

На правах рукописи

Тер-Петросянц Георг Эдвардович

**РАЗРАБОТКА ЭЛЕМЕНТОВ ТЕХНОЛОГИИ РАЗМНОЖЕНИЯ
ВИНОГРАДА РАЗЛИЧНОГО ВИДОВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

Специальность: 4.1.4. Садоводство, овощеводство, виноградарство и
лекарственные культуры

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Москва – 2024

Работа выполнена на кафедре плодоводства, виноградарства и виноделия ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Научный руководитель: **Акимова Светлана Владимировна,**
доктор сельскохозяйственных наук, доцент,
доцент кафедры плодоводства,
виноградарства и виноделия ФГБОУ ВО
РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Официальные оппоненты: **Трошин Леонид Петрович,**
доктор биологических наук, профессор,
профессор кафедры виноградарства ФГБОУ
ВО Кубанский государственный аграрный
университет имени И.Т. Трубилина;

Симахин Максим Вячеславович,
кандидат сельскохозяйственных наук,
научный сотрудник лаборатории
культурных растений ФГБУН Главный
ботанический сад имени Н.В. Цицина РАН

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Федеральный
Ростовский аграрный научный центр»
(ФГБНУ «ФРАНЦ»)

Защита диссертации состоится «10» июля 2024 г. в 10:00 ч. на заседании диссертационного совета 35.2.030.02 на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» по адресу 127550, г. Москва, ул. Прянишникова, д. 19., тел: 8(499) 976-17-14.

Юридический адрес для отправки почтовой корреспонденции (отзывов): 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке имени Н.И. Железнова ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева и на сайте университета: <http://www.timacad.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 35.2.030.02
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

А.В. Константинович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследований. В настоящее время в Российской Федерации уделяется большое внимание восстановлению и развитию отрасли виноградарства и виноградного питомниководства. Государственная поддержка развития виноградарства осуществляется в соответствии с Государственной программой развития сельского хозяйства и регулирования рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия на 2013-2025 годы, утвержденной постановлением Правительства Российской Федерации от 14 июля 2012 г. № 717.

В условиях Центрального Нечерноземья виноград долгие годы считался неперспективной культурой, но ее большему распространению способствовало появление новых сортов, ягоды которых успевают созреть за сравнительно короткий период. Сортимент современных сортов винограда для любительской культуры в Нечерноземной полосе в основном представляет собой межвидовые гибриды на основе *Vitis amurensis* Rupr., *Vitis riparia* Michx., *Vitis labrusca* L., *Vitis berlandieri* Planch., что влечет за собой проблемы, связанные с их вегетативным размножением традиционными способами (зимняя прививка, размножение одревесневшими и зелеными черенками) (Абрашева П., Андреева Е.А., Иваненко Е.Н., Кумпан В.Н., Перелович В.Н., Радчевский П.П., Трошин Л.П., Хисамутдинов А.Ф.).

С данными проблемами успешно позволяет справиться технология клонального микроразмножения, которая позволяет получать высококачественный посадочный материал, обеспечивающий продление эксплуатации виноградников и повышение их продуктивности, поэтому совершенствование технологии клонального микроразмножения винограда является актуальной и приоритетной задачей отрасли (Батукаев А.А., Кухарчик Н.В., Шорников Д.Г.).

При совершенствовании технологии клонального микроразмножения винограда большинство исследований посвящено модификации состава питательных сред и условий субкультивирования микрорастений. Однако, в литературных источниках очень мало сведений о способности к вегетативному размножению *ex vitro* растений рода *Vitis* L, также мало изучен вопрос влияния способа вегетативного размножения на показатели развития и вегетативную продуктивность маточных насаждений винограда в условиях защищённого и открытого грунта.

Поэтому совершенствование технологий ускоренного размножения *in vitro* и *ex vitro* растений винограда различного видового происхождения является одним из перспективных направлений повышения эффективности виноградного питомниководства в условиях Центрального Нечерноземья.

Степень научной разработанности проблемы. Создание устойчивых сортов винограда базируется на межвидовой гибридизации с использованием адаптивного потенциала *Vitis amurensis* Rupr., *Vitis riparia* Michaux, *Vitis labrusca* L., *Vitis berlandieri* Planch. Большой вклад в создание сортов винограда с коротким периодом вегетации, устойчивых к низким температурам внесли

ученые МСХА имени К.А. Тимирязева (Скуинь К.П., Губин Е.Н., Губин А.Е.); ФГБНУ ВНИИВиВ им. Я.И. Потапенко (Кострикин И.А., Крайнов В.Н., Майстренко Л.А., Майстренко А.Н., Кологривая Р.В.); ЦГЛ имени И.В. Мичурина (ныне ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина») (Филиппенко И.М., Штин Л.Т.).

Исследования в этом направлении сотрудниками РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева велись еще с 1949 года. К настоящему времени ряд селекционных достижений наших ученых включен в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, как в зонах промышленного виноградарства (18 сортов), так и в Средней полосе России в любительской культуре (15 сортов). Теоретической и методологической базой для написания диссертационного исследования послужили труды отечественных и зарубежных исследователей. Существенный вклад в исследования по клональному микроразмножению винограда внесли Батукаев А.А., Батукаев М.С., Дорошенко Н.П., Кухарчик Н.В., Ребров А.Н., Blaich R., Ziv M., Trejgell A. и др., по вегетативному размножению и доращиванию посадочного материала и агротехнике возделывания – Гурьянова Ю.В., Иваненко Е.Н., Кострикин И.А., Майстренко Л.А., Майстренко А.Н., Кумпан В.Н., Радчевский П.П., Трошин Л.П., Казахмедов Р.Э., Waite H., Kizildeniz T. и др.

Цель исследований – разработка элементов технологии клонального микроразмножения сортов винограда различного видового происхождения и выявление их последствий на дальнейшее размножение маточных *ex vitro* растений винограда в условиях защищенного и открытого грунта.

Задачи исследований:

1. Изучить влияние типа эксплантов на введение винограда в стерильную культуру с учетом последствий на этапах мультипликации и ризогенеза.
2. Определить морфобиологические особенности формирования диафрагмы у *in vitro* и *ex vitro* растений винограда и ее влияние на дальнейшее размножение растений зелеными черенками.
3. Разработать приемы эффективного ускоренного размножения маточных *ex vitro* растений винограда в условиях защищенного грунта.
4. Выявить влияние способа вегетативного размножения на показатели развития маточных растений винограда в условиях открытого грунта и улучшение их способности к вегетативному размножению одревесневшими черенками.
5. Разработать приемы эффективного выращивания и ускоренного размножения маточных *ex vitro* растений винограда в условиях открытого грунта.
6. Провести оценку экономической эффективности размножения сортов винограда одревесневшими черенками в зависимости от технологии производства маточных растений.

Научная новизна. Впервые в технологии клонального микроразмножения винограда выявлены морфо-биологические особенности формирования диафрагмы у *in vitro* и *ex vitro* растений и ее влияние на дальнейшее размножение растений зелеными черенками. Впервые выявлено влияние способа вегетативного размножения (*in vitro*, зеленое черенкование, размножение одревесневшими черенками) на развитие маточных растений винограда в

условиях открытого грунта и повышение их способности к вегетативному размножению одревесневшими черенками. Впервые выявлено влияние нового биокомплексного, многофункционального, микробного препарата с высоким фунгицидным и бактерицидным действием Revitalize liquid на приживаемость, развитие и размножение маточных *ex vitro* растений винограда.

