

УДК 634.57.75

## Усовершенствование биотехнологических приёмов для получения исходного селекционного материала видов *Fragaria*

А.Ю. Мельяновская<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, 302530, д. Жилина, Орловский м/o, Орловская обл., Россия, [info@vniispk.ru](mailto:info@vniispk.ru)

### Аннотация

Оптимизация биотехнологических приёмов позволит получить адаптированный исходный селекционный материал для дальнейшего использования в селекции и решения проблемы нескрещиваемости при межвидовой гибридизации. Цель исследования отработать и оптимизировать биотехнологические приёмы и методы для получения исходного селекционного материала видов *Fragaria*. Исследовательская работа проводилась во ВНИИСПК на базе лаборатории биотехнологии, согласно общепринятым методикам. Исходным материалом для клonalного микроразмножения служили розетки земляники с вегетирующих растений и семена. Объектами исследований являлись виды *Fragaria vesca* L. и *Fragaria viridis* Duch. Среди стерилизаторов суплема показала наилучшие результаты, одинаково эффективна для *Fragaria viridis* и *Fragaria vesca*. Оптимальным сроком введения оказался осенний период. Концентрация 6-БАП 1,0 мг/л способствовала повышению пролиферативной активности. Среда Мурасиге-Скуга, обеспечивала продолжительное культивирование. Всхожесть семян земляники существенно не менялась при стратификации не более 4-х недель.

**Ключевые слова:** *Fragaria vesca*, *Fragaria viridis*, экспланта, клonalное микроразмножение, питательные среды, сроки введения

### Improvement of biotechnological techniques for obtaining the initial breeding material of *Fragaria* species

A.Yu. Melyanovskaya<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPK), Zhilina, Orel district, Orel region, Russia, 302530, [info@vniispk.ru](mailto:info@vniispk.ru)

### Abstract

Optimization of biotechnological techniques will make it possible to obtain adapted source breeding material for further use in breeding and to solve the problem of non-crossing during interspecific hybridization. The purpose of the study is to develop and optimize biotechnological techniques and methods for obtaining the initial breeding material of *Fragaria* species. The research work was carried out at VNIISPK on the basis of the biotechnology laboratory, according to generally accepted methods. Strawberry rosettes from vegetative plants and seeds served as the starting material for clonal micropropagation. The objects of research were the species *Fragaria vesca* L. and *Fragaria viridis* Duch. Sulema has shown the best results among sterilizers, it is equally effective for *Fragaria viridis* and *Fragaria vesca*. The optimal period of administration was the autumn period. The concentration of 6-BAP 1.0 mg/l contributed to an increase in proliferative activity. The Murashige-Skuga environment provided long-term cultivation. Germination of strawberry seeds did not change significantly during stratification for no more than 4 weeks.

**Key words:** *Fragaria vesca*, *Fragaria viridis*, explant, clonal micropropagation, nutrient media, timing of introduction

## Введение

В большинстве зон отечественного ягодоводства лимитирующим фактором выращивания культуры земляники остаётся её зимостойкость (Марченко, 2020). Основным методом повышения зимостойкости земляники является вовлечение в скрещивания зимостойких сортов или диплоидных видов. Перспективным представляется объединение ценных генов разных видов земляники путём отдалённой гибридизации. Однако, отдалённая гибридизация большинства видов рода *Fragaria* затруднена из-за негомологичности геномов и различного числа хромосом. Получение полиплоидов у диплоидных или тетраплоидных видов земляники повышает эффективность при скрещивании с *Fragaria ananassa* (Белевцова, 2012). Размножение растений *in vitro* имеет большой потенциал для повышения эффективности удвоения хромосом, поскольку культура *in vitro* предлагает более контролируемую и стандартизированную среду, чем условия открытого грунта.

В настоящее время наиболее перспективным в промышленном производстве культур является метод культуры тканей и органов растений. Впервые земляника была введена в культуру в 60-х годах. Основы метода разработал Р. Боксю (1974). На данный момент работы по микроклональному размножению земляники ведутся во многих странах и даже постепенно вытесняют традиционный метод размножения (Московенко, Степанов, 2016). Этот метод позволяет получить большое количество генетически идентичных растений без использования усов или семян, что особенно важно для создания здоровой рассады (Матушкина, Пронина, 2005).

На микроразмножение земляники оказывают влияние различные факторы: состав питательной среды, освещение, температура и генотип растений (Белякова и др., 2010; Матушкина, Пронина, 2012; Мацнева и др., 2021).

По литературным данным, для обеспечения эффективного размножения земляники садовой необходимо учитывать комплексное воздействие физиологических, гормональных и физических факторов (Матушкина, Пронина, 2001).

Оптимальным периодом для введения материала земляники в культуру *in vitro* является фаза выхода растений из состояния покоя или начало активной вегетации, характеризующаяся максимальным регенеративным потенциалом меристемы (Муратова, 2015).

Для стерилизации растительного материала применяются растворы различных антисептических средств: 0,1% и 0,01% растворы мертиолята, 0,1% раствор сулемы, а также 12% и 30% растворы перекиси водорода, гипохлорита натрия и этилового спирта (Мацнева, 2019). Эти препараты обеспечивают эффективное обеззараживание, предотвращая контаминацию и способствуя сохранению жизнеспособности растительного материала.

