

## ОСОБЕННОСТИ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ И УКОРЕНЕНИЯ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ

Т. Н. СИДОРЕНКО, Е. Г. ЛЕВЗИКОВА

РУП «Гомельская областная сельскохозяйственная опытная станция» НАН Беларуси,  
а.г. Довск, Рогачевский район, Гомельская область, 247261, Беларусь,  
e-mail: goshos@mail.gomel.by

### АННОТАЦИЯ

В статье отражены результаты изучения микроразмножения, укоренения и адаптации районированных сортов голубики высокорослой. Установлено, что на этапе микроразмножения растения-регенеранты голубики сортов Northcountry, Earliblue, Northblue характеризовались различной способностью к регенерации. Коэффициент размножения варьировал от 1,4 (Northblue) до 4,2 (Earliblue) в зависимости от сорта.

Анализ используемых субстратов для укоренения голубики показал, что исследуемые сорта лучше укоренялись при использовании субстрата мох *Sphagnum* + верховой торф (0,5 см), процент укоренения составил 98,8–100,0 %. Наименее приемлемым субстратом для ризогенеза голубики изучаемых сортов является перлит, процент укоренения составил 54,7–67,2 %.

Доля адаптированных растений к полевым условиям составила для голубики сорта Earliblue 89,3 %, Northblue – 85,9 %, Northcountry – 78,2 %.

*Ключевые слова:* голубика, культура *in vitro*, размножение, укоренение, адаптация, морфологическое развитие, Беларусь.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одним из перспективных направлений ягодоводства является выращивание растений рода *Vaccinium* L., в том числе голубики высокорослой. Плоды этой культуры являются важным источником поступления биологически активных веществ и витаминов в организм человека. Содержание в ягодах голубики пектиновых веществ позволяет использовать их для лечения желудочно-кишечных заболеваний и в качестве профилактического средства в ряде вредных производств, связанных с возможностью попадания в организм человека радиоактивных элементов и тяжелых металлов.

Плоды голубики также повышают прочность кровеносных капилляров, регулируют работу желез внутренней секреции, в первую очередь щитовидной железы, обладают противоатеросклеротическим, противовоспалительным и противоопухолевым действием [1–4].

В настоящее время на территории Беларуси функционирует ряд хозяйств, специализирующихся на возделывании голубики высокорослой. Плантации голубики заложены в Витебской, Минской, Гродненской и Гомельской областях. Наибольшее распространение эта культура получила в Брестской области – 73 % от занимаемой площади. Ее возделыванием занимаются как специализированные организации (ОАО «Белорусские журавинки», НЭБ «Журавинка», ЦБС НАН Беларуси, ОАО «Березовская МТС» и др.), так и фермерские хозяйства (КФХ «Кукеты», ФХ «Яквил», КФХ «Беркли», КФХ «Синяя птица» и др.). Общая площадь, занятая голубикой высокорослой, в Беларуси составляет около 700 га, в том числе в плодоносящем возрасте – 600 га [4].

Многолетние исследования и практика голубиководства в Беларуси позволяют обоснованно утверждать, что географическое расположение республики, ее природно-экономические условия являются одними из лучших в Восточной Европе для возделывания большинства сортов голубики высокорослой [5].

Голубика высокорослая размножается зелеными и одревесневшими черенками. Однако данный способ вегетативного размножения является трудоемким и черенки не всех сортов голубики высокорослой имеют хорошую укореняемость [2, 4, 5, 7].

Альтернативным способом вегетативного размножения является микроразмножение. Наиболее очевидными преимуществами метода культуры изолированных тканей является возможность получить в больших количествах вегетативное потомство трудноразмножаемых в обычных условиях видов растений [7–9].

Одним из этапов микроразмножения является укоренение регенерантов и их адаптация к нестерильным условиям. Укоренение *ex vitro* позволяет упростить этап укоренения и одновременно получить растения, адаптированные к естественным условиям. Для эффективного укоренения в условиях *ex vitro* большое значение имеет правильный выбор субстрата.

Исследования показывают, что для укоренения голубики в условиях *ex vitro* могут быть использованы такие субстраты, как мох *Sphagnum L.*, верховой торф и перлит [4, 8, 9].

*Цель исследований* – размножить в культуре *in vitro* и оценить влияние субстратов на укоренение *ex vitro* и адаптацию голубики высокорослой сортов Earliblue, Northcountry, Northblue.

### МЕТОДИКА И МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены в отделе картофелеводства и плодоводства РУП «Гомельская ОСХОС» НАН Беларуси в лаборатории микрклонального размножения растений (2018–2019 гг.). Объекты исследований – районированные сорта голубики высокорослой Northcountry (Норткантри), Northblue (Нортблю), Earliblue (Эрлиблю).

