

Научная статья

УДК 58.085; 634.739.2; 634.738; 634.737

<https://doi.org/10.25686/2306-2827.2024.2.20>

EDN: WPJKIX

Влияние макроэлементного состава среды WPM и регуляторов роста на морфогенез вегетативных и генеративных тканей сортов форм голубики

Д. Н. Зонтиков[✉], К. В. Малахова, О. О. Березина

Костромской государственный университет,
Российская Федерация, 156005, Кострома, ул. Дзержинского, 17/11
zontikovdn@mail.ru[✉]

Аннотация. *Введение.* Высокая востребованность в пищевом производстве сортов форм голубики обуславливает необходимость исследований, посвящённых особенностям культуры ткани сортов, способных как послужить основой получения новых сортов при селекции, так и оптимизировать технологию клонального микроразмножения ценных сортов форм голубики. Фундаментальное значение имеет вопрос переключения генеративных тканей микроспор на спорофитный путь развития. Ключевым фактором, определяющим активность морфогенеза растительных тканей в культуре *in vitro*, является содержание макроэлементов и регуляторов роста в составе питательной среды. *Цель* исследования – определить влияние некоторых макроэлементов и регуляторов роста на активность морфогенеза вегетативных и генеративных тканей сортов голубики узколистной в культуре *in vitro*. *Материал и методы исследования.* Статья посвящена рассмотрению вопросов культуры ткани вегетативных и генеративных структур сортов голубики узколистной (сорта “North Country”, “North Land” и “North Blue”), влиянию качественного и количественного содержания макроэлементов и регуляторов роста растений в питательной среде на активность морфогенеза вегетативных и генеративных тканей эксплантов. При этом были испытаны питательные среды с содержанием макроэлементов в концентрациях от 50 до 150 % от прописи состава среды McCown Woody Plant (WPM). В качестве контрольной среды применялась концентрация 100 % прописи среды WPM. Испытаны регуляторы роста 2-изопентиладенин (2-ip) и зеатина (Zea) 1–4 мг/л с добавлением индолилуксусной кислоты (IAA) при работе с вегетативными тканями и 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-D) 0,5–2,5 мг/л при работе с тканями генеративных структур. *Результаты.* Выявлена специфичность морфогенеза вегетативных и генеративных тканей рассматриваемых сортов на испытываемых средах. Активность морфогенеза вегетативных тканей сортов “North Land” и “North Blue” была оптимальна на контрольной среде с добавлением 3 мг/л Zea и 3 мг/л 2-ip соответственно. Побегообразование сорта “North Country” было наиболее активным на 75 % WPM и 2 мг/л Zea. Продолжительность жизнеспособности генеративных тканей пыльника была максимальна при концентрации 125 % прописи WPM для всех трёх сортов. Число образовавшихся эмбриоидов было наибольшим при добавлении 1,0 мг/л 2,4-D для “North Land” и “North Country” и 1,5 мг/л 2,4-D для “North Blue”. *Вывод.* Данное исследование выявило зависимость от концентрации макроэлементного состава и контролируемые регуляторами роста особенности активации переключения развития микроспор с гаметофитной на спорофитную программу у сортов форм голубики узколистной.

Ключевые слова: *Vaccinium angustifolium* Aiton.; “North Country”; “North Land”; “North Blue”; морфогенез; геммогенез; эмбриоидогенез; макроэлементы; регуляторы роста

Финансирование: исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 22-26-20086, <https://rscf.ru/project/22-26-20086/>

Для цитирования: Зонтиков Д. Н., Малахова К. В., Березина О. О. Влияние макроэлементного состава среды WPM и регуляторов роста на морфогенез вегетативных и генеративных тканей сортов форм голубики // Вестник Поволжского государственного технологического университета. Сер.: Лес. Экология. Природопользование. 2024. № 2 (62). С. 20–30. <https://doi.org/10.25686/2306-2827.2024.2.20>; EDN: WPJKIX

© Зонтиков Д. Н., Малахова К. В., Березина О. О., 2024

Введение

В настоящее время в нашей стране, как и за рубежом, наблюдается значительный интерес к сортам и видам рода *Vaccinium* L. В мире больших успехов достигли в плантационном выращивании клюквы, прежде всего клюквы крупноплодной (*Vaccinium macrocarpos* (Aiton) Pursh.), в результате селекционной работы получены высокопродуктивные сорта брусники *Vaccinium vitis-idaea* L., однако главной культурой, которая на порядок превосходит по объёмам производства все остальные в совокупности, является голубика [1]. Причин для этого несколько, но в основном – органолептические характеристики. Преимущественно при селекции новых сортов используют вид голубика высокорослая (*Vaccinium corymbosum* L.). Сорта, получаемые на основе голубики высокорослой, имеют высокую урожайность и отличные вкусовые качества, но теплолюбивость данных сортов является серьёзным недостатком для регионов с умеренным климатом [2]. В связи с этим канадскими селекционерами на основе голубики узколистной (*Vaccinium angustifolium* Aiton.) были получены сорта для регионов с холодным климатом [3].

