

DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2020.4.11
УДК 634.739.2

Укоренение в культуре *in vitro* и адаптация клюквы болотной (*Oxycoccus palustris* Pers.) к нестерильным условиям

С.С. Макаров

Центрально-европейская лесная опытная станция,
филиал Всероссийского научно-исследовательского института лесоводства и механизации
лесного хозяйства, старший научный сотрудник, кандидат сельскохозяйственных наук,
Кострома, Российская Федерация, makarov_serg44@mail.ru

С.А. Родин

Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного
хозяйства, заместитель директора по научной работе, академик РАН,
Пушкино, Московская обл., Российская Федерация, info@vniilm.ru

И.Б. Кузнецова

Костромская государственная сельскохозяйственная академия,
доцент, кандидат сельскохозяйственных наук, Кострома, Российская Федерация

Г.Ю. Макеева

Центрально-европейская лесная опытная станция,
филиал Всероссийского научно-исследовательского института лесоводства и механизации
лесного хозяйства, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук,
Кострома, Российская Федерация

В.А. Макеев

Центрально-европейская лесная опытная станция,
филиал Всероссийского научно-исследовательского института лесоводства и механизации
лесного хозяйства, ведущий инженер, Кострома, Российская Федерация

В статье приводятся данные по процессу корнеобразования клюквы болотной в культуре *in vitro* и ее адаптации к нестерильным условиям. Выявлено благоприятное влияние добавления в питательную среду препарата Экогель в концентрации 0,5 мг/л на процесс ризогенеза клюквы болотной *in vitro*. Установлена более высокая приживаемость растений при адаптации растений к нестерильным условиям *in vivo* на субстрате из верхового торфа.

Ключевые слова: клюква болотная, *in vitro*, клональное микроразмножение, препарат Экогель, адаптация к нестерильным условиям, субстрат.

Для ссылок: <http://dx.doi.org/10.24419/LHI.2304-3083.2020.4.11>.

Укоренение в культуре *in vitro* и адаптация клюквы болотной (*Oxycoccus palustris* Pers.) к нестерильным условиям / С.С. Макаров, С.А. Родин, И.Б. Кузнецова, Г.Ю. Макеева, В.А. Макеев. – DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2020.4.11. – Текст: электронный // Лесохозяйственная информация : электронный сетевой журнал. – 2020. – № 4. – С. 105–114. URL: <http://lhi.vniilm.ru/>

Введение

В настоящее время все большим спросом у потребителей пользуются свежие, замороженные и переработанные лесные ягоды. Их используют в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности, народной медицине. Одной из наиболее ценных лесных ягодных культур является клюква болотная (*Oxycoccus palustris* Pers.) [1].

Ареал клюквы болотной – циркумарктобореальный, произрастает она преимущественно на сфагновых болотах. Ягода является облигатным микотрофом с эндотрофной микоризой. Эндомикоризация способствует более интенсивному использованию труднорастворимых соединений органического происхождения, которые плохо усваиваются растением-хозяином [2]. Этот вечнозелёный стелющийся кустарничек в природных условиях размножается плетями – гибкими нитевидными побегами длиной до 30 см, которые укореняются, но сохраняют связь с материнским растением. Такой способ вегетативного размножения позволяет клюкве занимать большие площади.

В плодах клюквы содержатся сахара (глюкоза и фруктоза, значительно меньше сахарозы), органические кислоты (лимонная, бензойная, хинная, хлорогеновая, яблочная, олеаноловая, щавелевая, янтарная и др.), пектиновые вещества и витамины. Из группы полисахаридов наибольшее практическое значение имеют содержащиеся в ягодах клюквы в большом количестве пектины. Плоды клюквы богаты витамином С, также содержат витамины В₁, В₂, В₅, В₆, РР, К₁ (филлохинон). В состав плодов входят бетаин и биофлавоноиды – антоцианы, лейкоантоцианы, катехины, флавонолы и фенолокислоты, а также макро- и микроэлементы – значительное количество калия, меньше фосфора и кальция. В ягодах клюквы много железа, также есть марганец, молибден, медь, йод, магний, барий, бор, кобальт, никель, олово, свинец, серебро, титан, хром, цинк, алюминий и др. [3, 4].

