

Федеральное агентство лесного хозяйства Российской Федерации
(Рослесхоз)
ФБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства
и механизации лесного хозяйства» (ВНИИЛМ)
Филиал ФБУ ВНИИЛМ «Центрально-европейская ЛОС»

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ
ПО ВЫРАЩИВАНИЮ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА
БРУСНИКИ И КРАСНИКИ *IN VITRO* И *EX VITRO***

Пушкино
2022

УДК 634.739
ББК 43.0
Л12

А.И. Чудецкий, С.С. Макаров, С.А. Родин

Чудецкий, А.И. Методические рекомендации по выращиванию посадочного материала брусники и красники in vitro и ex vitro [Электронный ресурс] / А.И. Чудецкий, С.С. Макаров, С.А. Родин. – Пушкино : ВНИИЛМ, 2022. – 1 CD-ROM. – 20 с. – Загл. с титул. экрана.

ISBN 978–5–94219–275–4

Рецензент: А.В. Заушинцева – профессор, доктор биологических наук, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»

Методические рекомендации предназначены для работников предприятий лесного и сельского хозяйства, а также предприятий других ведомств, занимающихся выращиванием ягодных растений. Они являются методическим руководством для специалистов, занимающихся вопросами микроклонального размножения, аспирантов, магистров и студентов учебных заведений биологических и сельскохозяйственных специальностей. В Методических рекомендациях приведены особенности микроклонального размножения брусники обыкновенной и красники, их культивирование на всех этапах, выбор площадей для закладки плантаций, подготовка почвы и выращивание посадочного материала. Методика изложена с использованием общепринятых символов и единиц измерения в системе СИ.

Chudetsky. A. Methodological guidelines for red bilberry and Kamchatka bilberry planting stock production in vitro and ex vitro [Electronic resource] / A. Chudetsky, S. Makarov, S. Rodin – Pushkino : VNIILM, 2022. – 1 CD-ROM. – 20 p. – Title from title screen.

Reviewer: A. Zaushintsena – professor, doctor of biological sciences, Kemerovo State University.

The methodological guidelines are meant for officers of agricultural and forest production units, as well as units from other sectors involved in berry plant production. These are methodical guidelines micro-clonal for propagation experts, post graduates, magisters and students biological and agricultural educational facilities. The guidelines focus on micro-clonal propagation specifics of red bilberry and Kamchatka bilberry, its cultivation at all stages, site selection for plantation establishment, soil preparation and planting stock production. The methodology is presented with common symbols and SI system measurement units.

Методические рекомендации рассмотрены и рекомендованы к изданию научно-методической секцией по вопросам лесоводства и биологии Ученого Совета ФБУ ВНИИЛМ, протокол от 01.04.2022 г. № 5.

Текстовое электронное издание

Минимальные системные требования: Систем. требования : Intel Pentium 4 1,5 GHz и более ; RAM 512 Мб ; HDD 150 Мб ; Microsoft Windows XP17/Vista/2000 и выше, FlashPlayer 9.0 и выше. – Загл. с титул. экрана.

© ФБУ ВНИИЛМ, 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ.....	5
1.1. Брусника обыкновенная	5
1.2. Красника (клоповка сахалинская)	6
2. ВЫРАЩИВАНИЕ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА	7
2.1. Этапы микроклонального размножения растений.....	7
2.2. Стерилизация исходного растительного материала и оборудования для проведения работ в лабораторных условиях	8
2.3. Введение в культуру <i>in vitro</i>	9
2.4. Собственно микроразмножение	10
2.5. Укоренение микропобегов	12
2.6. Адаптация к нестерильным условиям <i>ex vitro</i>	12
3. СОЗДАНИЕ ПЛАНТАЦИЙ	13
3.1. Выбор и подготовка участка	13
3.2. Посадочные работы.....	14
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	15
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	16

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы увеличивается спрос на свежие, замороженные и переработанные лесные ягоды со стороны как российских, так и зарубежных потребителей. Плоды лесных ягодных растений рода *Vaccinium* (брусника, клюква, голубика и др.) отличаются высокой питательной ценностью, обладают лекарственными свойствами благодаря значительному содержанию в них биологически активных веществ, поэтому они находят широкое применение в пищевой промышленности, медицине и др.

В то же время лесохозяйственная деятельность, техногенное загрязнение, лесные пожары, нерегулируемая эксплуатация высокопродуктивных ягодных угодий приводят к значительному сокращению площадей лесных ягодников. Урожайность дикорастущих ягодников сильно варьирует по годам, а в отдельные годы может практически отсутствовать. Поэтому производство, основанное на заготовке и переработке дикорастущих ягод, не может быть стабильно рентабельным. Как показывает мировой опыт, наиболее эффективным выходом из данной ситуации является промышленное выращивание дикорастущих ягодных растений на специализированных плантациях. Культивирование ягодных растений в контролируемых условиях с применением агротехники гарантирует получение стабильных и высоких урожаев [18, 26, 28].