В настоящее время метод культуры ткани широко применяется как для селекции [4, 5], так и для клонального микро-размножения для получения посадочного материала сортов голубики [6]. Нужно отметить, что работ по культуре вегетативной и генеративной ткани голубики узколистной очень немного, в основном проводят исследования в отношении имеющей большее экономическое значение голубики высокорослой [7]. Вместе с тем эта работа очень актуальна, поскольку для получения посадочного материала применяют только метод вегетативного размножения, а использование удвоенных гаплоидов в селекции даёт возможность быстрого получения гомозиготных линий, что облегчает селекцию фенотипов по количественным и качественным признакам, одновременной генетической фиксации в каждом локусе в пределах одного поколения [8]. Это позволяет избежать занима-

ющих много времени работ по самоопылению, обратному скрещиванию, прежде чем можно будет получить инбредные линии [9].

При культивировании клеток и тканей голубики *in vitro* чаще всего используют питательную среду McCown Woody Plant (WPM) [10]. Вместе с тем для каждого сорта необходимо подбирать свой состав питательной среды, прежде всего, по макроэлементам и регуляторам роста [11]. Исходя из этого, **цель** нашей работы – определить влияние некоторых макроэлементов и регуляторов роста на активность морфогенеза вегетативных и генеративных тканей сортов голубики узколистной в культуре *in vitro*.

Материалы и методы

В качестве модельных объектов нами было взято три сорта: “North Country”, “North Land” и “North Blue”. Эти сорта по основным хозяйственно ценным признакам схожи, получены селекционерами в США, специально для культивирования в условиях сурового климата. Они неприхотливы (по сравнению с сортами, полученными от голубики высокорослой), отличаются неплохой урожайностью, коротким вегетативным периодом. Устойчивость к холоду в первую очередь определяется небольшой (до 1 м) высотой растений.

Для лабораторных исследований и получения донорных эксплантов вегетативных и генеративных побегов использовали метод выгонки побегов [12].

В работе по изучению влияния макроэлементного состава и регуляторов роста на вегетативные ткани использовали вегетативные побеги возрастом 21–26 суток; на генеративные ткани – генеративные побеги 14–20 суток. Стерилизацию вегетативных и генеративных побегов проводили по схеме: 1,5 минуты в 70 % водном растворе этанола, после 12 минут стерилизовали в 4 % водном растворе гипохлорита натрия и промывали в трёх сосудах со стерильной водой, объёмами 100 мл каждый.

На питательные среды для оценки влияния различных концентраций макроэлементов и регуляторов роста помещали:

части вегетативных побегов, которые представляли собой метамеры вегетативного побега длиной 0,5–1,0 см (рис. 1, а), и генеративные органы цветка – пыльники (рис. 1, б). Пыльники выделяли из бутонов длиной 4 мм до момента их раскрытия, после стерилизации помещали их на питательную среду.

Для оценки влияния макроэлементов питательной среды на рост и развитие побегов и эмбриоидов из пыльников использовали следующие пропорционально уменьшенные и увеличенные по составу макроэлементов составы питательной среды WPM. Были изучены уменьшенные концентрации: 50, 75 %, а также увеличенные: 125 и 150 %, в качестве контроля использовали концентрацию в соответствии с протоколом [13]. Состав и концентрация микроэлементов и витаминов в соответствии с протоколом [13], сахарозы (20 г/л), агара (5,5 г/л), pH от 4,0 до 4,5.

В качестве регуляторов роста нами оценивались различные концентрации 2-изопентиладенина (2-ip) и зеатина (Zea) от 1 до 4 мг/л для выявления влияния на активность морфогенеза вегетативных тканей с добавлением индолилуксусной кислоты (IAA) в пропорции 1 к 10. Эффективность данных регуляторов роста была ранее обозначена в отношении ростовых

процессов ряда других представителей рода *Vaccinium* [6, 7]. В разделе работы, посвящённом генеративным тканям, использовали 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-D) в концентрации от 0,5 до 2,5 мг/л для выявления влияния на морфогенез пыльников.