Теоретическая и практическая значимость. Для сортов винограда, возделываемых в условиях Центрального Нечерноземья, организационно-экономической оценкой обосновано внедрение технологии клонального микроразмножения при производстве посадочного материала для закладки маточных насаждений винограда открытого грунта. Выявлены особенности перехода *ex vitro* растений винограда от моноподиального к симподиально-моноподиальному типу ветвления побегов и его влияние на регенерационную способность растений. Установлена возможность успешного тиражирования *ex vitro* растений винограда на этапах адаптации и доращивания в условиях защищенного и открытого грунта, разработаны технологические приемы применения многофункциональных, биокомплексных препаратов в конкретных концентрациях для увеличения производства посадочного материала винограда на основе размножения зелеными и одревесневшими черенками.

Методология и методы исследований. В качестве источников информации при планировании и проведении исследований использованы монографии, научные статьи, авторефераты диссертаций. В ходе работы использовались общие методы исследований: наблюдения, сравнения и измерения.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Эффективные приемы совершенствования технологии клонального микроразмножения винограда.

- Морфо-биологические особенности формирования диафрагмы у *in vitro* и *ex vitro* растений винограда с учетом последствия на размножение *ex vitro* растений в условиях защищенного грунта.

- Доращивание и размножение *ex vitro* растений винограда в условиях открытого грунта.

Степень достоверности. Объективность и достоверность подтверждены многолетними экспериментальными данными, полученными в лабораторных, тепличных и полевых условиях с применением современных методик научных исследований. Анализ экспериментальных данных проводили по Доспехову Б.А. (1985) и А.В. Исачкину (2020) методом дисперсионного анализа, с использованием программ Microsoft Office Excel 2010 и PAST 4.03.

Апробация работы. Результаты исследований доложены и обсуждены на следующих научных и научно-практических конференциях: 71-ая Международная студенческая научно-практическая конференция, посвященная 130-летию со дня рождения А.В. Чаянова, 2018 г.; 6th Interdisciplinary Scientific Forum with International Participation «New Materials and Advanced Technologies, NMAT 2020» 2021 г.; Всероссийская с международным участием научная конференция молодых учёных и специалистов, посвящённая 155-летию со дня рождения Н.Н. Худякова, 2021 г.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 9 работ, из них 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 1 статья в издании из библиографической базы данных Scopus, 2 электронные базы данных и 1 ноу-хау.

Личный вклад автора. Диссертация содержит фактический и аналитический материал, полученный в течение 2018-2023 годов. Автор принимал непосредственное участие в разработке программы исследований, планировании и проведении экспериментов, анализе полученных результатов, сделанные на их основе выводы и рекомендации выполнены лично автором.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 206 страницах, состоит из введения, основной части, содержащей 25 рисунков и 31 таблицу, заключения, списка литературы, включающего 207 источников, в том числе 57 на иностранном языке и 11 приложений.

Благодарности. Автор выражает благодарность за научное наставничество и помощь при подготовке диссертации научному руководителю д.с.-х.н. Акимовой С.В., д.с.-х.н. А.К. Раджабову, к.с.-х.н. А.В. Соловьеву, к.с.-х.н. Е.Г. Самощенко, к.с.-х.н. Л.А. Марченко, к.э.н. А.В. Зубкову.

ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыты проводили в 2018-2023 годах в отделах биотехнологии и ягодных культур; виноградарства, декоративных и редких культур УНПЦ садоводства и овощеводства имени В.И. Эдельштейна РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева.

Объекты исследований сорта винограда различного видового происхождения: Алёшенькин (*Мадлен анжевин* × *смесь пыльцы столовых сортов*, *Vitis vinifera* L.), Московский белый (*Vitis amurensis* Rupr. × *Vitis vinifera* L.), Сорт Кишмиш №342 (*Willard Blanc* × *Perlet*) и подвой винограда Кобер 5ББ (*Vitis riparia* × *Vitis berlandieri*).

На этапе введения в стерильную культуру сортов Алёшенькин и Кишмиш №342 в качестве эксплантов использовали латеральные почки, меристематические апексы высотой 100-150 мкм с листовыми примордиями и микрочеренки размером 0,5-1,0 см и высаживали их на питательную среду с минеральными $\frac{1}{2}$ макро- и микросолями по прописи Quoirin & Lepoivre (QL), обогащенную следующими веществами (мг/л): тиамин (B1), пиридоксин (B6), никотиновая кислота (PP) – по 0,5; 6-БАП- 0,1; инозитол – 100; сахароза – 30000, агар-агар – 7000. Контроль - питательная среда без синтетических гормонов (б/г) по прописи Murashige & Skoog (MS) обогащенная (мг/л): B1, B6, PP – по 0,5; инозитол – 100; сахароза – 30000, агар-агар – 7000. Далее культуры в течение 70 суток инкубировали в световой комнате при интенсивности освещения 2500 люкс, фотопериоде 16/8 и температуре +20...+22°C. Повторность опытов трехкратная по 10 пробирок в повторности.

Затем, на этапе **мультипликации** были произведены два последовательных пассажа на питательную среду с минеральными $\frac{1}{2}$ макро- и микросолями по прописи MS обогащенную (мг/л): B1, B6, PP – по 0,5; 6-БАП - 0,1, инозитол – 100; сахароза – 30000, агар-агар – 7000. В ламинарном боксе в

каждый сосуд помещали по 5 микрочеренков длиной в 2-3 узла. Повторность опытов трехкратная по 10 растений в повторности.

После этого **на этапе ризогенеза** осуществляли пассаж на питательную среду с минеральными $\frac{1}{2}$ макро- и микросолями по прописи MS обогащенную (мг/л): В1, В6, РР – по 0,5; ИМК – 0,5; ГК – 0,5; сахароза – 15000, агар-агар – 7000. В ламинарном боксе в каждый культуральный сосуд помещали по 10 микрочеренков длиной в 2–3 узла. Повторность опытов трехкратная по 10 растений в повторности. Длительность субкультивирования на обоих этапах составила 40 суток в течение которых микрорастения инкубировали в световой комнате при интенсивности освещения 2500 люкс, фотопериоде 16/8 и температуре +20...+22 °С.

В экспериментах с изучением морфо-биологических особенностей формирования диафрагмы объектами исследований служили микрорастения сортов Кишмиш №342, Московский Белый и подвоя Кобер 5ББ, а также сеянцы винограда сорта Кишмиш №342.

У опытных растений после 40 суток субкультивирования на этапах мультипликации и ризогенеза, 40 суток адаптации и 120 суток доращивания препарировали все узлы под стереомикроскопом Levenhuk MED 30T с помощью медицинского скальпеля и лезвия бритвы выполняли срезы, после чего переносили их на предметное стекло и фотографировали. Повторность опытов 10 кратная по 1 растению в 1 повторности.

На этапе адаптации субстратом служила смесь переходного обогащенного торфа «ПитэрПит» и перлита в соотношении 3:1, посадку осуществляли в пластиковые кассеты (49 ячеек, 4×4см, размером 40×40×7 см, 6,25 кассет на 1м²). Перед высадкой микрорастений - субстрат обрабатывали фунгицидом «Максим» в концентрации 20 мл на 10 л.

Для увеличения коэффициента размножения после 40 суток адаптации проводили зеленое черенкование адаптированных растений двухглазковыми черенками. Далее *ex vitro* растения пересаживали на доращивание в контейнеры С2 (объемом 2 л) и после 120 суток доращивания снова проводили зеленое черенкование.

В качестве индукторов корнеобразования на 120 сутки доращивания *ex vitro* растений в контейнерах при подготовке зеленых черенков к укоренению применяли препараты Revitalize liquid и корневин. Варианты опыта: без обработки (б/о); Корневин (время экспозиции – 1 секунда); Revitalize liquid - вымачивали в растворе 25 мл/л (время экспозиции – 20 минут); Revitalize liquid + Корневин. Повторность опытов трехкратная по 30 черенков в повторности.

