 день	
	см	± к контролю, %	см	± к контролю, %	см	± к контролю, %
Контроль (6-БАП 0,5 мг/л)	1,01	-	1,20	-	1,30	-
6-БАП 1 мг/л	1,15	13,8	1,36	13,3	1,47	13,1
ИМК 0,5 мг/л	0,98	-3,0	1,19	-0,8	1,51	16,2
ИМК 0,25 мг/л	1,19	17,8	1,56	30,0	1,78	36,9
ИМК 0,125 мг/л	1,05	4,0	1,30	8,6	1,49	14,6
НСР ₀₅	0,10	-	0,11	-	0,15	-

Количество образованных побегов имеет аналогичную тенденцию как в высоте микрорастений. Двойная концентрация 6-БАП с 21 дня существенно стимулировала регенерацию побегов с максимальным эффектом на 28 день

наблюдений до 16,9% от контроля. Среди доз ИМК выделялась 0,25 мг/л, которая показала свою эффективность с первых дней опыта с максимальной прибавкой в 29% от контроля на 28 день (таблица 2).

Таблица 2 - Влияние регуляторов роста растений на количество побегов микрорастений земляники садовой в культуре *in vitro*

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.51.16.2>

Вариант	14 день		21 день		28 день	
	шт.	± к контролю, %	шт.	± к контролю, %	шт.	± к контролю, %
Контроль (6-БАП 0,5 мг/л)	2,40	-	2,47	-	2,72	-
6-БАП 1 мг/л	2,37	-1,3	2,79	13,0	3,18	16,9
ИМК 0,5 мг/л	2,02	-15,8	2,20	-10,9	2,73	0,4
ИМК 0,25 мг/л	2,76	15,0	3,11	25,9	3,51	29,0
ИМК 0,125 мг/л	2,44	1,7	2,82	14,2	3,16	16,2
НСР ₀₅	0,28	-	0,30	-	0,33	-

Регуляторы роста оказали влияние на листообразование. За первые 2 недели роста количество листьев на одно микрорастение в среднем составляло по вариантам от 4,64 до 6,16 шт. Во всех исследуемых дозах наблюдалось ингибирование показателя до 18,5%. Только ИМК (0,25 мг/л) имел положительную тенденцию к увеличению количества листьев – на 5,3% от контроля (таблица 3).

Таблица 3 - Влияние регуляторов роста растений на число листьев микрорастений земляники садовой в культуре *in vitro*

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.51.16.3>

Вариант	14 день		21 день		28 день	
	шт.	± к контролю, %	шт.	± к контролю, %	шт.	± к контролю, %
Контроль (6-БАП 0,5 мг/л)	5,69	-	6,18	-	6,61	-
6-БАП 1 мг/л	5,34	-6,2	6,14	-0,6	6,66	0,8
ИМК 0,5 мг/л	4,64	-18,5	5,48	-11,3	6,75	2,1
ИМК 0,25 мг/л	6,16	8,3	7,75	25,4	8,51	28,7
ИМК 0,125 мг/л	5,62	-1,2	7,00	13,3	8,06	21,9
НСР ₀₅	0,60	-	0,70	-	0,79	-

На 21 день произошло выделение вариантов ИМК в дозах 0,125 и 0,25 мг/л, под действием которых получено существенное увеличение числа листьев на 0,82 и 1,57 шт. В других исследуемых вариантах значения на уровне контроля как при 6-БАП (1 мг) или ниже – на 11,3% с ИМК (0,5 мг/л). На последний день наблюдений наиболее обильными были те же варианты (ИМК 0,125 и 0,25 мг/л), при этом прибавка достигала своей максимальной цифры в 21,9 и 28,7%.

Более развитые растения земляники по основным биометрическим характеристикам не всегда имели большую биомассу (рисунок 1).