Эффективность состава питательной среды на морфогенез и ростовые процессы побегов и эмбриоидов оценивали по следующим параметрам: начало роста побегов (сутки) и количество инициированных к росту почек на эксплант (шт.), количество образовавшихся метамеров на эксплант (шт.) для побегов и сохранение жизнеспособности пыльников (сутки), начало появления эмбриоидов (сутки), количество образовавшихся эмбриоидов на эксплант (шт.) для генеративных тканей. Описываемые опыты были проведены в трёхкратной повторности в количестве 20 эксплантов на каждую вариацию опыта.

Экспериментальные данные представлены в виде средних арифметических значений ($\bar{M}$) с указанием ошибки среднего ($\pm SEM$) и коэффициента вариации (Cv). Расчёт доверительного интервала на основании t -распределения Стьюдента при уровне значимости 0,05 проводили с использованием статистического пакета программы Microsoft Excel 2010.



Рис. 1. Донорные экспланты на питательных средах in vitro:
а) метамеры вегетативного побега; б) пыльники

Fig. 1. Donor explants on nutrient media in vitro: a) metamers of vegetative shoots; b) anthers

Результаты и их обсуждение

В опыте по изучению влияния элементного состава питательной среды на активность морфогенеза голубики узколистной было установлено, что для сортов “North Land” и “North Blue” оптимальной является питательная среда с полным составом макроэлементов (контроль). Сорт “North Land” начинал образовывать вегетативные почки на 32 ± 1 сутки, сорт “North Blue” на 36 ± 1 сутки, при этом количество образовавшихся почек составило

$2,9 \pm 0,1$ и $2,5 \pm 0,1$ на эксплант соответственно. Для сорта “North Country” лучший вариант среды был с уменьшенным составом макроэлементов до 75 %. При этом побеги были хорошо развиты (рис. 2). В этом варианте рост почек наблюдали уже в среднем на 20 ± 3 сутки с образованием $3,1 \pm 0,2$ почки на эксплант. Для всех сортов отмечено, что при повышении содержания макроэлементов до 150 % морфогенез полностью отсутствовал (табл. 1).



Рис. 2. Побегообразование у голубики узколистной: сорт “North Country” на питательной среде WPM, содержащей 75 % макроэлементов
Fig. 2. Shoot formation in *Vaccinium angustifolium* Ait.: the ‘North Country’ variety on WPM nutrient medium containing 75 % of macroelements

Таблица 1. Влияние концентрации макроэлементов на морфогенез голубики узколистной сортов “North Land”, “North Blue”, “North Country” на этапе введения в культуру *in vitro* (питательная среда WPM, сахароза 20 г/л; pH 4,0-4,5)
Table 1. The influence of the concentration of macroelements on the morphogenesis in the ‘North Land’, ‘North Blue’, ‘North Country’ varieties of *Vaccinium angustifolium* Aiton at the stage of introduction into the culture *in vitro* (WPM nutrient medium, sucrose 20 g/l; pH 4.0-4.5)

Концентрация макроэлементов в питательной среде WPM, %	Сорт	Начало роста побегов, сутки, $M \pm SEM$	Количество инициированных к росту почек на эксплант, шт., $M \pm SEM$	Количество неморфогенных эксплантов, %
50	“North Land”	45 ± 2	$0,6 \pm 0,2$	32
75		37 ± 1	$1,1 \pm 0,3$	21
100		32 ± 1	$2,9 \pm 0,1$	10
125		40 ± 3	$2,0 \pm 0,2$	30
150		0	0	100
50	“North Blue”	43 ± 2	$1,0 \pm 0,2$	30
75		29 ± 2	$1,5 \pm 0,2$	25
100		36 ± 1	$2,5 \pm 0,1$	22
125		49 ± 1	$2,0 \pm 0,2$	57
150		0	0	100
50	“North Country”	54 ± 2	$0,9 \pm 0,1$	44
75		20 ± 3	$3,1 \pm 0,2$	19
100		30 ± 1	$2,0 \pm 0,3$	20
125		43 ± 2	$1,9 \pm 0,2$	36
150		0	0	100

Для инициации геммогенеза отобранных сортов голубики узколистной в качестве регуляторов роста были отобраны такие цитокинины, как 2-изопентиладенин, зеатин, в качестве ауксинов использовалась индолилуксусная кислота, влияние которых на активность морфогенеза вегетативных побегов представителей рода *Vaccinium* L. было определено ранее [6, 7]. В результате было установлено, что для индукции геммогенеза сорта “North Land” использование концентраций регулятора роста Zea 3 мг/л и 0,3 мг/л позволяет получать до 4,4±0,5 шт. почек на эксплант. Количество метамеров при этом достигает 2,5±0,3 шт. на побег. Для сорта “North Blue” лучшим вариантом

было использование 2-ип в концентрации 3 мг/л совместно с IAA 0,3 мг/л, что позволило получать 3,5±0,2 шт. почек на эксплант и 3,2±0,2 шт. метамеров на побег. Сорт “North Country” проявил лучшие ростовые характеристики при использовании Zea в концентрации 2 мг/л и индолилуксусной кислоты 0,2 мг/л. В этом варианте на эксплантах образовывались почки в количестве 2,7±0,3 шт. на эксплант и 3,0±0,4 шт. метамеров на побег (табл. 2).

