ФГБНУ "ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ОВОЩЕВОДСТВА"

На правах рукописи

ЛИННИК
ТАТЬЯНА АЛЕКСАНДРОВНА

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СПОСОБОВ РАЗМНОЖЕНИЯ СОРТОВ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ (*Fragaria x ananassa* Duch.), ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХСЯ НИЗКОЙ УСООБРАЗУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТЬЮ

06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор А.В. Поляков

Москва – 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ 4
ВВЕДЕНИЕ 5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 13
1.1. Ботанико-биологическая характеристика земляники садовой 13
1.2. Народнохозяйственное значение культуры земляники садовой 15
1.3. Особенности ремонтантных сортов земляники садовой 17
1.4. Способы размножения земляники садовой 21
1.4.1. Размножение семенами 21
1.4.2. Размножение дочерними розетками 22
1.4.3. Размножение делением куста 22
1.5. Воздействие регуляторов роста на растения земляники садовой 23
1.6. Выращивание ремонтантных сортов земляники садовой в защищенном грунте 27
1.7. Особенности клонального *in vitro* размножения земляники садовой .. 29
1.7.1. Сомаклональная изменчивость 36
1.8. Болезни и вредители земляники садовой 39
ГЛАВА 2. ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ, МАТЕРИАЛ, МЕТОДИКА И УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ 46
2.1. Цель и задачи исследований 46
2.2. Условия проведения исследований 46
2.2.1. Почвенные и агрохимические условия проведения исследований 46
2.2.2. Погодные условия вегетационных периодов 48
2.3. Материал и методика проведения исследований 51
2.3.1. Исходный материал 51
2.3.2. Методика лабораторных опытов 52
2.3.3. Методика полевых опытов 56
2.3.4. Оценка материала и обработка экспериментальных данных 58
2.4. Схема исследований 64
3. УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРИЕМОВ ТРАДИЦИОННОГО СПОСОБА РАЗМНОЖЕНИЯ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ 68
3.1. Характеристика сортов земляники садовой в условиях открытого и защищенного грунта 68

3.2. Влияние регуляторов роста на усообразующую способность и продуктивность растений земляники садовой 76
4. ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ КЛОНАЛЬНОГО *IN VITRO* РАЗМНОЖЕНИЯ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ 80
4.1. Культивирование *in vitro* апекса уса и фрагмента листа 80
4.1.1. Морфогенез эксплантов..... 81
4.1.2. Индукция образования побегов..... 82
4.1.3. Укоренение побегов и получение растений-регенерантов..... 84
4.1.4. Адаптация растений-регенерантов к обычным условиям среды... 85
4.2. Культивирование *in vitro* лепестка 90
4.2.1. Индукция морфогенеза и каллусогенеза лепестков 90
4.2.2. Морфогенез лепестков и пролиферация побегов 94
4.2.3. Получение растений-регенерантов и их адаптация к обычным условиям среды..... 96
5. ОЦЕНКА РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ R_0 ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ .. 99
5.1. Характеристика растений-регенерантов R_0 по усообразующей способности 100
5.2. Характеристика растений-регенерантов R_0 по продуктивности и урожайности..... 103
5.3. Характеристика растений-регенерантов R_0 по биохимическим показателям ягод 105
5.4. Характеристика растений-регенерантов R_0 по устойчивости к болезням 108
6. ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДСТВА ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ..... 111
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 114
ВЫВОДЫ 116
ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИОННОЙ ПРАКТИКЕ И ПИТОМНИКОВОДСТВЕ 118
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ 120
ПРИЛОЖЕНИЯ..... 138

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

Сокращенное название	Полное название
ФГБНУ ВНИИО	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт овощеводства"
ВНИИР	Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства имени Н.И. Вавилова
ВНИИСПК	Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур
F. x ananassa	*Fragaria x ananassa* Duch.
БА	6-бензиладенин
ИМК	индолилмасляная кислота
НУК	α-нафтил-уксусная кислота
MS	питательная среда Мурасиге-Скуга (Murashige T., Skoog F., 1962)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Земляника садовая (*Fragaria x ananassa* Duch.) – одна из наиболее популярных и широко распространенных ягодных культур в мире. На ее долю приходится свыше 70% общемирового производства ягод. Валовое производство земляники в мире постоянно растет и в настоящее время составляет более 4 млн. тонн ягод в год (Куликов И.М., Метлицкий О.З., 2006; Айтжанова С.Д., 2009; Куликов И.М., 2009).

Широкое распространение земляники садовой связано с рядом ее бесспорных преимуществ в сравнении с другими ягодными и плодовыми культурами. Ценность земляники обусловливается ее скороплодностью, высокими вкусовыми качествами, привлекательным видом и красивой окраской, а также богатым биохимическим составом, питательностью и лечебными свойствами. Земляника очень пластичная культура. При высоком уровне агротехники ее можно успешно выращивать в различных природно-климатических условиях, а в защищенном грунте появляется возможность внесезонного получения товарного урожая (Самойленко Н.А., 2003; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2004; Александрова Г.Д., 2005).

В настоящее время набирают популярность ремонтантные сорта земляники садовой. Их выращивание является высокорентабельным и перспективным как для крупных хозяйств с четко налаженной технологией, так и для небольших фермерских хозяйств (Волкова Т.И., 2000; Хапова С.А., 2003).

Длительный период плодоношения (с июня до наступления заморозков), крупный размер ягод, их привлекательная форма и окраска в сочетании с отличным вкусом, высокой декоративностью (многочисленные крупные белые или розовые цветки), способностью формировать небольшое количества усов, что очень удобно при уходе за насаждениями – все эти преимущества объясняют несомненную популярность и востребованность ремонтантных сортов земляники садовой, таких как Флорина, Эви 2, Эвис Делайт, Тарпан и др.

Традиционным способом размножения земляники садовой является размножение дочерними розетками (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003). Однако,

для многих ремонтантных сортов характерна низкая усообразующая способность, за сезон они способны сформировать совсем небольшое количество усов и дочерних розеток, недостаточное для получения необходимого объема рассады. В связи с этим встает вопрос о способе размножения этих сортов для ускоренного и массового получения высококачественного посадочного материала в нужные сроки.

В настоящее время установлено большое значение физиологически активных веществ – регуляторов роста и развития растений в практике сельского хозяйства (Ефименко В.В., 2006). Большой интерес исследователей привлекает изучение эффективности воздействия регуляторов роста, однако действие многих регуляторов роста на перспективные сорта-новинки земляники садовой, которые сравнительно недавно появились на международном рынке, остается мало изученным. Исследование эффективности влияния регуляторов роста нового поколения на интенсивность усообразования, а также на продуктивность ремонтантных сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью, представляет интерес для оптимизации размножения и продвижения новых сортов.

Многие сорта земляники современного производства поражаются целым рядом различных заболеваний. При размножении традиционным способом от материнского растения рассаде передается множество грибковых заболеваний и вирусов (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003; Айтжанова С.Д., 2009; Казаков И.В., 2009).

В преодолении этих трудностей чрезвычайное значение приобретает использование метода клонального микроразмножения *in vitro*, позволяющего не только получить оздоровленные от фитопатогенов, вирусов и других инфекций растения, но и значительно ускорить процесс размножения, что представляет особую ценность для сортов земляники садовой, плохо размножаемых вегетативно из-за низкой усообразующей способности. Кроме того, проведение работ в лабораторных условиях возможно круглый год, что позволяет всегда иметь под рукой исходный материал (Шевелуха В.С., 2003; Говорова Г.Ф.,

Говоров Д.Н., 2004; Поляков А.В., 2005). Разработка эффективной и воспроизводимой системы ускоренной регенерации в условиях *in vitro* является необходимой для клонального микроразмножения ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью.

Оптимизация методов размножения и разработка технологии массового получения качественного посадочного материала ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью представляет несомненный интерес и является востребованной и актуальной.

Целью исследований являлось усовершенствование способов размножения земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.) для массового получения высококачественного посадочного материала сортов, характеризующихся низкой усообразующей способностью.

Объект исследований – уточнение технологии массового получения высококачественного посадочного материала сортов земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.), характеризующихся низкой усообразующей способностью.

Предмет исследований – апексы усов, фрагменты листа, лепестки, морфогенные ткани, растения земляники садовой.

Научная новизна работы. Показано, что в условиях защищенного грунта благодаря продлению периода вегетации у ремонтантных сортов с низкой усообразующей способностью на 40-47 суток раньше выдвижение усов и на 27-33 суток раньше начинается цветение и плодоношение, чем в открытом грунте. Благодаря более интенсивному росту в условиях защищенного грунта у растений ремонтантных сортов формируется в 4,3-6,4 раза больше дочерних розеток, в 1,3-2,3 раза повышается продуктивность и урожайность по сравнению с растениями, выращенными в открытом грунте.

Установлено, что применение препарата Циркон в концентрации 30 мкл/л в 1,5-2,3 раза на растениях ремонтантных сортов земляники садовой усиливает интенсивность формирования усов и дочерних розеток, повышает среднюю массу ягод на 11-29%, продуктивность и урожайность в 1,3-2,4 раза в зависимости от сорта.

Проведена сравнительная характеристика регенерационной активности *in vitro* различных типов эксплантов новых ремонтантных сортов земляники садовой Тарпан, Эвис Делайт и Флорина. Установлено, что *in vitro* культивирование апексов усов на среде MS с добавлением 0,5 мг/л БА эффективно для размножения ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью и позволяет получать от 77 до 87% жизнеспособных эксплантов в зависимости от сорта, формирующих 1,6-3,0 побега на один эксплант и 2,1-4,3 побега на этапе культивирования морфогенных конгломератов. Полученные растения-регенеранты изучены в полевых условиях и детально описаны по основным морфологическим, хозяйствнно-ценным, биохимическим признакам и усточивости к поражению серой гнилью, белой и бурой пятнистостями. Экспериментальные данные о получении регенерантов в культуре лепестка *in vitro* земляники садовой в России получены впервые.

Теоретическая и практическая значимость. Разработана методика, позволяющая массово получать качественный посадочный материал новых высокоурожайных ремонтантных сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью (Тарпан, Эви 2, Эвис Делайт, Флорина). Оптимизированы приемы традиционного способа размножения путем применения регуляторов роста Циркон, Энергия-М. Показано, что использование препарата Циркон в концентрации 30 мкл/л позволяет получить до 10 дочерних розеток в год с одного растения. Показано, что при выращивании маточных растений земляники садовой в условиях обогреваемой пленочной теплицы увеличивается выход дочерних розеток, который составляет до 21 шт. в год с одного растения. Применение технологии клонального *in vitro* размножения из апексов усов ремонтантных сортов земляники садовой Тарпан, Эвис Делайт и Флорина, характеризующихся низкой усообразующей способностью, позволяет за год культивирования получать до 313,5 тыс. оздоровленных растений-регенерантов от одного экспланта. Растения-регенеранты обладают всеми ценными сортовыми признаками, в 1,5-2,5 раза меньше поражаются серой гнилью (*Botrytis cinerea* Pers.), белой (*Ramularia Tulasnei* Sacc.) и бурой пятнистостью

(*Marssonina potentillae* Desm.). Получены экспериментальные данные о регенерационной активности *in vitro* лепестка земляники садовой, которые могут быть использованы в дальнейших исследованиях. Выделен сорт Эвис Делайт, обладающий наибольшей регенерационной активностью и коэффициентом размножения.

Обоснование и достоверность научных положений. Исследования выполнены по методикам, рекомендованным научными учреждениями страны. Все выводы и предложения подтверждены экспериментальными исследованиями, статистической обработкой полученных данных.

Апробация работы. Основные результаты экспериментальной работы по диссертации, выводы и предложения были доложены и представлены на Международной научно-практической конференции «Селекция на адаптивность и создание нового генофонда в современном овощеводстве» (VI Квасниковские чтения) (Москва, 8 августа 2013 г.); Международной научно-практической конференции «Инновационные технологии производства, хранения и переработки продукции растениеводства» (Рязань, 30-31 января 2014 г.), а также на заседаниях методической комиссии по селекции, семеноводству и биотехнологии ФГБНУ ВНИИО (2012-2014 гг.).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- выращивание растений ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью в условиях обогреваемой пленочной теплицы продлевает период вегетации и позволяет повысить выход дочерних розеток;
- обработка растений ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью регуляторами роста позволяет увеличить выход дочерних розеток и повысить продуктивность и урожайность;
- для *in vitro* размножения ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью наиболее эффективно культивирование апексов усов;
- фрагменты листа и лепестки ремонтантных сортов земляники садовой обладают меньшей регенерационной активностью *in vitro,* чем апексы усов;

- полученные *in vitro* растения-регенеранты формируют больше дочерних розеток, обладают высокими показателями хозяйственно-ценных признаков, меньше поражаются серой гнилью, белой и бурой пятнистостями.

Публикации результатов исследований. По материалам исследований по теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе три статьи в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ, одно методическое руководство.

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

- Линник, Т.А. Регенерационная активность различных типов эксплантов земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch.) *in vitro* / Т.А. Линник, А.В. Поляков // Известия Горского государственного аграрного университета. – Владикавказ, 2013. – Т. 50. – №2. – С. 15-18.
- Линник, Т.А. Повышение эффективности размножения сортов земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch.), характеризующихся низкой усообразующей способностью / А.В. Поляков, Т.А. Линник, Л.А. Таланова // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета имени П.А. Костычева. Научно-производств. журнал. – 2013. – №3 (19). – С. 42-46.
- Линник, Т.А. Производство оздоровленного посадочного материала сортов земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.) с низкой усообразующей способностью методом клонального микроразмножения *in vitro* / Поляков А.В., Линник Т.А. // Вестник Московского государственного областного университета, научный журнал. Серия «Естественные науки». – 2014. – №3. – М. : ИИУ МГОУ. – С. 35-42.

Статьи в прочих изданиях

- Линник, Т.А. Влияние регуляторов роста на продуктивность и размножение растений земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch.) *in vivo* / Т.А. Линник, А.В. Поляков, Л.А. Таланова // Научные достижения – в сельскохозяйственную практику: межвузовский сборник научных трудов. –

Калининград: Изд-во ФГБОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет», 2012. – С. 70-73.

- Линник, Т.А. Регенерация растений земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch.) из лепестка и листа / А.В. Поляков, Т.А. Линник // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: сб. науч. трудов. Выпуск 20. – М. : РАЕН, 2012. – С. 43-46.
- Линник, Т.А. Продуктивность новых ремонтантных сортов земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch.) со слабой усообразующей способностью в условиях защищенного грунта Московской области / Т.А. Линник, А.В. Поляков // Селекция на адаптивность и создание нового генофонда в современном овощеводстве (VI Квасниковские чтения). Международная научно-практическая конференция (8 августа 2013 г.). Материалы докладов, сообщений / ВНИИО – М. : Изд-во ООО «Полиграф-Бизнес», 2013. – С. 206-210.
- Линник, Т.А. Устойчивость к фитопатогенам растений-регенерантов земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.), полученных *in vitro* / Т.А. Линник, А.В. Поляков // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: сб. науч. трудов. Выпуск 21. – М. : РАЕН, 2013. – С. 62-64.
- Линник, Т.А. Повышение коэффициента размножения сортов земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch.) с низкой усообразующей способностью при использовании регуляторов роста / Т.А. Линник // Инновационные технологии производства, хранения и переработки продукции растениеводства: материалы юбилейной Междунар. науч. практ. конф. (Рязань, 30-31 янв. 2014) / под ред. Д.В. Виноградова. – Рязань : ФГБОУ ВПО РГАТУ, 2014. – С. 185-188.
- Линник, Т.А. Основные биохимические показатели ягод растений-регенерантов земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.) различного происхождения / Т.А. Линник, А.В. Поляков // Экологические проблемы

современного овощеводства и качества овощной продукции: сборник научных трудов, выпуск 1. – М. : ФГБНУ ВНИИО, 2014. – С. 309-313.

- Линник, Т.А. Получение посадочного материала ремонтантных сортов земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.), характеризующихся низкой усообразующей способностью. Методическое руководство / А.В. Поляков, Т.А. Линник. – М. : ГНУ ВНИИО, 2014. – 22 с.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, условий и методов проведения исследований, результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов, предложений для использования в селекционной практике, списка использованной литературы (170 наименований, в том числе 45 работ иностранных авторов, ресурсы Интернет). Работа изложена на 141 странице компьютерного текста, содержит 30 таблиц, 17 рисунков, 4 приложения.

Автор выражает глубокую признательность и благодарность научному руководителю – доктору биологических наук, профессору Полякову Алексею Васильевичу за поддержку и помощь при проведении исследований и выполнении научной работы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Ботанико-биологическая характеристика земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.)

Крупноплодная земляника или земляника садовая (*Fragaria x ananassa* Duch., 2n = 8x = 56) представляет собой межвидовой гибрид между октоплоидными американскими видами *Fragaria chiloensis* (земляника чилийская) и *Fragaria virginiana* (земляника виргинская), возникший спонтанно более 250 лет назад в Европе при совместном выращивании двух видов, благодаря чему вид земляники садовой отличается полиморфизмом признаков (Darrow G.M., 1966; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003).

Земляника садовая относится к классу двудольные, семейству *Rosaceae* (Розоцветные), подсемейству *Rosoideae* (Розовые), роду *Fragaria* (Земляника), виду *Fragaria x ananassa* Duch. (Земляника садовая). Кариотип 2n = 56 (Staudt G., 1962; Болховских З.В. и др., 1969).

Земляника садовая – многолетнее травянистое растение, занимающее промежуточное положение между многолетними травяными и полукустарничковыми формами. Высота растения – до 40 см. Корневая система земляники мочковатая, разветвленная, хорошо развитая. Состоит из многолетнего корневища, придаточных корней рожка и боковых мочковатых корней. Корневище земляники – многолетний видоизмененный стебель, покрытый не опадающими прилистниками – чешуйками. Со второго-третьего года после посадки земляники нижняя часть корневища начинает отмирать. Чем старее корневище, тем меньше его верхушечные приросты и тем слабее корневая система. Надземная часть растения состоит из укороченных побегов-рожков, усоплетей и листьев. Рожки представляют собой укороченные однолетние побеги. Каждый сформировавшийся рожок имеет верхушечную почку, розетку из 3-7 листьев, боковые пазушные почки, у основания прироста – придаточные корни. Из верхушечных и пазушных почек верхних листьев на следующий год формируются цветоносы. Нижние почки чаще остаются вегетативными, из них развиваются усоплети (усы) – однолетние стелющиеся побеги – органы веге-

тативного размножения. Усы появляются у земляники сразу после окончания цветения, но активно начинают развиваться после сбора урожая – с июня и до наступления осенних холодов. На втором междоузлии усов образуются дочерние растения – розетки. К концу лета у основания розеток образуется мочка корней, они укореняются и становятся самостоятельными растениями. Лист сложный, тупо-зубчатый, обычно тройчатый. Цветоносы образуются в апреле-мае и живут до конца плодоношения. Зацветает земляника через 25-30 суток после начала вегетации, цветение всего растения продолжается 15-35 суток, а одного цветка – 4-6 суток. От конца цветения до начала созревания ягод проходит от 18 до 22 суток, а от начала образования бутонов и до полного созревания ягод – от 35 до 42 суток. Количество цветоносов на одном кусте и цветков на одном цветоносе зависит от сорта, возраста растений и агротехники. У большинства сортов на кусте размещается 4-12 цветоносов, имеющих по 4-10 цветков. Цветки земляники белые или розовые в зависимости от сорта, обычно обоеполые. Плоды земляники представляют собой многочисленные семянки размером около 2 мм, вдавленные в мякоть разросшегося цветоложа – ягоды. Масса ягоды колеблется от 5 до 50 г и более, окраска розовая или красная. Ягоды могут завязываться без помощи насекомых, при этом ветер становится переносчиком пыльцы, однако практика показала большое значение насекомых для опыления земляники (Мажоров Е.В., 1984; Глебова Е.И. и др., 1990; Бурмистров А.Д., 1991; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003; Матала В., 2003).

Закладка и дифференциация генеративных почек начинаются в год, предшествующий плодоношению, и заканчиваются осенью того же года или следующей весной (в зависимости от сорта). Процессы успешно протекают в условиях короткого 10-12-часового дня, пониженных температур (не выше 12°С) и влажности почвы 70-80%. Критическая температура для цветков и завязей – -1,5°С (Мажоров Е.В., 1984; Бурмистров А.Д., 1991; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003; Кашин В.И. и др., 2003).

1.2. Народнохозяйственное значение культуры земляники садовой

Длительный отбор в гибридных поколениях *F. x ananassa* привел к появлению современного сортимента крупноплодной земляники, насчитывающего более 5000 сортов. В настоящее время культура земляники садовой является одним из лидеров ягодников по занимаемым площадям в мире. На ее долю приходится свыше 70% общемирового производства ягод, а по доходности и скороплодности она в 2-3 раза превышает другие плодовые и ягодные культуры. Популярность и востребованность этой ягодной культуры в России стимулировали исследования по улучшению качеств новых европейских сортов, а именно зимостойкости, аромата ягод, скороплодности, продуктивности, устойчивости к болезням и др. (Шангин-Березовский Г.Н., 1963; Сухарева Н.Б., 1966; Кантор Т.С., 1983; Резник С.М., 1991; Лаугале В., 1999; Зубов А.А., 2004; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2004).

Валовое производство земляники в мире постоянно растет и в настоящее время составляет более 4 млн. тонн ягод в год. Крупнейшими производителями ягод земляники по данным ФАО являются США (825 тыс. т/год), Испания (305 тыс. т/год), Япония (209 тыс. т/год), Южная Корея (203 тыс. т/год), Польша (197 тыс.т/год), а также Россия, Китай, Италия, Мексика, Турция и Германия. Лидером по производству ягод на душу населения является Испания (7,3 кг/чел). Россия по этому показателю занимает 21 место (1,47 кг/чел.) (Матала В., 2003; С.Д. Айтжанова, 2008; Куликов И.М., 2009).

В настоящее время валовый сбор земляники в России достигает более 230 тыс. тонн. Объём производства ягод земляники ежегодно возрастает в среднем на 3,7%. Под производственными насаждениями земляники занято 35 тыс. га, а средняя урожайность культуры составляет 6,8 т/га. В настоящее время, хотя площади и увеличиваются под земляникой, но они находятся у населения, а доля специализированных хозяйств в валовом сборе ягод составляет всего 9% (Жбанова Е.В., 2003; Козлова И.И., 2008; Куликов И.М., 2009; Куликов И.М., Урусов В.Ф., Медведев С.М., 2009). Промышленная культура земляники садовой сосредоточена, преимущественно, в Нечерноземной, Северо-западной,

Центрально-Черноземной зоне, Поволжье. Крупнейшим районом промышленного возделывания земляники садовой, где под этой культурой занято свыше 90% всей площади ягодников, является Краснодарский край (Зубов А.А., 2004; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2004; Наделюев А.А., 2006).

Широкое распространение земляники садовой связано с рядом ее бесспорных преимуществ в сравнении с другими ягодными и плодовыми культурами. Ценность земляники обусловливается ее скороплодностью, высокими вкусовыми качествами, привлекательным видом и красивой окраской, а также богатым биохимическим составом, питательностью и лечебными свойствами. Ягоды земляники усиливают аппетит, благотворно влияют на пищеварение, особенно полезны при заболеваниях сердца, атеросклерозе, гипертонии, язве желудка, мочекаменной болезни, малокровии, подагре. В 100 г ягод земляники содержится: 50-70 мг витамина С (аскорбиновая кислота), 0,1-0,4 мг витаминов К, B_2, B_9 (фолиевая кислота), 250-500 мг витамина Р (биофлавоноиды), 5 мг азотистых соединений, 0,3-1,6 мг пектиновых веществ. На 100 г ягод земляники приходится калия – 126 мг, фосфора – 85 мг, кальция – 41 мг, натрия – 2,8 мг, магния – 22 мг, железа – 13 мг. Из органических кислот в землянике преобладает яблочная, найдены также (в незначительных количествах) лимонная, хинная, щавелевая, янтарная и салициловая. Сахара в основном представлены глюкозой и фруктозой (8 г на 100 г ягод). Учитывая то, что ягоды земляники низкокалорийны, дает возможность потреблять ее как во время летнего сезона, в свежем виде, так и в замороженном виде, в холодное время года. Помимо колоссальной популярности и пользы самих ягод, цветки и листья земляники также востребованы, они используются в медицине и парфюмерии (Лысанюк В.Г., 1990; Кашин В.И., 2003; Система производства, переработки и доведения до потребителя ягод в Нечерноземной зоне России, 2005; Никиточкина Т. Д., Никиточкин Д. Н., 2007).

Земляника садовая очень пластичная культура. При высоком уровне агротехники ее можно успешно выращивать в различных природно-климатических условиях, а в защищенном грунте появляется возможность внесезонного получения товарного урожая (Самойленко Н.А., 2003).

Высокую урожайность земляники садовой обусловливает ряд факторов: использование высокопродуктивных сортов, здорового высококачественного посадочного материала, оптимальной схемы размещения, соблюдение агротехнических мероприятий, рациональная система удобрений, орошение, а также эффективная защита от вредителей и болезней (Бенне Р., 1978; Кашин В.И., 2003). При правильном соблюдении всех вышеперечисленных условий, культура земляники садовой демонстрирует отличные результаты урожайности, качества ягод и посадочного материала.

1.3. Особенности ремонтантных сортов земляники садовой

Ремонтантность – это способность растений из-за короткого периода покоя к повторному или даже многократному цветению и плодоношению в течение одной вегетации (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003). Свойством ремонтантности обладает ряд видов рода земляники. Очень четко оно выражено у земляники овальной (*F. ovalis*). У земляники чилийской (*F. chiloensis*) и земляники виргинской (*F. virginiana*), которые являются родительскими формами садовой крупноплодной земляники, встречаются экотипы, обладающие свойством ремонтантности (Волкова Т.И., 2000).

Крупноплодная ремонтантная земляника появилась сравнительно недавно – около ста лет назад. Родоначальником многих ремонтантных сортов считают сорт Луи Готье, так как его способность повторно цвести хорошо наследуется (http://chudo-ogorod.ru/krupnoplodnaya-remontantnaya-zemlyanika-i-ee-sorta).

Первыми выведением нейтральнодневных сортов начали заниматься в Калифорнийском университете США (Koron D. et al., 2009). В настоящее время ремонтантная земляника приобретает все большее значение. Во многих странах ведутся работы по созданию новых нейтральнодневных сортов. Следует отметить достижения и вклад в расширение ассортимента ремонтантных сортов селекционеров США, Великобритании, Голландии, Франции, Германии, Канады, России (Dale A. et al., 2002; Khanizadeh S., 2002).

За последние 40 лет выведены очень урожайные сорта с крупными плодами, обладающими прекрасными вкусовыми качествами. Однако доля ремонтантных сортов в Госреестре сортов Российской Федерации остается низкой. Так, в 2010 г. доля ремонтантных сортов составляла 4,8%, а в 2014 г – 11,5%. На современном рынке ремонтантной земляники присутствуют отечественные ремонтантные сорта: Елизавета II, Гирлянда, Любава, Осенняя Забава и др., но все многообразие сортимента обеспечивается преимущественно зарубежной селекцией. Одними из наиболее распространенных иностранных ремонтантных сортов являются Брайтон, Сельва, Альбион, Женева, Трибьют, Тристар (США), Свит Эви, Флорина, Вима Рина, Остара (Нидерланды), Королева Елизавета, Эвис Делайт, Эви 2, Фламенко (Великобритания) и др. (Волкова Т.И., 2000).

В последние годы ремонтантная крупноплодная земляника привлекает все большее внимание как садоводов-любителей, так и производственников. Это объясняется рядом ее особенностей: она вступает в плодоношение раньше обычной садовой земляники, полноценный урожай можно получить уже с однолетних плантаций, а ягоды созревают на 3-4 дня раньше самых ранних, обычных сортов. Но главное отличительное и наиболее ценное свойство ремонтантной земляники – ее повторное плодоношение в конце лета. Первая волна плодоношения в сезоне у нее совпадает по срокам с неремонтантными сортами, вторая начинается в первой половине августа и продолжается до заморозков. Основная масса ягод созревает в августе. Выращивание ремонтантной земляники позволяет увеличить период потребления свежих ягод до трех месяцев и, тем самым, значительно увеличить объемы урожая. Плоды ремонтантной земляники обладают хорошими десертными и диетическими качествами, отличаются высоким содержанием витаминов и Р-активных соединений, определяющих их лечебные свойства (Волкова Т.И., 2000; Хапова С.А., 2003).

В отличие от обычных сортов земляники, которые формируют генеративные почки в период короткого светового дня (конец лета – начало осени) и плодоносят только в начале лета, ремонтантная земляника может закладывать генеративные

почки для следующего урожая либо во время длинного светового дня (во второй половине мая) при длине светового дня 16-17 часов и температуре воздуха выше 17°С, либо в условиях любой длины дня («нейтрального дня»). В первом случае растения дают два урожая ягод с интервалом от 3 до 8 недель, причем, второй урожай более обильный, а нейтральнодневные сорта имеют почти непрерывное плодоношение в течение всего сезона («Сайт о растениях»: http://www.pro-rasteniya.ru/yagodnie-kulturi/bezusie-sorta-remontantnoy-krupnoplodnoy-i-melkoplodnoy-zemlyaniki-i-klubniki-v-tom-chisle-neytralnodnevnie).

Нейтральнодневные генотипы земляники нечувствительны к световому периоду и закладывают цветочные почки приблизительно через три месяца после посадки независимо от продолжительности дня. Сорта нейтрального дня продуцируют цветочные меристемы циклически в течение всего периода вегетации, хотя формирование приостанавливается при высоких температурах (Koron D. et al., 2009).

Сорта «нейтрального дня» в открытом грунте ведут себя практически так же, как и ремонтантные, отличаясь только тем, что на юге могут давать три урожая за сезон. Ввиду того, что ремонтантные сорта плодоносят дважды в год, причем первый урожай дают уже в год посадки, они более требовательны к плодородию почвы и агротехнике, чем обычная земляника. Их рекомендуется выращивать на хорошо структурированных, богатых органикой почвах. Ремонтантные сорта земляники особенно нуждаются в фосфоре, несколько меньше в азоте и калии, хотя на бедных калием почвах подкормки им не менее необходимы. Цветение и закладка второго урожая у ремонтантной земляники нередко совпадают с засушливым периодом, поэтому растения следует регулярно поливать с июня по август, если нет дождей. Необходимо удалять цветоносы, образующиеся в сентябре и позднее, так как зимостойкость большинства ремонтантных сортов пониженная, а цветение и плодоношение осенью еще больше ослабляет растения и не позволяет им нормально подготовиться к перезимовке (Алексеенко Л.В., 1998; Шокаева Д.Б., 2005).

У ремонтантной земляники ягоды формируются не только на материнских, но и на молодых растениях, образовавшихся в результате укоренения усов в начале сезона. Иногда молодые розетки еще не успев укорениться, начинают образовывать цветоносы, цвести и завязывать ягоды – это приводит к сильному истощению маточных растений, которые при этом тоже продолжают плодоносить. Чтобы предотвратить этот нежелательный процесс необходимо либо обрезать усы, либо, если молодые розетки нужно сохранить, как только они сформировались, окучить их и полить, чтобы быстрее укоренились. Как только это произойдет – перерезать столоны, связывающие их с маточным растением. Ремонтантные сорта нередко плохо размножаются усами, а некоторые вообще не дают усов. Для таких сортов возможно получение посадочного материала делением куста или из семян. Сорта, дающие небольшое количество усов, образуют их преимущественно на первом году жизни (Шокаева Д.Б., 2005).

Посадки ремонтантной земляники используют как правило 2, максимум 3 сезона, так как в дальнейшем урожайность падает. Это объясняется тем, что растения образуют очень мощные кусты с большим количеством рожков, как любая земляника с пониженным усообразованием, а корневая система постепенно отмирает и все больше оголяется. Все большее несоответствие между большой вегетативной массой и корневой системой приводит к голоданию растений, что незамедлительно сказывается на урожае. По той же причине растения ремонтантных сортов нужно высаживать на несколько большем расстоянии друг от друга, чем обычные сорта (25-30 см), чтобы обеспечить растениям возможность образовывать больше придаточных корней и достаточную для них площадь питания (Шокаева Д.Б., 2005).

Для получения высоких и стабильных урожаев сорт земляники садовой должен обладать хозяйственно ценными признаками, в том числе быть высокоурожайным (не менее 12 т/га или 1,2 кг/м^2), иметь достаточно крупные плоды (средняя масса 12 г) и характеризоваться высокими вкусовыми качествами, выровненностью по форме и величине (Говоров Д.Н., 2005). Нейтральнодневные сорта способны давать 2-3 урожая даже в условиях средней полосы России.

Нейтральнодневные и ремонтантные крупноплодные сорта уже в год посадки могут давать урожай до 28 т/га (при плотности посадки 50 тыс. шт./га) (Алексеенко Л.В., 1998).

Выращивание ремонтантной земляники является высокорентабельным и перспективным как для крупных хозяйств с четко налаженной технологией, так и для небольших фермерских хозяйств. Однако, неспособность некоторых ремонтантных сортов, очень привлекательных по многим показателям, образовывать достаточное количество усов и розеток, значительно затрудняет процесс их размножения традиционным способом.

1.4. Способы размножения земляники садовой

Для получения высоких стабильных урожаев земляники садовой следует использовать здоровый и чистосортный посадочный материал высокого качества (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003).

1.4.1. Размножение семенами

Репродуктивное размножение – с помощью семян – применяют в основном в селекционной работе при выведении новых сортов, а также при размножении ремонтантных безусых сортов (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003). Поскольку земляника садовая является межвидовым гибридом, октаплоидом, имеющим 56 хромосом, а последующая селекция основана преимущественна на межсортовой гибридизации, то при размножении семенами сортовые особенности материнских растений потомству не передаются и наблюдается расщепление признаков.

Некоторые семеноводческие фирмы практикуют производство и распространение семян ремонтантной земляники. Однако, при выращивании из семян, часть полученных растений ведут себя как ремонтантные – цветут и плодоносят, но не образуют усов, а другие дают много усов, но практически не плодоносят (Шокаева Д.Б., 2005).

