

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

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ
ПО ВЫРАЩИВАНИЮ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА
ЛЕСНЫХ ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Пушкино
2023

УДК 634.7
ББК 43.0
Л12

Методические рекомендации по выращиванию посадочного материала лесных ягодных растений в культуре *in vitro* [Электронный ресурс] / С.С. Макаров, А.И. Чудецкий, С.А. Родин, Е.И. Куликова. – Пушкино : ВНИИЛМ, 2023. – 32 с. – 1 CD-ROM. – Загл. с титул. экрана.

Текстовое электронное издание.

Методические рекомендации предназначены для внедрения на предприятиях сельского и лесного хозяйства и могут быть использованы предприятиями других ведомств, занимающихся выращиванием ягодных растений, а также являются методическим руководством для специалистов, занимающихся вопросами клонального микроразмножения, аспирантов, магистров и студентов биологических и сельскохозяйственных специальностей. Приведены особенности клонального микроразмножения лесных ягодных растений на всех этапах. Методики изложены с использованием общепринятых символов и единиц измерения в системе СИ.

Авторы: **Макаров С. С.** – д-р с.-х. наук, гл. научн. сотр. группы недревесной продукции леса Филиала ФБУ ВНИИЛМ «Центрально-европейская лесная опытная станция», г. Кострома; проф. кафедры ландшафтной архитектуры и искусственных лесов ФГАУО ВО «Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова», г. Архангельск;
Чудецкий А. И. – канд. с.-х. наук, ст. научн. сотр. группы лесоводства Филиала ФБУ ВНИИЛМ «Центрально-европейская лесная опытная станция», г. Кострома;
Родин С. А. – д-р с.-х. наук, акад. РАН, ФБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства», г. Пушкино, Московская область;
Куликова Е. И. – канд. с.-х. наук, доц., зав. кафедрой растениеводства, земледелия и агрохимии ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина», г. Вологда.

Рецензенты: **Зарубина Л.В.** – д-р с.-х. наук, доц., проф. кафедры лесного хозяйства ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина»;
Заушинцева А.В. – д-р биол. наук, проф. кафедры экологии и природопользования ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет».

Guidelines to produce forest berry plant planting stock *in vitro* [e-resource] / S. Makarov, A. Chudetsky, S. Rodin, E. Kulikova. – Pushkino : VNIILM, 2023. – 32 p. – 1 CD-ROM. – Title from title screen.

Text e-publication.

The guidelines are designed for introduction at agriculture and forest enterprises and can be applied by companies from other sectors involved in berry plant production while being a best practice manual for clonal micro-propagation experts, post graduates, magisters, biological and agricultural students. Forest berry plant clonal micro-propagation specifics at all stages are presented. Procedures are presented using common symbols and SI system measure units.

Authors: **Makarov S.** – doctor of agricultural sciences, chief researcher of non-wood forest products, VNIILM subsidiary “Central European forest experiment station, Kostroma, professor of landscape architecture and forest plantation department, Lomonosov North {Arctic} Federal University, Archangelsk.
Chudetsky A. – candidate of agricultural sciences, chief researcher of silviculture group, VNIILM subsidiary “Central European forest experiment station, Kostroma,
Rodin S – doctor of agricultural sciences, member of the RAS, Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry, Pushkino, Moscow region.
Kulikova E. – candidate of agricultural sciences, associate professor, manager of plant cultivation, farming and agro-chemistry department, Vologda Vereshagin State Diary Academy, Volodga.

Reviewers: **Zarubina L.** – doctor of agricultural sciences, professor of forestry department, Vologda Vereshagin State Diary Academy.
Zauchintsena A. – doctor of biological sciences, professor of ecology and nature use department, Kemerovo State University.

Работа рассмотрена и рекомендована к изданию научно-методической секцией по вопросам лесоводства и биологии Ученого совета ВНИИЛМ, протокол от 31 марта 2023 г. № 3.

Минимальные системные требования: процессор AMD, Intel от 1 ГГц, 100 Мб HDD, ОЗУ от 1 Гб, CD-ROM, видеоадаптер от 1024 Мб или аналог; Windows Vista/7/8/10 или аналог; ПО – Adobe Acrobat Reader или аналог.

ISBN 978–5–94219–290–7

© С.С. Макаров, А.И. Чудецкий, С.А. Родин, Е.И. Куликова, 2023
© ФБУ ВНИИЛМ, 2023

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	4
1. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛЕСНЫХ ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ	6
1.1. Брусника обыкновенная.....	6
1.2. Голубика узколистная	7
1.3. Голубика топяная	7
1.4. Клюква крупноплодная	8
1.5. Клюква болотная	9
1.6. Княженика арктическая.....	9
1.7. Жимолость съедобная.....	10
1.8. Красника (клоповка сахалинская)	10
2. ВЫРАЩИВАНИЕ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА.....	12
2.1. Этапы клонального микроразмножения растений.....	12
2.2. Обустройство лаборатории клонального микроразмножения.....	14
2.3. Стерилизация исходного растительного материала и оборудования для проведения работ в условиях лаборатории	16
2.4. Введение в культуру <i>in vitro</i>	17
2.5. Собственно микроразмножение (этап пролиферации)	21
2.6. Укоренение микропобегов (ризогенез)	24
2.7. Адаптация к нестерильным условиям <i>ex vitro</i>	25
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	27
Список использованных источников	28
Приложение.....	31

ВВЕДЕНИЕ

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

В настоящее время прогрессирующее увеличение интенсивности воздействия техногенной и антропогенной нагрузки на природные экосистемы способствует изменениям их структуры в сторону деградации, что влечет за собой нарушение эколого-биологического и климатического равновесия средообразующих компонентов ландшафтов. 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 [9, 28, 40, 42].

В связи с этим вопрос о биологической рекультивации земель, вышедших из хозяйственного использования, и дальнейшем их использовании имеет важное экологическое и экономическое значение. К таким землям относятся выработанные торфяные месторождения, площадь которых в России превышает 1 млн га. Выработанные торфяники (преимущественно после фрезерной добычи торфа) расположены главным образом вблизи населенных пунктов с частичным сохранением мелиоративной и дорожной сети. Хозяйственное освоение разнообразных по своим лесорастительным особенностям площадей таких земель до сих пор осуществляется не лучшим образом. Поскольку, в отличие от минеральных почв, остаточный слой торфа имеет низкие физико-химические, микробиологические, гидротермические свойства и повышенную токсичность,

то основным направлением биологической рекультивации выработанных торфяных месторождений является лесохозяйственное [6, 28].

На сегодняшний день одной из задач лесного хозяйства является обеспечение рентабельности использования побочной лесной продукции (недревесные ресурсы леса). Создание плантаций лесных ягодных растений на выработанных торфяниках является одним из факторов, повышающих эффективность работы отрасли. За последние десятилетия как в России, так и за рубежом наблюдается возрастание интереса к выращиванию лесных ягодных растений на нелесных землях, включая осушенные и выработанные торфяники. Успешность выращивания ягодных растений в промышленных масштабах при этом невозможна без использования сортового посадочного материала.

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 [11, 22, 29, 30]. Кроме того, возрастает интерес и к интродукции мало используемых 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. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛЕСНЫХ ЯГОДНЫХ 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 [3, 17, 19, 20].

Брусника отличается широкой экологической амплитудой, особенно по отношению к влаге, встречается как на сухих, так и на заболоченных местах. Является среднексерофильным 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 [17, 40].

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

1.2. Голубика узколистная

Голубика относится к семейству *Ericaceae* Juss. – вересковые, подсемейству *Vaccinioideae* Arnott – брусничные, роду *Vaccinium* L. (черника, голубика).

