

Клональное микроразмножение клюквы болотной (*Vaccinium oxycoccus L.*) в Удмуртской Республике

© 2021. Е. Н. Черемных[✉], Т. Г. Леконцева, А. В. Худякова, А. В. Федоров

ФГБУН «Удмуртский Федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», Удмуртская Республика, г. Ижевск, Российская Федерация

*В работе приведены результаты исследований за 2018-2019 гг. по совершенствованию технологии выращивания посадочного материала клюквы болотной (*Vaccinium oxycoccus L.*) сортов Краса Севера, Северянка и Вируссаре на основе *in vitro*. Изучали влияние концентраций регуляторов роста в составе питательной среды по рецептуре Андерсона на размножение и последующее укоренение микрочеренков, а также продолжительность культивирования и адаптацию микросаженцев в зависимости от частичной обрезки побегов. Установлено, что на этапе введения в культуру *in vitro* стерилизация эксплантов 33 % перекисью водорода в экспозиции 5-8 минут с промыванием в 5 порциях стерильного дистиллята дает 60-80 % жизнеспособных побегов. Оптимальной фазой развития растений для успешного введения в культуру *in vitro* является набухание почек. Культивирование микрочеренков проводили в светокомнате при температуре 25±2 °C, фотопериод 16 часов. Продолжительность каждого субкультивирования составляла 30-60 суток. Для этапа собственно микроразмножения на питательной среде Андерсона повышение дозы цитокинина 6-бензиламинопурина (6-БАП) с 0,2 до 0,5 мг/л и увеличение продолжительности культивирования с 30 до 60 суток способствовали существенному повышению коэффициента размножения в среднем по испытуемым сортам клюквы болотной. По эффективности микроразмножения выделены сорта Вируссаре и Краса Севера – 9,3 и 12,0 шт/черенок соответственно. На этапе укоренения применение корнеобразующего реагента индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) в дозах 0,2, 0,5 и 1,0 мг/л в составе питательной среды Андерсона не повлияло на качество корнеобразования и длину побегов микросаженцев сорта Вируссаре. Существенных сортовых отличий в корнеобразовательной способности микрочеренков не выявлено. Отмечена тенденция лучшей укореняемости микрочеренков у сорта Вируссаре (90,3 %) по сравнению с сортами Северянка (85,7 %) и Краса Севера (79,3 %). Микросаженцы сорта Краса Севера характеризовались самыми длинными побегами, общее количество корней было меньше, однако их длина была больше по сравнению с другими сортами. Для этапа адаптации применяли субстрат из смеси низинного торфа и мха-сфагнума (1:1). Эффективность адаптации микросаженцев сортов клюквы при обрезке верхушечной части побегов составляла 100 %. Обрезка побегов микросаженцев способствовала образованию большего количества боковых побегов и лучшему развитию надземной части растений.*

Ключевые слова: сорта клюквы, *in vitro*, питательная среда, укоренение, адаптация

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБУН «Удмуртский Федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (тема № НИОКР АAAAAA-A18-118031390077-4).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Черемных Е. Н., Леконцева Т. Г., Худякова А. В., Федоров А. В. Клональное микроразмножение клюквы болотной (*Vaccinium oxycoccus L.*) в Удмуртской Республике. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2021;22(1):57-66. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2021.22.1.57-66>

Поступила: 23.06.2020 Принята к публикации: 14.01.2020 Опубликована онлайн: 22.02.2021

Clonal micropropagation of bog cranberry (*Vaccinium oxycoccus L.*) in the Udmurt Republic

© 2021. Ekaterina N. Cheremnykh[✉], Tatyana G. Lekontseva,
Anna V. Khudyakova, Alexander V. Fedorov

*Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
Udmurtia Republic, Izhevsk, Russian Federation*

*The paper presents the results of 2018-2019 research on improving the technology of growing planting material of bog cranberry (*Vaccinium oxycoccus L.*) of Krasa Severa, Severyanka, Virussaare varieties on the basis of *in vitro*. Studied was the effect of the concentrations of growth regulators in the composition of the nutrient medium according to Anderson's recipe on the reproduction and subsequent rooting of micro cuttings, as well as the duration of cultivation and adaptation of micro plants depending on partial pruning of shoots. It has been established that at the stage of introduction into *in vitro* culture, sterilization of explants with 33% hydrogen peroxide in an exposure of 5-8 minutes with washing in 5 portions of sterile distillate gives 60-80 % of viable shoots. The optimum phase of plant development for the successful introduction of *in vitro* culture is the swelling of buds. Cultivation of micro cuttings was carried out in a light room at a temperature of 25±2 °C, a photoperiod of 16 hours. The duration of each subculturing was 30-60 days. For the stage of actual micropropagation on Anderson's nutrient medium, an increase in the dose of cytokinin 6-benzylaminopurine (6-BAP) from 0.2 to 0.5 mg/l and an increase in the duration of cultivation from 30 to 60 days contributed to a significant increase in the multiplication factor on average for the tested cranberry varieties.*