1.4.2. Размножение дочерними розетками

Традиционным и наиболее распространенным способом размножения земляники садовой является размножение дочерними розетками, формирующимися на усах материнского растения. Розеточная рассада генетически полностью подобна материнскому растению. Традиционно применяются свежевыкопанные саженцы, которые высаживают осенью (конец августа-сентябрь) или весной (апрель-май). Наиболее ранняя и качественная рассада образуется из розеток, расположенных ближе к материнскому кусту (розетки первого-второго порядка). На таких растениях закладывается больше цветочных почек и, следовательно, образуется больше ягод. Несомненным преимуществом данного метода является его простота. Однако, от материнского растения передается множество грибковых заболеваний и вирусов, которые сохраняются в дочерних растениях и снижают качество рассады (Посылаев В.А., 1991; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003; Айтжанова С.Д., 2009; Казаков И.В., 2009).

В последние годы все больше хозяйств начинают применять современные интенсивные технологии выращивания земляники садовой, которые предусматривают использование рассады типа "Фриго" (Frigo plants). Технология выращивания этих саженцев предусматривает выкапывание растений из маточника во второй половине ноября, когда притупляется метаболическая деятельность и происходит отток углеводов в корневище, а закладывание генеративных почек и вегетативный рост полностью прекращаются. Выкопанные растения охлаждают и хранят в полиэтиленовых мешках при температуре -1,5…-2°С. Возможное время посадки такой рассады растягивается от середины марта до конца июля, оптимальные сроки посадки фриго: май-июнь (Сайт «БелАгриПлантс»: http://www.belagriplants.ru/?242_2; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003).

1.4.3. Размножение делением куста

Метод деления куста применяют только при определенных условиях размножения земляники – например, в случае острого недостатка в посадочном

материале новых сортов или при внезапной необходимости переноса ценных сортов на новое место. Делить кусты рекомендуется в 2-4-летнем возрасте, отбирая растения с частью здорового корневища и хорошо развитой на них корневой системой. Деление кустов применяется при размножении некоторых сортов ремонтантной земляники, которые образуют очень мало усов или же усы вообще отсутствуют. Для ремонтантной земляники характерно сильное ветвление побегов с образованием в 3-летнем возрасте на одно растение до 30-40 укороченных побегов-рожков. Такой сформировавшийся побег имеет верхушечную почку и несколько пазушных боковых, розетку листьев, а у основания придаточные корни. Осенью или весной такие растения выкапывают, разделяют на части, используя для посадки в качестве нового растения каждый рожок с корнями и розеткой листьев (Посылаев В.А., 1991; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003).

Однако для данных способов вегетативного размножения (дочерними розетками или рожками) характерным является низкий коэффициент размножения, а также передача рассаде многочисленных болезней.

1.5. Воздействие регуляторов роста на растения земляники садовой

В настоящее время установлено большое значение физиологически активных веществ – регуляторов роста и развития растений в практике сельского хозяйства (Ефименко В.В., 2006).

В последние годы в результате проведения крупномасштабных работ по испытанию вновь синтезированных веществ самой различной химической природы на наличие биологической активности было открыто большое количество регуляторов роста, обладающих многообразной направленностью воздействия на растения (Применение регуляторов роста в плодоводстве, 1958).

Регуляторы роста растений – это природные или синтетические органические вещества, способные стимулировать или подавлять рост и развитие растений, не приводя к их гибели. По характеру действия на растительные ткани регуляторы роста делят на стимуляторы и ингибиторы. Известны три типа стимуляторов:

ауксины, гибереллины, цитокинины (Применение регуляторов роста в плодоводстве, 1958).

Производственное значение регуляторов роста определилось с тех пор, как были выявлены синтетические вещества, способные вызывать у растений реакции, идентичные тем, которые возникают под влиянием естественных ауксинов. В результате появилась возможность с помощью синтетических регуляторов роста стимулировать ряд процессов, связанных с образованием и развитием плодов, задерживать прорастание почек, подавлять рост сорняков и др. В настоящее время синтетические регуляторы роста нашли широкое применение во многих отраслях растениеводства (Применение регуляторов роста в плодоводстве, 1958).

Одним из важнейших резервов в деле повышения урожайности земляники является научно обоснованное применение регуляторов роста. Они являются своеобразным «инструментом» растительного организма, воздействующим на ход физиологических процессов и позволяющим изменить обмен веществ. В настоящее время накоплен значительный фактический материал, освещающий влияние регуляторов роста на растения. В частности, их используют для ускорения роста рассады, увеличения урожайности и повышения качества ягод земляники садовой (Кондаков А.К., 1992; Гирко В.С., Сабадин Н.А., 2001).

Применение регуляторов роста растений в практике позволяет получить сдвиги в обмене веществ, идентичные тем, которые возникают под влиянием определенных внешних условий (длины дня, температуры), например, ускорить образование генеративных органов, усилить или затормозить рост и т. п. Регуляторы роста используют главным образом в виде растворов и дисперсий путем опрыскивания растений в стадии вегетации или обработки семян (Ефименко В.В., 2006).

Множественные исследования, проведенные в нашей стране и за рубежом, убедительно доказывают целесообразность применения регуляторов роста на разнообразных культурах для повышения их продуктивности (Высоцкий В.А., 1976; Ефименко В.В., 2006).

Известно, что целый ряд регуляторов роста успешно используется в питомниках земляники для обработки посадочного материала и взрослых растений (гиббереллины, ауксины, α-нафтилуксусная кислота, бензиладенин и др.). Их применение способствует увеличению количества цветоносов, повышению урожайности и качества выращиваемой продукции, формированию у растений устойчивости к инфекциям, улучшению завязываемости плодов.

Изучена эффективность применения некоторых регуляторов роста (Эмистим, Кавказ, Крезацин, Эпин) на растения земляники садовой в полевых условиях. Исследуемые препараты оказывали стимулирующие и адаптогенные эффекты с широким спектром физиологического действия: повышали скорость размножения и потенциальную продуктивность растений, улучшали укореняемость молодых розеток, оптимизировали водный баланс. Использование регуляторов роста растений позволило увеличивать усообразующую способность земляники в 1,5-2 раза. Потенциальная продуктивность под действием всех регуляторов роста возрастала до 120-197%, при этом увеличивалось как количество цветоносов, так и количество плодоэлементов на цветоносе. Часто наблюдалась сортоспецифичность действия препаратов, и хотя на разных сортах оптимально действовали разные концентрации препаратов – данные регуляторы роста можно использовать как достаточно мощные факторы, влияющие на рост и развитие растений земляники, что подтверждает их универсальность (Ефименко В.В., 2006).

Для стимулирования образования усов и увеличения выхода рассады изучали действие гиббереллина (Moore J.N., Scott D.H., 1966; Soczek Z., 1969; Anderson H.M. et al., 1982; Dennis E., 1969). В России изучение физиологически активных веществ (гиббереллина, α-нафтилуксусной кислоты, Этрела) на землянике проводили с целью увеличения урожайности и дружности созревания ягод для механизации уборки (Михтелева Л.А., 1972; Шахова Л.Н., 1972). Применяли регуляторы роста отечественного производства: гиббереллин и препарат Тур. Обработка молодых растений земляники гиббереллином и препаратом Тур вызвала глубокие изменения в развитии вегетативных органов и продуктивности

в течение 2-3 лет плодоношения. Обработка растений препаратом Тур в начале образования усов подавляла их рост, увеличивала количество рожков, соцветий, повышала продуктивность в 1,5-2 раза по сравнению с контролем. Гиббереллин стимулировал рост усов и формирование дочерних розеток, но уменьшал образование рожков и, как правило, не повышал продуктивность растений. В результате, препарат Тур, снижая коэффициент вегетативного размножения, усиливал развитие материнских растений, а гиббереллин стимулировал развитие усов и розеток (Соловей Э.П., 1977).

Было изучено влияние некоторых регуляторов роста и препаратов (Амбиол, гетероауксин индолил-3-уксусная кислота, гумат натрия, Ивин, Экогель, Эмистим) на биологические и биохимические показатели растений земляники. В результате применения данных регуляторов роста наблюдалось повышение всхожести семян земляники на 15%, рост и развитие рассады ускорялись не существенно, отмечено более интенсивное развитие корневой системы, увеличение числа цветоносов и повышение урожайности на 14-15%. Экспериментально доказано, что изучаемые регуляторы роста в рекомендуемых дозах существенного влияния на биохимический состав ягод не оказывали (Сурова И.П., Хапова С.А., 2009).

Регуляторы роста Экогель, Мивал-Агро и Эпин способствовали ускорению процессов корнеобразования и повышению качества рассады земляники садовой. Установлено наличие сортовых особенностей в реакции растений на регуляторы роста (Хапова С.А., 2012).

Отмечено положительное воздействие регуляторов роста растений (Росток, Эпин-экстра, Кемиро-Гидро) на всхожесть семян и биометрические показатели ремонтантных сортов земляники садовой: увеличиваются линейные размеры растений и объем корневой системы. Всходы из семян, обработанных препаратами, появились раньше контроля на 4-10 дней, процент всхожести выше, значительно усиливается рост корневой системы, повышается количество вторичных корней. Проведенные исследования свидетельствуют о целесообразности использования данных регуляторов роста для предпосевной

обработки семян и ускорения роста и развития растений земляники садовой (Галиулина А.А., 2008).

В современных агрономических технологиях большое практическое значение регуляторов роста определяется многими обстоятельствами: влияя в малых дозах на процессы метаболизма растений, они приводит к значительным изменениям в росте и развитии. При этом регуляторы роста рассматриваются как экологически чистый и экономически выгодный способ повышения урожайности сельскохозяйственных культур, позволяющий полнее реализовывать потенциальные возможности растительных организмов (Павликова Е.В., 2012).

Анализ литературных данных свидетельствует о целесообразности применения регуляторов роста нового поколения, с высокой эффективностью действия в минимальных дозах и максимальной безопасностью и экологичностью, для предпосевной обработки семян, ускорения роста и развития вегетативных и генеративных образований, повышения урожайности растений земляники садовой и др.

Изучение влияния регуляторов роста нового поколения на интенсивность усообразования и продуктивность ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью, с учетом конкретных почвенно-климатических условий и сортовых особенностей, является актуальным.

1.6. Выращивание ремонтантных сортов земляники садовой в защищенном грунте

В настоящее время одним из приоритетных направлений селекции земляники в мире является продление периода ее плодоношения и потребления свежих ягод, поскольку земляника в свежем виде пользуется высоким спросом в течение круглого года (Сизенко Ю.М., 1989; Попова И.В., 2005).

Увеличение периода плодоношения земляники достигается различными способами: как за счет агротехнических приемов (задержание или ускорение вегетации путем укрытия посадок с помощью различных материалов и конструкций), так и за счет использования сортов разного срока созревания, а

также ремонтантных и нейтральнодневных сортов. Октаплоидные нейтральнодневные сорта, удлиняющие сроки получения свежих ягод в течение лета и осени, позволяют широко использовать защищенный грунт для круглогодичного производства земляники в странах с мягкими зимами (Попова И.В., 2005; Хапова С.А., Майдебура Н.М., 2009).

Сроки поступления свежих ягод земляники большинства наиболее распространенных в нашей стране сортов ограничены несколькими неделями, а вкусовые качества импортной земляники часто бывают низкими из-за раннего сбора и больших сроков доставки до потребителей. Представляется актуальным изучение возможности продления сроков плодоношения и внесезонного выращивания земляники в нашей стране и реализации на российских рынках ягод отечественного производства.

Широкие возможности для расширения периода поступления ягод дает использование различных типов укрытий и сооружений. Зимние теплицы позволяют получать свежие ягоды зимой и ранней весной. Под укрытиями у земляники начинаются раньше процессы роста, созревание происходит эффективнее (Копылов В.И., 1987; Сизенко Ю.М., 1989).

Землянику можно выращивать круглогодично, но для этого ей необходимо создать особые условия. Основным фактором, позволяющим получать внесезонный урожай, является длина светового дня и температура воздуха в теплице (Чухляев И.И., Карпунина А.Г., 1982).

В последние десятилетия в Европе, Японии и США широкое распространение получило круглогодичное производство ягод земляники. Ремонтантные сорта не имеют периода покоя, поэтому их успешно выращивают в защищенном грунте для получения внесезонной продукции. Лучший результат получается при использовании сортов нейтрально-дневного типа. В Италии, Франции, Бельгии, Голландии, Великобритании и других странах применяются для выгонки укрытия из пластика, так называемые туннели: высокие – от 2 до 3,5 м высоты и от 4 до 8 м ширины и низкие – 1-1,5 м высоты и 1,5 м ширины. При весенней выгонке земляники в высоких туннелях созревание происходит раньше

на 20 дней, в низких – на 12-15 дней. В условиях средней полосы России ранневесеннее укрытие земляники полиэтиленовой пленкой дает ускорение в созревании ягод в зависимости от погодных условий весны от 5 до 20 дней (Волкова Т.И., 2000).

Помимо этого, весеннее укрытие ускоряет на 5-10 дней созревание и второго урожая ремонтантных сортов. Это связано с тем, что под пленкой раньше начинается заложение соцветий, быстрее проходит их дифференциация. Созревание ягод начинается в период между первым и вторым плодоношением ремонтантных сортов в открытом грунте, то есть во второй половине июля (Волкова Т.И., 2000).

Условия защищенного грунта позволяют продлить не только плодоношение, но и период вегетации растений. Ускоренное формирование усов и молодых розеток в условиях теплицы дает возможность получения свежей рассады непосредственно к срокам весенней посадки земляники в открытом грунте.

Таким образом, выращивание ремонтантной земляники в условиях защищенного грунта позволяет продлить сроки плодоношения и увеличить урожайность. В зависимости от типа укрытия и сорта можно получить урожай раньше на 1-3 недели и почти в два раза больше (в среднем до 1,5-2,0 кг/м^2), чем с открытого грунта (Белов В.Ф., Чухляев И.И., 1989; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003). Учитывая, что под укрытиями быстрее идут процессы роста и развития растений, можно предположить, что при выращивании в условиях защищенного грунта формирование усов и дочерних розеток будет более интенсивным и массовым, что представляет значительный интерес для размножения новых ремонтантных сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью.

1.7. Особенности клонального *in vitro* размножения земляники садовой

Достижения в области культуры клеток и тканей привели к созданию принципиально нового метода вегетативного размножения – клонального микроразмножения. В основе метода лежит уникальная способность растительной

клетки реализовывать присущую ей тотипотентность – свойство соматических клеток растений полностью реализовывать свой потенциал развития за счет имеющейся в каждой клетке генетической информации целого растения (Бутенко Р.Г., 1987; Шевелуха В.С., 2003).

Метод клонального микроразмножения позволяет значительно ускорить размножение земляники садовой, а также получить растения, оздоровленные от фитопатогенов, вирусов и других инфекций. Кроме того, проведение работ в лабораторных условиях возможно круглый год, что позволяет всегда иметь под рукой исходный материал (Шевелуха В.С., 2003; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2004; Поляков А.В., 2005).

Этот метод является достаточно трудоемким и требует больших материальных затрат. Вместе с тем, высокая рентабельность метода *in vitro* обусловлена рядом преимуществ в сравнении с традиционными способами размножения, а именно: более высокий коэффициент размножения; миниатюризация процесса, что приводит к экономии площадей, занятых маточными и размножаемыми растениями; получение оздоровленных от инфекций растений; размножение растений, трудно размножаемых обычными способами (в частности, ремонтантные сорта с низкой усообразующей способностью); возможность работать в лабораторных условиях круглый год, а также возможность длительного хранения пробирочных растений, что позволяет всегда иметь под рукой исходный материал (Поляков А.В., 2005).

Процесс клонального микроразмножения включает в себя следующие этапы:

- выбор донора и подготовка материала для введения в культуру *in vitro*;
- непосредственно введение в культуру *in vitro*;
- размножение микроклонов;
- укоренение размноженных побегов;
- адаптация пробирочных растений к условиям *ex vitro*.

Из всех факторов, определяющих успех клонального микроразмножения, наибольшее значение имеет генотип исходного растения. Необходимо использовать перспективные сорта и гибриды F_1. Для введения в культуру *in vitro*

желательно отбирать хорошо развитые, типичные растения без признаков поражения вредителями и болезнями. Имеет значение и возраст исходного растения, оправдано в качестве эксплантов использовать ткани и органы проростков, в этом случае обнаружена лучшая приживаемость эксплантов (Поляков А.В., 2005).

Необходимым условием клонального микроразмножения является стерилизация исходного растительного материала, после чего выделенные экспланты помещают на питательные среды, содержащие полный набор элементов для дальнейшего культивирования. По мере развития эксплантов производят размножение образовавшихся микроклонов. На этом этапе растительные конгломераты, состоящие из почек и побегов, разделяют на небольшие группы, срезают побеги, длина которых более 15-20 мм. Группы почек высаживают на свежие питательные среды аналогичного или близкого состава. Развившиеся побеги отделяют друг от друга и повторно культивируют на питательной среде, стимулирующей пролиферацию пазушных меристем и возникновение побегов более высоких порядков или переносят на среду для укоренения. Этот процесс можно продолжать и получать с его помощью необходимое количество растений-регенерантов. При пересадках удаляют корни, побуревшие ткани и каллус (Поляков А.В., 2005).

Для укоренения необходимо использовать хорошо развитые побеги и питательные среды, содержащие пониженные концентрации минеральных солей и сахарозы и по возможности, не содержащие фитогормоны и витамины. Использование таких сред обусловливает адаптацию растений-регенерантов к неблагоприятным факторам внешней среды и способствует нормальному их росту при пересадке в почву (Поляков А.В., 2005).

После образования сформированного растения *in vitro* его можно адаптировать к обычным условиям среды. Растения переносят на субстрат, состоящий из песка, торфа и плодородной почвы. После адаптации растения можно переносить на постоянное место выращивания – в теплицу или открытый грунт и уход за ними осуществляется как за обычными (Поляков А.В., 2005).

Таким образом, клональное микроразмножение аналогично вегетативному способу размножения и различается лишь тем, что весь процесс протекает в условиях *in vitro* («в стекле»), где из эксплантов определенного типа можно ускоренно получать достаточно большое количество растений, идентичных исходному экземпляру (до 3 млн. штук растений земляники садовой в год от одного исходного растения) (Говорова Г. Ф., Мазин В. В., Говоров Д. Н., Калиженкова М. Д., 2000). Вегетативный способ размножения садовых растений, в отличие от семенного, позволяет сохранять сортовые признаки, не допуская нежелательного расщепления.

Данный метод позволяет успешно размножать сорта земляники, которые плохо или совсем не размножаются вегетативно, в частности, новые высокоурожайные ремонтантные сорта отличного качества, формирующие малое количество усов, недостаточное для получения необходимого объема рассады.

Основное преимущество клонального микроразмножения – это получение генетически однородного, безвирусного посадочного материала. Этого возможно достичь, используя меристемные ткани апексов и пазушных почек органов стеблевого происхождения. Меристема состоит из конуса нарастания, а также одного или двух листовых зачатков (примордиев) и является свободной от инфекции (Поляков А.В., 2005).

Наибольшее распространение в области размножения посадочного материала получил метод формирования множественных боковых побегов изолированными апексами или почками. В основе метода лежит способность цитокининов снимать апикальное доминирование побегов (Бутенко Р.Г., 1964; Высоцкий В.А., 1983). Этот метод стал промышленным для многих культур, в том числе для земляники. Впервые технологию массового коммерческого размножения земляники разработал Боксю (Boxus P., 1974). Элементы этой технологии в дальнейшем претерпели различные изменения, направленные на ее совершенствование (Высоцкий В.А., Алексеенко Л.В. и др., 2010; Упадышев М.Т. и др., 2013).

Технология метода *in vitro* размножения культуры земляники разработана достаточно подробно и в настоящее время нашла широкое применение в практике

питомниководства США, Германии, Франции, Великобритании, Голландии. В нашей стране производством посадочного материала с использованием *in vitro* технологий занимается ряд организаций: ВСТИСП (В.А. Высоцкий, Л.А. Алексеенко), МСХА им. Тимирязева (Г.Ф. Говорова, В.И. Деменко), РУДН ООО «Меристема», НПЦ Биотехнологии «Фитогенетика» (А.А. Шипунова), НПП «Микроклон» и др. Однако эффективность технологии *in vitro* для размножения современных ремонтантных сортов, характеризующихся низкой усообразующей способностью, не была известна.

Современная технология клонального микроразмножения земляники основана на культивировании апикальных меристем. Меристематические верхушки изолируют из молодых, свободных от вирусных болезней растений и выращивают на питательной среде MS (Murashige T., Skoog F., 1962), содержащей 6-бензиладенин (БА) в концентрации 0,1-0,5 мг/л. Через 3-4 недели культивирования меристема развивается в проросток, в основании которого формируются адвентивные почки, которые быстро растут и дают начало новым почкам. В течение 6-8 недель образуется конгломерат почек, связанных между собой соединительной тканью и находящихся на разной стадии развития. Появляются листья на коротких черешках, в нижней части которых формируются новые адвентивные почки. Эти почки разделяют и пересаживают на свежую питательную среду. На среде с цитокинином продолжается пролиферация придаточных побегов, а на среде с ауксином или без регуляторов роста в течение 4-6 недель формируются нормальные растения с корнями и листьями. Морфогенетическая активность эксплантa сохраняется в течение 3-4 лет. Таким образом, от одного материнского растения можно получать несколько миллионов растений-регенерантов в год (Шевелуха В.С., 2003).

Для разработки наиболее оптимальных условий клонального микроразмножения земляники верхушечные меристемы помещали на питательные среды MS, дополненные различными регуляторами роста: 6-бензиладенином (БА), индолилмасляной кислотой (ИМК), индолилуксусной кислотой (ИУК), нафтилуксусной кислотой (НУК), кинетином. Лучшие

результаты были получены на среде с содержанием БА и ИМК. Таким образом, рекомендуется использование среды Мурасиге-Скуга с БА и ИМК как базовой для клонального микроразмножения земляники, модифицируя ее в соответствии с биологическими особенностями размножаемых генотипов (Говорова Г.Ф., Мазин В.В., Калиженкова М.Д., Говоров Д.Н., 2000; Высоцкий В.А., Алексеенко Л.В. и др., 2010).

Характер развития эксплантов зависит от его местоположения на маточном растении, времени введения в культуру, состава питательной среды и возраста маточного растения (Деменко В.И., 2006).

В качестве эксплантов обычно используют апексы рожков из розеток или побегов-усов. Предпочтительно использовать апексы усов, а не рожков из-за большей загрязненности последних. По общепринятому мнению в меристематических тканях апексов нет условий для размножения вирусов (ВНИИР, 1999; Бондаренко Е.Д., Киссель Н.И., 2002).

В исследованиях регенерационной активности рода *Fragaria in vitro* в качестве исходных эксплантов применяли: апексы, изолированные от усов и розеток, пыльники, листовые диски, базальные участки цветковых почек (Высоцкий В.А., Алексеенко Л.В., 1998); листовые пластинки, пыльники (Хамукова Ф.Н., 1994); меристематические верхушки апикальных и боковых почек, пыльники, цветоложе, листовые диски (Деменко В.И., 2006); апикальные меристемы (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2004); изолированные меристемы апексов усов (Поляков А.В., 2005) и др.

Лепесток представляет значительный интерес в качестве экспланта для введения в культуру *in vitro* ремонтантных сортов земляники садовой. Период цветения у ремонтантных сортов весьма продолжительный – с мая по сентябрь, с небольшим двухнедельным перерывом в июле, что позволяет долгое время иметь под рукой исходный материал – бутоны. Лепестки земляники садовой даже в закрытых бутонах уже достаточно крупные и легко отделяются от цветоложа, что облегчает процесс выделения эксплантов. Находясь в закрытых бутонах, лепестки не подвергаются внешним воздействиям и загрязнениям со стороны окружающей

среды. Исходный материал удобно стерилизовать, поскольку лепестки-эксплaнты остаются изолированными. Информация о регенерации растений рода *Fragaria* из лепестков в отечественной литературе отсутствует. В иностранных источниках обнаружены исследования по культивированию лепестков некоторых сортов земляники садовой (Predieri S. et al., 1989, Италия) и земляники восточной (*Fragaria orientalis* Losinsk.) (GU Di-zhou et al., 2010, Китай). В данных исследованиях показано, что регенерация растений некоторых сортов земляники возможна из лепестка через стадию каллуса. Кроме того, установлено, что этот тип эксплaнта характеризуется высокой морфогенетической активностью у таких растений, как роза гибридная (Chatani K., 1996; Murali S. et al., 1996), хризантема (Bush S.R. et al., 1976; Fujii Y. et al., 1990), гвоздика (Nugent G. et al., 1991; Fisher M. et al., 1993), лилейник (Heuser C.W. et al., 1976), арауджия (Torne J.M., 1997), очиток (Wojciechowicz M.K., 2007).

Несмотря на несомненную перспективность клеточных технологий, главная проблема, возникающая при практическом использовании культуры изолированных тканей и органов в селекционном процессе, заключается в разработке эффективных приемов надежного получения растений-регенерантов из эксплaнтов различного происхождения. Изучению этого вопроса посвящен ряд работ отечественных и зарубежных авторов, что свидетельствует о большом значении проблемы регенерации для всей методологии культуры ткани, без решения которой становятся бесполезными исследования по культивированию тканей и органов *in vitro* для целей селекции (Расторгуев С.Л., 2008). Анализ исследований показывает, что различные сорта и гибриды земляники существенно различаются по выходу регенерантов – от 3 до 41 регенерантов на один эксплaнт (Говорова Г.Ф., Мазин В.В., Калиженкова М.Д., Говоров Д.Н., 2000). Способы индукции морфогенеза растений универсальны лишь только в общих закономерностях, поэтому хорошо разработанная система регенерации для конкретного генотипа не всегда подходит для других клонов данного вида (Расторгуев С.Л., 2008).

Размножение *in vitro* является наиболее интенсивным методом вегетативного размножения и поэтому контроль генетической стабильности потомства имеет огромное значение (Деменко В.И., 2006).

Современные теоретические исследования в области клонального микроразмножения пытаются решить две основные проблемы: с одной стороны, это достижение достаточного коэффициента размножения, с другой – сведение к минимуму возможности отклонения от сорта (Деменко В.И., 2007).

1.7.1. Сомаклональная изменчивость

Термин «сомаклональная изменчивость», означающий изменчивость, возникающую в культуре клеток и тканей, впервые появился в 1981 г. (Larkin P.J., Scowcroft W.R., 1981), хотя об этом явлении неоднократно сообщалось и ранее. Соматические изменения могут иметь генетическую и эпигенетическую природу. Генетические отклонения наследуются и часто представляют собой проявление уже существующих изменений в клетках эксплантa. Эти изменения следует отличать от морфозов – ненаследуемых эпигенетических изменений, которые часто обратимы и происходят в результате воздействия культивирования в условиях *in vitro*. Для выяснения природы наблюдаемых изменений (затронут геном растений или нет) необходимо провести повторное введение в культуру *in vitro*, взяв экспланты с растений, имеющих признаки отклонений. Сохранение признака в двух последовательных циклах клонального микроразмножения является гарантией генетической основы данного изменения (Хон Б., Деннис Э., 1990). Следует учитывать, что для полного выявления отклонений требуется проверка в полевых условиях (Лебедев В.Г., Азарова А.Б., Шестибратов К.А., Деменко В.И., 2012).

Проявление сомаклональной изменчивости может быть и преимуществом, и недостатком. С одной стороны, она увеличивает генетическое разнообразие, с другой, когда целью является получение однородного посадочного материала от ценных генотипов, ее проявление нежелательно. Исследования показали, что на частоту сомаклональной изменчивости в культуре *in vitro* могут влиять такие

факторы, как генотип (Popescu A.N. et al., 1997), источник эксплантов (Mishiba K.-I. et al., 2006), регуляторы роста (Nehra N.S. et al., 1992; Kumar P.S., Mathur V.L., 2004), а также состав среды, продолжительность и условия культивирования и другие (Лебедев В.Г., Азарова А.Б., Шестибратов К.А., Деменко В.И., 2012).

Сорта многолетних культур содержат скрытые генетические вариации, так называемые соматические клоны, которые могут включать варьирование признака. Сомаклональная изменчивость адвентивных побегов, развившихся из листа, минимальна, но вероятна (Хон Б., Деннис Э., 1990). Вероятность сомаклональной изменчивости возрастает, если в ходе культивирования присутствует стадия каллуса (Nehra N.S. et al., 1992; Mishiba K.-I. et al., 2006). Поэтому особенно важно его отсутствие на этапе введения экспланта в культуру (Деменко В.И., 2007).

Некоторые фенотипические изменения, которые возникают как ответ растения на культивирование *in vitro*, могут быть положительны и должны использоваться в практике питомниководства (Деменко В.И., 2007).

Земляника имеет довольно устойчивый генотип (Schaeffer S.R. et al., 1980). Клональное микроразмножение оказывает глубокое влияние на физиологию генотипов, поэтому каждый из них должен быть детально оценен по полевой продуктивности и другим важным для идентификации сорта признакам (Schaeffer S.R. et al., 1980; Swartz H.J. et al., 1981; Anderson H.M. et al., 1982; Nehra N.S., 1991). Установлено, что поведение сомаклонов в поле неоднозначно. Наряду с сортами и гибридами, сохраняющими свой морфотип и генотип, встречаются резко измененные после культуры ткани. Сомаклональная изменчивость может быть успешно использована в селекции новых сортов (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2004).

Сомаклоны могут значительно отличаться от исходного генотипа. В полевых условиях размноженные через культуру меристем растения дают больше усов и показывают изменения и в росте, и в репродуктивном поведении по сравнению с растениями, размноженными усами (Damiano C., 1980; Swartz H.J. et al., 1981; Anderson H.M. et al., 1982; Marcotrigiano M. et al., 1984; Cameron J.S. et al., 1985;

Nehra N.S., 1991). Установлено, что растения, размноженные микроклональным методом, были более продуктивными, чем размноженные с помощью усов, из-за локализации более высокой доли всего связанного углерода в репродуктивных структурах (Cameron J.S. et al., 1989). Полевые исследования растений земляники садовой, полученных *in vitro*, показали их превосходство над размноженными традиционным способом по количеству листьев, усов и урожайности (Zebrowska J.I. et al., 2003).

Установлено, что усообразующая способность растений-регенерантов выше, чем у исходных форм. Число розеток на один побег, процент выхода стандартной рассады сильно зависит от генотипа и возраста растения. Культура ткани позволяет резко увеличить получение посадочного материала. Число генеративных органов и процент завязи у мериклонов также превышает этот показатель у исходных генотипов. Масса ягоды у мериклонов соответствует исходным генотипам (Мозафари А.А., 2004).

Специальные методы обработки микрорастений на оригинальных средах стимулировали более раннее цветение и усиливали формирование розеток в первый сезон вегетации, на второй год вызывали увеличение числа цветоносов и генеративных образований в расчете на одно растение (Алексеенко Л.В., Высоцкая О.Н., Высоцкий В.А., 2005).

В ряде случаев у отдельных растений некоторых сортов (Надежда, Редгонтлит, Фестивальная) были отмечены фенотипические отклонения (морщинистость, аномалии листьев, карликовость, хлороз), однако доля таких растений была незначительной (от 1 до 15,8%). Было показано сильное влияние генотипа на проявление сомаклональной изменчивости (Лебедев В.Г., Азарова А.Б., Шестибратов К.А., Деменко В.И., 2012).

Растения F_0 *in vitro*, полученные непосредственно в культуре ткани, по коэффициенту размножения существенно превосходили контрольные растения, полученные традиционным способом. Последействие выращивания *in vitro* сохранялось также у растений F_1 *in vitro*, которые представляли собой укорененные розетки первого порядка растений F_0. Это связано с тем, что первые

усоплети маточного растения развиваются из почек, заложенных *in vitro* (Лебедев В.Г., Азарова А.Б., Шестибратов К.А., Деменко В.И., 2012). Однако было отмечено снижение продуктивности или средней массы ягод после клонального микроразмножения (Деменко В.И., 2006).

В последние годы в связи с практическими успехами размножения клонов *in vitro* возросла значимость внутриклоновой изменчивости (Деменко В.И., 2007). Установлено, что использование сомаклонов может в два раза ускорить процесс создания нового сорта (Evans W.D. et al., 1984).

Однако имеющиеся данные о сомаклональной изменчивости земляники садовой несколько противоречивы, а по новым ремонтантным сортам, трудно размножаемым традиционным способом из-за небольшого количества усов, таких исследований не обнаружено. Разработка эффективной и воспроизводимой ускоренной системы регенерации в условиях *in vitro* является необходимой для клонального микроразмножения сортов земляники садовой, обладающих низкой усообразующей способностью. Вместе с тем, чтобы быть экономически целесообразным, скорость размножения *in vitro* должна превышать скорость размножения обычным методом, а полученные растения-регенеранты превосходить розеточную рассаду по показателям урожайности и устойчивости к заболеваниям.

1.8. Болезни и вредители земляники садовой

Землянику повреждает более 20 видов возбудителей болезней и более 10 видов вредителей. Одни из них повреждают почки, листья, корни, другие – ягоды, а иногда полностью все растение (Мажоров Е. В., 1984; Натальина О.Б., 1985).

Земляника, как и другие ягодные культуры, поражается паразитными и не паразитными болезнями. По природе возбудителей различают следующие паразитные болезни ягодников: грибные, вирусные, бактериальные и болезни, вызываемые высшими цветковыми растениями. В целом, землянику поражает свыше 20 болезней, часто поражают грибные болезни (микозы) – серая гниль, пятнистости (белая, бурая, угловатая), мучнистая роса, плодовые гнили (белая,

фитофторозная, черная, бурая), фузариозное и вертициллезное увядание. Среди вирусных заболеваний встречаются: крапчатость, морщинистость, краевое пожелтение листьев, окаймление жилок, из фитоплазмозов – позеленение лепестков (Аблакатова А.А., 1965).

