

Научная статья

УДК 634.71

doi: 10.34655/bgsha.2023.72.3.006

ПОБЕГООБРАЗОВАНИЕ ЖЕНСКИХ ФОРМ МОРОШКИ ПРИЗЕМИСТОЙ СЕВЕРНО-РОССИЙСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

А.М. Антонов¹, С.С. Макаров^{1,2}, Е.И. Куликова³, И.Б. Кузнецова⁴, А.И. Чудецкий²

¹Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск, Россия

²Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

³Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина, с. Молочное, Вологда, Вологодская обл., 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 микро-размножению женских растений морошки приземистой (*Rubus chamaemorus* L.) форм, отобранных в Архангельской, Вологодской областях, Республике Карелия и Ханты-Мансийском автономном округе. Плоды и листья морошки приземистой обладают высокой пищевой и лекарственной ценностью. Опыт культивирования морошки приземистой на выработанных торфяниках показывает перспективы создания ягодных плантаций данного вида. Для ускоренного получения большого количества высококачественного и генетически однородного посадочного материала в целях промышленного культивирования следует использовать метод клонального микро-размножения. Необходимо совершенствование технологии клонального микро-размножения морошки приземистой для форм, произрастающих на севере европейской части России. На этапе пролиферации максимальные показатели количества (в среднем, 6,4–9,2 шт.), средней длины (3,0–4,2 см) и суммарной длины (16,5–21,8 см) микропобегов морошки приземистой в культуре *in vitro* отмечены при использовании полного состава питательной среды MS, что, соответственно, в 1,2–2,0, 1,3–2,0 и 1,5–3,5 раза больше, чем на средах MS 1/2 и MS 1/4. Увеличение в питательной среде концентрации 6-БАП от 1,0 до 2,0 мг/л способствовало увеличению количества микропобегов морошки приземистой *in vitro* в 1,3–1,7 раза и уменьшению их средней длины в 1,8–1,9 раза. Суммарная длина микропобегов *in vitro* у женских растений морошки приземистой формы Ханты-мансийская была, в среднем, в 1,2–1,3 раза больше по сравнению с формами Архангельская, Вологодская и Карельская.

Ключевые слова: морошка приземистая, клональное микро-размножение, *in vitro*, питательная среда, регуляторы роста.

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

SHOOT FORMATION OF FEMALE FORMS OF CLODBERRY OF NORTHERN RUSSIAN ORIGIN IN *IN VITRO* CULTURE

Aleksandr M. Antonov¹, Sergey S. Makarov^{1,2}, Elena I. Kulikova³, Irina B. Kuznetsova⁴, Anton I. Chudetsky²

¹Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, Arkhangelsk, Russia

²Russian Timiryazev State Agrarian University, Moscow, Russia

³Vologda State Dairy Academy named after N.V. Vereshchagin, Molochnoe, Vologda, 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 studies on clonal micropropagation of female plants of cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.), its forms selected in the Arkhangelsk and Vologda regions, the Republic of Karelia and the Khanty-Mansiysk Autonomous District. Fruit and leaves of cloudberry have high nutritional and medicinal value. The experience of cloudberry cultivation on depleted peatlands shows the prospects for creating berry plantations of this species. To accelerate the production of a large amount of high quality and genetically homogeneous planting material for industrial cultivation it is advisable to use the method of clonal micropropagation. It is necessary to improve the technology of clonal micropropagation of cloudberry for forms growing in the North of the European part of Russia. The maximum indicators of the number (average 6.4–9.2 pcs.), average length (3.0–4.2 cm) and total length (16.5–21.8 cm) of cloudberry microshoots *in vitro* are observed at the stage of proliferation with the usage of the full composition of the MS nutrient medium which is 1.2–2.0, 1.3–2.0, and 1.5–3.5 times greater, respectively, than in MS 1/2 and MS 1/4 media. An increase in the concentration of 6-BAP in the nutrient medium from 1.0 to 2.0 mg/l contributed to the increase of cloudberry microshoots number *in vitro* – increased by 1.3–1.7 times and a decrease in its average length by 1.8–1.9 times. The total length of microshoots of female plants of cloudberry of the Khanty-Mansi form *in vitro* is in average 1.2–1.3 times more than that of the Arkhangelsk, Vologda, and Karelian forms.*

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

Acknowledgments: The work was carried out using the funds of the University Development Program within the framework of the Strategic Academic Leadership Program “Priority-2030”.

