

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2386>  
<https://elibrary.ru/UANYXI>

Оригинальная статья  
<https://fptt.ru>

## Микроклональное размножение и особенности адаптации к условиям *ex vitro* лесных ягодных растений рода *Vaccinium*



А. И. Чудецкий<sup>1,\*</sup>, С. А. Родин<sup>1</sup>, Л. В. Зарубина<sup>2</sup>,  
И. Б. Кузнецова<sup>3</sup>, Г. В. Тяк<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства  
и механизации лесного хозяйства<sup>ROR</sup>, Пушкино, Россия

<sup>2</sup> Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н. В. Верещагина<sup>ROR</sup>, Вологда, Россия

<sup>3</sup> Костромская государственная сельскохозяйственная академия<sup>ROR</sup>, Караваево, Россия

Поступила в редакцию: 14.01.2022  
Принята после рецензирования: 09.02.2022  
Принята к публикации: 09.03.2022

\*А. И. Чудецкий: [a.chudetsky@mail.ru](mailto:a.chudetsky@mail.ru),  
<https://orcid.org/0000-0003-4804-7759>  
С. А. Родин: <https://orcid.org/0000-0002-8947-9809>  
Л. В. Зарубина: <https://orcid.org/0000-0003-3834-0521>  
И. Б. Кузнецова: <https://orcid.org/0000-0001-5011-3271>  
Г. В. Тяк: <https://orcid.org/0000-0002-1081-4054>

© А. И. Чудецкий, С. А. Родин, Л. В. Зарубина,  
И. Б. Кузнецова, Г. В. Тяк, 2022



### Аннотация.

Для получения большого количества высококачественного оздоровленного посадочного материала хозяйственно ценных лесных ягодных растений необходимо использовать современные экономически эффективные методы размножения. Недостаточно изучены адаптация *ex vitro* видов *Vaccinium* и выращивание *in vitro*. Цель работы – изучение влияния росторегулирующих веществ на органогенез и адаптацию к нестерильным условиям брусники и красники при клональном микроразмножении.

Объектами исследования являлись растения-регенеранты брусники (*Vaccinium vitis-idaea* L.) сортов Kogalle, Костромичка и Костромская розовая и красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) Сахалинской и Курильской форм. Проведен химический анализ состава плодов. Изучалось влияние стерилизующих агентов и времени стерилизации на жизнеспособность эксплантов, состава питательной среды и концентрации росторегулирующих веществ на образование микропобегов и корней, состава субстрата на приживаемость растений к нестерильным условиям.

Наибольшая приживаемость эксплантов брусники (72 %) и красники (96 %) отмечена при использовании AgNO<sub>3</sub> 0,2 % при времени стерилизации 10 мин. Максимальные значения суммарной длины побегов *in vitro* отмечены при концентрации 2-иР 2,0 мг/л: для брусники – на среде AN (7,2 см), для красники – на среде WPM 1/2 (10,5 см). Наибольшие значения суммарной длины корней *in vitro* выявлены для брусники при использовании индолилуксусной кислоты в концентрации 2,0 мг/л (5,8 см), для красники – при использовании индолилмасляной кислоты в концентрации 1,0 мг/л (1,9 см). Максимальная приживаемость брусники *ex vitro* отмечена на субстрате из верхового торфа (89–92 %), красники – на смеси торфа с песком 1:1 (91–95 %).

Использование клонального микроразмножения с применением регуляторов роста (2-иР, индолилмасляная и индолилмасляная кислоты) и торфяных субстратов целесообразно при выращивании *in vitro* и адаптации *ex vitro* брусники и красники. Оно позволяет получить большое количество высококачественного посадочного материала с высокой приживаемостью растений.

**Ключевые слова.** Микроклональное размножение, *in vitro*, брусника, красника, биохимический состав, стерилизация, органогенез, ризогенез, адаптация, субстрат

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках Государственного задания «Проведение прикладных научных исследований» Федерального агентства лесного хозяйства Российской Федерации (Приказ Рослесхоза от 25.12.2018 №1061).

**Для цитирования:** Микроклональное размножение и особенности адаптации к условиям *ex vitro* лесных ягодных растений рода *Vaccinium* / А. И. Чудецкий [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 570–581. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2386>

## Clonal Micropropagation and Peculiarities of Adaptation to *ex vitro* Conditions of Forest Berry Plants of the Genus *Vaccinium*



Anton I. Chudetsky<sup>1,\*</sup>, Sergey A. Rodin<sup>1</sup>, Lilia V. Zarubina<sup>2</sup>,  
Irina B. Kuznetsova<sup>3</sup>, Galina V. Tyak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> All-Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry<sup>ROR</sup>, Pushkino, Russia

<sup>2</sup> N.V. Vereshchagin Vologda State Dairy Farming Academy<sup>ROR</sup>, Vologda, Russia

<sup>3</sup> Kostroma State Agricultural Academy<sup>ROR</sup>, Karavaevo, Russia

Received: 14.01.2022

Revised: 09.02.2022

Accepted: 09.03.2022

\*Anton I. Chudetsky: [a.chudetsky@mail.ru](mailto:a.chudetsky@mail.ru),

<https://orcid.org/0000-0003-4804-7759>

Sergey A. Rodin: <https://orcid.org/0000-0002-8947-9809>

Lilia V. Zarubina: <https://orcid.org/0000-0003-3834-0521>

Irina B. Kuznetsova: <https://orcid.org/0000-0001-5011-3271>

Galina V. Tyak: <https://orcid.org/0000-0002-1081-4054>

© A.I. Chudetsky, S.A. Rodin, L.V. Zarubina, I.B.

Kuznetsova, G.V. Tyak, 2022



### Abstract.

Modern cost-effective propagation methods yield a large amount of high-quality healthy planting material of economically valuable forest berry plants. However, *ex vitro* adaptation of *Vaccinium* species and *in vitro* cultivation of the Kamchatka bilberry remain understudied. The research objective was to study the effect of growth-regulating substances on the organogenesis and adaptation to non-sterile conditions of the lingonberry and the Kamchatka bilberry during clonal micropropagation.

The study featured regenerant lingonberries (*Vaccinium vitis-idaea* L.) of Koralle, Kostromichka, and Kostromskaya Rozovaya cultivars, as well as the Sakhalin and Kuril varieties of the Kamchatka bilberry (*Vaccinium praestans* Lamb.). A chemical analysis was performed to reveal the following dependencies: the effect of sterilizing agents and sterilization time on the viability of explants, the effect of the nutrient medium and the growth-regulating substances on microshoots and roots, and the effect of the substrate on the survival of plants in non-sterile conditions.

