

УДК 58.085:634.739.2:634.738:634.737

## ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА ПРИ КЛОНАЛЬНОМ МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ НЕКОТОРЫХ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *Rubus* L.<sup>1</sup>

© 2021 г. Д. Н. Зонтиков<sup>1</sup>, \*, С. А. Зонтикова<sup>1</sup>, К. В. Малахова<sup>1</sup><sup>1</sup> Костромской государственной университет 156005 Кострома, ул. Дзержинского, 17, Россия

\*E-mail: zontikovd@mail.ru

Поступила в редакцию 09.12.2020 г.

После доработки 30.12.2020 г.

Принята к публикации 11.03.2021 г.

Представители рода *Rubus* L.: малина обыкновенная (*Rubus idaeus* L.), ежевика складчатая (*Rubus fruticosus* L.), морошка приземистая (*Rubus chamaemorus* L.) и княженика арктическая (*Rubus arcticus* L.) – ценные ягодные культуры, активно возделываемые в промышленных масштабах. Несмотря на существующие методы клонального размножения для представителей этого рода, из-за влияния генотипических особенностей и изменений в генотипе в процессе селекции, актуальна работа по оптимизации методики размножения. Целью работы были подбор питательной среды и регуляторов роста для размножения различных сортов *R. idaeus*, *R. fruticosus*, *R. arcticus*, *R. chamaemorus* в культуре *in vitro*. На этапе введения в культуру *in vitro* исследовали вид питательной среды, подходящий для отобранных сортов и форм, регуляторы роста при этом были подобраны по литературным источникам, предпочтение отдавали наиболее часто используемым. Для изучения влияния регуляторов роста на активацию пазушных меристем на этапе введения в культуру использовали питательную среду *MS* с добавлением мезоинозита в концентрации 100 мг/л, глицина – 2 мг/л, тиамин – 0.5 мг/л, пиридоксин – 0.5 мг/л, сахарозы – 20 г/л, агара – 5.0 г/л, применяли регуляторы роста – 6-бензил-аминопурин (ВА) 0.50 мг/л и индолилмасляную кислоту (ИВА) 0.05 мг/л совместно с ВА 0.75 мг/л, во всех вариантах использовали гибберелловую кислоту (GA<sub>3</sub>) 0.1 мг/л при pH 3.8–5.8 в зависимости от вида растения. Были получены следующие результаты: в лучшем варианте, содержащем ВА, ИВА, GA<sub>3</sub> в концентрации 2.0, 0.20, 0.1 мг/л, для *R. idaeus* L. (сорт Амира), рост почек отмечали уже на 14-е ± 2 сут, количество почек достигало 3.2 ± 0.3. Для *R. chamaemorus* (сорт Ньюбу) лучший вариант питательной среды содержал ВА, ИВА, GA<sub>3</sub> в концентрациях 2.0, 0.20, 0.1 мг/л соответственно, рост почек отмечали на 23-е ± 2 сут, количество почек достигало 2.9 ± 0.4; для *R. arcticus* (сорт Астра) лучшим вариантом была среда с ВА 0.5 мг/л + ИВА 0.05 мг/л, рост почек отмечали на 16-е ± 2 сут, количество новых почек достигало 4.1 ± 0.3; у *R. fruticosus* L. (сорт Каракка блэк) лучшие результаты были отмечены на среде с концентрацией ВА 1.0 мг/л + ИВА 0.1 мг/л, рост почек начался на 18-е ± 2 сут, количество почек составило 2.5 ± 0.2/эксплант.

**Ключевые слова:** клональное микроразмножение, питательные среды, *Rubus idaeus* L., *Rubus fruticosus* L., *Rubus chamaemorus* L., *Rubus arcticus* L.

DOI: 10.31857/S0002188121060144

### ВВЕДЕНИЕ

Род *Rubus* L. включает в себя значительное количество видов, ягоды которых используются человеком в пищу, при помощи селекции получены сорта для возделывания в культуре. Наибольшее распространение получили сорта на основе 2-х видов – это малина обыкновенная (*Rubus idaeus* L.) и ежевика складчатая (*Rubus fruticosus* L.). Однако в последнее время активно используются для селекции и для плантационного выращивания

ния сорта, полученные от таких видов как морошка приземистая *Rubus chamaemorus* L., княженика арктическая *Rubus arcticus* L. [1–5].