В практике культивирования земляники наиболее широко применяется питательная среда Мурасиге-Скуга (МС) (Murashige, Skoog, 1962), обогащённая 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП). Коэффициент размножения *in vitro* зависит от концентрации гормонов в питательной среде и сортовой специфичности растений земляники (Мацнева и др., 2017). Максимальные показатели коэффициента размножения достигаются при использовании минеральных сред Андерсона, Ли де Фоскарда (ЛФ) и Мурасиге-Скуга (МС), что обусловлено оптимальным балансом макро- и микроэлементов, способствующих интенсивному клеточному делению и развитию (Расторгуев, 2012; Мацнева, Ташматова, 2019). Во многих исследованиях по размножению побегов земляники *in vitro* используется среда Гамборга B5 (Gamborg и др., 1968) (Kotsupiy et al., 2020; Ambros et al., 2021, 2023; Kotsupiy et al., 2023).

В работах с *Fragaria vesca* для стерилизации применяется 70% этанол и отбеливатель «Domestos» (для семян) и 0,1%-ный раствор хлорида ртути в течение 15 минут (для почек)

(Yildirim, Turker, 2014; Dias et al, 2017). Для введения и размножения наиболее часто используют модифицированную среду МС, pH среды около 5,7. Полученные растения выращивают в фитотроне при температуре  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ , на полках, освещённых в течение 16 ч в сутки белым светом (Rokosa et al, 2025).

Регенерацию побегов *Fragaria viridis* проводят на среде МС с добавлением 6-БАП и индолилмасляной кислоты (ИМК). Наибольшее количество побегов получено при размножении верхушки побега с добавлением тициазурина (ТДЗ) и 0,5 мкм ИМК. Длительность одного пассажа – 4 недели, фотопериод составлял 16/8 при освещении 3000 люкс (Ghasemi et al., 2015).

Новизна исследования заключается в выявлении характера морфогенетических реакций эксплантов диких видов земляники *Fragaria vesca* и *Fragaria viridis* в зависимости от культивируемых *in vitro* органов (меристема, семена).

Цель – отработка и оптимизация биотехнологических приёмов и методов для получения исходного селекционного материала видов *Fragaria*.

### **Материалы и методы**

Исследовательская работа проводилась в ВНИИСПК на базе лаборатории биотехнологии. Объектами исследований служили виды *Fragaria vesca L.* и *Fragaria viridis Duch.*

*Fragaria vesca L.* – наиболее распространённый дикорастущий вид земляники. Он встречается в лесах Европы, Азии и Северной Америки. Введена она в культуру давно, но большого прогресса в совершенствовании размеров плодов за многие века её разведения добиться не удалось. Обладает такими ценными свойствами, как высокая зимостойкость, раннее созревание, ароматичность ягод, ремонтантность.

*Fragaria viridis Duch.* широко распространена в Европе, Северной и Центральной Азии. Отдельные формы земляники лесной также имеют высокую зимостойкость, засухоустойчивость, ароматичность.

Благодаря этим признакам данные виды представляют большую ценность для селекции.

Введение эксплантов земляники в культуру проводилось по методикам Н.В. Кухарчик и др. (2016); Е.Н. Джигадло и др. (2005); С. Э. Семенас и Н.В. Кухарчик (2000); Р.Г. Бутенко (1990); Ф.Л. Калинина и др. (1992); рекомендациям Г.П. Атрощенко и др. (2001). Для клonalного микроразмножения исходным материалом служили розетки земляники с вегетирующими растениями.

На этапе инициации применялась питательная среда МС на фоне 6-БАП 0,5 мг/л. В качестве стерилизующих веществ использовали растворы сулемы (0,1%), мертиолата (0,01%), нитрата серебра (0,1%), перекиси водорода (12%). Изолирование меристем проводили под микроскопом NTB-4B в ламинарных боксах. Стерилизация семян происходила по схеме стерилизации меристем. В качестве стерилизующего агента использовался раствор сулемы.

На этапе пролиферации использовали среды с минеральной основой МС на фоне 6-БАП 0,8 и 1,0 мг/л; среды Ли-Фоскарда (ЛФ) с добавлением 6-БАП 1,0 мг/л, Гамборга на фоне 1,0 мг/л 6-БАП в условиях светокомнаты.

Длительность одного пассажа 28..30 дней. Растения культивировали при температуре  $+24^{\circ}\text{C}$ , освещённости 2...3 тыс. люкс, длительность фотопериода 16 часов.

Для обработки результатов использовался пакет анализа данных MS Excel 2014 и дисперсионный анализ.

## Результаты и их обсуждение

На этапе введения необходимо добиться получения хорошо растущей стерильной культуры путём стерилизации растительных тканей. В наших исследованиях в качестве стерилизующих агентов использовали сулему, нитрат серебра, мертиолат и перекись водорода.

Показатель приживаемости эксплантов, который учитывали после месяца культивирования, и у *Fragaria viridis*, и у *Fragaria vesca* был наивысшим после обработки сулемой, что даёт основание выделить данный стерилизатор как наиболее эффективный (таблица 1). Установлено, что приживаемость эксплантов с разными вариантами обработки значимо отличалась.

Таблица 1 – Эффективность стерилизующих агентов на этапе введения эксплантов *Fragaria vesca* и *Fragaria viridis* в стерильную культуру 2022...2024 гг.

