

Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии имени В.Р. Филиппова. 2024. № 2 (75). С. 75–81.

Vestnik of Buryat State Academy of Agriculture named after V. Philippov. 2024;2(75):75–81.

Научная статья

УДК 634.739.1

doi: 10.34655/bgsha.2024.75.2.009

ОРГАНОГЕНЕЗ ГОЛУБИКИ ТОПЯНОЙ (*VACCINIUM ULIGINOSUM* L.) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* С ПРИМЕНЕНИЕМ РОСТОРЕГУЛИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

Е.И. Куликова¹, С.С. Макаров^{2,3}, А.И. Чудецкий², И.Б. Кузнецова⁴,
А.Н. Кульчицкий³

¹Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина, с. Молочное, Вологда, Вологодская обл., Россия

²Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

³Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия

⁴Костромская государственная сельскохозяйственная академия, п. Караваево, Костромской р-н, Костромская обл., Россия

Автор, ответственный за переписку: Сергей Сергеевич Макаров,
makarov_serg44@mail.ru

Аннотация. В статье приведены результаты исследований по клональному микроразмножению голубики топяной (*Vaccinium uliginosum* L.), форм, отобранных в местах естественного произрастания в Архангельской и Вологодской областях, с использованием росторегулирующих веществ (2-иР, Циркон). Голубика топяная имеет большое хозяйственное значение в пищевом и лекарственном отношении, однако промышленные заготовки ягод не производятся из-за разбросанности и труднодоступности естественных зарослей. Выращивание дикорастущих лесных ягодных растений на выработанных торфяниках способствует рациональному использованию таких земель и восполнению естественных запасов ягодников. Для получения большого количества высококачественного и генетически однородного посадочного материала ягодных растений с целью промышленного культивирования следует использовать метод клонального микроразмножения. Необходимо совершенствование технологии клонального микроразмножения *V. uliginosum* для форм, произрастающих на севере европейской части России. На этапе пролиферации суммарная длина микропобегов голубики топяной форм северно-российского происхождения в культуре *in vitro* на питательной среде WPM с добавлением 2-иР 1,0 мл/л была больше в среднем в 1,3–2,2 раза, чем при использовании вариантов среды с разбавлением минерального состава в 2 и 4 раза. Одновременное использование в питательной среде 2-иР 1,0 мл/л и препарата Циркон 1,0 мл/л способствовало увеличению количества (в среднем в 1,3–1,4 раза), средней длины (в 1,7–1,8 раза) и суммарной длины (в 2,2–2,7 раза) микропобегов голубики топяной в культуре *in vitro*. Статистически значимых различий между биометрическими показателями растений *V. uliginosum* в зависимости от формы не выявлено.

Ключевые слова: голубика топяная, клональное микроразмножение, *in vitro*, питательная среда, регуляторы роста.

Благодарности. Работа выполнена за счет средств Программы развития университета в рамках Программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030».

Original article

ORGANOGENESIS OF BOG BLUEBERRY (*VACCINIUM ULIGINOSUM* L.) IN *IN VITRO* CULTURE WITH THE USAGE OF GROWTH-REGULATING AGENTS

Elena I. Kulikova¹, Sergey S. Makarov^{2,3}, Anton I. Chudetsky², Irina B. Kuznetsova⁴,
Andrey N. Kulchitsky³

¹Vologda State Dairy Academy named after N.V. Vereshchagin, Molochnoe, Vologda, Russia

²Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

³Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, Arkhangelsk, Russia

⁴Kostroma State Agricultural Academy, Karavaevo, Kostroma district, Kostroma region, Russia