Эти заболевания при благоприятных для них условиях не только снижают урожай ягод на 10-70%, но и порой приводят к резкому ослаблению или полной и нередко скоротечной гибели посаженных земляничных плантаций (Говорова Г.Ф., 1964, 1965, 1992, 1998; Maas I.L., 1984).

Вирусные и фитоплазменные заболевания на землянике обычно протекают в хронической форме и передаются с посадочным материалом. Лечение пораженных этими патогенами растений в плодоносящих и маточных насаждениях невозможно. К трудноискоренимым вредителям относятся земляничный клещ и стеблевые нематоды, которые также передаются при вегетативном размножении. Поэтому основными методами борьбы с подобными патогенами и вредителями являются профилактические, и первую очередь – использование здоровой рассады (Бондаренко Н.В. и др., 1969; Бурмистров А.Д., 1991; Белошапкина О. О. и др., 2001).

Вредоносность болезней и повреждений, нанесенных вредителями, может проявляться на ягодных культурах в разной форме: растения становятся карликовыми, происходит сильная деформация листьев, и, в конце концов, они погибают, снижается количество и качество урожая и посадочного материала. Больной посадочный материал становится основным источником заражения участков (Белов В. Ф., Чухляев И. И., 1989). Суммируя всю многосторонность вреда, который причиняют болезни и вредители землянике, становится ясна необходимость оздоровления посадочного материала и повышения устойчивости сортов к основным заболеваниям и вредителям.

Одними из наиболее распространенных грибных болезней земляники садовой являются белая, бурая и угловатая пятнистости. Они приводят к повреждению большого количества листьев и уменьшению их фотосинтезирующей способности, ослаблению растений и значительному

снижению урожая культуры: на 15-25% – белая пятнистость (Гришанович А.К., 1971), на 7-9% – бурая пятнистость (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2004).

Белая пятнистость (*Ramularia Tulasnei* Sacc.)

Распространенное заболевание земляники, фактически сопровождающее данную культуру. Болезнь поражает листья, черешки, цветоносы и плодоножки. В начальной стадии белая пятнистость образует коричневые округлые пятна без ободка, которые на молодых листьях сливаются в сплошное поражение. На более взрослых листьях пятна обособленные, округлые, мелкие, 1-2 мм в диаметре, с пурпуровым ободком, быстро белеющие, со слабо заметным конидиальным пушком, образующимся на верхней и нижней стороне листьев. Со временем побелевший центр выпадает, чего не наблюдается при других болезнях листьев земляники. Развитие болезни начинается с ранней весны. Первичное заражение новых листьев земляники проявляется в середине – конце мая. Обычно на более освещенных участках полевого типа болезнь развита сильнее. Для болезни типично массовое проявление ее в первую половину лета – от весны до конца плодоношения земляники. На общее развитие болезни влияют условия агротехники. Наиболее усиливается пораженность растений при загущенной посадке, длительной эксплуатации участка, запаздывании с весенней обработкой почвы и уборкой сухих листьев (Рассел Г. Э., 1982; Гребенщиков С.К., 1987; Гудковский В.А., 2001).

Бурая пятнистость (*Marssonina potentillae* Desm.)

В литературе отмечается как одно из основных заболеваний земляники. Бурая пятнистость поражает в первую очередь листья, также отмечаются поражения чашелистиков и ягод. На листьях болезнь вызывает очень характерные неправильно угловатые, большей частью ограниченные жилками листа крупные пятна. Вначале они темно-пурпурные, затем по мере отмирания пораженной ткани буреющие. По поверхности пятен с верхней стороны листа разбросаны черные, как бы лакированные, мелкие припухшие подушечки – плодовые тела гриба – возбудителя болезни. По мере созревания спор пигментированная покровная ткань лопается, и на поверхность выделяются вначале слизистые, затем

ссыхающиеся комочки спор. По мере старения пятна теряют свои типичные признаки; плодоношение гриба, облегчающее диагноз болезни, исчезает, и листья кажутся просто засохшими. На черешках и усах пятна мелкие, немного вдавленные, без заметного плодоношения. Пурпурная окраска пораженной части растения – специфический внешний признак данной болезни. Распространение инфекции зависит от выпадения капельножидкой влаги, которая размачивает ссохшиеся комочки спор, после чего они могут рассеиваться в воздухе. Заражение листьев бурой пятнистостью происходит главным образом с нижней стороны (Рассел Г. Э., 1982; Гребенщиков С.К., 1987; Гудковский В.А., 2001).

Серая гниль земляники, возбудитель – *Botrytis cinerea* Pers.

Болезнь широко распространена. Вследствие поражения многих органов растения и быстрого развития серая гниль является одним из главнейших заболеваний земляники. Серая гниль поражает листья, бутоны, цветки, плодоножки, завязи, ягоды. На листьях образуются крупные расплывчатые тёмно-серые загнившие пятна, на которых развиваются редко расположенные конидиеносцы, образующие очень слабый серый пушок. Типичнее всего поражаются ягоды. Серая гниль вначале образует на них отдельные размягченные бурые пятна, которые быстро разрастаются, и ягода загнивает полностью (Натальина О.Б., 1963).

Изучение серой гнили на землянике показало, что спорообразование гриба происходит при высокой относительной влажности (70-80%) и широкой амплитуде колебания температуры – +5…+30°С. Особенно опасно для земляники сочетание сырой и холодной погоды, это снижает устойчивость растения к заболеванию. Соприкосновение цветоносов и ягод с землёй, наличие гниющих остатков растений, гнилой соломы или опилок, больных ягод – все это увеличивает возможность заражения (Ван дер Планк, 1981).

Мучнистая роса, возбудитель – *Sphaerotheca macularis* Magn. f.

Повсеместно распространенное заболевание, может приводить к значительному снижению выхода посадочного материала земляники. Поражает листья, усоплети, розетки, бутоны, цветки, завязи, которые покрываются тонким белым

налетом. Больные листья становятся кожистыми, края скручиваются внутрь, все растение постепенно приобретает буроватый оттенок. Пораженные зрелые ягоды кажутся припудренными крахмалом и приобретают специфический грибной запах. Гриб распространяется с помощью конидий, образующихся многократно за сезон и легко распространяющихся по воздуху (Белошапкина О.О., Безобразнова Л.В., 2001).

Крупноплодную садовую землянику повреждает множество вредителей, в том числе клещи, нематоды, слизни, некоторые насекомые (белокрылки, долгоносики, пилильщики, медведки). Вредоносность сосущих вредителей очень велика. Насекомые прокалывают ткани растений, вводят в них пищеварительные ферменты, а в некоторых случаях – токсины и другие, физиологически активные вещества, которые отрицательно влияют на ход физиологических процессов растений и высасывают жидкую пищу. При этом механическое воздействие на повреждаемое растение сосущими вредителями крайне незначительно. Устойчивость растений к этим вредителям обусловливается их физиологическими, биохимическими, а также анатомическими особенностями роста и развития.

Земляничная нематода (*Ditylenchus fragariae (dipsaci)* Kiihn)

Мелкие прозрачные черви (0,1-1 мм), обитают внутри тканей растений. Пораженные растения отстают в росте. На цветоносах, плетях усов, черешках и жилках листьев образуются вздутия – бледно-зелёные галлы. Цветки и плоды почти сидячие, уродливой формы, однобокие, жесткие, мелкие. Пострадавшие части растений размягчаются, буреют и загнивают. Наибольшее количество вредителей накапливается в растениях в первую половину лета (Белопинецкий А. В., 1996).

Земляничный клещ (*Tarsonemus pallidus* Banks.)

Взрослые клещи длиной до 0,25 мм, продолговато-овальные, прозрачные, вначале белые, затем желтоватые. Повреждают землянику. Зимуют самки клещей у основания листовых черешков. Весной в начале отрастания листьев они откладывают яйца. Численность клещей резко возрастает в июне и достигает

максимума в августе. Развивается клещ в четырех – пяти поколениях и больше. В результате высасывания сока листья сморщиваются, в местах повреждения образуются желтые или бурые маслянистые пятна. Кусты становятся карликовыми, плохо перезимовывают. Клещи расселяются по плантации, переходя с растения на растение по листьям и усам (Дроздовский Э. М., 2001).

Борьба с болезнями связана с большими экономическими затратами и пестицидной нагрузкой на растения и окружающую среду. Поэтому важнейшую роль в росте продуктивности и получении качественного посадочного материала играет создание и отбор высокоурожайных сортов, устойчивых к различным заболеваниям (Камедько Т.Н., 2014).

Эффективность использования устойчивых сортов очень высока, так как это дает возможность без применения пестицидов снизить или совсем исключить вред, причиняемый болезнями и вредителями, нередко достигающий 30-50% потерь урожая. Кроме того, возделывание устойчивых растений, пригодное для экологически чистых технологий, способствует получению свободной о ядохимикатов продукции и сохранению чистой окружающей среды (Говорова Г.Ф., 2011).

Достижению этой цели может послужить применение метода клонального микроразмножения *in vitro*, позволяющего получить оздоровленные растения, используемые в дальнейшем в качестве здорового исходного посадочного материала для заложения плантации. Фитопатологическая проверка растительного материала, полученного методом *in vitro*, во многих исследованиях показала высокую степень надежности оздоровления растений данным методом (Высоцкий В.А., 1998; Паскеев Н.А., 2001; Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2004; Деменко В.И., 2006).

Таким образом, анализ данных показывает, что новые ремонтантные сорта обладают рядом несомненных достоинств: длительный период плодоношения, высокая товарность ягод и урожайность. Все это обеспечивает данным сортам высокую востребованность и популярность. Поскольку многие ремонтантные

сорта земляники формируют мало усов, становится затруднительным их размножение и получение достаточных объемов посадочного материала. Анализ литературы показал, что применение современных препаратов – регуляторов роста растений, эффективно для интенсификации процессов роста и развития вегетативных и генеративных органов, но данных о влиянии росторегуляторов на усообразующую способность ремонтантных сортов земляники садовой не обнаружено. Выращивание земляники в условиях защищенного грунта способствует продлению периода вегетации и более интенсивному протеканию ростовых процессов. Применение регуляторов роста, а также выращивание ремонтантных сортов земляники в защищенном грунте для увеличения числа усов и повышения выхода посадочного материала в виде дочерних розеток, представляют интерес для ремонтантных сортов, плохо размножаемых вегетативно в обычных условиях.

Технология клонального микроразмножения эффективно применяется на культуре земляники садовой. Однако информация об *in vitro* размножении новых ремонтантных сортов достаточно ограничена, в особенности применительно к сортам, характеризующихся низкой усообразующей способностью. Клональное микроразмножение позволяет массово получать оздоровленный посадочный материал круглогодично, даже при наличии минимального количества исходного материала. Вопрос разработки эффективной технологии массового получения качественного посадочного материала ремонтантных сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью, представляет несомненный интерес и является актуальным.

ГЛАВА 2. ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ, МАТЕРИАЛ, МЕТОДИКА И УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Цель и задачи исследований

Целью исследований являлось усовершенствование способов размножения земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.) для массового получения высококачественного посадочного материала сортов, характеризующихся низкой усообразующей способностью.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи.

1. Оценить сорта земляники садовой, характеризующиеся низкой усообразующей способностью, по комплексу хозяйственно-ценных признаков в условиях открытого и защищенного грунта.
2. Выявить влияние регуляторов роста на усообразующую способность и продуктивность сортов земляники садовой.
3. Оценить в условиях *in vitro* морфогенетический потенциал сортов земляники садовой и выявить тип эксплантa с высокой жизнеспособностью и регенерационной активностью.
4. Провести оценку растений-регенерантов R_0 земляники садовой по основным морфологическим, хозяйственно-ценным, биохимическим признакам и устойчивости к болезням в полевых условиях.

2.2. Условия проведения исследований

2.2.1. Почвенные и агрохимические условия проведения исследований

Закладку опытов и исследования проводили в отделе биотехнологии ФГБНУ ВНИИО (Московская область, Раменский район, д. Верея) в лабораторных условиях, а также в условиях открытого и защищенного грунта в 2012-2014 гг.

Московская область расположена в центральной части Восточно-Европейской равнины и входит в состав Нечерноземной зоны. Рельеф преимущественно равнинный, в западной части имеются возвышенности не более

160 м. Климат умеренно-континентальный, характеризуется умеренно теплым летом и сравнительно холодной зимой. Самым холодным месяцем зимы является январь (среднемесячная температура составляет -10…-11°С). Самый теплый месяц – июль, среднемесячная температура достигает +17…+18°С (Алексашова В.С., 1990). Среднегодовое количество осадков на территории области колеблется от 450 до 700 мм, средняя относительная влажность воздуха составляет 70% (Колосова Н.Н., Чурилова Е.А., 2004).

На территории Московской области почвы представлены подзолистыми, дерново-подзолистыми, аллювиальными, серыми лесными, болотными, песчаными и супесчаными типами. Конкретно в Раменском районе преобладают серые лесные почвы (Колосова Н.Н., Чурилова Е.А., 2004).

Сумма активных температур (более +10°С) по Раменскому району составляет 1900-1950°С. Продолжительность периода с температурой воздуха выше 0°С составляет 128 суток, почвы – 110 суток. Период с температурой более +15°С составляет 60-65 суток. Переход среднесуточных температур воздуха через +15°С – 10 июня и 20 августа, через +10°С – 5 мая и 15 сентября, через +5°С – 20 апреля и 10 октября. Срок полного оттаивания почвы отмечен 25 апреля (ранний), 30 апреля как средний, и поздний – 5 мая. Запас воды снежного покрова к началу снеготаяния составляет 100-130 мм. Среднегодовое количество осадков – 600 мм, за теплый период – 400 мм. Уровень грунтовых вод за период вегетации способен меняться от 55-60 см в начале до 150-160 см в конце вегетационного периода (Справочник по климату СССР, 1964; Алексашова В.С., 1990).

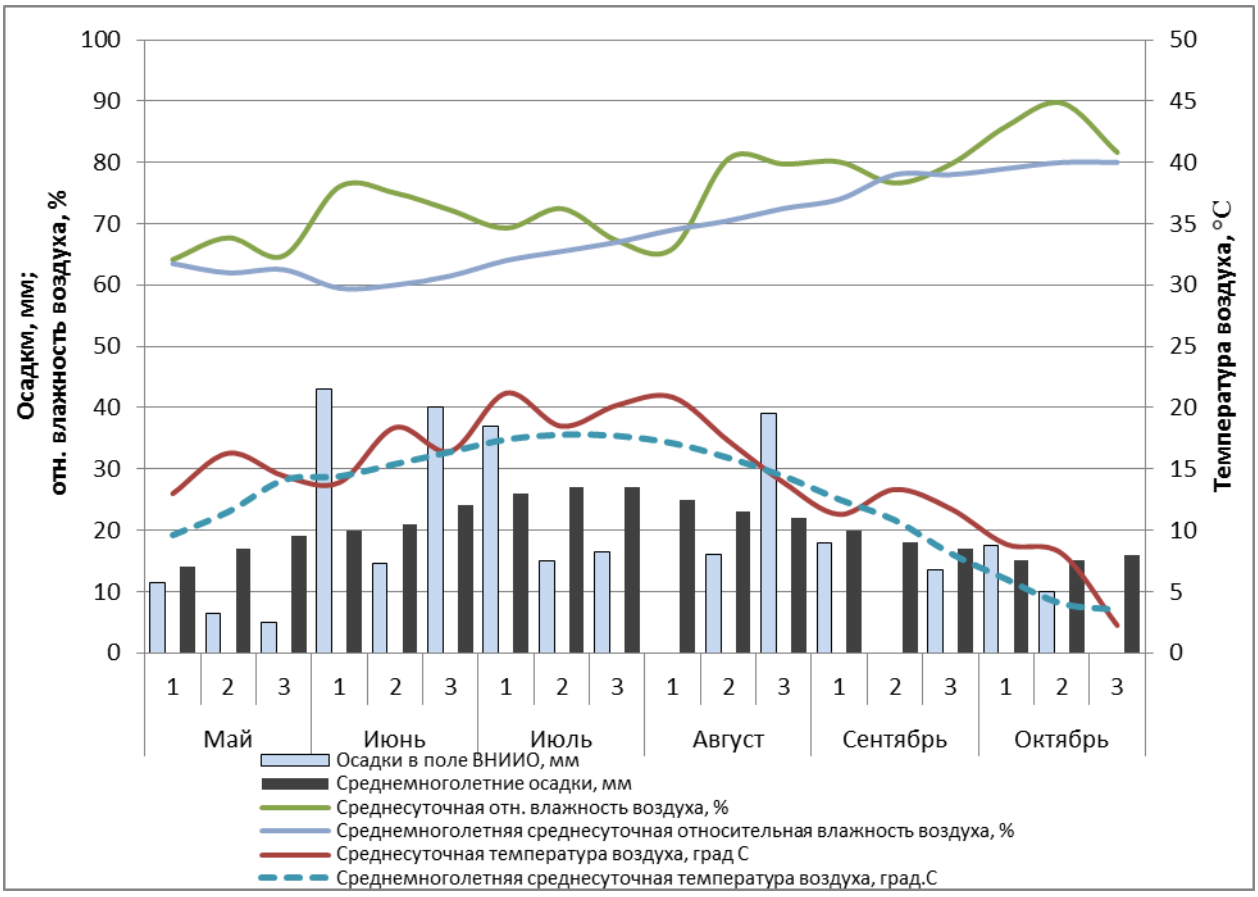
Почва опытного участка супесчаная, содержание гумуса в слое 0-20 см составляет 3,41-3,44%; в слое 20-40 см – 2,91-3,02%. Реакция среды нейтральная – pH солевой вытяжки 6,7. Гидролитическая кислотность 0,72-0,92 мг-экв. на 100 г почвы, содержание суммы поглощенных оснований 46-50 мг-экв. на 100 г почвы. Степень обеспеченности питательными веществами: фосфором – высокая (содержание P_2O_5 в слое 0-20 см составляет 22,78-24,62 мг на 100 г почвы (по Чирикову); калием – низкая, содержание K_2O в слое 20 см – 10,38-17,88 мг на 100 г почвы (по Масловой). Удельный вес почв пахотного слоя 0-25 см составляет

2,61 г/см^3. Капиллярная влагоемкость 43-44%. Гигроскопическая влажность 8,25%. По агрохимическим характеристикам грунта в пленочных теплицах на 100 г почвы содержалось Ca – 0,52 мг, Mg – 0,40 мг, K_2O – 12,2 мг, NO_3 – 4,0 мг, NH_4 – 1,98 мг, P_2O_5 – 5,1 мг; pH солевой вытяжки – 7,2.

2.2.2. Погодные условия вегетационных периодов

Среднемесячная температура воздуха за вегетационный период (май-октябрь) 2012 г. составила 14,4°С и превысила среднемноголетнюю на 1,8°С. В течение всех месяцев вегетационного периода среднесуточная температура была выше средней многолетней, за исключением первой декады июня, третьей декады августа и первой декады сентября, когда среднесуточная температура была ниже среднемноголетней на 0,5-1,2°С. Среднемесячная относительная влажность воздуха в период с мая по октябрь составила 74,9% и оказалась выше среднемноголетней на 5,6% (схема 1).

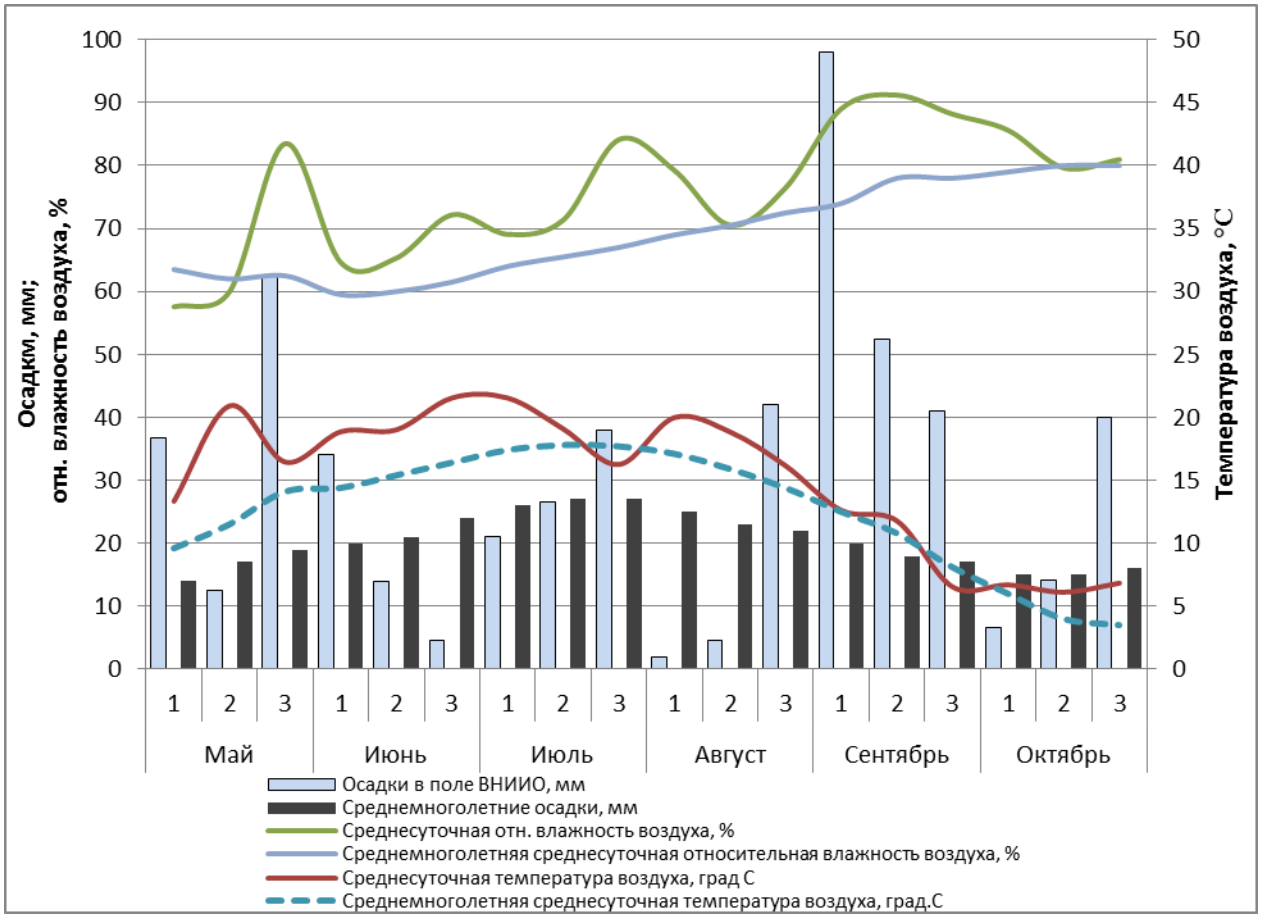
Схема 1. Метеоданные за вегетационный период 2012 г.



Сумма выпавших осадков за весь вегетационный период 2012 г. составила 303,0 мм, что составило 82,8% от среднемноголетнего значения. Весь май, а также период со второй декады июля по вторую декаду августа оказались достаточно засушливыми. Обильными осадками характеризовался июнь, первая декада июля и третья декада августа (схема 1). В целом, погодные условия 2012 года были благоприятными для растений земляники садовой.

Вегетационный период 2013 г. был теплым и очень влажным. Среднемесячная температура воздуха составила 15,1°С, превысив среднемноголетний показатель на 2,5°С. Среднесуточная температура всех месяцев вегетационного периода была выше средней многолетней, кроме последних декад июля и сентября (среднесуточная температура была ниже среднемноголетней на 1,4 и 1,6°С соответственно). Особенно теплыми были май, июнь, начало июля. Среднемесячная относительная влажность воздуха в период с мая по октябрь составила 76,0%, превысив среднемноголетнюю на 6,3% (схема 2).

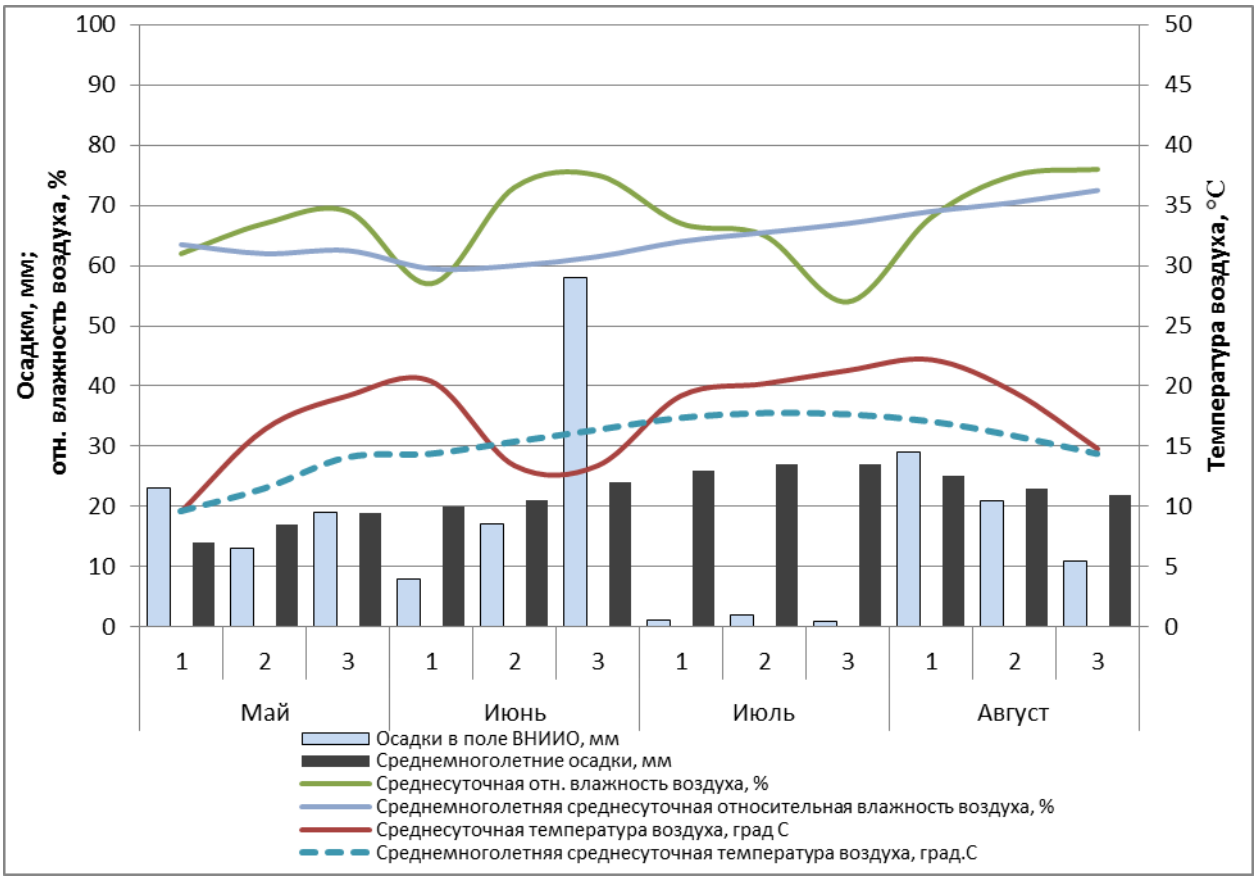
Схема 2. Метеоданные за вегетационный период 2013 г.



Сумма выпавших осадков за весь вегетационный период 2013 г. составила 550,4 мм, что составило 150,4% от среднемноголетнего значения. Особенно обильными осадки были в мае-начале июня, весь июль и в конце августа-сентябре (схема 2). В целом, климатические условия 2013 года были благоприятными для роста и развития растений земляники садовой, однако обильные осадки в июле сказались на вкусовых качествах – ягоды были более водянистыми и менее сладкими.

В сезоне 2014 г. среднемесячная температура воздуха за оцениваемый вегетационный период (май-август) составила 17,5°С и превысила среднемноголетнюю температуру на 2,4°С. Среднесуточная температура на 2-6°С превышала среднемноголетнюю в мае, начале июня, и весь июль и август. Однако середина и конец июня оказались прохладными – среднесуточная температура была ниже среднемноголетней на 2-3°С. Среднемесячная относительная влажность воздуха в период с мая по август составила 67,3% и оказалась выше среднемноголетней на 2,5% (схема 3).

Схема 3. Метеоданные за вегетационный период 2014 г.



Сумма выпавших осадков за вегетационный период 2014 г. составила 203,2 мм, что составило 76,7% от среднемноголетнего значения. Последняя декада июня характеризовалась очень обильными осадками, однако весь последующий месяц оказался засушливым. В остальное время количество выпавших осадков соответствовало среднемноголетним значениям (схема 3). В целом, погодные условия 2014 года были благоприятными для растений земляники садовой, за исключением засушливого июля, в течение которого недостаток влаги компенсировали обильными поливами.

2.3. Материал и методика проведения исследований

2.3.1. Исходный материал

Материалом для исследований являлись лепестки размером 2-3 мм, изолированные из бутонов длиной 3-4 мм, фрагменты оснований листовых дисков размером 2×2 мм, изолированные в фазу раскрытия листа и апексы усов длиной 1-2 мм.

В исследованиях были использованы растения 6 сортов земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.), характеризующихся высокими показателями основных хозяйственно-ценных признаков и различающиеся по усообразующей способности.

Флорина, Эви 2, Эвис Делайт, Тарпан – новые ремонтантные сорта голландской (Флорина, Тарпан) и английской (Эви 2, Эвис Делайт) селекции, интенсивность усообразования слабая (формируют менее 10 усов на растение за сезон).

Сорт Флорина (Florina) выведен в Нидерландах в 2003 г., засухоустойчивый, светолюбивый. Ягоды очень крупные, плотные, сердцевидно-округлой формы, от красного до темно-красного окраса, с отличным вкусом. Пригоден для выращивания в открытом и защищенном грунте, контейнерах, кашпо (Агрофирма «Поиск» http://www.semenasad.ru/zemlanika/category/zemlyanika/).

Сорт Тарпан (Tarpan) выведен в Нидерландах в 1996 г., ампельного типа, розовоцветковый, светолюбивый. Ягоды крупные, продолговатые, дваждыконической формы, очень ароматные. На растении в любое время можно

увидеть бутоны, цветки и созревшие ягоды разной степени развития. Пригоден для выращивания в открытом и защищенном грунте, контейнерах, кашпо (Агрофирма «Поиск» http://www.semenasad.ru/zemlanika/category/zemlyanika/; Bentvelsen G.C.M. et al., 1997, 2006).

Высокоурожайные сорта Эви 2 (Evie 2) и Эвис Делайт (Evies Delight) получены в Великобритании в 2006 г. селекционером Питером Винсоном (http://sweetevestrawberry.co.uk/grower-profiles/). Ягоды очень крупные, плотные, сладкие, с отличным вкусом. Сорта пригодны для выращивания в открытом и защищенном грунте, а также в контейнерах и кашпо (Агрофирма «Поиск» http://www.semenasad.ru/zemlanika/category/zemlyanika/).

Боровицкая – сорт отечественной селекции, получен в 2003 г. от скрещивания сортов Надежда и Редгонтлит во Всероссийском селекционно-технологическом институте садоводства и питомниководства, авторы И.В. Попова, А.У. Зекалашвили. Высокоурожайный сорт универсального назначения, позднего срока созревания, интенсивность усообразования высокая (более 20 усов на одно растение). Ягоды крупные, тупоконической формы, плотные.

Богема – сорт выведен в 2008 г. в Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева, автор Говорова Г.Ф. Высокоурожайный позднеспелый сорт универсального назначения, интенсивность усообразования средняя (формирует 10-20 усов на растение за сезон). Ягоды крупные, ширококонические, плотные. Засухоустойчив, зимостоек, устойчив к многим грибным болезням земляники (Агрофирма «Поиск» http://www.semenasad.ru/zemlanika/category/zemlyanika/).

Образцы исследуемых сортов любезно предоставлены ООО Агрофирмой «Поиск».

2.3.2. Методика лабораторных опытов

Лабораторные исследования проведены в соответствии с «Методическими указаниями по культуре ткани и органов в селекции растений» (Бутенко Р. Г., 1964; Бутенко Р. Г., Хромова Л. М., Седнина Г.А., 1984), по методическим указаниям и рекомендациям «Получение регенерантов овощных культур и их

размножение *in vitro*» (Поляков А.В., 2005), «Микроклональное размножение садовых растений» (Деменко В.И., 2007), «Технология получения оздоровленного от вирусов посадочного материала плодовых и ягодных культур» (Упадышев М.Т. и др., 2013).

Регенерацию растений в культуре *in vitro* проводили на агаризованной питательной среде, имеющей минеральную основу MS (Murashige T., Skoog F., 1962), содержащей сахарозу, регуляторы роста в различных концентрациях, согласно полученным положительным результатам разных авторов. Состав сред определен по литературным данным и имеющимся разработкам отдела биотехнологии ФГБНУ ВНИИО (табл. 1).