Материалом для исследования служили растения-регенеранты голубики, введенные в культуру *in vitro* в РУП «Институт плодоводства».

**Этап микроразмножения.** Для культивирования микропобегов голубики использовали питательную среду для культивирования древесных растений (Woody Plant Medium, WPM) (табл. 1).

Таблица 1. Состав питательной среды WPM

Компонент	Концентрация в питательной среде, мг/л
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	400,0
MgSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O	180,7
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	990,0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170,0
CaCl <sub>2</sub> × 2H <sub>2</sub> O	72,5
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> × 4H <sub>2</sub> O	386,0
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2
MnSO <sub>4</sub> × 5H <sub>2</sub> O	22,3
ZnSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O	8,6
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> × 2H <sub>2</sub> O	0,25
CuSO <sub>4</sub> × 5H <sub>2</sub> O	0,25
FeSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O	27,85
Трилон Б (Na <sub>2</sub> ЭДТА×7H <sub>2</sub> O)	37,3
Тиамин (B <sub>1</sub> )	1,0
Пиридоксин (B <sub>6</sub> )	0,5
Никотиновая к-та (PP)	0,5
Глицин	2,0
Мезоинозит	100,0

Растения-регенеранты культивировали на агаризованной (агар – 6,0–6,2 г/л) питательной среде (рН 5,0) с добавлением 2-изопентениладенин (2-iP) – 5 мг/л. В качестве источника углевода использовали сахарозу – 30 г/л.

**Этап укоренения.** Для укоренения микропобеги высаживали в мини-парники (450×200×70 мм), наполненные одним из субстратов:

- 1) Мох *Sphagnum L.*+ торф верховой (0,5 см);
- 2) Торф верховой;
- 3) Мох *Sphagnum L.*+ перлит (0,5 см);
- 4) Торф верховой + перлит (0,5 см);
- 5) Перлит.

Расстояние между рядами – 10–15 мм, в ряду – 7–10 мм. Длительность культивирования 4 недели в климатической комнате с оборудованием, предназначенным для поддержания микроклимата (освещение 2,5–3 тыс. люкс, температура 22–26 °С, фотопериод 16 часов).

**Этап адаптации.** Укоренившиеся растения в условиях *ex vitro* пересаживали в емкости большего объема (0,5 л) с субстратом верховой торф + мох *Sphagnum* L. в соотношении 4:1. Агрохимические показатели: тип торфа – верховой, pH – 2,5–3,5; зольность – не более 10 %, массовая доля древесных включений – не более 1,0 %. Содержание подвижных форм элементов питания на 1000 г абсолютно сухого вещества (мг) – N (220), P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (150), K<sub>2</sub>O (270), степень разложения – не более 20 %.

Дальнейшая адаптация растений проходила в поликарбонатной теплице с верхним поливом каждый час, температура – 22–26 °С, влажность – 95–98 %. В дальнейшем проводился полив по мере подсыхания земляного кома. Некорневые подкормки с интервалом 14 дней проводили с использованием водорастворимого удобрения «Кристаллон» зеленый и коричневый (в дозе 4,0 кг/га), профилактическую обработку против грибных заболеваний – препаратом Скор (0,2 л/га).

Учеты, фенологические наблюдения и биометрические измерения проводили согласно «Программе и методике сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» [6].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Этап размножения *in vitro*.** В лабораторных условиях за период исследований 2018–2019 гг. проводили культивирование микропобегов и их укоренение. Производство пробирочных растений голубики составило 8679 шт., из них Northcountry – 1141 шт., Northblue – 1091 шт., Earliblue – 6447 шт.

Наибольший выход жизнеспособных регенерантов голубики отмечен у сорта Earliblue – 83,8 %. Коэффициент размножения данного сорта в среднем составил 3,1. Выявлено влияние генотипа на регенерационную способность регенерантов. Так, у сорта Northblue процессы пролиферации и регенерации протекали не активно, коэффициент размножения составил 1,4. Данный сорт имел самый низкий процент жизнеспособных регенерантов, в среднем – 77,9 % (табл. 2).

Таблица 2. Коэффициент размножения и доля жизнеспособных регенерантов голубики

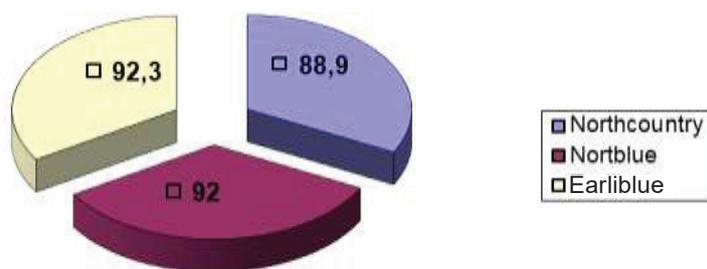
Сорт	Коэффициент размножения	Доля жизнеспособных регенерантов, %
Northcountry	4,2	78,3
Northblue	1,4	77,9
Earliblue	3,1	83,8

**Этап укоренения *ex vitro*.** На девятом пассаже полученные микропобеги голубики сортов Northcountry, Northblue, Earliblue были посажены на укоренение в условиях *ex vitro* в мини-парники.

