

На правах рукописи



Ряго Нелли Васильевна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭЛЕМЕНТОВ ТЕХНОЛОГИИ РАЗМНОЖЕНИЯ
IN VITRO И АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ *EX VITRO* СОРТОВ СМОРОДИНЫ
КРАСНОЙ**

Специальность 4.1.2 – Селекция, семеноводство и биотехнология растений
(сельскохозяйственные науки)

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Москва – 2025

Диссертация выполнена в ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур" в 2022 – 2025 гг.

Научный руководитель: **Панфилова Ольга Витальевна**, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории селекции и сортоизучения смородины ФГБНУ ВНИИСПК

Официальные оппоненты: **Дубровский Максим Леонидович**, кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий лабораторией селекции слаборослых клоновых подвоев и других плодовых культур ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ

Сазонов Фёдор Фёдорович, доктор сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник отдела генетики и селекции садовых культур ФГБНУ ФНЦ Садоводства

Ведущая организация: ФГБУН "Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма"

Защита состоится 4 декабря 2025 г. в 10:00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.256.01, созданного на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» по адресу: 143080, Московская область, Одинцовский г.о., п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» и на сайте <https://vniissok.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета 24.1.256.01,
доктор сельскохозяйственных наук

Бондарева Людмила Леонидовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Ряд сортов смородины красной (*Ribes rubrum* L.) обладает комплексом адаптивных, хозяйственно-ценных признаков и представляет интерес для использования в селекционно-производственном плане (da Silva Pinto, 2010; Djordjević et al., 2014; Причко и др., 2017; Акимов и др., 2024). С 2018 по 2023 гг. в России наметилась тенденция к увеличению площади выращивания под данной культурой с 14811 га до 19484 га (<https://www.fao.org/faostat/ru>). Производственные потери, причиняемые фитовирусами на ягодных культурах, могут достигать 80-90% и приводить к ухудшению качества продукции, сокращению сроков эксплуатации насаждений (Рягузова, 2020). Методы, связанные с микроклональным размножением смородины красной, еще недостаточно проработаны. Ряд проблем связан с периодами введения в культуру, подбором эксплантов и питательных сред, стерилизацией, взаимосвязью между эксплантом и минеральным составом среды, выбором и концентрациями регуляторов роста, а также адаптацией микрорастений к нестерильным условиям (Кухарчик и др., 2016; Мацнева и др., 2024). Для обеспечения плавного перехода растений *in vitro* к культивированию в естественных условиях разрабатываются климатические камеры с регулируемыми параметрами. Оптимизация условий выращивания в них позволяет минимизировать потери ценных селекционных генотипов (Goto, 2012; Nelson, Bugbee, 2014; Hautsalo et al., 2018; Клименко, Павлова, 2018; Павлова, Клименко, 2019). Необходимость совершенствования элементов технологии микроклонального размножения сортов смородины красной и модуляция спектрального состава света в климатической камере на этапе адаптации микрорастений для ускорения селекционного и производственного процессов определили актуальность и востребованность данного исследования.

Цель исследований: оптимизация элементов технологии микроклонального размножения сортов смородины красной, как источников селекционных признаков, меристемным способом *in vitro* и адаптации микрорастений в условиях закрытых искусственных агроэкосистем.

Задачи исследований:

1. Определить влияние срока изоляции меристем на приживаемость с учетом онтогенеза растений на этапе введения *in vitro*;
2. Выявить наиболее эффективные стерилизующие агенты для санации эксплантов смородины красной;
3. Оптимизировать минеральный и гормональный состав питательных сред для максимальной реализации морфогенетического потенциала микрорастений;
4. Выявить действие регуляторов роста группы ауксинов на процесс ризогенеза;
5. Изучить влияние спектрального состава светодиодного освещения климатической камеры на морфофизиологические изменения растений *in vitro* на стадии адаптации к частично нестерильным условиям;
6. Рассчитать экономическую эффективность полного цикла микроклонального размножения смородины красной с использованием оптимизированных приемов адаптации микрорастений, полученных *in vitro*.

Научная новизна

Усовершенствованы элементы технологии микроклонального размножения смородины красной и регенерационной системы для индукции морфогенеза меристем за счет подбора оптимальных сроков введения в культуру с учетом стадии онтогенеза, обработок стерилизаторами растительных эксплантов и выбора компонентов питательных сред, максимально эффективных для культивирования растений *in vitro*. Доказано действие различных стерилизаторов (0,01% $C_9H_9HgNaO_2S$, 0,1 % $HgCl_2$, 12% H_2O_2 , 0,2% $AgNO_3$) на снижение распространения инфекционного заражения и некроза для получения оздоровленных эксплантов сортов смородины красной на этапе введения почек в культуру. Статистическим анализом показан положительный эффект воздействия $AgNO_3$ на коэффициент размножения и морфометрические показатели микрорастений. Изучено влияние повышенного в 2 раза содержания хелата железа в составе минеральных сред MS, QL, LF на процент приживаемости эксплантов и морфогенез микрорастений. Подобраны оптимальные концентрации цитокинина БАП на этапе пролиферации и концентрации ауксинов (ИУК, ИМК) на этапе укоренения микропобегов. Впервые

для данной культуры показаны преимущества комбинированного светодиодного освещения красным, зеленым, синим, дальне-красным и ультрафиолетовым (диапазон А) спектрами в повышении эффективности и сокращении сроков на адаптацию микрорастений к условиям *ex vitro*. Изучено влияние комбинированного светодиодного освещения различного спектрального состава и их процентного соотношения на этапе получения исходного материала на морфофизиологические процессы у сортов смородины красной, полученных *in vitro*. Впервые для данной культуры показана эффективность использования вегетационного индекса (Normalized Difference Vegetation Index) в оценке физиологического состояния и адаптации микрорастений.

Теоретическая значимость работы

Изучены особенности морфогенеза сортов смородины красной как исходного селекционного материала в зависимости от срока изоляции верхушечных почек. Получены новые сведения о влиянии разных стерилизаторов и времени их воздействия в защите эксплантов смородины красной от некроза и инфекции. Оптимизирован минеральный состав питательных сред (MS, QL, LF) для максимальной реализации, укоренения и размножения исходного материала сортов смородины красной. Впервые получены новые знания о влиянии спектрального состава света на этапе адаптации микрорастений к частично нестерильным условиям на морфофизиологические показатели смородины красной.