Работ, в которых исследовали особенности клонального микроразмножения этих видов и сортов, полученных на их основе (*R. idaeus* и *R. Fruticosus*), довольно много: можно выделить основополагающие схожие составляющие метода, например, использование в качестве макро- и микроэлементной составляющей питательной среды Мурасиге–Скуга (*MS*). Однако остается еще много вопросов. Это обусловлено прежде всего обилием

<sup>1</sup> Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект номер 20-016-00134 А).

**Таблица 1.** Опубликованные результаты по клональному микроразмножению *R. idaeus*, *R. fruticosus*, *R. arcticus*, *R. chamaemorus* в культуре *in vitro*

Вид	Источ- ник	Предлагаемая для использования питательная среда, регуляторы роста и др. в целях								
		размножения					укоренения			
		мг/л								
		среда	BA	IBA	GA <sub>3</sub>	LAA	среда	IBA	IAA	NAA
<i>Rubus idaeus</i>	[11]	MS	2.0	0.5	0.1	–	MS	2.0	0.5	–
	[12]	MS	2.0	–	–	–	1/2MS	0.5	–	–
	[13]	MS	3.0	0.1	–	25–50	MS	0.5	–	–
<i>Rubus chamaemorus</i>	[14]	MS	0.5–1.5	0.1	–	–	MS	0.2	–	–
	[9]	MS	0.5–1.5	0.1	0.1	–	MS	0.1	–	–
<i>Rubus arcticus</i>	[10]	MS	0.5	–	–	–	1/2MS	–	–	0.1
	[15]	MS	1.5	0.25	–	–	–	–	–	–
<i>Rubus fruticosus</i>	[16]	MS	2.0	–	0.1–1.0	–	MS	2.0	–	–
	[17]	MS	0.7	–	–	–	MS	1.0	–	–
	[17]	MS	1.0	0.1	0.1	–	MS	–	–	–

Примечание. BA – 6-бензиламинопурин, IBA – индолилмасляная кислота, IAA – индолилуксусная кислота, NAA – нафтилуксусная кислота, LAA – L-аскорбиновая кислота, GA<sub>3</sub> – гиббереловая кислота.

генотипов, вовлеченных в селекционный процесс [6–8], что приводит к различным проявлениям морфогенетического потенциала этих генотипов в культуре *in vitro*. Для видов, которые относительно недавно стали использовать в растениеводстве, методы клонального микроразмножения разработаны для некоторых сортов, но не применимы для остальных (*R. chamaemorus*) [9], либо разработаны, но не учитывают специфику их применения в производственном процессе (*R. arcticus*) [10].

К настоящему времени существует большое количество описаний методов, используемых для клонального микроразмножения представителей рода *Rubus* (табл. 1). В качестве основных составляющих при размножении в культуре *in vitro* можно назвать использование питательной среды Мурасиге–Скуга (по прописи 1962 г. или модифицированных), а также использование в качестве регулятора роста 6-бензиламинопурина (BA) в разных концентрациях. Также нужно отметить использование для укоренения индолилмасляную кислоту (IBA), α-нафтилуксусная кислоту (NAA) и при необходимости получить удлиненные побеги – гиббереловую кислоту (GA<sub>3</sub>).

Несмотря на относительно большое количество информации по размножению представителей рода *Rubus*, остается много проблемных вопросов эффективности введения в культуру, состава питательных сред и применения регуляторов роста, активности ионов водорода в питательной среде. Новые сорта и виды, перспективные для планта-

ционного выращивания, требуют оптимизации состава питательных сред, а также разработки технологии клонального микроразмножения для новых в использовании видов. Исходя из этого, цель работы – подбор питательной среды и регуляторов роста, оптимальных для размножения различных сортов *R. idaeus*, *R. fruticosus*, *R. arcticus*, *R. chamaemorus* в культуре *in vitro*.

#### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для работы были отобраны следующие сорта: *Rubus idaeus* L. (Амира), *Rubus chamaemorus* L. (Нюбу), *Rubus arcticus* L. (Астра), *Rubus fruticosus* L. (Каракка блэк). С целью снижения уровня контаминации донорные растения культивировали в лабораторных условиях и по мере необходимости использовали в работе. В качестве донорных эксплантов выступали метамеры побега.

Метамеры длиной 5 мм с почкой в чашке Петри переносили в ламинарный бокс и стерилизовали в 70%-ном водном растворе этанола в течение 1 мин, после этого метамеры помещали на 15 мин в 5%-ный водный раствор гипохлорита натрия и промывали в 3-х сосудах со стерильной водой объемами не менее 100 мл. После стерилизации скальпелем отсекали лишние ткани побега, оставляя только узел с почкой, который сажали на питательные среды.

На этапе введения в культуру *in vitro* исследовали вид питательной среды, подходящий для отобранных сортов и форм, регуляторы роста при

этом были подобраны по литературным источникам, предпочтение отдавали наиболее часто используемым. Для изучения влияния регуляторов роста на активацию пазушных меристем на этапе введения в культуру использовали питательную среду MS [19] с добавлением мезоинозита в концентрации 100 мг/л, глицина – 2 мг/л, тиамина – 0.5 мг/л, пиридоксина – 0.5 мг/л, сахарозы – 20 г/л, агара – 5.0 г/л.

В опыте по влиянию регуляторов роста использовали концентрации в соотношении цитокинины : ауксины = 10 : 1. Выбор количества и сочетания регуляторов роста проводили, основываясь на рекомендациях разных авторов по культивированию тканей: 6-бензиламинопурина (BA) – от 0.50 до 2.5 мг/л и индолилмасляная кислота (IBA) – от 0.05 до 0.25 мг/л; во всех вариантах использовали гибберелловая кислота ( $GA_3$ ) в концентрации 0.1 мг/л. Величину pH питательной среды доводили до 3.8–5.8 в зависимости от вида растения. В опыте в каждом варианте закладывали по 10 эксплантов для каждого клона в трехкратной повторности.

Для изучения влияния состава питательных сред использовали питательную среду MS [19], в качестве контроля концентрация макроэлементного состава варьировала от 100 до 75 и 50%. Микроэлементы и витамины оставались в полном объеме.

Культивирование растительных тканей и растений-регенерантов на этапе введения в культуру *in vitro*, роста и развития побегов проводили в стеклянных культуральных сосудах объемом 10 мл. На этапе роста и размножения растений-регенерантов использовали культуральные сосуды объемом 100–500 мл. Культивирование растений-регенерантов проводили при освещении 1500 лк и периоде 16 ч (день)/8 ч (ночь) при температуре  $\leq 25^\circ C$ .

Каждый вариант опыта по влиянию регуляторов роста и концентрации макроэлементов в питательной среде на морфогенез объектов исследования выполнен в трехкратной повторности. Экспериментальные данные представлены в виде средних арифметических ( $M$ ) с указанием ошибки среднего ( $\pm SEM$ ). Расчет доверительного интервала на основании  $t$ -распределения Стьюдента при уровне значимости 0.05 проводили с использованием статистического пакета программы Microsoft Excel 2010.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке влияния регуляторов роста на активность морфогенеза в момент введения в культуру *in vitro* в качестве основных показателей, по

