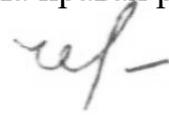


На правах рукописи



Чудецкий Антон Игоревич

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО  
РАЗМНОЖЕНИЯ ЛЕСНЫХ ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ РОДА *VACCINIUM*  
ДЛЯ ПЛАНТАЦИОННОГО ВЫРАЩИВАНИЯ НА НЕЛЕСНЫХ ЗЕМЛЯХ  
ЛЕСНОГО ФОНДА**

06.03.02 – Лесоведение, лесоводство, лесоустройство и лесная таксация

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук

Пушкино – 2022

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении  
«Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства  
и механизации лесного хозяйства»

Научный руководитель: доктор сельскохозяйственных наук, академик РАН  
Родин Сергей Анатольевич

Официальные оппоненты: Беляева Наталия Валерьевна, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, профессор кафедры лесоводства ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С.М. Кирова»

Машкина Ольга Сергеевна, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, доцент кафедры генетики, цитологии и биоинженерии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Ведущая организация: ФБУ «Северный научно-исследовательский институт лесного хозяйства»

Защита состоится «16» сентября 2022 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.008.03 на базе ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова» по адресу: 163002, г. Архангельск, набережная Северной Двины, 17, ауд. 1220.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова» ([www.narfu.ru](http://www.narfu.ru)).

Автореферат разослан «\_\_» июля 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, канд. с.-х. наук, доцент



Тюкавина  
Ольга Николаевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Одной из важнейших задач лесного хозяйства России является организация многоцелевого, рационального и неистощительного использования лесов. Аренда лесных участков для такого вида лесопользования, как выращивание лесных плодовых, ягодных, декоративных и лекарственных растений до настоящего времени не получила широкого распространения и практикуется в очень незначительных объемах. В последние годы как в России, так и за рубежом возрастает спрос на продукцию лесных ягодных растений, в том числе видов рода *Vaccinium* L. (брусника, голубика, клюква и др.), имеющих высокую пищевую и лекарственную ценность. Однако лесохозяйственная и промышленная деятельность, техногенное загрязнение, лесные пожары, нерегулируемая эксплуатация, сильное варьирование урожаев по годам высокопродуктивных ягодных угодий приводят к значительному сокращению площадей хозяйственно ценных видов лесных ягодных растений. Известно, что важной мерой как сохранения природных ягодных ресурсов, так и удовлетворения спроса на ягодную продукцию является организация их выращивания путем создания высокопродуктивных промышленных ягодных плантаций. Мировой опыт уже показал эффективность создания таких плантаций. Для выращивания большинства видов лесных ягодных растений рода *Vaccinium* L. (брусника, голубика, клюква и др.) перспективны мало используемые нелесные земли, в первую очередь, осушенные и выработанные торфяники, занимающие в данный момент значительные площади. Создание плантаций на таких землях позволит не только увеличить объем ягодной продукции, но и будет способствовать их рекультивации и дальнейшему использованию, что в настоящее время имеет важное природоохранное и народнохозяйственное значение. Для создания промышленных плантаций на значительных площадях в оптимальные сроки требуется большое количество качественного, здорового селекционного посадочного материала. Для этого необходимы подбор и разработка наиболее экономичных и эффективных способов получения качественного посадочного материала. Использование традиционных методов вегетативного размножения лесных ягодных растений экономически не эффективно при создании ягодных плантаций. Для промышленного выращивания лесных ягодных растений целесообразно использование метода микроклонального размножения, однако ныне существующие технологии микроклонирования представителей рода *Vaccinium* нуждаются в разработке и совершенствовании.

**Степень разработанности.** Несмотря на многочисленные исследования по микроклональному размножению брусники обыкновенной, до сих пор проведено очень мало исследований по культивированию *in vitro* и адаптации *ex vitro* высокопродуктивных сортов и гибридных форм российской селекции (Решетников и др., 2007; Зонтиков и др., 2019). Крайне мало сведений о выращивании красники в культуре *in vitro* (Stanienė et al., 2002). Практически не встречаются данные об использовании современных ростостимулирующих экопрепаратов (Циркон, НВ-101) при выращивании *in vitro* и адаптации *ex vitro*

лесных ягодных растений (в том числе рода *Vaccinium*). Исследований по влиянию светодиодного освещения различного спектрального состава на рост и развитие лесных ягодных растений рода *Vaccinium* в культуре *in vitro* на сегодняшний день проведено недостаточно, известны единичные исследования по голубике и клюкве (Hung et al., 2016; Макаров и др., 2021).

**Цель работы** – разработка технологии микрклонального размножения лесных ягодных растений рода *Vaccinium* (брусника обыкновенная, красника) для массового получения посадочного материала в целях плантационного выращивания.

В соответствии с поставленной целью решались следующие **задачи**:

- 1) разработать технологию размножения красники в условиях *in vitro*;
- 2) усовершенствовать технологию размножения российских сортов брусники обыкновенной в условиях *in vitro*;
- 3) определить оптимальный спектральный состав источников освещения при микрклональном размножении лесных ягодных растений рода *Vaccinium*;
- 4) разработать технологию адаптации клонируемых *in vitro* лесных ягодных растений рода *Vaccinium* к нестерильным условиям *ex vitro*;
- 5) изучить влияние добавки современных ростостимулирующих экопрепаратов (Циркон, НВ-101) на морфогенетический потенциал растений брусники обыкновенной и красники *in vitro* и *ex vitro*.

**Научная новизна.** Впервые проведены исследования на всех этапах микрклонального размножения красники и российских сортов и гибридных форм брусники обыкновенной с использованием новых стерилизующих веществ (Лизоформин 3000, Экостерилизатор бесхлорный) и ростостимулирующих биопрепаратов (Циркон, НВ-101). Проведены опыты по изучению влияния светодиодного освещения различного спектрального состава на процессы побегообразования и корнеобразования брусники обыкновенной и красники *in vitro*. Проведены испытания различных субстратов (торф, в том числе в смеси с песком, вермикулитом, перлитом) при адаптации растений-регенерантов брусники обыкновенной и красники к нестерильным условиям *ex vitro*. Разработан полный технологический цикл микрклонального размножения для красники, проведены работы по адаптации данного вида к природно-климатическим условиям ЕЧР. Впервые проведены опыты по проращиванию семян красники и российских гибридных форм брусники обыкновенной на аппарате АПС-2М.

**Теоретическая и практическая значимость.** Экспериментально подобран оптимальный состав питательных сред для культивирования лесных ягодных растений рода *Vaccinium* (брусника, красника) в условиях *in vitro*. Выявлена оптимальная концентрация росторегулирующих веществ цитокининовой и ауксиновой групп на этапах «собственно микрразмножение» и «укоренение микропобегов *in vitro*». Установлен оптимальный спектральный состав светодиодного освещения для повышения морфометрических показателей растений брусники обыкновенной и красники в культуре *in vitro*. Экспериментально установлен и выявлен оптимальный состав субстрата для адаптации брусники обыкновенной и красники, размноженных в культуре

*in vitro*, к нестерильным условиям *ex vitro*. Выявлено, что применение современных экопрепаратов (Циркон, НВ-101) на этапах «собственно микроразмножение», «укоренение микропобегов *in vitro*» и при адаптации лесных ягодных растений рода *Vaccinium* к нестерильным условиям *ex vitro* позволяет улучшить их рост и развитие при клонировании и доращивании в нестерильных условиях. Полученный таким способом посадочный материал за один вегетационный период может достигать необходимой стадии развития в соответствии с техническими требованиями Национального стандарта РФ (ГОСТ 3 53135-2008). Разработаны и внедрены в производство Методические рекомендации по выращиванию посадочного материала брусники и красники *in vitro* и *ex vitro*, предназначенные для использования при промышленном получении посадочного материала и его выращивании на плантациях.