Практическая значимость работы

Усовершенствованы элементы технологии микроклонального размножения сортов смородины красной при использовании в качестве исходного материала для научно-производственных испытаний.

Повышение процента выхода жизнеспособных и обеззараженных микрорастений при использовании эффективных стерилизующих агентов на этапе введения. Снижение затрат и повышение рентабельности производства оздоровленного посадочного материала при использовании 0,5 мг/л БАП и экономичного структурообразователя питательной среды. Увеличение количества адаптированных оздоровленных растений «высших категорий качества» для

закладки базисных питомников при применении комбинированного спектрального состава света как энергосберегающей технологии и дозированной системы полива на этапе адаптации микрорастений. Результаты исследований испытаны в лаборатории биотехнологии ФГБНУ ВНИИСПК (дер. Жилина, Орловский р-н) и лаборатории исследований технологических свойств сельскохозяйственных материалов ФГБНУ ФНАЦ ВИМ (г. Москва). Полученные растения переданы в лабораторию селекции и сортоизучения смородины ФГБНУ ВНИИСПК, а также в КХ «Глория» (г. Орёл, тер. Лесопарк Андриабуж. Разработан и утвержден усовершенствованный протокол микроклонального размножения смородины красной.

Методология и методы исследования. Для решения поставленных задач исследования использован комплексный подход, включающий все этапы микроклонального размножения. При проведении экспериментов использованы методические рекомендации и публикации: G. Holm (1954), D. Wettstein (1957), Б.А. Доспехов (1972), Гавриленко и др. (1975), Н.К. Lichtenthaler (1987), М. Musiienko и др. (2001), Е.Н. Джигадло и др. (2005), J. Sedlák, F. Paprštejn (2012), С.С. Manole и др. (2012), Е. Dziedzic, J. Jagła (2013), Н.В. Кухарчик и др. (2016).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Выбор стерилизующего вещества и режима стерилизации на этапе введения в культуру апикальных меристем.

2. Влияние компонентов питательных сред и периода введения в культуру *in vitro* на рост и размножение смородины красной с учетом генетических особенностей.

3. Изменения морфофизиологических параметров микрорастений с учетом сорта и светодиодного освещения в климатической камере при адаптации к частично нестерильным условиям.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность исследований подтверждена 4-х летними исследованиями (2022-2025 гг.), проведенными лично или в соавторстве, большим объемом экспериментальных данных, статистически проанализированных с использованием современных

компьютерных программ. Результаты исследований были ежегодно представлены на отчетных сессиях ВНИИСПК, советах молодых ученых, заседаниях отделов и лабораторий института, а также Международных и Всероссийских научно-практических конференциях: «Актуальные вопросы и инновационные направления развития АПК глазами молодых ученых» (Орловский р-н., п. Стрелецкий, ФГБНУ ФНЦ ЗБК, 24-26.11.2021); «Наука без границ и языковых барьеров» (г. Орел, ФГБОУ ВО Орловский ГАУ им. Н.В. Парахина, 2-3.06.2022); «Достижения и перспективы молодых учёных в науке» (Орловский р-н, дер. Жилина, ФГБНУ ВНИИСПК, 21.10.2022); «Проблемы и основные направления развития селекции и сорторазведения плодовых и ягодных культур» (Орловский р-н, дер. Жилина, ФГБНУ ВНИИСПК, 1-2.08.2023); «Достижения и перспективы молодых учёных в науке» (Орловский р-н, дер. Жилина, ФГБНУ ВНИИСПК, 09.11.2023); «Связь науки и производства – главное направление деятельности молодых ученых» (г. Орел – г. Курск, ФГБНУ ФНЦ ЗБК, ФГБНУ «Курский ФАНЦ», ФГБНУ ВНИИСПК, 15.04.2024); «Актуальные направления сельскохозяйственной науки в работах молодых ученых» (г. Барнаул, отдел АНИИСХ, 24.07.2024); «Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки» (г. Симферополь, ФГБУН НИИСХ Крыма, 23-27.09.2024); «Регуляторы роста и развития растений в технологии современного растениеводства» (г. Орел, ФГБОУ ВО «ОГУ им. И.С. Тургенева», 28.03.2025).

Публикации результатов исследований

По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, в т.ч. 3 – в изданиях, входящих в перечень ВАК РФ, 1 – в изданиях, индексируемых международными базами данных Web of Science (Q1), Scopus (Q1), а также K1 «Белого списка».

Личный вклад. Подбор и анализ отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, методическая часть исследований, проведение экспериментальных работ выполнены соискателем лично.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 149 страницах компьютерного текста, состоит из введения, 4 разделов, заключения, рекомендаций для науки и производства. Содержит 19 таблиц, 27 рисунков. Список литературы включает 311 источников, в т.ч. 116 в зарубежных издательствах.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. Представлен обзор отечественной и зарубежной литературы по элементам технологии микрклонального размножения смородины на этапах получения растений *in vitro* и адаптации пробирочных растений к нестерильным условиям с учетом модуляции спектрального состава света в климатических камерах.

2. МЕСТО, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ. Работа выполнена в 2022-2025 гг. в лаборатории биотехнологии ФГБНУ ВНИИСПК (дер. Жилина, Орловский р-н) и лаборатории исследований технологических свойств сельскохозяйственных материалов ФГБНУ ФНАЦ ВИМ (г. Москва). Исследования проводили с учетом методических рекомендаций: Е.Н. Джигадло и др. (2005); E. Dziejcz, J. Jagła (2013); Н.В. Кухарчик и др. (2016). Объекты исследования: сорта смородины красной - Rolan, Rovada, Rote Hollandische (Red Dutch), Red Lake, Englische Grosse Weisse, Валентиновка, Мармеладница, Подарок лета. Условия культивирования: световой режим 16/8, освещенность 2500-3000 лк, температура +23...25±2°C, относительная влажность воздуха 50-60%. Исходный материал для введения - верхушечные почки однолетних побегов без кроющих чешуй. Изоляцию меристем проводили по фазам онтогенеза смородины красной: ранневесенняя (I декада марта, период вынужденного покоя почек); поздневесенняя (III декада мая - I декада июня, активный рост побегов); осенняя (III декада сентября - I декада октября, остановка роста побегов, подготовка к периоду покоя). Использовали «ступенчатую» поверхностную стерилизацию почек: проточная вода (40 мин.) → 70% C₂H₅OH (10 сек.) → дистиллированная вода (10 мин.) → стерилизатор (5-10 мин.) → дистиллированная вода (3×10 мин.) → 3 г/л аскорбиновой кислоты (для

