

Научная статья

УДК 634.73

doi: 10.34655/bgsha.2021.65.4.019

ВЛИЯНИЕ РОСТОРЕГУЛИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ГИБРИДНЫХ ФОРМ ГОЛУБИКИ УЗКОЛИСТНОЙ *IN VITRO*

С.С. Макаров¹, Г.В. Тяк², И.Б. Кузнецова³, А.И. Чудецкий⁴, Е.И. Куликова⁵

^{1,2,4}Филиал ФБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства» «Центрально-европейская лесная опытная станция», Кострома, Россия

³Костромская государственная сельскохозяйственная академия, п. Караваево, Костромская обл., Россия

⁵Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина, Вологда, Россия

¹makarov_serg44@mail.ru

²ce-los-np@mail.ru

³sonnereiser@yandex.ru

⁴a.chudetsky@mail.ru

⁵elena-kulikova@list.ru

Аннотация. В статье приведены результаты исследований по изучению влияния регуляторов роста на органогенез голубики узколистной при клональном микроразмножении. Проблемы истощения природных запасов ягодных растений и рекультивации нарушенных нелесных земель в России являются предпосылкой для создания промышленных плантаций. В последнее время возрастает спрос на посадочный материал и ягодную продукцию голубики североамериканских сортов. Использование метода клонального микроразмножения наиболее целесообразно для быстрого получения высококачественного сортового посадочного материала в промышленных масштабах. Для повышения устойчивости к патогенной микрофлоре и неблагоприятным факторам среды перспективно применение 24-эпибрассинолида и других адаптогенных веществ. На этапе «собственно микроразмножение» изучалось влияние концентрации цитокинина 2-иР и препарата Эпин-Экстра в питательной среде WPM на биометрические параметры растений полувысокорослой голубики (сортов Northblue и Putte) и голубики узколистной (перспективных гибридных форм 23-1-11 и 27-10). Повышение концентрации цитокинина 2-иР с 1,0 до 2,0 мг/л в питательной среде WPM способствовало увеличению количества (в 1,6 раза) и уменьшению (в 1,6–1,9 раза) средней длины микропобегов голубики узколистной. Суммарная длина побегов в зависимости от концентрации цитокинина существенно не различалась. Добавление в питательную среду адаптогена Эпин-Экстра в концентрации 0,5 мл/л способствовало увеличению (в 1,4–1,7 раза) суммарной длины микропобегов голубики и незначительному увеличению их количества и средней длины. Существенных различий по морфологическим показателям в зависимости от сорта или формы не отмечено.

Ключевые слова: голубика узколистная, полувысокорослая голубика, клональное микроразмножение, *in vitro*, регуляторы роста, цитокинин, 24-эпибрассинолид.

THE INFLUENCE OF GROWTH-REGULATING SUBSTANCES ON THE MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF PROMISING HYBRID FORMS OF ANGUSTIFOLIA BLUEBERRY *IN VITRO*

**Sergey S. Makarov¹, Galina V. Tyak², Irina B. Kuznetsova³, Anton I. Chudetsky⁴,
Elena I. Kulikova⁵**

^{1,2,4}Central European Forest Experiment Station –Branch of All-Russian Research Institute of Silviculture and Mechanization of Forestry, Kostroma, Russia

³Kostroma State Agricultural Academy, Karavaevo village, Kostroma region, Russia

⁵Vologda State Dairy Academy named after N.V. Vereshchagin, Vologda, Russia

¹makarov_serg44@mail.ru

²ce-los-np@mail.ru

³sonnereiser@yandex.ru

⁴a.chudetsky@mail.ru

⁵elena-kulikova@list.ru

Abstract. *The results of research on the study of the effect of growth regulators on the organogenesis of angustifolia blueberry during clonal micropropagation. The problems of depletion of natural reserves of berry plants in Russia and reclamation of disturbed non-forest lands are a prerequisite for the creation of industrial plantations. Recently, increasing the demand for planting material and berry products of North American blueberry cultivars. The use of the clonal micropropagation method is most expedient for the rapid production of high-quality varietal planting material on an industrial scale. The use of 24-epibrassinolide and other adaptogenic substances is promising to increase resistance to pathogenic microflora and unfavorable environmental factors. The effect of the concentration of cytokinin 2-iP and the preparation Epin-Extra in the WPM nutrient medium on the biometric parameters of plants of half-high blueberry (Northblue and Putte cultivars) and angustifolia blueberry (promising hybrid forms 23-1-11 and 27-10) at the stage of “micropropagation proper”. An increase in the concentration of cytokinin 2-iP from 1.0 to 2.0 mg/l in the WPM nutrient medium promoted an increase (1.6 times) and a decrease (1.6–1.9 times) of the average length of angustifolia blueberry microshoots. The total shoot length did not differ significantly depending on the cytokinin concentration. The addition of the adaptogen Epin-Extra to the nutrient medium at a concentration of 0.5 ml/l contributed to an increase (by 1.4–1.7 times) in the total length of blueberry microshoots and a slight increase in its number and average length. There are no significant differences in morphological parameters depending on the cultivar or form.*

Keywords: angustifolia blueberry, half-highbush blueberry, clonal micropropagation, *in vitro*, growth regulators, cytokinin, 24-epibrassinolide.

