

На правах рукописи

ГУЩИН АРТЕМ ВЛАДИСЛАВОВИЧ

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

Специальность 1.5.6 – Биотехнология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2023

Диссертация выполнена на кафедре биотехнологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Научный руководитель: **Киракосян Рима Нориковна**, доцент, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Официальные оппоненты: **Заушинцева Александра Васильевна**, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры экологии и природопользования ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»

Князева Инна Валерьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории исследований технологических свойств сельскохозяйственных материалов ФГБНУ «Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ»

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»

Защита состоится «30» ноября 2023 года в 15:00 час. на заседании диссертационного совета 35.2.030.09, созданного на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» по адресу: 127434, г. Москва, ул. Прянишникова, д. 19, тел: 8 (499) 976-17-14.

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

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке им. Н.И. Железнова ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» и на сайте www.timacad.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

И.о. ученого секретаря
диссертационного совета 35.2.030.09,
доктор сельскохозяйственных наук, доцент

И.И.Дмитревская

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследований. 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. 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 малоэффективными. Это, прежде всего, связано с трудностями адаптации микроклонов к условиям *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., которые призваны повысить производительность и экономическую эффективность основной технологии клонального микроразмножения растений, за счёт уменьшения издержек на создание лабораторной инфраструктуры и сокращения сроков культивирования клоновых растений.

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

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.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования служили микроклоны, полученные *in vitro*: малина (сорт Оранжевое чудо), ежевика (сорт Black satin), виноград (сорта 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), хризантема (сорт Бакарди, Корейская Зорька и Белоснежка)), микроклоны *Mentha piperita* L. и *Melissa officinalis* L., микроклоны *Hedyotis salzmannii* семейства Мареновые и *Alternanthera reineckii* семейства Амарантовые. Первичным эксплантом для

получения микроклонов служили пазушные или верхушечные почки, а для хризантемы – язычковые лепестки.

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).

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). Все микроклоны культивировали на модифицированной питательной среде Мурасига и Скуга (МС), содержащую в различных соотношениях ауксины и цитокинины.

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

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. Питательный раствор содержал макро- и микросоли $\frac{1}{2}$ концентрации по прописи МС, а также ИМК или ИУК в концентрации 0,5 мг/л.

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 ($\text{NH}_4 + \text{NO}_3$) - не менее 240, фосфор (P_2O_5) - не менее 290, калий (K_2O) - не менее 330.

Адаптацию водных растений проводили в условиях аквариума с постоянной подачей кислорода.

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:

$$I = \frac{X_{\max} - X_0}{X_0}, \quad \mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1},$$

где X_{max} и X_0 – максимальное и начальное значения высоты побегов или длины корней, см. X_2 и X_1 – высота побега/длина корневой системы (см), в моменты времени t_2 и t_1 , сут⁻¹, соответственно.

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).

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).

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 $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

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

Адаптация к условиям ex vitro микроклонов плодово-ягодных культур

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.

Установлено, что в условиях аэропоники жизнеспособность микроклонов составила 98-100%. Кроме того, наблюдали активный рост

побегов и корней, морфометрические показатели которых зависели от размера микроклона перед адаптации. Экспериментально установлено, что для малины максимальное увеличение длины надземной части в 3,7 раза и корневой системы в 14-15 раз наблюдали при использовании микроклонов высотой 2-3 см. Аналогичную картину наблюдали и для микроклонов ежевики. Однако, для микроклонов ежевики максимальное увеличение длины надземной части в 3 раза и корневой системы в 22,5 раза наблюдали при адаптации растений высотой 3-4 см (Табл. 1).

Таблица 1 – Влияние размера микроклонов растений на морфометрические показатели

Размер микроклонов	Прирост			
	надземной части		подземной части	
	малина	ежевика	малина	ежевика
До 1,5 см	1:2,4	1:2,2	1:7,7	1:2,9
2-3 см	1:3,7	1:2,4	1:14,4	1:4,7
3-4 см	1:1,7	1:3,4	1:4	1:22,5
4-5 см	1:1,5	1:1,5	1:6,2	1:2,8

В вариантах с адаптацией микроклонов малины и ежевики в почвенных условиях наблюдали отсутствие существенных изменений учитываемых биометрических показателей. При данном варианте адаптации отмечался высокий процент гибели растений малины и ежевики (28-31%).