Голубика узколистная (*Vaccinium angustifolium* Ait.) относится к группе низкорослых североамериканских гроздеплодных голубик. Данный вид в естественных условиях распространен в Восточной Канаде и на северо-западе США [21].

Кустарник высотой от 5 до 40 см. Листья округло-эллиптической формы с зубчатым краем, блестящие с обеих сторон. Длина листовой пластинки – в пределах 0,7-3,5 см. Соцветие (кисть, расположенная терминально или в пазухе листа) насчитывает до 15 цветков с белой окраской и цилиндрической формой. Ветви неопушенные. Ягоды мелкие (5-7 мм в диаметре), ярко-голубой окраски, содержат до 65 мелких семян, со сладко-кисловатым вкусом и приятным ароматом. Интересная особенность состоит в том, что голубика узколистная способна образовывать новые побеги из спящих почек, расположенных на корневищах. Корневая система состоит из многочисленных тонких корней и подземных побегов, с помощью которых голубика разрастется, образуя густую сеть в почве на глубине 1-2,5 см и занимая площади после вырубki древостоя. Характеризуется как морозостойкий вид. Является вторым по хозяйственному значению видом голубики в США и первым – в Канаде [21, 37].

Полувысокорослые голубики являются межвидовыми гибридами видов – голубики высокорослой и голубики узколистной (*V. corymbosum* × *V. angustifolium*). Представлены кустарничками высотой 45-75 см и кустарниками – от 1 до 1,3 м. Достаточно морозостойки, особенно при хорошем снежном покрове, выдерживают температуру воздуха до –42°С [21, 35, 39]. К наиболее перспективным в хозяйственном отношении сортам полувысокорослых голубик относятся: Northblue, Northcountry и др. К российским сортам относятся: Нея, Лакомка, Нерль, Поморочка.

1.3. Голубика топяная

Голубика топяная (*Vaccinium uliginosum* L.) – кустарничек высотой 100-150 м. Существуют также такие русские народные названия – гонобобель, пьяника, дурника, лохины, тибуница. Голубика топяная имеет широкую экологическую амплитуду произрастания на торфянистых почвах верховых болот, в заболоченных лесах, на песчаных и галечных почвах в лесной зоне, лесотундре, южной тундре и горно-лесном поясе Евразии и Северной Америки. На территории России ареал голубики

охватывает европейскую часть страны, Сибирь, Дальний Восток (включая Охотское побережье, Чукотку, Сахалин, Курильские и Командорские острова). Голубика топяная растет в сосняках долгомошных, осоково-долгомошных, багульниковых, сфагновых, осоково-сфагновых, черничных, иногда с примесью березы, дуба, ели, ольхи и осины. Заросли этого ягодника распространяются вокруг болот узкими полосами шириной 15-60 м [21].

Листья очередные, гладкие, жесткие, мелкие, до 3 см длиной и до 2,4 см шириной, на очень коротких черешках; сверху – голубовато-зеленые, покрыты восковым налетом; снизу – более светлые и с сильно выступающими жилками. Цветки поникающие, кувшинчато-колокольчатые, длиной до 6 см, сидящие по 2-3 на верхушках прошлогодних веточек. Ягода разнообразная по форме, чаще продолговатая, длиной до 1,2 см, синяя с сизым налетом, тонкой кожицей; внутри – с зеленоватой, не красящей водянистой мякотью, массой до 0,8 г. Семена многочисленные, длиной до 1,5 мм, светло-коричневые, полулунной формы. Цветет в мае–июле, продолжительность цветения – 10-12 суток. Ягоды созревают через 40-50 суток после зацветания [21].

К наиболее известным сортам голубики топяной относятся: Дивная, Изящная, Иксинская, Таежная Красавица, Юрковская и др.

1.4. Клюква крупноплодная

На сегодняшний день в культуру введены два вида клюквы: клюква крупноплодная и клюква болотная.

Клюква крупноплодная (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) – эндемичный вечнозеленый кустарничек семейства брусничных (*Vacciniaceae*) с системой стелющихся (длиной до 1 м и более) и укороченных прямостоячих побегов. Листья овальные или продолговатые, крупнее чем у клюквы болотной. Цветки белые или бледно-розовые, поникающие. Цветет клюква крупноплодная в июне, во время цветения не повреждается заморозками. Корни поверхностные, тонкие, с микоризой. Кожица плода темно-красная, мякоть белая, хрустящая, кислая на вкус, с горчинкой. Ягоды современных сортов клюквы крупноплодной очень крупные (в диаметре до 25 мм). Кроме того, они удерживаются на высоте 15-30 см над поверхностью почвы в ярусе побегов, что значительно облегчает их сбор [17].

Почвы предпочитает кислые, очень влажные, торфянистые. Лучше растет на открытых или слабо затененных местах. Встречается только в северо-восточной части Северной Америки, в зоне хвойных лесов [17, 42].

Сорта клюквы крупноплодной бывают: раннеспелые (Ben Lear, Black Veil, Crowley, Early Black, Early Richard, Washington, Wilcox), средне-

спелые (Bergman, Franklin, Searles, Stevens, Woolman), позднеспелые (Beckwith, Howes, McFarlin, Pilgrim). К российским сортам относятся Славянка, Мерянка, Волжанка.

1.5. Клюква болотная

Клюква болотная (*Oxycoccus palustris* Pers.) – многолетний травянистый вечнозеленый полукустарник семейства Вересковые (*Ericaceae*), подсемейства Брусничные (*Vaccinioideae*), с длинными и стелющимися побегами. Листья короткочерешковые овальные, блестящие, сверху темно-зеленые, снизу покрыты восковидным налетом, придающим белесый оттенок. Растение цветет в мае, при этом на побегах прошлого года формируются одиночные или двойные цветки (реже – по 4 мелких), бледно- или ярко-розовые на длинных цветоножках. Плоды созревают в сентябре, но могут сохраняться под снегом до весны. Плод – шаровидная, грушевидная или яйцевидная ягода диаметром до 1-1,5 см, с плотной оболочкой и сочной мякотью [17].

По сравнению с клюквой крупноплодной клюква болотная менее урожайна, сильнее угнетается сорными растениями и сложнее поддается механизированной уборке урожая ягод. Однако для возделывания в таежной зоне России клюква болотная, в силу невысокой потребности в тепле, более перспективна чем клюква крупноплодная. Исследованиями установлено, что клюква болотная при выращивании на плантациях значительно повышает свою урожайность и ее культура более эффективна, чем эксплуатация естественных зарослей. Выращивание высокопродуктивных сортов и гибридов клюквы болотной способствует еще большему повышению урожайности плантаций этого ягодного растения [5, 17].

В Эстонии созданы сорта клюквы болотной: Virussaare, Soontagana, Maima, Nigula, Curessoo, Tartu. К сортам российской селекции относятся: Дар Костромы, Соминская, Сазоновская, Краса Севера, Северянка, Алая Заповедная, Хотавецкая, Фомич, Вогулка.