Вид	Показатель	Сулема	Нитрат серебра	Мертиолат	Перекись водорода	HCP <sub>0,5</sub>
<i>Fragaria viridis</i>	Инфицированность, %	18,5	13,5	15,5	33,0	26,6
	Некроз, %	33,0	55,0	49,0	29,0	19,4
	Приживаемость, %	48,5	31,5	22,5	32,0	9,3
<i>Fragaria vesca</i>	Инфицированность, %	26,0	21,0	32,0	34,0	22,7
	Некроз, %	32,0	31,0	54,2	39,0	23,2
	Приживаемость, %	58,0	50,5	31,3	27,0	17,0

На нулевом пассаже отмечали начало пролиферативной активности. Отдельные экспланты образовывали дополнительные почки и побеги. При всех вариантах дезинфицирующих веществ, была отмечена специфичность генотипической реакции исследуемых видов.

Для изучения влияния сроков введения на приживаемость эксплантов, их вводили в стерильную культуру в три срока: период активного роста - июнь, период затухания роста - август, период окончания роста – октябрь (таблица 2). По 200 эксплантов в каждом варианте. В качестве стерилизующего агента использовался 0,01% раствор сулемы (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние сроков введения на приживаемость эксплантов *Fragaria vesca* и *Fragaria viridis* в культуре *in vitro*

Вид	Инфицированность, %			Некроз, %			Приживаемость, %		
	июнь	август	октябрь	июнь	август	октябрь	июнь	август	октябрь
<i>Fragaria viridis</i>	15,9	38,0	19,0	54,4	43,0	19,0	29,7	19,0	62,0
<i>Fragaria vesca</i>	29,7	33,0	21,0	43,1	27,5	42,0	27,2	39,5	48,0
HCP <sub>0,5</sub> =21,6			HCP <sub>0,5</sub> =32,2			HCP <sub>0,5</sub> =39,7			

Как видно из таблицы 2, у эксплантов *Fragaria vesca*, введенных в культуру *in vitro* в октябре, отмечалась наиболее высокая приживаемость (48%), по сравнению с другими периодами, за счет меньшей инфицированности тканей, в отличии от литературных данных, где рекомендованным сроком введения является фаза выхода растений из состояния покоя или начало активной вегетации (Муратова, 2015). У эксплантов *Fragaria viridis*, в осенний сезон, процент приживаемости так же был выше, чем в летние периоды в результате меньшей инфицированности и некроза. Было установлено отсутствие значимых различий между видами.

На этапе микроразмножения необходимо добиться получения максимального количества мериклонов. Основную роль при подборе оптимальных условий культивирования эксплантов играют соотношение и концентрация внесённых в питательную среду

цитокининов и ауксинов. В своей работе из цитокининов мы использовали 6-БАП в концентрации 0,8 мг/л и 1,0 мг/л.

На этапе размножения использовали среду Мурасиге-Скуга (МС) с добавлением 0,8 мг/л и 1,0 мг/л 6-БАП (рисунки 1, 2).

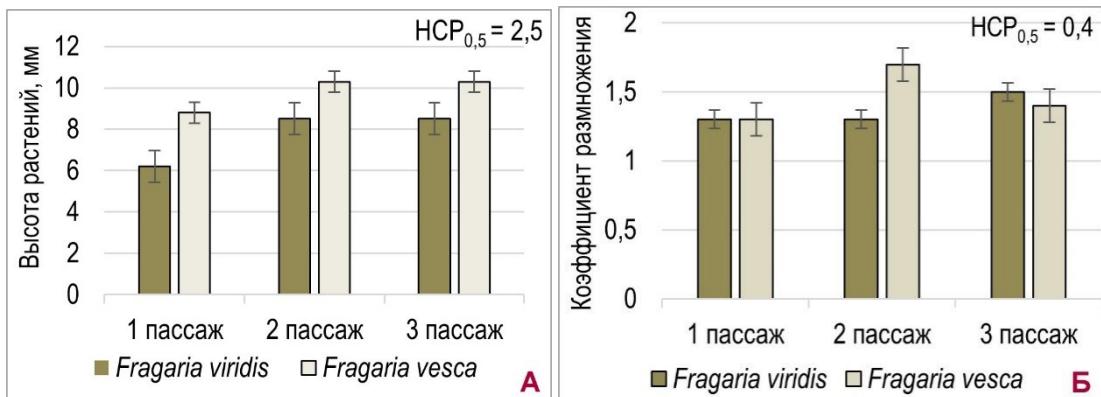


Рисунок 1 – Пролиферационная способность на этапе размножения эксплантов *Fragaria vesca* и *Fragaria viridis* на среде с 6-БАП 0,8 мг/л