которым проводили анализ, были использованы следующие: количество образовавшихся почек на одном экспланте, срок геммогенеза, учет появления витрифицированных побегов. В опыте по влиянию регуляторов роста на морфогенез, было установлено, что для *R. idaeus* (сорт Амира) и *R. chamaemorus* (сорт Ньюбу) лучшим вариантом было применение BA – от 0.5 до 2.5 мг/л и IBA – от 0.05 до 0.25 мг/л и 0.1 мг  $GA_3$ . Рост новых почек начинался через  $14 \pm 2$  сут после введения в культуру *in vitro*, при этом количество растущих почек достигало  $3.2 \pm 0.3$  шт./эксплант у *R. idaeus* (сорт Амира). На среде с большей концентрацией регуляторов роста отмечали большее количество почек, но развивающиеся из них побеги были витрифицированы. Таким образом, полученные данные относительно концентрации BA на этапе размножения *R. idaeus* (сорт Амира) согласовались с результатами, приведенными в работах [11, 12]. Нами было подобрано оптимальное содержание ауксина IBA (0.2 мг/л), что позволило снизить количество витрифицированных микропобегов данного сорта до минимума. Срок геммогенеза и количество растущих почек на экспланте у *R. chamaemorus* (сорт Ньюбу) составляло  $23 \pm 2$  сут и  $2.9 \pm 0.4$  почек/эксплант соответственно; в варианте с большей концентрацией регуляторов роста отмечали гибель  $>65\%$  заложенных эксплантов. В отношении данного вида выявили необходимость больших концентраций регуляторов роста, чем это было описано в работах [9, 14], до 2.0 мг BA/л и 0.2 мг IBA/л. Для *R. arcticus* (сорт Астра) лучшим вариантом было применение 0.5 мг BA/л и 0.05 мг IBA/л, рост почек отмечали на  $16\text{-е} \pm 2$  сут, количество новых почек достигало  $4.1 \pm 0.3$  шт./эксплант; в вариантах с концентрацией регуляторов роста  $>2.0$  и 2.5 мг BA/л отмечена гибель эксплантов. Данный вид более чувствительный к концентрациям регуляторов роста, его оптимум был ограничен минимальными концентрациями BA и IBA, использованными в настоящем исследовании. При концентрациях цитокининов и ауксинов, рекомендованных в работе [15], у сорта Астра наблюдали токсическое воздействие регуляторов роста на почки экспланта, выразившееся в угнетении их ростовых процессов, а также витрификации и гибели микропобегов. Для *R. fruticosus* (сорт Каракка блэк) лучшие результаты были отмечены на среде с концентрацией BA 1.0 мг/л и IBA 0.1 мг/л, рост почек начался на  $18\text{-е} \pm 2$  сут, количество почек составило  $2.5 \pm 0.2$  шт./эксплант (табл. 2). Полученные результаты определили оптимальное содержание регуляторов роста, использованных при микроразмножении

**Таблица 2.** Влияние регуляторов роста 6-бензиламинопурина и индолилмасляной кислоты на морфогенез *R. idaeus* (сорт Амира), *R. chamaemorus* (сорт Ньюбу), *R. arcticus* (сорт Астра), *R. fruticosus* (сорт Каракка блэк)

Регуляторы роста, концентрация, мг/л	Виды (сорты) растений	Начало роста почек, сут, $M \pm SEM$	Количество почек, шт./эксплант, $M \pm SEM$	Витрификация, +/-
0.50 BA, 0.05 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>	<i>R. idaeus</i> (сорт Амира)	28 ± 2	1.1 ± 0.1	–
1.0 BA, 0.10 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		25 ± 3	1.2 ± 0.2	–
1.5 BA, 0.15 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		24 ± 2	1.4 ± 0.2	–
2.0 BA, 0.20 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub> *		14 ± 2	3.2 ± 0.3	–
2.5 BA, 0.25 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		14 ± 2	3.4 ± 0.3	+
0.50 BA, 0.05 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>	<i>R. chamaemorus</i> (сорт Ньюбу)	54 ± 3	1.0 ± 0.1	–
1.0 BA, 0.10 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		50 ± 2	1.3 ± 0.2	–
1.5 BA, 0.15 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		39 ± 2	1.5 ± 0.2	–
2.0 BA, 0.20 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub> *		23 ± 2	2.9 ± 0.4	–
2.5 BA, 0.25 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		–	–	+
0.50 BA, 0.05 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub> *	<i>R. arcticus</i> (сорт Астра)	16 ± 2	4.1 ± 0.3	–
1.0 BA, 0.10 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		15 ± 3	2.9 ± 0.2	+
1.5 BA, 0.15 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		15 ± 4	1.3 ± 0.5	+
2.0 BA, 0.20 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		–	–	+
2.5 BA, 0.25 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		–	–	+
0.50 BA, 0.05 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>	<i>R. fruticosus</i> (сорт Каракка блэк)	34 ± 2	1.2 ± 0.2	–
1.0 BA, 0.10 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub> *		18 ± 2	2.5 ± 0.2	–
1.5 BA, 0.15 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		18 ± 2	2.0 ± 0.5	–
2.0 BA, 0.20 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		19 ± 3	1.9 ± 0.4	–
2.5 BA, 0.25 IBA, 0.1 GA <sub>3</sub>		–	–	+