The highest survival rate of lingonberry (72%) and bilberry (96%) explants belonged to 0.2% of AgNO<sub>3</sub> with 10 min of sterilization time. The maximal values of the total shoot length *in vitro* were observed at 0.2 mg/L of 2-iP: AN nutrient medium (7.2 cm) for lingonberries and WPM 1/2 nutrient medium (10.5 cm) for bilberries. The longest total root length *in vitro* for lingonberries was registered when using 2.0 mg/L (5.8 cm) of indoleacetic acid, while for bilberries it was 1.0 mg/L (1.9 cm) of indolylbutyric acid. The maximal survival rate *ex vitro* belonged to the high-moor peat substrate (89–92%) for lingonberries and a 1:1 mix of peat with sand (91–95%) for bilberries.

Clonal micropropagation with growth regulators (2-iP, indolylbutyric and indoleacetic acids) and peat substrates proved expedient for *in vitro* cultivation and *ex vitro* adaptation of the lingonberry and the Kamchatka bilberry. This scheme delivered a large amount of high-quality planting material with high plant survival.

**Keywords.** Clonal micropropagation, *in vitro*, lingonberry, Kamchatka bilberry, biochemical composition, sterilization, organogenesis, rhizogenesis, adaptation, substrate

**Funding.** The research was part of the State Task of Applied Scientific Research for the Federal Forestry Agency of the Russian Federation (Order of the Federal Forestry Agency dated December 25, 2018, No. 1061).

**For citation:** Chudetsky AI, Rodin SA, Zarubina LV, Kuznetsova IB, Tyak GV. Clonal Micropropagation and Peculiarities of Adaptation to *ex vitro* Conditions of Forest Berry Plants of the Genus *Vaccinium*. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):570–581. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2386>

### Введение

В таежной зоне европейской части России в естественных условиях наиболее распространены

запасы таких представителей рода *Vaccinium*, как брусника обыкновенная, черника обыкновенная и голубика топяная. Их плоды и листья обладают

высокой лекарственной и пищевой ценностью. Однако из-за усиления антропогенного влияния на природную среду и экосистемы ресурсы этих и других более редких видов с каждым годом сокращаются. Среди исследователей, предпринимателей и садоводов возрастает спрос на выращивание сортового посадочного материала ягодных растений, включая виды-интродуценты [1, 2]. Посадки некоторых видов могут использоваться для биологической рекультивации нарушенных земель, в частности выработанных торфяников, гарей, вырубков, неиспользуемых сельскохозяйственных угодий и др., а создание сортов и гибридов обеспечит большую урожайность, крупноплодность и устойчивость к неблагоприятным факторам среды по сравнению с естественными зарослями [3].

Брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.) – вечнозеленый карликовый, корневищный, циркумбореальный древесный кустарник рода *Vaccinium*, произрастающий в хвойных и хвойно-мелколиственных лесах северных стран, Центральной Европы, России и Канады и встречающийся на вересковых пустошах, каменистых местах и сухих торфяных почвах. Плод – многосемянная сочная ягода чаще красного цвета и округлой формы с остатками чашечки на верхушке. Могут иметь окраску с другими оттенками, а также округло-сплюснутую, овальную, яйцевидную конусовидную и другие формы. Ягоды имеют горьковато-кислый, кислый, сладковато-кислый и иной вкус.

Красника (*Vaccinium praestans* Lamb.) или клоповка сахалинская – теневыносливый вегетативно-подвижный листопадный корневищный кустарник, произрастающий на Камчатке, Сахалине, Курильских островах, в Приморье и Хабаровском крае, а также на некоторых островах Японии. Встречается в тенистых местах тайги во влажных хвойных и смешанных лесах, в долинах и на горных склонах, таежных прогалинах и вырубках, моховых болотах, расположенных вдоль морского побережья, старых лесных дорогах, просеках, тропинках и облесенных окраинах болот. Плод – многосемянная шаровидная глянцевая ягода ярко-красного цвета с резким запахом [4–6].

Плоды брусники и красники имеют высокую лекарственную ценность и являются основным пищевым источником антоцианов и сложносоставных фенолов. Брусника богата такими антиоксидантами, как полифенолы и витамины А, С и Е. В ягодах брусники содержатся арбутин, урсоловая кислота и большое количество других биологически активных веществ. Ягоды красники содержат 16 аминокислот, клетчатку, сахара, флавоноиды, витамин С, соединения Р-витаминного комплекса и органические кислоты. Вещества в плодах этих растений обладают антибактериальным, антиоксидантным, противовоспалительным и противоопухолевым действиями и другими лечебными

свойствами. В медицине брусники и красники могут применяться при лечении множества заболеваний: атеросклероза, нейродегенеративных расстройств, авитаминоза, гипертонии, почечнокаменной болезни, ревматизма, бронхиальной астмы, простудных заболеваний, стоматита, кожных болезней, диабета, заболеваний желудка, печени, мочеполовой системы и др. Ягоды брусники и красники обладают уникальными вкусовыми свойствами и ценностью в пищевом отношении: употребляются в сыром виде и служат сырьем при изготовлении соков, сиропов, компотов, варенья, джемов и кондитерских изделий [4, 6–23].

Брусника и красника морозо- и засухоустойчивы. Оба вида могут размножаться как вегетативным, так и семенным способами. Исследования показывают, что для брусники наиболее эффективно размножение одревесневшими черенками и парциальными кустами, а также семенным способом. Для красники при ее интродукции в условиях европейской части России наиболее приемлемыми являются способы размножения одревесневшими и корневищными черенками, а также отрезками корневища [5, 6, 24]. Однако для выращивания лесных ягодных растений в промышленных масштабах (в том числе для создания плантаций при рекультивации нарушенных земель) целесообразно использовать метод микроклонального размножения. Он может быстро и в краткие сроки обеспечить потребности хозяйства большим количеством высококачественного оздоровленного посадочного материала. Клональным микроразмножением брусники обыкновенной занимались ученые из разных стран мира, но на данный момент мало исследований по адаптации данного вида к нестерильным условиям [25–29]. Что касается выращивания красники *in vitro*, то известны лишь попытки ее введения в культуру некоторыми учеными в Польше и России, но информации о каких-либо результатах на сегодняшний день не имеется. В связи с этим необходимо продолжить проведение исследований по усовершенствованию технологий выращивания данных видов в культуре *in vitro*, в частности по адаптации к нестерильным условиям.