Исследования проводились в рамках выполнения НИР Государственного задания Рослесхоза филиалу ФБУ ВНИИЛМ «Центрально-европейская ЛОС по темам: «Изучение, анализ и оценка форм лесных ягодных растений, перспективных для выращивания на выработанных торфяниках» (2017–2019) (госрегистрационный № АААА-А17-117048010032-0); «Разработка способов получения посадочного материала лесных ягодных растений для выращивания на нелесных землях» (2020–2022) (госрегистрационный № АААА-А20-120021390059-6). Основные теоретические и практические положения диссертационной работы могут быть использованы в учебном процессе при подготовке студентов сельскохозяйственных и лесохозяйственных специальностей при изучении следующих дисциплин: «Агрономия», «Основы биотехнологии», «Сельскохозяйственная биотехнология», а также специалистами сельскохозяйственных, лесохозяйственных предприятий и представителями агробизнеса в их практической деятельности.

**Методология и методы исследований.** Методологической основой исследований явился системный подход в выявлении факторов, влияющих на эффективность культивирования лесных ягодных растений рода *Vaccinium* (брусника обыкновенная, красника) при современных методах размножения и их взаимосвязи с качественными показателями изучаемых ягодных культур. Лабораторные исследования (микрклональное размножение и семенное размножение лесных ягодных растений) проводились на базе филиала ФБУ ВНИИЛМ «Центрально-европейская лесная опытная станция». Полевые опыты (вегетативное размножение брусники обыкновенной; адаптация лесных ягодных растений, полученных методом *in vitro*, к естественным почвенным условиям) проводились на участках выработанных торфяных месторождений верхового и переходного типов на землях лесного фонда в Костромском районе Костромской области. Для проверки выдвинутых положений и решения поставленных задач использовались следующие методы исследований: анализ литературных источников, проведение лабораторных исследований и полевых опытов, статистическая обработка полученных данных, экономический расчет произведенных затрат.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Технология размножения брусники обыкновенной и красники в условиях *in vitro*.

2. Оптимальный состав питательных сред для этапа «собственно микроразмножение», оптимальные концентрации росторегулирующих веществ и добавок ростостимулирующих биопрепаратов (Циркон, НВ-101) и оптимальный спектральный состав света на этапах побегообразования и корнеобразования *in vitro* брусники обыкновенной и красники.

3. Технология использования минеральных компонентов субстрата (вермикулит, перлит) с добавлением ростостимулирующих биопрепаратов (Циркон, НВ-101) при адаптации брусники обыкновенной и красники к нестерильным условиям *ex vitro*.

**Степень достоверности результатов.** Научные положения, выводы и предложения производству, сформулированные в диссертационной работе, базируются на полученных в ходе исследований теоретических и экспериментальных данных, не противоречащих известным положениям в биотехнологии, почвоведении, агрохимии и агрономии. Данные обработаны методами математической статистики с использованием программных средств Microsoft Office Excel 2016, StatSoft STATISTICA 10.0.1011 и AGROS v2.11. Использован двухфакторный и трехфакторный дисперсионный анализ. Оценка достоверности различий между средними данными вариантов опытов проведена с помощью наименьшей существенной разности для 5%-го уровня значимости ( $НСР_{05}$ ) и параметрических критериев Стьюдента и Дункана.

**Апробация работы.** Результаты научных исследований представлены на Международной научной конференции молодых ученых «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» (Москва, 2020, 2021); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе» (Караваево, 2021); Международной научной конференции «Плодоводство, семеноводство, интродукция древесных растений» (Красноярск, 2021, 2022); Международной научно-практической конференции «Инновации в природообустройстве и защите в чрезвычайных ситуациях» (Саратов, 2021); Всероссийской научно-практической конференции «Безопасный Север – чистая Арктика» (Сургут, 2021); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Повышение эффективности лесного комплекса» (Петрозаводск, 2022).

Полученные результаты НИР внедрены в учебный процесс на кафедре растениеводства, земледелия и агрохимии ФГБОУ ВО «Вологодская ГМХА им. Н.В. Верещагина» и на кафедре биологии и биотехнологии БУ ВО ХМАО – Югры «Сургутский государственный университет», а также в использование при закладке ягодных плантаций ООО «Ягоды Югры» (г. Ханты-Мансийск), СПК «Архангельская клюква» (Холмогорский р-н Архангельской области), ООО «Кремь» (Костромской р-н Костромской области).

**Декларация личного участия.** Диссертационная работа является результатом исследований автора в 2015–2021 гг. Работа выполнена самостоятельно и с участием автора на всех ее этапах: выбор и формулирование

темы, цели и задач, формирование аналитического литературного обзора, проведение опытов и обеспечение их рабочими методиками, практическая реализация лабораторных и полевых исследований, статистическая обработка информации, обобщение фактических данных, написание выводов, заключения и рекомендаций производству. Все опубликованные работы написаны лично автором или при его непосредственном участии (в соавторстве).

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 208 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, заключения, рекомендаций производству, списка используемой литературы и приложений. Работа содержит 50 таблиц, 21 рисунок. Список литературы включает 380 наименований, в том числе 122 на иностранных языках.

**Публикации.** По теме диссертационных исследований опубликовано 18 научных работ, в том числе: 9 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 1 статья в международной наукометрической базе Scopus.

**Конфликт интересов.** Автор (Чудецкий Антон Игоревич) заявляет об отсутствии конфликта интересов.

## 1. СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА

В последние годы возрастает спрос на ягодную продукцию лесных ягодных растений видов *Vaccinium* L., обладающих высокой пищевой и лекарственной ценностью. Лесохозяйственная и промышленная деятельность, техногенное загрязнение, лесные пожары, повышенная антропогенная нагрузка и нерегулируемая эксплуатация ягодных угодий приводят к значительному сокращению площадей хозяйственно ценных лесных ягодных растений, а для некоторых видов возникает угроза их исчезновения (Тяк и др., 2016; Шутов, Черкасов, 2006). Восстановлению зарослей лесных ягодных растений рода *Vaccinium* может в значительной степени способствовать создание плантаций на выработанных торфяниках, что подтверждается мировым опытом (Starast et al., 2000; Vahejõe et al., 2010; Тяк и др., 2016). Вопрос о рекультивации земель, вышедших из-под торфодобычи, и дальнейшем их использовании имеет важное природоохранное и народнохозяйственное значение, особенно на территории европейской части России (Основные направления действий ..., 2003).