На 90-е сутки с начала адаптации в условиях аэропоники и почвы растения были высажены в условия теплицы (Рис. 1). 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.

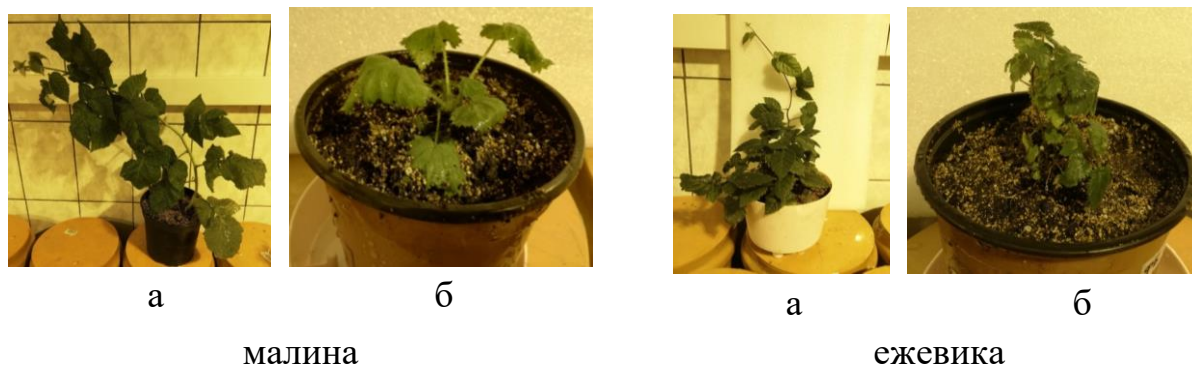


Рис. 1 Растения, пересаженные в грунт после трех месяцев адаптации в условиях аэропоники (а) и почвы (б)

Адаптация к условиям ex vitro микроклонов винограда

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. Однако первоначально необходимо получить укорененные микропобеги. Характер развития корневой системы зависит от типа регулятора роста, индуцирующего корнеобразование. Наши исследования показали, что на питательной среде, содержащей НУК образование корней, наблюдалось при одновременном развитии каллусной ткани, что являлось нежелательным в технологии клонального микроразмножения. Применение ИУК приводило к формированию корней минуя образование каллусной ткани.

Успешное укоренение микрочеренков зависело от сорта, условий этапа пролиферации, солевого и гормонального состава среды, количества пассажей. Исследования показали, что только побеги сортов Moldova и Muscat Ottonel были способны к укоренению на первом пассаже. Для остальных сортов процесс ризогенеза наблюдали на более поздних пассажах. Среда МС + 0,5 мг/л ИУК + 0,5 мг/л БАП + 20 мг/л аскорбиновой кислоты была наилучшей для укоренения растений (Рис. 2).

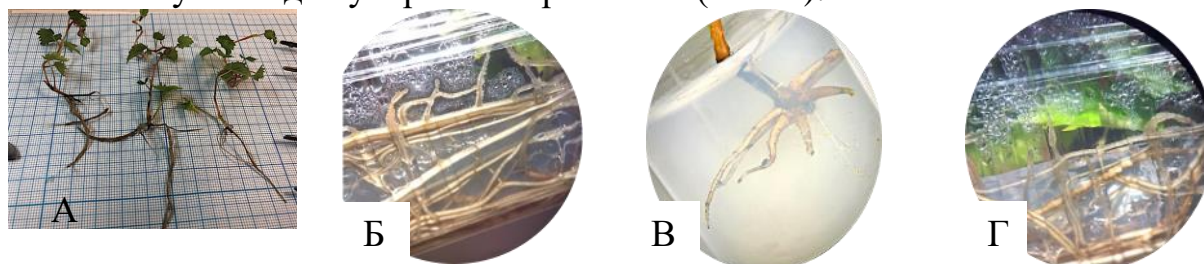


Рис. 2 Ризогенез растений винограда (А – Muscat Ottonel, Б – Moldova, В – Feteasca Regala, Г - Monarh)

Адаптацию микроклонов проводили на аэропонной установке и в почве (Рис. 3). Экспериментально установлено, что при использовании почвенного субстрата наблюдали 95% гибели растений за счет образования некрозов на листьях растений.

