

На правах рукописи



МЕЛЕХОВ ИГОРЬ ДМИТРИЕВИЧ

**ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КЛОНАЛЬНОГО
МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР РОДА *RUBUS***

Специальность 4.1.4. Садоводство, овощеводство, виноградарство и
лекарственные культуры

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Мичуринск, 2024

Работа выполнена на кафедре садоводства, биотехнологий и селекции сельскохозяйственных культур ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: Муратова Светлана Александровна, кандидат биологических наук

Официальные оппоненты: Калашникова Елена Анатольевна, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», кафедра биотехнологии, профессор
Молканова Ольга Ивановна, кандидат сельскохозяйственных наук, ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук», лаборатория биотехнологии растений, заведующий

Ведущая организация: ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»

Защита состоится «5» июля 2024 г. в 12-30 часов на заседании диссертационного совета 35.2.022.03 при ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет» по адресу: 393760, Тамбовская обл. г. Мичуринск, ул. Интернациональная 101, корпус 1, зал заседаний диссертационных советов, тел./факс (47545) 3-88-13, доб. 3-82, E-mail: dissov@mgau.ru

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ и на сайте университета: www.mgau.ru, с авторефератом – на сайте Высшей аттестационной комиссии Министерства науки и высшего образования Российской Федерации: www.vak.minobrnauki.gov.ru

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные и скрепленные гербовой печатью, с указанием почтового адреса, телефона, электронной почты и сайта организации, фамилии, имени, отчества, должности лица, подготовившего отзыв, просим направлять учёному секретарю диссертационного совета.

Автореферат разослан «___» мая 2024 г.

Учёный секретарь диссертационного
совета 35.2.022.03
доктор сельскохозяйственных наук, доцент



Ю.В. Гурьянова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследований. Малина, ежевика и ежемалиновые гибриды – популярные ягодные культуры, которые возделываются в промышленных масштабах во многих странах мира. В настоящее время рынок этих ягодных культур направлен на постоянное расширение сортимента за счет включения в производство новых крупноплодных сортов, обладающих экологической пластичностью и пригодных к интенсивным технологиям возделывания. Растет число производителей ягодной продукции, в том числе в условиях защищенного грунта. В связи с этим имеет место дефицит качественного посадочного материала ряда ягодных культур, в том числе сортов ежевики с растянутым плодоношением, ремонтантной малины, ежемалиновых гибридов.

Клональное микроразмножение – перспективный способ вегетативного размножения растений, который позволяет ускорить процесс размножения и получить генетически однородные растения, оздоровленные от фитопатогенов, вирусов и других инфекций. Для многих ягодных культур метод клонального микроразмножения разработан достаточно эффективно. В то же время необходимость быстрого размножения селекционных новинок и культур, пользующихся повышенным спросом у производителей и садоводов-любителей, обуславливает необходимость подбора и оптимизации протоколов размножения в зависимости от видовых и сортовых особенностей растений. Ряд аспектов выращивания *in vitro* растений рода *Rubus* требуют дополнительной разработки вследствие недостаточного коэффициента размножения, появления хлорозных побегов во время культивирования, низкой эффективности укоренения ряда генотипов. Остаются проблемы на этапе адаптации растений.

Успех культивирования конкретного генотипа определяется множеством факторов, одним из важнейших из них является свет. Свет является не только источником энергии, контролирующим фотосинтез, но и важным фактором, влияющим на дифференциацию и рост эксплантов в культуре тканей. Различные участки спектра влияют на многие аспекты жизнедеятельности растения (Карначук, Головацкая, 1987; Константинова и др., 1998; Белоус и др., 2012; Al-Mayahi, 2016; Gupta, Agarwal, 2017).

С каждым годом набирают популярность светодиодные (LED) источники света, которые позволяют сформировать фактически любой спектр для конкретной культуры и фазы ее развития (Gupta, Agarwal, 2017). Правильный выбор источников излучения – важнейшее условие при выращивании растений в условиях *in vitro* и в защищенном грунте.

Еще одним направлением применения биофизических факторов воздействия для стимуляции морфогенетических процессов *in vitro*, является использование низкоинтенсивного когерентного излучения лазера (НКИ). Известно, что степень достигнутого эффекта зависит от типа используемого лазера, режимов облучения, типа и физиологического состояния растительного экспланта и других факторов (Будаговский, 2008).

Цель и задачи исследований

Цель исследований: повышение эффективности клонального микроразмножения ягодных культур рода *Rubus* с применением биохимических и биофизических факторов воздействия.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Оптимизировать состав питательных сред на этапах микроразмножения и укоренения микрочеренков *in vitro* применительно к перспективным для средней полосы России сортам ремонтантной малины, ежевики и ежемалиновых гибридов.

2. Изучить влияние спектрального состава света светодиодных и люминесцентных светильников на эффективность клонального микроразмножения ягодных культур рода *Rubus*.

4. Определить влияние низкоинтенсивного когерентного излучения гелий-неонового и полупроводникового лазера на морфометрические показатели микрорастений на разных этапах клонального микроразмножения ягодных культур рода *Rubus*.

5. Разработать приемы повышения эффективности адаптации микрорастений ягодных культур рода *Rubus*.

6. Дать оценку экономической эффективности производства посадочного материала ягодных растений рода *Rubus* методом клонального микроразмножения.

Научная новизна исследований. Впервые с учётом видо- и сортоспецифичности генотипов оптимизированы условия прохождения основных этапов технологии клонального микроразмножения ряда сортов ягодных культур рода *Rubus*: ежевики, ежемалиновых гибридов, ремонтантной малины. Проведена оптимизация минерального, углеводного и гормонального состава питательных сред на этапах размножения и укоренения включенных в исследования генотипов.

Впервые к изучаемым генотипам с целью повышения эффективности клонального микроразмножения применены физические регуляторные воздействия – низкоинтенсивное когерентное излучение (НКИ) лазера и свет разного спектрального состава. При использовании светодиодных светильников на этапе ризогенеза, добавление к основному белому свету красного и синего спектра в зависимости от генотипа на 10-14 дней ускоряет процесс образования корней, на 25-50% повышает частоту укоренения и в 1,5-3,2 раза увеличивает число корней на укорененное микрорастение.

Определены наиболее эффективные экспозиции облучения микрочеренков гелий-неоновым и полупроводниковым лазером на разных стадиях культивирования ягодных культур рода *Rubus*. Применение лазерного облучения в 1,5-2,3 раза повышает эффективность размножения, укоренения и прирост побегов культивируемых растений. У облученных микрорастений возрастает число и длина корней, прирост побегов по отношению к контролю.

Рекомендован состав субстрата, минеральных подкормок, биопрепаратов на бактериальной основе, повышающих приживаемость микрорастений на этапе адаптации и стимулирующих их рост в условиях защищенного грунта.

Теоретическая и практическая значимость исследований. Разработаны методические подходы, повышающие эффективность клонального микроразмножения и адаптации ягодных культур. Изучены особенности морфогенетического потенциала перспективных сортов ягодных растений рода *Rubus* на основе инициации меристематических тканей. Оптимизирован минеральный и гормональный состав питательных сред, максимально реализующий регенерационную способность растений. Показана целесообразность снижения энергоемкости технологии клонального микроразмножения путем применения методов биофотоники.

Оптимизированная технология получения корнесобственного посадочного материала ягодных культур рода *Rubus* послужит основой для производственного размножения перспективных генотипов ежевики, ежемалиновых гибридов и ремонтантной малины. Усовершенствованные методики клонального микроразмножения с применением низкоинтенсивного когерентного излучения лазера (НКИ) и светодиодного освещения с добавлением к белому красного и синего спектра на разных этапах культивирования растений применимы не только к изучаемым биологическим объектам, но и к растениям других таксономических групп. Разработанные методические приемы направлены на повышение качества посадочного материала ягодных культур и снижение их себестоимости.