1.6. Княженика арктическая

Княженика арктическая (*Rubus arcticus* L.) относится к роду малин (*Rubus* L.) семейства Розоцветных (*Rosaceae* Endl.). Другие русские названия растения: поленика, костяника арктическая, малина арктическая, мамура и др. Это многолетнее травянистое растение высотой 10-35 см. Надземные побеги княженики, состоящие из 5-9 междоузлий, ветвятся, дают боковые побеги, в результате все растение приобретает форму куста. Листья тройчатые, морщинистые, с черешками и двумя прилистниками. Цветет в конце июня–начале июля розовыми цветками. Цветки чаще

всего обоеполые, одиночные, до 2 (3,7) см в диаметре. Изредка встречаются однополые цветки, т.е. наблюдается двудомность. Период цветения растянут. Княженика является медоносом, опыляется шмелями и пчелами. Плоды созревают в июле–сентябре. Плод – сборная костянка из 25-50 плодиков, имеет сходство с ягодами малины. Масса плода 1-2 г. Цвет плодов – от темно-вишневого до пурпурного с сизоватым налетом. Надземные побеги на зиму ежегодно отмирают. Подземные части княженики (корни, подземные побеги и почки возобновления) остаются живыми многие годы. Корни княженики лишены корневых волосков, а питание их происходит при участии нитей гриба (микоризы), оплетающих снаружи молодые окончания корешков и проникающих внутрь клеток последних [8, 31, 32, 38].

К наиболее известным сортам княженики арктической относятся сорта Anna, Sofia, Astra, Beata, Aura и др. Первый российский сорт – Галина.

1.7. Жимолость съедобная

Род жимолость (*Lonicera* L.) широко представлен в растительном мире и насчитывает более 200 видов. Различия между видами, возможно, недостаточно существенные с точки зрения систематики растений, тем не менее определяют их разную значимость для введения в культуру.

Жимолость съедобная (*L. edulis* Turcz. ex Freyn) – небольшой куст высотой 0,5-1,2 м, скелетные ветви тонкие, бурые, часто поникающие. Побеги тонкие, не густоопушенные. Листья узкие, продолговато-эллиптические или ланцетные. Цветки бледно-желтые, с пыльниками, далеко выступающими из венчика. Плоды удлинённые, разнообразной формы, кисло-сладкие, часто с горчинкой. Созревают в июне. Жимолость обладает некоторой теневыносливостью, произрастая в подлеске хвойных и смешанных лесов, но лучше растет и плодоносит на лугах и опушках, т.е. в условиях хорошей освещенности. В целом жимолость съедобная отличается высокой зимостойкостью как в местах естественного произрастания, так и в новых для нее регионах страны. К началу цветения жимолости сумма положительных температур составляет 242-336°C. Созревание ранних сортов и форм отмечено при сумме положительных температур 700-750°C, среднего срока созревания – 780-820°C, поздних – 830-917°C [10, 16, 18, 24].

К наиболее известным сортам жимолости относятся: Андерма, Морена, Синяя Птица, Ленинградский Великан, Гжелка и др.

1.8. Красника (клоповка сахалинская)

Красника (*Vaccinium praestans* Lamb.) или вакциниум превосходный – кустарничек из рода *Vaccinium* L. семейства *Vacciniaceae* Lindl. Дру-

гие русские названия растения – клоповка сахалинская, камчатская брусника, дымника, ползуника. Красника – вегетативно-подвижный листопадный кустарничек с крупными листьями, теневыносливый мезофит, типичный ацидофил. 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 обратно-яйцевидные, 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, сладковато-кислые и с резким запахом). Массовое завязывание ягод происходит в середине 2-й половины июня, созревают в августе–сентябре. В природе красника размножается в основном вегетативным способом, реже семенным [12, 13, 14, 19].

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, местами – северная и центральная части Японии. Красника растет на среднеувлажненных, хорошо дренированных бурых лесных и горно-лесных почвах с рН = 4,5-5,8, влажностью верхних горизонтов 40-60%, встречается 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. 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 [12, 15, 17, 25, 33].

2. ВЫРАЩИВАНИЕ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА

2.1. Этапы клонального микроразмножения растений

Клеточная биотехнология растений базируется на способности изолированных клеток к размножению, дифференцировке и регенерации растений в условиях *in vitro*. Для получения оздоровленного посадочного материала применяют метод клонального микроразмножения, который широко используется для размножения цветочных, декоративных, лекарственных и других растений. Клональное микроразмножение – 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 года и планирование выращивания растений к определенному сроку;
- возможность хранения в течение длительного времени пробирочных растений [4, 23, 26, 27].

Технология клонального микроразмножения состоит из 4 этапов:

1. *Введение в культуру in vitro* – выбор растения-донора, изолирование эксплантов и получение хорошо растущей стерильной культуры;
2. *Собственно микроразмножение (пролиферация)* – когда достигается получение максимального количества меристематических клонов;
3. *Укоренение размноженных микропобегов (ризогенез)* 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 [4, 23].

Для успешного культивирования растительных органов, тканей и клеток необходимо соблюдение строгой стерильности, т.к. на искусственных питательных средах одновременно могут развиваться колонии микроорганизмов. В результате развития микроорганизмов может существенно изменяться состав питательной среды и, кроме того, легко повреждаются 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 ламинар-боксах. После стерилизации растительные объекты следует тщательно

отмыть от стерилизующих веществ многократным ополаскиванием дистиллированной водой. Ополаскивание проводят при 5-7-кратной смене стерильной воды [4, 7].

На этапе «введение в культуру *in vitro*» свободный от вирусов посадочный материал для клонального микроразмножения растений можно получить методом культуры изолированных апикальных меристем. Апикальные меристемы являются наиболее здоровой, свободной от вирусов частью растений и представляют собой конус активно делящихся клеток высотой 0,1 мм (100 микрон) и шириной 0,25 мм. Однако собственно меристему трудно изолировать без повреждений, в связи с чем отделяют эксплант, представляющий из себя собственно меристему и 1-2 листовых примordia (апексы размером 100-250 мкм) [4, 7].

На этапе «собственно микроразмножение» (пролиферации) при культивировании микрорастений на питательной среде с содержанием цитокинина (6-бензиламинопурил (6-БАП), 2-изопенталаденин (2-иР), тиазурон, кинетин и т.п.) происходит снятие апикального доминирования, что приводит к активации развития пазушных меристем, которые в дальнейшем развиваются в микропобеги. Полученные адвентивные микропобеги отделяют от материнского экспланта и самостоятельно культивируют на новой питательной среде. Для увеличения коэффициента размножения применяют микрочеренкование – деление побегов на черенки, содержащие одну или две пазушные почки [1, 7, 23].

Укоренение микропобегов – наиболее сложный этап клонального микроразмножения, от которого зависит эффективность предлагаемой технологии. На данном этапе необходимо создать наиболее благоприятный состав питательной среды, обеспечивающий получение высокого процента укорененных микропобегов, для чего уменьшают концентрацию минеральных солей, сахарозы, а также исключают из состава питательной среды цитокинины. Основным регуляторным фактором корнеобразования является присутствие в составе питательной среды ауксинов, среди которых наиболее часто используют индолилмасляную (ИМК) или индолилуксусную (ИУК) кислоты в концентрациях от 1 до 5 мг/л. Выбор гормона и его концентрации зависит от видовых и сортовых особенностей исследуемых растений [1, 23].

Укоренившиеся микропобеги высаживают в условия грунта для адаптации. Адаптация растений-регенерантов к нестерильным почвенным условиям является самым ответственным этапом и заключительным процессом клонального микроразмножения. Для адаптации пробирочных растений в почвогрунт самым благоприятным временем года считается

период со 2-й декады марта до 1-й декады июня. В этот период растения с хорошо развитой корневой системой и 5-7 листьями способны адаптироваться к условиям *ex vitro* [7, 23, 27].

2.2. Обустройство лаборатории клонального микроразмножения

Работы по клональному микроразмножению растений проводят в специальных биотехнологических лабораториях, которые должны иметь в своем составе изолированные помещения, соответствующие определенным требованиям. Как правило, в лаборатории должны быть: моечная комната, комната для приготовления питательных сред, автоклавная, стерильный бокс, световая (культуральная) комната. В случае необходимости допустимо функциональное объединение помещений, например, моечной и автоклавной комнат [23].

