

БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 582.734.4:57.085.2

DOI: 10.36305/0513-1634-2023-146-134-141

**КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ И СОХРАНЕНИЕ ЗЕМЛЯНИКИ
САДОВОЙ СОРТА 'КРЫМЧАНКА 87' IN VITRO****Наталья Николаевна Иванова, Нина Павловна Лесникова-Седошенко,
Наталья Васильевна Корзина**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Ордена Трудового Красного знамени Никитский ботанический сад –
Национальный научный центр РАН»
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита, спуск Никитский, 52
E-mail: nnivanova2017@yandex.ru

Земляника садовая – известная и широко распространенная ягодная культура в мире. Размножение *in vitro* является альтернативой традиционному вегетативному размножению. Изучены особенности морфогенеза и сохранения в течение 12 месяцев растений сорта 'Крымчанка 87'. Определены оптимальные концентрации БАП в питательной среде МС при культивировании в условиях *in vitro*. Высокая частота побегообразования отмечена на среде с 0,5-0,75 мг/л БАП. Установлена оптимальная температура депонирования эксплантов земляники, способствующая сохранению жизнеспособности (99%) и снижению кинетики роста в течение 12 месяцев.

Ключевые слова: *Fragaria × ananassa* Duchesne; морфогенез; эксплант; регуляторы роста; осмотик; ретардант; депонирование *in vitro*

Введение

Земляника является наиболее известной и широко распространенной ягодной культурой в мире. Земляника садовая (*Fragaria × ananassa* Duchesne, Rosaceae) представляет собой гибрид от скрещивания двух диких американских видов – земляники чилийской [*F. chiloensis* (L.) Mill.] и земляники виргинской [*F. virginiana* (Duchesne) Mill.]. Культура отличается раннеспелостью и высокой ежегодной урожайностью. Плоды земляники обладают высокими вкусовыми качествами и диетическими свойствами. 'Крымчанка 87' – высокоурожайный крупноплодный сорт земляники садовой среднераннего срока созревания имеет красную окраску ягод с сочной, ароматной, сладко-кислого вкуса мякотью плодов.

В производственном процессе чаще всего используется вегетативный метод размножения земляники путем деления растений [13, 14]. В последние годы все больше применяют методы биотехнологии, позволяющие значительно увеличивать производство и сохранять ценные генотипы плодово-ягодных культур. Применение метода культуры тканей открывает новые возможности для быстрого размножения и получения оздоровленных растений земляники садовой [10, 11, 13]. Многочисленные работы по вопросам клонального микроразмножения земляники садовой *in vitro* в основном посвящены разработке протоколов размножения конкретных сортов. Разработаны протоколы для промышленного размножения сортов земляники Sweet Charlie и Winter Dawn на питательной среде МС с 5,0 мг/л 6-БА и 0,01 мг/л кинетина [14]; A.H. Naing с соавторами разработали стабильную систему микроразмножения 5 сортов 'Santa', 'Fanta', 'Berrystar', 'Honeybell' и 'Okhyang' на среде МС, содержащей 0,5 мг/л кинетина [18]; для сорта 'Московский Деликатес' оптимальная концентрация 6-БАП составила 0,5-2,0 мкМ [2]. Успех клонального микроразмножения земляники садовой зависит от морфогенетического потенциала культивируемых тканей, генотипа и условий

культивирования. Разработка эффективной и воспроизводимой системы размножения под воздействием регуляторов роста в условиях *in vitro* для сортов *F. × ananassa* является актуальной задачей [1, 4, 14-21].

Для сохранения растительного генофонда все большее значение приобретает использование биотехнологических подходов [9, 12, 15]. Способ хранения с медленным ростом заключается в замедлении или подавлении физиологического метаболизма растений. Этот метод используется для краткосрочного и среднесрочного сохранения и заключается в уменьшении роста и увеличении интервалов между субкультураторами, не оказывая существенного влияния на жизнеспособность эксплантов [15]. Эффективное хранение в условиях *in vitro* обусловлено различными факторами. В настоящее время наиболее изученным является влияние температуры. Пониженная положительная температура чаще всего замедляет рост растений *in vitro* [5, 8, 9].

