

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Российский государственный аграрный университет –
МСХА имени К.А. Тимирязева»

На правах рукописи

ГУЩИН АРТЕМ ВЛАДИСЛАВОВИЧ

**ПРИМЕНЕНИЕ АЭРОПОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ АДАПТАЦИИ
МИКРОКЛОНОВ РАСТЕНИЙ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ
ГРУПП**

Специальность: 1.5.6 – Биотехнология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
КИРАКОСЯН Рима Нориковна
кандидат биологических наук,
доцент

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АДАПТАЦИИ КЛОНОВ РАСТЕНИЙ К УСЛОВИЯМ <i>EX VITRO</i>	12
1.1 Адаптация растений к условиям <i>ex vitro</i>	12
1.2 Закрытые фермы для выращивания различных культур	15
1.2.1 Теплицы	15
1.2.2 Высокие туннели/дома-кольца	16
1.2.3 Сетчатые домики	17
1.2.3 Вертикальные фермы/сады	17
1.3 Гидропонные системы выращивания и их преимущества	18
1.3.1 Глубоководное выращивание на плотках (Deep Water Culture – DWC)	22
1.3.2 Технология создания питательной пленки (Nutrient Film Technique – NFT)	23
1.3.3 Другие гидропонные системы	26
1.4 Аэропонные системы выращивания. Недостатки и преимущества	30
1.5 Применение светодиодного освещения и аэро- и гидропонных установок для адаптации и акклиматизации микрорастений к условиям <i>ex vitro</i>	31
ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	37
2.1 Объект исследования	37
2.1.1 Плодово-ягодные культуры	37
2.1.2 Виноград	39
2.1.3 Декоративные культуры	42
2.1.4 Цветочные культуры	49
2.1.5 Лекарственные растения семейства Яснотковые	52
2.1.6 Водные растения	52
2.2 Адаптация микроклонов к условиям <i>ex vitro</i>	53
2.3 Биохимические исследования	57
2.4 Статистическая обработка данных	58
ГЛАВА 3 АДАПТАЦИЯ МИКРОКЛОНОВ РАСТЕНИЙ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП К УСЛОВИЯМ <i>EX VITRO</i>	59

3.1 Адаптация к условиям <i>ex vitro</i> микроклонов плодово-ягодных культур	59
3.2 Адаптация к условиям <i>ex vitro</i> микроклонов винограда	68
3.3 Адаптация к условиям <i>ex vitro</i> микроклонов декоративных культур	75
3.4 Адаптация к условиям <i>ex vitro</i> клонированных растений хризантемы	79
3.5 Адаптация к условиям <i>ex vitro</i> микроклонов лекарственных растений семейства Яснотковые	83
3.6 Адаптация к условиям <i>ex vitro</i> микроклонов водных растений	89
3.7 Экономическая эффективность технологии выращивания растений разных таксономических групп с использованием аэропонных технологий	99
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	105
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	125
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	126
ПРИЛОЖЕНИЕ 3	127

ВВЕДЕНИЕ

По оценкам, к 2050 году численность населения Земли составит примерно 10 миллиардов человек. Удовлетворение потребностей растущего населения в калориях и питательных веществах является серьезной задачей для человечества. Растущее население, основанное на городской агломерации, в сочетании с ограниченными природными ресурсами и глобальным потеплением увеличивает остроту этой проблемы, создавая угрозу безопасности пищевых продуктов во всем мире. Традиционное сельское хозяйство плохо подходит для решения этой задачи, поскольку оно оказывает негативное воздействие на окружающую среду, неэффективно использует большое количество воды, высокие концентрации питательных веществ и пестицидов в водном стоке, высокие выбросы парниковых газов (ПГ) и усиливает деградацию почв и эрозию. По данным ФАО (2016) размеры пахотной земли на душу населения сократятся на треть в 2050 г. по сравнению с 1970 годом. Другими словами, земель для сельскохозяйственного назначения будет меньше. Еще одной проблемой является то, что 1/3 населения планеты страдает от голода и недоедания (HLPE, 2020). Для решения этих проблем необходимо разработать устойчивые меры по производству и поставке продовольствия. Производство продуктов питания всегда опережает спрос. Население планеты в период с 1800 по 2000 гг. увеличилось с менее чем одного миллиарда до шести миллиардов, а мировое производство продовольствия – в 10 раз (Federico, 2008). Высокие темпы производства продовольствия, которые существуют сегодня, к сожалению, могут не сохраниться к 2050 году. Следовательно, это требует изучения альтернативных подходов, таких как выращивание продуктов питания в закрытых помещениях. Именно такие подходы позволяют увеличить объемы производства продуктов питания и их качество. Это связано с тем, что производители могут контролировать и управлять факторами окружающей среды в процессе производства – температурой, влажностью, почвенные факторы и др. Такие технологии

квалифицируют как сельское хозяйство в контролируемой среде (CEA), растениеводческие фабрики (Азия), системы замкнутого цикла, беспочвенное выращивание, вертикальные фермы и т.д. (Newbean Capital. Indoor Crop Production Feeding the Future. Available online: <https://docplayer.net/15068939-Indoor-crop-production-feeding-the-future.html> (accessed on 26 April 2021).

В последнее десятилетие особой популярностью у исследователей, а также садоводов-любителей пользуются плодово-ягодные и декоративные культуры, которые широко применяются в садоводстве и ландшафтном дизайне. Среди них особо ценятся такие растения как, малина, ежевика, виноград, гейхера, эхинацея, сирень и многие другие. Однако, в настоящее время в Российской Федерации для данных культур отсутствуют высокоэффективные технологии производства посадочного материала перспективных сортов и гибридов. Развитие биотехнологии позволит решить данную проблему. Одним из перспективных способов размножения растений и получение генетически однородного посадочного материала является метод клонального микроразмножения. Анализ литературных источников свидетельствует о том, что в Российской Федерации данный метод широко применяется для размножения сельскохозяйственных, лекарственных культур, а также растений исчезающих и занесенных в Красную книгу РФ (Вечернина, 2008; Аладина, 2009). Отечественные и зарубежные разработки показывают, что данные технологии являются перспективными, однако с точки зрения коммерческого применения, предлагаемые технологии, являются неэффективными. Прежде всего, это связано с тем, что, существуют большие издержки на используемое оборудование, расходные материалы и химические компоненты.

Клональное микроразмножение растений развивается обособленно от науки, изучающей физиологию развития растений, так как полностью посвящено изучению поведения изолированных тканей и клеток растений в условиях *in vitro* (Бутенко, 1999). На всех этапах клонального микроразмножения проводится работа по оптимизации условий

культивирования, обеспечивающих получение за короткий промежуток времени в большом количестве генетически однородный посадочный материал. На последнем этапе клонального микроразмножения необходимо уделить особое внимание изучению развития клонированных растений в условиях *ex vitro*. Решение задачи взаимодействия клонального микроразмножения в условиях *in vitro* и условий адаптации микрорастений в условиях *ex vitro* позволит достигнуть синергетического эффекта, выраженного в получении посадочного материала высокого качества с наименьшими экономическими и временными затратами (Эрст, 2012).

Перспективным способом адаптации растений-регенерантов к условиям *ex vitro* является применение аэропонных технологий. Аэропоника — является процессом культивирования растений в воздушной среде с отсутствием субстрата. Питательные вещества в аэропонных системах подаются к корням растений в виде аэрозоля. В отличие от гидропоники, где в качестве субстрата используется водный раствор, обогащенный необходимыми минералами и питательными веществами для поддержания роста растений, аэропонный способ выращивания растений не предполагает использование почвенного субстрата. Аэропоника призвана повысить производительность и экономическую эффективность основной технологии микрклонального размножения растений, за счёт уменьшения издержек на создание лабораторной инфраструктуры и сокращения сроков культивирования клоновых растений.

Другим фактором, оказывающим положительное влияние на адаптацию растений, является применение светодиодных ламп разного спектрального состава (Kim S. J., Nahn E. J., Neo J. W., Paek K. Y. 2004). Применяя различные спектры, можно достичь высоких показателей развития зеленой массы растений, стимулировать увеличение показателей корнеобразования, регулировать процессы жизнедеятельности растений. Активное применение светодиодного освещения в области биотехнологии, в частности клонального микроразмножения растений, поможет решить

экономические проблемы: экономию затрат на электроэнергию, снизить временные затраты на получение высоко качественных саженцев.

Что касается плодово-ягодных, декоративных, лекарственных и водных культур, то аэропонные технологии ранее не применялись на последнем этапе клонального микроразмножения.

Наши исследования показали, что включение аэропонных установок в технологию получения посадочного материала методом клонального микроразмножения позволит снизить процент гибели растений, увеличить рост и развитие корневой системы и зеленой биомассы, а также провести адаптацию растений с высокой эффективностью. Полученные результаты согласуются с результатами других авторов (Clara D., Fira A., Joshee N., 2013; Lakkireddy K. K. R., Kasturi K., Sambasiva Rao K. R. S., 2012). Все эти мероприятия способствуют получению высококачественного посадочного материала с относительно низкой себестоимостью за единицу реализуемой продукции.

Цель исследования – разработать технологию адаптации микроклонов растений разных таксономических групп к нестерильным условиям выращивания.

Для решения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- Сконструировать универсальную многоярусную установку и апробировать ее для адаптации микроклонов растений разных таксономических групп к условиям *ex vitro*.
- Оценить эффективность использования предлагаемой аэропонной установки для адаптации неукорененных микроклонов разных таксономических групп.
- Изучить влияние условий адаптации на морфометрические показатели микроклонов разных таксономических групп.
- Изучить влияние условий адаптации на биохимические показатели микроклонов разных таксономических групп.

- Оценить экономическую эффективность применения аэропонных установок на последнем этапе клонального микроразмножения.

Научная новизна. Соискателем разработана и сконструирована многоуровневая установка для адаптации клонированных растений разных таксономических групп. Установлено, что в условиях разработанной установки приживаемость микроклонов составляет 95-100%. Показано, что процесс адаптации микроклонов сопровождается активным ростом как надземной, так и подземной части растений. Экспериментально доказано, что предлагаемая установка является универсальной и может быть использована для адаптации плодово-ягодных культур, декоративных культур, цветочных культур, лекарственных и водных культур. Показано, что применение аэропонных технологий на последнем этапе клонального микроразмножения позволяет сократить временные затраты на получение посадочного материала за счет использования неукорененных микрочеренков растений. На основании экспериментальных данных, соискателем установлено, что у микроклонов, культивируемых на аэропонных установках наблюдается изменение фенольного метаболизма, который проявляется в повышении суммарного содержания фенольных соединений, что является ответной реакцией растений на изменение условий выращивания. Проведена оценка экономической эффективности по использованию классических и аэропонных технологий получения посадочного материала. Показано, что несмотря на высокие первоначальные затраты, рентабельность адаптации *ex vitro* микроклонов разных таксономических групп в условиях аэропоники в 7-9 раз выше, по сравнению с известными способами адаптации микроклонов в почвенной культуре и в системе периодического подтопления.

На предлагаемый способ адаптации микроклонов, полученных в результате клонального микроразмножения, получен патент - «Способ адаптации неукорененных микропобегов растений разных таксономических групп к нестерильным условиям *ex vitro*» № 2791513, 09.03.2023.

Практическая значимость. Разработанный способ адаптации микроклонов к условиям *ex vitro* может быть применен для растений разных таксономических групп, включая древесные плодовые, лиственные лесные породы, а также хвойные. Полученные результаты могут быть использованы в учебном процессе в качестве дополнительного материала по теме Клональное микроразмножение растений, а также в учебном процессе при проведении лекционных и лабораторно-практических работ по дисциплинам: «Физиология растений», «Сельскохозяйственная биотехнология», «Прикладная биотехнология», «Культура клеток и тканей растений» для студентов, обучающихся по направлениям «Биотехнология» и «Агрономия».

Методология и методы исследования. Основой методологии данного исследования являются методы адаптации микроклонов растений разных таксономических групп к условиям *ex vitro*, культуры клеток и тканей растений, а также методы биохимического анализа определения пигментов, а также суммарного содержания фенольных соединений. Объектом исследования служили микроклоны, полученные *in vitro*: малина (сорт Оранжевое чудо), ежевика (сорт Black satin), виноград (сорты Muscat Ottonel, Moldova, Muscat Polocshey, Monarh, Feteasca Neagra, Feteasca Regala), декоративные растения (гейхера гибридная (Rio, Tiramisu, Golden zebra), эхинацея гибридная (Mama mia, Butterfly kisses), сирень обыкновенная (Красавица Москвы, Красная Москва, Жанна Д`Арк), микроклоны *Mentha piperita* L. и *Melissa officinalis* L., микроклоны *Hedyotis salzmannii* семейства Мареновые и *Alternanthera reineckii* семейства Амарантовые.

Положения, выносимые на защиту:

1. Эффективность применения аэропонных технологий на последнем этапе клонального микроразмножения.
2. Влияние аэропонных технологий на морфофизиологические показатели микроклонов разных таксономических групп.
3. Экономическая эффективность применения аэропонных технологий на последнем этапе клонального микроразмножения.

Апробация работы. Разработанная многоярусная установка была принята как базовое оборудование для адаптации микроклонов растений к условиям *ex vitro* при поставке лабораторий клонального микроразмножения ООО «Лаб-НТ» (Зеленоград, 2022), а также была принята для опытной эксплуатации в отделе прогрессивного растениеводства ООО «НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ПРЕДПРИЯТИЯ «АГРО-ИНЖИНИРИНГ» (Валдай, 2023).

Основные материалы диссертационной работы были доложены на ежегодных отчетах аспирантов на кафедре биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, а также на Международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы развития науки в России и мире» (Таганрог, 2019); XX Всероссийской конференции молодых ученых «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии» (Москва, 2021); Всероссийской конференции молодых исследователей «АГРАРНАЯ НАУКА – 2022» (Москва, 2022); Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, 180-летию со дня рождения К.А. Тимирязева (Москва, 2023).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ в отечественных и зарубежных изданиях, в том числе 1 статья в издании, рекомендованном ВАК РФ, в международных базах данных (Scopus, CA(pt)) - 3. Имеется авторское свидетельство – патент («Способ адаптации неукорененных микропобегов растений разных таксономических групп к нестерильным условиям *ex vitro*» № 2791513, 09.03.2023) и 1 монография («Применение аэропонной установки для адаптации клонированных растений» (2019)).

Личный вклад соискателя. Результаты исследований, представленные в диссертации, получены соискателем лично на кафедре биотехнологии ФГБОУ ВО Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К.А. Тимирязева. Диссертантом совместно с научным руководителем разработана тема исследования, лично получены

основополагающие результаты, подготовлены и опубликованы научные статьи по теме диссертации в соавторстве.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 127 страницах компьютерного текста; состоит из введения, 3 глав (обзор литературы, материалы и методы исследований, экспериментальная часть), выводов, списка литературы и приложения. Работа содержит 8 таблиц, 67 рисунков. Библиографический список включает 194 источника, в том числе 154 – на иностранном языке.

ГЛАВА 1

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АДАПТАЦИИ КЛОНОВ РАСТЕНИЙ К УСЛОВИЯМ *EX VITRO*

1.1 Адаптация растений к условиям *ex vitro*

Многочисленные исследования показывают, что одним из трудоемких этапов, от которых зависит успех клонального микроразмножения, является адаптация укоренившихся микропобегов к естественным условиям произрастания. Перевод укоренившихся микрорастений в нестерильные условия нередко бывает затруднен. Растения, культивируемые в условиях *in vitro*, чувствительны к шокам акклиматизации, приводящим к высокой смертности во время заключительной стадии размножения (Bhojwani и Dhawan, 1989). Это связано с тем, что условия роста внутри пробирок вызывают аномальную морфологию и физиологию растений – микроклоны имеют слабо развитую корневую систему, нефункциональный устьичный аппарат и плохо развитую кутикулу (Mathur et al., 2008). Дополнительная гибель микроклонов может достигаться при использовании нестерильного почвенного субстрата, где при благоприятной температурной и влажностной среде, недостатке аэрации создаются условия для развития бактерий, грибов, а иногда и насекомых паразитов (Муратова и др., 2011).

Успешная акклиматизация и укоренение в условиях *ex vitro* являются одними из ключевых факторов, снижающих стоимость растений-регенерантов. Приживаемость культур в нестерильных условиях при соблюдении условий адаптации и укоренения составляет 80-100 % (Муратова, 2017).

Адаптация клоновых растений в почвенных условиях

В связи с низкой приживаемостью микрорастений большое внимание уделяется качеству подложки, которая должна быть рыхлой для аэрации

корней, питательной и сохраняющей влагу. Зачастую, используют торф, песок, перлит, вермикулит и некоторые другие почвенные субстраты в разных соотношениях и пропорциях.

Для успешной адаптации к нестерильным условиям микрорастения плодово-ягодных культур переносят в марте-апреле в обогреваемые теплицы, где их пересаживают в кассеты, пластиковые контейнеры, вазоны, горшочки с заранее подготовленным субстратом. На протяжении всего периода акклиматизации в теплицах должна поддерживаться высокая относительная влажность 65-90%, температура воздуха 22-28°C, а также освещенность 2-5 тыс. люкс при фотопериоде 15-18 ч (Аладина и др., 2009).

При отсутствии теплиц можно использовать специальные зоны искусственного культивирования (туннели, комнаты для выращивания), в которых температура и влажность воздуха поддерживается на высоком уровне для предотвращения обезвоживания проростков, перенесенных из стерильных условий (Clara et al., 2013).

В исследовании Муратовой С. (2017) укоренённые растения в апреле – мае высаживали в субстрат на основе торфа Агробалт – С (нейтрализованный с комплексом минеральных удобрений) в кассеты (Евростандарт, 54 ячейки) и помещали в плёночные теплицы. Под плёночным покрытием растения находились 3 – 4 недели, затем плёнку постепенно приоткрывали и через 5-6 недель полностью снимали.

Сравнение выживаемости семи российских сортов малины (*Rubus idaeus*) - «Атлант», «Малыш Лето II», «Геракл», «Золотая осень», «Исполин», «Оранжевое чудо» и «Патриция» - после укоренения *in vitro* и *ex vitro* осуществлялось в работе Lebedev et al. (2019). Акклиматизацию микровсходов малины проводили следующим образом. Побеги высаживали в теплице в пластиковые рассадные лотки (144 клетки, объем 24 мл) с субстратом, содержащим торф и перлит в соотношении 3:1. Лотки были разрезаны на 36-клеточные секции, беспорядочно расположенные на стеллажах теплицы. Лотки с растениями помещали на капиллярные маты и

покрывали слоем спанбонда и слоем полиэтиленовой пленки в течение двух недель (влажность 90% - 95%). После этого слой пленки удаляли и растения выдерживали под слоем спанбонда в течение одной недели (влажность 70% - 75%). Выживаемость и высоту растений оценивали через 6 недель после посадки побегов в теплице.

В исследовании Minas и Neocleous (2007) разрабатывали способ ускоренного микроразмножения малины (*Rubus idaeus* L.) ремонтантных сортов Autumn Bliss и Polana *in vitro*. При этом укоренившиеся микроклоны длиной 3-5 см промывали под проточной водопроводной водой и погружали в фунгицид (Беномил) перед посадкой в горшки, содержащие стерильный сфагновый мох. Микрорастения в горшках помещали в теплицу с затемнением экрана, где температура не превышала 29 °С. Во избежание обезвоживания растения покрывали перевернутыми пластиковыми стаканами, которые постепенно удаляли. Выживаемость горшечных саженцев достигла 95%, что говорит об их успешной адаптации *ex vitro*. После 45 дней в теплице растения достигали 10 см в высоту и нормально могли быть пересажены в поле или в другие контейнеры. Нарушений в развитии растений не наблюдалось.

Аспекты, касающиеся размножения *in vitro* желтой малины сорта Citria, представлены в работе Clara et al. (2008). Укоренившиеся микропобеги были перенесены в условия *ex vitro* для акклиматизации в пластиковые лотки, покрытые крышками, наполненные перлитом в качестве субстрата. Авторами работы установлено, что процент акклиматизации может превышать 90%, если растения хорошо укоренены и обладают высокой морфогенетической активностью. Согласно результатам исследования, микрорастение, которые не были укоренены *in vitro*, оказались не способны к акклиматизации.

На стадии адаптации Vater и Arena (2005) укоренившиеся побеги высаживали в пластиковые горшки, содержащие стерильную почву, и накрывали стеклянными банками для поддержания высокой влажности. Пластиковые горшки помещали в теплицу, и растения орошали солевым

раствором MS, уменьшенным до четверти. Через 3 месяца после начала стадии адаптации 94% растений были живы; 50% из них показали высокие морфологические признаки: растения хорошо развиты и с большими листьями.

Анализируя литературные данные следует отметить, что применение почвенного субстрата и использование повышенной влажности воздуха (в теплице, парнике и т.д.) не всегда приводит к 100%-ной адаптации клоновых растений. Поэтому поиск новых технологий, позволяющих повысить приживаемость растений, размноженных *in vitro*, к условиям *ex vitro* остается актуальной проблемой.

1.2 Закрытые фермы для выращивания различных культур

Закрытые фермы включают стеклянные или полиэтиленовые теплицы, вертикальные фермы, низкотехнологичные пластиковые высокие туннели или круглые дома, контейнеры и закрытые DWC и экраны (Agrilyst. The State of Indoor Farming. Available online: https://www.cropscience.bayer.com/sites/cropscience/files/inline-files/stateofindoorfarming-report-2017_0.pdf (accessed on 26 April 2021); Smith, Lopes, 2010).

1.2.1 Теплицы

Теплицы – это конструкция с искусственным микроклиматом, проектируемая в различной конфигурации с разным уровнем сложности (Dalai et al., 2020; Smith, Lopes, 2010). Современные теплицы используют освещение, но оно является дополнительным к естественному солнечному свету (Ceres Partners. White Paper: Indoor Growing. Available online: <https://www.cerespartners.com/files/o9K7dm/Indoor%20Growing%20Whitepaper.pdf> (accessed on 26 April 2021). В работе Hamm (2020) показано, что в

теплицах использование светодиодного освещения позволяет экономить энергию, в результате этого гидропонное производство в тепличных условиях становится дешевле.

Современные теплицы оснащены передовыми технологиями посадки (использование роботов), контроля климата, методами управления. Лидерами по тепличному производству являются Нидерланды, Израиль, США и Япония (Neo D.C.J., et al., 2022; Ito, 1997; Zhang N.M., 2005; Liu L., 2013; Hu W., et al., 2017; Teng, Luo, 2014; Qin, Jia, 2013; Martinovic, Simon, 2014; Sammons, Furukawa, Bulgin, 2005; Kondo et al., 2010; Feng et al., 2014; Lili et al., 2017).

1.2.2 Высокие туннели/дома-кольца

Высокие туннели – это простые арочные конструкции, покрытые пленкой, но без системы отопления и электроснабжения. В туннелях отсутствует литый бетонный фундамент – они вкручиваются непосредственно в землю (Grubinger, 2016). Так как в этих конструкциях отсутствует система отопления, то в холодные, особенно зимние, месяцы их не используют. Тепло подается при помощи переносных обогревателей, а вода – с помощью капельного орошения или разбрызгивателей (Wells, 1996; Lamont, 2002; Lamont, 2009). В различных странах каркас и конструкция туннелей варьируется. Так, в Южной Корее туннели возводят в поле только на вегетационный период, а после убирают и хранят. Такие туннели строят высотой в один отсек и покрывают одно-/двухслойной пленкой (Lamont, 2002). А в Тайвани, Таиланде и других тропических регионах чаще всего туннели сначала покрывают сетчатым материалом, а сверху пленкой. В Испании конструкция туннелей отличается – крыши наклонные, что позволяет стекать дождевой воде, а каркас проволочный, покрытый двухслойной пленкой (Lamont, 2002).

1.2.3 Сетчатые домики

Сетчатый домик - это доступная промежуточная технология между выращиванием в открытом грунте и теплице. Данные конструкции покрыты сеткой – пористыми экранами, которые отличаются по цвету, типу материала, пористости. Данными свойствами экранов можно управлять в зависимости от микроклимата, который нужно создать внутри конструкции (Smith, Lopes, 2010; Manja, Aoun, 2019; Tanny, 2013). Несмотря на то, что благодаря таким экранам можно снизить интенсивность солнечной радиации и модифицировать солнечный спектр, сетчатые домики не защищают от дождя и уровень влажности в них очень низкий (Romero-Gómez et al., 2012; Santos, Rios, Nazco, 2006).

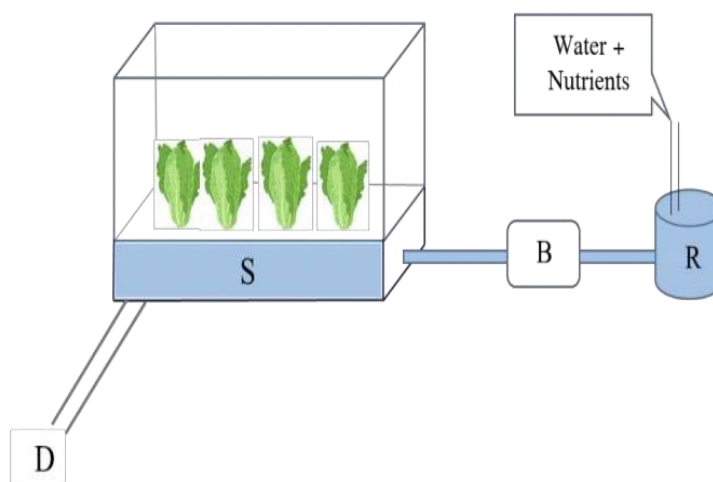
1.2.4 Вертикальные фермы/сады

Вертикальные фермы или вертикальное земледелие подразумевает технологию многоярусного выращивания культур с полным контролем климата при помощи компьютера и датчиков. При использовании вертикальных ферм можно увеличить площадь возделывания в небольших помещениях (Eigenbrod, Gruda, 2015; Despommiers, 2010; Despommiers, 2013). Данные конструкции можно устанавливать в приусадебных участках или в непосредственной близости от потребителей. Крытые фермы приобрели популярность в странах с высоким уровнем загрязнения окружающей среды и бедными почвами. Главным преимуществом такой технологии является выращивание культур круглый год, вне зависимости от климатических условий. Но данные конструкции включают высокие энергозатраты и стоимость обслуживания, а также есть потребность в технических знаниях (Peck et al., 1999).

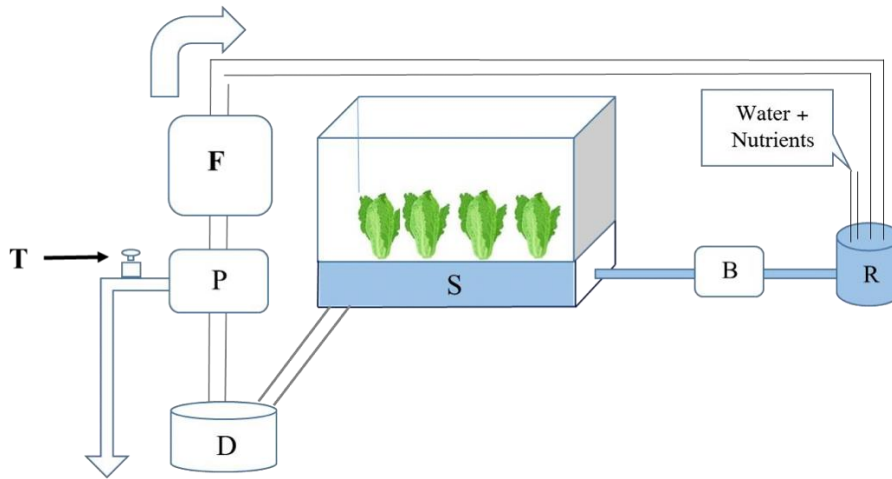
1.3 Гидропонные системы выращивания и их преимущества

Гидропоника – это агротехника выращивания растений с минеральными питательными веществами на беспочвенной среде (Raviv et al., 2019; Mattson et al., 2019; Gruda, 2020). Корни растений погружают в питательные растворы, содержащие минеральные компоненты (Raviv et al., 2019).

В настоящее время агротехнология беспочвенного выращивания различных культур является одной из перспективных. Гидропонные установки бывают открытыми и закрытыми (рис. 1) (Voogt et al., 2019; Tzortzakis et al., 2020). В открытых гидропонных установках питательный раствор постоянно омывает растения, а избыток сливается (Voogt et al., 2019; Tzortzakis et al., 2020). В некоторых открытых установках на поверхности раствора растения помещают в пробки из пенополистирола (рис. 2 и 3). Питательный раствор аэрируют для доступа кислорода корням (Eek Son et al., 2020). В других открытых системах растения, помещенные в горшки или контейнеры, орошаются питательным раствором с одновременным внесением удобрений (Okumura et al., 2016; Nikolaou et al., 2020; Nikolaou et al., 2020; Silber, Bar-Tal, 2019). В некоторых из этих систем дренаж собирается и повторно используется для орошения другой культуры.



OPEN SYSTEM



CLOSED

Рис.1 Схематическое изображение открытой и закрытой гидропонной системы орошения. R — резервуар; B — бустерный насос; S — субстрат/раствор; D — дренаж; P — насос; T — нажмите; F — фильтр



Рис. 2 Крупный план выращенного на гидропонике салата: пенополистирол, плавающий в воде, и некоторые остатки корней в пустом отверстии после сбора кочана салата

(<https://www.promgidroponica.ru/vyrawivaniyesalatanagidroponike>)



Рис. 3 Выращивание салата на гидропонике
(<https://dfermer.ru/gidroponika/rasteniya/zelen/osobennosti-vyrashhivaniya-salata-na-gidroponike.html>)

В закрытых гидропонных установках выделяют два типа. Один из них – технология непрерывного потока питательного раствора (Mattson, Lieth, 2019; Eek Son et al., 2020). Наиболее распространенной системой является технология создания питательной пленки (слоя) (NFT), при которой небольшой объем питательного раствора поступает по наклонному каналу в резервуар и затем рециркулируется (Van Os et al, 2019; Blaustein et al., 2016; Mattson, Lieth, 2019; Van Os et al, 2019).