Введение. В связи с истощением природных запасов ягод и сильным варьированием урожаев в различных регионах России в последние годы возрос интерес к промышленному выращиванию лесных ягодных растений на плантациях, создаваемых на нелесных землях, включая осушенные и выработанные торфяники. Эффективность выращивания лесных ягодных растений на специализированных плантациях подтверждается мировым опытом [1-3]. Однако успешность выращивания ягодных растений в про-

мышленных масштабах невозможна без использования сортового посадочного материала.

К настоящему времени из селекционного фонда лесных ягодных растений на базе Центрально-европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ отобраны новые хозяйственно ценные гибридные формы (кандидаты в сорта) голубики узколистной (североамериканский вид), перспективные для выращивания на плантациях в южно-таежном районе и районе хвойно-широколиственных лесов

европейской части РФ. Создание российских сортов и перспективных гибридных форм голубики узколистной открывает широкую перспективу плантационного выращивания данного вида в северных регионах страны. Постоянно растущая популярность североамериканских видов голубики обуславливает увеличение спроса на посадочный материал. В настоящее время российские и зарубежные рынки полностью не удовлетворяют спрос на плоды и саженцы голубики.

Для решения данной проблемы необходимо постоянное увеличение производства посадочного материала данного вида с использованием оптимальных технологий. В связи с этим целесообразно проведение исследований по подбору и разработке наиболее экономичных и эффективных методов и способов ускоренного размножения сортов (перспективных гибридных форм) ягодных растений и получения качественного посадочного материала. Наиболее эффективным для решения поставленной задачи будет использование метода клонального микро-размножения, позволяющего круглый год быстро обеспечивать получение большого количества оздоровленного высококачественного посадочного материала [4]. Способы клонального микро-размножения голубики уже более 40 лет изучались исследователями из разных стран, при этом большинство работ посвящено культивированию высокорослых и полувысокорослых форм голубики [5], тогда как микро-размножение низкорослых форм, в частности голубики узколистной, до сих пор находится на стадии разработки. Кроме того, перспективным считается использование различных природных росторегулирующих веществ, таких как 24-эпибрассинолид, который является адаптогеном и способен управлять балансом веществ в растении (гомеостазом), а также обеспечивает повышение устойчивости к патогенной микрофлоре, защиту растений от неблагоприятных условий, омолаживание старых растений за счет стимуляции бокового побегообразования, снижение в

растении количества токсинов [6].

Цель исследований – изучить влияние адаптогенного препарата Эпин-Экстра на морфологические показатели растений голубики узколистной перспективных сортов и гибридных форм при клональном микро-размножении.

Объекты и методы. Исследования проводили в 2019–2021 гг. в лабораториях биотехнологии на базе Центрально-европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ, Костромской ГСХА и Вологодской ГМХА им. Н.В. Верещагина по общепринятым методикам [7]. В качестве объектов исследований использовали растения-регенеранты полувысокорослой голубики *Vaccinium corymbosum* L. х *V. angustifolium* Ait (сорта Northblue и Putte) и голубики узколистной *V. angustifolium* L. (низкорослые гибридные формы 23-1-11 и 27-10). После стерилизации эксплантов голубики, полученных из апикальных меристем, растения культивировали на питательной среде WPM (Woody Plant Medium) в условиях световой комнаты при температуре +23...+25°C, влажности 75–80% и фотопериоде 16/8 часов. На этапе «собственно микро-размножение» в питательную среду добавляли цитокинин 2-иР (2-изопенталаденин) в концентрациях 1,0 и 2,0 мл/л, а также адаптогенный препарат Эпин-Экстра (действующее вещество – 24-эпибрассинолид) в концентрации 0,5 мл/л. В качестве контроля принимали вариант без использования регуляторов роста. Учитывали показатели количества, средней и суммарной длины микропобегов в расчете на 1 растение. Повторность опыта – 10-кратная, в каждом варианте по 15 растений. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения AGROS v.2.11 и стандартного пакета Microsoft Office 2016. Достоверность опытов оценивали при помощи наименьшей существенной разности на 5% уровне значимости (HCP_{05}), где: фактор А – концентрация росторегулирующего вещества; фактор В – сорт или форма.

