

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТЕНИЙ–РЕГЕНЕРАНТОВ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ *EX VITRO* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ХЕЛАТОВ КРЕМНИЯ ИЗ ВОЗОБНОВЛЯЕМОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

¹Е.В. Амброс, ²Е.Г. Трофимова

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия

²Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск, Россия

E-mail: ambros_ev@mail.ru

Для цитирования: Амброс Е.В., Трофимова Е.Г. Биотехнология получения растений–регенерантов земляники садовой *ex vitro* с использованием хелатов кремния из возобновляемого растительного сырья // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2025. – № 3 (76). – С. 15–30. – DOI: 10.31677/2072-6724-2025-76-3-15-30.

Ключевые слова: земляника садовая, хелаты кремния, возобновляемое растительное сырье, механокомпозит, адаптация *ex vitro*, ростостимулирующий эффект, содержание кремния.

Реферат. Одной из проблем недостаточных объемов возделывания земляники садовой в Новосибирской области является отсутствие промышленного производства высококачественного посадочного материала, от которого напрямую зависит урожайность культуры. Технология клонального микроразмножения может помочь решить проблему получения генетически идентичного оздоровленного посадочного материала высокого качества. Эффективность клонального микроразмножения в значительной степени зависит от оптимизации этапов культивирования. Изучены адаптивные реакции растений–регенерантов земляники садовой ('Солнечная полянка', 'Альфа') при укоренении и адаптации в условиях *ex vitro* под действием экологически чистого кремнийсодержащего механокомпозита из возобновляемого растительного сырья. Для стимуляции ризогенеза у микропобегов применяли: полив водным раствором питательной среды Мурасиге–Скуга, содержащим ¼ концентрации стандартных компонентов среды; импульсную обработку водным раствором 30 мг/л индолуксусной кислоты (течение 4 часов) с последующим поливом раствором ¼ Мурасиге–Скуга; однократный полив раствором ¼ Мурасиге–Скуга с добавлением 0,3, 1,0, 3,0 г/л механокомпозита; опудривание базальной части микропобегов механокомпозитом с последующим поливом раствором ¼ Мурасиге–Скуга. Установлено, что опудривание базальной части микропобегов механокомпозитом наиболее эффективный способ обработки регенерантов в условиях *ex vitro*. Опудривание механокомпозитом существенно увеличивало частоту ризогенеза (до 95 % против 25–45 % в контроле), стимулировало развитие корневой системы (длина корней увеличивалась относительно контроля в 2,5–4,3 раза, число корней на растение – в 1,2–2,0 раза, сухая масса корней – в 3,0 раза у сорта 'Альфа') и надземной системы растений (площадь листовой пластинки увеличивалась в 1,2–2,0 раза, сухая масса побегов – в 2,6–3,7 раза), повышало содержание основных фотосинтетических пигментов в листьях регенерантов (содержание хлорофилла *a + b* увеличивалось в 1,2 раза, каротиноидов – в 1,2–1,4 раза). Под действием механокомпозита листья регенерантов приобретали признаки ксероморфной организации. Отмечено увеличение плотности устьиц на абаксимальной стороне листа у сорта 'Альфа' (в 1,4 раза), интенсивное накопление эпидермальных восков на нижней эпидерме листовых пластинок регенерантов двух сортов. Определено, что кремний аккумулируется в наземной части регенерантов земляники садовой. Минимальное содержание кремния было в контроле (2020 мкг/г), под действием механокомпозита содержание кремния увеличивалось (до 3500 мкг/г при поливе и 3200 мкг/г при опудривании механокомпозитом). Разработанная технология позволяет исключить этап укоренения *in vitro* и сократить общий цикл клонального микроразмножения на 4 недели, обеспечивая высокое качество посадочного материала земляники садовой.

BIOTECHNOLOGY OF OBTAINING GARDEN STRAWBERRY REGENERATE PLANTS *EX VITRO* USING SILICON CHELATES FROM RENEWABLE PLANT RAW MATERIALS

¹E.V. Ambros, ²E.G. Trofimova

¹Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia

²Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry SB RAS, Novosibirsk, Russia

E-mail: ambros_ev@mail.ru

Keywords: garden strawberry, silicon chelates, renewable plant materials, mechanocomposite, *ex vitro* acclimation, growth-stimulating effect, silicon content

Abstract. One of the problems of insufficient cultivation of garden strawberries in the Novosibirsk region is the lack of industrial production of high-quality planting material, on which the crop yield directly depends. The technology of clonal micropropagation can help to solve the problem of obtaining genetically identical healthy planting material of high quality. The efficiency of clonal micropropagation largely depends on the optimization of the cultivation stages. Adaptive responses of garden strawberry regenerants ('Solnechnaya Polyanka', 'Alpha') during rooting and *ex vitro* acclimation under the influence of an environmentally friendly silicon-containing mechanocomposite made from renewable plant materials were studied. To stimulate rhizogenesis in microshoots the following treatments were used: watering with an aqueous solution of Murashige-Skoog nutrient medium containing $\frac{1}{4}$ concentration of standard medium components; pulse treatment with an aqueous solution of 30 mg/l indoleacetic acid (for 4 hours) followed by watering with a solution of $\frac{1}{4}$ Murashige-Skoog; a single watering with a solution of $\frac{1}{4}$ Murashige-Skoog with the addition of 0.3, 1.0, 3.0 g/l of mechanocomposite; dry dipping the basal part of the microshoots with a mechanocomposite followed by watering with a solution of $\frac{1}{4}$ Murashige-Skoog. It was found, that dry dipping the basal part of the microshoots with a mechanocomposite is the most effective treatment method of regenerants in *ex vitro* conditions. This treatment significantly increased the frequency of rhizogenesis (up to 95% versus 25-45% in the control), stimulated the development of the root system (the length of the roots increased relative to the control by 2.5-4.3 times, the number of roots per plant - by 1.2-2.0 times, the dry weight of the roots - by 3.0 times for the cv. 'Alpha') and the above-ground system of plants (the area of the leaf blade increased by 1.2-2.0 times, the dry weight of the shoots - by 2.6-3.7 times), increased the content of the main photosynthetic pigments in the leaves of the regenerants (the content of chlorophyll *a* + *b* increased by 1.2 times, carotenoids - by 1.2-1.4 times). Under the influence of the mechanocomposite, the leaves of the regenerants acquired signs of a xeromorphic organization. An increase in the density of stomata on the abaxial side of the leaf in the cv. 'Alpha' (by 1.4 times), intensive accumulation of epicuticular waxes on the lower epidermis of the leaf blades of the regenerants of two cultivars was noted. It was determined that silicon accumulates in the above-ground part of the garden strawberry regenerants. The minimum silicon content was in the control (2020 $\mu\text{g/g}$), under the influence of the mechanocomposite, the silicon content increased (up to 3500 $\mu\text{g/g}$ with watering and 3200 $\mu\text{g/g}$ with dusting with the mechanocomposite). The developed technology allows to eliminate the *in vitro* rooting stage and reduce the overall clonal micropropagation cycle by 4 weeks, ensuring high quality of garden strawberry planting material.

Нестабильность урожаев сельскохозяйственных культур требует внедрения эффективных технологий возделывания с использованием экологически чистых препаратов, повышающих устойчивость растений к негативным факторам среды. Земляника садовая (*Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier.) – востребованная и широко распространенная ягодная культура во многих регионах России, в том числе и в Новосибирской области. Это связано с ее биологическими особенностями, пищевым, лекарственным значением. В связи с этим одной из задач является развитие сырьевой базы, которая во многом зависит от качества посадочного материала, получение которого возможно с помощью биотехнологических подходов, в частности, с использованием клонального микроразмножения. В основе технологии лежит метод культивирования растительного материала на искусственных питательных средах *in vitro*. К преимуществам размножения растений *in vitro* относится не только возможность оздоровления посадочного материала, репродукции востребованных сортов за короткий период, длительное сохранение рас-

тительного материала в условиях *in vitro*, но и высокая экономическая эффективность метода [1]. Несмотря на эффективность, размножение *in vitro*, как правило, сопровождается различными типами стрессорных воздействий (высокая влажность воздуха, недостаток кислорода, повышенное осмотическое давление), способствующих формированию специфического фенотипа растений *in vitro*. У микрорастений слабо развиты кутикулярные покровы, фотосинтезирующие ткани, устьичный аппарат, корневая система [2]. При переносе из условий *in vitro* в нестерильные условия *ex vitro* микрорастениям необходимо адаптироваться к пониженной относительной влажности, повышенной интенсивности света, изменению температуры, взаимодействию с почвенной микрофлорой. Поэтому поиск подходов, обеспечивающих эффективный рост и развитие растений в условиях *ex vitro*, является актуальным [3].