Выделяют другую закрытую систему – метод приливов и отливов (flood and drain). При использовании этого метода растения выращивают в горшках на поддоне, который заполнен питательным раствором (Van Os et al, 2019). В дополнение к этим распространенным методам существуют и другие методы ведения сельского хозяйства в помещении, такие как аквапоника, аэропоника и биопоника (Ragaveena, 2021) (рис.4).

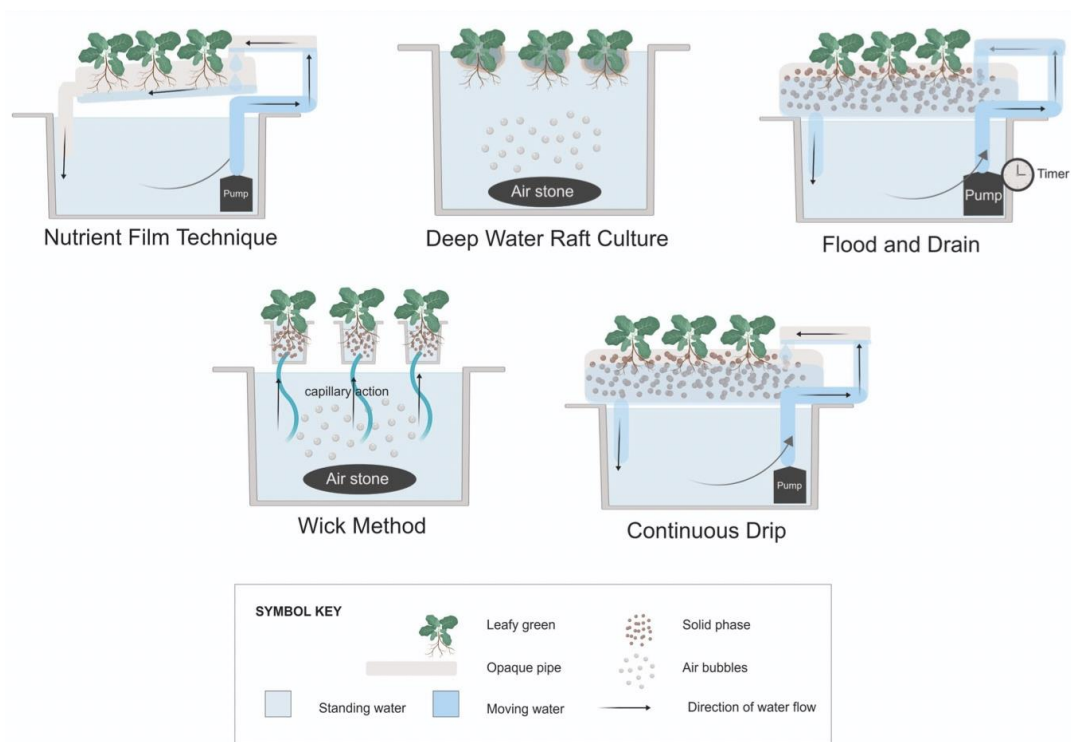


Рис. 4 Типы гидропонных систем выращивания растений: технология создания питательной пленки (NFT), глубоководное выращивание на плотках (DWC), затопление и дренаж, системы непрерывного капельного орошения, метод фитиля (Riggio et al., 2019)

Гидропоника обладает многочисленными агротехнологическими, экологическими и экономическими преимуществами (Ragaveena, 2021). В настоящее время изменения климата оказывает серьезное влияние на продовольственную безопасность не только нашей страны, но в мире. Используя гидропонные системы, можно экономить воду для полива растений, а также удобрения, необходимые для их роста. Стоит отметить, что именно такие технологии способствуют уменьшению загрязнения окружающей среды, почвы и количества болезней растений, вызванных почвенными патогенами (Raviv et al., 2019; Gruda, 2020; Ragaveena, 2021).

В гидропонных конструкциях растения можно сажать вертикально и более плотно (Ragaveena, 2021). Гидропонные системы с контролируемым освещением и температурой обеспечивают более короткий цикл роста по сравнению с ростом в почве, обеспечивая несколько циклов роста с высокими и стабильными урожаями круглый год (Raviv et al., 2019; Van Os et

al, 2019). Кроме того, сбором урожая растений легко управлять. Еще одним преимуществом гидропоники является возможность выращивать растения в местах, расположенных ближе к потребителям – так называемое городское сельское хозяйство (Raviv et al., 2019; Gruda, 2020; Van Os et al, 2019). Особенно это важно для тех районов, в которых ограниченное количество земель для выращивания различных культур. Наконец, гидропоника требует менее трудоемких методов по сравнению с обычным сельским хозяйством.

В целом, гидропонные технологии выращивания широко признаны общественностью и властями как способ ведения сельского хозяйства, который требует менее трудоемких методов, оказывает меньшее влияние на окружающую среду за счет снижения пестицидной и фунгицидной нагрузки. Использование гидропонных технологий выращивания растений способствует получению экологически чистой продукции

1.3.1 Глубоководное выращивание на плотках (Deep Water Culture – DWC)

Системы DWC являются наиболее известными используемыми гидропонными системами СЕА (Сельское хозяйство с контролируемой окружающей средой). В связи с этим, данные системы представляют повышенный интерес для исследователей (Sharma et al., 2019). Системы DWC традиционно не содержат твердофазного компонента, и все же во многих исследованиях используются системы, подобные DWC, которые включают различные твердофазные компоненты (рис. 5).

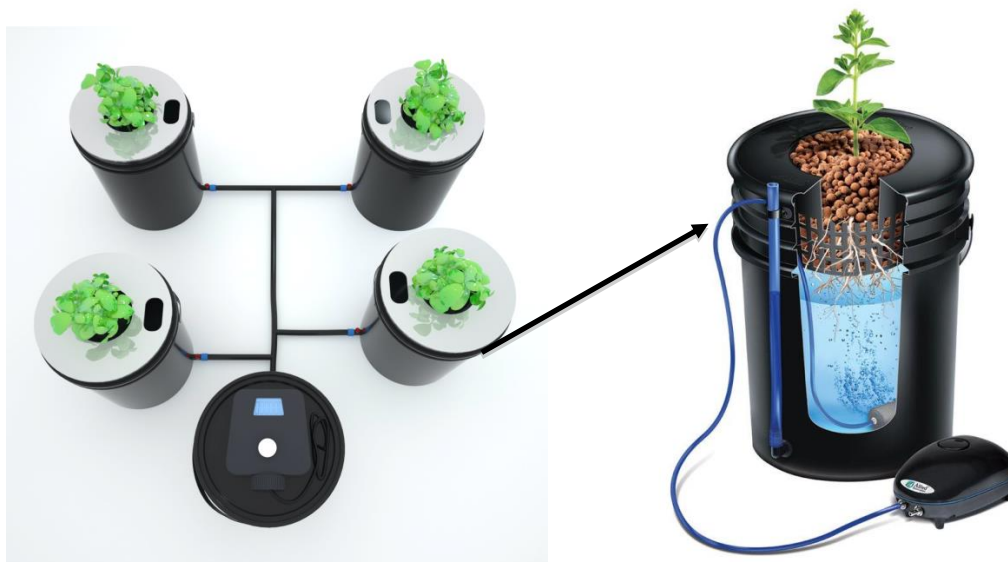


Рис.5 Deep Water Culture – DWC

https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fgrowman.ru%2Fcompany%2Farticles%2Fdeep_water_culture_dwc%2F&psig=AOvVaw3-4B0C7cQfUtvjCvKWB_kn&ust=1678042216924000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjhxqFwoTCIDf-4r5wv0CFQAAAAAdAAAAABAD

В работах различных исследователей было показано, что при выращивании овощных и зеленых культур на гидропонике наблюдалось меньше случаев интернализации микроорганизмов по сравнению с почвенным выращиванием (Settanni et al., 2013; Macarisin, Patel, Sharma, 2014; Barnhart, Chapman, 2016; Koseki et al., 2011; Franz et al., 2007; Barak et al., 2005; Klerks et al., 2007; Sharma et al., 2009; DiCaprio et al., 2012). Авторы данных исследований предположили, что, вероятно, разные вирусы обладают различной устойчивостью к нативным системам защиты растений.

1.3.2 Технология создания питательной пленки (Nutrient Film Technique – NFT)

Технология создания питательной пленки (NFT) (рис. 6,7) является самой распространенной разновидностью закрытых гидропонных систем. В данной системе корни растений подвешены в наклоненной ванночке (короб или труба), в которую подается питательный раствор. Расстояние между

растениями в лотке определяется в соответствии с рекомендациями для типа культуры, и растения закрепляются на месте с помощью вставок для горшков из пенопластовой сетки (Jones Benton, 2014; NoSoilSolutions. The Different Types of Hydroponic Systems. Available online: <https://www.nosoilsolutions.com/6-different-types-hydroponic-systems/> (accessed on 23 June 2022)).

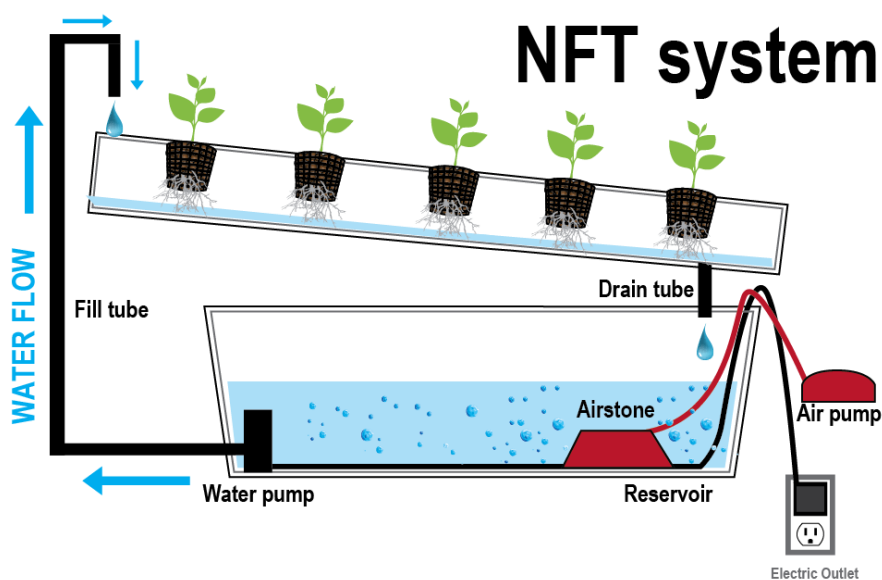


Рис.6 Система гидропоники NFT

(https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fpikabu.ru%2Fstory%2Ftehnika_pitatelnogo_sloya_nft_5169408&psig=AOvVaw1DTVuXJKpgWL4jwARwYKNm&ust=1678555604417000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjhxqFwoTCLi9ppHx0f0CFQAAAAAdAAAAABAI)



Рис.7 Внутренняя теплица NFT

(<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Faliexpress.ru%2Fitem%2F1005002085277646.html&psig=AOvVaw1DTVuXJKpgWL4jwARwYKNm&ust=1678555604417000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjhxqFwoTCLi9ppHx0f0CFQAAAAAdAAAAABAq>)

Данные исследований Warriner и соавт. (2003) подтвердили гипотезу о том, что подвижные виды бактерий могут представлять больший риск в гидропонных системах, чем в почве. Однако нестандартные измерения и разные исходные концентрации инокулята в разных исследованиях затрудняют достоверные сравнения. Например, как при 4 log, так и при 7 log КОЕ/мл загрязнения гидропонной воды в системе DWC, после 14-го дня культивирования было обнаружено 2-4 log КОЕ на побегах шпината интернализированной *E. coli* O157:H7. Напротив, Warriner и соавт. (2003) обнаружили ~2 log КОЕ/г интернализированной кишечной палочки после 16 дней культивирования, но трудно сравнивать “граммы” и “побеги”, не зная веса побегов, о котором не сообщалось. Кроме того, неизвестно, усваиваются ли определенные штаммы *E. coli* более эффективно, чем другие. Действительно, сообщалось о различиях, зависящих от вида и штамма (Jablasone et al., 2005; Franz, et al., 2007; Kaiser, Ernst, 2019; Klerks et al., 2007).

Недостаток данных, относящихся к системам NFT, и зараженность листовой зелени патогенами свидетельствуют о необходимости дополнительных исследований. В частности, необходимо продолжать стандартизацию систем NFT для исследовательских целей. Например, Warriner и соавт. (2003) предположили, что пробки из минеральной ваты, используемые для проращивания семян и последующего культивирования в их системе NFT, возможно, обладали фильтрующим эффектом, о чем свидетельствует снижение уровня *E. coli* в системе с течением времени. В то же время при выращивании в почвенном субстрате их уровень увеличивался. Если заглушки из минеральной ваты были погружены в воду достаточно глубоко, чтобы впитывать загрязняющие вещества, возможно, это была не настоящая система NFT, поскольку только кончики корней должны касаться воды. Это также может указывать на то, что гидропонные системы, использующие твердую фазу, подвергаются повышенному риску проникновения через корневые системы накапливаемых загрязняющих веществ в питательной среде во время рециркуляции. Поскольку при NFT в загрязненный питательный раствор обычно погружаются только кончики корней растений, возможно, кончики корней являются основными путями проникновения патогенов человека. Деление и удлинение клеток корня растения происходит в наибольшей степени на кончиках корней, а также в местах соединения корней, возможно, оставляя широкие возможности для проникновения патогена (Mähönen et al., 2014). Однако по мере накопления данных может выясниться, что системы NFT не отличаются от производства DWC в отношении риска интернализации патогена.

1.3.3 Другие гидропонные системы

Наиболее часто используемые гидропонные системы включают аэропонику, капельную систему, технологию создания питательной пленки, глубоководное культивирование, приливы и отливы и фитильная система,

аквапоника. Следует отметить, что обычно стоимость этих систем варьируется в зависимости от конструкции, эксплуатационных характеристик и надежности.

В системе приливов и отливов (рис. 8) растения, растущие в инертной среде, периодически заливаются богатым питательными веществами раствором с помощью насосов и самотеком сливаются обратно в резервуар под слоем выращивания для повторного использования (Jones Benton, 2014; NoSoilSolutions. The Different Types of Hydroponic Systems. Available online: <https://www.nosoilsolutions.com/6-different-types-hydroponic-systems/> (accessed on 23 June 2022)).

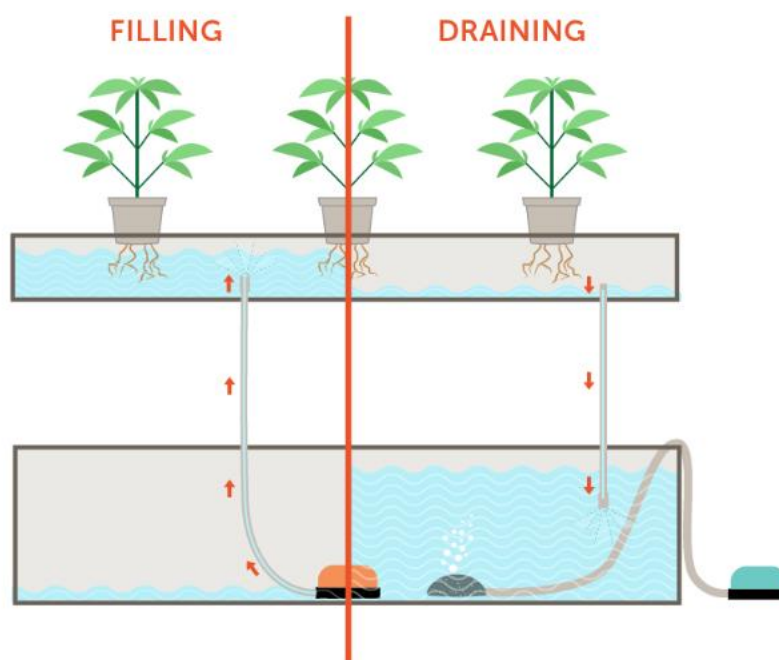


Рис. 8 Гидропонная система по типу периодического затопления (<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.motilek.com.ua%2Fznakomstvo-s-gidroponikoj%2F&psig=AOvVaw3kiAxI3gXLVkwvVP48iFO&ust=1678630225628000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjhxqFwoTCLiAiYWH1P0CFQAAAAAdAAAAABAf>)

Фитильная система (рис. 9) является одной из простейших гидропонных систем. При такой технологии растения выращивают на питательной среде с фитилем, опускающимся в резервуар с питательным раствором. Чаще всего выращивают небольшие растения и травы в

домашних условиях, а в коммерческих целях (World Wildlife Fund. Indoor Soiless Farming: Phase I: Examining the Industry and Impacts of Controlled Environment Agriculture. Available online: <https://www.worldwildlife.org/publications/indoor-soiless-farming-phase-i-examining-the-industry-and-impacts-of-controlled-environment-agriculture> (accessed on 4 May 2021); NoSoilSolutions. The Different Types of Hydroponic Systems. Available online: <https://www.nosoilsolutions.com/6-different-types-hydroponic-systems/> (accessed on 23 June 2022)). Обычно выращиваемые культуры в гидропонных системах включают травы или микрозеленые растения, такие как базилик, кресс-салат, укроп, орегано, бок-чой, листовую зелень, такую как салат-латук, капуста, шпинат и виноградные культуры, такие как помидоры, огурцы и перец (World Wildlife Fund. Indoor Soiless Farming: Phase I: Examining the Industry and Impacts of Controlled Environment Agriculture. Available online: <https://www.worldwildlife.org/publications/indoor-soiless-farming-phase-i-examining-the-industry-and-impacts-of-controlled-environment-agriculture> (accessed on 4 May 2021)).

ФИТИЛЬНАЯ СИСТЕМА

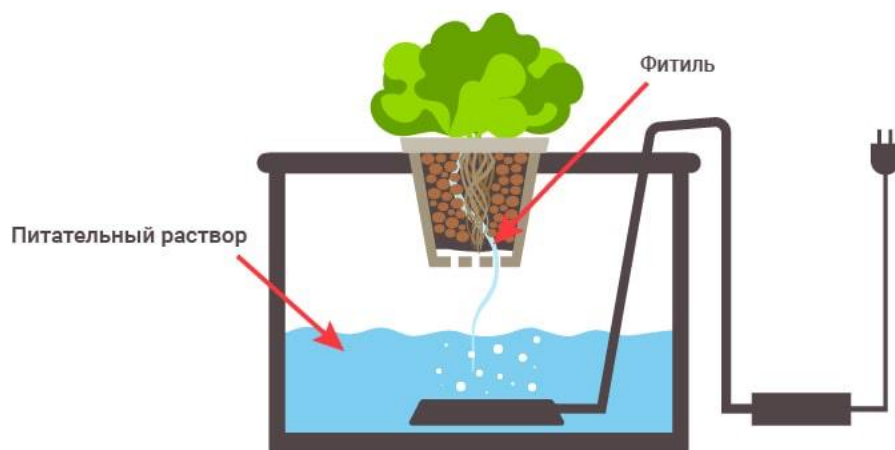


Рис. 9 Фитильная гидропонная система

(<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fgidronom.ru%2Furoki%2Furoki-nachinaiushchego%2F55-chto-zhe-takoe-gidroponika.html&psig=AOvVaw29Bb7TibUyczifIa8kyN7T&ust=1678630552870000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjhxqFwoTCLD0maOI1P0CFQAAAAdAAAAABAD>)

Аквапоника – это технология, которая совмещает гидропонику и аквакультуру (Knaus, Palm, 2017; Somerville, et al., 2014) (рис. 10). В данной технологии рыбы обеспечивают питание растениям, выделяя свои отходы, а растения, в свою очередь, очищают воду (Wong et al., 2020; Gooley, Gavine, 2003; Lennard, 2017).

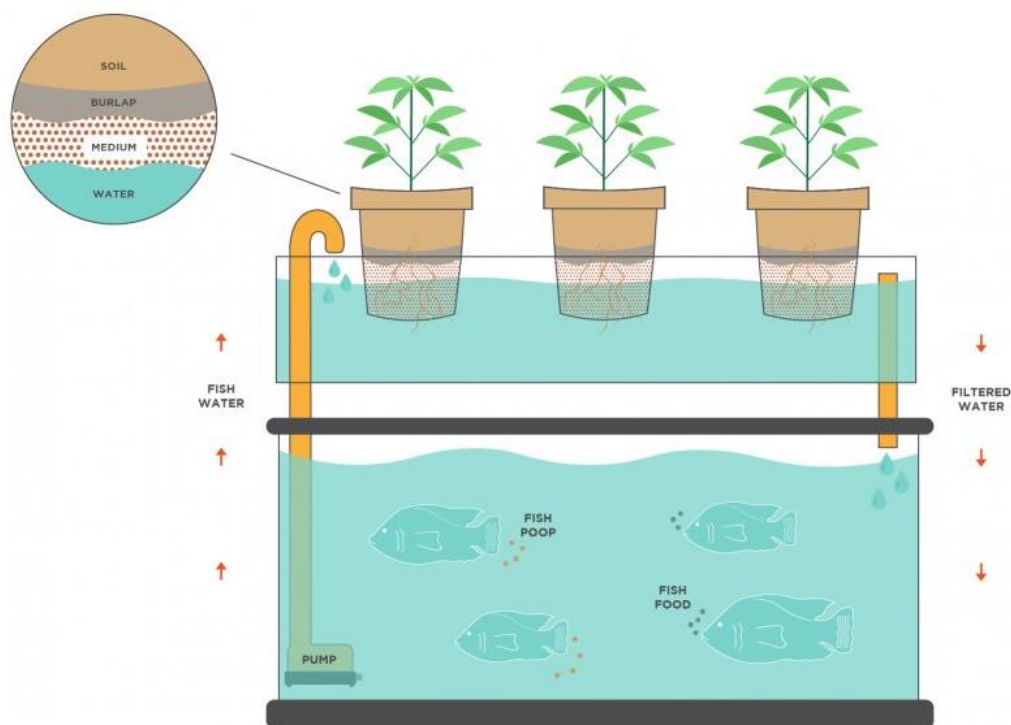


Рис.10 Аквапоника

(https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Findustry60plus.ru%2Fsvoimi-rukami%2Fakvaponika-svoimi-rukami-doma-akvaponika-svoimi-rukami-v-domashnih-usloviyah-poshagovaya-shema.html&psig=AOvVaw3XkPQn4lyby0lP_oxq9145&ust=1678630766203000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjhxqFwoTCLCv-IiJ1P0CFQAAAAAdAAAAABAe)

В системе капельного полива (рис. 11) питательный раствор подается каплями через определенные промежутки времени к корням растений, а избыток раствора возвращается в резервуар. Однако, в системах без циркуляции питательные вещества поступают с постоянной скоростью за счет медленного капания. Эта система может быть сконструирована для выращивания различных видов растений (NoSoilSolutions. The Different Types

of Hydroponic Systems. Available online: <https://www.nosoilsolutions.com/6-different-types-hydroponic-systems/> (accessed on 23 June 2022)).

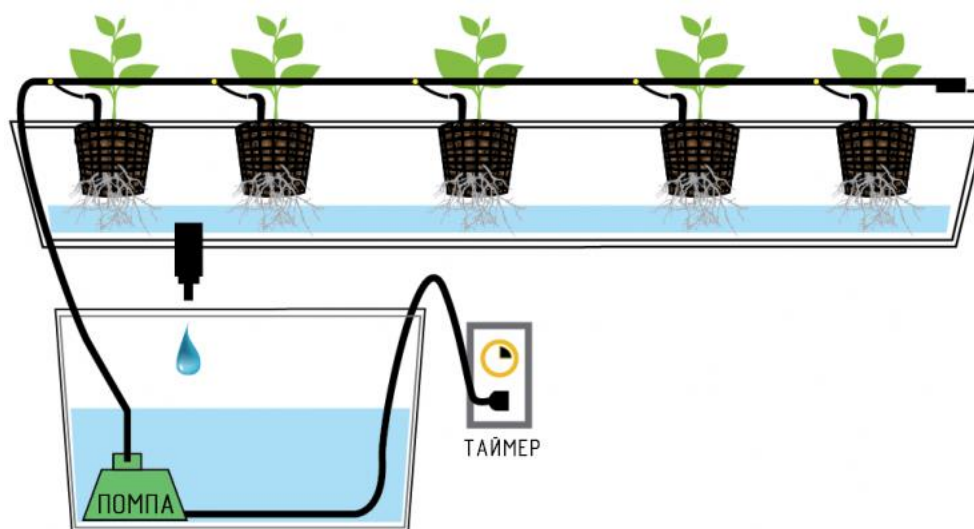


Рис.11 Гидропонная система капельного полива
(<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Ffloragrowing.com%2Fru%2Fencyclopedia%2Fсистема-капельного-орошения&psig=AOvVaw13g4sKjWyWuQxNPUmQY00J&ust=1678631779851000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjhxqFwoTCNCvhYqN1P0CFQAAAAAdAAAAABAR>)

1.4 Аэропонные системы выращивания. Недостатки и преимущества

Аэропонная система – это разновидность гидропонной системы выращивания, но не требующая наличия субстрата (например, минеральная вата, стекловата). Растения помещают в специальные «шайбы» с прорезями посередине. Полив осуществляется снизу разбрызгивателем прямо на корневую систему. Преимуществом аэропоники является то, что корни обогащаются свободным кислородом, так как между слоем воды и корнями находится воздух в отличие от гидропоники, где через стекловату проходит питательный раствор (Гущин и др., 2023). Производитель может получить более высокую урожайность и качество культивируемых растений по сравнению с другими методами выращивания. Однако аэропонная система является трудоемкой. Одним из минусов аэропонных систем является то, что поломка какой-либо из частей может привести к тому, что все растения могут

серьезно повредиться или даже погибнуть. Требуются компетенция, знания по эксплуатации этой техники, так как очень важно уметь помимо отслеживания за работой еще и подбирать условия для каждого вида или сорта растения, потому что для определенного организма требуется свой питательный раствор и температуру с влажностью для эффективного роста и развития (Lakhiar et al., 2018; Petersen et al., 2012; Mohammed et al., 2017; Gago et al., 2015; Barriuso et al., 2018; De la Concepcion et al., 2014). Кроме того, в нескольких исследованиях была успешно спроектирована аэропонная система с использованием различных подходов к информационным технологиям (Wang et al., 2006; Ruiz-Garcia et al., 2009). Чжан и коллеги (2004) использовали сенсорную сеть для мониторинга температуры воздуха, влажности, окружающего освещения, а также влажности и температуры почвы. Кроме того, аэропонная система - это новое применение в беспочвенном сельском хозяйстве. Кроме того, в нескольких исследованиях была успешно спроектирована аэропонная система с использованием различных подходов к информационным технологиям. Так, Tik и коллеги (2009) разработали и внедрили беспроводную сенсорную сеть для мониторинга аэропонной системы. В исследовании Pala и соавт. (2014) предложен подход к мониторингу средств автоматизации и раннего обнаружения неисправностей в аэропонной системе с помощью интеллектуальных методов. В протоколе они разработали высоко масштабируемую аэропонную систему и закодировали ее как прототип aeropot. Они разработали программное обеспечение, основанное на генетическом алгоритме, для оптимизации энергопотребления аэропонной системы. Разработанное программное обеспечение может позволить пользователю добавлять и удалять лампы и насосы, а также определять потребление добавленных устройств с минимальными усилиями производителя.

1.5 Применение светодиодного освещения и аэро- и гидропонных установок для адаптации и акклиматизации микрорастений к условиям *ex vitro*

Гидропоника – является процессом культивирование растений, в результате которого, растения получают необходимые для жизнедеятельности вещества из питательного раствора, окружающего корни. Гидропонные системы позволяют регулировать и создавать различные режимы питания для корневой системы, обеспечивать потребности растений в питательных элементах, регулировать содержание углекислого газа в воздухе, регулировать температуру воздуха и корнеобитаемого пространства, режим освещения.

Аэропоника — является процессом культивирования растений, где в качестве субстрата используется водный питательный раствор, который подается к корням в виде аэрозоля.

Гидропонные и аэропонные технологии играют важную роль в 21-м веке при выращивании растений без почвы как в научных разработках, так и в коммерческом производстве получения саженцев / продуктов питания. Основной принцип работы таких систем предполагает использование распылителей или туманообразователей для создания мелкого тумана из раствора, доставляющего питательные вещества к корням растений. Корни растений подвешены над резервуаром питательного раствора или внутри канала, соединенного с резервуаром (Lakkireddy et. al., 2012).

Светодиодное освещение имеет большую роль в процессе адаптации микрорастений к условиям *ex vitro*. Применяя различные спектры можно достичь высоких показателей развития зеленой массы растений, стимулировать увеличение показателей корнеобразования, регулировать процессы жизнедеятельности растений. Активное применение светодиодного освещения в области биотехнологии, в частности клонального микроразмножения растений, поможет решить экономические проблемы:

экономии затрат на электроэнергию, снизить временные затраты на получение качественных развитых саженцев (Гущин и др., 2019).