Corresponding author: Sergey S. Makarov, makarov_serg44@mail.ru

Abstract. The article deals with the results of the studies on clonal micropropagation of bog blueberry (*Vaccinium uliginosum* L.), its forms selected in places of natural growth in the Arkhangelsk and Vologda regions using growth-regulating substances (2-iP, Zircon). Bog blueberry has a great economic importance for nutrition and medicinal purposes, however, industrial harvesting of the berries is not carried out due to the scattering and inaccessibility of its natural thickets. Cultivation of wild-growing forest berry plants on depleted peatlands contributes to the rational use of such lands and replenishment of the natural reserves of berry plantations. To obtain a large amount of high-quality and genetically homogeneous planting material of berry plants for the purpose of industrial cultivation the method of the clonal micropropagation should be used. It is necessary to improve the technology of clonal micropropagation of *V. uliginosum* for forms growing in the north of the European part of Russia. At the stage of proliferation the total length of microshoots of bog blueberry of Northern Russian origin *in vitro* on the WPM nutrient medium with the addition of 2-iP 1.0 ml/l is on average 1.3–2.2 times longer than when using medium variants with dilution of the mineral composition by 2 and 4 times. Simultaneous use of 2-iP 1.0 ml/l and Zircon 1.0 ml/l in the nutrient medium contributed to the increase in number (in average by 1.3–1.4 times), average length (by 1.7–1.8 times) and total length (by 2.2–2.7 times) of microshoots of bog blueberry in *in vitro* culture. There are no statistically significant differences between the biometric parameters of *V. uliginosum* plants depending on its form.

Keywords: bog blueberry, clonal micropropagation, *in vitro*, nutrient medium, growth regulators.

Acknowledgements: The research was carried out with the funds of the University development program within the strategic academic leadership program «Priority 2030».

Введение. Вопрос о рекультивации земель, вышедших из-под торфодобычи и сельскохозяйственной деятельности, и дальнейшем их использовании имеет важное природоохранное и народнохозяйственное значение. Выработанные торфяники на территории Российской Федерации занимают значительные площади (более 1 млн га) и представляют собой обычно неиспользуемые земли, что является причиной таких проблем, как торфяные пожары, пыльные бури, засорение водоемов паводковыми стоками, изменение гидрологического режима прилегающих территорий и другие негативные яв-

ления. Большинство торфяников бедны питательными веществами, отличаются резко выраженной кислой реакцией и имеют крайне низкую естественную продуктивность, однако при соответствующем подборе культур, способных произрастать на данных площадях, 1 га таких торфяников может обеспечить достаточно высокую биологическую продуктивность. Кроме того, на сегодняшний день стоит вопрос рационального использования лесных ягодных ресурсов, включающий как их эксплуатацию, так и повсеместное возобновление. Создание посадок дикорастущих ягодных растений на вырабо-

танных торфяниках способствует рациональному использованию таких земель, а при данном способе их биологической рекультивации происходит восполнение потерь природных ресурсов ягод [1-3].

Промышленные заготовки ягод дикорастущей голубики *Vaccinium uliginosum* L. в настоящее время практически не производятся из-за разбросанности и труднодоступности их естественных зарослей [4]. Ягоды этого вида обладают высокой пищевой и лекарственной ценностью, характеризуются значительным разнообразием биологически активных веществ. Среди витаминов, содержащихся в них, большую долю занимают Р-активные вещества и витамин С (его содержание в 5 раз выше, чем в ягодах черники *V. myrtillus* L.), также плоды богаты пектинами [5-7].

Для создания ягодных плантаций требуется большое количество посадочного материала, чего не могут обеспечить традиционные способы размножения. В целях плантационного выращивания ягодных растений целесообразно использовать метод клонального микроразмножения, позволяющий в короткие сроки и вне сезона получить необходимое количество оздоровленного посадочного материала в лабораторных условиях [8]. Опыт микроразмножения голубики топяной различными исследователями [9-11] показывает, что регенеративный потенциал образования побегов и корней голубики топяной в культуре *in vitro* зависит от состава питательной среды и регуляторов роста. При этом практически не изучен опыт культивирования форм, произрастающих в европейской части России. В связи с этим необходимо совершенствование технологии для форм, отобранных из других мест естественного обитания, в том числе с использованием современных ростостимулирующих препаратов для улучшения роста и развития микрорастений.

