

1.4. Результаты доращивания *ex vitro* растений голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) в контейнерах (С.В.Акимова, И.В.Нечипоренко, П.О.Казаков)

С развитием человеческого общества, технологий хранения, переработки и транспортировки фруктов, ягод и орехов рынок плодово-ягодной продукции постепенно приобретал более широкий характер: от странового к межстрановому, от континентального к межконтинентальному и, наконец, к мировому (Агирбов, 2021).

Голубика высокорослая (*Vaccinium corymbosum* L.) является растением рода *Vaccinium* L. семейства *Ericaceae* Juss, секции *Cyanococcus* и во всём мире считается перспективной ягодной культурой, как в экономическом, так и биологическом отношении. Она обладает высокой питательной ценностью, содержанием витаминов и биологически активных веществ.

По данным Международной организации голубики за период 2016-2020 гг. мировые площади возделывания голубики расширились с 132,56 до 205,67 тысяч гектар, увеличившись на 73,1 тысяч гектар, в основном за счёт увеличения площадей в Китае, Перу, Польше и других регионах. Мировое производство голубики составило в 2020 году - свыше 850 тысяч тонн. При этом лидером производства голубики высокорослой является Северная Америка (57% мирового производства), за ней следуют Южная Америка (23%), Европа (11%) и Азиатско-Тихоокеанский регион (8%) (Smolarz, 2014).

В Российской Федерации по агроклиматическим характеристикам эта ценная ягодная культура подходит для выращивания во многих регионах страны, однако стоит только у истоков внедрения в промышленное производство. Из-за специфических требований к почвенно-климатическим условиям ее введение в культуру сопряжено с проведением дополнительных исследований, корректирующих способы вегетативного размножения и агротехнику возделывания (Рупасова, 2007).

В настоящее время традиционное вегетативное размножение голубики высокорослой одревесневшими и зелёными черенками испытывает трудности

из-за плохой укореняемости, необходимого большого количества маточных растений, их ограниченного сезонного роста побегов. Семенное размножение не применяют, так как в результате перекрестного опыления сеянцы не сохраняют биологических и хозяйственно-ценных свойств исходного растения и не отличаются однородностью.

В последнее время для получения требуемого количества качественного посадочного материала растений рода *Vaccinium* L. эффективно использовать технологию клонального микроразмножения, которая является современным и интенсивным способом бесполого массового размножения растений при помощи культуры тканей. Применение данной технологии также позволяет освободить ткани растений-регенерантов от возбудителей многих болезней, понижающих вегетативную продуктивность и урожайность растений, а реювенилизация организма после культуры *in vitro* усиливает способность к вегетативному размножению и урожайность растений (Акимова, 2019).

Большое количество современных исследований в области клонального микроразмножения посвящено лабораторным экспериментам, однако существует недостаточно сведений, как ведут себя *ex vitro* растения на этапе доращивания, при котором часто отмечают сильнейший стресс, способный вызвать в нестерильных условиях гибель, замедленный рост и *ex vitro* растений (Шубакова, 1991; Gupta, 2017; Акимова, 2019). Доращивание *ex vitro* растений в условиях защищенного грунта в контейнерах имеет ряд преимуществ. Во-первых, увеличивается их приживаемость при пересадке в условия открытого грунта, сокращаются сроки пересадки и сроки получения стандартных саженцев. Во-вторых, высадка на постоянное место посадочного материала с закрытой корневой системой осуществляется в течение всего вегетационного периода, значительно снижаются затраты труда при транспортировке и хранении. В-третьих, выращивание посадочного материала в защищенном грунте препятствует возникновению вредителей, болезней, сорной растительности, что в свою очередь сокращает количество вносимых ядохимикатов (Wright, 1987; Шубакова, Хапаева, 1991; Безух, 1999).

Одним из ключевых моментов акклиматизации и последующей адаптации должно стать – возобновление работы устьичного аппарата, поскольку растения находясь в условиях *in vitro*, находятся в условиях высокой влажности, стабильного питания, и освобождены от внешней инфекции, которая могла способствовать замедлению процессов метаболизма (Hung, 2016; Gupta, 2017).

В экспериментах Hung выявлено преимущество культивирования на этапах мультипликации и ризогенеза *in vitro* растений *Musa sp.*, *Fragaria cv.* «Akihime», *Fragaria x ananassa Duch. cv.* «Camarosa», *Euphobia millii*, *Tripterospermum japonicum*, *Vanilla planifolia Andrews*, *Stevia rebaudiana Betroni var.* «Morita II», *Vaccinium ashei Reade cv.* «Titan», *Vaccinium corymbosum L. cv.* «Huron» под светодиодами по сравнению с флуоресцентными лампами, а также эффективность доращивания *ex vitro* растений при светодиодном освещении (Hung, 2011; Hung, 2016).

Известно, что голубика высокорослая имеет специфическую корневую систему, без корневых волосков и располагающуюся в верхнем слое почвы, где питание растения осуществляется за счёт эндотрофной микоризы. Чтобы растение хорошо росло и развивалось, необходимо направлять все приемы агротехники на создание условий, стимулирующих развитие микоризнообразующих грибов и оптимизировать условия развития многолетних насаждений (Darnell, 1992; Чижик, 2013). *Ex vitro* растения голубики высокорослой при доращивании характеризуются очень медленным ростом и развитием, что может быть вызвано различными причинами, например недостатком питательных веществ, недостаточным уровнем освещённости, неправильно подобранным световым спектром и температурными условиями, что вызывает обгорание листьев, слабый рост и увядание побегов.

Немаловажным является использование определённого субстрата и тары для дальнейшего доращивания *ex vitro* растений. Верховой торф - считается лучшим субстратом для голубики, за счёт того, что он обладает водно- и

воздухоёмкостью для корневой системы, а также необходимой кислотностью субстрата, обеспечивающей жизнедеятельность растений (Kim, 2021).