Из литературных данных известно, что регулировать процесс морфогенеза возможно за счет изменения спектрального состава света (Гудь и др., 2019). Показано, что спектральный состав по-разному влияет на рост и побегообразование растений. Например, фиолетовые и синие лучи ускоряют процесс фотосинтеза, что приводит к быстрому образованию более крупных растений, а различное соотношение лучей красного и синего света, например, 40% красного и 60% синего света, оказывают влияние на морфогенетические процессы, происходящие в целом растении. Область спектрального диапазона красного света довольно широка и разные участки, например, дальний красный (730 нм) или красный (660 нм) отвечают за регуляцию разных физиологических процессов. Это в свою очередь, не может не сказаться на продуктивности растений в целом. В то же время, добавление зеленого спектра (ЗС), к любым используемым облучателям, приводит к повышению эффективности их воздействия на морфофизиологические процессы исследуемых объектов.

Большое количество работ в России и за рубежом проводится для разработки протокола по акклиматизации плодово-ягодных культур. Этап адаптации растений-регенерантов к условиям *ex vitro* является одним из самых ответственных и трудоемких этапов клонального микроразмножения, считается критическим и сопряжен с гибелью растений (Калашникова и др., 2021). Выпад пробирочных микроклонов при переносе их в твердые субстраты может происходить в результате того, что корни, сформировавшиеся в условиях *in vitro*, отличаются ломкостью и чувствительны к различным механическим повреждениям (Эрст А. А. и др., 2012; Zabayed et al., 1999).

Недостаточное содержание питательных веществ, медленный начальный рост после пересадки растений из пробирок в контейнеры с субстратом, слабо развитая надземная и подземная части – не дает

возможности вырастить высококачественный посадочный материал к началу периода вегетации (Аладина и др., 2009). Использование технологий, основанных на выращивании растений без почвы в воздушной среде – гидропоники и аэропоники – позволяет не только решить данные проблемы, но и оптимизировать параметры роста, морфологические и физиологические процессы (Калашникова и др., 2021).

Применение гидропоники, аэропоники, а также светодиодного освещения призваны повысить производительность и экономическую эффективность основной технологии микрклонального размножения растений, за счёт уменьшения издержек на создание лабораторной инфраструктуры и сокращения сроков культивирования клоновых растений. Предлагаемое решение востребовано во всём мире и постепенно становится основой создания конкурентоспособного производства в области биотехнологии растений с получением высоких коэффициентов генетически однородных линий растительных культур с заданными свойствами.

Приведем некоторые примеры по адаптации микрклонов в водных условиях.

Так, например, Rohr et al. (2001) исследовали морфологические и анатомические изменения культивируемых *in vitro* растений, такие как отсутствие кутикулы и нарушение работы устьичного аппарата, которые должны защищать проростки от высыхания, а также отсутствие нормально развитой корневой системы. Они также упоминают два основных подхода для предотвращения чрезмерной гибели стерильных растений при акклиматизации *ex vitro*: снижение водного стресса и стимулирование перехода микрклонов на автотрофный тип питания.

Метод, который является более экономичным с точки зрения используемых материалов, необходимого пространства и, особенно, рабочей силы, - это «поплавковая гидрокультура» (float hydroculture). Благодаря этому методу первые корни появляются через 10 дней, а через 1 месяц растения укореняются и акклиматизируются и могут быть пересажены в

горшки с почвой. Процент укорененных проростков может достигать 100%, если использовать хорошо развитые побеги длиной в несколько сантиметров (Fira et al., 2011).

В работе Clara et al., 2013 была изучена акклиматизация укорененных *in vitro* проростков в гидропонной системе «поплавкового типа». Укорененные *in vitro* растения малины сорта Willamette были перенесены для акклиматизации в плавающие клеточные лотки с 56 ячейками. При этом от одной трети до половины базальной части побегов, помещенных в ячейки, были погружены в воду. Всего было изучено 280 проростков. В ходе авторы установили процент выживания растений более 80%. Общий процент акклиматизации составил 83,57%. Всходы адаптировались за 15 суток.

Обе технологии акклиматизации *ex vitro* («поплавковая» гидрокультура и плавающие пласты перлита) являются радикально новыми, поскольку они не требуют поддержания высокой влажности вокруг адаптируемых саженцев. Также не требуется поддержание влажности субстрата путем орошения, поскольку в случае плавающих пластов перлита сам субстрат обеспечивает влажность за счет пассивного поглощения воды, а в случае «поплавковой» гидрокультуры субстратом является вода из сосудов, используемых для акклиматизации (Clara et al., 2013).

Многочисленные исследования по адаптации микрорастений к асептическим условиям рекомендуют использовать гидропонную технологию (Вечернина и др., 2008; Бычкова и Титова, 2018; Тихомирова и др. 2018). Регенеранты, адаптированные на гидропонной установке, характеризовались интенсивным развитием побегов и листьев, которые в 1,5– 2 раза превышали таковые показатели у растений, адаптированных в песке (Бородулина и Плаксина, 2015). Хорошо развитая корневая система растений обеспечивает их высокую приживаемость при пересадке в почвенный субстрат (Эрст А. А. и др., 2012).

В результате того, что исследования по оценке влияния технологий, основанных на водной, влажно-воздушной, сильно аэрируемой среде, стали

проводиться сравнительно недавно, в литературе мало данных, посвященных адаптации *ex vitro* на гидропонных установках. В то время как исследования, связанные с акклиматизацией растений на аэропонике, ранее не проводились.

Ягодные культуры рода *Rubus* состоят из большого количества сортов. В нашей стране и за рубежом было проведено большое количество исследований по использованию метода клонального микроразмножения для получения посадочного материала растений данного рода. По всему миру ученые в своих работах изучают сортовые характеристики малины и ежевики, влияние на них различных факторов. Довольно часто приходится наблюдать, что применение экспериментальных результатов, полученных для одних сортов, не всегда дают положительные результаты на других сортах. Поэтому разработка приемов и методов введения в культуру, достижения высокого коэффициента размножения, успешного укоренения и адаптации по отношению к отдельным видам и сортам часто начинается заново, или с учетом корректировки уже существующих. В связи с этим, проведение исследований по разработке протокола акклиматизации клоновых растений не теряет своей актуальности.

Анализируя все преимущества данной технологий, нельзя недооценивать ее роль в современном сельском хозяйстве. Проблема разработки технологий адаптации к гидропонным и аэропонным системам остается актуальной, так как протоколы по адаптации к данным установкам не разработаны для ряда экономически важных культур.

ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работу проводили на кафедре биотехнологии Российского государственного аграрного университета-МСХА имени К. А. Тимирязева.

2.1 Объект исследования

Объектом исследования служили микроклоны, полученные *in vitro*: малина (сорт Оранжевое чудо), ежевика (сорт Black satin), виноград (сорты Muscat Ottonel, Moldova, Muscat Polocshey, Monarh, Feteasca Neagra, Feteasca Regala), декоративные растения (гейхера гибридная (Rio, Tiramisu, Golden zebra), эхинацея гибридная (Mama mia, Butterfly kisses), сирень обыкновенная (Красавица Москвы, Красная Москва, Жанна Д`Арк), микроклоны *Mentha piperita* L. и *Melissa officinalis* L., микроклоны *Hedyotis salzmannii* семейства Мареновые и *Alternanthera reineckii* семейства Амарантовые.

Для адаптации к условиям *ex vitro* использовали две группы микроклонов: 1 –с корнями, 2 –без корней (корневую систему удаляли скальпелем перед высадкой на аэропонную установку или в почву).

Микроклоны растений разных таксономических групп выращивали в биологических пробирках и контейнерах в условиях световой комнаты, где поддерживали 16-часовой фотопериод, температуру $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ и освещенность белыми флуоресцентными лампами (марка «OSRAM AG», производство – Германия) с интенсивностью 3 – 3,5 тыс. люкс. Работу проводили в соответствии с методиками, разработанными на кафедре биотехнологии РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева (Калашникова и др., 2023).

2.1.1 Плодово-ягодные культуры

Объектом исследования служили малина сорта Оранжевое чудо и ежевика сорта Black satin. В работе использовали уже ранее размноженный

посадочный материал, культивируемый на среде Кворина-Лепуавра (QL) в условиях *in vitro*.

Малина Оранжевое чудо

Сорт среднего срока созревания, ремонтантный, универсальный. Куст высокий, мощный, среднераскидистый, побегообразовательная способность высокая (Рис. 12). Побеги прямые, шиповатые, порослеобразование среднее.



Рис. 12 Малина сорта Оранжевое чудо
(<https://florapitomnik.ru/magazin/oranzhevoe-chudo.html>)

Ягоды средней массой 5,5 – 10,2 г, удлинено-тупоконической формы, ярко-оранжевой окраски с блеском, слабоопушенные. В них содержится: сахаров 3,6%, кислот 1,1%, витамина С 68мг%. Мякоть нежная, кисло-сладкая с ароматом. Дегустационная оценка ягод в свежем виде 4 балла. Средняя урожайность 155 ц/га. Сорт устойчив к болезням и вредителям на уровне стандартных сортов. Устойчивость к засухе и жаровыносливость средняя. По технологии возделывания предусмотрено осеннее скашивание побегов (Горбунов, Рязанова, 2017).

Ежевика Black satin

Сорт получен в США в 1974 г; полустелющийся, бесшипый. Побеги в начале лета растут вертикально вверх, а затем опускаются и продолжают расти в горизонтальном положении. Они нежесткие, не перегибаются, темно-

зеленые, позднее становятся желтоватыми, диаметр побегов до 3 см. Цветки бело-розовые или розовые (Ежов и др., 2017).

Высокопродуктивный сорт, преимущественно технологического использования. Продуктивность свыше 15 кг на куст. Плод крупный, удлинено-яйцевидный (Рис. 13), массой более 6 граммов, черного и блестящего окраса; вкусовые качества свыше 3,8 баллов. Время созревания – первая декада июля – третья декада августа.



Рис. 13 Ежевика сорта Black satin (<https://gardenzia.ru>)

Самоплодность высокая (полезная завязь при самоопылении свыше 80%). Засухо- и жароустойчивость хорошие, зимостойкость средняя, в северных районах края требует укрытия на зиму. Устойчив к основным болезням (Горбунов, Рязанова, 2017).

2.1.2 Виноград

Объектом исследования служили следующие сорта винограда: Muscat Ottonel, Moldova, Muscat Polocshey, Monarh, Feteasca Neagra, Feteasca Regala. В работе использовали уже ранее размноженный посадочный материал, культивируемый на среде $\frac{1}{2}$ MS в условиях *in vitro* (Навроцкая и др., 2019).

Виноград сорта Muscat Ottonel

сорт винограда, который принадлежит семейству мускатов. Выведен во Франции. Относится к столово-винным сортам. Гроздь средней величины, цилиндрическая, цилиндроконическая, размер варьирует от плотной до очень плотной. Ягода средней величины, округлая, зеленовато-желтая. Кожица прочная, мякоть мясистая, с ярким мускатным ароматом. Кусты средней силы роста. Урожайность составляет 60—100 ц/га. Сахаристость достигает 21—22%, кислотность 4—6 г/л. Сорт поражается милдью, серой гнилью, оидиумом. Морозоустойчивость сорта средняя. Используется в свежем виде, для приготовления купажных, полусладких вин, соков (<http://vinograderu.ru/41-stolovyy-sort-vinograda-muskat-ottonel.html>).

Виноград сорта Moldova

Данный сорт – результат скрещивания сортов Guzali cara и Save Villar 12–375. Получен в Национальном институте виноградарства и вина Республики Молдова в 1961 году. Авторы: М.С. Журавель, И.П. Гаврилова, Г.М. Борзикова, Н.И. Гузун. Сорт характеризуется высокой лежкостью. Гроздь большая, массой 400–600 г., цилиндрическо-конической формы, относительно плотная или рыхлая. У представителей сорта *Moldova* ягоды крупные, массой 4–6 г., овальной формы, с 2–3 семенами. Кожица темно-фиолетовая, почти черная, с густым восковым налетом, толстая. Назначение ягод столовое. Относится к сортам позднего срока созревания. Урожайность высокая. Сорт обладает средней зимостойкостью (<https://leplants.ru/vitis-vinifera-moldova/>).

Виноград сорта Muscat Polocshey

Это малоизученный сорт, выведен на территории Республики Молдова. Характеризуется высокой урожайностью и лежкостью. Назначение ягод столово-виное.

Виноград сорта Monarh

Сорт винограда, созданный селекционером Е.Г. Павловским в результате скрещивания сортов Талисман и Кардинал с добавлением смеси

пыльцы. Часто данный сорт также называют Павловским в честь ученого. Кусты обладают большой силой и скоростью роста. Укоренение черенков происходит быстро. При благоприятных условиях цветение начинается в начале июня. Вызревает в третьей декаде августа. Грозди цилиндроконической формы, крупные (в среднем до 600 г, но бывают и до 1 кг). Ягоды желтые, крупные, овальной формы, весом почти 23 г, однако есть прямая зависимость размера ягод от размера грозди. Мякоть сочная, ароматная, с мускатным послевкусием. Кожица тонкая, однако при этом ягоды не трескаются от избытка влаги и не повреждаются насекомыми. Ягоды после созревания могут длительное время оставаться на кусте, при этом их товарный вид и вкус не ухудшаются, что является большим преимуществом данного сорта. Урожайность - до 7 кг, а иногда и 10 кг, спелых ягод с одного куста. Виноград морозостойкий (до -23 градусов), его слабо поражают такие грибковые заболевания, как милдью, серая гниль, иногда подвержен инфекциям оидиума (<http://plodovie.ru/vinograd/sorta/monarh-1622/#ixzz5Q4NMMYCq>).

Виноград сорта Feteasca Neagra

Данный сорт винограда довольно редкий. Получил распространение в Молдове и Румынии. Сила роста лозы - средняя. Грозди средние, цилиндрические или цилиндроконические, среднеплотные.

Ягоды средние, округлые, фиолетово-черные. Кожица прочная. Мякоть сочная. Feteasca Neagra, как сорт очень хороший сахаронакопитель. При достижении полной зрелости ягоды накапливают 19,5—21,6 % сахаров, при кислотности 4,9—6,2 г/л. При перезревании ягод, сахаристость повышается до 27,6%. Довольно урожайный сорт винограда. Урожайность колеблется в пределах 76—144 ц/га. Сорт среднего срока созревания. Поражается милдью в средней степени, другими болезнями и вредителями - слабо. Сорт используется для приготовления ярко окрашенного столового вина высокого качества (<http://vitis.ru/pubs.asp>).

Виноград сорта Feteasca Regala

Малоизученный, автохтонный румынский ароматный сорт винограда, полученный в результате скрещивания 2-х сортов – Feteasca Alba и Furmint (в Трансильвании назывался Grasa), создан в Румынии в 30-х годах прошлого столетия. Сорт используется при приготовления десертных и крепких вин. Характеризуется высокой засухоустойчивостью. Наглядно сорта винограда можно видеть на рисунке 14.

Vitis vinifera Feteasca Regala



6

Vitis vinifera Monarh



Vitis vinifera Feteasca Neagra



Vitis vinifera Muscat Ottonel

7

Vitis Vinifera Moldova



Vitis vinifera Muscat Polocshey



Рис. 14 Сорта винограда, используемые в работе

2.1.3 Декоративные культуры

Объектом исследования служили современные сорта декоративных культур: гейхеры гибридной Rio, Tiramisu, Golden zebra, эхинацеи гибридной Mama mia, Butterfly kisses и сирени обыкновенной Красавица Москвы, Красная Москва, Жанна Д'Арк. В качестве первичных эксплантов использовали клоны микрорастений, культивируемые на питательных средах по прописи Мурасиге и Скуга (MS) и Кворина-Лепуавра (QL) в полипропиленовых контейнерах объемом 250 мл (Гущин и др., 2019).

Гейхера гибридная

Гейхера (лат. *Heuchera*) – род многолетних травянистых растений семейства Камнеломковые (лат. *Saxifragaceae*). Род содержит около 70 видов. В природной среде обитает в скалистых местностях Северной Америки. Имя дано в честь немецкого врача, ботаника Иоганна Генриха фон Гейхера.

Гейхера представляет собой компактные кустики высотой около 50 см с изысканными, роскошными листьями, меняющими свой окрас на протяжении периода вегетации, причем не единожды. Никакое другое растение не сравнится с богатой палитрой и разнообразными сочетаниями вариетатных окрасов.

Листья кожистые, прикреплены на длинных черешках, имеют зубчатые края. Они могут быть гладкими, гофрированными, кудрявыми. Листья могут быть окрашены в ярко-красный, почти черный, темно-бордовый, янтарный, розовый, фиолетовый, желтый, зеленый, серебристый цвет с полосами, крапинками, крапинами, узорами (Рис. 15).



Рис. 15 Гейхера гибридная

Есть декоративно-лиственные и декоративно-цветущие гейхеры. Мелкие цветочки колокольчатой формы окрашены в белый, кремовый, красный цвет, они собраны в метельчатые соцветия. Цветение продлится все лето, может цвести вплоть до морозов. Плодом является коробочка, наполненная мелкими семенами (1 г содержит около 20 000 семян) (<https://что-посадит.ru/tsvetok-geyhera-posadka-i-uhod-v-otkrytom-grunte-razmnozhenie-sorta-geyher-s-foto-i-nazvaniem/>).

В садоводстве используются многие виды Гейхеры, такие, как Гейхера Американская (лат. *Heuchera americana*), Волнистая (лат. *Heuchera villosa*), Мелкоцветковая (лат. *Heuchera micrantha*), Кротово-красная (лат. *Heuchera sanguinea*), Крыжовниковолистная (лат. *Heuchera grossulariifolia*). Все они достаточно неприхотливы. Часто гейхеру используют в бордюрной посадке, а влаголюбивые виды для оформления прудов и водоемов. В клумбах ее нередко сочетают с геранью, манжеткой, мелкими сортами ириса.

Сажать гейхеру можно как в тени деревьев, так и под солнечными лучами. Впрочем, это зависит от вида, например, гейхера волнистая предпочитает полутень. При посадке в почву лучше добавлять крупный песок, керамзит, гравий или дробленую кору. Самое благоприятное время для посадки – с конца апреля до конца августа, позже растение не высаживают, т.к. оно не успевает приспособиться и может не пережить зиму.

Уход за гейхерой не труден. Весной корневища, которые оказались на поверхности, заглубляют. Вянущие листья нужно стараться убирать по мере того, как отрастают новые. Кусты рекомендуется каждый год мульчировать измельченной древесной корой, что помогает оставаться грунту влажным и препятствует оголению корневищ. Удобрение минеральными подкормками проводят три раза в год: в начале мая, июля и сентября. Полив гейхере требуется только в жаркую погоду, при нем нужно следить за тем, чтобы капли не попали на листья, это может вызвать солнечные ожоги.

К зимовке гейхеру готовят, окучивая смесью торфа или перегноя с размельченной корой или же песком. Листья при этом удалять не нужно. Большая часть видов гейхеры морозостойка, однако молодые кусты, высаженные в этом году, лучше слегка укрыть листовым опадом. К заболеваниям гейхера достаточно устойчива.

Гейхеру можно вырастить из семян, с помощью дробления куста или из черешка. Семена сеют либо сразу же после сбора, либо весной в теплице, в рыхлом субстрате из перегноя, дерновой земли, песка и торфа (<http://lektrava.ru/encyclopedia/geykhera/>).

Эхинацея гибридная

Многолетнее цветущее растение эхинацея (*Echinacea*) является представителем семейства Сложноцветные, либо Астровые. Данный род объединяет около 9 видов. Родина такого растения — восточная часть Северной Америки. Название «эхинацея» с греческого языка переводится как «ежовая, либо колючая, как еж». Наибольшей популярностью пользуется вид — эхинацея пурпурная, либо рудбекия пурпурная, такое растение очень широко используется в нетрадиционной и в официальной медицине, а еще в декоративном садоводстве (Рис. 16). К. Линней в 1753 г впервые описал такое растение, при этом он отнес его к роду рудбекий. Однако спустя сорок лет эхинацея была выделена в отдельный род, так как меж этими растениями обнаружили значительные отличия.

Эхинацея — это травянистое корневищное растение, которое является многолетником. Высота прямостоячих шершавых побегов около 100–150 см. Прикорневые листовые пластины очень широкие и имеют овальную форму, кромка у них зазубренная, они размещаются на очень длинных черешках. Стеблевые листовые пластины очереднорасположенные, практически сидячие либо сидячие, обладают ланцетной формы. В состав соцветий входят большие корзинки, состоящие из срединных трубчатых цветочков, окрашенных в темно-красный либо коричнево-красный цвет, а также язычковых краевых цветков белого, красного либо розового окраса. Плод представляет собой четырехгранную семянку.



Рис. 16 Эхинацея пурпурная

Высаживать эхинацею в открытый грунт можно в осеннее либо весеннее время. Чаще всего это делают после деления куста эхинацеи. Вырастить данный цветок можно из семян, однако таким образом, как правило, размножают видовые эхинацеи, для размножения гибридных сортов используют вегетативные способы.

Подходящий для посадки участок должен быть солнечным и иметь питательный, глубоко обработанный, слабощелочной либо нейтральный грунт. Легкая песчаная почва либо влажный грунт не подходит для посадки

такой цветочной культуры. Если грунт кислый, то исправить это можно внесением в него извести.

Вырастить эхинацею в саду несложно, однако при этом вам следует знать несколько правил. В первую очередь особое внимание следует уделить поливу, он должен быть обильным и частым, при этом поливать цветы рекомендуется вечером. Еще очень важно, чтобы участок всегда был чистым, поэтому следует удалять сорную траву сразу после того, как она появится.

Начиная со второго года роста такой цветок нужно подкармливать древесной золой с перепревшим компостом, это положительно сказывается на цветении, которое становится более обильным. Подкормить эхинацею нужно 2 раза в течение сезона: в весеннее время, и когда она отцветет.

Садоводы предпочитают размножать эхинацею вегетативно делением кустиков. Данную процедуру можно производить в весеннее время в апреле, а также в осенние недели в период массового листопада. Первое деление куста производят только после того, как ему будет не меньше 4 либо 5 лет. Аккуратно извлеките его из почвы, стараясь не травмировать корневище. Затем куст разделяют на несколько частей, у каждой из которых должно иметься по 3 либо 4 почки возобновления. Высаживают деленки точно так же, как и рассаду при первичной посадке.

Видовую эхинацею садоводы предпочитают размножать семенами. Семена имеют достаточно большую величину. Их высев производят в весеннее время непосредственно в открытую почву, так как лучшей температурой воздуха для появления сеянцев считается 13 градусов. Высеянные семена не заглубляют, а присыпают сверху тоненьким слоем грунта. Однако опытные садоводы рекомендуют выращивать такие цветы рассадным способом, дело в том, что появившиеся сеянцы очень нежные и могут погибнуть из-за неустойчивой погоды, которая наблюдается в весеннее время. Для посевов используют контейнеры либо ящички. Семена надо заглублять в субстрат всего на 5 мм, а сверху их следует присыпать тоненьким слоем почвы. Затем посеvy поливают из пульверизатора.

Появления сеянцев придется ждать сравнительно долго, иногда они вырастают лишь через 6 недель после посева. Подросшую и окрепшую рассаду необходимо высадить на садовый участок. Затем их своевременно поливают, регулярно удаляют сорную траву с участка и производят рыхление поверхности почвы. Выросшие из семян эхинацеи зацветают чаще всего на второй год жизни, а в первый год у них лишь отрастает листовая розетка, которая в высоту может достигать от 15 до 20 сантиметров (<https://rastenievod.com/exinaceya.html>).

Сирень обыкновенная

Такой кустарник как сирень является представителем семейства маслиновые. По информации, взятой из различных источников, данный род объединяет от 22 до 36 видов. В природе такие виды можно повстречать в горных областях Евразии. У рода сирень имеется типовой вид — сирень обыкновенная (*Syringa vulgaris*). В природных условиях такой кустарник можно повстречать по нижнему течению Дуная, на Балканском полуострове и в Южных Карпатах. Сирень культивируется в качестве декоративного растения, а еще ею укрепляют и защищают склоны, которые подвергаются размывам (Рис. 17).



Рис. 17 Сирень, сорт Красавица Москва

(https://ru.wikipedia.org/wiki/Сирень_обыкновенная_%27Красавица_Москвы%27)

Сирень — это листопадный многоствольный кустарник, высота которого варьируется от 2 до 8 метров. Диаметр стволов равен около 0,2 метров. Окрас коры коричнево-серый либо серый. Молодые стволы покрывает гладкая кора, а старые — трещиноватая (<https://rastenievod.com/siren.html>).

Самым лучшим временем для высадки сирени в открытую почву является период с середины июля до первых дней сентября. Высаживать такой кустарник в весеннее либо осеннее время не рекомендуется, так как он плохо приживается и на протяжении 1 года почти не растет. Для посадки выбирают солнечное место с умеренно-увлажненной почвой, насыщенной гумусом, а ее кислотность должна быть 5,0–7,0.

Вырастить сирень в своем саду очень просто, тем более что уход за ней не отнимет у садовода много времени. В течение сезона требуется 3 либо 4 раза произвести рыхление поверхности приствольного круга на глубину от 4 до 7 сантиметров. Первые 2 либо 3 года сирень подкармливают лишь небольшим количеством азота. Начиная со второго года, под каждый кустарник вносят аммиачную селитру в количестве от 65 до 80 грамм либо мочевины от 50 до 60 грамм. Но опытные садоводы рекомендуют, подкармливать сирень органикой, для этого под кустик надо вылить 10–30 л навозной жижи (в воде следует растворить коровий навоз в соотношении 5:1). Для начала вокруг кустарника сделайте не очень глубокую бороздку, отступив от стволов не меньше 50 см. В нее и нужно влить питательную смесь.

Один раз в 2 либо 3 года растение подкармливают фосфором и калием, для этого на 1 взрослый куст следует взять от 35 до 40 грамм двойного суперфосфата и от 30 до 35 грамм калийной селитры. Гранулы следует заглубить в приствольный круг на 6–8 сантиметров, затем растение надо полить в обязательном порядке. Однако лучше всего сирень отзывается на подкормку комплексным удобрением, состоящим из 8 литров воды и 0,2 килограмма древесной золы (<https://rastenievod.com/siren.html>).

2.1.4 Цветочные культуры

Объектом исследования служили растения хризантемы трех сортов – Бакарди, Корейская Зорька и Белоснежка. Данные сорта были выбраны в качестве объекта исследования из-за своей популярности в цветочном бизнесе. В качестве первичных эксплантов использовали клоны микрорастений, культивируемые на питательных средах по прописи Мурасиге и Скуга (MS) (рис.18).



Рис.18 Микрклоны хризантемы, полученные из язычковых цветков

Хризантема сорта Бакарди

Высокорослые кустовые одноцветковые ромашковидные хризантемы, Диаметр цветков достигает 6-7 см, диаметр сердцевины - 1,5 см. Соцветия бывают махровыми, ромашковидными и шарообразными. На одном кустарнике может раскрыться до 30-и цветков. Внешний вид растений приведен на рисунке 19.



Рис. 19 Растения хризантемы, сорт Бакарди

Хризантема сорта Корейская зорька

Ранний сорт, высота растения достигает 50 см, средний диаметр соцветия 5-6 см. Цвет коричнево-желтый с медным отливом. Куст шаровидный, сильноразветвленный. Листья рассеченные, темно-зеленые. Внешний вид растений приведен на рисунке 20.



Рис. 20 Растения хризантемы, сорт Корейская зорька

Хризантема сорта Белоснежка

Кустовая полумахровая крупноцветковая многолетняя хризантема, отдаленно напоминающая ромашку. Плоские узкие и длинные белоснежные

язычковые лепестки в пять ярусов располагаются вокруг выпуклой открытой желтой сердцевинки. Диаметр распустившихся бутонов достигает 19 см. По высоте куста растение относится к группе высокорослых хризантем, длина стебля которых превышает 80 см. Стебель прямостоячий, крепкий и упругий, разветвленный, среднеоблиственный. Листья гладкие и сочные, перистораздельные, изумрудно-зеленые, вырастают в длину до 15 см. Внешний вид растений приведен на рисунке 21.



Рис. 21 Растения хризантемы, сорт Белоснежка

2.1.5 Лекарственные растения семейства Яснотковые

Объектом исследования служили микроклоны *Mentha piperita* L. и *Melissa officinalis* L. Образцы первоначально были размножены на безгормональной питательной среде, содержащей минеральные соли по прописи Мурасиге и Скуга (MS) (рис. 22).



Рис. 22 Микроклоны лекарственных растений А – с корнями, Б – без корней

2.1.6 Водные растения

Объектами исследования служили молодые целые растения *Hedyotis salzmannii* семейства Мареновые и *Alternanthera reineckii* семейства Амарантовые, оба размножаемые в культуре *in vitro* на безгормональной питательной среде, содержащей минеральные соли по прописи Мурасига и Скуга (MS) (рис.23, 24).



Рис. 23 Микроклоны *Hedyotis salzmannii*



Рис. 24 Микрочеренки *Alternanthera reineckii*

2.2 Адаптация микроклонов к условиям *ex vitro*

Адаптацию микроклонов к условиям *ex vitro* проводили двумя способами: на аэропонной установке и непосредственно в почве (рис. 25).