Целью настоящей работы было изучение особенностей морфогенеза и оптимизация условий сохранения земляники садовой сорта 'Крымчанка 87' в условиях *in vitro*.

Объекты и методы исследования

Исследования выполнены в лаборатории морфогенеза и депонирования растений *in vitro* ФГБУН «НБС-ННЦ». Материалом для исследований были экспланты *Fragaria × ananassa* Duchesne сорта 'Крымчанка 87' с красной окраской плодов, отобранные с внешне бессимптомных здоровых материнских растений.

В работе применяли общепринятые методы исследований в биотехнологии [3, 6]. Апикальные почки поверхностно стерилизовали в асептических условиях ламинарного бокса (ESCO, Сингапур). Экспланты погружали на 1 мин в 70% этанол, затем на 15 мин в раствор 1% Thimerosal, и на 20 мин в раствор, содержащий 0,3-0,4% Cl₂ (ДезТаб, Китай) с добавлением 2-3 капель детергента Tween 20. Меристемы размером 0,5-0,7 мм вычленяли из вегетативных почек под бинокулярным микроскопом Nikon SMZ745T (Япония) и вводили на питательную среду МС (Murashige, Skoog, 1962) [17]. Для элиминации вирусной инфекции перед автоклавированием в питательную среду добавляли вироцид рибавирин (Virazole, 1-β-D-Ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide, Sigma, USA) в концентрации 5 мг/л.

В качестве исходных эксплантов использовали микропобеги без листьев длиной 0,4-0,5 см, ранее полученные в условиях *in vitro*. Экспланты культивировали на агаризованной питательной среде МС (Murashige, Skoog, 1962), которую дополняли 0,1-1,5 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП) на фоне постоянной концентрации НУК (0,01 мг/л). Среда содержала 3% сахарозы и 0,9% агара. Перед автоклавированием pH питательной среды доводили до 5,7. Культуральные сосуды с эксплантами помещали в фитокапсулы «Биотрона» с температурой 24±1°C, 16-часовым фотопериодом и освещенностью 37,5 мкМ м⁻² с⁻¹.

Для сохранения *in vitro* в течение 12 месяцев использовали сегменты полученных микропобегов. Экспланты помещали на среду ¼ МС, дополненную 0,2 г/л хлорхолинхlorida (CCC) и 60 г/л сахарозы. Контроль – среда ¼ МС, содержащая 60 г/л сахарозы.

Питательные среды автоклавировали при 120°C в течение 10 мин в стерилизаторе LAC 5060S (DAIHAN LAB TECH, Южная Корея). Все операции проводили в стерильных условиях бокса биологической безопасности SC2 («ESCO», Сингапур). Химические стаканы закрывали фольгой и изолировали парафиновой пленкой для предотвращения высыхания среды во время депонирования. Сосуды помещали в специальные холодильные камеры марки LIEBHERRFKvs1 4113 (Австрия) с пониженной положительной температурой 4, 6, 8, 10 и 12°C, интенсивностью освещения 1,25-3,75

мкМ m^{-2} с⁻¹, фотопериодом 16 часов. Оценку морфогенетического ответа эксплантов проводили путем измерений биометрических параметров (количество и длина побегов, количество листьев). При закладке эксплантов на депонирование фиксировали основные показатели: генотип, дата введения на депонирование, размер экспланта (длина), этап развития, температура хранения, питательная среда.

Были определены средние значения ± ошибка среднего для трех повторов из 10 эксплантов. Для статистического описания результатов эксперимента использовали методы статистического анализа (программа STATISTICA for Windows 10.0 (StatSoft, Inc.)).

Результаты и обсуждение

Использованный способ стерилизации позволил получить 70,5% стерильных эксплантов, способных к побегообразованию. Стерильные меристемы земляники садовой сорта 'Крымчанка 87' размером 0,4-0,5 мм высаживали на питательную среду МС, дополненную цитокининами – 6-БАП концентрации 0,5 мг/л или ТДЗ в концентрации 0,2 мг/л и 0,01 мг/л НУК (рис. 1). Через 7-10 дней после введения в условия *in vitro* наблюдали активный рост первичных эксплантов земляники садовой сорта 'Крымчанка 87'.