Укоренение микропобегов и адаптация размножаемых *in vitro* микрорастений к нестерильным условиям являются критическими этапами микроклонального размножения, определяющими выход растений. Приживаемость микрорастений *in vivo* зависит от биологических особенностей размножаемой культуры, сорта или формы, биотических и абиотических факторов. Высокий процент погибших растений на данных этапах обусловлен переходом от гетеротрофного на автотрофное питание, слабым развитием корневой системы и отсутствием воскового налета на листьях. Для улучшения приживаемости микрорастений необходимо создание оптимальных условий путем подбора физических

и химических факторов. Применение современных росторегулирующих веществ и биопрепаратов на этапах укоренения и адаптации к нестерильным условиям может оказывать положительное воздействие на адаптационную способность микрорастений [30, 31].

Цель исследования – изучение влияния регуляторов роста и биопрепаратов на процесс ризогенеза и адаптации к нестерильным условиям брусники обыкновенной и красники при клональном микро-размножении.

### Объекты и методы исследования

Исследования по выращиванию лесных ягодных растений рода *Vaccinium* L. *in vitro* проводили в период 2018–2021 гг. на базе лабораторий биотехнологии филиала ФБУ ВНИИЛМ «Центрально-европейская лесная опытная станция» и ФГБОУ ВО Костромская ГСХА по общепринятым методикам [32]. В качестве объектов исследования использовали растения брусники обыкновенной (сорт Koralle немецкой селекции, сорта Костромичка и Костромская розовая селекции Центрально-европейской лесной опытной станции) и красники (формы Курильская и Сахалинская, отобранные на Курильских островах (о. Итуруп) и юге острова Сахалин близ города Корсакова). Предварительно проводили определение биохимического состава ягод используемых растений брусники и красники в соответствии с общепринятыми методиками [33].

В качестве основных стерилизующих агентов на этапе введения в культуру *in vitro* использовали растворы моющего средства Доместос (в разведении водой 1:3), нитрата серебра (0,2 %), сулемы (0,2 %), препаратов Лизоформин 3000 (5 %) и Экостерилизатор бесхлорный (5 %) при времени стерилизации 5, 10, 15 и 20 мин. Культивирование растений проводили в световой комнате при поддержании температуры +23–25 °С, влажности воздуха 75–80 % и фотопериоде 16 ч света и 8 ч темноты. При размножении брусники использовали питательную среду AN (Андерсона), при размножении красники – WPM (Woody Plant Medium), в том числе в модификациях разбавления минеральных солей в 2 и 4 раза. На этапе собственно микро-размножения в качестве регулятора роста цитокининовой группы использовали 2-изопенталаденин (2-iP) в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л. Проводили учет количества, средней и суммарной длины микропобегов в расчете на одно растение. На этапе укоренения микропобегов *in vitro* использовали питательные среды AN и WPM. В качестве ростостимулирующих веществ ауксиновой группы применяли индолилуксусную и индолилмасляную кислоты в концентрациях 1,0 и 2,0 мл/л. Опыты проводили в 10-кратной биологической повторности по 15 пробирочных растений в каждой. Применяли

дисперсионный двухфакторный анализ, где на этапе собственно микро-размножения: фактор А – состав питательной среды, фактор В – концентрация цитокинина; на этапе укоренения микропобегов *in vitro*: фактор А – концентрация ауксина, фактор В – сорт или форма. Достоверность различий между средними данными вариантов опыта оценивали с помощью наименьшей существенной разности для 5 %-го уровня значимости ( $HCP_{05}$ ).

На этапе адаптации микрорастений к нестерильным условиям в качестве субстратов применяли торф верхового типа, в том числе в смеси с песком (в соотношении 1:1), перлитом (1:4) и вермикулитом (1:4). Через 30 дней после пересадки для каждого сорта и формы учитывали приживаемость растений как процент количества выживших от количества высаженных. Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Microsoft Office Excel 2016 и AGROS v.2.11.

### Результаты и их обсуждение

По результатам проведенного биохимического анализа ягоды брусники обыкновенной российской и зарубежной селекции и красники характеризуются высоким содержанием витамина С и сахаров. Также плоды брусники обыкновенной российской и зарубежной селекции характеризуются высоким содержанием сухого вещества. Причем значительных различий по химическому составу плодов, в зависимости от сорта или формы, не отмечено (табл. 1).

Анализируя данные по биохимическому составу плодов брусники обыкновенной по микро- и макроэлементам, можно отметить, что во всех исследуемых сортах содержится большое количество кальция и калия. Из макроэлементов в плодах брусники отмечено преобладание железа, но не отмечено наличие йода и бора. Содержание других микро- и макроэлементов в ягодах брусники российской селекции выше по сравнению с зарубежной. Из макроэлементов в плодах красники преобладает калий, кальций, затем магний и фосфор. Существенных отличий по содержанию макроэлементов в плодах красники из разных местообитаний не отмечено. Анализ содержания макроэлементов в плодах красники показывает, что в них преобладает железо, марганец и бор (табл. 2).

В результате проведенных исследований по микроклональному размножению на этапе введения в культуру *in vitro* отмечено, что наиболее эффективными для эксплантов брусники обыкновенной оказались основные стерилизаторы  $AgNO_3$  0,2 % и Лизоформин 3000 5 % при времени стерилизации 10 мин: жизнеспособность эксплантов составила 70–72 % (табл. 3). При времени стерилизации 20 мин жизнеспособность эксплантов после обработки стерилизующими агентами не превышала

Таблица 1. Общий химический состав плодов исследуемых растений брусники обыкновенной и красники

Table 1. Chemical composition of lingonberries and bilberries

Сорт/форма	Показатели			
	Сахара, %	Общая кислотность, %	Сухое вещество, %	Витамин С, мг/%
Брусника обыкновенная				
Koralle	10,2	1,5	9,8	18,0
Костромичка	9,2	1,8	10,6	14,0
Костромская розовая	11,0	1,6	10,4	17,0
Красника				
Сахалинская	17,0	5,3	10,2	46,5
Курильская	14,3	5,4	9,6	57,2

Таблица 2. Биохимический состав плодов исследуемых растений брусники обыкновенной и красники

Table 2. Biochemical composition of lingonberries and bilberries

Элементы в ягодах	Содержание элементов, мг/100 г				
	Брусника обыкновенная			Красника	
	Koralle	Костромичка	Костромская розовая	Сахалинская	Курильская
Макроэлемент					
Ca	179,80	201,30	189,30	0,31	0,36
K	701,30	584,60	650,30	0,89	0,98
P	78,40	97,20	89,60	0,15	0,19
Mg	34,20	37,10	36,50	0,19	0,18
Микроэлемент					
I	–	–	–	0,10	0,11
B	–	–	–	9,26	9,19
Fe	83,20	90,60	110,30	236,40	234,20
Mn	80,20	85,10	83,00	85,40	88,30
Cu	5,30	6,20	8,00	3,82	4,00

20–34 %. При времени стерилизации 5 мин количество жизнеспособных эксплантов варьировалось в пределах 24–46 %, остальные экспланты погибли.

