

УДК 634.75:581.1

О.В. Мацнева, н.с.

Л.В. Ташматова, к.с.-х.н.

В.Е. Джафарова, к.с.-х.н.

ФГБНУ ВНИИ селекции плодовых культур, Россия, Орел, info@vniispk.ru

ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ СОРТОВ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Аннотация

В статье изложены особенности пролиферации различных сортов земляники садовой в культуре *in vitro* в зависимости от концентрации цитокинина 6-БАП (6-бензиламинопурина). Выявлено, что сорта Царица и Флоренс имели высокий коэффициент размножения при содержании БАП в питательной среде 0,8 мг/л, для сортов Альфа и Соловушка оптимальной является концентрация 0,4 мг/л. Концентрация цитокинина 0,2 мг/л способствовала образованию большего числа растений, пригодных для укоренения.

Ключевые слова: земляника садовая, пролиферация, клональное микроразмножение, цитокинин, коэффициент размножения, *in vitro*

UDC 634.75:581.1

O.V. Matzneva, research worker

L.V. Tashmatova, candidate of agricultural sciences

V.E. Dzhafarova, candidate of biological sciences

Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, Russia, Orel, info@vniispk.ru

PROLIFERATIVE ACTIVITY OF STRAWBERRY CULTIVARS *IN VITRO*

Abstract

Proliferation features of various strawberry cultivars *in vitro* depending on the concentration of cytokinin of 6-benzilaminopurine are shown. It was determined that cultivars "Alfa" and "Solovushka" had a high propagation coefficient under 0.4 mg/litre of 6-benzilaminopurine content. For "Tzaritza" and "Florens" the 0.8 mg/litre concentration was optimal. Under 0.2 mg/litre content of 6-benzilaminopurine in the nutrient medium a large number of plants suitable for rooting was formed.

Key words: strawberry, clonal micropropagation, cytokinin, propagation coefficient, *in vitro*, proliferation

Введение

Земляника садовая является одной из самых популярных ягодных культур. Это объясняется высокими вкусовыми качествами и полезными свойствами ягод, быстрым вступлением в плодоношение и быстрой отдачей урожая. В то же время площади под этой культурой заметно сократились. В числе основных причин – увеличение уровня грибных, вирусных и фитоплазменных заболеваний растений, снижение выпуска здорового посадочного материала земляники.

Применение методов биотехнологии, одним из которых является клональное микроразмножение, направлено на решение этих проблем.

Преимущества микроклонального размножения: получение оздоровленного материала земляники, высокий коэффициент размножения, получение вегетативного потомства у трудноразмножаемых сортов, генетическая однородность растений. Однако, широкое внедрение его в производство сдерживается необходимостью подбора питательных сред с учетом индивидуальных особенностей размножаемых сортов, проблемой стерильности растительного материала, сред и помещений, трудоемкостью выполнения всех процессов, высокой стоимостью.

В основе метода лежит способность образовывать целое растение из меристемы путем снятия апикального доминирования и провоцирования роста пазушных меристем. Этот прием широко используется при размножении и оздоровлении многих культур, в том числе и земляники [1, 2, 5]. Снятие апикального доминирования проводится добавлением к питательной среде препаратов, обладающих цитокининовой активностью. В процессе культивирования растений на таких средах возрастает коэффициент размножения за пассаж [2]. БАП – регулятор роста группы цитокининов, проявляет более высокую активность по сравнению со своими аналогами в поддержании роста тканей и индуцировании органогенеза [6]. В работах ряда авторов рекомендуется использовать для размножения земляники БАП в концентрации 1,0 мг/л [1] или 1,0...1,5 мг/л [3]

Условия, объекты и методы исследований

Объектами наших исследований стали сорта земляники селекции Кокинского опорного пункта ВСТИСП Альфа, Царица, Соловушка и сорт английской селекции Флоренс.

Сорт Флоренс (Вима Тарда × Викода) – позднего срока созревания. Устойчив к грибным болезням, в том числе к вертициллезу, корневым гнилям. Зимостойкость высокая. Сорт высокопродуктивный. Ягоды крупные, правильной конической формы, прочные. Вкус очень хороший, десертный. Лежкость очень высокая, внешний вид не ухудшается после охлаждения. На протяжении четырех лет выращивания ягоды не мельчают. Урожайность стабильная. Усообразование высокое.

В качестве исходного материала для выделения меристем и введения их в культуру *in vitro* использовали концы усов и дочерние розетки первого порядка. Стерилизацию исходного материала земляники проводили по схеме:

1. Очищенные от верхних листьев усы и розетки промывали в течение одного часа проточной водой.
2. Затем 10 секунд при помешивании – в 70% растворе этилового спирта.
3. В течение 10 минут промывали материал земляники в стерильной дистиллированной воде.
4. Стерилизация растительного материала в 0,01% растворе мертиолата в течение 10 минут при активном помешивании.
5. Заключительный этап – трехкратная промывка стерильной

дистиллированной водой, каждая по 10 минут.

