

УДК 634.7
DOI: 10.24419/LHI.2304-3083.2018.4.09

Совершенствование технологии клонального микроразмножения княженики арктической (*Rubus arcticus* L.)

С. С. Макаров – Центрально-европейская лесосеменная опытная станция, филиал Всероссийского научно-исследовательского института лесоводства и механизации лесного хозяйства, старший научный сотрудник, аспирант, Кострома, Российская Федерация, makarov_serg44@mail.ru

И. Б. Кузнецова – Костромская государственная сельскохозяйственная академия, доцент, кандидат сельскохозяйственных наук, Кострома, Российская Федерация

В. С. Смирнов – Костромская государственная сельскохозяйственная академия, студент, Кострома, Российская Федерация

В статье приведены результаты исследований влияния различных стерилизаторов на приживаемость эксплантов княженики арктической *in vitro*. Определен оптимальный состав питательной среды и эффективность добавления в нее росторегулирующих веществ на этапах «собственно микроразмножение» и «укоренение размноженных побегов *in vitro*». Установлен состав субстрата на этапе адаптации *ex vitro* при клональном микроразмножении княженики. Даны рекомендации по оптимизации клонирования княженики арктической на разных этапах.

Ключевые слова: княженика, клональное микроразмножение, стерилизаторы, росторегулирующие вещества, субстрат, *in vitro*.

Для ссылок: <http://dx.doi.org/10.24419/LHI.2304-3083.2018.4.09>

Макаров, С. С. Совершенствование технологии клонального микроразмножения княженики арктической (*Rubus arcticus* L.) [Электронный ресурс] / С. С. Макаров, И. Б. Кузнецова, В. С. Смирнов // Лесхоз. информ. : электрон. сетевой журн. – 2018. – № 4. – С. 91–97. URL: <http://lhi.vniilm.ru/>

В настоящее время все большую популярность среди дикорастущих культур приобретает княженика арктическая (*Rubus arcticus* L.). Ягоды княженики являются деликатесом, обладают прекрасным вкусом и ароматом, имеют высокие целебные свойства, поэтому стоят довольно дорого [1–3]. В результате интенсивного антропогенного воздействия природные запасы княженики арктической истощились, поэтому большое значение приобретает ускоренное размножение посадочного материала для закладки плантаций. Метод клонального микроразмножения с использованием росторегулирующих веществ позволяет эффективно решить данную задачу [4–6].

Цель исследований – совершенствование технологии клонального микроразмножения княженики арктической.

Решаемые задачи:

1. Изучить приживаемость эксплантов княженики арктической при введении в культуру *in vitro*.
2. Выявить влияние состава питательной среды на органогенез княженики *in vitro*.
3. Изучить эффективность добавления цитокинина 6-БАП в разной концентрации и адаптогена эпин на побегообразование на этапе «собственно микроразмножение».
4. Установить влияние концентрации ауксина индолилмасляной кислоты (ИМК) и адаптогена экогеля на ризогенез растений-регенерантов княженики арктической.
5. Определить оптимальный состав субстрата на этапе адаптации *ex vitro*.

Исследования проводили в 2016–2018 гг. в лаборатории клонального микроразмножения растений Центрально-европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ и лаборатории биотехнологии Костромской государственной сельскохозяйственной академии.

Объектами исследований служили растения княженики арктической сортов Анна и София. Стерилизацию эксплантов проводили в течение 5 мин 0,1%-м раствором сулемы, Белизной в разведении 1:3 и экостерилизатором бесхлорным (кислородсодержащий отбеливатель Sinergetic). В каждом из 3 вариантов высажива-

ли по 100 апикальных меристем на питательную среду 1/2 MS и учитывали их приживаемость.

Исследования показали, что на этапе введения в культуру *in vitro* наиболее эффективным оказался экостерилизатор бесхлорный, обеспечивающий приживаемость на уровне 90-93%. Самая низкая приживаемость отмечалась при стерилизации раствором моющего средства Белизна в разведении 1:3 (табл. 1).