Моечная комната должна быть оборудована раковинами (мойками), иметь подвод холодной и горячей воды, проточный (накопительный) водонагреватель, дистиллятор (для продления срока эксплуатации дистиллятора в систему предварительной водоподготовки желательно включить бытовые фильтры грубой и тонкой очистки со сменными картриджами), стеклянные емкости (бутыли) для хранения дистиллированной воды. Для получения дистиллированной воды используют аквадистилляторы (ДЭ-4-2, ДЭ-10, ДЭ-25 «СПб» ОКП 94 5243, Lauda Puridest PD 8 G и др.), для получения бидистиллированной воды – аквабидистилляторы (Lauda Puridest PD 4 D и др.). Для работы с химически опасными веществами необходимо иметь вытяжку. В моечной комнате устанавливают высокотемпературные сушильные шкафы с набором рабочих температур +180...+300°C для сушки вымытой лабораторной посуды и стерилизации горячим воздухом посуды и инструментов и автоклавы для стерилизации питательных сред и расходных материалов. Для стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды используют сушильные шкафы: Labtex LT-VO/20, 50, 90, 200; ПЭ-4610; СНОЛ-3.5.3.5.3.5/2И1; ШС-200 и др. Для стерилизации питательных сред желательно использовать полностью автоматизированные автоклавы с объемом рабочей камеры не менее 30 л. Для помывки лабораторной посуды используются посудомоечные машины (Miele G 7883 CD и др.). Для хранения химических реактивов используют холодильные шкафы (холодильники): ХШ-800-1, Liebherr Mediline LKPv 1423 и др.

Комната для приготовления питательных сред оборудуется лабораторными столами, шкафами для хранения химических реактивов и чистой посуды, холодильниками для хранения маточных растворов и го-

товых питательных сред. Для взвешивания химических веществ используют весы – аналитические (Mettler Toledo AG245DR Delta Range и др.) и прецизионные (Mettler Toledo PG3001-S и др.). Для взвешивания сахарозы, агара и макроэлементов допустимо использование технических весов с точностью взвешивания до одной десятой грамма, для взвешивания солей микроэлементов, витаминов, регуляторов роста и стерилизующих веществ необходимы весы с точностью взвешивания до одной тысячной грамма. Для приготовления питательных сред используют рН-метр – прибор для измерения рН питательной среды. Современной промышленностью выпускаются рН-метры как стандартного формата, состоящие из отдельного электрода и измерительного блока (например, Hanna Checker+ H198100 и др.), так и модернизированные цифровые рН-метры, объединяющие в одном корпусе цифровой элемент и ЖК-индикатор, магнитные мешалки с подогревом с диаметром платформы 150-200 мм. Для измерения активности ионов водорода, молярной, массовой концентрации, температуры растворов и водных сред – иономер-кондуктомер Анион-410А. Кроме всех вышеперечисленных приборов необходима водяная баня, электрические плитки, автоматический дозатор для розлива среды по пробиркам. Для нагревания образцов в лабораторной посуде используют водяные бани БКЛ-М и др. Для приготовления питательных сред используют плиты нагревательные (ПРН-3050-2.2, «Ново-Вятка» и др.). Для перемешивания компонентов питательных сред используют магнитные мешалки (ПО-6110, ПЭ-0398, IKA C-MAG HS10 и др.) или перемешивающие устройства (ПЭ-6300 и др.). Для розлива среды по пробиркам используют насосы перистальтические фирмы FlexiPump Pro и др.

Автоклавная – помещение для стерилизации сред, инструментов и материалов. Оборудуется сушильными шкафами для стерилизации сухим жаром, аппаратами для дистилляции и бидистилляции воды, столами и шкафами для хранения простерилизованных сред и материалов. Для стерилизации питательных сред используют автоклавы различных моделей (ГТК 100, Advantage-Lab AL-02-02-100 и др.) [23].

Стерильный бокс – комната для работ со стерильными культурами клеток, тканей и органов. Стерилизация воздуха в помещении достигается путем общего облучения бактерицидными ультрафиолетовыми лампами. Непосредственно для стерильных работ с культурой тканей используют ламинары – камеры с потоком стерильного воздуха, оснащенные встроенными УФ лампами. Ламинар является основным агрегатом, позволяющим в стерильных условиях проводить инокуляцию и пассирование растительного материала, розлив питательных сред и др. Для соб-

ственно размножения микрорастений используют ламинарный бокс абактериальной воздушной среды БАВ-«Ламинар-С»-1,2 (110.120) и др. Для исследования препаратов в проходящем свете используют микроскопы (Микмед-1 Биолам Р-11, Р-15, Р-17 и др.).

Световая (культуральная) комната для выращивания тканевых и клеточных культур в условиях искусственного регулируемого освещения оборудована 2-3-ярусными стеллажами с лампами дневного света (люминесцентными или светодиодными) над ними (лампы прикрепляют с нижней стороны верхней полки). Для измерения влажности воздуха используются гигрометры психрометрические (ВИТ-2 и др.). Для регулирования температуры воздуха должен находиться кондиционер.

Адаптационная комната предназначена для адаптации выращиваемых в культуре *in vitro* растений к нестерильным условиям *ex vitro*. В ней находятся: 3-4-ярусные стеллажи, освещаемые люминесцентными или светодиодными лампами, или 3-ярусные гидропонные установки с возможностью регулирования освещения, рН среды раствора, интенсивности тумана. Также в комнате должен находиться осушитель воздуха.

2.3. Стерилизация исходного растительного материала и оборудования для проведения работ в условиях лаборатории

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

Стерилизацию ламинар-бокса проводят следующим образом. Сначала протирают внутреннюю рабочую поверхность бокса 70% этиловым спиртом, затем размещают там все необходимое для работы (спиртовку, спички, стаканчик с 96% этиловым спиртом, стерильную посуду и инструменты, а для выделения меристем – еще и бинокляр). Накануне проведения работ, вечером, в боксе включают бактерицидную ультрафиолетовую лампу. За 2 часа до начала работ рабочую поверхность вновь протирают 70% спиртом и опять облучают ультрафиолетовой лампой. Работающий должен вымыть руки с мылом и протереть их спиртом, надеть стерильный халат, завязать волосы стерильной марлевой косынкой.

Стерилизацию лабораторной посуды осуществляют сухим жаром в сушильном шкафу или влажным жаром в автоклаве. Перед стерилизацией посуду тщательно моют с использованием детергентов (порошок «Прогресс» и др.), а также раствора двуххромовокислого калия в серной кислоте (хромпик). Вымытую посуду ополаскивают дистиллированной водой и высушивают в сушильном шкафу. Во избежание заражения простерилизованных предметов из воздуха их заворачивают в крафт-бумагу и помещают в сушильный шкаф, где поддерживают температуру +160°C в течение 2 часов (с момента установления нужной температуры). При таком режиме сушки погибают бактерии и их споры. Еще более эффективно проходит стерилизация влажным жаром под давлением в автоклаве. Чистую посуду тщательно заворачивают в фольгу или крафт-бумагу и автоклавируют в течение 25-30 мин при давлении 2 атм. Так же стерилизуют ватные пробки, халаты и т.д.

Стерилизацию инструментов можно проводить двумя способами: 1) в сушильном шкафу при +140°C в течение 2 часов; 2) кипячением. Нельзя подвергать металлические инструменты автоклавированию, так как под действием пара они подвергаются коррозии. Непосредственно перед началом работы, а также в ее процессе инструменты стерилизуют, помещая их в стаканчик, содержащий 96% спирт, после чего инструменты обжигают в пламени спиртовки. Стерильные инструменты используют только для одноразовой манипуляции, а затем вновь обжигают.