Полученные результаты могут быть использованы в учебном процессе в качестве дополнительного материала при проведении лекционных и лабораторно-практических работ для студентов, обучающихся по направлениям подготовки 19.03.01 «Биотехнология», 35.03.05 «Садоводство» и 35.03.03 «Агрохимия и агропочвоведение».

Личный вклад автора. Диссертация является результатом научных исследований, выполненных лично автором на базе учебно-исследовательской лаборатории биотехнологии ФГБОУ ВО Мичуринского ГАУ. Автор участвовал во всех этапах работы: постановка цели и определение задач исследований, выборе методов исследования, постановке экспериментов, в проведение учетов и обработке данных, подготовке публикаций и докладов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Оптимальный минеральный и гормональный состав питательных сред при клональном микроразмножении сортов ягодных культур рода *Rubus*.
2. Оптимальный спектральный состав света при использовании светодиодных и люминесцентных светильников на разных этапах клонального микроразмножения ягодных культур рода *Rubus*.
3. Стимулирующее влияние облучения гелий-неоновым и полупроводниковым лазером растительных тканей на процессы размножения и корнеобразования при культивировании *in vitro* ягодных культур рода *Rubus*.
4. Условия эффективного перевода микрорастений ягодных культур рода *Rubus* из *in vitro* в *in vivo*.

Апробация работы. Основные положения и результаты исследований были представлены автором на: VIII Международной научно-практической конференции «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия

растительного мира» (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты), (г. Ялта, Республика Крым, 01-05 октября 2018 г); 71-й Международной научно-практической конференции студентов и аспирантов «АПК XXI века: Образование, инновации, перспективы» (ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ, г. Мичуринск-наукоград РФ, 19-21 марта, 2019), XIV Всероссийской выставке «День садовода-2019» (г. Мичуринск, 12-14 сентября 2019 года); II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 20-летию образования Ботанического сада НИУ «БелГУ» «Ботанические сады в XXI веке: сохранение биоразнообразия, стратегия развития и инновационные решения: сборник научных материалов» (г. Белгород, 23-26 сентября, 2019 г.) Национальной научно-практической конференции, посвященной 85-й годовщине со дня рождения профессора, доктора сельскохозяйственных наук, лауреата Государственной премии Потапова Виктора Александровича (г. Мичуринск 11-13 декабря 2019 г.).

Публикации результатов исследований. По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 3 публикации, входящие в перечень журналов ВАК РФ и 2 в МБД.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 144 страницах компьютерного текста, содержит 27 таблиц, 73 рисунка, состоит из введения, 3 глав, заключения, рекомендаций производству, список литературы содержит 210 источников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1 ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ БИОТЕХНОЛОГИИ И БИОФИЗИКИ В СИСТЕМЕ ВОСПРОИЗВОДСТВА РАСТЕНИЙ РОДА *RUBUS* L. (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

В разделе показана роль биофизических и биохимических факторов воздействия в повышении эффективности биотехнологических методов размножения ягодных культур. Представлен обзор научных публикаций отечественных и зарубежных исследователей по основным этапам клонального микроразмножения, способам стимуляции морфогенетических процессов в условиях *in vitro*, влиянию спектрального состава света и низкоинтенсивного когерентного излучения (НКИ) на растения. Дано обоснование необходимости проведения исследований по теме диссертации.

2 ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в учебно-исследовательской лаборатории биотехнологии и отапливаемых теплицах научно-исследовательского тепличного комплекса ФГБОУ ВО Мичуринского ГАУ.

В качестве растительного материала выбраны: сорта ежевики Блэк Сэтин (Black Satin), Навахо (Navaho), Трипл Краун (Tripl Crown), Логан Торнлесс (Logan Thornless), Дирксен Торнлесс (Dirksen Thornles), ежемалиновые гибриды: Тайберри (Tayberry), Букингем Тайберри (Buckingham Tayberry), Бойзенберри

(Boysenberry), Логанберри (Loganberry), малина обыкновенная ремонтантные сорта: Оранжевое чудо, Геракл, Бриллиантовая из коллекции *in vitro* учебно-исследовательской лаборатории биотехнологии ФГБОУ ВО Мичуринского ГАУ.

Культивирование ягодных культур *in vitro*. Для культивирования растений *in vitro* использовали минеральную основу питательных сред MS (Murashige, Skoog, 1962), QL (Quorin, Lepoivre, 1977) и DKW (Driver, Kuniyuki, 1984) с добавлением 30 г/л сахарозы или 20 г/л глюкозы, 100 мг/л мезоинозитола, 8 г/л или 11 г/л агара (среда DKW), комплекса витаминов по Мурасиге-Скугу (Murashige, Skoog, 1962). Среды модифицировали по источнику кальция и содержанию хелата железа. Среды стерилизовали автоклавированием (1 атм., 20 мин.), регуляторы роста и витамины стерилизовали ультрафильтрацией.

На этапе микроразмножения применяли регуляторы роста растений: 6-бензиламинопурин (6-БАП) – 0,25-2,0 мг/л, гибберелловую кислоту (ГК) - 0,25-0,5 мг/л, β-индолил-3-масляную кислоту (ИМК) или β-индолилуксусную кислоту (ИУК) - 0,025-0,2 мг/л.

На среды ризогенеза высаживали побеги, достигшие на среде размножения длины 1,5-2,0 см. Для культивирования микрочеренков на этапе укоренения использовали минеральную основу питательных сред MS (Murashige, Skoog, 1962) и QL (Quorin, Lepoivre, 1977) со сниженной в 2 раза концентрацией макросолей с добавлением 20 г/л сахарозы, 50 мг/л мезоинозитола, комплекса витаминов по Мурасиге-Скугу, 8 г/л агара. В среду добавляли β-индолилмасляную кислоту (ИМК), β-индолилуксусную кислоту (ИУК) или α-нафтилуксусную кислоту (НУК) в концентрации 0,125-1,0 мг/л.

Оценка влияние спектрального состава света на морфогенез растений *in vitro*. Опытные растения были размещены на фитостеллажах со встроенными светодиодными фитосветильниками с регулируемой на каждой полке в отдельности спектром и интенсивностью излучения. Стеллаж производства ООО «Интеграл» оснащен светодиодными фитолампами с длинами волн от 445 до 660 нм, при уровне освещенности на полках 2600-3000 лк. В качестве опытных вариантов выбраны следующие четыре режима работы светодиодных модулей FitoLED (в процентах от максимального уровня):

вариант 1: синий – 50%, красный – 50%, белый 25%;

вариант 2: синий – 50%, красный – 50%;

вариант 3: синий – 76%, красный – 24%;

вариант 4: синий – 50%, красный – 50%, белый 50%.

В качестве контроля были использованы два типа ламп:

- основной контроль (К1) – люминесцентные лампы OSRAM L36W/765 Cool Daylight с холодным оттенком белого света (6 шт.);

- второй, дополнительный контроль (К2) – сочетание люминесцентных ламп OSRAM L36W/765 Cool Daylight холодного оттенка белого дневного света (5 шт.) и PHILIPSMASSTERTL-DFood 36W/79 SLV/25 красного света (1 шт.).

Стеллаж производства ООО «ЭЛСИС БелГУ» оснащен фитолампами с длинами волн от 365 до 750 нм. Выбраны следующие четыре режима работы светодиодных модулей X-bright FitoLED (в процентах от максимального уровня):

вариант 1: синий – 50%, красный – 25%, белый 25%;
вариант 2: синий – 50%, красный – 50%; белый 5%;
вариант 3: синий – 50%, красный – 0%; белый 45 %;
вариант 4: синий – 0%, красный – 25%, белый 40%.

В пятом варианте опыта использовали специализированные светодиодные фитолампы Feron AL7000. (3 шт) и белые светодиодные (LED) лампы общего назначения FERON LB-213 18W (3 шт.)