Кроме этого, в условиях *ex vitro* можно выделить ещё нарушение работоспособности листьев или фотоингибирование, которые развились в условиях *in vitro*, что связано со стрессом, который испытывает листовой аппарат растений при резком изменении условий культивирования (Gupta, Agarwal, 2017). Спектральный состав света также играет немаловажную роль, помимо стимулирования процессов фотосинтеза, он может оказывать положительное влияние на морфометрические показатели развития растений и производство вторичных метаболитов. Многочисленные исследования подтвердили, что спектральное сочетание красного и синего света в различных соотношениях достаточно эффективно для выращивания различных растений в тепличных условиях (Brazaitytė, 2006). Лучшая фотосинтетическая активная реакция у *ex vitro* растений наблюдается при белом и красно-синем спектре света (Error! Reference source not found.2021).

Синий свет эффективен для индукции и накопления у *ex vitro* растений актинидии содержания хлорофилла и отношения углерод-азот (отношение C/N), а также числа пластид замыкающих клеток, тогда как красный свет индуцирует вегетативный рост и рост растений (Xiaoying, 2022).

Поэтому перспективно подбирать оптимальные уровни освещённости и режимы минерального питания, которые помогут избежать подобных проблем и оптимизировать доращивание голубики высокорослой в условиях *ex vitro*. При этом важно преодолеть ограничения органогенеза, которые накладывает применение устаревших технологий управления, как процессами производства посадочного материала, так и выращивания многолетних промышленных насаждений в открытом грунте.

Целью наших исследований было совершенствование способов доращивания *ex vitro* растений голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) в условиях защищенного грунта.

Опыты проводили в 2021-2022 году в Российском государственном аграрном университете – МСХА имени К.А. Тимирязева, в отделах биотехнологии и ягодных культур учебно-научно-производственного центра Садоводства и овощеводства имени В.И. Эдельштейна.

Объектами исследований служили *ex vitro* растения голубики высокорослой сорта Brigitta Blue.

Высадку опытных адаптированных растений голубики I декаде апреля осуществляли в контейнеры объёмом 0,5 л в торфяной субстрат «Veltorf» с кислотностью не менее pH 3,5-4, в который по вариантам добавляли минеральные удобрения: $N_{16}P_{16}K_{16}$ в дозах 0,2 и 0,4 г/л, $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ в дозах 0,2 и 0,4 г/л, контроль без удобрений.

Растения размещали в условиях с различным видом освещённости: под светодиодными фитолампами (UnionPowerStar - 40W-T) с фотопериодом 16 часов и при естественном освещении (без использования дополнительного освещения).

Учёт морфометрических показателей развития *ex vitro* растений проводили 4 раза, через каждые две недели. При этом учитывали: количество побегов (0-го, 1-го порядков ветвления), суммарную длину побегов, площадь листовой поверхности.

Повторность опытов трёхкратная, по 25 растений в одной повторности. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по методике Исачкина А.В. в виде средних значений (M) с указанием стандартного отклонения ($\pm SD$) с помощью Microsoft Office Excel 2007.

В результате наблюдений было установлено, что вид освещения и вид удобрений достоверно влияют на рост и развитие *ex vitro* растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue, как отдельно, так и при взаимодействии между собой. На 14-й день доращивания при первом учёте показателей развития *ex vitro* растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue достоверные различия с контролем выявлены в вариантах с фитоосвещением (UnionPowerStar - 40W-T) вариантах $N_{16}P_{16}K_{16}$ в дозе 0,4 г/л и $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ в

дозе 0,2 г/л, так, средняя суммарная длина побегов составила $12,7 \pm 1,80 - 16,4 \pm 6,73$ см против $8,5 \pm 1,35$ см в контроле без удобрений, а площадь листовой поверхности – $7,9 \pm 2,15 - 13,0 \pm 5,80$ см², против $3,6 \pm 1,11$ см² в контроле без удобрений.

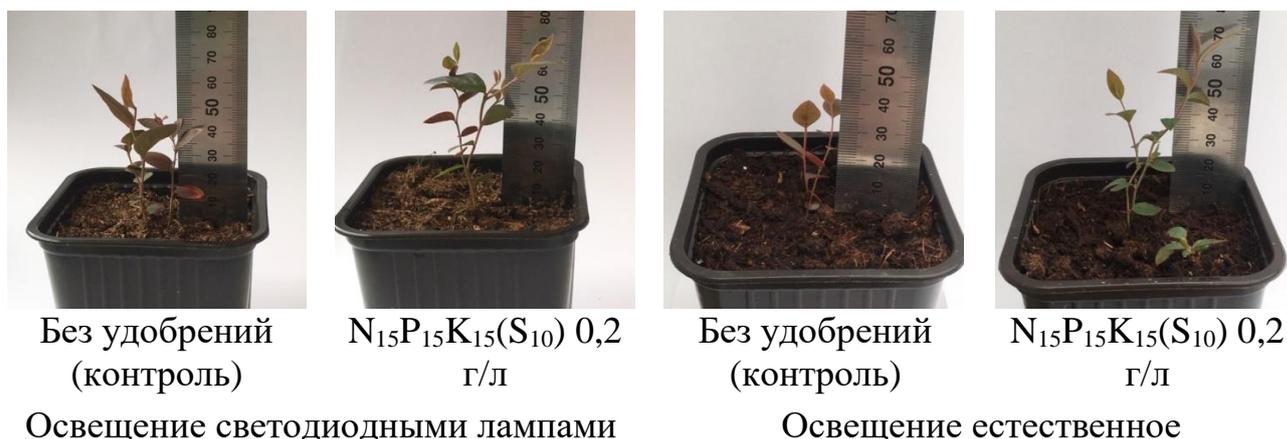
В условиях естественной освещённости достоверное различие с контролем по среднему количеству побегов 1-го порядка выявлено только в варианте $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ в дозе 0,4 г/л, где этот показатель составил $3,2 \pm 1,6$ шт. против 0 шт. в контроле (Таблица 1.10, рисунок 2.1).