Стерилизация питательных сред осуществляется автоклавированием (паром под давлением). Питательную среду разливают по пробиркам (1/3 объема), закрывают ватными пробками или фольгой, завертывают в оберточную бумагу и автоклавируют при температуре +120°C и давлении 1 атм. в течение 18-20 мин.

2.4. Введение в культуру *in vitro*

Брусника обыкновенная. Отобранные в конце апреля–начале мая одревесневшие побеги растений брусники 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 стерилизующие растворы: сулемы (0,1-0,2%), азотнокислого серебра AgNO₃ (0,2%)

или препарата Лизоформин 3000 (5%) при времени стерилизации 10 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.

Голубика узколистная. Отобранные в конце июня–начале июля зеленые черенки голубики полувысокой необходимо промыть под проточной водой с применением моющего средства и удалить листочки. Затем следует нарезать побеги на двухпочковые черенки, которые помещают в марлевые мешочки и проводят стерилизацию 0,1%-ным раствором сулемы в течение 3 минут или экостерилизатором бесхлорным в течение 4-5 минут. После этого материал промывают дистиллированной водой, меняя ее 5-6 раз. Затем стерильные черенки погружают на 1 минуту в относительный спирт, а материал снова промывают дистиллированной стерильной водой, меняя ее 4 раза. Далее черенки извлекают из мешочка с помощью стерильного пинцета и кладут их на матрасик. Отрезают базальную часть черенка и переносят его на питательную среду WPM [36]. Пробирки закрывают пленкой. Для клонального микроразмножения голубики также можно использовать и другие экспланты – латеральные и апикальные почки зрелых и молодых побегов. Почки с кусочком стебля длиной 1-2 см промывают в проточной воде, затем 10-20 мин в дистиллированной воде. После этого зрелые почки стерилизуют 0,1%-ным раствором сулемы в течение 15 минут, молодые – в течение 10 минут. После стерилизации материал промывают стерильной водой 3 раза. Через 30-40 суток отмечается формирование побегов.

Голубика топяная. С растения голубики отбирают зеленые черенки в фазу набухания почек, промывают под проточной водой с применением моющего средства, удаляют листочки. Затем черенки нарезают на двухпочковые черенки, помещают в марлевые мешочки, стерилизуют 0,1%-ным раствором сулемы в течение 3 минут или 12%-ным раствором перекиси водорода 8 минут. После этого материал промывают дистиллированной водой, меняя ее 5-6 раз. Затем стерильные черенки погружают на 1 минуту в относительный спирт, после чего материал опять промывают дистиллированной стерильной водой, меняя ее 4 раза. Далее черенки извлекают из мешочка с помощью стерильного пинцета и кладут их

на матрасик, отрезают базальную часть черенка, который в дальнейшем переносят на питательную среду WPM [36] в пробирки, закрытые пленкой. Через 30-40 суток отмечается появление побегов.

Клюква крупноплодная. Отобранные одревесневшие черенки клюквы промывают под проточной водой с моющим средством и удаляют листочки. Наиболее подходящими эксплантами являются меристемы, верхушки побегов, пазушные почки и незрелые, быстрорастущие ткани. Черенки помещают в марлевые мешочки и в условиях стерильного бокса проводят их стерилизацию путем погружения мешочков в 0,1%-ный раствор сулемы на 2 мин или экостерилизатор бесхлорный на 5 мин. После этого материал промывают дистиллированной водой, меняя ее 4 раза. Затем стерильные черенки погружают на 1 минуту в относительный спирт, после чего материал опять промывают дистиллированной водой, меняя ее 4 раза. Далее черенки извлекают из мешочка с помощью стерильного пинцета, кладут их на матрасик, отрезая базальную часть черенка, переносят на питательную среду в пробирки, которые закрывают пленкой. Через 25–30 суток отмечается появление побегов. Эксплантаты культивируют в световой комнате при 16-часовом световом дне, освещенности 1500 лк, температуре +23...+26°C и относительной влажности воздуха 70-75%.

Клюква болотная. Отобранные одревесневшие черенки клюквы промывают под проточной водой с моющим средством и удаляют листочки. Затем помещают в марлевые мешочки и в условиях ламинар-бокса проводят их стерилизацию. Помещают марлевые мешочки с черенками в 0,1%-ный раствор сулемы на 2 мин или экостерилизатор бесхлорный на 5 мин, после чего материал промывают дистиллированной водой, меняя ее 4 раза. Далее стерильные черенки погружают на 1 мин в относительный спирт, после чего материал опять промывают дистиллированной водой, меняя ее 4 раза. Затем черенки извлекают из мешочка с помощью стерильного пинцета и кладут их на матрасик, отрезая базальную часть черенка, переносят на питательную среду в пробирки и закрывают культуральный сосуд пленкой. Через 25-30 суток отмечается формирование побегов. Эксплантаты культивируют в световой комнате при 16-часовом световом дне, освещенности 1500 лк, температуре +23...+26°C и относительной влажности воздуха 70-75%.

Княженика арктическая. На этапе введения в культуру эксплант растения княженики арктической необходимо поместить на питательную среду Мурасиге-Скуга с добавлением цитокинина 6-БАП в концентрации

0,5-1,0 мг/л. С целью повышения эффективности оздоровления применяют сочетание метода культуры изолированных меристем с термотерапией и химиотерапией. Полученные из апикальных меристем растения-регенеранты размножают методом микрочеренкования. В начале работы исходные растения необходимо тщательно промыть с мылом в теплой проточной воде, после чего их ополаскивают дистиллированной водой и опускают на 1 минуту в абсолютный спирт, а затем в основной стерилизующий раствор на 10 минут. Далее растительные объекты тщательно отмывают от стерилизующего вещества путем многократного ополаскивания дистиллированной водой при 5-7-кратной смене стерильной воды. В условиях ламинар-бокса с помощью стерильных инструментов (препаровальной иглы) под бинокулярной лупой из почек растений необходимо изолировать апикальную меристему. Для этого простерилизованные почки нужно поместить в чашку Петри на фильтровальную бумагу и добавить несколько капель стерильной воды для предупреждения подсыхания. Изолирование проводят путем удаления покровных листочков и последовательного обнажения боковых и верхушечных меристем с примордиальными листочками. После изолирования, меристему следует перенести на поверхность питательной среды в пробирку с помощью стерильной препаровальной иглы, слегка вдавив меристему в субстрат. Пробирки закрывают ватными пробками под пламенем спиртовки. Введенные в культуру *in vitro* экспланты в пробирках следует поместить в световую комнату при 16-часовом световом дне, освещенности 1,5-2 тыс. лк, температуре +23...+26°C и относительной влажности воздуха 70-75%.

Жимолость съедобная. Для успешного введения в культуру жимолости съедобной необходимо учитывать сезонность физиологических процессов растений. Благоприятная регенерация меристематических эксплантов проходит в фазу активного роста побегов, которая у жимолости совпадает с фазой бутонизации. В связи с этим необходимо взять черенки длиной 15-20 см с зимующих растений жимолости в марте–апреле, промыть их водой с моющим средством и оставить в воде при температуре +20°C на 14 суток. После того как побеги отрастут, проводят введение в культуру *in vitro*. В качестве основного стерилизатора рекомендуется использовать Экостерилизатор бесхлорный 5%. В качестве эксплантов для культивирования жимолости в стекле используют узлы зеленых побегов, а также конус нарастания.

Красника. Отобранные (с 1-й по 3-ю декаду мая) одревесневшие побеги растений и красники 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 стерилизующие растворы – азотнокислого серебра AgNO_3 (0,2%) при времени стерилизации 10 мин и препарата 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.