Нужно отметить, что для любых сортов голубики узколистной использование зеатина и 2-изопентиладенина приводит к положительным результатам, использование иных цитокининов нежелательно.

Таблица 2. Влияние 2-изопентиладенина и зеатина совместно с индолилуксусной кислотой на активность морфогенеза сортов голубики узколистной (питательная среда WPM, сахароза 20 г/л; pH 4,0-4,5)

Table 2. The effect of 2-isopentyladenine and zeatin in combination with indoleacetic acid on the activity of morphogenesis of *Vaccinium angustifolium* Aiton varieties (WPM nutrient medium, sucrose 20 g/l; pH 4.0-4.5)

Регуляторы роста, мг/л	Число почек на эксплант, шт.		Число метамеров, шт.	
	M±SEM	Cv, %	M±SEM	Cv, %
Сорт “North Land”				
2-ип 1 + IAA 0,1	1,2±0,2	3,5	1,1±0,2	4,6
2-ип 2 + IAA 0,2	1,7±0,5	6,7	1,4±0,3	6,3
2-ип 3 + IAA 0,3	3,4±0,3	6,2	2,2±0,2	5,9
2-ип 4 + IAA 0,4	1,3±0,2	3,1	1,8±0,4	87
ZEA1 + IAA 0,1	1,0±0,2	4,7	1,0±0,1	3,7
ZEA2 + IAA 0,2	1,2±0,2	6,5	1,4±0,1	5,6
ZEA3 + IAA 0,3	4,4±0,5	4,2	2,5±0,3	2,5
ZEA4 + IAA 0,4	3,4±0,2	2,5	1,4±0,3	4,2
Сорт “North Blue”				
2-ип 1 + IAA 0,1	1,9±0,2	7,3	1,2±0,2	6,5
2-ип 2 + IAA 0,2	2,4±0,2	4,4	1,4±0,3	7,6
2-ип 3 + IAA 0,3	3,5±0,2	5,1	3,2±0,2	10,0
2-ип 4 + IAA 0,4	1,4±0,2	7,8	2,8±0,3	1,2
Zea1 + IAA 0,1	1,4±0,2	7,8	2,8±0,3	1,2
Zea2 + IAA 0,2	1,0±0,2	5,7	1,3±0,2	3,2
Zea3 + IAA 0,3	1,7±0,3	3,6	1,5±0,6	9,3
Zea4 + IAA 0,4	2,5±0,4	4,6	2,0±0,1	1,9
Сорт “North Country”				
2-ип 1 + IAA 0,1	1,8±0,2	12,0	1,0±0,3	5,0
2-ип 2 + IAA 0,2	2,0±0,4	5,6	1,2±0,2	8,4
2-ип 3 + IAA 0,3	2,0±0,2	12,1	2,1±0,2	4,3
2-ип 4 + IAA 0,4	2,1±0,3	4,3	2,0±0,1	4,7
Zea1 + IAA 0,1	1,7±0,2	5,3	2,1±0,2	7,1
ZEA2 + IAA 0,2	2,7±0,3	2,0	3,0±0,4	2,0
Zea3 + IAA 0,3	2,5±0,1	6,7	1,8±0,3	5,2
Zea4 + IAA 0,4	2,1±0,5	3,4	1,7±0,4	4,4

Работу с генеративными тканями мы разделили на два этапа. На первом этапе мы оценивали влияние различных концентраций макроэлементов на продолжительность жизнеспособности тканей пыльника, которая легко определяется как по окраске тканей, так и по разрастанию тканей тычинки (если она осталась после извлечения пыльника). В результате нами было установлено, что свою жизнеспособность у всех трёх сортов пыльники дольше сохраняют на питательной среде с повышенным до 125 % от прописи содержанием макроэлементов (табл. 3). Таким образом, нам удалось выявить стимулирующее жизнедеятельность тканей пыльника воздействие повышенной дозы макроэлементного состава питательной среды WPM, которое в дальнейшем можно использовать для получения эмбрионидов в культуре генеративных тканей данных сортов.