В условиях открытого грунта в течение 3 лет с 2020 по 2023 гг., оценивали последствие способа размножения маточных растений сортов Кишмиш №342 и Московский белый традиционными способами и *in vitro* на показатели развития и улучшение их способности к вегетативному размножению одревесневшими черенками. Для этого растения одного возраста размноженные зелеными, одревесневшими черенками и *in vitro* после года доращивания в контейнерах в условиях защищенного грунта высаживали в открытый грунт во второй половине июня по схеме посадки 3×2 м. Форма куста веерная

многорукавная. Агротехника, уход за растениями и система защиты растений общепринятые (Радчевский П.П., Смирнов К.В.). При этом ежегодно в III декаде июля – I декаде августа проводили учеты показателей развития. Осенью каждого года с маточных растений заготавливали одревесневшие черенки, которые весной следующего года высаживали на укоренение с применением препарата Корневин для обработки базальных частей черенков. Повторность опытов трехкратная по 10 растений в повторности.

При разработке приемов доращивания маточных *ex vitro* растений с целью повышения приживаемости и улучшения показателей развития маточных растений сразу после посадки и через 14 суток проводили корневые (25 мл:1000 мл H₂O (1:40)), некорневые (500 мл:500 мл H₂O (1:1)) и комбинированные (корневая+внекорневая одновременно) обработки бикомплексом Revitalize liquid. Повторность опытов трехкратная по 10 растений в повторности. На следующий вегетационный период после высадки *ex vitro* растений винограда в условия открытого грунта при размножении зелеными черенками сорта Кишмиш №342 выявляли целесообразность совместного применения азотного кислородсодержащего минерального удобрения, регулятора роста с нематодцидным и фунгицидным действием Пероксид М агро (в концентрации 12,5; 25,0 и 50,0 мл) и питательного бикомплекса Revitalize liquid (в концентрации 25,0; 50,0 и 100,0 мл). Повторность опытов трехкратная по 30 черенков в повторности.

Анализ экспериментальных данных проводили по Доспехову Б.А. (1985) и А.В. Исачкину (2020) методом дисперсионного анализа, с использованием программ Microsoft Office Excel 2010 и PAST 4.03.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Разработка приемов увеличения эффективности вегетативного размножения винограда методом клонального микроразмножения

1.1. Влияние типа экспланта на введение винограда в стерильную культуру с учетом последействия на этапах мультипликации и ризогенеза

В результате проведенных экспериментов через 70 суток после введения в культуру установлено что, максимальное количество жизнеспособных эксплантов у исследуемых сортов получено при вычленении меристематических апексов и высадке их на питательную среду с минеральными солями по прописи QL. При этом у сорта Алёшенькин приживаемость апексов составила 50,0% против 16,6 % у эксплантов, высаженных на питательную среду по прописи MS, а у сорта Кишмиш №342 32,4% против 16,2% (таблица 1).

Далее было важно оценить последействие типа введенных в культуру эксплантов на дальнейшее тиражирование микрорастений. Для этого произвели два пассажа на питательную среду MS.

Таблица 1 - Приживаемость эксплантов винограда различного видового происхождения на этапе введения в культуру *in vitro* (70 сутки субкультивирования) (%)

Питательная среда (фактор А)	Тип экспланта (фактор В)			Среднее по фактору В
	Меристематические апексы	Пазушные почки	Микрочеренки	
	Сорт Алёшенькин			НСР ₀₅ b =1,98
MS (б/г) (контроль)	16,6±1,04	16,6±0,76	16,6±1,12	16,6
QL (6-БАП 0,1 мг/л)	50,0±1,56	50,0±1,93	16,6±0,85	38,9
Среднее по фактору А НСР ₀₅ a = 1,32	33,3	33,3	16,6	×
НСР ₀₅ ab =3,55 для частных различий				
	Сорт Кишмиш №342			НСР ₀₅ b =2,24
MS (б/г) (контроль)	0,0±0,00	15,4±0,38	16,2±0,72	15,8
QL (6-БАП 0,1 мг/л)	32,4±1,27	15,1±0,50	16,6±0,85	21,4
Среднее по фактору А НСР ₀₅ a =1,49	32,4	15,3	16,4	×
НСР ₀₅ ab =4,01 для частных различий				

У сорта Алёшенькин сохранилось преимущество растений, введенных в культуру меристематическими апексами на первом пассаже коэффициент мультипликации составил 8,5 ед. против 2,0-3,7 ед.; на 2 пассаже - 9,6 ед. против 7,0 ед. У сорта Кишмиш №342 преимущество апексов сохранилось на первом пассаже и коэффициент мультипликации составил - 2,5 ед. против 1,0-2,0 ед. На втором пассаже уже выявлено преимущество микрорастений введенных микрочеренками у которых коэффициент мультипликации составил 7,0 ед. против 4,5 ед.

На этапе ризогенеза у сорта Алёшенькин укореняемость микрочеренков составила 85,7-87,5%. При этом лучшая укореняемость выявлена у микрорастений введенных в культуру микрочеренками (87,5%), однако микрорастения введенные в культуру апексами достоверно превосходили контроль по всем учитываемым показателям. У сорта Кишмиш №342 укореняемость микрорастений, введенных в культуру апексами, составила 60,4% против 50,1 %, и наблюдалось преимущество по всем учитываемым показателям.

Таким образом, на этапе введения в культуру эксплантов винограда сортов Алёшенькин и Кишмиш №342 выявлено преимущество использования в качестве эксплантов меристематических апексов с высадкой их на питательную среду с минеральными солями по прописи QL с добавлением 6-БАП (0,1 мг/л), которое сохранилось в последствии при двух пассажах рекультивации и на этапе ризогенеза.

1.2. Морфо-биологические особенности формирования диафрагмы винограда

Побеги винограда культурного характеризуются симподиально-моноподиальным типом ветвления, при котором за одним моноподиальным узлом, следуют два симподиальных, дающих усик или гроздь по всей длине виноградной лозы. У сеянцев винограда симподиальный узел формируется не раньше 6 – 8 узлов. Наши исследования при морфологическом анализе продольных срезов узлов сеянцев винограда сорта Кишмиш №342 срезанных после 90 суток выращивания показали отсутствие симподиального ветвления, вплоть до 12 узла. У растений, размноженных вегетативным способом такой принцип ветвления наблюдается от самого основания побегов.

В традиционных технологиях производства посадочного материала винограда часто сталкиваются с плохой укореняемостью сортов, в генотипе которых присутствует доля североамериканских видов. У таких сортов при нарезке зеленых и одревесневших черенков рекомендуется удалять нижнюю часть симподиального узла с диафрагмой или использовать моноподиальные узлы без диафрагмы, так как она может сдерживать перемещение гормоноподобных веществ и регуляторов роста.

Мы предположили, что технология клонального микроразмножения определенным образом влияет на морфологические особенности растений регенерантов и позволяет легко их размножать *in vitro* и *ex vitro*. При размножении *in vitro* двух сортов и подвоя винограда наши исследования показали, что на этапах мультипликации и ризогенеза во всех узлах микропобегов не было диафрагмы и все узлы моноподиальные, поэтому *in vitro* растения легко размножать элонгацией и делением микропобегов на микрочеренки с дальнейшим их укоренением.

На 40 сутки *этапа адаптации* после у всех исследуемых растений во всех 6 узлах побегов отсутствовала диафрагма и узлы были моноподиальные, что объясняет, успешное размножение данных растений зелеными черенками без применения стимуляторов корнеобразования.

При дальнейшем развитии исследуемых *ex vitro* растений в контейнерах в условиях закрытого грунта только на 120 сутки доращивания при препарировании побегов удалось произвести качественную фотофиксацию перехода к симподиально-моноподиальному типу ветвления и выявлено, что у всех исследуемых растений он начинается на уровне 5-6 узлов (рисунок 1).