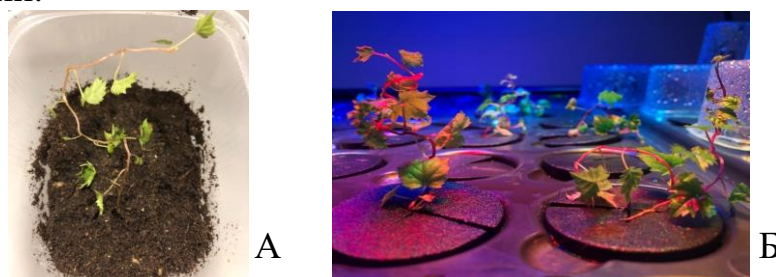


Рис. 3 Адаптация растений к условиям *ex vitro*: А – в условиях почвы, Б – в условиях аэропонной установки (сорт Monarh)

При использовании аэропной установки, в которой была регулярная подача питательного раствора, обогащенного кислородом, наблюдали формирование растений с хорошо развитой корневой системой и надземной биомассой (Рис. 4). Адаптация микроклонов составила 100%.

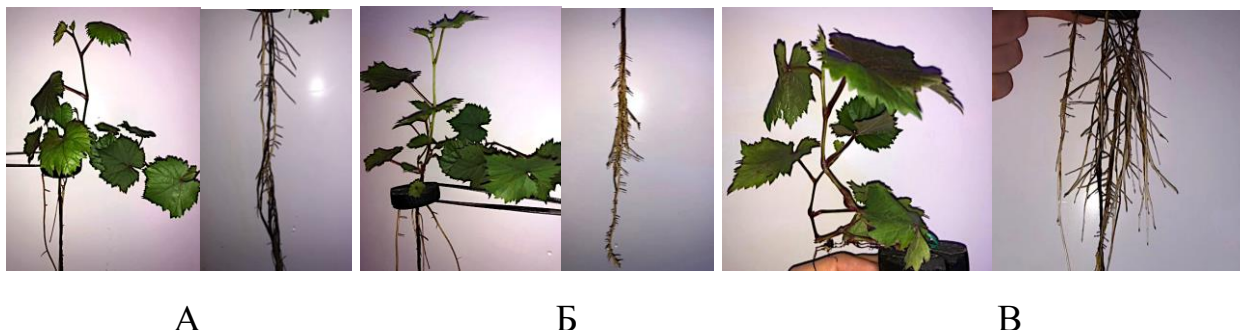


Рис. 4 Растения адаптированные к условиям аэропоники (А - Muscat Ottonel, Б – Moldova, В – Feteasca Neagra)

Применение усовершенствованной аэропной установки позволило получить растения, у которых высота побегов в среднем составила 12 см, наблюдалось формирование новых боковых побегов длиной 20 см, а длина корневой системы в среднем была 32-35 см. Спустя 1,5 месяца с момента адаптации микроклонов в условиях аэропоники были перенесены для дальнейшего роста в 5 литровые пластиковые горшки, содержащих универсальный грунт «ФАСКО» (3 части) и вермикулит (1 часть) (Рис. 5). Через 30 суток выращивания высота растений составила 120-135 см в зависимости от исследуемого сорта.

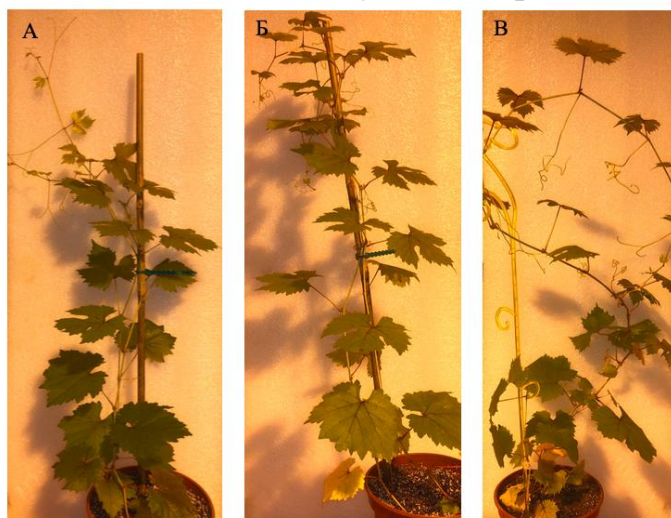


Рис. 5 Микроклоны, адаптированные в почвенных условиях на 30 суток (А – сорт Muscat Ottonel, Б – сорт Moldova, В – сорт Monarh)

Таким образом, экспериментально доказано, что применение аэропных технологий для адаптации микроклонов винограда изучаемых сортов позволяет получать высококачественный посадочный материал в необходимом количестве.