На втором этапе питательную среду с повышенным содержанием макроэлементов дополняли регулятором роста, который наиболее часто используется для активации переключения развития микроспор с гаметофитной на спорофитную программу развития – 2,4-D. В литературе описан по-

ложительный опыт использования данного регулятора роста для активации эмбриогенеза ряда культур (*Arabidopsis*, *Serenoa repens*), что, вероятно, обуславливается его положительным стрессовым воздействием на ткани [13]. Однако в данном случае необходимо подобрать оптимальную концентрацию регулятора роста, являющуюся повышенной для генеративной ткани культуры, но не влияющую на снижение жизнеспособности эксплантов. В результате было установлено, что для активации переключения программы развития микроспор с гаметофитной на спорофитную для сортов “North Land” и “North Country” из предложенных концентраций регулятора роста лучше использовать 1 мг/л, а для сорта “North Blue” оптимальнее использовать 1,5 мг/л (табл. 4, рис. 3). Полученные нами данные свидетельствуют о негативном стрессовом воздействии повышенных концентраций ауксина 2,4-D на эмбриогенез генеративных тканей сортов форм рода *Vaccinium*: при концентрациях от 1,5 мг/л у сортов “North Land” и “North Country” и от 2,0 мг/л у сорта “North Blue” не было зафиксировано появление эмбрионидов.

Таблица 3. Влияние концентрации макроэлементов на жизнеспособность пыльников у трёх сортов голубики узколистной (сахароза 20 г/л; pH 4,0-4,5, регуляторы роста отсутствуют)

Table 3. The influence of the concentration of macroelements on the viability of anthers in three varieties of *Vaccinium angustifolium* Ait. (sucrose 20 g/l; pH 4.0-4.5, no growth regulators)

Концентрация макроэлементов в питательной среде WPM, %	Жизнеспособность тканей пыльника, сутки	
	M±SEM	Cv, %
Сорт “North Land”		
150	38±3	2,4
125	47±2	4,4
100	40±1	4,8
75	32±1	4,9
50	25±3	9,0
Сорт “North Blue”		
150	40±3	3,7
125	53±2	5,3
100	44±2	9,2
75	36±2	11,2
50	20±1	6,3
Сорт “North Country”		
150	27±1	3,5
125	50±2	4,3
100	37±2	6,8
75	33±3	9,2
50	19±2	8,3

Таблица 4. Влияние различных концентраций 2,4-D на способность переключения с гаметофитной программы развития микроспоры на спорофитную (питательная среда WPM, сахароза 20 г/л; pH 4,0-4,5)

Table 4. The effect of various concentrations of 2,4-D on the ability to switch from the gametophytic program of microspore development to the sporophytic one (WPM nutrient medium, sucrose 20 g/l; pH 4.0-4.5)

Концентрация 2,4-D, мг/л	Появление эмбрионов, сутки		Число эмбрионов на 60-е сутки, шт.	
	M±SEM	Cv, %	M±SEM	Cv, %
Сорт "North Land"				
0,5	69±2,3	5,8	12±1,2	4,2
1,0	55±1,2	6,9	23±2,4	5,3
1,5	-	-	-	-
2,0	-	-	-	-
Сорт "North Blue"				
0,5	53±3	5,2	7±3,1	4,3
1,0	50±1	10,2	11±4,2	5,3
1,5	46±1,3	6,3	22±1,5	6,1
2,0	-	-	-	-
Сорт "North Country"				
0,5	67±5	7,2	4±1,3	5,5
1,0	49±4	4,5	18±2,5	7,9
1,5	-	-	-	-
2,0	-	-	-	-



Рис. 3. Эмбриогенез на пыльнике голубики сорта "North Country"

Fig. 3. Embryoidogenesis on the anther of the 'North Country' variety of *Vaccinium angustifolium* Aiton

Закключение

В статье обозначены особенности морфогенеза и развития тканей вегетативных и генеративных структур сортовых форм голубики узколистной ("North Country", "North Land" и "North Blue"), выражающиеся в активности процессов геммогенеза и эмбриогенеза эксплантов при культивировании на питательных средах с различной кратностью макроэлементного состава от прописи WPM и содержанием регуляторов роста.

Выявлена дозозависимая активность процессов геммогенеза и эмбриогенеза

рассматриваемых сортов в зависимости от макроэлементного состава питательной среды и содержания концентраций Zea и 2-ip в случае побегообразования вегетативных тканей и 2,4-D при образовании эмбрионов. Установлено, что морфогенез вегетативных тканей сорта "North Country" наиболее оптимален на питательной среде 75 % WPM; активность морфогенеза максимальна для "North Country" и "North Land" при добавлении Zea 2 мг/л и 3 мг/л соответственно, для "North Blue" – 2-ip 3 мг/л. Выявлены различия морфогенеза генеративных тканей сортов голубики уз-

колистной в зависимости от концентраций 2,4-D, выражающиеся в активности эмбриогенеза эксплантов. Наиболее выраженное появление эмбрионов в культуре пыльников отмечено при концентрациях 2,4-D от 1,0 мг/л (сорта “North Country” и “North Land”) до 1,5 мг/л (сорт “North Blue”) питательной среды.