Таблица 1 – Состав питательной среды Мурасиге-Скуга (MS)

Компоненты среды	Концентрация, мг/л		
	Среда для индукции морфогенеза эксплантов	Среда для пролиферации побегов	Среда для укоренения побегов
Макроэлементы			
$CaCl_2 \times 2H_2O$ / безводный	440 / 340	440	440
KH_2PO_4	170	170	170
KNO_3	1900	1900	1900
$MgSO_4 \times 7\ H_2O$	370	370	370
NH_4NO_3	1650	1650	1650
Микроэлементы			
$FeSO_4 \times 7\ H_2O$	27,8	27,8	27,8
$Na_2EDTA \times H_2O$	37,3	37,3	37,3
$CoCl_2 \times 6\ H_2O$	0,025	0,025	0,025
$CuSO_4 \times 5\ H_2O$	0,025	0,025	0,025
H_3BO_3	6,2	6,2	6,2
KJ	0,83	0,83	0,83
$MnSO_4 \times H_2O$	16,9	16,9	16,9
$Na_2MoO_4 \times 2\ H_2O$	0,25	0,25	0,25
$ZnSO_4 \times 7\ H_2O$	8,6	8,6	8,6
Органические соединения			
Инозитол	100	100	100
Никотиновая кислота	0,5	0,5	0,5
Пиридоксин × HCl	0,5	0,5	0,5
Тиамин × HCl	0,1	0,1	0,1
Глицин	2,0	2,0	2,0
Сахароза	30000	30000	30000
Агар “Difko”	6000	6000	6000
Гормоны (регуляторы роста)			
6-бензиладенин (БА)	0,5	0,5	-
индолилмасляная кислота (ИМК)	-	0,1	0,5
pH	5,6		

Основу используемой нами питательной среды составляет маточный раствор (шток), содержащий необходимые макро и микроэлементы, витамины и органические соединения по прописи MS. В зависимости от этапа культивирования добавляли фитогормоны в разных сочетаниях и концентрациях Среду готовили по методическим рекомендациям (Поляков А.В., Ткачева А.А., Тарасенков И.И. и др., 2006). Все исходные растворы для приготовления питательных сред хранили в холодильнике при температуре +2…+4°С. Для приготовления 1 литра агаризованной питательной среды использовали 2 колбы объемом 1 литр каждая. На каждой колбе делали отметку, соответствующую объему 500 мл (половина заданного объема). В колбу №1 наливали небольшое количество дистиллированной воды, добавляли 6 г агара и доводили объем до 500 мл дистиллированной водой, после чего колбу с раствором нагревали на электрической плитке до полного растворения агара (раствор должен стать прозрачным). В колбу №2, стоящую на магнитной мешалке, добавляли 100 мл штока, 30 г сахарозы и гормоны в различных сочетаниях и концентрациях в зависимости от этапа культивирования – цитокинины и ауксины, затем доводили объем до 500 мл дистиллированной водой. После растворения компонентов доводили pH раствора до кислотности 5,6 при помощи 1N NaOH, после чего раствор в колбе №2 также нагревали. После того, как растворы в обеих колбах достигали примерно одинаковой температуры и становились прозрачными, содержимое колб сливали в одну и нагревали до появления небольших пузырьков. Приготовленную среду разливали по культивационным сосудам – колбам и пробиркам, изолировали алюминиевой фольгой, затем стерилизовали в автоклаве в режиме 0,75 атм. при температуре 117°С 2 раза по 15 минут. Простерилизованная питательная среда после застывания готова к использованию.

Донорные растения выращивали в защищенном грунте, по широкополосной (двустрочной) схеме посадки 40×70 см, расстояние между растениями в строке – 35-40 см.

Необходимым этапом, предшествующим выделению эксплантов, является стерилизация исходного материала. Для этого бутоны, молодые листья и апикальные фрагменты побегов-усов предварительно выдерживали в мыльном растворе в течение 30 минут, затем в условиях ламинарного бокса замачивали в 1%-ом водном растворе гипохлорита натрия (экспозиция 7 минут), после чего материал трехкратно промывали стерильной водой. Стерильные бутоны, листья и фрагменты побегов препарировали в чашках Петри. Оптимальный размер экспланта для культуры земляники считается 2-3 мм (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2004). Из бутонов выделяли лепестки, из листьев – фрагменты оснований размером 2×2 мм, из побегов-усов – апексы (конус нарастания) длиной 1-2 мм. Выделенные экспланты помещали в культивационные сосуды на питательную среду MS, содержащую 6-бензиладенин (БА) в концентрации 0,5 мг/л. Первые сутки после введения эксплантов в культуру *in vitro* культивационные сосуды содержали в темноте. После чего введенный *in vitro* материал культивировали при температуре +20…+23°С в световой комнате при интенсивности освещения 4000-5000 люкс и 16-ти часовом фотопериоде в течение 4-5 недель. Полученные в ходе морфогенеза побеги разделяли и переносили на среду MS, содержащую БА 0,5 мг/л и индолилмасляную кислоту (ИМК) 0,1 мг/л. После нескольких пассажей, сформировавшиеся трансплантыдлиной 30-40 мм, имеющие не менее трех хорошо развитых листьев, переносили на среду для укоренения, содержащую ИМК в концентрации 0,5 мг/л.

После образования корневой системы, состоящей из 3-5 корней длиной 10-20 мм, растения-регенеранты адаптировали к обычным условиям среды – условиям *ex vitro*. Для адаптации к новому газовому составу, к воздуху с меньшей влажностью и инфекционной нагрузке, в крышках культивационных сосудов проделывали отверстия, которые расширяли по мере адаптации растений. По прошествии 3-7 суток растения-регенеранты осторожно извлекали из культивационных сосудов, помещали под проточную воду, смывая остатки среды с корней, и высаживали в торфяные таблетки. Для лучшей адаптации первые 10-14 суток растения содержали в условиях влажной камеры при 16 часовом

фотопериоде и температуре воздуха +18…+20°С (Поляков А.В., 2005). Когда растения начинали расти и формировали хорошо развитую корневую систему – их высаживали в грунт. Дальнейшее выращивание растений проводили в теплице или в открытом грунте на опытном участке. Схема посадки, агротехника и уход за растениями-регенерантами такие же, как и для обычных растений земляники садовой (см. дальше).

2.3.3. Методика полевых опытов

В полевых опытах применяли стандартную агротехнику выращивания растений земляники садовой. Растения выращивали в условиях открытого и защищенного грунта. Чтобы обеспечить растениям ремонтантных сортов земляники садовой возможность формировать больше придаточных корней, а также достаточную для них площадь питания, растения высаживали по широкополосной (двустрочной) схеме посадки – две строки, объединенные в полосу (расстояние между строками – 40 см, между полосами – 70 см, между растениями в строке – 35-40 см), чтобы растения находились не слишком близко друг к другу (Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н., 2003; Шокаева Д.Б., 2005). Плотность посадки составляла 6 растений на 1 м^2. Посадку проводили осенью (конец августа-сентябрь) или весной (апрель-май).

Перед посадкой в почву вносили органические удобрения (перегной) из расчета 5-6 кг на 1 м^2 и минеральные удобрения (нитрофоска) – 40 г/м^2. Агротехника включала в себя поддержание почвы в рыхлом состоянии, удаление сорняков, внесение подкормок, полив дождеванием, без применения химических средств от вредителей и болезней. Перезимовка растений осуществлялась без применения дополнительных укрытий, под покровом снега. В защищенном грунте растения выращивали в обогреваемой пленочной теплице без дополнительного освещения, посадку производили в октябре.

Полевые исследования проводили в соответствии с методикой опытного дела в овощеводстве и бахчеводстве (Белик В.Ф., 1992), методикой полевого опыта в овощеводстве (Литвинов С.С., 2011), программой и методикой сортоизучения

плодовых, ягодных и орехоплодных культур (ВНИИСПК, 1995; 1999), программой и методикой сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур (Мичуринск, 1973; 1980). Биометрические учеты и фенологические наблюдения выполнялись общепринятыми в плодоводстве методами.

В открытом грунте проводили обработку растений водными растворами регуляторов роста нового поколения: Циркон, Энергия-М и 6-бензиладенин (БА).

Действующее вещество препарата Циркон представляет собой смесь гидроксикоричных кислот, выделенных из лекарственного растения эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea*). Препарат малотоксичен для человека, теплокровных животных (IV класс опасности), практически не опасен для рыб, полезных насекомых и пчел, не фитотоксичен, легко разлагается в окружающей среде. Обладая комплексным характером действия Циркон является одновременно регулятором ростовых, генеративных и корнеобразовательных процессов, индуктором болезнеустойчивости и стрессовым адаптогеном. Препарат высоко экономичен, так как действует уже в чрезвычайно малых дозах (Вакуленко В.В., 2012. http://www.ruspitomniki.ru/articles/page258.php). Циркон является принципиально новым росторегулятором для сельского хозяйства, который по эффективности и экологической безопасности отвечает мировым стандартам (зарегистрирован с 2004 г.) (http://old.nest-m.ru/podukcia/regulatora_rosta/cirkon/).

Препарат «Энергия-М» – новый перспективный кремнеауксиновый регулятор роста растений, зарегистрирован с 2008 г. Основой препарата являются биоактивный кремний и крезацин, относящийся к группе аналогов природных ауксинов, которые участвуют в обмене нуклеиновых кислот, синтезе белков и различных ферментов. Препарат легко усваивается растениями, быстро включается и активизирует обмен веществ, повышает защитные функции растения, устойчивость к стрессам, безопасен для окружающей среды (Ткачук О.А. и др., 2013).

6-бензиладенин (БА) или 6-бензиламинопурин относится к классу цитокининов, обладает многообразным физиологическим действием. БА

оказывает сильное влияние на рост и развитие растений: стимулирует деление клеток, рост молодых листьев, развитие боковых побегов, бутонов, соцветий, усиливает способность клеток притягивать питательные вещества (аттрагирующий эффект). Чаще всего используется в сельском хозяйстве для быстрого роста и увеличения урожая аграрных культур. Используется как компонент готовых удобрений, а также как непосредственный самодостаточный продукт (http://fitogormony.com/бензиламинопурин).

Применяли минимальные дозы содержания действующих веществ: Циркон – концентрация 30 мкл/л, доза 0,9 мкл/м^2, Энергия-М – концентрация 50 мг/л, доза 1,5 мг/м^2 и БА в концентрации 1 мг/л, доза 0,03 мг/м^2. Контрольную группу растений опрыскивали водой. Расход жидкости во всех вариантах – 30 мл/м^2. Концентрации и дозы подобраны исходя из рекомендаций по применению данных препаратов. Опрыскивание проводили утром в сухую безветренную погоду дважды за вегетационный период, в фазу бутонизации и начала цветения.

2.3.4. Оценка материала и обработка экспериментальных данных

При культивировании *in vitro* учитывали долю жизнеспособных эксплантов и побегов, коэффициент размножения (число почек и побегов на эксплант, число почек и побегов на морфогенный конгломерат), долю укоренившихся побегов и адаптировавшихся к условиям *ex vitro* растений-регенерантов.

Количество получаемых на практике растений-регенерантов от одного экспланта рассчитывали по формуле Д. Пеннела (Pennel D., 1981):

$Y = A \cdot B^n \cdot F_1 \cdot F_2 \cdot F_3$,

где Y – потенциальное число производимых растений-регенерантов;

A – число побегов, формирующихся на экспланте;

B – число побегов, получаемых при размножении за один пассаж (коэффициент размножения);

n – число субкультивирований (пассажей);

F – коэффициенты потерь (F_1 – коэффициент получения побегов, пригодных для дальнейших операций; F_2 – коэффициент укоренения; F_3 – коэффициент приживаемости при адаптации).

Коэффициенты потерь представляют собой доли выживших и укоренившихся побегов от общего числа посаженных, коэффициент приживаемости – доля адаптировавшихся к условиям *ex vitro* растений-регенерантов (Pennel D., 1981).

Полевые учеты проводили по методикам селекции и сортоизучения ВНИИС им. И.В. Мичурина (1973, 1980), а также согласно методам учета вредителей и болезней плодовых культур, предложенным Д.А. Титовым (1992).

Растения оценивали по фенологическим, морфологическим, хозяйственно-ценным, биохимическим признакам, устойчивости к болезням.

1. Оценка фенологии.

Отмечали время наступления основных фенофаз растений земляники садовой: начало цветения, созревания ягод и усообразования, окончание плодоношения. Началом фазы считался день, когда ее наступление было отмечено у 10-15% растений по всей делянке, а полной фазой – ее наступление примерно у 75% растений (http://perfectdownloader.ru/selskohozyaystvennye-kultury/138-gosudarstvennoe-sortoispytanie-i-rayonirovanie-sortov-chast-3.html). Процент растений, вступивших в данную фазу, устанавливали глазомерно по наличию соответствующих признаков.

2. Морфологические признаки.

Учитывали число усов (шт./раст.) и дочерних розеток (шт./раст.). Учеты проводили с момента формирования усов и дочерних розеток в течение всего вегетационного периода. За итоговый показатель брали количество усов и розеток в конце вегетационного периода (конец августа), то есть в срок приготовления рассады.

3. Хозяйственно-ценные признаки.

Учитывали компоненты продуктивности: число цветоносов (шт./раст.), число ягод (шт./раст.), среднюю массу ягоды (г), продуктивность (г/раст.) и

урожайность (кг/м^2). Учеты проводили в течение всего периода с начала цветения до окончания плодоношения.

4. Дегустационная оценка.

При проведении дегустации оценивали качество ягод, учитывая внешнюю привлекательность, которая включала оценку размера, формы и окраски ягоды, а также ароматичность и вкус. Оценку производили в баллах.

Показатели качества ягод:

- привлекательность внешнего вида (суммарная оценка величины, формы и окраски ягод), оценивали по 3-балльной шкале:

- *размер:*

3 – ягоды крупные

2 – ягоды средние

1 – ягоды мелкие

- *форма:*

3 – ягоды правильной формы

2 – ягоды малопривлекательные по форме

1 – ягоды непривлекательные по форме, уродливые

- *окраска:*

3 – ягоды с красивой основной и покровной окраской

2 – ягоды малопривлекательные по окраске

1 – ягоды непривлекательные по окраске, плохо окрашенные

- ароматичность ягод, оценивали по 3-балльной шкале:

3 – сильная, ягоды очень ароматные

2 – средняя

1 – слабая

- оценка вкуса, оценивали по 5-балльной шкале:

5 – отличный десертный вкус

4 – хороший столовый вкус

3 – посредственный вкус

2 – плохой вкус, ягоды непригодны для потребления в свежем виде

1 – ягоды несъедобны (Самигуллина Н.С., 2006).

Перед дегустацией все сорта были зашифрованы условными номерами, а подлинное их название объявляли после сбора дегустационных карточек. Оценки дегустаторов обобщали и по каждому показателю подсчитывали средний балл. Суммируя средние баллы, выводили общую оценку качества ягод (максимум 17 баллов).

5. Биохимическая оценка ягод.

Биохимический анализ выполнен в лаборатории агрохимии отдела земледелия и агрохимии ФГБНУ ВНИИО по общепринятым методикам (Плешков Б.П., 1976). К основным показателям, определяющим качество ягод земляники садовой, относятся сухие вещества, аскорбиновая кислота (витамин С) и сахара.

Содержание сухих веществ определяли методом высушивания при температуре 105°С в течение 15 часов, с последующим вычислением воздушно-сухой массы. Метод определения аскорбиновой кислоты основан на ее редуцирующих свойствах, в частности, способности восстанавливать йодат калия до свободного йода, количество которого определяется по реакции с крахмалом. Определение содержания моносахаров проводили по методу Бертрана, основанном на применении феллинговой жидкости (смесь медного купороса с сегнетовой солью в щелочной среде), которая при взаимодействии с раствором сахара окисляет альдегидные и кетонные группы и образуется закись меди. По количеству образовавшейся закиси меди можно судить о содержании сахара в растворе. Сахароза не восстанавливает феллингову жидкость, поэтому ее предварительно гидролизовали под действием соляной кислоты (Плешков Б.П., 1976).

6. Устойчивость к болезням.

Оценку к болезням (белая и бурая пятнистости, серая гниль) проводили на естественном инфекционном фоне в период массового проявления. Степень поражения белой пятнистостью определяли в фазы цветения и плодоношения, бурой пятнистостью и серой гнилью – в фазу плодоношения (Говорова Г.Ф.,

2011). Для оценки устойчивости к заболеваниям применяли визуальный контроль, а также теоретические методы – сравнение, обобщение, анализ и синтез.

Оценку устойчивости растений к листовым пятнистостям (белая, бурая) осуществляли покустно, используя шкалу оценки, разработанную ВНИИР им. Н.И. Вавилова (Говорова Г.Ф., 1986):

0 – отсутствие поражения;

1 – очень слабое поражение, в виде мелких пятен на отдельных листьях;

2 – слабое поражение с хорошо заметными пятнами на отдельных листьях;

3 – среднее, поражена одна треть листьев;

4 – сильное поражение, до половины листьев;

5 – очень сильное поражение: листья поражены по всей длине листовой пластины, растения сильно угнетены.

Оценку степени поражения сортов земляники серой гнилью проводили покустно и отмечали в баллах:

0 – поражения органов нет;

1 – очень слабое поражение (имеются незначительные по величине, редкие пятна);

2 – слабое, поражено до 10% органов;

3 – среднее, поражено до 30% органов;

4 – сильное, поражено до 50% органов;

5 – очень сильное, поражено свыше 50% органов.

Распространенность (P) и развитие (R) болезни рассчитывали по общепринятым формулам:

$$P = a \times 100\% / N,$$

где a – число больных растений,

n – общее число учтенных растений (здоровых и больных).

Степень поражения заболеванием вычисляли по формуле:

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

где R – развитие болезни (%);

∑ab **–** сумма произведений числа больных растений на соответствующий балл поражения;

5 – высший балл шкалы учёта;

n – общее число учтенных растений (здоровых и больных).

Расчет экономической эффективности проводили согласно методическим рекомендациям «Энергетическая оценка технологий выращивания овощей в системе земледелия» (Леунов В.И., Емельянов А.А., 2003). В качестве фиксированных ставок использовали: оплата труда за месяц с начислениями – 6300 руб.; 1 КВт/ч – 4,07 руб., 1 Гкал/м^2 – 1652,71 руб., 1 м^3 холодной воды – 16,38 руб., стоимость 1 л питательной среды – 1000 руб., стоимость оборудования: автоклав – 120 000 руб., ламинарный бокс – 140 000 руб., световая установка – 100 000 руб., сплит-система – 75 000 руб.

Математическая обработка экспериментальных данных

Статистическую обработку данных проводили по методическим рекомендациям Б.А. Доспехова (1985, 2011), С.С. Литвинова (2011).

Ошибку выборочной доли (*Sp*) – меру отклонения доли признака выборочной совокупности по всей генеральной совокупности – вычисляли по формуле:

$$S_p = \sqrt{\frac{p \times q}{n}} \quad ,$$

где *p* и *q* – выборочные доли признака, выраженные в процентах;

n – объем выборки.

Дисперсионный анализ был выполнен с помощью компьютерной программы для статистической оценки и анализа результатов полевых и лабораторных опытов «AgCStat» в виде надстройки к Microsoft Office Excel.

Достоверность различий определяли путем оценки существенной разницы при уровне значимости t_{05} (95%-ый уровень вероятности) с помощью доверительного интервала:

$$\bar{x} \pm tS_{\bar{x}},$$

где $tS_{\bar{x}}$ – предельная ошибка выборочной средней при данном числе степеней своды и принятом уровне значимости.

2.4. Схема исследований

Опыт 1. **Оценка ремонтантных сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью, в условиях открытого и защищенного грунта**

Ремонтантные сорта Тарпан, Эви 2, Эвис Делайт и Флорина, а также сорта позднего срока созревания Боровицкая и Богема изучали в условиях открытого и защищенного грунта по основным морфологическим и хозяйственно-ценным признакам, а также по фенологии и устойчивости к болезням. Растения, полученные из розеточной рассады, высаживали в обогреваемую пленочную теплицу без дополнительного освещения. Оценивали сроки наступления основных фенофаз: цветение, плодоношение, усообразование, определяли сроки начала и окончания плодоношения. Оценивали усообразующую способность (число усов и дочерних розеток), среднюю и максимальную массу ягоды, дегустационные качества, продуктивность и урожайность, степень поражения микозами (белая и бурая пятнистости, серая гниль).

Опыт 2. **Изучение влияния регуляторов роста на усообразующую способность и продуктивность ремонтантных сортов земляники садовой в условиях открытого грунта**

В опыте использовали растения ремонтантных сортов, характеризующиеся низкой усообразующей способностью: Тарпан, Эвис Делайт, Эви 2 и Флорина, полученные из розеточной рассады. Изучали эффект воздействия регуляторов роста – препаратов Циркон, Энергия-М и цитокинина 6-бензиладенин (БА) на растения первого и второго года жизни. Растения высаживали в период 20-25 мая. Обработку растений проводили растворами препаратов в следующих

концентрациях: Циркон – 30 мкл/л, доза 0,9 мкл/м^2, Энергия-М – 50 мг/л, доза 1,5 мг/м^2, БА – 1 мг/л, доза 0,03 мг/м^2. Контрольную группу растений опрыскивали водой. Расход жидкости – 30 мл/м^2. Опрыскивание проводили утром в сухую безветренную погоду дважды за вегетационный период, в фазу бутонизации и начала цветения. Учет проводили по признакам: доля растений с усами (%), число усов (шт./раст.), число дочерних розеток (шт./раст.), средняя масса ягоды (г), продуктивность (г/раст.), урожайность (кг/м^2).

Опыт 3. **Изучение регенерационной активности *in vitro* апекса уса и фрагмента листа земляники садовой**

В опыте использовали растения ремонтантных сортов Тарпан, Эвис Делайт, Флорина, характеризующиеся низкой усообразующей способностью, и сорт с интенсивным усообразованием – Боровицкая.

Для введения в культуру использовали апексы молодых побегов-усов длиной 1-2 мм и фрагменты оснований листовых пластинок размером 2×2 мм. В каждом варианте – по 30 культуральных сосудов, в каждом сосуде – по 2-3 эксплантa, проводили 3 закладки. Культивирование проводили на питательной среде MS, содержащей 30 г/л сахарозы, 6 г/л агара, pH 5,6. На этапе введения эксплантов среда содержала БА в концентрации 0,5 мг/л. Полученные в ходе опыта трансплантaты переносили на среду MS с содержанием 0,5 мг/л БА и 0,1 мг/л ИМК. Для укоренения развитые побеги переносили на среду с содержанием 0,5 мг/л ИМК. После образования корневой системы регенеранты высаживали в торфяные таблетки и адаптировали к условиям *ex vitro*. Учет вели по следующим признакам: доля жизнеспособных эксплантов (%), число почек и побегов (шт./эксплант, шт./конгломерат), доля укоренившихся побегов (%), доля регенерантов, адаптировавшихся в условиям *ex vitro* (%), число получаемых на практике растений-регенерантов (шт./эксплант) (по формуле Д. Пеннела).

Опыт 4. **Изучение регенерационной активности *in vitro* лепестка земляники садовой**

В опыте использовали растения ремонтантных сортов Тарпан, Эвис Делайт, Флорина, характеризующиеся низкой усообразующей способностью, и сорт с интенсивным усообразованием – Боровицкая.

Материалом для исследования являлись лепестки размером 2-3 мм, изолированные из закрытых бутонов длиной 3-4 мм. В каждом варианте – по 5-20 культуральных сосудов, в каждом сосуде – по 4-5 эксплантов, проводили 3 закладки. Культивирование проводили на среде MS с тремя вариантами сочетаний гормонов: 1) БА 0,5 мг/л – стандартный вариант; 2) БА 1 мг/л + НУК 0,1 мг/л; 3) БА 2 мг/л + НУК 2 мг/л. Учитывали долю жизнеспособных эксплантов (%), долю морфо- и каллусогенных эксплантов (%), число почек и побегов (шт./эксплант, шт./конгломерат), долю укоренившихся побегов (%), долю регенерантов, адаптировавшихся в условиям *ex vitro* (%).

Опыт 5. **Оценка растений-регенерантов R_0 земляники садовой**

Растения-регенеранты R_0 апикального происхождения сортов Тарпан, Эвис Делайт, Флорина и Боровицкая изучали в условиях открытого грунта и сравнивали их с растениями этих же сортов, полученных традиционным способом размножения – из розеток. В качестве стандарта был выбран отечественный сорт Богема, характеризующийся высокими показателями хозяйственно-ценных признаков. На примере сортов Тарпан и Боровицкая изучали проявление признаков в поле у растений-регенерантов R_0 в зависимости от их происхождения – из апекса уса, фрагмента листа или лепестка. Растения высаживали в открытый грунт середине мая. Отмечали наличие или отсутствие морфозов, характер отклонений от сортовых признаков (положительные или отрицательные).

Растения оценивали по признакам:

- усообразующая способность: доля растений с усами (%), число усов (шт./растение), число дочерних розеток (шт./раст.);

- компоненты продуктивности: число цветоносов (шт./раст.), число ягод (шт./раст.), средняя масса ягоды (г), продуктивность (г/раст.), урожайность (кг/м^2).

- биохимическая оценка ягод (сухое вещество, аскорбиновая кислота, сахара);

- устойчивость к микозам (белая и бурая пятнистости, серая гниль) на естественном инфекционном фоне: распространенность (%) и развитие (%) болезни.

3. УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРИЕМОВ ТРАДИЦИОННОГО СПОСОБА РАЗМНОЖЕНИЯ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ

3.1. Характеристика сортов земляники садовой в условиях открытого и защищенного грунта

В предварительных исследованиях нами была произведена оценка более 80 сортов земляники садовой. Для подробного изучения выделены ремонтантные сорта Тарпан, Эвис Делайт, Эви 2, Флорина, характеризующиеся низкой усообразующей способностью, и сорта позднего срока созревания Боровицкая и Богема.

Данные сорта были изучены в полевых условиях по основным морфологическим и хозяйственно-ценным признакам, а также по фенологии и устойчивости к болезням.

Наблюдения за интенсивностью усообразования показали, что ремонтантные сорта действительно формируют очень малое количество усов (2,2-4,5 штук на растение) и дочерних розеток (2,5-3,8 штук на растение). Более того, некоторые растения сортов Тарпан, Эвис Делайт и Эви 2 так и не образовали усов в течение всего сезона. На второй год вегетации интенсивность усообразования повышалась у сорта Флорина, а у остальных сортов – не существенно. Максимальное число усов достигало 6-10 штук, в среднем формировалось 3,3-8,1 усов и 2,7-7,3 дочерних розеток на одно растение. Некоторые растения сортов Тарпан и Эви 2 по-прежнему оставались безусыми. Растения сорта Боровицкая формировали и в первый, и во второй годы вегетации большое количество усов и дочерних розеток, в среднем 20-24 штуки на растение. Сорт Богема характеризуется средней усообразующей способностью, среднее число усов составило 12-13 штук, а дочерних розеток – 11 штук на растение (табл. 2).

Таблица 2 – Характеристика сортов земляники садовой по усообразующей способности в условиях открытого грунта в первый и второй годы вегетации (n = 24), 2012-2014 гг.

Сорт	Год вегетации	Число вегетативных образований на растении			
		усы, шт.		дочерние розетки, шт.	
		$\bar{X}$	min-max	$\bar{X}$	min-max
Тарпан	1	2,8	0-4	3,2	0-4
	2	2,3	0-4	2,5	0-3
Эвис Делайт	1	3,3	0-7	3,0	1-5
	2	3,5	2-8	3,8	2-6
Эви 2	1	2,2	0-5	2,5	0-4
	2	3,3	0-6	2,7	1-5
Флорина	1	4,5	3-7	3,5	2-7
	2	8,1	3-10	7,3	3-9
Боровицкая	1	23,8	17-30	23,7	14-35
	2	20,4	13-28	21,7	12-26
Богема	1	12,3	6-16	11,1	5-18
	2	13,5	5-16	10,8	6-17

Благодаря более интенсивному росту и развитию в условиях защищенного грунта у растений ремонтантных сортов формировалось в 4,0-7,1 раза больше усов и в 4,3-6,4 раза больше дочерних розеток, чем в открытом грунте. Выход дочерних розеток от одного растения в среднем составил от 14 до 20 штук в зависимости от сорта (табл. 3).

Таблица 3 – Характеристика сортов земляники садовой по усообразующей способности в условиях открытого и защищенного грунта (n = 24), 2012-2014 гг.

Сорт	Условия выращивания, грунт	Среднее число усов, шт./раст.	Среднее число дочерних розеток, шт./раст.
Тарпан	открытый	2,8	3,2
	защищенный	11,2	13,8
Эвис Делайт	открытый	3,3	3,0
	защищенный	17,3	18,8
Эви 2	открытый	2,2	2,5
	защищенный	15,6	16,1
Флорина	открытый	4,5	3,5
	защищенный	18,7	20,5
Боровицкая	открытый	23,8	23,7
	защищенный	30,2	34,1
Богема	открытый	12,3	11,1
	защищенный	18,5	17,4

Как показали исследования, изучаемые ремонтантные сорта характеризуются высокими показателями хозяйственно-ценных признаков. Ягоды сортов Эвис Делайт, Эви 2 и Флорина крупные, в среднем по 16-17 г, максимальная масса ягоды достигает 35 г (рис. 1). Продуктивность в первый год вегетации составляла 260-300 г с растения, а урожайность при плотности посадки 6 растений/м^2 – 1,6-1,8 кг/м^2. Ягоды сорта Тарпан более мелкие – около 10 г, максимальная масса достигала 20 г, но многочисленные, продуктивность в первый год составляла 250 г с растения (рис. 1).

Эви 2

Тарпан

Рисунок 1 – Характерное плодоношение ремонтантных сортов земляники садовой

На второй год размер ягод у всех сортов в целом сохранялся прежним, но продуктивность и урожайность несколько снижались: у сортов Эвис Делайт, Эви 2 и Флорина до 200-230 г с растения, урожайность – до 1,2-1,4 кг/м^2. У сорта Тарпан – 190 г с растения и 1,2 кг/м^2. У сорта Боровицкая продуктивность и урожайность на второй год повышались в 2,1 раза, урожайность достигала 1,3 кг/м^2, у сорта Богема – сохранялись прежние показатели – 1,6-1,7 кг/м^2 (табл. 4).

Таблица 4 – Структура урожая сортов земляники садовой в условиях открытого грунта в первый и второй годы вегетации (n = 24), 2012-2014 гг.

Сорт	Год вегетации	Масса ягоды, г		Продуктив-ность, г/раст.	Урожайность, кг/м^2
		средняя	максимальная		
Тарпан	1	10,3	20	247,5	1,5
	2	10,8	17	188,0	1,2
Эвис Делайт	1	16,2	35	303,4	1,8
	2	16,4	35	227,0	1,4
Эви 2	1	15,8	35	267,9	1,6
	2	15,1	35	203,9	1,2
Флорина	1	17,2	35	293,5	1,7
	2	16,3	33	213,1	1,3
Боровицкая	1	11,6	18	104,56	0,6
	2	12,8	18	214,7	1,3
Богема	1	14,3	23	260,45	1,6
	2	13,2	23	274,3	1,7
$НСР_{05}$		-	-	-	0,3

В условиях защищенного грунта по показателям продуктивности у сортов Тарпан, Эвис Делайт и Эви 2 отмечены положительные изменения. Средняя масса в целом сохранялось такой же, как и в открытом грунте, а продуктивность и урожайность повышались в 1,3-2,3 раза, достигая в лучших вариантах 600 г/раст. и 3,4 кг/м^2 (Тарпан) (табл. 5).

Таблица 5 – Структура урожая сортов земляники садовой в условиях открытого и защищенного грунта (n = 24), 2012-2014 гг.

Сорт	Условия выращивания, грунт	Масса ягоды, г		Продуктив-ность, г/раст.	Урожай-ность, кг/м^2
		средняя	максималь-ная		
Тарпан	открытый	10,3	20	247,5	1,5
	защищенный	10,9	23	608,7	3,4
Эвис Делайт	открытый	16,2	35	303,4	1,8
	защищенный	17,6	35	380,4	2,2
Эви 2	открытый	15,8	35	267,9	1,6
	защищенный	16,2	37	446,0	2,7
Флорина	открытый	17,2	35	293,5	1,7
	защищенный	16,1	35	236,8	1,4
Боровицкая	открытый	11,6	18	104,6	0,6
	защищенный	13,7	20	91,4	0,5
Богема	открытый	14,3	23	260,5	1,6
	защищенный	15,1	23	232,6	1,3
$НСР_{05}$		-	-	-	0,3

У сортов Флорина, Боровицкая и Богема не отмечалось такого эффекта, показатели продуктивности и урожайности в защищенном грунте был даже несколько ниже, чем в открытом. Вероятно, это связано с тем, что в условиях теплицы у данных сортов процесс усообразования начинался значительно раньше процесса плодоношения (на 14-24 суток), что в дальнейшем препятствовало активному плодоношению (табл. 5, 6)

В условиях защищенного грунта процессы роста и развития протекают более интенсивно, отмечается более ранее наступление фенофаз. У растений ремонтантных сортов земляники садовой, посаженных в октябре в обогреваемую пленочную теплицу, цветение начиналось 10-18 апреля, то есть примерно на месяц раньше, чем в открытом грунте. Начало созревания ягод в условиях теплицы отмечалось 6-12 мая, в то время как в открытом грунте начало плодоношения зафиксировано 9-12 июня (табл. 6).

Усы в условиях защищенного грунта начинали формироваться в конце апреля - начале мая, что на 40-47 суток раньше, чем в открытом грунте (табл. 6). К середине мая на усах развивались полноценные дочерние розетки с корнями, которые можно отделять от материнских растений и высаживать в открытый грунт.

Таблица 6 – Сроки наступления основных фенофаз растений земляники садовой в условиях открытого и защищенного грунта (n = 24), 2013-2014 гг.

Сорт	Условия выращивания, грунт	Начало цветения	Начало созревания ягод	Начало усообразования
Тарпан	открытый	12.05.	09.06.	12.06.
	защищенный	10.04.	06.05.	29.04.
Эвис Делайт	открытый	12.05.	09.06.	15.06.
	защищенный	14.04.	08.05.	29.04.
Эви 2	открытый	12.05.	09.06.	15.06.
	защищенный	10.04.	06.05.	05.05.
Флорина	открытый	15.05.	12.06.	12.06.
	защищенный	18.04.	12.05.	29.04.
Боровицкая	открытый	20.05.	18.06.	12.06.
	защищенный	07.04.	15.05.	21.04.
Богема	открытый	20.05.	12.06.	12.06.
	защищенный	10.04.	15.05.	21.04.

Характеристика периода плодоношения в открытом грунте показала, что у растений сортов Тарпан, Эвис Делайт, Эви 2 и Флорина отмечены ранние сроки созревания ягод (5-12.06.). У сортов Богема и Боровицкая созревание ягод наступало несколько позже – 12-18.06. и продолжалось примерно до 10 июля. У ремонтантных сортов плодоношение длилось до конца июля, после чего наступал период покоя продолжительностью около двух недель. В середине первой декады августа (5.08.) у ремонтантных сортов начиналась вторая волна плодоношения, которая продолжалась до конца сентября. Общая продолжительность плодоношения у ремонтантных сортов составляет около 100 суток, тогда как у обычных сортов позднего срока созревания не более 30 суток (табл. 7).