Для изучения влияния состава питательных сред на биометрические показатели растений-регенерантов использовали 1/2 MS (Мурасиге-Скуга) и 1/2 Андерсона, с добавлением в их состав 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л. Повторность опыта 10-кратная. Количество побегов и их суммарная длина на питательной среде 1/2 MS + 6-БАП 0,5 мг/л были примерно в 2 раза больше, чем на среде 1/2 Андерсона + 6-БАП 0,5 мг/л. Средняя длина побегов в обеих средах различалась незначительно (табл. 2).

В процессе дальнейших исследований на этапах «собственно микроразмножение» и «укоренение *in vitro*» использовали питательную среду 1/2 MS.

На этапе «собственно микроразмножение» изучали влияние разных концентраций цитокинина 6-БАП (0,5 и 1,0 мг/л) и добавления адаптогена эпин (0,1 мг/л) на процесс побегообразования. С увеличением концентрации цитокинина 6-БАП с 0,5 до 1,0 мг/л количество микропобегов увеличивалось от 2,7–3,1 до 4,8–5,2 шт., а их средняя длина уменьшалась от 1,5–2,5 до 0,5–0,7 см. Наибольшая суммарная длина (4,1–7,8 см) отмечалась в вариантах с концентрацией 6-БАП 0,5 мг/л (табл. 3).

Добавление эпина в концентрации 0,1 мг/л оказывало благоприятное воздействие на побегообразование, так как увеличивалось и количество, и длина побегов (рис. 1).

На этапе «укоренение *in vitro*» изучалось влияние различных концентраций ауксина ИМК с добавлением экогеля 0,5 мг/л на ризогенез княженики арктической (рис. 2). Учитывали количество, среднюю и суммарную длину побегов и корней у растений-регенерантов. В каждом вари-

Таблица 1. Влияние стерилизаторов на приживаемость эксплантов княженики арктической разных сортов

Стерилизатор	Приживаемость эксплантов разных сортов, %	
	София	Анна
Сулема 0,1 %	82	79
Экостерилизатор бесхлорный	93	90
Белизна в разведении 1:3	70	65

Таблица 2. Биометрические показатели побегов растений-регенерантов княженики арктической в зависимости от состава питательной среды

Питательная среда	Количество побегов, шт.	Длина побегов, см	
		Средняя	Суммарная
1/2 MS + 6-БАП 0,5 мг/л	4,1±0,47	0,74±0,16	3,1±0,32
1/2 Андерсена + 6-БАП 0,5 мг/л	2,3±0,27	0,67±0,21	1,5±0,28

Таблица 3. Влияние концентрации 6-БАП и добавления эпина на побегообразование княженики

Концентрация 6-БАП, мг/л	Количество побегов, шт.		Длина побегов, см			
			Средняя		Суммарная	
	Без эпина	Эпин 0,1 мг/л	Без эпина	Эпин 0,1 мг/л	Без эпина	Эпин 0,1 мг/л
0,5	2,7±0,29	3,1±0,33	1,5±0,22	2,5±0,27	4,1±0,33	7,8±0,32
1,0	4,8±0,32	5,2±0,36	0,5±0,41	0,7±0,45	2,4±0,29	3,6±0,49



Рис. 1. Побегообразование княженики арктической на питательной среде 1/2 MS при добавлении цитокинина 6-БАП + эпин в концентрациях: 1 – 0,5 мг/л; 2 – 1,0 мг/л



Рис. 2. Ризогенез княженики арктической на питательной среде 1/2 MS при добавлении: 1 – ИМК 0,5 мг/л + экогель 0,5 мг/л; 2 – ИМК 1,0 мг/л + экогель 0,5 мг/л

анте испытывалось 10 учетных растений.

