

УДК 634.75: 581.1

DOI 10.30679/2587-9847-2023-37-95-99

РЕЗУЛЬТАТЫ АПРОБАЦИИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ В ПРОМЫШЛЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА БЕЗВИРУСНОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ЗЕМЛЯНИКИ МЕТОДОМ *IN VITRO****Айсанов Т.С., канд. с.-х. наук***Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет» (Ставрополь)*

Реферат. В статье представлена информация по апробации модифицированных питательных сред, применяемых в технологии микроклонального размножения сортов земляники на этапах мультипликации и ризогенеза в сравнении с традиционной питательной средой по прописи Мурашига и Скуга (MS). Согласно результатам исследований, проведенных в лаборатории сельскохозяйственной биотехнологии Ставропольского государственного аграрного университета, применение модифицированной питательной среды на этапе мультипликации способствовало увеличению коэффициента мультипликации микрочеренков относительно аналогичных результатов контрольной среды по опыту на 0,4-2,5 ед. Исследования, проведенные на этапе ризогенеза показали аналогичную картину. У всех рассматриваемых сортов земляники на модифицированной питательной среде отмечалось более интенсивное корнеобразование, что обусловило значительное преимущество результатов модифицированной питательной среды относительно контроля на 28-е сутки ризогенеза в 15,0-18,7 %. Таким образом, можно констатировать, что замена неорганических солей микроэлементов, входящих в состав питательной среды на комплексоны микроэлементов с карбоксилсодержащим лигандом – EDTA, способствовала лучшему развитию опытных растений, увеличению выхода и качества, производимого безвирусного посадочного материала изучаемых промышленных сортов земляники.

Ключевые слова: клональное микроразмножение, *in vitro*, земляника садовая, питательная среда, коэффициент мультипликации, ризогенез

Summary. The article presents information on the testing of modified nutrient media used in the technology of micropropagation of strawberry varieties at the stages of multiplication and rhizogenesis in comparison with the traditional nutrient medium according to Murashiga and Skoog (MS). According to the results of studies conducted in the laboratory of agricultural biotechnology of the Stavropol State Agrarian University, the use of a modified nutrient medium at the stage of multiplication contributed to an increase in the multiplication coefficient of microcuttings relative to similar results of the control medium in the experiment by 0.4-2.5 units. Studies conducted at the stage of rhizogenesis showed a similar picture. In all considered strawberry varieties on the modified nutrient medium, more intensive root formation was noted, which led to a significant advantage of the results of the modified nutrient medium relative to the control on the 28th day of rhizogenesis by 15.0-18.7 %. Thus, it can be stated that the replacement of inorganic salts of microelements that are part of the nutrient medium with complexonates of microelements with a carboxyl-containing ligand – EDTA, contributed to a better development of experimental plants, an increase in the yield and quality of produced virus-free planting material of the studied industrial strawberry varieties.

Key words: clonal micropropagation, *in vitro*, garden strawberry, nutrient medium, multiplication factor, rhizogenesis

Введение. Согласно статистическим данным Министерства сельского хозяйства России, наиболее распространенной ягодной культурой в нашей стране является земляника садовая. Такое положение вещей обусловлено высокой пищевой и диетической ценностью ягод данной культуры, высокими вкусовыми и технологическими параметрами.

* Исследования выполнены в рамках программы поддержки развития научных коллективов Ставропольского государственного аграрного университета, реализуемой при финансовой поддержке Программы стратегического академического лидерства «Приоритет - 2030».

Приведенные факты обуславливают высокий спрос населения нашей страны на данную ягодную культуру. Однако, учитывая, что земляника является достаточно теплолюбивой культурой, ареал ее распространения и возможность возделывания на промышленной основе сильно ограничены [1].

До недавних пор, большая часть урожая данной культуры, в нашей стране являлась импортной. Однако, ввиду сложной политико-экономической ситуации последних лет, назрела необходимость расширения площади промышленных насаждений данной культуры в кратчайшие сроки. Одним из способов успешного решения данной задачи является применение методов микрклонального размножения растений [2-3].

Помимо высокого коэффициента размножения и качества саженцев, данный метод позволяет производить безвирусный посадочный материал, что снижает затраты на применение пестицидов в технологии возделывания, а также уменьшает пестицидную нагрузку на агроценозы [4-5].

При этом, необходимо отметить, что применяемые в большинстве биотехнологических лабораторий питательные среды, были созданы в 70-80 годах XX века, что рождает необходимость совершенствования оптимального состава питательной среды, учитывающей не только породный состав размножаемых растений, но и сортовые особенности [6-7].