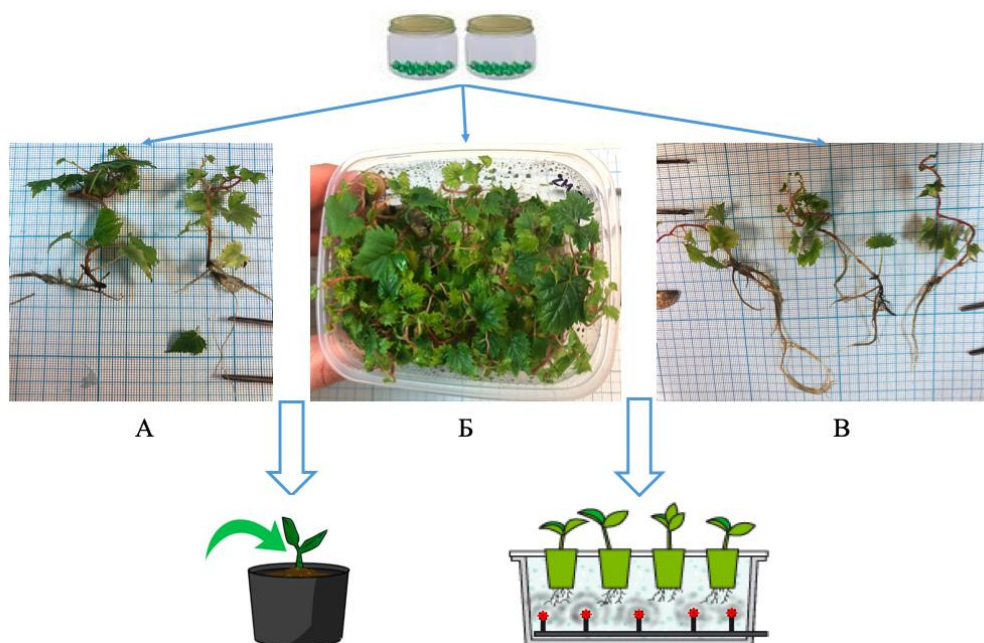


Рис. 25 Адаптация растений к условиям *ex vitro* (А, Б, В – побеги растений, полученные в культуре *in vitro*)

В качестве оборудования для адаптации микрорастений использовали трех-ярусную установку на 360 посадочных мест с системой орошения корневой зоны черенков и специального освещения с использованием светодиодной подсветки. Данная «Установка аэропонная многоярусная» (Москва) была разработана лично соискателем для адаптации микроклонов (рис. 26).



Рис. 26 «Установка аэропонная многоярусная «АэроПлюс»
(разработка автора)

Устройство aeropонного модуля (Габаритные размеры (ШхГхВ) 2000 х 1000 х 2500мм. Высота установки 2700 мм.) состоит из следующих составляющих:

- Пластиковые, сертифицированные поддоны;
- Система подачи и слива воды или питательного раствора методом aeropоники;
- Насос для подачи воды или питательного раствора на каждый ярус;
- Распределитель воды или питательного раствора на каждый;
- Система грубой очистки воды насосной станции;
- Система мелкой фильтрации растительных остатков;
- Материал конструкции стеллажа - сталь
- Толщина материала стеллажной конструкции 2 мм
- Количество функциональных регулируемых растениеводческих модулей 3 шт.
- Тип освещения - светодиодное освещение (Степень защиты светильников от пыли и влаги: полная защита от прикосновения к токоведущим частям и от вредного накопления пыли, брызги; диапазон длин волн светодиодного светильника 440-660 нм)
- Автоматическая система управления освещением для каждой полки
- Автоматическая система управления насосной станцией
- Автоматическая система управления и поддержания влажности
Система мониторинга уровня рН
- Стаканчики для функциональных регулируемых растениеводческих модулей 1000 шт.

Рабочий раствор установки содержал $\frac{1}{2}$ минеральных солей по прописи МС, а также различные ауксины. В качестве ауксинов исследовали ИУК и ИМК в концентрации 0,5 мг/л.

После стерилизации микрорастений в растворе марганцовки, их помещали в шайбы-держатели диаметром 40 мм, изготовленные из неопрена, после чего переносили в установку аэропонную многоярусную. В течение адаптации регуляцию микроклимата проводили путем изменения положения вентиляционных заслонок (Рис. 27).



А

Б

В

Рис. 27 Адаптация микрорастений: А, Б – условия аэропонной системы, В – почвенные условия

Адаптацию микрорастений в почвенных условиях проводили в пластиковых горшках, объемом 0,5 л, на стеллажах УГС-4. Источником освещения служили натриевые лампы ДНаТ, мощностью 400 Вт, цоколь Е40. В качестве субстрата при адаптации в почвенных условиях использовали готовый грунт «Универсальный» (Россия) торговой марки «Родная Земля». Содержание питательных веществ, мг/л: суммарный азот (NH_4+NO_3) - не менее 240, фосфор (P_2O_5) - не менее 290, калий (K_2O) - не менее 330.

Простерилизованные в растворе марганцовки микрорастения пересаживали в одноразовые пластиковые контейнеры с заранее плотно набитым грунтом и тщательно проливали почву. Для создания повышенной влажности воздуха сверху накрывали другим пластиковым контейнером. В ходе процесса акклиматизации ежедневно проводилось опрыскивание растений и полив по мере необходимости.

Учет результатов проводили в конце цикла адаптации, при этом учитывали длину корневой системы (см) и высоту растений (см). На основе

полученных результатов подсчитывали индекс роста (I) и удельную скорость роста (μ) по формулам:

$$I = \frac{X_{\max} - X_0}{X_0}, \quad (1)$$

где X_{\max} и X_0 – максимальное и начальное значения высоты побегов или длины корней, см.

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1}, \quad (2)$$

где X_2 и X_1 – высота побега/длина корневой системы (см), в моменты времени t_2 и t_1 , сут⁻¹, соответственно.

Адаптация водных растений к условиям ex vitro

Микрочеренки водных растений культивировали в четырёх вариантах:

1) выращивание в аэропонной установке, содержащей раствор с ½ МС в сочетании с ИУК 0,5 мг/л, 2) выращивание в аэропонной установке, содержащей раствор с ½ МС в сочетании с ИМК 0,5 мг/л, 3) выращивание в аэропонной установке, содержащей раствор с ½ МС без гормонов (контроль 1), 4) выращивание на водопроводной (отстоявшейся) воде в стеклянных сосудах объемом 0,1 л для *A. reineckii* и 0,5 л для *H. salzmännii* (контроль 2).

После 25 суток выращивания четырьмя разными способами растения были переведены в условия аквариума – в стеклянные сосуды, объёмом в 1 литр, или пластиковые контейнеры.

Доращивание растений в условиях теплицы

После трех месяцев адаптации в аэропонных и почвенных условиях растения с хорошо сформированной вегетативной частью и корневой системой были высажены в почву и перенесены в отсек доращивания (в условия теплицы). Для этого использовали цветочные горшки объемом 2 литра, керамзит и вермикулит марки «Morris Green», биоперегной универсальный фирмы "Поля русские". В качестве субстрата приготовили смесь, состоящую из земли и вермикулита в соотношении 1:3.

Полив и опрыскивание осуществляли по мере необходимости. Ежедневно проводили осмотр растений на наличие бактериальных, грибных и вирусных болезней, а также вредителей культур.

2.3 Биохимические исследования

Определение суммарного содержания фенольных соединений (ССФС) проводили в растительных экстрактах, полученных из зеленой биомассы микроклонов на 30-е сутки с начала их выращивания на аэропонной установке и в почвенном субстрате. Определение ССФС проводили спектрофотометрическим методом при длине волны 765 нм. с реагентом Фолин-Чокалтеу. Общее количество фенольных соединений измеряли в эквивалентах галловой кислоты (мкг галловой кислоты, эквивалентной GAE/мг экстракта).

Определение флаваноидов проводили спектрофотометрическим методом при длине волны 415 нм. Содержание флаваноидов было выявлено в эквиваленте кверцетина (мкг кверцетинового эквивалента QE/мг экстракта). Все измерения проводили на спектрофотометре Varian (США, Amersham Bioscience Ultrospec 2100 Pro UV/VIS) согласно методике Запрометова М.Н. (Запрометов, 1996).

2.4 Статистическая обработка данных

Средние значения всех данных были рассчитаны с использованием Microsoft Excel 2013 (корпорация Microsoft, США). Дисперсионный анализ (ANOVA) проводили с использованием Statistica версии 10.0 и сравнивали средние значения с использованием критерия наименьшей значимой разницы Фишера (LSD) при уровне значимости $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3

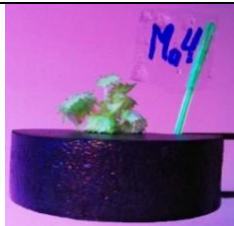




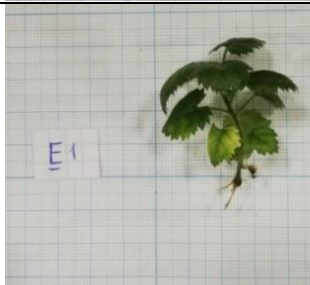
АДАПТАЦИЯ МИКРОКЛОНОВ РАСТЕНИЙ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП К УСЛОВИЯМ *EX VITRO*

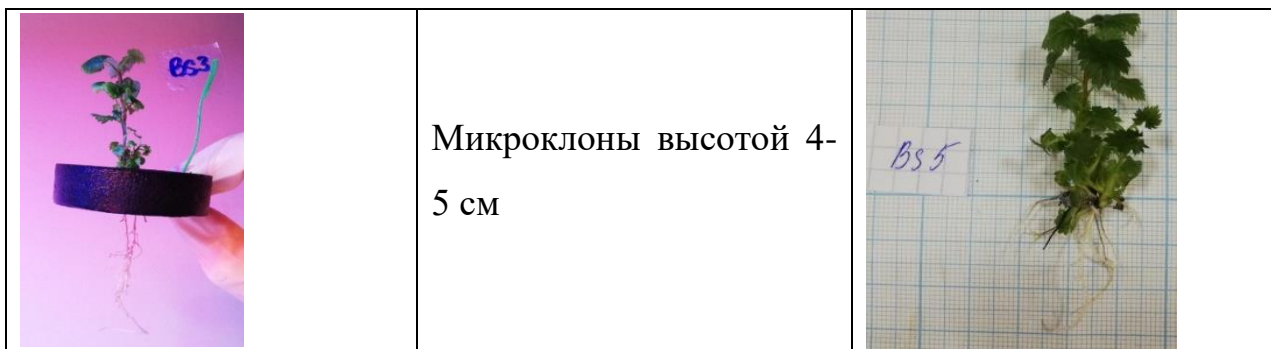
3.1 Адаптация к условиям *ex vitro* микроклонов плодово-ягодных культур

Адаптация к условиям ex vitro

Для создания оптимальных условий адаптации растений-регенерантов малины и ежевики к условиям *ex vitro* в качестве объектов растительного материала были взяты микроклоны разной величины: 1,5 см, 2-3 см, 3-4 см, 4-5 см (табл. 1).

Таблица 1 – Высота клонов микрорастений малины и ежевики, взятых для адаптации

	Микроклоны высотой до 1,5 см	
	Микроклоны высотой 2-3 см	
	Микроклоны высотой 3-4 см	



При адаптации растений к условиям *ex vitro* учитывали такие показатели, как высота надземной и длина подземной части, а также процент гибели растений.

Стоит отметить, что при адаптации микрорастений в аэропонных условиях наблюдали активный рост надземной и подземной части. При данном варианте адаптации отмечался низкий процент гибели растений малины и ежевики. Гибель растений от воздействия плесени наблюдали на 30 сутки выращивания. Учитываемый показатель составил 10%. У выживших растений в течение месяца формировались новые побеги и мощная корневая система (рис. 28,29).

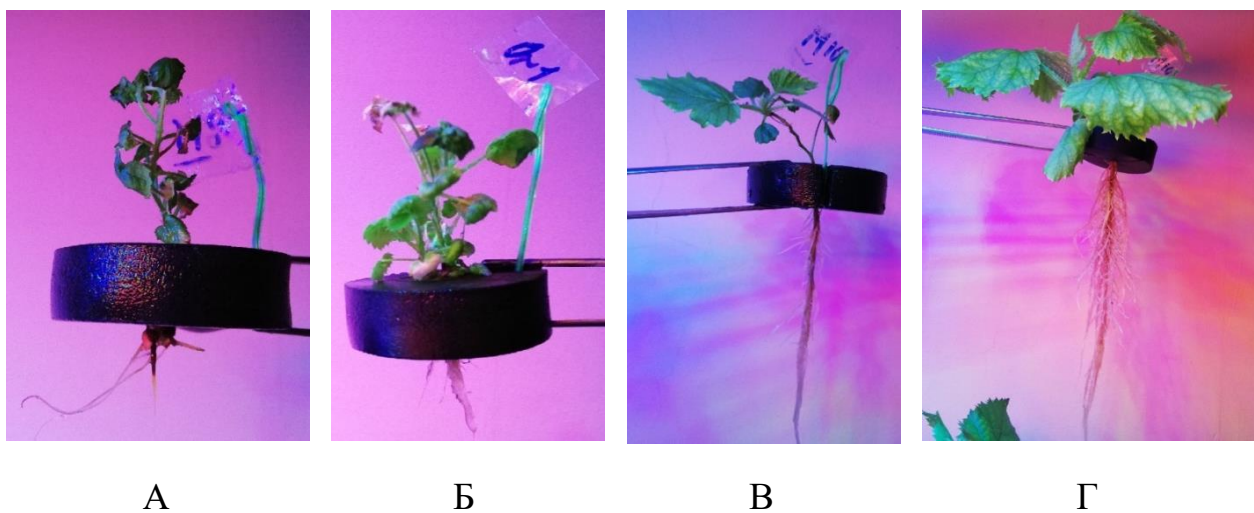
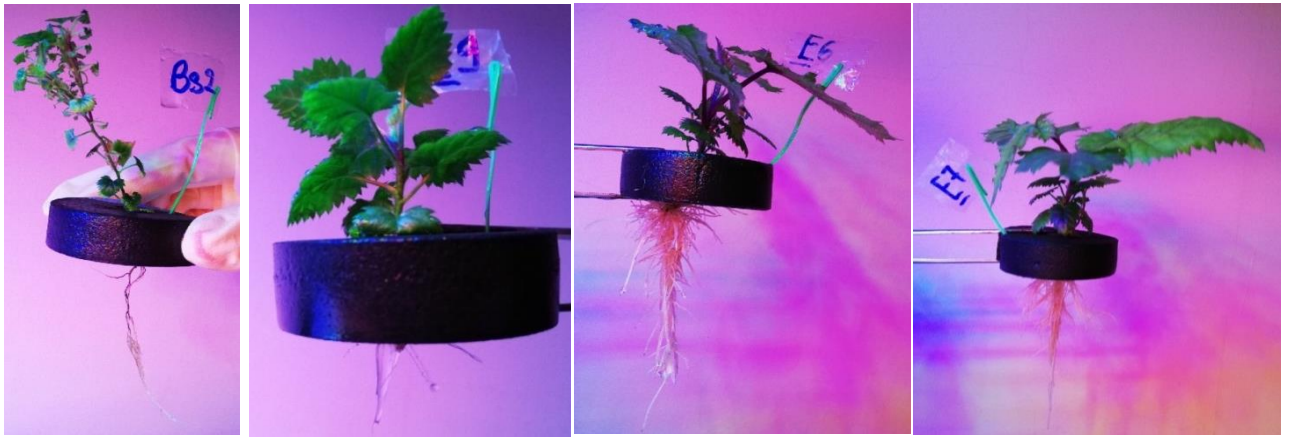


Рис.28 Малина Оранжевое чудо в условиях аэропники: А – 1-е сутки; Б – 7-е сутки; В – 21-е сутки; Г – 35-е сутки



А Б В Г

Рис. 29 Ежевика Black satin в условиях аэропники: А – 1-е сутки; Б – 7-е сутки; В – 21-е сутки; Г – 35-е сутки

По данным рисунков 30-31 можно отметить, что при культивировании микроклонов малины сорта Оранжевое чудо на 40 сутки высота надземной части составила 48,2 мм в среднем, а длина корневой системы – 87,8 мм. При этом стоит отметить, что на данные биометрические показатели оказывало влияние такого фактора, как размер исходного микрорастения.

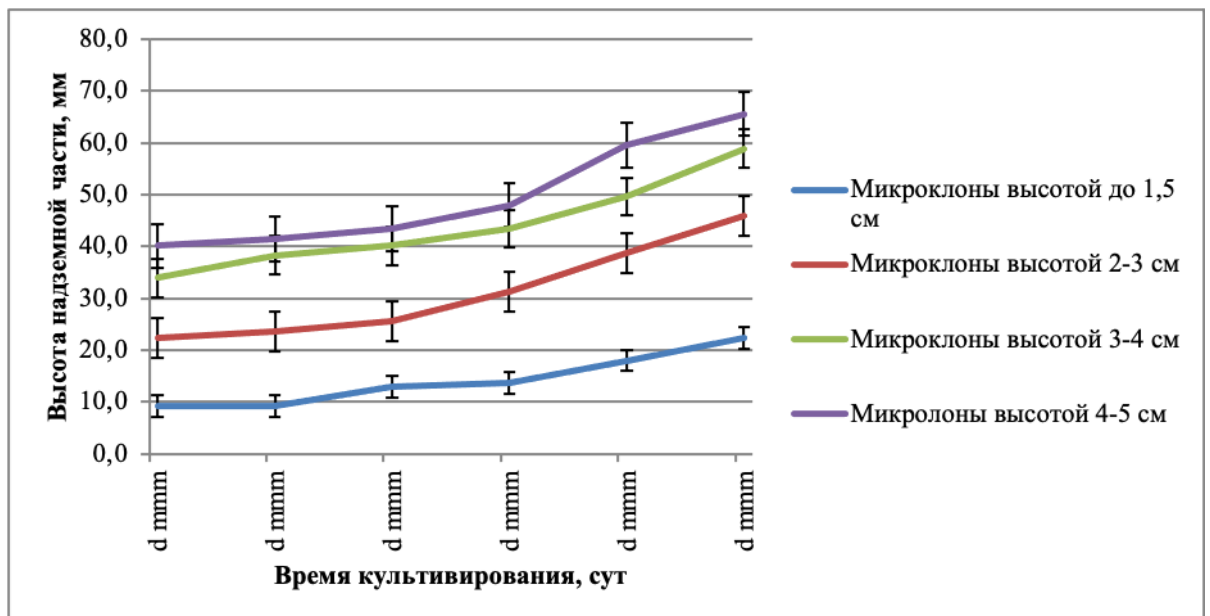


Рис. 30 Динамика изменения высоты малины при выращивании в условиях аэропонной системы

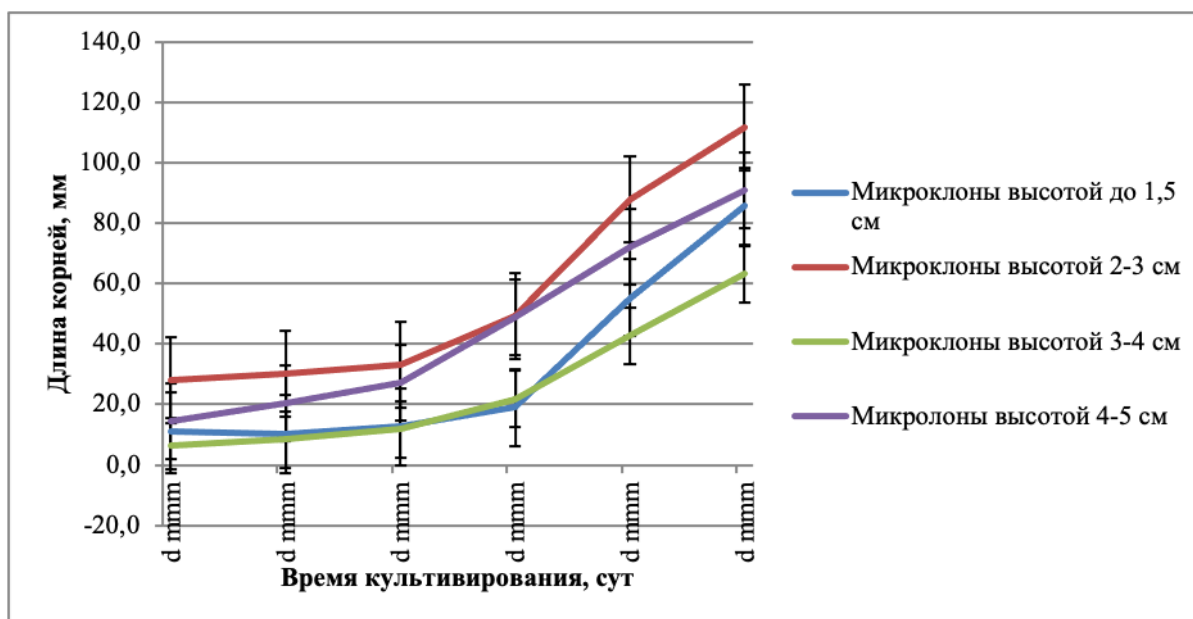


Рис. 31 Динамика изменения длины подземной части малины при культивировании в условиях аэропонной системы

Была установлена зависимость между размером микроклона и показателем прироста биомассы – чем меньше размер, тем ярче выражен прирост. Так, максимальное увеличение длины надземной части в 3,7 раза и корневой системы в 14-15 раз наблюдали при адаптации микроклонов малины высотой 2-3 см. (табл. 2).

Таблица 2 – Динамика роста малины в условиях аэропонной системы

Микроклоны	Прирост	
	Надземной части	Подземной части
До 1,5 см	1:2,4	1:7,7
2-3 см	1:3,7	1:14,4
3-4 см	1:1,7	1:4
4-5 см	1:1,5	1:6,2

Аналогичную картину наблюдали и для микрорастений ежевики. По данным рисунков 32-33 можно отметить, что при культивировании

микрклонов ежевики сорта Black satin на 40 сутки высота надземной части составила 52,9 мм в среднем, а длина корневой системы – 83,7 мм.

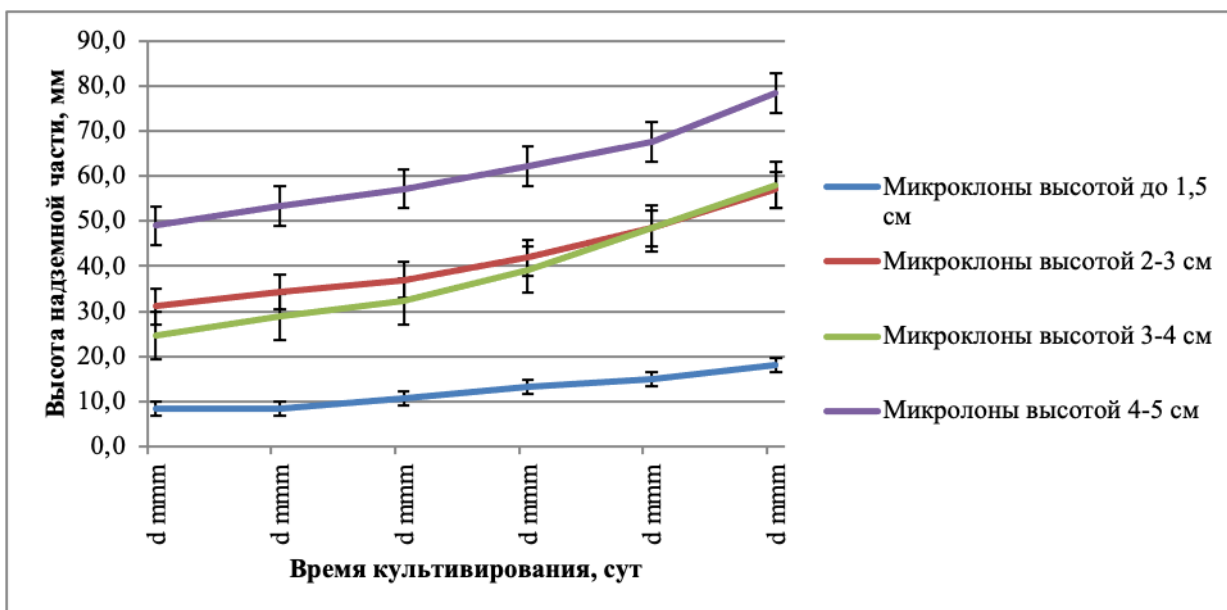


Рис. 32 Динамика высоты ежевики при выращивании в условиях аэропонной системы

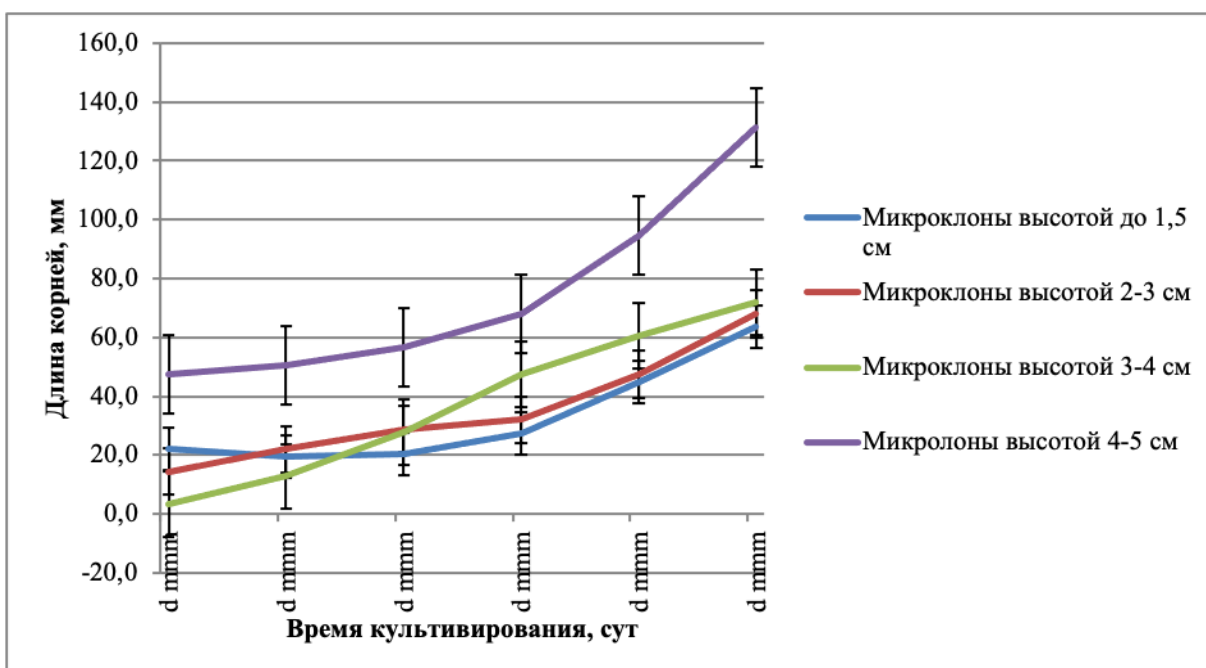


Рис. 33 Динамика изменения длины подземной части ежевики при культивировании в условиях аэропонной системы

Однако, в отличие от малины, для микрклонов ежевики максимальное увеличение длины надземной части в 3 раза и корневой системы в 22,5 раза наблюдали при адаптации более крупных растений высотой 3-4 см (табл. 3).

Таким образом, для увеличения биометрических показателей ежевики целесообразнее использовать более крупные микроклоны.

Таблица 3 – Динамика роста ежевики в условиях aeropонной системы

Микроклоны	Прирост	
	Надземной части	Подземной части
До 1,5 см	1:2,2	1:2,9
2-3 см	1:2,4	1:4,7
3-4 см	1:3,4	1:22,5
4-5 см	1:1,5	1:2,8

В вариантах с адаптацией микроклонов малины и ежевики в почвенных условиях наблюдали отсутствие существенных изменений учитываемых биометрических показателей. Динамика изменения учитываемых показателей представлена на диаграммах (рис. 34, 35).