Результаты и обсуждение. В результате исследований выявлено, что с повышением в питательной среде WPM концентрации цитокинина 2-иР с 1,0 до 2,0 мг/л количество побегов на одно растение голубики узколистной увеличивалось в 1,6 раза (в среднем, с 2,0–2,3 до 3,2–3,6 шт.), тогда как в контрольном вариан-

те оно составляло лишь 1,3 шт. Добавление в питательную среду адаптогена Эпин-Экстра способствовало незначительному увеличению количества побегов (в среднем, на 0,3–0,4 шт.) голубики узколистной. Количество побегов в зависимости от сорта существенно не различалось и составляло, в среднем, 2,4–2,6 шт. (табл. 1).

Таблица 1 – Количество микропобегов (шт.) голубики узколистной в зависимости от концентрации цитокинина 2-иР и препарата Эпин-Экстра в питательной среде WPM

Сорт / форма	Концентрация 2-иР, мг/л					
	без Эпин-Экстра			Эпин-Экстра 0,5 мл/л		среднее
	-	1,0	2,0	1,0	2,0	
Сорт Nothblue	1,0	2,2	3,3	2,0	3,5	2,4
Сорт Putte	1,4	1,9	3,4	2,3	3,6	2,5
Гибридная форма 23-1-11	1,2	2,0	3,0	2,4	3,8	2,5
Гибридная форма 27-10	1,6	1,8	3,3	2,7	3,4	2,6
Среднее	1,3	2,0	3,2	2,3	3,6	-
НСР ₀₅ фактор А = 0,89, фактор В = 0,81, общ. = 0,94						

Средняя длина побегов голубики узколистной с увеличением концентрации в питательной среде цитокинина 2-иР уменьшалась в 1,6–1,9 раза: при концентрации 1,0 мг/л она составляла, в среднем 3,9–4,7 см, при концентрации 2,0 мг/л – 2,1–2,9 см, а в контроле – 4,0 см. При наличии

в питательной среде адаптогена Эпин-Экстра в концентрации 0,5 мл/л средняя длина побегов голубики узколистной незначительно увеличивалась – на 0,8 см. Сортowych различий по средней длине побегов не выявлено (табл. 2).

Таблица 2 – Средняя длина (см) голубики узколистной в зависимости от концентрации цитокинина 2-иР и препарата Эпин-Экстра в питательной среде WPM

Сорт / форма	Концентрация 2-иР, мг/л					
	без Эпин-Экстра			Эпин-Экстра 0,5 мл/л		среднее
	-	1,0	2,0	1,0	2,0	
Сорт Nothblue	4,1	4,0	2,3	4,5	3,0	3,6
Сорт Putte	4,1	4,1	1,9	4,9	2,8	3,6
Гибридная форма 23-1-11	4,0	3,9	2,2	4,7	2,9	3,5
Гибридная форма 27-10	3,9	3,8	2,0	4,8	3,0	3,5
Среднее	4,0	3,9	2,1	4,7	2,9	-
НСР ₀₅ фактор А = 0,98, фактор В = 0,90, общ. = 1,04						

Максимальная суммарная длина побегов на одно растение голубики узколистной отмечена в вариантах с содержанием в питательной среде адаптогена Эпин-Экстра: при концентрации 2-иР 1,0 мг/л она достигала, в среднем, 11,1 см, при 2,0 мг/л – 10,5 см, что значительно (в 1,4–1,7 раза) больше, чем в вариантах без добавления препарата Эпин-Экстра

(7,8 и 6,3 см соответственно) при тех же концентрациях цитокинина. В контрольном варианте наблюдалась минимальная суммарная длина побегов (5,2 см) (табл. 3).

Различия в суммарной длине побегов в зависимости от сорта были несущественны (варьирование, в среднем, от 7,6 до 8,6 см).

Таблица 3 – Суммарная длина (см) голубики узколистной в зависимости от концентрации цитокинина 2-іР и препарата Эпин-Экстра в питательной среде WPM

Сорт / форма	Концентрация 2-іР, мг/л					среднее
	без Эпин-Экстра			Эпин-Экстра 0,5 мл/л		
	-	1,0	2,0	1,0	2,0	
Сорт Nothblue	4,1	8,8	5,6	9,0	10,5	7,6
Сорт Putte	5,7	7,8	6,5	11,3	10,1	8,3
Гибридная форма 23-1-11	4,8	7,8	6,6	11,3	11,0	8,3
Гибридная форма 27-10	6,2	6,8	6,6	13,0	10,2	8,6
Среднее	5,2	7,8	6,3	11,1	10,5	-
НСР ₀₅ фактор А = 2,44, фактор В = 1,91, общ. = 3,06						

Заключение. Таким образом, по результатам проведенных исследований по клональному микроразмножению перспективных сортов полувысокорослой голубики и гибридных форм голубики узколистной можно сделать следующие выводы.