Плоды клюквы обладают профилактическими и лечебными свойствами, широко используются и в сыром, и в переработанном виде. Они

поддерживают работу сердца, повышают эластичность стенок сосудов и уровень гемоглобина. Благодаря наличию бензойной кислоты ягоды могут храниться без консервантов, обладают бактерицидным действием, поэтому полезны при различных инфекционных заболеваниях, повышают иммунитет. Катехины и витамин С блокируют свободные радикалы, разрушающие клетки и ускоряющие старение. Пектины и пищевые волокна способствуют поддержанию полезной микрофлоры кишечника [3].

В связи с повышением спроса на сортовой посадочный материал клюквы актуальна разработка и оптимизация методов получения высококачественного посадочного материала для закладки промышленных плантаций. Одним из наиболее эффективных способов является клonale микроразмножение растений.

Объекты и методика исследований

Исследования проводили в Лаборатории клonale микроразмножения растений на базе филиала ВНИИЛМ «Центрально-европейская лесная опытная станция» в 2019–2020 гг. по общепринятым методикам [5], адаптированным к местным условиям произрастания [6, 7]. Цель исследований – изучение процесса корнеобразования клюквы болотной в условиях *in vitro* и адаптации к нестерильным условиям *in vivo*. В качестве объектов исследования использовали ранее размноженные в культуре *in vitro* растения клюквы болотной Дар Костромы (рис. 1) и гибрид 1-15-635 (рис. 2).

Сорт Дар Костромы отобран среди сеянцев свободного опыления, имеет средний срок созревания (конец 3-й декады августа). Вегетативно-подвижный кустарничек шпалерного типа. Стебли толстые красно-коричневые и коричневые. Листья крупные широколанцетные, зеленой окраски. Генеративные побеги со средней длиной около 75 мм растут под углом около 50° к горизонтали.

Ягоды крупные (12,5–16,5 мм), плоскоокруглой формы, с ребристой поверхностью и

глубокой выемкой у плодоножки, темно-красные и вишневые, кислые, сочные. Мякоть зрелых ягод плотная, перезрелых – водянистая. Средняя масса одной ягоды – 1,5 г, максимальная масса – 4,98 г. Урожайность высокая – 1,6–1,9 кг/м², максимальная – 4,1 кг/м². Сохраняемость ягод удовлетворительная. Плоды содержат: сахара (6,6%), кислоты (2,7%), витамин С (27,0 мг/100 г). Достоинствами сорта являются высокая урожайность и крупноплодность. К недостаткам относятся формирование большей части урожая внутри заросли и неоднородность ягод [8].

Гибрид 1-15-635 – форма, отобранная из гибридной семьи ♀15V×♂Virussaare [9]. Материнская форма 15V отобрана из естественной популяции (клюквенное болото Южной Карелии) сотрудниками Института биологии Карельского научного центра [4, 10]. Отцовский высокоурожайный сорт Virussaare создан в Эстонии [11]. Ягоды округлые, темно-красные. Средняя масса одной ягоды – 1,8 г, максимальная масса достигает 3,3 г. Средняя урожайность с участка сортоизучения – 1,5–2,0 кг/м².

Размноженные в культуре *in vitro* растения клюквы болотной сорта Дар Костромы и гибрида 1-15-635 укореняли в 1-месячном возрасте. При укоренении *in vitro* в состав питательной среды WPM 1/4 вносили ауксин ИМК в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л и препарат Экогель в концентрации 0,5 мг/л и исследовали их влияние на количество и длину побегов растений клюквы. Повторность опыта – 10-кратная, в каждой – по 30 растений. Осуществляли двухфакторный анализ: фактор А – концентрация ИМК, фактор В – наличие препарата Экогель.