Адаптация к условиям *ex vitro* микроклонов декоративных культур

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 аэропонных 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. 6-11).

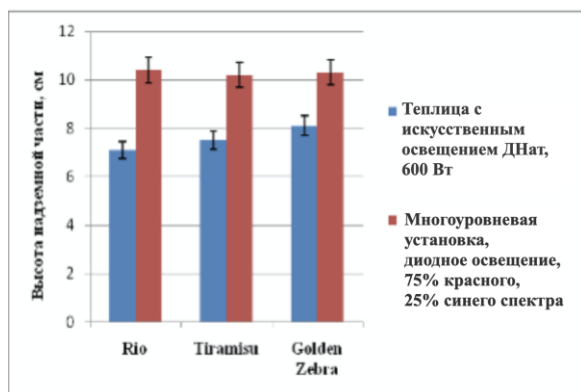


Рис. 6 Высота надземной части микрорастений гейхеры гибридной при адаптации к условиям *ex vitro*, см

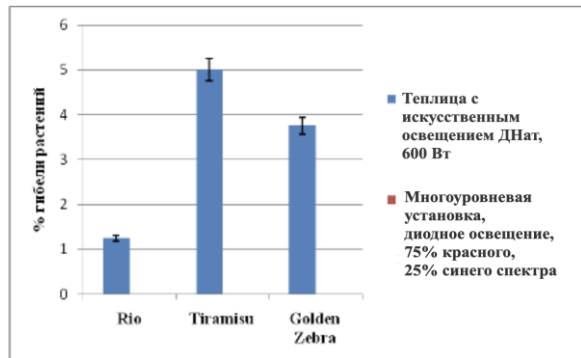


Рис. 7 Гибель адаптированных к условиям *ex vitro* микрорастений гейхеры гибридной (%)

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.

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

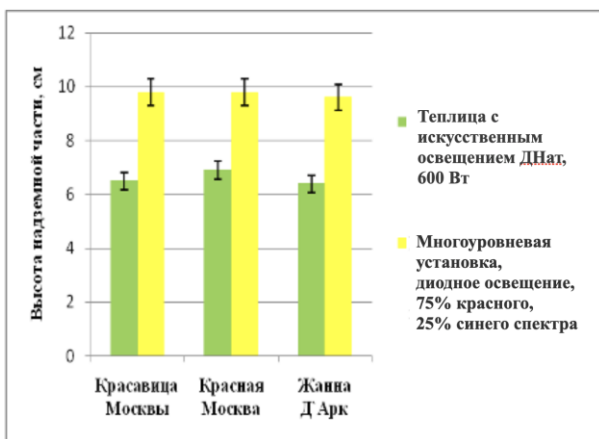


Рис. 8 Высота надземной части микрорастений сирени обыкновенной при адаптации к условиям *ex vitro*, см

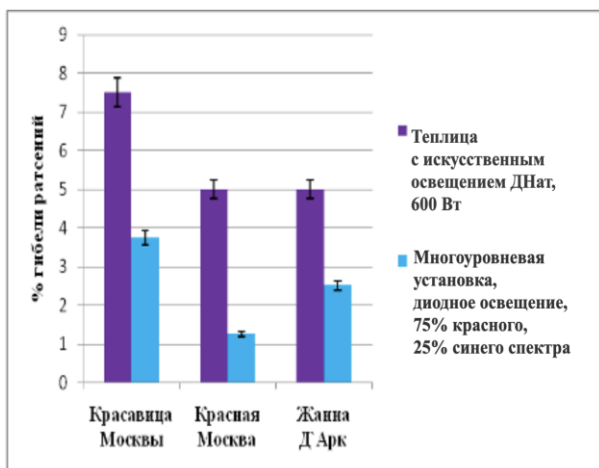


Рис. 9 Гибель адаптированных к условиям *ex vitro* микрорастений сирени обыкновенной (%)

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.