Для успешного экономически эффективного выращивания растений в промышленных масштабах одним из основных условий является использование сортового посадочного материала. Имеющиеся сорта брусники обыкновенной зарубежной селекции по ряду важнейших признаков не подходят для выращивания во многих регионах России. Созданные в Костромской области российские сорта и отобранные перспективные хозяйственно ценные формы брусники обыкновенной с заданными свойствами для промышленного выращивания на плантациях имеют высокую урожайность и устойчивость к внешним факторам окружающей среды (Тяк и др., 2002; Корнев и др., 2019), что открывает широкую перспективу их плантационного выращивания в условиях Нечерноземной зоны европейской части России.

При традиционных способах размножения от материнского растения получается мало растений, что делает их использование нецелесообразным при промышленном выращивании ягодных растений. Для плантационного выращивания лесных ягодных растений целесообразно использовать микрклональное размножение, которое позволяет вне сезона и в короткие сроки получать огромное количество оздоровленных сортовых растений для закладки плантаций из небольшого количества исходного материала (Бутенко, 1999; Сельскохозяйственная биотехнология ..., 2015). С 1980-х гг. учеными разных стран проведено много исследований по микрклональному размножению брусники обыкновенной *in vitro* с использованием различных питательных сред и росторегулирующих веществ, а также субстратов при адаптации к нестерильным условиям (Hosier et al., 1985; Сидорович и др., 1991; Сидорович, Кутас, 1998; Кутас, 2012; Gustavsson, Stanys, 2000; Debnath, McRae, 2001; Jaakola et al., 2001; Stanienė et al., 2002; Debnath, 2003; 2005; Litwinczuk, 2003; Ostrolucká et al., 2004; 2009; Foley, 2006; Ondrušková et al., 2006; Gajdošová et al., 2007; Meiners et al., 2007; Стахеева, 2009; Cardenal, Maldonado, 2010; Решетников и др., 2012; Ogawa et al., 2014; Paprštejn, Sedlák, 2015; Кухарчик и др., 2016; Georgieva et al., 2016; Li, Deng, Li, 2018; Mazurek, Siekierzyńska, 2018; Arigundam et al., 2020). Несмотря на многочисленные исследования по выращиванию брусники обыкновенной *in vitro* и адаптации к нестерильным условиям *ex vitro*, до сих пор проведено очень мало исследований по микрклональному размножению и адаптации высокопродуктивных сортов российской селекции (Решетников и др., 2007; Зонтиков и др., 2019), в связи с чем требуется совершенствование технологии. Данные о выращивании красники *in vitro* почти не известны (Stanienė et al., 2002), в связи с чем необходима разработка технологии микрклонального размножения для данного вида. Мало изучено влияние светодиодного освещения различного спектрального состава на рост и развитие лесных ягодных растений рода *Vaccinium* в культуре *in vitro*, известны немногочисленные исследования по голубике и клюкве (Hung et al., 2016; Макаров и др., 2021). Необходимо проведение комплексных исследований и дополнительных экспериментов по микрклональному размножению красники и российских сортов и гибридов брусники обыкновенной, с подбором стерилизующих агентов, питательных сред, росторегулирующих и ростостимулирующих веществ и типов освещения.

## **2. МЕТОДИКА, ОБЪЕКТЫ И ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙОНА ИССЛЕДОВАНИЙ**

В качестве объектов исследований использовали растения: брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.) (сорта Koralle, Костромская розовая, Костромичка; гибридные формы 6-91, 7-91, 8748-7-2); красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) (формы Сахалинская, Курильская).

Опытные участки находятся на территории выработанных торфяных месторождений на землях лесного фонда в Костромском районе Костромской области: участок №1 представляет выработанный торфяник верхового типа,

участок №2 – переходного типа. Район исследований находится на территории Костромского района в Костромской области, в южно-таежном лесном районе европейской части России. Климат региона – умеренно-континентальный. Почвенно-климатические условия района исследований приемлемы для возделывания ягодных растений рода *Vaccinium*.

Опыты по размножению лесных ягодных растений традиционными способами проводили:

– семенным способом – путем проращивания на аппарате АПС-2М и посева семян брусники в субстрат из верхового торфа, красники – в смесь торфа с песком (3:1);

– вегетативным способом – однолетними парциальными побегами для брусники обыкновенной гибридных форм 6-91, 7-91 и 8748-7-2 в кассетах с субстратом из верхового торфа.

Исследования по микроклональному размножению проводили в соответствии с общепринятыми методиками (Бутенко, 1999; Сельскохозяйственная биотехнология ..., 2015; Лабораторный практикум ..., 2017; Бьядовский, Упадышев, 2020). На этапе «введение в культуру *in vitro*» для стерилизации исходного растительного материала, предназначенного для вычленения экспланта, применяли стерилизующие растворы: сулемы (0,1%), азотнокислого серебра (0,2%), моющего средства «Доместос» (1:3), препаратов Лизоформин 3000 (5%) и Экостерилизатор бесхлорный (5%); время стерилизации – 5; 10; 15 и 20 мин. Выделенные экспланты культивировали в течение 5 недель в условиях световой комнаты при температуре +22...+25°C, интенсивности света 1500–2000 лк, 16-часовом фотопериоде; в каждом варианте опыта по 100 эксплантов; через 14 дней учитывали жизнеспособность эксплантов по соотношению живых эксплантов к общему количеству введенных в культуру. На этапе «собственно микроразмножение» культивирование растений-регенерантов проводили в световой комнате при освещении 2500–6000 лк, 16-часовом фотопериоде, температуре +23...+25°C и влажности воздуха 70–80%; использовали питательные среды: для брусники обыкновенной – Андерсона (AN), для красники – Woody Plant Medium (WPM), в т.ч. в вариантах разбавления минеральных солей в 2 и 4 раза. В качестве цитокининов применяли: для выращивания брусники – 2-изопенталаденин (2-иР) в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л; красники – 6-бензиламинопурил (6-БАП) в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л. На этапе «укоренение микропобегов» в качестве ауксинов использовали индолилмасляную (ИМК) и индолилуксусную (ИУК) кислоты в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л. В качестве стимуляторов роста использовали добавки экопрепаратов: Циркон 0,5 мл/л; НВ-101 0,1 мл/л; Эпин-Экстра 0,1 мл/л (для красники). В качестве источников освещения использовали люминесцентные лампы белого спектра ( $\lambda = 600$  нм); светодиодные лампы белого спектра ( $\lambda = 653$  нм) и с комбинацией белого ( $\lambda = 653$  нм), красного ( $\lambda = 670$  нм) и синего ( $\lambda = 455$  нм) спектров.

Для адаптации к нестерильным условиям *ex vitro* полученные растения с хорошо развитой корневой системой промывали корни в 1% растворе  $\text{KMnO}_4$ ; укорененные растения со 2-й декады марта по 3-ю декаду мая пересаживали в

кассеты с объемом ячейки 81,7 и 100 см<sup>3</sup>. В качестве субстратов использовали: торф верхового типа (заготовленный с опытного участка №1), в т.ч. в смеси с песком (1:1), вермикулитом (1:4) и перлитом (1:4). В течение 10 сут. ежедневно проводили опрыскивание растений водой и растворами препаратов Циркон 0,5 мл/л и НВ-101 0,1 мл/л. Одновременно заложили аналогичный опыт с вариантом мульчирования (слой – до 1 см) растений мхом *Sphagnum* L. Кассеты с адаптируемыми растениями ставили в условия освещения 8000 лк, температуры +25°C и влажности 80–90%. Ежедневно в течение 7 дней растения опрыскивали, после чего проводили первую подкормку 1/5 минеральным составом среды WPM. Через 10 сут. провели первую ревизию растений. Через 3 месяца после доращивания адаптированные растения с закрытой корневой системой пересаживали на опытные участки (схема посадки брусники – 0,3×1,0 м, красники – 0,4×0,4 м).