На этапе адаптации к почвенным условиям использовали 3 вида субстрата. Определяли приживаемость и среднюю длину побегов в зависимости от состава субстрата. После этого растения в 2-месячном возрасте высаживали в верховой торф на опытном участке стационара «Солонка» (Костромская обл.), где тоже определяли их приживаемость и биометрические показатели. Различия между вариантами устанавливали по наименьшей существенной разнице (НСР) для 5%-го уровня значимости. Статистическую обработку



Рис. 1. Ягоды клюквы болотной сорта Дар Костромы



Рис. 2. Ягоды клюквы болотной гибридной формы 1-15-635

данных проводили при помощи программного пакета Microsoft Office 2016.

Результаты и обсуждение

В результате исследований выявлено, что при укоренении растений клюквы болотной *in vitro* (рис. 3) с повышением в питательной среде концентрации ауксина ИМК от 0,5 до 1,0 мг/л и добавлением в нее препарата Экогель в концентрации 0,5 мг/л количество корней клюквы болотной увеличивалось: у сорта Дар Костромы – от 3,3 до 3,9 шт., а у гибрида 1-15-635 – от 2,5 до



Рис. 3. Этап укоренения растений клюквы болотной *in vitro*

2,8 шт. В вариантах без препарата Экогель при повышении концентрации ауксина увеличение количества корней (от 1,8 до 2,0 шт.) наблюдалось лишь у гибрида 1-15-635 (табл. 1).

Средняя длина корней клюквы болотной с повышением концентрации ауксина ИМК и добавлением в питательную среду препарата Экогель у сорта Дар Костромы увеличивалась от 1,5 до 2,0 см, у гибрида 1-15-635 – от 1,3 до 1,5 см, в то время как без препарата Экогель уменьшалась с 1,0 до 0,9 см и с 1,1 до 0,8 см соответственно. Добавление в питательную среду препарата Экогель в концентрации 0,5 мг/л способствовало увеличению средней длины корней клюквы до 2 раз (табл. 2).

С повышением концентрации ИМК и добавлением в питательную среду препарата Экогель в концентрации 0,5 мг/л суммарная длина корней клюквы болотной у сорта Дар Костромы увеличивалась с 5,1 до 6,0 см, у гибридной формы 1-15-635 – с 4,1 до 4,4 см, а без препарата уменьшалась с 2,6 до 2,5 см и с 3,1 до 2,5 см соответственно

Таблица 1. Количество корней клюквы болотной на 1 растение в зависимости от концентрации ауксина ИМК и добавления препарата Экогель

Сорт	Концентрация ИМК, мг/л	Количество корней	
		с добавлением Экогель 0,5 мг/л	без препарата Экогель
Дар Костромы	0,5	3,3	1,6
	1,0	3,9	1,5
Гибрид 1-15-635	0,5	2,5	1,8
	1,0	2,8	2,0

НСР₀₅ фактор А = 0,85, фактор В = 0,69, общ. = 1,20

Таблица 2. Средняя длина корней клюквы болотной в зависимости от концентрации ауксина ИМК и добавления препарата Экогель

Сорт	Концентрация ИМК, мг/л	Средняя длина корней, см	
		с добавлением Экогель 0,5 мг/л	без препарата Экогель
Дар Костромы	0,5	1,5	1,0
	1,0	2,0	0,9
Гибрид 1-15-635	0,5	1,3	1,1
	1,0	1,5	0,8

НСР₀₅ фактор А = 0,43, фактор В = 0,35, общ. = 0,61

(табл. 3). При добавлении в питательную среду 0,5 мг/л препарата Экогель суммарная длина корней клюквы болотной в среднем составляла 4,9 см, а без него – лишь 2,7 см.

Приживаемость адаптируемых растений клюквы болотной зависела от состава субстрата (рис. 4). Наибольшая приживаемость наблюдалась на субстрате из верхового торфа (99,4–99,7 %), наименьшая – на кокосовом субстрате (31,8–32,3 %) (табл. 4). Значительных различий в приживаемости между сортом Дар Костромы и гибридной формой 1-15-635 не выявлено.