Примечание. Питательная среда *MS*, сахара 20 г/л, pH 3.8 (*R. chamaemorus*), 5.6–5.9 (остальные виды); прочерк – гибель эксплантов. \*Варианты, имеющие достоверные существенные различия на 5%-ном уровне значимости по *t*-критерию Стьюдента. То же в табл. 3.

*R. fruticosus* (сорт Каракка блэк), что согласовалось с данными работы [17].

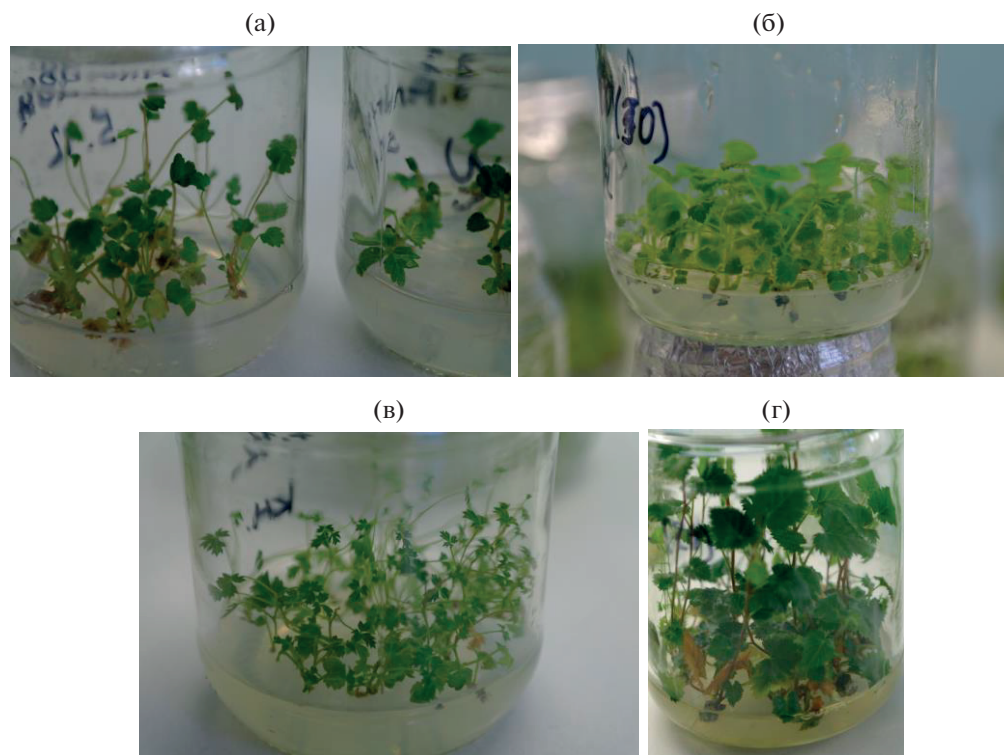
Сравнение результатов настоящего исследования по клональному микроразмножению представителей рода *Rubus* L. с литературными данными показало вариативность требований видов к концентрациям регуляторов роста: BA – от 2.0 до 3.0 мг/л у *R. idaeus*, от 0.5 до 2.0 мг/л у *R. chamaemorus*, от 0.5 до 1.5 мг/л у *R. arcticus*, от 0.7 до 2.0 мг/л у *R. fruticosus*; IBA – от 0.1 до 0.5 мг/л у *R. idaeus*, от 0.1 до 0.2 мг/л у *R. chamaemorus*, от 0.05 до 0.25 мг/л у *R. arcticus*, что могло быть обусловлено сортовыми особенностями объектов.