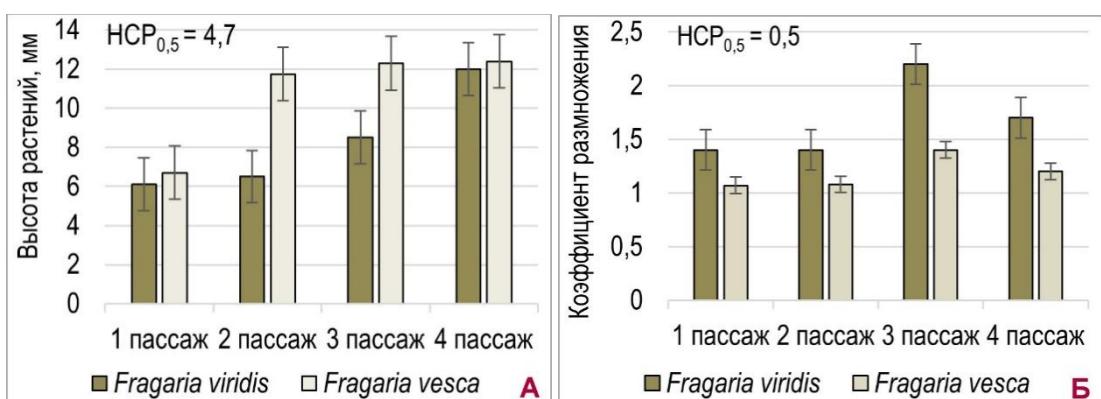


Рисунок 2 – Пролиферационная способность на этапе размножения эксплантов *Fragaria vesca* и *Fragaria viridis* на среде с 6-БАП 1,0 мг/л

После 2-го пассажа растения, находившиеся на среде с добавлением 0,8 мг/л 6-БАП практически не росли. Коэффициент размножения оставался на том же уровне. Процент некрозов составил около 80%.

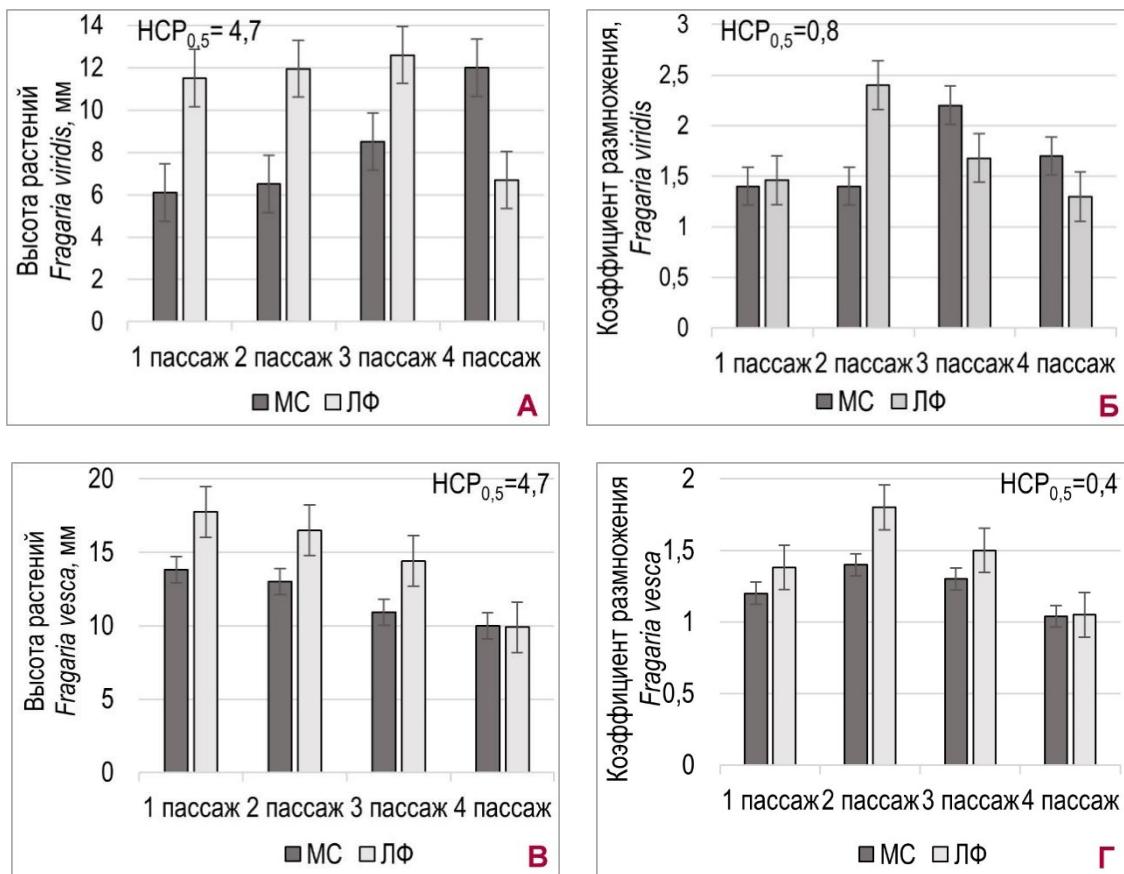
Концентрация 6-БАП 1,0 мг/л оказалась более подходящей. Растения имели большую высоту и коэффициент размножения.

Успех работы по размножению растений методом культуры *in vitro* во многом зависит от реакции микрорастений на минеральный состав питательных сред.

В работе были использованы 3 среды: Мурасиге-Скуга (МС); Ли-Фоссарда (ЛФ); Гамборга В<sub>5</sub> (рисунок 3).

На первых трех пассажах микророзетки *Fragaria viridis* имели большую высоту на среде ЛФ. Однако к 4 пассажу средняя длина растений начинала снижаться. Растения начинали погибать.