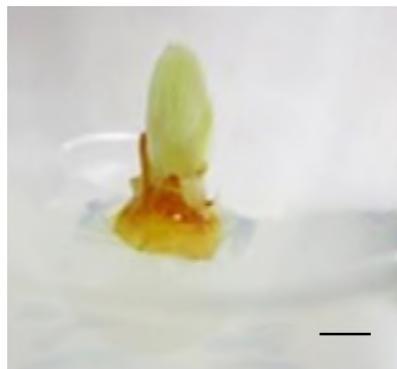


Рис. 1 Апикальная почка земляники садовой сорта 'Крымчанка 87' на питательной среде МС с 0,5 мг/л БАП в условиях *in vitro*. Масштаб 1 мм

Способность к множественному побегообразованию земляники садовой 'Крымчанка-87' изучали, используя различные концентрации БАП в питательной среде МС. При клonalном микроразмножении растений *in vitro* важным фактором, регулирующим морфогенетические процессы, является наличие в питательной среде экзогенных регуляторов роста растений. Применение цитокининов и ауксинов в определенных соотношениях и концентрациях позволяет направленно регулировать их органогенное действие [10, 20]. В наших исследованиях индукция развития адVENTивных побегов была отмечена через 21 сутки культивирования. При этом активность адVENTивного побегообразования у эксплантов была различной. Из литературных источников известно, что оптимальные морфогенные ответы, полученные у растений, варьировали в зависимости от концентрации БАП в питательной среде, продолжительности его воздействия и исследуемого генотипа [10-14, 18-21].

Морфогенетический потенциал эксплантов земляники садовой сорта Крымчанка 87 в условиях *in vitro* реализовался путем прямого органогенеза. Изучение влияния концентраций цитокинина БАП на размножение изучаемого сорта показало, что образование дополнительных побегов с различной частотой отмечено во всех вариантах опыта.

Таблица 1
Эффективность микроразмножения земляники садовой сорта 'Крымчанка 87' через 30 суток культивирования *in vitro* на питательной среде МС, дополненной БАП и 0,01 мг/л НУК

Варианты среды МС	Длина микропобега, см	Количество адвентивных микропобегов/экспланкт, шт.	Количество листьев/экспланкт, шт.	Количество корней/экспланкт, шт.
0,1 мг/л БАП	0,68 ± 0,03	1,40 ± 0,34	7,38 ± 1,05	6,50 ± 0,57
0,2 мг/л БАП	0,61 ± 0,01	1,80 ± 0,28	6,25 ± 0,26	6,25 ± 0,59
0,3 мг/л БАП	0,83 ± 0,03	1,70 ± 0,26	7,50 ± 1,02	5,88 ± 0,72
0,5 мг/л БАП	1,48 ± 0,02	2,50 ± 0,57	7,0 ± 0,98	2,70 ± 0,15
0,75 мг/л БАП	1,12 ± 0,02	2,10 ± 0,29	5,80 ± 0,13	2,90 ± 0,23
1,0 мг/л БАП	0,80 ± 0,01	2,30 ± 0,18	5,10 ± 0,20	3,0 ± 0,25
1,5 мг/л БАП	0,70 ± 0,03	2,50 ± 0,13	5,0 ± 0,29	2,80 ± 0,48