В последнее время особое значение приобретает вопрос обеспечения плантаций соответствующим селекционным материалом. Имеющиеся сорта брусники обыкновенной зарубежной селекции предназначены для достаточно мягких климатических условий и по ряду важнейших признаков (зимостойкость, сроки созревания ягод и др.) не подходят для выращивания во многих регионах России. На Центрально-европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ в результате многолетних исследований созданы первые в России сорта клюквы болотной и брусники обыкновенной, отобраны новые хозяйственно ценные формы с заданными свойствами для промышленного выращивания на плантациях [5, 21]. Кроме того, возрастает интерес и к интродукции нетрадиционных видов.

Созданию высокоурожайных сортов лесных ягодных растений и их плантаций будет способствовать:

- организация многоцелевого, рационального и неистощительного использования лесов, расширение возможностей осуществления данного

вида использования нелесных земель (выработанные торфяники) для выращивания лесных плодовых, ягодных, декоративных и лекарственных растений;

- снижение пожароопасности выработанных торфяников;
- восстановление природных ресурсов дикорастущих ягодников;
- сохранение биоразнообразия, в первую очередь генофонда форм видов ягодных растений, обладающих лучшими хозяйственно ценными признаками.

1. ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ

1.1. Брусника обыкновенная

Брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.) относится к роду *Vaccinium* L., семейству *Ericaceae*. Брусника обыкновенная – низкорослый вегетативно-подвижный кустарничек высотой 5-30 см с ползучим корневищем, расположенным в поверхностных слоях почвы на глубине 5-10 см. Листья зимующие, кожистые, очередные, эллиптические или обратнояйцевидные, тупые или выемчатые, слегка зазубренные или цельнокрайние с завернутым краем, на коротких черешках, сверху темно-зеленые блестящие, снизу бледные, с темно-бурыми железками. Цветки белые, бледно- или светло-розовые, по 3-16 в кисти. Цветоножки короткие, чашечка 4-5-зубчатая, с округлыми зубцами, длиной 0,7-1,2 мм, венчик колокольчатый, длиной 4,0-6,5 мм, с 4-5 отогнутыми лопастями, тычинок 8-10, с опушенными нитями и пыльниками без придатков, завязь четырехгнездная нижняя, столбик выступает из венчика. Плод – ягода, 4-15 мм в диаметре, с остатками чашечки на верхушке. Размножается в основном вегетативно (корневищами), а также семенами [1, 10, 13].

Брусника отличается широкой экологической амплитудой, особенно по отношению к влаге, встречается как на сухих, так и на заболоченных местах. Является среднесерофильным видом, наибольшего обилия в естественных условиях она достигает при влажности почвы 59-87%. Брусника нетребовательна к плодородию почвы и приурочена к участкам с высокой кислотностью (рН – 2,8-5,5). В естественных условиях она произрастает в широком диапазоне эдафических условий – на сухих песчаных и супесчаных почвах, торфяниках, окрайках сфагновых болот. Данный вид является микоризным растением. В отношении света брусника довольно требовательна, предпочитает открытые пространства или светлые леса, в тени

плохо цветет и почти не плодоносит. Брусника довольно устойчива к отрицательным температурам, хорошо переносит бесснежные морозные зимы. Является весьма засухоустойчивым видом [11, 19, 25].

К наиболее известным зарубежным сортам относятся: Koralle, Red Pearl, Ammerland, Erntesege, Erntekrone, Masovia, Runo Bielawskie, Linnea, Ida, Sanna, Sussi. Первыми сортами российской селекции являются: Костромичка, Костромская розовая, Рубин.

1.2. Красника (клоповка сахалинская)