В опыте по влиянию концентрации макроэлементов на рост и развитие растений-регенерантов основными параметрами оценки были количество новых метамеров у *R. arcticus* (Астра) и *R. fruticosus* (Каракка блэк); количество образовавшихся новых розеточных побегов у *R. idaeus* (Амира),

*R. chamaemorus* (Ньюбу) (рис. 1). Также оценивали время до начала роста после пересадки. Выявлено, что лучшие показатели ростовых характеристик *R. fruticosus* (Каракка блэк) и *R. idaeus* (Амира) были на питательной среде с полным составом макроэлементов, вместе с тем *R. chamaemorus* (сорт Ньюбу) формировала хорошие розеточные побеги и на среде с 50% от полного состава *MS*, а *R. arcticus* (сорт Астра) лучше реагировала на среде с 75% от полного состава *MS* (табл. 3).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что при клональном микроразмножении *R. idaeus* L. сорта Амира при использовании регуляторов роста BA, IBA, GA<sub>3</sub> в концентрации 2.0, 0.20, 0.1 мг/л соответственно рост почек отмечали на 14-е ± 2 сут, их количество достигало 3.2 ± 0.3 шт./эксплант. При размножении *R. chamaemorus* (сорт Ньюбу)



**Рис. 1.** Клональное микроразмножение в культуре *in vitro*: (а) – *R. chamaemorus* (сорт Ньюбу), (б) – *R. idaeus* (сорт Амира), (в) – *R. arcticus* (сорт Астра), (г) – *R. fruticosus* (сорт Каракка блэк).

при использовании ВА, ИВА, GA<sub>3</sub> в концентрации 2.0, 0.20, 0.1 мг/л соответственно рост почек отмечали на 23-и ± 2 сут, при этом их количество достигало 2.9 ± 0.4 шт./эксплант. При размножении *R. arcticus* (сорт Астра) лучше результаты были в

варианте с регуляторами роста ВА 0.5 мг/л и ИВА 0.05 мг/л, рост почек отмечали на 16-е ± 2 сут, количество новых почек достигало 4.1 ± 0.3 шт./эксплант. При размножении *R. fruticosus* L (сорт Каракка блэк) лучшие результаты были отмечены на

**Таблица 3.** Влияние концентрации макроэлементов в питательной среде *MS* на морфогенез *R. idaeus* (сорт Амира), *R. chamaemorus* (сорт Ньюбу), *R. arcticus* (сорт Астра), *R. fruticosus* (сорт Каракка блэк)

Концентрация макроэлементов, %	Виды (сорта) растений	Начало роста побегов, сутки, $M \pm SEM$	Количество метамеров/розеток на эксплант, через 30 сут, $M \pm SEM$
100*	<i>R. idaeus</i> (сорт Амира)	20 ± 2	5 ± 1
75		39 ± 2	3 ± 1
50		45 ± 1	1 ± 1
100	<i>R. chamaemorus</i> (сорт Ньюбу)	35 ± 1	3 ± 1
75		30 ± 1	4 ± 1
50*		23 ± 1	4 ± 1
100	<i>R. arcticus</i> (сорт Астра)	22 ± 1	3 ± 1
75*		20 ± 1	5 ± 1
50		24 ± 1	3 ± 1
100*	<i>R. fruticosus</i> (сорт Каракка блэк)	21 ± 1	8 ± 1
75		32 ± 2	2 ± 1
50		40 ± 1	2 ± 1

Примечание. Питательная среда *MS*, сахара 20 г/л, pH 5.6–5.9 – *R. idaeus* (сорт Амира), *R. arcticus* (сорт Астра), *R. fruticosus* (сорт Каракка блэк), pH 3.8 – *R. chamaemorus* (сорт Ньюбу).

питательной среде с концентрацией ВА 1.0 мг/л и ИВА 0.1 мг/л, рост почек начался на  $18\text{-}e \pm 2$  сут, количество почек составило  $2.5 \pm 0.2$  шт./эксплант.