Введение. Морошка приземистая (*Rubus chamaemorus* L.) является высокоценным в пищевом и лекарственном отношении видом и пользуется спросом на рынке ягодной продукции. Она произрастает на верховых болотах и в заболоченных хвойных лесах Северной Америки и Евразии (в том числе в широтном протяжении по всей территории в России), однако в природных популяциях, особенно на открытых сфагновых омбротрофных болотах, имеет довольно низкую урожайность [1–6].

Создание специализированных плантаций на территориях выработанных торфяных месторождений может в значительной степени способствовать повы-

шению урожайности и восстановлению зарослей лесных и болотных ягодных видов [7–9]. Различными исследователями отмечалась перспективность выращивания морошки приземистой на таких территориях [3; 10]. Однако традиционные способы размножения далеко не всегда обеспечивают необходимое для плантационного выращивания количество и качество посадочного материала.

Для получения посадочного материала в целях культивирования в промышленных масштабах следует использовать метод клонального микроразмножения, который позволяет в короткие сроки вырастить большое количество оздоровленных и генетически однородных расте-

ний [11; 12]. На сегодняшний день имеется некоторый опыт по выращиванию морошки в культуре *in vitro*, однако требуется совершенствование технологии микроклонаирования данного вида с учетом генетических особенностей для форм северо-российского происхождения, в том числе с подбором оптимального состава питательных сред и концентраций росторегулирующих веществ.

Цель исследований – изучение влияния состава питательной среды и концентрации цитокинина 6-БАП на образование микропобегов морошки приземистой северо-российского происхождения в культуре *in vitro*.

Объекты и методы. Исследования по клональному микроразмножению растений проводили по общепринятым методикам [11] на базе Вологодской государственной молочнохозяйственной академии им. Н.В. Верещагина и Центрально-европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ в 2020–2022 гг. В качестве объектов исследования использовали женские растения морошки приземистой (*Rubus chamaemorus* L.) форм Архангельская, Вологодская, Карельская и Ханты-мансийская, отобранных в местах естественного произрастания в соответствующих регионах России (Верхнетоемский район Архангельской области, Сямженский район Вологодской области, Сегежский район Республики Карелия, Ханты-Мансийский район Ханты-Мансийского АО – Югры).

На этапе введения в культуру *in vitro* для стерилизации эксплантов применяли растворы сулемы (0,1%), нитрата серебра (0,2%), препаратов Лизоформин 3000 (5%) и Экостерилизатор бесхлорный (5%) при времени экспозиции от 10 до 20 мин. Растения культивировали в условиях световой комнаты на питательной среде по прописи Мурасиге-Скуга (MS), в том числе в вариантах разбавления минерального состава водой в 2 и 4 раза при 16-часовом фотопериоде, поддержании температуры воздуха +23...+25°C и влажности

воздуха 75–80%. На этапе пролиферации в качестве регулятора роста в питательную среду добавляли цитокинин 6-бензиламинопурил (6-БАП) в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л. Для каждой формы морошки приземистой учитывали количество, среднюю длину и суммарную длину микропобегов на одно растение. Повторность опыта 10-кратная, по 15 пробирочных растений в каждой.

Для статистической обработки данных использовали программы Microsoft Office Excel 2016 и AGROS v2.11. Оценку достоверности опытов проводили с помощью наименьшей существенной разности на 5% уровне значимости ($НСР_{05}$). Использовали двухфакторный дисперсионный анализ, где: фактор А – состав питательной среды; фактор В – концентрация цитокинина.

Результаты и обсуждение. Согласно результатам исследований по клональному микроразмножению женских растений морошки приземистой, на этапе пролиферации на питательной среде MS формировалось значительно большее количество микропобегов у женских растений морошки приземистой *in vitro* (в среднем, от 6,4 шт. у формы Карельская до 9,2 шт. у формы Ханты-мансийская), тогда как на среде MS 1/2 оно было меньше в 1,3–1,4 раза, а на MS 1/4 – в 1,7–1,9 раза. При повышении в питательной среде концентрации цитокинина 6-БАП от 1,0 до 2,0 мг/л количество микропобегов у женских растений исследуемых форм морошки приземистой увеличивалось, в среднем, в 1,3–1,7 раза (табл. 1).

