

УДК 634.739.3:631.53:581.143.6(048.8)

МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ *VACCINIUM MACROCARPON* AIT.

Т.Н. Божидай

РУП «Институт плодоводства»,

ул. Ковалева, 2, аг. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,

e-mail: tanya_bozhidaj@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Клюква крупноплодная (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) является ценной ягодной культурой, как в экономическом, так и биологическом отношении. Увеличение ресурсов клюквы возможно лишь при ее промышленном выращивании. Использование классических методов вегетативного размножения (черенкования) не всегда приводит к достижению желаемых результатов. Промышленное выращивание клюквы крупноплодной с использованием методов клонального микроразмножения растений – эффективный метод получения высококачественного посадочного материала в большом количестве в сжатые сроки.

В статье представлены сведения из различных литературных источников о микроразмножении сортов клюквы крупноплодной. Отражены особенности микроразмножения клюквы методом активации пазушных меристем и индукции адвентивных почек тканями экспланта (листа). Описаны способы укоренения (*in vitro* и *ex vitro*) и условия акклиматизации регенерантов клюквы крупноплодной.

Ключевые слова: *Vaccinium macrocarpon*, микроразмножение, питательная среда, регуляторы роста, *ex vitro*, Беларусь.

Клюква крупноплодная (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) – экономически и биологически ценная ягодная культура, выращиваемая в больших масштабах начиная с середины XIX века. Плоды клюквы крупноплодной содержат сложный и богатый комплекс биологически активных веществ, таких как органические кислоты, пектиновые вещества, полифенолы (дубильные и красящие вещества), витамины и др., а по лечебно-диетическим свойствам она превосходит многие широко распространенные ягодные культуры [1–3].

Размножают клюкву в основном классическим методом вегетативного размножения – черенкованием. Данный метод является успешным, но медленным и трудоемким [3–5]. Микроразмножение – потенциальный метод вегетативного размножения клюквы для ускоренного разведения перспективных сортов и получения здорового посадочного материала [3, 5].

В настоящее время существует ряд работ, посвященных вопросу микроразмножения представителей рода *Vaccinium* L., однако, лишь немногие из них содержат информацию об особенностях размножения клюквы *in vitro*.

Согласно литературным данным, процесс микроразмножения клюквы можно осуществлять методом активации пазушных меристем [6–14] и индукции адвентивных почек тканями экспланта [15–18].

При микроразмножении первым методом, в качестве эксплантов использовались черенки, которые высаживались на различные питательные среды (для культивирования древесных растений (Woody Plant Medium, WPM), по прописи S.C. Debnath и К.В. McRae (ВМ-С), Zimmerman и Broome (Z-2), Андерсона) с регуляторами роста [6–14].

М. Marcotrigiano и S.P. McGlew, J.M. Smagula и J. Harker рекомендуют использовать высокие концентрации 2-изопентениладенина (2-іР) в сочетании с индолилуксусной кислотой (ИУК) или индолилмасляной кислотой (ИМК) для увеличения коэффициента размножения клюквы (30,5 мг/л 2-іР и 0,2 мг/л ИМК, 20,0 мг/л 2-іР и 1,0 мг/л ИУК). При этом следует учитывать, что это может привести к морфологическим отклонениям регенерированных растений от исходных форм [6, 7].

В целях предотвращения чрезмерного образования каллуса, а также, чтобы избежать возникновения соматоклональной вариации S.C. Debnath и К.В. McRae было предложено в процессе микроразмножения клюквы использовать низкие концентрации цитокининов (в частности 2,5–5,0 мг/л 2-іР) [8].

Т.И. Фоменко и соавторами наиболее высокий коэффициент размножения клюквы и наименьшее количество развития аномалий получены на среде WPM, содержащей также низкую концентрацию цитокинина (0,2 мг/л 2-іР) [9].

По мнению J. Sedlak и F. Paprstein, сорта клюквы можно успешно размножать на среде, содержащей зеатин (1 мг/л) [10].

А.А. Брилкиной и соавторами отмечается, что некоторые сорта клюквы крупноплодной лучше развиваются на среде без фитогормонов, а некоторые в присутствии 2,0 мг/л кинетина и 0,5 мг/л ИУК [11, 12].

Микроразмножение клюквы методом индукции адвентивных почек тканями экспланта было рассмотрено М. Marcotrigiano, L. Qu, В.Л. Филипеной и др. В качестве эксплантов использовались листья размноженных *in vitro* растений [15–18].

Процесс регенерации побегов из листьев можно разделить, согласно L. Qu и соавторов, на три этапа: образование жизнеспособных адвентивных почек на экспланте, формирование и удлинение побегов, укоренение побегов [15].

М. Marcotrigiano и соавторами было проанализировано влияние различных комбинаций нафталинуксусной кислоты (НУК) и тидиазурона (ТДЗ) на регенерацию побегов из листьев клюквы. Наилучший результат был получен при добавлении в питательную среду (макросоли по прописи Андерсона, микросоли и витамины по Мурасиге и Скуга) 2,2 мг/л ТДЗ и 0,2 мг/л НУК [16].