Данное исследование вносит вклад в изучение особенностей активации переключения программы развития микроспор с гаметофитной на спорофитную при дозозависимом воздействии ауксина 2,4-D и повышенном содержании макроэлементного состава WPM (до 125 %) на примере сортов голубики узколистной.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Blueberries Around the Globe – Past, Present, and Future. International Agricultural Trade Report. Foreign Agricultural Service, U.S. Department of Agriculture. 2021. 6 p. URL: https://www.fas.usda.gov/sites/default/files/2021-10/GlobalBlueberriesFinal_1.pdf (дата обращения: 10.11.2023).
2. Masłowska W., Liberacki D. The yield of selected varieties of American Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) in the first years of fruiting in the western part of Poland // *Acta Horticulturae et Regionum Horticulturae*. 2018. Vol. 21. Iss. 1. Pp. 13–16. DOI: 10.2478/ahr-2018-0004
3. Song G.-Q., Hancock J. F. *Vaccinium* // *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Springer, Berlin, Heidelberg. 2011. Pp. 197–221. DOI: 10.1007/978-3-642-16057-8_10
4. On the Developmental and Environmental Regulation of Secondary Metabolism in *Vaccinium* spp. Berries / K. Karppinen, L. Zoratti, N. Nguyenquynh et al. // *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. Art. 655. DOI: 10.3389/fpls.2016.00655
5. There and back again; historical perspective and future directions for *Vaccinium* breeding and research studies / P. Edger, M. Iorizzo, N. Bassil et al. // *Horticulture Research*. 2022. Vol. 9. Art. uhac083. DOI: 10.1093/hr/uhac083
6. Влияние состава питательных сред и регуляторов роста при клональном микроразмножении некоторых полиплоидных форм рода *Vaccinium* L. / Д. Н. Зонтиков, С. А. Зонтикова, К. В. Малахова и др. // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2019. Т. 21. № 2. С. 39–44. EDN: BZEBNA
7. Microclonal propagation of *Vaccinium* sp. and *Rubus* sp. and detection of genetic variability in culture in vitro / A. Gajdošová, M. G. Ostrolucká, G. Ličková et al. // *Journal of fruit and ornamental plant research*. 2006. Vol. 14. Iss. 1. Pp. 103–119. Corpus ID: 82698159
8. Longin C. F. H., Utz H. F., Reif J. C. Hybrid maize breeding with doubled haploids: III. Efficiency of early testing prior to doubled haploid production in two-stage selection for testcross performance // *Theoretical and Applied Genetics*. 2007. Vol. 115. Pp. 519–527. DOI: 10.1007/s00122-007-0585-2
9. Thomas W. T. B., Forster B. P., Gertsson B. Doubled haploids in breeding // *Doubled Haploid Production in Crop Plants*. Springer, Dordrecht. 2003. Pp. 337–349. DOI: 10.1007/978-94-017-1293-4_47
10. Lloyd G., McCown B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture // *Combined Proceedings, International Plant Propagator's Society*. 1980. Vol. 30. Pp. 421–427.
11. Hunková J., Gajdošová A., Szabóová M. Effect of Mesos Components (MgSO₄, CaCl₂, KH₂PO₄) on In Vitro Shoot Growth of Blackberry, Blueberry, and Saskatoon // *Plants*. 2020. Vol. 9. Iss. 8. Art. 935. DOI: 10.3390/plants9080935
12. Зонтиков Д. Н., Зонтикова С. А., Сергеев Р. В. Размножение высокопродуктивных диплоидных и триплоидных форм осины (*Populus tremula* L.) в культуре in vitro // *Агрохимия*. 2016. № 7. С. 59–65. EDN: WHGKNB
13. Gaj M. D. Factors Influencing Somatic Embryogenesis Induction and Plant Regeneration with Particular Reference to *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // *Plant Growth Regulation*. 2004. Vol. 43. Iss. 1. Pp. 27–47. DOI: 10.1023/B:GROW.0000038275.29262.fb

Статья поступила в редакцию 06.12.2023; одобрена после рецензирования 19.12.2023; принята к публикации 25.04.2024

Информация об авторах

ЗОНТИКОВ Дмитрий Николаевич – кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Костромской государственный университет. Область научных интересов – культура растительной ткани, клональное микроразмножение растений, гаплоидия, полиплоидия. Автор 57 научных публикаций. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6668-4877>; SPIN-код: 1011-5860

МАЛАХОВА Ксения Вячеславовна – младший научный сотрудник, Костромской государственный университет. Область научных интересов – клональное микроразмножение растений, культура растительной ткани, гаплоидия, полиплоидия. Автор 37 научных публикаций. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7762-8811>; SPIN-код: 7279-0684

БЕРЕЗИНА Олеся Олеговна – ассистент кафедры биологии и экологии, Костромской государственной университет. Область научных интересов – клональное микроразмножение растений, культура растительной ткани, физиология растений. Автор пяти научных публикаций.