У растений, выращенных в условиях *in vitro*, отмечается отсутствие эпикутикулярного слоя воска, который защищает их от чрезмерной потери влаги, что приводит к гибели адаптируемых растений. Для снижения стрессового воздействия на растения пробирки с растениями открывали и выдерживали в открытом состоянии 2 часа, затем высаживали в мини-парники. Растения после посадки в мини-парник опрыскивали по мере высыхания воды на листьях. Субстрат при этом постоянно находился во влажном состоянии, но не переувлажненный. Мини-парники открывали для проветривания два раза в сутки на короткий промежуток времени.

По результатам укоренения регенерантов голубики в условиях *ex vitro*, самый высокий процент укоренения был у сорта Earliblue. В среднем за период исследований доля укоренившихся побегов составила 92,3 % (см. рисунок), число основных корней на растение – 6,0 шт., средняя длина корней – 4,6 см, высота растений – 3,9 см.

Для растений-регенерантов голубики сорта Northblue также был отмечен достаточно высокий процент укоренения (92,0 %). Число основных корней на одно растение составило 5,7 шт., длина корней – 4,6 см, высота растений – 3,7 см.



Доля укоренившихся *ex vitro* регенерантов голубики, 2018–2019 гг.

Растения-регенеранты сорта Northcountry имели самые низкие результаты: процент укоренения – 88,9 %, среднее число основных корней – 5,4 шт., длина корней – 4,1 см, высота растений – 3,5 см.

Анализ используемых субстратов для укоренения голубики показал, что исследуемые сорта лучше укоренялись при использовании субстрата мох *Sphagnum* + верховой торф (0,5 см), процент укоренения составил 98,8–100,0 % в зависимости от сорта. Наименее приемлемым субстратом для ризогенеза голубики изучаемых сортов является перлит, процент укоренения составил 54,7–67,2 %.

На субстратах верховой торф + перлит (0,5 см), мох *Sphagnum* + перлит (0,5 см) укоренение составило (95,4–98,7 %), на чистом верховом торфе (98,1–99,6 %) (табл. 3).

Таблица 3. Доля укоренения растений-регенерантов голубики на различных субстратах, %

Вариант	Сорт		
	Northcountry	Northblue	Earliblue
Мох <i>Sphagnum</i> + верховой торф (0,5 см)	98,8	99,2	100,0
Верховой торф	98,1	98,7	99,6
Верховой торф + перлит (0,5 см)	95,4	96,3	96,9
Мох <i>Sphagnum</i> + перлит (0,5 см)	97,5	98,4	98,7
Перлит	54,7	67,2	66,3
<i>HCP</i> <sub>0,05</sub>	1,2	0,87	0,69

**Этап адаптации *ex vitro*.** При пересадке из мини-парников растения испытывают стресс, попадая с одной среды культивирования в другую. Для снижения стрессового воздействия на растения (влажность, температура, травмирование, питание) мини-парники с растениями открывали и выдерживали в открытом состоянии 4 дня, затем пересаживали в горшки на субстрат мох *Sphagnum* + верховой торф на доращивание.

Начало роста адаптируемых растений (отрастание нового листа) отмечено на восьмой-десятый день после посадки, что можно объяснить тем, что при пересадке из мини-парников корни растений не освобождались от субстрата, а высаживались вместе с ним. Основные, боковые и придаточные корни, корневые волоски не травмировались во время посадки, что в свою очередь способствовало интенсивному развитию корневой системы в более короткие сроки.

Таблица 4. Биометрические показатели растений голубики до и после адаптации

Сорт	Высота растений, см		Количество корней, шт.		Длина корня, см	
	до адаптации	после адаптации	до адаптации	после адаптации	до адаптации	после адаптации
Earliblue	3,9	9,7	6,0	10,5	4,6	11,3
Northcountry	3,5	6,6	5,4	8,9	4,1	6,1
Northblue	3,7	7,3	5,7	8,7	4,6	7,6
<i>HCP</i> <sub>0,05</sub>	0,3	1,1	0,4	1,2	0,5	1,3

В результате проведенных исследований было изучено морфологическое развитие растений голубики в момент высадки на адаптацию (длина и количество корней, высота побега). Растения всех сортов значимо не отличались друг от друга (количество корней – 5,4–6,0 шт., длина корней – 4,1–4,6 см, высота побега – 3,5–3,9 см) (табл. 4).