В качестве контроля были использованы люминесцентные лампы (6 шт.) OSRAM L36W/765 Cool Daylight с холодным оттенком белого света (контроль 1) и белые светодиодные (LED) лампы общего назначения (5 шт.) FERON LB-213 18W (контроль 2). Во всех режимах уровень освещенности растений составлял 2800-3000 люкс.

Экспериментальную оценку спектральных кривых проводили с помощью спектрометра UPRtek MK350 NPremium. Контроль уровня освещенности осуществляли цифровым люксметром CEMDT-1309.

Оценка влияние лазерного излучения на морфогенез растений in vitro.

Стерильные микрочеренки обрабатывали излучением гелий-неонового лазера ГН-40 (длина волны 632,8 нм) и полупроводникового HLDPM12-655-10HJ (длина волны 655 нм) с плотностью мощности светового потока 2 Вт/м² и диаметром светового пятна 14 см при различных экспозициях (30, 60, 120, 240, 480, 960 с) на 3-4 сутки после высадки их на среду укоренения непосредственно в культуральных сосудах. Расчет более длительного периода облучения производили путем удвоения предыдущего временного отрезка. Для равномерного облучения колбу с эксплантами ставили на вращающуюся с постоянной скоростью подставку (рис. 1).

Все опыты по лазерному облучению растений проводили под руководством доктора технических наук Будаговского А.В.

Побеги культивировали в широкогорлых конических колбах емкостью 250 мл и стеклянных банках емкостью 400 мл. После облучения сосуды с растениями выставляли в культуральную и разделяли перегородками по вариантам опыта.



Рисунок 1 – Обработка растений когерентным оптическим излучением *in vitro*

Учитывали число жизнеспособных эксплантов, укоренившихся микрочеренков, число образовавшихся побегов или корней и их длину.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel.

Адаптация микрорастений. В почву высаживали укорененные микрорастения, имеющие не менее 4-5 листьев длиной 4-7 см. Растения высаживали в субстрат на основе нейтрального минерализованного верхового сфагнового торфа марки "Агробалт-С".

Для адаптации использовали кассеты (евростандарт) на 54 ячейки (515 x 330 мм, объем ячейки 85 мл). в кассеты и помещали в плёночные минитеплицы. От прямых солнечных лучей растения затеняли укрывным материалом «Спанбол». Минитеплицы устанавливали на подвижных стеллажах УГС-4 (установка гидропонная стеллажная, модель 4) в рассадном отделении зимней отапливаемой теплицы.

Изучали влияние различных добавок в базовый субстрат. Через 21 и 35 дней после высадки в почву опытные растения подкармливали растворами минеральных солей. Проводили корневую подкормку опытных растений биопрепаратами (Байкал ЭМ 1; Азотовит, Фосфатовит, Пралин-Экстра, 3 мл/1 л воды).

Через 4 и 8 недель определяли приживаемость микрорастений в нестерильных условиях, оценивали динамику роста надземной части и корневой системы растений. Учеты проводили раз в неделю. Повторность опыта – трехкратная, в каждой повторности не менее 54 растений. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Культивирование растений рода *Rubus* на питательных средах разного состава на этапе мультипликации

Полученные результаты показали, что растения рода *Rubus* можно размножать на всех питательных средах, включенных в исследования.

Наивысшие коэффициенты размножения для большинства сортов ежевики получены на среде QL_m, малины – на среде MS_m (таблица 1). Ежемалиновые гибриды практически одинаково развивались как на среде QL_m, так и на среде MS_m.

На среде DKW побеги отличались максимальным развитием и наиболее интенсивно росли в длину (рис. 2). Культивирование эксплантов на средах с глюкозой, в том числе на среде DKW требовало регулярных и своевременных пересадок.

Установлено, что микропобеги малины лучше развиваются на питательных средах с двойным содержанием хелата железа. При повышенном содержании железа у этой культуры формируются хорошо развитые побеги с крупными листьями темно-зеленого цвета (рис. 3). Подобные результаты получили и при культивировании ежемалиновых гибридов. Увеличение вдвое содержания хелата железа в среде MS у всех изучаемых генотипов приводит к формированию хорошо развитых побегов насыщенно-зеленого цвета. В то же время дальнейшее увеличение концентрации железа в питательной среде не дало положительного результата.

Таблица 1 – Эффективность размножения растений рода *Rubus* на средах разного минерального состава с 6-БАП – 0,5 мг/л и ИУК – 0,1 мг/л

Сорт	Число побегов (шт.) на питательной среде				
	MS	MS _m	QL	QL _m	DKW
<i>Ежевика</i>					
Блэк Сэтин	4,6±0,5	5,3±0,4	5,5±0,4	6,3±0,5	5,4±0,5
Логан Торнлесс	3,7±0,4	4,7±0,3	3,6±0,4	4,9±0,5	4,5±0,5
Дирксен Торнлесс	4,8±0,5	5,4±0,4	5,8±0,3	6,7±0,4	5,3±0,3
Навахо	4,4±0,3	4,7±0,4	4,4±0,3	5,3±0,4	4,1±0,3
Трипл Краун	3,7±0,4	3,8±0,3	3,6±0,4	4,3±0,4	3,4±0,4
<i>Ежемалиновые гибриды</i>					
Логанберри	3,3±0,3	3,9±0,3	3,5±0,3	4,3±0,3	3,8±0,3
Бойзенберри	3,9±0,4	4,6±0,3	4,3±0,4	5,5±0,4	4,5±0,3
Тайберри	3,7±0,3	4,3±0,3	3,9±0,2	4,2±0,4	4,4±0,3
Букингем Тайберри	3,3±0,2	3,8±0,2	3,6±0,2	4,9±0,2	4,1±0,3
<i>Малина</i>					
Геракл	3,6±0,5	4,2±0,4	3,1±0,2	4,0±0,2	4,4±0,4
Бриллиантовая	4,4±0,4	5,3±0,3	3,4±0,3	3,7±0,3	4,6±0,4
Оранжевое чудо	3,4±0,3	4,0±0,2	3,6±0,2	3,8±0,2	4,1±0,3



Рисунок 2 – Размножение ежемалинового гибрида Тайберри на среде QL (слева) и среде DKW (справа) с 0,5 мг/л 6-БАП.



Рисунок 3 – Размножение малины (сорт Оранжевое чудо) на среде MS 2Fe с глюкозой (20 г/л) с добавлением 0,5 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л ИУК.

На сортах ежевики не получено статистически достоверного повышения коэффициента размножения при увеличении концентрации хелата железа в среде в 2 раза. В ряде случаев имела место тенденция снижения коэффициента размножения при повышении концентрации хелата железа в среде. Например, коэффициент размножения ежевики Блэк Сэтин на модифицированной среде MS, содержащей 1,0 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л ИУК при стандартной концентрации железа составил 6,1±0,5, при двойной норме 4,4±0,4, при тройной норме 3,2±0,3 побега на эксплант. На средах с повышенным содержанием железа уменьшалась доля побегов, подходящих для укоренения. Так, у малины Геракл доля побегов

более 1,5 см на модифицированной среде MS при концентрации 6-БАП 1,0 мг/л и ИМК 0,1 мг/л составила 46,2%, на среде с двойным содержанием железа 13,7%, на среде с тройным содержанием железа 4,1%. Средняя длина побегов соответственно составила $10,1 \pm 0,7$ мм, $8,6 \pm 0,6$ мм, $7,7 \pm 0,7$ мм. Доля побегов длиннее 1,5 см у ежевики Блэк Сэтин при стандартном количестве хелата железа составила 35,0%, при двойном – 11,1%, при тройном – 7,2%.

Следует отметить общую тенденцию к увеличению коэффициента размножения микропобегов, культивируемых на средах с глюкозой, но в большинстве случаев различия между вариантами находились в пределах ошибки. Достоверно показано увеличение длины побегов на этих средах, по сравнению со средами, содержащими сахарозу.