На этапе введения красники в культуру *in vitro* наиболее эффективными стерилизующими агентами оказались нитрат серебра 0,2 % при времени стерилизации 10 мин и Экостерилизатор бесхлорный 5 % при времени стерилизации 20 мин, где жизнеспособность эксплантов составила 96 и 92 % соответственно (табл. 3). При использовании сулемы в течение 15 мин наблюдалась высокая жизнеспособность эксплантов красники (84 %), но увеличение времени стерилизации до 20 мин способствовало ее резкому снижению (до 14 %). Это связано с фитотоксичностью хлорида ртути. Процент жизнеспособных эксплантов при обработке стерилизующими агентами при времени стерилизации 5 мин был низким и не превышал 26 %, остальные экспланты погибли от инфекции.

На этапе собственно микроразмножение на питательной среде AN выявлено большее количество побегов растений-регенерантов брусники обыкновенной: у сорта Koralle – 2,8 шт., у сорта Костромичка – 3,2 шт., у сорта Костромская розовая –

3,0 шт. При повышении концентрации цитокинина 2-іР от 1,0 до 2,0 мг/л количество побегов у растений-регенерантов брусники обыкновенной увеличивалось в среднем в 1,5 раза (табл. 4).

Средняя длина побегов брусники обыкновенной не имела статистически значимых различий, в зависимости от состава питательной среды, и варьировалась у сорта Koralle от 1,1 до 1,8 см, у сорта Костромичка от 1,4 до 2,1 см, у сорта Костромская розовая от 1,3 до 2,1 см (табл. 5). Концентрация цитокинина 2-іР не оказала влияния на среднюю длину побегов брусники обыкновенной и составила при концентрации цитокинина 2-іР 2,0 мг/л в среднем 1,3–1,6 см, при 1,0 мг/л – 1,6–1,9 см.

Суммарная длина побегов брусники обыкновенной была больше (в 1,4–2,6 раза) в вариантах с питательной средой AN, чем в других вариантах, и варьировалась в среднем от 4,9 до 6,4 см (табл. 6). Суммарная длина побегов брусники при повышении в питательной среде концентрации цитокинина 2-іР от 1,0 до 2,0 мг/л увеличивалась незначительно (в среднем в 1,2 раза). Максимальные значения суммарной длины побегов брусники обыкновенной наблюдались на питательной среде AN при концентрации цитокинина

Таблица 3. Жизнеспособность эксплантов брусники обыкновенной и красники (%) в зависимости от стерилизующих агентов и времени стерилизации

Table 3. Viability of lingonberry and bilberry explants (%) depending on sterilizing agent and sterilization time

Стерилизующий агент	Время стерилизации, мин			
	5	10	15	20
Брусника обыкновенная				
Сулема 0,2 %	34	60	48	32
Доместос 1:3	24	48	38	22
AgNO <sub>3</sub> 0,2 %	30	72	42	34
Экостерилизатор бесхлорный 5 %	46	56	34	22
Лизоформин 3000, 5 %	46	70	38	28
Красника				
Сулема 0,2 %	26	32	84	14
Доместос 1:3	2	12	8	2
AgNO <sub>3</sub> 0,2 %	6	96	36	5
Экостерилизатор бесхлорный 5 %	2	62	50	92
Лизоформин 3000, 5 %	18	50	64	80

Таблица 4. Количество побегов брусники обыкновенной на одно растение (шт.) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-іР

Table 4. Number of lingonberry shoots *in vitro* per plant depending on nutrient medium and cytokinin 2-іP concentration

Питательная среда	Концентрация 2-іР, мг/л		
	1,0	2,0	Среднее
Koralle			
AN 1/4	1,5	1,9	1,7
AN 1/2	1,8	2,8	2,3
AN	2,2	3,4	2,8
Среднее	1,8	2,7	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,89, фактор В = 0,78, общ. = 1,16			
Костромичка			
AN 1/4	1,8	2,3	2,1
AN 1/2	2,1	3,1	2,6
AN	2,5	3,9	3,2
Среднее	2,1	3,1	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,93, фактор В = 0,89, общ. = 1,18			
Костромская розовая			
AN 1/4	1,7	2,1	1,9
AN 1/2	2,0	2,9	2,5
AN	2,3	3,6	3,0
Среднее	2,0	2,9	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,97, фактор В = 0,94, общ. = 1,19			

Таблица 5. Средняя длина побегов брусники обыкновенной на одно растение (см) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-іР

Table 5. Average length of lingonberry shoots *in vitro* per plant (cm) depending on nutrient medium and cytokinin 2-іP concentration

Питательная среда	Концентрация 2-іР, мг/л		
	1,0	2,0	Среднее
Koralle			
AN 1/4	1,2	1,0	1,1
AN 1/2	1,5	1,3	1,4
AN	2,0	1,6	1,8
Среднее	1,6	1,3	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,92, фактор В = 0,79, общ. = 1,03			
Костромичка			
AN 1/4	1,5	1,3	1,4
AN 1/2	2,0	1,5	1,8
AN	2,3	1,8	2,1
Среднее	1,9	1,5	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,95, фактор В = 0,81, общ. = 1,05			
Костромская розовая			
AN 1/4	1,4	1,2	1,3
AN 1/2	1,9	1,6	1,8
AN	2,2	2,0	2,1
Среднее	1,8	1,6	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,97, фактор В = 0,76, общ. = 1,09			

2-іР 2,0 мг/л: у сорта Костромская розовая – 7,2 см, у сорта Костромичка – 7,0 см, у сорта Koralle – 5,4 см.