Доступность данных и материалов: наборы данных, проанализированные в ходе исследования, являются общедоступными.

Вклад авторов:

Зонтиков Д. Н. – постановка цели, задач.

Малахова К. В. – разработка программы, методики.

Березина О. О. – выполнение экспериментальной работы, написание и подготовка статьи.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Scientific article

UDC 58.085; 634.739.2; 634.738; 634.737

<https://doi.org/10.25686/2306-2827.2024.2.20>

EDN: WPJKIX

Influence of the Macroelement Composition of the WPM Medium and Growth Regulators on the Morphogenesis of Vegetative and Generative Tissues of Varietal Forms of *Vaccinium Angustifolium* Ait

D. N. Zontikov[✉], K. V. Malakhova, O. O. Berezina

Kostroma State University,

17/11, Dzerzhinsky St., Kostroma, 156005, Russian Federation

zontikovdn@mail.ru[✉]

Abstract. Introduction. The high demand of the food manufacturing industry for varietal forms of blueberries necessitates research on the characteristics of tissue culture of the varieties that can both serve as the basis for obtaining new cultivars through breeding and optimize the clonal micropropagation technology for valuable varietal forms of blueberries. Of fundamental importance is the issue of switching the generative tissues of microspores to the sporophytic pathway of development. The key factors determining the activity of morphogenesis of plant tissues in in vitro culture are the content of macroelements and growth regulators in the nutrient medium. The *purpose* of the study is to determine the influence of some macroelements and growth regulators on the morphogenetic activity of vegetative and generative tissues in varieties of *Vaccinium angustifolium* Aiton (lowbush blueberry) in in vitro culture. *Material and research methods.* The article deals with the issues of the tissue culture of vegetative and generative structures of *Vaccinium angustifolium* Ait. varieties ('North Country', 'North Land' and 'North Blue'), as well as the influence of the qualitative and quantitative content of macroelements and plant growth regulators in the nutrient medium on the activity of morphogenesis of vegetative and generative tissues in explants. At the same time, nutrient media containing macroelements at concentrations ranging from 50 to 150 % of the McCown Woody Plant medium (WPM) composition were tested. WPM medium in its original concentration (100 %) was used as a control medium. The growth regulators of 2-isopentyladenine (2-ip) and zeatin (Zea) at concentrations of 1–4 mg/l were tested with the addition of indoleacetic acid (IAA) when working with the vegetative tissues, and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) at a concentration of 0.5–2.5 mg/l when working with the tissues of generative structures. *Results.* The study revealed the specificity of morphogenesis of the vegetative and generative tissues of the studied varieties on the tested media. The activity of morphogenesis of the vegetative tissues of the 'North Land' and 'North Blue' varieties was optimal on the control medium supplemented with 3 mg/l Zea and 3 mg/l 2-ip, respectively. The shoot formation in the 'North Country' variety was the most intensive at 75 % WPM and 2 mg/L Zea. The viability of anther generative tissues was maximum at a concentration of 125 % of the WPM composition for all three varieties. The number of embryoids formed was the greatest with the addition of 1.0 mg/L of 2,4-D for 'North Land' and 'North Country' and 1.5 mg/L of 2,4-D for the 'North Blue' variety. *Conclusion.* The study revealed specific features of activating the switch of the microspore development from the gametophytic to the sporophytic program in *Vaccinium angustifolium* Aiton varieties. The features depend on the concentrations of macroelements in the medium composition and can be controlled by growth regulators.