В связи с этим, целью данной работы являлось проведение апробации модифицированных питательных сред для этапов мультипликации и ризогенеза при размножении промышленных сортов земляники с применением методов *in vitro*.

Объекты и методы исследований: Исследования по представленной тематике проводились в условиях лаборатории сельскохозяйственной биотехнологии, входящей в структуру Научно-производственного центра питомниководства плодовых и ягодных культур, на территории учебно-опытного хозяйства Ставропольского ГАУ в 2023 году.

Объектом исследований являлись сорта земляники садовой Клеры, Эльсанта и Кабрило – являющимися одними из наиболее востребованных на потребительском рынке.

Предметом исследований являлась модифицированная питательная среда, усовершенствованная на основе традиционно применяемой в микрклональном размножении травянистых ягодных культур среды по прописи Мурасига и Скуга (MS).

В качестве контроля в опыте выступала стандартная питательная среда с минеральными солями по прописи Мурасига и Скуга (MS), обогащенная следующими веществами (мг/л): тиамин (B1), пиридоксин (B6), никотиновая кислота (PP) – по 0,5; инозитол – 100, 6-БАП –1; сахароза – 30000, агар-агар – 7000. Согласно схеме опыта, в сравнении со стандартной средой, проводилась апробация в промышленной технологии производства безвирусного посадочного материала земляники разработанной питательной среды №1, которую модифицировали карбоксилсодержащими хелатными комплексами микроэлементов с этилендиаминтетрауксусной кислотой (EDTA).

При введении в культуру *in vitro* отбор вегетативных побегов земляники для получения эксплантов производили из исходных растений, высаженных в пластиковые контейнеры. В качестве эксплантов использовали меристематические верхушки розеток. Стерилизацию растительного материала осуществляли путем обработки 96 %-ным раствором этилового спирта в течение 10-20 секунд, затем 0,01-0,1 %-ным раствором перманганата калия в течение 20 минут. После стерилизации материал трижды, каждый раз на протяжении 5 минут, промывали в трех порциях стерильной дистиллированной воды.

Пробирки с эксплантами инкубировали в культуральной комнате при интенсивности освещенности 2000-2500 Лк, температуре +22...+24 °С и 16-ти часовом световом дне. Ежедневно, на протяжении трех месяцев проводили учеты количества инфицированных, окисленных, стерильных и жизнеспособных, активно регенерирующих растений.

Затем осуществляли три последовательных пассажа на этап мультипликации на опытную питательную среду № 1 и контрольную среду MS, принятой за контроль. В ходе проведения исследований проводили наблюдения за развитием опытных вариантов и фиксацию коэффициента мультипликации по соответствующим пассажам.

После двух месяцев субкультивирования микрорастения переносили на опытную среду №2 для этапа ризогенеза, которую модифицировали карбоксилсодержащими хелатными комплексами микроэлементов с EDTA, редуцировали наполовину по содержанию минеральным макросолей (½ MS), контролем служила питательная среда MS с минеральными микро- и ½ макросолями (½ MS). В ходе исследований каждые 7 дней проводили учеты интенсивности закладки пазушных почек у микрорастений, а конце периода наблюдений определяли длину прироста вегетативных частей микрорастений. При изучении питательной среды для укоренения проводили оценку их влияния на укореняемость микрочеренков, учеты количества сформировавшихся корней и их среднюю длину согласно ГОСТ 54051-2010 [8].

Повторность опытов на каждом этапе трехкратная по 50 растений-регенерантов в повторности. Статистическую обработку результатов проводили по методическим указаниям под общей редакцией Б. А. Доспехова [9]. Математическая обработка полученных результатов проводилась компьютерной программой Microsoft Office Excel 2007, а также программы STATISTICA_10.0.1011.

Обсуждение результатов. На основании проведенных наблюдений и учетов рассматриваемых параметров, были получены следующие основные результаты. Применение модифицированной питательной среды на этапе мультипликации оказывало положительное влияние на интенсивность образования точек ветвления микрочеренков всех изучаемых сортов земляники (рис.).