На среде МС средняя длина растений постепенно увеличивалась на протяжении всех 4 пассажей. Это указывает на то, что среда МС больше подходит для длительного культивирования, что соответствует данным полученным Мацневой в 2019 г (Мацнева, Ташматова, 2019).



А – высота растений *i* *Fragaria viridis*, мм; Б – коэффициент размножения *Fragaria viridis*;

В – высота растений *Fragaria vesca*, мм; Г – коэффициент размножения *Fragaria vesca*

Рисунок 3 – Определение наилучшей минеральной основы на этапе пролиферации эксплантов *Fragaria vesca* и *Fragaria viridis*

На среде Гамборга, рекомендуемой многими авторами (Kotsupiy et al., 2020; Ambros et al., 2021, 2023; Kotsupiy et al., 2023), с первого пассажа наблюдалась гибель растений, что говорит о нецелесообразности её использования для данных видов земляники.

У микропобегов *Fragaria viridis* после культивирования на среде ЛФ (2-й пассаж) коэффициент размножения был значительно выше (2,4), чем на среде МС (1,4). Однако на следующих пассажах коэффициент размножения на среде МС был чуть выше (2,2 и 1,7).

Для *Fragaria vesca* отличия в показателях развития на средах МС и ЛФ были несущественными. На всех пассажах микропобеги имели примерно одинаковую высоту. Разница между коэффициентами размножения, так же была несущественной.

Для всех растений, в том числе и для растений рода *Fragaria*, характерен покой семян, который является естественным механизмом защиты растений при неблагоприятных факторах внешней среды. Наличие покоя семян затрудняет их культивирование. Поэтому изучение органического покоя семян и условий его преодоления весьма актуально.

В данном опыте отрабатывалась методика выращивания семян *in vitro* для получения растений и их дальнейшего участия в полипloidизации.

В конце декабря 500 семян были посажены на питательную среду МС с концентрацией 6-БАП 0,5 мг/л (как и для введения эксплантов).

Пробирки с семенами в количестве 100 штук выставили на стеллажи под лампы с освещением 3 тыс. люкс. Остальные (400 семян) были поставлены на стратификацию в холодильник при температуре +3°C. Таким образом получили 5 повторностей по 20

пробирок (100 семян). Каждые 2 недели на свет выставлялась новая повторность и проводились подсчёты по количеству проросших семян. Опыт проводили в течении 3 лет (таблица 3).

Таблица 3 – Прорастание семян земляники в условиях *in vitro*

Вариант опыта	Количество проросших семян, %						
	<i>Fragaria vesca</i>			<i>Fragaria viridis</i>			
	2022 г.	2023 г.	2024 г.	среднее	2023 г.	2024 г.	среднее
Семена без стратификации	94	83	10	62	29	0	15
2 недели стратификации	94	75	7	59	31	0	16
4 недели стратификации	95	71	12	59	23	–	23
6 недель стратификации	83	76	14	58	23	–	23
8 недель стратификации	–	60	16	38	–	–	–

$$HCP_{0,5}=14,1$$

Если рассматривать средние показатели, при длительной стратификации процент всхожести семян у *Fragaria vesca* снижался. У *Fragaria viridis* разница по срокам стратификации не выявлена. Установлено, что всхожесть двух видов значимо отличалась. *Fragaria vesca* давала больше ягод и лучше прорастала в культуре. Так же стоит отметить высокий процент всхожести у семян, не прошедших стратификацию, что говорит о возможности исключения данного этапа. Разница во всхожести семян в различные годы культивирования, возможно, объясняется их различным физиологическим состоянием на момент сбора.

### Заключение

В процессе культивирования видов земляники на каждом этапе проявлялась уникальная генотипическая реакция растений на условия выращивания, включая выбор стерилизующих агентов, баланс минеральных и гормональных компонентов питательных сред. Среди стерилизаторов наилучшие результаты продемонстрировал раствор сулемы, одинаково эффективный как для *Fragaria viridis*, так и для *Fragaria vesca*, обеспечивая чистоту и жизнеспособность посадочного материала. Оптимальным сроком введения, в результате меньшей инфицированности тканей, оказался осенний – период окончания роста. Концентрация 6-БАП в 1,0 мг/л способствовала повышению коэффициента размножения и благотворно влияла на общее развитие микрорастений этих видов. Среда Мурасиге-Скуга оказалась наиболее подходящей для продолжительного культивирования. Средняя всхожесть семян земляники при разных вариантах стратификации существенно не различалась и данный этап можно исключить.

**Конфликт интересов:** автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

### Литература

1. Атрощенко Г.П., Костицын В.В., Наделюев А.Л. Рекомендации по производству оздоровленного посадочного материала земляники / Санкт-Петербург. СПбГАУ. 2001. 13. 7. <https://elibrary.ru/ttxeo1>
2. Белевцова В.И. Отдалённая гибридизация при создании адаптивных сортов земляники для Якутии // Развитие научного наследия Н. И. Вавилова в современных селекционных исследованиях. Казань: ООО «Центр инновационных технологий», 2012. 71-75. <https://www.elibrary.ru/wnjtrp>
3. Белякова Л.В., Высоцкий В.А., Алексеенко Л.В. Влияние некоторых факторов культивирования на развитие эксплантов земляники в процессе клonalного