According to the efficiency of micropropagation, the varieties Virussaare and Krasa Severa were distinguished – 9.3-12.0 pcs/stalk, respectively. At the rooting stage, the use of a root-forming reagent of indolyl-3-acetic acid (IUK) in doses of 0.2, 0.5 and 1.0 mg/l in the composition of Anderson's nutrient medium did not affect the quality of root formation and the length of shoots of Virussaare micro-plants. No significant varietal differences in the root-forming ability of microcuttings were found. The tendency of better rooting of micro cuttings was observed in the Virussaare variety (90.3 %) compared to the Severyanka (85.7 %) and Krasa Severa (79.3 %) varieties. Micro plants of the Krasa Severa cultivar were characterized by the longest shoots, the total number of roots was less, but their length was longer in comparison with other cultivars. For the adaptation stage, a substrate from a mixture of lowland peat and sphagnum moss was used (1:1). The efficiency of adaptation of micro plants of cranberry varieties when cutting the tip of the shoots was 100 %. Pruning of micro plants shoots contributed to the formation of more side shoots and better development of the aboveground part of the plants.

Keywords: cranberry varieties, *in vitro*, nutrient medium, rooting, adaptation

Acknowledgement: the research was carried out under the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the state assignment of Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (theme No. AAAAAA-A18-118031390077-4).

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Conflict of interest: the authors stated that there was no conflict of interest.

For citation: Cheremnyk E. N., Lekontseva T. G., Khudyakova A. V., Fedorov A. V. Clonal micropropagation of bog cranberry (*Vaccinium oxycoccus* L.) in the Udmurt republic. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2021;22(1):57-66. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2021.22.1.57-66>

Received: 23.06.2020

Accepted for publication: 12.2020

Published online: 22.02.2021

Клюква – экономически и биологически ценная ягодная культура, выращиваемая в больших масштабах, начиная с середины XIX века. Клюква – вечнозелёный кустарник, относящийся к семейству Брусничные (*Vacciniaceae*). Плоды клюквы содержат сложный и богатый комплекс биологически активных веществ, таких как органические кислоты, пектиновые вещества, полифенолы (дубильные и красящие вещества), витамины и другие, а по лечебно-диетическим свойствам она превосходит многие широко распространенные ягодные культуры. Используется в свежем и консервированном видах не только как пищевое, но и лекарственное растение [1, 2, 3, 4].

Размножают клюкву в основном классическим методом вегетативного размножения – черенкованием. Данный метод является успешным, но медленным и трудоемким [3, 4, 5]. Микроразмножение – потенциальный метод вегетативного размножения клюквы для ускоренного разведения перспективных сортов и получения здорового посадочного материала [3, 5]. Использование метода клonalного микроразмножения клюквы болотной может служить цели получения оздоровленного посадочного материала в большом количестве при возможности проведения работ круглый год и экономии площадей для выращивания.

В последние десятилетия метод клonalного микроразмножения растений получил широкое распространение в России и за рубежом. В основе метода лежит уникальная способность растительной клетки реализовы-

вать присущую ей totipotентность, то есть давать начало целому растительному организму под влиянием экзогенных воздействий¹.

Под руководством Н. В. Кухарчик в институте НАН Беларуси разработаны методы клonalного микроразмножения многих плодово-ягодных культур, в том числе у таких представителей семейства *Vacciniaceae*, как клюква крупноплодная, брусника, голубика [6].

Известно, что различные требования к условиям выращивания *in vitro* предъявляют не только разные виды, но и сорта растений. Поэтому подбор питательных сред и условий культивирования является важным этапом в биотехнологических работах [7, 8, 9].

Решающими этапами при клональном микроразмножении являются укоренение регенерантов и их адаптация к условиям внешней среды. Укоренение *ex vitro* позволяет упростить процесс микроразмножения растений рода *Vaccinium* L. и одновременно получить адаптированные к естественным условиям растения. Применение методов микроразмножения и микрочеренкования является перспективным направлением, которое даст возможность увеличить выход саженцев и сократить расходы на их производство [10].

Остается много проблемных вопросов по введению в стерильную культуру, подбору состава и концентраций регуляторов роста, повышению эффективности технологической цепочки клonalного микроразмножения, в т. ч. на этапе адаптации микрорастений [11].

¹Катаева Н. В., Бутенко Р. Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. 97 с.

Таким образом, исследования, направленные на усовершенствование технологии выращивания клюквы болотной на основе *in vitro*, имеют научную и практическую перспективу.

Цель исследований – подбор оптимальных концентраций регуляторов роста и продолжительности культивирования для повышения эффективности клonalного микроразмножения сортов клюквы болотной на основе *in vitro*.

Материал и методы. Исследования проводили на базе лаборатории клonalного микроразмножения растений отдела интродукции и акклиматизации растений Удмуртского Федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук. Объектами исследований служили сорта клюквы болотной: Краса Севера, Северянка, Вируссааре.

Краса Севера (Костромская лесная опытная станция, Россия) – сорт позднего срока созревания (конец первой декады сентября). Ягоды округло-овальные от светло-красных до темно-красных, блестящие. Средняя урожайность составляет 1,6 кг/м². Плоды содержат: сахаров 6,8 %, кислот 3,0 %, витамина С 21 мг/100 г. Достоинства сорта: высокая урожайность, крупноплодность. Недостатки не выявлены.