Другим важным фактором, ответственным за размножение побегов *in vitro*, является гормональный состав среды. Как следует из полученных результатов, рост концентрации 6-БАП в питательной среде способствовал увеличению коэффициента размножения растений рода *Rubus*. Увеличение количества микропобегов в конгломератах при повышении концентрации цитокинина в среде коррелировало с уменьшением их средней длины. максимальное количество побегов хорошо развитых побегов, достигших длины 1,5 см и пригодных для укоренения отмечено в диапазоне концентраций 6-БАП 0,5-1,0 мг/л, поэтому эти концентрации выбраны в качестве рабочих.

3.2 Укоренение микрочеренков растений рода *Rubus in vitro*

Полученные нами результаты говорят о том, что ежевика укореняется и на средах без гормонов, но для интенсивного развития корневой системы требуется применение ауксина. При этом у полученных микрорастений качество корневой системы и побегов существенно отличаются в зависимости от используемого ауксина. Так на средах с ИУК формируется более слабая корневая система с тонкими темными корешками, при этом частота ризогенеза высокая. На средах с ИУК побеги развиваются нормально, хотя и отстают в росте по сравнению с побегами, культивируемыми на средах с ИМК и НУК. Применение НУК было удачным только при концентрации ауксина 0,125-0,25 мг/л, при этих концентрациях ауксина получена достаточно хорошо развитая корневая система и максимальный прирост укорененных побегов. Более высокие концентрации этого ауксина (0,5-1,0 мг/л) приводили к образованию каллуса на корнях и частичному оводнению побегов или некрозу листьев. Применение ИМК в концентрации 0,5 мг/л в составе среды укоренения позволило достичь частоты укоренения 85-95% у всех включенных в исследования сортов. На средах с этим ауксином корни светлые, нормальной толщины, с корешками второго порядка.

Эффективность укоренения ежемалиновых гибридов в целом была несколько ниже. На безгормональных средах частота укоренения составляла 61,8-75,8%. Результаты опытов показали, что все три используемых нами ауксина можно успешно применять для укоренения микрочеренков ежемалины, но оптимальная концентрация каждого в питательной среде будет разная. Как и в случае с ежевикой, применение НУК было оптимальным при концентрации 0,2-

0,25 мг/л, добавление ИМК и ИУК в состав питательной среды давало максимальный эффект при концентрации ауксина 0,4-0,5 мг/л. Наибольшее число корней на укорененный микрочеренок образуется на средах с ИМК и количество их растет с повышением концентрации этого ауксина в питательной среде. Частота укоренения ежемалиновых гибридов на средах с ауксинами при оптимальной концентрации каждого составила 84,8-100%.

Ремонтантная малина на безгормональных средах ризогенеза укореняется на 40,2-60,5% в зависимости от генотипа. Меньше всего корней образуется на безгормональных средах. На средах с ауксинами процесс формирования корней проходит быстрее и возрастает число корней на укорененный микрочеренок ремонтантной малины. Большинство изучаемых нами генотипов достаточно эффективно укореняются как на средах, содержащих 0,25-1,0 мг/л ИМК, так и на средах с 0,25-1,0 мг/л ИУК. Так, частота укоренения сорта Бриллиантовая - 57,1-75,0% на средах с ИМК и 60,5 - 69,2 % на средах с ИУК. Эффективность ризогенеза сорта Оранжевое чудо была 88,9-90,0% при концентрации ИМК в питательной среде 0,25-0,5 мг/л. Для сорта Геракл максимальная частота ризогенеза достигнута при добавлении в среду 1,0 мг/л ИМК. Число корней на укорененный микрочеренок при увеличении концентрации ауксина в среде возрастает или остается примерно на одном уровне. При этом на средах с более низкой концентрацией ауксина корни росли быстрее. По сравнению с другими представителями рода *Rubus* на микрочеренках малины образуется сравнительно небольшое число корней: от 1,4 до 2,4 шт. на безгормональных средах и от 2,6 до 4,5 шт. на средах с ауксином. Качество корневой системы у малины было схожим на средах с ИМК и ИУК.

3.3 Влияние спектрального состава света на эффективность размножения, ризогенеза и роста микропобегов ягодных культур рода *Rubus*

В наших исследованиях в первой серии опытов, проведенных с использованием фитотеллажа производства ООО «Интеграл» при интенсивности освещения 2600-3000 лк на этапе микроразмножения побегов не было получено однозначных результатов при использовании светодиодных светильников с разным спектром света. Растения ежевики хорошо развивались практически при всех вариантах освещения с достаточным коэффициентом размножения. При этом, использование светодиодных светильников в целом замедляло рост побегов. Средняя длина побегов ежевики была ниже в вариантах со светодиодным освещением по сравнению с контролем 1. Максимальное замедление роста побегов получено в третьем (0,9 см) и четвертом варианте (1,1 см) на ежевике сорта Логан Торнлесс (контроль 1- 1,9 см, контроль 2 – 1,4 см).

В этой серии опытов итоговая максимальная частота укоренения микрочеренков ремонтантной малины была получена при использовании люминесцентных ламп белого в сочетании с красным светом. В то время как максимальное число укорененных побегов ежевики было получено при использовании светодиодных светильников. Итоговая частота укоренения ежевики Логан Торнлесс составила: вариант 1 – 93,8%, вариант 2- 82,4%, вариант

3 - 85,7%, вариант 4- 64,3%, Контроль 1 (только белые) – 70,6%, Контроль 2 (белые + 1 красная) - 60,0%. Частота укоренение ежевики Блэк Сэтин: вариант 1 – 56,7%, вариант 2- 91,7%, вариант 3- 100 %, вариант 4- 66,7%, Контроль 1 (только белые люминесцентные) – 75,0%, Контроль 2 (белые + 1 красная) - 83,3%.

Во второй серии экспериментов, проведенных на стеллаже производства ООО «ЭЛСИС БелГУ», использовано семь вариантов освещения с различным спектральным составом света. Спектральные кривые используемых источников искусственного освещения существенно различались (рис. 4).

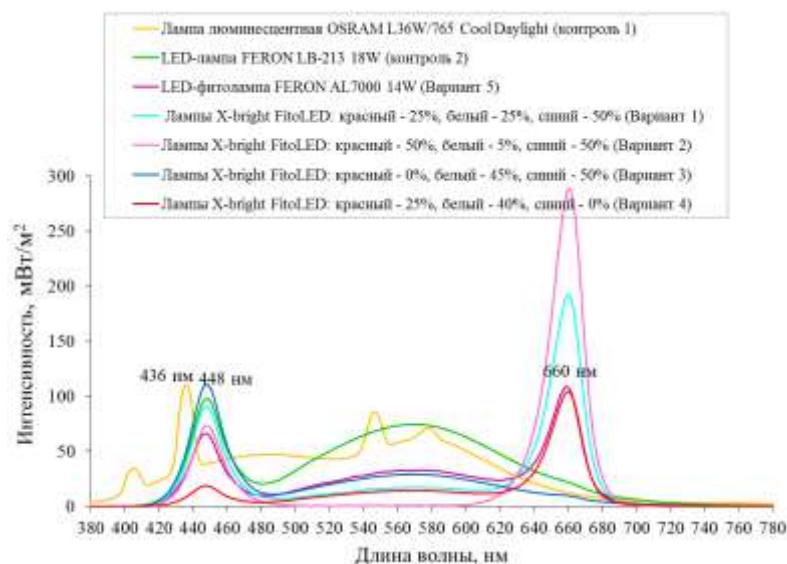


Рисунок 4 – Спектральные кривые источников искусственного освещения при клональном микроразмножении нетрадиционных ягодных культур

Результаты наших исследований показали существенное влияние спектрального состава освещения на процесс ризогенеза микрочеренков ягодных культур. Процесс образования корней на микрочеренках проходил намного быстрее в опытных вариантах при использовании светодиодов. Например, через две недели культивирования частота укоренения ежевики сорта Навахо в опытных вариантах была от 28,6 до 61,4%, тогда как в контрольных – 16,7 и 20,0%. Быстрее всего микрочеренки укоренялись при преобладании в освещении синей (400-500 нм) и красной (620-680 нм) областей спектра.