По данным L. Qu и соавторов, оптимальной средой для регенерации побегов из листовых эксплантов клюквы является среда (соли по прописи Андерсона, витамины по Мурасиге и Скуга) с 2,2 мг/л ТДЗ и 1,0 мг/л 2-іР [15].

В.Л. Филипена и соавторы изучали влияние различных комбинаций регуляторов роста (2-іР, ИУК, ТДЗ), физических факторов культивирования, морфогенетический потенциал сортов клюквы на адвентивный морфогенез. Было установлено, что процесс регенерации интенсивно протекает при добавлении в среду для культивирования древесных растений (WPM) 1,0 мг/л 2-іР и 1,0 мг/л ТДЗ [17, 18].

Удлинение адвентивных побегов во всех случаях не происходило до тех пор, пока экспланты не переносились на среду без регуляторов роста, после чего только часть побегов вытягивалась [15–18].

Укоренение микропобегов клюквы может проходить в условиях *in vitro* [8, 9, 12, 15] или *ex vitro* [6, 15].

Для укоренения в условиях *in vitro* побеги срезают у основания, а затем помещают на питательную среду без регуляторов роста [8, 15], или содержащую ауксин (1,0 мг/л НУК или 0,5 мг/л ИМК) [9, 12].

Микропобеги клюквы (высотой более 1,5 см) также хорошо укореняются (в течение 15 дней) в условиях *ex vitro* в измельченном мхе *Sphagnum L.* [15] или смеси торфа и песка в соотношении 1:1 [6].

Адаптация к нестерильным условиям укорененных *in vitro* растений клюквы должна проходить постепенно, чтобы избежать гибели растений вследствие резкого изменения относительной влажности, освещенности, температуры. S.C. Debnath и K.B. McRae рекомендуют высаживать укорененные *in vitro* растения в субстрат, состоящий из смеси торфа и перлита (2:1), содержать их в контролируемых условиях (температура – 24±2 °С, влажность – 95 %, фотосинтетический фотонный поток – 90 мкмоль/м²с, фотопериод – 16 часов) и постепенно снижать влажность в течение 2–3 недель [8].

Для ускорения процесса размножения сортов клюквы крупноплодной, снижения затрат и уменьшения вероятности возникновения соматической изменчивости S.C. Debnath и K.B. McRae была разработана эффективная схема микроразмножения клюквы, состоящая из одного этапа. Был исключен этап укоренения и, следовательно, не использовались ауксины. Согласно предложенной схеме микроразмножение и укоренение побегов осуществляется на одной среде (ВМ-С), содержащей 0,4–0,9 мг/л зеатина. В результате проведенных исследований было получено (в течение 10 недель) от 4 до 6 побегов на эксплант и в среднем 92 % укоренившихся побегов клюквы [13, 14]. Укорененные *in vitro* растения были успешно адаптированы по описанной выше методике [8]. Процент приживаемости составил 90–100 % [13, 14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Промышленное выращивание клюквы крупноплодной с использованием методов клонального микроразмножения растений становится все более распространенным, так как это эффективный метод получения высококачественного посадочного материала, особенно для внедрения новых сортов в сжатые сроки.

В литературных источниках приводятся разные схемы микроразмножения сортов клюквы крупноплодной. Широкий спектр питательных сред и регуляторов роста (в различных концентрациях) были использованы исследователями для разных генотипов клюквы крупноплодной.

Анализ результатов исследований по размножению сортов клюквы крупноплодной в условиях *in vitro*, проведенных в различных регионах, показывает значительные различия, как в схемах, так и в результативности микроразмножения, констатирует большую изменчивость в пределах рода *Vaccinium L.* [3]. Вышесказанное определяет необходимость дальнейших исследований для разработки и оптимизации схемы микроразмножения районированных в Беларуси сортов клюквы крупноплодной.