предотвращения фенольного окисления). На этапе введения на среде MS с добавлением 1 мг/л БАП испытывали стерилизующие агенты: 0,1% HgCl_2 (10 мин.); 0,01% $\text{C}_9\text{H}_9\text{HgNaO}_2\text{S}$ (10 мин.); 12% H_2O_2 (5 мин.); 0,2% AgNO_3 (5 мин.). Лучший срок введения в культуру *in vitro* оценивали на среде MS с добавлением 1 мг/л БАП и стерилизатора 0,1% HgCl_2 . Для выбора оптимальной минеральной среды использовали среды: MS, QL, LF. Состав 3-х минеральных сред модифицировали, увеличив содержание $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{FeN}_3\text{NaO}_{10}$ в 2 раза по сравнению с концентрацией в исходной прописи MS. Питательные среды дополняли витаминами: 1,0 мг/л аскорбиновой кислоты; по 0,5 мг/л тиамин, пиридоксин, PP; 0,2 мг/л глицина, 4,2 г/л агар-агара, 30 г/л сахарозы, 20 мг/л антибиотика гентамицина на фоне pH 5,8-6,0. Влияние концентраций цитокинина БАП (0,2; 0,5; 0,8; 1,0; 1,5; 2,00 мг/л) на коэффициент размножения и высоту растений на этапе «собственно микроразмножение» определяли на среде MS в течение 4-х пассажей. Процент ризогенеза оценивали на среде MS с гормонами группы ауксинов с разной концентрацией: 0,5 мг/л ИМК; 1,0 мг/л ИМК; 0,5 мг/л ИУК; 1,0 мг/л ИУК; 0,5 мг/л ИМК + 0,5 мг/л ИУК. Проводили учеты морфометрических и биометрических показателей, процент жизнеспособных здоровых эксплантов, поражение некрозом и инфекцией, коэффициент размножения. Адаптация растений *in vitro* к нестерильным условиям проводилась в стеллажных помещениях с оптимальным микроклиматом при освещении люминесцентными лампами по схеме: 30 дней при 100% влажности, 10 дней при 70-80% влажности, 7 дней при 60% влажности. Учитывали высоту и процент адаптированных растений через 47 дней; -в климатической камере с комбинированными облучателями на основе светодиодов различного спектрального состава. Использовали 3 вариации освещения: белый свет светодиодов (СД-Б) с цветовой температурой 4000 К, процентное соотношение спектров 0УФ:16С:423:39К:3ДК; белый свет, красный спектр светодиодов с пиковой длиной волны 660 нм и ультрафиолетовый спектр в диапазоне А с пиковой длиной волны 375 нм (СД-БКУФ-А), процентное соотношение спектров 1УФ:13С:333:49К:4ДК; белый свет и красный спектры светодиодов с пиковой длиной волны 660 нм (СД-БК), процентное соотношение спектров 0УФ:13С:253:58К:4ДК. Световой период –

16/8 ч. Плотность потока фотосинтетических фотонов во всех вариантах составляла ~ 200 мкмоль $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$. Учитывали морфометрические показатели, содержание фотосинтетических пигментов, вегетационный индекс NDVI. Статистический анализ результатов проводился согласно методическим рекомендациям Б.А. Доспехова (1972), пакета программ Microsoft Excel 2016, SPSS 22.0. Для выявления достоверных различий между вариантами опыта использовали дисперсионный анализ (ANOVA) с критерием Тьюки ($p < 0,05$). Расчёт экономической эффективности проводили с учетом затрат на размножение, адаптацию и себестоимости полученных растений (Программа и методика сортоизучения..., 1999; Экономическая эффективность технических решений, 2016).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Влияние периода изоляции почек на этапе введения в культуру *in vitro*

Лучшие результаты приживаемости у всех сортов смородины красной были достигнуты при введении эксплантов в культуру *in vitro* в период вынужденного покоя (март). Количество жизнеспособных микрорастений варьировало от 57,80% до 89,90% (рисунок 1). Отмечена средняя сортовая вариация приживаемости эксплантов при введении в марте ($V=13,63\%$) и высокая – поражением некрозом ($V=26,77\%$) и инфекцией ($V=24,91\%$).

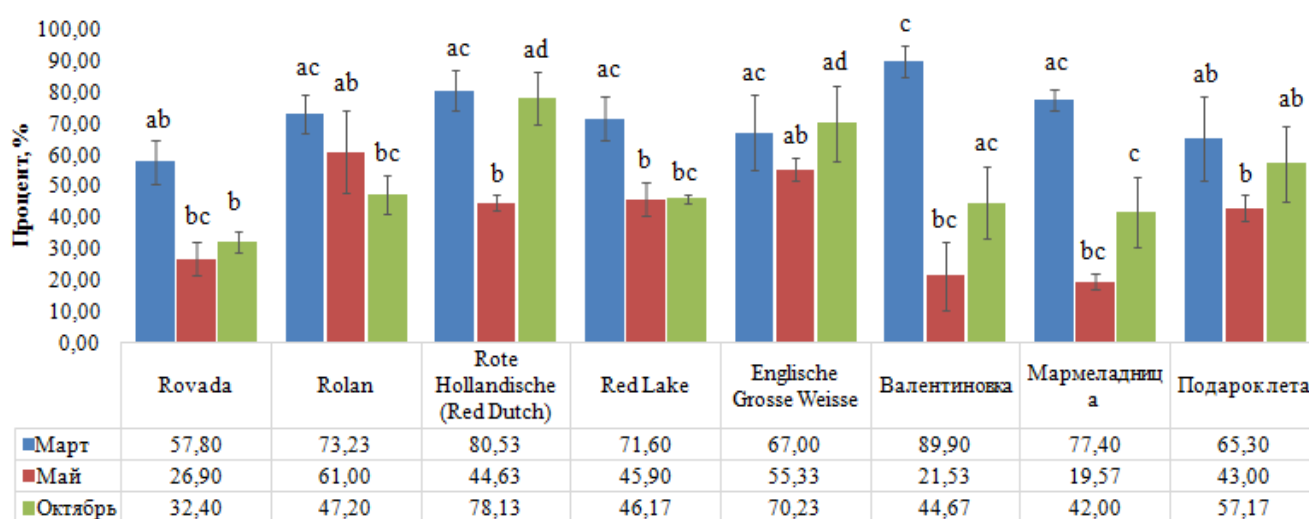


Рисунок 1 – Количество жизнеспособных эксплантов смородины красной в зависимости от периода введения в культуру *in vitro*, % (среднее за 2022-2024 гг.).