Средняя длина адаптированных растений оказалась максимальной на субстрате из верхового торфа, на других субстратах меньше: у сорта Дар Костромы – 2,3–2,9 см, у гибрида – 1,9–2,5 см.



Рис. 4. АДАПТИРУЕМЫЕ К ПОЧВЕННЫМ УСЛОВИЯМ РАСТЕНИЯ КЛЮКВЫ БОЛОТНОЙ ГИБРИДА 1-15-635

ТАБЛИЦА 3. СУММАРНАЯ ДЛИНА КОРНЕЙ КЛЮКВЫ БОЛОТНОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ АУКСИНА ИМК И ДОБАВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТА ЭКОГЕЛЬ

Сорт	Концентрация ИМК, мг/л	Суммарная длина корней, см	
		с добавлением Экогель 0,5 мг/л	без препарата Экогель
Дар Костромы	0,5	5,1	2,6
	1,0	6,0	2,5
Гибрид 1-15-635	0,5	4,1	3,1
	1,0	4,4	2,5
НСР ₀₅ фактор А = 1,31, фактор В = 1,07, общ. = 1,85			

ТАБЛИЦА 4. ПРИЖИВАЕМОСТЬ И СРЕДНЯЯ ДЛИНА ПОБЕГОВ АДАПТИРУЕМЫХ РАСТЕНИЙ КЛЮКВЫ БОЛОТНОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОРТА И СОСТАВА СУБСТРАТА

Состав субстрата	Приживаемость, %		Средняя длина побегов, см	
	Сорт Дар Костромы	Гибрид 1-15-635	Сорт Дар Костромы	Гибрид 1-15-635
Торф верховой	99,7	99,4	3,5	2,9
Торф + песок 1:1	65,5	70,2	2,9	2,5
Кокосовый субстрат	31,8	32,3	2,3	1,9

После пересадки в открытый грунт приживаемость адаптированных растений клюквы болотной составила 100%. Существенных различий между сортом Дар Костромы и гибридом по средней длине побегов растений и количеству листьев не отмечено (табл. 5).

Таким образом, в результате исследований сделаны следующие выводы:

1. Наличие в питательной среде препарата Экогель в концентрации 0,5 мг/л способствовало увеличению количества и длины корней у растений клюквы болотной, размноженных *in vitro*.

Таблица 5. Приживаемость и биометрические показатели адаптированных растений клюквы болотной в условиях открытого грунта

Сорт	Приживаемость, %	Средняя длина, см	Количество листьев, шт.
Дар Костромы	100	13,5	7,8
Гибрид 1-15-635	100	14,1	7,5

2. С повышением в питательной среде концентрации ауксина ИМК от 0,5 до 1,0 мг/л и добавлением препарата Экогель в концентрации 0,5 мг/л количество и длина корней у растений клюквы болотной возрастали, а без препарата – снижались.

3. Приживаемость адаптируемых *in vivo* растений клюквы болотной была наибольшей при использовании субстрата из верхового торфа. В условиях открытого грунта (верховой торф) приживаемость адаптированных растений составила 100%.