Таблица 7 – Сроки плодоношения сортов земляники садовой в условиях открытого грунта, 2013-2014 гг.

Сорт	Начало плодоно-шения	Для ремонтантных сортов		Окончание плодоно-шения	Период плодоно-шения, сутки
		период покоя	начало 2-ой волны плодоношения		
Тарпан	09.06.	20.07.-04.08.	05.08.	25-30.09.	98
Эвис Делайт	05.06.	20.07.-04.08.	05.08.	25-30.09.	102
Эви 2	05.06.	20.07.-04.08.	05.08.	25-30.09.	102
Флорина	12.06.	20.07.-04.08.	05.08.	25-30.09.	95
Боровицкая	18.06.	-	-	08-10.07.	23
Богема	12.06.	-	-	08-10.07.	28

Дегустационная оценка позволила дать характеристику вкусовых качеств ягод. Результаты у всех исследуемых нами сортов оказались близкими. Ягоды обладали привлекательным внешнем видом (особенно у сорта Эвис Делайт), приятным ароматом (наиболее ароматны ягоды сорта Тарпан) и хорошим вкусом (наиболее высокая оценка у сорта Флорина). По всему комплексу признаков, при максимальной суммарной оценке 17 баллов, наивысший показатель был у ягод сорта Эвис Делайт (15,7 балла), у сортов Эви 2 и Флорина – по 14,9 балла, у сорта Тарпан – 14,1 балла (табл 8).

Таблица 8 – Дегустационная оценка ягод ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью, 2013 г.

Показатели качества ягод		Тарпан	Эвис Делайт	Эви 2	Флорина
Внешняя привлекательность (3-балльн. шкала)	размер	2,3	3,0	3,0	2,8
	форма	2,4	3,0	2,8	2,6
	окраска	2,6	3,0	2,6	2,6
Ароматичность (3-балльн. шкала)		2,6	2,4	2,2	2,4
Вкус (5-балльн. шкала)		4,2	4,3	4,3	4,5
Итого: суммарная оценка, максимум 17 баллов		14,1	15,7	14,9	14,9

Изучение устойчивости сортов земляники садовой к микозам на естественном инфекционном фоне показало, что наименее восприимчивы к болезням растения сортов Эвис Делайт, Эви 2 и Флорина. Степень поражения белой пятнистостью у данных сортов от 3,2 до 6,3%, серой гнилью – 7,6-9,2%, а поражений бурой пятнистостью не было отмечено. Сорта Тарпан и Богема были менее устойчивы, степень развития изученных болезней была выше (у Тарпана – до 18,8%, у Богемы – до 16,7%), а растения сорта Боровицкая оказались наиболее восприимчивыми к данным микозам (до 40,8%) (табл.9).

Таблица 9 – Распространенность (P) и развитие (R) болезней у сортов земляники садовой в условиях открытого грунта (n = 24), 2013-2014 гг.

Сорт	Белая пятнистость		Бурая пятнистость		Серая гниль	
	P, %	R, %	P, %	P, %	R, %	P, %
Тарпан	58,3	18,3	22,9	5,4	62,5	18,8
Эвис Делайт	16,7	3,8	0	0	18,8	8,8
Эви 2	13,8	3,2	0	0	17,4	7,6
Флорина	14,6	6,3	0	0	18,8	9,2
Боровицкая	77,1	40,8	39,6	10,0	68,8	27,5
Богема	31,3	6,7	20,8	9,6	52,1	16,7

Изучение ремонтантных сортов Тарпан, Эвис Делайт, Эви 2 и Флорина показало, что растения этих сортов формируют малое количество усов – не более 4-7 штук за вегетационный сезон, в среднем 2,3-8,1 усов на растение. Данные

сорта обладают комплексом хозяйственно-ценных признаков: продуктивность достигает 300 г с растения, урожайность – 1,8 кг/м^2, ягоды крупные, обладают привлекательным внешним видом, ароматные, с высокими вкусовыми качествами. Ремонтантные сорта Эвис Делайт, Эви 2 и Флорина обладают высокой устойчивостью к болезням (серая гниль, белая и бурая пятнистости).

Таким образом, данные ремонтантные сорта помимо длительного периода плодоношения (с июня до конца сентября) характеризуются высокой продуктивностью и качеством ягод, низкой усообразующей способностью (что очень удобно при уходе за насаждениями), а также высокой устойчивостью к микозам. Все эти достоинства подтверждают их несомненную востребованность и перспективность на современном рынке. Однако низкая интенсивность усообразования затрудняет размножение данных сортов дочерними розетками и ставит вопрос о способе их размножения.

В условиях защищенного грунта растения данных сортов в более ранние сроки начинали формировать усы и дочерние розетки, а также цвести и плодоносить. Благодаря более интенсивному протеканию процессов и продлению периоду вегетации в 4,3-6,4 раза повышается выход дочерних розеток по сравнению с открытым грунтом, в 1,3-2,3 раза увеличивается продуктивность и урожайность. Ускоренное формирование молодых розеток в условиях теплицы дает возможность получения свежей рассады непосредственно к срокам весенней посадки земляники в открытом грунте. Выращивание ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью позволяет получить в среднем от 14 до 21 дочерних розеток в зависимости от сорта с одного растения за полгода.

3.2. Влияние регуляторов роста на усообразующую способность и продуктивность растений земляники садовой

Нами были предприняты попытки повысить интенсивность усообразования у ремонтантных сортов Тарпан, Эвис Делайт, Эви 2 и Флорина путем применения современных регуляторов роста.

В исследованиях мы использовали современные высокоэффективные регуляторы роста – препараты Циркон, Энергия-М и цитокинин 6-бензиладенин (БА). Все изученные вещества оказывали стимулирующее воздействие на вегетативные и репродуктивные процессы растений земляники садовой. Эффективность воздействия данных веществ зависела от сорта и года вегетации растений.

Не у всех контрольных растений изучаемых сортов формировались усы, однако применение регуляторов роста способствовало уменьшению числа безусых растений, а у сортов Эвис Делайт и Флорина доля растений, сформировавших усы после обработки препаратами, достигала 100%.

Регуляторы роста Энергия-М и БА оказывали стимулирующее действие на интенсивность усообразования и число образовавшихся дочерних розеток, но в большинстве случаев различия с контролем были несущественными (кроме сорта Эвис Делайт). Наиболее эффективным оказался Циркон. Обработка растений первого года жизни данным препаратом в 1,2-2,3 раза увеличивала число усов и в 1,5-2,3 раза число дочерних розеток в зависимости от сорта (рис. 2).

При обработке растений на второй год вегетации стимулирующее действие Циркона сохранялось: число усов увеличилось в 1,2-1,8 раза, дочерних розеток – в 1,5-2,0 раза. Под воздействием данного препарата среднее число дочерних розеток на растении в первый год вегетации составляло 5-6 штук, а во второй год достигало 6-11 штук. Исключение составили растения сорта Тарпан, у которых на второй год интенсивность усообразования снизилась по сравнению с первым годом вегетации (табл. 10).

Таблица 10 – Влияние регуляторов роста на усообразование растений земляники садовой в условиях открытого грунта (n = 24), 2012-2013 гг.

Сорт	Вариант обработки растений	1-й год вегетации			2-й год вегетации		
		доля растений с усами, %	образовалось усов, шт./раст.	образовалось дочерних розеток, шт./раст.	доля растений с усами, %	образовалось усов, шт./раст.	образовалось дочерних розеток, шт./раст.
Тарпан	контроль	58,3±14,2	2,8	3,2	58,3±14,2	2,3	2,5
	БА	75,0±12,5	2,7	3,2	83,3±10,8	2,4	3,1
	Энергия-М	75,0±12,5	3,1	3,4	75,0±12,5	2,1	2,4
	Циркон	83,3±10,8	**5,2**	**4,9**	83,3±10,8	2,8	3,2
Эвис Делайт	контроль	83,3±10,8	3,3	3,0	100±0	3,5	3,8
	БА	91,6±8,0	**4,8**	3,4	100±0	4,2	4,2
	Энергия-М	100±0	**5,2**	3,6	100±0	4,8	**5,3**
	Циркон	100±0	**7,6**	**5,6**	100±0	**6,3**	**6,1**
Эви 2	контроль	66,7±13,6	2,2	2,5	75,0±12,5	3,3	2,7
	БА	75,0±12,5	2,3	3,5	83,3±10,8	4,0	3,8
	Энергия-М	66,7±13,6	2,2	3,0	100±0	2,8	2,8
	Циркон	91,6±8,0	**3,4**	**5,8**	100±0	4,2	**5,5**
Флорина	контроль	91,6±8,0	4,5	3,5	100±0	8,1	7,3
	БА	100±0	4,7	4,0	100±0	9,4	8,4
	Энергия-М	100±0	5,0	5,0	100±0	8,5	8,1
	Циркон	100±0	5,6	**5,1**	100±0	**10,0**	**10,6**

а б

Рисунок 2 – Усообразование у растений сорта Эвис Делайт первого года жизни: а – контрольная группа; б – растения, обработанные Цирконом

Показатели продуктивности под действием регуляторов роста также возрастали, лучший эффект показали БА и Циркон. Под действием обработки бензиладенином продуктивность и урожайность растений первого года жизни возрастала в 1,3-1,6 раза в зависимости от сорта, а обработка данными веществами во второй год вегетации увеличивала урожайность в 1,6-2,3 раза по сравнению с контролем.

Обработка растений Цирконом в первый год повышала среднюю массу ягод на 16-38%, а продуктивность и урожайность в 1,3-1,8 раза в зависимости от сорта. Повторная обработка растений на второй год повышала массу ягод на 11-29%, а показатели продуктивности и урожайности превосходили контроль в 1,5-2,4 раза. В лучшем варианте – у сорта Эвис Делайт, урожайность достигала 530 г/раст. и 3,3 кг/м^2 (табл. 11).

Таблица 11 – Влияние регуляторов роста на продуктивность и урожайность растений земляники садовой в условиях открытого грунта (n = 24), 2012-2013 гг.

Сорт	Вариант обработки растений	1-й год вегетации			2-й год вегетации		
		средняя масса ягоды, г	продук-тивность, г/раст.	урожай-ность, кг/м^2	средняя масса ягоды, г	продук-тивность, г/раст.	урожай-ность, кг/м^2
Тарпан	контроль	10,3	247,5	1,5	9,8	188,0	1,1
	БА	10,9	298,0	**1,9**	11,2	236,4	**1,4**
	Энергия-М	11,8	287,1	1,8	11,5	243,5	**1,5**
	Циркон	12,8	301,8	**1,9**	12,6	272,5	**1,6**
Эвис Делайт	контроль	16,2	303,4	1,8	16,4	227,0	1,4
	БА	17,1	472,1	**2,9**	18,2	532,0	**3,2**
	Энергия-М	16,5	332,7	2,1	16,6	245,3	1,5
	Циркон	18,9	533,7	**3,3**	18,2	526,1	**3,3**
Эви 2	контроль	15,8	267,9	1,6	15,1	203,8	1,2
	БА	17,9	429,1	**2,6**	17,7	405,3	**2,4**
	Энергия-М	16,7	284,0	1,8	16,8	236,8	1,5
	Циркон	19,7	369,0	**2,3**	19,2	309,7	**2,0**
Флорина	контроль	17,2	293,5	1,7	16,3	213,1	1,3
	БА	18,6	420,5	**2,5**	17,8	328,8	**2,1**
	Энергия-М	17,3	307,8	1,8	16,7	248,2	1,5
	Циркон	19,9	406,4	**2,4**	19,2	346,8	**2,1**
$НСР_{05}$		-	-	0,4	-	-	0,3

Таким образом, характеризуясь сортоспецифичностью, препараты Циркон, Энергия-М и БА оказывали общий стимулирующий эффект на растения земляники садовой. Обработка растений ремонтантных сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью, препаратом Циркон в концентрации 30 мкл/л позволяет в 1,2-2,3 раза увеличить количество формирующихся усов и дочерних розеток и в 1,3-2,4 раза повысить продуктивность и урожайность в зависимости от сорта и года вегетации.

Тем не менее, выход дочерних розеток остается небольшим – не более 5-10 штук с растения за сезон. Применение регулятора роста Циркон может быть эффективным для использования в небольших частных фермерских хозяйствах и позволит получать достаточные объемы посадочного материала для обновления небольших плантаций.

Выход посадочного материала можно повысить путем усовершенствования приемов традиционного способа размножения земляники садовой.

Применение регулятора роста нового поколения Циркон в концентрации 30 мкл/л позволяет в 1,5-2,3 раза повысить интенсивность усообразования и выход дочерних розеток и получать до 10 розеток с растения в зависимости от сорта. Выращивание маточных растений в условиях защищенного грунта также способствует увеличению объемов рассады: благодаря продлению периода вегетации растения формируют в 4,3-6,4 раза больше дочерних розеток и с одного растения можно получить до 21 розетки (рис. 3).

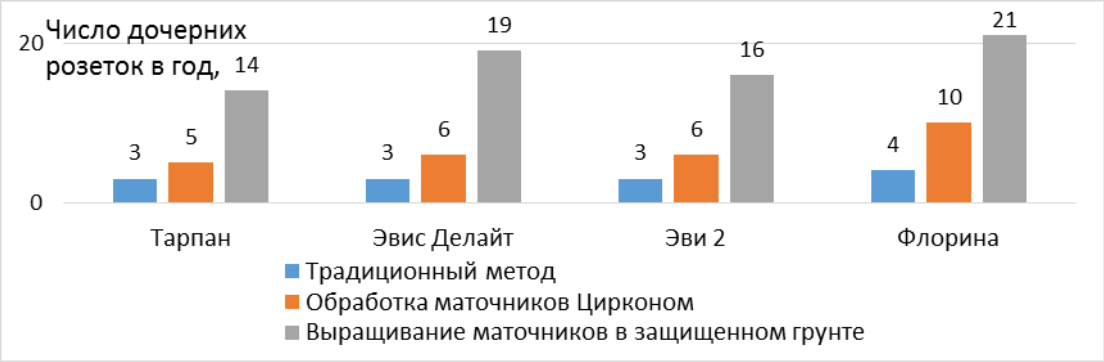


Рисунок 3 – Повышение эффективности традиционного способа размножения сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью

4. ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ КЛОНАЛЬНОГО *IN VITRO* РАЗМНОЖЕНИЯ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ

4.1. Культивирование *in vitro* апекса уса и фрагмента листа

Современная технология клонального микроразмножения земляники основана на культивировании апикальных меристем (Шевелуха В.С., 2003). Для культивирования *in vitro* земляники садовой наиболее часто применяются апексы побегов-усов. В исследованиях В.А. Высоцкого, Л.В. Алексеенко (1998), Г.Ф. Говоровой (2004), В.И. Деменко (2006) и др. показано, что данный тип эксплантa является оптимальным для массового *in vitro* размножения земляники садовой. Отработанная технология культивирования была апробирована нами на новых ремонтантных сортах земляники, характеризующихся низкой усообразующей способностью, ранее не размножаемых *in vitro*. Для введения в культуру использовали апексы молодых побегов-усов длиной 1-2 мм и фрагменты оснований листовых пластинок размером 2×2 мм (рис. 4).

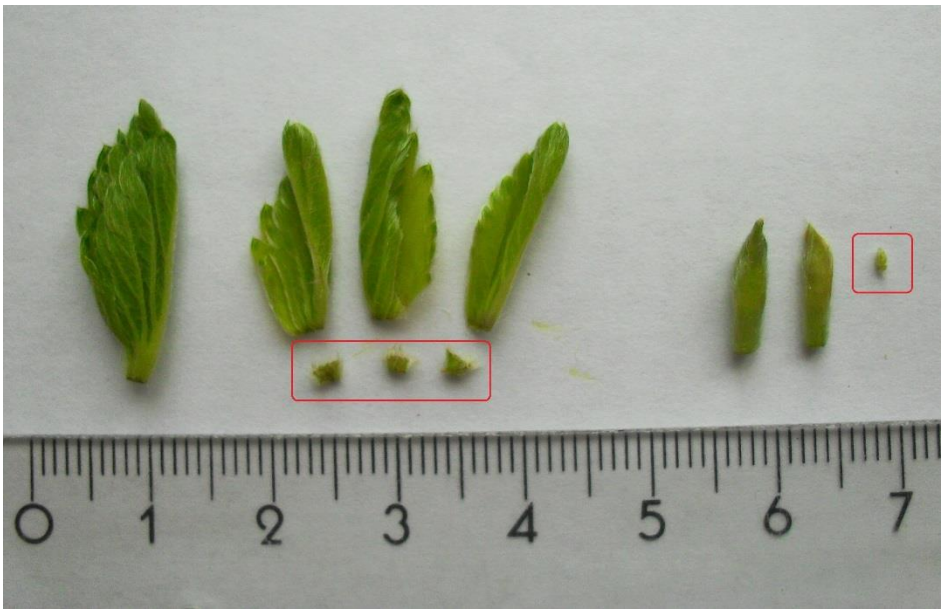


Рисунок 4 – Исходный материал для введения в культуру *in vitro*: фрагменты листовых пластинок и апекс уса

4.1.1. Морфогенез эксплантов

В проведенных нами исследованиях отмечено, что культивирование апексов усов и фрагментов листа земляники садовой на среде MS с добавлением цитокинина 6-бензиладенин (БА) в концентрации 0,5 мг/л, позволило получить от 10,0 до 86,7% жизнеспособных эксплантов в зависимости от сорта. Более жизнеспособными у всех сортов оказались апексы усов. Доля регенерирующих эксплантов составила 73,3-86,7%. Доля жизнеспособных эксплантов листового происхождения была значительно ниже – 10,0-57,1%. Доля регенирирующих листовых эксплантов ремонтантных сортов была сравнительно невысокой, что подтверждается и более ранними исследованиями, проведенными Л.В. Алексеенко на сортах Женева, Профьюжен, Тристар, Трибьют (1998).

По истечении 25-35 суток культивирования на морфогенных эксплантах формировались почки и побеги (рис. 5). На эксплантах из апексов усов сформировалось 2,3-3,9 почек и 1,6-3,0 побегов, а на эксплантах листового происхождения – 2,8-3,6 почек и 2,4-3,3 побегов в пересчете на один эксплант (табл. 12).

Таблица 12 – Образование почек и морфогенез у апексов усов и фрагментов листа земляники садовой (среда MS, БА 0,5 мг/л; сахароза 30 г/л, агар 6 г/л; pH 5,6)

Сорт	Тип экспланта	Высажено эксплан-тов, шт.	Число жизнеспособных эксплантов		Образовалось в среднем	
			шт.	%±Sp	почек, шт./эксплант	побегов, шт./эксплант
Тарпан	апекс уса	60	50	83,3±4,8	2,3	1,6
	лист	60	6	10,0±3,9	3,3	2,7
Эвис Делайт	апекс уса	60	52	86,7±4,4	3,7	3,0
	лист	60	12	20,0±5,2	3,8	3,0
Флорина	апекс уса	60	46	76,7±5,5	2,7	2,0
	лист	80	32	40,0±5,5	2,8	2,4
Боровицкая	апекс уса	60	44	73,3±5,7	3,9	3,0
	лист	84	48	57,1±5,4	3,6	3,3

а

б

Рисунок 5 – Морфогенез апекса уса сорта Эвис Делайт:
а – начало формирования побегов; б – разросшиеся побеги

Образовавшиеся побеги разделяли и переносили на свежеприготовленную среду MS, содержащую БА в концентрации 0,5 мг/л и индолилмасляную кислоту (ИМК) в концентрации 0,1 мг/л, для индукции пролиферации придаточных побегов.

4.1.2. Индукция образования побегов

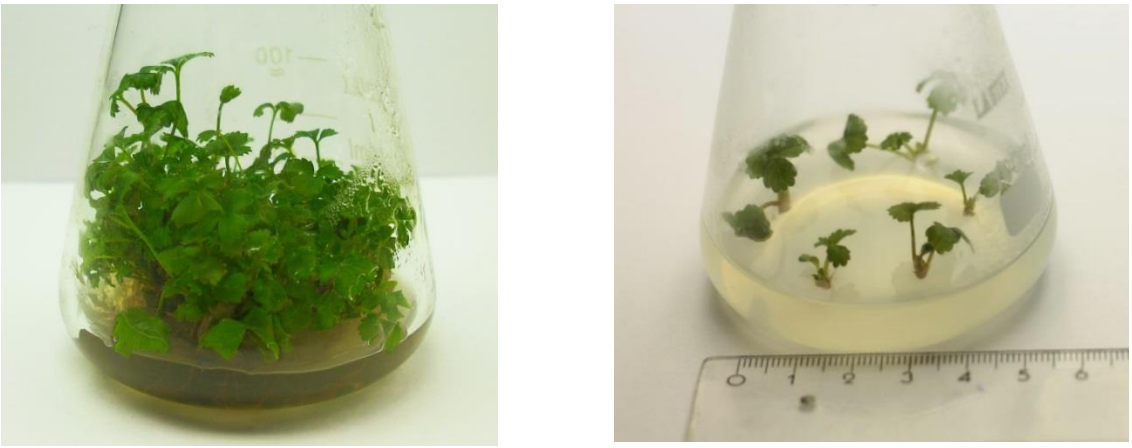
При дальнейшем культивировании у ремонтантных сортов по интенсивности морфогенеза преобладали конгломераты, сформировавшиеся из апексов усов, по сравнению с конгломератами листового происхождения. Так, на конгломератах апикального происхождения сформировалось в среднем по 2,3-4,6 почек и 2,1-4,3 побегов, а на структурах, образованных из листовых эксплантов – 1,8-2,0 почек и 1,3-1,8 побегов в пересчете на один конгломерат. У сорта Боровицкая значения коэффициентов размножения побегов как апикального (5,1 почек и 4,7 побегов), так и листового происхождения (5,2 почек и 4,9 побегов) оказались близкими (табл. 13). Разросшиеся морфогенные конгломераты разделяли на побеги, которые переносили на свежие среды того же состава (БА 0,5 мг/л + ИМК 0,1 мг/л).

Наибольший коэффициент размножения отмечен у побегов сорта Боровицкая. Растения данного сорта в полевых условиях хорошо размножаются вегетативно за счет интенсивного усообразования. Это объясняет хороший морфогенез и в усовиях *in vitro*, поскольку клональное микроразмножение

является разновидностью вегетативного размножения. Побеги ремонтантных сортов с низким усообразованием, соответственно, проявляют меньшую морфогенетическую активность – сформировалось в среднем 1,8-2,7 почек и 1,3-2,4 побегов на конгломерат, однако более высокиами показателями выделился сорт Эвис Делайт – 4,6 почек и 4,3 побегов на конгломерат (рис. 6). Побеги сортов Боровицкая и Эвис Делайт отличались также и большей жизнеспособностью. Доля побегов, сформировавших новые почки и побеги составила 94,4-96,2% (табл. 13).

Таблица 13 – Образование почек и побегов у земляники садовой *in vitro* (среда MS, БА 0,5 мг/л, ИМК 0,1 мг/л; сахароза 30 г/л, агар 6 г/л; pH 5,6)

Сорт	Тип экспланта	Высажено побегов, шт.	Получено морфогенных конгломератов		Образовалось в среднем	
			шт.	%±Sp	почек, шт./конгло-мерат	побегов, шт./конгло-мерат
Тарпан	апекс уса	80	65	81,3±4,4	2,7	2,4
	лист	16	12	75,0±10,8	1,8	1,3
Эвис Делайт	апекс уса	156	148	94,9±1,8	4,6	4,3
	лист	36	34	94,4±3,8	1,9	1,6
Флорина	апекс уса	94	66	70,2±4,7	2,3	2,1
	лист	76	54	71,1±5,2	2,0	1,8
Боровицкая	апекс уса	132	127	96,2±1,7	5,1	4,7
	лист	160	151	94,4±1,8	5,2	4,9



а б

Рисунок 6 – Побеги сорта Эвис Делайт, полученные из апекса уса:
а – разросшиеся конгломераты; б – разделенные побеги

По мере разрастания конгломератов их вновь разделяли на побеги и пересаживали на свежую среду MS того же состава. После 3-4 пассажей формировались побеги с несколькими хорошо развитыми листьями.

4.1.3. Укоренение побегов и получение растений-регенерантов

Побеги длиной 25-30 мм, имеющие не менее трех хорошо развитых тройчатых листа, переносили на среду MS, содержащую ауксин ИМК в концентрации 0,5 мг/л для индуцирования ризогенеза. Через 3-4 недели формировались корни, а также продолжался рост и образование новых листьев (рис. 7).

Доля укоренившихся побегов во всех вариантах была достаточно высокой – 85,0-98,0%. Показатели процента укорененных побегов в зависимости от их происхождения в пределах сорта, в целом, различались незначительно. Из апекса уса 85,0-97,6% побегов сформировали корни, а из фрагмента листа – 87,1-98,0% (табл. 14).

Таблица 14 – Укоренение побегов земляники садовой
(среда MS, ИМК 0,5 мг/л; сахароза 30 г/л, агар 6 г/л; pH 5,6)

Сорт	Тип эксплантa	Изучено побегов, шт.	Образовалось побегов с корнями	
			шт.	%±Sp
Тарпан	апекс уса	166	152	91,6±2,2
	лист	32	30	93,8±4,3
Эвис Делайт	апекс уса	214	208	97,2±1,1
	лист	70	61	87,1±4,0
Флорина	апекс уса	107	91	85,0±3,5
	лист	75	68	90,1±3,4
Боровицкая	апекс уса	208	203	97,6±1,1
	лист	204	200	98,0±1,0

Рисунок 7 – Растения-регенеранты сорта Эвис Делайт, полученные из апекса уса, на этапе укоренения

После образования корней, миниатюрные растения подготавливали к адаптации к условиям *ex vitro*.

4.1.4. Адаптация растений-регенерантов к обычным условиям среды

После образования корневой системы, состоящей не менее чем из 3-5 корней длиной 15-20 мм, регенеранты адаптировали к обычным условиям среды (рис. 8). Растения-регенеранты извлекали из культивационных сосудов, промывали и высаживали в торфяные таблетки фирмы «Jiffy» (Норвегия).

Рисунок 8 – Растения-регенеранты сорта Эвис Делайт, готовые к адаптации *ex vitro*

Адаптационная способность растений-регенерантов была достаточно высока. От 84,0 до 97,4% растений, полученных из апекса уса, успешно адаптировались к условиям *ex vitro*. Регенеранты листового происхождения ремонтантных сортов с низкой усообразующей способностью приживались несколько менее эффективно, доля адаптировавшихся растений составила 78,1-96,2%. У сорта Боровицкая доли адаптировавшихся растений-регенерантов апикального и листового происхождения практически не различались (92,0% и 92,1% соответственно) (табл. 15).

Таблица 15 – Адаптация растений-регенерантов земляники садовой к условиям *ex vitro*

Сорт	Тип эксплантa	Высажено *ex vitro* растений-регенерантов, шт.	Адаптировалось растений к условиям *ex vitro*	
			шт.	%±Sp
Тарпан	апекс уса	150	145	96,7±1,5
	лист	30	25	83,3±6,8
Эвис Делайт	апекс уса	196	191	97,4±1,1
	лист	52	50	96,2±2,7
Флорина	апекс уса	88	74	84,1±3,9
	лист	64	50	78,1±5,2
Боровицкая	апекс уса	200	184	92,0±1,9
	лист	190	175	92,1±2,0

По истечении 10-20 суток культивирования растения-регенеранты, помещенные в таблетки, начинали расти, формировать новые опушенные листья и хорошо развитую корневую систему. Такие растения являются готовым посадочным материалом и их можно высаживать в горшки, кашпо, контейнеры или в грунт (открытый или защищенный) (рис. 9).

Рисунок 9 – Адаптированные растения-регенеранты сорта Эвис Делайт, полученные *in vitro* из апекса уса

В наших исследованиях для получения и дальнейшего изучения растений-регенерантов в размножении было задействовано ограниченное количество побегов. Зная коэффициент размножения побегов, число субкультивирований (пассажей) и коэффициент потерь, можно по формуле Д. Пеннела рассчитать потенциальное количество получаемых на практике растений-регенерантов от одного экспланта за определенный период культивирования.

У ремонтантных сортов с низкой усообразующей способностью регенерационный потенциал апексов уса значительно выше, чем у фрагментов листа. Кроме того, и сами сорта существенно различаются между собой по выходу растений-регенерантов. Среди изученных ремонтантных сортов наибольшая регенерационная активность отмечена у сорта Эвис Делайт. Потенциальный выход регенерантов может достигать более 900 штук от одного морфогенного экспланта за 6 месяцев культивирования и до 313,5 тыс. штук за год культивирования. Регенерационный потенциал апексов усов сорта Тарпан значительно ниже – 38 штук растений-регенерантов за полгода и до 1300 штук за год культивирования от одного экспланта. Сорт Флорина отличается наименьшей регенерационной активностью, за 6 месяцев культивирования из одного апеса уса возможно получить всего 20 растений-регенерантов, а за год – до 380 штук.

Регенерационный потенциал фрагментов листа ремонтантных сортов значительно ниже – за полгода из одного листового эксплантa возможно получить от 5 до 15 регенерантов, а за год – не более 132 штук.

Сорт Боровицкая, характеризующийся высокой усообразующей способностью и хорошо размножаемый вегетативно, обладает очень высоким регенерационным потенциалом – из одного морфогенного апекса уса за год культивирования можно получить более 618 тыс. растений-регенерантов, а из фрагмента листа еще больше – до 930 тыс. растений от одного эксплантa (табл.16).

Таблица 16 – Количество растений-регенерантов земляники садовой, которое потенциально можно получить от одного эксплантa за 6 и 12 месяцев культивирования

Сорт	Тип эксплантa	Потенциальное количество растений-регенерантов, шт.	
		за 6 месяцев	за год
Тарпан	апекс уса	38	1273
	лист	5	13
Эвис Делайт	апекс уса	917	313 427
	лист	15	101
Флорина	апекс уса	20	378
	лист	13	132
Боровицкая	апекс уса	1267	618 285
	лист	1612	929 446

Таким образом, *in vitro* культивирование апексов усов эффективно для размножения ремонтантных сортов со слабой усообразующей способностью, позволяющее получить от 76,7 до 86,7% жизнеспособных эксплантов, формирующих 2,3-3,7 почек и 1,6-3,0 побега в пересчете на один эксплант, а на этапе культивирования морфогенных конгломератов – 2,3-4,6 почек и 2,1-4,3 побегов, из которых от 85,0 до 97,2% успешно укореняются. Полученные растения-регенеранты обладают хорошими адаптационными способностями – от 84,1 до 97,4% растений успешно адаптировались к обычным условиям среды. Высокая жизнеспособность, массовое образование побегов, хорошая

укореняемость и приживаемость свидетельствуют о том, что культивирование *in vitro* апексов усов может успешно применяться для размножения и получения качественного посадочного материала ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью.

Интенсивность морфогенеза земляники садовой зависит и непосредственно от сорта. Среди изученных ремонтантных сортов наибольшая регенерационная активность *in vitro* отмечена у эксплантов и побегов апикального происхождения сорта Эвис Делайт. Коэффициент размножения составил 4,6 почек и 4,3 побегов на конгломерат. Полученные регенеранты обладали высокой жизненспособностью, 97% растений-регенерантов сорта Эвис Делайт успешно адаптировались к условиям *ex vitro*. Потенциальный выход регенерантов может достигать 313,5 тыс. растений от одного морфогенного эксплантa за год культивирования. Регенерационный потенциал апексов усов сортов Тарпан и Флорина значительно ниже – 1300 и 380 штук растений-регенерантов на эксплант соответственно.

Регенерация ремонтантных сортов с низким усообразованием из фрагментов листа также возможна, но менее эффективна по сравнению с культивированием эксплантов апикального происхождения – жизнеспособность листовых эксплантов, коэффициент размножения побегов, выход регенерантов и их адаптационная способность несколько ниже.

У сорта Боровицкая апексы усов также отличались большей жизнеспособностью, чем листовые экспланты. Доля жизнеспособных апексов усов составила 73,3%, а фрагментов уса – 57,1%. Однако, на дальнейших этапах культивирования, показатели коэффициента размножения у побегов листового происхождения были выше (3,3 побега на эксплант и 4,9 побега на конгломерат), чем у побегов апикального происхождения (3,0 побега на эксплант и 4,7 побега на конгломерат). Доли укоренившихся побегов (94-96%) и адаптировавшихся регенерантов (92%) в зависимости от происхождения существенно не различались. Таким образом, для *in vitro* размножения сортов с высокой интенсивностью усообразования (на примере сорта Боровицкая) эффективно

культивирование как апексов усов, так и фрагментов листа и позволяет получить до 930 растений-регенерантов от одного экспланта за год культивирования.

4.2. Культивирование *in vitro* лепестка

Нами были проведены поисковые работы по культивированию лепестков земляники садовой на питательных средах с содержанием фитогормонов в разных сочетаниях и концентрациях. Материалом для исследований являлись лепестки размером 2-3 мм, изолированные из закрытых бутонов длиной 3-4 мм (рис. 10). Закладку проводили на среду MS с тремя вариантами сочетаний гормонов: 1) БА 0,5 мг/л – стандартный вариант среды для введения земляники в культуру *in vitro*; 2) БА 1 мг/л + α-нафтилуксусная кислота (НУК) 0,1 мг/л; 3) БА 2 мг/л + НУК 2 мг/л.

Рисунок 10 – Исходный материал для введения в культуру *in vitro*: бутоны и изолированные лепестки

4.2.1. Индукция морфогенеза и каллусогенеза лепестков

На 12-14-е сутки после введения лепестки начинали зеленеть и разрастаться, что продолжалось в течение трех недель. За это время, на 33-35 сутки культивирования, лепестки становились равномерно зелеными и увеличивались в размерах в 2-3 раза, достигая 5-6 мм. На 40-42-е сутки число жизнеспособных эксплантов уменьшилось – некоторые начиналили буреть (рис. 11), однако на

некоторых начались морфо- и каллусогенные процессы – появились почки или зачатки каллуса. На 50-55-е сутки культивирования у регенерирующих эксплантов сформировались почки или каллусы, а оставшиеся лепестки окончательно побурели, так и не сформировав морфогенных образований (табл.17).