1. Повышение в питательной среде WPM концентрации цитокинина 2-іР с 1,0 до 2,0 мг/л способствовало увеличению количества и уменьшению средней длины побегов голубики узколистной, при этом суммарная длина в зависимости от концентрации цитокинина существенно не различалась.

2. При наличии в питательной среде адаптогена Эпин-Экстра в концентрации 0,5 мл/л количество и средняя длина побегов голубики узколистной увеличивались незначительно, а их суммарная длина – статистически значимо.

3. Существенных различий по количеству, средней и суммарной длине побегов в зависимости от сорта или формы не выявлено.

Список источников

1. Noormets M., Karp K., Paal T. Recultivation of Opencast Peat Pits with Vaccinium Culture in Estonia // *Ecosystems and Sustainable Development*. 2003. Vol. 2. Pp. 1005–1014.

2. Vahejxe K. [et al.] Berry Cultivation in Cutover Peatlands in Estonia: Agricultural and Economical Aspects // *Baltic Forestry*. 2010. Vol. 16. № 2. Pp. 264–272.

3. Тяк Г.В., Курлович Л.Е., Тяк А.В. Биологическая рекультивация выработанных торфяников путем создания посадок лесных

ягодных растений // *Вестник Казанского гос. аграрного ун-та*. 2016. Т 11. № 2. С. 43–46.

4. Сельскохозяйственная биотехнология : учеб. / В.С. Шевелуха [и др.]. Москва : Высшая школа, 2008. 416 с.

5. Zhao X., Zhan L., Zou X. In Vitro High-frequency Regeneration of Half-highbush 'Northland' Blueberry [Текст] // *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 2011. Vol. 39. № 1. Pp. 51–59.

6. Kudryashova O.A. [et al.] Effects of 24-Epibrassinolide on In Vitro Micropropagation of Highbush Blueberry // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2012. Vol. 59. № 4. Pp. 586–593.

7. Калашникова Е.А. Клеточная инженерия растений : учеб. пособие. Москва : Изд-во РГАУ-МСХА, 2012. 318 с.

References

1. Noormets M., Karp K., Paal T. Recultivation of Opencast Peat Pits with Vaccinium Culture in Estonia. *Ecosystems and Sustainable Development*. 2003;2:1005-1014.

2. Vahejxe K. [et al.] Berry Cultivation in Cutover Peatlands in Estonia: Agricultural and Economical Aspects. *Baltic Forestry*. 2010;16(2):264-272.

3. Tyak G.V., Kurlovich L.E., Tyak A.V. *Biologicheskaya rekultivaciya vyrabotannyh torfyanikov putem sozdaniya posadok lesnyh yagodnyh rastenij* [Biological Reclamation of Developed Peatlands by Creating Plantings of Forest Berry Plants]. *Vestnik Kazanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Bulletin of the Kazan State Agricultural University]. 2016;11(2):43–46 (In Russ.)

4. Sheveluha V.S. [et al.]. *Selskohozyajstvennaya biotekhnologiya* [Agricultural Biotechnology]. Moscow : Vysshaya shkola, 2008. 416 p. (In Russ.)

5. Zhao X., Zhan L., Zou X. In Vitro High-

frequency Regeneration of Half-highbush 'Northland' Blueberry. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 2011;39(1):51-59.

6. Kudryashova O.A. [et al.]. Effects of 24-Epibrassinolide on In Vitro Micropropagation of

Highbush Blueberry. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2012;59(4):586-593.

7. Kalashnikova E.A. Kletochnaya inzheneriya rastenij [Cell Plant Engineering]. Moscow, RSAU-MMA Publ., 2012. 318 p. (In Russ.)

Информация об авторах

Сергей Сергеевич Макаров – старший научный сотрудник группы недревесной продукции леса;

Галина Вячеславовна Тяк – руководитель группы недревесной продукции леса;

Кузнецова Ирина Борисовна – доцент кафедры агрохимии, почвоведения и защиты растений;

Антон Игоревич Чудецкий – ведущий инженер;

Елена Ивановна Куликова – заведующая кафедрой растениеводства, земледелия и агрохимии.

Information about the authors

Sergey S. Makarov – Senior Researcher of Non-timber Forest Products Group;

Galina V. Tyak – Head of Non-timber Forest Products Group;

Irina B. Kuznetsova – Associate Professor of Agrochemistry, Soil Science and Plant Protection Chair;

Anton I. Chudetsky – Leading Engineer;

Elena I. Kulikova – Head of Plant Growing, Agriculture and Agrochemistry Chair.

Статья поступила в редакцию 04.10.2021; одобрена после рецензирования 20.10.2021; принята к публикации 22.10.2021.

The article was submitted 04.10.2021; approved after reviewing 20.10.2021; accepted for publication 22.10.2021.