Красника (*Vaccinium praestans* Lamb.) или вакциниум превосходный – кустарничек из рода *Vaccinium* L. семейства *Vacciniaceae* Lindl. Другие русские названия растения – клоповка сахалинская, камчатская брусника, дымника, ползуника. Красника – вегетативно-подвижный листопадный кустарничек с крупными листьями, теневыносливый мезофит, типичный ацидофил [6, 11]. Вегетативные и генеративные почки отличаются друг от друга. Цветковые почки более крупные и округлые; вегетативные – более короткие. Почки покрыты двумя парами почечных чешуй, достаточно приспособленных для перезимовки. Листья красники округлые или обратнояйцевидные, суженные к основанию, 2-6 см в длину, 2,5-3,5 см в ширину, тонкие, но жестковатые, мелкопильчатые по краю. Зачаточные листья с нижней стороны вдоль жилок опушены, что способствует защите зачаточных побегов от воздействия внешних неблагоприятных факторов. Соцветие представляет собой однобокую кисть с 2-3 цветками. Цветоножка длиной 1,5 см, цилиндрическая, выходящая из пазухи прицветника, имеет 2 расположенных относительно друг друга линейных прицветничка. Цветки обоеполые, длиной до 8 мм, с розоватым колокольчатым венчиком длиной 5-6 мм, с двойным околоцветником и двумя кругами тычинок, без запаха. Цветет красника в июне-июле. Плоды – шаровидные ягоды, 8-10 мм в диаметре, ярко-красного цвета, глянцевые, с многочисленными семенами, обладают уникальными вкусовыми качествами (сочные, сладковатокислые и с резким запахом). Массовое завязывание ягод происходит в середине 2-й половины июня, созревают в августе-сентябре. [6-8, 16]. В природе красника размножается в основном вегетативным способом, реже – семенным [9].

Ареал произрастания красники весьма ограничен и неравномерно распространяется на территориях с муссонным климатом: в России это горно-таежные районы Приморского края, Хабаровский край, Камчатка,

Сахалин, Курильские острова, а также местами – северная и центральная части Японии (о. Хоккайдо, о. Хонсю). Красника растет на среднеувлажненных, хорошо дренированных бурых лесных и горно-лесных почвах с рН – 4,5-5,8, влажностью верхних горизонтов 40-60%, встречается она в каменноберезовых лесах с одноярусным травяным покровом и растет на гниющих, лежащих на земле стволах, в хвойных лесах, на моховых болотах вдоль морского побережья, на вырубках, на старых лесных дорогах, просеках, тропинках и на облесенных окраинах болот, в дубняках с различным сочетанием пород, ельниках сфагновых, заболачивающихся лиственничниках, бамбучниках и на участках горных лугов, местами – в елово-пихтовых зеленомошниках, реже – по склонам сопок [6, 22]. В природных условиях растения красники надежно защищены от зимних морозов глубоким снеговым покровом, устойчивы к довольно сильным морозам при бесснежье. Подобно многим дальневосточным растениям красника чувствительна к поздневесенним заморозкам [16].

Наиболее известными являются формы Кунаширская, Сахалинская, отобранные из соответствующих природных мест произрастания.

2. ВЫРАЩИВАНИЕ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА

2.1. Этапы микроклонального размножения растений

Микроклональное размножение – наиболее современный метод вегетативного размножения, имеющий перед другими ряд преимуществ, таких как:

- возможность получения оздоровленного материала от растений, пораженных вирусными, бактериальными и грибными болезнями;
- получение в большом количестве вегетативного потомства видов растений, трудно размножаемых в обычных условиях;
- деятельность лаборатории в течение круглого года и планирование выращивания растений к определенному сроку;
- возможность хранения в течение длительного времени пробирочных растений [2, 4, 15].

Процесс микроклонального размножения состоит из 4 основных этапов:

1. *Введение в культуру in vitro* – выбор растения-донора, изолирование эксплантов и получение хорошо растущей стерильной культуры;

2. *Собственно микроразмножение* – когда достигается получение максимального количества меристематических клонов;

3. *Укоренение размноженных микропобегов* с последующей адаптацией их к почвенным условиям, а при необходимости – депонирование растений-регенерантов при пониженной температуре (+2...+10°C);

4. *Адаптация к нестерильным условиям* – выращивание растений в условиях теплицы и подготовка их к реализации или посадке в поле [2, 4, 15].

2.2. Стерилизация исходного растительного материала и оборудования для проведения работ в лабораторных условиях

Для успешного культивирования растительных органов, тканей и клеток необходимо соблюдение строгой стерильности, так как на искусственных питательных средах одновременно могут развиваться колонии различных микроорганизмов. В результате их развития может существенно изменяться состав питательной среды, а также легко повреждаться изолированные клетки, ткани и органы растений. В связи с этим все работы по введению в культуру и дальнейшие пассажи (пересадки) растений *in vitro* проводят в стерильных помещениях в ламинарных боксах.

Стерилизацию бокса проводят следующим образом. Сначала протирают внутреннюю рабочую поверхность бокса 90% этиловым спиртом, затем размещают там необходимые для работы стерильную посуду, инструменты и др. Накануне проведения работ (вечером) в боксе включают бактерицидную ультрафиолетовую лампу. За 2 часа до начала работ рабочую поверхность вновь протирают 90% спиртом и снова облучают ультрафиолетовой лампой.