### **3. ТРАДИЦИОННЫЕ СПОСОБЫ РАЗМНОЖЕНИЯ ЛЕСНЫХ ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ РОДА *VACCINIUM***

При проращивании семян брусники обыкновенной на аппарате АПС-2М отмечена их высокая всхожесть (70,5–93,5%) на субстрате из верхового торфа. Сеянцы из проросших семян брусники сорта Костромская розовая и формы 6-91 отличались наибольшим суммарным приростом (19,9 см) и наибольшим числом побегов одного растения (2,2–2,3 шт.). Наибольшую энергию прорастания (85–89%) при проращивании на аппарате АПС-2М имели стратифицированные семена красники. При посеве в смесь торфа с песком (3:1) энергия прорастания стратифицированных семян красники без предварительного проращивания составила 70–74%, всходов из пророщенных на аппарате семян – 81–84%.

При размножении саженцев российских гибридных форм брусники обыкновенной однолетними парциальными побегами их укореняемость составила 100%. Максимальная высота саженцев (13,1–13,4 см) отмечена у форм 7-91 и 8748-7-2. Через год после пересадки саженцев брусники с закрытой корневой системой на выработанный торфяник переходного типа наблюдалось цветение и завязывание ягод отдельных растений. Все гибридные формы отличались относительной высокорослостью парциальных кустов (18...25 см), крупноплодностью (0,39...0,78 г) и высокой урожайностью (160...1079 г/м<sup>2</sup>) за весь период наблюдений, однако показатели варьировали по формам.

#### 4. ТЕХНОЛОГИЯ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ЛЕСНЫХ ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ РОДА *VACCINIUM*

В результате исследований установлено, что на этапе «введение в культуру *in vitro*» наиболее эффективными основными стерилизующими агентами для эксплантов брусники обыкновенной оказались  $\text{AgNO}_3$  0,2% и препарат Лизоформин 3000 5% при времени стерилизации 10 мин (жизнеспособность эксплантов – 70–72%), для эксплантов красники –  $\text{AgNO}_3$  0,2% при времени стерилизации 10 мин и Экостерилизатор бесхлорный 5% при времени стерилизации 20 мин (жизнеспособность эксплантов – 92–96%).

На этапе «собственно микроразмножение» суммарная длина микропобегов брусники обыкновенной исследуемых сортов *in vitro* была больше на питательной среде AN, гибридных форм – на среде AN 1/2. Максимальная суммарная длина побегов брусники исследуемых сортов отмечена на питательной среде AN при концентрации цитокинина 2-*iP* 2,0 мг/л и добавлении препарата НВ-101 0,1 мл/л (рис. 1); гибридных форм – при концентрации 2-*iP* 1,0 мг/л.

На этапе «укоренение микропобегов» суммарная длина корней брусники обыкновенной *in vitro* на питательной среде AN была существенно больше в вариантах с ауксином ИУК в концентрации 2,0 мг/л. При наличии в питательной среде препарата НВ-101 в концентрации 0,1 мл/л суммарная длина корней брусники обыкновенной была статически значимо больше, чем в контроле. Суммарная длина корней брусники обыкновенной *in vitro* была максимальной при концентрации ауксина ИУК 2,0 мг/л с добавлением препарата НВ-101 в концентрации 0,1 мл/л (рис. 2).

При микроклональном размножении красники количество побегов растений и их суммарная длина были существенно больше на питательной среде WPM 1/2. Максимальная суммарная длина микропобегов красники отмечена на питательной среде WPM 1/2 с концентрацией цитокинина 6-БАП 0,5 мг/л и добавлением препарата НВ-101 0,1 мл/л (рис. 3). В опыте с добавлением в питательную среду WPM 1/2 препарата Эпин-Экстра 0,1 мл/л максимальная суммарная длина побегов (9,5 см) красники *in vitro* отмечена при концентрации 6-БАП 0,5 мг/л.

На этапе «укоренение микропобегов» суммарная длина корней красники на питательной среде WPM 1/2 была существенно больше в вариантах с ИМК 2,0 мг/л. Максимальная суммарная длина корней красники отмечена в вариантах с добавлением препарата НВ-101 0,1 мл/л (рис. 4).