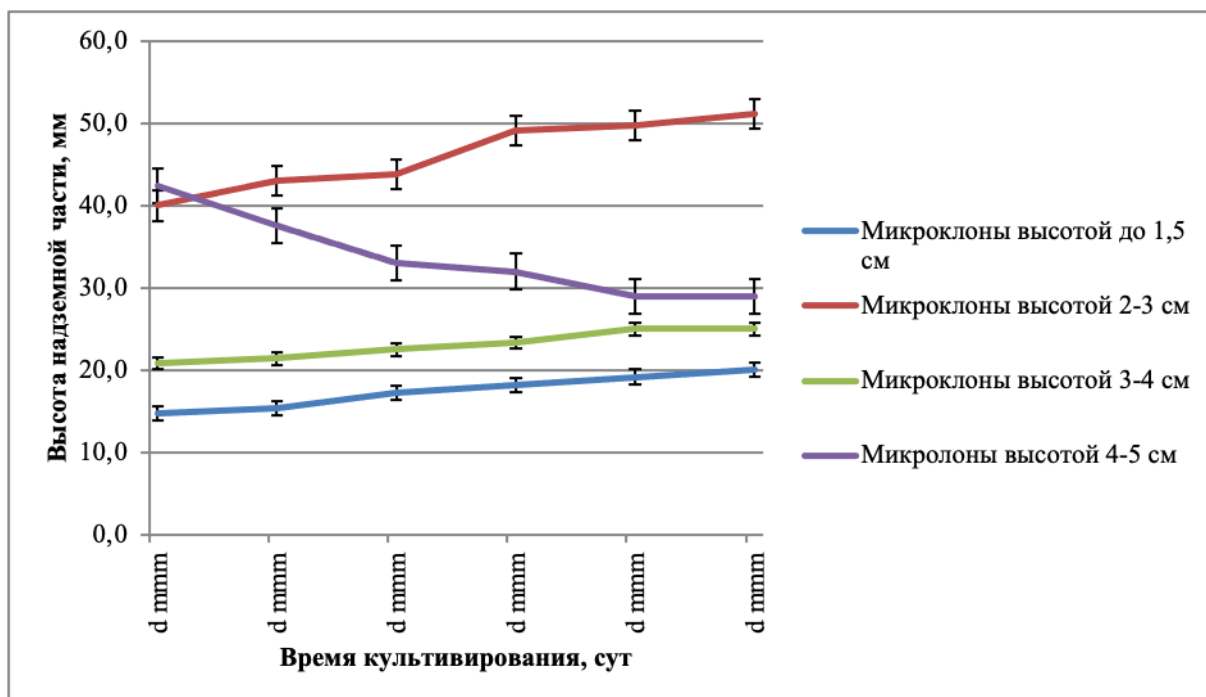


Рис. 34 Динамика изменения высоты малины при выращивании в почвенных условиях

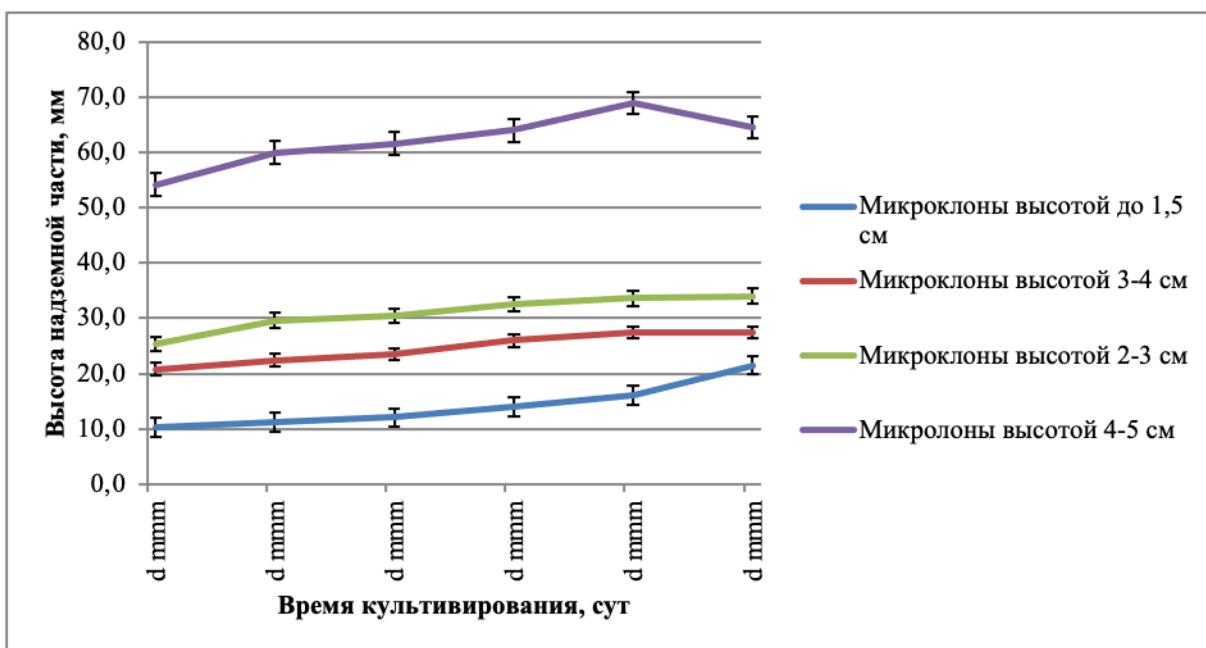


Рис. 35 Динамика изменения высоты ежевики при выращивании в почвенных условиях

При данном варианте адаптации отмечался высокий процент гибели растений малины и ежевики. Гибель растений от воздействия плесени наблюдали на 14 сутки выращивания. Учитываемый показатель составил 17%, а на 30 сутки - 31 %. У выживших растений в течение месяца прирост биомассы происходил медленно (рис. 36-37).

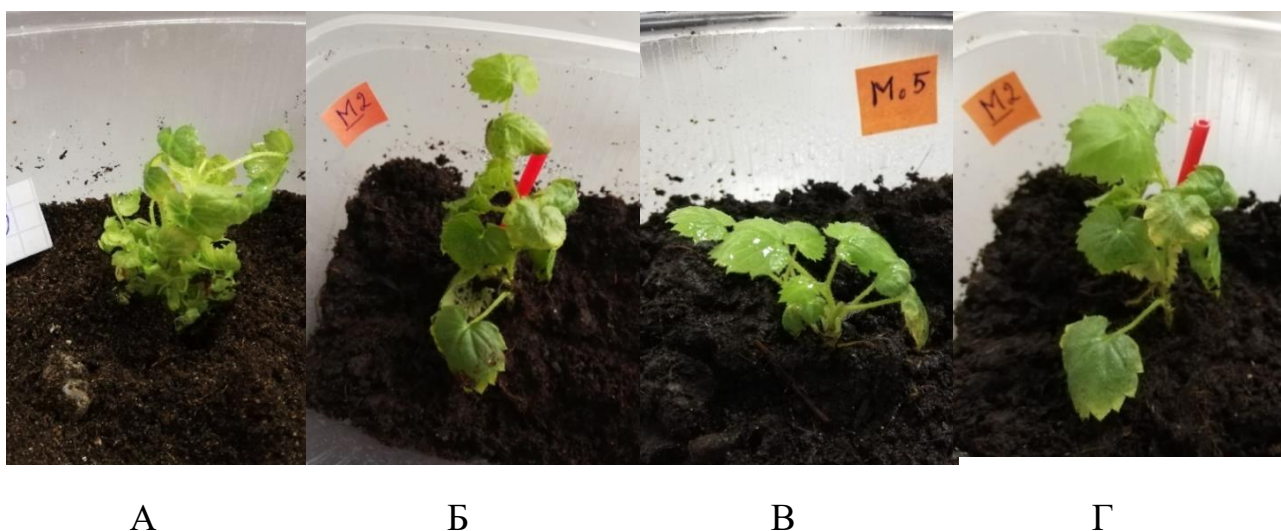


Рис. 36 Малина Оранжевое чудо в почвенных условиях: А – 1-е сутки; Б – 14-е сутки; В – 21-е сутки; Г – 35-е сутки



А

Б

В

Г

Рис. 37 Ежевика Black satin в почвенных условиях: А – 1-е сутки; Б – 7-е сутки; В – 21-е сутки; Г – 35-е сутки

Доращивание растений в условиях теплицы

На 90-е сутки с начала адаптации в аэропонных (рис.38) и почвенных условиях (рис.39) растения были высажены в грунт. В результате приведенных данных установлено, что на последнем этапе *in vitro* размножения растений малины и ежевики целесообразнее использовать аэропонные технологии для адаптации к условиям *ex vitro*. Использование данного метода позволяет существенно снизить гибель микроклонов, а также получить растения с хорошо развитой надземной частью и мощной корневой системой.



А



Б

Рис. 38 Растения, пересаженные в грунт после трех месяцев адаптации в аэропонных условиях: А – малина, Б – ежевика



А



Б

Рис. 39 Растения, пересаженные в грунт после трех месяцев адаптации в почвенных условиях: А – малина, Б – ежевика

После месяца нахождения растений в теплице наблюдали 100% приживаемость к естественным условиям (рис. 40, 41). Все растения показали энергичный прирост и заметное увеличение вегетативной массы. Ежевика формировала длинные стелющиеся побеги. У малины и ежевики наблюдали образование крупных листьев зеленой окраски правильной морфологии. Нарушения в развитии зеленой массы обнаружено не было.

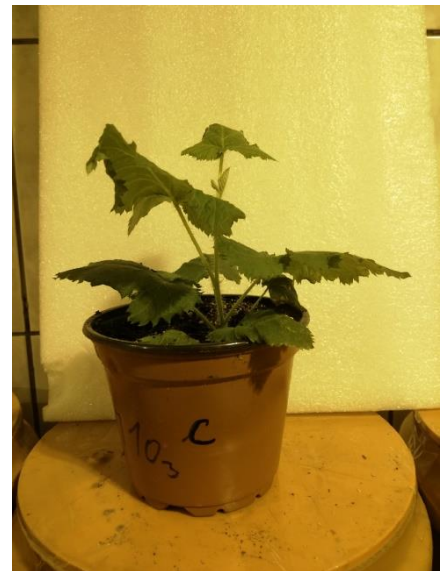


Рис. 40 Малина после 1 месяца выращивания в грунте



Рис. 41 Ежевика после 1 месяца выращивания в грунте

Благодаря этапу доращивания в тепличных условиях полученный материал ягодных культур можно реализовать, выставив на продажу, либо подготовить к высадке в поле.

3.2 Адаптация к условиям *ex vitro* микроклонов винограда

Разработанные биотехнологические приемы, основанные на культуре растений *in vitro*, дают возможность в кратчайшие сроки получить большое количество растений при недостатке исходного материала и получить потомство, генетически идентичное исходному виду или форме (Scherwinski-Pereira и др., 2010; Vasanth и др., 2011).

В настоящее время, одной из проблем, на которую также необходимо уделить исследователям особое внимание – это быстрая адаптация микроклонов к условиям *ex vitro*. Это возможно достичь путем применения новых, инновационных технологий – гидропоники или аэропоники.

Укоренение микрочеренков винограда

Процесс корнеобразования – это серия различных биохимических, физиологических и гистологических процессов. Способность боковых

побегов к укоренению *in vitro* во многом определяет эффективность микрклонального размножения. Это наиболее затратная стадия (75 % затрат ручного труда) в стоимости конечной продукции.

Характер развития корневой системы зависит от типа регулятора роста, индуцирующего корнеобразование. Наши исследования показали, что на питательной среде, содержащей стимулятор роста НУК образование корней, наблюдалось при одновременном развитии каллусной ткани, что являлось нежелательным в технологии клонального микроразмножения (рис. 42).



Рис. 42 Ризогенез растений винограда на питательной среде MS + 2 мг/л БАП + 0,5 мг/л НУК + 20 мг/л аскорбиновой кислоты (Monarh)

Успешное укоренение микрочеренков зависело от сорта, условий этапа пролиферации, солевого и гормонального состава среды, количества пассажей. Только побеги Moldova и Muscat Ottonel были способны к укоренению на первом пассаже. Среда MS + 0,5 мг/л ИУК + 0,5 БАП + 20 мг/л аскорбиновой кислоты стимулировала укоренение растений (рис. 43).

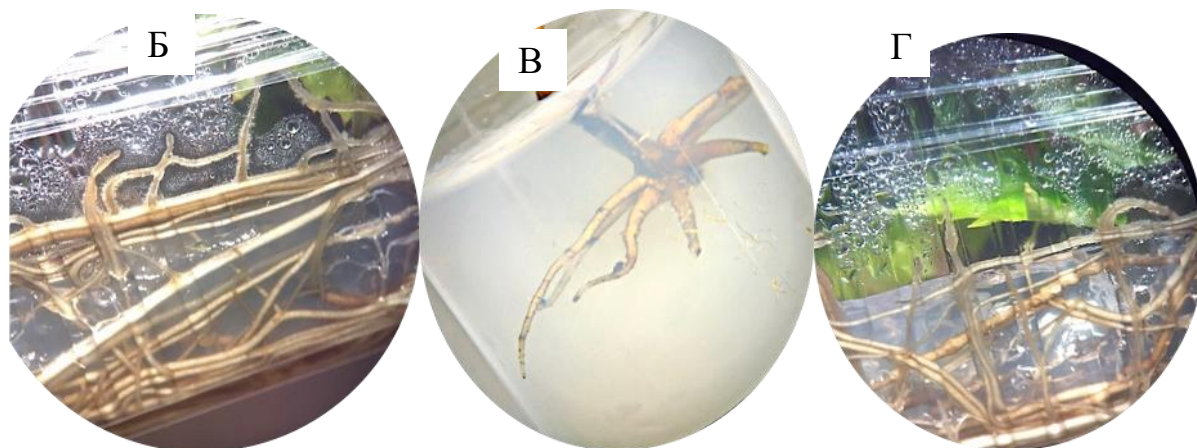


Рис. 43 Ризогенез растений винограда (А – Muscat Ottonel, Б – Moldova, В – Feteasca Regala, Г - Monarh)

Образовавшиеся растения были более развиты, чем на средах с наименьшим содержанием минеральных солей, в которых наблюдали угнетение развития корневой системы. Отмечено стимулирующее действие аскорбиновой кислоты на корнеобразование растений винограда. Разработанная методика укоренения боковых побегов с использованием ауксинов возможна только после длительного пассирования.

В результате исследований была отработана методика получения хорошо сформированных побегов с развитой корневой системой (рис. 44).



Рис. 44 Растения винограда перед адаптацией

Адаптация растений винограда к условиям ex vitro

Известно, что при культивировании в условиях *in vitro* растения не подвержены стрессовому воздействию. Поэтому этап адаптации к условиям *ex vitro* является наиболее сложным для них (рис. 45).



Рис. 45 Адаптация растений к условиям *ex vitro* (А – адаптация к условиям почвы (Monarh), Б – адаптация к условиям аэропонной установки (Monarh))

В первом варианте исследования на 14 сутки наблюдали гибель растений в следствие образования некрозов на надземной части. Учитываемый показатель составил 100% (рис. 46).



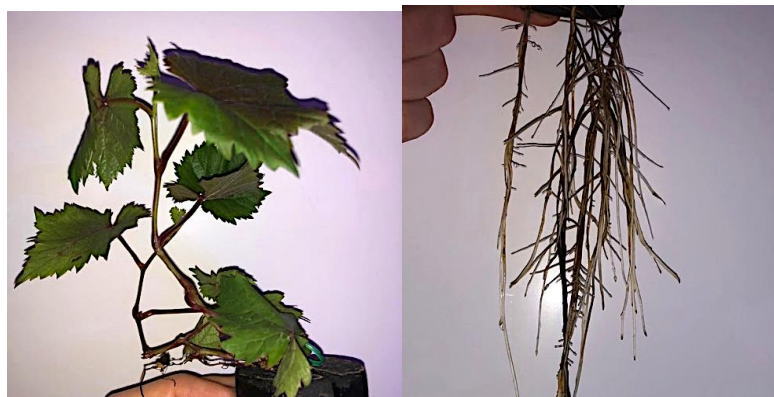
Рис. 46 Адаптация растений к условиям грунта

Во втором варианте опыта, в котором была регулярная подача питательного раствора, обогащенного кислородом, наблюдали формирование с хорошо развитой корневой системой, а также интенсивный прирост биомассы (рис. 47).



А

Б



В

Рис. 47 Растения адаптированные к условиям aeropоники (А - Muscat Ottonel, Б – Moldova, В – Feteasca Neagra)

При использовании усовершенствованных аэропонных установок позволило получить растения, у которых высота стеблей в среднем составила 12 см. Также стоит отметить, что у данных растений формировались новые боковые побеги длиной 20 см. Полученные результаты можно объяснить тем, что использование именно аэропонных технологий обеспечивает развитие мощной и здоровой корневой системы за короткий промежуток времени, повышается процент приживаемости. В разработанных многоярусных установках обеспечивается полная защита растений от вредителей, контролируется климат и др.

Спустя 1,5 месяца с момента адаптации в аэропонных условиях растения винограда с новыми образовавшимися побегами и корневой системой были перенесены в почвенные условия.

Впервые была разработана новая схема пересадки растений из аэропонных в почвенные условия. Предложенная технология отличалась от существующих. Схема заключалась в следующем: для дренажа использовали керамзит, который засыпали на дно горшка в два слоя. Первый слой состоял из крупного, а сверху второй слой из мелкого керамзита. По объему эти два слоя занимали $\frac{1}{4}$ горшка. После использовали почвенную смесь из универсального грунта «ФАСКО» (3 части) и вермикулита (1 часть). Данную смесь посыпали поверх керамзита и формировали воронку. В эту воронку помещали корни растений, заливали водой и засыпали грунтом (рис. 48, 49).

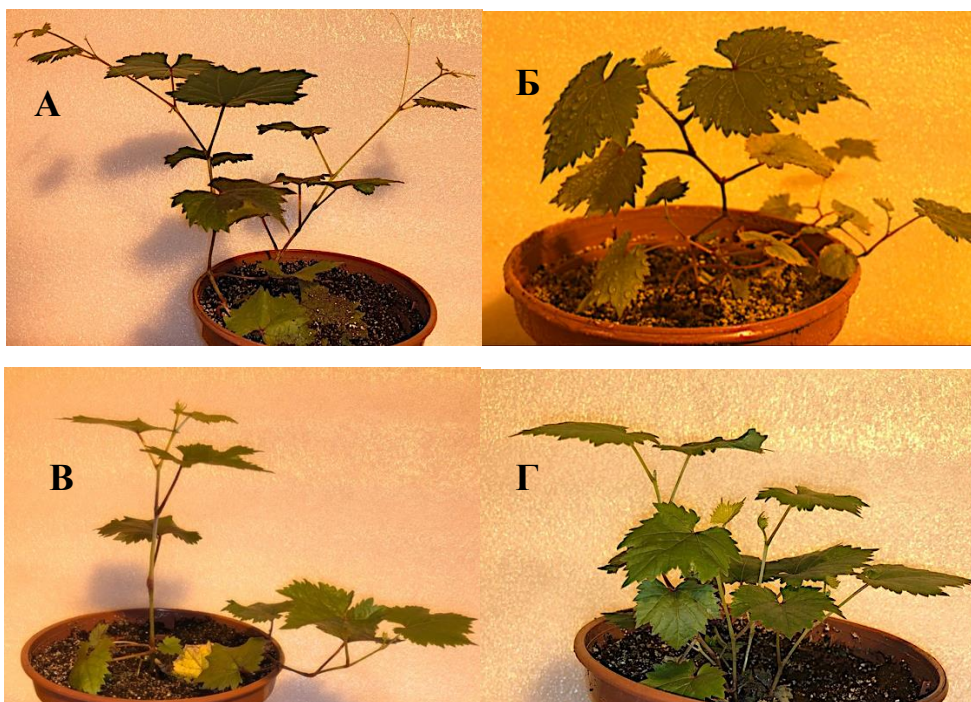


Рис. 48 Микроклоны, адаптированные к почвенным условиям на 10 сутки (А - Moldova, Б – Muscat Ottonel, В – Feteasca Neagra, Г – Muscat Polocshey)

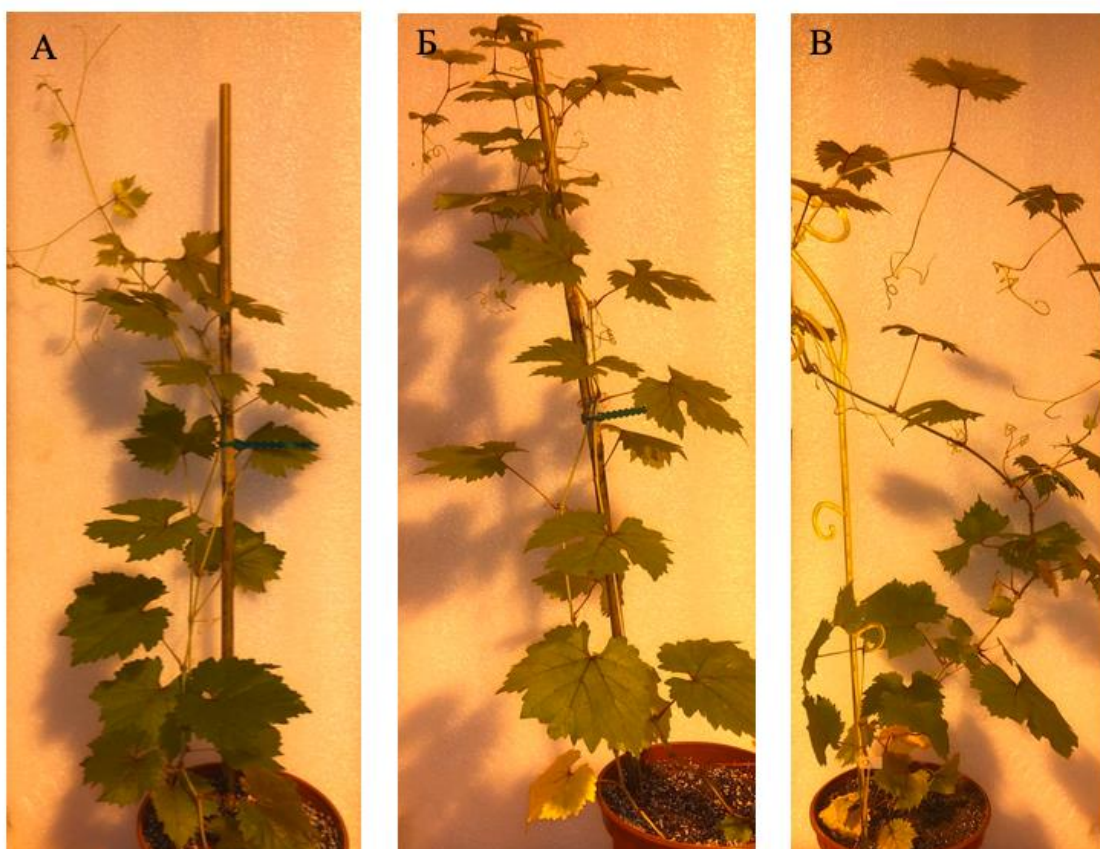


Рис. 49 Микроклоны, адаптированные к почвенным условиям на 30 сутки (А – Muscat Ottonel, Б – Moldova, В - Monarh)

Предложенная технология может быть использована для растений винограда других сортов.

Таким образом, было показано, что усовершенствованные технологии размножения растений винограда изучаемых сортов *in vitro* и их адаптации к условиям *ex vitro* позволили получить высококачественный посадочный материал в массовом количестве.

3.3 Адаптация к условиям *ex vitro* микроклонов декоративных культур

Адаптация микрорастений декоративных культур к условиям ex vitro

В работе использовали микроклоны декоративных растений, которые культивировали на питательной среде, с корневой системой не менее 3 мм. Адаптацию микрорастений к условиям *ex vitro* проводили в тепличных условиях и на эропонных установках.

При адаптации декоративных растений к условиям *ex vitro* учитывали такие показатели, как высота надземной и длина подземной части, а также процент гибели растений (рис. 50-55).

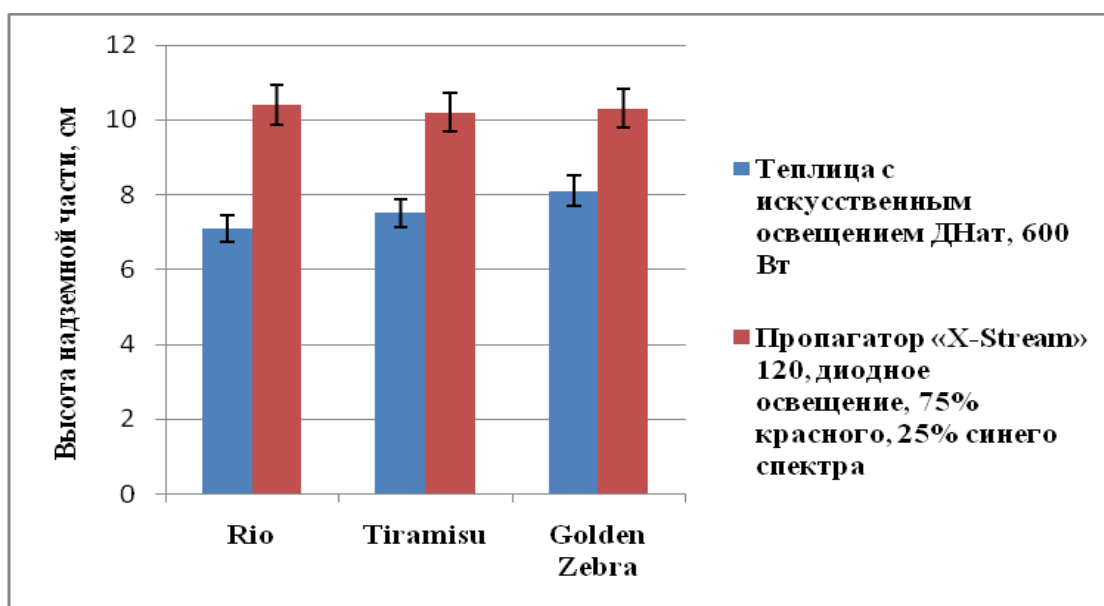


Рис. 50 Высота надземной части микрорастений гейхеры гибридной при адаптации к условиям *ex vitro*, см

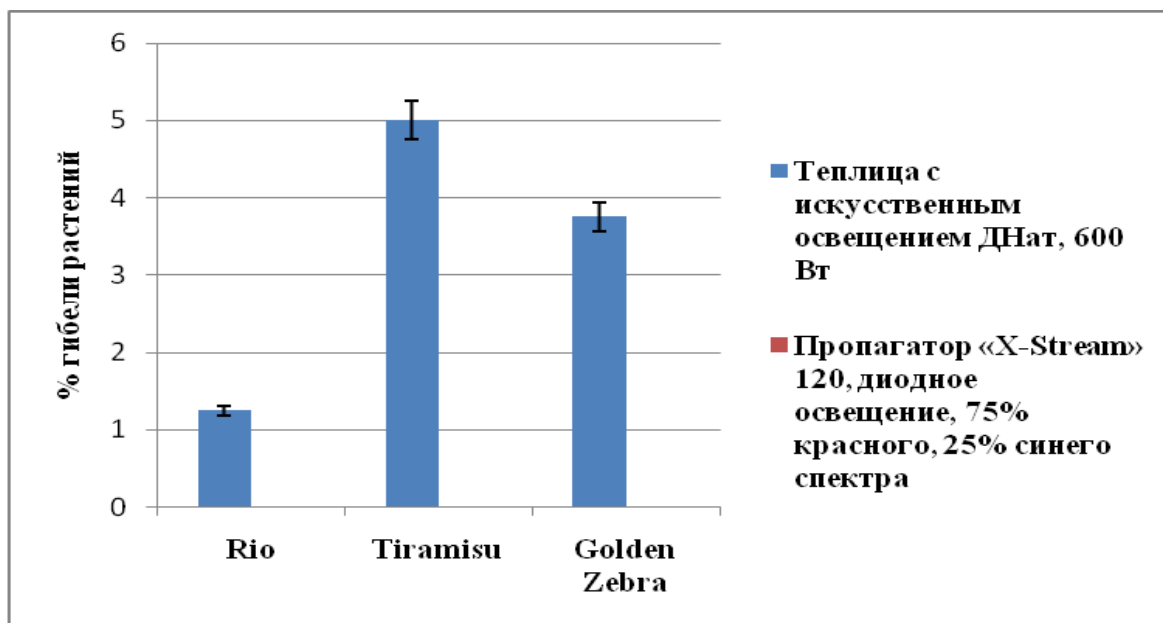


Рис. 51 Гибель адаптированных к условиям *ex vitro* микрорастений гейхеры гибридной (%)

Как следует из результатов диаграмм, наилучшие показатели были отмечены при адаптации микрорастений гейхеры гибридной на разработанной многоярусной установке, с диодным освещением. В данном варианте формировались растения гейхеры гибридной всех сортов, высота которых отличалась от контрольного в среднем на 2-4 см. Полученные результаты достоверно значимы.

Следует отметить, что существенные отличия были отмечены при учете такого показателя, как процент гибели адаптированных растений. Так, растения, адаптированные к условиям *ex vitro* на гидропонных установках, обладали 100% выживаемостью, что является очень важным на последнем этапе клонального микроразмножения декоративных культур.

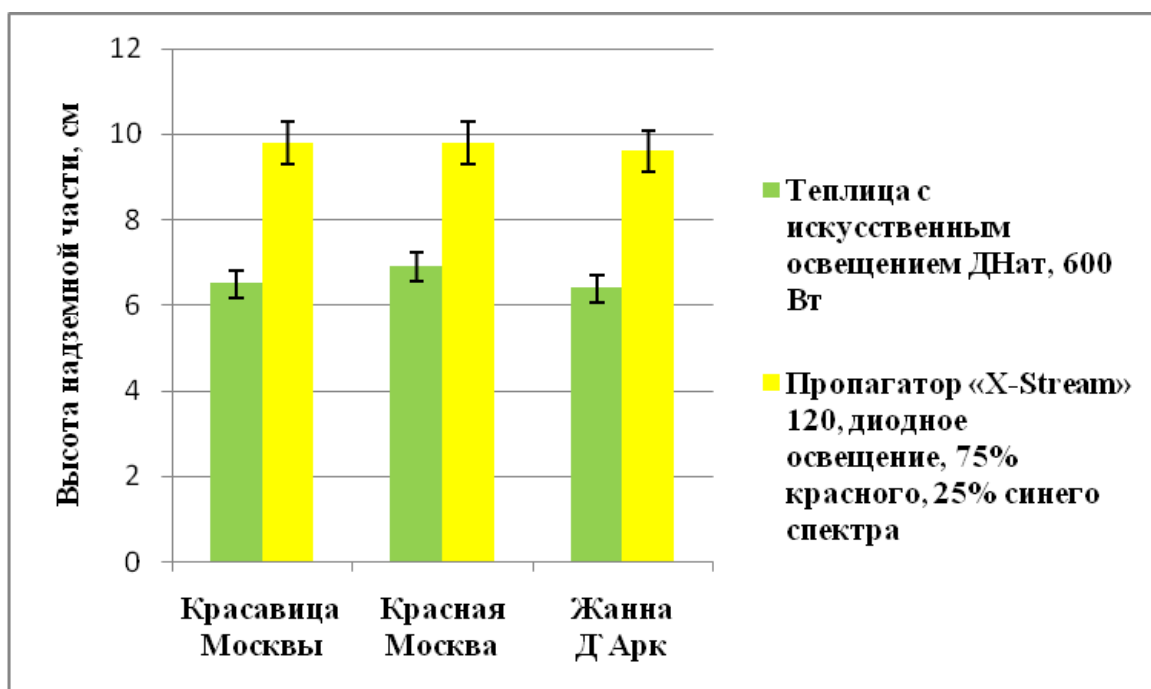


Рис. 52 Высота надземной части микрорастений сирени обыкновенной при адаптации к условиям *ex vitro*, см

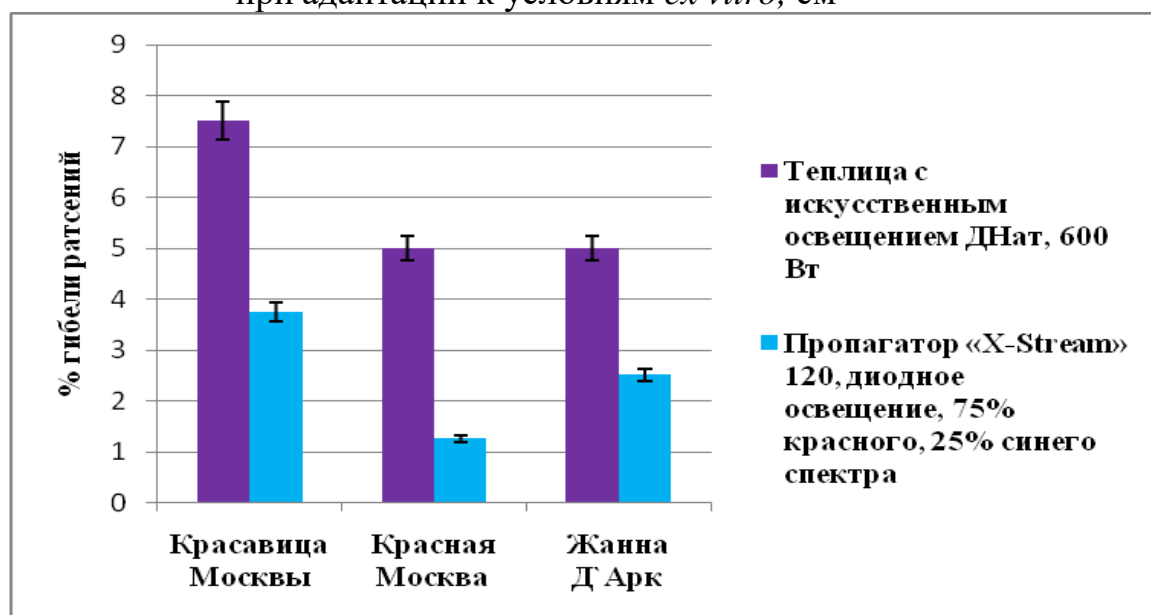


Рис. 53 Гибель адаптированных к условиям *ex vitro* микрорастений сирени обыкновенной (%)

Аналогичная картина нами была отмечена и при учете данных показателей адаптивности растений сирени обыкновенной и эхинацеи гибридной.