Таким образом, выявлено, что у всех исследуемых сортов винограда Кишмиш №342, Московский белый и подвоя Кобер 5ББ на этапе мультипликации микрорастения характеризуются моноподиальным типом ветвления побегов, который сохраняется до 40 дня этапа адаптации к нестерильным условиям, что, вероятно, обуславливает их лучшую способность к ризогенезу. На 120 день доращивания растений в контейнерах в условиях защищенного грунта был выявлен переход побегов к симподиально-мооподиальному типу ветвления на уровне 5-6 узлов.

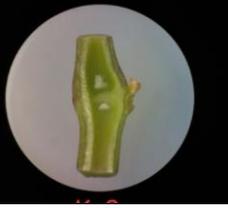
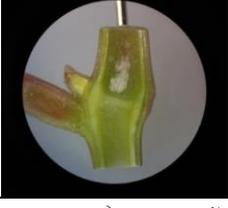
	Кобер 5ББ	Кишмиш №342	Московский белый
1 узел			
	<i>моноподиальный</i>	<i>моноподиальный</i>	<i>моноподиальный</i>
2 узел			
	<i>моноподиальный</i>	<i>моноподиальный</i>	<i>моноподиальный</i>
3 узел			
	<i>моноподиальный</i>	<i>моноподиальный</i>	<i>моноподиальный</i>
4 узел			
	<i>моноподиальный</i>	<i>моноподиальный</i>	<i>моноподиальный</i>
5 узел			
	<i>симподиальный</i>	<i>моноподиальный</i>	<i>моноподиальный</i>
6 узел			
	<i>симподиальный</i>	<i>симподиальный</i>	<i>симподиальный</i>
7 узел			
	<i>моноподиальный</i>	<i>симподиальный</i>	<i>симподиальный</i>

Рисунок 1 - Продольные срезы узлов опытных микрорастений после 120 дней культивирования на этапе адаптации

2. Ускоренное размножение *ex vitro* растений винограда в условиях защищенного грунта

2.1. Зеленое черенкование *ex vitro* растений

Известно, что одним из преимуществ технологии клонального микроразмножения является увеличение способности к вегетативному размножению после прохождения растений через культуру *in vitro*. При адаптации приживаемость составила 95-100%, что позволило получить 290-306 растений с 1 м² площади адаптационной теплицы. На 40 день адаптации благодаря моноподиальному типу ветвления укореняемость зеленых черенков составила 81-90%, что дало возможность дополнительно получить с 1 м² 247-275 укорененных черенков. На 120 день доращивания в контейнерах С2 выявлен переход растений к симподиально-моноподиальному типу ветвления, что способствовало снижению укореняемости зеленых черенков до 65-76%, при этом было получено 1321-1413 укорененных черенков. В итоге при такой технологии ускоренного размножения *ex vitro* растений винограда суммарно с 1 м² площади теплиц для адаптации микрорастений было получено растений: у сорта Кишмиш №342 – 1655 шт., у сорта Московский белый – 1568 шт., у подвоя Кобер 5ББ – 1688 шт. (таблица 2).

Таблица 2 - Укореняемость зеленых черенков адаптированных *ex vitro* растений винограда сорта Кишмиш №342 после 40 суток адаптации и 120 доращивания в контейнерах в условиях закрытого грунта

Схема размножения	Киш-миш №342	Москов-ский белый	Кобер 5ББ
<i>Этап адаптации (на 1 м² в кассетах 49-Ф высаживали 306 растений)</i>			
Приживаемость микрорастений на этапе адаптации, %	100	98	95
Выход адаптированных растений с 1 м ² площади теплиц, шт./м ²	306	299	290
Укореняемость зеленых черенков <i>ex vitro</i> растений, %	85	81	90
Выход укорененных черенков с 1 м ² площади теплиц, шт./м ²	260	247	275
Суммарное количество растений с 1 м ² площади теплиц, шт./м ²	566	546	565
<i>Этап доращивания (на 1 м² размещали 49 контейнеров С2)</i>			
Площадь доращивания м ² (из расчета 49 контеров/м ²)	6,2	6,1	5,9
Выход зеленых черенков для высадки на укоренение с учетом адаптированных растений на 1 м ² теплицы для адаптации, шт.	1836	1 943	2 175
в т.ч. с 1 м ² теплицы для доращивания, шт./м ²	294	318	367
Укореняемость, %	76	68	65
Всего укорененных черенков, шт.	1395	1321	1413
в т.ч. с 1 м ² теплицы для доращивания, шт./м ²	191	216	279
Итого саженцев категории элитные за две волны черенкования, шт.	1655	1568	1688

Таким образом, было подтверждено предположение о том, что у растений, полученных на основе технологии клонального микроразмножения повышается способность к вегетативному размножению. По данной тематике разработано ноу-хау и заключён неисключительный лицензионный договор на право использования результатов интеллектуально деятельности с компанией «Future Flora Lab».

2.2. Применение биоконплекса Revitalize liquid для размножения *ex vitro* растений зелеными черенками

Далее актуально было разработать приемы увеличения эффективности технологии зеленого черенкования на 120 день доращивания *ex vitro* растений в контейнерах при подготовке зеленых черенков к укоренению их в течении 20 минут вымачивали в препарате Revitalize liquid (25 мл/л).

В наших экспериментах для лучшей наглядности результатов опыта при учетах приживаемости и развития *ex vitro* растений винограда мы проводили не только учет морфометрических показателей развития, но и ввели группировку по долям (%) с различным развитием: сильным, средним и слабым в связи с отсутствием упоминания в действующем ГОСТ 31783-2012 упоминания о таких категориях посадочного материала как адаптированные *ex vitro* растения и их вегетативное потомство. В результате была выявлена сортовая реакция на разрабатываемые приемы.

У сорта винограда Кишмиш №342 достоверные различия с контролем получены в варианте с применением препарата Revitalize liquid (укореняемость и доля растений с сильным развитием - 100% по сравнению 62,5 и 80,0% соответственно). Подвой Кобер 5ББ оказался не отзывчив на разрабатываемые приемы и в варианте с применением препарата Корневин укореняемость, и доля растений с сильным развитием составила 100%. (таблица 3).

Таблица 3 - Укореняемость и качественные показатели укоренённых зелёных черенков сорта Кишмиш №342 на 40 сутки адаптации

	Укореняемость, %	Доля растений с сильным развитием, %	Суммарная площадь листьев, см ²	Средняя длина побегов, см	Средняя суммарная длина корней, см
сорт Кишмиш №342					
Б/о (контроль)	76,0	80,0	38,2±9,53*	12,0±3,04	63,8±10,08
Корневин	87,5	28,6	24,9±13,99	8,3±2,78	58,0±11,69
Revitalize liquid	100	100,0	47,4±4,27	16,9±1,73 ^{a**}	83,9±4,49 ^a
Корневин + Revitalize liquid	100	37,5	27,8±14,31	8,8±3,28	60,4±12,51
НСР ₀₅	×	×	10,00	2,28	9,25
подвой Кобер 5ББ					
Б/о (контроль)	65,0	100,0	31,9±10,67*	12,3±1,22	41,0±9,81
Корневин	100,0	100,0	34,9±10,33	13,1±1,69	53,6±3,50 ^{a**}
Revitalize liquid	100,0	44,4	26,0±13,38	8,7±5,37	41,2±10,51
Корневин + Revitalize liquid	88,9	62,5	24,3±9,48	9,0±4,57	44,4±5,44
НСР ₀₅	×	×	F _φ < F _T	2,19	5,03

Н

С * результаты выражены как среднее значение ± среднеквадратическое отклонение

Р **«а» - разница между средними с контролем достоверна на основе сравнения разниц между средними с НСР на 5% уровне значимости по фактору а (способ обработки черенков)