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 аэропонной установки. Использование данной установки в технологии получения посадочного материала с применением методов клонального микроразмножения снизит процент гибели растений, увеличит рост и развитие зеленой биомассы.

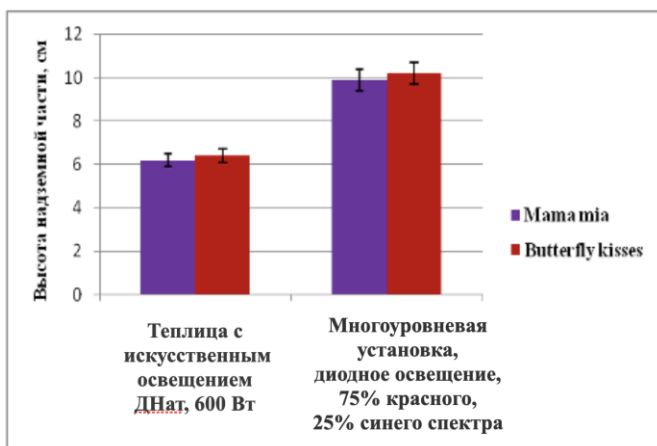


Рис. 10 Высота надземной части микрорастений эхинацеи гибридной при адаптации к условиям *ex vitro*, см

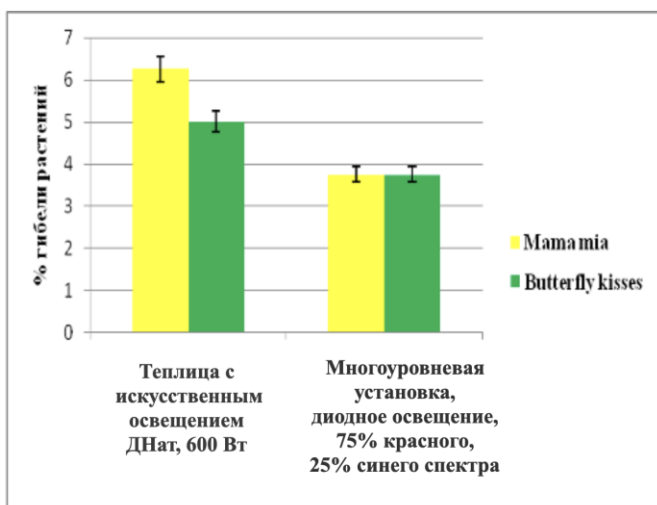


Рис. 11 Гибель адаптированных к условиям *ex vitro* микрорастений эхинацеи гибридной (%)

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 аэропонной установки. Использование данной установки в технологии получения посадочного материала с применением методов клонального микроразмножения снизит процент гибели растений, увеличит рост и развитие зеленой биомассы.

Адаптация микроклонов хризантемы

По истечении 2 месяцев нахождения растений на аэропонных системах и достижения ими достаточной длины и развития корневой системы (Рис. 12 а) хризантемы были перенесены в почвенные условия (Рис. 12 б).

В результате сравнения было отмечено более интенсивный рост растений в варианте с использованием предварительного выращивания микроклонов на аэропонной установке, чем растения, высаженные из среды *in vitro* сразу в почвенные условия (Рис. 13). Для растений, выращиваемых в аэропонной установке, также было характерно формирование мощной корневой системы и больших листьев