Цель исследований – изучение особенностей клонального микроразмножения голубики топяной форм северно-российского происхождения на этапе пролиферации с использованием росторегули-

рующих препаратов.

Объекты и методы. Исследования проводили в 2021–2022 гг. в лабораториях биотехнологии на базе Центрально-европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ и Вологодской государственной молочнохозяйственной академии им. Н.В. Верещагина по общепринятым методикам [8; 12]. В качестве объектов исследований использовали растения голубики топяной (*V. uliginosum* L.) форм Архангельская и Вологодская, отобранных в соответствующих регионах в местах естественного произрастания вида. Перед введением в культуру *in vitro* для стерилизации эксплантов растений в качестве основных стерилизующих агентов применяли растворы сулемы (0,2%), моющего средства «Доместос» (1:3), азотнокислого серебра AgNO_3 (0,2%), препаратов Экостерилизатор бесхлорный (5%) и Лизоформин 3000 (5%). Время стерилизации – от 5 до 20 мин.

На этапе пролиферации (собственно микроразмножение) использовали питательную среду Woody Plant Medium (WPM) [21], в том числе в вариантах разбавления минеральной основы в 2 и 4 раза. Растения-регенеранты голубики топяной культивировали в условиях световой комнаты при 16-часовом фотопериоде, поддержании температуры воздуха +23...+25°C, влажности воздуха 75–80%. В качестве регулятора роста цитокининовой группы использовали 2-изопентиладеннин (2-иР) в концентрации 1,0 мл/л. Для стимулирования роста побегов в питательную среду добавляли препарат Циркон в концентрации 1,0 мл/л. В качестве контрольного использовали вариант без добавления ростостимулирующих препаратов. Учитывали количество, среднюю и суммарную длину микроростов в расчете на одно растение-регенерант. Повторность опыта – 10-кратная, по 30 растений в каждой. Применяли двухфакторный дисперсионный анализ, где фактор А – состав питательной среды, фактор В – содержание в питательной среде препарата Циркон. Для статистической обработки экспериментальных данных исполь-

зовали программы Microsoft Office Excel 2016 и AGROS v.2.11. Оценку достоверности опытов проводили с помощью наименьшей существенной разности на 5% уровне значимости ($НСР_{05}$).

Результаты и обсуждение. В ходе проведенных исследований выявлено, что на этапе «собственно микроразмножение» количество микропобегов *in vitro* у растений-регенерантов исследуемых голубики топяной форм Архангельская и

Вологодская на питательной среде WPM составляло, в среднем, 8,1–8,4 шт. и было незначительно больше (в 1,1–1,2 раза), чем на питательных средах WPM 1/2 и WPM 1/4. Добавление в питательную среду препарата Циркон в концентрации 1,0 мл/л способствовало увеличению в 1,3–1,4 раза количества микропобегов у растений-регенерантов исследуемых форм голубики топяной по сравнению с вариантом без добавления препарата (табл. 1).

Таблица 1 – Количество микропобегов северно-российских форм голубики топяной в зависимости от состава питательной среды и добавки препарата Циркон, шт.

Питательная среда	Концентрация препарата Циркон, мл/л		Среднее
	0	1,0	
Форма Архангельская			
WPM	7,1	9,1	8,1
WPM 1/2	6,0	8,3	7,2
WPM 1/4	6,2	7,4	6,8
Среднее	6,4	8,3	-
НСР ₀₅ фактор А = 1,89, фактор В = 1,66, общ. = 2,52			
Форма Вологодская			
WPM	6,8	9,9	8,4
WPM 1/2	5,9	9,1	7,5
WPM 1/4	6,3	8,0	7,2
Среднее	6,3	9,0	-
НСР ₀₅ фактор А = 1,78, фактор В = 1,61, общ. = 2,44			

Средняя длина побегов голубики топяной исследуемых форм оказалась наибольшей на питательной среде WPM и составляла, в среднем, 3,0–3,3 см, что, в среднем, в 1,7 раза больше, чем в варианте со средой WPM 1/4, где данный показатель был наименьшим. При добавле-

нии в питательную среду препарата Циркон в концентрации 1,0 мл/л средняя длина микропобегов *in vitro* у растений-регенерантов голубики топяной составляла 3,2–3,4 см, что существенно (в 1,7–1,8 раза) больше, чем в варианте без использования препарата (табл. 2).