Повышение концентрации ИМК в питательной среде от 0,5 до 1,0 мг/л способствовало увеличению количества корней у растений княженики от 4,0–4,1 до 4,5–5,0 шт. и суммарной длины от 3,6–4,9 до 4,4–6,3 см (табл. 4). Средняя длина различалась незначительно. При наличии в питательной среде экогеля 0,5 мг/л количество и длина корней имели более высокие показатели, чем в вариантах без него.

Для адаптации растений-регенерантов княженики арктической к условиям *ex vitro* их высаживали в субстраты из верхового торфа, кокосовой стружки и дерново-подзолистой почвы. Приживаемость определяли по отношению выживших растений к высаженным. Растения обоих сортов лучше приживались в субстрате из верхового торфа (95–100%) (табл. 5).

Растения, адаптированные к нестерильным условиям (рис. 3), были высажены на опытном участке Центрально-европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ. Приживаемость при пересадке в открытый грунт у растений обоих сортов составила 100%.

Таким образом, по результатам исследования можно сделать следующие выводы.

1. На этапе введения в культуру *in vitro* наибольшая жизнеспособность эксплантов княжени-

ки отмечена при использовании экостерилизатора бесхлорного с экспозицией 5 мин.

2. Для клонирования княженики арктической более благоприятна питательная среда 1/2 MS, чем среда 1/2 Андерсона (с добавлением в них цитокинина 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л).



Рис. 3. Растения княженики арктической, адаптированные к условиям субстрата верхового торфа

Таблица 4. Влияние концентрации ауксина ИМК и добавления экогеля на ризогенез княженики арктической

Концентрация 6-БАП, мг/л	Количество корней, шт.		Длина корней, см			
			Средняя		Суммарная	
	Без экогеля	Экогель 0,5 мг/л	Без экогеля	Экогель 0,5 мг/л	Без экогеля	Экогель 0,5 мг/л
0,5	4,0±0,31	4,1±0,36	0,9±0,27	1,2±0,21	3,6±0,20	4,9±0,26
1,0	4,5±0,25	5,0±0,48	1,0±0,36	1,3±0,15	4,4±0,18	6,3±0,22

Таблица 5. Приживаемость адаптированных растений княженики арктической в зависимости от субстрата

Состав субстрата	Приживаемость растений-регенерантов, %	
	София	Анна
Верховой торф	100	95
Кокосовая стружка	76	81
Дерново-подзолистая почва	70	74

3. Повышение концентрации цитокинина 6-БАП с 0,5 до 1,0 мг/л способствовало увеличению количества микропобегов и уменьшению их средней длины. Наибольшая суммарная длина отмечена в вариантах с концентрацией 6-БАП 0,5 мг/л. Наличие в питательной среде эпина в концентрации 0,1 мг/л оказывало благоприятное воздействие на побегообразование.

4. При повышении концентрации ИМК в питательной среде от 0,5 до 1,0 мг/л увеличивалось

количество корней у растений-регенерантов княженики и их суммарная длина. Средняя длина различалась незначительно. При добавлении в питательную среду 0,5 мг/л экогеля показатели количества и длины корней были выше, чем в вариантах без него.

5. Приживаемость растений княженики в субстрате из верхового торфа была выше, чем на кокосовой стружке и дерново-подзолистой почве.

Список использованной литературы

1. Karp, K. The Arctic Bramble (*Rubus arcticus* L.) the Most Profitable Wild Berry in Estonia / K. Karp, M. Starast, R. Varnik // *Baltic Forestry*. – 1997. – Т. 3. – № 2. – Р. 47–52.
2. Тяк, Г. В. Выращивание княженики арктической на выработанном торфянике / Г. В. Тяк, С. А. Алтухова // Интродукция нетрадиционных и редких растений: матер. IX Междунар. науч.-методич. конф. (г. Мичуринск, 21-25 июня 2010 г.). – 2010. – Т. 1. – С. 326–332.
3. Размножение и культивирование княженики арктической (*Rubus arcticus* L.) / Г. В. Тяк, С. С. Макаров, Е. А. Калашникова, А. В. Тяк // *Плодоводство и ягодоводство России*. – 2018. – Т. 52. – С. 95–99.
4. Катаева, Н. В. Клональное микроразмножение растений / Н. В. Катаева, Р. Г. Бутенко. – М. : Наука, 1983. – 96 с.
5. *Сельскохозяйственная биотехнология : учеб.* / В. С. Шевелуха [и др.]. – М. : Высшая школа, 1998. – 416 с.
6. Соловых, Н. В. Использование биотехнологических методов в работе с ягодными культурами: методич. рекомендации / Н. В. Соловых. – Мичуринск : Изд-во Мичуринского ГАУ, 2009. – 47 с.