Таблица 1.10

Морфометрические показатели развития *ex vitro* растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue на 14-й день доращивания

Варианты	Среднее количество побегов 0-го порядка, шт., $M \pm SD$	Среднее количество побегов 1-го порядка, шт. $M \pm SD$	Суммарная длина побегов, см, $M \pm SD$	Площадь листовой поверхности, см ² , $M \pm SD$
Освещение светодиодными лампами (UnionPowerStar - 40W-T)				
Контроль (б/у)	$2,2 \pm 0,45$	$0,2 \pm 0,00$	$8,5 \pm 1,35$	$3,6 \pm 1,11$
$N_{16}P_{16}K_{16} 0,2$	$2,4 \pm 0,55$	$0,8 \pm 0,58$	$8,3 \pm 1,00$	$5,0 \pm 1,79$
$N_{16}P_{16}K_{16} 0,4$	$3,2 \pm 0,84$	$1,2 \pm 0,58$	$12,7 \pm 1,80^b$	$7,9 \pm 2,15^b$
$N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10}) 0,2$	$3,2 \pm 1,10$	$1,2 \pm 2,83$	$16,4 \pm 6,73^{b, ab}$	$13,0 \pm 5,80^{b, ab}$
$N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10}) 0,4$	$2,8 \pm 0,84$	$0,4 \pm 0,00$	$13,0 \pm 2,31^b$	$5,2 \pm 2,02$
Освещение естественное				
Контроль (б/у)	$3,0 \pm 1,41$	0	$11,8 \pm 4,93$	$9,2 \pm 5,53$
$N_{16}P_{16}K_{16} 0,2$	$2,4 \pm 0,55$	$0,6 \pm 0,71$	$11,3 \pm 1,52$	$5,6 \pm 1,60$
$N_{16}P_{16}K_{16} 0,4$	$2,8 \pm 0,84$	$0,8 \pm 0,00$	$11,9 \pm 2,01$	$5,1 \pm 1,68$
$N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10}) 0,2$	$2,8 \pm 0,45$	0	$11,2 \pm 1,71$	$4,8 \pm 0,55$
$N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10}) 0,4$	$3,0 \pm 0,71$	$3,2 \pm 2,16^{ab}$	$13,9 \pm 0,63$	$3,8 \pm 2,01$
НСР 05 (фактор А)	$F\phi < F_T$	$F\phi < F_T$	$F\phi < F_T$	$F\phi < F_T$
НСР 05 (фактор В)	$F\phi < F_T$	$F\phi < F_T$	3,8	3,7
НСР 05 (фактор АВ)	$F\phi < F_T$	2,8	6,3	6,2

Примечание: наименьшая существенная разница (НСР) $P < 0,05$ была рассчитана с помощью двухфакторного дисперсионного анализа: где, * - результаты выражены как среднее значение (M) \pm стандартное отклонение (SD); ** - «a, b, ab» - разница между средними с контролем достоверна на основе сравнения разницы между средними с НСР на 5 % уровне значимости: «a» - по фактору а (освещение), «b» - по фактору b (тип удобрения), «ab» - при взаимодействии факторов; *** - « $F\phi < F_T$ » - F фактическое $<$ F теоретическое, не доказана разница между средними с НСР на 5 % уровне значимости.



Без удобрений
(контроль)

$N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ 0,2
г/л

Без удобрений
(контроль)

$N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ 0,2
г/л

Освещение светодиодными лампами

Освещение естественное

Рисунок 1.4. - Внешний вид ex vitro растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue на 14 день доращивания

При втором учёте на 28-й день наблюдений, наблюдается преимущество ранее выделенных вариантов в условиях светодиодного фитоосвещения (UnionPowerStar - 40W-T) - $N_{16}P_{16}K_{16}$ в дозе 0,4 г/л и $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ в дозах 0,2 г/л и 0,4 г/л.

Помимо этого, в условиях естественного освещения (фактор а) достоверно повлияли на количество побегов 1-го порядка все варианты опыта ($2,8 \pm 2,87$ - $3,2 \pm 1,64$ шт. против $0 \pm 0,00$ шт. в контроле). Также выявлено достоверное влияние вида удобрения (фактор b) в варианте $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ в дозе 0,4 г/л на суммарную длину побегов ($23,4 \pm 5,53$ см против $14,5 \pm 7,17$ см в контроле), а также площади листовой поверхности ($26,9 \pm 17,40$ см², против $11,3 \pm 4,55$ см² в контроле) (Таблица 1.11).

При третьем учёте на 42-й день доращивания саженцев голубики высокорослой в контейнерах сохранилось преимущество ранее выделенных вариантов в условиях светодиодного фитоосвещения (UnionPowerStar - 40W-T) $N_{16}P_{16}K_{16}$ в дозе 0,4 г/л и $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ в дозе 0,2 г/л. При этом, условия освещённости (фактор а) достоверно повлияли только на количество побегов 1-го порядка ветвления, которое соответственно составило $2,6 \pm 2,51$ - $3,4 \pm 1,34$ шт. по сравнению с $1,0 \pm 0,50$ шт. в контроле без удобрений. Вид удобрений (фактор b) и взаимодействие факторов (ab) достоверно повлияло на суммарную длину побегов ($37,7 \pm 8,73$ - $45,6 \pm 8,49$ см против $15,4 \pm 2,45$ см в контроле) и площадь

листовой поверхности ($65,0 \pm 20,60$ - $70,6 \pm 16,87$ см² против $12,2 \pm 3,50$ см² в контроле).