У растений-регенерантов красники на этапе собственно микроразмножение выявлено большее количество побегов при использовании питательной среды WPM 1/2: в среднем 3,5 шт. На среде WPM 1/4 оно составило 2,6 шт., на сред WPM – 2,0 шт.

Повышение концентрации цитокинина 2-іР от 1,0 до 2,0 мг/л способствовало увеличению количества побегов у растений-регенерантов в среднем в 1,4 раза (табл. 7).

Средняя длина побегов красники, в зависимости от состава питательной среды, не имела статистически значимых различий и варьировалась от 1,6 до 2,6 см.

Таблица 6. Суммарная длина побегов брусники обыкновенной на одно растение (см) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-іР

Table 6. Total length of lingonberry shoots *in vitro* per plant (cm) depending on nutrient medium and cytokinin 2-іP concentration

Питательная среда	Концентрация 2-іР, мг/л		
	1,0	2,0	Среднее
Koralle			
AN 1/4	1,8	1,9	1,9
AN 1/2	2,7	3,6	3,2
AN	4,4	5,4	4,9
Среднее	3,0	3,6	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 1,58, фактор В = 1,47, общ. = 1,86			
Костромичка			
AN 1/4	2,7	3,0	2,9
AN 1/2	4,2	4,7	4,5
AN	5,8	7,0	6,4
Среднее	4,2	4,9	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 1,65, фактор В = 1,49, общ. = 1,88			
Костромская розовая			
AN 1/4	3,1	2,5	2,8
AN 1/2	4,2	4,7	4,4
AN	5,1	7,2	6,2
Среднее	4,1	4,8	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 1,69, фактор В = 1,52, общ. = 1,95			

Таблица 9. Суммарная длина побегов красники на одно растение (см) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-іР

Table 9. Total length of bilberry shoots *in vitro* per plant (cm) depending on nutrient medium and cytokinin 2-іP concentration

Питательная среда	Концентрация 2-іР, мг/л		
	1,0	2,0	Среднее
WPM 1/4	3,2	4,8	4,0
WPM 1/2	7,2	10,5	8,9
WPM	2,7	4,8	3,8
Среднее	4,4	6,7	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 1,94, фактор В = 1,89, общ. = 2,17			

Концентрация цитокинина 2-іР не оказала влияния на среднюю длину побегов красники, которая составляла при концентрации 2-іР 2,0 мг/л в среднем 2,1 см, при 1,0 мг/л – 1,9 см (табл. 8).

Суммарная длина побегов красники в вариантах с использованием питательной среды WPM 1/2 составила в среднем 8,9 см и была больше (в 2,2–2,3 раза), чем в других вариантах. Увеличение суммарной длины побегов красники в среднем в 1,5 раза наблюдалось при повышении в питательной среде концентрации цитокинина 2-іР от 1,0 до 2,0 мг/л. Максимальное значение (10,5 см) суммарная длина побегов красники имела на питательной

Таблица 7. Количество побегов красники на одно растение (шт.) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-іР

Table 7. Number of bilberry shoots *in vitro* per plant (pieces) depending on nutrient medium and cytokinin 2-іP concentration

Питательная среда	Концентрация 2-іР, мг/л		
	1,0	2,0	Среднее
WPM 1/4	2,1	3,0	2,6
WPM 1/2	3,0	3,9	3,5
WPM	1,5	2,4	2,0
Среднее	2,2	3,1	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,82, фактор В = 0,78, общ. = 0,95			

Таблица 8. Средняя длина побегов красники на одно растение (см) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-іР

Table 8. Average length of bilberry shoots *in vitro* per plant (cm) depending on nutrient medium and cytokinin 2-іP concentration

Питательная среда	Концентрация 2-іР, мг/л		
	1,0	2,0	Среднее
WPM 1/4	1,5	1,6	1,6
WPM 1/2	2,4	2,7	2,6
WPM	1,8	2,0	1,9
Среднее	1,9	2,1	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 1,05, фактор В = 0,93, общ. = 1,59			

среде WPM 1/2 с добавлением цитокинина 2-іР в концентрации 2,0 мг/л (табл. 9).

На этапе укоренения микропобегов *in vitro* установлено, что количество корней брусники обыкновенной в расчете на одно растение в вариантах с индолилмасляной кислотой в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л и индолилуксусной кислотой в концентрации 1,0 мг/л составляло в среднем 1,2–1,3 шт. В варианте с индолилуксусной кислотой в концентрации 2,0 мг/л оно было в 1,7–1,8 раза больше (2,2 шт.). Существенных различий по количеству корней, в зависимости от сорта брусники обыкновенной, не выявлено: в среднем количество корней у сорта Koralle составляло 1,6 шт., у сорта Костромичка – 1,5 шт., у сорта Костромская розовая – 1,3 шт. (табл. 10).

Средняя длина корней брусники обыкновенной увеличивалась с повышением концентрации ауксина. Максимальный показатель (в среднем 2,6 см) отмечен в варианте с индолилуксусной кислотой при концентрации 2,0 мг/л, 1,0 мг/л – в 2 раза меньше (1,3 см). При концентрации индолилмасляной кислоты 2,0 мг/л средняя длина корней составляла 1,6 см, при 1,0 мг/л – 1,0 см. Статистически значимых различий по средней длине, в зависимости от сорта, не наблюдалось (табл. 11).

Таблица 10. Количество корней брусники обыкновенной на одно растение (шт.) в зависимости от концентрации ауксинов и сорта

Table 10. Number of lingonberry roots per plant depending on auxin concentration and variety

Препарат	Концентрация, мг/л	Сорт			Среднее
		Koralle	Костромичка	Костромская розовая	
Индолилуксусная кислота	1,0	1,4	1,2	1,0	1,2
	2,0	2,4	2,3	2,0	2,2
Индолилмасляная кислота	1,0	1,3	1,2	1,3	1,3
	2,0	1,5	1,3	1,1	1,3
Среднее		1,6	1,5	1,3	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,54, фактор В = 0,41, общ. = 0,73					

Таблица 11. Средняя длина корней брусники обыкновенной на одно растение (см) в зависимости от концентрации ауксинов и сорта

Table 11. Average lingonberry root length per plant (cm) depending on auxin concentration and variety

Препарат	Концентрация, мг/л	Сорт			Среднее
		Koralle	Костромичка	Костромская розовая	
Индолилуксусная кислота	1,0	1,2	1,3	1,4	1,3
	2,0	2,4	2,5	2,8	2,6
Индолилмасляная кислота	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0
	2,0	1,5	1,7	1,5	1,6
Среднее		1,5	1,6	1,7	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,61, фактор В = 0,44, общ. = 0,91					