Число жизнеспособных регенерирующих эксплантов оказалось невысоким. Только на среде с добавлением БА и НУК по 2 мг/л морфо- или каллусогенез был отмечен у всех изученных сортов. Доля морфогенных эксплантов составила 18,2-42,9%. На остальных двух вариантах среды большинство лепестков погибало. Доля эксплантов, сохранивших жизнеспособность, была очень низкой – 2,5-4,3% (табл. 17).

Таблица 17 – Жизнеспособность лепестков земляники садовой на разных сроках культивирования *in vitro* (среда MS, сахароза 30 г/л, агар 6 г/л, pH 5,6)

Сорт	Вариант среды (концентрация гормонов, мг/л)	Высажено лепестков, шт.	Доля жизнеспособных эксплантов, %		
			сутки культивирования		
			35	**42**	**56**
Тарпан	БА 0,5	108	88,9±3,0	35,2±4,6	0±0
	БА 1 + НУК 0,1	30	100±0	46,7±9,1	0±0
	БА 2 + НУК 2	28	71,4±8,5	50,0±9,4	25,0±8,2
Эвис Делайт	БА 0,5	74	95,9±2,3	39,2±5,7	0±0
	БА 1 + НУК 0,1	23	86,9±7,0	26,1±9,2	4,3±4,2
	БА 2 + НУК 2	28	89,3±5,8	67,9±8,8	42,9±9,4
Флорина	БА 0,5	84	85,7±3,8	39,3±5,3	0±0
	БА 1 + НУК 0,1	20	100±0	25,0±9,7	0±0
	БА 2 + НУК 2	22	100±0	45,5±10,6	18,2±8,2
Боровицкая	БА 0,5	81	91,4±3,1	30,9±5,1	2,5±1,7
	БА 1 + НУК 0,1	18	100±0	22,2±9,8	0±0
	БА 2 + НУК 2	20	85,0±7,9	45,0±11,1	20,0±8,9

а

б

Рисунок 11 – Лепестки земляники садовой сорта Флорина в культуре *in vitro* (среда MS, БА 0,5 мг/л): а – 35-е сутки культивирования; б – 42-е сутки культивирования

Доля инфицированных эксплантов на всех вариантах сред была небольшой – 0-28,6%, подавляющее большинство лепестков оставались непораженными, среда сохранялась чистой. Низкая жизнеспособность эксплантов была обусловлена преимущественно некротическими процессами тканей лепестков – от 46,4 до 100% высаженных лепестков бурели и отмирали, и в меньшей степени инфицированием (табл. 18).

Таблица 18 – Доля нежизнеспособных лепестков земляники садовой (среда MS, сахароза 30 г/л, агар 6 г/л, pH 5,6)

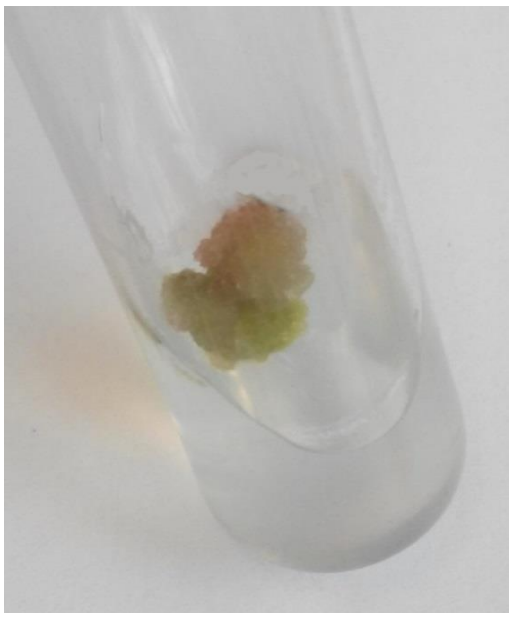
Сорт	Вариант среды (концентрация гормонов, мг/л)	Высажено лепестков, шт.	Образовалось инфицированных эксплантов		Образовалось эксплантов с некрозом	
			шт.	%±Sp	шт.	%±Sp
Тарпан	БА 0,5	108	12	11,1±3,0	96	88,9±3,0
	БА 1 + НУК 0,1	30	0	0±0	30	100±0
	БА 2 + НУК 2	28	8	28,6±8,5	13	46,4±9,4
Эвис Делайт	БА 0,5	74	3	4,1±2,3	71	95,9±2,3
	БА 1 + НУК 0,1	23	3	13,0±7,0	19	82,6±7,9
	БА 2 + НУК 2	28	3	10,7±5,8	13	46,4±9,4
Флорина	БА 0,5	84	12	14,3±3,8	72	85,7±3,8
	БА 1 + НУК 0,1	20	0	0±0	20	100±0
	БА 2 + НУК 2	22	0	0±0	18	81,8±8,2
Боровицкая	БА 0,5	81	7	8,6±3,1	72	88,9±3,5
	БА 1 + НУК 0,1	18	0	0±0	18	100±0
	БА 2 + НУК 2	20	3	15,0±7,9	13	65,0±10,7

На среде с повышенным содержанием гормонов (с 2 мг/л БА и НУК) доля морфо- и каллусогенных эксплантов оказалась наибольшей и составляла 18,2-42,9%. У всех сортов в данном варианте был отмечен преимущественно каллусогенез. Образовавшиеся каллусы были округлой формы, размером от 3 до 8 мм (рис. 12). Доля морфо- и каллусогенных эксплантов на других вариантах сред была очень низкой и составляла не более 2,5-4,3% (табл. 19).

У сортов Эвис Делайт и Боровицкая в единичных случаях был отмечен прямой морфогенез лепестков, минуя стадию каллуса. У сорта Эвис Делайт из тканей лепестка образовались адвентивные почки на среде, содержащей 1 мг/л БА и 0,1 мг/л НУК, и на среде с 2 мг/л БА и НУК, а у сорта Боровицкая – на среде с БА в концентрации 0,5 мг/л (табл. 18), (рис. 13).

Таблица 19 – Морфогенез и каллусогенез лепестков земляники садовой (среда MS, сахароза 30 г/л, агар 6 г/л, pH 5,6)

Сорт	Вариант среды (концентрация гормонов, мг/л)	Высажено лепестков, шт.	Получено морфо- и каллусогенных эксплантов		Число эксплантов с почками		Число эксплантов с каллусом	
			шт.	%±Sp	шт.	%±Sp	шт.	%±Sp
Тарпан	БА 0,5	108	0	0±0	-	-	-	-
	БА 1 + НУК 0,1	30	0	0±0	-	-	-	-
	БА 2 + НУК 2	28	7	25,0±8,2	0	-	7	100±0
Эвис Делайт	БА 0,5	74	0	0±0	-	-	-	-
	БА 1 + НУК 0,1	23	1	4,3±4,2	1	100±0	0	-
	БА 2 + НУК 2	28	12	42,9±9,4	1	8,3±7,9	11	91,7±7,9
Флорина	БА 0,5	84	0	0±0	-	-	-	-
	БА 1 + НУК 0,1	20	0	0±0	-	-	-	-
	БА 2 + НУК 2	22	4	18,2±8,2	0	-	4	100±0
Боровицкая	БА 0,5	81	2	2,5±1,7	2	100±0	0	-
	БА 1 + НУК 0,1	18	0	0±0	-	-	-	-
	БА 2 + НУК 2	20	4	20,0±8,9	0	-	4	100±0



а б

Рисунок 12 – Каллусы на лепестках: а – сорт Эвис Делайт; б – сорт Флорина (среда MS, БА 2 мг/л, НУК 2 мг/л, 50-е сутки культивирования)

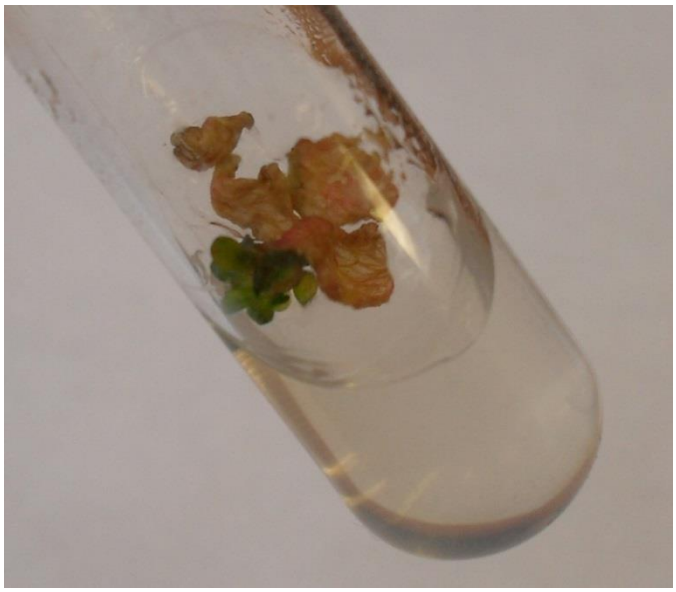


Рисунок 13 – Почки, образовавшиеся на лепестке сорта Боровицкая (среда MS, БА 0,5 мг/л, 55-е сутки культивирования)

4.2.2. Морфогенез лепестков и пролиферация побегов

Интерес представляли лепестки сортов Эвис Делайт и Боровицкая, на которых было отмечено формирование почек и побегов непосредственно из тканей лепестка. На эксплантах сорта Эвис Делайт сформировалось по 3 почки и

2 побега на эксплант. У сорта Боровицкая на лепестках образовалось в среднем 3,5 почки и 3,0 побега на эксплант (табл. 20).

Таблица 20 – Образование почек и морфогенез лепестков земляники садовой (среда MS, сахароза 30 г/л, агар 6 г/л, pH 5,6)

Сорт	Вариант среды (концентрация гормонов, мг/л)	Высажено лепестков, шт.	Получено морфогенных эксплантов		Образовалось в среднем	
			шт.	%±Sp	почек, шт./экс-плант	побегов, шт./экс-плант
Эвис Делайт	БА 1 + НУК 0,1	23	1	4,3±4,2	3,0	2,0
	БА 2 + НУК 2	28	1	3,6±3,5	3,0	2,0
Боровицкая	БА 0,5	81	2	2,5±1,7	3,5	3,0

Образовавшиеся побеги разделяли и переносили на среду MS, содержащую 0,5 мг/л БА и 0,1 мг/л ИМК, для индукции пролиферации придаточных побегов. На этапе размножения у сорта Эвис Делайт формировалось 2,8 почек и 2,3 побега на один морфогенный конгломерат, у сорта Боровицкая коэффициент размножения был выше – 3,7 почек и 3,3 побегов на конгломерат (табл. 21).

Таблица 21 – Образование почек и побегов у земляники садовой *in vitro*, полученных из лепестка (среда MS, БА 0,5 мг/л, ИМК 0,1 мг/л; сахароза 30 г/л, агар 6 г/л; pH 5,6)

Сорт	Высажено побегов, шт.	Получено морфогенных конгломератов		Образовалось в среднем	
		шт.	%±Sp	почек, шт./конгломерат	побегов, шт./конгломерат
Эвис Делайт	4	3	75,0±21,7	2,8	2,3
Боровицкая	6	5	83,3±15,2	3,7	3,3

По мере разрастания конгломератов их разделяли на побеги и пересаживали на свежую среду MS того же состава, после нескольких пассажей формировались побеги с несколькими хорошо развитыми листьями.

4.2.3. Получение растений-регенерантов и их адаптация к обычным условиям среды

Побеги длиной 25-30 мм переносили на среду MS для укоренения (ИМК 0,5 мг/л). Доля укоренившихся побегов у сорта Эвис Делайт составила 90,0%, у сорта Боровицкая – 97,1% (табл. 22).

После образования корней длиной 15-20 мм, регенеранты адаптировали к обычным условиям среды. Растения-регенеранты извлекали из культивационных сосудов, промывали и высаживали в торфяные таблетки фирмы «Jiffy». Доля адаптировавшихся регенерантов к условиям *ex vitro* составляла 91,2-94,4% (табл. 22).

Таблица 22 – Укоренение побегов и адаптация растений-регенерантов земляники садовой, полученных из лепестка, к условиям *ex vitro*

Сорт	Высажено *in vitro* побегов, шт. (ИМК 0,5 мг/л)	Образовалось побегов с корнями		Высажено *ex vitro* растений-регенерантов, шт.	Адаптировалось растений к условиям *ex vitro*	
		шт.	%±Sp		шт.	%±Sp
Эвис Делайт	20	18	90,0±6,7	18	17	94,4±5,4
Боровицкая	35	34	97,1±2,8	34	31	91,2±4,7

Исследования показали, что регенерация растений земляники саловой из лепестка путем прямого морфогенеза возможна. Морфогенные лепестки способны сформировать 3,0-3,5 почек и 2,0-3,0 побега на эксплант, а на этапе размножения 2,8-3,7 почек и 2,3-3,3 побега на конгломерат. Трансплантыи, полученные из лепестка, обладают хорошей регенерационной активностью, однако высокий процент гибели эксплантов на начальном этапе культивирования затрудняет массовое размножение. Тем не менее побеги, полученные из лепестка, хорошо укореняются и приживаются – доля укоренившихся побегов составила 90,0-97,1%, а 91,2-94,4% полученных растений-регенерантов успешно адаптировались к обычным условиям среды.

Использование лепестков для культивирования *in vitro* представляется возможным, однако необходима дальнейшая проработка вопроса повышения жизнеспособности эксплантов на начальном этапе культивирования.

Анализируя регенерационную активность эксплантов различного происхождения можно судить о выходе растений-регенерантов за определенные сроки и эффективности применения того или иного типа экспланта (апекса уса, фрагмента листа и лепестка) для *in vitro* размножения растений конкретного сорта.

Для ремонтантного сорта Эвис Делайт, как уже было отмечено ранее, наиболее эффективно культивирование апекса уса. Возможна также регенерация из фрагмента листа и лепестка, причем лепесток обладал более высокой регенерационной активностью, чем лист. За 6 и 12 месяцев культивирования из лепестка можно получить 36 и 994 растения-регенеранта соответственно, а из фрагмента листа за эти же сроки только 15 и 101 растение соответственно. У сорта Боровицкая явное преимущество отмечено у эксплантов апикального и листового происхождения. Лепесток отличался значительно меньшей регенерационной активностью, за полгода и год культивирования возможно получить 261 и 30 912 растений-регенерантов соответственно, тогда как культивирование апексов усов позволяет получать 1267 растений за полгода и более 618 тыс. растений за год, а применение листовых эксплантов – более 1600 растений за полгода и почти 930 тыс. растений в год (табл. 23).

Таблица 23 – Выход растений-регенерантов земляники садовой от одного экспланта за 6 и 12 месяцев культивирования в зависимости от происхождения экспланта

Сорт	Тип экспланта	Потенциальное количество растений-регенерантов, шт.	
		за 6 месяцев	за год
Эвис Делайт	апекс уса	917	313 427
	лист	15	101
	лепесток	36	994
Боровицкая	апекс уса	1267	618 285
	лист	1612	929 446
	лепесток	261	30 912

Таким образом, регенерационная активность *in vitro* и конечный выход растений-регенерантов зависят от генотипа и происхождения эксплантa (рис. 14).

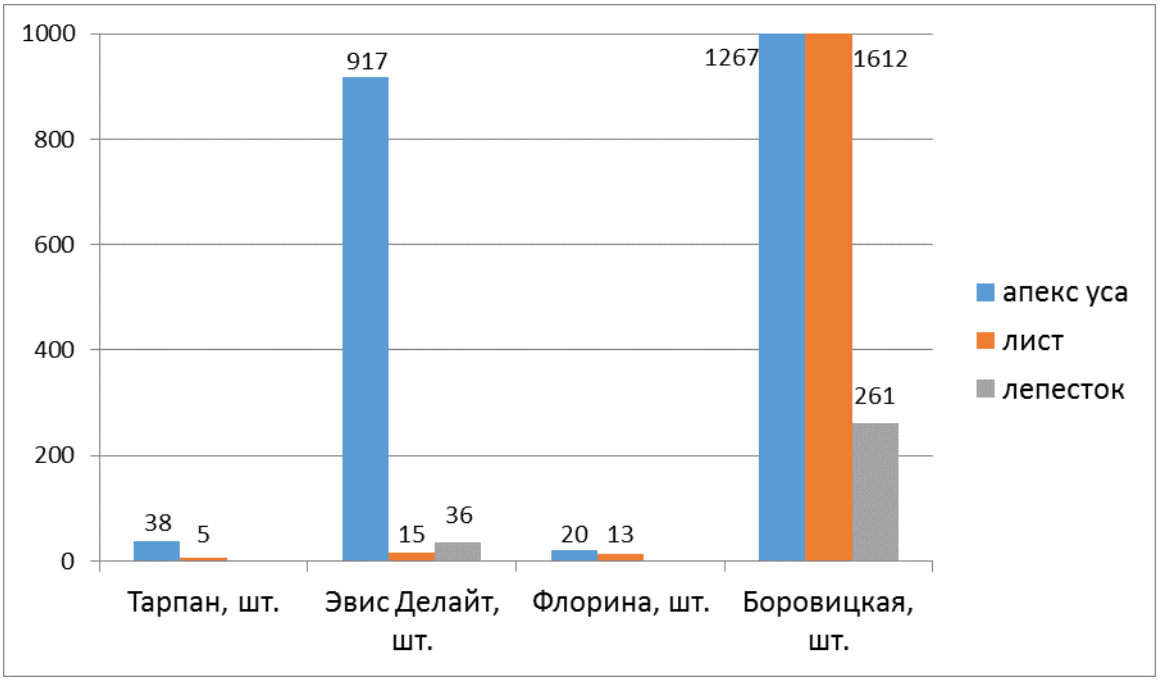


Рисунок 14 – Выход растений-регенерантов земляники садовой от одного эксплантa за 6 месяцев культивирования в зависимости от сорта и происхождения эксплантa

Применение апексов усов в качестве исходного материала для введения в культуру *in vitro* является универсальным и наиболее эффективным для размножения всех изученных нами сортов земляники садовой. У сортов с интенсивным усообразованием (на примере сорта Боровицкая) морфогенетически активными являются также и листовые экспланты. У ремонтантных сортов с низкой усообразующей способностью регенерационная активность фрагментов листа значительно ниже, чем у эксплантов апикального происхождения. Регенерация из лепестка путем прямого морфогенеза оказалась возможной, однако морфогенетическая активность лепестков опять же ниже, чем у апексов усов. Поскольку у изучаемых ремонтантных сортов количество апикальных эксплантов (апексов усов) может быть ограничено в силу характерной для них низкой усообразующей способности, допустимо использование в качестве дополнительных исходных эксплантов фрагментов листа и лепестков.

5. ОЦЕНКА РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ R_0 ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ

Важнейшей задачей исследований в области клонального микроразмножения является сведение к минимуму возможности отклонения от сорта. Тем не менее, некоторые фенотипические изменения, не затрагивающие геном, могут быть положительными и использоваться в практике питомниководства. Растения-регенеранты должны быть детально оценены по всем важным для идентификации сорта признакам (Деменко В.И., 2007). Способ клонального микроразмножения имеет многочисленные преимущества, однако он оправдан лишь в том случае, если полученные растения по сортовым признакам не уступают растениям, полученным традиционным способом размножения.

Поскольку клональное микроразмножение оказывает влияние на проявление генотипических особенностей, каждый генотип должен быть оценен в полевых условиях по основным морфологическим и хозяйственно-ценным признакам на предмет наличия отклонений от сорта (Schaeffer S.R. et al., 1980; Swartz H.J et al., 1981; Anderson H.M. et al., 1982; Nehra N.S., 1991). В опытах, проведенных *in vitro*, мы выяснили, что для культивирования и массового размножения ремонтантных сортов с низкой усообразующей способностью наиболее эффективно использование апексов усов, поэтому в последующем наибольшее внимание было уделено изучению в полевых условиях именно растений апикального происхождения. Растения-регенеранты R_0 сортов Тарпан, Эвис Делайт, Флорина и Боровицкая изучали в условиях открытого грунта (рис. 15) и сравнивали их с растениями этих же сортов, полученных традиционным способом размножения – из розеток. В качестве стандарта был выбран отечественный сорт Богема, характеризующийся высокими показателями хозяйственно-ценных признаков.

Рисунок 15 – Растения-регенеранты сорта Эвис Делайт, полученные *in vitro* из апекса уса, высаженные в открытый грунт

5.1. Характеристика растений-регенерантов R_0 по усообразующей способности

Растения в условиях открытого грунта оценивали по усообразующей способности: доля растений, сформировавших усы, число усов и дочерних розеток, образовавшихся на одном растении за вегетационный период.

Обнаружено, что растения-регенеранты изученных сортов формировали большее число усов и дочерних розеток по сравнению с контрольными растениями, полученными традиционным способом.

Как отмечалось ранее, растения ремонтантных сортов Тарпан, Эвис Делайт и Флорина обычно формируют мало усов, а в некоторых случаях отдельные растения могут совсем их не иметь. Так, только у 62,5-95,8% контрольных растений этих сортов был отмечен процесс усообразования. В случае с растениями, полученными *in vitro*, наличие усов отмечалось уже у 72,9-100% исследуемых растений-регенерантов.

Растения R_0 сортов Эвис Делайт и Флорина, полученные *in vitro*, превосходили по коэффициенту размножения контрольные растения, полученные традиционным способом. Они формировали в 1,4-1,5 раза больше усов и в 1,4-1,6 раза больше дочерних розеток (рис. 16), (табл. 24).

а б

Рисунок 16 – Растения сорта Эвис Делайт: а – полученные традиционным способом; б – полученные *in vitro* из апекса уса

У растений-регенерантов сорта Тарпан различия показателей интенсивности усообразования были не существенными. Растения-регенеранты сорта Боровицкая также не уступали контролю по коэффициенту размножения и формировали значительное количество усов и дочерних розеток, что является характерным для данного сорта (табл. 24).

Повышенный коэффициент размножения у растений земляники садовой после культуры *in vitro* подтверждается также наблюдениями других авторов на разных сортах (Zebrowska J.I. et al., 2003; Мозафари А.А., 2004; Алексеенко Л.В., Высоцкая О.Н., Высоцкий В.А., 2005; Лебедев В.Г. и др., 2012).

Таблица 24 – Характеристика растений-регенерантов R_0 апикального происхождения по усообразующей способности в условиях открытого грунта (n = 48), 2013-2014 гг.

Сорт	Способ получения растений	Доля растений с усами, %±Sp	Среднее число усов, шт./раст.	Среднее число дочерних розеток, шт./раст.
Тарпан	*in vitro*	72,9±6,4	2,7	3,7
	традиционный	62,5±6,9	2,8	3,2
Эвис Делайт	*in vitro*	93,8±3,5	4,5	4,7
	традиционный	89,5±4,4	3,3	3,0
Флорина	*in vitro*	100±0	9,3	8,4
	традиционный	95,8±2,9	6,2	6,2
Боровицкая	*in vitro*	100±0	25,7	26,0
	традиционный	100±0	23,8	23,7
Богема (стандарт)	традиционный	100±0	12,3	11,1

При изучении регенерантов в полевых условиях представляло интерес, влияет ли на интенсивность вегетативного размножения растений-регенерантов их происхождение, то есть тип эксплантa, из которого они получены. Для выяснения этого вопроса нами были изучены растения-регенеранты сорта Тарпан, полученные из апекса уса и фрагмента листа, и регенеранты сорта Боровицкая, полученные из апекса уса, фрагмента листа и лепестка (путем прямого морфогенеза).

Было обнаружено, что происхождение регенерантов не влияло на их вегетативную продуктивность. Так, у растений-регенерантов сорта Тарпан апикального и листового происхождения показатели коэффициента размножения были очень близкими: 2,7 и 2,4 усов на одно растение соответственно; 3,7 и 3,5 розеток на одно растение соответственно.

У регенерантов сорта Боровицкая, полученных из апекса уса, фрагментов листа и лепестка, аналогично, различий не обнаружено: среднее число усов на одно растение составляло 25,7, 25,9 и 25,3 штук соответственно, а дочерних розеток – 26,0, 26,5 и 26,2 штук соответственно. В сравнении с контрольными растениями, растения-регенеранты обоих сортов независимо от происхождения нисколько не уступали и даже несколько превосходили их по вегетативной продуктивности (табл. 25).

Таблица 25 – Характеристика растений-регенерантов R_0 различного происхождения (из апекса уса, фрагмента листа и лепестка) по усообразующей способности в условиях открытого грунта (n = 24), 2013-2014 гг.

Сорт	Способ получения растений	Тип эксплантa	Доля растений с усами, %±Sp	Среднее число усов, шт./раст.	Среднее число дочерних розеток, шт./раст.
Тарпан	*in vitro*	апекс уса	72,9±6,4	2,7	3,7
		лист	70,8±6,6	2,4	3,5
	традиционный	-	62,5±6,9	2,8	3,2
Боровицкая	*in vitro*	апекс уса	100±0	25,7	26,0
		лист	100±0	25,9	26,5
		лепесток	100±0	25,3	26,2
	традиционный	-	100±0	23,8	23,7
Богема (стандарт)	традиционный	-	100±0	12,3	11,1

Таким образом, растения-регенеранты земляники садовой, полученные в культуре *in vitro*, обладают более интенсивным усообразованием, что совпадает с результатами исследований других авторов. Растения-регенеранты ремонтантных сортов формируют в 1,4-1,5 раза больше усов и в 1,4-1,6 раза больше дочерних розеток, чем контрольные растения, полученные традиционным способом. Происхождение регенерантов – из апекса уса, фрагмента листа или лепестка, не оказывает существенного влияния на интенсивность усообразования, показатели регенерантов из разных типов эксплантов были близкими.

5.2. Характеристика растений-регенерантов R_0 по продуктивности и урожайности

Растения в условиях открытого грунта оценивали по хозяйственно-ценным признакам: продуктивности и урожайности. Оценка продуктивности включала в себя оценку числа цветоносов, числа ягод, среднюю массу ягоды и, непосредственно, саму продуктивность (г/растение). Урожайность учитывали на единицу площади (кг/м^2).

По показателям продуктивности регенеранты не уступали контрольным растениям и даже превышали таковые: количество цветоносов было больше в 1,3-1,4 раза, количество ягод – в 1,2-1,4 раза, средняя масса ягоды сохранялась такой же или немного повышалась – на 5-10%. Средняя продуктивность одного растения-регенеранта за сезон (до 440 г/раст.) и урожайность с одного квадратного метра (до 2,62 кг/м^2) была в 1,2-1,5 раз выше, чем у контрольных растений. По сравнению с сортом-стандартом Богема, растения-регенеранты ремонтантных сортов Тарпан, Эвис Делайт и Флорина при тех же условиях выращивания показали лучшие результаты продуктивности. По числу цветоносов они превышали показатели Богемы в 3,0-4,3 раза, по числу ягод – в 1,3-2,4 раза, по продуктивности и урожайности – в 1,4-1,7 раза. Растения-регенеранты сорта Боровицкая, как и растения этого сорта, полученные из розеток, уступали сорту Богема по продуктивности и урожайности (табл. 26).

Таблица 26 – Характеристика растений-регенерантов R_0 апикального происхождения по продуктивности и урожайности в условиях открытого грунта (n = 48), 2013-2014 гг.

Сорт	Способ получения растений	Компоненты продуктивности			Продук-тивность, г/раст.	Урожай-ность, кг/м^2
		среднее число цвето-носов, шт./раст.	среднее число ягод, шт./раст.	средняя масса ягоды, г		
Тарпан	*in vitro*	16,7	38,8	11,2	436,1	2,6
	традиционный	11,6	28,3	10,0	282,4	1,7
Эвис Делайт	*in vitro*	12,4	23,2	17,2	398,7	2,4
	традиционный	9,8	18,8	16,4	315,6	1,9
Флорина	*in vitro*	11,6	21,3	17,3	374,4	2,3
	традиционный	10,8	17,1	17,3	297,4	1,8
Боровицкая	*in vitro*	1,6	7,8	12,4	122,8	0,7
	традиционный	1,8	5,6	11,6	104,6	0,6
Богема (стандарт)	традиционный	3,9	16,4	14,3	260,5	1,6
$НСР_{05}$		-	-	-	-	0,2

Увеличение числа генеративных образований и повышение продуктивности у растений, размноженных *in vitro*, отмечали также и другие авторы (Zebrowska J.I. et al., 2003; Алексеенко Л.В., Высоцкая О.Н., Высоцкий В.А., 2005). Установлено, что растения-регенеранты земляники садовой были более продуктивными, чем размноженные с помощью усов, из-за локализации более высокой доли всего связанного углерода в репродуктивных структурах (Cameron et al., 1989).

Также была изучена зависимость показателей продуктивности от происхождения растений-регенерантов (из апекса уса, фрагмента листа или лепестка).

Обнаружено, что происхождение регенеранта не влияло на его продуктивность и урожайность. Различия в показателях среднего числа цветоносов и ягод на растение, средней массы ягоды, а также продуктивности и урожайности у регенерантов из разных типов эксплантов в пределах одного сорта были совсем незначительными. По сравнению с растениями, полученными из розеток, растения-регенеранты обоих сортов независимо от происхождения не

уступали и даже несколько превосходили контроль по продуктивности и урожайности (табл. 27).

Таблица 27 – Характеристика растений-регенерантов R_0 различного происхождения (из апекса уса, фрагмента листа и лепестка) по продуктивности и урожайности в условиях открытого грунта (n = 24), 2013-2014 гг.

Сорт	Способ получения растений	Тип эксплантa	Компоненты продуктивности			Продук-тивность, г/раст.	Урожай-ность, кг/м^2
			среднее число цветоно-сов, шт./раст.	среднее число ягод, шт./раст.	средняя масса ягоды, г		
Тарпан	*in vitro*	апекс уса	16,7	38,8	11,2	436,1	2,6
		лист	15,9	35,8	11,7	420,1	2,5
	традицион-ный	-	11,6	28,3	10,0	282,4	1,7
Боровицкая	*in vitro*	апекс уса	1,6	7,8	12,4	122,8	0,7
		лист	1,8	8,4	11,9	115,7	0,7
		лепесток	1,6	7,2	13,1	120,2	0,7
	традицион-ный	-	1,8	5,6	11,6	104,6	0,6
Богема (стандарт)	традицион-ный	-	3,9	16,4	14,3	260,5	1,6

Растения-регенеранты земляники садовой по показателям продуктивности и урожайности в 1,2-1,5 раза превосходят растения, полученные из розеток, что подтверждается также и другими авторами на других сортах. Регенеранты ремонтантных сортов в 1,4-1,7 раза превышают показатели продуктивности и урожайности растений сорта Богема, принятые за стандарт. Происхождение эксплантa, из которого были получены регенеранты (апекс уса, фрагмент листа или лепесток), не оказывало существенного влияния на продуктивность и урожайность растений, полученных *in vitro*.

5.3. Характеристика растений-регенерантов R_0 по биохимическим показателям ягод

Как уже отмечалось ранее, растения-регенеранты должны быть детально оценены по важным сортовым признакам, в том числе, и по основным биохимическим показателям. К основным показателям, определяющим качество

ягод земляники садовой, относятся сухие вещества, аскорбиновая кислота (витамин С) и сахара.

Для изучения были взяты образцы ягод растений-регенерантов сортов Тарпан и Боровицкая, полученных из эксплантов различного происхождения, ягоды растений этих же сортов, полученных традиционным способом – в качестве контроля. Химический состав ягод сорта Богема был принят за стандарт.

Как показали исследования, отмечаются межсортовые различия по химическому составу: ягоды сортов Тарпан и Богема содержат большее количество аскорбиновой кислоты, чем ягоды сорта Боровицкая, а показатели сухого вещества и сахаров у Тарпана ниже, чем у сортов Боровицкая и Богема (табл. 28).

Содержание сухого вещества ягод, собранных с растений-регенерантов сорта Боровицкая, варьировало в пределах от 14,5 до 16,4%, что соответствовало показателям ягод контрольных растений, полученных из дочерних розеток (16,6%) и ягод сорта-стандарта Богема (16,8 %).

Содержание аскорбиновой кислоты у ягод растений-регенерантов сорта Боровицкая, полученных из апекса уса, и контрольных растений – составляло 47,3-47,7 мг%; у ягод растений-регенерантов, полученных из листа – 48,2-48,4 мг%, что несколько выше контроля (на 0,7-1,1 мг%), а у растений-регенерантов, полученных из лепестка – 55,0 мг%, что на 7,3 мг% превышало контроль.

Содержание моносахаров в образцах сорта Боровицкая варьировало от 4,43 до 5,17%, дисахаров – от 2,99 до 5,93%. Сумма сахаров колебалась в пределах 8,16-9,12 мг%, однако у одного клона из апекса уса общее число сахаров превышало контроль на 1,82% (10,93%). Соотношение моно- (глюкоза, фруктоза) и дисахаров (сахароза) в образцах ягод сорта Боровицкая преимущественно было равным (табл. 28).

Растения-регенеранты сорта Тарпан по содержанию сухого вещества в ягодах (14,7-14,8%) не различались. Содержание аскорбиновой кислоты в образце клона, полученного *in vitro* из апекса уса, составило 73,5 мг%, что превышало контрольный образец на 22,2 мг% и сорт-стандарт Богема на 15,4 мг%.

Содержание сахаров в ягодах растений-регенерантов близко к контролю – 7,25%. Сахара в ягодах сорта Тарпан представлены главным образом глюкозой и фруктозой – 4,78-4,80 %, и в меньшем количестве сахарозой – 2,45-2,47 % (табл.28).

Таблица 28 – Биохимическая характеристика растений-регенерантов R_0 земляники садовой из эксплантов различного происхождения, 2014 г.