Таблица 2 – Средняя длина микропобегов северно-российских форм голубики топяной в зависимости от состава питательной среды и добавки препарата Циркон, см

Питательная среда	Концентрация препарата Циркон, мл/л		Среднее
	0	1,0	
Форма Архангельская			
WPM	2,3	4,2	3,3
WPM 1/2	2,0	3,8	2,9
WPM 1/4	1,6	2,1	1,9
Среднее	2,0	3,4	-
НСР ₀₅ фактор А = 0,98, фактор В = 0,74, общ. = 1,92			
Форма Вологодская			
WPM	2,0	4,0	3,0
WPM 1/2	1,8	3,6	2,7
WPM 1/4	1,5	2,0	1,8
Среднее	1,8	3,2	-
НСР ₀₅ фактор А = 0,96, фактор В = 0,68, общ. = 1,94			

Суммарная длина микропобегов исследуемых форм голубики топяной в культуре *in vitro* в вариантах с питательной средой WPM составляла, в среднем,

27,3–28,6 см и была больше, чем в вариантах с питательными средами WPM 1/2 (в 1,3 раза) и WPM 1/4 (в 2,1–2,2 раза) (табл. 3).

Таблица 3 – Суммарная длина микропобегов северно-российских форм голубики топяной в зависимости от состава питательной среды и добавки препарата Циркон, см

Питательная среда	Концентрация препарата Циркон, мл/л		Среднее
	0	1,0	
Форма Архангельская			
WPM	16,3	38,3	27,3
WPM 1/2	12,0	31,5	21,8
WPM 1/4	9,9	15,6	12,8
Среднее	12,7	28,5	-
НСР ₀₅ фактор А = 2,12, фактор В = 1,96, общ. = 2,84			
Форма Вологодская			
WPM	13,6	43,6	28,6
WPM 1/2	10,7	32,8	21,8
WPM 1/4	9,5	16,2	12,9
Среднее	11,3	30,9	-
НСР ₀₅ фактор А = 2,19, фактор В = 2,1, общ. = 2,96			

Наличие в питательной среде препарата Циркон в концентрации 1,0 мл/л способствовало значительному (в 2,2–2,7 раза) увеличению суммарной длины микропобегов у растений-регенерантов голу-

бики топяной, которая при добавлении препарата достигала у формы Архангельская, в среднем, 28,5 см, у формы Вологодская – 30,9 см (рис.).



Рисунок. Образование микропобегов голубики топяной в культуре *in vitro*: а – без использования препаратов; б – с добавлением препарата Циркон 1,0 мл/л

Заключение. Таким образом, по результатам проведенных исследований по клональному микроразмножению голубики топяной форм северно-российского происхождения отмечено, что при использовании на этапе «собственно микроразмножение» питательной среды WPM количество и длина микропобегов форм голубики топяной были больше, чем в вариантах с разбавлением минеральной основы данной среды в 2 и 4 раза. При этом добавление в питательную среду препа-

рата Циркон в концентрации 1,0 мл/л способствовало значительному увеличению количества и длины микропобегов растений-регенерантов голубики топяной в культуре *in vitro*. Использование препарата Циркон перспективно для улучшения побегообразования голубики топяной при клональном микроразмножении данного вида с целью ускоренного получения высококачественного посадочного материала для плантационного выращивания.