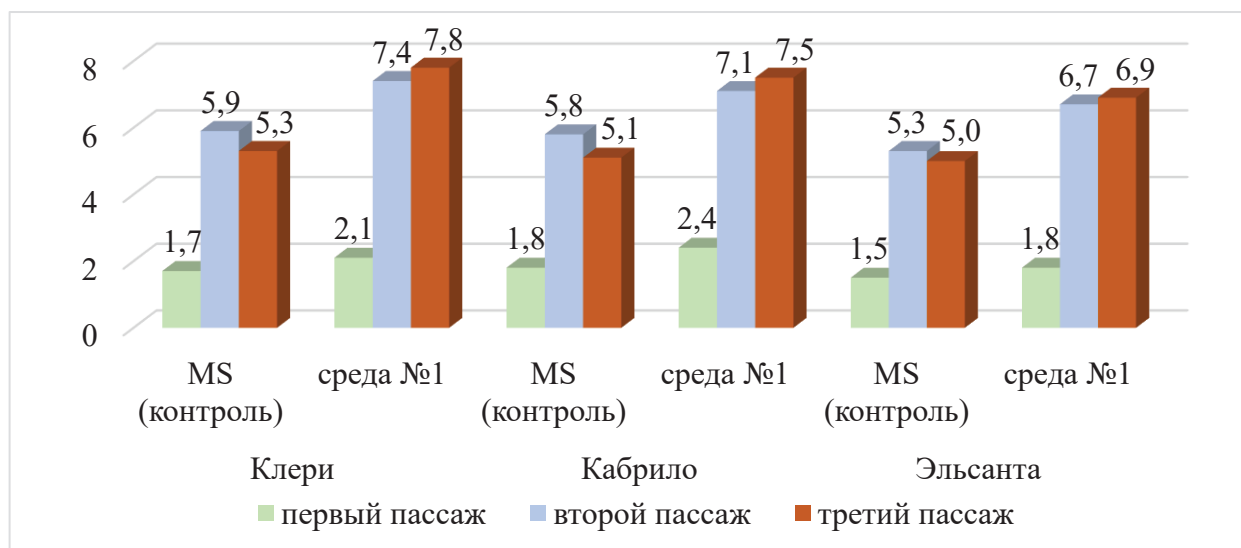


Рис. Интенсивность образования точек ветвления сортов земляники на этапе мультипликации при размножении методом *in vitro*, ед.

Математическая обработка полученных результатов указывает на то, что в первом пассаже у сортов Клери и Кабрило размножение с применением опытной питательной среды №1 способствовало достоверному повышению коэффициента мультипликации относительно аналогичных показателей контрольной питательной среды на 0,4-0,6 ед. При размножении сорта Эльсанта в первом пассаже математически обоснованной разницы между сравниваемыми вариантами выявлено не было.

Анализ данных по второму пассажиру показал несколько иную картину. При размножении всех рассматриваемых сортов земляники применение опытной питательной среды №1 способствовало существенному увеличению интенсивности образования точек ветвления и коэффициент мультипликации на опытном варианте был достоверно выше, чем на аналогичных вариантах на традиционной питательной среде по опыту на 1,3-1,5 ед.

Данная закономерность сохранилась и на третьем пассаже. Результативность процесса размножения микрочеренков на питательной среде №1 была достоверно выше, чем на контрольной среде в среднем по рассматриваемым сортам земляники на 1,9-2,5 ед.

Наряду с ролью питательной среды на этапе мультипликации, большое значение имеет химический состав питательной среды на этапе ризогенеза микрочеренков размножаемых культур.

Согласно проведенным наблюдениям и учетам, в течение первой недели субкультивирования вне зависимости от сортовых особенностей и состава питательной среды процесс ризогенеза не был зафиксирован. В ходе второй недели субкультивирования начался процесс корнеобразования. Учеты, проведенные на 14-е сутки, показали, что у всех изучаемых вариантов укореняемость микрочеренков находилась на уровне 6,3 % (табл.).

Таблица – Укореняемость микрочеренков сортов земляники на этапе ризогенеза в зависимости от состава питательной среды

Сорт, (фактор а)	Вариант опытной питательной среды, (фактор b)	Укореняемость, %			Среднее число корней (28 сутки), шт.
		14 сутки	21 сутки	28 сутки	
Клери	½ MS (контроль)	6,3	16,8	67,4	4,2
	среда № 2	6,3	24,3	82,4	5,5
Кабрило	½ MS (контроль)	6,3	18,4	58,8	4,0
	среда № 2	6,3	28,2	77,5	5,2
Эльсанта	½ MS (контроль)	6,3	12,2	52,2	3,6
	среда № 2	6,3	19,5	68,7	4,1
НСР ₀₅ a		0,4	1,2	3,4	0,3
НСР ₀₅ b		0,4	1,6	3,5	0,3
НСР ₀₅ ab		0,8	2,9	6,8	0,5

К моменту проведения учетов на 21-е сутки, у рассматриваемых сортов земляники интенсивность развития корней значительно варьировала. У сорта Клери укореняемость микрочеренков возросла на 10,5-18,0 %, у сорта Кабрило – на 12,1-21,9 %, а у сорта Эльсанта – на 5,9-13,2 %. Данная тенденция сохранилась в ходе наблюдений и на момент проведения заключительных учетов – на 28-е сутки.