Выполненные исследования по клональному микроразмножению этих селекционных образцов рода *Rubus* L. можно использовать для получения высококачественного посадочного материала данных культур при создании ягодных плантаций.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Strik B., Clark J., Finn C., Banados M. Worldwide blackberry production // Hort. Technol. 2007. V. 17 (2). P. 205–213. DOI 17. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.17.2.205>
2. Karp K., Starast M. The Arctic bramble (*Rubus arcticus* L.) cultivated in Estonia // Problems of rational utilization and reproduction of berry plants in boreal forests on the eve of the XXI century. Proceedings of the International Conference. Belarus, Gomel. 1997. P. 158–160.
3. Molina-Bravo R., Worthington M., Fernandez G. Advances and challenges in raspberry and blackberry breeding // Achieving sustainable cultivation of temperate zone tree fruits and berries. 2019. V. 2. P. 363–396. <https://doi.org/10.19103/AS.2018.0040.27>
4. Wolanin M., Wolanin M., Oklejewicz K. Occurrence of brambles (*Rubus* L.) in young forest plantations on the Kolbuszowa Plateau // Forest Res. Paper. 2017. V. 78 (2). P. 179–186. DOI 78. <https://doi.org/10.1515/frp-2017-0020>
5. Nilsen G. Cloudberries – The Northern gold // Inter. J. Fruit Sci. 2006. V. 5 (2). P. 45–60. [https://doi.org/10.1300/J492v05n02\\_06](https://doi.org/10.1300/J492v05n02_06)
6. Clark L.V., Jasieniuk M. Spontaneous hybrids between native and exotic *Rubus* in the Western United States produce offspring both by apomixis and by sexual recombination // Heredity (Edinb). 2012. V. 109 (5). P. 320–328. <https://doi.org/10.1038/hdy.2012.45>
7. Hanping D., Siwen L., Du X. Botanical traits and cold hardiness of interspecific hybrids between European and Chinese raspberries // Acta Horticulturae. 2016. V. 1133. P. 61–66. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1133.10>
8. Lawrence A., Eriksson T., Eriksen B., Campbell Ch. Hybridization and gene flow between distantly related species of *Rubus* (Rosaceae): Evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region sequences // Systemat. Bot. 2001. V. 26. № 4. P. 769–778. DOI , [www.jstor.org/stable/3093858](http://www.jstor.org/stable/3093858) <https://doi.org/10.1043/0363-6445-26.4.769>
9. Martinussen I., Nilsen G., Svenson L., Junttila O., Rapp K. In vitro propagation of cloudberry (*Rubus chamaemorus*) // Plant Cell Tissue Organ Cult. 2004. V. 78. P. 43–49. <https://doi.org/10.1023/B:TI-CU.0000020392.85854.28>
10. Zontikov D., Zontikova S., Sergeev R., Shurgin A. In vitro propagation of *Rubus chamaemorus* L. and *Rubus arcticus* L. // Fat Embolism Syndrome. 2014. P. 397–403.
11. Dziedzic E., Jagła J. Micropropagation of *Rubus* and *Ribes* spp. // Methods in molecular biology. N.J.: Clifton, 2013. V. 11013. P. 149–160. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-074-8\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-074-8_11)
12. Stoevska T., Trifonova A., Karadocheva D. Micropropagation of raspberries (*Rubus idaeus*) // Biotechnol. Bio-technologic. Equip. 1995. V. 9. № 2–3. P. 27–30. <https://doi.org/10.1080/13102818.1995.10818837>
13. Isac V., Aurel P. Chapter I – protocols for in vitro micropropagation of strawberry, raspberry, blackberry, black currant, blueberry and lingonberry // A Guide to some in vitro techniques – small fruit. 2009. P. 1–4-24.
14. Thiem B. Micropropagation of cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) by initiation of axillary shoots // Acta Societat. Bot. Polon. 2001. V. 70. P. 11–16. <https://doi.org/10.5586/asbp.2001.002>
15. Kokko H., Kärenlampi S. Transformation of arctic bramble (*Rubus arcticus* L.) by *Agrobacterium tumefaciens* // Plant Cell Report. 1998. V. 17. P. 822–826. <https://doi.org/10.1007/s002990050491>
16. Azam J., Hamidoghli Y. Micropropagation of thornless trailing blackberry (*Rubus* sp.) by axillary bud explants // Austral. J. Crop Sci. 2009. V. 3. P. 191–194.
17. Fira A., Clapa D., Catita P. Micropropagation of blackberry thornless cultivars // Sci. Paper. R.I.F.G. Pitesti. 2009. V. 25. P. 213–221.
18. Sedlak J., Paprstein F. Micropropagation of blackberry genotypes // Acta Horticulturae. 2016. V. 1133. P. 487–490. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1133.75>
19. Murashige T.A. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // Physiol. Planta. 1962. V. 15. P. 473–497.