Таблица 1.11

Морфометрические показатели развития *ex vitro* растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue на 28-й день доращивания

Варианты	Среднее количество побегов 0-го порядка, шт., $M \pm SD$	Среднее количество побегов 1-го порядка, шт., $M \pm SD$	Суммарная длина побегов, см, $M \pm SD$	Площадь листовой поверхности, см ² , $M \pm SD$
Освещение светодиодными лампами (UnionPowerStar - 40W-T)				
Контроль (б/у)	$2,4 \pm 0,55$	$1,0 \pm 0,00$	$10,4 \pm 0,93$	$6,6 \pm 2,61$
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,2	$2,6 \pm 0,55$	$1,7 \pm 0,58$	$16,1 \pm 4,64$	$18,3 \pm 9,80$
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,4	$3,2 \pm 0,84$	$2,0 \pm 0,71$	$26,0 \pm 4,09^{b,ab}$	$26,0 \pm 15,29^b$
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,2	$3,2 \pm 1,22$	$2,0 \pm 1,22$	$25,0 \pm 9,02^{b,ab}$	$35,5 \pm 10,64^{b,ab}$
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,4	$2,8 \pm 0,84$	$1,5 \pm 0,58$	$18,5 \pm 4,48^b$	$20,2 \pm 4,54^b$
Освещение естественное				
Контроль (б/у)	$3,0 \pm 1,41$	$0,0 \pm 0,00$	$14,5 \pm 7,17$	$11,3 \pm 4,55$
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,2	$2,6 \pm 0,55$	$3,0 \pm 1,58^b$	$20,3 \pm 4,24$	$21,6 \pm 6,67$
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,4	$2,8 \pm 0,84$	$2,0 \pm 1,15^b$	$17,9 \pm 6,01$	$16,7 \pm 7,22$
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,2	$2,8 \pm 0,55$	$2,8 \pm 2,87^b$	$14,7 \pm 2,28$	$10,3 \pm 2,71$
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,4	$3,0 \pm 0,84$	$3,2 \pm 1,64^b$	$23,4 \pm 5,53^b$	$26,9 \pm 17,40^b$
НСР 05 (фактор А)	F ϕ <F _T	F ϕ <F _T	F ϕ <F _T	F ϕ <F _T
НСР 05 (фактор В)	F ϕ <F _T	1,7	6,7	12,0
НСР 05 (фактор АВ)	F ϕ <F _T	F ϕ <F _T	11,2	19,9

Примечание: наименьшая существенная разница (НСР) $P < 0.05$ была рассчитана с помощью двухфакторного дисперсионного анализа: где, * - результаты выражены как среднее значение (M) \pm стандартное отклонение (SD); ** - «a, b, ab» - разница между средними с контролем достоверна на основе сравнения разницы между средними с НСР на 5 % уровне значимости: «a» - по фактору а (освещение), «b» - по фактору b (тип удобрения), «ab» - при взаимодействии факторов; *** - «F ϕ <F_T» - F фактическое < F теоретическое, не доказана разница между средними с НСР на 5 % уровне значимости.

При доращивании в теплице при естественном освещении выявлено преимущество вариантов N₁₆P₁₆K₁₆ в дозах 0,2 и 0,4 г/л, N₁₅P₁₅K₁₅(S₁₀) в дозе 0,4 г/л, в которых число побегов 1-го порядка ветвления составило $3,8 \pm 5,56$ - $7,2 \pm 1,79$ шт. по сравнению с $0,6 \pm 0,00$ шт. в контроле. А также выявлено достоверное влияние минерального питания (фактор b) и взаимодействие факторов (ab) на суммарную длину побегов ($38,1 \pm 13,12$ - $43,2 \pm 13,79$ см против

16,1±8,43 см в контроле) и площадь листовой поверхности (49,7±28,51 - 60,2±19,30 см² против 9,0±5,66 см² в контроле) (Таблица 1.12).

Таблица 1.12

Морфометрические показатели развития *ex vitro* растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue на 42-й день доращивания

Варианты	Среднее количество побегов 0-го порядка, шт., $M \pm SD$	Среднее количество побегов 1-го порядка, шт., $M \pm SD$	Суммарная длина побегов, см, $M \pm SD$	Площадь листовой поверхности, см ² , $M \pm SD$
Освещение светодиодными лампами (UnionPowerStar - 40W-T)				
Контроль (б/у)	2,6 ± 0,55	1,0 ± 0,50	15,4 ± 2,45	12,2 ± 3,50
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,2	2,6 ± 0,55	2,2 ± 1,30	27,0 ± 9,26	42,4 ± 19,45 ^b
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,4	3,2 ± 0,84	3,4 ± 1,34 ^a	45,6 ± 8,49 ^{b,ab}	70,6 ± 16,87 ^{b,ab}
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,2	3,2 ± 1,22	2,6 ± 2,51 ^a	37,7 ± 8,73 ^{b,ab}	65,0 ± 20,60 ^{b,ab}
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,4	2,8 ± 0,84	3,0 ± 2,00 ^a	32,7 ± 7,90 ^b	48,9 ± 15,48 ^b
Освещение естественное				
Контроль (б/у)	3,0 ± 1,41	0,6 ± 0,00	16,1 ± 8,43	9,0 ± 5,66
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,2	2,6 ± 0,55	4,6 ± 1,52 ^{a, b}	40,2 ± 10,42 ^{b,ab}	60,2 ± 19,30 ^{b,ab}
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,4	3,0 ± 0,71	3,2 ± 1,30	38,1 ± 13,12 ^{b,ab}	58,9 ± 34,89 ^{b,ab}
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,2	2,8 ± 0,55	3,8 ± 5,56 ^{a, b}	26,3 ± 10,02	22,2 ± 5,28
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,4	3,0 ± 0,71	7,2 ± 1,79 ^{a, b}	43,2 ± 13,79 ^{b, ab}	49,7 ± 28,51 ^b
НСР 05 (фактор А)	Fф<F _T	1,3	Fф<F _T	Fф<F _T
НСР 05 (фактор В)	Fф<F _T	2,8	12,3	24,7
НСР 05 (фактор АВ)	Fф<F _T	Fф<F _T	20,4	41,0

Примечание: наименьшая существенная разница (НСР) P<0.05 была рассчитана с помощью двухфакторного дисперсионного анализа: где, * - результаты выражены как среднее значение (M) ± стандартное отклонение (SD); ** - «a, b, ab» - разница между средними с контролем достоверна на основе сравнения разницы между средними с НСР на 5 % уровне значимости: «a» - по фактору а (освещение), «b» - по фактору b (тип удобрения), «ab» - при взаимодействии факторов; *** - «Fф<F_T» - F фактическое < F теоретическое, не доказана разница между средними с НСР на 5 % уровне значимости.