Список источников

1. 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. EDN: WHQVNF. doi: 10.12737/20633.
2. Теория и практика размножения и плантационного выращивания лесных ягодных растений *Rubus arcticus* L., *Oxycoccus palustris* Pers. и *Vaccinium angustifolium* Ait.: монография / С.С. Макаров, В.С. Виноградова, Г.В. Тяк, Н.А. Бабич. Караваево: Костромская ГСХА, 2021. 394 с.
3. Перспективы промышленного выращивания и биотехнологические методы размножения лесных ягодных растений: монография / С.С. Макаров, М.Т. Упадышев, Р.С. Хамитов [и др.]. М.: Колос-С, 2023. 152 с.
4. Проблемы использования и воспроизводства фитогенных пищевых и лекарственных ресурсов леса на землях лесного фонда Костромской области / С.С. Макаров, Е.С. Багаев, С.Ю. Цареградская, И.Б. Кузнецова // Лесной журнал. 2019. № 6. С. 118–131. EDN: DSJOXN. doi: 10.37482/0536-1036-2019-6-118.
5. Барнаулов О.Д., Поспелова М.Л. Лекарственные свойства фруктов и ягод. СПб.: Информ-Навигатор, 2013. 256 с.
6. Мухаметова С.В., Скочилова Е.А., Протасов Д.В. Параметры плодоношения и содержание флавоноидов и аскорбиновой кислоты в плодах голубики (*Vaccinium*) // Химия растительного сырья. 2017. № 3. С. 113–121. EDN: ZFLNYB. doi: 10.14258/jcprm.2017031785.
7. Review: Chemical Compositions and Functions of *Vaccinium uliginosum* / S. Su, L. Wang, J. Wu [et al.] // Chinese Bulletin of Botany. 2016. V. 51. № 5. Pp. 691–704. doi: 10.11983/CBB15172
8. Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия: учеб. / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.З. Кочиева [и др.]; под общ. ред. В.С. Шевелухи. М.: URSS, 2015. 715 с.
9. Ускоренное размножение голубики топяной *in vitro* / Н.А. Вечернина, О.К. Таварткиладзе, А.А. Эрст, А.Б. Горбунов // Вестник Алтайского гос. аграрного ун-та. 2008. № 6 (44). С. 21–25. EDN: JKGEFF
10. Съе М., Сцкмен А. In Vitro Production Protocol of *Vaccinium uliginosum* L. (Bog Bilberry) Growing in the Turkish Flora // Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 2017. V. 41. Pp. 294–304. doi: 10.3906/tar-1704-19
11. Production of Sapling Material of Blueberry in In Vitro Culture / N. Lomtadze, N. Alasania, L. Gorgiladze, R. Meladze // Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences. 2018. V. 12. № 2. P. 138–144.
12. Выращивание лесных ягодных растений в условиях *in vitro*: лабор. практикум / Сост.: С.С. Макаров, Е.А. Калашникова, И.Б. Кузнецова, Р.Н. Киракосян. Караваево: Костромская ГСХА, 2019. 48 с.

References

1. Tyak G.V., Kurlovich L.E., Tyak A.V. Biological Reclamation of Depleted Peatlands by Creating Plantations of Forest Berry Plants. *Vestnik Kazanskogo gos. agrarnogo un-ta.* 2016;11(2):43–46 (In Russ.). doi: 10.12737/20633.
2. Makarov S.S., Vinogradova V.S., Tyak G.V., Babich N.A. Theory and Practice of Reproduction and Plantation Cultivation of Forest Berry Plants *Rubus arcticus* L., *Oxycoccus palustris* Pers. and *Vaccinium angustifolium* Ait. Karavaevo: Kostroma State Agricultural Academy Publ., 2021. 394 p. (In Russ.)
3. Makarov S.S., Upadyshev M.T., Khamitov R.S. [et al.]. Prospects for Industrial Cultivation and Biotechnological Methods of Reproduction of Forest Berry Plants. Moscow: Kolos-S, 2023. 152 p. (In Russ.)
4. Makarov S.S., Bagaev E.S., Tsaregradskaya S.Yu., Problems of Use and Reproduction of Phytogenic Food and Medicinal Resources of the Forest on the Lands of the Forest Fund of the Kostroma Region. *Lesnoj*

zhurnal [Russian Forest Journal].2019;6:118–131 (In Russ.). doi: 10.37482/0536-1036-2019-6-118.