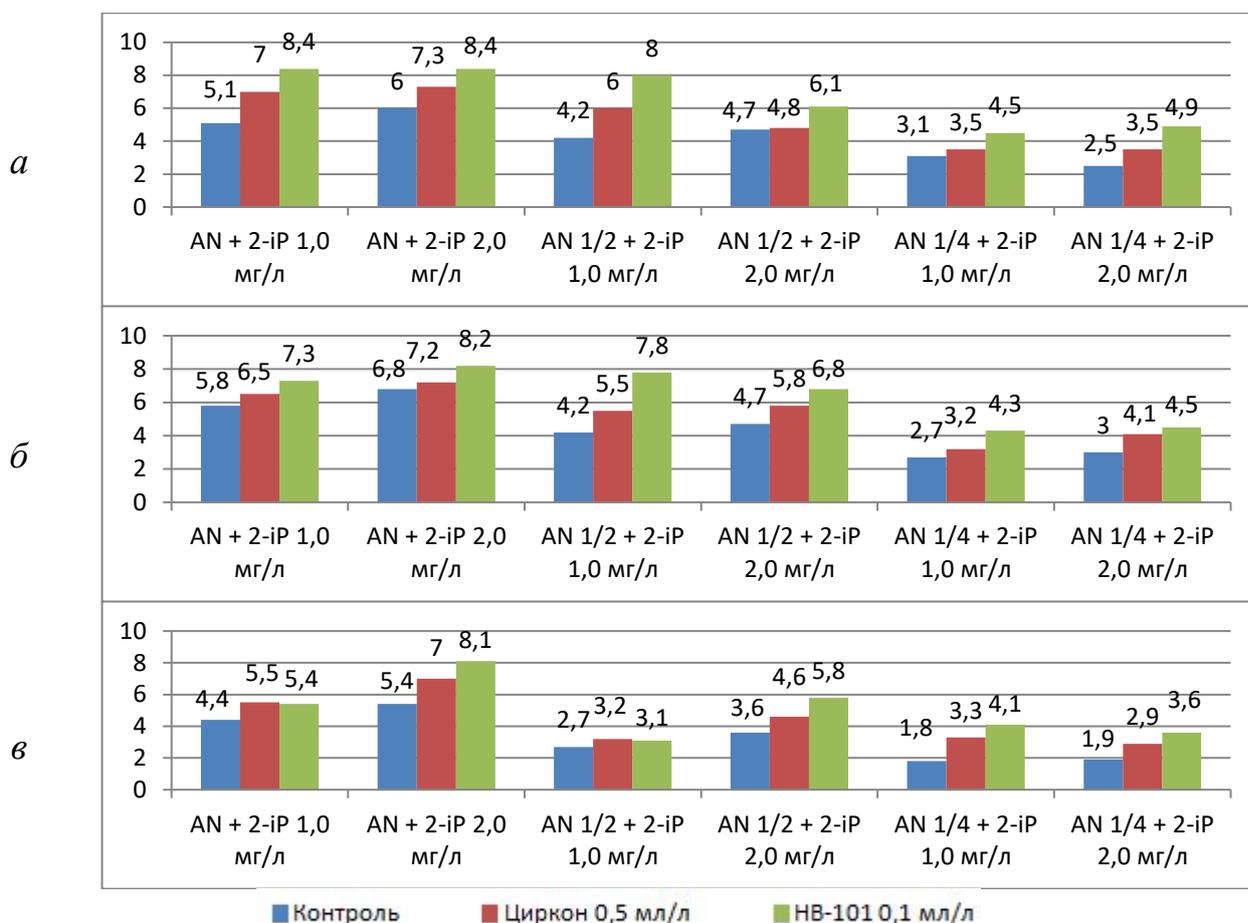


Рис. 1. Суммарная длина микропобегов (см) брусники обыкновенной *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации регуляторов роста и экопрепаратов: *а* – Костромская розовая; *б* – Костромичка; *в* – Koralle

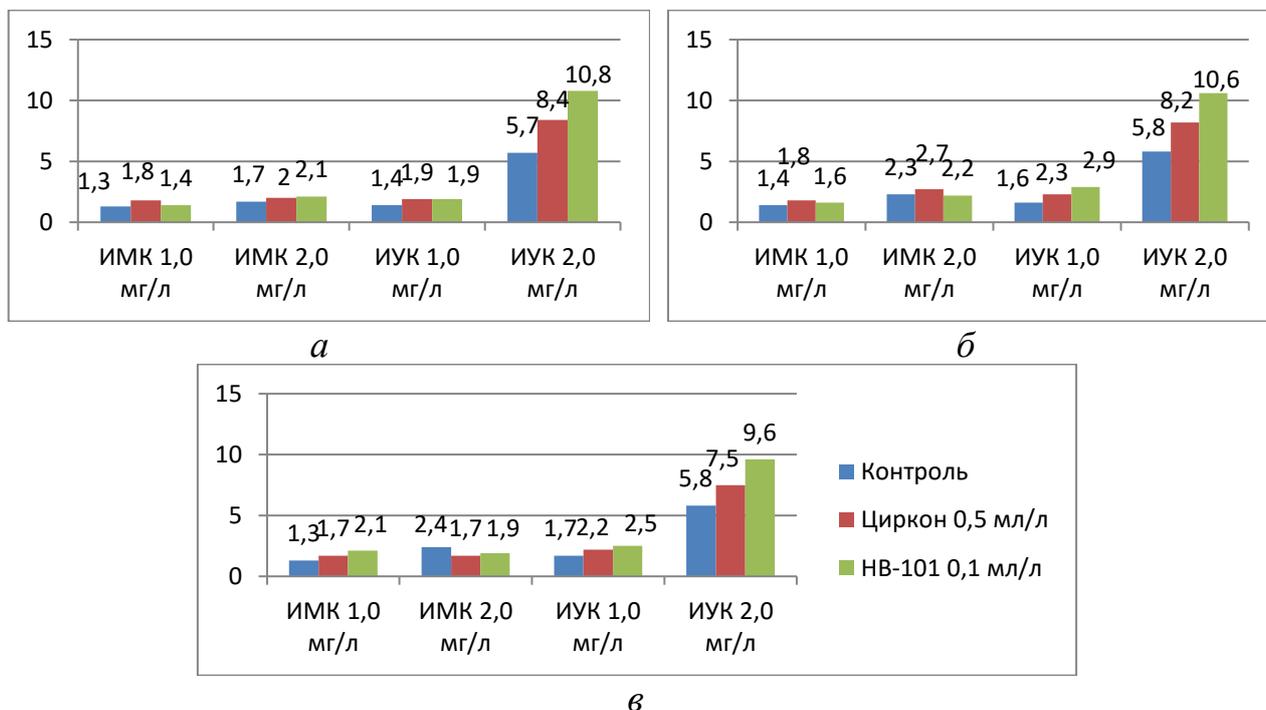


Рис. 2. Суммарная длина корней (см) брусники обыкновенной *in vitro* на питательной среде AN в зависимости от концентрации регуляторов роста и экопрепаратов: *а* – Костромская розовая; *б* – Костромичка; *в* – Koralle

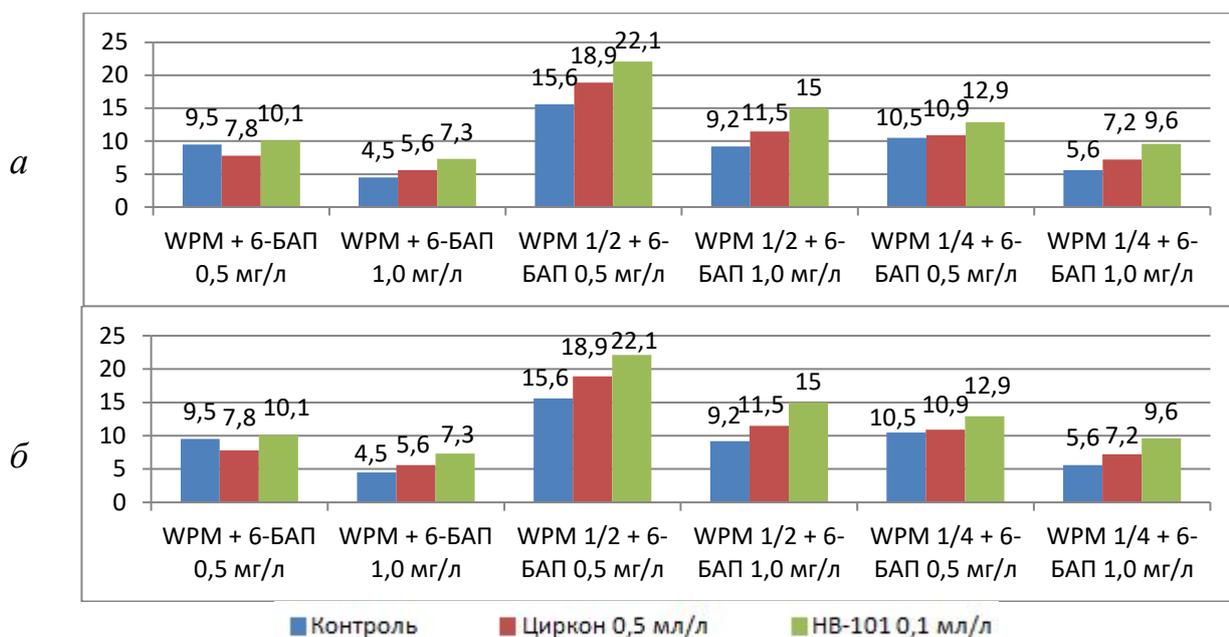


Рис. 3. Суммарная длина микропобегов (см) красники *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации регуляторов роста и экопрепаратов по формам: а – Сахалинская; б – Курильская