Интерес для сельского хозяйства представляют соединения кремния. Кремний оказывает существенное влияние на рост и развитие растений, повышает урожайность и улучшает качество

продукции, повышает устойчивость растений к различным стрессовым воздействиям [4–10]. Однако четкого представления об эффективности кремния в биологии и сельском хозяйстве на данный момент не существует. Разработано большое количество синтетических кремнийсодержащих препаратов, используемых для стимуляции роста и развития растений [10, 11], производство которых, как правило, сопряжено с загрязнением окружающей среды (экстракция органическими растворителями) и высокой стоимостью, что ограничивает их применение.

Перспективным в настоящее время является использование хелатных комплексов кремния на основе возобновляемого растительного сырья, полученных с помощью твердофазных механохимических методов без органических растворителей [12]. В результате такой обработки растительное сырье и реагенты остаются в устойчивой твердой форме, что полностью предотвращает их окисление и потери биологической активности. Кроме того, биогенный кремний является наиболее физиологически активным по сравнению с неорганическими силикатами, поскольку находится в аморфном состоянии. Поэтому он наиболее эффективно усваивается растениями, что обуславливает перспективность его применения в биотехнологиях. В этой связи мы предполагаем, что обработка механокомполитом на основе хелатов кремния [13] повысит устойчивость растений–регенерантов земляники садовой к стрессовым факторам *ex vitro* за счет структурных и физиологических адаптаций.

Таким образом, настоящее исследование направлено на расширение спектра росторегулирующих веществ в технологиях клонального микроразмножения. Для достижения цели поставлены конкретные задачи: 1) определить действие механокомполита из хелатов кремния на рост и развитие растений–регенерантов земляники садовой при укоренении и адаптации *ex vitro*; 2) установить взаимосвязь между различными концентрациями механокомполита, физиологическими, микро-морфологическими изменениями вегетативных органов регенерантов, содержанием кремния для определения адаптационного потенциала у исследуемых генотипов.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве объектов для исследований использованы генотипы земляники садовой (*F. ananassa* cvs. ‘Альфа’, ‘Солнечная полянка’) из

коллекции растений *in vitro* лаборатории биотехнологии Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (г. Новосибирск).

Механокомполит (МК) получен в лаборатории химии твердого тела Института химии твердого тела и механохимии СО РАН (г. Новосибирск). Специалистами лаборатории определены оптимальные технологические режимы механической обработки растительного сырья в полупромышленной центробежной роликовой мельнице РМ-20, приводящие к получению продукта, характеризующегося повышенной концентрацией хелатированных растворимых форм кремния (Si). Наиболее рациональными режимами с точки зрения химической и экономической эффективности признана частота вращения ротора 1200 rpm и скорость подачи сырья 43 кг/ч. Данный режим обеспечивает увеличение выхода хелатированных форм Si с 6 до 24 мг/л, что соответствует показателям, достигнутым на лабораторном уровне [14]. Основной составляющей МК является шелуха риса *Oryza sativa* L. сорта ‘Лиман’ (Краснодарский край, Россия) с высоким содержанием биогенного кремния и листья зеленого чая *Camelia sinensis* L. (Краснодарский край, Россия), содержащие хелатирующие функциональные группы, существенно повышающие растворимость Si с 6,5 до 34,1 мг/л. Химический состав МК следующий: экстрактивные вещества – 16,3±1,1 %; гемицеллюлоза – 22,3±0,8 %; лигнин – 20,2±1,5 %; целлюлоза – 38,9±2,0 %; катехины – 1,4±0,2 %; водорастворимый мономерный Si – 34,0±0,7 мг/л. Массовое соотношение рисовой шелухи и зеленого чая в МК – 10 : 1.

В экспериментах использовали микропобеги *F. ananassa* высотой 2,0–3,0 см, с двумя–тремя сформированными листьями, без корневой системы, в возрасте 12 недель. Для стимуляции ризогенеза *ex vitro* применяли следующие способы обработок микропобегов:

контрольную группу растений увлажняли водным раствором, содержащим ¼ концентрации стандартных компонентов среды Мурасиге–Скуга (МС) [15];

импульсную обработку в течение 4 ч водным раствором 30 мг/л индолилуксусной кислоты (ИУК), с последующим поливом раствором ¼ МС (используемая для получения максимального эффекта концентрация ауксина подобрана в предварительных экспериментах);

однократный полив раствором ¼ МС с добавлением 0,3; 1,0; 3,0 г/л МК. Для экспериментов использован свежий водный раствор МК, приго-

товленный путем перемешивания дистиллированной воды комнатной температуры и МК в разных концентрациях с последующим настаиванием в течение 1 ч при комнатной температуре;

опудривание базальной части микропобегов МК с последующим поливом раствором $\frac{1}{4}$ МС.

После обработок микропобеги помещали в вегетационные кассеты со стерильным кварцевым песком с объемом ячеек 90 см^3 . Под каждое растение вносили путем полива 20 мл питательного раствора таким образом, чтобы влагоемкость песка составила 60 %. По мере высыхания субстрат увлажняли раствором $\frac{1}{4}$ МС. Опыты проводили в двухкратной повторности, в каждом варианте использовано 20 микрорастений. Первые 10 сут растения находились в микропарнике (влажность 90–95 %), затем влажность постепенно снижали до 70–80 %. Продолжительность адаптационного периода составила 30 сут.

Культуры содержали под люминесцентными лампами холодного белого света (TL-D 36W/54-765, производитель Philips) с интенсивностью 3000 лк, с периодом освещения 16 ч при температуре $23 \pm 2^\circ \text{C}$.

Через 30 сут адаптации оценивали ростовые параметры растений-регенерантов, морфоанатомические параметры листьев, содержание основных фотосинтетических пигментов в листьях и содержание кремния (Si) в наземной части регенерантов.

Анализировали следующие показатели: частота ризогенеза, %; длина корней и микропобегов, см; число корней и листьев / микропобег, шт.; площадь листовых пластинок, см^2 ; сырая и сухая масса корней и микропобегов, г. Сухую массу растительного материала определяли трехкратным высушиванием до постоянного веса при температуре 75°C в течение 2 ч. Площадь листовых пластинок у растений рассчитывали с помощью программы SIAMS Photolab с дополнительным модулем SIAMS MesoPlant (SIAMS, Россия).

Внешнюю морфологию листьев анализировали с помощью электронного сканирующего микроскопа Hitachi TM-1000 (Япония) с оригинальным программным обеспечением. Для анализа вырезали секции из средней части листьев ($5\text{--}7 \text{ мм}^2$) с десяти растений. Измеряли десять листьев на обработку, используя один лист на растение. Устьичную плотность на 1 мм^2 рассчитывали на 10 отдельных неповторяющихся полей зрения для каждого листа. Анатомические особенности устьиц (полярный и экваториальный диаметры, мкм) определяли для трехсот случайно выбран-

ных устьиц. Исследование эпикуттикулярного покрова регенерантов проводили на электронном сканирующем микроскопе EVO MA-10 с программой SmartSEM (CarlZeiss, Германия). Анализировали секции из средней части сухих листьев ($5\text{--}7 \text{ мм}^2$) растений. Листья покрывали в атмосфере аргона тонким слоем золота (толщиной приблизительно 10 нм) с использованием установки для напыления Mini SC 7620 (Quorum Technologies, Великобритания).

Содержание основных фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов) в листьях регенерантов определяли с помощью спектрофотометрического метода. Суммарное количество хлорофиллов и каротиноидов в микропобегах определяли в ацетоновом экстракте на спектрофотометре СФ-26 (Ломо). Оптическую плотность раствора измеряли при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов *a* (662 нм) и *b* (644 нм), каротиноидов (440,5 нм). Расчет концентрации пигментов проводили по уравнениям Ветштейна и Хольма: $\text{Ca} = 9,784\text{D}662 - 0,99\text{D}644$, $\text{Cb} = 21,426\text{D}644 - 4,650\text{D}662$, $\text{Ca} + \text{Cb} = 5,134\text{D}662 + 20,436\text{D}644$; $\text{Скар} = 4,695\text{D}440,5 - 0,268(\text{Ca} + \text{Cb})$ [16].

Содержание пигментов, мг/г, находили по формуле $x = C \cdot V \cdot I_2 \cdot 100 / n \cdot V_1 \cdot 1000$, где C – концентрация пигмента, мг/дм³; V – объем исходной вытяжки, см³; V_1 – объем исходной вытяжки, взятой для разбавления, см³; V_2 – объем разбавленной вытяжки, см³; n – масса навески. Расчеты вели на массу сырого сырья [17]. Образцы готовили в трех биологических и трех аналитических повторностях.

Для анализа взяты навески около 1 г, все образцы озоляли под ИК-лампой и прокаливали при 550°C в течение 2 ч. К остатку добавляли по 1–2 мл воды и по 0,30 г КОН. Пробы высушивали и сплавляли при 550°C в течение 10 мин, затем плав растворяли в воде и количественно переносили в пластиковые пробирки на 50 мл, подкислив 2 мл концентрированной соляной кислоты. Непосредственно перед измерением пробы дополнительно разбавляли с введением внутреннего стандарта – In с концентрацией 1 мкг/л. Измерения кремния по трем изотопам ^{28}Si , ^{29}Si , ^{30}Si выполнено на масс-спектрометре высокого разрешения с индуктивно-связанной плазмой ELEMENT Finnigan MAT в Институте геологии и минералогии СО РАН (г. Новосибирск) в среднем разрешении для отделения спектральных наложений [18, 19]. Правильность ИСП-МС методики подтверждена анализом растительных стандартных образцов с

аттестованным значением содержания Si – элодея канадская (ЭК-1), травосмесь (Тр-1), лист березы (ЛБ-1). Погрешность анализа составляет менее 10 %, если содержание кремния в образце выше предела обнаружения (10 мкг/г) примерно на порядок.

Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок ($M \pm m$). Для сравнения средних значений независимых выборок использовали многограновый тест Дункана (однофакторный дисперсионный анализ). Взаимодействие между факторами «сорт» и «способ обработки» оценивали с помощью многофакторного дисперсионного анализа. Различия считали достоверными при достигнутом уровне значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Применение МК существенно повлияло на укоренение и развитие корневой системы регенерантов (табл. 1). Частота ризогенеза у исследованных сортов в конце периода адаптации варьирова-

ла от 25 до 95 % в зависимости от типа обработки. Максимальное количество укорененных растений наблюдалось при применении МК (до 95 %). В вариантах с импульсной обработкой 30 мг/л ИУК, частота ризогенеза достигала 80 %. Наименьший процент ризогенеза получен в контрольных вариантах (до 45 %), при поливе растворами МК в концентрациях 1,0 и 3,0 г/л (до 50 %). В конце адаптационного периода корневая система при обработке ауксином и МК отличалась сильным ростом и имела корни второго порядка. Статистически значимые различия в росте и развитии корневой системы и надземной части земляники определены в зависимости от способа обработки микропобегов. Максимальные результаты по всем параметрам развития корневой и надземной систем получены при опудривании основания микропобегов механокомпозитом (табл. 1, 2). Длина корней в зависимости от генотипа увеличивалась относительно контроля в 2,5–4,3 раза, количество корней – в 1,2–2,0 раза, сухая масса корней в 3,0–4,0 раза ($p \leq 0,05$).

Таблица 1

Влияние способов обработки механокомпозитом на рост и развитие корневой системы микропобегов *F. × ananassa* на этапе укоренения и адаптации в условиях *ex vitro* (на 30-е сутки адаптации)
The influence of mechanocomposite treatments on the growth and development of the root system of *F. × ananassa* microshoots at the stage of rooting and *ex vitro* acclimation (on the 30th day of acclimation)

Сорт	Способ обработки	Ризогенез, %	Длина корней, см	Кол-во корней, шт.	Сухая масса корней, г
‘Альфа’	¼ МК (контроль)	25	1,67±0,60 ^d	5,00±0,58 ^{ab}	0,003±0,002 ^b
	30 мг/л ИУК	50	4,90±0,23 ^b	6,10±0,35 ^a	0,003±0,001 ^b
	0,3 г/л МК	65	3,20±0,36 ^c	6,70±0,60 ^a	0,003±0,001 ^b
	1,0 г/л МК	35	4,25±0,28 ^{bc}	6,00±0,45 ^a	0,003±0,001 ^b
	3,0 г/л МК	50	3,56±0,26 ^c	4,11±0,56 ^b	0,002±0,0002 ^b
	Опудривание МК	95	7,15±0,54 ^a	6,10±0,31 ^a	0,012±0,002 ^a
‘Солнечная полянка’	¼ МК (контроль)	45	2,16±0,28 ^d	3,53±0,29 ^c	0,001±0,0002 ^b
	30 мг/л ИУК	80	4,90±0,26 ^a	5,67±0,29 ^b	0,003±0,0004 ^a
	0,3 г/л МК	70	3,03±0,29 ^{bc}	6,33±0,35 ^{ab}	0,003±0,0004 ^a
	1,0 г/л МК	50	3,79±0,12 ^b	3,47±0,29 ^c	0,002±0,0003 ^{ab}
	3,0 г/л МК	38	2,40±0,24 ^{cd}	3,13±0,27 ^c	0,002±0,0004 ^{ab}
	Опудривание МК	95	5,30±0,38 ^a	7,00±0,31 ^a	0,003±0,0004 ^a
Дисперсионный анализ					
Сорт (А)			Нет различий	Нет различий	Нет различий
Способ обработки (Б)			* $p = 0,000$	* $p = 0,000$	* $p = 0,000$
А × Б			Нет различий	Нет различий	Нет различий

Примечание. Данные представлены в виде $M \pm m$. Средние значения в столбцах, за которыми следуют одинаковые буквы, не имеют значимого отличия друг от друга в соответствии с тестом Дункана. Значения достоверны при $p \leq 0,05^*$.

Высота розетки увеличилась относительно контроля в 1,2–1,3 раза, количество листьев – в 1,6 раза, площадь листовой пластинки – в 1,2–2,2 раза, сухая масса побегов – в 2,6–3,7 раза ($p \leq 0,05$) в зависимости от генотипа соответственно (см. табл. 2).

Таблица 2

Влияние способов обработки механокомпозитом на рост и развитие надземной части *F. ananassa* на этапе укоренения и адаптации в условиях *ex vitro* (на 30-е сутки адаптации)

The influence of mechanocomposite treatments on the growth and development of the aboveground part of *F. ananassa* at the stage of rooting and *ex vitro* acclimation (on the 30th day of acclimation)

Сорт	Способ обработки	Высота розетки, см	Кол-во листьев, шт.	Площадь листовой пластинки, см ²	Сухая масса побегов, г
‘Альфа’	¼ МС (контроль)	3,17±0,93 ^b	5,67±0,88 ^b	1,35±0,20 ^c	0,016±0,008 ^c
	30 мг/л ИУК	4,20±0,20 ^b	6,90±0,31 ^a	1,50±0,08 ^c	0,031±0,003 ^b
	0,3 г/л МК	4,50±0,31 ^b	5,90±0,35 ^{ab}	1,80±0,09 ^{bc}	0,028±0,004 ^{bc}
	1,0 г/л МК	3,67±0,21 ^b	7,00±0,45 ^a	2,04±0,12 ^b	0,028±0,005 ^{bc}
	3,0 г/л МК	3,61±0,14 ^b	5,33±0,37 ^b	1,56±0,12 ^c	0,020±0,002 ^{bc}
	Опудривание МК	6,05±0,34 ^a	6,30±0,15 ^{ab}	2,91±0,16 ^a	0,059±0,003 ^a
‘Солнечная полянка’	¼ МС (контроль)	3,23±0,19 ^b	4,27±0,27 ^b	1,19±0,12 ^b	0,010±0,002 ^b
	30 мг/л ИУК	4,70±0,29 ^a	6,40±0,25 ^a	1,52±0,17 ^a	0,028±0,004 ^a
	0,3 г/л МК	4,40±0,27 ^a	6,80±0,24 ^a	1,30±0,12 ^b	0,021±0,003 ^a
	1,0 г/л МК	3,80±0,12 ^b	5,60±0,19 ^a	1,33±0,19 ^b	0,015±0,002 ^b
	3,0 г/л МК	3,83±0,19 ^b	6,13±0,27 ^a	1,26±0,15 ^b	0,012±0,003 ^b
	Опудривание МК	4,17±0,21 ^a	6,80±0,22 ^a	1,41±0,12 ^a	0,026±0,004 ^a
Дисперсионный анализ					
Сорт (А)		Нет различий	* $p = 0,005$	Нет различий	Нет различий
Способ обработки (Б)		* $p = 0,000$	* $p = 0,000$	* $p = 0,000$	* $p = 0,000$
А × Б		* $p = 0,007$	Нет различий	Нет различий	Нет различий

Примечание. Данные представлены в виде $M \pm m$. Средние значения в столбцах, за которыми следуют одинаковые буквы, не имеют значимого отличия друг от друга в соответствии с тестом Дункана. Значения достоверны при $p \leq 0,05^*$.

Установлены различия по содержанию основных фотосинтетических пигментов и их соотношениям при разных обработках, что указывает на физиологическую неоднородность регенерантов и, как следствие, влияет на рост и продуктивность фотосинтеза. Применение МК путем опудривания микропобегов и в вариантах с 30 мг/л ИУК достоверно увеличивали содержание хлорофиллов *a*, *b*, *a + b* относительно контроля в среднем до 20 % ($p \leq 0,05$). Содержание каротиноидов отмечено выше или на уровне контроля во всех вариантах. Каротиноиды предотвращают окисление хлорофилла молекулярным кислородом и регулируют степень адаптации растений к высокой интенсивности света. Увеличение содержания каротиноидов у регенерантов свидетельствует о

повышенных защитных свойствах их пигментного комплекса. Проведенный дисперсионный анализ подтвердил существенность различий, обнаруженных между факторами «сорт», «способ обработки» по содержанию хлорофиллов *a*, *b*, *a + b* ($p \leq 0,05$) (табл. 3). Увеличение отношения содержания хлорофиллов *a/b* является признаком высокой потенциальной интенсивности фотосинтеза. Результаты нашего эксперимента показали, что при всех обработках МК соотношение хлорофиллов было выше или на уровне контроля, что подтверждает оптимальное состояние ростовых параметров надземной части и корневой системы регенерантов и свидетельствует об интенсивных процессах фотосинтеза.