Стерилизацию лабораторной посуды осуществляют сухим жаром в сушильном шкафу или влажным жаром в автоклаве. Перед стерилизацией посуду тщательно моют с использованием детергентов (препарат «Ника-2» и др.), а также раствора двуххромовокислого калия в серной кислоте (хром-пик). Вымытую посуду ополаскивают дистиллированной водой и высушивают в сушильном шкафу. Во избежание заражения из воздуха стерилизованные предметы заворачивают в крафт-бумагу и помещают в сушильный шкаф, где поддерживается температура +160°C в течение 2 ч (с момента установления нужной температуры) для подавления размножения бактерий и их спор. Для достижения большего эффекта стерилизацию проводят влажным жаром под давлением в автоклаве. Чистую посуду тщательно заворачивают в фольгу или крафт-бумагу, после чего автоклавируют в течение

ние 25-30 мин при давлении 1 атм. Таким же образом стерилизуют пробки, халаты и т.д.

Стерилизацию инструментов проводят в сушильном шкафу при температуре +140°C в течение 2 ч, а также методом кипячения в дистиллированной воде в течение 3 ч. Непосредственно перед работой, а также в процессе работы инструменты стерилизуют, помещая их в стаканчик с 96% этиловым спиртом, после чего инструменты обжигают в пламени спиртовки. Стерильные инструменты используют только для одноразовой манипуляции, а затем вновь обжигают.

Стерилизацию питательных сред осуществляют путем автоклавирования (паром под давлением). Питательную среду разливают по пробиркам (1/3 объема), закрывают фольгой, заворачивают в оберточную бумагу и автоклавируют при температуре +120°C и давлении 1 атм. в течение 18-20 мин.

2.3. Введение в культуру *in vitro*

Отобранные одревесневшие побеги растений брусники (в конце апреля-начале мая) и красники (с 1-й по 3-ю декаду мая) тщательно моют щеткой с мылом и моющим средством «Лазурит» в теплой проточной воде, промывают дистиллированной водой и опускают на несколько секунд в абсолютный спирт, затем – на несколько минут в основной стерилизующий раствор. Далее черенки помещают в марлевые мешочки и в условиях ламинарного бокса проводят их стерилизацию. Для стерилизации растительного материала (стеблей, почек и других фрагментов растений), предназначенного для вычленения экспланта, применяют различные стерилизующие растворы: для брусники обыкновенной – препарат Лизоформин 3000 (5%), азотнокислое серебро AgNO_3 (0,2%), сулема (0,1-0,2%) при времени стерилизации 10 мин; для красники – азотнокислое серебро AgNO_3 (0,2%) при времени стерилизации 10 мин и препарат Экостерилизатор бесхлорный (5%) при времени стерилизации 20 мин.

После стерилизации растительные объекты тщательно отмывают от стерилизующих веществ многократным ополаскиванием дистиллированной водой. Ополаскивание проводят в течение нескольких часов при 5-7-кратной смене стерильной воды. Затем черенки извлекают из мешочка с помощью стерильного пинцета и перемещают их на матрасик, отрезая базальную часть черенка. Далее переносят их на питательную среду в пробирки и закрывают культуральный сосуд пленкой.

2.4. Собственно микроразмножение

На этапе «собственно микроразмножение» в условиях ламинарного бокса исходные растения-регенеранты извлекают пинцетом из культурального сосуда. На стерильном матрасике при помощи скальпеля и пинцета разделяют их на микрочеренки длиной 1-2 см, удаляя нижние листочки, и пересаживают микрочеренки на питательные среды (табл. 1): для брусники обыкновенной – Андерсона (AN) [23], для красники – Woody Plant Medium (WPM) [24], в том числе в вариантах разбавления минеральной основы в 2 раза. Растения-регенеранты культивируют в условиях световой комнаты при фотопериоде 16 ч света и 8 ч темноты, с поддержанием температуры +23...+25°C, влажности воздуха 75-80%. В качестве росторегулирующих веществ цитокининовой группы при выращивании брусники используют 2-изопенталаденин (2-iP) в концентрации 1,0-2,0 мг/л, при выращивании красники – 6-бензиламинопурил (6-БАП) в концентрации 0,5-1,0 мг/л. Для улучшения регенерации побегов целесообразно в питательную среду добавлять ростостимулирующие экопрепараты: НВ-101 в концентрации 0,1 мл/л; Циркон в концентрации 0,5 мл/л; Эпин-Экстра в концентрации 0,1 мл/л.

После этого горлышко сосуда обжигают над пламенем спиртовки, закрывают пищевой пленкой и переносят в световую комнату, где поддерживается освещение 2500-6000 лк, 16-часовой фотопериод, температура +23...+25°C и влажность воздуха 70-80%. При этом в качестве источников освещения рекомендуется использовать светодиодные лампы белого спектра ($\lambda = 653$ нм) или с комбинацией белого ($\lambda = 653$ нм), красного ($\lambda = 670$ нм) и синего ($\lambda = 455$ нм) спектров. Культивирование брусники проводят в течение 40-50 сут., красники – 50-65 сут. Полученный в конце пассажа биоматериал вновь используют для дальнейшего размножения в условиях *in vitro*.