После адаптации и доращивания в условиях *ex vitro* растения голубики пересаживали в емкости большего объема (1,0 л) на верховой торф. Дальнейшая адаптация и рост растений проходили в теплице. Доля адаптированных растений к полевым условиям составила для голубики сорта Earliblue 89,3 %, Northblue – 85,9 %, Northcountry – 78,2 %.

### ВЫВОДЫ

1. Таким образом, на этапе микроразмножения растения-регенеранты голубики сортов Northcountry, Earliblue, Northblue характеризовались различной способностью к регенерации. Коэффициент размножения варьировал от 1,4 (Northblue) до 4,2 (Earliblue) в зависимости от сорта.

2. Анализ используемых субстратов для укоренения голубики показал, что исследуемые сорта лучше укоренялись при использовании субстрата мох *Sphagnum* + верховой торф (0,5 см), процент укоренения составил 98,8–100,0 %. Наименее приемлемым субстратом для ризогенеза голубики изучаемых сортов является перлит, процент укоренения составил 54,7–67,2 %.

3. Доля адаптированных растений к полевым условиям составила для голубики сорта Earliblue 89,3 %, Northblue – 85,9 %, Northcountry – 78,2 %.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Решетников, В. Н. Некоторые аспекты микроклонального размножения голубики высокой и брусники обыкновенной / В. Н. Решетников, Т. В. Антипова, В. П. Филипеня // Плодоводство : науч. тр. / РУП «Ин-т плодоводства» ; редкол.: В. А. Матвеев (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2007. – Т. 19. – С. 209–215.
2. Лягуская, Н. В. Мировые тенденции и эффективность выращивания голубики высокорослой в Беларуси / Н. В. Лягуская // Агропанорама. – 2011. – № 1. – С. 40–45.
3. Голубика – ягода XXI века ; ред.-сост. З. И. Малашевич. – Минск : Крашко-принт, 2006. – 64 с.
4. Голубика высокорослая: оценка адаптационного потенциала при интродукции в условиях Беларуси / Ж. А. Рупасова [и др.]; под общ. ред. В. И. Парфенова. – Минск : Беларуская навука, 2007. – 442 с.
5. Курлович, Т. В. Голубика высокорослая в Беларуси / Т. В. Курлович, Н. В. Босак. – Минск : Беларуская навука, 1998. – 176 с.
6. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / ВНИИСПК ; под общ. ред. Е. Н. Седова и Т. П. Огольцовой. – Орел : ВНИИСПК, 1999. – 374 с.
7. Адаптации основных элементов технологии возделывания и размножения голубики высокой (*Vaccinium corymbosum* L.) в условиях юго-востока Казахстана : рекомендации. – Алматы, 2017. – 34 с.
8. Ускоренное размножение голубики топяной *in vitro* / Н. А. Вечернина [и др.] // Вестник. – Барнаул, 2008. – № 6 (44). – С. 21–25.
9. Микроклональное размножение и производство посадочного материала плодовых и ягодных культур высших категорий качества / М. И. Джигадло [и др.] // The biology of plant cells in vitro and biotechnology : материалы VIII Междунар. конф., Саратов, 9–13 сент. 2003 г. / Рос. акад. наук, Ин-т физиологии растений им. К. А. Тимирязева, Ин-т биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, Саратовский гос. ун-т, О-во физиологов растений России ; редкол.: А. М. Носов [и др.]. – Саратов, 2003. – С. 109.

### PECULIARITIES OF MICROPROPAGATION AND ROOTING OF THE HIGHBUSH BLUEBERRY

T. N. SIDORENKO, E. G. LEVZIKOVA

#### Summary

This article presents the results of the study of micropropagation, rooting and adaptation of zoned cultivars of highbush blueberry. It was established that during stage of micropropagation blueberry microplants (cv. Northcountry, Earliblue, Northblue) have different regeneration ability. Propagation rate varied from 1.4 (Northblue) to 4.2 (Earliblue) depending on the cultivar.

Analysis of substrates used for rooting of blueberry showed that cultivars studied were better rooted when using substrate 'Sphagnum moss + highmoor peat' (0.5 cm), the rooting percentage was 98.8–100.0 %. Perlite is the least admissible substrate for the blueberry rhyzogenesis of cultivars studied; the rooting rate was 54.7–67.2 %.

The percent of plants adapted for field conditions was 89.3 % for Earliblue blueberry, 85.9 % for Northblue, 78.2 % for Northcountry.

*Keywords:* blueberry, *in vitro* culture, propagation, rooting, adaptation, morphological development, Belarus.

Поступила в редакцию 26.05.2020 г.