Таблица 3

Влияние способов обработки механокомпозитом на содержание фотосинтетических пигментов, мг/г сырого веса в листьях регенерантов *F. × ananassa* на этапе укоренения и адаптации в условиях *ex vitro* (на 30-е сутки адаптации)

The influence of mechanocomposite treatments on the content of photosynthetic pigments (mg/g wet weight) in leaves of *F. × ananassa* regenerants at the stage of rooting and *ex vitro* acclimation (on the 30th day of acclimation)

Сорт	Способ обработки	Хлорофилл				Каротиноиды	a + b/ каротиноиды
		a	b	a + b	a / b		
‘Солнечная полянка’	¼ МС (контроль)	0,87±0,06 ^b	1,22±0,05 ^{bc}	2,09±0,12 ^b	0,71±0,02 ^b	0,33±0,05 ^d	6,2±0,6 ^a
	30 мг/л ИУК	1,02±0,03 ^a	1,38±0,08 ^{ab}	2,39±0,10 ^a	0,74±0,02 ^a	0,50±0,03 ^a	4,9±0,5 ^b
	0,3 г/л МК	0,90±0,03 ^b	1,24±0,06 ^{bc}	2,14±0,003 ^b	0,73±0,01 ^{ab}	0,41±0,05 ^{bc}	5,4±0,6 ^b
	1,0 г/л МК	0,88±0,03 ^b	1,24±0,07 ^{bc}	2,12±0,01 ^b	0,73±0,01 ^{ab}	0,38±0,03 ^{cd}	5,6±0,3 ^b
	3,0 г/л МК	0,83±0,03 ^b	1,13±0,01 ^c	1,97±0,01 ^b	0,74±0,003 ^a	0,37±0,01 ^{cd}	5,4±0,1 ^b
	Опудривание МК	1,03±0,12 ^a	1,41±0,16 ^a	2,44±0,28 ^a	0,71±0,01 ^b	0,47±0,01 ^{ab}	5,2±0,4 ^b
‘Альфа’	¼ МС (контроль)	0,69±0,01 ^b	1,09±0,02 ^c	1,78±0,03 ^c	0,64±0,003 ^c	0,30±0,04 ^b	6,1±0,6 ^a
	30 мг/л ИУК	0,88±0,10 ^a	1,39±0,14 ^a	2,26±0,24 ^a	0,63±0,01 ^c	0,36±0,01 ^{ab}	6,3±0,5 ^a
	0,3 г/л МК	0,82±0,07 ^{ab}	1,14±0,11 ^{bc}	1,95±0,17 ^{abc}	0,71±0,01 ^b	0,36±0,03 ^{ab}	5,4±0,1 ^{bc}
	1,0 г/л МК	0,80±0,06 ^{ab}	1,08±0,08 ^c	1,88±0,15 ^{bc}	0,72±0,01 ^b	0,36±0,03 ^{ab}	5,2±0,2 ^c
	3,0 г/л МК	0,79±0,05 ^{ab}	0,97±0,02 ^c	1,77±0,01 ^c	0,81±0,03 ^a	0,36±0,02 ^{ab}	4,9±0,1 ^c
	Опудривание МК	0,91±0,12 ^a	1,28±0,15 ^{ab}	2,19±0,27 ^{ab}	0,71±0,02 ^b	0,37±0,05 ^a	5,9±0,1 ^{ab}
Дисперсионный анализ							
Сорт (А)		*p = 0,000	*p = 0,000	*p = 0,000	*p = 0,000	*p = 0,000	Нет различий
Способ обработки (Б)		*p = 0,000	*p = 0,000	*p = 0,000	*p = 0,000	*p = 0,001	*p = 0,000
А × Б		*p = 0,002	*p = 0,025	Нет различий	*p = 0,000	*p = 0,003	*p = 0,000

Примечание. Данные представлены в виде $M \pm m$. Средние значения в столбцах, за которыми следуют одинаковые буквы, не имеют значимого отличия друг от друга в соответствии с тестом Дункана. Значения достоверны при $p \leq 0,05^*$.

Проведенный в конце периода адаптации морфометрический анализ выявил увеличение числа устьиц по сравнению с контролем до 40 % ($p \leq 0,05$) у регенерантов сорта ‘Альфа’, обработанных МК путем опудривания, что теоретически является гарантом успешной адаптации растений. Обработки растений сорта ‘Альфа’ МК в концентрациях 1,0 и 3,0 мг/л привели к уменьшению

размеров устьичных щелей. У сорта ‘Солнечная полянка’ все обработки МК способствовали уменьшению размера устьичных щелей (табл. 4). Такие структурные изменения способствуют снижению транспирации и нормализации водного режима в целом, в том числе и при адаптации к условиям *ex vitro*.

Таблица 4

Количество и размер устьиц абаксиальной стороны листа у регенерантов *F. × ananassa* под действием механокомпозиата в условиях *ex vitro* (на 30-е сутки адаптации)
 The number and size of stomata on the abaxial side of the leaf in *F. × ananassa* regenerants under the influence of mechanocomposite in *ex vitro* conditions (on the 30th day of acclimation)

Сорт	Способ обработки	Число устьиц на 1 мм ²	Диаметр замыкающих клеток устьиц, мкм		Полярный диаметр/ Экваториальный диаметр
			Полярный	Экваториальный	
‘Альфа’	¼ МС (контроль)	211,47±8,9 ^c	21,88±0,15 ^b	8,33±0,09 ^a	2,71±0,03 ^c
	30 мг/л ИУК	188,07±14,5 ^c	20,08±0,17 ^c	8,34±0,08 ^a	2,48±0,03 ^c
	0,3 г/л МК	265,11±9,7 ^b	19,93±0,13 ^c	8,01±0,10 ^c	2,62±0,03 ^d
	1,0 г/л МК	143,13±9,4 ^d	18,49±0,15 ^d	6,71±0,07 ^d	2,84±0,04 ^b
	3,0 г/л МК	213,28±5,2 ^c	21,92±0,15 ^b	8,22±0,08 ^{ab}	2,73±0,03 ^c
	Опудривание МК	303,36±8,8 ^a	23,75±0,15 ^a	8,13±0,09 ^{bc}	3,06±0,04 ^a
‘Солнечная полянка’	¼ МС (контроль)	272,74±11,8 ^a	19,16±0,22 ^d	9,30±0,10 ^a	2,14±0,03 ^d
	30 мг/л ИУК	211,08±4,33 ^{bc}	21,92±0,11 ^c	8,63±0,18 ^b	2,72±0,03 ^b
	0,3 г/л МК	239,93±7,5 ^b	18,86±0,17 ^e	7,62±0,08 ^d	2,58±0,03 ^c
	1,0 г/л МК	206,51±10,0 ^d	19,42±0,15 ^d	7,82±0,08 ^c	2,54±0,03 ^c
	3,0 г/л МК	222,28±7,0 ^{bc}	22,41±0,16 ^b	7,69±0,07 ^{cd}	2,98±0,03 ^a
	Опудривание МК	281,03±16,0 ^a	23,42±0,13 ^a	7,41±0,07 ^c	3,29±0,04 ^a
Дисперсионный анализ					
Сорт (А)		* <i>p</i> = 0,000	Нет различий	* <i>p</i> = 0,000	* <i>p</i> = 0,000
Способ обработки (Б)		Нет различий	* <i>p</i> = 0,029	* <i>p</i> = 0,000	* <i>p</i> = 0,000
А × Б		* <i>p</i> = 0,000	* <i>p</i> = 0,000	* <i>p</i> = 0,000	* <i>p</i> = 0,000

Примечание. Данные представлены в виде $M \pm m$. Средние значения в столбцах, за которыми следуют одинаковые буквы, не имеют значимого отличия друг от друга в соответствии с тестом Дункана. Значения достоверны при $p \leq 0,05^*$.

При изучении микроструктуры верхней и нижней эпидермы листьев контрольных и опытных растений отмечены изменения в накоплении эпикутикулярных восков (рис. 1, 2). Определено, что наиболее интенсивным образованием восков характеризовалась нижняя эпидерма листьев регенерантов, обработанных 30 мг/л ИУК (см. рис. 1, *з*; рис. 2, *з*) и МК путем опудривания (см. рис. 1, *е*; рис. 2, *е*).

В результате ИСП-МС анализа определено, что побеги растений-регенерантов, выращенные в условиях *ex vitro* под действием различных концентраций МК, аккумулируют Si (табл. 5).