Таблица 1

Состав питательных сред для выращивания культуры клеток и тканей

Компоненты питательной среды	Концентрация, мг/л	
	AN	WPM
1	2	3
Макросоли		
NH ₄ NO ₃	400,0	400,0
NaH ₂ PO ₄ *H ₂ O	380,0	-
KNO ₃	480,0	-
CaCl ₂ *2H ₂ O	440,0	96,0
Ca(NO ₃) ₂ *4H ₂ O	-	556,0
MgSO ₄ *7H ₂ O	370,0	370,0
KH ₂ PO ₄	-	170,0
K ₂ SO ₄	-	990,0
Хелат железа		
Na ₂ *EDTA	74,5	37,3
FeSO ₄ *7H ₂ O	55,7	27,8
Микросоли		
MnSO ₄ *H ₂ O	16,9	-
ZnSO ₄ *7H ₂ O	8,6	8,6
H ₃ BO ₃	6,2	-
KI	0,3	-
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	0,25	-
CuSO ₄ *5H ₂ O	0,025	0,25
CoCl ₂ *6H ₂ O	0,025	-
Витамины		
Тиамин (B ₁)	0,5	0,4
Пиридоксин (B ₆)	0,5	0,4
Никотиновая кислота (PP)	0,5	0,2
Аскорбиновая кислота (C)	1,5	1,0
Мезоинозит	100,0	100,0
Углеводы		
Сахароза	20 000	30 000
Агар		
Агар-агар	7 000	7 000

2.5. Укоренение микропобегов

На этапе укоренения микропобегов *in vitro* микрочеренки растений брусники и красники пересаживают на питательную среду, содержащую ауксины. В качестве росторегулирующих веществ ауксиновой группы используют: для брусники обыкновенной – индолилуксусную кислоту (ИУК) в концентрации 2,0 мг/л; для красники – индолилмасляную кислоту (ИМК) в концентрации 2,0 мг/л. В условиях ламинарного бокса исходные растения достают из культурального сосуда и переносят их на стерильный матрасик. При помощи скальпеля и пинцета растения разделяют на микрочеренки длиной 1,0-1,5 см с двумя междоузлиями, удаляя нижние листочки, и пересаживают их на питательную среду с содержанием ауксинов. После этого горлышко сосуда закрывают пищевой пленкой и ставят в световую комнату, где поддерживается освещение 2500-3000 лк, 16-часовой фотопериод, температура +25°C и относительная влажность воздуха 80%. Культивирование проводят в течение 30-50 сут. В питательную среду также целесообразно добавлять ростостимулирующие экопрепараты Циркон в концентрации 0,5 мл/л или НВ-101 в концентрации 0,1 мл/л.

2.6. Адаптация к нестерильным условиям *ex vitro*

Наиболее благоприятным временем для адаптации пробирочных растений брусники и красники с хорошо развитой корневой системой и с 5-7 листьями к нестерильным условиям *ex vitro* является период с 1-й декады мая по 1-ю декаду июня. Растения *in vitro* достают пинцетом из пробирки и для предотвращения развития патогенной микрофлоры промывают корни в 1% растворе перманганата калия KMnO_4 .

В качестве субстрата для адаптации рекомендуется использовать: торф верхового типа ($\text{pH}_{\text{КСI}} - 2,8-3,5$), смесь торфа с вермикулитом (в соотношении 1:4); для брусники – также смесь торфа с перлитом (в соотношении 1:4); для красники – смесь торфа с песком (в соотношении 1:1). Предварительно субстраты проливают 5%-м раствором KMnO_4 и оставляют на 14 дней в темном месте.

После этого укорененные растения брусники и красники пересаживают в кассеты с субстратом и поливают водой. Затем растения опрыскивают водой из пульверизатора и надевают колпачки для сохранения влажности. Для лучшей работы устьиц брусники и красники проводят опрыс-

кивание растений водой ежедневно в течение 10 дней. Целесообразно проводить опрыскивание растворами ростостимулирующих препаратов – Циркон в концентрации 0,5 мл/л и НВ-101 в концентрации 0,1 мл/л. Для повышения приживаемости растений рекомендуется мульчирование посадок мхом сфагнумом (слой до 1 см).