2.5. Собственно микроразмножение (этап пролиферации)

Брусника обыкновенная. На этапе «собственно микроразмножение» в условиях ламинарного бокса исходные растения-регенеранты брусники 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 питательную среду Андерсона (AN) [34], 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 $+23...+25^\circ\text{C}$, 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. Для улучшения регенерации побегов целесообразно в питательную среду добавлять ростостимулирующие экопрепараты: НВ-101 в концентрации 0,1 мл/л или Циркон в концентрации 0,5 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 $+23...+25^\circ\text{C}$ и влажность воздуха 70-80%. Культивирование брусники

проводят в течение 40-50 суток. Полученный в конце пассажа биоматериал вновь используют для дальнейшего размножения в условиях *in vitro*.

Голубика узколистная. На этапе «собственно размножение» голубики узколистной в условиях ламинар-бокса необходимо достать исходные растения из культурального сосуда и положить их на стерильный матрасик. При помощи скальпеля и пинцета следует разделить растения на микрочеренки длиной 1,0 см, удаляя нижние листочки голубики узколистной, и пересадить на питательную среду 1/4 минеральных солей по прописи WPM [36] с добавлением цитокинина 6-БАП 0,2 мг/л или 2ip 2,0 мг/л. Уровень рН среды должен находиться в пределах 4,8-5,3. После этого горлышко культурального сосуда необходимо закрыть пищевой пленкой и поставить в световую комнату, где поддерживается освещение 6000 лк, 16-часовой фотопериод, температура +25°C и влажность воздуха 70%. Культивирование проводят в течение 48-65 суток. Полученный в конце пассажа биоматериал вновь используют для дальнейшего размножения в условиях *in vitro*.

Голубика топяная. В условиях ламинар-бокса нужно достать исходные растения из культурального сосуда и положить их на стерильный матрасик. При помощи скальпеля и пинцета разделить растения на микрочеренки длиной 1,0 см, удаляя нижние листочки голубики топяной и пересадить на питательную среду 1/4 нормы минеральных солей по прописи WPM с добавлением цитокинина 6-БАП 0,2 мг/л или 2ip 2,0 мг/л либо на среде 1/2 нормы минеральных солей по прописи Андерсона + 6-БАП 0,5 мг/л. Уровень рН среды должен быть 4,5-5,3. После этого горлышко сосуда необходимо обжечь над пламенем спиртовки, закрыть пищевой пленкой и поставить в световую комнату, где поддерживается освещение 6000 лк, 16-часовой фотопериод, температура +25°C и влажность воздуха 70%. Культивирование проводят в течение 50-60 суток. Полученный в конце пассажа биоматериал вновь используют для дальнейшего размножения в условиях *in vitro*.

Клюква крупноплодная. При выращивании клюквы на питательных средах с добавлением цитокинина происходит развитие пазушных почек. Кроме того, наблюдается индукция образования адвентивных меристем, которые в дальнейшем формируются в микропобеги. Следует отметить, что рН среды для размножения клюквы болотной необходимо поддерживать в пределах от 4,0 до 4,5. В условиях ламинар-бокса нужно достать исходные растения из культурального сосуда и положить их на стерильный матрасик. При помощи скальпеля и пинцета разделить растения на микрочеренки длиной 1,0 см, удаляя нижние листочки клюквы

крупноплодной и пересадить на питательную среду 1/4 минеральных солей по прописи WPM с добавлением цитокинина 6-БАП 0,2 мг/л или 2ip 2,0 мг/л. Уровень pH среды должен быть 4,8-5,3. После этого горлышко сосуда необходимо обжечь над пламенем спиртовки, закрыть пищевой пленкой и поставить в световую комнату, где поддерживается освещение 6000 лк, 16-часовой фотопериод, температура +25°C и влажность воздуха 70%. Культивирование проводят в течение 48-65 суток. Полученный в конце пассажа биоматериал вновь используют для дальнейшего размножения в условиях *in vitro*.

Клюква болотная. В условиях ламинар-бокса нужно достать исходные растения из культурального сосуда и положить их на стерильный матрасик. При помощи скальпеля и пинцета разделить растения на микрочеренки длиной 1,0-1,5 см, удаляя нижние листочки клюквы болотной и пересадить на питательную среду 1/4 минеральных солей по прописи WPM с добавлением цитокинина 6-БАП 0,3 мг/л или препарата Цитодеф 0,1 мг/л. Уровень pH среды должен быть 4,0-4,5. После этого горлышко сосуда необходимо обжечь над пламенем спиртовки, закрыть пищевой пленкой и поставить в световую комнату, где поддерживается освещение 2500-3000 лк, 16-часовой фотопериод, температура +25°C и влажность воздуха 70%. Культивирование проводят в течение 48-65 суток. Полученный в конце пассажа биоматериал вновь используют для дальнейшего размножения в условиях *in vitro*.

Княженика арктическая. На этапе «собственно микроразмножение» княженики арктической в условиях ламинар-бокса необходимо достать исходные растения из культурального сосуда и положить их на стерильный матрасик. При помощи скальпеля и пинцета следует разделить растения княженики на микрочеренки с 2-3 междоузлиями и пересадить на питательную среду 1/2 минеральных солей по прописи MS с добавлением цитокинина 6-БАП 0,5 мг/л или препарата Цитодеф 0,2 мг/л. Уровень pH среды должен находиться в пределах 5,3-5,5. После этого культуральный сосуд необходимо герметизировать пищевой пленкой и поставить в световую комнату, где поддерживается освещение 2500-3000 лк, 16-часовой фотопериод, температура +25°C и влажность воздуха 70%. Культивирование проводят в течение 38-54 суток. Полученный в конце пассажа биоматериал вновь используют для дальнейшего размножения в условиях *in vitro*.

Жимолость съедобная. На этапе «собственно микроразмножение» жимолости съедобной в условиях ламинар-бокса необходимо достать исходные растения из культурального сосуда и положить их на стерильный матрасик. При помощи скальпеля и пинцета нужно разделить

растения на микрочеренки длиной 1,0-1,5 см с 2-3 междоузлиями, удаляя нижние листочки жимолости, и пересадить их на питательную среду, содержащую минеральные соли по прописи QL или MS с добавлением 6-БАП 0,5 мг/л. Уровень pH среды должен находиться в пределах 5,8-5,9. После этого культуральный сосуд необходимо герметизировать пищевой пленкой и поставить его в световую комнату, где поддерживается освещение 2500-2800 лк, 16-часовой фотопериод, температура +23°C и относительная влажность воздуха 80%. Культивирование проводят в течение 25-30 суток. Полученный в конце пассажа биоматериал вновь используют для дальнейшего размножения в условиях *in vitro*.

Красника. В условиях ламинарного бокса исходные растения-регенеранты красники 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 питательную среду Woody Plant Medium (WPM), 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 красники используют 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 0,1 мл/л, Циркон 0,5 мл/л или Эпин-Экстра 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%. Культивирование красники проводят в течение 50-65 суток. Полученный в конце пассажа биоматериал вновь используют для дальнейшего размножения в условиях *in vitro*.

2.6. Укоренение микропобегов (ризогенез)

На этапе укоренения побегов (ризогенеза) *in vitro* лесных ягодных растений в условиях ламинар-бокса необходимо достать исходные растения из культурального сосуда и положить их на стерильный матрасик. При помощи скальпеля и пинцета следует разделить растения на микрочеренки длиной 1,0-1,5 см с двумя междоузлиями, удаляя нижние листочки, и пересадить их на питательную среду, содержащую ауксины. После этого горлышко сосуда необходимо закрыть пищевой пленкой и поставить 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 суток. Полученный в конце пассажа биоматериал вновь используют для дальнейшего размножения в условиях *in vitro*.