Подобные результаты были получены и на сорте ежевики Дирксен Торнлесс (таблица 2). Частота укоренения этого сорта после двух недель культивирования микрочеренков на среде укоренения в среднем в 6 раз превышала контрольные значения во втором варианте опыта и в 8 раз в пятом варианте опыта.

Освещение белым светом с добавлением красного и синего позволило в лучших вариантах опыта в несколько раз увеличить число корней на укорененный микрочеренок и ускорить их рост. Особенно многочисленные корни образовались у ежевики сорта Навахо (рис. 5). Под светодиодами с комбинированным спектральным составом сформировались более крепкие микрорастения с хорошо развитой корневой системой.

Таблица 2 – Влияние спектрального состава света на эффективность ризогенеза ежевики сорта Дирксен Торнлесс на среде QL_{ук} с 0,5 мг/л ИМК

Вариант опыта	Частота укоренения, %		Число корней, шт.	Длина корней, см	Длина побегов, см	Число листьев, шт.
	2 недели	6 недель				
Контроль 1	11,4	65,0	1,7 ± 0,2	1,9 ± 0,2	2,5 ± 0,1	7,4 ± 0,4
Контроль 2	9,8	57,6	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,2	2,4 ± 0,1	8,4 ± 0,4
1	17,6	65,6	2,1 ± 0,3	2,1 ± 0,3	2,2 ± 0,1	6,9 ± 0,2
2	65,5	78,6	5,2 ± 0,5	4,1 ± 0,4	3,1 ± 0,2	8,4 ± 0,2
3	51,9	64,3	2,9 ± 0,3	2,4 ± 0,3	2,8 ± 0,2	8,4 ± 0,3
4	45,5	60,0	2,4 ± 0,4	3,6 ± 0,5	2,8 ± 0,1	7,3 ± 0,2
5	80,6	90,3	6,5 ± 0,5	3,1 ± 0,2	3,9 ± 0,4	6,7 ± 0,3



контроль 2 (СД)



вариант 1



вариант 2



вариант 3



вариант 4



вариант 5

Рисунок 5 – Влияние спектрального состава света на ризогенез ежевики (сорт Навахо).

3.4 Влияние лазерного облучения на эффективность размножения, ризогенеза и роста микропобегов ягодных культур рода *Rubus*

Результаты наших исследований показали, что лазерное облучение может существенно улучшить размножение, укоренение и рост побегов культивируемых растений. При оптимальных экспозициях облучения коэффициент размножения ягодных культур был существенно выше контроля. Положительный эффект был в большей степени выражен на культурах, имеющих в контроле более низкий

коэффициент размножения (рис. 6). Сравнение действия гелий-неонового и полупроводникового лазера показало, что стимулирующий эффект может быть достигнут как при использовании гелий-неонового лазера, так и полупроводникового, но при разных экспозициях облучения.

Например, среднее число побегов ежевики сорта Блэк Сэтин на эксплант через месяц культивирования в контроле без облучения составило $3,9 \pm 0,3$, максимальное – 6 побегов на один исходный эксплант, после облучения гелий-неоновым лазером среднее число побегов ежевики на эксплант через месяц культивирования составило $4,4 \pm 0,5$, максимальное – 12 побегов/эксплант при экспозиции 60 с и среднее $4,6 \pm 0,4$, максимальное – 11 побегов/эксплант при экспозиции 120 с. В этих вариантах не было ни одного экспланта с коэффициентом размножения меньше двух.

Степень развития побегов при одинаковых экспозициях облучения также отличалась в зависимости от типа применяемого лазера. Побеги в лучших вариантах опыта были более крепкими, с крупными листьями, без некрозов. В вариантах с лазерным облучением возросло число побегов длиной более 1,5 см., используемых для укоренения. В контроле доля таких побегов у ежевики Блэк Сэтин составляла 46,7% при лазерном облучении от 60,0 до 84,3%.

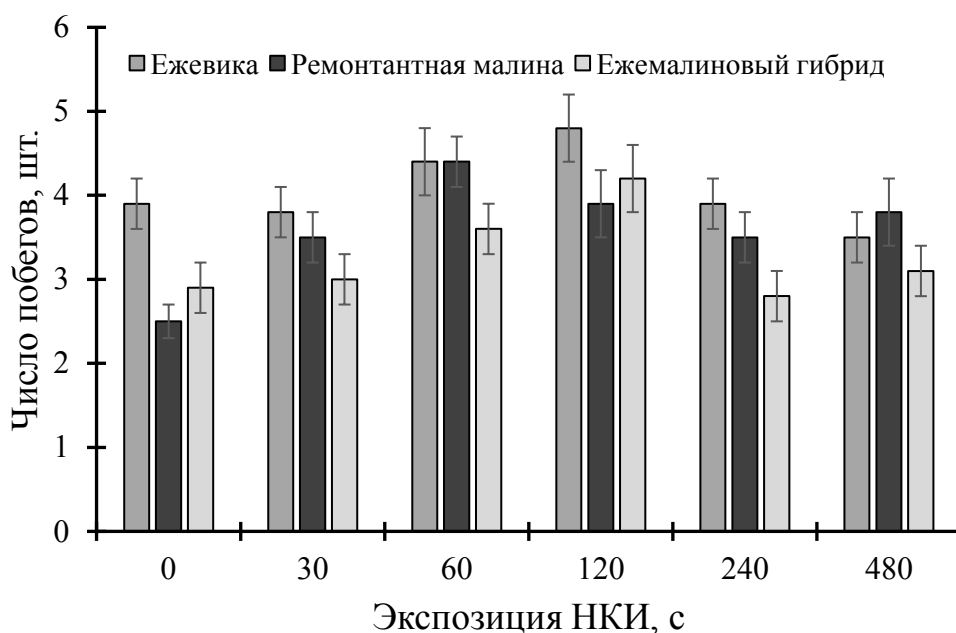


Рисунок 6 – Влияние облучения гелий–неоновым лазером растений рода *Rubus* на эффективность размножения ежевики Трипл Краун, ремонтантной малины сорта Оранжевое чудо, ежемалинового гибрида Тайберри.

После облучения полупроводниковым лазером через месяц культивирования среднее число побегов ежевики на эксплант составило $4,8 \pm 0,3$, максимальное – 7 побегов/эксплант при экспозиции 60 с. Экспозиция облучения 120 с была не эффективна при использовании полупроводникового лазера. В конечном итоге нам удалось повысить коэффициент размножения микропобегов ежевики с 6,9 в контроле до 9,5 в лучших вариантах с лазерным облучением, что существенно повысило выход полученных микрорастений. При этом эффект

облучения гелий-неоновым лазером больше был выражен на начальном этапе культивирования, тогда как воздействие полупроводникового лазера имело выраженный стимуляционный эффект практически при всех экспозициях облучения при более продолжительном периоде культивирования.

В проведенных нами исследованиях применение НКИ в 1,5-2,2 раза повысило эффективность ризогенеза малины ремонтантной сорта Геракл (рис. 7). При применении лазерного облучения процесс образования корней у ремонтантной малины значительно ускорился во всех вариантах опыта. В лучших вариантах опыта увеличилось количество корней на укорененный микрочеренок и корни росли быстрее.

Более мощное развитие корневой системы привело и к более быстрому росту побегов облученных микрорастений уже на этапе укоренения (рис. 8).