Значительный процент поражения некрозом и инфекцией (более 20%) от исходного количества эксплантов зафиксированы у сортов Rovada и Подарок лета. Введение в культуру в период активного роста побегов (май) было малоэффективным. Приживаемость снижалась более чем на 25% в сравнении с периодом вынужденного покоя (рисунок 1). Наблюдалось сильное развитие некроза и инфекции. По изучаемым признакам сортовая вариация в этот период была высокая – более 29,04%. К окончанию роста побегов (октябрь) приживаемость эксплантов была выше, чем в предыдущем периоде (май), но уступала ранневесеннему периоду в среднем на 28,27%. Сортовая вариация по данному признаку была значительной ($V=29,26\%$). Для сортов Rote Hollandische (Red Dutch), Englische Grosse Weisse и Подарок лета приживаемость в осенний период сохранялась на высоком уровне и была сопоставима с поздnezимним периодом ($p<0,05$). Сорты Rote Hollandische (Red Dutch), Englische Grosse Weisse на фоне высокого процента приживаемости эксплантов слабо поражались некрозом (до 20%) и инфекцией (до 10%). Введение в культуру *in vitro* осенью сопровождалось низким процентом инфекционного заражения (до 13,10%), но значительным отмиранием тканей у Rovada, Rolan, Red Lake, Валентиновка, Мармеладница, Подарок лета.

3.2. Подбор оптимальных стерилизаторов для развития эксплантов

Стерилизаторы 0,01% $C_9H_9HgNaO_2S$; 12% H_2O_2 ; 0,2% $AgNO_3$ и 0,1% $HgCl_2$ проявляли различный дезинфицирующий эффект на среде MS с регулятором роста 1 мг/л БАП. Высокий процент жизнеспособных микрорастений был получен с 0,2% $AgNO_3$ (5 мин.) от 77,80% до 91,70% и 0,1 % $HgCl_2$ (10 мин.) от 74,29% до 78,10%. Эти стерилизаторы снижали распространение инфекционного заражения до 2,50% и развитие некроза до 14,29% ($p<0,05$). При использовании 0,01% $C_9H_9HgNaO_2S$ (10 мин.) снижался процент образования некроза у всех изученных сортообразцов, но число здоровых эксплантов было ниже, чем при испытании 0,2% $AgNO_3$ и 0,1% $HgCl_2$. Экологически безопасный для растений стерилизатор 12% H_2O_2 (5 мин.) проявлял низкую эффективность в подавлении распространения инфекции и некроза. Процент здоровых эксплантов в опыте с 12% H_2O_2 был самым низким

($p < 0,05$). Для всех изученных сортов достоверно высокие значения коэффициента размножения получены при использовании стерилизатора 0,2% AgNO_3 .

3.3. Эффективность компонентов питательных сред на этапе пролиферации растений

3.3.1. Подбор минеральной среды для культивирования *in vitro*

Для всех изученных сортов более 54,15% приживаемости эксплантов получено на среде MS, коэффициент вариации был средним ($V=19,27\%$). Приживаемость эксплантов на среде QL уступала MS в среднем на 23,69% при средних значениях вариации по сортам ($V=18,70\%$). При использовании среды LF приживаемость снижалась в сравнении с MS на 41,72%, с QL – на 23,63%, показана значительная вариация по сортам ($V=30,25\%$). Процент жизнеспособных микрорастений в процессе пересадки растений ($R_0 \rightarrow R_2$) снижался независимо от компонентов питательной среды и сильно варьировал по сортам. Максимальный процент жизнеспособных микрорастений к R_2 пассажу получен на среде MS у сортов Rolan (58,35%), Rote Hollandische (Red Dutch) (44,85%). Приживаемость эксплантов на среде QL от R_0 к R_2 пассажу снижалась на 35,85-51,63% у сортов Мармеладница, Подарок лета, Валентиновка, Rolan и была ниже, чем на среде MS. При пересадке растений на среду LF процент приживаемости резко снижался в 2,0-2,5 раза от $R_0 \rightarrow R_2$ и у Подарка лета, Rote Hollandische (Red Dutch) отмечали развитие хлороза листьев. Коэффициент размножения растений варьировал по сортам и срокам пассажей. Модифицированный состав питательной среды MS повышал скорость пролиферации сортов и к R_4 пассажу коэффициент размножения варьировал от 1,57 шт./экспл. (Rovada) до 1,97 шт./экспл. (Подарок лета). У сортов Rote Hollandische (Red Dutch), Валентиновка, Мармеладница, Подарок лета на среде LF к R_3-R_4 пассажам было снижение коэффициента и в дальнейшем фиксировалась гибель эксплантов. Активный рост микропобегов у большинства сортообразцов отмечен на средах MS и для некоторых образцов на среде QL (Мармеладница), в дальнейшем эти растения имели оптимальные параметры для адаптации к нестерильным условиям (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние компонентов минеральной среды на высоту микрорастений R₄ пассажа, мм (2023-2024 гг.)

Сорт	MS	QL	LF
Rovada	4,17±0,15 b	2,08±0,61a	2,31±0,39 ac
Rolan	4,89±0,92 a	3,92±0,18 b	3,00±0,04 d
Rote Hollandische (Red Dutch)	4,31±0,47 ab	1,44±0,33 c	1,25±0,37 abc
Red Lake	5,00±1,01 a	1,75±0,44 c	1,69±0,06 ac
Englische Grosse Weisse	5,33±1,15 a	1,91±0,45 c	1,00±0,02 ac
Валентиновка	5,18±1,00 a	4,13±0,09 b	1,21±0,29 abc
Мармеладница	5,55±1,26 a	6,91±1,80 f	1,58±0,36 c
Подарок лета	6,12±1,59 a	4,00±0,07 b	1,59±0,55 c

3.3.2. Влияние концентрации БАП на морфогенез и коэффициент размножения

Использование 1 мг/л БАП на этапе введения после R₄ тормозило морфогенез. Поэтому целесообразно снизить его концентрацию до 0,5-0,8 мг/л и в дальнейшем определить оптимальную концентрацию БАП для оптимального роста и развития. Самые высокие микрорастения на протяжении 4-х пассажей получены в вариантах с добавлением 0,2 и 0,5 мг/л БАП (таблица 2). Дальнейшее повышение концентрации цитокинина от 0,8 до 2,00 мг/л в среде приводило к остановке ростовых процессов, особенно четко это наблюдалось к R₃ и R₄ пассажам.