Основные компоненты питательной среды, необходимые для укоренения растений *in vitro*, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Минеральная основа и ауксины, применяемые для укоренения микропобегов лесных ягодных растений в условиях *in vitro*

Вид ягодной культуры	Наименование питательной среды	Вид ауксина	Концентрация ауксина, мг/л
Брусника обыкновенная	AN	ИУК	1,0-2,0
Голубика узколистная	WPM	ИМК	0,2-1,0
		ИУК	0,5
Голубика топяная	AN; WPM	ИМК	0,5
		ИУК	0,2-1,0
Клюква крупноплодная	WPM	ИУК	10-15
Клюква болотная	WPM	ИМК	0,5
		ИУК	0,5
Княженика арктическая	MS	ИМК	0,5-1,0
Жимолость съедобная	MS; QL	ИМК	0,5
Красника	WPM	ИМК	2,0

2.7. Адаптация к нестерильным условиям *ex vitro*

Следующий этап размножения оздоровленного посадочного материала – перевода пробирочных растений из стерильных условий в нестерильные (*in vivo*) – проводится в условиях теплицы и является наиболее критическим и наименее отработанным. На данном этапе теряется огромное количество уже размноженного материала, в итоге снижается коэффициент размножения, возрастает себестоимость оздоровленных растений.

Оздоровленные пробирочные растения длительное время находились в условиях стерильности (*in vitro*) и наиболее благоприятного для них сочетания температуры, влажности, освещения, обеспечения питательными элементами. При переходе в нестерильные условия (*ex vitro*) растения подвергаются стрессовому воздействию за счет резкой перемены условий их существования, поэтому в начале этого этапа чрезвычайно важно создать им наиболее комфортные условия на новом месте произрастания и, кроме того, повысить их устойчивость к стрессам, используя различные регуляторы роста – адаптогены. Также следует постепенно снижать влажность воздуха и температуру, приближая их значения к

условиям открытого грунта. Для высадки в почвенные субстраты используют только те растения, которые в своем развитии достигли определенных параметров (длина корней не менее 2 см, надземная система состоит из 3-4 листьев и имеет общую высоту не менее 2 см).

На этапе адаптации растений к нестерильным условиям почвенный субстрат предварительно проливают 5%-ным перманганатом калия и оставляют в темном месте на 1 неделю. Для лесных ягодных растений в качестве субстрата используют верховой или переходный торф, смесь торфа с песком (1:1, 3:1), с вермикулитом (1:4) или перлитом (1:4) и мульчируют сверху мхом сфагнумом (слой – до 1 см). Приготовленный субстрат раскладывают в кассеты или микропарники, в которые пересаживают растения, полученные методом *in vitro*. При этом поддерживают температуру воздуха +25°C, влажность – 80-90%.

Для успешной адаптации и получения 100% приживаемости целесообразно использовать туманообразующую установку (как правило, используется в производственных масштабах). Для небольших партий растений целесообразно применять микропарники или использовать индивидуальное закрытие растений полиэтиленовыми стаканчиками на 14-20 суток. По мере роста растений их пересаживают в более объемные емкости со свежим субстратом. Дальнейшее их выращивание проходит по принятой агротехнике для каждого вида растения.

При адаптации растений *in vitro* с хорошо развитой корневой системой к нестерильным условиям *ex vitro* необходимо с помощью пинцета вытащить их из пробирки и промыть корни 1%-ным раствором перманганата калия (слабо розовый цвет) во избежание развития впоследствии патогенной микрофлоры. Далее растения нужно пересадить в кассеты с субстратом и полить водой. Затем растения следует опрыснуть водой из пульверизатора и надеть колпачки, после чего кассеты нужно поместить в условия освещения (8000 лк). Каждый день растения необходимо опрыскивать в течение 1 недели, после чего провести первую подкормку: для княженики и жимолости – 1/2 минеральным составом среды MS, для голубики, клюквы, брусники, красники – 1/5 минерального состава среды WPM на 5 л. Через 10 суток следует провести первую ревизию растений. Далее выращивание проводят по принятой для каждого вида растения агротехнике.

Типы субстратов и условия, рекомендуемые для адаптации лесных ягодных растений *in vitro* к почвенным условиям *ex vitro*, приведены в табл. 2.

**Субстраты для адаптации микроклонов лесных ягодных растений
к условиям *ex vitro***

Вид ягодной культуры	Субстрат	рН субстрата	Высота растения, см	Примерный период адаптации
Брусника обыкновенная	Верховой торф	2,8-3,5	3,0-5,0	март–май
Голубика узколистная, голубика топяная	Переходный торф	4,8-5,2	1,5-2,0	февраль–апрель
Клюква крупноплодная, клюква болотная	Верховой торф	3,8-4,5	2,0-3,0	февраль–апрель
Княженика арктическая	Переходный торф, кокосовый субстрат	5,5-5,8	2,0-3,0	март–июнь
Жимолость съедобная	Кокосовый субстрат	6,5-7,0	4,0	апрель–май
Красника	Верховой торф	2,8-3,5	2,5-3,0	март–май

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение разработанных технологий культивирования хозяйственно ценных лесных ягодных растений (брусника обыкновенная, голубика узколистная, голубика топяная, клюква крупноплодная, клюква болотная, княженика арктическая, жимолость съедобная, красника) в культуре *in vitro*, а также адаптации их к почвенно-климатическим условиям с учетом генетических особенностей позволит получить необходимое количество оздоровленного высококачественного посадочного материала для создания специализированных ягодных плантаций. Это будет способствовать как удовлетворению спроса на ягодную продукцию со стороны потребителей, пищевой и фармацевтической промышленности, так и организации многоцелевого, рационального и неистощительного использования лесов путем выращивания лесных плодовых и ягодных растений на неиспользуемых землях.

Данные рекомендации могут быть использованы в производственном процессе предпринимателями сельскохозяйственной и лесной отраслей хозяйства, а также в учебном процессе при подготовке студентов и аспирантов сельскохозяйственных и биологических специальностей при изучении дисциплин «Агрономия», «Основы биотехнологии», «Сельскохозяйственная биотехнология», «Клеточная биология», «Биоинженерия растений».

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Агафонов, Н.В. Применение регуляторов роста в плодоводстве / Н.В. Агафонов, В.В. Фаустов. – М. : ВНИИТЭИСХ, 1972. – 64 с.
2. Агафонов, Н.В. Размножение растений / Н.В. Агафонов. – М. : Мир, 1987. – 192 с.
3. Баландина, Т.П. Брусника обыкновенная / Т.П. Баландина, М.Г. Вахрамеева // Биологическая флора Московской области. – М., 1978. – Вып. 4. – С. 167–179.
4. Бутенко, Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / Р. Г. Бутенко. – М. : ФБК-Пресс, 1999. – 160 с.
5. Вильбасте, Х.Г. Информация об исследовании клюквы в Эстонии / Х.Г. Вильбасте, Ю.П. Вильбасте // Дикорастущие ягодные растения СССР. – Петрозаводск, 1980. – С. 45–47.
6. Выработанные торфяные месторождения, их характеристика и функционирование / Л.И. Инишева [и др.]. – Томск : Изд-во Томского гос. пед. ун-та, 2007. – 185 с.
7. Выращивание лесных ягодных растений в условиях *in vitro* : лабор. практикум / Сост. С.С. Макаров, Е.А. Калашникова, И.Б. Кузнецова, Р.Н. Киракосян. – Караваево : Костромская ГСХА, 2019. – 48 с.
8. Гельцер, Г.В. Поленика (*Rubus arcticus* L.) как полезное и красивое растение / Г.В. Гельцер // Вестник Российского общества садоводства. – 1860. – № 6. – С. 50–53.
9. Гладкова, Л.И. О введении в культуру лесных ягодных растений / Л.И. Гладкова // Дикорастущие ягодные растения СССР. – Петрозаводск, 1980. – С. 55–56.
10. Жолобова, З.П. Культура синей жимолости в Сибири / З.П. Жолобова // Состояние и перспективы развития редких садовых культур в СССР : сб. науч. тр. – Мичуринск : ВНИИ садоводства им. И.В. Мичурина, 1989. – С. 29–33.
11. 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.
12. Красикова, В.И. Биология и рациональное использование красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) на Сахалине / В.И. Красикова. – Владивосток : ДВНЦ АН СССР, 1987. – 108 с.
13. 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.
14. 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.