Однако более интенсивно морфогенетические процессы происходили при использовании невысоких концентраций БАП (0,5-0,75 мг/л) (табл. 1). Среднее количество адвентивных микропобегов на этапе побегообразования на питательной среде МС, дополненной 0,1-0,2 мг/л БАП, достигало 1,40±0,34-1,80±0,28 шт./экспланкт, общее количество листьев составило 6,25±0,26-7,38±1,05 шт. и корней – 6,25±0,59-6,50±0,57 шт. При концентрации БАП 0,3 мг/л образовалось 1,70±0,26 шт. дополнительных побегов/экспланкт, общее количество листьев – 7,50±1,02 шт., корней – 5,88±0,72 шт. длиной 1,0-1,20 см. Введение в состав среды 0,5-0,75 мг/л БАП оказалось индуцирующее воздействие на морфогенетический потенциал данного сорта земляники садовой в течение 30 суток культивирования. Так, в ходе эксперимента получено 2,5±0,57 и 2,1±0,29 шт./экспланкт дополнительных побегов, 7,0±0,98 и 5,8±0,13 листьев, соответственно (табл. 1, рис. 2). Наряду с этим наблюдало спонтанное образование корней в количестве 2,70-2,90 шт./экспланкт. При визуальном осмотре сформировавшиеся регенеранты были компактными с темно-зелеными листьями, не имели морфологических отклонений, что позволило использовать их для дальнейшего микроразмножения и укоренения.

Увеличение концентрации БАП до 1,0-1,5 мг/л также стимулировало образование адвентивных почек и побегов (2,30±0,18-2,50±0,13 шт./экспланкт) (см. табл. 1, см. рис. 2). Побеги были короткие, плотно прижатые друг к другу, с мелкими листьями. Количество побегов возрастало до 8-10 шт. при последующем субкультивировании на среду того же состава. Однако такие микропобеги были оводненные, с мелкими деформированными листьями на укороченных черешках, что делало их непригодными для дальнейшего размножения.

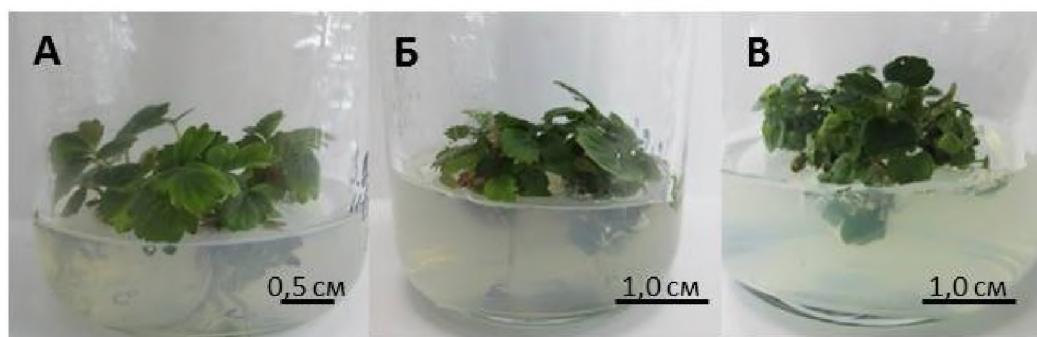


Рис. 2 Адвентивное побегообразование земляники садовой сорта Крымчанка 87 на питательной среде МС, дополненной: А – 0,5 мг/л БАП; Б – 1,0 мг/л БАП; В – 1,5 мг/л БАП

Образование корней происходило во всех вариантах опыта, что позволило исключить этап ризогенеза. Эффективность использования цитокинина БАП в размножении сортов и форм земляники садовой подтверждена многими авторами [1, 2, 13-16]. Наши исследования показали эффективность невысоких концентраций веществ цитокининового и ауксинового типов действия для индукции и регулирования физиологических и морфогенетических процессов *in vitro* у земляники садовой сорта 'Крымчанка 87' (см. рис. 2).

Таблица 2
Морфометрические показатели *Fragaria × ananassa* Duchesne после 12 месяцев депонирования

T°C	Жизнеспособность, %	Длина побега, см	Количество адвентивных побегов, шт.	Количество листьев, шт.	Количество корней, шт.	Длина корня, см
4	99,0	1,26 ± 0,04	0	1,30 ± 0,15	0	0
6	99,0	1,60 ± 0,03	0,70 ± 0,21	2,90 ± 0,23	4,60 ± 0,27	3,30 ± 0,21
8	97,0	1,92 ± 0,03	0,40 ± 0,16	3,80 ± 0,24	5,60 ± 0,3	5,40 ± 0,56
10	80,0	3,20 ± 0,02	1,30 ± 0,18	6,45 ± 0,30	3,70 ± 0,93	6,40 ± 0,32
12	70,0	3,50 ± 0,05	1,50 ± 0,21	7,66 ± 0,36	3,50 ± 0,29	7,20 ± 0,36