По результатам, проведенных измерений высоты надземной части можно сделать вывод о том, что наибольшую высоту побега имеют растения,

адаптированные к условиям *ex vitro* на гидропонных установках. В этом варианте средняя высота растений сирени обыкновенной 3-х сортов и эхинацеи гибридной превышала контрольный вариант на 3-4 см, что достоверно значимо на 5% уровне.

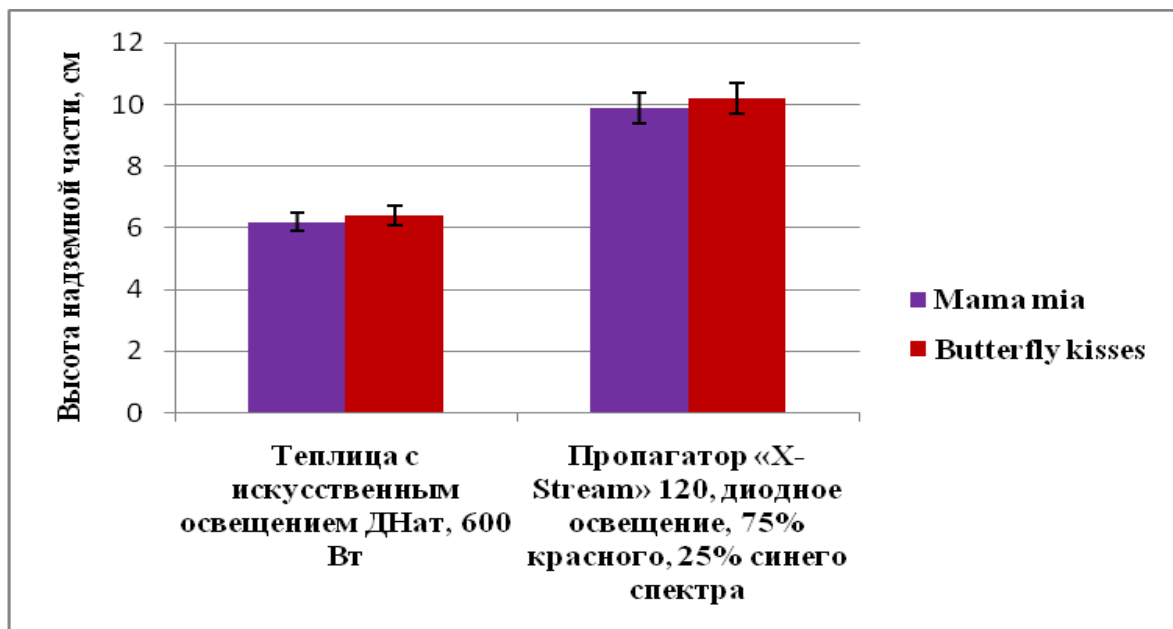


Рис. 54 Высота надземной части микрорастений эхинацеи гибридной при адаптации к условиям *ex vitro*, см

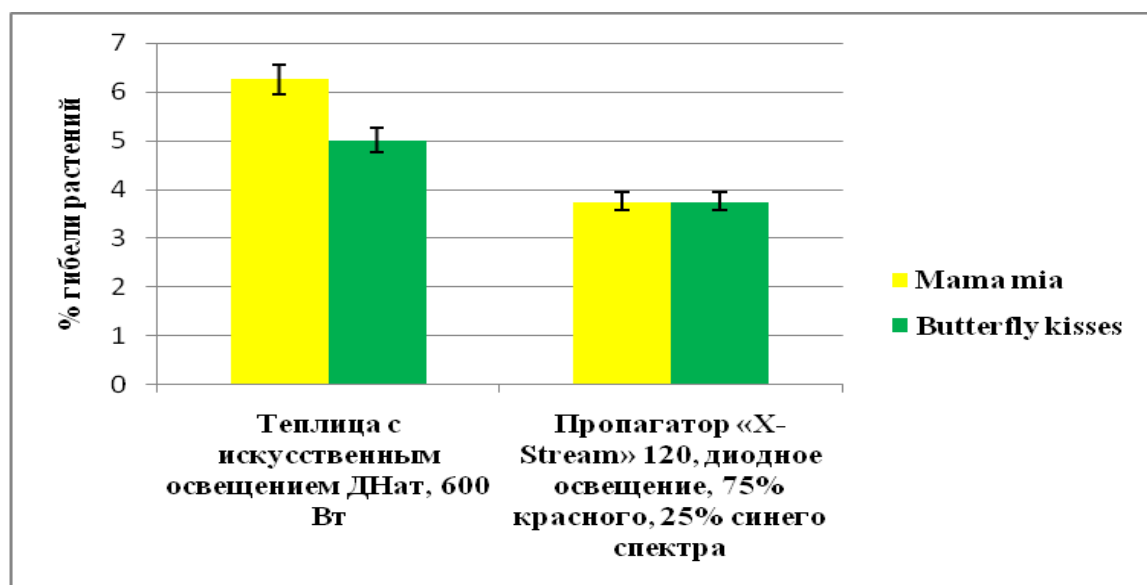


Рис. 55 Гибель адаптированных к условиям *ex vitro* микрорастений эхинацеи гибридной (%)

Следует отметить, что при учете такого показателя, как процент гибели адаптированных растений, мы наблюдали сортоспецифичность среди

растений сирени обыкновенной. Так, для сорта «Красавица Москвы» процент гибели растений – 3,75%, для сорта «Красная Москва»– 2,5%, а для сорта «Жанна Д`Арк»– 1,25%. Что касается сортов гейхеры гибридной и эхинацеи гибридной, то учитываемый показатель был на одинаковом уровне по вариантам адаптации к условиям *ex vitro*.

Таким образом, в процессе исследования оптимальных условий адаптации микрорастений в условиях *ex vitro*, было выявлено, что наилучшие показатели адаптивности среди декоративных культур были получены с применением аэропонных установок. Использование данных установок в технологии изготовления посадочного материала с применением методов клонального микроразмножения снизит процент гибели растений, увеличит рост и развитие зеленой массы.

3.4 Адаптация к условиям *ex vitro* клонированных растений хризантемы

Адаптация клонированных растений хризантем

По истечении 2 месяцев нахождения растений на аэропонных системах и достижения ими достаточной длины и развития корневой системы (рис. 56) хризантемы были перенесены в почвенные условия (рис. 57).



А



Б



В

Рис. 56 Растения хризантемы: А– в начале адаптации на аэропонной установке; Б – после 6 недель выращивания на аэропонике и готовые к высадке в почвенные условия; В– в начале адаптации в почвенных условиях



А

Б

Рис. 57 Растения хризантемы, пересаженные в почву: А –после адаптации в почвенных условиях; Б – после выращивания на аэропонике

В результате сравнения было отмечен более интенсивный рост растений в варианте с использованием предварительного выращивания клонов на аэропонной установке, чем растения, высаженные из среды *in vitro* сразу в почвенные условия (рис. 58). Для растений, выращиваемых в аэропонной

установке, также было характерно формирование мощной корневой системы и больших листьев.

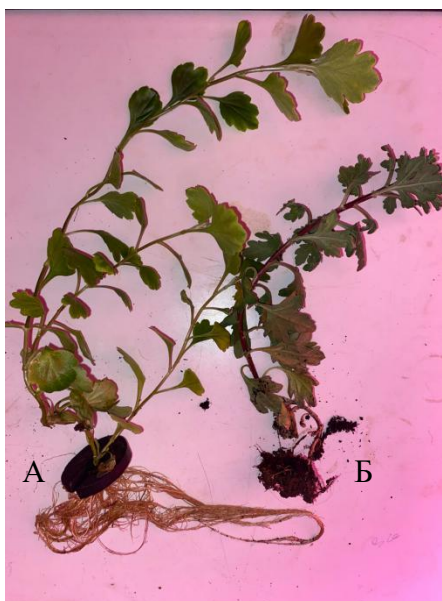


Рис. 58 Сравнение растений (первоначально с корневой системой), выращенных: А– в аэропонных условиях; Б– в почвенных условиях

Кроме того, по итогам сравнения адаптации растений без корневой системы было отмечено, что такие экспланты не укореняются при пересадке их непосредственно в почвенные условия из культуры *in vitro* и вскоре была отмечена их гибель. В случае использования аэропонной установки нами было отмечено образование корней и активный рост надземной части. Такие растения в дальнейшем хорошо переносили пересадку в почву и быстро адаптировались к новым условиям произрастания (рис. 59).



Рис. 59 Растения хризантемы (первоначально без корневой системы), выращенные: А– в почвенных условиях; Б– в аэропонных условиях

В результате сравнения растений были сделаны соответствующие выводы: у растений с хорошо сформированной корневой системой в почве наблюдался более интенсивный рост надземной части. Однако, у растений, помещенных на аэропонные установки, было отмечено образование корней и формирование более мощной корневой системы (рис. 60).



Рис. 60 Растения хризантемы после 3 недель выращивания (первоначально без корневой системы): А– в аэропонных условиях; Б– в почвенных условиях

В процессе выращивания микроклонов на аэропонной установке и в почвенном субстрате, нами были произведены в динамике измерения высоты растений. В результате исследований были получены некоторые результаты, которые представлены на рисунке 61.

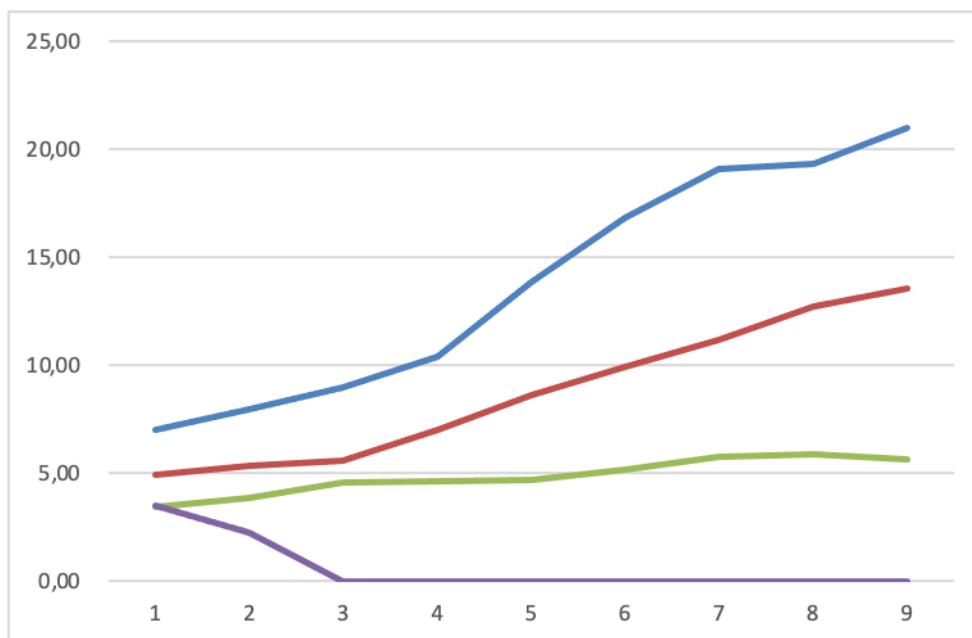


Рис. 61 Изменение средней длины растений (см) по группам: микроклоны на аэропонике с корнями (синяя линия) и без корней (зеленая линия), микроклоны в почве с корнями (красная линия) и без корней (фиолетовая линия)

Из полученных результатов следует, что на последнем этапе клонального микроразмножения целесообразно применять аэропонные установки, позволяющие быстро получать высококачественный материал, готовый в дальнейшем выращивать в условиях теплицы для получения товарной цветочной продукции.

3.5 Адаптация к условиям *ex vitro* микроклонов лекарственных растений семейства Яснотковые

Исследования показали, что успех адаптации микроклонов к условиям *ex vitro* зависит от применяемого способа. Экспериментально установлено, что применение классической технологии адаптации микроклонов к

условиям *ex vitro* с применением почвенного субстрата, приводило к приживаемости 83,2% растений. Причем такие показатели были характерны только для варианта, в котором использовали микроклоны с корнями. В случае адаптации растений без корней - наблюдали их гибель уже на вторые сутки с начала выращивания в условиях *ex vitro*. Иная картина наблюдается при использовании аэропонной установки. В этом варианте приживаемость растений к условиям *ex vitro* составила 100%, и этот показатель не зависел от исследуемой группы растений. Следует отметить, что в состав рабочего раствора аэропонной установки были включены ауксины (ИУК или ИМК), которые оказали существенное влияние на рост как надземной, так и подземной частей микроклонов. Установлено, что независимо от применяемых ауксинов, уже на третьи сутки с начала выращивания на аэропонной установке был отмечен как рост побегов, так и корней. Однако в процессе выращивания микроклонов на аэропонной установке была установлена разная морфофизиологическая ответная реакция микроклонов на применяемые ауксины. Так, например, при использовании ИМК, уже на седьмые сутки отмечался активный рост побегов и корней и учитываемые показатели превышали первоначальные значения в 2 раза. При использовании ИУК, рост корней и побегов был слабо выражен и биометрические показатели практически оставались на первоначальном уровне.

Следует отметить, что применяемые ауксины оказали не одинаковое влияние на образование корней и их дальнейший рост при выращивании микроклонов *Mentha piperita* L. и *Melissa officinalis* L. в условиях аэропонной установки. Так, например, существенное влияние на развитие корневой системы было отмечено для Melissa лекарственной, что проявлялось в высоком индексе роста корней 6,69 - 7,44 и удельной скорости роста корней 0,189 - 0,231 в сутки. Что касается мяты перечной, то высокие показатели были отмечено лишь в варианте при использовании ИМК ($I = 5,95-7,16$; $\mu =$

0,082-0,097). Учитываемые показатели существенно отличались от варианта с ИУК на 5%-ном уровне значимости (табл. 4) (рис. 62).

Таблица 4 - Ростové характеристики микроклонов в условиях аэропоники (питательный раствор содержит ½ минеральных солей по МС и 0,5 мг/л ауксина) и в почвенной культуре

Вариант адаптации	Группа растений	Ср. кол-во побегов, шт	Индекс роста (I)		Удельная скорость роста (μ), сут^{-1}	
			корней	побегов	корней	побегов
<i>Mentha piperita</i> L.						
Аэропоника+ ИУК	с корнями	2,3 ±0,2	1,60	0,54	0,035	0,020
	без корней	7,0±0,4	1,89	2,50	0,053	0,031
Аэропоника+ ИМК	с корнями	3,5±0,1	5,95	2,23	0,082	0,050
	без корней	7,8±0,3	7,16	2,89	0,097	0,063
В почве без ауксинов	с корнями	2,1±0,2	1,23	1,98	0,021	0,019
	без корней	гибель микроклонов				
<i>Melissa officinalis</i> L.						
Аэропоника+ ИУК	с корнями	1,2±0,1	6,69	0,78	0,189	0,035
	без корней	1,1±0,1	7,31	1,09	0,200	0,048
Аэропоника+ ИМК	с корнями	1,3±0,1	6,71	0,81	0,193	0,039
	без корней	1,2±0,1	7,44	1,12	0,231	0,050
В почве без ауксинов	с корнями	1,1±0,1	4,38	0,55	0,057	0,022
	без корней	гибель микроклонов				



Рис. 62 Микроклоны *Mentha piperita* L. после 3 недель выращивания на аэропонике: А - микроклоны первоначально были без корней; Б— микроклоны первоначально были с корнями

Следует отметить, что независимо от применяемого ауксина существенное влияние на учитываемые показатели оказала исследуемая группа растений (с корнями и без корней). Например, группа растений без корней формировала в 2 раза больше адвентивных побегов, имела высокий индекс роста и удельную скорость роста побегов и корней по сравнению с группой растений с корнями. Кроме того, установлено, что видовые особенности растений так же оказывают влияние на учитываемые показатели. Показано, что для двух групп растений *Mentha piperita* L. были получены значимые отличия, в то время как для *Melissa officinalis* L. данные отличия были не существенны.

Таким образом, использование аэропонной установки позволит снизить процент гибели растений, увеличит рост и развитие зеленой биомассы и корневой системы *ex vitro*, что даст возможность получать посадочный материал высокого качества с наименьшими экономическими и временными затратами.

Известно, что большинство ароматических и лекарственных растений содержат различные вторичные метаболиты, на основе которых разработаны натуральные добавки для пищевой и косметической промышленности, а также для фарминдустрии. Фенольные соединения, среди известных природных веществ, составляют одну из основных групп, обладающей высокой биологической активностью. *Mentha piperita* L. и *Melissa officinalis* L. являются яркими представителями семейства *Lamiaceae*, в зеленой биомассе которых накапливаются полифенольные соединения с антиоксидантной активностью. В последнее время значительно возрос интерес к поиску природных антиоксидантов для замены синтетических, которые были ограничены в применении из-за их побочных эффектов, таких как, например, канцерогенез. Кроме того, фенольные соединения выполняют в растениях защитную функцию при действии различных стрессовых факторов абиотической и биотической природы. Перевод микрорастений из

условий *in vitro* в условия *ex vitro* является определенным стрессом для микроклонов. Поэтому представляется интерес изучения роли фенольных соединений в адаптации микроклонов к условиям *ex vitro*. Исходя из выше изложенного, в следующей серии экспериментов необходимо было установить зависимость накопления фенольных соединений в микроклонах изучаемых видов растений от условий выращивания. Суммарное содержание фенольных соединений и флавоноидов определяли в микроклонах, культивируемых на аэропонной установке и в почве (Табл. 5).

Таблица 5- Суммарное содержание фенольных соединений и флавоноидов в микроклонах культивируемых на аэропонике (питательный раствор содержит ½ минеральных солей по МС и 0,5 мг/л ауксина) и в почве

Вариант	Ауксин	Группа растений	Содержание ССФФ, мг/г сухой массы	Содержание флавоноидов, мг/г сухой массы
<i>Mentha piperita</i> L.				
Микроклоны перед адаптацией	-	-	15,9±1,3	2,14±0,04
После аэропоники	ИМК	с корнями	37,4±0,5	2,51±0,04
		без корней	36,4±0,4	1,03±0,10
	ИУК	с корнями	18,0±0,1	2,30±0,06
		без корней	17,4±0,3	1,56±0,02
В почве	-	с корнями	17,9±1,3	1,87±0,04
<i>Melissa officinalis</i> L.				
Микроклоны перед адаптацией	-	-	31,2±0,5	10,57±0,38
После аэропоники	ИМК	с корнями	23,2±0,4	8,39±0,49
		без корней	29,9±0,4	9,49±0,49
	ИУК	с корнями	19,8±0,4	8,00±0,42
		без корней	22,6±0,5	8,90±0,50
В почве	-	с корнями	21,3±0,5	9,64±0,50

Экспериментально установлено, что в микроклонах *Mentha piperita* L. и *Melissa officinalis* L., в момент переноса их из условий *in vitro* в условия *ex vitro* отмечается различное суммарное содержание фенольных соединений

(ССФФ). Причем в микроклонах мяты лекарственной ССФФ составляет 31,2 мг/г сухой массы, а у мяты перечной - 15,9 мг/г сухой массы. Полученные данные согласуются с данными других исследователей (Benabdallah et al., 2016; Kumari R., Kumar R., 2019; Pasch et al., 2021).

Изменение условий выращивания, оказало существенное влияние на суммарное содержание фенольных соединений. Так, например, для мяты перечной наблюдали увеличение ССФФ в микроклонах во всех вариантах. Причем в варианте с применением ИМК учитываемый показатель превышал другие варианты в среднем в 2 раза. Что касается мяты лекарственной, то ССФФ было ниже первоначальных значений во всех вариантах. Анализируя результаты по накоплению флавоноидов в микроклонах исследуемых видов, следует отметить, что условия выращивания (аэропоника или почва) не оказали существенного влияния на изменение учитываемого показателя. В исследуемых вариантах количество флавоноидов было на уровне первоначальных значений.

Таким образом, на основании проведенных исследований установлено, что на последнем этапе клонального микроразмножения целесообразно применять аэропонные установки, позволяющие проводить укоренение и адаптацию микроклонов одновременно. Разработанный способ позволяет получать посадочный материал высокого качества, так как при этом снижается процент гибели растений, увеличивается рост и развитие зеленой биомассы, а также корневой системы. Укоренение микропобегов при адаптации достигается за счет включения в состав питательного раствора ИМК в концентрации 0,5 мг/л. Кроме того, в этих условиях наблюдается изменение фенольного метаболизма, который проявляется в повышении суммарного содержания фенольных соединений в микроклонах, что является ответной реакцией растений на изменение условий выращивания, которые являются стрессом для исследуемых объектов.

3.6 Адаптация к условиям *ex vitro* микроклонов водных растений

Влияние условий культивирования на рост и адаптацию микропобегов H. salzmannii и Alternanthera r.

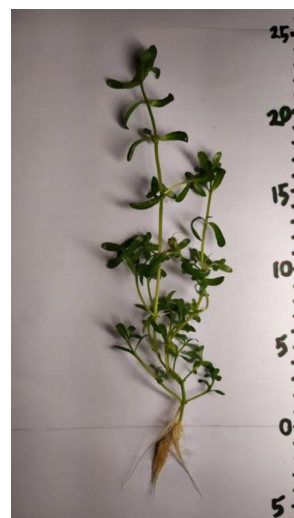
Процесс адаптации микроклонов к условиям *ex vitro* является одним из ответственных этапов клонального микроразмножения растений. Это вызвано тем, что при переводе растений из условий *in vitro* в *ex vitro* микроклоны подвергаются стрессовым воздействиям со стороны внешних условий. Поэтому необходимо для каждого изучаемого вида отработать методику по адаптации.

В связи с тем, что на установке не равномерно осуществлялось разбрызгивание раствора, особенно по периферийной части, то в первой серии исследований при использовании ИУК в питательном растворе, нами был отмечен низкий процент приживаемости микропобегов. Так, на 7-е сутки с начала адаптации доля приживаемости образцов *A. reineckii* составила 62,5% и у *H. salzmannii* – 66,7%. В дальнейшем данная техническая неисправность была исправлена и приживаемость растений составила 100%.

Исследования показали, что у исследуемых видов водных растений, независимо от используемого типа экспланта (укоренённые и неукоренённые микропобеги) наблюдалось образование корней. Были выявлены некоторые закономерности по образованию и развитию корней. Так, в варианте использования укоренённых микропобегов, имеющиеся корне не развивались, наблюдалось образование некрозов на корнях, что приводило к гибели существующих корней. Однако вместо старых корней начинался активный рост новых, молодых корней. Следует отметить, что во втором контрольном варианте (контроль 2, в водопроводной воде) корни равномерно образовывались и росли по всей длине стебля, за исключением верхнего апекса.

Следует отметить, что существенные различия по вариантам были замечены по росту надземной части растений. Особенно это проявилось у *H.*

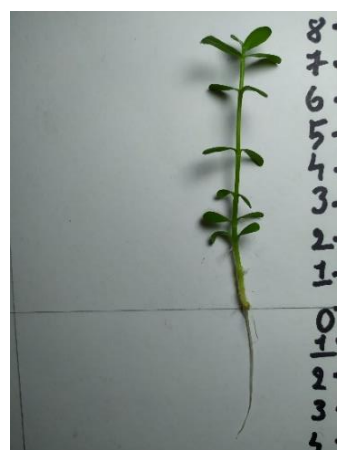
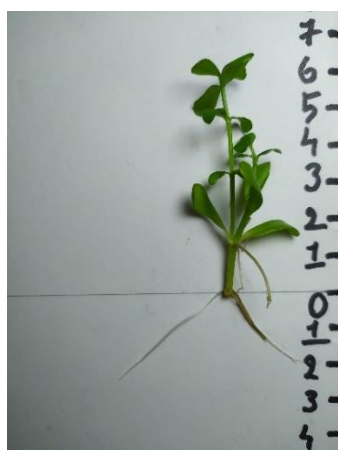
salzmannii. Так, например, при культивировании укоренённых или неукоренённых микрочеренков в аэропонной установке с гормонами, наблюдали активный рост как побегов, так и корней. Учитываемые биометрические показатели были в разы больше, чем в первом или втором контрольных вариантах. Кроме того, на нескольких неукоренённых изначально побегах было отмечено формирование корней второго порядка. Растения второго контрольного варианта значительно отставали как по росту побегов, так и по росту корней (рис. 63).



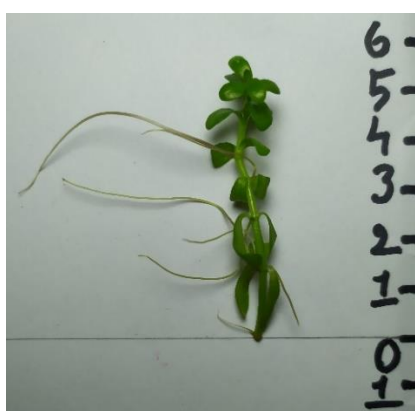
А



Б



В



Г

Рис. 63 *H. salzmännii* на 25-е сутки культивирования (слева укоренённые микропобеги, справа неукоренённые микропобеги): А – вариант с ИУК; Б – вариант с ИМК; В – контроль; Г – контроль 2

В контроле 2 лишь у одного растения образовался зачаток бокового побега, в вариантах с добавлением гормонов и в контроле у всех растений прослеживалось не только образование, но и дальнейшее развитие боковых побегов. В варианте с использованием ИМК растения имели большую биомассу, за счёт активации развития пазушных почек, по сравнению с вариантом, включающим ИУК.

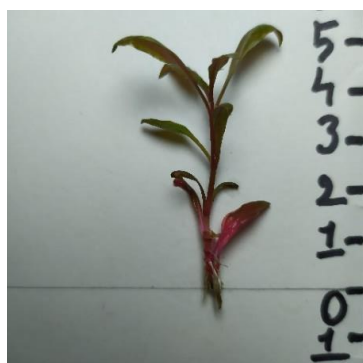
Что касается растений *A. reineckii*, то рост надземной части и корней был наилучшим при использовании aeropоники, по сравнению со вторым контрольным вариантом в стеклянных сосудах (рис. 64).



А



Б



В



Г

Рис. 64 *A. reineckii* на 25-е сутки культивирования (слева укоренённые, справа неукоренённые растения): А– вариант с ИУК; Б– вариант с ИМК; В– контроль; Г– контроль 2

Однако, нужно заметить, что ризогенез в первом контрольном варианте укоренённых и неукоренённых в начале культивирования микропобегов был наименьшим. Отметим также, что в вариантах выращивания с гормонами наблюдалось активное листообразование. При культивировании *A. reineckii* особых отличий в использовании разных типов микрочеренков не прослеживалось.

Чтобы оценить состояние и адаптивные изменения к условиям *ex vitro* водных растений, были определены такие морфометрические параметры, как высота побегов и длина корней растений. Средние значения этих показателей приведены в таблице 6.