15. Красикова, В.И. Семенное и вегетативное размножение (*Vaccinium praestans* Lamb.) / В.И. Красикова // Растительные ресурсы. – 1986. – Т. 22. – Вып. 2. – С. 199–204.
16. Куклина, А.Г. Возможности размножения перспективных сортов жимолости синей / А.Г. Куклина, Е.А. Семерикова // Актуальные проблемы садоводства России и пути их решения. – 2007. – С. 163–164.
17. Курлович, Т.В. Брусника, клюква, красника. Сорты, посадка, уход / Т.В. Курлович, А.В. Гавриков. – М. : Кладезь-Букс, 2010. – 64 с.
18. Лукиша, В.В. Жимолость / В.В. Лукиша. – М. : Лесная пром-сть, 1990. – 64 с.
19. Мазуренко, М.Т. Вересковые кустарнички Дальнего Востока (структура и морфогенез) / М.Т. Мазуренко. – М. : Наука, 1982. – 184 с.
20. Морозов, О.В. Брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.) в сосновых лесах Беларуси / О.В. Морозов. – Минск : Право и экономика, 2006. – 114 с.
21. Павловский, Н.Б. Систематическое положение и классификация сортов голубики секции *Suapococcus* / Н.Б. Павловский // Плодоводство. – 2013. – Т. 25. – С. 533–543.
22. Помология : в 5 т. Т. V : Земляника. Малина. Орехоплодные и редкие культуры / Под общ. ред. Е.Н. Седова, Л.А. Грюнер. – Орел : ВНИИСПК, 2014. – 592 с.
23. Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия : учеб. / В.С. Шевелуха [и др.]; под ред. В.С. Шевелухи. – М. : URSS, 2015. – 715 с.
24. Скворцов, А.К. Голубые жимолости: ботаническое изучение и перспективы культуры в средней полосе России / А.К. Скворцов, А.Г. Куклина. – М. : Наука, 2002. – 160 с.
25. Смирнов, И.Ю. Перспективы окультуривания красники / И.Ю. Смирнов // Плодоводство и ягодоводство России. – 2001. – Т. 8. – С. 94–99.
26. Соловых, Н.В. Использование биотехнологических методов в работе с ягодными культурами : метод. реком. / Н.В. Соловых. – Мичуринск : Изд-во Мичуринского ГАУ, 2009. – 47 с.
27. Технологии микроразмножения *in vitro* : учеб.-метод. пособие / С.Н. Тимофеева, Ю.В. Смолькина, Н.В. Апанасова, О.И. Юдакова. – Саратов, 2016. – 38 с.
28. 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.
29. Тяк, Г.В. Первые отечественные сорта брусники / Г.В. Тяк, А.Ф. Черкасов, С.А. Алтухова // Лесное хозяйство. – 2002. – № 5. – С. 37–38.
30. Тяк, Г.В. Перспективы культивирования и селекции лесных ягодных растений в Костромской области / Г.В. Тяк, Л.Е. Курлович, Г.Ю. Макеева, А.В. Тяк // Природа Костромского края: современное состояние и экомониторинг : мат-лы регион. науч.-практич. конф. (г. Кострома, 24–25 марта 2017 г.). – Кострома, 2017. – С. 146–151.

31. Фрейдлинг, М.В. Поленика (*Rubus arcticus* L.) / М.В. Фрейдлинг // Известия Кар.-Финск. филиала АН СССР. – 1949. – № 3. – С.49–57.
32. Чернова, Е.П. Поляника (*Rubus arcticus* L.) и ее введение в культуру / Е.П. Чернова. – М.-Л. : Изд-во АН СССР, 1959. – 35 с.
33. 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 (г. Петропавловск-Камчатский, 14–15 ноября 2012 г.). – Петропавловск-Камчатский : Камчатпресс, 2012. – С. 124–128.
34. 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. – V. 25. – P. 129–135.
35. Blueberry Nursery Stock. Commercial Growers Catalog & Price List. – Oregon, USA: Fall Creek Farm & Nursery Inc., 2000. – 20 p.
36. 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.
37. Paal, T. Cultivation of *Vaccinium angustifolium* from Seed. Problems of Rational Utilization and Reproduction of Berry Plants in Boreal Forests on the Eve of the XXI Century / T. Paal // Proc. Int. Conf., Glubokoye-Gomel, Belarus, 11–15 September 2000. – P. 193–196.
38. Ragnar, M. 2017. Åkerbär. Black Island Books / M. Ragnar, P. Rytönen, J. Hedh. – 2017. – 169 p.
39. 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.
40. 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. (г. Минск, 15–19 августа 2005 г.). – Минск, 2005. – С. 90–93.
41. 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. – №. 2. – P. 264–272.
42. 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.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Состав питательных сред для выращивания культуры клеток и тканей

Компоненты питательной среды	Концентрация, мг/л		
	Андерсона (AN)	Мурасиге-Скуга (MS)	Woody Plant Medium (WPM)
1	2	3	4
Макросоли			
NH ₄ NO ₃	400,0	1650	400,0
NaH ₂ PO ₄ *H ₂ O	380,0	-	-
KNO ₃	480,0	1900	-
CaCl ₂ *2H ₂ O	440,0	440	96,0
Ca(NO ₃) ₂ *4H ₂ O	-	-	556,0
MgSO ₄ *7H ₂ O	370,0	-	370,0
KH ₂ PO ₄	-	370	170,0
K ₂ SO ₄	-	170	990,0
Хелат железа			
Na ₂ *EDTA	74,5	37,3	37,3
FeSO ₄ *7H ₂ O	55,7	27,95	27,8
Микросоли			
MnSO ₄ *H ₂ O	16,9	22,3	-
ZnSO ₄ *7H ₂ O	8,6	8,6	8,6
H ₃ BO ₃	6,2	6,2	-
KI	0,3	0,83	-
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	0,25	0,25	-
CuSO ₄ *5H ₂ O	0,025	0,025	0,25
CoCl ₂ *6H ₂ O	0,025	0,025	-
Витамины			
Тиамин (B ₁)	0,5	0,5	0,4
Пиридоксин (B ₆)	0,5	0,5	0,4
Никотиновая кислота (PP)	0,5	0,5	0,2
Аскорбиновая кислота (C)	1,5	1,0	1,0
Мезоинозит	100,0	100,0	100,0
Углеводы			
Сахароза	20 000	30 000	30 000
Агар			
Агар-агар	7 000	7 000	7 000

*Сергей Сергеевич Макаров, Антон Игоревич Чудецкий,
Сергей Анатольевич Родин, Елена Ивановна Куликова*

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫРАЩИВАНИЮ
ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ЛЕСНЫХ ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ
В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

В авторской редакции

Текстовое электронное издание

Корректор *Е.Б. Кузнецова*
Компьютерная верстка *Л.М. Харина*

Подписано к использованию 31.03.2023
Объем 300 КБ
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