Северянка (Костромская лесная опытная станция, Россия) – сорт среднераннего созревания (конец третьей декады августа). Ягоды овальные, крупные, темно-красные, кислые, сочные. Средняя урожайность 1,4 кг/м². Плоды содержат: сахаров 7,2 %, кислот 2,8 %, витамина С 20 мг/100 г. Достоинства сорта: высокая урожайность, крупноплодность. Недостаток: разномерность ягод. Сорт принят на государственное испытание в 1995 году и включен в Государственный реестр РФ².

Вируссааре (Нигулаский заповедник, Эстония) – сорт относится к позднеспелым, полное созревание ягод наступает в конце второй декады сентября. Данный сорт относится к

среднерослым, куст стелющийся^{3, 4}. Урожайность до 0,3 кг/м².

Процесс клонального микроразмножения принято разделять на четыре этапа: 1) выбор растения-донора, изолирование эксплантов и получение хорошо растущей стерильной культуры; 2) собственно микроразмножение, когда достигается получение максимального количества микропобегов; 3) укоренение размноженных побегов; 4) адаптация их к почвенным условиям, выращивание растений в условиях теплицы⁵.

Этап введения в стерильную культуру *in vitro* предполагает проведение стерилизации эксплантируемого материала с сохранением его жизнеспособности. За основу принята методика подготовки и стерилизации эксплантов, которая неоднократно была нами испытана на многих культурах и предусматривает 30-минутную промывку черенков под проточной холодной водой для удаления поверхностной патогенной микрофлоры. В дальнейшем в стерильных условиях ламинар-бокса в течение 5-8 минут в 33 % перекиси водорода с последующим 5-кратным промыванием в стерильном дистилляте [12, 13].

Культивирование микрочеренков проводили в светокомнате при температуре 25±2 °C, фотопериод 16 часов. Продолжительность культивирования составляла 30-60 суток.

Для введения эксплантов клюквы болотной использовали модифицированную питательную среду по рецептуре Андерсона⁶, дополненной цитокинином 6-бензиламинопурином (6-БАП) в концентрации 0,2 мг/л. Среда Андерсона характеризуется как бедная. Содержит макро-, микроэлементы и Fe-хелат по Андерсону, мезоинозит – 100,0 мг/л, глицин – 1,0, аскорбиновую кислоту – 1,0 мг/л, никотиновую кислоту, тиамин, пиридоксин – по 0,5 мг/л, сахарозу – 20,0 г/л, агар-агар – 4,2 г/л, pH 5,2-5,4.

При выборе питательной среды для культивирования микрочеренков клюквы ориентировались на результаты исследований Е. В. Березиной с соавторами: на среде Андерсона

²Российские сорта клюквы болотной. [Электронный ресурс]. URL: <https://sad6sotok.ru/российские-сорта-клюквы-болотной.html> (дата обращения 30.11.2020).

³Макеев В. А., Макеева Г. Ю. Некоторые результаты внутривидовой гибридизации клюквы болотной. Состояние и перспективы развития ягодоводства в России: мат-лы Всерос. научн.-метод. конф. Орел: Изд-во ВНИИСПК, 2006. С. 192-195. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28992817>

⁴Vilbaste H., Vilbaste J., Ader K. Cranberry – The grape of the north. Ministry of environment, Republic of Estonia. Nigula state nature reserve. Tallinn, 1995. 16 p.

⁵Бутенко Р. Г. Биология культивируемых клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-Пресс, 1999. 159 с.

⁶Anderson W. C. A revised tissue culture medium for shoot multiplication of rhododendron. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1984;109:343-347.

с сахарозой в качестве углевода растения клюквы крупноплодной сорта Стивенс росли хорошо, быстро наращивали вегетативную массу при культивировании *in vitro* и характеризовались высокой жизнеспособностью при пересадке в грунт [14]. Минеральный состав питательной среды Андерсона сбалансирован в соответствии с требованиями семейства Вересковые⁷. На последующих этапах размножения также использовалась модифицированная питательная среда по рецептуре Андерсона.

Для размножения использовали метод микрочеренкования, длина черенков 10-15 мм. Коэффициент размножения (шт/черенок) рассчитывали как количество побегов, полученных за одно субкультивирование с одного микрочеренка, эффективность адаптации – в % от общего количества высаженных микросаженцев. Эффективность адаптации микросаженцев была проанализирована в зависимости от количества листьев на регенерантах. Отрезанные части побегов были высажены на укоренение *ex vitro*.

Опыты проводили в трехкратной повторности, в каждом варианте анализировали не менее 30 шт. эксплантов, микропобегов и микrorастений. Статистическая обработка данных проведена методом дисперсионного анализа по Б. А. Доспехову⁸.

Результаты и их обсуждение. Предварительно растения-доноры оценивали на соответствие сорту. Для введения в стерильную культуру большое внимание уделялось качеству побегов, отсутствию на них следов внешних повреждений и поражения инфекцией. Забор побегов проводили в сухую солнечную погоду.