Депонирование продолжает быть одним из основных методов сохранения генетической плазмы растений [5-9, 12, 15]. В наших исследованиях для сохранения эксплантов земляники садовой была взята за основу схема длительного сохранения растений при пониженной положительной температуре, разработанная в НБС-ННЦ для садовых и субтропических культур, основанная на комплексном использовании ряда факторов: состав специализированной питательной среды, температура сохранения, интенсивность освещения [7, 8]. Было изучено влияние температуры на сохранение жизнеспособности депонируемых объектов на среде с осмотиками и ретардантами (табл. 2).

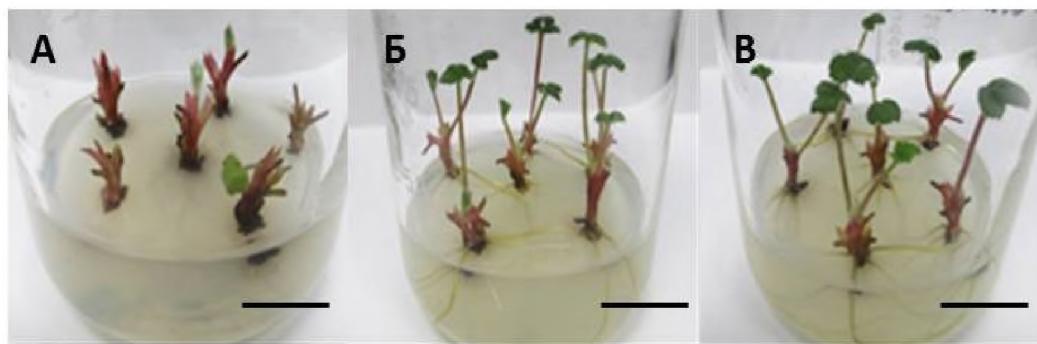


Рис. 3 Экспланты земляники садовой сорта 'Крымчанка 87' при различной температуре в условиях генобанка после 12 месяцев депонирования: А – 4°C; Б – 6°C и В – 8°C. Масштаб 1 см

Наши исследования показали возможность сохранения эксплантов земляники садовой сорта 'Крымчанка 87' течение 12 месяцев в условиях генобанка *in vitro* (рис. 3). Основным показателем успешного депонирования растительных объектов является сохранение физиологической стабильности (жизнеспособности) в течение всего периода хранения при снижении кинетики роста. Эксперименты выявили способность растений сохранять морфогенетический потенциал при невысокой интенсивности ростовых

процессов в течение длительного времени депонирования при комплексном использовании воздействия ряда абиотических факторов: пониженная положительная температура ($4\text{-}8^{\circ}\text{C}$), низкая интенсивность освещения ($1,25\text{-}3,75 \text{ мкМ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$), и наличие в питательной среде осмотиков (60,0 г/л сахарозы) и ретардантов ССС (0,2 г/л). Проведенный скрининг эксплантов, подвергавшихся воздействию низких положительных температур ($4\text{-}12^{\circ}\text{C}$), ретарданта ССС (0,2 г/л) и осмотика (60,0 г/л сахарозы) в течение 12 месяцев, показал, что при температуре 4, 6 и 8°C количество жизнеспособных эксплантов составило 97,0-99,0% (см. табл. 2, рис. 3).