Список использованных источников

1. Большаков, Б.М. Состояние и перспективы использования недревесных ресурсов леса / Б.М. Большаков // Состояние и перспективы использования недревесных ресурсов леса: сб. ст. Междунар. науч.-практ. конф. (10–13 сентября, 2013, Кострома). – Пушкино : ВНИИЛМ, 2014. – С. 7–11.
2. Gianinazzi-Pearson, V. Les mycorrhizes endotrophes: etat actuel des connaissances et possibilities d'application dans La pratique culturale / V. Gianinazzi-Pearson // Ann. Phytopathol. – 1976. – Vol. 8 (3). – P. 249–256.
3. Харитоновна, Л.Г. Все о ягодах. Маленькая энциклопедия / Л.Г. Харитоновна, Н.Г. Харитоновна. – М. : Эксмо-Пресс, 2010. – 234 с.
4. Токарев, П.Н. Изучение формового разнообразия клубники болотной в Карелии / П.Н. Токарев // Экология, продуктивность и биохимический состав лекарственных и ягодных растений лесов и болот Карелии. – Петрозаводск, 1979. – С. 114–125.
5. Лабораторный практикум по культуре клеток и тканей / Е.А. Калашникова, М.Ю. Чердиченко, Р.Н. Киракосян, С.М. Зайцева. – М. : Росинформагротех, 2017. – 140 с.
6. Выращивание лесных ягодных растений в условиях *in vitro* : лабораторный практикум / Сост. С.С. Макаров, Е.А. Калашникова, И.Б. Кузнецова, Р.Н. Киракосян. – Караваево : Костромская ГСХА, 2019. – 48 с.
7. Макаров, С.С. Методические рекомендации по выращиванию посадочного материала лесных ягодных культур *in vitro* и *in vivo* : методические рекомендации / С.С. Макаров, С.А. Родин, А.И. Чудецкий. – Пушкино : ВНИИЛМ, 2019. – 24 с.
8. Макеев, В.А. Клубника / В.А. Макеев, Г.Ю. Макеева // Помология. – Т. V. Земляника. Малина. Орехоплодные и редкие культуры. – Орел : ВНИИСПК, 2014. – С. 419–431.
9. Vilbaste, H. Cranberry – The Grape of the North / H. Vilbaste, J. Vilbaste, K. Ader. – Ministry of Environment, Republic of Estonia. Nigula State Nature Reserve. – Tallinn, 1995. – 16 p.
10. Вахрамеева, З.М. Перспективные формы клубники болотной для возделывания в культуре / З.М. Вахрамеева // Комплексные исследования растительности болот Карелии. – Петрозаводск, 1982. – С. 97–112.
11. Makeev, V.A. The Promising Intraspecific Hybrid of *Oxycoccus palustris* / V.A. Makeev, G. Yu. Makeeva // Культура брусничных ягодников: итоги и перспективы : матер. Междунар. науч. конф. (15–19 августа, 2005, Минск). – Минск, 2005. – С. 146–150.

References

1. Bol'shakov, B.M. Sostoyaniye i perspektivy ispol'zovaniya nedrevesnykh resursov lesa / B.M. Bol'shakov // Sostoyaniye i perspektivy ispol'zovaniya nedrevesnykh resursov lesa: sb. st. Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. (10–13 sentyabrya, 2013, Kostroma). – Pushkino : VNIILM, 2014. – S. 7–11.
2. Gianinazzi-Pearson, V. Les mycorrhizes endotrophes: etat actuel des connaissances et possibilities d'application dans La pratique culturale / V. Gianinazzi-Pearson // Ann. Phytopathol. – 1976. – Vol. 8 (3). – P. 249–256.
3. Haritonova, L.G. Vse o yagodah. Malen'kaya enciklopediya / L.G. Haritonova, N.G. Haritonova. – M. : Eksmo-Press, 2010. – 234 s.
4. Tokarev, P.N. Izuchenie formovogo raznoobraziya klyukvy bolotnoj v Karelii / P.N. Tokarev // Ekologiya, produktivnost' i biohimicheskij sostav lekarstvennykh i yagodnykh rastenij lesov i bolot Karelii. – Petrozavodsk, 1979. – S. 114–125.
5. Laboratornyj praktikum po kul'ture kletok i tkanej / E.A. Kalashnikova, M.Yu. Cherednichenko, R.N. Kirakosyan, S.M. Zajceva. – M. : Rosinformagrotekh, 2017. – 140 s.