При четвёртом учёте на 56-й день наблюдений саженцев голубики высокорослой в контейнерах сохраняется преимущество ранее выделенных вариантов в условиях светодиодного фитоосвещения (UnionPowerStar - 40W-T) N₁₆P₁₆K₁₆ в дозе 0,4 г/л, N₁₅P₁₅K₁₅(S₁₀) в дозе 0,2 г/л, а также N₁₆P₁₆K₁₆ в дозе 0,2 г/л. Однако в этот раз не наблюдается влияния освещённости (фактор а) на количество побегов 0-го, 1-го и 2-го порядков ветвления. Вид удобрений (фактор b) и взаимодействие факторов (ab) достоверно повлияло на суммарную

длину побегов ($47,2 \pm 8,04$ - $69,0 \pm 11,60$ см против $29,3 \pm 5,28$ см в контроле) и площадь листовой поверхности ($127,1 \pm 41,85$ - $191,6 \pm 50,80$ см² против $56,1 \pm 22,50$ см² в контроле).

При четвёртом учёте на 56-й день наблюдений саженцев голубики высокорослой в контейнерах сохраняется преимущество ранее выделенных вариантов в условиях светодиодного фитоосвещения (UnionPowerStar - 40W-T) N₁₆P₁₆K₁₆ в дозе 0,4 г/л, N₁₅P₁₅K₁₅(S₁₀) в дозе 0,2 г/л, а также N₁₆P₁₆K₁₆ в дозе 0,2 г/л. Однако в этот раз не наблюдается влияния освещённости (фактор а) на количество побегов 0-го, 1-го и 2-го порядков ветвления. Вид удобрений (фактор b) и взаимодействие факторов (ab) достоверно повлияло на суммарную длину побегов ($47,2 \pm 8,04$ - $69,0 \pm 11,60$ см против $29,3 \pm 5,28$ см в контроле) и площадь листовой поверхности ($127,1 \pm 41,85$ - $191,6 \pm 50,80$ см² против $56,1 \pm 22,50$ см² в контроле).

При естественном освещении выявлено преимущество варианта N₁₅P₁₅K₁₅(S₁₀) в дозе 0,4 г/л, где число побегов 1-го порядка ветвления составило $7,6 \pm 2,19$ шт. по сравнению с $1,0 \pm 0,00$ шт. в контроле. Также выявлено достоверное влияние вида обработки (фактор b) и взаимодействия факторов (ab) на суммарную длину побегов ($40,5 \pm 15,99$ - $67,9 \pm 16,98$ см против $19,0 \pm 7,84$ см в контроле) и площадь листовой поверхности ($61,1 \pm 25,53$ - $128,5 \pm 22,55$ см² против $11,2 \pm 7,05$ см² в контроле) (Таблица 1.13, рисунок 2.2).

На 56-й день доращивания при помощи прибора N-tester SPAD 502 Plus Chlorophyll Meter мы определяли индексы относительного содержания хлорофилла в опытных растениях голубики высокорослой, так как уровень содержания хлорофилла является показателем степени вызревания и здоровья растений.

Лучшие достоверные результаты были получены в вариантах со светодиодным фитоосвещением (UnionPowerStar - 40W-T) и применением

Морфометрические показатели развития *ex vitro* растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue на 56-й день доращивания

Варианты	Среднее количество побегов 0-го порядка, шт., $M \pm SD$	Среднее количество побегов 1-го порядка, шт. $M \pm SD$	Суммарная длина побегов, см, $M \pm SD$	Площадь листовой поверхности, см ² , $M \pm SD$
Освещение светодиодными лампами (UnionPowerStar - 40W-T)				
Контроль (б/у)	2,6 ± 0,55	2,0 ± 0,71	29,3 ± 5,28	56,1 ± 22,50
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,2	2,6 ± 0,55	2,6 ± 1,14	47,8 ± 18,92 ^b	151,8 ± 65,76 ^{a,b}
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,4	3,2 ± 0,84	4,2 ± 1,48	69,0 ± 11,60 ^{b,ab}	191,6 ± 50,80 ^{a,b}
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,2	3,2 ± 1,22	3,4 ± 2,70	56,9 ± 7,09 ^{b,ab}	135,5 ± 6,63 ^{a,b}
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,4	3,0 ± 1,00	3,0 ± 2,00	47,2 ± 8,04 ^b	127,1 ± 41,85 ^{a,b}
Освещение естественное				
Контроль (б/у)	3,0 ± 1,30	1,0 ± 0,00	19,0 ± 7,84	11,2 ± 7,05
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,2	2,8 ± 0,84	4,6 ± 1,52	61,8 ± 15,73 ^{b,ab}	128,5 ± 22,55 ^{a,b}
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆ 0,4	3,0 ± 0,89	3,8 ± 1,64	58,1 ± 14,91 ^{b,ab}	122,8 ± 80,72 ^{a,b}
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,2	2,8 ± 0,55	4,8 ± 5,56	40,5 ± 15,99 ^b	61,1 ± 25,53 ^a
N ₁₅ P ₁₅ K ₁₅ (S ₁₀) 0,4	3,0 ± 0,71	7,6 ± 2,19 ^b	67,9 ± 16,98 ^{b,ab}	103,0 ± 48,39 ^{a,b}
НСР 05 (фактор А)	F _ф <F _т	F _ф <F _т	F _ф <F _т	25,5
НСР 05 (фактор В)	F _ф <F _т	2,9	16,5	55,5
НСР 05 (фактор АВ)	F _ф <F _т	F _ф <F _т	27,5	F _ф <F _т

Примечание: наименьшая существенная разница (НСР) $P < 0.05$ была рассчитана с помощью двухфакторного дисперсионного анализа: где, * - результаты выражены как среднее значение (M) ± стандартное отклонение (SD); ** - «a, b, ab» - разница между средними с контролем достоверна на основе сравнения разницы между средними с НСР на 5 % уровне значимости: «a» - по фактору a (освещение), «b» - по фактору b (тип удобрения), «ab» - при взаимодействии факторов; *** - «F_ф<F_т» - F фактическое < F теоретическое, не доказана разница между средними с НСР на 5 % уровне значимости.