При температуре 4°C у эксплантов отмечали снижение кинетики роста. Длина побега составляла $1,26\pm0,04$ см; количество листьев – $1,30\pm0,15$ шт./эксплант, дополнительные побеги и корни отсутствовали. Образование листьев ($2,90\pm0,23\text{-}3,8\pm0,24$ шт./побег), корней и единичных дополнительных побегов ($0,70\pm0,21$ шт. и $0,40\pm0,16$ шт.) отмечали при температуре 6 и 8°C (см. табл. 2). Однако при температуре 8°C наблюдали интенсивный рост побега, корней и нарастание листьев, что не способствовало необходимому снижению кинетики роста. Повышение температуры до $10\text{-}12^{\circ}\text{C}$ негативно сказывалось на депонируемых растительных объектах. В первые месяцы отмечали активный рост побега (3,20-3,50 см) и формирование листьев большего размера на удлиненных черешках в количестве 6,45-7,66 шт./эксплант. Через 7-8 месяцев сохранения наблюдали резкое угнетение физиологического состояния некоторых эксплантов, изменение окраски листьев с зеленой на зелено-коричневую, а затем коричневую. При этом жизнеспособность снижалась до 70-80%. Таким образом, проведенные исследования позволили выявить оптимальные значения температуры 4 и 6°C для сохранения жизнеспособности изучаемого сорта земляники садовой в условиях генобанка *in vitro* в течение 12 месяцев. Тестирование регенерационных способностей эксплантов, депонируемых в условиях *in vitro*, осуществляли путем их переноса в стандартные условия культивирования. На питательных средах, дополненных регуляторами роста, отмечено формирование адVENTивных почек и микропобегов, что доказало сохранение физиологической стабильности эксплантов. Проведенное тестирование депонируемых эксплантов по морфобиологическим признакам на питательной среде для индукции регенерационных процессов показало сохранение их морфогенетического потенциала и способность к индукции адVENTивного побегообразования у 95,0% эксплантов земляники садовой сорта 'Крымчанка 87'.

Выводы

Таким образом, в процессе исследований определены оптимальные условия культивирования *in vitro* и показана эффективность применения невысоких концентраций БАП (0,5-0,75 мг/л) на этапе адVENTивного побегообразования земляники садовой сорта 'Крымчанка 87'. При этом одновременно с множественным побегообразованием происходило спонтанное формирование корней, что позволило исключить этап ризогенеза и сократить время получения растений. Определена оптимальная температура $4\text{-}6^{\circ}\text{C}$ сохранения эксплантов земляники садовой сорта Крымчанка 87 в условиях *in vitro* в течение 12 месяцев на питательной среде $\frac{1}{4}$ МС с 60,0 г/л сахарозы и 0,2 г/л ССС. Жизнеспособность эксплантов при этих условиях достигала 99,0%.

Благодарности

Работа выполнена по Госзаданию FNNS-2022-0002 ФГБУН «НБС-ННЦ» на оборудовании УНУ «Научный центр биотехнологии, геномики и депонирования растений» («ФИТОБИОГЕН») ФГБУН "НБС-ННЦ" (Ялта, Россия)