Кассеты с адаптируемыми растениями ставят в условия освещения 8000 лк, температуры +25°C и влажности воздуха 80-90%. Ежедневно в течение 7 дней растения опрыскивают водой, после чего проводят первую подкормку 1/5 минерального состава среды WPM. Через 10 сут. проводят первую ревизию растений. Дальнейшее их выращивание проводят по принятой для каждого вида растения агротехнике [3, 17].

3. СОЗДАНИЕ ПЛАНТАЦИЙ

3.1. Выбор и подготовка участка

Для создания плантаций брусники и красники пригодны выработанные торфяные месторождения верхового и переходного типов. Допустимый диапазон кислотности субстрата (pH_{KCl}) для брусники обыкновенной – 3,0-5,0, для красники – 3,0-6,0 [6, 14]. Оптимальные для выращивания данных видов растений участки выработанных торфяников должны иметь следующие параметры:

- наиболее подходящими для закладки плантаций ягодников считаются только что вышедшие из-под торфопоразработок площади (фрезерные поля), т.к. в большинстве случаев поверхность таких полей свободна от сорняков, хорошо спланирована и имеет осушительно-обводнительную сеть;
- участки должны иметь мощность остаточного слоя торфа не менее 50 см;
- участок должен быть хорошо дренирован из-за плохой переносимости ягодными растениями застойного увлажнения;
- оптимальный уровень грунтовых вод на фрезерном участке – 60-80 см, при этом следует предусмотреть возможность регулирования уровня грунтовых вод на лесном участке.

Первичная подготовка участка заключается в расчистке его от кустарников и травянистой растительности. Приводится в порядок имеющаяся осушительная и дорожная сеть, чтобы иметь доступ техники в любое место выбранного участка.

Подготовка почвы на выработанных торфяниках должна производиться с учетом мощности оставленного слоя торфа. Системой обработки почвы предусматривается создание мелкокомковатой структуры в пахотном слое (0-30 см). При слое торфа 0,5 м и более проводится вспашка с оборотом пласта на глубину 0,4 м и двукратное дискование (бороной БД–2,5). При меньшей мощности остаточного слоя торфа необходимо только дискование или рыхление, чтобы улучшить аэрацию почвы. Одновременно производится ручной подбор и вывозка выпавших древесных остатков. После рыхления почвы участок выравнивают бульдозерами, скреперами или другими специальными механизмами. Вслед за выравниванием осуществляется планировка поля планировщиками разных марок или шнековым профилировщиком ТПШ–2.

Опасаясь появления на участке сорных растений, перед посадочными работами следует внести гербициды почвенного действия, например, симазин в дозе 6-7 кг/га действующего вещества. В случае появления сорной растительности следует в течение вегетационного периода уничтожать сорняки механическими и химическими способами (средствами), а весной следующего года провести посадочные работы [14].

3.2. Посадочные работы

Адаптированные *ex vitro* растения брусники обыкновенной и красники с закрытой корневой системой пересаживают в естественные условия на выработанные торфяники верхового и переходного типов. Посадку саженцев брусники и красники осуществляют в конце апреля-начале мая вручную или механизированным способом. Схемы посадки могут быть разными в зависимости от типа почв и используемых технических средств. Рекомендуются посадки: однорядные (расстояние между рядами – 0,5-1 м, между растениями в ряду – 25-30 или 40-50 см; требуемое количество саженцев – 20-80 тыс. шт./га); двухрядные (расстояние между рядами – 20-30 см, между растениями в ряду – 15-30 см, между двойными рядами (лентами) – 0,6-1 м; требуемое количество саженцев – 43-74 тыс. шт./га).

Применение минеральных удобрений. При посадке вносят комплексные минеральные удобрения NPK в небольших дозах ($N_{15-30}P_{60}K_{15-30}$ кг/га по д.в.). Удобрения вносят в полосу шириной 50 см, с последующей заделкой в торф. При этом для формирования большего числа цветковых почек в комплексе с полными минеральными удобрениями можно применять сернокислые соли марганца (15 кг/га д.в.) и борную кислоту (1,5 кг/га

д.в.). Для сохранения оптимального роста и продуктивности растений подкормку посадок комплексными минеральными удобрениями в тех же дозах проводят через год [12, 27].

Мульчирование. Вслед за посадкой растений проводят мульчирование рядов. В качестве мульчи используют древесные опилки и измельченную кору хвойных пород, сфагновый мох. Толщина слоя мульчи – 2-5 см, в зависимости от размера посадочного материала. Повторное мульчирование посадок проводят через каждые 2-3 года [20].