Таблица 2 – Высота эксплантов смородины красной при разных концентрациях БАП, мм (среднее за 2023-2024 гг.)

Концентрация БАП, мг/л	Пассаж			
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	2	3	4	5
Englische Grosse Weisse				
0,2	6,94±1,76 ns	6,38±1,45 ns	6,41±1,61 ns	5,56±1,06 ns
0,5	5,88±1,39 ns	5,18±1,18 ns	6,15±1,48 ns	6,55±1,21 ns
0,8	6,00±1,39 ns	5,38±0,84 ns	4,64±0,72*	4,38±0,49*
1,0	6,03±1,40 ns	4,97±1,02 ns	4,44±0,71*	4,50±0,53*
1,5	6,00±1,33 ns	4,86±1,00 ns	3,92±0,50*	3,63±0,50*
2,0	5,76±1,40 ns	4,52±0,78 ns	3,86±0,85*	3,60±0,84*

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5
Подарок лета				
0,2	6,51±1,34 ns	6,21±1,51 ns	6,05±1,36 ns	6,24±1,11 ns
0,5	5,85±1,36 ns	6,03±1,21 ns	6,00±1,38 ns	5,82±1,57 ns
0,8	5,97±1,32 ns	5,28±1,04 ns	5,69±1,22 ns	5,70±1,34 ns
1,0	6,00±1,38 ns	5,51±0,89 ns	5,03±0,97 ns	4,50±0,51*
1,5	5,60±1,16 ns	4,92±0,98 ns	4,21±0,68*	4,71±0,73*
2,0	5,97±1,35 ns	4,80±0,76*	4,3±0,42*	4,00±0,08*

Примечание – Знак «ns» после значения одного сорта означает несущественные различия в соответствии с *T*-тестом; знак * – означает статистически значимые различия

Статистически доказано, что к концу R_4 пассажа при концентрации цитокинина 2,00 мг/л высота растений сорта Englische Grosse Weisse снижалась на 35,25%, для сорта Подарок лета - на 36,89% в сравнении с R_4 пассажем при концентрации цитокинина 0,2 мг/л.

Пролиферативная активность эксплантов сортов смородины красной отмечена при концентрации БАП от 0,2 до 0,8 мг/л. Для сорта Englische Grosse Weisse относительно высокие значения коэффициента 1,46 и 1,38 шт./экспл. получены при концентрации БАП 0,2 и 0,5 мг/л; для сорта Подарок лета 1,33 и 1,53 шт./экспл. соответственно. Дальнейшее увеличение БАП до 2,0 мг/л тормозит размножение эксплантов изученных сортов. К окончанию R_4 пассажа при повышенных концентрациях БАП (≥ 1 мг/л) происходило "мельчание" эксплантов и приостановка ростовых процессов. В то же время при концентрациях БАП от 0,2 до 0,8 мг/л микрорастения продолжали оптимальный рост и развитие вегетативной части побега.

3.4. Использование регуляторов роста на этапе ризогенеза

Выявлено действие регуляторов роста ауксиновой группы различной концентрации на процесс ризогенеза сортов смородины красной. Для большинства сортов лучший результат получен при использовании 0,5 мг/л ИМК и совместном использовании ИМК и ИУК в количестве 0,5 мг/л (таблица 3). Повышение

концентрации до 1 мг/л ИМК и ИУК приводило к противоречивым результатам по ризогенезу. Для сорта Red Lake образование корней при разных концентрациях ИМК (0,5 и 1,0 мг/л) на среде MS показывало схожие результаты; противоположные – снижение либо торможение корнеобразования при повышенной концентрации ИМК получены у сортов Englische Grosse Weisse, Мармеладница, Подарок лета. Среда MS+1 мг/л ИУК у большинства сортов либо останавливала, либо замедляла процесс ризогенеза.

Таблица 3 – Влияние фитогормонального состава питательной среды MS на ризогенез сортов смородины красной, % (среднее за 2024-2025 гг.)

Сорт	Регуляторы роста				
	0,5 мг/л ИМК	0,5 мг/л ИУК	0,5мг/л ИМК + 0,5мг/л ИУК	1,0 мг/л ИМК	1,0 мг/л ИУК
Red Lake	66,70±0,79 a	38,20±1,83 ac	83,30±2,20 ad	68,80± 1,94 a	0
Englische Grosse Weisse	100,00±0,27 b	57,00±3,22 ab	100,00±0,89 b	55,60±3,37 ab	36,40±4,48 a
Мармеладница	75,00±6,18 a	30,00±2,88 ac	25,00±2,78 f	27,20±4,77 bc	50,00±4,03 b
Подарок лета	66,70±4,95 a	60,00±5,25 ab	71,40±2,70 a	0	0

Биометрические показатели были сопоставимы с данными, полученными в опыте с корнеобразованием. Варианты опыта с применением 0,5 мг/л ИМК и с совместным использованием ИМК и ИУК в количестве 0,5 мг/л стимулировали высоту микропобегов, количество и длину корней.

3.5. Влияние люминесцентного освещения и спектрального состава света на физиологическое состояние и адаптацию микрорастений

Адаптация микрорастений в помещениях с оптимальным микроклиматом при освещении люминесцентными лампами

Для большинства исследуемых образцов к окончанию адаптации повышался процент погибших растений (таблица 4) и по истечении 47 дней все растения, выращенные при люминесцентном освещении, не соответствовали стандарту качества посадочного материала согласно ГОСТ Р 59653-2021. В среднем высота

растений всех сортов не превышала 7 см. Листья в основном были зеленые и на небольшом их количестве отмечали краевой хлороз.