Меристемы выделяли из центрального апекса материнских растений и помещали на питательную среду Мурасиге-Скуга с добавлением 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л.

Размноженные микрорастения земляники каждого сорта высаживали по одному на свежую питательную среду с различным содержанием фитогормона 6-БАП (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 мг/л). В каждом варианте по 30 пробирок. Культивирование проводили при 23°C, освещенности 2 тыс. лк., фотопериоде 16 часов.

Учет проводили через 4 недели культивирования.

Результаты исследований

Целью данной работы является определение оптимальной концентрации цитокинина 6-бензиламинопурина для каждого из размножаемых сортов земляники садовой отечественной и зарубежной селекции.

Наиболее объективным подходом к определению оптимальной концентрации 6-БАП в питательной среде является изучение его влияния на коэффициент размножения сортов земляники в широком диапазоне концентраций. Каждый из четырех сортов изучался на протяжении 4-х пассажей при концентрации цитокинина в питательной среде 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 мг/л (таблица 1).

У сорта Альфа наибольшее значение коэффициента размножения 7,1 отмечено на питательной среде, содержащей 0,4 мг/л БАП (таблица 1, рисунок 1). При увеличении концентрации до 1 мг/л количество дополнительно образовавшихся растений уменьшалось до 3,1. Сорт Соловушка наибольшую пролиферативную активность проявлял также при концентрации БАП 0,4 мг/л. Коэффициент размножения составил 5,4 (рисунок 1).

Таблица 1 – Влияние концентрации 6-БАП на коэффициент размножения земляники садовой

Сорт	№ пассажа	Концентрация 6-БАП мг/л.				
		0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Альфа	1	5,8±0,7	7,6±0,9	2,7±0,3	2,6±0,2	3,2±0,3
	2	6,2±0,8	3,9±0,4	7,0±0,8	3,2±0,4	3,0±0,3
	3	5,6±0,8	6,5±0,9	4,0±0,5	5,0±0,6	3,6±0,3
	4	6,6±1,0	10,5±1,5	5,5±0,7	3,5±0,5	2,5±0,3
Среднее значение		6,1±0,8	7,1±0,9	4,8±0,6	3,6±0,4	3,1±0,3
Соловушка	1	3,7±0,4	6,3±0,8	7,7±1,0	2,5±0,4	3,9±0,6
	2	6,9±0,7	5,8±0,6	2,7±2,7	2,9±0,3	5,1±0,4
	3	3,9±0,5	5,1±0,7	3,4±0,3	4,2±0,4	3,9±0,5
	4	3,7±0,5	4,2±0,4	6,0±0,9	3,0±0,4	4,0±0,4
Среднее значение		4,6±0,5	5,4±0,6	5,0±0,6	3,2±0,4	4,2±0,5
Царица	1	2,7±0,5	2,4±0,4	3,1±0,5	2,7±0,5	3,2±0,4
	2	2,5±0,3	2,2±0,4	1,6±0,2	2,5±0,3	1,2±0,1
	3	3,2±0,4	2,8±0,4	2,8±0,4	4,4±0,6	3,0±0,3
	4	2,1±0,3	2,7±0,3	3,6±0,4	3,1±0,4	2,8±0,3
Среднее значение		2,6±0,4	2,5±0,4	2,8±0,4	3,2±0,5	2,6±0,3
Флоренс	1	2,3±0,8	1,8±0,2	2,6±0,4	2,3±0,2	1,6±0,1
	2	1,9±0,3	1,7±0,2	1,6±0,2	1,6±0,2	1,4±0,2
	3	2,4±0,4	2,6±0,4	1,9±0,2	4,5±0,6	3,7±0,4
	4	4,4±0,5	3,8±0,6	2,8±0,3	3,3±0,4	2,8±0,3
Среднее значение		2,8±0,5	2,5±0,4	2,2±0,3	2,9±0,4	2,4±0,3



а



б

Рисунок 1 – Размножение земляники садовой сортов Альфа (а) и Соловушка (б) в присутствии 0,4мг/л 6-БАП

Для размножения сортов земляники Царица и Флоренс оптимальной является питательная среда, содержащая 0,8 мг/л БАП. Коэффициент пролиферации составил соответственно 3,2 и 2,9 (рисунок 2).