Определены колебания в количественном содержании элемента в зависимости от концентрации МК. Минимальное содержание было в контроле (1330 мкг/г у сорта ‘Солнечная полянка’ и 2020 мкг/г у сорта ‘Альфа’) и при поливе раствором МК в концентрации 0,3 г/л (1360 у сорта ‘Альфа’ и 1610 мкг/г у сорта ‘Солнечная полянка’), максимальное – при поливе 3,0 г/л МК (3500 мкг/г у сорта ‘Альфа’ и 3620 мкг/г ‘Солнечная полянка’). При опудривании основания микропобегов МК содержание Si составило 3200 мкг/г у сорта ‘Альфа’ и 2540 мкг/г у сорта ‘Солнечная полянка’.

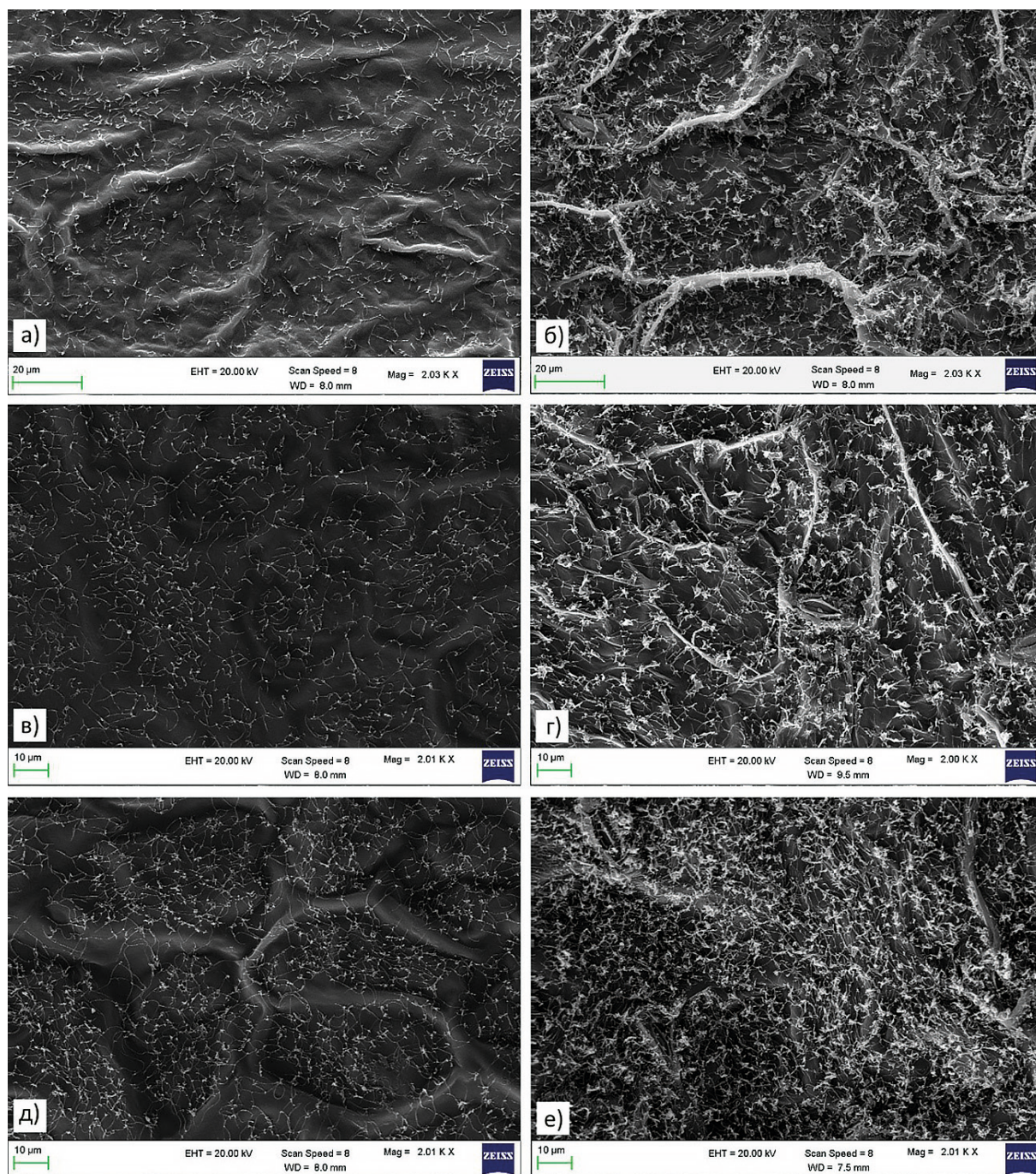


Рис. 1. Сравнение структуры верхней и нижней эпидермы листовых пластинок регенерантов *F. x ananassa* ('Альфа') на 30-е сутки адаптации *ex vitro*: а, б – полив раствором 1/4 МС (контроль); в, г – после импульсной обработки 30 мг/л ИУК; д, е – после обработки МК путем опудривания микропобегов

Comparison of the structure of the upper and lower epidermis of leaf blades of *F. x ananassa* ('Alpha') regenerants on the 30th day of *ex vitro* acclimation: а, б – watering with a 1/4 MS solution (control); в, г – after pulse treatment with 30 mg/l IAA; д, е – after treatment with MC by dry dipping microshoots

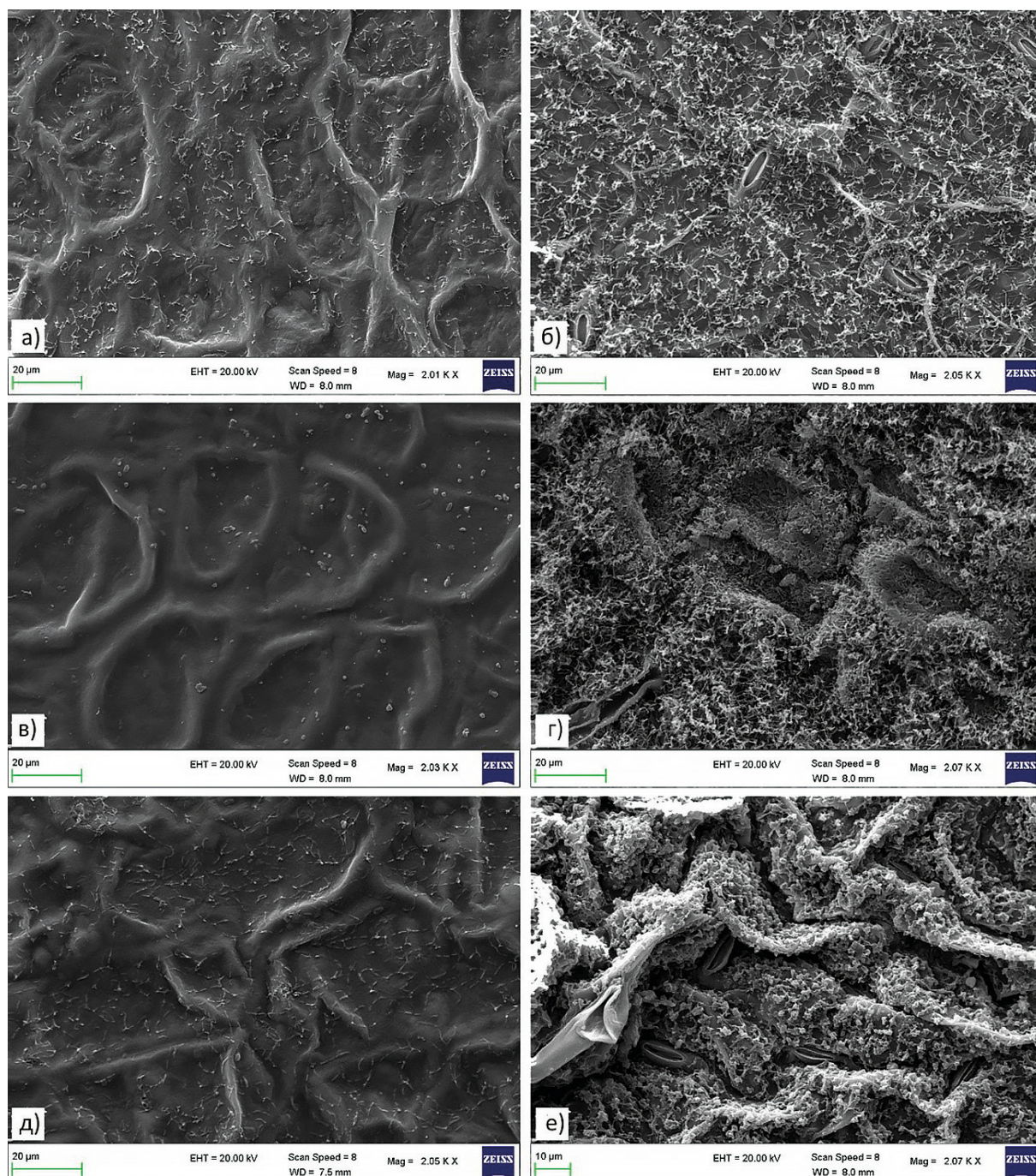


Рис. 2. Сравнение структуры верхней и нижней эпидермы листовых пластинок регенерантов *F. x ananassa* ('Солнечная полянка') на 30-е сутки адаптации *ex vitro*: а, б – полив раствором 1/4 МС (контроль); в, г – после импульсной обработки 30 мг/л ИУК; д, е – после обработки МК путем опудривания микропобегов