Средняя длина микропобегов у женских растений морошки приземистой *in vitro* была наибольшей на питательной среде MS (в среднем, 2,4–2,6 см), что в 1,3–1,6 раза больше, чем на среде MS 1/2, и в 1,7–2,0 раза больше, чем на MS 1/4. С увеличением концентрации цитокинина 6-БАП от 1,0 до 2,0 мг/л средняя длина микропобегов у исследуемых форм морошки уменьшалась, в среднем, в 1,8–1,9 раза (табл. 2).

Таблица 1 – Количество микропобегов женских растений различных форм морошки приземистой *in vitro* в зависимости от состава питательной среды и концентрации цитокинина 6-БАП, шт.

Питательная среда	Концентрация 6-БАП, мг/л		Среднее
	1,0	2,0	
Форма Архангельская			
MS	5,7	8,6	7,1
MS 1/2	4,2	5,9	5,0
MS 1/4	3,1	5,0	4,0
Среднее	4,3	6,5	-
НСР ₀₅ фактор А = 0,90, фактор В = 1,01, общ. = 1,24			
Форма Вологодская			
MS	6,1	8,1	7,1
MS 1/2	5,1	6,8	5,9
MS 1/4	2,9	4,3	3,6
Среднее	4,7	6,4	-
НСР ₀₅ фактор А = 0,87, фактор В = 0,99, общ. = 1,20			
Форма Ханты-мансийская			
MS	7,4	11,1	9,2
MS 1/2	3,9	8,9	6,4
MS 1/4	4,1	6,5	5,3
Среднее	5,1	8,8	-
НСР ₀₅ фактор А = 1,13, фактор В = 0,99, общ. = 1,36			
Форма Карельская			
MS	5,2	7,6	6,4
MS 1/2	3,0	6,9	4,9
MS 1/4	2,7	4,0	3,3
Среднее	3,6	6,2	-
НСР ₀₅ фактор А = 0,86, фактор В = 0,74, общ. = 0,98			

Таблица 2 – Средняя длина микропобегов женских растений различных форм морошки приземистой *in vitro* в зависимости от состава питательной среды и концентрации цитокинина 6-БАП, см

Питательная среда	Концентрация 6-БАП, мг/л		Среднее
	1,0	2,0	
Форма Архангельская			
MS	3,0	1,9	2,4
MS 1/2	2,1	1,6	1,8
MS 1/4	1,5	1,0	1,2
Среднее	2,2	1,5	-
НСР ₀₅ фактор А = 0,69, фактор В = 0,79, общ. = 0,87			
Форма Вологодская			
MS	3,3	1,6	2,4
MS 1/2	2,5	1,3	1,9
MS 1/4	1,7	1,1	1,4
Среднее	2,5	1,3	-
НСР ₀₅ фактор А = 0,74, фактор В = 0,84, общ. = 0,92			
Форма Ханты-мансийская			
MS	3,8	1,4	2,6
MS 1/2	2,6	1,2	1,9
MS 1/4	1,9	1,0	1,4
Среднее	2,8	1,2	-
НСР ₀₅ фактор А = 0,93, фактор В = 0,87, общ. = 1,10			

Форма Карельская			
MS	4,2	1,8	3,0
MS 1/2	2,6	1,3	1,9
MS 1/4	2,0	1,0	1,5
Среднее	2,9	1,4	-
НСР ₀₅ фактор А = 0,90, фактор В = 0,76, общ. = 0,99			

Суммарная длина микропобегов женских растений морошки приземистой *in vitro* была значительно больше также на питательной среде MS, при этом наибольшие значения показателя имела форма

Ханты-мансийская (в среднем 21,8 см). При использовании среды MS 1/2 суммарная длина микропобегов оказалась меньше в среднем в 2 раза, а на MS 1/4 – в 3,1–3,5 раза (табл. 3).