Таблица 1 – Влияние продолжительности культивирования на коэффициент размножения сортов клюквы, шт/черенок /

Table 1 – Influence of the duration of cultivation on the reproduction factor of cranberry varieties, pcs. / stalk

Сорт (фактор A) / Variety (factor A)	Продолжительность культивирования, сут (фактор B) / Duration of cultivation, days (factor B)		Среднее по фактору A / Average factor A
	30	60	
Краса Севера / Krasa Severa	3,1	7,5	5,3
Северянка / Severyanka	1,3	2,6	2,0
Вируссааре / Virussaare	2,2	5,4	3,8
Среднее по фактору B / Average factor B	2,2	5,2	-
HCP ₀₅ / LSD ₀₅ частных различий / specific differences		1,09	
по фактору A / by factor A		0,77	
по фактору B / by factor B		0,81	

⁷Калинин Ф. Л., Кушнир Г. П., Сарнацкая В. В. Технология микроклонального размножения растений. Киев: Наукова думка, 1992. 232 с.

⁸Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М.: Колос, 1985. 351 с.

Маточные растения произрастали в условиях открытого грунта. В качестве эксплантов для введения в культуру *in vitro* были использованы однопочковые сегменты побегов с набухшими почками.

Примененная нами схема стерилизации побегов клюквы дала выход 60-80 % жизнеспособных стерильных эксплантов. Однако при первой попытке введения (16.05.2018) экспланты должного развития не получили: внешний вид через неделю культивирования был непривлекательным, черенки выглядели сморщенными и в дальнейшем высохли. При повторной попытке через 8 дней были получены положительные результаты, что, на наш взгляд, было связано с оптимальной фазой развития растений (набухание почек) на момент введения в стерильную культуру.

На питательной среде Андерсона (6-БАП, 0,2 мг/л) максимальный коэффициент размножения за 30 суток культивирования был у клюквы сорта Краса Севера (3,1 шт/черенок), что существенно больше по сравнению с сортом Северянка. В среднем коэффициент размножения для исследуемых сортов составил 2,2 шт/черенок. Увеличение продолжительности культивирования до 60 суток способствовало значительному повышению эффективности размножения всех сортов.

Лучше всех размножался сорт Краса Севера – 5,3 шт/черенок. Увеличение продолжительности культивирования с 30 до 60 суток способствовало повышению эффективности размножения данного сорта в 2,4 раза (табл. 1).

Отметим, что при длительном культивировании микрочеренков на среде с содержанием цитокинина 0,2 мг/л наблюдалось корнеобразование. Очевидно, укоренение стало возможным вследствие эндогенного синтеза ауксинов микропобегами клюквы. Внешний вид побегов был привлекательным: отсутствовали признаки некроза, хлороза и витрификации.

На этапе собственно микроразмножения увеличение концентрации цитокинина 6-БАП с 0,2 до 0,5 мг/л сопровождалось существенным повышением коэффициента размножения

у сортов Вируссааре и Краса Севера до 9,3 и 12,0 шт/черенок соответственно (табл. 2).

На этапе укоренения *in vitro* была применена ауксининдолил-3-уксусная кислота. Оценивали корнеобразование и внешний вид микросаженцев в зависимости от концентрации ауксина на примере сорта Вируссааре. Необходимо отметить, что период корнеобразования был продолжительным, около двух месяцев. По истечении этого периода микрочеренки укоренились и были готовы для пересадки в субстрат для адаптации (табл. 3).

**Таблица 2 – Влияние концентрации 6-БАП на коэффициент размножения сортов клюквы, шт/черенок /
Table 2 – Influence of 6-BAP concentration on the reproduction factor of cranberry varieties, pcs/stalk**

<i>Сорт (фактор A) / Variety (factor A)</i>	<i>Концентрация 6-БАП, мг/л (фактор B) / Concentration of 6-BAP, mg/l (factor B)</i>		<i>Среднее по фактору A / Average factor A</i>
	0,2	0,5	
Краса Севера / Krasa Severa	8,2	12,0	10,1
Северянка / Severyanka	3,5	5,1	4,3
Вируссааре / Virussaare	6,4	9,3	7,9
Среднее по фактору B / Average factor B	6,0	8,8	
HCP ₀₅ / LSD ₀₅ частных различий / specific differences		2,30	
по фактору А / by factor A		1,62	
по фактору В / by factor B		2,33	

**Таблица 3 – Влияние концентрации ИУК на длину побега клюквы сорта Вируссааре /
Table 3 – Influence of IUK concentration on the shoot length of Virussaare cranberry variety**

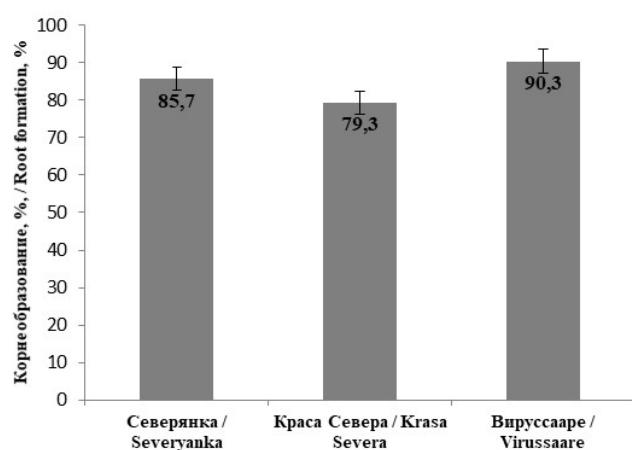
<i>Содержание ИУК, мг/л / IUK content, mg / l</i>	<i>Длина побега, мм / Shoot height, mm</i>
0,2	50,8
0,5	57,0
1,0	60,2
HCP ₀₅ / LSD ₀₅	F _Φ .< F ₀₅

По визуальной оценке, на всех питательных средах качество корней было примерно одинаковым. При повышении концентрации ИУК наблюдали увеличение длины побега, однако разница была несущественна.