Таблица 12. Суммарная длина корней (см) брусники обыкновенной на одно растение в зависимости от концентрации ауксинов и сорта

Table 12. Total length of lingonberry roots (cm) per plant depending on auxin concentration and variety

Препарат	Концентрация, мг/л	Сорт			Среднее
		Koralle	Костромичка	Костромская розовая	
Индолилуксусная кислота	1,0	1,7	1,6	1,4	1,6
	2,0	5,8	5,8	5,7	5,8
Индолилмасляная кислота	1,0	1,3	1,4	1,3	1,3
	2,0	2,4	2,3	1,7	2,1
Среднее		2,8	2,8	2,5	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 1,01, фактор В = 0,95, общ. = 1,03					

Суммарная длина корней брусники обыкновенной в варианте с индолилуксусной кислотой в концентрации 2,0 мг/л достигала в среднем 5,8 см, что в 2,8–4,5 раза больше, чем в других вариантах. Значимых сортовых различий по суммарной длине корней брусники не установлено: у сорта Костромская розовая – 2,5 см, у сортов Костромичка и Koralle – 2,8 см (табл. 12).

При клональном микроразмножении красники установлено, что с повышением концентрации в питательной среде ауксинов от 1,0 до 2,0 мг/л увеличивалось количество корней в расчете на одно растение: в вариантах с индолилмасляной кислотой –

в среднем в 1,2 раза, с индолилуксусной кислотой – в 1,3 раза. Значимых различий по количеству корней, в зависимости от формы красники, не выявлено (табл. 13).

Средняя длина корней красники уменьшалась при увеличении концентрации в питательной среде ауксинов от 1,0 до 2,0 мг/л при использовании как индолилмасляной кислоты, так и индолилуксусной в среднем в 1,3 раза. В зависимости от формы средняя длина корней красники практически не различалась (табл. 14).

Суммарная длина корней красники была наибольшей в варианте с индолилмасляной кислотой

Таблица 13. Количество корней красники на одно растение (шт.) в зависимости от концентрации ауксинов и формы

Table 13. Number of bilberry roots per plant depending on auxin concentration and variety

Препарат	Концентрация, мг/л	Форма		Среднее
		Сахалинская	Курильская	
Индолилуксусная кислота	1,0	1,3	1,2	1,2
	2,0	1,7	1,6	1,6
Индолилмасляная кислота	1,0	1,6	1,5	1,5
	2,0	1,8	1,9	1,8
Среднее		1,6	1,5	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,32, фактор В = 0,30, общ. = 0,76				

Таблица 14. Средняя длина корней красники на одно растение (см) в зависимости от концентрации ауксинов и формы

Table 14. Average length of bilberry roots per plant (cm) depending on auxin concentration and variety

Препарат	Концентрация, мг/л	Форма		Среднее
		Сахалинская	Курильская	
Индолилуксусная кислота	1,0	1,0	1,3	1,0
	2,0	0,9	0,7	0,8
Индолилмасляная кислота	1,0	1,3	1,1	1,2
	2,0	1,0	0,8	0,9
Среднее		1,1	1,0	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,24, фактор В = 0,21, общ. = 0,60				

Таблица 15. Суммарная длина корней красники на одно растение (см) в зависимости от концентрации ауксинов и формы

Table 15. Total length of bilberry roots per plant (cm) depending on auxin concentration and variety

Препарат	Концентрация, мг/л	Форма		Среднее
		Сахалинская	Курильская	
Индолилуксусная кислота	1,0	1,3	1,6	1,5
	2,0	1,5	1,1	1,3
Индолилмасляная кислота	1,0	2,1	1,7	1,9
	2,0	1,8	1,5	1,6
Среднее		1,7	1,5	–
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,36, фактор В = 0,33, общ. = 0,02				

с концентрацией 1,0 мг/л и составляла в среднем 1,9 см. В варианте с индолилуксусной кислотой в той же концентрации данный показатель составлял 1,5 см. При концентрации ауксинов 2,0 мг/л соответствующие значения суммарной длины были в среднем в 1,2 раза меньше, чем при 1,0 мг/л (табл. 15). В зависимости от формы красники суммарная длина корней в расчете на одно растение не имела существенных различий.

На этапе адаптации к нестерильным условиям исследуемых лесных ягодных растений, выращенных в культуре *in vitro*, наилучшая приживаемость брусники обыкновенной всех сортов наблюдалась на субстрате из верхового торфа (89–92 %). Красника лучше всего приживалась при использовании смеси торфа с песком в соотношении 1:1 (91–95 %) (табл. 16).

## Выводы

В результате проведенных экспериментальных исследований по клональному размножению лесных ягодных растений рода *Vaccinium* установлено, что на этапе введения в культуру *in vitro* наиболее эффективными для эксплантов брусники обыкновенной оказались стерилизаторы  $\text{AgNO}_3$  0,2 % и Лизоформин 3000 5 % при экспозиции 10 мин, для красники –  $\text{AgNO}_3$  0,2 % при времени стерилизации 10 мин и Экостерилизатор бесхлорный 5 % при времени стерилизации 20 мин.

На этапе собственно микроразмножения суммарная длина побегов брусники обыкновенной была больше в вариантах с питательной средой AN. Максимального значения суммарная длина побегов брусники обыкновенной достигала на питательной среде AN при концентрации цитокинина 2-*iP*

Таблица 16. Приживаемость брусники обыкновенной и красники на этапе адаптации к нестерильным условиям

Table 16. Survival rate of lingonberry and bilberry during adaptation to non-sterile conditions

Сорт/форма	Субстрат	Приживаемость, %
Брусника обыкновенная		
Koralle	Торф верховой	89
	Торф + песок 1:1	65
	Торф + перлит 1:4	70
	Торф + вермикулит 1:4	78
Костромичка	Торф верховой	92
	Торф + песок 1:1	80
	Торф + перлит 1:4	83
	Торф + вермикулит 1:4	79
Костромская розовая	Торф верховой	90
	Торф + песок 1:1	67
	Торф + перлит 1:4	88
	Торф + вермикулит 1:4	82
Красника		
Сахалинская	Торф верховой	88
	Торф + песок 1:1	91
	Торф + перлит 1:4	74
	Торф + вермикулит 1:4	69
Курильская	Торф верховой	90
	Торф + песок 1:1	95
	Торф + перлит 1:4	78
	Торф + вермикулит 1:4	68

0,2 мг/л. Количество и суммарная длина побегов красники были больше в вариантах с питательной средой WPM 1/2. Максимальное значение суммарной длины побегов красники было достигнуто при использовании питательной среды WPM 1/2 и концентрации цитокинина 2-iP 0,2 мг/л. Увеличению количества и суммарной длины побегов брусники обыкновенной и красники способствовало повышение в питательных средах концентрации цитокинина 2-iP от 1,0 до 2,0 мг/л.