- микроразмножения // Садоводство и виноградарство. 2010. 2. 23-27. <https://www.elibrary.ru/mlhwyx>
4. Бутенко Р.Г. Клеточная технология в сельскохозяйственной науке // Основы сельскохозяйственной биологии. М.: Агропромиздат. 1990. С. 154
  5. Джигадло Е.Н., Джигадло М.И., Голышкина Л.В. Методические рекомендации по использованию биотехнологических методов в работе с плодовыми, ягодными и декоративными культурами. Орел: ВНИИСПК, 2005. 51. <https://www.elibrary.ru/rphtsk>
  6. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микроклонального размножения растений. Киев: Наукова думка. 1992. 232.
  7. Кухарчик Н.В., Кастроцкая М.С., Семенас С.Э., Колбанова Е.В., Красинская Т.А., Волосевич Н.Н., Соловей О.В., Змушко А.А., Божидай Т.Н., Рундя А.П., Малиновская А.М. Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro* / под общ. ред. Н.В. Кухарчик. Минск. Беларуская навука. 2016. 208. <https://www.elibrary.ru/zfzenr>
  8. Марченко Л.А. Земляника: эволюция отечественного сортимента и направления селекции // Аграрный вестник Урала. 2020. 12. 50-60. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2020-203-12-50-60>
  9. Матушкина О.В., Пронина И.Н. Клональное микроразмножение земляники в системе производства оздоровленного посадочного материала // Труды ВНИИС им. И.В. Мичурина. Научные основы садоводства: сборник. Мичуринск: Квarta. 2005. 155-160. <https://www.elibrary.ru/orxuhu>
  10. Матушкина О.В., Пронина И.Н. Клональное микроразмножение плодовых и ягодных культур и перспективы его использования // Основные итоги и перспективы научных исследований ВНИИС им. И.В. Мичурина (1931-2001 гг). Тамбов: Тамбовский ГТУ, 2001. 103-105. <https://www.elibrary.ru/mfxumo>
  11. Матушкина О.В., Пронина И.Н. Технология клонального микроразмножения земляники. Воронеж: Квarta, 2012. 20. <https://www.elibrary.ru/mnmlwe>
  12. Мацнева О.В., Ташматова Л.В. Клональное микроразмножение земляники – перспективный метод современного питомниководства (обзор) // Современное садоводство. 2019. 4. 113-119. <https://www.elibrary.ru/vwlcvy>
  13. Мацнева О.В., Ташматова Л.В., Хромова Т.М. Биотехнологические приёмы оптимизации микроклонального размножения и адаптации генотипов земляники садовой (*Fragaria × ananassa* Duch.) Орел. ВНИИСПК. 2021. 24. <https://www.elibrary.ru/jtbjkg>
  14. Мацнева О.В., Ташматова Л.В., Хромова Т.М., Шахов В.В. Введение сортов земляники в культуру *in vitro* // Плодоводство и ягодоводство России. 2019. 56. 29-36. <https://doi.org/10.31676/2073-4948-2019-56-28-34>.
  15. Мацнева, О.В., Ташматова, Л.В., Орлова, Н.Ю., Шахов, В.В. Микроклональное размножение земляники садовой // Селекция и сорторазведение садовых культур. 2017. 4. 1-2. 93-96. <https://www.elibrary.ru/zbiwvh>
  16. Муратова С.А., Хорошкова Ю.В. Клональное микроразмножение растений – перспективный метод современного питомниководства // Основы повышения продуктивности аgroценозов. Мичуринск: ООО «Бис». 2015. 367-373. <https://www.elibrary.ru/yadacd>
  17. Растрогуев С.Л. Разработка приёмов размножения земляники в системе *in vitro* // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2012. 1,1. 10-13. <https://www.elibrary.ru/rejjrf>
  18. Семенас С.Э., Кухарчик Н.В. Методика клонального размножения сортов земляники садовой // Плодоводство. 2000. 13. 135-145.
  19. Степанов В.В., Московенко Н.В. Изучение показателей качества земляники садовой, выращенной путём биотехнологии микроклонирования // Электронный сетевой