Comparison of the structure of the upper and lower epidermis of leaf blades of *F. x ananassa* regenerants ('Solnechnaya Polyanka') on the 30th day of *ex vitro* acclimation: а, б – watering with a 1/4 MS solution (control); в, г – after pulse treatment with 30 mg/l IAA; д, е – after treatment with MC by dry dipping microshoots

Содержание кремния (Si) в наземной части регенерантов *F. × ananassa* под действием механокомпозита в условиях *ex vitro* (на 30-е сутки адаптации)

Silicon (Si) content in the aboveground part of *F. × ananassa* regenerants under the influence of a mechanocomposite in *ex vitro* conditions (on the 30th day of acclimation)

Способ обработки	Концентрация Si, мкг/г	
	‘Альфа’	‘Солнечная полянка’
¼ МС (контроль)	2020	1330
0,3 г/л МК	1360	1610
1,0 г/л МК	2890	2170
3,0 г/л МК	3500	3620
Опудривание МК	3200	2540

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Дефицит влаги – одна из проблем, которая возникает при адаптации растений, полученных *in vitro*, к условиям *ex vitro* [20–22]. Это может привести к гибели растений из-за водного стресса, обезвоживания тканей и разрушения клеточных мембран. Нами показан ростостимулирующий эффект МК на основе хелатов кремния на ризогенез, развитие корневой и надземной системы растений земляники садовой. Способ опудривания базальной части микропобегов оказался существенно более эффективным, чем полив растворами МК, а также применение синтетического ауксина ИУК. Такой эффект, вероятно, связан не только с оптимальной локализацией действующего вещества в зоне инициирования ризогенеза, но и с постепенным высвобождением биодоступных форм Si, способствующим пролонгированному физиологическому действию. Обработка регенерантов земляники МК привела к существенному увеличению концентрации хлорофиллов в листьях, указывая на повышение фотосинтетической активности. Результаты нашего исследования согласуются с литературными данными, показывающими, что добавление кремнийсодержащих соединений поддерживает уровень хлорофилла у растений в условиях дефицита влаги [23–27]. S.A. Asmar с соавторами предположили, что поглощение Si регенерантами и его накопление в листьях показывает, что этот элемент может быть непосредственно связан с фотосинтетическими тканями и, следовательно, быть полезен для многих физиологических процессов растений и адаптации к условиям *ex vitro* [28]. Увеличение содержания хлорофиллов *a* и *b* под действием МК в нашем эксперименте на фоне увеличения содержания Si в наземной части регенерантов может быть связано с боль-

шей плотностью устьиц, которые обеспечивают поглощение CO₂, положительно влияя на интенсивность фотосинтеза. Более высокая доля хлорофилла *b* повышает светособирающую способность листьев [29], а также увеличивает фотосинтетический потенциал листьев и способствует увеличению ростовых параметров корневой и надземной системы растений. Известно, что каротиноиды передают дополнительную энергию на хлорофиллы, выполняя светособирающую функцию, а также отводят избыточную энергию от хлорофиллов, выполняя светозащитную функцию. Увеличение содержания каротиноидов у регенерантов *F. ananassa* свидетельствует о повышенных защитных свойствах их пигментного комплекса и увеличении адаптационных способностей растений *ex vitro* под действием МК.

Важные изменения в период адаптации микрорастений земляники садовой связаны с отложением эпикутикулярных восков под действием МК. Результаты согласуются с представлениями о том, что Si способствует удержанию воды в листьях и снижению потерь влаги (через увеличение плотности воскового слоя), что облегчает переносимость водного и других стрессов. Добавление Si увеличивало отложение эпикутикулярного воска на поверхности листьев банана [28] и земляники [30]. Индуцированное Si отложение эпикутикулярного воска на листьях пшеницы увеличивало ее устойчивость в условиях засухи [31]. Поскольку мощный восковой налет защищает растения от перегрева, потери влаги, полученные нами сведения могут учитываться при адаптации микрорастений земляники садовой к условиям *ex vitro*.

У растений существует механизм, обеспечивающий перераспределение Si по растительным тканям [32]. Этот вывод подтверждают исследования J. F. Ма и N. Yamaji [33], в которых показано,

что перенос Si в растениях риса осуществляют специальные транспортные белки. В ДНК обнаружен и определен фрагмент, отвечающий за синтез этих белков. Предполагают, что и у других растений имеется аналогичный механизм, отвечающий за обеспечение растения кремнием и его транспорт [33]. При этом перенос Si идет в ткани, которые в большей степени подвержены стрессу [34]. Y. Zhu и H. Gong [35] показали, что большее накопление Si характерно для растений в условиях солевого стресса. Добавление Si в питательную среду при культивировании клеточной культуры *Picea abies* снижало токсические эффекты Al за счет уменьшения концентрации свободного Al в клеточной стенке [36]. В суспензионной культуре *O. sativa* Si накапливался в клеточной стенке в форме кремнийорганического соединения, которое связывало Cd, тем самым ингибируя его поглощение [37]. Кроме того, определено, что поглощение и транспорт Si зависят от экзогенного содержания Si, вида растений [38] и поглотительной способности растений [6]. Наше исследование подтверждает способность Si аккумулироваться в тканях регенерантов земляники садовой, а также показывает, что количество Si в тканях микрорастений коррелирует с концентрацией МК.

Таким образом, исследования по применению МК в условиях *ex vitro* свидетельствуют о том, что механизмы действия Si еще недостаточно изучены и представляют не только научный, но и практический интерес, поскольку могут значительно повысить адаптационные способности растений и способствовать разработке принципиально новых технологий размножения растений.

ВЫВОДЫ

1. Применение механокомпозиата путем опудривания базальной части микропобегов индуцировало ризогенез, обеспечивало достоверно значимое увеличение длины корней, их коли-

чества, сухой массы по сравнению с контролем у растений-регенерантов *F. ×ananassa* на этапе укоренения и адаптации *ex vitro* на уровне с экзогенным ауксином. Увеличение поглотительной поверхности корневой системы стимулировало рост надземной части растений, что выражалось в увеличении высоты розетки, количества и площади листьев, сухой массы микропобегов и сопровождалось структурными (увеличением количества устьиц, интенсивным накоплением эпикутикулярных восков) и физиологическими изменениями у регенерантов (увеличением содержания хлорофиллов *a*, *b*, *a + b*, каротиноидов), что способствовало увеличению их адаптационных способностей *ex vitro*.

2. Морфологические, физиологические и структурные изменения были сопряжены с аккумуляцией Si в наземной части регенерантов под действием механокомпозиата.

3. Полученные результаты позволяют рекомендовать механокомпозиат как ростостимулирующий препарат для использования на этапе укоренения и адаптации микрорастений *F. ×ananassa* к нестерильным условиям, исключая стадию укоренения регенерантов *in vitro*, что существенно удешевит и сократит технологический цикл при получении оздоровленного посадочного материала. Разработанная технология позволит значительно повысить эффективность производства посадочного материала земляники садовой.

Благодарность. Для проведения исследований использованы материалы биоресурсной научной коллекции Центрального сибирского ботанического сада СО РАН «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте», УНУ № USU 440534.

Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН № АААА-А21-121011290025-2 и Института химии твердого тела и механохимии СО РАН № 121032500067-9.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Plants in vitro* propagation with its applications in food, pharmaceuticals and cosmetic industries; current scenario and future approaches / A. Hasnain, S.A.H. Naqvi, S.I. Ayesha [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1009395. – DOI: 10.3389/fpls.2022.1009395.
2. Hazarika B. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants // *Scientia Horticulturae*. – 2006. – Vol. 108 (2). – P. 105–120. – DOI: 10.1016/J.SCIENTA.2006.01.038.
3. *Strategies* for successful acclimatization and hardening of *in vitro* regenerated plants: Challenges and innovations in micropropagation techniques / N. Sharma, N. Kumar, J. James [et al.] // *Plant Science Today*. – 2023. – Vol. 10 (sp2). – P. 90–97. – DOI: 10.14719/pst.2376.