При равных концентрациях в питательной среде WPM ауксин индолилуксусная кислота стимулировал корнеобразование брусники обыкновенной *in vitro* более эффективно, чем индолилмасляная. Наибольшее количество, средняя и суммарная длина корней наблюдались при использовании в питательной среде WPM индолилуксусной кислоты в концентрации 2,0 мг/л. С повышением концентрации индолилуксусной и индолилмасляной кислот от 1,0 до 2,0 мг/л увеличивалось количество корней красники в расчете на одно растение и уменьшалась их длина. Наибольшая суммарная длина корней красники отмечена в варианте с индолилмасляной кислотой в концентрации 1,0 мг/л. При клональном микроразмножении брусники обыкновенной и красники существенных различий по биометрическим

показателям на этапе укоренения микропобегов, в зависимости от сорта или формы, не выявлено.

На этапе адаптации к нестерильным условиям максимальная приживаемость растений брусники обыкновенной отмечена при использовании субстрата из верхового торфа, для красники – при использовании торфа с песком в соотношении 1:1.

#### Критерии авторства

А. И. Чудецкий проводил закладку лабораторного опыта на всех этапах микроклонального размножения, анализ литературных источников по вопросу использования биотехнологических способов размножения лесных ягодных растений и статистическую обработку данных. С. А. Родин руководил проектом, проводил анализ литературных источников по вопросу востребованности в сортовом посадочном материале лесных ягодных растений. Л. В. Зарубина и Г. В. Тяк проводили анализ литературных источников по вопросу актуальности использования и хозяйственной ценности лесных ягодных растений рода *Vaccinium*. И. Б. Кузнецова проводила закладку лабораторного опыта на всех этапах микроклонального размножения и статистическую обработку данных.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Благодарности

Выражаем благодарность канд. с.-х. наук С. С. Макарову, канд. биол. наук Г. Ю. Макеевой, канд. с.-х. наук И. А. Корневу и А. В. Тяку.

#### Contribution

A.I. Chudetsky was responsible for the laboratory experiment at all stages of micropropagation, the analysis of publications on the use of biotechnological methods of forest berry reproduction, and the statistical processing of the obtained data. S.A. Rodin supervised the project, reviewed scientific publications on the demand for forest berry planting material. L.V. Zarubina and G.V. Tyak reviewed literary data on the relevance and economic value of *Vaccinium* berries. I.B. Kuznetsova participated in the laboratory experiment at all stages of micropropagation and processed the obtained statistical data.

#### Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

#### Acknowledgments

We express our gratitude to Cand.Sci.(Agri.) Sergey S. Makarov, Cand.Sci.(Biol.) Galina Yu. Makeeva, Cand. Sci.(Agri.) Igor A. Korenev and Anatoly V. Tyak.

## References/Список литературы

1. Makarov SS, Bagayev ES, Tsaregradskaya SYu, Kuznetsova IB. Problems of use and reproduction of phytogetic food and medicinal forest resources on the forest fund lands of the Kostroma region. Russian Forestry Journal. 2019;372(6):118–131. (In Russ.). <https://doi.org/10.17238/issn0536-1036.2019.6.118>
2. Ilin VS. Rosehip, cranberries and other rare garden culture. Chelyabinsk: YUUNIISK; 2017. 318 p. (In Russ.). [Ильин В. С. Шиповник, клюква и другие редкие культуры сада. Челябинск: ЮУНИИСК, 2017. 318 с.]
3. Tyak GV, Kurlovich LE, Tyak AV. Biological recultivation of degraded peatlands by creating forest berry plants. Vestnik of the Kazan State Agrarian University. 2016;11(2):43–46. (In Russ.). <https://doi.org/10.12737/20633>
4. Bujor O-C, Ginies C, Popa VI, Dufour C. Phenolic compounds and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) leaf, stem and fruit at different harvest periods. Food Chemistry. 2018;252:356–365. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.052>
5. Nestby R, Hykkerud AL, Martinussen I. Review of botanical characterization, growth preferences, climatic adaptation and human health effects of *Ericaceae* and *Empetraceae* wild dwarf shrub berries in boreal, alpine and arctic areas. Journal of Berry Research. 2019;9(3):515–547. <https://doi.org/10.3233/JBR-190390>
6. Chudetsky AI, Kuznetsova IB, Makarov SS, Surov VV. Obtaining planting material for Kamchatka bilberry (*Vaccinium praestans* Lamb.) by clonal micropropagation. Vestnik of Buryat State Academy of Agriculture named after V. Philippov. 2021;63(2):122–128. <https://doi.org/10.34655/bgsha.2021.63.2.017>
7. Dincheva I, Badjakov I. Assesment of the anthocyanin variation in Bulgarian bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.). International Journal of Medicine and Pharmaceutical Science. 2016;6(3):39–50.
8. Hossain MZ, Shea E, Daneshtalab M, Weber JT. Chemical analysis of extracts from newfoundland berries and potential neuroprotective effects. Antioxidants. 2016;5(4). <https://doi.org/10.3390/antiox5040036>
9. Cioch M, Satora P, Skotniczny M, Semik-Szczurak D, Tarko T. Characterisation of antimicrobial properties of extracts of selected medicinal plants. Polish Journal of Microbiology. 2017;66(4):463–472.
10. Drózd P, Šežienė V, Pyrzyńska K. Phytochemical properties and antioxidant activities of extracts from wild blueberries and lingonberries. Plant Foods for Human Nutrition. 2017;72(4):360–364. <https://doi.org/10.1007/s11130-017-0640-3>
11. Isaak CK, Wang P, Prashar S, Karmin O, Brown DCW, Debnath SC, et al. Supplementing diet with Manitoba lingonberry juice reduces kidney ischemia-reperfusion injury. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2017;97(9):3065–3076. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8200>
12. Tian Y, Liimatainen J, Alanne A-L, Lindstedt A, Liu P, Sinkkonen J, et al. Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants. Food Chemistry. 2017;220:266–281. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.145>
13. Chizhik OV, Reshetnikov VN, Antipova TV. Genetic transformation of *Vaccinium vitis-idaea*. Plant Physiology and Genetics. 2018;50(1):23–28. (In Russ.). [Чижик О. В., Решетников В. Н., Антипова Т. В. Генетическая трансформация *Vaccinium vitis-idaea* L. // Физиология растений и генетика. 2018. Т. 50. № 1. С. 23–28.]
14. Alam Z, Roncal J, Peña-Castillo L. Genetic variation associated with healthy traits and environmental conditions in *Vaccinium vitis-idaea*. BMC Genomics. 2018;19(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4396-9>
15. Drózd P, Sežiene V, Wójcik J, Pyrzyńska K. Evaluation of bioactive compounds, minerals and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) fruits. Molecules. 2018;23(1). <https://doi.org/10.3390/molecules23010053>
16. Hoornstra D, Vesterlin J, Parnanen P, Al-Samadi A, Zlotogorski-Hurvitz A, Vered M, et al. Fermented lingonberry juice inhibits oral tongue squamous cell carcinoma invasion *in vitro* similarly to curcumin. In Vivo. 2018;32(5):1089–1095. <https://doi.org/10.21873/invivo.11350>
17. Angelova SG, Ivanova SKr, Trifonovac I, Volevad S, Georgievae I, Stoyanova A, et al. *Vaccinium vitis-idaea* L., origin from Bulgaria indicate *in vitro* antitumor effect on human cervical and breast cancer cells. American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences. 2019;56(1):104–112.
18. Jin Y, Liu Z, Liu D, Shi G, Liu D, Yang Y, et al. Natural antioxidant of rosemary extract used as an additive in the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) pomace. Industrial Crops and Products. 2019;138. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.074>
19. Kostrykina SA. The use of bilberry (*Vaccinium praestans* Lamb.) in bakery. Agro-Industrial Complex: Problems and Development Prospects: Abstracts of the All-Russian Scientific and Practical Conference; 2019; Blagoveshchensk. Blagoveshchensk: Far Eastern State Agrarian University; 2019. p. 68. (In Russ.). [Кострыкина С. А. Использование красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) в производстве мучных кондитерских изделий // Агропромышленный комплекс: проблемы и перспективы развития: Тезисы докладов всероссийской научно-практической конференции. Благовещенск, 2019. С. 68.]
20. Kowalska K, Olejnik A, Zielińska-Wasielica J, Olkowicz M. Inhibitory effects of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) fruit extract on obesity-induced inflammation in 3T3-L1 adipocytes and RAW 264.7 macrophages. Journal of Functional Foods. 2019;54:371–380. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.01.040>