Таблица 4 – Морфометрические показатели и процент адаптированных растений смородины красной (среднее за 2024-2025 гг.)

Сорт	Высота (Н), см			Количество листьев (Q), шт.			% ПР	% АР	% СТ
	Н1	Н2	Н3	Q1	Q2	Q3			
Red Lake	5,20± 0,30	6,26± 0,33	6,48± 0,30	10,22± 0,81	12,0± 0,77	12,31± 0,67	100	90	0
Englische Grosse Weisse	4,87± 0,49	6,13± 0,49	6,50± 0,54	10,83± 1,82	13,50± 1,34	13,20± 1,50	90,0	60	0
Мармеладница	3,28± 0,79	5,92± 0,44	6,52± 0,47	6,67± 1,69	11,25± 2,29	12,00± 2,08	70,0	20	0
Подарок лета	5,75± 0,61	6,10± 0,64	6,16± 0,54	10,13± 0,52	9,67± 0,67	10,67± 0,88	87,5	58	0

Примечание – Н1-Н3 - изменение высоты растений; Q1-Q3 - изменение количества листьев; 1-3 - измерение параметров развития растений: 1 - после 30 дней при 100% влажности, 2 - после 10 дней при влажности 70-80%, 3 - после 7 дней при 60% влажности; % ПР – процент приживаемости растений в ходе адаптации к условиям *ex vitro* через 10 дней после посадки, % АР – процент адаптированных растений к условиям *ex vitro* к окончанию адаптации; % СТ – процент соответствия требованиям к саженцам смородины согласно ГОСТ Р 59653-2021

Адаптация микрорастений в климатической камере со светодиодным освещением и регулируемыми параметрами

Культивирование смородины красной в камере при разных спектрах освещения и длинах волн способствовало 100 % сохранению микрорастений смородины красной в процессе адаптации. Использование светодиода белого+красного +ультрафиолетового – диапазон А (СД-БКУФ-А) света обеспечили удлинение микропобегов у сортов Englische Grosse Weisse, Red Lake. В течении 28 дней адаптации в климатической камере высота побегов данных образцов превышала на 32% и 45% (соответственно) растения этих же сортов, выращенных при освещении белым светодиодом с усилением красного спектра (СД-БК). Для сорта Подарок лета

самые высокие растения получены в варианте с использованием светодиода белого света (СД-Б) (рисунок 2).

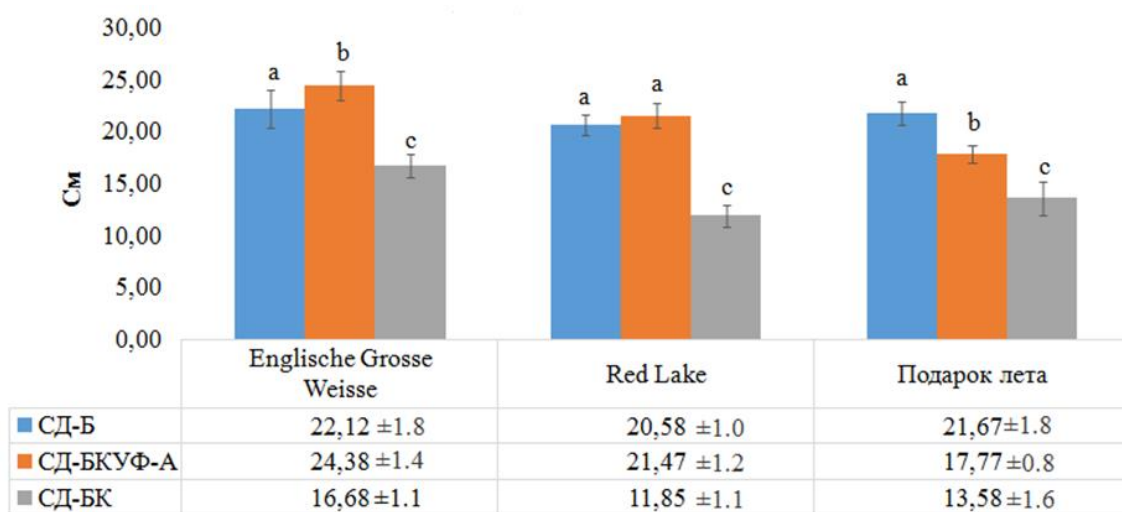


Рисунок 2 – Высота растений сортов смородины красной после адаптации в климатической камере под влиянием разных спектров освещения (2024 г.)

Для всех сортов самые низкие, компактные растения ($p < 0,05$) получены в варианте с СД-БК освещением, что объясняется отсутствием УФ спектра и минимальной долей воздействия зеленого спектра (рисунок 2, 3). Изменения в содержании пигментного комплекса варьировали по сортам и вариантам освещения спектрами.



Red Lake

Подарок лета

Рисунок 3 – Габитус сортов смородины красной через 28 дней после адаптации в климатической камере

Освещение СД-БКУФ-А обеспечивало достоверное увеличение содержания *Chl a* и *Chl a+b* в среднем на 10 % в сравнении с СД-БК и СД-Б спектрами у сортов Englische Grosse Weisse, Red Lake. Для сорта Подарок лета максимальное

содержание *Chl a* и *Chl a+b* было у растений, выращенных при освещении СД-Б светом; разница между СД-Б, СД-БКУФ-А и СД-БК вариантами составляла 9-12%. Для всех изученных образцов смородины красной высокое содержание *Chl b* и *Chl a* / *Chl b* были в варианте с СД-Б светом (таблица 5).