5

рассчитана при помощи однофакторного дисперсионного анализа

Таблица 4 - Итоговый выход укорененных зеленых черенков сорта Кишмиш №342 с сильным развитием, нарезанных с 1 м² теплицы для доращивания *ex vitro* растений и при применении препарата Revitalize liquid (25 мл/л)

Вариант	Приживаемость микро-растений на этапе адаптации, %	Выход адаптированных растений с 1 м ² площади теплиц, шт./м ²	Выход зеленых черенков для высадки на укоренение с 1 м ² теплицы для доращивания, шт./м ²	Укореняемость зеленых черенков <i>ex vitro</i> растений, %	Количество укорененных зеленых черенков, шт./м ²	Доля растений с сильным развитием, %	Количество растений с сильным развитием, %, шт.
сорт Кишмиш №342							
Б/о (контроль)	100	306	1836	76,0	1395	80,0	1116
Корневин				87,5	1606	28,6	459
Revitalize liquid				100,0	1836	100,0	1836
Корневин + Revitalize liquid				100,0	1836	37,5	688
подвой Кобер 5ББ							
Б/о (контроль)	95	290	2175	65,0	1414	100,0	1414
Корневин				100,0	2175	100,0	2175
Revitalize liquid				100,0	2175	44,4	965
Корневин + Revitalize liquid				88,9	1933	62,5	1208

При проведении расчетов итогового выхода укорененных зеленых черенков адаптированных *ex vitro* растений с сильным развитием с 1 м² теплиц для доращивания у сорта Кишмиш №342 в варианте с применением препарата Revitalize liquid без дополнительных стимуляторов корнеобразования доля растений с сильным развитием в 1,7 раза превысила показатели контроля без обработки (1836 шт. против 1116 шт.) и в 6 раз с учетом адаптированных растений на 1 м² теплицы для адаптации увеличился 6,0 раз (1836 шт. против 306 шт.). У подвоя Кобер 5ББ в контроле без регуляторов роста и при обработке ростовой пудрой корневин получено в 1,5 раза больше растений с сильным развитием, чем в контроле без обработки (2175 шт. против 1414 шт.) (таблица 4).

Таким образом, при разработке приемов увеличения эффективности технологии зеленого черенкования, сорт винограда Кишмиш №342 оказался отзывчив на применение препарата Revitalize liquid (25 мл/л), при этом выход укорененных зеленых черенков с учетом адаптированных растений на 1 м² теплицы для адаптации увеличился 6,0 раз и в 1,7 раз превысил показатели контроля без обработки. При размножении подвоя Кобер 5ББ в варианте с ростовой пудрой Корневин получено в 1,5 раза больше растений с сильным развитием, чем в контроле. По данной тематике разработано ноу-хау и заключён неисключительный лицензионный договор на право использования результатов интеллектуальной деятельности с компанией «Future Flora Lab».

2.3. Доращивание и размножение *ex vitro* растений винограда в условиях открытого грунта

2.3.1. Влияние способа вегетативного размножения на показатели развития в условиях открытого грунта и повышение способности к вегетативному размножению одревесневшими черенками

В настоящее время мало изучен вопрос влияния способа вегетативного размножения на показатели развития маточных насаждений винограда в условиях открытого грунта, поэтому в течение 3 лет мы проводили эксперименты с доращиванием растений, размноженных традиционными способами и *in vitro*.

В первый год возделывания сорта Кишмиш 342 наблюдали преимущество развития растений, размноженных одревесневшими черенками. Однако на второй и третий год культивации выявили преимущество развития *ex vitro* растений по суммарной длине побегов (на 2 год - 179,2 см против 143,2 см в контроле; на 3 год - 424,1 см против 322,8) и выходу одревесневших черенков с маточного растения (на 3 год - 14,4 шт. против 11,5 шт. в контроле; на 3 год - 34,7 шт. против 26,5 шт.).

Что касается последствий в способности к укоренению, то в течение всех трех лет исследований наблюдали преимущество *ex vitro* растений, от которых с 10 маточных растений суммарно было получено 452 стандартных саженца по сравнению с 211-253 саженцами от растений, размноженных традиционными способами (таблица 5).

Таблица 5 – Влияние способа размножения маточных растений винограда сорта Кишмиш №342 на итоговый выход саженцев из одревесневших черенков, соответствующих ГОСТ 31783-2012 полученных с 10 маточных растений

Способ вегетативного размножения маточных растений	Выход одревесневших черенков с 10 маточных растений, шт.	Укореняемость, %	Кол-во укорененных одревесневших, шт.	Доля саженцев, соответствующих ГОСТ 31783-2012, %	Кол-во саженцев, соответствующих ГОСТ 31783-2012, шт.
1-летние саженцы, высаженные из контейнеров					
одревесневшие черенки (контроль)	61	62,0	38	55,0	21
<i>in vitro</i>	46	82,7	38	60,0	23
зеленые черенки	33	70,8	23	43,0	10
2-летние растения					
одревесневшие черенки (контроль)	115	64,1	74	86,0	63
<i>in vitro</i>	144	90,9	131	90,0	118
зеленые черенки	93	77,2	72	83,0	60
3-летние растения					
одревесневшие черенки (контроль)	265	67,1	178	95,0	169
<i>in vitro</i>	347	92,8	322	100,0	322
зеленые черенки	196	78,1	153	92,0	141
ИТОГО саженцев, соответствующих ГОСТ 31783-2012 (шт.) суммарно за 3 года возделывания полученных:					
Одревесневшие черенки (контроль)					253
Микроразмножение <i>in vitro</i>					452
Зеленые черенки					211

Сорт Московский белый отличается более сдержанным ростом и только на третий год культивации проявилось достоверное преимущество показателей развития растений, размноженных *in vitro* по суммарной длине побегов (307,1 см против 221,9 см в контроле) и выходу одревесневших черенков с 1 маточного растения (25,2 шт. против 18,1 шт. в контроле).

Что касается последствий в способности к укоренению одревесневших черенков, с каждым последующим годом возделывания маточных растений доля полученных от них стандартных саженцев увеличивалась и наблюдали преимущество маточных растений размноженных *in vitro*, от которых на 3 год возделывания было получено 90,0 % укорененных черенков, из которых 98,0 % соответствовали ГОСТ 31783-2012, и суммарно за три года было получено 274 стандартных саженца по сравнению с 140-146 саженцами от маточных растений, размноженных традиционными способами (таблица 6).

Таблица 6 - Влияние способа размножения маточных растений винограда сорта Московский белый на итоговый выход саженцев из одревесневших черенков, соответствующих ГОСТ 31783-2012 полученных с 10 маточных растений

Способ вегетативного размножения маточных растений	Выход одревесневших черенков с 10 маточных растений, шт.	Укореняемость, %	Кол-во укорененных одревесневших, шт.	Доля саженцев, соответствующих ГОСТ 31783-2012, %	Кол-во саженцев, соответствующих ГОСТ 31783-2012, шт.
1-летние саженцы, высаженные из контейнеров					
одревесневшие черенки (контроль)	21	59,5	13	46,8	6
in vitro	17	80,2	14	54,0	7
зеленые черенки	12	72,5	9	40,9	4
2-летние растения					
одревесневшие черенки (контроль)	73	61,5	45	79,1	35
in vitro	83	88,2	73	86,4	63
зеленые черенки	56	79,0	44	73,9	33
3-летние растения					
одревесневшие черенки (контроль)	181	64,4	117	90,3	105
in vitro	252	90,0	227	98,0	204
зеленые черенки	151	79,9	121	85,6	103
ИТОГО саженцев, соответствующих ГОСТ 31783-2012 (шт.) суммарно за 3 года возделывания полученных:					
Одревесневшие черенки (контроль)					146
Микроразмножение in vitro					274
Зеленые черенки					140

Таким образом, выявлено преимущество применения технологии клонального микроразмножения при производстве саженцев для закладки маточных насаждений винограда. У сорта Кишмиш №342 выявлены достоверные различия с контролем по показателям развития начиная со 2 года возделывания, а у сорта Московский белый – с 3 года возделывания, на фоне высокой способности к укоренению одревесневших черенков и доли саженцев, соответствующих ГОСТ 31783-2012, у обоих сортов в 1,8-2,1 раза по количеству превосходящих показатели традиционных способов вегетативного размножения.