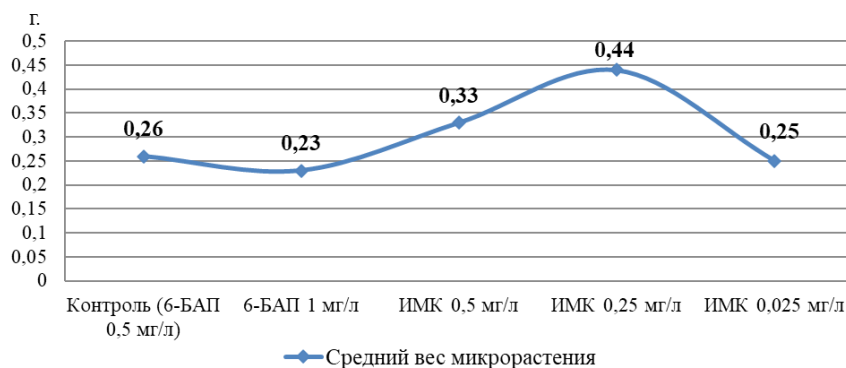


Рисунок 1 - Средний вес микрорастений земляники садовой в зависимости от применяемого регулятора роста
DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.51.16.4>

Средний вес одного микрорастения находился в пределах 0,23-0,44 г. Наиболее существенная прибавка по сравнению с контролем была с применением ИМК 0,5 и 0,25 мг/л, что соответствовало 26,9 и 69,2%. Остальные варианты были на уровне контроля. Существенное изменение веса с ИМК связано также с образованием корней, которые добавляют дополнительный вес к биомассе.

Обсуждение

Наибольшее значение при микроклональном размножении в период активного тиражирования исходного материала имеет коэффициент размножения, который пропорционален количеству образованных побегов. Значения колеблются в зависимости от сортовых особенностей и состава питательной среды и в среднем могут составлять от 1,6 до 7,5 ед. В целом земляника садовая сорта Наше Подмосковье имеет среднюю побегообразовательную способность в 2,7 ед. При этом повешенная доза 6-БАП увеличивает коэффициент до 3,2 ед. Модифицированная питательная среда с добавлением ИМК имеет коэффициент размножения от 2,7 до 3,5 ед., наибольшее количество заложенных почек побегов достигается с применением ИМК 0,25 мг/л.

На четвертую неделю на вариантах с ИМК наблюдались первые признаки ризогинеза, которые распределялись в зависимости от дозы с максимальным количеством корней и их длины в дозе 0,25 мг/л. Поэтому индолил-3-масляная кислота перспективна в дальнейших исследованиях в целях применения на этапе адаптации и укоренения растений в субстрат.

Заключение

В результате полученных данных исследуемые регуляторы роста (6-БАП и ИМК) в изучаемых концентрациях имели неоднозначное действие на биометрические показатели микрорастений земляники садовой в течение периода вегетации. Наибольшая отзывчивость на препараты достигается к 28 дню опыта. Стимуляторы роста положительно влияли на достоверное увеличение к контролю: высоты растений 14,6-36,9%, количества побегов 16,2-29,0%, числа листьев 21,9-28,7%.

Наиболее эффективный регулятор роста по всем исследуемым параметрам был ИМК 0,25 мг/л, что подтверждает и максимальный показатель биомассы микрорастения земляники садовой в 0,44 г. Поэтому для земляники садовой сорта Наше Подмосковье наиболее целесообразно применять ИМК в количестве 0,25 мг при добавлении на 1 л питательной среды на этапе массового размножения, что существенно увеличивает коэффициент размножения земляники садовой в 1,3 раза.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Правительству Сахалинской области за оказанную финансовую поддержку молодых ученых в проведении и обнародовании исследований.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Acknowledgement

The authors express their gratitude to the Government of Sakhalin Oblast for the financial support of young scientists in conducting and publicizing the research.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Дунаева С.Е. Образцы ягодных и плодовых культур и их дикорастущих родичей в коллекции in vitro ВИР / С.Е. Дунаева, С.Ю. Орлова, О.А. Тихонова [и др.] // Биотехнология и селекция растений. — 2018. — Т. 1. — № 1. — С. 43–51.