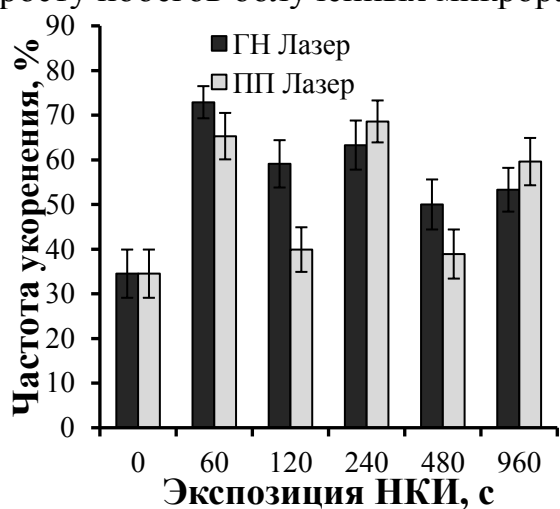


Рисунок 7 – Влияние лазерного облучения на эффективность укоренения ремонтантной малины сорта Геракл.

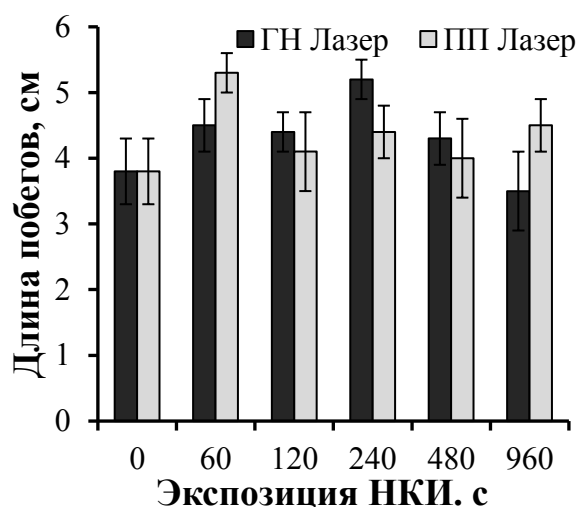


Рисунок 8 – Влияние лазерного облучения на рост побегов ремонтантной малины сорта Геракл.

Подобные результаты получены и на других сортах ремонтантной малины и ежемалиновых гибридов. Так, удалось повысить частоту укоренения микрочеренков ремонтантной малины сорта Бриллиантовая на среде MS_{УК} с 1,0 мг/л ИМК с 54,9% в контроле до 84,7% при облучении гелий-неоновым лазером (экспозиция 120 с) и 80,6% (экспозиция 960 с). Число корней на укорененный микрочеренок возросло соответственно с 2,0±0,2 шт. до 2,9±0,3 и 3,0±0,3 шт. соответственно. Частота укоренения ежемалинового гибрида Логанберри через месяц культивирования на среде MS_{УК} с 0,5 мг/л ИМК при 16-ти минутной экспозиции облучения гелий-неоновым лазером составила 46,7%, при 4-х минутной экспозиции облучения полупроводниковым лазером укоренилось 42,1% микрочеренков по сравнению с 27,8% в контроле. Итоговая частота укоренения в лучших вариантах опыта превысила контроль на 15-20% и достигала 90,9-100%.

Положительный эффект лазерной стимуляции получен и на культурах, отличающихся хорошей способностью к укоренению микрочеренков *in vitro*. Так, частота укоренения ежевики Блэк Сэтин на среде QL_{УК} с 0,5 мг/л ИМК через

месяц культивирования при 2-х минутной экспозиции облучения гелий-неоновым лазером составила 72,7% по сравнению с 53,1% в контроле. При облучении полупроводниковым лазером частота укоренения в опытных вариантах была от 69,2 до 80,6%. Число корней на укорененное микрорастение возросло в опыте в 1,5-2 раза.

Полученные нами данные подтверждают выводы других исследователей, работающих с лазерным облучением растений, которые ранее показали, что ответная реакция на облучение различной длительности культивируемых *in vitro* растений имеет нелинейный многомодальный характер с максимумами и минимумами стимуляционного эффекта (Будаговский и др., 2012; Муратова и др., 2012; 2016; Соловых и др., 2012; 2014).

3.5 Адаптация и доращивание растений рода *Rubus*

Заключительным этапом клонального микроразмножения является адаптация микрорастений к нестерильным условиям. Термин адаптация включает в себя несколько параллельно проходящих процессов: адаптацию ассимилирующего аппарата растений к пониженной влажности воздуха, корней к субстрату и адаптацию растений к новой инфекционной нагрузке. Перевод микрорастений в нестерильные условия затруднен по двум основным причинам – слабого контроля самим растением транспирации и их пониженной способностью к фотосинтезу вследствие гетеротрофного способа питания.

Наибольшее число прижившихся растений получено, когда на адаптацию высаживались крепкие, развитые побеги длиной 4-6 см с хорошо развитым листовым аппаратом и мочковатой корневой системой. Оптимальная температура в теплице для высадки микрорастений +23-25⁰С. Растения следует высаживать в хорошо пролитый субстрат. Влажность воздуха в теплице в первые две недели должна быть близка к 100%, затем ее постепенно, в течение 10-14 дней, снижают до 50-60%. В то же время, по нашим наблюдениям, высокая влажность воздуха на начальном этапе адаптации, должна сочетаться с умеренной влажностью субстрата, поскольку замокание корней может привести к их отмиранию и последующей гибели растений.

Для затенения микрорастений используются сетчатые ширмы или укрывной материал типа «Спанбонд».

Из нашего опыта работы следует, что при проведении адаптации в условиях зимних отапливаемых теплиц оптимальным сроком высадки микрорастений в субстрат является вторая половина февраля – апрель. В этот период в теплице устанавливаются оптимальные условия для адаптации и биологические ритмы развития растений совпадают с биологическими ритмами их развития в естественной среде. Для малины ремонтантной хорошие результаты получены также при высадке микрочеренков в сентябре.

При создании требуемого микроклимата и высадке микрорастений в указанные сроки ягодные культуры рода *Rubus* переходят в условия *ex vitro* с высокой частотой и быстро развиваются (рис. 9, 10, 11). Гибель микрорастений при соблюдении оптимальных условий адаптации составляет не более 5-15%.



Рисунок 9 – Растения ежемалинового гибрида Букингем Тайберри на этапе адаптации.



Рисунок 10 – Растения ежевики Блэк Сэтин на этапе адаптации.



Рисунок 11 – Растения ежемалинового гибрида Тайберри на этапе адаптации.

Почвогрунты для адаптации микрорастений готовили на основе субстрата на основе верхового сфагнового торфа "Агробалт-С". Использовали следующие варианты: 1) субстрат на основе верхового сфагнового торфа (контроль); 2) торф : песок (4:1); 3) торф : перлит (4:1); 4) торф : цеолит (4:1); 5) торф : песок : почва (3 : 1: 1); 6) торф : перлит : почва (3 : 1: 1); 7) торф : цеолит : почва (3 : 1: 1).

Как показали результаты наших исследований, все использованные типы субстратов вполне подходят для адаптации микрорастений ягодных культур. Эффективность адаптации и биометрические показатели адаптированных растений рода *Rubus* имели сходные показатели в разных вариантах опыта (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние состава субстрата на эффективность адаптации и вегетативное развитие микрорастений ремонтантной малины (сорт Бриллиантовая)

Субстрат	Приживаемость растений, %	Высота побегов, см	Масса побегов, г	Масса корней, г
Субстрат на основе торфа "Агробалт-С"	78,8	10,8±0,4	4,4±0,4	5,8±0,4
Торф : песок (4:1)	70,5	9,4±0,3	3,6±0,3	5,6±0,3
Торф : перлит (4:1)	77,4	10,6±0,4	3,9±0,5	6,3±0,4
Торф : цеолит (4:1)	81,2	14,7±0,4	5,0±0,4	7,2±0,5
Торф : песок : почва (3 : 1: 1)	80,6	12,2±0,4	4,9±0,4	6,9±0,4
Торф : перлит : почва (3 : 1: 1)	79,2	13,5±0,5	4,3±0,3	7,0±0,4
Торф : цеолит : почва (3 : 1: 1)	84,2	15,3±0,5	5,5±0,4	7,3±0,5

Лучшие результаты получены при использовании комбинированных субстратов. Наиболее активно растения развивались в варианте опыта торф : цеолит : почва (3 : 1 : 1). Добавление в верховой торф только речного песка не

дало положительного результата. После того как микрорастения успешно приживались в почве, более интенсивному развитию саженцев способствовали подкормки растений растворами минеральных солей (1 раз в 2 недели) (таблица 4) и корневые обработки растений микробиологическими препаратами (таблица 5).