Без удобрений
(контроль)

Освещение светодиодными лампами



N₁₆P₁₆K₁₆ 0,4 г/л



Без удобрений
(контроль)

Освещение естественное



N₁₆P₁₆K₁₆ 0,4 г/л

Рисунок 1.5. - Внешний вид *ex vitro* растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue на 56 день доращивания

удобрений $N_{16}P_{16}K_{16}$ в дозе 0,2 г/л, $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ в дозах 0,2 и 0,4 г/л, где индексы относительного содержания хлорофилла составили $378,3 \pm 35,91$ - $452,7 \pm 27,93$ по сравнению с $333,7 \pm 12,68$ в контроле.

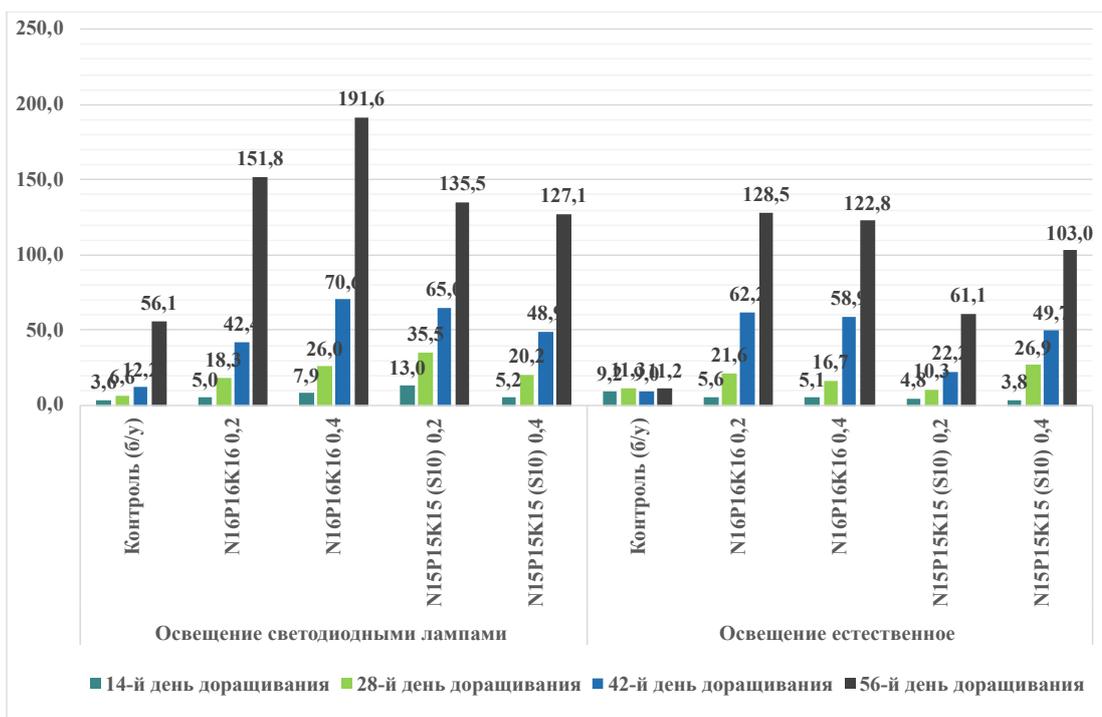
В условиях естественного освещения, результаты в целом уступали вариантам с фитоосвещением, однако достоверные различия с контролем получены во всех опытных вариантах и индексы относительного содержания хлорофилла составили $331,0 \pm 46,07$ - $426,0 \pm 25,96$ по сравнению с $273,3 \pm 10,14$ в контроле (Таблица 1.14).

Таблица 1.14

Индексы относительного содержания хлорофилла в листьях голубики высокорослой сорта Brigitta Blue на 56-й день доращивания