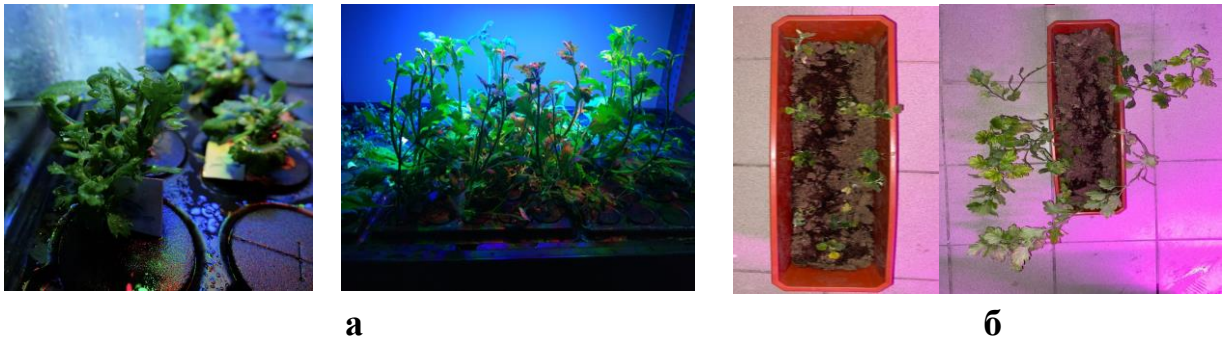


Рис. 12 Микроклоны хризантемы в начале и конце выращивания на аэропонной установке (6 недель) и в почвенной культуре после пересадки (б) (слева после адаптации в почве, справа – на аэропонике)

В результате сравнения было отмечено более интенсивный рост растений в варианте с использованием предварительного выращивания микроклонов на аэропонной установке, чем растения, высаженные из среды *in vitro* сразу в почвенные условия (Рис. 13). Для растений, выращиваемых в аэропонной установке, также было характерно формирование мощной корневой системы и больших листьев.



Рис. 13 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 выращивания.

В процессе выращивания микроклонов на аэропонной установке и в почвенном субстрате, нами были произведены в динамике измерения высоты растений. В результате исследований были получены результаты, которые представлены на рисунке 14.

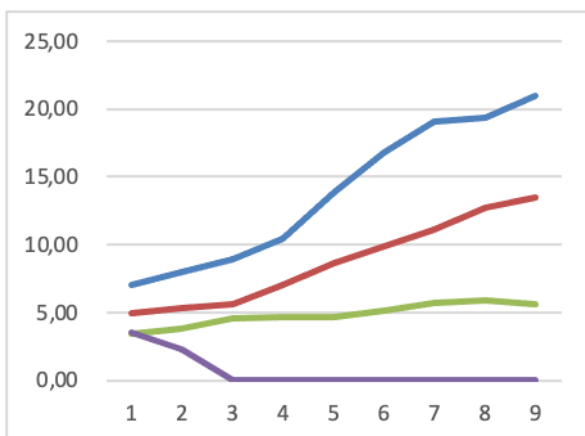


Рис. 14 Изменение средней длины растений (см) по группам: микроклоны на аэропонике с корнями (синяя линия) и без корней (зеленая линия), микроклоны в почве с корнями (красная линия) и без корней (фиолетовая линия)

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.

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 аэропной 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. 2) (Рис. 15).

Таблица 2 - Роствые характеристики микроклонов в условиях аэропоники (питательный раствор содержит $\frac{1}{2}$ 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. 15 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. Исходя из вышеизложенного, 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. 3).

Таблица 3- 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 L.</i>				
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 L.</i>				
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 Melissa 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 Melissa 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.

Адаптация к условиям ex vitro микроклонов водных растений

Исследования показали, что у исследуемых видов водных растений, не зависимо 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 корни 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.

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

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 4.

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. Рассчитаны индекс роста (I) и удельная скорость роста (μ). Результаты приведены в таблице 5.

Таблица 4 - 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

Таблица 5 - 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. salzmannii</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. salzmannii*. В свою очередь значения индекса роста и удельной скорости роста корней *H. salzmannii* весомерно 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 помещены в аквариум, в стеклянные сосуды объёмом 1 литр или пластиковые контейнеры.

За более чем двухнедельный период выращивания в условиях аквариума у всех водных растений *A. reineckii* и *H. salzmannii* были отмечены их дальнейший активный рост и формирование хорошей вегетирующей массы.

В растениях были определено содержание флавоноидов (Рис. 16).