2.3.2. Влияние корневых подкормок и внекорневых обработок *ex vitro* растений винограда бикомплексом Revitalize liquid на показатели развития в полевых условиях

Растения винограда, размноженные зелёными черенками и при помощи технологии клонального микроразмножения, как правило, в первый год доращивают в контейнерах в условиях защищённого грунта, т.к. зачастую наблюдается гибель таких растений при перезимовке в условиях открытого грунта даже при обеспечении укрытия.

В условиях Нечерноземной зоны посадку контейнерных растений винограда в условия открытого грунта целесообразно проводить во второй половине июня, когда минует риск возвратных заморозков, однако при этом растения попадают в неблагоприятные абиотические условия, связанные с инсоляцией, высокой температурой, низкой влажностью почвы и воздуха, что снижает приживаемость и морфометрические показатели развития растений.

Мы предположили, что бикомплекс Revitalize liquid окажет положительное влияние на развитие двухлетних *ex vitro* растений при их пересадке из контейнеров в условия открытого грунта. При учёте после 60 суток доращивания *ex vitro* растений выявлено, что проведение подкормок оказывает положительное влияние на показатели развития сортов Кишмиш №342 и Московский белый, не оказывая достоверного влияния на показатели развития подвоя Кобер 5ББ.

При этом выявлена сортовая реакция исследуемых сортов на разрабатываемые приемы. Сорт винограда Кишмиш №342 оказался более отзывчивым на проведение комбинированных обработок при проведении которых были получены достоверные различия с контролем по суммарной площади листьев (1278,7 см² против 708,0 см² в контроле), средней длине побегов (74,0 см против 46,0 см в контроле) и суммарной длине побегов (94,7 см против 44,7 см в контроле). Сорт винограда Московский белый оказался более отзывчив как на проведение внекорневых обработок, так и на проведение корневых подкормок, т.к. в этих вариантах получены достоверные различия по суммарной площади листьев (1361,9 – 1455,0 см² против 793,2 см² в контроле) и средней длине побегов (48,4 - 48,8 см против 25,8 см в контроле). Однако, следует отметить, что лучшим развитием отличались растения в варианте с корневыми подкормками, при проведении которых выявлено достоверное преимущество не только по суммарной площади листьев и средней длине побегов, но и по средней суммарной длине побегов (144,5 см против 58,1 см в контроле) (таблица 7).

Таким образом, для доращивания в условиях открытого грунта *ex vitro* растений сорта Кишмиш №342 эффективно проводить двукратные комбинированные обработки (при пересадке и спустя 14 суток) препаратом Revitalize liquid (корневая подкормка в концентрации 1:40 и внекорневая обработка в концентрации 1:1), при проведении которых показатели развития растений в 1,8-2,1 раз превышают показатели контроля. Для доращивания *ex vitro* растений сорта Московский белый – перспективно проведение двукратных корневых подкормок (в концентрации 1:40), при проведении

которой показатели развития растений в 1,8-2,5 раз превышают показатели контроля.

Таблица 7 - Влияние обработок бикомплексом Revitalize liquid на показатели развития *ex vitro* растений винограда (60 суток доращивания)

Вариант подкормки Revitalize liquid (фактор В)	Сорт (фактор А)			Среднее по фактору А
	Кишмиш № 342	Московский белый	Кобер 5ББ	
1	2	3	4	5
Суммарная площадь листьев, см ²				НСР _{05a} =382,26
Б/о (контроль)	708,0±341,59*	793,2±210,09	2080,0±214,62 ^a	1193,7
Внекорневая	502,1±175,73	1361,9±377,14 ^{a,b**}	1835,8±303,74 ^a	1233,2
Корневая	667,0±327,33	1455,0±751,79 ^{a,b,ab}	1706,6±79,41 ^a	1276,2
Комбинированная	1278,7±322,58 ^{a,b}	554,3±315,34	2033,5±398,83 ^a	1288,8
Среднее по фактору В НСР _{05 b} = 455,47	1051,9	1041,1	1914,0	×
НСР _{05 ab} = 566,07 для частных различий				
Число побегов, шт.				НСР _{05a} =0,61
Б/о (контроль)	1,0±0,0	2,3±0,6 ^a	1,7±0,6 ^a	1,7
Внекорневая	1,0±0,0	2,0±0,0 ^a	2,3±1,5 ^a	1,8
Корневая	1,3±0,6	3,0±1,0 ^a	2,0±0,0 ^a	2,1
Комбинированная	1,7±1,2	1,7±0,6	2,3±0,6	1,9
Среднее по фактору В НСР _{05 b} = 0,76	1,3	2,3	2,1	×
НСР _{05 ab} = 1,25 для частных различий				
Средняя длина побегов, см				НСР _{05a} =15,54
Б/о (контроль)	46,0±7,09 ^a	25,8±5,61	78,9±17,70 ^a	50,2
Внекорневая	58,0±15,62	48,4±6,00 ^b	77,2±42,50 ^a	61,2
Корневая	54,3±8,94	48,8±27,66 ^b	74,8±5,35 ^a	59,3
Комбинированная	74,0±27,07 ^{a,b}	30,1±10,19	85,2±15,34 ^a	63,1
Среднее по фактору В НСР _{05 b} = 16,38	58,1	38,3	79,0	×
НСР _{05 ab} = 30,52 для частных различий				
Суммарная длина побегов, см				НСР _{05 a} =7,43
Б/о (контроль)	44,7±7,09	58,1±0,06	125,1±26,52 ^a	75,7
Внекорневая	58,0±15,62	96,8±12,01 ^a	137,7±16,62 ^a	97,5
Корневая	74,0±38,86	144,5±98,49 ^{a,b}	149,7±10,69 ^a	122,7
Комбинированная	94,7±8,54 ^{a,b}	53,9±30,96	204,0±86,19 ^{a,b,ab}	117,5
Среднее по фактору В НСР _{05 b} = 46,83	67,9	88,3	154,1	×
НСР _{05 ab} = 74,35 для частных различий				

НСР₀₅ рассчитана при помощи двухфакторного дисперсионного анализа

* результаты выражены как среднее значение ± среднеквадратическое отклонение

**«a,b,ab» - разница между средними с контролем достоверна на основе сравнения разниц между средними с НСР на 5% уровне значимости: «a» - по фактору а (сорт), «b» - по фактору b (концентрация Revitalize liquid), «ab» - при взаимодействии факторов.