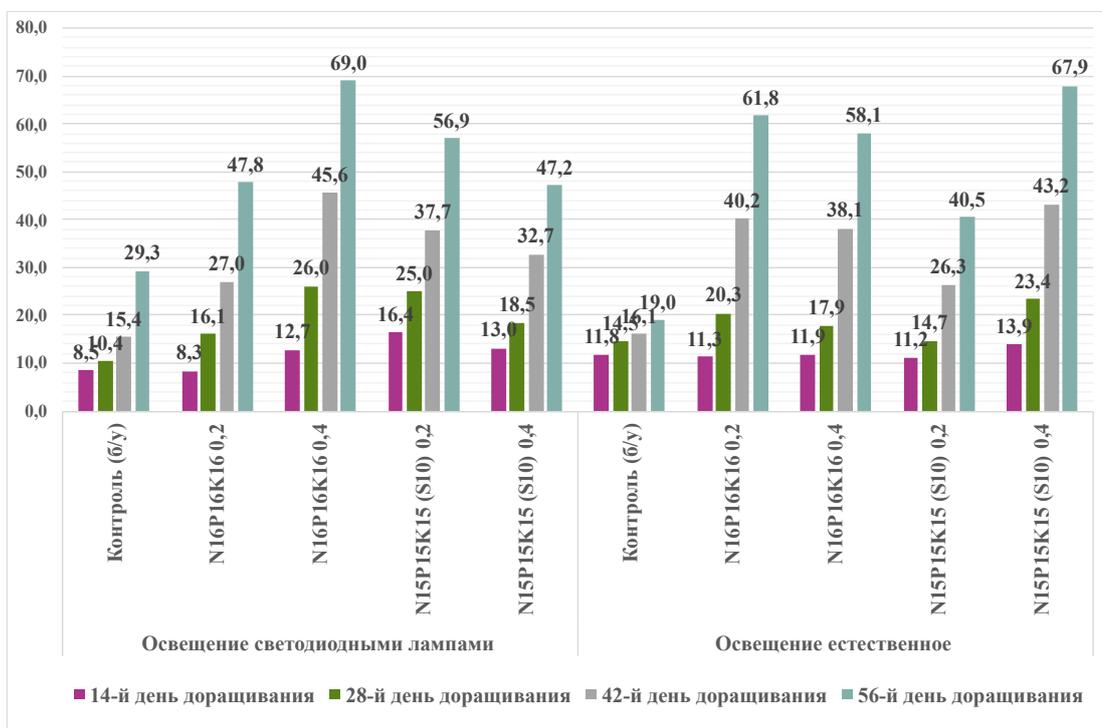
Вид удобрений (Фактор В)	Освещение (Фактор А)		Среднее по фактору В (НСР ₀₅ b = 59,4)
	Освещение естественное	Освещение светодиодными лампами	
Контроль (б/у)	$273,3 \pm 10,14$	$333,7 \pm 12,68$	353,5
$N_{16}P_{16}K_{16}$ 0,2	$33,0 \pm 46,07^a$	$414,3 \pm 38,31^{a,b}$	372,6
$N_{16}P_{16}K_{16}$ 0,4	$391,3 \pm 30,92^{a,b,ab}$	$343,7 \pm 4,71$	367,5
$N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ 0,2	$426,0 \pm 25,96^{a,b,ab}$	$378,3 \pm 35,91^a$	402,1
$N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ 0,4	$365,3 \pm 20,42^{a,b}$	$452,7 \pm 27,93^{a,b,ab}$	409,0
Среднее по фактору А (НСР ₀₅ a = 26,8)	357,4	384,5	
НСР ₀₅ ab = 100,0			

Примечание: наименьшая существенная разница (НСР) $P < 0.05$ была рассчитана с помощью двухфакторного дисперсионного анализа: где, * - результаты выражены как среднее значение (M) \pm стандартное отклонение (SD); ** - «a, b, ab» - разница между средними с контролем достоверна на основе сравнения разниц между средними с НСР на 5 % уровне значимости: «a» - по фактору а (освещение), «b» - по фактору b (тип удобрения), «ab» - при взаимодействии факторов.



Суммарная длина побегов, см

Рисунок 1.6. – Показатели развития ex vitro растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue в период доращивания



Суммарная площадь листовой поверхности, см²

Рисунок 1.7. – Показатели развития ex vitro растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue в период доращивания.

В целом, можно сказать, что светодиодное фитоосвещение оказывает положительное влияние на развитие растений этапах доращивания *ex vitro* растений в контейнерах (рис. 2.3, 2.4).

Устаревшие технологии управления процессом выращивания посадочного материала неблагоприятно влияют на развитие растений и не позволяют в полной мере реализовать биологический потенциал продуктивности.

В настоящее время в технологии клонального микроразмножения одной из основных проблем является то, что большой процент размноженных растений может быть потерян или поврежден на стадии акклиматизации к нестерильным условиям и доращивания. Известно, что *in vitro* растения развиваются в условиях, которые характеризуются высокой влажностью, стабильным питанием, свободой от внешней инфекции, контролируемой температурой и фотопериодом. В результате гетеротрофное питание *in vitro* растений приводит к полной или частичной потере способности листового аппарата к активному фотосинтезу, а их корни микрорастений часто лишены корневых волосков, что связано с недостатком кислорода и затрудняет поглощение воды и минеральных солей (Sutter, 1984).

Период адаптации включает в себя, как минимум четыре параллельно проходящих процесса: адаптацию ассимилирующего аппарата к пониженной влажности воздуха и к новой инфекционной нагрузке, адаптацию придаточных корней к субстрату и почвенной микрофлоре. Главной задачей является достижение функциональности корневой системы при сохранении влажности воздуха близкой к 100% в зоне надземной части при относительной стерильности субстрата. Основным критерием приживаемости микрорастений является начало роста надземной системы, который свидетельствует об адаптации корневой системы к условиям нового субстрата, что чаще всего занимает 2-3 недели (Wallace, 2021).

Использование дополнительного освещения в условиях культивационных сооружений широко используется уже более века с целью ускорения роста и развития растений (Tarakanov, 2012; Wallace, 2021; Paradiso, 2022).

В течение последних нескольких десятилетий технология светоизлучающих диодов (светодиодов) (LED) всё чаще используется для освещения в садоводстве, благодаря своей экономичности и удобства использования (Кирилович, 2021; Paradiso, 2022). Более того, использование таких осветительных приборов обусловлено более длительным сроком эксплуатации, чем использование люминесцентных ламп, имеющих довольно-таки короткий срок службы (Bickford, 1972; Nelson, 2014).

Фактически успех регенерации *ex vitro* растений оценивается по их способности давать новые побеги, способные приспособиться к новым условиям культивирования. Освещение в условиях *ex vitro* играет важную роль в развитии фотосинтетической способности растений. Было обнаружено, что использование светодиодов в качестве источника света во время развития микрорастений *in vitro*, а также и в последующих этапах адаптации и постадаптации увеличивает скорость развития растений (Hung, 2011; Hung, 2016; Gupta, 2017).

Многочисленные исследования подтвердили, что спектральное сочетание красного и синего света в различных соотношениях достаточно эффективно для выращивания различных растений в тепличных условиях (Brazaitytė, 2006). Причём реакция растений на качество света различалась в зависимости от сорта (Кирилович, 2021).

Известно, что *ex vitro* растения голубики высокорослой при доращивании в условиях защищённого грунта в контейнерах после этапа адаптации к нестерильным условиям, характеризуются очень медленным ростом и развитием (378). Это может быть вызвано различными причинами, например, недостатком питательных веществ, недостаточным уровнем освещённости, неправильно подобранным световым спектром и температурными условиями.