Сорт	Происхождение растений	Тип экспланта	№ клона	Сухое вещество, %	Аскорбиновая кислота, мг%	Сахара, %		
						моно-	ди-	сумма
Боровицкая	культивирование *in vitro*	апекс уса	1	14,5	47,3	4,96	3,51	8,47
			2	16,0	47,7	5,00	5,93	10,93
		лист	1	15,6	48,4	4,64	4,82	9,46
			2	15,4	48,2	5,17	2,99	8,16
		лепесток	1	16,4	55,0	4,43	4,69	9,12
	дочерние розетки	-	1	16,6	47,7	4,90	4,21	9,11
Тарпан	культивирование *in vitro*	апекс уса	1	14,7	73,5	4,78	2,47	7,25
	дочерние розетки	-	1	14,8	51,3	4,80	2,45	7,25
Богема (стандарт)	дочерние розетки	-	1	16,8	58,1	4,66	5,29	9,95

Таким образом, при клональном микроразмножении *in vitro* у полученных растений-регенерантов не обнаружены негативные отклонения от исходных сортов по биохимическим показателям. По содержанию сухого вещества и сахаров в целом растения-регенеранты близки к контролю. По содержанию аскорбиновой кислоты в ягодах сорта Боровицкая обнаружены клоны, полученные из фрагментов листа и из лепестка, которые соответственно на 1 мг% и на 7,3 мг% превышают конроль. Ягоды отдельных растений-регенерантов сорта Тарпан, полученных из апекса уса, по содержанию аскорбиновой кислоты на 22,2 мг% превышают контроль.

5.4. Характеристика растений-регенерантов R_0 по устойчивости к болезням

Особенностью метода *in vitro* размножения и его несомненным преимуществом является получение оздоровленных растений, менее восприимчивых к фитопатогенам. Одним из главных факторов, значительно снижающим урожайность и качество растений земляники садовой, являются грибные болезни (микозы). Наиболее распространенными и вредоносными являются белая и бурая пятнистости листьев, а также серая гниль (Метлицкий О.З. и др., 2005).

Оценка растений земляники садовой в полевых условиях на естественном инфекционном фоне показала, что регенеранты, полученные *in vitro,* меньше поражаются болезнями, чем растения, полученные традиционным способом размножения.

Распространенность микозов (доля пораженных растений) среди регенерантов всех изученных сортов была меньше в сравнении с соответствующей долей контрольных растений. Так, распространенность белой пятнистости у растений-регенерантов составляла 8,3-66,7% в зависимости от сорта, а у контрольных растений, полученных традиционным способом – 14,6-77,1%. У сортов Эвис Делайт и Флорина не было обнаружено проявлений бурой пятнистости – как у растений-регенерантов, так и у контрольных растений. Растения-регенеранты сорта Тарпан также не поражались бурой пятнистостью, в то время как 22,9% контрольных растений этого сорта оказались заражены. Распространенность серой гнили у растений-регенерантов составила у разных сортов от 10,4 до 58,3%, а у растений, полученных из розеток – 18,8-68,8%.

Развитие болезней у растений-регенерантов также значительно меньше, чем у контрольных растений. Степень поражения белой пятнистостью регенерантов сортов Тарпан и Эвис Делайт оказалась ниже 2,2 раза, а сортов Флорина и Боровицкая – в 1,5 и 1,6 раз соответственно по сравнению с контролем. Заражения бурой пятнистостью у регенерантов ремонтантных сортов не было обнаружено.

Степень поражения растений-регенерантов серой гнилью была меньше в 1,6-2,5 раза, чем у растений из розеток (табл. 29).

Регенеранты также превосходили по устойчивости к болезням растения сорта-стандарта Богема. Степень поражения растений-регенерантов ремонтантных сортов белой пятнистостью была меньше в 1,6-3,9 раз, серой гнилью – в 2,2-3,1 раза, а бурой пятнистостью регенеранты совсем не поражались (табл. 29).

Отмечая сортовые особенности, наименее восприимчивы к болезням оказались растения сортов Эвис Делайт и Флорина. Растения сорта Боровицкая больше других поражались изученными микозами.

Таблица 29 – Распространенность (P) и развитие (R) болезней у растений-регенерантов апикального происхождения земляники садовой в условиях открытого грунта (n = 48), 2013-2014 гг.

Сорт	Способ получения растений	Белая пятнистость		Бурая пятнистость		Серая гниль	
		P, %	R, %	P, %	R, %	P, %	R, %
Тарпан	*in vitro*	29,2	8,3	0	0	29,2	7,5
	традиционный	58,3	18,3	22,9	5,4	62,5	18,8
Эвис Делайт	*in vitro*	8,3	1,7	0	0	10,4	3,8
	традиционный	16,7	3,8	0	0	18,8	8,8
Флорина	*in vitro*	10,4	4,2	0	0	12,5	5,4
	традиционный	14,6	6,3	0	0	18,8	9,2
Боровицкая	*in vitro*	66,7	25,8	31,3	5,8	58,3	17,5
	традиционный	77,1	40,8	39,6	10,0	68,8	27,5
Богема (стандарт)	традиционный	31,3	6,7	20,8	9,6	52,1	16,7

По результатам оценки посадочный материал ремонтантных сортов земляники садовой, полученный *in vitro*, характеризуется как оздоровленный, растения-регенеранты в 1,5-2,2 раза меньше поражались белой пятнистостью, в 1,7-2,5 раз – серой гнилью и не поражались бурой пятнистостью. Наибольшую устойчивость показали сорта Эвис Делайт и Флорина.

Таким образом, оценка растений-регенерантов в полевых условиях показала, что данные растения обладают всеми характерными для исходного сорта морфологическими, хозяйственно-ценными и биохимическими признаками. Растения-регенеранты превосходят обычные растения по количеству формируемых усов и дочерних розеток, продуктивности и урожайности, не уступают по биохимическим показателям ягод, являются оздоровленными, что подтверждается меньшей степенью поражения серой гнилью, белой и бурой пятнистостями.

6. ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДСТВА ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ

Экономическая эффективность является показателем возможности практического применения научных результатов. Для определения эффективности производства посадочного материала земляники садовой была подсчитана себестоимость посадочного материала ремонтантного сорта Эвис Делайт, полученного по различным технологиям, а также трудовые и энергетические затраты (приложение А, Б, В, Г).

Затраты на получение рассады традиционным методом размножения в открытом грунте с применением Циркона, из расчета на площадь 100 м^2, всего на 1% превышают затраты на выращивание в открытом грунте без применения обработки (на 377 руб.) (Приложение А, Б). Размножение земляники садовой в условиях теплицы является значительно более затратным. При выращивании маточников в защищенном грунте в 2,5 раза выше денежные и трудовые затраты и в 5 раз выше энергетические затраты, чем при выращивании открытом грунте (Приложение В) (табл. 30). Тем не менее, более высокий коэффициент размножения, обусловленный применением Циркона или выращиванием в условиях защищенного грунта, позволяет снизить себестоимость продукции и увеличить прибыль. При производстве рассады в открытом грунте без обработки возможно получить в среднем 3 розетки в год с одного растения сорта Эвис Делайт или 1800 розеток со 100 м^2, с применением обработки Цирконом в открытом грунте возможно получить в среднем 6 розеток в год с одного растения или 3600 розеток со 100 м^2, а при выращивании в теплице – 19 розеток в год с одного растения или 11400 розеток со 100 м^2. Соответственно, себестоимость одного растения земляники садовой, полученного в открытом грунте без обработки препаратами, составила 21 руб., при выращивании в открытом грунте с применением обработки Цирконом – 11 руб. за штуку, а при выращивании в теплице – 9 руб. за штуку. Цена реализации розеточной рассады сорта Эвис Делайт за штуку колеблется в зависимости от производителя от 40 до 120 рублей.

При условии реализации саженцев по 40 руб. годовая прибыль при выращивании рассады в открытом грунте с применением обработки Цирконом составит около 106 тыс. руб. с сотки, при производстве рассады в теплице – около 358 тыс. руб. (табл. 30).

Таблица 30 – Затраты на производство посадочного материала земляники садовой традиционным методом и прибыль от его реализации (сорт Эвис Делайт, площадь 100 м^2)

Метод получения посадочного материала	Затраты на 100 м^2			Выход рассады в год со 100 м^2, шт.	Сумма от реализации рассады со 100 м^2, руб.*	Годовая прибыль от реализации рассады со 100 м^2, руб.*
	денежные, руб.	трудовые, чел.час.	энергетические, МДж			
Выращивание в открытом грунте без обработки (контроль)	37 771,6	300	9 990,0	1 800	72 000	34 228
Выращивание в открытом грунте с применением обработки Цирконом	38 148,6	310	10 323,0	3 600	144 000	105 853
Выращивание в защищенном грунте без обработки	98 264,54	760	52 085,6	11 400	456 000	357 735

* - реализационная цена рассады 40 руб./шт.

Метод *in vitro* размножения является достаточно трудоемким и требует большего количества материальных затрат. Себестоимость растений-регенерантов, полученных *in vitro* культивированием апексов усов, составляет 34,5 руб. за штуку, трудовые затраты – 0,10 чел.час, энергетические – 8 МДж (приложение Г). Посадочный материал, полученный *in vitro*, является оздоровленным, обладает всеми характерными сортовыми признаками, высоко ценится в первичном питомниководстве и используется в качестве маточных растений для закладки плантаций. Цена реализации оздоровленных растений

земляники садовой, полученных *in vitro,* составляет от 45 до 200 рублей за штуку в зависимости от производителя.

Метод *in vitro* размножения земляники садовой из апексов усов позволяет круглогодично получать оздоровленный качественный посадочный материал в виде растений-регенерантов в больших объемах. С учетом коэффициента размножения и коэффициентов потерь из одного исходного жизнеспособного эксплантa в течение года по общепринятой технологии можно получить почти 313,5 тыс. растений-регенерантов сорта Эвис Делайт. Годовая прибыль от реализации растений, полученных *in vitro* из одного эксплантa, при реализации по минимальной цене 45 руб./растение, может составить более 3,3 млн. руб.

Необходимое количество розеток на гектар для закладки плантации в зависимости от схемы посадки составляет в среднем 50-70 тыс. штук. Технология клонального *in vitro* размножения апексов усов позволяет за год культивирования из одного морфогенного эксплантa получить объем посадочного материала, необходимый для 4-6 га насаждений. Высокая эффективность метода *in vitro* размножения сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью, обусловлена высоким коэффициентом размножения, получением высококачественных оздоровленных растений, а также экономией площадей и возможностью работать в лабораторных условиях круглый год.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые высокоурожайные ремонтантные сорта земляники садовой, такие как Тарпан, Эвис Делайт, Эви 2, Флорина и др., благодаря многочисленным достоинствам являются востребованными и перспективными на современном рынке и представляют значительный интерес для изучения. Однако, характерная для них низкая усообразующая способность затрудняет их массовое размножение традиционным способом.

Полученные в ходе исследования экспериментальные данные позволяют усовершенствовать методы и приемы размножения данных сортов для массового получения качественного посадочного материала.

Применение регулятора роста нового поколения Циркон позволяет в зависимости от сорта в 1,5-2,3 раза повысить интенсивность усообразования и выход дочерних розеток, позволяет получать до 10 розеток с растения. Выращивание маточных растений в условиях защищенного грунта, благодаря продлению периода вегетации, также позволяет в 4,3-6,4 раза увеличить выход дочерних розеток и получать до 21 розетки с растения (рис. 17).

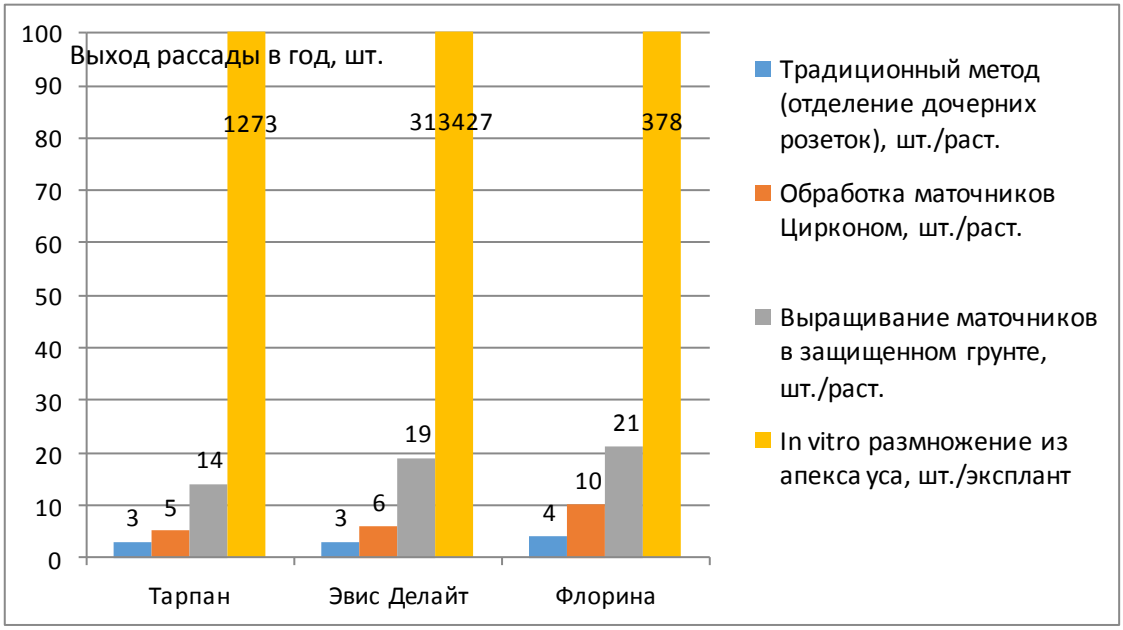


Рисунок 17 – Повышение эффективности способов размножения сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью, с помощью различных методов и приемов

Культивирование *in vitro* апексов усов позволяет получать высококачественный посадочный материал вышеуказанных сортов земляники садовой в достаточном количестве, необходимом для создания промышленных насаждений. Выход растений-регенерантов зависит от генотипа и может достигать 313,5 тыс. регенерантов от одного эксплантa за год культивирования (рис. 17).

Высокая жизнеспособность, массовое образование побегов, хорошая укореняемость и приживаемость, а также оздоровленность и высокие показатели хозяйственно-ценных признаков полученных растений-регенерантов свидетельствуют о том, что культивирование *in vitro* апексов усов может успешно применяться для размножения и получения оздоровленного качественного посадочного материала сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью. Годовая прибыль от реализации растений, полученных методом *in vitro* размножения из одного эксплантa, может составлять более 3,3 млн. руб.

ВЫВОДЫ

1. Ремонтантные сорта земляники садовой Тарпан, Эвис Делайт, Эви 2 и Флорина характеризуются низкой усообразующей способностью (2-8 усов и 3-7 дочерних розеток на растение), высоким качеством ягод и высокой урожайностью (до 1,8 кг/м^2), длительным периодом плодоношения (с начала июня до конца сентября), высокой устойчивостью к серой гнили, белой и бурой пятнистостям.
2. В условиях защищенного грунта у растений ремонтантных сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью, на 40-47 суток раньше начинается формирование усов и на 27-33 суток раньше наступает цветение и плодоношение, чем в открытом грунте, что позволяет получить в 4,3-6,4 раза больше дочерних розеток и в 1,3-2,3 раза повысить урожайность.
3. Регуляторы роста Циркон и Энергия-М оказывают общий стимулирующий эффект на растения ремонтантных сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью. Обработка Цирконом в концентрации 30 мкл/л наиболее эффективна и позволяет в 1,5-2,3 увеличить выход дочерних розеток, на 11-29% увеличить среднюю массу ягоды и в 1,3-2,4 раза повысить продуктивность и урожайность в зависимости от сорта и года вегетации.
4. Апексы уса обладают наибольшей морфогенетической активностью *in vitro*, их применение наиболее эффективно для микроразмножения ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью и позволяет получать до 87% жизнеспособных эксплантов, формирующих 1,6-3,0 побега на эксплант и 2,1-4,3 побега на морфогенный конгломерат на этапе культивирования.
5. Фрагменты листа ремонтантных сортов земляники садовой обладают меньшей регенерационной активностью *in vitro,* чем апексы усов (до 40% жизнеспособных эксплантов, коэффициент размножения 1,3-1,8 побегов на конгломерат).
6. Культивирование *in vitro* лепестков земляники садовой позволяет получить до 4,3% морфогенных эксплантов, формирующих 2,0-3,0 побега на эксплант и 2,3-3,3 побега на морфогенный конгломерат на этапе размножения.

7. Среди изученных ремонтантных сортов наибольшей жизнеспособностью и регенерационной активностью *in vitro* обладает сорт Эвис Делайт, коэффициент размножения составил 4,6 почек и 4,3 побегов на конгломерат, 97% полученных растений-регенерантов успешно адаптировались к условиям *ex vitro*.
8. Полученные *in vitro* растения-регенеранты ремонтантных сортов земляники садовой являются высококачественным оздоровленным посадочным материалом: формируют в 1,4-1,6 раз больше дочерних розеток, чем обычные растения, в 1,2-1,5 раза превосходят их по продуктивности и урожайности, не уступают по биохимическим показателям ягод, в 1,5-2,5 раза меньше поражаются серой гнилью и белой пятнистостью и не поражаются бурой пятнистостью.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИОННОЙ ПРАКТИКЕ И ПИТОМНИКОВОДСТВЕ

На основании полученных результатов исследований предложены приемы по усовершенствованию традиционного метода размножения сортов земляники садовой, характеризующихся низкой усообразующей способностью (Тарпан, Эвис Делайт, Эви 2, Флорина).

Для увеличения выхода дочерних розеток и получения качественного посадочного материала, а также для повышения продуктивности и урожайности, рекомендуется:

- обработка растений регулятором роста Циркон в концентрации 30 мкл/л, при норме расхода жидкости 30 мл/м^2, дважды за вегетационный период в фазу бутонизации и начала цветения. Этот прием позволяет в 1,5-2,3 раза повысить выход дочерних розеток и получать до 10 дочерних розеток в год с одного растения и 3,3 кг ягод/м^2;
- круглогодичное выращивание растений в условиях обогреваемой пленочной теплицы, позволяющее в 4,3-6,4 раз повысить выход дочерних розеток и получать до 21 дочерней розетки в год с одного растения и 3,4 кг ягод/м^2.

Данные приемы позволяют увеличить интенсивность усообразования у ремонтантных сортов с низкой усообразующей способностью и могут быть рекомендованы для использования в небольших фермерских хозяйствах для получения посадочного материала и обновления небольших плантаций.

Технология клонального *in vitro* размножения может быть использована для массового получения растений-регенерантов ремонтантных сортов земляники садовой с низкой усообразующей способностью и подразумевает:

- для введения в культуру *in vitro* использовать апексы молодых растущих усов размером 1-2 мм;
- в качестве дополнительных эксплантов при дефиците материала использовать фрагменты листовых дисков размером 2×2 мм и лепестки размером 2-3 мм, изолированные из закрытых бутонов длиной 3-4 мм;

- проводить культивирование по общепринятой технологии для культуры земляники садовой – для индукции морфогенеза использовать агаризованную среду MS, обогащенную БА в концентрации 0,5 мг/л; разросшиеся морфогенные конгломераты разделять на побеги и переносить на среду MS, содержащую 0,5 мг/л БА и 0,1 мг/л ИМК; для индукции ризогенеза переносить побеги на среду MS, содержащую 0,5 мг/л ИМК;
- полученные растения-регенеранты высаживать в торфяные таблетки «Jiffy» для адаптации к условиям *ex vitro*.

Оздоровленные растения-регенеранты ремонтантных сортов земляники садовой Тарпан, Эвис Делайт, Эви 2 и Флорина обладают высокими показателями хозяйственно-ценных признаков и могут быть рекомендованы для дальнейшего использования в первичном питомниководстве в качестве маточных растений.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аблакатова, А.А. Микофлора и основные грибные болезни плодово-ягодных растений юга Дальнего Востока / А.А. Аблакатова. – М. – Л. : Наука, 1965. – 146 с.
2. Айтжанова С.Д. Адаптивный и продуктивный потенциал новых сортов и отборов земляники / С.Д. Айтжанова, Н.В. Андронова, Г.В. Орехова // Главный агроном. – 2010. – № 1. – С. 35-38.
3. Айтжанова, С.Д. Земляника / С.Д. Айтжанова // Ягодные культуры в Центральном регионе России / под ред. И.В. Казакова. – Брянск : Издательство Брянской ГСХА, 2009. – 208 с.
4. Александрова, Г.Д. Десять лучших сортов земляники и клубники / Г.Д. Александрова. – М. : АСТ; СПб. : Астрель, 2005. – 158 с.
5. Алексашова, В.С. Справочник агронома Нечерноземной зоны / В.С. Алексашова, В.И. Анискин, Б.П. Асякин. – М. : Агропромиздат, 1990. – 575 с.
6. Алексеенко, Л.В. Методика регенерации плодовых и ягодных растений в культуре эксплантов различного происхождения / Л.В. Алексеенко, В.А. Высоцкий; под ред. И.М. Куликова. – М. : ВСТИСП, 2008. – 28 с.
7. Алексеенко, Л.В. Особенности размножения нейтральнодневных и ремонтантных сортов земляники *in vitro* / Л.В. Алексеенко : дис. … канд. с.-х. наук. – М. – 1998. – 168 с.
8. Алексеенко, Л.В. Влияние условий культивирования *in vitro* на дальнейшее поведение *in vivo* растений земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duch.) / Л.В. Алексеенко, О.Н. Высоцкая, В.А. Высоцкий // Плодоводство и ягодоводство России. Сб. науч. работ ВСТИСП. – М., 2005. – Т. XII. – С. 337-342.
9. Белик, В.Ф. Методика опытного дела в овощеводстве и бахчеводстве / В.Ф. Белик. – М. : Агропромиздат, 1992. – 319 с.
10. Белов, В.Ф. Земляника / В.Ф. Белов, И.И. Чухляев. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Агропромиздат, 1989. – 40 с.

11. Белопинецкий, А. В. Многоядные вредители / А.В. Белопинецкий // Защита и карантин растений. – 1996. – № 6. – С. 24.
12. Белошапкина, О.О. Здоровый посадочный материал земляники основа успеха / О.О. Белошапкина, И.И. Ханжиян, Е.Р. Батрак // Защита и карантин растений. – 2001. – № 8. – С. 23-24.
13. Белошапкина, О.О. Защита земляники в питомнике высших репродукций / О.О. Белошапкина, JI.В. Безобразнова // Защита и карантин растений. – 2001. – №9. – С.42-43.
14. Бенне, Р. Промышленное производство земляники / Р. Бенне. – М. : Колос, 1978. – 110 с.
15. Болховских, З.В. Хромосомные числа цветковых растений / З.В. Болховских, В.Г. Гриф, О.И. Захарьева, Т.С Матвеева. – Л. : Наука, 1969. – 928 с.
16. Бондаренко, Е.Д. Особенности клонального размножения *in vitro* сортов земляники ананасной / Бондаренко Е.Д., Киссель Н.И. // Сельскохозяйственная биология. – 2002. – № 1. – С. 81-85.
17. Бондаренко, Н.В. Вредные нематоды, клещи, грызуны / Н.В. Бондаренко, И.Я. Поляков, А.А. Стрелков. – Л. : Колос, 1969. – 271 с.
18. Бурмистров, А.Д. Ягодные культуры / А.Д. Бурмистров. – М. : Росагропромиздат, 1991. – 96 с.
19. Бутенко, Р.Г. Биотехнология : Учеб. пособие для вузов. В 8 кн. / под ред. Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова. Кн. 3 : Клеточная инженерия / Р.Г. Бутенко, М.В. Гусев, А.Ф. Киркин, Т.Г. Корженевская, Е.Н. Маркарова. – М. : Высшая школа, 1987. – 128 с.
20. Бутенко, Р.Г. Культура изолированных растительных тканей и физиология морфогенеза растений / Р.Г. Бутенко. – М. : Наука, 1964. – 270 с.
21. Ван дер Планк, Я. Генетические и молекулярные основы патогенеза у растений / Я. Ван дер Планк; под ред. А.Д. Володарского; пер. с англ. М.Г. Дуниной. – М. : Мир, 1981. – 236 с.
22. Волкова, Т.И. Ремонтантная земляника: биологические особенности, агротехника, сорта / Т.И. Волкова. – М. : Наука, 2000. – 143 с.

23. Высоцкий, В.А. Действие некоторых регуляторов роста на изолированные меристематические верхушки чёрной смородины / В.А. Высоцкий // Плодоводство и ягодоводство нечернозёмной полосы. – М., 1976. – Т. IX. – с. 101-107.
24. Высоцкий, В.А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровленного посадочного материала и селекции плодовых и ягодных растений / В.А. Высоцкий : дис. … д-ра с.-х. наук : 06.01.07 / Высоцкий Валерий Александрович. – М., 1998. – 321 с.
25. Высоцкий, В.А. Культура изолированных тканей и органов плодовых растений: оздоровление и микроклональное размножение / В.А. Высоцкий // Сельскохозяйственная биология. – 1983. – № 7. – С. 42-47.
26. Высоцкий, В.А. Становление и развитие биотехнологических исследований в садоводстве / В.А. Высоцкий, Л.В. Алексеенко // Плодоводство и ягодоводство России. 80 лет ГНУ ВСТИСП Россельхозакадкмии. Сб. науч. работ ВСТИСП. – М., 2005. – Т. XII. – С. 337-342.
27. Галиулина, А.А. Влияние регуляторов роста растений на рост и развитие земляники / А.А. Галиулина // Вестн. Оренб. гос. ун-та. – Оренбург, 2008. – №87. – С. 11-13.
28. Гирко, В.С. Фиторегуляторы нового поколения и спектры их действия на урожай озимой пшеницы и тритикале / В.С. Гирко, Н.А. Сабадин // Регуляторы роста и развития растений в биотехнологиях: 6-я Международ. Конф. – М. : Изд. МСХА, 2001. – С. 224.
29. Глебова, Е.И. Ягодный сад / Е.И. Глебова, В.В. Даньков, М.М. Скрипниченко – Л. : Лениздат, 1990. – 129 с.
30. Говоров, Д.Н. Направления и методологические основы селекции земляники в России и сопредельных странах / Д.Н. Говоров // Растениеводство и селекция. – 2005. – С.34-38.
31. Говорова, Г.Ф. Заболевание земляники, вызываемое грибом *Phitophtora fragariae* Hickm. / Г.Ф. Говорова // Бюлл. ГБС АН СССР. – 1964. – Вып. 54. – С. 105-110.

32. Говорова, Г.Ф. Земляника / Г.Ф. Говорова, Д.Н. Говоров. – М. : Издательский Дом МСП, 2003. – 160 с.
33. Говорова, Г.Ф. Земляника: прошлое, настоящее, будущее / Г.Ф. Говорова, Д.Н. Говоров. М. : ФГНУ «Росинформагротех». – 2004. – 348 с.
34. Говорова, Г.Ф. Иммунологическое улучшение сортимента земляники в России / Г.Ф. Говорова, В.В. Мазин, М.Д. Калиженкова, Д.И. Говоров // Сельскохозяйственная биотехнология. Избранные работы / под ред. В.С. Шевелухи. – М. : Воскресенье, 2000. – Т. 1. – С. 115-131.
35. Говорова, Г.Ф. Методические указания по оценке устойчивости плодово-ягодных культур к основным заболеваниям / Г.Ф. Говорова. – Л : ВИР, 1968. – 67 с. (в соавт.).
36. Говорова, Г.Ф. Методы оценки сельскохозяйственных культур при селекции на иммунитет: учебно-методическое пособие / Г.Ф. Говорова. – М. : Изд-во РГАУ МСХА, 2011. – 48 с.
37. Говорова, Г.Ф. Основные направления и методы селекции земляники на устойчивость к грибным патогенам / Г.Ф. Говорова, Д.Н. Говоров // Сельскохозяйственная биология. – 1998. – № 1. – С. 35-43.
38. Говорова, Г.Ф. Селекция земляники на устойчивость к болезням в условиях Северного Кавказа : автореф. дис. … д-ра с.-х. наук : 06.01.11 / Говорова Галина Федоровна. – СПб. : ВИР, 1992. – 45 с.
39. Говорова, Г.Ф. Устойчивость и восприимчивость земляники к белой, бурой и угловатой пятнистости / Г.Ф. Говорова // Проблемы современной ботаники. – М. – 1965. – Т.2. – С. 306-312.
40. Гребенщиков, С.К. Справочник по защите растений для садоводов и огородников / С.К. Гребенщиков. – М. : Россельхозиздат, 1987. – 207 с.
41. Гришанович, А.К. Болезни земляники в условиях БССР и меры борьбы с ними : автореф. дис. … канд. с.-х. наук : 06.540 / Гришанович А.К. – Минск : МСХ БССР, Белорус. НИИ земледелия, 1971. – 22 с.
42. Гудковский, В.А. Окислительный стресс – основная причина снижения продуктивности и устойчивости к вредным организмам у плодовых растений

/ В.А. Гудковский, Н.Я. Каширская, Е.М. Цуканова // Основные итоги и перспективы научных исследований ВНИИС им. И.В. Мичурина: Сб. науч. тр. – Мичуринск, 2001. – Т. 2. – С. 3-20.

43. Деменко, В.И. Биологические и технологические особенности вегетативного способа размножения в системе производства посадочного материала : дис. … д-ра с.-х. наук : 06.01.07 / Деменко Василий Иванович. – М., 2006. – 329 с.
44. Деменко, В.И. Микроклональное размножение садовых растений: учебное пособие / В.И. Деменко. – М. : Изд-во МСХА, 2007. – 55 с.
45. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б.А. Доспехов. – 6-е изд., стереотип. – М. : Альянс, 2011. – 352 с.
46. Дроздовский, Э.М. Слизни, хрущи, щелкуны, медведки / Э.М. Дроздовский // Защита и карантин растений. – 2001. – №5. – С. 44-46.
47. Ефименко, В.В. Некоторые физиологические аспекты влияния регуляторов роста и развития на растения земляники садовой *Fragaria ananassa* Duch. : дис. ... канд. с.-х. наук : 03.00.12 / Ефименко Виталий Васильевич. – Брянск, 2006. – 147 с.
48. Жбанова, Е.В. Селекция земляники на качество и улучшенный химический состав / Е.В. Жбанова, И.В. Лукъянчук // Повышение эффективности садоводства в современных условиях: Материалы Всерос. науч.-практ. конф. Мичуринск: Мич. ГАУ. – 2003. – Т.II. – С.135-141.
49. Зубов, А.А. Теоретические основы селекции земляники / А.А. Зубов. – Мичуринск : ВНИИС им. И.В. Мичурина, 2004. – 196 с.
50. Зубов, А.А. Селекция земляники / А.А. Зубов, И.В. Попова // Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур. – Орел : ВНИИСПК, 1995. – С. 387-417.
51. Казаков, И.В. Состояние и перспективы развития ягодоводства в России / И.В. Казаков // Плодоводство и ягодоводство России: Сб. науч. работ, ВСТИСП. – М. – 2009. – Т. XXII, ч. 2. – С.64-72.

52. Камедько, Т.Н. Полевая устойчивость сортов земляники садовой к пятнистостям листьев / Т.Н. Камедько // Главный агроном. – 2014. – № 1. – С. 64-65.
53. Кантор, Т.С. Итоги селекционно-генетической работы по созданию хозяйственно-ценных сортов от инконгруэнтных скрещиваний *Fragaria x ananassa* x *Fragaria moschata* Duch. / Т.С. Кантор // Генетика. – М. – 1983. – Т. XIX. – № 12. – С. 2050-2059.
54. Кашин, В.И. Культура земляники в Подмосковье / В.И. Кашин и др. – М. : ВСТИСП, 2003. – 134 с.
55. Козлова, И.И. Система производства высокопродуктивной рассады земляники с программируемыми параметрами качества / И.И. Козлова // Плодоводство и ягодоводство России: Сб. науч. тр. ВСТИСП. – М. – 2008. – Т. XVIII. – С. 183-188.
56. Колосова, Н. Н. Атлас Московской области / Н.Н. Колосова, Е.А.Чурилова. – М. : Просвещение, 2004. – 48 с.
57. Кондаков, А.К. Результаты исследований по эффективности и экологичности удобрения плодовых и ягодных культур / А.К. Кондаков // Экология и промышленное садоводство / Сборник науч. трудов ВНИИС имени И.В. Мичурина. – Мичуринск, 1992. – С. 119-125
58. Копылов, В.И. Выращивание земляники в защищенном грунте / В.И. Копылов // Плодоовощное хозяйство. – 1987. – №12. – С. 36-38.
59. Куликов, И.М. Оптимизация размещения предприятий плодово-ягодного подкомплекса АПК в Центральном Федеральном Округе РФ на период 2009 – 2012 гг. / И.М. Куликов, В.Ф. Урусов, С.М. Медведев // Садоводство и Виноградарство. – 2009. – № 3. – С. 25-32.
60. Куликов, И.М. Производство плодов и ягод в мире / И.М. Куликов, О.З. Метлицкий // Плодоводство и ягодоводство России. – ВСТИСП. – М. – 2006. – С. 99-112.

61. Куликов, И.М. Пути повышения производства ягод в Российской Федерации / И.М. Куликов // Плодоводство и ягодоводство России: Сб. науч. работ, ВСТИСП. – М. – 2009. – Т. XXII, ч. 2. – С. 3-12.
62. Лаугале, В. Как выбрать свой сорт земляники / В. Лаугале // Земляничная газета. – Рига. – 1999. – С. 14-22.
63. Лебедев, В.Г. Проявление сомаклвсональной изменчивости у микроразмноженных и трансгенных растений / В.Г. Лебедев, А.Б. Азарова, К.А. Шестибратов, В.И. Деменко // Известия ТСХА. – Вып. 1. – 2012. – С. 153 – 163.
64. Леунов, В.И. Энергетическая оценка технологий выращивания овощей в системе земледелия. Методические рекомендации / В.И. Леунов, А.А. Емельянов. – М. : РАСХН ВНИИО, 2003. – 32 с.
65. Литвинов, С. С. Методика полевого опыта в овощеводстве / С.С. Литвинов. – М. : ГНУ ВНИИО, 2011. – 650 с.
66. Лысанюк, В.Г. Земляника / В.Г. Лысанюк. – Киев : «Выща школа», 1990. – 150 с.
67. Мажоров, Е.В. Земляника / Е.В. Мажоров. – Л. : Колос, 1984. – 62 с.
68. Матала, В. Выращивание земляники / В. Матала / пер. с фин. С.А. Голохвастова. – СПб. : Сельскохозяйственный центр Южной Карелии Про Агрия, 2003. – 210 с.
69. Метлицкий, О.З. Основы защиты растений в ягодоводстве от вредителей и болезней // О.З. Метлицкий, К.В. Метлицкая, А.С. Зейналов, И.А. Ундрицова – М. : ВСТИСП. – 2005. – 380 с.
70. Метлицкий, О.З. Современное мировое производство плодов и ягод / О.З. Метлицкий // Плодоводство и ягодоводство России: Сб. науч. работ ВСТИСП. – М. – 1998. – Т. V. – С. 20-26.
71. Михтелева, Л.А. Влияние гиббереллина на рост и развитие садовой земляники : автореф. дис. … канд. с.-х. наук : / Михтелева Л.А. – М., 1972. – 24 с.