С целью изучения корнеобразования сортов было высажено по 217 микрочеренков на среду Андерсона (ИУК 0,5 мг/л). По данным статистического анализа, достоверных различий между сортами не выявлено (рис. 1).

Увеличение продолжительности культивирования с 60 до 70 суток способствовало укоренению микрочеренков до 100 %.

Микросаженцы сорта Краса Севера характеризовались самыми длинными побегами. Разницы между такими параметрами, как количество и длина корней отмечено не было (табл. 4).



**Рис. 1. Корнеобразование сортов клюквы,
среда Андерсона, ИУК 0,5 мг/л, /
Fig. 1. Root formation of cranberry varieties,
Anderson's medium, IUK 0.5 mg/l**

Таблица 4 – Морфометрические параметры микросаженцев сортов клюквы, среда Андерсона, ИУК 0,5 мг/л /
 Table 4 – Morphometric parameters of micro seedlings of cranberry varieties, Anderson's medium, IUK 0.5 mg/l

<i>Corm / Variety</i>	<i>Высота, см / Height, cm</i>	<i>Количество корней, шт. / Number of roots, pcs.</i>	<i>Длина корней, мм / Root length, mm</i>
Краса Севера / Krasa Severa	15,1	1,6	10,4
Северянка / Severyanka	7,8	2,3	6,3
Вируссааре / Virussaare	11,6	2,1	8,5
HCP ₀₅ / LSD ₀₅	2,8	F _Φ .<F ₀₅	F _Φ .<F ₀₅

Для адаптации к условиям *ex vitro* микроросаженцы высаживали в смесь низинного торфа и мха-сфагнума (1:1). Корни растений промывали от остатков питательной агаризованной среды в децимолярном растворе марганцовокислого калия, субстрат перед посадкой был пролит раствором «Триходерма вериде» – 1,5 г/л (изготовитель ООО «Ваше хозяйство»). Данный препарат защищает от корневых и плодовых гнилей, черной ножки, белой и серой гнили, макроспориоза, фузариоза, фитофтороза, антракноза, вилта и других. «Триходерма вериде» относится к биологическим препаратам, представляет собой порошок, содержащий миллиарды сухих спор микрогрибка *Trichoderma veride*⁹.

Применение данного препарата в наших предыдущих исследованиях положительно влияло на адаптацию микросаженцев винограда к культурного, декоративных сортов роз [12, 13].

При посадке клюквы в субстрат мы столкнулись с проблемой полегания побегов микросаженцев, что приводило к снижению технологичности проведения ухода и в целом ухудшению товарного вида (рис. 2).



Рис. 2. Внешний вид микросаженцев клюквы сорта Краса Севера / Fig. 2. The external view of micro seedlings of Krasa Severa cranberry variety

В связи с этим нами был применен прием, который заключался в обрезке верхней части побега. Анализировали эффективность адаптации целых микросаженцев с длинными побегами, с 2-3 и 4-5 листами (рис. 3).



Рис. 3. Внешний вид микросаженцев клюквы на этапе адаптации: а) с 2-3 листами, б) с длинными побегами без обрезки /

Fig. 3. The external view of micro seedlings of cranberry at the stage of adaptation: a) with 2-3 leaves, b) with long shoots without pruning

⁹Триходерма вериде: инструкция по применению. [Электронный ресурс]. URL: <https://sotkirdost.ru/v-pomoshh-rasteniyam/trihoderma-veride-instruktziya-po-primeneniyu/> (дата обращения 27.03.2020).

Во всех вариантах опыта наблюдалась 100 % приживаемость. Обрезка верхушечной части побегов способствовала кущению кустов, что является положительным моментом при формировании растений (рис. 4).



*Рис. 4. Внешний вид однолетних саженцев
клюквы болотной /*

*Fig. 4. The external view of annual
seedlings of bog cranberry*

В исследованиях Т. Н. Божидай было получено 100 % укоренение черенков и последующая адаптация растений-регенерантов трех сортов клюквы крупноплодной в условиях *ex vitro*. В качестве черенков использовали верхушки микропобегов растений, адаптированных к условиям окружающей среды [10]. Нами была проанализирована возможность укоренения верхушек побегов микросаженцев после обрезки растений *in vitro*. В первом варианте черенки длиной около 5 см высаживали в субстрат из низинного торфа и мха сфагnumа (1:1), пролитый раствором ИУК (20 мг/л). Во втором варианте черенки выдерживали в растворе ИУК (10 мг/л) в течение 16-18 часов с последующей посадкой на укоренение. Однако данные методы укоренения микрочеренков оказались неперспективными. Наблюдалось длительное корнеобразование, выпад микрочеренков был вследствие поражения пагубной микрофлорой. Очевидно, это было связано с тем, что растения, у которых брали черенки для укоренения, были еще неадаптированные и имели травянистые побеги без запаса питательных веществ, быстро теряли тургор и отличались высокой восприимчивостью к патогенным условиям окружающей среды.