2.3.3. Применение Пероксид М агро и Revitalize liquid при подготовке субстратов для размножения зелеными *ex vitro* растений, содержащихся в условиях открытого грунта

Таблица 8 - Эффективность применения препаратов Пероксид М агро и Revitalize liquid для подготовки субстратов перед высадкой зелёных черенков ex vitro растений винограда сорта Кишмиш №342

Концентрация Revitalize liquid, мл/л (фактор В)	Концентрация Пероксид М агро, мл/л (Фактор А)				Среднее по фактору А
	Б/о (контроль)	25,0	50,0	100,0	
Укореняемость, %					
Б/о (контроль)	73,3	73,3	50,0	66,7	65,8
Revitalize liquid 12,5	93,3	46,7	76,7	66,7	70,9
Revitalize liquid 25,0	80,0	50,0	60,0	73,3	65,8
Revitalize liquid 50,0	83,3	70,0	60,0	86,7	75,0
Среднее по фактору В	82,5	60,0	61,7	73,4	×
Средняя масса корней, г					НСР _{05а} = 1,94
Б/о (контроль)	13,5±3,84*	13,6±4,43	19,9±4,90 ^а	15,9±4,80 ^а	13,5
Revitalize liquid 12,5	15,5±4,77 ^{б**}	15,8±4,95 ^б	15,7±5,66	13,4±3,35	14,9
Revitalize liquid 25,0	15,2±4,83	17,4±4,37 ^{а,б}	18,4±4,61 ^а	13,2±4,08	16,3
Revitalize liquid 50,0	14,0±5,13	17,0±4,08 ^{а,б}	15,6±4,14	14,0±6,66	15,5
Среднее по фактору В НСР ₀₅ b = 2,03	14,5	15,9	15,8	13,5	×
НСР ₀₅ ab - 3,41 для сравнения частных средних					
Средняя длина корней, см					НСР _{05а} = 1,68
Б/о (контроль)	8,7±2,11	7,6±2,51	10,5±4,90 ^а	9,0±4,80	8,7
Revitalize liquid 12,5	9,0±2,47	7,5±2,25	8,5±2,58	9,9±2,12	8,7
Revitalize liquid 25,0	10,9±2,24 ^б	8,9±2,31 ^б	9,9±2,24	9,2±2,22	9,3
Revitalize liquid 50,0	8,8±2,18	8,2±2,90	7,6±1,56	9,6±1,36	8,4
Среднее по фактору В НСР ₀₅ b - 0,97	9,4	8,3	8,7	9,3	×
НСР ₀₅ ab - 1,63 для сравнения частных средних					
Средняя длина прироста, см					НСР _{05а} = 4,96
Б/о (контроль)	11,0±8,36	7,1±13,50	19,7±12,88 ^а	14,5±11,63	11,0
Revitalize liquid 12,5	16,8±12,22 ^б	8,3±9,26	19,5±13,82	13,8±11,30	13,9
Revitalize liquid 25,0	15,4±13,21	22,1±14,04 ^{а,б}	17,2±14,23	16,3±11,37	18,5
Revitalize liquid 50,0	13,3±12,15	13,1±13,68 ^б	11,5±9,67	18,0±12,65	14,2
Среднее по фактору В НСР ₀₅ b - 4,97	14,1	13,6	14,8	14,8	×
НСР ₀₅ ab - 8,40 для сравнения частных средних					

НСР₀₅ рассчитана при помощи двухфакторного дисперсионного анализа

* результаты выражены как среднее значение ± среднее квадратическое отклонение

**«a,b,ab» - разница между средними с контролем достоверна на основе сравнения разниц между средними с НСР на 5% уровне значимости: «а» - по фактору а (концентрация Пероксид М агро), «b» - по фактору b (концентрация Revitalize liquid), «ab» - при взаимодействии факторов

При подготовке субстратов укоренения зеленых черенков ex vitro растений винограда определяли эффективные концентрации синергетического эффекта препарата Пероксид М агро действие которого нацелено на уничтожение патогенной микрофлоры, насыщение субстрата кислородом и макроэлементами и бикомплекса Revitalize liquid.

В результате исследований лучшая укореняемость выявлена в вариантах без применения препарата Пероксид М агро 80,0-93,3% в сравнении с 73,3% в контроле. Что касается достоверных различий по фактору b (концентрация препарата Revitalize liquid), то в концентрации 12,5 мл/л препарат оказал достоверное влияние на среднюю длину приростов, которая составила 16,8 см против 11,0 см в контроле и среднюю массу корней – 15,5 г против 13,5 г. В концентрации 25,0 мл/л - на среднюю длину корней: 10,9 см против 8,7 см в контроле (таблица 8).

Таким образом, нами была выявлена эффективность пролива субстрата перед высадкой зелёных черенков *ex vitro* растений винограда сорта Кишмиш №342 препаратом Revitalize liquid в концентрации 12,5 и 25 мл/л при применении которого укореняемость составила 80,0-93,3 % по сравнению с 73,3 % в контроле и получены достоверные различия с контролем по средней длине приростов и корней, а также по средней массе корней.

3. Оценка экономической эффективности древесного черенкования винограда в зависимости от технологии производства маточных растений

При оценке экономической эффективности древесного черенкования винограда в зависимости от технологии производства маточных растений были составлены технологические карты производства саженцев с закрытой корневой системой соответствующих ГОСТ 31783-2012. При этом были составлены технологические карты древесного черенкования винограда и произведен расчет выхода укорененных одревесневших черенков с 0,1га площади маточных насаждений, расчет стоимости валовой продукции саженцев винограда с учетом 5 % потерь при доращивании, в результате выявлены затраты на производство, уровень рентабельности и окупаемость затрат.

В результате эффективность технологии клонального микроразмножения при производстве посадочного для закладки маточных насаждений у обоих исследуемых сортов винограда (Кишмиш №342, Московский белый) в увеличении уровня рентабельности произведенного с них древесного черенкования. При этом уровень рентабельности составил 121,2-123,6% против 112,6-119,0% в остальных вариантах, окупаемость затрат при этом составила 2,21-2,24 руб. против 2,13-2,19 руб. в опытных вариантах (таблица 9).

Таким образом, экономически обоснована эффективность технологии клонального микроразмножения при производстве посадочного для закладки маточных насаждений сортов винограда Кишмиш №342, Московский белый. В результате на третий год эксплуатации итоговый выход саженцев с закрытой корневой системой, соответствующих требованиям ГОСТ 31783-2012 полученных с 0,1 га маточных насаждений составил 358-508 шт. по сравнению 184-280 шт. при производстве посадочного для закладки маточных насаждений традиционными способами, уровень рентабельности производства составил 121,2-123,6% против 112,6-119,0%, окупаемость затрат - 2,21-2,24 руб. против 2,13-2,19 руб.

Таблица 9 – Экономическая эффективность древесного черенкования винограда в зависимости от технологии производства маточных растений (расчет на 0,1 га площади маточных насаждений)

Показатели		Сорт Кишмиш №342			Сорт Московский белый		
		Технология производства маточных растений					
		Древесное черенкование (контроль)	Клональное микро-размножение	Зеленое черенкование	Древесное черенкование (контроль)	Клональное микро-размножение	Зеленое черенкование
Выращено саженцев (учитывая 5 % потерь при доращивании), шт.		280	508	241	184	358	190
Прибавка количества саженцев, шт.		×	+227	-39	×	+174	+6
Затраты труда на выращивание саженцев, чел. час.	всего	30,95	56,15	26,64	20,34	39,57	21,00
Стоимость саженцев, руб.	всего	82 021,17	152 345,77	69 523,45	52 471,83	106 226,09	55 823,30
Затраты на производство саженцев, тыс.руб.	всего	37556,40	68138,04	32325,33	24679,92	48018,54	25484,7
Полная себестоимость 1 саженца винограда, руб	всего	134,13	134,13	134,13	134,13	134,13	134,13
Чистый доход, тыс.руб.	всего	44464,77	84207,73	37198,12	27791,91	58207,55	30338,60
	на 1 шт.	158,80	165,76	154,35	151,04	162,59	159,68
Дополнительный чистый доход, тыс.руб.	всего	×	+39742,96	-7266,65	×	+30415,64	+2546,69
Уровень рентабельности, %		118,4	123,6	115,1	112,6	121,2	119,0
Окупаемость, руб.		2,18	2,24	2,15	2,13	2,21	2,19