Таблица 5 – Содержание пигментов в листьях сортов смородины красной под влиянием разных спектров (мг/г сырого в-ва)

Пигменты	Englische Grosse Weisse	Red Lake	Подарок лета
СД-Б			
<i>Chl a</i>	1,48±0,11 ab	1,47±0,09 ab	1,51±0,07 ab
<i>Chl b</i>	0,53±0,05 ab	0,51±0,02 ab	0,51±0,02 ab
<i>Chl a+b</i>	2,02±0,16 ab	1,98±0,11 ab	2,02±0,09 ab
<i>Chl a/Chl b</i>	2,78±0,2 a	2,89±0,13 a	2,97±0,11 a
<i>Ccar</i>	0,40±0,03 ab	0,40±0,02 ab	0,44±0,02 ab
СД-БКУФ-А			
<i>Chl a</i>	1,63±0,05 a	1,62±0,06 c	1,34±0,03 a
<i>Chl b</i>	0,53±0,02 ab	0,59±0,02 bc	0,49±0,02 a
<i>Chl a+b</i>	2,16±0,04 ab	2,20±0,05 a	1,83±0,04 a
<i>Chl a/Chl b</i>	3,08±0,17 b	2,75±0,16 b	2,75±0,10 a
<i>Ccar</i>	0,40±0,02 bc	0,44±0,19 d	0,36±0,02 ab
СД-БК			
<i>Chl a</i>	1,61±0,04 a	1,42±0,06 bc	1,40±0,04 a
<i>Chl b</i>	0,49±0,05 bc	0,46±0,02 d	0,43±0,04 cd
<i>Chl a+b</i>	2,10±0,09 bc	1,88±0,07 b	1,83±0,07 b
<i>Chl a/Chl b</i>	3,31±0,31 c	3,06±0,15 c	3,30±0,20 a
<i>Ccar</i>	0,48±0,02 a	0,39±0,02 bc	0,41±0,02 cd

Высокие значения содержания *Chl a*, *Chl a+b* для сортов смородины красной в варианте с СД-БКУФ-А определяются максимальной степенью поглощения красного света и скоростью отражения его в ближнем инфракрасном диапазоне и высокими значениями вегетационного индекса NDVI, который является важным инструментом для мониторинга состояния и адаптивности растений, а также принятия своевременных действий для улучшения их физиологического состояния (таблица 6).

Таблица 6 – Вегетационный индекс сортов смородины красной под влиянием разных спектров

Спектр освещения	Englische Grosse Weisse	Подарок лета	Red Lake
СД-Б	0,49±0,04 abc	0,46±0,02 c	0,51±0,03 abc
СД-БКУФ-А	0,54±0,02 a	0,52±0,02 ab	0,52±0,01 a
СД-БК	0,49±0,03 abc	0,49±0,04 abc	0,47±0,01 bc

В течение 28 дней адаптации в условно нестерильных условиях в камере с регулируемыми параметрами не было зафиксировано погибших растений. При этом большая часть саженцев (66,66%) соответствовала требованиям посадочного материала смородины с закрытой корневой системой и была отнесена к II категории качества (ГОСТ Р 59653-2021).

4. ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДСТВА ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА СОРТОВ СМОРОДИНЫ КРАСНОЙ

Для расчета рентабельности производства был выбран потенциально максимально возможный процент выхода укорененных пробирочных растений. При введении почек в культуру в период вынужденного покоя (март) уровень регенерационной способности эксплантов сортов смородины на этапе пролиферации различался (таблица 7).

Наименьшие биотехнологические расходы на этапе микроразмножения связаны с затратами на реактивы для компонентов питательной среды. Большая доля затрат приходится на заработную плату, отчисления на заработную плату и накладные расходы (61,32%), а также на амортизационные отчисления и коммунальные услуги (34,11%). Себестоимость выращивания одного укорененного микропобега при их максимальном проценте выхода составляет 456,42 руб. Стоимость при реализации одного такого оздоровленного микрорастения *in vitro* составляет 600,00 руб., т.е. производство оздоровленного посадочного материала в лаборатории достаточно дорогостоящее, однако эти затраты могут достаточно быстро окупаться за счет сокращения времени на получение большой партии оздоровленных укорененных

микрорастений. Рентабельность на данном этапе получения 100 шт. укорененных растений *in vitro* составила 31,46%.

Таблица 7 – Регенерационная способность микрорастений сортов смородины красной при ранневесеннем периоде введения в культуру на среде MS+0,5 мг/л БАП (2023-2024 гг.)

Сорт	Исходное количество микрорастений, шт.	Количество регенерированных микрорастений, шт.	Коэффициент размножения, шт. /экспл.	Количество образовавшихся микроробегов, шт.	% микроробегов, пригодных для укоренения и адаптации
Подарок лета	100,00	43,45	1,97	84,71	36,59
Englische Grosse Weisse	100,00	65,30	2,00	130,6	16,10
Red Lake	100,00	51,25	1,89	96,86	29,94

Основные производственные затраты, связанные с адаптацией пробирочных растений к частично нестерильным условиям также связаны с заработной платой, отчислениями и накладными затратами (79,54 %). Снижение затрат при адаптации пробирочных растений в климатической камере связаны с элементами энергосберегающих технологий (светодиодное освещение, двухфазные тарифы потребления электроэнергии), дозированным количеством подачи воды на одно растение (25 мл), сокращением времени на адаптацию, а также высоким процентом выхода адаптированных исходных растений «высших категорий...». В данном эксперименте рентабельность адаптированных растений «высших категорий качества» составила 33,23% (из расчета 100 шт.). Такие растения будут востребованы для базисных маточников в перспективе дальнейшего использования таких маточников для производства посадочного материала категории «Сертифицированный» и для закладки маточников категории «Сертифицированные».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Оптимизированы элементы технологии размножения исходного материала для селекции смородины красной в культуре *in vitro* и определена роль спектрального освещения в адаптации микрорастений к условно нестерильным условиям.
2. Введение в культуру *in vitro* в период вынужденного покоя смородины красной увеличивает процент получения жизнеспособных эксплантов, снижает распространение инфекционного заражения и некроза. Введение в период активного роста побегов малоэффективно в связи с интенсивным развитием сапрофитной микрофлоры и слабым морфогенезом растений.
3. Лучший эффект для дезинфекции растительного материала смородины красной получен при использовании 0,1% AgNO_3 с временем воздействия 5 мин. в сравнении с 0,1% HgCl_2 в течение 10 мин. Воздействие 0,1% AgNO_3 увеличивает количество оздоровленных эксплантов до 91,70%. Применение в течение 10 мин. стерилизатора 0,01% $\text{C}_9\text{H}_9\text{HgNaO}_2\text{S}$ снижает образование некроза и увеличивает процент инфекционного заражения микрорастений. Использование экологически безопасного стерилизатора 12% H_2O_2 на протяжении 5 мин. недостаточно эффективно для получения большого количества оздоровленных эксплантов.
4. Избирательность сорта к компонентному содержанию минеральных сред MS, QL, LF определяется процентом приживаемости, показателем морфогенеза, коэффициентом размножения микрорастений и ризогенезом. Протоколы для микроклонального размножения по прописи MS с повышенным в 2 раза содержанием хелата железа и добавлением БАП в концентрации от 0,2 до 0,8 мг/л обеспечивают получение морфометрически развитых микрорастений смородины красной для перехода на этап укоренения.
5. Значительному повышению количества, суммарной длины корней, а также процента ризогенеза при микроклональном размножении на среде MS способствует добавление 0,5 мг/л ИМК, а также совместное использование на той же среде 0,5 мг/л ИМК и 0,5 мг/л ИУК.
6. В условиях закрытых искусственных агроэкосистем СД-БКУФ-А спектр освещения увеличивает рост микрорастений, накопление фотосинтетических