Защита от заморозков и морозов. Лучшим способом защиты посадок брусники и красники от поздневесенних заморозков является дождевание, которое позволяет избежать повреждений растений при температуре до $-5 \dots -7^{\circ}\text{C}$. Дождевальную установку включают, когда температура приземного слоя воздуха понижается до $+0,5^{\circ}\text{C}$. Для защиты небольших посадок брусники можно использовать укрывной материал (типа агрил и спанбонд).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При создании плантаций брусники и красники на выработанных торфяных месторождениях целесообразно использовать посадочный материал, полученный методом микроклонального размножения. При выращивании брусники обыкновенной *in vitro* рекомендуется использовать питательную среду AN, AN 1/2 с добавлением 2-иР 1,0-2,0 мг/л, при выращивании красники – питательную среду WPM 1/2 с добавлением 6-БАП 0,5 мг/л. При укоренении *in vitro* брусники и красники рекомендуется добавление в питательную среду ауксинов ИМК и ИУК в концентрации 2,0 мг/л. При адаптации брусники обыкновенной и красники, полученных методом *in vitro*, к субстрату из верхового торфа в качестве минеральных компонентов целесообразно добавлять перлит или вермикулит (в соотношении 1:4). На всех этапах микроклонального размножения брусники и красники в качестве добавок в питательную среду или субстрат следует использовать препараты Циркон 0,5 мл/л или НВ-101 0,1 мл/л. После пересадки адаптированных растений брусники обыкновенной и красники в условия выработанных торфяников необходимо применение комплексных минеральных удобрений и мульчирование.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. *Баландина, Т.П.* Брусника обыкновенная / Т.П. Баландина, М.Г. Вахрамеева // Биологическая флора Московской области. – М., 1978. – Вып. 4. – С. 167–179.
2. *Бутенко, Р. Г.* Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / Р. Г. Бутенко. – М. : ФБК-Пресс, 1999. – 160 с.
3. Выращивание лесных ягодных растений в условиях *in vitro* : лаборатор. практикум / Сост. С.С. Макаров, Е.А. Калашникова, И.Б. Кузнецова, Р.Н. Киракосян. – Караваево : Костромская ГСХА, 2019. – 48 с.
4. *Калашникова, Е.А.* Современные аспекты биотехнологии : учеб.-метод. пособие / Е.А. Калашникова, М.Ю. Чередниченко, Р.Н. Киракосян. – М. : Изд-во РГАУ-МСХА, 2016. – 125 с.
5. *Корнев, И.А.* Создание новых сортов лесных ягодных растений и перспективы их интенсивного размножения (*in vitro*) / И.А. Корнев, Г.В. Тяк, С.С. Макаров // Лесохозяйственная информация. – 2019. – № 3. – С. 180–189.
6. *Красикова, В.И.* Биология и рациональное использование красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) на Сахалине / В.И. Красикова. – Владивосток : ДВНЦ АН СССР, 1987. – 108 с.
7. *Красикова, В.И.* Ботаническая характеристика красники и сезонная динамика биологически активных веществ в ее надземной фитомассе / В.И. Красикова, А.М. Лебедева // Брусничные в СССР : сб. науч. тр. – Новосибирск : Наука, СО, 1990. – С. 139–144.
8. *Красикова, В.И.* Строение цветка и динамика цветения *Vaccinium praestans* Lamb. / В.И. Красикова, И.Г. Корнева // Биология и интродукция полезных растений Сахалинской области. – Владивосток, 1979. – С. 8–11.
9. *Красикова, В.И.* Семенное и вегетативное размножение (*Vaccinium praestans* Lamb.) / В.И. Красикова // Растительные ресурсы. – 1986. – Т. 22. – Вып. 2. – С. 199–204.
10. *Курлович, Т.В.* Брусника, клюква, красника. Сорта, посадка, уход / Т.В. Курлович, А.В. Гавриков. – М. : Кладезь-Букс, 2010. – 64 с.
11. *Мазуренко, М.Т.* Вересковые кустарнички Дальнего Востока (структура и морфогенез) / М.Т. Мазуренко. – М. : Наука, 1982. – 184 с.
12. Методические рекомендации по применению минеральных удобрений на плантациях ягодников семейства Брусничных до периода плодо-

ношения (для опытно-производственной проверки) / Сост. А.Ф. Черкасов, В.А. Макеев, В.Е. Волчков [и др.]. – М. : ВНИИЛМ, БелНИИЛХ Гослесхоза СССР, 1986. – 22 с.

13. *Морозов, О.В.* Брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.) в сосновых лесах Беларуси / О.В. Морозов. – Минск : Право и экономика, 2006. – 114 с.

14. Руководство по технологии и агротехнике плантационного выращивания клюквы, брусники и голубики (для внедрения в производство) / Сост. А.Ф. Черкасов, Г.В. Тяк, В.А. Макеев [и др.]. – М. : ВНИИЛМ, Ин-т леса АН Беларуси, 1992. – 54 с.

15. Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия: учеб. / В.С. Шевелуха [и др.]; под ред. В.С. Шевелухи. – М. : URSS, 2015. – 715 с.