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате многолетних исследований 2018-2023гг. разработаны, усовершенствованы и испытаны элементы технологии клонального микроразмножения сортов винограда различного видового происхождения и выявлено их последствие на дальнейшее размножение маточных *ex vitro* растений в условиях защищенного и открытого грунта.
2. На этапе введения в стерильную культуру винограда (сорта Алёшенькин и Кишмиш №342) выявлено преимущество использования в качестве эксплантов меристематических апексов, что в 2,0-3,0 раза увеличивает их приживаемость.
3. Выявлено, что микрорастения винограда (сорта Кишмиш №342, Московский белый, Кобер 5ББ) на этапах мультипликации и ризогенеза характеризуются моноподиальным типом ветвления побегов, который обуславливает высокую способность к размножению, на этапе адаптации, начиная с 5-6 узлов, происходит переход растений к симподиально-моноподиальному типу ветвления.
4. Установлена возможность высокоэффективного тиражирования микрорастений винограда (сорта Кишмиш №342, Московский белый, Кобер 5ББ) на этапах адаптации и доращивания, увеличивающая выход посадочного материала в 5,5 раз (ноу-хау №2023054 от 21.12.2023г.).
5. Выявлена эффективность препарата Revitalize liquid (25 мл/л) для вымачивания зеленых черенков *ex vitro* растений винограда сорта Кишмиш №342 перед высадкой на укоренение, что повышает эффективность размножения в 6,0 раз (ноу-хау №2023054 от 21.12.2023г.).
6. Установлена стресспротекторная эффективность препарата Revitalize liquid при летней высадке растений в условия открытого грунта. Проведение комбинированных обработок растений сорта Кишмиш №342 и отдельно корневых подкормок растений сорта Московский белый способствует улучшению морфометрических показателей развития изучаемых сортов в 1,8-2,5 раз.
7. Установлено преимущество технологии клонального микроразмножения при производстве посадочного материала для закладки маточных насаждений винограда открытого грунта. Выход получаемого от них посадочного материала, соответствующего ГОСТ 31783-2012, в 1,8-2,1 раза превышает показатели с маточных растений, размноженных традиционными способами.
8. Выявлена эффективность препарата Revitalize liquid (в концентрациях 12,5 и 25 мл/л) при проливе субстрата перед высадкой зелёных черенков *ex vitro* растений винограда (сорт Кишмиш №342), что увеличило укореняемость до 80,0-93,3 % по сравнению с 73,3 % в контроле.
9. Технология клонального микроразмножения при производстве посадочного материала для закладки маточных насаждений винограда открытого грунта (сорта Кишмиш №342 и Московский белый), экономически эффективна. На третий год эксплуатации рентабельность по чистому доходу составила 154,7-197,5%, окупаемость затрат составила 2,55-2,98 руб.

Рекомендации производству

Специализированным селекционно-питомниководческим организациям при производстве посадочного материала сортов винограда различного видового происхождения экономически обосновано использовать для закладки маточных насаждений растения, полученные при помощи технологии клонального микроразмножения.

Для 2,0-3,0 кратного увеличения приживаемости стерильной культуры винограда при инициации рекомендуется в качестве эксплантов использовать меристематические апексы и помещать их на питательную среду по прописи Quoirin & Leroivge с добавлением 6-БАП (0,1 мг/л).

Размножение зелеными черенками *ex vitro* растений винограда различного видового происхождения на 40 и 120 сутки этапов адаптации и доращивания обеспечивает увеличение итогового выхода укорененных черенков с сильным развитием в 5,5 раз. У сорта Кишмиш № 342 вымачивание черенков перед высадкой в препарате Revitalize liquid (25 мл/л - 20 минут) обеспечивает увеличение итогового выхода в 6,0 раз.

Проведение комбинированных обработок водным раствором препарата Revitalize liquid (корневая подкормка (1:1) + внекорневая обработка (1:40) или корневых подкормок (1:40) при пересадке *ex vitro* растений винограда в условия открытого грунта обеспечивает повышение устойчивости к стрессам и увеличение морфометрических показателей развития в 1,8-2,5 раз.

Пролив субстрата перед высадкой зелёных черенков винограда на укоренение препаратом Revitalize liquid (12,5 и 25 мл/л) увеличивает укореняемость в 1,1-1,3 раза.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

1. Акимова, С.В. Морфо-биологические особенности формирования диафрагмы у *in vitro* и *ex vitro* растений винограда межвидового происхождения / С.В. Акимова, В.В. Киркач, А.К. Раджабов, Г.Э. Тер-Петросянц, М.Б. Панова, М.Ю. Ермолина // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. - 2021. - № 6. - С. 5-13
2. Раджабов, А.К. Результаты изучения элементного состава и качества виноматериалов из устойчивых сортов винограда нового поколения / А.К. Раджабов, Г.Э. Тер-Петросянц, Г.А. Фадеев // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. - 2022. - № 6. - С. 5-12.
3. Тер-Петросянц, Г.Э. Влияние технологии производства маточных растений винограда на их способность к вегетативному размножению / Г.Э. Тер-Петросянц, С.В. Акимова, А.К. Раджабов, А.В. Соловьев, Л.А. Марченко // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. - 2024. - № 1. - С. 53-67.

Публикации в изданиях из библиографической базы данных Scopus:

4. Akimova, S.V. Introduction of *in vitro* grapes of interspecific origin / S.V. Akimova, A.K. Radjabov, M.B. Panova, Y.V. Voskoboinikov, M.A. Ermorlina,

G.E.Ter-Petrosyants, V.V. Kirkach // В сборнике: Journal of Physics: Conference Series. 6. Сер. "6th Interdisciplinary Scientific Forum with International Participation "New Materials and Advanced Technologies", NМАТ 2020" 2021. С. 012047.

Публикации сборниках научных трудов, материалах конференций:

5. Ter-Petrosiants, G.E. Developpement des elements de technologie de la micropropagation et le greffage in vitro de la vigne en fonction de l'origine de son espece / G.E. Ter-Petrosiants // В сборнике: Материалы Всероссийской с международным участием научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 155-летию со дня рождения Н.Н. Худякова. сборник статей. Москва, 2021. С. 290-293.
6. Акимова, С.В. Введение в культуру in vitro винограда межвидового происхождения / С.В. Акимова, В.В. Киркач, А.К. Раджабов, М.Б. Панова, Г.Э. Тер-Петросянц // В сборнике: Перспективы развития садоводства и садово-паркового строительства. Москва, 2022. С. 48-56.

Авторские свидетельства, патенты:

7. Воскобойников, Ю.В. Коллекция винограда Тимирязевской академии / Ю.В. Воскобойников, Н.Ф. Зарук, Г.Э. Тер-Петросянц, Р.А. Мигунов // Свидетельство о регистрации базы данных RU 2021622539, 18.11.2021. Заявка № 2021622488 от 11.11.2021
8. Тер-Петросянц, Г.Э. «Коллекция субтропических и тропических растений Тимирязевской академии» / Г.Э. Тер-Петросянц, А.К. Раджабов, А.В. Зубков, С.В. Акимова // Свидетельство о регистрации базы данных RU 2023624732, 19.12.2023. Заявка от 05.12.2023.
9. Акимова, С.В. Способ ускоренного размножения ex vitro растений винограда межвидового происхождения / С.В. Акимова, Г.Э.Тер-Петросянц, А.В. Соловьев, А.К. Раджабов, Л.А. Марченко, Е.Г. Самощенко, А.Е. Буланов / свидетельство о регистрации в качестве ноу-хау результата интеллектуальной деятельности № 2023054. – зарегистрировано в Депозитарии ноу-хау при ФГБОУ ВО РГАУ МСХА им. К.А. Тимирязева на основе решения Научно-технического совета Университета от 21.12.2023 г.