Литература

1. Лягуская, Н.В. Зарубежный и отечественный опыт производства клюквы крупноплодной / Н.В. Лягуская // Устойчивое развитие экономики: состояние, проблемы и перспективы: материалы III междунар. науч.-практ. конф., Пинск, 23–25 апр. 2009 г.: в 2 ч. / Нац. банк Респ. Беларусь, УО «Полес. гос. ун-т»; редкол.: К.К. Шебеко [и др.]. – Пинск, 2009. – Ч. I. – С. 65–66.
2. Курлович, Т.В. Брусника, голубика, клюква, черника / Т.В. Курлович. – М.: Издательский Дом МСП, 2005. – 128 с.
3. Debnath, S.C. Propagation of *Vaccinium* in vitro: a review / S.C. Debnath // International Journal of Fruit Science. – 2006. – Vol. 6, № 2. – P. 47–71.
4. Курлович, Т.В. Требования к саженцам клюквы крупноплодной / Т.В. Курлович, А.Г. Павловская // Актуальные проблемы размножения ягодных культур и пути их решения: материалы междунар. науч.-метод. дистанц. конф., Мичуринск, 15–26 февраля 2010 г. / ВНИИС им. И.В. Мичурина; редкол.: Ю.В. Трунов [и др.]. – Мичуринск, 2010. – С. 151–155.
5. Debnath, S.C. Propagation and cultivation of *Vaccinium* species and less known small fruits / S.C. Debnath // *Vaccinium* ssp. and less known small fruit: challenges and risks: international scientific conference, Jelgava, 6–8 October 2009 / Latvia University of Agriculture; ed. A. Adamovics [et al.]. – Jelgava, 2009. – P. 22–29.
6. Marcotrigiano, M. A two-stage micropropagation system for cranberries / M. Marcotrigiano, S.P. McGlew // Journal of the American Society for Horticultural Science. – 1991. – Vol. 116, № 5. – P. 911–916.
7. Smagula, J.M. Cranberry micropropagation using a lowbush blueberry medium / J.M. Smagula, J. Harker // Acta Horticulturae. – 1997. – Vol. 446. – P. 343–347.
8. Debnath, S.C. An efficient in vitro shoot propagation of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) by axillary bud proliferation / S.C. Debnath, K.B. McRae // In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant. – 2001. – Vol. 37. – P. 243–249.
9. Фоменко, Т.И. Сохранение биологического разнообразия растений в культуре ткани in vitro и его рациональное использование / Т.И. Фоменко [и др.] // Центральный ботанический сад НАН Беларуси: сохранение, изучение и использование биоразнообразия мировой флоры / В.В. Титок [и др.]; под ред. В.В. Титка, В.Н. Решетникова. – Минск, 2012. – Гл. 14. – С. 265–267.
10. Sedlak, J. Micropropagation of cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) through shoot tip cultures – short communication / J. Sedlak, F. Paprstein // Horticultural Science (Prague). – 2011. – Vol. 38, № 4. – P. 159–162.
11. Брилкина, А.А. Получение культуры in vitro растений клюквы крупноплодной и болотной / А.А. Брилкина [и др.] // Вестн. Нижегород. гос. ун-та. Сер. Биология. – 2006. – № 1. – С. 88–90.
12. Брилкина, А.А. Особенности микроклонального размножения представителей подсемейства брусничные / А.А. Брилкина, Е.Е. Павлова // Биология клеток растений in vitro и биотехнология: тез. междунар. конф., Звенигород, 8–12 сентября 2008 г. / Российская академия наук, Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Всероссийское общество физиологов растений, Научный совет РАН по проблемам физиологии растений и фотосинтеза; под ред. А.В. Носова. – Москва, 2008. – С. 52–53.

13. Debnath, S.C. A one-step in vitro cloning procedure for cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.): the influence of cytokinins on shoot proliferation and rooting / S.C. Debnath, K.B. McRae // Small fruits review. – 2005. – Vol. 4, № 3. – P. 57–75.

14. Debnath, S.C. Zeatin-induced one-step in vitro cloning affects the vegetative growth of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) micropropagules over stem cuttings / S.C. Debnath // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2008. – Vol. 93. – P. 231–240.

15. Qu, L. A highly efficient in vitro cranberry regeneration system using leaf explants / L. Qu, J. Polashock, N. Vorsa // HortScience. – 2000. – Vol. 35, № 5. – P. 948–952.

16. Marcotrigiano, M. Shoot regeneration from tissue-cultured leaves of the American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) / M. Marcotrigiano [et al.] // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1996. – Vol. 44. – P. 195–199.

17. Filipenia, V.L. Peculiarities of adventitious organogenesis of *Vaccinium macrocarpon* Ait. in vitro / V.L. Filipenia [et al.] // Blueberry and cranberry growing (with ecological aspects): international scientific conference, Skierniewice, 19–22 June 2006 / Institute of Pomology and Floriculture; ed. D. Goszczyńska [et al.]. – Skierniewice, 2006. – P. 217–223.

18. Филипeня, В.Л. Влияние тиадазурона на регенерацию адвентивных побегов из листовых эксплантов клюквы крупноплодной / В.Л. Филипeня [и др.] // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: материалы Междунар. науч. конф., Минск, 9–11 ноября 1999 г. / НАН Беларуси, Ин-т эксперим. ботаники им. В.Ф. Купревича, Беларус. о-во физиологов растений; редкол.: Н.А. Ламан [и др.]. – Минск, 1999. – С. 117–118.

MICROPROPAGATION OF *VACCINIUM MACROCARPON* AIT.

T.N. Bozhiday

ABSTRACT

Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) is an economically and biologically valuable berry crop. The increase of cranberry resources is possible only with the industrial cultivation of it. The use of classical methods of vegetative propagation (cutting) not always leads to the desired results. Industrial cultivation of cranberry by methods of plants clonal micropropagation is effective method for production of high-quality planting material in large quantities in a short period of time.

The article provides information from different literary sources about micropropagation of cranberry cultivars. Peculiarities of cranberry micropropagation by axillary bud proliferation and induction of adventitious buds by tissues of explant (leaf) are described. Methods of rooting (in vitro and ex vitro) and conditions of cranberry plants acclimatization are described.

Key words: *Vaccinium macrocarpon*, micropropagation, growth medium, growth regulators, ex vitro, Belarus.

Дата поступления статьи в редакцию 28.03.2013