Keywords: *Vaccinium angustifolium* Aiton; ‘North Country’; ‘North Land’; ‘North Blue’; morphogenesis; hemmogenesis; embryoidogenesis; macronutrients; growth regulators

Funding: the research was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-26-20086, <https://rscf.ru/project/22-26-20086/>

For citation: Zontikov D. N., Malakhova K. V., Berezina O. O. Influence of the Macroelement Composition of the WPM Medium and Growth Regulators on the Morphogenesis of Vegetative and Generative Tissues of Varietal Forms of *Vaccinium Angustifolium* Ait. *Vestnik of Volga State University of Technology. Ser.: Forest. Ecology. Nature Management.* 2024;(2):20–30. (In Russ.). <https://doi.org/10.25686/2306-2827.2024.2.20>; EDN: WPJKIX

REFERENCES

1. Blueberries Around the Globe – Past, Present, and Future. International Agricultural Trade Report. Foreign Agricultural Service, U.S. Department of Agriculture. 2021. 6 p. URL: https://www.fas.usda.gov/sites/default/files/2021-10/GlobalBlueberriesFinal_1.pdf (reference date: 10.11.2023).
2. Masłowska W., Liberacki D. The yield of selected varieties of American Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) in the first years of fruiting in the western part of Poland. *Acta Horticulturae et Regio-ecturae*. 2018;21(1):13–16. DOI: 10.2478/ahr-2018-0004
3. Song G.-Q., Hancock J. F. *Vaccinium*. In: *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Springer, Berlin, Heidelberg. 2011. Pp. 197–221. DOI: 10.1007/978-3-642-16057-8_10
4. Karppinen K., Zoratti L., Nguyenquynh N. et al. On the Developmental and Environmental Regulation of Secondary Metabolism in *Vaccinium* spp. Berries. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7. Art. 655. DOI: 10.3389/fpls.2016.00655
5. Edger P., Iorizzo M., Bassil N. et al. There and back again; historical perspective and future directions for *Vaccinium* breeding and research studies. *Horticulture Research*. 2022;9. Art. uhac083. DOI: 10.1093/hr/uhac083
6. Zontikov D. N., Zontikova S. A., Malakhova K. V. et al. Influence of the composition of nutrient media and growth regulators during clonal micropropagation of some polyploid forms of the genus *Vaccinium* L. *News of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2019;21(2):39–44. (In Russ.). EDN: BZEBNA
7. Gajdošová A., Ostrolucká M. G., Libiaková G. et al. Microclonal propagation of *Vaccinium* sp. and *Rubus* sp. and detection of genetic variability in culture in vitro. *Journal of fruit and ornamental plant research*. 2006;14(1):103–119. Corpus ID: 82698159
8. Longin C. F. H., Utz H. F., Reif J. C. Hybrid maize breeding with doubled haploids: III. Efficiency of early testing prior to doubled haploid production in two-stage selection for testcross performance. *Theoretical and Applied Genetics*. 2007;115:519–527. DOI: 10.1007/s00122-007-0585-2
9. Thomas W. T. B., Forster B. P., Gertsson B. Doubled haploids in breeding. In: *Doubled Haploid Production in Crop Plants*. Springer, Dordrecht. 2003. Pp. 337–349. DOI: 10.1007/978-94-017-1293-4_47
10. Lloyd G., McCown B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society*. 1980;30:421–427.
11. Hunková J., Gajdošová A., Szabóová M. Effect of Mesos Components (MgSO₄, CaCl₂, KH₂PO₄) on In Vitro Shoot Growth of Blackberry, Blueberry, and Saskatoon. *Plants*. 2020;9(8). Art. 935. DOI: 10.3390/plants9080935
12. Zontikov D. N., Zontikova S. A., Sergeev R. V. In vitro propagation of the highly diploid and triploid forms of aspen (*Populus tremula* L.). *Agrochemistry*. 2016;(7):59–65. EDN: WHGKNB (In Russ.).
13. Gaj M. D. Factors Influencing Somatic Embryogenesis Induction and Plant Regeneration with Particular Reference to *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Growth Regulation*. 2004;43(1):27–47. DOI: 10.1023/B:GROW.0000038275.29262.fb

The article was submitted 06.12.2023; approved after reviewing 19.12.2023; accepted for publication 25.04.2024

Information about the authors

Dmitry N. Zontikov – Candidate of Agricultural Sciences, Senior Researcher, Kostroma State University. Research interests – plant tissue culture, clonal micropropagation of plants, haploidy, polyploidy. Author of 66 scientific publications. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6668-4877>; SPIN: 1011-5860

Ksenia V. Malakhova – Junior Researcher, Kostroma State University. Research interests – clonal micropropagation of plants, plant tissue culture, haploidy, polyploidy. Author of 46 scientific publications. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7762-8811>; SPIN: 7279-0684

Olesya O. Berezina – Assistant at the Department of Biology and Ecology, Kostroma State University. Research interests – clonal micropropagation of plants, plant tissue culture, plant physiology. Author of five scientific publications.

Availability of data and materials: The datasets analyzed during the study are publicly available.

Contribution of the authors:

Zontikov D. N. – formulation of the research goal and objectives.

Malakhova K. V. – development of the program and methodology.

Berezina O. O. – carrying out experimental work, manuscript writing and preparation.

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interest.

All authors read and approved the final manuscript.