72. Мозафари, А.А. Оптимизация технологии ускоренного размножения ценных генотипов земляники *in vitro*: автореф. дис. … канд. с.-х. наук : 06.01.07 / Мозафари А.А. – М., 2004. – 20 с.
73. Наделюев, А.Л. Особенности возделывания земляники по финской технологии / А.Л. Наделюев // Состояние и перспективы развития ягодоводства в России (Материалы Всерос. науч.-метод. конф. 19-22 июня 2006). – Орел: Изд-во ВНИИСПК. – 2006. – С.221-224.
74. Натальина, О.Б. Болезни ягодников / О.Б. Натальина. – М. : Сельхозиздат, 1963. – 272 с.
75. Никиточкина, Т.Д. Земляника, клубника / Т.Д. Никиточкина, Д.Н. Никиточкин. – М. : Ниола-Пресс, ЮНИОН-паблик, 2007. – 160 с.
76. Оздоровление, размножение и хранение земляники и малины в культуре *in vitro*. Методические указания. – СПб : ВИР, 1999. - 75 с.
77. Павликова, Е.В. Эффективность систем зяблевой обработки почвы и регуляторов роста растений в технологии возделывания яровой пшеницы / Е.В. Павликова, О. А. Ткачук, А. Н. Орлов // Вестник АПК Верхневолжья. – 2012. – № 1 (17). – С. 34–38.
78. Паскеев, Н.А. Совершенствование системы производства оздоровленного посадочного материала земляники в условиях Северного Кавказа : автореф. дис. … канд. с.-х. наук : 06.01.07 / Паскеев Николай Анатольевич. – Краснодар, 2001. – 27 с.
79. Плешков, Б.П. Практикум по биохимии растений / Б.П. Плешков. – изд. 2-е, доп. и перераб. – М. : Колос, 1976. – 256 с.
80. Поляков, А.В. Получение регенерантов овощных культур и их размножение *in vitro* / А.В. Поляков. – М. : ГНУ ВНИИО Россельхозакадемии, 2005. – 36 с.
81. Поляков, А.В. Получение растений огурца с повышенной устойчивостью к фузариозному увяданию методами *in vitro*. Методические рекомендации / А.В. Поляков, А.А. Ткачева, И.И. Тарасенков, Н.К. Бирюкова. – М. : ГНУ ВНИИО Россельхозакадемии, 2006. – 28 с.

82. Попова, И.В. Исходные формы позднецветущих сортов земляники / И.В. Попова, Ю.М. Минязева // Плодоводство и ягодоводство в России: сб. науч. ст. / ВСТИСП; ред. И.М. Куликов и др. – М. : ВСТИСП, 2005. – Т.13. – С.37-46.
83. Посылаев, В.А. Технология возделывания земляники / В.А. Посылаев. – Харьков : ХГАУ, 1991. – 46 с.
84. Применение регуляторов роста в плодоводстве : сборник статей : перевод с англ. / под ред. М. Т. Тарасенко. – М. : Изд-во иностр. лит., 1958. – 267 с.
85. Причко, Т.Г. Апробация посадочного материала плодовых, ягодных и орехоплодных культур в южной зоне плодоводства / Т.Г. Причко, Е.М. Алехина, Е.В. Ульяновская. – Краснодар : СКЗНИИСиВ, 2007. – 117 с.
86. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / под общ. ред. Г.А. Лобанова. – Мичуринск : ВНИИС им. И.В. Мичурина, 1973. – 491 с.
87. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. – Мичуринск : ВНИИС им. И.В. Мичурина, 1980. – 495 с.
88. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / под общ. ред. Е.Н. Седова и Т.П. Огольцевой. – Орел : ВНИИСПК, 1999. – 608 с.
89. Рассел, Г.Э. Селекция растений на устойчивость к вредителям и болезням / Г.Э. Рассел. – М. : Колос, 1982. – 420 с.
90. Расторгуев, С.Л. Совершенствование селекционного процесса плодовых и ягодных растений на основе цитологических методов и культуры изолированных тканей : дис. … д-ра с.-х. наук : 06.01.05 / Расторгуев Сергей Леонидович. – Мичуринск, 2008. – 312 с.
91. Резник, С.М. Селекционная оценка сортов и элитных форм земляники по устойчивости к мучнистой росе и гнилям в условиях Подмосковья : дис. … канд. с.-х. наук : 06.01.05 / Резник Сергей Михайлович. – М., 1991. – 130 с.

92. Самигуллина, Н.С. Практикум по селекции и сортоведению плодовых и ягодных культур: учебное издание / Н.С. Самигуллина. – Мичуринск: Изд-во Мичуринского государственного аграрного университета, 2006. – 197 с.
93. Самойленко, Н.А. Пути совершенствования промышленного возделывания земляники садовой в Северном Причерноморье : автореф. … дис. д-ра с.-х. наук : 06.01.07 / Самойленко Николай Александрович. – М., 2003. – 23 с.
94. Сизенко, Ю.М. Интенсификация производства земляники за рубежом / Ю.М. Сизенко. – М. : ВНИИИТЭИагропром, 1989. – 55 с.
95. Система производства, переработки и доведения до потребителя ягод в Нечерноземной зоне России / под. ред. И.М. Куликова. – М. : ВСТИСП, 2005. – 172 с.
96. Соловей, Э.П. Влияние гиббереллина и препарата тур на рост и развитие садовой земляники : автореф. дис. … канд. с-х. наук : 06.01.07 / Соловей Эсфира Павловна. – М., 1977. – 22 с.
97. Справочник по климату СССР. – Вып. 8. – Ч. II. Температура воздуха и почвы. – М. : Гидрометеоиздат, 1964. – 356 с.
98. Сурова, И.П. Влияние регуляторов роста на развитие растений земляники в условиях Ярославской области / И.П. Сурова, С.А. Хапова // Сборник материалов I Внутривузовского конкурса инновационных проектов аспирантов и студентов по приоритетным направлениям науки и техники «Молодежь и наука». – Ярославль : ЯрГУ им. П.Г. Демидова, 2009. – С. 38-39.
99. Сухарева, Н.Б. Значение метода посредника в связи с использованием отдаленной гибридизации в селекции земляники : дис. ... канд. биол. наук : 06.01.05 / Сухарева Наталья Борисовна. – Кишинев, 1966. – 195 с.
100. Титов, Д.А. Основные методы учета вредителей и болезней плодовых культур / Д.А. Титов // Защита растений. – 1992. – № 2. – С. 42 – 44.
101. Ткачук, О. А. Эффективность применения регуляторов роста при возделывании яровой пшеницы в условиях лесостепной зоны Среднего

Поволжья / О. А. Ткачук, Е. В. Павликова, А. Н. Орлов // Молодой ученый. – 2013. – №4. – С. 677-679.

102. Упадышев, М. Т., Технология получения оздоровленного от вирусов посадочного материала плодовых и ягодных культур: метод. указания / М.Т. Упадышев, К. В. Метлицкая, В.И. Донецких, А.А. Борисова, В.Г. Селиванов, О.А. Пискунов, С.Н. Юдина; под ред. И.М. Куликова. – М. : ФГБНУ «Росинформагротех», 2013. – 92 с.
103. Хамукова, Ф.Н. Регенерация растений земляники и малины из эксплантов различного происхождения : дис. … канд. с.-х. наук : 06.01.07 / Хамукова Фатима Нурбиевна. – М., 1994. – 181 с.
104. Хапова, С.А. Все о клубнике и землянике в нашем саду / С.А. Хапова. – Ярославль: Академия Холдинг, 2003. – 64 с.
105. Хапова, С. А. Интродукция перспективных сортов земляники садовой в Северо-Западном регионе Российской Федерации / С. А. Хапова // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры : материалы Международной конференции, посвященной 80-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси (19-22 июня 2012 г., Минск, Беларусь) : в 2 ч. / Национальная академия наук Беларуси, Центральный ботанический сад. – Минск, 2012. – Ч. 1. – С. 318-321
106. Хапова, С.А. Особенности нейтральнодневных и обычных сортов земляники садовой / С. А. Хапова, Н.М. Майдебура // Плодоводство и ягодоводство России: сб. науч. работ / ВСТИСП, ред. И.М. Куликов и др. – М. : ВСТИСП, 2009 – Т.22, ч.2. – С. 346-352.
107. Хон, Б. Мобильность генома растений / Хон Б., Денис Э. – М. : Агропромиздат, 1990. – 271 с.
108. Чухляев, И.И. Земляника в защищенном грунте / И.И. Чухляев, А.Г. Карпунин // Садоводство. – 1982. – №2. – С. 17-19.

109. Шангин-Березовский, Г.Н. Об отдаленной гибридизации у земляник / Г.Н. Шангин-Березовский // Труды Института генетики. – 1963. – № 30. – С. 321-356.
110. Шахова, Л.Н. Применение химических регуляторов роста на землянике / Л.Н. Шахова // Применение физиологически активных веществ в садоводстве. – М., 1972. – С. 122-127.
111. Шевелуха, В.С. Сельскохозяйственная биотехнология / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова. М. : Высшая школа, 2003. — 469 с.
112. Шокаева, Д.Б. Земляничник по правилам / Д.Б. Шокаева // Приусадебное хозяйство. – 2005. – №10. – С. 54-56.
113. Anderson, H.M. Micropropagation of strawberry plants *in vitro* – effect of growth regulators of indicence of multi-apex abnormality / H.M. Anderson, A.J. Abbott, S. Wiltshire // Scientia Horticulture. – 1982. – Vol. 16. – P. 331-341.
114. Bentvelsen, G.C.M. Breeding ornamental strawberries / G.C.M. Bentvelsen, E. Bouw // Acta Hort. (ISHS) – 2006. – № 708. – P. 455-457.
115. Bentvelsen, G.C.M. Breeding strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) from seed / G.C.M. Bentvelsen, E. Bouw, J.E. Veldhuyzen van Zanten //Acta Hort. (ISHS). – 1997. – Vol. 1. – № 439. – P. 149-153.
116. Boxus, P. La “micropropagation”; procédé industriel de multiplication rapide du fraisier / P. Boxus // Fruit Belge. – 1977. – Vol. 378. – P. 120-125.
117. Boxus, P. The production of strawberry plants by *in vitro* / P. Boxus // J. Hortic. Sci. – 1974. – Vol. 49 (3). – P. 209-210.
118. Bush, S.R. Plantlets from petal segments, petal epidermis, and shoot tips of the periclinal chimera, *Chrysanthemum morifolium* “Indianapolis” / S.R. Bush, E.D. Ealre, L.W. Langhans // American Journal of Botany. – 1976. – Vol. 63. – P. 729-737.
119. Cameron, J.S. The field performance of strawberry nursery stock produced originally from runners or micropropagation / J.S. Cameron, J.F. Hancock, T.M. Nourse // Advances in Strawberry Production. – 1985. – Vol. 4. – P. 56-58.

120. Cameron, J.S. The influence of micropropagation on yield components, dry matter partitioning and gas exchange characteristics of strawberry / J.S. Cameron, J.F. Hancock, J.A. Flores // Scientia Horticulturae. – 1989. – Vol. 38. – P. 61-67.
121. Chatani, K. Callus Induction and Plant Regeneration from Petal Explants of *Rose (Rosa hybrida)* // Plant Tissue Culture Letters. – 1996. – Vol. 13(2). – P. 185-188.
122. Dale, A. Breedeng day-neutral strawberries for Northern America / A. Dale, J.F. Hancock, J.J. Luby // ActaHorticulturae. – 2002. – № 567. – P. 133-136.
123. Damiano, C. Strawberry micropropagation. Proceedings of the conference on nursery production of fruit plants through tissue culture / C. Damiano. // Application and feasibility. – Beltsville, Maryland, USA, 1980. – P. 93-101.
124. Damiano, C. Adventitious regeneration and genetic variability in strawberry / C. Damiano, A. Ascarelli, A. Frattarelli, P. Lauri // Acta Hortic. – 1995. – Vol. 392. – P. 107-114.
125. Darrow, G.M. The Strawberry – History, Breeding and Physiology / G.M. Darrow. – N.Y. : Holt, Rinehart and Winston, 1966. – 447 p.
126. Dennis, F.G.Jr. Effects of gibberellic acid and deflowering upon runner and inflorescence development in an everbearing strawberry / F.G.Jr. Dennis, H.O. Bennett // J. Amer. Soc. Hort. Sci. – 1969. – Vol. 94. P. 534-537.
127. Evans, D.A. Somaclonal and gametoclonal variation / D.A. Evans, W.R. Sharp, H.P. Medina-Filho // Am. J. Bot. – 1984. – Vol. 71 (6). – P. 759-774.
128. Fisher, M. An efficient method for adventitious shoot regeneration from cultured carnation petals / M. Fisher, M. Ziv, A. Vainstein // Scientia Horticulture. – 1993. – Vol. 53. – P. 231-237.
129. Fujii, Y. Regeneration of plants from achenes and petals of *Chrysanthemum coccineum* / Y. Fujii, K. Shimizu // Plant Cell Reports. – 1990. – Vol. 8. – P. 625-627.
130. Guttridge, G.C. The control of strawberry runners in the field with CCC / G.C. Guttridge, H.M. Anderson, W.S. Stewart // Expl. Hort. – 1966. – Vol. 15. – P. 92-95.

131. Halperin, W. Attainment and Retention of Morphogenetic Capacity *in vitro* / W. Halperin. – In: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. – Vol. 3. Plant Regeneration and Genetic Variability / Ed. Vasil I. – N.Y. : Academic Press, 1986. – P. 3-47.
132. Hancock, J.F. Strawberries / J.F. Hancock, D.H. Scott, F.J. Lawrence. – In: Fruit breeding. – Vol. II. Vine and Small Fruits / ed. J. Janick, J.N. Moore. – N.Y. : J. Wiley&Sons, 1996. – P. 419-470.
133. Heinrieh, C. Sprosspitzenkultur – eineaussichtsraich methode der *in vitro* Vermehrung von Pflanzen / C. Heinrieh, H.J. Hans // Biol. Rundsch. – 1984. – Vol. 22. – №2. – P. 87-98.
134. Heuser, C.W. *In vitro* plantlet formation from flower petal explants of Hemerocallis cv. *Chipper Cherry* / C.W. Heuser, D.A. Apps // Canadian Journal of Botany. – 1976. – Vol. 54. – P. 616-618.
135. Khanizadeh, S. Roseberry and Rosalyne: two new hardy, day-neutral, red flowering strawberry cultivars / S. Khanizadeh et al. // ActaHorticulturae. – 2002. – № 567. – P. 173-174.
136. Kumar, P.S. Chromosomal instability in callus culture of *Pisum sativum* / P.S. Kumar, V.L. Mathur // Plant Cell Tissue Organ Cult. – 2004. – Vol. 78. – P. 267 – 271.
137. Larkin, P.J. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell cultures for plant improvement / P.J. Larkin, W.R. Scowcroft // Theoretical and Applied Genetics. – 1981. – Vol. 60. – P. 197–214.
138. Compendium of strawberry diseases / ed. I.L. Maas. – Am. Phytopathol. Soc., St. Paul, MN, 1984. – 140 p.
139. Marcotrigiano, M. The effect of benzylamino purine on the *in vitro* multiplication rate and subsequent field performance of tissue-culture propagated strawberry plants / M. Marcotrigiano, H.J. Swartz, S.E. Gray, D. Tokarcik, J. Popenoe // Advances in Strawberry Production. – 1984. – Vol. 3. – P. 23-25.
140. Mishiba, K.I. Ploidy distribution in the explant tissue and the calluses induced during the initial stage of internode segment culture of Asparagus officinalis L. /

K.I. Mishiba, K.I. Tawada, M. Mii // *In Vitro* Cell Dev. Biol. – Plant. – 2006. – Vol. 42. – P. 83-88.

141. Murali, S. Regeneration through somatic embryogenesis from petals-derived calli of *Rosa hybrida* L. cv Arizona (hybrid tea) / S. Murali, D. Sreedhar, T.S. Lokeswary // Euphytica. – 1996. – Vol. 91. – P. 271-275.
142. Murashige, T. Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures / T. Murashige, F.A. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – Vol.15. – №13. – P. 473-497.
143. Nehra, N.S. Isozymes as markers for identification of tissue culture and greenhouse-grown strawberry cultivars / N.S. Nehra, K.K. Kartha, C. Stushnoff // Can. J. Plant Sci. – 1991. – Vol. 71. – P. 1195-1201.
144. Nehra, N.S. Regeneration of plant from immature leaf derived callus of strawberry (*Fragaria ananassa*) / N.S. Nehra, C. Stushnoff, K.K. Kartha // Plant Sci. – 1990. –Vol. 66. – № l. – P. 119-126.
145. Nehra, N.S. The influence of plant growth regulator concentrations and callus age on somaclonal variation in callus culture regenerants of strawberry / N.S. Nehra, K.K. Kartha, C. Stushnoff, K.L. Giles // Plant Cell Tissue Org. Cult. – 1992. – Vol. 29. – P. 257-268.
146. Nugent, G. Plant regeneration from stem and petal of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) / G. Nugent, T. Wardley-Richardson, C.H. Lu // Plant Cell Reports. – 1991. – Vol. 10. – P. 477-480.
147. Pennel, D. Micropropacation – the pros and cons / D. Pennel // Grower. – 1981. – Vol. 95. – №17. – P. 58-62.
148. Predieri, S. Regeneration of plants from strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) unpollinated ovaries and petals / S. Predieri, F. Malavasi, M. Ancherani // Acta Horticulturae. – 1989. – №265. – P. 335-342.
149. Popescu, A.N. Somaclonal variation in plants regenerated by organogenesis from callus culture of strawberry (*Fragaria x ananassa*) / A.N. Popescu, V.S. Isac, M.S. Coman, M.S. Radulescu // Acta Horticulturae. – 1997. – Vol. 439. – P. 89-96.

150. Schaeffer, W.G. Transcription of panel discussion on the genetic stability of tissue culture propagated plants / W.G. Schaeffer, C. Damiano, D.H. Scott, J.R. McGrew, W.R. Krul, R.H. Zimmerman. – In: Proceeding of the Conference of Nursery Production of Fruit Plants through Tissue Culture-Applications and Feasibility. – USDA – SEA, Agric. Res. Results, ARE – NE – 11, 1980. – P. 64-79.
151. Shargool, Peter D. Biotechnological applications of plant cells in culture / Peter D. Shargool // Biotechnology advances. – 1985. – Vol. 3. – №1. – P. 29-38.
152. Soczek, Z. The effect of gibberellin on the flowering, fruiting and growth of strawberries / Z. Soczek // Prace Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach. – 1966. – Bibl. 88. – №10. – P. 17-52.
153. Staudt, G. Taxonomic studies in the genus *Fragaria*. Tipification of the *Fragaria* species known at the time of Linnaeus / G. Staudt // Canadian Jous. Bot. – 1962. – Vol. 40. – №6. – P. 869-886.
154. Swartz, H.J. Field performance and phenotypic stability of tissue culture-propagated strawberries / H.J. Swartz, G.J. Galletta, R.H. Zimmerman // Journal of the American Society for Horticultural Science. – 1981. – Vol. 106. – P. 667-673.
155. Torne, J.M. Embryogenesis induction in petals of *Araujiasericifera* / J.M. Torne, P. Rodriques, A. Manich, I. Claparolos, M.A. Santos // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1997. – Vol. 51. – P. 95-102.
156. Wojciechowicz, M.K. Comparison of regenerative potential of petals, stamens and pistils of five *Sedum* species *in vitro* / M.K. Wojciechowicz // Biodiversity, Research and Conservation. – 2007. – Vol. 5. – №8. – P. 87-94.
157. Zebrowska, J.I. Suitability of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) microplants to the field cultivation / J.I. Zebrowska, J. Czernas, J. Gawronski, J.A. Hortynski // Food, Agriculture and Environment. – 2003. – Vol. 1. – P. 190–193.

Интернет-ресурсы

158. Безусые сорта ремонтантной крупноплодной и мелкоплодной земляники и клубники, в том числе нейтральнодневные [Электронный ресурс] // Сайт о растениях. – Режим доступа: http://www.pro-rasteniya.ru/yagodnie-

kulturi/bezusie-sorta-remontantnoy-krupnoplodnoy-i-melkoplodnoy-zemlyaniki-i-klubniki-v-tom-chisle-neytralnodnevnie (дата обращения: 25.03.2014).

159. Бензиламинопурин [Электронный ресурс] // Фитогормоны. – Режим доступа: http://fitogormony.com/бензиламинопурин (дата обращения: 31.03.2014).
160. Вакуленко В.В. Применение регуляторов роста растений при выращивании древесных и декоративных культур [Электронный ресурс] / В.В. Вакуленко // Ассоциация Производителей Посадочного Материала. – Режим доступа: http://www.ruspitomniki.ru/articles/page258.php (дата обращения: 01.04.2014).
161. Государственное сортоиспытание и районирование сортов (часть 2) [Электронный ресурс] // Селекция, семеноводство с/х культур. – Режим доступа: http://perfectdownloader.ru/selskohozyaystvennye-kultury/138-gosudarstvennoe-sortoispytanie-i-rayonirovanie-sortov-chast-3.html (дата обращения: 30.03.2014).
162. Михалева Г. Крупноплодная ремонтантная земляника и ее сорта / Г. Михалева [Электронный ресурс] // Чудо-огород. – Режим доступа: http://chudo-ogorod.ru/krupnoplodnaya-remontantnaya-zemlyanika-i-ee-sorta (дата обращения: 09.03.2014).
163. Примерная технология выращивания ягоды земляники садовой из рассады фриго [Электронный ресурс] // БелАгриПлантс. Рассада земляники садовой. – Режим доступа: http://www.belagriplants.ru/?242_2. (дата обращения: 25.03.2014).
164. Рассада земляники [Электронный ресурс] // Селекционно-семеноводческая компания «Поиск». – Режим доступа: http://www.semenasad.ru/zemlanika/category/zemlyanika/ (дата обращения: 09.03.2014).
165. ЦИРКОН – препарат циркон, удобрение регулятор роста [Электронный ресурс] // Некоммерческое научно-производственное партнерство «НЭСТ М». – Режим доступа: http://old.nest-m.ru/podukcia/regulatora_rosta/cirkon/ (дата обращения: 26.02.2014).

166. Grower profiles [Электронный ресурс] // Sweet Eve Strawberry. – Режим доступа: http://sweetevestrawberry.co.uk/grower-profiles/ (дата обращения: 01.03.2014).
167. GU, Di-zhou. Study on the Induction of Mutant Strawberry Lines Through *in vitro* Culture of Petals [Электронный ресурс] / Di-zhou GU, Jun-yi ZHU, Yun-tian JIANG, Ying FENG, Yu LIANG, Cun-ying BA, Li-na ZHANG // South China Fruits. – 2010-05. – Режим доступа: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-FRUI201005006.htm (дата обращения: 27.02.2014).
168. GU, Di-zhou. Uniform design for *in vitro* culture and Plant regeneration through Petals of *Fragaria orientalis* Lozinsk varconcolor(Kitag) Liou et C.Y.Li [Электронный ресурс] / Di-zhou GU, Han-dong GAO, Jun-yi ZHU, Yun-tian JIANG, Ying FENG, Zhong-lin SUN, Xue-lian LIU // Journal of Zhejiang University (Science Edition). – 2010-06. – Режим доступа: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-HZDX201006021.htm (дата обращения: 27.02.2014).
169. Koron, D. Evaluation of strawberry varieties in Slovenia [Электронный ресурс] / D. Koron, B. Saje, R. Mavec // COST 863 Euroberry. – Small berry variety evaluation. – 2009. – Режим доступа: http://www.google.ru/url?url=http://www.euroberry.it/documents/wgm08/AbstractsLituania09.pdf&rct=j&q=&esrc=s&sa=U&ei=q60GVOP7FaHOygP1yIGQAQ&ved=0CBkQFjAB&sig2=PUe1NvYf4XNfjlrh3KShNA&usg=AFQjCNFhtio4hEv6bOOtKsw-319VlWt38w (дата обращения: 03.03.2014).
170. SUN, Zhong-lin. Study on the growth trait of *Fragaria* orientalis var. concolor by petal induction [Электронный ресурс] / Zhong-lin SUN, Di-zhou GU, Jun-yi ZHU, Yun-tian JIANG, Ying FENG, Yuan YUAN // Guangdong Agricultural Sciences. – 2010-11. – Режим доступа: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-GDNY201011038.htm (дата обращения: 28.02.2014).

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Экономическая эффективность получения розеточной рассады сорта Эвис Делайт в открытом грунте со 100 м^2 (контроль)

Статьи расхода	Затраты		
	денежные, руб.	трудовые, чел.час.	энергетические, МДж
Стоимость маточных растений (600 шт.)	24 000,0	-	-
Стоимость расходных материалов	300,0	-	-
Подготовка почвы к посадке (100 м^2)	1125,0	30	999,0
Посадка	1125,0	30	999,0
Полив (30 м^3/мес.)	1965,6	-	-
Амортизационные отчисления (инструменты)	256,0	-	-
Уход за посадками	9000,0	240	7992,0
ИТОГО	**37 771,6**	**300**	**9 990,0**
ИТОГО на 1 растение* (при коэффициенте размножения 3 шт./раст.)	**20,98**	**0,17**	**5,55**

* - т.к. исходных растений 600 шт., и каждое дает в среднем по 3 розетки – итого с сотки 600×3 = 1800 шт. рассады, т.е. при пересчете затрат на одно растение итоговые суммы затрат делим на 1800 шт.

Приложение Б

Экономическая эффективность получения розеточной рассады сорта Эвис Делайт в **открытом грунте** с применением **обработки Цирконом** со 100 м^2

Статьи расхода	Затраты		
	денежные, руб.	трудовые, чел.час.	энергетические, МДж
Стоимость маточных растений (600 шт.)	24 000,0	-	-
Стоимость расходных материалов	300,0	-	-
Подготовка почвы к посадке (100 м^2)	1125,0	30	999,0
Посадка	1125,0	30	999,0
Обработка растений Цирконом, в т.ч.			
стоимость Циркона (180 мкл)	2,0	-	-
затраты ручного труда	375,0	10	333,0
Полив (30 м^3/мес.)	1965,6	-	-
Амортизационные отчисления (инструменты)	256,0	-	-
Уход за посадками	9000,0	240	7992,0
ИТОГО	**38 148,6**	**310**	**10 323,0**
ИТОГО на 1 растение** (при коэффициенте размножения 6 шт./раст.)	**10,59**	**0,09**	**2,87**

** - т.к. исходных растений 600 шт., и каждое дает в среднем по 6 розеток – итого с сотки 600×6 = 3600 шт. рассады, т.е. при пересчете затрат на одно растение итоговые суммы затрат делим на 3600 шт.

Приложение В

Экономическая эффективность получения розеточной рассады сорта Эвис Делайт в **защищенном грунте** со 100 м^2

Статьи расхода	Затраты		
	денежные, руб.	трудовые, чел.час.	энергетические, МДж
Стоимость маточных растений (600 шт.)	24 000,0	-	-
Стоимость расходных материалов	300,0	-	-
Подготовка почвы к посадке (100 м^2)	1125,0	30	999,0
Посадка	1125,0	30	999,0
Затраты на обогрев, (0,016 Гкал/м^2)	10 577,34	-	26 777,6
Полив (30 м^3/мес.)	3931,2	-	-
Амортизационные отчисления (теплица, инструменты)	30 956,0	-	-
Уход за посадками	26 250,0	700	23 310,0
ИТОГО	**98 264,54**	**760**	**52 085,6**
ИТОГО на 1 растение* (при коэффициенте размножения 19 шт./раст.)	**8,62**	**0,07**	**4,57**

* - т.к. исходных растений 600 шт., и каждое дает в среднем по 19 розеток в данных условиях – итого с сотки 600×19 = 11400 шт. рассады, т.е. при пересчете затрат на одно растение итоговые суммы затрат делим на 11400 шт.

Приложение Г

Экономическая эффективность получения 1000 шт. растений-регенерантов земляники садовой сорта Эвис Делайт методом ***in vitro* из апексов усов**

Статьи расхода	Затраты		
	денежные, руб.	трудовые, чел.час.	энергетические, МДж
Выращивание донорных растений			
Стоимость донорных растений (6 шт.)	240,0	-	-
Выращивание донорных растений, в т.ч.	806,28	21,5	732,6
подготовка почвы к посадке (1 м^2)	37,5	1	33,3
посадка	18,75	0,5	16,65
уход за посадками	750,0	20	666,0
расходные материалы	50,0	-	-
Итого	**1096,28**	**21,5**	**732,6**
Введение в культуру *in vitro* апексов усов			
Приготовление 0,5 л питательной среды, в т.ч.	619,07	2	70,2
стоимость питательной среды	500,0	-	-
стоимость расходных материалов	40,0	-	-
затраты электроэнергии	4,07	-	3,6
затраты ручного труда	75,0	2	66,6
Автоклавирование питательной среды (12,6 кВт/ч), в т.ч.	177,56	2	157,32
затраты электроэнергии	102,56	-	90,72
затраты ручного труда	75,0	2	66,6
Введение *in vitro* апексов усов, в т.ч.	286,92	3	121,5
стоимость расходных материалов	150,0	-	-
затраты электроэнергии	24,42	-	21,6
затраты ручного труда	112,5	3	99,9
Амортизационная стоимость лаб. посуды и оборудования (ламинарный бокс, весы, световая установка, автоклав, сушильный шкаф, сплит-система)	4750,1	-	-
Культивирование апексов уса *in vitro* 40 суток	953,36	-	844,69
затраты электроэнергии:	953,36	-	844,69
световая установка (16 ч в сутки – 0,36 кВт/ч)	937,73	-	830,87
сплит-система (0,006 кВт/ч)	15,63	-	13,82
Итого	**6787,01**	**7**	**1193,71**
Размножение побегов *in vitro*			
Приготовление 5 л питательной среды, в т.ч.	5198,14	4	140,4
стоимость питательной среды	5000,0	-	-
стоимость расходных материалов	40,0	-	-
затраты электроэнергии	8,14	-	7,2
затраты ручного труда	150,0	4	133,2
Автоклавирование питательной среды, в т.ч.	177,56	2	157,32
затраты электроэнергии	102,56	-	90,72
затраты ручного труда	75,0	2	66,6
Посадка побегов, в т.ч.	1354,6	15	607,5
стоимость расходных материалов	670,0	-	-
затраты электроэнергии	122,1	-	108,0
затраты ручного труда	562,5	15	499,5

Амортизационная стоимость лаб. посуды и оборудования (ламинарный бокс, весы, световая установка, автоклав, сушильный шкаф, сплит-система)	2308,63	-	-
Культивирование побегов *in vitro* (30 суток × 4 пассажа = 120 суток)	2883,52	-	2550,52
Затраты электроэнергии:	2883,52	-	2550,52
световая установка (16 ч в сутки – 0,36 кВт/ч)	2813,2	-	2488,32
сплит-система (0,006 кВт/ч)	70,32	-	62,2
Итого	**11922,45**	**21**	**3455,74**
Укоренение побегов *in vitro*			
Приготовление 5 л питательной среды, в т.ч.	5218,14	4	140,4
стоимость питательной среды	5000,0	-	-
стоимость расходных материалов	60,0	-	-
затраты электроэнергии	8,14	-	7,2
затраты ручного труда	150,0	4	133,2
Автоклавирование питательной среды, в т.ч.	177,56	2	157,32
затраты электроэнергии	102,56	-	90,72
затраты ручного труда	75,0	2	66,6
Посадка побегов, в т.ч.	1345,6	15	607,5
стоимость расходных материалов	670,0	-	-
затраты электроэнергии	122,1	-	108,0
затраты ручного труда	562,5	15	499,5
Амортизационная стоимость лаб. посуды и оборудования (ламинарный бокс, весы, световая установка, автоклав, сушильный шкаф, сплит-система)	1628,8	-	-
Культивирование побегов *in vitro* 21 сутки	504,6	-	446,33
Затраты электроэнергии:	504,6	-	446,33
световая установка (16 ч в сутки – 0,36 кВт/ч)	492,31	-	435,46
сплит-система (0,006 кВт/ч)	12,29	-	10,87
Итого	**8874,7**	**21**	**1351,55**
Адаптация растений-регенерантов к условиям *ex vitro*			
Адаптация побегов *in vitro* 3 суток	72,09	-	63,76
Затраты электроэнергии:	72,09	-	63,76
световая установка (16 ч в сутки – 0,36 кВт/ч)	70,33	-	62,21
сплит-система (0,006 кВт/ч)	1,76	-	1,55
Посадка растений-регенерантов в торфяные таблетки, в т.ч.	5150,0	20	666,0
стоимость торфяных таблеток «Jiffy» (1000 шт.)	2400,0	-	-
стоимость поддонов с крышкой (10 шт.)	2000,0	-	-
затраты ручного труда	750,0	20	666,0
Адаптация растений *ex vitro* 14 суток, в т.ч.	598,92	7	530,67
Затраты электроэнергии:	336,42	-	297,57
световая установка (16 ч в сутки – 0,36 кВт/ч)	328,2	-	290,3
сплит-система (0,006 кВт/ч)	8,22	-	7,27
затраты ручного труда	262,5	7	233,1
Итого	**5821,01**	**27**	**1260,43**
ИТОГО	**34 451,45**	**97,5**	**7994,03**
ИТОГО на 1 регенерант	**34,45**	**0,10**	**7,99**