Таблица 3 – Суммарная длина микропобегов женских растений различных форм морошки приземистой *in vitro* в зависимости от состава питательной среды и концентрации цитокинина 6-БАП, см

Питательная среда	Концентрация 6-БАП, мг/л		Среднее
	1,0	2,0	
Форма Архангельская			
MS	17,1	16,3	16,7
MS 1/2	8,8	9,4	9,1
MS 1/4	4,6	5,0	4,8
Среднее	10,1	10,2	-
НСР ₀₅ фактор А = 1,36, фактор В = 1,45, общ. = 1,73			
Форма Вологодская			
MS	20,1	13,0	16,5
MS 1/2	12,7	8,8	10,7
MS 1/4	4,9	4,7	4,8
Среднее	12,6	8,8	-
НСР ₀₅ фактор А = 1,45, фактор В = 1,62, общ. = 1,87			
Форма Ханты-мансийская			
MS	28,1	15,5	21,8
MS 1/2	10,1	10,7	10,4
MS 1/4	7,8	6,5	7,1
Среднее	15,3	10,9	-
НСР ₀₅ фактор А = 2,03, фактор В = 2,19, общ. = 2,39			
Форма Карельская			
MS	21,8	13,7	17,8
MS 1/2	7,8	9,0	8,4
MS 1/4	5,4	4,0	4,7
Среднее	11,6	8,9	-
НСР ₀₅ фактор А = 1,29, фактор В = 1,44, общ. = 1,70			

При концентрации в питательной среде цитокинина 6-БАП 1,0 мг/л суммарная длина микропобегов морошки приземистой форм Вологодская, Ханты-мансийская и Карельская (в среднем, 11,6–15,3 см) была в 1,3–1,4 раза больше, чем при концентрации 2,0 мг/л. Статистически значимых различий в суммарной длине микропобегов *in vitro* у формы Архангельс-

кая (10,1–10,2 см) в зависимости от концентрации 6-БАП не выявлено.

Заключение. Таким образом, в результате проведенных исследований по клональному микроразмножению морошки приземистой четырех форм севернороссийского происхождения выявлено, что биометрические показатели микропобегов женских растений на этапе проли-

ферации на питательной среде MS были значительно больше, чем на средах MS 1/2 и MS 1/4. Наибольшая суммарная длина у женских растений исследуемых форм морошки приземистой *in vitro* отмечена при концентрации цитокинина 6-БАП в питательной среде 1,0 мг/л, тогда как при увеличении концентрации 6-БАП до 2,0 мг/л количество микропобегов увеличивалось, а средняя длина и суммарная длина уменьшались. Суммарная длина микропобегов *in vitro* у женских растений морошки приземистой формы Ханты-мансийская была больше, чем у форм Архангельская, Вологодская и Карельская. Полученные результаты исследований могут быть применены в дальнейших опытах по размножению морошки приземистой с целью тиражирования посадочного материала для плантационного выращивания.

Список источников

1. Барнаулов О.Д., Пospelова М.Л. Лекарственные свойства фруктов и ягод. СПб.: Информ-Навигатор, 2013. 256 с.
2. Ручкина Н. Морошка // Химия и жизнь. 2015. № 10. С. 56–57.
3. Тяк Г.В. «Золото Севера» – на садовые участки // Питомник и частный сад. 2016. № 6 (42). С. 16–19.
4. Уэйли А.К., Понкратова А.О., Теслов Л.С., Лужанин В.Г. Обзор вторичных метаболитов морошки и их биологической активности // Пульс. 2020. Т. 22, № 7. С. 50–59. doi: 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-7-50-59. EDN: AQPZPS
5. Склярченко М. Ягоды растут // Эксперт Северо-Запад. 2019. № 11 (772). С. 18–21.
6. Гаврилова А. Нашего поля ягода. Куда вместо Европы собираются поставлять морошку? [Электронный ресурс] // АиФ на Мурмане. 23.03.2022. URL: https://murmansk.aif.ru/society/nashego_polya_yagoda_kuda_vmesto_evropy_sobirayutsya_postavlyat_moroshku
7. Тяк Г.В., Курлович Л.Е., Тяк А.В. Биологическая рекултивация выработанных торфяников путем создания посадок лесных ягодных растений // Вестник Казанского гос. аграрного ун-та. 2016. Т. 11. № 2. С. 43–46. doi: 10.12737/20633. EDN: WHQVNF
8. Теория и практика размножения и плантационного выращивания лесных ягод-

ных растений *Rubus arcticus* L., *Oxycoccus palustris* Pers. и *Vaccinium angustifolium* Ait.: монография / С.С. Макаров, В.С. Виноградова, Г.В. Тяк, Н.А. Бабич. Караваяево: Костромская ГСХА, 2021. 394 с.