4. Ma J.F. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses // *Soil Science and Plant Nutrition*. – 2004. – Vol. 50. – P. 11–18. – DOI: 10.1080/00380768.2004.10408447.
5. Currie H.A., Perry C.C. Silica in plants: biological, biochemical and chemical studies // *Annals of Botany*. – 2007. – Vol. 100 (7). – P. 1383–1389. – DOI: 10.1093/aob/mcm247.
6. Prado R.d.M., Verma K.K., Etesami H. Editorial: New advances of silicon in the soil-plant system // *Frontiers in Agronomy*. – 2024. – Vol. 6. – P. 1535125. – DOI: 10.3389/fagro.2024.1535125.
7. The role of silicon in plant biology: a paradigm shift in research approach / A. Frew, L.A. Weston, O.L. Reynolds [et al.] // *Annals of Botany*. – 2018. – Vol. 121. – P. 1265–1273. – DOI: 10.1093/aob/mcy009.
8. Epstein E. Silicon: its manifold roles in plants // *Annals of Applied Biology*. – 2009. – Vol. 155(2). – P. 155–160. – DOI: 10.1111/j.1744-7348.2009.00343.x.
9. Sarkar M.M., Mathur P., Roy S. Silicon and nano-silicon: new frontiers of biostimulants for plant growth and stress amelioration // *Silicon and nano-silicon in environmental stress management and crop quality improvement*. – Academic Press. – 2022. – P. 17–36. – DOI: 10.1016/B978-0-323-91225-9.00010-8.
10. Перспективы использования кремниевых препаратов в сельском хозяйстве (обзор научной литературы) / В.В. Матыченков, Е.А. Бочарникова, Г.В. Пироговская [и др.] // *Почвоведение и агрохимия*. – 2022. – Т. 68, № 1. – С. 219–234. – DOI: 10.47612/0130-8475-2022-1(68)-219-234.
11. Tubana B.S., Babu T., Datnoff L.E. A review of silicon in soils and plants and its role in US agriculture: history and future perspectives // *Soil Science*. – 2016. – Vol. 181 (9/10). – P. 393–411. – DOI: 10.1097/SS.000000000000179.
12. Lomovsky O.I., Lomovskiy I.O., Orlov D.V. Mechanochemical solid acid/base reactions for obtaining biologically active preparations and extracting plant materials // *Green Chemistry Letters and Reviews*. – 2017. – Vol. 10 (4). – P. 171–185. – DOI: 10.1080/17518253.2017.1339832.
13. Патент № 2438344 C1. РФ. Кормовая мука из рисовой лузги и зеленого чая для сельскохозяйственных и непродуктивных животных и способ ее получения / Е.Г. Шаполова, О.И. Ломовский. № 2010137971/13; заявл. 13.09.2010; опубл. 10.01.2012. – 12 с.
14. Scaling of the mechano-chemical process of production of silicon chelates from plant raw materials / E.G. Trofimova, E.M. Podgorbunskikh, T.S. Skripkina [et al.] // *Bulgarian Chemical Communications*. – 2018. – Vol. 50. – P. 45–48.
15. Murashige T., Skoog F.A. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. – 1962. – Vol. 15 (13). – P. 473–497.
16. Полевой В.В., Максимов Г.Б. Методы биохимического анализа растений. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1978. – 192 с.
17. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 420 с.
18. Определение основных и примесных элементов в силикатных породах методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой после сплавления с LiBo2 / И.В. Николаева, С.В. Палесский, О.С. Чирко [и др.] // *Аналитика и контроль*. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 1–9.
19. Применение ИСП-МС для элементного анализа в различных областях научных исследований / И.В. Николаева, С.В. Палесский, Д.В. Семенова [и др.] // *Аналитика Сибири и Дальнего Востока: мат-лы X Всерос. науч. конф. с междунар. участием*. – Барнаул: Изд-во АлтГУ, 2016. – С. 59.
20. Pospisilova J. Effect of air humidity on the development of functional stomatal apparatus // *Biologia Plantarum*. – 1996. – Vol. 38 (2). – P. 197–204.
21. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions / J. Pospíšilová, I. Tichá, P. Kadleček [et al.] // *Biologia Plantarum*. – 1999. – Vol. 42 (4). – P. 481–497. – DOI: 10.1023/A:1002688208758.
22. Красинская Т.А., Кухарчик Н.В., Кастрицкая М.С. Адаптационный процесс растений-регенерантов, выращенных в культуре *in vitro*, в условиях *ex vitro* и способы его улучшения // *Плодоводство*. – 2010. – Т. 22, № 1 – С. 309–320.
23. Application of silicon enhanced drought tolerance in *Sorghum bicolor* / T. Hattori, S. Inanaga, H. Araki [et al.] // *Physiologia Plantarum*. – 2005. – Vol. 123. – P. 459–466. – DOI: 10.1111/J.1399-3054.2005.00481.X.
24. Li Q.F., Ma C.C., Shang Q.L. Effects of silicon on photosynthesis and antioxidative enzymes of maize under drought stress // *Chinese Journal of Applied Ecology*. – 2007. – Vol. 18 (3). – P. 531–536.
25. Protective action of silicon on relations and photosynthetic pigments in pepper plants induced to water deficit / A.K.S. Lobato, G.K. Coimbra, M.A.M. Neto [et al.] // *Research Journal of Biological Sciences*. – 2009. – Vol. 4. – P. 617–623.
26. Al-Mayahi A.M.W. Effect of silicon (Si) application on *Phoenix dactylifera* L. growth under drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) *in vitro* // *American Journal of Plant Sciences*. – 2016. – Vol. 7 (13). – P. 1711–1728. – DOI: 10.4236/ajps.2016.713161.
27. Silicon-mediated priming induces acclimation to mild water-deficit stress by altering physio-biochemical attributes in wheat plants / A. Hameed, T. Farooq, A. Hameed [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2021. – Vol. 12. – P. 625541. – DOI: 10.3389/fpls.2021.625541.

28. *Morphophysiological characteristics of acclimatized 'Grande Naine' banana plants in response to in vitro use of silicon* / S.A. Asmar, M. Pasqual, A.G. de Araujo [et al.] // *Semina: Ciências Agrárias*. – 2013. – Vol. 34. – P. 73–81.
29. *Morpho-physiological changes in Billbergia zebrina due to the use of silicates in vitro* / A.D. Martins, J.P.R. Martins, L.A. Batista [et al.] // *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. – 2018. – Vol. 90 (4). – P. 3449–3462. – DOI: 10.1590/0001-3765201820170518.
30. *Anatomical characteristics of the strawberry seedlings micropropagated using different sources of silicon* / F.T. Braga, C.F. Nunes, A.C. Favero [et al.] // *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. – 2009. – Vol. 44. – P. 128–132.
31. *Improvement of wheat (Triticum aestivum) drought tolerance by seed priming with silicon* / M. Ahmed, U. Qadeer, Z.I. Ahmed [et al.] // *Archives of Agronomy and Soil Science*. – 2016. – Vol. 62. – P. 299–315. – DOI: 10.1080/03650340.2015.1048235.
32. *Genome wide association studies and candidate gene mining for understanding the genetic basis of straw silica content in a set of Oryza nivara (Sharma et Shastry) accessions* / R.S.R. Gowda, S. Sharma, R.S. Gill [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1174266. – DOI: 10.3389/fpls.2023.1174266.
33. *Ma J.F., Yamaji N. Silicon uptake and accumulation in higher plants* // *Trends in Plant Science*. – 2006. – Vol. 11 (8). – P. 392–397. – DOI: 10.1016/j.tplants.2006.06.007.
34. *Hu J., Li Y., Jeong B.R. Putative silicon transporters and effect of temperature stresses and silicon supplementation on their expressions and tissue silicon content in Poinsettia* // *Plants*. – 2020. – Vol. 9 (5). – P. 569. – DOI: 10.3390/plants9050569.
35. *Zhu Y., Gong H. Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants* // *Agronomy for Sustainable Development*. – 2014. – Vol. 34. – P. 455–472. – DOI: 10.1007/s13593-013-0194-1.
36. *Prabagar S., Hodson M.J., Evans D.E. Silicon amelioration of aluminium toxicity and cell death in suspension cultures of Norway spruce (Picea abies (L.) Karst.)* // *Environmental and Experimental Botany*. – 2011. – Vol. 70. – P. 266–276. – DOI: 10.1016/j.envexpbot.2010.10.001.
37. *Mahbod S., Mohamed M.H., Parisa A. Application of silicon in plant tissue culture* // *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. – 2016. – Vol. 52. – P. 226–232. – DOI: 10.1007/s11627-016-9757-6.
38. *Importance of silicon and mechanisms of biosilica formation in plants* / M. Sahebi, M.M. Hanafi, A.S.N. Akmar [et al.] // *BioMed Research International*. – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–16. – DOI: 10.1155/2015/396010.