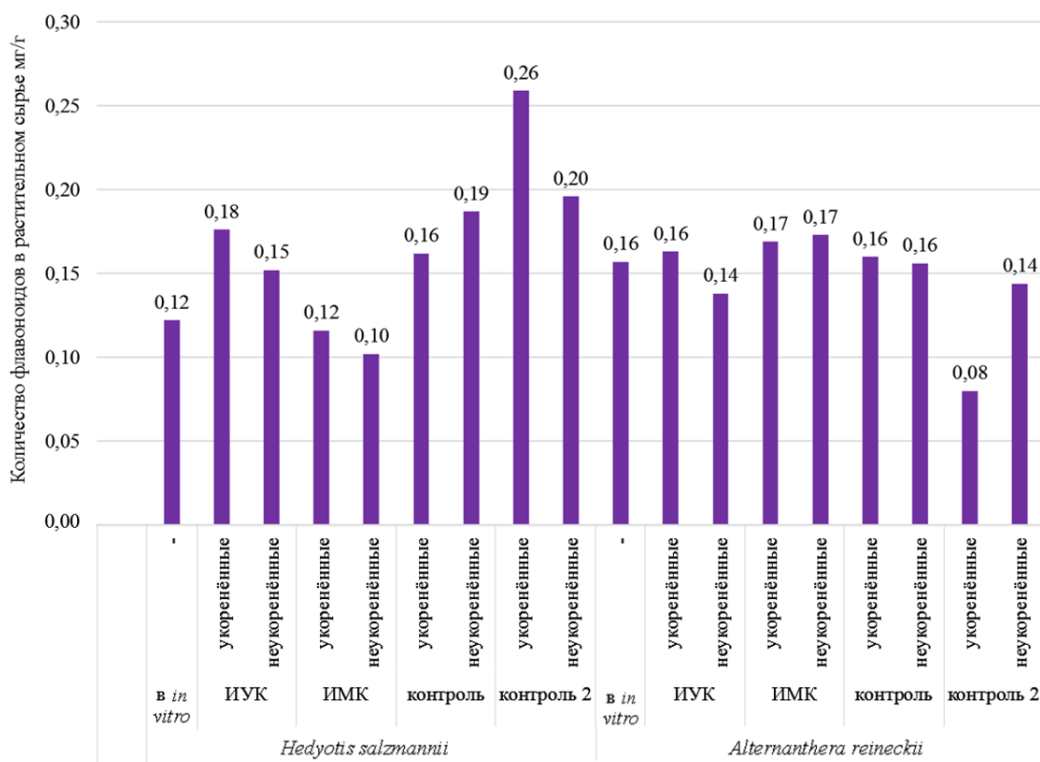


Рис. 16 Суммарное содержание флавоноидов в водных растениях до и по окончании культивирования при разных типах черенков

Показано, что наибольшее накопление флавоноидов наблюдали в растениях *H. salzmannii*, культивируемые в сосудах с водой, наименьшее - в варианте при выращивании на аэропонике с ИМК и у растений в культуре *in vitro*.

Для растений *A. reineckii* установлено, что при выращивании микроклонов на аэропонике и *in vitro* содержание флавоноидов было выше, по сравнению с контролем.

Экономическая эффективность технологии выращивания растений разных таксономических групп с использованием аэропонных технологий

При культивировании растений в теплице с использованием аэропонных установок у нас появляется возможность проводить до 10 циклов адаптации растений в год. При наличии 100 аэропонных 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 аэропонных установок и в почвенных условиях теплицы приведены в таблице 8.

Таблица 8 - Основные показатели сравнительной экономической эффективности

Показатели	«Установка аэропонная 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	30	40	40

растений, Эхинацея пурпурная, дней			
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 аэропной теплицы составит около 4 лет. В дальнейшем, возможно получение существенной прибыли при небольших затратах, так как приобретать осветительные приборы и аэропные 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 аэропных 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 аэропные 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 аэропные технологии, позволяющие проводить укоренение и адаптацию микроклонов разных таксономических групп одновременно.

2. Соискателем разработана, запатентована и апробирована универсальная многоярусная аэропная установка, позволяющая

адаптировать с 95-100% эффективностью микроклоны плодово-ягодных, цветочных, лекарственных и водных растений к условиям *ex vitro*.

Показано, что применение aeropонных технологий приводит к формированию посадочного материала высокого качества с хорошо развитой зеленой биомассой и развитой корневой системой.

3. Экспериментально доказано, что применение aeropонных технологий на последнем этапе клонального микроразмножения позволяет сократить временные затраты на получение посадочного материала за счет использования неукорененных микрочеренков растений.

4. Установлено, что у микроклонов, культивируемых на aeropонных установках наблюдается изменение фенольного метаболизма, который проявляется в повышении суммарного содержания фенольных соединений, что является ответной реакцией растений на изменение условий выращивания.