- политеатический журнал «Научные труды КубГТУ». 2016. 14. 621-628. <https://www.elibrary.ru/zhjscd>
20. Ambros E., Karpova E., Kotsupiy O., Zaytseva Y., Trofimova E., Novikova T. Silicon chelates from plant waste promote *in vitro* shoot production and physiological changes in strawberry plantlets // Plant Cell Tissue Organ Culture (PCTOC). 2021. 145. 209-221. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-02003-0>
21. Ambros E., Karpova E., Kotsupiy O., Trofimova E., Zakabluk G., Chernonosov A., Koval V., Novikova T. A mechanocomposite based on biogenic silica and green tea flavonoids modulates adaptability of strawberry microclones to *in vitro* and *ex vitro* conditions // Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 2023. 23. 612-627. <https://doi.org/10.1007/s42729-022-01069-3>
22. Boxus P.H. The production of strawberry plants by *in vitro* micropropagation // Journal of Horticultural Science. 1974. 49, 3. 209-210. <https://doi.org/10.1080/00221589.1974.11514571>
23. Dias M.I., Barros L., Sousa M.J., Oliveira M.B.P., Santos-Buelga C., Ferreira I.C. Enhancement of nutritional and bioactive compounds by *in vitro* culture of wild *Fragaria vesca* L. vegetative parts // Food Chemistry. 2017. 235. 212-219. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.060>
24. Ghasemi Y., Beaicknejad S., Sohrevardi F., Sharifani M., Amiri E., Nematzadeh G.A. Adventitious shoot and root regeneration of wild strawberry (*F. viridis* Duch.) by means of tissue culture medium optimization // Biological Forum. Research Trend. 2015. 7, 2. 436-441. <https://www.researchtrend.net/bfji/pdf/72%20FIROUZEH%20SOHREVARDI.pdf>
25. Kotsupiy O., Karpova E., Ambros E. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) microshoots // BIO Web of Conferences. 2020. 24. 00041. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20202400041>
26. Kotsupiy O., Karpova E., Trofimova E., Novikova T., Ambros E. Transformation of strawberry plants' phenolic profile after treatment with a mechanocomposite based on silicon chelates in the course of development under *in vitro*, *ex vitro*, and *in vivo* conditions // Horticulturae. 2023. 9. 157. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020157>
27. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. 1962. 3. 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
28. Rokosa M., Mikiciuk M., Kulpa D., Ptak P. A comparative study on drought stress response *in vitro* and *in vivo* propagated *Fragaria vesca* plants // Agriculture. 2025. 15, 2. 145. <https://doi.org/10.3390/agriculture15020145>
29. Yildirim A.B., Turker A.U. Effects of regeneration enhancers on micropropagation of *Fragaria vesca* L. and phenolic content comparison of field-grown and *in vitro*-grown plant materials by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) // Scientia Horticulturae. 2014. 169. 169-178. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.01.038>

## References

1. Atroschenko, G., Kostitsyn, V., & Nadelyuev, A. (2001). *Recommendations for the Production of Healthy Strawberry Planting Material*. SPbGAU. <https://elibrary.ru/ttxeo>. (In Russian).
2. Belevtsova, V.I. (2012). Remote hybridization in the creation of adaptive strawberry varieties for Yakutia. In *Development of Scientific Heritage of N. I. Vavilov in Modern Breeding Research: conference proceedings* (pp. 71-75). Center for Innovative Technologies LLC. <https://www.elibrary.ru/wnjtrp>. (In Russian).
3. Belyakova, L., Vysotsky, V., & Alekseenko L. (2010). The influence of certain cultivation factors on the development of strawberry explants in the process of clonal micropropagation // *Horticulture and Viticulture*, 2, 23-27. <https://www.elibrary.ru/mlhwyx>. (In Russian).
4. Butenko, R. (1990). Cellular technology in agricultural science. In *Fundamentals of Agricultural Biology* (pp. 154). Agropromizdat. (In Russian).

5. Dzhigadlo, E., Dzhigadlo, M., & Golyshkina, L. (2005). *Methodological Recommendations on the Use of Biotechnological Methods in Working with Fruit, Berry and Ornamental Crops*. VNIISPK. <https://www.elibrary.ru/rphetsk>. (In Russian).
6. Kalinin, F., Kushnir, G., & Sarnatskaya, V. (1992). *Technology of Microclonal Reproduction of Plants*. Naukova dumka, 232. (In Russian).
7. Kukharchik, N., Kastritskaya, M., Semenas, S., Kolbanova, E., Krasinskaya, T., Volosevich, N., Solovey, O., Zmushko, A., Bozhidai, T., Rundya, A., & Malinovskaya, A. (2016). *Reproduction of Fruit and Berry Plants in in vitro Culture*. Belarusian science. <https://www.elibrary.ru/zfzenr>. (In Russian).
8. Marchenko, L. (2020). Strawberry: evolution of the domestic assortment and direction of selection. *Agrarian Bulletin of the Urals*, 12, 50-60. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2020-203-12-50-60>. (In Russian, English abstract).
9. Matushkina, O., & Pronina, I. (2005). Clonal micro-propagation of strawberries in the production system of healthy planting material. In *Proceedings of the All-Russian Scientific Research Institute of Horticulture named after I.V. Michurin. Scientific Foundations of Horticulture* (pp 155-160). Kvarta. <https://www.elibrary.ru/oxpahu>. (In Russian).
10. Matushkina, O., & Pronina, I. (2001). Clonal micropagation of fruit and berry crops and prospects for its use. In *The Main Results and Prospects of Scientific Research at the I.V. Michurin VNIIIS (1931-2001)* (pp. 103-105). Tambov State Technical University. <https://www.elibrary.ru/mfxumo>. (In Russian).
11. Matushkina, O., & Pronina, I. (2012). *Technology of Clonal Micropagation of Strawberries*. Kvarta. <https://www.elibrary.ru/mnmlwe>. (In Russian).
12. Matsneva, O., & Tashmatova, L. (2019). Clonal micropagation of strawberries – a promising method of modern nursery breeding (review). *Contemporary Horticulture*, 4, 113-119. <https://www.elibrary.ru/vwlcvy>. (In Russian).
13. Matsneva, O., Tashmatova, L., & Khromova, T. (2021). *Biotechnological Techniques for Optimizing Microclonal Reproduction and Adaptation of Strawberry Genotypes (Fragaria × ananassa Duch.)*. VNIISPK. <https://www.elibrary.ru/jtbjkg>. (In Russian).
14. Matsneva, O., Tashmatova, L., Khromova, T., & Shakhov, V. (2019). The introduction of strawberry varieties into *in vitro* culture. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*, 56, 29-36. <https://doi.org/10.31676/2073-4948-2019-56-28-34>. (In Russian, English abstract).
15. Matsneva, O., Tashmatova, L., Orlova, N., & Shakhov, V. (2017). Micropagation of strawberries. *Breeding and Variety Cultivation of Fruit and Berry Crops*, 4(1-2), 93-96. <https://www.elibrary.ru/zbiwvh>. (In Russian).
16. Muratova, S., & Khoroshkova, Yu. (2015). Clonal micropagation plants - perspective method of modern nursery-garden. In *Fundamentals of Increasing the Productivity of Agrocenoses* (pp. 367-373). Bis. <https://www.elibrary.ru/yadacd>. (In Russian).
17. Rastorguev, S. (2012). Development of strawberry propagation techniques in the *in vitro* system. *The Bulletin of Michurinsk State Agrarian University*, 1-1, 10-13. <https://www.elibrary.ru/pejjrf>. (In Russian).
18. Semenas, S., & Kukharchik, N. (2000). Methods of clonal propagation of strawberry varieties. *Fruit Growing*, 13, 135-145. (In Russian).
19. Stepanov, V., & Moskovenko, N. (2016). Study of the indicators of the quality of the landscape of gardening drunked by microcloton biotechnology. *Electronic Network Polythematic Journal "Scientific Works of KubSTU"*, 14, 621-628. <https://www.elibrary.ru/zhjscd>. (In Russian, English abstract).
20. Ambros, E., Karpova, E., Kotsupiy, O., Zaytseva, Y., Trofimova, E., & Novikova, T. (2021). Silicon chelates from plant waste promote *in vitro* shoot production and physiological changes