REFERENCES

1. Hasnain A., Naqvi S.A.H., Ayesha S.I. [et al.], *Plants in vitro propagation with its applications in food, pharmaceuticals and cosmetic industries; current scenario and future approaches*, *Frontiers in Plant Science*, 2022, Vol. 13, pp. 1009395, DOI: 10.3389/fpls.2022.1009395.
2. Hazarika B., *Morpho-physiological disorders in in vitro culture of plants*, *Scientia Horticulturae*, 2006, Vol. 108, No. 2, pp. 105–120, DOI: 10.1016/J.SCI.2006.01.038.
3. Sharma N., Kumar N., James J. [et al.], *Strategies for successful acclimatization and hardening of in vitro regenerated plants: Challenges and innovations in micropropagation techniques*, *Plant Science Today*, 2023, Vol. 10, No. (sp2), pp. 90–97, DOI: 10.14719/pst.2376.
4. Ma J.F., *Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses*, *Soil Science and Plant Nutrition*, 2004, Vol. 50, pp. 11–18, DOI: 10.1080/00380768.2004.10408447.
5. Currie H.A., Perry C.C., *Silica in plants: biological, biochemical and chemical studies*, *Annals of Botany*, 2007, Vol. 100, No. 7, pp. 1383–1389, DOI: 10.1093/aob/mcm247.
6. Liang Y., Sun W., Zhu Y.-G. [et al.], *Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review*, *Environmental Pollution*, 2007, Vol. 147, No. 2, pp. 422–428, DOI: 10.1016/j.envpol.2006.06.008.
7. Frew A., Weston L.A., Reynolds O.L. [et al.], *The role of silicon in plant biology: a paradigm shift in research approach*, *Annals of Botany*, 2018, Vol. 121, pp. 1265–1273, DOI: 10.1093/aob/mcy009.
8. Epstein E., *Silicon: its manifold roles in plants*, *Annals of Applied Biology*, 2009, Vol. 155, No. 2, pp. 155–160, DOI: 10.1111/j.1744-7348.2009.00343.x.
9. Sarkar M.M., Mathur P., Roy S., *Silicon and nano-silicon: new frontiers of biostimulants for plant growth and stress amelioration*, *Silicon and nano-silicon in environmental stress management and crop quality improvement*, *Academic Press*, 2022, pp. 17–36, DOI: 10.1016/B978-0-323-91225-9.00010-8.
10. Matychenkov V.V., Bocharnikova E.A., Pirogovskaja G.V. [et al.], *Pochvovedenie i agrohimija*, 2022, Vol. 68, No. 1, pp. 219–234, DOI: 10.47612/0130-8475-2022-1(68)-219-234. (In Russ.)
11. Tubana B.S., Babu T., Datnoff L.E., *A review of silicon in soils and plants and its role in US agriculture: history and future perspectives*, *Soil Science*, 2016, Vol. 181, No. 9/10, pp. 393–411, DOI: 10.1097/SS.0000000000000179.
12. Lomovsky O.I., Lomovskiy I.O., Orlov D.V., *Mechanochemical solid acid/base reactions for obtaining biologically active preparations and extracting plant materials*, *Green Chemistry Letters and Reviews*, 2017, Vol. 10, No. 4, pp. 171–185, DOI: 10.1080/17518253.2017.1339832.

13. Patent № 2438344 C1 RF, Kormovaja muka iz risovoj luzgi i zelenogo chaja dlja sel'skohozjajstvennyh i neproduktivnyh zhivotnyh i sposob ee poluchenija, Shapolova E.G., Lomovskij O.I., No. 2010137971/13; zajavl. 13.09.2010; opubl. 10.01.2012, 12 p. (In Russ.)
14. Trofimova E.G., Podgorbunskikh E.M., Skripkina T.S. [et al.], Scaling of the mechano-chemical process of production of silicon chelates from plant raw materials, *Bulgarian Chemical Communications*, 2018, Vol. 50, pp. 45–48.
15. Murashige T., Skoog F.A., Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiologia Plantarum*, 1962, Vol. 15, No. 13, pp. 473–497.
16. Polevoj V.V., Maksimov G.B., *Metody biohimicheskogo analiza rastenij* (Methods of biochemical analysis of plants), Leningrad: Izd-vo LGU, 1978, 192 p. (In Russ.)
17. Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Jarosh N.P., *Metody biohimicheskogo issledovanija rastenij* (Methods of biochemical research of plants), Leningrad: Agropromizdat, 1987, 420 p. (In Russ.)
18. Nikolaeva I.V., Paleskij S.V., Chirko O.S. [et al.], *Analitika i kontrol'*, 2012, Vol. 16, No. 2, pp. 1–9. (In Russ.)
19. Nikolaeva I.V., Paleskij S.V., Semenova D.V. [et al.], *Analitika Sibiri i Dal'nego Vostoka* (Analytics of Siberia and the Far East), Abstract of the Conference Title, Barnaul: Izd-vo AltGU, 2016, p. 59. (In Russ.)
20. Pospisilova J., Effect of air humidity on the development of functional stomatal apparatus, *Biologia Plantarum*, 1996, Vol. 38, No. 2, pp. 197–204.
21. Pospíšilová J., Tichá I., Kadleček P. [et al.], Acclimatization of micropropagated plants to ex vitro conditions, *Biologia Plantarum*, 1999, Vol. 42, No. 4, pp. 481–497, DOI: 10.1023/A:1002688208758.
22. Krasinskaja T.A., Kuharchik N.V., Kastrickaja M.S., *Plodovodstvo*, 2010, Vol. 22, No. 1, pp. 309–320. (In Russ.)
23. Hattori T., Inanaga S., Araki H. [et al.], Application of silicon enhanced drought tolerance in *Sorghum bicolor*, *Physiologia Plantarum*, 2005, Vol. 123, pp. 459–466, DOI: 10.1111/J.1399-3054.2005.00481.X.
24. Li Q.F., Ma C.C., Shang Q.L., Effects of silicon on photosynthesis and antioxidative enzymes of maize under drought stress, *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, Vol. 18, No. 3, pp. 531–536.
25. Lobato A.K.S., Coimbra G.K., Neto M.A.M. [et al.], Protective action of silicon on relations and photosynthetic pigments in pepper plants induced to water deficit, *Research Journal of Biological Sciences*, 2009, Vol. 4, pp. 617–623.
26. Al-Mayahi A.M.W., Effect of silicon (Si) application on *Phoenix dactylifera* L. growth under drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) *in vitro*, *American Journal of Plant Sciences*, 2016, Vol. 7, No. 13, pp. 1711–1728, DOI: 10.4236/ajps.2016.713161.
27. Hameed A., Farooq T., Hameed A. [et al.], Silicon-mediated priming induces acclimation to mild water-deficit stress by altering physio-biochemical attributes in wheat plants, *Frontiers in Plant Science*, 2021, Vol. 12, pp. 625541, DOI: 10.3389/fpls.2021.625541.
28. Asmar S.A., Pasqual M., de Araujo A.G. [et al.], Morphophysiological characteristics of acclimatized 'Grande Naine' banana plants in response to *in vitro* use of silicon, *Semina: Ciências Agrárias*, 2013, Vol. 34, pp. 73–81.
29. Martins A.D., Martins J.P.R., Batista L.A. [et al.] Morpho-physiological changes in *Billbergia zebrina* due to the use of silicates *in vitro*, *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2018, Vol. 90, No. 4, pp. 3449–3462, DOI: 10.1590/0001-3765201820170518.
30. Braga F.T., Nunes C.F., Favero A.C. [et al.], Anatomical characteristics of the strawberry seedlings micropropagated using different sources of silicon, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2009, Vol. 44, pp. 128–132.
31. Ahmed M., Qadeer U., Ahmed Z.I. [et al.], Improvement of wheat (*Triticum aestivum*) drought tolerance by seed priming with silicon, *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2016, Vol. 62, pp. 299–315, DOI: 10.1080/03650340.2015.1048235.
32. Gowda R.S.R., Sharma S., Gill R.S. [et al.], Genome wide association studies and candidate gene mining for understanding the genetic basis of straw silica content in a set of *Oryza nivara* (Sharma et Shastri) accessions, *Frontiers in Plant Science*, 2023, Vol. 14, pp. 1174266, DOI: 10.3389/fpls.2023.1174266.
33. Ma J.F., Yamaji N., Silicon uptake and accumulation in higher plants, *Trends in Plant Science*, 2006, Vol. 11, No. 8, pp. 392–397, DOI: 10.1016/j.tplants.2006.06.007.
34. Hu J., Li Y., Jeong B.R., Putative silicon transporters and effect of temperature stresses and silicon supplementation on their expressions and tissue silicon content in *Poinsettia*, *Plants*, 2020, Vol. 9, No 5, pp. 569, DOI: 10.3390/plants9050569.
35. Zhu Y., Gong H., Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants, *Agronomy for Sustainable Development*, 2014, Vol. 34, pp. 455–472, DOI: 10.1007/s13593-013-0194-1.
36. Prabagar S., Hodson M.J., Evans D.E., Silicon amelioration of aluminium toxicity and cell death in suspension cultures of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.), *Environmental and Experimental Botany*, 2011, Vol. 70, pp. 266–276, DOI: 10.1016/j.envexpbot.2010.10.001.
37. Mahbod S., Mohamed M. H., Parisa A., Application of silicon in plant tissue culture, *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 2016, Vol. 52, pp. 226–232, DOI: 10.1007/s11627-016-9757-6.
38. Sahebi M., Hanafi M.M., Akmar A.S.N. [et al.], Importance of silicon and mechanisms of biosilica formation in plants, *BioMed Research International*, 2015, Vol. 2015, pp. 1–16, DOI: 10.1155/2015/396010.

Информация об авторах:

Е.В. Амброс, кандидат биологических наук, зав. лабораторией

Е.Г. Трофимова, кандидат химических наук, научный сотрудник

Contribution of the authors:

E.V. Ambros, PhD in Biology, Head of Laboratory

E.G. Trofimova, PhD in Chemistry, Research Associate

Вклад авторов:

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.