Полученные нами результаты показали, что применение всех выбранных нами препаратов бактериологических удобрений дает положительный эффект. Максимальный прирост побегов ежевики отмечен в варианте подкормки растений бактериальным удобрением Байкал ЭМ1, но развитие корневой системы у этих растений было практически на уровне контроля.

Таблица 4 – Влияние минеральных подкормок на вегетативное развитие микрорастений ежемалинового гибрида Тайберри

Варианты	Среднее число корней, шт.	Средняя длина корней, см	Высота побегов, см	Среднее число листьев, шт.
Контроль (без подкормки)	3,8±0,2	12,6±0,6	11,1±0,4	7,3±0,4
¼ минеральных солей среды МС	5,2±0,3	17,4±0,9	15,3±0,7	8,8±0,5
Питательный раствор для выращивания огурца	5,5±0,4	18,2±1,0	14,8±0,6	8,5±0,5
Азофоска (20 г/10 л раствора)	4,7±0,3	15,2±0,5	13,1±0,6	8,0±0,4

Таблица 5 – Влияние корневой подкормки микробиологическими удобрениями на рост побегов (см) микрорастений ежевики (сорт Трипл Краун)

Варианты	Адаптация в почвенных условиях, недели			
	2	4	6	8
Контроль (без удобрений)	3,7±0,3	7,4±0,3	9,8±0,4	12,8±0,4
Байкал ЭМ1, 3 мл/1 л воды	5,5±0,3	9,1±0,4	12,2±0,4	16,9±0,4
Азотовит, 3 мл/1 л воды	4,5±0,3	8,2±0,3	11,9±0,3	16,0±0,5
Фосфатовит, 3 мл/1 л воды	3,9±0,2	7,0±0,3	9,9±0,3	14,6±0,4
Пралин-Экстра, 3 мл/1 л воды	3,8±0,3	7,7±0,3	10,7±0,4	15,4±0,5

В то же время применение биопрепаратов Азотовит, Фосфатовит, Пралин-Экстра способствовало как более активному росту побегов, так и лучшему развитию корневой системы растений, прежде всего, за счет образования корней второго порядка (рис. 12, 13).

Высокое качество кассетных растений обеспечивает их 100%-ную приживаемость на следующем этапе доращивания и позволяет быстро за 1,5-2 месяца после пересадки в горшки получить полноценный посадочный материал.



Рисунок 12 – Развитие микрорастений ежевики (сорт Трипл Краун) на этапе адаптации после корневой подкормки микробиологическим удобрением (Азотовит, 30 мл/10 л).



Рисунок 13 – Развитие корневой системы у микрорастений ежевики (сорт Трипл Краун) на этапе адаптации после корневой подкормки микробиологическим удобрением (Фосфатовит, 30 мл/10 л).

3.6 Экономическая эффективность клонального микроразмножения растений рода *Rubus*

Для получения посадочного материала методом клонального микроразмножения требуются специализированные лаборатории с соответствующим оборудованием и высококвалифицированным штатом сотрудников. Себестоимость и рентабельность производства *in vitro* вида или сорта будет зависеть от объема производства, коэффициента размножения и способности к укоренению и адаптации конкретного генотипа, затрат на химреактивы и т.д.

Мы провели расчет себестоимости производства 1 растения в уже действующей лаборатории исходя из разработанных нами технологических карт, на примере ремонтантной малины и ежевики. Расчёты проводили кратно одной загрузки питательной среды в автоклав. Это в нашем случае 12 л среды, которые можно разлить на 216 колб. У ремонтантной малины коэффициент размножения в среднем составляет 4 новых побега за 1 пассаж. Затраты на производство ремонтантной малины на этапе микроразмножения и укоренения с учетом возможных выпадов растений составят 7 рублей на растение, затраты на этапе адаптации еще примерно 14 рублей. Планируемая прибыль на единицу продукции при продаже кассетных растений по цене 45 руб. за 1 шт. составляет в среднем 23 рубля. При дальнейшем доращивании растений в горшочках расходы в пересчете на одно растение 17 руб. Прибыль на единицу продукции при продаже растений в горшках составляет от 62 до 162 руб. в зависимости от цены реализации.

Себестоимость кассетного растения ежевики, имеющей более высокий коэффициент размножения составляет в среднем 13 руб. планируемая прибыль на единицу продукции при продаже кассетных растений по цене 45 руб. за 1 шт. – 32

рубля. Оптовая стоимость саженца сортовой ежевики после доращивания составляет от 130 руб. до 280 руб. за 1 растение. Планируемая прибыль на единицу продукции при продаже растений с закрытой корневой системой будет от 100 до 250 руб.

Из полученных данных следует, что чем выше эффективность клонального размножения культуры, тем выше будет рентабельность ее производства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Генотип растения-донора оказывает существенное влияние на морфогенетический потенциал культивируемых *in vitro* растений и их потребности в освещении. Наиболее активно в культуре размножаются сорта ежевики, наименьшим коэффициентом размножения отличаются сорта ремонтантной малины.

2. Модификация состава питательных сред по источнику кальция (замена хлорида кальция на нитрат) и источнику углерода (замена сахарозы на глюкозу) позволяет повысить коэффициент размножения и увеличить долю побегов более 1,5 см, пригодных для укоренения. На модифицированных питательных средах коэффициент размножения представителей рода *Rubus* повышается в 1,3-1,6 раза.

3. Повышение концентрации 6-БАП в питательной среде способствует увеличению коэффициента размножения растений рода *Rubus*. Увеличение количества микропобегов в конгломератах при повышении концентрации цитокинина в среде коррелирует с уменьшением их средней длины. Максимальное количество побегов хорошо развитых побегов, достигших длины 1,5 см и пригодных для укоренения отмечено в диапазоне концентраций 6-БАП 0,5-1,0 мг/л.

4. Частота укоренения ежемалиновых гибридов на безгормональных средах составляет 61,8-75,8%, на средах с ауксинами – 84,8-100%. Наибольшее число корней на укорененный микрочеренок образуется на средах с ИМК и количество их растет с повышением концентрации этого ауксина в питательной среде.

5. Частота укоренения ремонтантной малины на безгормональных средах укореняется в зависимости от генотипа на 40,2-60,5%. На средах с ауксинами частота ризогенеза возрастает до 75,0-90,9%, процесс формирования корней проходит быстрее и возрастает число корней на укорененный микрочеренок, при этом на средах с более низкой концентрацией ауксина корни растут быстрее.

6. Спектральный состав света существенно влияет на эффективность размножения и укоренения микрочеренков, показатели развития корневой системы, а также рост и морфобиологические параметры растений рода *Rubus*.

7. Использование источников освещения с равным соотношением синих и красных лучей в спектре светом на 10-14 дней ускоряет процесс образования корней, на 25-50% повышает частоту укоренения и в 1,5-3,2 раза увеличивает число корней на укорененное микрорастение.

8. Лазерное облучение гелий-неоновым и полупроводниковым лазерами при оптимальных параметрах в 1,5-2,3 раза повышает эффективность размножения, укоренения и прирост побегов культивируемых растений. При применении НКИ

ускоряется процесс ризогенеза и значительно улучшается качество корневой системы у всех изучаемых форм, в том числе и с хорошей способностью к укоренению *in vitro* (ежевика).