9. 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. EDN: VGKYGZ

10. Bussieres J., Rochefort L., Lapointe L. Cloudberry Cultivation in Cutover Peatland: Improved Growth on Less Decomposed Peat // Can. J. Plant Sci. 2015. V. 95. Pp. 479–489. doi: 10.4141/CJPS-2014-299

11. 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. EDN: QKQWQJ

12. Калашникова Е.А. Клеточная инженерия растений: учеб. и практикум для вузов. М.: Юрайт, 2020. 333 с. EDN: LOUOLP

References

1. Barnaulov O.D., Pospelova M.L. Lekarstvennyye svojstva fruktov i yagod [Medicinal Properties of Fruits and Berries]. St. Petersburg: Inform-Navigator, 2013. 256 p. (In Russ.)
2. Ruchkina N. Moroshka [Cloudberry]. *Himiya i zhizn'*. 2015;10:56–57 (In Russ.)
3. Tyak G.V. "Zoloto Severa" – na sadovye uchastki ["Gold of the North" for Garden Plots]. *Pitomnik i chastnyj sad*. 2016;6 (42):16–19 (In Russ.)
4. Whaley A.K., Ponkratova A.O., Teslov L.S., Luzhanin V.G. Obzor vtorichnyh metabolitov moroshki i ih biologicheskoy aktivnosti [Review of Cloudberry Secondary Metabolites and Their Biological Activity]. *Pulse*; 2020;22 (7):50–59 doi: 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-7-50-59. EDN: AQPZPS (In Russ.)
5. Sklyarenko M. Yagody rastut [Berries Are Growing]. *Ekspert Severo-Zapad*. 2019;11(772):18–21 (In Russ.)
6. Gavrilova A. Nashego polya yagoda. Kuda vmesto Evropy sobirayutsya postavlyat' moroshku? [Berry of Our Field. Where Are They Going to Supply Cloudberry Instead of Europe?]. *AiF na Murmane*. 23.03.2022. URL: https://murmansk.aif.ru/society/nashego_polya_yagoda_kuda_vmesto_evropy

sobirayutsya_postavlyat_moroshk (In Russ.)

7. Tyak G.V., Kurlovich L.E., Tyak A.V. Biologicheskaya rekul'tivaciya vyrabotannyh torfyanikov putem sozdaniya posadok lesnyh yagodnyh rastenij [Biological Reclamation of Depleted Peatlands by Creating Plantations of Forest Berry Plants]. *Vestnik Kazanskogo gos. agrarnogo un-ta*. 2016;11(2):43–46.

8. Makarov S.S., Vinogradova V.S., Tyak G.V., Babich N.A. Teoriya i praktika razmnzheniya i plantacionnogo vyrashchivaniya lesnyh yagodnyh rastenij *Rubus arcticus* L., *Oxycoccus palustris* Pers. i *Vaccinium angustifolium* Ait. [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.)

9. Makarov S.S., Upadyshev M.T., Khamitov R.S. [et al.]. Perspektivy promyshlennogo vyrashchivaniya i biotekhnologicheskie metody razmnzheniya lesnyh yagodnyh rastenij [Prospects for Industrial Cultivation and Biotechnological Methods of Reproduction of Forest Berry Plants]. Moscow: Kolos-S, 2023. 152 p. (In Russ.)

10. Bussieres J., Rochefort L., Lapointe L. Cloudberry Cultivation in Cutover Peatland: Improved Growth on Less Decomposed Peat. *Can. J. Plant Sci.* 2015;95:479–489.

11. Shevelukha V.S., Kalashnikova E.A., Kochieva E.Z. [et al.]; Shevelukha V.S. (ed.). Sel'skohozyajstvennaya biotekhnologiya i bioinzhenneriya [Agricultural Biotechnology and Bioengineering]. Moscow: URSS, 2015. 715 p. (In Russ.)

12. Kalashnikova E.A. Kletochnaya inzheneriya rastenij [Cellular Plant Engineering]. Moscow: Urait, 2020. 333 p. (in Russ.)

Информация об авторах

Александр Михайлович Антонов – кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий кафедрой ландшафтной архитектуры и искусственных лесов, доцент;

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

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

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

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

Information about the authors

Alexander M. Antonov – Candidate of Science (Agriculture), Head of Architecture and Artificial Forests Chair; Associate Professor;

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

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

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

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

Статья поступила в редакцию 09.06.2023; одобрена после рецензирования 23.06.2023; принята к публикации 27.06.2023.

The article was submitted 09.06.2023; approved after reviewing 23.06.2023; accepted for publication 27.06.2023.