6. Vyrashchivanie lesnyh yagodnyh rastenij v usloviyah in vitro : laboratornyj praktikum / Sost. S.S. Makarov, E.A. Kalashnikova, I.B. Kuznecova, R.N. Kirakosyan. – Karavaevo : Kostromskaya GSKHA, 2019. – 48 s.
7. Makarov, S.S. Metodicheskie rekomendacii po vyrashchivaniyu posadochnogo materiala lesnyh yagodnyh kul'tur in vitro i in vivo : metodicheskie rekomendacii / S.S. Makarov, S.A. Rodin, A.I. Chudeckij. – Pushkino : VNIILM, 2019. – 24 s.
8. Makeev, V.A. Klyukva / V.A. Makeev, G.YU. Makeeva // Pomologiya. – T.V. Zemlyanika. Malina. Orekhoplodnye i redkie kul'tury. – Orel : VNIISPK, 2014. – S. 419–431.
9. Vilbaste, H. Cranberry – The Grape of the North / H. Vilbaste, J. Vilbaste, K. Ader. – Ministry of Environment, Republic of Estonia. Nigula State Nature Reserve. – Tallinn, 1995. –16 p.
10. Vahrameeva, Z.M. Perspektivnye formy klyukvy bolotnoj dlya vozdelevaniya v kul'ture / Z.M. Vahrameeva // Kompleksnye issledovaniya rastitel'nosti bolot Karelii. – Petrozavodsk, 1982. – S. 97–112.
11. Makeev, V.A. The Promising Intraspecific Hybrid of *Oxycoccus palustris* / V.A. Makeev, G. Yu. Makeeva // Kul'tura brusnichnyh yagodnikov: itogi i perspektivy : mater. Mezhdunar. nauch. konf. (15–19 avgusta, 2005, Minsk). – Minsk, 2005. – S. 146–150.

Rooting *in vitro* Culture and Adaptation of Marsh Cranberry (*Oxycoccus palustris* Pers.) to Non-Sterile Conditions

S. Makarov

Central European Forest Experimental Station, Branch Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry, Senior Researcher, Candidate of Agricultural Sciences, Kostroma, Russian Federation, makarov_serg44@mail.ru

S. Rodin

Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry, Deputy Director for Research, Academician of the Russian Academy of Sciences, Pushkino, Moscow region, Russian Federation, info@vniilm.ru

I. Kuznetsova

Kostroma State Agricultural Academy, associate Professor, Candidate of Agricultural Sciences, Kostroma, Russian Federation

G. Makeeva

Central European Forest Experimental Station, Branch of the Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry, Senior Researcher, Candidate of Biological Sciences, Kostroma, Russian Federation

V. Makeev

Central European Forest Experimental Station, Branch of the Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry, Leading Engineer, Kostroma, Russian Federation

Key words: marsh cranberry, *in vitro*, clonal micropropagation, medication Ecogel, adaptation to non-sterile conditions, substrate.

One of the most valuable forest crops is marsh cranberry (*Oxycoccus palustris* Pers.) The article presents data on the adaptation of marsh cranberries to non-sterile conditions, as well as the effect of BMI auxin and Ecogel at the stage of plant rooting *in vitro*. The research was conducted on the variety of marsh cranberry Dar Kostroma and hybrid 1-15-635. As a result of research, it was found that with an increase in the nutrient medium concentration of AUXIN BMI from 0.5 to 1.0 mg/l, the number of marsh cranberry roots increased on average in the Dar Kostroma variety from 2.4 to 2.7 PCs, and in the hybrid 1-15-635 from 2.1 to 2.4 PCs. When ecogel was added to the Nutrient medium at a concentration of 0.5 mg/l, the number of roots on average reached 3.1 PCs, and without Ecogel it was only 1.7 PCs. It was also noted that the average length of marsh cranberry roots with an increase in the concentration of BMI auxin and the presence of Ecogel in the nutrient medium increased in the Dar Kostroma variety from 1.5 to 2.0 cm, in the 1-15-635 hybrid from 1.3 to 1.5 cm, while without Ecogel it decreased from 1.0 to 0.9 cm and from 1.1 to 0.8 cm, respectively. Adding Ecogel to the nutrient medium at a concentration of

0.5 mg/l increased the average length of cranberry roots by an average of 1.8 times. The total length of marsh cranberry roots, with an increase in the concentration of BMI auxin and the presence of Ecogel in the nutrient medium at a concentration of 0.5 mg/l, increased in the Dar Kostroma variety from 5.1 to 6.0 cm, and in the hybrid 1-15-635 from 4.1 to 4.4 cm, without Ecogel – decreased from 2.6-3.1 to 2.5 cm.