Таблица 6 - Средние значения длин корней и побегов исследуемых растений на конец культивирования

Вид растения	Условия	Тип черенка	Средние длины (см)	
			корней	побегов
<i>H. salzmannii</i>	ИУК	укоренённые	5,6±0,3	13,3±0,5
		неукоренённые	7,9±0,4	22,5±0,8
	ИМК	укоренённые	10,8±0,5	41,5±1,3
		неукоренённые	11,2±0,5	35,3±1,2
	контроль	укоренённые	4,6±0,6	5,9±1,4
		неукоренённые	5,2±0,5	6,8±1,4
	контроль 2	укоренённые	4,3±0,3	5,3±0,3
		неукоренённые	4,2±0,3	4,6±0,3
<i>A. reineckii</i>	ИУК	укоренённые	1,5±0,1	1,9±0,1
		неукоренённые	1,6±0,1	1,8±0,1
	ИМК	укоренённые	9,0±0,4	3,6±0,2
		неукоренённые	10,2±0,4	2,9±0,1
	контроль	укоренённые	1,9±0,4	3,8±0,8
		неукоренённые	0,6±0,5	3,2±0,6
	контроль 2	укоренённые	3,1±0,1	1,7±0,1
		неукоренённые	1,9±0,1	1,7±0,1

В случае с растениями вида *H. salzmannii* значения средних длин корней и побегов закономерны. Так по обоим параметрам значения в контроле 2 минимальные (4,2 см корень, 4,6 см побег), при использовании аэропоники с гормоном ИУК и с безгормональным раствором значения параметров средние, а в варианте аэропоники с ИМК – самые большие (11,2

см корень, 41,5 см побег). Закономерны ростовые средние и в рассмотрении разных типов микрочеренков при разных вариантах условий культивирования.

Рассматривая средние показатели растений *A. reineckii*, в варианте с аэропонной установкой и гормоном ИМК значения по корневой системе превосходят остальные более чем в 2 раза, а по приросту надземной биомассы на уровне с контролем и больше примерно в 1,5 раза вариант с ИУК и контроля 2.

По приведённым ранее формулам (материал и методы) у исследуемых растений были рассчитаны индекс роста (I) и удельная скорость роста (μ). Результаты приведены в таблице 7.

Таблица 7 - Средние значения ростовых характеристик исследуемых растений

Растение	Условия	Тип черенка	Индекс роста (I)		Удельная скорость роста (μ), сут ⁻¹	
			корней	побегов	корней	побегов
<i>H. salzmännii</i>	ИУК	укоренённые	0,73	3,96	0,019	0,060
		неукоренённые	1,66	6,41	0,052	0,076
	ИМК	укоренённые	1,00	6,92	0,033	0,086
		неукоренённые	4,80	6,45	0,106	0,079
	контроль	укоренённые	1,08	1,28	0,035	0,033
		неукоренённые	2,50	0,89	0,092	0,025
	контроль 2	укоренённые	1,19	0,30	0,028	0,010
		неукоренённые	2,13	0,35	0,071	0,012
<i>A. reineckii</i>	ИУК	укоренённые	0,53	0,26	0,016	0,009
		неукоренённые	0,53	0,29	0,021	0,009
	ИМК	укоренённые	7,28	0,92	0,059	0,026
		неукоренённые	2,67	0,76	0,068	0,024
	контроль	укоренённые	0,50	1,03	0,024	0,026
		неукоренённые	1,12	1,30	0,039	0,031
	контроль 2	укоренённые	1,28	0,08	0,044	0,003
		неукоренённые	2,44	0,03	0,059	0,001

Анализируя рассчитанные данные, следует отметить низкие значения прироста побегов за время культивирования и посуточный их прирост в контроле и контроле 2 у *H. salzmännii*. В свою очередь значения индекса роста и удельной скорости роста корней *H. salzmännii* весомо больше при использовании неукоренённых микрочеренков в вариантах с добавлением

ИМК и первом контрольном. По рассчитанным показателям *A. reineckii* можно сделать вывод, что растения, культивируемые на аэропонике с раствором, содержащим ИУК, медленнее всех наращивали корневую массу, что растения второго контрольного культивирования дольше всех росли в надземной части и больше всего максимальных значений по этим характеристикам в варианте культивирования с ИМК. Исходя из полученных результатов следует, что корреляция между рассчитанными величинами и типами микрочеренков не является выраженной.

Перевод водных растений в условия аквариума

После 25 суток выращивания четырьмя разными способами растения были простерилизованы слабым раствором KMnO_4 и помещены в аквариум, в стеклянные сосуды, объёмом в 1 литр, или пластиковые контейнеры (рис. 65).

Обновление воды для всех растений производили один раз в неделю. При этой манипуляции обновляли 15-20% воды, а один раз в две недели осуществляли чистку сосудов. За более чем двухнедельный период выращивания в условиях аквариума у всех водных растений *A. reineckii* и *H. salzmännii* были отмечены их дальнейший активный рост и формирование хорошей вегетирующей массы (рис.66).



А



Б



В

Рис. 65 Водные растения, перенесённые в условия аквариума в 1-ый день после культивирования: А– *A. reineckii* и *H. salzmannii* в аквариуме (вариант с аэропоникой и ИУК); Б – *A. reineckii* в пластиковых контейнерах (вариант с аэропоникой и ИМК); В – *H. salzmannii* в стеклянных сосудах (вариант с аэропоникой и ИМК)



А



Б

Рис. 66 Растения *H. Salzmannii*: А – и *A. reinecki*; Б– в условиях *ex situ* на 10-ые сутки после культивирования

Расчёт суммарного содержания флавоноидов в водных растениях

Флавоноиды, вместе с входящими в их группу флавонами, флавонолами, их гликозидами и т. п., выполняют важные функции в метаболизме растения, например, участвуют в фотосинтезе, в образовании суберина и лигнина, а также в пролиферации и апоптозе клеток в растущих частях растения.

По методике, приведённой ранее, по определению количественного содержания флавоноидов полученные в ходе расчётов данные, приведённые на рисунке 67.

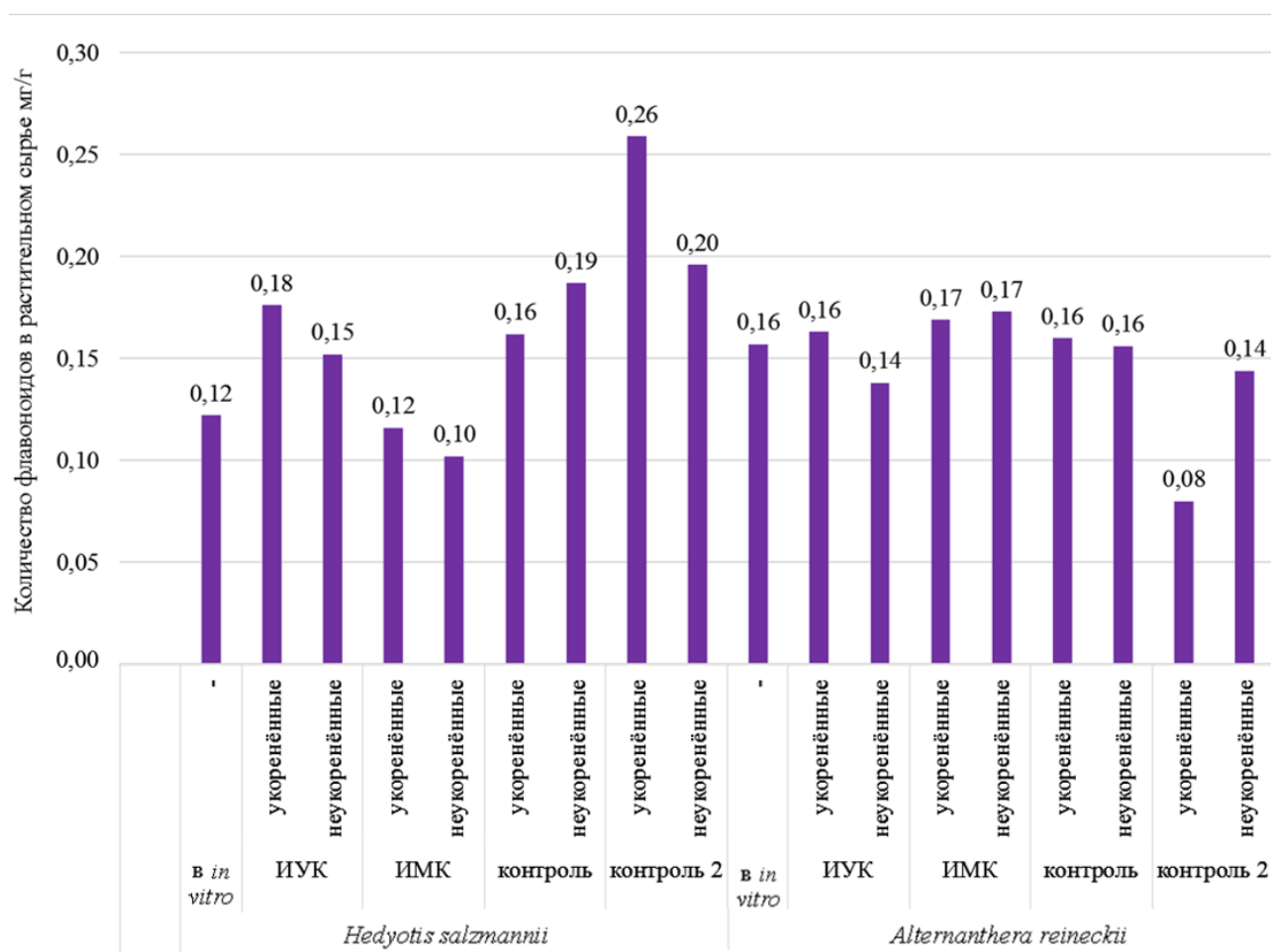


Рис. 67 Суммарное содержание флавоноидов в водных растениях до и по окончании культивирования при разных типах черенков

Анализ суммарного количества флавоноидов показал, что растения *H. salzmannii*, культивируемые в сосудах с водой, большее накопление

исследуемых веществ, наименьшее их содержание было у растений в варианте aeropоники с ИМК и у растений в культуре *in vitro*. Небольшие числовые показатели в случаях выращивания в aeropонике могут коррелировать с затратами на активное формирование надземной части растений, и наоборот медленное её образование в варианте контроля 2.

A. reineckii в контрольном варианте явно не хватало питательных веществ, что и отразилось на её росте и количественном содержании значимых веществ, в том числе флавоноидов. В остальных вариантах с культивированием в пропагаторе растительные образцы показали статистически средние значения содержания анализируемой группы веществ, но схожее по значениям с растениями, выращиваемыми в условиях *in vitro*, что может говорить о благоприятных условиях и достаточном получении и усвоении питательных веществ в aeropонных установках.

Значимые различия суммарного содержания флавоноидов в растениях укоренённых и неукоренённых при черенковании можно отметить для обоих видов, выращиваемых вторым контрольным вариантом.

3.7 Экономическая эффективность технологии выращивания растений разных таксономических групп с использованием aeropонных технологий

Не секрет, что сегодня Россия входит в число крупнейших потребителей не только сельскохозяйственной продукции, но и цветочной, декоративной. Рынок продукции весьма сильно зависит от импортных поставок, но принимая во внимание сегодняшний курс валют, продукция отечественного производства становится все более конкурентноспособной. Создание современных технологий производства продукции различного назначения позволит предоставлять высококонкурентную продукцию.

Сельскохозяйственное производство всегда является энергозатратным с высоким потреблением ресурсов, однако данная отрасль существует как

правило с положительным балансом энергозатрат. Рыночная экономика не всегда дает возможность объективно оценить новую технологию или прием, используя лишь экономические методы. Необходимо учесть все прямые и прочие затраты и выявить уровень рентабельности производства. Любое производство нацелено на прибыль от его реализации (Анисимов Б.В., 2014 б). Она определяется как разница между денежной выручкой и затратами на производство и реализацию продукции. Экономическая эффективность сельскохозяйственного производства характеризуется такими показателями как валовое производство, выручка от реализации, полная себестоимость реализованной продукции, урожайность, прямые и прочие затраты, условно чистый доход, уровень рентабельности. Эффективность тем выше, чем больше производится продукции с единицы площади и чем меньше приходится материальных и денежных затрат на единицу продукции. Поэтому критерием оценки любой технологии является урожайность, но при этом величина урожайности должна быть экономически оправданной. Цена 1 растения не зависит от способа его получения, поэтому важно рассчитать все экономические показатели при сравнении тепличного выращивания с аэропонным.

На сегодняшний день, на территории Российской Федерации отсутствуют питомники, которые способны выращивать растения быстрым, качественным и прогрессивным методом, например, с применением аэропонных технологий. Для принятия окончательного решения о создании современных производственных мощностей проводится технико-экономическое обоснование, которое является отправной точкой в принятии решений о реализации подобных проектов. При обосновании экономической эффективности выращивания культур мы должны выявить финансовые преимущества и влияние данной технологии на экономику предприятия в целом.

Сегодня предпринимаются попытки выращивания различной товарной продукции аэропонным способом, что позволяет снижать затраты на

рекультивацию земель, приобретение удобрений и химических средств защиты растений. В дополнение, можно отметить, что растения, выращенные аэропнным способом, является экологически чистой, так как выращивается по заданным параметрам. Аэропоника способна снизить трудозатраты, что существенно повлияет на себестоимость продукции. Аэропнные установки с искусственным освещением можно разместить в любом помещении. Зачастую, они являются модульными и их размеры можно изменять в зависимости от площади или иных особенностей помещения. В данных установках искусственного климата существует возможность выращивания растений на круглогодичной основе, независимо от погодных условий.

Установки с освещением различного спектрального состава позволяют снизить затраты на потребление электроэнергии в 2,7 раза по сравнению с традиционными лампами (Басарыгина Е.М., Путилова Т.А., 2012).

Все процессы выращивания растений могут быть автоматизированы. Именно автоматизация позволяет снижать трудозатраты, повышать урожайность и контролировать иные параметры среды.

Главные статьи расходов:

- постройка теплицы или аренда соответствующего помещения;
- аэропнная установка;
- щиты, емкости;
- осветительные приборы;
- системы для очистки воды и обогрева помещения;
- резервные электрообогреватели;
- холодильные установки;
- электрогенераторы.

При культивировании растений в теплице с использованием аэропнных установок у нас появляется возможность проводить до 10 циклов адаптации растений в год. При наличии 100 аэропнных установок емкостью 480 растений каждая, на выходе получаем с учетом потерь свыше 450 000 растений. В течение года способны реализовать свыше 400 000 растений на

продажу. Оптовая цена одного растения варьируется в диапазоне 45-60 рублей за одно растение. Примерные затраты для выращивания растений с применением аэропнных установок и в почвенных условиях теплицы приведены в таблице 8.

Таблица 8 - Основные показатели сравнительной экономической

Показатели	«Установка аэропнная многоярусная «АэроПлюс»	УГС-4 с освещением ДНат 600 Вт	Культивирование в тепличных условиях в рассадных горшках Р9
Потребление э/э на кв.м., кВт/ч	0,18	0,3	0,3
Расход водного раствора на кв.м в сутки, куб.м	0,002	0,01	0,01
Вместимость растений на кв.м., шт.	480	160	123
Процент выпада растений, Малина Оранжевое чудо, %	10	17	18
Процент выпада растений, Гейхера гибридная, %	0	4	6
Процент выпада растений, Эхинацея пурпурная, %	4	6	5
Срок адаптации клонированных растений, Малина Оранжевое чудо, дней	30	40	40
Срок адаптации клонированных растений, Гейхера гибридная, дней	30	40	40
Срок адаптации клонированных растений, Эхинацея пурпурная, дней	30	40	40
Количество часов электродосвечивания, ч	8	8	8
Тариф на электроэнергию за 1 кВт МосЭнергоСбыт (Московская область) для предприятий, руб	6,09	6,09	6,09
Тариф на водоснабжение за 1 куб.м. (Московская область), руб.	25,9	25,9	25,9
Себестоимость 1 растения, Малина Оранжевое чудо, руб.	0,61 Р	4,48 Р	5,90 Р
Себестоимость 1 растения, Гейхера гибридная, руб.	0,55 Р	3,87 Р	5,15 Р
Себестоимость 1 растения, Эхинацея пурпурная, руб.	0,57 Р	3,96 Р	5,09 Р

Срок окупаемости аэропонной теплицы составит около 4 лет. В дальнейшем, возможно получение существенной прибыли при небольших затратах, так как приобретать осветительные приборы и аэропонные установки не будет необходимости. Даже с учетом амортизации, повышения тарифов на оплату электроэнергии и повышения цен на удобрения, сохраняется потенциал получения прибыли.

Таким образом, на основании расчетов установлено, что применение аэропонных установок на последнем этапе клонального микроразмножения позволяет существенно снизить себестоимость одного растения, что приводит к экономической эффективности используемых технологий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Перевод растений из условий *in vitro* в условия *ex vitro* является необходимым этапом технологии клонального микроразмножения растений. На основании собственных исследований и результатов разных авторов установлено, что при переводе микроклонов в нестерильные условия, растения претерпевают стресс в виду того, что изменяются условия выращивания. Поэтому необходимо создавать условия, приближенные к *in vitro*. Такими характеристиками обладают аэропонные технологии, которые ранее не применялись при клональном микроразмножении.

На основании проведенных исследований были сделаны следующие выводы:

1. Установлено, что на последнем этапе клонального микроразмножения целесообразно применять аэропонные технологии, позволяющие проводить укоренение и адаптацию микроклонов разных таксономических групп одновременно.
2. Соискателем разработана, запатентована и апробирована универсальная многоярусная аэропонная установка, позволяющая адаптировать с 95-100% эффективностью микроклоны плодово-ягодных, цветочных, лекарственных и водных растений к условиям *ex vitro*.
3. Показано, что применение аэропонных технологий приводит к формированию посадочного материала высокого качества с хорошо развитой зеленой биомассой и развитой корневой системой.
4. Экспериментально доказано, что применение аэропонных технологий на последнем этапе клонального микроразмножения позволяет сократить временные затраты на получение посадочного материала за счет использования неукорененных микрочеренков растений.

5. Установлено, что у микроклонов, культивируемых на аэропонных установках наблюдается изменение фенольного метаболизма, который проявляется в повышении суммарного содержания фенольных соединений, что является ответной реакцией растений на изменение условий выращивания.
6. Оценка экономической эффективности выращивания растений традиционным и аэропонным методом показала снижение себестоимости растений, полученного в аэропонике на 4-5 рублей и повышение рентабельности производства в 7-9 раз.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аладина О. Н. и др. Адаптация микрорастений малины (*Rubus L.*) и сирени (*Syringa L.*) к нестерильным условиям //Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2009. – №. 3.
2. Атрощенко, Г.П. Плодовые деревья и кустарники для ландшафта: уч. пособие / Г.П. Атрощенко, Г.В. Щербакова. – СПб.: Изд-во «Лань», 2013. – 192 с.
3. Бородулина И. Д., Плаксина Т. В. Адаптация растений-регенерантов земляники садовой сорта Московский Деликатес к условиям *ex vitro* //Acta Biologica Sibirica. – 2015. – Т. 1. – №. 1-2.
4. Бычкова О. В., Титова А. М. Технология производства оздоровленного посадочного материала декоративных и плодово-ягодных культур //От биопродуктов к биоэкономике: материалы II межрегиональной научно-практической конференции (с международным участием)(12-13 апреля 2018 г.)/под. ред. АН Лукьянова; Алт. гос. техн. ун-т им. ИИ Ползунова. – Барнаул: Изд-во АлтГТУ, 2018.–283 с. – 2018. – С. 29.
5. Вечернина Н. А. и др. Адаптация растений-регенерантов с использованием гидропоники //Известия Алтайского государственного университета. – 2008. – №. 3.
6. Горбунов И. В., Рязанова Л. Г. Ягодные культуры : учебное пособие / И. В. Горбунов, Л. Г. Рязанова; М-во сел. хоз-ва Рос. Федерации, ФГБОУ ВО "Кубан. гос. аграр. ун-т им. И. Т. Трубилина". - Краснодар: КубГАУ, 2017. - 197 с., ил.; 21 см.
7. Гудь Л. А., Калашникова Е. А., Тараканов И. Г. Влияние света разного спектрального диапазона на морфогенез ежевики и малины *in vitro* //Лесохозяйственная информация. – 2019. – №. 2. – С. 97-102.
8. Гуцин А. В., Калашникова Е. А., Киракосян Р. Н. Оптимизация технологии клонального микроразмножения современных сортов декоративных культур //Sciences of Europe. – 2019. – №. 38-2 (38). – С. 28-31.

9. Гущин А.В., Калашникова Е.А., Киракосян Р.Н. Усовершенствование технологии клонального микроразмножения современных сортов декоративных культур //Проблемы и перспективы развития науки в России и мире. – 2019. – С. 8-10.
10. Даньков, В.В. Ягодные культуры: уч. пособие / В.В. Даньков [и др.] – СПб.: Изд-во «Лань», 2015. – 192 с.: ил.
11. Деменко, В.И. Укоренение – ключевой этап размножения растений *in vitro* / В.И. Деменко, К.А. Шестибратов, В.Г. Лебедев // Известия ТСХА, 2010. - вып. 1. - С. 73-85.
12. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – Изд. 6-е. – М.: Альянс, 2011. – 351 с.
13. Ежов, Л. А. Ягодники Нечерноземья и Урала: монография / Л. А. Ежов, Ю. В. Солина, А. М. Канунников; под общ. ред. Л. А. Ежова; Перм. гос. с.-х. акад. им. акад. Д. Н. Прянишникова. - Пермь: Прокрость, 2017. - 397 с., [11] л. ил., ил., табл., портр.; 21 см.
14. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и их роль в жизни растения. LVI Тимирязевские чтения. М.: Наука. 1996. 45 с.
15. Звонарев Н.М.. Малина, ежевика. Сорты, выращивание, уход / Н.М. Звонарев. - М.: Центрполиграф, 2011.103 с.: ил.
16. Калашникова Е. А., Киракосян Р. Н., Гущин А. В., Абубакаров Х. Г., Слепцов Н. Н., Темирбекова С. К., Тареева М. М. Выращивание *Ipomoea batatas* (L.) Lam. в условиях светокультуры *in vitro* и *ex vitro* //Овощи России. – 2021. – №. 6. – С. 22-29.
17. Калашникова Е.А., Чередниченко М.Ю., Киракосян Р.Н. и др. Основы биотехнологии. Практикум. М.:КноРус, 2023. 160 с.
18. Кефели, В.И. Онтогенез / В.И. Кефели, Р.Х. Турецкая, Э.М. Коф, Л.В. Буханова // М., 1970.
19. Кривко Н.П. и др. Питомниководство садовых культур: учебник / Н.П. Кривко, Е.В. Агафонов, В.В. Чулков, В.В. Турчин; под ред. Н. П. Кривко: — СПб.: Изд-во «Лань», 2015. — 368 с.: ил.

20. Муратова С. А., Соловых Н. В., Терехова В. И. Индукция морфогенеза из изолированных соматических тканей растений. – 2011
21. Муратова С. А. Биотехнологические аспекты размножения плодовых и ягодных культур //Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. – 2017. – №. 144-2.
22. Мурашкина, И. А. Использование культуры клеток растений в биотехнологии лекарственных средств: уч. пособие / И. А. Мурашкина, И. Б. Васильев, В. В.Гордеева – Иркутск: ИГМУ, 2015 – 83с.
23. Навроцкая Э.В., Чуксин И.С., Киракосян Р.Н., Калашникова Е.А. Усовершенствование технологии адаптации микроклонов *Vitis vinifera ex vitro* //Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии. – 2019. – С. 24-25.
24. Тихомирова Л. И. и др. Биотехнологии получения лекарственного растительного сырья на основе гидропоники сопряжённой с микроклональным размножением //От биопродуктов к биоэкономике: материалы II межрегиональной научно-практической конференции (с международным участием)(12-13 апреля 2018 г.)/под. ред. АН Лукьянова; Алт. гос. техн. ун-т им. ИИ Ползунова.–Барнаул: Изд-во АлтГТУ, 2018.–283 с. – 2018. – С. 232.
25. Швец Д.А., Калашникова Е.А., Чуксин И.С., Киракосян Р.Н. Применение аэропонной системы для адаптации микроклонов рода *Rubus* //Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии. – 2019. – С. 30-32.
26. Шорников Д. Г. и др. Оптимизация условий культивирования *in vitro* ягодных и декоративных культур // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. – 2010. – Т. 15. – №. 2.
27. Эрст А. А. и др. Адаптация регенерантов *Rhododendron hybridum* к условиям *ex vitro* //Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. – 2012. – Т. 19. – №. 9 (128).

28. AbdAlla M. M., Mostafa R. A. A. In Vitro Propagation of Blackberry (*Rubusfruticosus* L.) //Assiut J. Agric. Sci. – 2015. – №. 3. – C. 46.
29. Agrilyst. The State of Indoor Farming. Available online: https://www.cropscience.bayer.com/sites/cropscience/files/inline-files/stateofindoorfarming-report-2017_0.pdf (accessed on 26 April 2021);
30. Anitha P., Periasamy P. S. Energy efficient green house monitoring in the aeroponics system using Zigbee networks //Asian Journal of Research in Social Sciences and Humanities. – 2016. – T. 6. – №. 6. – C. 2243-2250.
31. Bailey B. Protected Agriculture: A Global Review. World Bank Technical Paper No. 251. By Merle H. Jensen and Alan J. Malter, Washington, DC: The World Bank†(1995), pp. 156,£ 9.85, US \$10.95. ISBN 0-8213-2930-8 //Experimental Agriculture. – 1996. – T. 32. – №. 2. – C. 233-234.
32. Barak J. D. et al. Salmonella enterica virulence genes are required for bacterial attachment to plant tissue //Applied and environmental microbiology. – 2005. – T. 71. – №. 10. – C. 5685-5691.
33. Barak P. et al. Measurement of short-term nutrient uptake rates in cranberry by aeroponics //Plant, Cell & Environment. – 1996. – T. 19. – №. 2. – C. 237-242.
34. Barnhart M. M., Chapman M. R. Curli biogenesis and function //Annu. Rev. Microbiol. – 2006. – T. 60. – C. 131-147.
35. Barriuso A. L. et al. Combination of multi-agent systems and wireless sensor networks for the monitoring of cattle //Sensors. – 2018. – T. 18. – №. 1. – C. 108.
36. Basnet B., Bang J. The state-of-the-art of knowledge-intensive agriculture: A review on applied sensing systems and data analytics //Journal of Sensors. – 2018. – T. 2018.
37. Benabdallah A., Rahmoune C., Boumendjel M., Aissi O., Messaoud C. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild Mentha species (Lamiaceae) from northeast of Algeria //Asian Pacific journal of tropical biomedicine. – 2016. – T. 6. – №. 9. – C. 760-766.

38. Bhojwani S. S., Dhawan V. Acclimatization of tissue culture-raised plants for transplantation to the field //Applications of biotechnology in forestry and horticulture. – Springer, Boston, MA, 1989. – C. 249-256.
39. Blaustein R. A. et al. Irrigation waters and pipe-based biofilms as sources for antibiotic-resistant bacteria //Environmental monitoring and assessment. – 2016. – T. 188. – C. 1-12.
40. Bobrowski V. L., Mello-Farias P. C., Peters J. A. Micropropagation of blackberries (*Rubus* sp.) cultivars //Rev. Bras. De Agrociencia. – 1996. – T. 2. – №. 1. – C. 17-20.
41. Buer C. S. et al. Development of a nontoxic acoustic window nutrient-mist bioreactor and relevant growth data //In vitro cellular & developmental biology. Plant. – 1996. – C. 299-304.
42. Ceres Partners. White Paper: Indoor Growing. Available online: <https://www.cerespartners.com/files/o9K7dm/Indoor%20Growing%20Whitepaper.pdf> (accessed on 26 April 2021).
43. Chandra S. et al. Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: A comparative study //Evidence-based complementary and alternative medicine. – 2014. – T. 2014.
44. Christie C. B., Nichols M. A. Aeroponics-a production system and research tool //South Pacific Soilless Culture Conference-SPSCC 648. – 2003. – C. 185-190.
45. Clapa D. et al. The in vitro propagation of the raspberry cultivar citria //Bulletin of the University of Agricultura Sciences. – 2008. – T. 65. – №. 1. – C. 99-103.
46. Clapa D., Fira A., Joshee N. An efficient ex vitro rooting and acclimatization method for horticultural plants using float hydroculture //Hortscience. – 2013. – T. 48. – №. 9. – C. 1159-1167.

47. Clawson J. M. et al. NASA-Review of aeroponics, aeroponics for spaceflight plant growth //Soci of Auto Eng. <http://aeroponicsdiy.com/nasa-review-of-aeroponics>. – 2000.
48. Cousineau J. C., Donnelly D. J. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of tissue cultured and greenhouse-grown raspberry //Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1991. – T. 27. – №. 3. – C. 249-255.
49. Dai W. et al. Micropropagation of ‘Amethyst’purple raspberry (*Rubus occidentalis* L. x *R. Idaeus* L. ‘Amethyst’) //Journal of Environmental Horticulture. – 2006. – T. 24. – №. 1. – C. 35-38.
50. Dalai S. et al. Green-houses: Types and Structural Components //Protected Cultivation and Smart Agriculture; Maitra, S., Gaikwad, DJ, Shankar, T., Eds. – 2020.
51. Debnath S. C. Morphological and molecular analyses in micropropagated berry plants acclimatized under ex vitro condition / S. C. Debnath, P. Vyas, J. C. Goyali, A. U. Igamberdiev // Canadian journal of plant science. – 2012. – T. 92. – №. 6. – C. 1065-1073.
52. Despommier D. Farming up the city: the rise of urban vertical farms //Trends Biotechnol. – 2013. – T. 31. – №. 7. – C. 388-389.
53. Despommier D. The vertical farm: feeding the world in the 21st century. – Macmillan, 2010.
54. DiCaprio E. et al. Internalization and dissemination of human norovirus and animal caliciviruses in hydroponically grown romaine lettuce //Applied and Environmental Microbiology. – 2012. – T. 78. – №. 17. – C. 6143-6152.
55. du Toit L. J., Kirby H. W., Pedersen W. L. Evaluation of an aeroponics system to screen maize genotypes for resistance to *Fusarium graminearum* seedling blight //Plant disease. – 1997. – T. 81. – №. 2. – C. 175-179.
56. Eigenbrod C., Gruda N. Urban vegetable for food security in cities. A review //Agronomy for Sustainable Development. – 2015. – T. 35. – C. 483-498.