## Influence of the Composition of Nutrient Media and Growth Regulators during Clonal Micropropagation of Some Economically Valuable Representatives of the Genus *Rubus* L.

D. N. Zontikov<sup>a, #</sup>, S. A. Zontikova<sup>a</sup>, and K. V. Malahova<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Kostroma State University, ul. Dzerzhinskogo 17, Kostroma 156005, Russia

<sup>#</sup>E-mail: zontikovdn@mail.ru

Representatives of the genus *Rubus* L.: common raspberries (*Rubus idaeus* L.), folded blackberries (*Rubus fruticosus* L.), squat cloudberrys (*Rubus chamaemorus* L.) and Arctic knyazhenika (*Rubus arcticus* L.) are valuable berry crops that are actively cultivated on an industrial scale. Despite the existing methods of clonal re-

production for representatives of this genus, due to the influence of genotypic features and changes in the genotype in the selection process, the work on optimizing the breeding method is relevant. The aim of the work was the selection of a nutrient medium and growth regulators for the propagation of various varieties of *R. idaeus*, *R. fruticosus*, *R. arcticus*, *R. chamaemorus* in culture in vitro. At the stage of introduction to the culture in vitro, the type of nutrient medium suitable for the selected varieties and forms was studied, the growth regulators were selected according to the literature sources, preference was given to the most commonly used ones. To study the effect of growth regulators on the activation of axillary meristems at the stage of introduction into culture, the MS culture medium was used with the addition of mesoinositol at a concentration of 100 mg/l, glycine – 2 mg/l, thiamine – 0.5 mg/l, pyridoxine – 0.5 mg/l, sucrose – 20 g/l, agar – 5.0 g/l, growth regulators – 6-benzylaminopurine (BA) 0.50 mg/l and indolylbutyric acid (IBA) 0.05 mg/l together with BA 0.75 mg/l, gibberelic acid (GA<sub>3</sub>) 0.1 mg/l at pH 3.8–5.8 was used in all variants, depending on the plant species. The following results were obtained: in the best variant containing BA, IBA, GA<sub>3</sub> at a concentration of 2.0, 0.20, 0.1 mg/l, for *R. idaeus* L. (Amir variety), kidney growth was noted already on the 14th ± 2 days, the number of kidneys reached 3.2 ± 0.3. For *R. chamaemorus* (Nyubu variety), the best variant of the nutrient medium contained BA, IBA, GA<sub>3</sub> at concentrations of 2.0, 0.20, 0.1 mg/l, respectively, kidney growth was noted on the 23rd and ± 2 days, the number of kidneys reached 2.9 ± 0.4; for *R. arcticus* (variety Astra) the best option was a medium with BA 0.5 mg/l + IBA 0.05 mg/l, kidney growth was noted on the 16th ± 2 days, the number of new kidneys reached 4.1 ± 0.3; in *R. fruticosus* L. (variety Karakka black), the best results were noted on a medium with a concentration of BA 1.0 mg/l + IBA 0.1 mg/l, kidney growth began on the 18th ± 2 days, the number of kidneys was 2.5 ± 0.2/explant.

*Key words:* clonal micropropagation, nutrient media, *Rubus idaeus* L., *Rubus fruticosus* L., *Rubus chamaemorus* L., *Rubus arcticus* L.