Однако обрезанную часть побегов можно с успехом использовать для дальнейшего

размножения или корнеобразования *in vitro*, что позволяет повысить эффективность микроразмножения. В исследованиях Е. П. Емельяновой для сокращения периода укоренения были использованы микропобеги с уже укорененных регенерантов голубики топяной [15]. В наших исследованиях применение такого же приема стимулировало развитие корней на 10 сутки культивирования клюквы болотной *in vitro*.

Выходы. 1. На этапе введения в культуру *in vitro* стерилизация эксплантов, взятых с материнских растений клюквы болотной в период набухания почек, 33 % перекисью водорода в экспозиции 5-8 минут с промыванием в 5 порциях стерильного дистиллята позволяет получить до 60-80 % стерильных жизнеспособных эксплантов.

2. Для этапа собственно микроразмножения на питательной среде Андерсона повышение дозы цитокинина 6-БАП с 0,2 до 0,5 мг/л и увеличение продолжительности культивирования с 30 до 60 суток способствовали существенному повышению коэффициента размножения в среднем по испытываемым сортам клюквы болотной. По эффективности микроразмножения выделены сорта Вируссааре и Краса Севера – 9,3 и 12,0 шт/черенок соответственно.

3. На этапе укоренения применение корнеобразующего реагента ИУК в дозах 0,2, 0,5 и 1,0 мг/л в составе питательной среды Андерсона не повлияло на качество корнеобразования и длину побегов микросаженцев сорта Вируссааре.

4. Существенных сортовых отличий в корнеобразовательной способности микрочеренков не выявлено. Отмечена тенденция лучшей укореняемости микрочеренков у сорта Вируссааре (90,3 %) по сравнению с сортами Северянка (85,7 %) и Краса Севера (79,3 %).

5. Успешность адаптации микросаженцев сортов клюквы, независимо от количества оставленных листьев после удаления части побега, составляла 100 %. Обрезка побегов способствовала образованию большего количества боковых побегов и лучшему развитию надземной части растений.

6. Стерильную верхушечную часть побега после обрезки перед выведением микросаженцев на адаптацию можно использовать для дальнейшего размножения или корнеобразования *in vitro*. Данный прием позволяет повысить эффективность клonalного микроразмножения.

Список литературы

1. Сафронова И. В., Гольдина И. А., Гайдуль К. В. Биологически активные компоненты клюквы и их применение в медицине. Инновации и продовольственная безопасность. 2015;(1):6-18. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24928157>
2. Божидай Т. Н. Микроразмножение *Vaccinium macrocarpon Ait.* Плодоводство: сб. научн. тр. Самохваловичи: РУП «Институт плодоводства», 2013. Т. 25. С. 549-553. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=35039208>
3. Крышня С. В., Кордюков А. В. Клюква на юге острова Сахалин. Южно-Сахалинск: ИМГиГ ДВО РАН, 2018. 127 с. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38499445>
4. Курлович Т. В., Павловская А. Г. Требования к саженцам клюквы крупноплодной. Актуальные проблемы размножения ягодных культур и пути их решения: мат-лы Международ. научн.-метод. дистанц. конф. Мичуринск: Всероссийский научно-исследовательский институт садоводства им. И. В. Мичурина, 2010. С. 151-155.
5. Debnath S. C. Propagation and cultivation of *Vaccinium* species and less known small fruits. *Vaccinium* ssp. and less known small fruit: challenges and risks: international scientific conference. Jelgava: Latvia University of Agriculture, 2009. Pp. 22-29. URL: <https://lufb.llu.lv/conference/agrvestis/content/n12/Latvia-Agronomijas-Vestis-12-2009-22-29.pdf>
6. Кухарчик Н. В. Получение посадочного материала плодовых и ягодных растений *in vitro*. Наука и инновации. 2019;6(196):17-21. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38514905>
7. Калашникова Е. А., Швец Д. А., Навроцкая Э. В., Киракосян Н. Р. Применение аэропоники для адаптации плодово-ягодных культур к условиям *ex vitro*. Лесохозяйственная информация. 2020;(2):109-118. DOI: <https://doi.org/10.24419/LHI.2304-3083.2020.2.09>
8. Ostrolucká M. G., Gajdošová A., Ondrušková E., Latečková M., Libiaková G. Effect of medium pH on axillary shoot proliferation of selected *Vaccinium vitis-idaea* L. Cultivars. Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica. 2010;52(2):92-96. URL: http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta.element.agro-0b33c6b6-0b01-4519-add2-3829e82487e8/c/13_ostrolucka.pdf
9. Березина Е. В., Агеева М. Н., Брилкина А. А., Веселов А. П. Содержание полифенолов в каллусных культурах клюквы болотной при модификации питательной среды цитокининами и препаратами микромицетов. Вестник защиты растений. 2016;3(89):6-27. Режим доступа: http://vizrspb.ru/assets/docs/vestnik/2016/3/Vestnik_16-3-010_Berezina.pdf
10. Божидай Т. Н., Кухарчик Н. В. Результативность микрочеренкования в условиях *ex vitro* растений рода *Vaccinium* L. Плодоводство: сб. научн. тр. Минск: «Издательский дом «Белорусская наука», 2018. С. 181-185. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=41426385>
11. Зоников Д. Н., Зоникова С. А., Малахова К. В., Марамохин Э. В. Влияние состава питательных сред и регуляторов роста при клonalном микроразмножении некоторых полипloidных форм рода *Vaccinium* L. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2019;2(88):39-44. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=39188892>
12. Леконцева Т. Г., Худякова А. В., Исаева А. Н., Федоров А. В. Оптимизация некоторых этапов микреклонального размножения чайно-гибридной розы сорта Анжелика. Вестник Пермского университета. Серия биология. 2017;(3):240-244. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30592244>
13. Худякова А. В., Леконцева Т. Г., Федоров А. В. Использование кремний содержащего препарата «силиплант» при микреклональном размножении плетистых роз. Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Биология, Химия, Формация. 2019;(2):66-71. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38168281>
14. Березина Е. В., Носкова Ю. С., Агеева М. Н., Брилкина А. А., Веселов А. П. Морфологические особенности и синтез фенольных соединений и аскорбата микрорастениями клюквы крупноплодной при выращивании на питательных средах с разным минеральным, углеводным и гормональным составом. Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. 2014;4(1):202-209. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23006254>
15. Емельянова Е. П. Влияние ауксинов на укоренение *in vitro* сортов *Vaccinium uliginosum* L. Известия Алтайского государственного университета. 2010;3-2(67):25-28. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=15608527>