а



б

Рисунок 2 – Размножение земляники садовой сортов Флоренс (а) и Царица (б) в присутствии 0,8мг/л 6-БАП

Наибольшее количество растений земляники высотой более 5мм наблюдалось у сорта Царица при всех используемых концентрациях БАП (от 25 до 34 % всех эксплантов) (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние концентраций БАП на эффективность размножения растений земляники садовой

Сорт	Концентрация БАП, мг/л	Коэффициент размножения	Высота растений, мм	Доля растений выше 5 мм, %
Альфа	0,2	6,1±0,8	8,6±0,9	5
	0,4	7,1±0,9	12,4±3,2	2
	0,6	4,8±0,6	10,6±1,7	4
	0,8	3,6±0,4	8,2±0,4	12
	1,0	3,1±0,3	13,2±0,8	4
Соловушка	0,2	4,6±0,5	8,2±0,5	27
	0,4	5,4±0,6	8,7±0,6	13
	0,6	5,0±0,6	8,1±0,8	4
	0,8	3,2±0,4	7,8±0,7	10
	1,0	4,2±0,5	8,8±0,6	15
Царица	0,2	2,6±0,4	9,8±0,7	34
	0,4	2,5±0,4	8,9±0,7	28
	0,6	2,8±0,4	8,4±0,6	27
	0,8	3,2±0,5	9,0±0,6	25
	1,0	2,6±0,3	10,1±0,6	25
Флоренс	0,2	2,3±0,5	10,9±0,8	36
	0,4	2,5±0,4	9,5±1,0	16
	0,6	2,2±0,3	7,3±0,7	17
	0,8	2,9±0,4	7,9±0,7	16
	1,0	2,4±0,3	9,5±1,1	8

Считаем, что это связано с низким коэффициентом размножения данного сорта. Средняя высота растений колебалась в пределах от 8,4 до 10,1 мм. У сорта Альфа больше всего подросших растений было при введении в питательную среду 0,8 мг/л БАП – 12%. Средняя высота растений при различных концентрациях цитокинина составила от 8,2 до 13,2 мм. У сорта Соловушка максимальная доля сформированных растений составила 27% при содержании БАП 0,2 мг/л и средней высоте 8,2 мм. Сорт Флоренс лучший рост микрорастений в высоту показал на среде с БАП 0,2 мг/л – 10,9 мм, доля подросших растений составила 36 %. У большинства растений сорта Флоренс отмечено спонтанное образование корней.

Заключение

Таким образом, в результате эксперимента показано, что для массового размножения земляники в культуре *in vitro* необходимо учитывать особенности каждого сорта. Тщательный подбор и выявление оптимальных концентраций цитокинина позволяют повысить эффективность метода клонального микроразмножения.

Для испытанных сортов определены оптимальные концентрации БАП. Для получения высокого коэффициента размножения у сортов Альфа и Соловушка необходимо добавлять в питательную среду БАП в концентрации 0,4 мг/л. У сортов Царица и Флоренс высокий коэффициент пролиферации отмечен при содержании БАП 0,8 мг/л.

Литература

1. Атрощенко Г.П., Костицын В.В., Неделюев А.Л. Рекомендации по производству оздоровленного посадочного материала земляники. СПб, 2001. 14с.

2. Высоцкий В.А. Биотехнологические приемы в современном садоводстве // Плодоводство и ягодоводство России. 2011. Т.26. С.3-10.
3. Джигаadlo Е.Н., Джигаadlo М.И., Голышкина Л.В. Методические рекомендации по использованию биотехнологических методов в работе с плодовыми, ягодными и декоративными культурами. Орел: ВНИИСПК, 2005. 49с.
4. Муратова С.А., Янковская М.Б., Соловых Н.В., Шорников Д.Г., Будаговский А.В., Папихин Р.В. Оптимизация методов клонального микроразмножения садовых культур // Плодоводство и ягодоводство России. 2011. Т.26. С.375-382.
5. Семенас С.Э., Кухарчик Н.В. Методика клонального микроразмножения сортов земляники // Плодоводство. 2000. Т.13. С.138-145.
6. Сельскохозяйственная биотехнология / под ред. В.С. Шевелухи. М.: Высшая школа, 1998. 413с.

References

1. Atroshchenko G.P., Kostitsyn V.V., Nedelyuev A.L. (2001): Recommendations for production of healthy planting material of strawberry. Saint-Petersburg State Agrarian University, Saint-Petersburg. (In Russian).
2. Vysotskiy V.A. (2011): Biotechnological methods in up-to-date gardening. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*, **26**: 3-10. (In Russian).
3. Dzhigadlo E.N., Dzhigadlo M.I., Golyshkina L.V. (2005): Methodical recommendations for using biotechnological methods in work with fruit, berry and ornamental crops. VNIISPK, Orel. (In Russian).
4. Muratova S.A., Yankovskaya M.B., Solovykh N.V., Shornikov D.G., Budagovskii A.V., Papikhin R.V. (2011): The optimization of methods of clonal micropropagation of orchard crops. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*, **26**: 375-382. (In Russian).
5. Semenas S.E., Kukharchik N.V. (2000): The optimization of methods of clonal micropropagation of orchard crops. *Fruit-growing*, **13**: 138-145. (In Russian).
6. Shevelukha V.S. (Ed.) (2003): Agricultural biotechnology: Teaching aid. Vysshaya shkola, Moscow. (In Russian).