пигментов (хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, суммы хлорофиллов *a+b*), улучшает физиологическое состояние растений, что подтверждается высокими значениями вегетационного индекса NDVI, сокращает до 28 суток время получения оздоровленных, адаптированных растений «высших категорий качества». СД-БК с низким значением зеленого и отсутствием УФ-спектров замедляет ростовые процессы и приводит к получению компактных растений.

7. Модифицированная питательная среда, низкие концентрации БАП, введение в среду регуляторов роста ауксиновой природы повышают значения коэффициента размножения и обеспечивают значительное увеличение количества микропобегов, а также сокращение времени получения оздоровленного чистосортного материала, что соответствует рентабельности производства в 31,46%. Применение спектрального освещения, как энергосберегающей технологии, на этапе адаптации микрорастений к нестерильным условиям увеличивает процент выхода исходных растений «высших категорий качества» и обеспечивает рентабельность на уровне 33,23%.

РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ НАУКИ И ПРОИЗВОДСТВА

1. Для ускоренного размножения селекционного материала смородины **красной** использовать усовершенствованный протокол микроклонального размножения. Введение в культуру проводить в ранневесенний период, использовать в качестве стерилизатора 0,2% раствор AgNO₃, питательную среду MS с увеличенным в 2 раза содержанием хелата железа (C₁₄H₁₉FeN₃NaO₁₀) и регулятором роста ≤ 0,8 мг/л БАП (6-бензиламинопурин). Более интенсивный ризогенез можно получить на среде MS с добавлением 0,5 мг/л ИМК.

2. Для **снижения гибели микрорастений и повышения процента приживаемости** на этапе их перевода из условий *in vitro* в *ex vitro* использовать климатические камеры с регулируемыми параметрами.

3. Для **повышения количества адаптированных исходных растений смородины красной «высших категорий качества»** и сокращения времени его получения использовать комбинированное спектральное освещение Ультрафиолет

(диапазон А): Синий: Зеленый: Красный: Дальне-красный в соотношении 1УФ:13С:333:49К:4ДК.

4. Для мониторинга физиологического состояния и диагностики адаптивности селекционных образцов смородины красной к нестерильным условиям (*ex vitro*) использовать показатель вегетационного индекса (Normalized Difference Vegetation Index, NDVI).

5. Для закладки базисных и сертифицированных маточников использовать адаптированный, чистосортный растительный материал смородины красной «высших категорий качества», полученный в культуре *in vitro*.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. **Ryago N.V.** Features of micro clone reproduction of some currant representatives of the genus *Ribes* spp.: review / **N.V. Ryago** // Agrarian Bulletin of the Urals. – 2023. – Vol. 23(10). – P. 69-80. – DOI: 10.32417/1997-4868-2023-23-10-69-80 - EDN: JQHPIZ
2. **Ряго Н.В.** Регенерационная способность генотипов подрода *Ribesia* Berl. в культуре *in vitro* / **Н.В. Ряго**, О. В. Панфилова // Аграрный вестник Урала. – 2024. – № 24(10). – С. 1345-1358. – DOI: 10.32417/1997-4868-2024-24-10-1345-1358-EDN: WWQABP
3. **Ряго Н.В.** Оптимизация элементов методики микроклонального размножения смородины красной (*Ribes rubrum* L.) с учетом генотипических особенностей / **Н.В. Ряго**, Т.М. Хромова, Л.В. Ташматова // Вестник российской сельскохозяйственной науки. – 2025. – № 1. – С. 24-29. – DOI: 10.31857/S2500208225010057-EDN: CTZWCM

Статьи в изданиях, индексируемых международными базами данных Web of Science (Q1), Scopus (Q1), а также K1 «Белого списка»

4. **Ryago N.** Optimizing Microclonal Propagation of Red Currant Cultivars: The Role of Nutrient Media, Sterilizers, and LED Lighting in Plant Adaptation. / О. Panfilova, **N. Ryago**, G. Ondrasek, I.V. Knyazeva, I. Kahramanoğlu, O. Vershinina, M. Tsoy, A.Y.

Izmailov, A.S. Dorokhov // Horticulturae. – 2025 – № 11. – P. 149. – DOI: 10.3390/horticulturae11020149 - EDN: XDSQFX

Статьи в журналах конференций

5. **Ряго Н.В.** Влияние состава питательных сред на приживаемость эксплантов смородины красной на этапе введения в культуру *in vitro* / **Н. В. Ряго**, Л. В. Ташматова // Селекция и сорторазведение садовых культур. – 2022. – № 9(1). – С. 90-96. – DOI: 10.24411/25000454_2022_0117 - EDN: MQXTNT

6. **Ryago N. V.** The Influence of the composition of nutrient media on the regenerative capacity of red currant varieties at the stage of introduction into the culture *in vitro* / **N.V. Ryago** // Наука без границ и языковых барьеров: материалы Всероссийская науч.-практ. конф. ученых, 2–3 июня 2022 г. Орел, 2022. – P. 332-337.- EDN: ХМУІВР

7. **Ряго Н.В.** Оценка эффективности стерилизующих агентов на этапе введения сортов смородины красной в культуру *in vitro* / **Н.В. Ряго**, Л. В. Ташматова // Селекция и сорторазведение садовых культур. – 2023. – № 10(1). – С. 98-105. - EDN: NUICWN

8. **Ряго Н.В.** Оптимизация биотехнологических методов на первых этапах культивирования смородины красной в культуре *in vitro* / **Н.В. Ряго** // Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки: материалы IX международной науч. конф. ученых, 23–27 сентября 2024 г. Симферополь, 2024. С. 70-71. – DOI: 10.5281/zenodo.13911206 - EDN: HFAEIW