2. Барсукова Е.Н. Перспективы выращивания земляники садовой (*Fragaria × ananassa* Duch.) в Приморском крае с использованием микроклонального размножения / Е.Н. Барсукова, Т.Н. Чекушкина // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. — 2021. — № 3 (217). — С. 45–51.
3. Banerjee D. Micro propagation on strawberry: a review / D. Banerjee, V. Singh, R. Thakur // E3S Web of Conferences. — 2023. — Vol. 453. — P. 01019.
4. Ambros E. Silicon chelates from plant waste promote in vitro shoot production and physiological changes in strawberry plantlets / E. Ambros, E. Karpova, O. Kotsupiy [et al.] // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. — 2021. — Vol. 145. — № 2. — P. 209–221.
5. Karpushina M.V. Comparative assessment of the efficiency of propagation of strawberry varieties under in vitro conditions / M.V. Karpushina, M.A. Amosova // Fruit Growing and Viticulture in the South of Russia. — 2023. — № 79 (1). — P. 82–92.
6. Маркова М.Г. Влияние регулятора роста НВ-101 и экспериментальных светодиодных фитооблучателей на ризогенез земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch) в условиях in vitro / М.Г. Маркова, Е.Н. Сомова // Вестник Ижевской государственной сельскохозяйственной академии. — 2019. — № 4 (60). — С. 28–33.
7. Амброс Е.В. Влияние антиоксидантов и регуляторов роста на органогенез побегов в культуре апикальных меристем *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex weston) / Е.В. Амброс, Е.И. Чертенкова, С.Ю. Толузакова [и др.] // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. — 2021. — Т. 11. — № 4 (39). — С. 549–560.
8. Маркова М.Г. Совершенствование клонального микроразмножения ягодных культур / М.Г. Маркова, Е.Н. Сомова // Вестник Казанского государственного аграрного университета. — 2021. — Т. 16. — № 1 (61). — С. 39–44.
9. Мацнева О.В. Влияние регуляторов роста на укоренение земляники садовой in vitro / О.В. Мацнева, Л.В.Ташматова, Т.М. Хромова // Вестник российской сельскохозяйственной науки. — 2022. — № 3. — С. 57–60.
10. Карпушина М.В. Технологический процесс микроклонального размножения посадочного материала земляники садовой сорта Мальвина / М.В. Карпушина, М.А. Амосова // Плодоводство и виноградарство Юга России. — 2022. — № 78 (6). — С. 263–274.
11. Макаров С.С. Оценка влияния регуляторов роста цитокининовой группы на морфогенез растений земляники крупноплодной гибрида F1 всемирный дебют при размножении методом in vitro / С.С. Макаров, А.И. Чудецкий, А.А. Панкратова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2018. — № 6 (74). — С. 50–52.
12. Есаулко А.Н. Изучение эффективности новых питательных сред для производства растений земляники in vitro / А.Н. Есаулко, А.К. Раджабов, Т.С. Айсанов [и др.] // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. — 2022. — № 5. — С. 21–34.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Dunaeva S.E. Obrazcy jagodnyh i plodovyh kul'tur i ih dikorastushhih rodichej v kollekcii in vitro VIR [Samples of berry and fruit crops and their wild relatives in the in vitro VIR collection] / S.E. Dunaeva, S.Ju. Orlova, O.A. Tihonova [et al.] // Biotehnologija i selekcija rastenij [Biotechnology and Plant Breeding]. — 2018. — Vol. 1. — № 1. — P. 43–51. [in Russian]
2. Barsukova E.N. Perspektivy vyrashhivaniya zemljaniki sadovoj (*Fragaria × ananassa* Duch.) v Primorskom krae s ispol'zovaniem mikroklonal'nogo razmnozhenija [Prospects for the cultivation of garden strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch.) in the Primorsky Territory using microclonal reproduction] / E.N. Barsukova, T.N. Chekushkina // Vestnik Dal'nevostochnogo otdelenija Rossijskoj akademii nauk [Bulletin of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences]. — 2021. — № 3 (217). — P. 45–51. [in Russian]
3. Banerjee D. Micro propagation on strawberry: a review / D. Banerjee, V. Singh, R. Thakur // E3S Web of Conferences. — 2023. — Vol. 453. — P. 01019.
4. Ambros E. Silicon chelates from plant waste promote in vitro shoot production and physiological changes in strawberry plantlets / E. Ambros, E. Karpova, O. Kotsupiy [et al.] // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. — 2021. — Vol. 145. — № 2. — P. 209–221.
5. Karpushina M.V. Comparative assessment of the efficiency of propagation of strawberry varieties under in vitro conditions / M.V. Karpushina, M.A. Amosova // Fruit Growing and Viticulture in the South of Russia. — 2023. — № 79 (1). — P. 82–92.
6. Markova M.G. Vlijanie reguljatora rosta NV-101 i jeksperimental'nyh svetodiodnyh fitoobluchatelej na rizogenez zemljaniki sadovoj (*Fragaria ananassa* Duch) v uslovijah in vitro [Influence of the growth regulator NV-101 and experimental LED phyto-emitters on the rhizogenesis of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch) in vitro] / M.G. Markova, E.N. Somova // Vestnik Izhevskoj gosudarstvennoj sel'skohozjajstvennoj akademii [Bulletin of the Izhevsk State Agricultural Academy]. — 2019. — № 4 (60). — P. 28–33. [in Russian]
7. Ambros E.V. Vlijanie antioksidantov i reguljatorov rosta na organogenez pobegov v kul'ture apikal'nyh meristem *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex weston) [Influence of antioxidants and growth regulators on the organogenesis of shoots in the culture of apical meristems *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex weston)] / E.V. Ambros, E.I. Chertenkova, S.Ju. Toluzakova [et al.] // Izvestija vuzov. Prikladnaja himija i biotehnologija [News of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology]. — 2021. — Vol. 11. — № 4 (39). — P. 549–560. [in Russian]
8. Markova M.G. Sovershenstvovanie klonal'nogo mikrorazmnozhenija jagodnyh kul'tur [Improvement of clonal micro-propagation of berry crops] / M.G. Markova, E.N. Somova // Vestnik Kazanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [Bulletin of the Kazan State Agrarian University]. — 2021. — Vol. 16. — № 1 (61). — P. 39–44. [in Russian]
9. Macneva O.V. Vlijanie reguljatorov rosta na ukorenenie zemljaniki sadovoj in vitro [Influence of growth regulators on the rooting of garden strawberries in vitro] / O.V. Macneva, L.V.Tashmatova, T.M. Hromova // Vestnik rossijskoj sel'skohozjajstvennoj nauki [Bulletin of the Russian Agricultural Science]. — 2022. — № 3. — P. 57–60. [in Russian]