References

1. Safronova I. V., Goldina I. A., Gaydul K. V. *Biologicheski aktivnye komponenty klyukvy i ikh primenenie v meditsine*. [Biologically active components of cranberry and its medical usade]. Innovatsii i prodrovol'stvennaya bezopasnost' = Innovations and Food Safety. 2015;(1):6-18. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24928157>

2. Bozhiday T. N. *Mikrorazmnozhenie Vaccinium macrocarpon Ait.* [Micropropagation of *Vaccinium macrocarpon Ait.*]. *Plodovodstvo: sb. nauchn. tr.* [Fruit growing: collection of scientific works]. Samokhvalovich: RUP «Institut plodovodstva», 2013. Vol. 25. pp. 549-553. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=35039208>
3. Kryshnyaya S. V., Kordyukov A. V. *Klyukva na yuge ostrova Sakhalin.* [Cranberry in the south of Sakhalin island]. Yuzhno-Sakhalinsk: IMGIG DVO RAN, 2018. 127 p. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38499445>
4. Kurlovich T. V., Pavlovskaya A. G. *Trebovaniya k sazhentsam klyukvy krupnoplodnoy.* [Requirements for large cranberry seedlings]. *Aktual'nye problemy razmnozheniya yagodnykh kul'tur i puti ikh resheniya: mat-ly Mezhdunarod. nauchn.-metod. distants. konf.* [Actual problems of berry crops reproduction and ways to solve them: Proceedings of International scientific and practical Conference]. Michurinsk: Vserossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy institut sadovodstva im. I. V. Michurina, 2010. pp. 151-155.
5. Debnath S. C. Propagation and cultivation of *Vaccinium* species and less known small fruits. *Vaccinium* ssp. and less known small fruit: challenges and risks: international scientific conference. Jelgava: Latvia University of Agriculture, 2009. pp. 22-29. URL: <https://llufb.llu.lv/conference/agrvestis/content/n12/Latvia-Agronomijas-Vestis-12-2009-22-29.pdf>
6. Kukharchyk N. V. *Poluchenie posadochnogo materiala plodovykh i yagodnykh rasteniy in vitro.* [Fruit and soft fruit plants propagation *in vitro*]. *Nauka i innovatsii* = The Science and Innovations. 2019;6(196):17-21. (In Belarus). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38514905>
7. Kalashnikova E. A., Shvets D. A., Navrotskaya E. V., Kirakosyan N. R. *Primenenie aeroponiki dlya adaptatsii plodovo-yagodnykh kul'tur k usloviyam ex vitro.* [Application of aeroponics for adaptation of fruit and berry crops to *ex vitro* conditions]. *Lesokhozyaystvennaya informatsiya* = Forestry information. 2020;(2):109-118. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.24419/LHI.2304-3083.2020.2.09>
8. Ostrolucká M. G., Gajdošová A., Ondrušková E., Latečková M., Libiaková G. Effect of medium pH on axillary shoot proliferation of selected *Vaccinium vitisidaea* L. Cultivars. *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica.* 2010;52(2):92-96. URL: http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.agro-0b33c6b6-0b01-4519-add2-3829e82487e8/c/13_ostrolucka.pdf
9. Berezina E. V., Ageeva M. N., Brilkina A. A., Veselov A. P. *Soderzhanie polifenolov v kallusnykh kul'turakh klyukvy bolotnoy pri modifikatsii pitatel'noy sredy tsitokininami i preparatami mikromitsetov.* [Polyphenolic contents in callus cultures of cranberry upon modification of culture medium with cytokinins and micromycetes formulations]. *Vestnik zashchity rasteniy* = Plant Protection News. 2016;3(89):6-27. (In Russ.). URL: http://vizrspb.ru/assets/docs/vestnik/2016/3/Vestnik_16-3-010_Berezina.pdf
10. Bozhiday T. N., Kukharchik N. V. *Rezul'tativnost' mikrocherenkovaniya v usloviyakh ex vitro rasteniy roda Vaccinium L.* [Effectiveness of *ex vitro* microcutting of plants of the genus *Vaccinium* L.]. *Plodovodstvo: cb. nauchn. tr.* [Fruit growing: collection of scientific works]. Minsk: «Izdatel'skiy dom «Belorusskaya nauka», 2018. C. 181-185. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=41426385>
11. Zontikov D. N., Zontikova S. A., Malakhova K. V., Maramokhin E. V. *Vliyanie sostava pitatel'nykh sred i regulatorov rosta pri klonal'nom mikrorazmnozhenii nekotorykh poliploidnykh form roda Vaccinium L.* [Influence of the composition of nutritional media and growth regulators during clonal micropropagation of some polypliod forms of the genus *Vaccinium* L.]. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk* = Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2019;2(88):39-44. (in Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=39188892>
12. Lekontseva T. G., Khudyakova A. V., Isaeva A. N., Fedorov A. V. *Optimizatsiya nekotorykh etapov mikroklonal'nogo razmnozheniya chayno-gibridnoy rozy sorta Anzhelika.* [Optimization of some stages of microclonal propagation of a tea-hybrid rose of Angelic sort]. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya biologiya* = Bulletin of Perm University. Biology. 2017;(3):240-244. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30592244>
13. Khudyakova A. V., Lekontseva T. G., Fedorov A. V. *Ispol'zovanie kremniy soderzhashchego preparata «siliplant» pri mikroklonal'nom razmnozhenii pletistykh roz.* [The use of the silicone-containing preparation "siliplant" at clonal propagation of climbing roses]. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya, Khimiya, Formatsiya* = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. 2019;(2):66-71. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38168281>
14. Berezina E. V., Noskova Yu. S., Ageeva M. N., Brilkina A. A., Veselov A. P. *Morfologicheskie osobennosti i sintez fenol'nykh soedineniy i askorbata mikrorasteniyami klyukvy krupnoplodnoy pri vyrashchivanii na pitatel'nykh sredakh s raznym mineral'nym, uglevodnym i gormonal'nym sostavom.* [American cranberry morphological peculiarities and phenolic and ascorbate synthesis while culturing on nutritional media with different mineral, carbohydrate and hormone composition]. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N. I. Lobachevskogo* = Vestnik of Lobachevsky University of Nizhni Novgorod. 2014;4(1):202-209. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23006254>
15. Emeljanova E. P. *Vliyanie auxinov na ukorenenie in vitro sortov Vaccinium uliginosum L.* [Auxins influence on *in vitro* rooting of varieties *Vaccinium uliginosum* L.]. *Izvestiya Altayskogo gosudarstvennogo universiteta* = Izvestiya of Altai State University. 2010;3-2(67):25-28. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=15608527>