21. Pärnänen P, Nikula-Ijäs P, Sorsa T. Antimicrobial and anti-inflammatory lingonberry mouthwash – A clinical pilot study in the oral cavity. *Microorganisms*. 2019;7(9). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090331>
22. Zhang Z, Zhou Q, Huangfu G, Wu Y, Zhang J. Anthocyanin extracts of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) attenuate serum lipids and cholesterol metabolism in HCD-induced hypercholesterolaemic male mice. *International Journal of Food Science and Technology*. 2019;54(5):1576–1587. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14025>
23. Onali T, Kivimäki A, Mauramo M, Salo T, Korpela R. Anticancer effects of lingonberry and bilberry on digestive tract cancers. *Antioxidants*. 2021;10(6). <https://doi.org/10.3390/antiox10060850>
24. Korenev IA, Tyak GV, Makarov SS. Creation of new varieties of forest berry plants and prospects of their intensive reproduction (*in vitro*). *Forestry Information*. 2019;3(3):180–189. (In Russ.). <https://doi.org/10.24419/LHI.2304-3083.2019.3.15>
25. Georgieva M, Badjakov I, Dincheva I, Yancheva S, Kondakova V. *In vitro* propagation of wild Bulgarian small berry fruits (bilberry, lingonberry, raspberry and strawberry). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2016;22(1):46–51.
26. Mazurek M, Siekierzyńska A. Efficient *in vitro* propagation of *Vaccinium vitis-idaea* L. plants on the double phase medium. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. 2018;21(4). <https://doi.org/10.30825/5.ejpau.160.2018.21.4>
27. Zontikov DN, Zontikova SA, Malakhova KV, Maramokhin EV. Influence of the composition of nutritional media and growth regulators during clonal micropropagation of some polyploid forms of the genus *Vaccinium* L. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2019;21(2):39–44. (In Russ.). [Влияние состава питательных сред и регуляторов роста при клональном микроразмножении некоторых полиплоидных форм рода *Vaccinium* L. / Д. Н. Зонтиков [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2019. Т. 21. № 2. С. 39–44.].
28. Arigundam U, Variyath AM, Siow YL, Marshall D, Debnath SC. Liquid culture for efficient *in vitro* propagation of adventitious shoots in wild *Vaccinium vitis-idaea* ssp. *minus* (lingonberry) using temporary immersion and stationary bioreactors. *Scientia Horticulturae*. 2020;264. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109199>
29. Debnath S, Arigundam UC. *In vitro* propagation strategies of medicinally important berry crop, lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.). *Agronomy*. 2020;10(5). <https://doi.org/10.3390/agronomy10050744>
30. Upadyshev MT, Vershinina OV. Comparative assessment of the impact of magnetic pulse treatment at the stage of adaptation of blackberry and raspberry-blackberry hybrids microplants to non-sterile conditions. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*. 2020;(63):53–60. (In Russ.). <https://doi.org/10.31676/2073-4948-2020-63-53-60>
31. Bjadovski IA, Upadyshev MT, Bronzova AD. Pulsed magnetic field impact on adaptation and vegetation of strawberry microplants (*Fragaria×ananassa* Duch.). *Horticulture and Viticulture*. 2021;(4):19–24. (In Russ.). <https://doi.org/10.31676/0235-2591-2021-4-19-24>
32. Makarov SS, Kuznetsova IB, Upadyshev MT, Rodin SA, Chudetsky AI. Clonal micropropagation of cranberry (*Oxycoccus palustris* Pers.). *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(1):67–76. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-67-76>
33. Akimov MYu, Bessonov VV, Kodentsova VM, Eller KI, Vrzhesinskaya OA, Beketova NA, *et al.* Biological value of fruits and berries of Russian production. *Problems of Nutrition*. 2020;89(4):220–232. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10055>