9. При адаптации укорененных растений лучшие результаты получены с использованием комбинированных субстратов на основе нейтрального торфа с минеральными добавками. Наиболее высокую активность развития растений показал субстрат «торф: цеолит: почва» (3:1:1).

10. Применение минеральных подкормок и биопрепаратов Азотовит, Фосфатовит, Пралин-Экстра на этапе адаптации способствует более активному росту побегов и лучшему развитию корневой системы растений кассетных растений.

11. Гибель микрорастений рода *Rubus* на этапе адаптации при соблюдении оптимальных условий составляет не более 5-15%.

12. Производство саженцев на основе клонального микроразмножения является экономически эффективным. Прибыль на единицу продукции при реализации кассетных растений составляет от 23 до 32 руб. на 1 растение и от 62 до 250 руб. при реализации растений в горшках после доращивания. Рентабельность производства (без учета затрат на строительство и организацию предприятия) по разным культурам составляет от 150 до 300%.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

1. Для клонального микроразмножения перспективных сортов ежевики и ежемалиновых гибридов рекомендуется использовать минеральный состав сред Кворина-Лепуавра (Quorin, Lepoivre, 1977), Мурасиге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962) и DKW (Driver, Kuniyuki, 1984). Для эффективного размножения ремонтантной малины рекомендуется использовать модифицированную среду Мурасиге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962).

2. Для достижения максимального коэффициента размножения рекомендуется оптимизировать состав питательных сред по источнику кальция (заменить хлорид на нитрат) и источнику углерода (замена сахарозы на глюкозу).

3. В качестве цитокинина при размножении ягодных культур рода *Rubus* рекомендуется применение 6-БАП в концентрации 0,5-1,0 мг/л.

4. Для достижения максимальной частоты ризогенеза и оптимального развития корневой системы ягодных культур рода *Rubus* необходимо добавление в питательные среды ауксина: ИМК в концентрации 0,25-0,5 мг/л или НУК в концентрации 0,25-0,125 мг/л.

5. Для повышения эффективности укоренения микрочеренков, ускорения процесса ризогенеза и предотвращения чрезмерного вытягивания побегов рекомендуется использование светодиодных светильников с добавлением красного и синего спектра.

6. Для стимуляции процесса ризогенеза эффективно обрабатывать микрочеренки ягодных культур низкоинтенсивным когерентным излучением излучением гелий-неонового лазера ГН-40 (длина волны 632,8 нм) и полупроводникового HLDPM12-655-10HJ (длина волны 655 нм) с плотностью

мощности светового потока 2 Вт/м² и диаметром светового пятна 14 см при различных экспозициях (30, 60, 120, 240, 480, 960 с) на 3-4 сутки после высадки их на среду размножения или укоренения непосредственно в культуральных сосудах лазера.

7. Укоренённые микрорастения рекомендуется высаживать в субстрат на основе нейтрального минерализованного верхового сфагнового торфа марки «Агробалт-С».

8. Оптимальная температура в теплице для высадки микрорастений +23-25°C. Растения следует высаживать в хорошо пролитый субстрат. Влажность воздуха в теплице в первые две недели должна быть близка к 100%, затем ее постепенно, в течение 10-14 дней рекомендуется снизить до 50-60%.

9. После того как растению приживутся в почве лучшему развитию растений способствуют корневые подкормки растений раствором минеральных солей или микробиологическими удобрениями Азотовитом или Фосфатовитом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Хорошкова, Ю.В. Применение ауксинов в составе питательной среды на этапе ризогенеза микрочеренков ягодных и декоративных культур / Ю.В. Хорошкова, И.А. Трунов, И.Д. Мелехов // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2020. № 4 (63). С. 83-91.

2. Мелехов, И.Д. Влияние спектрального состава света на ризогенез ежевики сорта Навахо в культуре *in vitro*/ И.Д. Мелехов // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2022. № 1 (68). С. 66-69.

3. Мелехов, И.Д. Микроразмножение растений рода *Rubus* на питательных средах разного минерального состава/ И.Д. Мелехов, С.А. Муратова // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2024. № 1 (76). С. 77-82.

Статьи в журналах, сборниках трудов, материалах конференций

4. Муратова, С.А. Повышение эффективности клонального микроразмножения ягодных культур средствами биофотоники / С.А. Муратова, Р.В. Папихин, И.Д. Мелехов, Н.С. Субботина// Матер. VIII Междунар. науч.-практ. конф. «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира» (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты), г. Ялта, Республика Крым, 01-05 октября 2018 г. С.73.

5. Муратова, С.А. Применение методов биофотоники при клональном микроразмножении ягодных культур / С.А. Муратова, Н.С. Субботина И.Д. Мелехов, А.В. Будаговский // Ботанические сады в XXI веке: сохранение биоразнообразия, стратегия развития и инновационные решения: сб. науч. Матер. II Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвященной 20-летию образования Ботанического сада НИУ «БелГУ». Белгород: ИД «Белгород» НИУ «БелГУ», 2019. С.182 -185.

6. Хорошкова, Ю.В. Влияние ауксинов на ризогенез ежемалинового гибрида Тайберри / Ю.В. Хорошкова, И.Д. Мелехов, С.А. Муратова // Ботанические сады в XXI веке: сохранение биоразнообразия, стратегия развития и инновационные решения: сб. научн. матер. II Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвященной 20-летию образования Ботанического сада НИУ «БелГУ». Белгород: ИД «Белгород» НИУ «БелГУ», 2019.С. 202-205.

7. Трунов, И.А. Сортвые особенности ежевики на этапе ризогенеза / И.А. Трунов, И.Д. Мелехов, С.А. Муратова, В.С. Вдовина // Приоритетные направления развития садоводства (I Потаповские чтения): Материалы Нац науч.-практ. конф., посвящ. 85-й годовщине со дня рожд. профессора, доктора сельскохозяйственных наук, лауреата Государственной премии Потапова Виктора Александровича (г. Мичуринск 11-13 декабря 2019 г.) / под ред. Григорьевой Л.В. Мичуринск: Изд-во Мичуринского ГАУ, 2019. С. 90-93.

8. Муратова, С.А. Основные факторы, определяющие успех перевода микрорастений в нестерильные условия / С.А. Муратова, И.А. Трунов, И.Д. Мелехов // Научный электронный журнал «Наука и Образование». 2020. Т. 3, № 6.

9. Muratova, S.A. The effect of low-intensity coherent radiation on the efficiency of rhizogenesis of plants of the genus *Rubus* L. / S.A. Muratova, I.D. Melekhov, A.V. Budagovsky, L.A. Tokhtar, V.K. Tokhtar // Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology. 2020. V. 21(19&20). P. 97-102.

10. Muratova, S. Regulation of rhizogenetic process at clonal micropropagation of horticultural crops / S. Muratova, R. Papikhin, N. Subbotina, I. Melekhov // Acta Horticulturae. 2021. Том 1324 (1324_18). P. 117-122.

11. Папихин, Р.В. Влияние спектрального состава света на рост и развитие растений *in vivo* и *in vitro* / Р.В. Папихин, С.А. Муратова, И.Д. Мелехов, М.Л. Дубровский // Наука и образование. 2021. Том 4, № 3.

12. Мелехов, И.Д. Влияние спектрального состава света на размножение и рост ежевики *in vitro* / И.Д. Мелехов, С.А. Муратова // Наука и образование. 2021. Том 4, № 3.

Отпечатано в издательско-полиграфическом центре
ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ
Подписано в печать 03.05.2024. Формат 60x84/16,
Бумага офсетная № 1. Усл. печ. л. 1,4. Тираж 100 экз. Ризограф
Заказ № 20869

Издательско-полиграфический центр
Мичуринского государственного аграрного университета
393760, Тамбовская обл., г. Мичуринск, ул. Интернациональная, 101
тел. +7 (47545) 3-88-34, доб. 211