Сведения об авторах

✉ **Черемных Екатерина Николаевна**, младший научный сотрудник отдела интродукции и акклиматизации растений, ФГБУН «Удмуртский Федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», ул. Т. Барамзиной, 34, г. Ижевск, Удмуртская Республика, Российская Федерация, 426067, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9501-7726>, e-mail: e.cheremnykh@udman.ru

Леконцева Татьяна Германовна, научный сотрудник отдела интродукции и акклиматизации растений, ФГБУН «Удмуртский Федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», ул. Т. Барамзиной, 34, г. Ижевск, Удмуртская Республика, Российская Федерация, 426067, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6659-0504>

Худякова Анна Валерьевна, кандидат биол. наук, научный сотрудник отдела интродукции и акклиматизации растений, ФГБУН «Удмуртский Федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», ул. Т. Барамзиной, 34, г. Ижевск, Удмуртская Республика, Российская Федерация, 426067, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0125-9335>

Федоров Александр Владимирович, доктор с.-х. наук, главный научный сотрудник отдела интродукции и акклиматизации растений, ФГБУН «Удмуртский Федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», ул. Т. Барамзиной, 34, г. Ижевск, Удмуртская Республика, Российская Федерация, 426067, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2759-2037>

Information about the authors

✉ **Ekaterina N. Cheremnykh**, junior researcher, the Department of Introduction and Acclimatization of Plants, Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 34 T. Baramzinoj St., Izhevsk, Udmurt Republic, Russian Federation, 426067, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9501-7726>, e-mail: e.cheremnykh@udman.ru

Tatyana G. Lekontseva, researcher, the Department of Introduction and Acclimatization of Plants, Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 34 T. Baramzinoj St., Izhevsk, Udmurt Republic, Russian Federation, 426067, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6659-0504>

Anna V. Khudyakova, PhD in Biological Science, researcher, the Department of Introduction and Acclimatization of Plants, Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 34 T. Baramzinoj St., Izhevsk, Udmurt Republic, Russian Federation, 426067, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0125-9335>

Alexander V. Fedorov, DSc of Agricultural Science, chief researcher, the Department of Introduction and Acclimatization of Plants, Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 34 T. Baramzinoj St., Izhevsk, Udmurt Republic, Russian Federation, 426067,

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2759-2037>

✉ – Для контактов / Corresponding author