57. Erig A. C., De Rossi A., FORTES G. R. L. 6-benzilaminopurina e ácido indolbutírico na multiplicação in vitro da amoreira-preta (*Rubus idaeus* L.), cv. Tupy //Ciência Rural. – 2002. – T. 32. – №. 5. – C. 765-770.

58. Fascella G., Zizzo G. V. Preliminary results of aeroponic cultivation of anthurium andreanum for cut flower production //VIII International Symposium on Protected Cultivation in Mild Winter Climates: Advances in Soil and Soilless Cultivation under 747. – 2006. – C. 233-240.

59. Fiola J. A. et al. Effect of thidiazuron, light fluence rates and kanamycin on in vitro shoot organogenesis from excised *Rubus* cotyledons and leaves //Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1990. – T. 20. – №. 3. – C. 223-228.

60. Fira A. et al. In vitro Propagation of the Thornless Blackberry Cultivar'Loch Ness' //Bulletin UASVM Horticulture. – 2011. – T. 68. – №. 1. – C. 39-46.

61. Fira A. et al. New aspects regarding the micropropagation of blackberry cultivar 'thornless evergreen' //Bulletin UASVM Horticulture. – 2010. – T. 67. – №. 1. – C. 2010.

62. Fira A. et al. Studies regarding the micropropagation of some blackberry cultivars //Bulletin UASVM Horticulture. – 2014. – T. 71. – №. 1. – C. 22-37.

63. Foley J. A. et al. Solutions for a cultivated planet //Nature. – 2011. – T. 478. – №. 7369. – C. 337-342.

64. Food and Agriculture Organization (FAO). Database on Arable Land. 2016. Available online: <https://data.worldbank.org/indicator/AG.LND.ARBL.HA.PC?end=2018&start=1961&view=chart> (accessed on 23 June 2022).

65. Franz E. et al. Quantification of contamination of lettuce by GFP-expressing *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium //Food Microbiology. – 2007. – T. 24. – №. 1. – C. 106-112.

66. Gago J. et al. UAVs challenge to assess water stress for sustainable agriculture //Agricultural water management. – 2015. – T. 153. – C. 9-19.
67. Gajdosova A. et al. Microclonal propagation of *Vaccinium* sp. and *Rubus* sp. and detection of genetic variability in culture in vitro //Journal of Fruit and Ornamental Plant Research. – 2006. – T. 14. – №. Suppl. 1.
68. Gonzalez M. V. et al. Micropropagation of three berry fruit species using nodal segments from field-grown plants //Annals of Applied Biology. – 2000. – T. 137. – №. 1. – C. 73-78.
69. Gopinath P., Irene Vethamoni P., Gomathi M. Aeroponics Soilless Cultivation System for Vegetable Crops / P. Gopinath, P. Irene Vethamoni, M. Gomathi // Chemical Science Review and Letters, 2017. - 6(22). – P. 838-849.
70. Graham J., Iasi L., Millam S. Genotype-specific regeneration from a number of *Rubus* cultivars //Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1997. – T. 48. – №. 3. – C. 167-173.
71. Grubinger V., Northeast S. High Tunnels and Other Season Extension Techniques //Sustainable Agriculture Research & Education: College Park, MD, USA. – 2016.
72. Gruda N. S. Soilless culture systems and growing media in horticulture: An overview //Advances in horticultural soilless culture. – 2021. – C. 1-20.
73. Hamm, M. Feeding Cities—With Indoor Vertical Farms? FCRN Blogs 2015. Available online: https://www.canr.msu.edu/news/feeding_cities_with_indoor_vertical_farms (accessed on 10 May 2022).
74. Hayden A. L. Aeroponic and hydroponic systems for medicinal herb, rhizome, and root crops //HortScience. – 2006. – T. 41. – №. 3. – C. 536-538.
75. Hessel Jr M. I., Richert Jr G. E., Nevill Jr G. E. Airflow-contained aeroponic nutrient delivery for a microgravity prant growth unit. – 1992.
76. HLPE. Food security and nutrition: Building a global narrative towards 2030. In A Report by the High Level Panel of Experts on Food Security

and Nutrition of the Committee on World Food Security; HLPE: Rome, Italy, 2020.

77. Hu W. et al. Soil environmental quality in greenhouse vegetable production systems in eastern China: current status and management strategies //Chemosphere. – 2017. – T. 170. – C. 183-195.

78. Hubick K. T., Drakeford D. R., Reid D. M. A comparison of two techniques for growing minimally water-stressed plants //Canadian Journal of Botany. – 1982. – T. 60. – №. 3. – C. 219-223.

79. Hung L. L. L., Sylvia D. M. Production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus inoculum in aeroponic culture //Applied and Environmental Microbiology. – 1988. – T. 54. – №. 2. – C. 353-357.

80. Hunkova J. et al. Shoot proliferation ability of selected cultivars of *Rubus* spp. as influenced by genotype and cytokinin concentration //Journal of Central European Agriculture. – 2016. – T. 17. – №. 2. – C. 379-390.

81. Ismaini L., Destri D., Surya M. I. Micropropagation of *Rubus chrysophyllus* Reinw. ex Miq. and *Rubus fraxinifolius* Poir //Journal of Tropical Life Science. – 2017. – T. 7. – №. 1. – C. 72-76.

82. ITO T. The greenhouse and hydroponic industries of Japan //International Symposium on Growing Media and Hydroponics 481. – 1997. – C. 761-764.

83. Jablasone J., Warriner K., Griffiths M. Interactions of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* plants cultivated in a gnotobiotic system //International journal of food microbiology. – 2005. – T. 99. – №. 1. – C. 7-18.

84. Jennings, D. L., Daubeny, H. A., Moore, J. N. (1991) Blackberries and raspberries (*Rubus*) / D. L. Jennings, H. A. Daubeny, J. N. Moore // Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops, 1991. – 290 – P.331- 392.

85. Jones Jr J. B. Complete guide for growing plants hydroponically. – CRC Press, 2014.

86. Jovicich E. et al. Greenhouse-grown colored peppers: a profitable alternative for vegetable production in Florida? //HortTechnology. – 2005. – T. 15. – №. 2. – C. 355-369.
87. Kacjan-Maršić N., Osvald J. Nitrate content in lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown on aeroponics with different quantities of nitrogen in the nutrient solution //Acta agronomica hungarica. – 2002. – T. 50. – №. 4. – C. 389-397.
88. Kaiser, C.; Ernst, M. Romaine Lettuce. Center for Crop Diversification Crop Profile, CD-CCP-116; University of Kentucky College of Agriculture, Food, and the Environment Cooperative Extension: Lexington, KY, USA, 2017; Available online: <http://www.uky.edu/ccd/sites/www.uky.edu/ccd/files/romaine.pdf> (accessed on 9 January 2019)
89. Kernahan K. Aeroponic growth system wireless control system and methods of using : заяв. пат. 14341781 США. – 2016.
90. Kim H. S. et al. Production of high quality potato plantlets by autotrophic culture for aeroponic systems //J. Korean Soc. Hort Sci. – 1999. – T. 123. – C. 330-333.
91. Klerks M. M. et al. Differential interaction of *Salmonella enterica* serovars with lettuce cultivars and plant-microbe factors influencing the colonization efficiency //The ISME journal. – 2007. – T. 1. – №. 7. – C. 620-631.
92. Knaus U., Palm H. W. Effects of the fish species choice on vegetables in aquaponics under spring-summer conditions in northern Germany (Mecklenburg Western Pomerania) //Aquaculture. – 2017. – T. 473. – C. 62-73.
93. Kondo N. et al. Development of an end-effector for a tomato cluster harvesting robot //Engineering in Agriculture, Environment and Food. – 2010. – T. 3. – №. 1. – C. 20-24.
94. Koseki S., Mizuno Y., Yamamoto K. Comparison of two possible routes of pathogen contamination of spinach leaves in a hydroponic cultivation system //Journal of food protection. – 2011. – T. 74. – №. 9. – C. 1536-1542.

95. Kumari R., Kumar R. Aeroponics: A review on modern agriculture technology //Indian Farmer. – 2019. – T. 6. – №. 4. – C. 286-292.
96. Lakhiar I. A. et al. Modern plant cultivation technologies in agriculture under controlled environment: A review on aeroponics //Journal of plant interactions. – 2018. – T. 13. – №. 1. – C. 338-352.
97. Lakkireddy K. K. R., Kasturi K., Sambasiva Rao K. R. S. Role of Hydroponics and Aeroponics in Soilless Culture in Commercial Food Production. – 2012.
98. Lamont W. J. et al. Design and construction of the Penn State high tunnel //HortTechnology. – 2002. – T. 12. – №. 3. – C. 447-453.
99. Lamont W. J. Overview of the use of high tunnels worldwide //HortTechnology. – 2009. – T. 19. – №. 1. – C. 25-29.
100. Lazić T., Ružić Đ. Organogenesis In Vitro from the Leaf of Blackberry cv Čačanska Bestrna //Genetika. – 2007. – T. 39. – №. 1. – C. 69-78.
101. Lebedev V. et al. Effects of Growth Regulators and Gelling Agents on Ex Vitro Rooting of Raspberry //Plants. – 2019. – T. 8. – №. 1. – C. 3.
102. Lennard W. Commercial aquaponic systems: integrating recirculating fish culture with hydroponic plant production. – Wilson Lennard, 2017. – p. 375.
103. Lili W. et al. Development of a tomato harvesting robot used in greenhouse //International Journal of Agricultural and Biological Engineering. – 2017. – T. 10. – №. 4. – C. 140-149.
104. Liu L. Present development of facility agriculture in China and countermeasures //Agricultural Science & Technology and Equipment. – 2013. – T. 4. – C. 57-58.
105. Macarisin D., Patel J., Sharma V. K. Role of curli and plant cultivation conditions on Escherichia coli O157: H7 internalization into spinach grown on hydroponics and in soil //International journal of food microbiology. – 2014. – T. 173. – C. 48-53.
106. Mähönen A. P. et al. PLETHORA gradient formation mechanism separates auxin responses //Nature. – 2014. – T. 515. – №. 7525. – C. 125-129.

107. Manja K., Aoun M. The use of nets for tree fruit crops and their impact on the production: A review // *Scientia horticultrae*. – 2019. – T. 246. – C. 110-122.
108. Martin-Laurent F. et al. Field assessment of aeroponically grown and nodulated *Acacia mangium* // *Australian Journal of Botany*. – 2000. – T. 48. – №. 1. – C. 109-114.
109. Martinović G., Simon J. Greenhouse microclimatic environment controlled by a mobile measuring station // *Njas-wageningen journal of life sciences*. – 2014. – T. 70. – C. 61-70.
110. Mathews H. et al. Efficient genetic transformation of red raspberry, *Rubus ideaus* L // *Plant cell reports*. – 1995. – T. 14. – №. 8. – C. 471-476.
111. Mathur A. et al. Biological hardening and genetic fidelity testing of micro-cloned progeny of *Chlorophytum borivilianum* Sant. et Fernand // *African Journal of Biotechnology*. – 2008. – T. 7. – №. 8.
112. Mattson N., Lieth J. H. Liquid culture hydroponic system operation // *Soilless Culture*. – Elsevier, 2019. – C. 567-585.
113. Mbiyu M. W. et al. Use of aeroponics technique for potato (*Solanum tuberosum*) minitubers production in Kenya // *Journal of Horticulture and Forestry*. – 2012.
114. Meng R. et al. Improving In Vitro Plant Regeneration from Leaf and Petiole Explants of Marion'Blackberry // *HortScience*. – 2004. – T. 39. – №. 2. – C. 316-320.
115. Minas, G. J., D. Neocleous, 2007, A Protocol for Rapid Clonal Propagation in vitro of Primocane-Fruiting Red Raspberry Cultivars, in *Miscellaneous Reports 95*, Agricultural Research Institute, Lefkosia, Cyprus, May, issued by the Press and Information Office, Lefkosia.
116. Mohammed G. et al. Combination of a crop model and a geochemical model as a new approach to evaluate the sustainability of an intensive agriculture system // *Science of the total environment*. – 2017. – T. 595. – C. 119-131.

117. Moyer, R. A. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes* / R. A. Moyer [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2002. – T. 50. – №. 3. – C. 519-525.
118. Mueller D. S. et al. Use of aeroponic chambers and grafting to study partial resistance to *Fusarium solani* f. sp. *glycines* in soybean //Plant disease. – 2002. – T. 86. – №. 11. – C. 1223-1226.
119. Najaf-Abadi A. J. et al. Micropropagation of Thornless Trailing Blackberry ('*Rubus* sp.') by Axillary Bud Explants //Australian Journal of Crop Science. – 2009. – T. 3. – №. 4. – C. 191.
120. Neo D. C. J. et al. Shaping and tuning lighting conditions in controlled environment agriculture: A review //ACS Agricultural Science & Technology. – 2022. – T. 2. – №. 1. – C. 3-16.
121. Newbean Capital. Indoor Crop Production Feeding the Future. Available online: <https://docplayer.net/15068939-Indoor-crop-production-feeding-the-future.html> (accessed on 26 April 2021)
122. Nikolaou G. et al. Advances in irrigation/fertigation techniques in greenhouse soilless culture systems (SCS) //Advances in horticultural soilless culture. – Burleigh Dodds Science Publishing, 2021. – C. 249-275.
123. Nir I. Growing plants in aeroponics growth system //Symposium on Substrates in Horticulture other than Soils In Situ 126. – 1981. – C. 435-448.
124. NoSoilSolutions. The Different Types of Hydroponic Systems. Available online: <https://www.nosoilsolutions.com/6-different-types-hydroponic-systems/> (accessed on 23 June 2022).].
125. Okumura T. et al. Inactivation of bacteria using discharge plasma under liquid fertilizer in a hydroponic culture system //Plasma Medicine. – 2016. – T. 6. – №. 3-4.
126. Osvald J., Petrovic N., Demsar J. Sugar and organic acid content of tomato fruits (*Lycopersicon lycopersicum* Mill.) grown on aeroponics at different plant density //Acta Alimentaria. – 2001. – T. 30. – №. 1. – C. 53-61.

127. Pala M. et al. Aeroponic greenhouse as an autonomous system using intelligent space for agriculture robotics //Advances in Intelligent Systems and Computing. – 2014. – T. 274. – C. 83.
128. Pasch J., Appelbaum S., Palm H. W., Knaus U. Growth of basil (*Ocimum basilicum*) in aeroponics, DRF, and raft systems with effluents of African catfish (*Clarias gariepinus*) in decoupled aquaponics (ss) //AgriEngineering. – 2021. – T. 3. – №. 3. – C. 559-574.
129. Peck S. W. et al. Greenbacks from green roofs: forging a new industry in Canada. – 1999.
130. Petersen S. O. et al. Annual emissions of CH₄ and N₂O, and ecosystem respiration, from eight organic soils in Western Denmark managed by agriculture //Biogeosciences. – 2012. – T. 9. – №. 1. – C. 403-422.
131. Qin H., Jia B. China's greenhouse agriculture development //Agric. Mach. Mark. – 2013. – T. 2. – C. 20-22.
132. Ragaveena S., Shirly Edward A., Surendran U. Smart controlled environment agriculture methods: A holistic review //Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. – 2021. – T. 20. – №. 4. – C. 887-913.
133. Raviv M., Lieth H., Bar-Tal A. (ed.). Soilless culture: Theory and practice: Theory and practice. – Elsevier, 2019.
134. Rohr R. et al. Acclimatization of micropropagated forest trees //International Symposium on Acclimatization and Establishment of Micropropagated Plants 616. – 2001. – C. 59-69.
135. Riggio G. M., Jones S. L., Gibson K. E. Risk of human pathogen internalization in leafy vegetables during lab-scale hydroponic cultivation //Horticulturae. – 2019. – T. 5. – №. 1. – C. 25.
136. Romero-Gómez M. et al. Environmental impact of screenhouse and open-field cultivation using a life cycle analysis: the case study of green bean production //Journal of Cleaner Production. – 2012. – T. 28. – C. 63-69.

137. Ruiz-Garcia L. et al. A review of wireless sensor technologies and applications in agriculture and food industry: state of the art and current trends //sensors. – 2009. – T. 9. – №. 6. – C. 4728-4750.
138. Ružić D., Lazić T. Micropropagation as means of rapid multiplication of newly developed blackberry and black currant cultivars //Agriculturae Conspectus Scientificus. – 2006. – T. 71. – №. 4. – C. 149-153.
139. Sammons P. J., Furukawa T., Bulgin A. Autonomous pesticide spraying robot for use in a greenhouse //Australian Conference on Robotics and Automation. – Canberra, Australia : Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, 2005. – T. 1. – №. 9. – C. 1-9.
140. Santos B., Rios D., Nazco R. Climatic conditions in tomato screenhouses in Tenerife (Canary Islands) //International Symposium on Greenhouse Cooling 719. – 2006. – C. 215-222.
141. Settanni L. et al. Microbiological investigation of *Raphanus sativus* L. grown hydroponically in nutrient solutions contaminated with spoilage and pathogenic bacteria //International journal of food microbiology. – 2013. – T. 160. – №. 3. – C. 344-352.
142. Sharma M. et al. A novel approach to investigate the uptake and internalization of *Escherichia coli* O157: H7 in spinach cultivated in soil and hydroponic medium //Journal of food protection. – 2009. – T. 72. – №. 7. – C. 1513-1520.
143. Sharma N. et al. Hydroponics as an advanced technique for vegetable production: An overview //Journal of Soil and Water Conservation. – 2018. – T. 17. – №. 4. – C. 364-371.
144. Shtrausberg D. V., Rakitina E. G. On the aeration and gas regime of roots in aeroponics and water culture //Agrokhimia. – 1970. –vol. 4. – pp. 101–110.
145. Smith T., Lopes P. Greenhouse BMPs: A Handbook for the Greenhouse Industry in Massachusetts //University of Massachusetts Extension: Amherst, MA, USA. – 2010. – C. 1-2.

146. Soffer H., Burger D. W. Effects of dissolved oxygen concentrations in aero-hydroponics on the formation and growth of adventitious roots //Journal of the American Society for Horticultural Science. – 1988. – T. 113. – №. 2. – C. 218-221.
147. Somerville C. et al. Small-scale aquaponic food production: integrated fish and plant farming //FAO Fisheries and aquaculture technical paper. – 2014. – №. 589. – C. I.
148. Son J. E., Ahn T. I., Moon T. Advances in nutrient management modelling and nutrient concentration prediction for soilless culture systems //Advances in horticultural soilless culture. – Burleigh Dodds Science Publishing, 2021. – C. 277-301.
149. Stoevska T., Trifonova A., Karadocheva D. Micropropagation of raspberries (*Rubus idaeus*) //Biotechnology & Biotechnological Equipment. – 1995. – T. 9. – №. 2-3. – C. 27-30.
150. Sylvia D. M., Hubbell D. H. Growth and sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in aeroponic and membrane systems //Symbiosis. – 1986. – vol. 1. – pp. 259–267.
151. Sylvia D. M., Jarstfer A. G. Sheared-root inocula of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi //Applied and Environmental Microbiology. – 1992. – T. 58. – №. 1. – C. 229-232.
152. Tanny J. Microclimate and evapotranspiration of crops covered by agricultural screens: A review //Biosystems Engineering. – 2013. – T. 114. – №. 1. – C. 26-43.
153. Teng Y. et al. Phthalate Esters Pollution and Bioremediation of Greenhouse Soils. – 2014.
154. Tik L. B., Khuan C. T., Palaniappan S. Monitoring of an aeroponic greenhouse with a sensor network //International Journal of Computer Science and Network Security. – 2009. – T. 40. – №. 3. – C. 240-246.

155. Turk B. A., Swartz H. J., Zimmerman R. H. Adventitious shoot regeneration from in vitro-cultured leaves of *Rubus* genotypes //Plant cell, tissue and organ culture. – 1994. – T. 38. – №. 1. – C. 11-17.
156. Tüzel Y., Balliu A. Advances in liquid-and solid-medium soilless culture systems //Advances in horticultural soilless culture. – Burleigh Dodds Science Publishing, 2021. – C. 213-248.
157. Tyson R. V. et al. A decade of change in Florida's greenhouse vegetable industry: 1991-2001 //Proceedings of the Florida State Horticultural Society. – 2001. – T. 114. – C. 280-282.
158. Tzortzakis N. et al. Soilless cultivation through an intensive crop production scheme. Management strategies, challenges and future directions //Frontiers in Plant Science. – 2020. – T. 11. – C. 363.
159. Van Os E. A., Gieling T. H., Lieth J. H. Technical equipment in soilless production systems //Soilless culture. – Elsevier, 2019. – C. 587-635.
160. Vater G., Arena M. In vitro propagation of *Rubus geoides* //New Zealand journal of crop and horticultural science. – 2005. – T. 33. – №. 3. – C. 277-281.
161. Villa F. et al. In vitro multiplication of blackberry (*Rubus* sp.) 'ÉBANO' in different MS medium concentrations and BAP //Ciência e Agrotecnologia. – 2005. – T. 29. – №. 3. – C. 582-589.
162. Voogt W., Bar-Yosef B. Water and nutrient management and crops response to nutrient solution recycling in soilless growing systems in greenhouses //Soilless Culture. – Elsevier, 2019. – C. 425-507.
163. Vujović T., Ružić D. J., Cerović R. In vitro shoot multiplication as influenced by repeated subculturing of shoots of contemporary fruit rootstocks //Horticultural Science. – 2012. – T. 39. – №. 3. – C. 101-107.
164. Wagner R. E., Wilkinson H. T. An aeroponics system for investigating disease development on soybean taproots infected with *Phytophthora sojae* //Plant disease. – 1992. – T. 76. – №. 6. – C. 610-614.

165. Wang N., Zhang N., Wang M. Wireless sensors in agriculture and food industry—Recent development and future perspective //Computers and electronics in agriculture. – 2006. – T. 50. – №. 1. – C. 1-14.
166. Wang Q., Kniel K. E. Survival and transfer of murine norovirus within a hydroponic system during kale and mustard microgreen harvesting //Applied and Environmental Microbiology. – 2016. – T. 82. – №. 2. – C. 705-713.
167. Warriner K. et al. Interaction of Escherichia coli with growing salad spinach plants //Journal of food protection. – 2003. – T. 66. – №. 10. – C. 1790-1797.
168. Wells O. S. Rowcover and high tunnel growing systems in the United States //HortTechnology. – 1996. – T. 6. – №. 3. – C. 172-176.
169. Wong C. E. et al. Seeing the lights for leafy greens in indoor vertical farming //Trends in Food Science & Technology. – 2020. – T. 106. – C. 48-63.
170. World Wildlife Fund. Indoor Soilless Farming: Phase I: Examining the Industry and Impacts of Controlled Environment Agriculture. Available online: <https://www.worldwildlife.org/publications/indoor-soilless-farming-phase-i-examining-the-industry-and-impacts-of-controlled-environment-agriculture> (accessed on 4 May 2021).
171. World Wildlife Fund. Indoor Soilless Farming: Phase I: Examining the Industry and Impacts of Controlled Environment Agriculture. Available online: <https://www.worldwildlife.org/publications/indoor-soilless-farming-phase-i-examining-the-industry-and-impacts-of-controlled-environment-agriculture> (accessed on 4 May 2021)
172. Wu J. H. et al. Factors affecting the efficiency of micropropagation from lateral buds and shoot tips of Rubus //Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2009. – T. 99. – №. 1. – C. 17-25.
173. Zawadzka M., Orlikowska T. The influence of FeEDDHA in red raspberry cultures during shoot multiplication and adventitious regeneration from leaf explants //Plant cell, tissue and organ culture. – 2006. – T. 85. – №. 2. – C. 145.

174. Zhai Z. et al. A mission planning approach for precision farming systems based on multi-objective optimization //Sensors. – 2018. – Т. 18. – №. 6. – С. 1795.
175. Zhang N. M. Theory and Practice of Horticulture Agriculture. – 2005.
176. Zhang W., Kantor G., Singh S. Integrated wireless sensor/actuator networks in an agricultural application //Proceedings of the 2nd international conference on Embedded networked sensor systems. – 2004. – С. 317-317.
177. Zobayed F. A. et al. Supporting material influences the root growth and morphology of sweet potato plantlets cultured photoautotrophically //Vitro Cell Dev Biol Plant. – 1999. – Т. 35. – С. 470-4.
178. Zobel R. W., Del Tredici P., Torrey J. G. Method for growing plants aeroponically //Plant Physiology. – 1976. – Т. 57. – №. 3. – С. 344-346.
179. Zobel R. W., Lychalk R. F. Aeroponic growth system with nutrient fog stabilization : пат. 5937575 США. – 1999.
180. Zsoldos F., Vashegyi Á., Erdei L. Lack of active K⁺ uptake in aeroponically grown wheat seedlings //Physiologia Plantarum. – 1987. – Т. 71. – №. 3. – С. 359-364.
181. Технологии микроразмножения *in vitro* [Электронный ресурс]: учебно-методическое пособие / С.Н. Тимофеева, Ю.В. Смолькина, Н.В. Апанасова, О.И. Юдакова; Саратов. Гос. Ун-т им. Н.Г.Чернышевского. – Саратов: [б.и.], 2016. – 38 с.: ил., табл. – Библиогр.: с.36 (14 назв.). – Б.ц. URL: http://elibrary.sgu.ru/uch_lit/1791.pdf (дата обращения: 26.04.2019)
182. [Электронный ресурс]. Режим доступа - <https://www.pinterest.ru/amp/pin/517632550902541845/>
183. [Электронный ресурс]. Режим доступа - <https://backwaterbotanics.wordpress.com/2014/05/08/red-raspberry-leaf-rubus-idaeus/>
184. [Электронный ресурс]. Режим доступа - <https://agrostory.com/info-centre/fans/chernaya-malina-kumberlend/>

185. [Электронный ресурс]. Режим доступа - <https://www.ebay.com/itm/Raspberry-FRUIT-exotic-tree-berries-red-rubus-idaeus-edible-berry-seed-25-SEEDS-/361689483541>
186. [Электронный ресурс]. Режим доступа - <http://e.120-bal.ru/doc/4987/index.html?page=29>
187. [Электронный ресурс]. Режим доступа - <https://photos.com/featured/illustration-of-rubus-fruticosus-blackberry-brambleberry-fruit-bearing-tricia-newell.html?product=poster>
188. [Электронный ресурс]. Режим доступа - http://www.aphotoflora.com/d_rubus_fruticosus_bramble_blackberry.html
189. [Электронный ресурс]. Режим доступа - http://en.hortipedia.com/wiki/Rubus_fruticosus
190. [Электронный ресурс]. Режим доступа - <https://www.earth.com/earthpedia/plant/ru/rubus-boraeanus/>
191. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://florapitomnik.ru/magazin/oranzhevoe-chudo.html>
192. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://gardenzia.ru/rubus-fruticosus-black-satin.html>
193. Электронный ресурс. Режим доступа: <http://www.growmir.ru/collection/growplant/product/growplant-120-site>
194. Электронный ресурс. Режим доступа: <https://floragrow.ru/primenenie/primenenie-flora-series/sostav-udobrenny-floraseries.html>

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2791513

Способ адаптации неукорененных микророботов растений разных таксономических групп к нестерильным условиям ex vitro

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева" (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева) (RU)*

Авторы: *Калашикова Елена Анатольевна (RU), Киракосян Рима Нориковна (RU), Гуцин Артем Владиславович (RU), Болотина Елизавета Алексеевна (RU), Буяикова Анна Дмитриевна (RU)*

Заявка № **2022105068**

Приоритет изобретения **25 февраля 2022 г.**

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации **09 марта 2023 г.**

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает **25 февраля 2042 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

документ подписан электронной подписью
Сертификат 6b7b90077e14e40f0ba94edbd24145d5c7
Владленц **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 20.12.2022 по 26.05.2023

Ю.С. Зубов



Лаб-НТ

Адрес: 124482, г.Москва, г.Зеленоград, проезд
Савёлкинский, д.4, пом. XXIV, ком. 9
e-mail: labnt@bk.ru
ОГРН: 1147746652790
ИНН/КПП: 7735602477/773501001

Общество с ограниченной ответственностью

14.11.2022 г.

г. Зеленоград

Акт о внедрении

Разработанная аспирантом РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева Гуциным Артемом Владиславовичем «Установка аэропонная многоярусная «АэроПлюс» прошла испытания внутри нашей организации. Данная установка была принята как базовое оборудование для адаптации микроклонов растений в условиях ex vitro при поставки лабораторий клонального микроразмножения.

Генеральный директор



Паршина О.П.

Исп.
Панченко Станислав
+7 977 747-55-73
info@lab-nt.ru



ПРИЛОЖЕНИЕ 3



АГРО-ИНЖИНИРИНГ
научно-производственное
предприятие

+7 925 808 45 25 email: npp-agro@ya.ru

Адрес местонахождения: РФ, Новгородская область, Валдайский район, г.
Валдай, Комсомольский проспект, дом 15, офис 6

АКТ О ВНЕДРЕНИИ

г. Валдай

Дата: «31» января 2023 года

Разработанная аспирантом РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева Гуциным Артемом Владиславовичем «Установка аэропонная многоярусная «АэроПлюс» была принята для опытной эксплуатации в отделе прогрессивного растениеводства ООО «НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ПРЕДПРИЯТИЯ «АГРО-ИНЖИНИРИНГ».

Генеральный директор



Щербакова Светлана Борисовна