5. Barnaulov O.D., Pospelova M.L. Medicinal Properties of Fruits and Berries. St. Petersburg. Inform-Navigator, 2013. 256 p. (In Russ.)

6. Mukhametova S.V., Skochilova E.A., Protasov D.V. Fruiting Parameters and the Content of Flavonoids and Ascorbic Acid in Blueberries (*Vaccinium*). *Himiya rastitel'nogo syrya*. 2017;3:113–121 (In Russ.) doi: 10.14258/jcprm.2017031785.

7. Su S., Wang J., Wu J. [et al.]. Review: Chemical Compositions and Functions of *Vaccinium uliginosum*. *Chinese Bulletin of Botany*. 2016;51(5):691–704. doi: 10.11983/CBB15172

8. Shevelukha V.S., Kalashnikova E.A., Kochieva E.Z. [et al.]; Shevelukha V.S. (ed.). Agricultural Biotechnology and Bioengineering. Moscow. URSS, 2015. 715 p. (In Russ.)

9. Vechernina N.A., Tavartkiladze O.K., Erst A.A., Gorbunov A.B. Accelerated Reproduction of Blueberry In Vitro. *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2008;6(44):21–25 (In Russ.)

10. Съе М., Сцкмен А. In Vitro Production Protocol of *Vaccinium uliginosum* L. (Bog Bilberry) Growing in the Turkish Flora. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 2017;41:294–304. doi: 10.3906/tar-1704-19

11. Lomtadze N., Alasania N., Gorgiladze L., Meladze R. Production of Sapling Material of Blueberry in In Vitro Culture. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*. 2018;12(2):138–144.

12. Growing Forest Berry Plants In Vitro: Laboratory Workshop. Comp. by Makarov S.S., Kalashnikova E.A., Kuznetsova I.B., Kirakosyan R.N. Karavaevo. Kostroma State Agricultural Academy Publ., 2019. 48 p. (In Russ.)

Информация об авторах

Елена Ивановна Куликова – кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий кафедрой растениеводства, земледелия и агрохимии; доцент;

Сергей Сергеевич Макаров – доктор сельскохозяйственных наук, заведующий кафедрой декоративного садоводства и газоноведения; профессор кафедры ландшафтной архитектуры и искусственных лесов;

Антон Игоревич Чудецкий – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры декоративного садоводства и газоноведения;

Ирина Борисовна Кузнецова – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры агрохимии, биологии и защиты растений; доцент;

Андрей Николаевич Кульчицкий – студент магистратуры кафедры ландшафтной архитектуры и искусственных лесов.

Information about the authors

Elena I. Kulikova – Candidate of Science (Agriculture), Head of Plant Growing, Agriculture and Agrochemistry Chair; Associate Professor;

Sergey S. Makarov – Doctor of Science (Agriculture), Head of Decorative Gardening and Lawn Science Chair; Professor of Landscape Architecture and Artificial Forests Chair;

Anton I. Chudetsky – Candidate of Science (Agriculture), Associate Professor, Decorative Gardening and Lawn Science Chair;

Irina B. Kuznetsova – Candidate of Science (Agriculture), Associate Professor of Agrochemistry, Biology and Plant Protection Chair; Associate Professor;

Andrey N. Kulchitsky – Master Student, Landscape Architecture and Artificial Forests Chair.

Статья поступила в редакцию 05.05.2023; одобрена после рецензирования 19.06.2023; принята к публикации 27.06.2023.

The article was submitted 05.05.2023; approved after reviewing 19.06.2023; accepted for publication 27.06.2024.