Учеты, проведенные на 21-е и 28-е сутки, показали общую закономерность – вне зависимости от сортовых особенностей растений земляники, применение опытной питательной среды №2 на этапе ризогенеза способствовало более интенсивному развитию корней у микрорастений, и преимущество данного варианта относительно аналогичных показателей на контрольной питательной среде ½ MS составляло по опыту 7,3-9,8 и 15,0-18,7 % соответственно датам учетов.

В ходе проведения наблюдений, было установлено, что у всех рассматриваемых сортов земляники на 28-е сутки наибольшее среднее число корней отмечалось при размножении на модифицированной питательной среде. Преимущество среды №2 относительно аналогичных результатов контроля по опыту составило 0,5-1,3 шт. Согласно проведенным учетам, максимальное среднее количество корней в опыте отмечалось у сорта Клери, составив 5,5 штук на микрорастение.

Выводы. Модификация состава питательной среды как для этапа мультипликации, так и для этапа ризогенеза имеет большое практическое значение. Согласно анализу полученных данных, модификация состава питательных сред, применяемых в технологии производства безвирусного посадочного материала земляники методом *in vitro*, за счет замены минеральных солей микроэлементов на хелатные формы с EDTA трейсовых элементов способствовала повышению физиологической активности микрорастений, повышало интенсивность их размножения и получению более качественного посадочного материала. На этапе мультипликации размножение изучаемых промышленных сортов земляники с применением разработанной модифицированной питательной среды №1, на трех пассажах показывало преимущество в коэффициенте мультипликации по опыту на 0,3-2,5 ед.

Оценка эффективности опытной питательной среды №2, применяемой на этапе ризогенеза показала аналогичную тенденцию. Согласно данным учетов, проведенных на 28-е сутки к концу этапа укоренения, применение модифицированной питательной среды обеспечивало преимущество в интенсивности укоренения микрочеренков относительно показателей контрольной среды по опыту на 15,0-18,7 %. В конечном итоге, можно сделать вывод, что применение модифицированной питательной среды на этапе ризогенеза способствовало более интенсивному корнеобразованию у микрорастений, преимущество опытного варианта относительно контроля составило по опыту 0,5-1,3 шт.

Литература

1. Высоцкий В.А. Биотехнологические методы в современном садоводстве // Плодоводство и ягодоводство России. 2011. Том XXVI. С. 3-10.
2. Яковенко В.В., Лапшин В.И. Перспективные сорта земляники для промышленного выращивания на Юге России // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2020. № 157. С. 231-241.
3. Микроразмножение земляники садовой / О.В. Мацнева и др. // Селекция и сорторазведение садовых культур. 2017. Т. 4. № 1-2. С. 93-96.
4. Айсанов Т.С., Мазницына Л.В., Величко В.Ю. Влияние концентрации регулятора роста на развитие черенков винограда при размножении методом *in vitro* // Эволюция и деградация почвенного покрова. Сборник научных статей по материалам VI Международной научной конференции. Ставрополь, 2022. С. 261-263.
5. Повышение эффективности технологии оздоровления и первичного размножения земляники садовой в культуре *in vitro* / И.М. Баматов и др. // Известия Горского государственного аграрного университета. 2020. Т. 57. №4. С. 183-191.
6. Изучение эффективности новых питательных сред для производства растений земляники *in vitro* / А.Н. Есаулко и др. // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2022. № 5. С. 21-34.
7. Семенов С.Э., Кухарчик Н.В. Методика клонального микроразмножения сортов // Плодоводство: сборник научных трудов Белорусского НИИП. Том XIII. Самохваловичи, 2000. С. 138-145.
8. ГОСТ Р 54051-2010 «Плодовые и ягодные культуры. Стерильные культуры и адаптированные микрорастения. Технические условия». Москва: Стандартинформ, 2020. 15 с.
9. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта: (с основами статистической обработки результатов исследований): учебник для студентов высших сельскохозяйственных учебных заведений по агрономическим специальностям. Изд. 6-е, стер., перепеч. с 5-го изд. 1985 г. Москва: Альянс, 2011. 350 с.