5. Оценка экономической эффективности выращивания растений традиционным и aeropонным методом показала снижение себестоимости растений, полученного в aeropонике на 4-5 рублей и повышение рентабельности производства в 7-9 раз.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные и в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. **Гущин, А.В.** Влияние aeropоники на адаптацию микроклонов *Mentha piperita* L. и *Melissa officinalis* L. и накопление фенольных соединений /А.В. Гущин, Р.Н. Киракосян, М.Ю. Чередниченко, Е.А. Калашникова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2023. – №. 26(9). – Р. 52-59.

Работы, опубликованные в изданиях, индексируемых в международных цитатно-аналитических базах данных:

2. Киракосян, Р.Н. Технология адаптации микроклонов разных таксономических групп к условиям *ex vitro* / Р.Н. Киракосян, **А.В.Гущин**, Болотина Е.А., Бунякова А.Д., Е.А.Калашникова// Естественные и технические науки. –2021. – № 11 (162). – С. 46-50 (CA(pt)).

3. Kalashnikova, E. A. Innovative technologies for cloned plants adaptation / Е.А. Kalashnikova, D.R. Ganaeva, A.A. Desiaterik, R.N. Kirakosian, **A.V.Gushchin** //Caspian Journal of Environmental Sciences. – 2021. – Т. 19. – №. 5. – С. 877-882. (Scopus).

4. **Гущин, А.В.** Влияние aeropоники на накопление фенольных соединений в микроклонах *Mentha piperita* L. и *Melissa officinalis* L. /

А.В. Гуцин, Р.Н. Киракосян, Е.А. Калашникова // Естественные и технические науки. –2023. – 8 (183). – С. 52-57(СА(pt)).

Авторские свидетельства, патенты, лицензии:

5. Способ адаптации неукорененных микропобегов растений разных таксономических групп к нестерильным условиям *ex vitro* / Калашникова Елена Анатольевна, Киракосян Рима Нориковна, **Гуцин Артем Владиславович**, Болотина Елизавета Алексеевна, Бунякова Анна Дмитриевна// Патент на изобретение 2791513 С1, 09.03.2023. Заявка № 2022105068 от 25.02.2022.

Монография:

6. Применение аэропной установки для адаптации клонированных растений. **Гуцин А.В.**, Швец Д.А., Навроцкая Э.В. LAP Lambert Academic Publishing, Германия, Москва, 2019. – 80 с. ISBN: 978-620-0-22145-2.

Работы, опубликованные в рецензируемых научных изданиях:

7. **Гуцин, А.В.** Оптимизация технологии клонального микроразмножения современных сортов декоративных культур / **А.В. Гуцин**, Е.А. Калашникова, Р.Н. Киракосян //Sciences of Europe. – 2019. – №. 38-2 (38). – С. 28-31.

8. **Гуцин, А.В.** Усовершенствование технологии клонального микроразмножения современных сортов декоративных культур / **А.В. Гуцин**, Е.А. Калашникова, Р.Н. Киракосян // В сборнике: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ НАУКИ В РОССИИ И МИРЕ. Сборник статей по итогам Международной научно-практической конференции. – 2019. – С. 8-10.

9. **Гуцин, А.В.** Совершенствование технологии адаптации микроклонов растений к условиям *ex vitro*/ **А.В. Гуцин**, Р.Н. Киракосян, Е.А. Калашникова// В книге: Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии. Сборник тезисов докладов 21-ой Всероссийской молодежной научной конференции. Конференция посвящается памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева. Москва. – 2021. – С. 123-124.

10. **Гуцин, А.В.** Применение аэропоники для адаптации *ex vitro* микроклонов лекарственных растений / **А.В. Гуцин**, Р.Н. Киракосян, Е.А. Калашникова// В сборнике: АГРАРНАЯ НАУКА – 2022. Материалы Всероссийской конференции молодых исследователей. – 2022. – С. 92-95.

11. **Гуцин, А.В.** Усовершенствование технологии адаптации микроклонов лекарственных растений *Mentha piperita* L. и *Melissa officinalis* L. к условиям *ex vitro* / **А.В. Гуцин**, Е.А. Калашникова^ Р.Н. Киракосян // В сборнике: Материалы Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, 180-летию со дня рождения К.А. Тимирязева. Сборник статей. – 2023. – Т.1. – С. 294–298.