10. Karpushina M.V. Tehnologicheskij process mikroklonal'nogo razmnozhenija posadochnogo materiala zemljaniki sadovoj sorta Mal'vina [Technological process of microclonal reproduction of planting material of strawberry garden variety Malvina] / M.V. Karpushina, M.A. Amosova // *Plodovodstvo i vinogradarstvo Juga Rossii* [Fruit Growing and Viticulture of the South of Russia]. — 2022. — № 78 (6). — P. 263–274. [in Russian]

11. Makarov S.S. Ocenka vlijanija reguljatorov rosta citokininovoj gruppy na morfogenez rastenij zemljaniki krupnoplodnoj gibrida F1 vseмирnyj debut pri razmnozhenii metodom in vitro [Assessment of the effect of cytokinin group growth regulators on the morphogenesis of large-fruited strawberry plants of the F1 hybrid world debut in in vitro reproduction] / S.S. Makarov, A.I. Chudeckij, A.A. Pankratova // *Izvestija Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Proceedings of the Orenburg State Agrarian University]. — 2018. — № 6 (74). — P. 50–52. [in Russian]

12. Esaulko A.N. Izuchenie jeffektivnosti novyh pitatel'nyh sred dlja proizvodstva rastenij zemljaniki in vitro [Studying the effectiveness of new nutrient media for the production of strawberry plants in vitro] / A.N. Esaulko, A.K. Radzhabov, T.S. Ajsanov [et al.] // *Izvestija Timirjzevskoj sel'skohozjajstvennoj akademii* [Proceedings of the Timiryazev Agricultural Academy]. — 2022. — № 5. — P. 21–34. [in Russian]