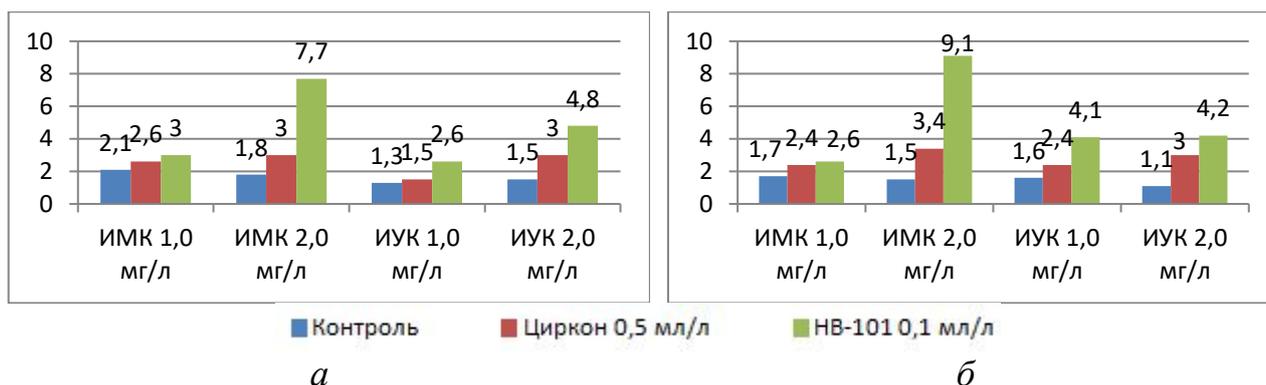


Рис. 4. Суммарная длина корней (см) красники *in vitro* на питательной среде WPM 1/2 в зависимости от концентрации регуляторов роста и экопрепаратов по формам: а – Сахалинская; б – Курильская

При освещении наземной части растений-регенерантов брусники обыкновенной и красники светодиодными лампами с комбинацией белого, красного и синего спектров (СД-Б+К+С) побегообразование и корнеобразование происходили наиболее интенсивно, формировалось большее количество микропобегов и корней большей длины по сравнению с освещением светодиодными (СД-Б) и люминесцентными лампами белого спектра (ЛБ). При этом суммарная длина микропобегов и корней брусники сорта Костромская розовая была значительно больше, чем у сорта Koralle, тогда как между формами красники статистически значимых различий по биометрическим показателям в зависимости от типа освещения не отмечено (табл. 1).

Таблица 1 – Суммарная длина побегов и корней брусники обыкновенной и красники *in vitro* в зависимости от типа освещения и сорта или формы

Сорт / форма	Суммарная длина, см							
	микропобегов				корней			
	ЛБ	СД-Б	СД-Б+К+С	Среднее	ЛБ	СД-Б	СД-Б+К+С	Среднее
<b>Брусника обыкновенная</b>								
Koralle	5,8	8,7	13,6	9,4	1,0	4,2	12,5	5,9
Костромская розовая	7,1	8,9	16,1	10,7	2,6	4,6	18,5	8,6
Среднее	6,5	8,8	14,9	-	1,8	4,4	15,5	-
НСР <sub>05</sub>	ф. А = 1,96, ф. В = 1,41, общ. = 2,10				ф. А = 1,97, ф. В = 1,65, общ. = 2,41			
<b>Красника</b>								
Сахалинская	3,1	7,2	15,6	8,6	1,8	4,1	9,3	5,1
Курильская	1,8	5,0	12,0	6,3	2,5	4,6	10,8	6,0
Среднее	2,5	6,1	13,8	-	2,2	4,4	10,0	-
НСР <sub>05</sub>	ф. А = 3,86, ф. В = 4,11, общ. = 6,10				ф. А = 1,75, ф. В = 1,35, общ. = 2,31			

## 5. АДАПТАЦИЯ К НЕСТЕРИЛЬНЫМ УСЛОВИЯМ *EX VITRO* ЛЕСНЫХ ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ РОДА *VACCINIUM*

На этапе адаптации полученных методом *in vitro* растений к нестерильным условиям *ex vitro* наилучшая приживаемость брусники обыкновенной (68–98%) и красники (68–93%) отмечена при пересадке их в мае. Наибольшая приживаемость брусники *ex vitro* выявлена при использовании субстратов: торфа верхового типа, смесей торфа с перлитом (1:4) и с вермикулитом (1:4). Лучшая приживаемость красники *ex vitro* выявлена при использовании верхового торфа, смесей торфа с песком (1:1) и с вермикулитом (1:4) (табл. 2).

Наибольшее количество побегов брусники *ex vitro* отмечено на субстрате из верхового торфа, количество листьев – на смеси торфа с вермикулитом 1:4. Статистически значимых различий по биометрическим показателям красники *ex vitro* в зависимости от типа субстрата не отмечено. Максимальные значения приживаемости и биометрических показателей обоих видов наблюдаются в вариантах обработки препаратом НВ-101 0,1 мл/л. При мульчировании посадок мхом *Sphagnum* L. приживаемость растений брусники обыкновенной (70–99%) и красники (72–94%) оказалась несколько выше, чем без мульчирования.

После пересадки исследуемых растений в естественные условия на участки выработанных торфяных месторождений переходного и верхового типа отмечена высокая приживаемость растений: у брусники обыкновенной – 98–100%, у красники – 75–83%.

Таблица 2 – Приживаемость и биометрические показатели лесных ягодных растений рода *Vaccinium* в условиях *ex vitro*, высаженных в мае, без мульчирования в зависимости от субстрата и варианта обработки

Субстрат	Вариант обработки	Приживаемость, %	Количество побегов, шт.	Количество листьев, шт.
<b>Брусника обыкновенная</b>				
Торф верховой	Контроль (вода)	92	6,3±0,28	56,8±0,87
	Циркон 0,5 мл/л	90	5,1±0,35	46,6±0,78
	НВ-101 0,1 мл/л	91	7,2±0,41	62,1±0,93
Торф + песок (1:1)	Контроль (вода)	68	2,4±0,24	29,8±0,32
	Циркон 0,5 мл/л	74	3,6±0,31	34,4±0,35
	НВ-101 0,1 мл/л	88	4,2±0,36	39,8±0,42
Торф + вермикулит (1:4)	Контроль (вода)	82	3,1±0,22	96,7±0,98
	Циркон 0,5 мл/л	87	3,4±0,25	102,5±1,05
	НВ-101 0,1 мл/л	91	3,9±0,29	115,2±1,12
Торф + перлит (1:4)	Контроль (вода)	79	3,0±0,22	31,5±0,24
	Циркон 0,5 мл/л	85	3,6±0,30	38,6±0,31
	НВ-101 0,1 мл/л	98	4,2±0,41	46,3±0,40
<b>Красника</b>				
Торф верховой	Контроль (вода)	88	2,5±0,24	4,0±0,48
	Циркон 0,5 мл/л	75	3,2±0,29	4,2±0,43
	НВ-101 0,1 мл/л	90	3,8±0,34	4,9±0,52
Торф + песок (1:1)	Контроль (вода)	91	1,9±0,21	4,2±0,44
	Циркон 0,5 мл/л	82	2,8±0,25	4,4±0,49
	НВ-101 0,1 мл/л	93	3,1±0,32	4,7±0,50
Торф + вермикулит (1:4)	Контроль (вода)	76	2,7±0,29	4,1±0,45
	Циркон 0,5 мл/л	82	3,4±0,33	4,5±0,51
	НВ-101 0,1 мл/л	90	3,9±0,36	4,8±0,54
Торф + перлит (1:4)	Контроль (вода)	68	2,6±0,29	4,2±0,46
	Циркон 0,5 мл/л	75	3,2±0,35	4,5±0,43
	НВ-101 0,1 мл/л	88	3,7±0,41	4,7±0,52

## 6. ОРГАНИЗАЦИОННО-ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ЛЕСНЫХ ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ РОДА *VACCINIUM*

По результатам экономических расчетов на примере брусники обыкновенной, в структуре производственных затрат наибольший удельный вес составляют затраты на саженцы. Себестоимость выращивания одного растения, полученного методом *in vitro*, в пересчете на 1 га плантационной площади составила 30,59 руб. (табл. 3).