- in strawberry plantlets. *Plant Cell Tissue Organ Culture (PCTOC)*, 145, 209-221. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-02003-0>
21. Ambros, E., Karpova, E., Kotsupiy, O., Trofimova, E., Zakabluk, G., Chernonosov, A., Koval V., & Novikova, T. (2023) A mechanocomposite based on biogenic silica and green tea flavonoids modulates adaptability of strawberry microclones to *in vitro* and *ex vitro* conditions. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23, 612-627. <https://doi.org/10.1007/s42729-022-01069-3>
22. Boxus, P. (1974). The production of strawberry plants by *in vitro* micropagation. *Journal of Horticultural Science*, 49(3), 209-210. <https://doi.org/10.1080/00221589.1974.11514571>
23. Dias, M.I., Barros, L., Sousa, M.J., Oliveira, M.B.P., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I.C. (2017). Enhancement of nutritional and bioactive compounds by *in vitro* culture of wild *Fragaria vesca* L. vegetative parts. *Food Chemistry*, 235, 212-219. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.060>
24. Ghasemi, Y., Beaicknejad, S., Sohrevardi, F., Sharifani, M., Amiri, E., & Nematzadeh, G.A. (2015). Adventitious shoot and root regeneration of wild strawberry (*F. viridis* Duch.) by means of tissue culture medium optimization. *Biological Forum. Research Trend*, 7(2), 436-441. <https://www.researchtrend.net/bfij/pdf/72%20FIROUZEH%20SOHREVARDI.pdf>
25. Kotsupiy, O., Karpova, E., & Ambros, E. (2020). Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) microshoots. *BIO Web of Conferences*. 24, 00041. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20202400041>
26. Kotsupiy, O., Karpova, E., Trofimova, E., Novikova, T., & Ambros, E. (2023). Transformation of strawberry plants' phenolic profile after treatment with a mechanocomposite based on silicon chelates in the course of development under *in vitro*, *ex vitro*, and *in vivo* conditions. *Horticulturae*, 9, 157. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020157>
27. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 3, 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
28. Rokosa, M., Mikiciuk, M., Kulpa, D., & Ptak, P. (2025). A comparative study on drought stress response *in vitro* and *in vivo* propagated *Fragaria vesca* plants. *Agriculture*, 15(2), 145. <https://doi.org/10.3390/agriculture15020145>
29. Yildirim, A.B., & Turker, A.U. (2014). Effects of regeneration enhancers on micropagation of *Fragaria vesca* L. and phenolic content comparison of field-grown and *in vitro*-grown plant materials by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS). *Scientia Horticulturae*, 169, 169-178. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.01.038>

Автор:

**Анна Юрьевна Мельяновская**, научный сотрудник лаборатории биотехнологии, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур», [melyanovskaya@orel.vniispk.ru](mailto:melyanovskaya@orel.vniispk.ru)  
ORCID: 0000-0002-4286-7118  
SPIN: 3994-4311

Author:

**Anna Y. Melyanovskaya**, Researcher at the Laboratory of Biotechnology of Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPK), [melyanovskaya@orel.vniispk.ru](mailto:melyanovskaya@orel.vniispk.ru)  
ORCID: 0000-0002-4286-7118  
SPIN: 3994-4311

**Отказ от ответственности:** заявления, мнения и данные, содержащиеся в публикации, принадлежат исключительно авторам и соавторам. ФГБНУ ВНИИСПК и редакция журнала снимают с себя ответственность за любой ущерб людям и/или имуществу в результате использования любых идей, методов, инструкций или продуктов, упомянутых в контенте.