Список литературы

1. Амброс Е.В., Чертенкова Е.И., Толузакова С.Ю., Трофимова Е.Г., Новикова Т.И. Влияние антиоксидантов и регуляторов роста на органогенез побегов в культуре апикальных меристем *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2021. – Т. 11 (4). – С. 549-560. DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-4549-560>
2. Бородулина И.Д., Плаксина Т.В. Микроразмножение земляники садовой сорта Московский Деликатес // Известия Алтайского государственного университета. – 2014. – № 3-2(83). – С. 25-29. DOI: 10.14258/izvasu (2014)3.2-03
3. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учеб. пособие – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
4. Высоцкий В.А. Регенерационная способность эксплантов земляники различного происхождения // Плодоводство и ягодоводство России. – 2014. – Т. 40 (1). – С. 98-103.
5. Егорова Н.А., Загорская М.С., Абдурашилов С.Ф. Особенности длительного сохранения мяты сортов Ажурная и Бергамотная в коллекции *in vitro* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2022. – Т. 12(1). С. 64-75. DOI: 10.21285/2227-2925-2022-12-1-64-75.
6. Методология биотехнологических исследований цветочно-декоративных культур: коллективная монография / под общ. ред. И.В. Митрофановой. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2018. – 268 с. DOI: 10.32514/978-5-907118-58-4
7. Моделирование контролируемых условий, необходимых для длительного хранения растительного материала декоративных, ароматических и плодовых культур в генобанке *in vitro*: методические рекомендации / под общ. ред. И.В. Митрофановой. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2018. – 72 с. DOI: 10.32514/978-5-907118-88-1
8. Основы создания генобанка *in vitro* видов, сортов и форм декоративных, ароматических и плодовых культур: Коллективная монография / под общей редакцией И.В. Митрофановой. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2018. – 256 с. DOI: 10.32514/978-5-907118-87-4
9. Belokurova V.B. Methods of biotechnology in system of efforts aimed at plant biodiversity preservation (Review) // Cytology and Genetics. – 2010. – Vol. 44 (3). – P.174-185. DOI: <https://doi.org/10.3103/S0095452710030096>
10. Bidabadi S.S., Jain S.M. Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of In Vitro Plant Regeneration // Plants. – 2020. – Vol. 9. – p.702. DOI: 10.3390/plants9060702
11. Brown D.C.W., Thorpe T.A. Crop improvement through tissue culture // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 1995. – Vol. 11. – P. 409-415. DOI: 10.1007/BF00364616
12. Cruz-Cruz C.A., González-Arnao M.T., Engelmann F. Biotechnology and Conservation of Plant Biodiversity // Resources. – 2013. – Vol. 2. – P. 73-95. DOI: 10.3390/resources2020073
13. Debnath S.C., Teixeira da Silva J.A. Strawberry culture *in vitro*: applications in genetic transformation and biotechnology // Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology. – Global Science Books, 2007. – Vol. 1(1). – P. 1-12.
14. Dhukate M.R., Kher M.M., Vadawale A.V., Giri P. Protocol for microppropagation of strawberry (*Fragaria × ananassa*) cv. ‘Sweet Charlie’ and ‘Winter Dawn’ // Environmental and Experimental Biology. – 2021. – Vol. 19(1). – P. 1-6. DOI: <http://doi.org/10.22364/eeb.19.01>
15. Engelmann F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity / F. Engelmann // In Vitro Cellular and Development Biology. – Plant. – 2011. – Vol. 47 (1). – P. 5-16. DOI: 10.1007/s11627-010-9327-2
16. Kichaoui A.Y. *In vitro*, propagation of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) through organogenesis via runner tips // Annals of Plant Sciences. 2014. – Vol. 3 (3). – P. 619-627.

17. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiologia Plantarum*. – 1962. – Vol. 15 (3). – P. 473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
18. Naing A.H., Kim S.H., Chung M.Y., Park S.K., Kim C.K. *In vitro* propagation method for production of morphologically and genetically stable plants of different strawberry cultivars // *Plant Methods*. – 2019. – Vol. 1. – p.36. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0421-0>
19. Palei S., Das A.K., Rout G.R. *In vitro* studies of strawberry – an important fruit crop: a review // *J. Plant Sci. Res.* – 2015. – Vol. 31. – P. 115-131.
20. Plant Propagation by Tissue Culture. The Background / eds. E.F. George, M.A.Hall, G.-J.De Klerk. – 3rd ed. – Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2008. – Vol. 1. – 501p.
21. Quiroz K.A., Berrios M., Carrasco B., Retamales J.B., Caligari P.D.S., García-González R. Meristem culture and subsequent micropropagation of Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.) // *Biological Research*. – 2017. – Vol. 50 (1). – p. 20. DOI:10.1186/s40659-017-0125-8

Статья поступила в редакцию 21.02.2023 г.

Ivanova N.N., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Korzina N.V. Some aspects of clonal *in vitro* micropagation and preservation of strawberries of the garden cultivar ‘Krymchanka 87’ // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2023. – № 146 – P. 134-141.

Strawberry is a well-known and widespread berry crop in the world. An alternative to traditional vegetative propagation is the *in vitro* propagation. The features of morphogenesis and preservation of the strawberry plants cv. ‘Krymchanka 87’ for 12 months have been studied. The optimal concentrations of BAP in the MS culture medium during *in vitro* cultivation were determined. A high frequency of shoot development on a medium with 0.5-0.75 mg/l BAP was noted. The optimal deposition temperature of strawberry explants has been established, promoting to the preservation of viability (99%) and a decrease in growth kinetics for 12 months.

Key words: *Fragaria × ananassa* Duch.; morphogenesis; explant; plant growth regulators; osmotic; retardant; *in vitro* depositing