References

1. Karp, K. The Arctic Bramble (*Rubus arcticus* L.) the Most Profitable Wild Berry in Estonia / K. Karp, M. Starast, R. Varnik // *Baltic Forestry*. – 1997. – Т. 3. – № 2. – Р. 47-52.
2. Tyak, G. V. Vyrashchivanie knyazheniki arkticheskoy na vyrabotannom torfyanike / G. V. Tyak, S. A. Altuhova // *Introdukciya netradicijnyh i redkih rastenij: mater. IX Mezhdunar. nauch.-metodich. konf. (g. Michurinsk, 21-25 iyunya 2010 g.)*. – 2010. – Т. 1. – С. 326–332.
3. Razmnozhenie i kul'tivirovanie knyazheniki arkticheskoy (*Rubus arcticus* L.) / G. V. Tyak, S. S. Makarov, E. A. Kalashnikova, A. V. Tyak // *Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii*. – 2018. – Т. 52. – С. 95–99.
4. Kataeva, N. V. Klonal'noe mikrorazmnozhenie rastenij / N. V. Kataeva, R. G. Butenko. – М. : Nauka, 1983. – 96 с.
5. *Sel'skohozyajstvennaya biotekhnologiya : ucheb.* / V. S. Sheveluha [i dr.]. – М. : Vysshaya shkola, 1998. – 416 с.
6. Solovyh, N. V. Ispol'zovanie biotekhnologicheskikh metodov v rabote s yagodnymi kul'turami: metodich. rekomendacii / N. V. Solovyh. – Michurinsk : Izd-vo Michurinskogo GAU, 2009. – 47 с.

Improving Technology of Clonal Micropropagation of Arctic Bramble (*Rubus arcticus* L.)

S. Makarov – Central European Seed Experimental Station, Branch of the Russian Research Institute for Forestry and Forestry Mechanization, Senior Researcher, Postgraduate Student, Kostroma, Russian Federation, makarov_serg44@mail.ru
I. Kuznetsova – Kostroma State Agricultural Academy, Assistant Professor, Candidate of Agricultural Sciences, Kostroma, Russian Federation
V. Smirnov – Kostroma State Agricultural Academy, Student, Kostroma, Russian Federation

Keywords: arctic bramble, clonal micropropagation, sterilizers, growth regulating substances, substrate, in vitro.

The article presents the results of studies on the type of sterilizers that influenced the survival of explants of the arctic bramble (*Rubus arcticus* L.) in culture in vitro. The studies are conducted in 2016–2018 in the Central European Forest Experiment Station VNIILM and Kostroma State Agricultural Academy. The influence of the composition of the nutrient medium and the addition of growth-regulating substances to it at the stages of «micro-reproduction itself» and «rooting of propagated shoots in vitro», as well as the composition of the substrate at the ex vitro adaptation stage during clonal micro-reproduction of the arctic bramble.

The effect of auxins of IMC and Ecogel is studied when an arctic bramble added to the nutrient medium on organogenesis. The most active rooting took place in the variant with the addition of an IMC. Cloning of the arctic bramble is advisable to carry out on a nutrient medium 1/2 MS.

The effect of various sterilizers on the survival of explants, growth regulators – on changes in the biometric indicators of the arctic bramble in vitro and the type of substrate – on the survival of ex vitro are studied. Recommendations for optimization of cloning of an arctic bramble at different stages.