Таблица 3 – Себестоимость выращивания растений брусники обыкновенной

Показатель	В условиях <i>in vitro</i>	В производственных условиях (на 1 га)
Выход растений, шт.	62 500	62 500
Производственные затраты, руб.	1 578 281,8	1 911 937,2
Себестоимость одного растения, руб.	25,25	30,59

При расчете экономической эффективности производства брусники рентабельность составила 345,8% при полной себестоимости одного растения 33,65 руб., из чего следует, что на каждый рубль возмещенных затрат будет получено 3 руб. 45 коп. прибыли. Выращивание брусники обыкновенной методом микрклонального размножения экономически выгодно, и полученный таким способом посадочный материал можно рекомендовать для промышленного выращивания на предприятиях.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований разработана технология размножения красники и брусники обыкновенной *in vitro*. Подобраны оптимальный состав питательных сред для этапа «собственно микроразмножение», оптимальные концентрации росторегулирующих веществ и добавок ростостимулирующих биопрепаратов (Циркон, НВ-101) и оптимальный спектральный состав света на этапах побегообразования и корнеобразования *in vitro* брусники обыкновенной и красники. Разработана технология использования минеральных компонентов субстрата (вермикулит, перлит) с добавлением ростостимулирующих биопрепаратов (Циркон, НВ-101) при адаптации брусники и красники к условиям *ex vitro*.

При микрклональном размножении брусники обыкновенной и красники для стерилизации эксплантов на этапе «введение в культуру *in vitro*» наиболее эффективными стерилизующими агентами оказались нитрат серебра 0,2% при времени стерилизации 10 мин и препараты: для брусники – препарат Лизоформин 3000 5% при времени стерилизации 10 мин, для красники – Экостерилизатор бесхлорный 5% при времени стерилизации 20 мин.

Наилучшая регенерация микропобегов *in vitro* сортов брусники обыкновенной отмечена на питательной среде Андерсона с цитокинином 2-иР в концентрации 2,0 мг/л, красники – на питательной среде WPM 1/2 с цитокинином 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л.

Более эффективное укоренение побегов *in vitro* брусники обыкновенной на питательной среде AN отмечено при использовании ауксина ИУК в концентрации 2,0 мг/л. При укоренении микропобегов красники *in vitro* на питательной среде WPM 1/2 лучшие биометрические показатели отмечены при использовании ауксина ИМК в той же концентрации.

Значительному повышению количества и суммарной длины микропобегов и корней брусники обыкновенной и красники при микрклональном размножении способствует добавление препаратов Циркон 0,5 мл/л и НВ-101 0,1 мл/л, для красники – также Эпин-Экстра 0,1 мл/л. При этом максимальные показатели отмечены при использовании препарата НВ-101.

Освещение наземной части растений-регенерантов брусники обыкновенной и красники *in vitro* светодиодами с комбинацией белого, красного и синего спектров способствует формированию большего количества микропобегов и корней большей длины по сравнению с освещением светодиодами белого спектра и люминесцентными лампами.

При адаптации брусники обыкновенной и красники, полученных методом *in vitro*, к нестерильным условиям *ex vitro* наилучшая приживаемость растений отмечена при пересадке их в мае. Максимальные показатели приживаемости растений брусники *ex vitro* выявлены при использовании субстратов из верхового торфа, смесей торфа с перлитом (1:4) и с вермикулитом (1:4). Наилучшая приживаемость красники *ex vitro* отмечена при использовании смеси в качестве субстратов верхового торфа, смесей торфа с песком (1:1) и с вермикулитом (1:4). Наибольшее количество побегов брусники *ex vitro* отмечено на субстрате из верхового торфа, количество листьев – на смеси торфа с вермикулитом (1:4). Обработка субстратов препаратами Циркон 0,5 мл/л и НВ-101 0,1 мл/л способствует значительному повышению приживаемости и биометрических показателей брусники и красники, при этом наибольший эффект достигнут при использовании препарата НВ-101. Мульчирование посадок брусники и красники мхом *Sphagnum* L. способствует увеличению приживаемости растений.

Рентабельность выращивания брусники обыкновенной методом микроклонального размножения составляет 345,8%.

## РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

1. При создании плантаций брусники и красники на выработанных торфяных месторождениях целесообразно использовать посадочный материал, полученный методом микроклонального размножения.

2. При микроклональном размножении брусники обыкновенной на этапе «собственно микроразмножение» рекомендуется в питательную среду Андерсона добавлять цитокинин 2-іР в концентрации 2,0 мг/л, при выращивании красники – в питательную среду WPM 1/2 добавлять цитокинин 6-БАП в концентрации 1,0 мг/л.

3. На этапе «укоренение микропобегов» при выращивании брусники обыкновенной *in vitro* рекомендуется использование ауксина ИУК в концентрации 2,0 мг/л, при выращивании красники – ИМК в концентрации 2,0 мг/л.

4. Для улучшения органогенеза микропобегов и корней растений брусники обыкновенной и красники *in vitro* рекомендуется использование освещения светодиодными лампами с комбинацией белого, красного и синего спектров.

5. Для адаптации растений-регенерантов брусники обыкновенной и красники *ex vitro* наиболее целесообразно в качестве субстратов использовать верховой торф и смесь торфа с вермикулитом (1:4), для брусники – также смесь торфа с перлитом (1:4), для красники – смесь торфа с песком (1:1), а также мульчировать посадки сфагнумом.

6. На всех этапах микроклонального размножения брусники обыкновенной и красники рекомендуется добавление в питательную среду или субстрат ростостимулирующих экопрепаратов НВ-101 0,1 мл/л или Циркон 0,5 мл/л.

7. После пересадки адаптированных растений брусники обыкновенной и красники в полевые условия на участки выработанных торфяников необходимо применение комплексных минеральных удобрений и мульчирование.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*В журналах, рецензируемых ВАК Министерства образования и науки РФ:*

1. Кузнецова, И.Б. Влияние освещения на процессы побегообразования и ризогенеза брусники обыкновенной при клональном микроразмножении / И.Б. Кузнецова, **А.И. Чудецкий**, Г.В. Тяк // Вестник БГСХА им. В.Р. Филиппова. – 2021. – № 3 (64). – С. 102–108. DOI: 10.34655/bgsha.2021.64.3.013.