16. *Смирнов, И.Ю.* Перспективы окультуривания красники / И.Ю. Смирнов // Плодоводство и ягодоводство России. – 2001. – Т. 8. – С. 94–99.

17. *Соловых, Н.В.* Использование биотехнологических методов в работе с ягодными культурами: метод. реком. / Н.В. Соловых. – Мичуринск : Изд-во Мичуринского ГАУ, 2009. – 47 с.

18. *Тяк, Г.В.* Биологическая рекультивация выработанных торфяников путем создания посадок лесных ягодных растений / Г.В. Тяк, Л.Е. Курлович, А.В. Тяк // Вестник Казанского гос. аграрного ун-та. – 2016. – Т. 11. – № 2. – С. 43–46.

19. *Тяк, Г.В.* Интродукция западноевропейских сортов брусники в Костромской области / Г.В. Тяк, С.А. Алтухова // Состояние и перспективы развития нетрадиционных садовых культур : мат-лы Междунар. науч.-метод. конф. (Мичуринск, 12–14 августа 2003 г.). – Воронеж : Кварта, 2003. – С. 80–84.

20. *Тяк, Г.В.* Мульчирование посадок брусники как способ борьбы с сорными растениями / Г.В. Тяк, С.А. Алтухова // Сб. науч. ст., посв. 50-летию Костромской лесной опытной станции ВНИИЛМ. – Кострома : ВНИИЛМ, 2006. – С. 219–224.

21. *Тяк, Г.В.* Первые отечественные сорта брусники / Г.В. Тяк, А.Ф. Черкасов, С.А. Алтухова // Лесное хозяйство. – 2002. – № 5. – С. 37–38.

22. *Чернягина, О.А.* Красника *Vaccinium praestans* на Камчатке / О.А. Чернягина // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : мат-лы XIII Междунар. науч. конф., посв. 75-летию со дня рождения д.б.н. С.А. Дыренкова (Петропавловск-Камчатский, 14–15 ноября 2012 г.). – Петропавловск-Камчатский : Камчатпресс, 2012. – С. 124–128.

23. *Anderson, W.C.* Propagation of Rhododendrons by Tissue Culture. 1. Development of a Culture Medium for Multiplication of Shoots / W.C. Anderson // Proc. Int. Plant Prop. Soc. – 1975. – Vol. 25. – P. 129–135.
24. *Lloyd, G.* Commercially-feasible Micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by Use of Shoot Tip Culture / G. Lloyd, B. McCown // Combined Proceedings of the International Plant Propagator's Society. – 1980. – V. 30. – P. 421–427.
25. *Müller, A.* Preiselbeere – Botanische Eigenschaften, Verbreitung und Standortbedingungen im Hinblick auf einen feldm ässigen Anbau / A. Müller // Erwerbsobstbau. – 1982. – V. 24, no. 6. – P. 155–158.
26. *Starast, M.* The Effect of Using Different Mulches and Growth Substrates on Half-highbush Blueberry (*Vaccinium corymbosum* × *V. angustifolium*) Cultivars “Northblue” and “Northcountry” / M. Starast, K. Karp, T. Paal // Acta Horticulturae, Proc. of the 7th Int. Symp., Chile, 2000. – P. 281–286.
27. *Tiak, G.V.* Application of Chemical Fertilizers on Plantations of Lingonberry of Kostromichka and Kostromskaya rozovaya Cultivars / G.V. Tiak, S.A. Altukhova, L.V. Vikhareva // Культура Брусничных ягодников : итоги и перспективы : мат-лы Междунар. науч. конф. (Минск, 15–19 августа 2005 г.). – Минск, 2005. – С. 90–93.
28. *Vahejõe, K.* Berry Cultivation in Cutover Peatlands in Estonia: Agricultural and Economical Aspects / K. Vahejõe, T. Albert, M. Noormets [et al.] // Baltic Forestry. – 2010. – V. 16, no. 2. – P. 264–272.

А.И. Чудецкий, С.С. Макаров, С.А. Родин

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫРАЩИВАНИЮ
ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА БРУСНИКИ И КРАСНИКИ
IN VITRO И *EX VITRO***

Текстовое электронное издание

В авторской редакции

Корректор *Е.Б. Кузнецова*
Компьютерная верстка *Н.В. Роянова*

Подписано к использованию 11.04.2022
Объем 1.3 МБ.
Тираж 10 CD-ROM

Всероссийский научно-исследовательский институт
лесоводства и механизации лесного хозяйства.
Московская область, г. Пушкино, ул. Институтская, д. 15
www.vniilm.ru, e-mail: info@vniilm.ru
Тел.: +7 (495) 993-30-54