Наши исследования подтвердили высокую эффективность фитоосвещения светодиодными фитолампами (UnionPowerStar - 40W-T) с фотопериодом 16/8 часов на начальных этапах доращивания (до 56-го дня культивирования) *ex vitro* растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue в малообъемных контейнерах (0,5 л).

Помимо этого, известно, что на рост и развитие *ex vitro* растений в контейнерах влияют концентрация и соотношение питательных веществ (Wright, 1987). При доращивании *ex vitro* растений важно обеспечить равномерное поступление макро- и микроэлементов в настолько низких концентрациях, насколько это возможно, чтобы корни молодых растений были совместимы со скоростью поглощения элементов питания в зависимости от объёма субстрата в контейнере, а также для поддержания кислотности почвенного субстрата (Гримашевич, 1990).

При избытке минеральных удобрений у растений голубики замедляется рост. Развитие и уменьшается зимостойкость надземной системы. Высокие дозы азота могут приводить к чрезмерному росту вегетативной массы, увеличению вегетационного периода, что может сказаться на состоянии посадочного материала. При доращивании *ex vitro* растений в контейнерах необходимо также учитывать чувствительность саженцев голубики высокорослой к малообъемному питанию корневой системы и не допускать повышенного содержания фосфора, так как при повышенных значениях он препятствует усвоению железа. В то же время, можно управлять корневой системой за счёт размера контейнера, так как меньший контейнер способен ограничить рост надземной системы из-за замедления развития корневой системы (65; Kim, 2021).

Высокие дозы удобрений способны увеличивать количество хлорофилла в листьях (Esposti, 2003). Обнаружено, что от 50 до 70% азота в листьях связано с ферментами, присутствующими в хлоропластах, что указывает на прямую связь между содержанием азота и хлорофилла (Esposti, 2003). Кроме этого, содержание хлорофилла имеет решающее значение для эффективности

фотосинтеза и, следовательно, адаптации к различным условиям и получению саженцев лучшего качества.

В наших исследованиях установлено, что на 56-й день доращивания во всех вариантах эксперимента, независимо от источника освещения, применения различных удобрений и их концентраций (за исключением $N_{16}P_{16}K_{16}$ в концентрации 0,4 г/л при LED), выявлены достоверные различия с контролем по индексам относительного содержания хлорофилла. В вариантах со светодиодным фитоосвещением лучшие достоверные результаты были получены при применении $N_{16}P_{16}K_{16}$ (0,2 г/л), $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ (0,4 г/л), где индексы относительного содержания хлорофилла составили $414,3 \pm 38,31$ - $452,7 \pm 27,93$ по сравнению с $333,7 \pm 12,68$ в контроле; в вариантах с естественным освещением при использовании удобрения $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ (0,2 г/л) индексы относительного содержания хлорофилла составили $426,0 \pm 25,96$ по сравнению с $273,3 \pm 10,14$ в контроле.

Дозы минеральных удобрений для *ex vitro* растений голубики высокорослой зависят от используемого субстрата, фазы развития растений и вида удобрений. Наиболее высокий эффект наблюдается при использовании комплексных минеральных удобрений, причём они могут оказывать положительное влияние на рост и развитие как саженцев, так и плодоносящих растений голубики высокорослой (Szwonek, 2009).

В результате наших исследований выявлено, что светодиодное фитоосвещение оказывает положительное влияние на развитие *ex vitro* растений голубики высокорослой сорта Brigitta Blue только на начальных этапах доращивания в контейнерах объемом 0,5 литров. До 56-го дня доращивания эффективно в качестве источника освещения применять светодиодные фитолампы и вносить в субстрат минеральные удобрения $N_{16}P_{16}K_{16}$ (0,2 и 0,4 г/л) и $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ (0,2 г/л).

В результате исследований выявлено, что светодиодное фитоосвещение оказывает положительное влияние на развитие растений только на начальных этапах доращивания *ex vitro* растений голубики высокорослой сорта Brigitta

Blue в контейнерах (0,5л). Установлено, что до 56-го дня культивирования эффективно в качестве источника освещения применять светодиодные фитолампы (UnionPowerStar - 40W-T) с фотопериодом 16/8 часов, и вносить в субстрат минеральные удобрения $N_{16}P_{16}K_{16}$ (0,2 и 0,4 г/л) и $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ (0,2 г/л).

На 56-й день культивирования во всех вариантах эксперимента с применением различных концентраций удобрений, независимо от источника освещения (за исключением $N_{16}P_{16}K_{16}$ в дозе 0,4 г/л при LED) выявлены достоверные различия с контролем по индексам относительного содержания хлорофилла. В вариантах со светодиодным фитоосвещением лучшие достоверные результаты были получены при применении $N_{16}P_{16}K_{16}$ (0,2 г/л), $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ (0,4 г/л), где индексы относительного содержания хлорофилла составили $414,3 \pm 38,31$ - $452,7 \pm 27,93$ по сравнению с $333,7 \pm 12,68$ в контроле; в вариантах с естественным освещением при использовании удобрения $N_{15}P_{15}K_{15}(S_{10})$ (0,2 г/л) индексы относительного содержания хлорофилла составили $426,0 \pm 25,96$ по сравнению с $273,3 \pm 10,14$ в контроле.

1.5. Введение в культуру in vitro винограда межвидового происхождения (С.В.Акимова, В.В.Киркач, А.К.Раджабов, М.Б.Панова, Г.Э.Тер-Петросянц)

В средней полосе России виноград культивируется сравнительно недавно, так как довольно долгое время эта культура считалась неперспективной для погодных условий Нечерноземной зоны. Распространению культуры способствовало появление новых столовых сортов с коротким периодом вегетации, плоды которых успевают созреть за сравнительно короткое лето и дать высокий урожай с хорошим качеством ягод (Акимова, 2018; Федоров, 2019).

В 2020 году в Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию для возделывания в Центральном регионе РФ рекомендовано 54 сорта винограда, разнообразных по урожайности, формам,