2. Макаров, С.С. Адаптация лесных ягодных растений к нестерильным условиям *in vivo* с применением современных биопрепаратов / С.С. Макаров, **А.И. Чудецкий**, Г.В. Тяк, Е.И. Куликова, И.Б. Кузнецова // Лесохозяйственная информация. – 2021. – № 3. – С. 84–91. DOI: 10.24419/LNI.2304-3083.2021.3.07.

3. Макаров, С.С. Влияние освещения на ризогенез ягодных растений при клональном микроразмножении / С.С. Макаров, С.А. Родин, И.Б. Кузнецова, **А.И. Чудецкий**, С.Ю. Цареградская // Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology). – 2021. – Т. 51. – № 3. – С. 520–528. DOI: 10.21603/2074-9414-2021-3-520-528 (Scopus).

4. Тяк, Г.В. Размножение перспективных гибридных форм брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.) / Г.В. Тяк, Л.Е. Курлович, С.С. Макаров, **А.И. Чудецкий**, И.Б. Кузнецова // Вестник БГСХА им. В.Р. Филиппова. – 2022. – № 1 (66). – С. 113–118. DOI: 10.34655/bgsha.2022.66.1.015

5. **Чудецкий, А.И.** Адаптация сортового посадочного материала брусники обыкновенной к нестерильным условиям *ex vitro* для выращивания на нелесных землях / **А.И. Чудецкий**, С.А. Родин, Л.В. Зарубина, И.Б. Кузнецова // Лесохозяйственная информация. – 2021. – № 4. – С. 106–113. DOI: 10.24419/LNI.2304-3083.2021.4.08.

6. **Чудецкий, А.И.** Влияние освещения на органогенез красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) при клональном микроразмножении / **А.И. Чудецкий**, И.Б. Кузнецова, С.С. Макаров, Е.И. Куликова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2021. – № 3 (89). – С. 92–95. DOI: 10.37670/2073-0853-2021-89-3-92-95.

7. **Чудецкий, А.И.** Использование современных ростостимулирующих экопрепаратов при микроклональном размножении брусники обыкновенной (*Vaccinium vitisidaea* L.) / **А.И. Чудецкий**, А.В. Заушинцена, С.А. Родин, И.Б. Кузнецова, Д.Н. Клевцов // Лесохозяйственная информация. – 2022. – № 2. – С. 56–66. DOI: 10.24419/LNI.2304-3083.2022.2.05

8. **Чудецкий, А.И.** Органогенез красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) при клональном микроразмножении / **А.И. Чудецкий**, С.А. Родин, П.А. Феклистов, И.Б. Кузнецова, Л.В. Зарубина // Лесохозяйственная информация. – 2022. – № 1. – С. 62–73. DOI: 10.24419/LNI.2304-3083.2022.1.04.

9. **Чудецкий, А.И.** Получение посадочного материала красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) методом клонального микроразмножения / **А.И. Чудецкий**, И.Б. Кузнецова, С.С. Макаров, В.В. Суров // Вестник БГСХА им. В.Р. Филиппова. – 2021. – № 2 (63). – С. 122–128. DOI: 10.34655/bgsha.2021.63.2.017.

*Публикации в прочих изданиях:*

10. Кузнецова, И.Б. Особенности клонального микроразмножения красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) на этапах «введение в культуру *in vitro*» и «собственно микроразмножение» / И.Б. Кузнецова, **А.И. Чудецкий**, С.С. Макаров // Аграрный вестник Нечерноземья. – 2021. – № 3 (3). – С. 14–19. DOI: 10.52025/2712-8679\_2021\_03\_14.

11. Макаров, С.С. Перспективы использования плодово-ягодных недревесных ресурсов леса при организации многоцелевого лесопользования в Костромской области / С.С. Макаров, С.С. Багаев, Е.С. Багаев, **А.И. Чудецкий** // Инновации в природообустройстве и защите в чрезвычайных ситуациях: мат-лы VII Междунар. науч.-практ. конф. (г. Саратов, 17–19 марта 2020 г.). – Саратов: Амирит, 2020. – С. 411–415.

12. Тяк, Г.В. Перспективы выращивания брусники на выработанных торфяниках / Г.В. Тяк, С.С. Макаров, **А.И. Чудецкий** // Инновации в природообустройстве и защите в чрезвычайных ситуациях: мат-лы VIII Междунар. науч.-практ. конф. (г. Саратов, 21–22 апреля 2021 г.). – Саратов: Амирит, 2021. – С. 523–527.

13. **Чудецкий, А.И.** Адаптация брусники обыкновенной *ex vitro* с использованием современных стимуляторов роста / **А.И. Чудецкий**, С.С. Макаров // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: сб. науч. тр. IX Междунар. науч. конф. молодых ученых (г. Москва, 16–17 декабря 2021 г.). – М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2021. – С. 56–60. DOI: 10.52101/9785870191027\_2021\_56.

14. **Чудецкий, А.И.** Адаптация красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) *ex vitro* с применением современных стимуляторов роста / **А.И. Чудецкий**, С.С. Макаров // Безопасный Север – чистая Арктика: мат-лы IV Всеросс. науч.-практ. конф. (г. Сургут, 11–12 ноября 2021 г.). – Сургут: СурГУ, 2022. – С. 36–39.

15. **Чудецкий, А.И.** Введение в культуру *in vitro* лесных ягодных растений рода *Vaccinium* / **А.И. Чудецкий**, С.С. Макаров, И.Б. Кузнецова // Плодоводство, семеноводство, интродукция древесных растений: мат-лы XXIV Междунар. науч. конф. (г. Красноярск, 19 апреля 2021 г.). – Красноярск, 2021. – С. 201–203.

16. **Чудецкий, А.И.** Влияние росторегулирующих веществ на процесс органогенеза красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) в культуре *in vitro* / **А.И. Чудецкий**, С.С. Макаров // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: сб. науч. тр. Междунар. науч. конф. молодых ученых (г. Москва, 17–18 декабря 2020 г.). – М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2020. – С. 160–165. DOI: 10.52101/9785870190921\_2021\_8\_160.

17. **Чудецкий, А.И.** Методические рекомендации по выращиванию посадочного материала брусники и красники *in vitro* и *ex vitro* [Электронный ресурс] / **А.И. Чудецкий**, С.С. Макаров, С.А. Родин. – Пушкино: ВНИИЛМ,

2022. – 20 с. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

18. **Чудецкий, А.И.** Перспективы введения в культуру *in vitro* красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) для выращивания в условиях Костромской области / **А.И. Чудецкий, С.С. Макаров** // Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе: сб. ст. 72-й Междунар. науч.-практ. конф. – Караваево: Костромская ГСХА, 2021. – С. 47–51.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах с указанием фамилии, имени, отчества, почтового адреса, адреса электронной почты, наименование организации, должности, шифра и наименования научной специальности в соответствии с номенклатурой, по которой защищена диссертация, лица, составившего отзыв, подписанные и заверенные печатью, просим направлять по адресу: 163002, г. Архангельск, наб. Северной Двины, 17, САФУ им. М.В. Ломоносова, диссертационный совет Д212.008.03.

Ученый секретарь – Тюкавина Ольга Николаевна, e-mail: o.tukavina@narfu.ru