

*На правах рукописи*

**ВИНТЕР Марина Александровна**

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРИЕМОВ ОЗДОРОВЛЕНИЯ И  
КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ СЛИВЫ ДОМАШНЕЙ НА  
ОСНОВЕ ОЦЕНКИ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА СОРТОВ**

Специальность: 06.01.08 – Плодоводство, виноградарство

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени

кандидата сельскохозяйственных наук

Краснодар – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» (ФГБНУ СКФНЦСВВ)

**Научный руководитель:** кандидат биологических наук  
**Бунцевич Леонид Леонтьевич**

**Официальные оппоненты:** **Григорьева Людмила Викторовна,**  
доктор сельскохозяйственных наук, доцент  
ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный  
аграрный университет», заведующая  
кафедрой садоводства

**Маляровская Валентина Ивановна,**  
кандидат биологических наук, ФГБНУ  
«Всероссийский научно-исследовательский  
институт цветоводства и субтропических  
культур», заведующая лабораторией  
биотехнологии, физиологии, биохимии растений

**Ведущая организация:** ФГБНУ «Федеральный научный центр  
им. И.В. Мичурина»

Защита состоится «14» декабря 2018 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д.006.056.01 в ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» по адресу: 350901, г. Краснодар, ул. им. 40-летия Победы, 39.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия».

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью организации, с указанием почтового адреса, телефона, электронной почты, сайта организации, фамилии, имени, отчества, должности лица, подготовившего отзыв, просим направлять ученому секретарю диссертационного совета по адресу: 350901, г. Краснодар, ул. им. 40-летия Победы, 39, тел./факс 8(861) 257-57-02, e-mail: kubansad@kubannet.ru.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат с.-х. наук

В.В. Соколова

## 1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** Краснодарский край – один из основных регионов РФ, где возделываются плодовые культуры, среди которых особое место занимает слива, обладающая комплексом положительных признаков - засухоустойчивость, зимостойкость, стабильность плодоношения и продуктивность (Ерёмин, 2000; Заремук, 2006; Витковский, 2003). Однако в условиях изменения погодно-климатических условий, учащения воздействия абиотических стрессов усиливается вредоносность вирусных, фитоплазменных, грибных и бактериальных патогенов, что приводит к снижению урожайности и качества плодовой продукции, в т.ч. сливы. В последние десятилетия, наряду с грибными и бактериальными заболеваниями, усилилась вредоносность вирусных заболеваний на косточковых культурах, прежде всего шарки сливы (*PPV*) (Atanasoff, 1932; Jordovich, 1963; Приходько и др., 2008; Митрофанова и др., 2014). В связи с чем, возникла необходимость оценки сортов сливы различного происхождения по устойчивости к вирусу шарки в изменяющихся условиях среды, а также получение безвирусного посадочного материала на основе оптимизации способа клонального микроразмножения. На сегодняшний день существует целый ряд методик, приемов микроразмножения плодовых культур, в т.ч. сливы домашней, с использованием различных ростовых веществ (Корнацкий, 1991; Муратова, 2002; Коваленко, Медведева, 2015). Вместе с тем, соли янтарной кислоты в культуре *in vitro* при клональном микроразмножении сливы ранее не изучались. В связи с этим оценка сортов сливы различного происхождения по устойчивости к вирусу шарки и оптимизация способа клонального микроразмножения на основе солей янтарной кислоты являются актуальными.

Современная селекционная работа направлена на создание сортов с комплексом хозяйственно-ценных признаков, в т.ч. устойчивость к вирусу шарки, а также высокой адаптивностью, в изменяющихся условиях среды. В южном регионе селекция сливы домашней связана с именами таких ученых, как Г.В. Ерёмин, С.И. Забродина, М.А. Колесников, П.П. Костык, Р.Ш. Заремук, Е.М. Алехина, Л.А. Туровская, С.В. Богатырева и др. Совершенствование методов клонального микроразмножения плодовых и ягодных культур отражено в работах Р.Г. Бутенко, Н.В. Катаева, О.А. Леонтьев-Орлова, В.А. Высоцкого, Е.Н. Джигадло, Н.В. Соловых, С.А. Корнацкого, М.Т. Упадышева, О.В. Матушкиной, Н.Н. Коваленко и других ученых. Разработанные ими методики размножения плодовых культур используются, как общепринятые стандарты. Вместе с тем, для каждого сорта требуется индивидуальный подход по подбору наиболее эффективных композиций питательных сред.

**Цель исследований** – усовершенствовать приемы оздоровления и клонального микроразмножения сортов сливы домашней на основе оценки их адаптивного потенциала в условиях Краснодарского края.

### **Задачи исследований:**

1. Провести оценку сортов сливы домашней различного эколого-географического происхождения по восприимчивости к вирусу шарки;
2. Выявить особенности распространения вируса шарки сливы в условиях Краснодарского края; определить штаммовый состав вируса и оптимальные сроки тестирования растений;
3. Подобрать состав питательной среды для размножения в культуре *in vitro* перспективных сортов сливы домашней, режим санации и сроки изолирования эксплантов;
4. Изучить особенности влияния биологически активных веществ группы янтарной кислоты на микрорастения разных сортов сливы домашней, позволяющих получить более качественные клоны;
5. Установить эффективность использования янтарной кислоты, сукцинатов калия и натрия в культуре *in vitro* на этапе мультипликации и ризогенеза.

**Научная новизна исследований.** Впервые в условиях южного садоводства разработан метод картограмм для оценки распространения вируса шарки сливы (PPV) в границах определенного участка сада. Выявлены 3 штамма вируса шарки сливы: *PPV-D*, *PPV-M*, *PPV-W*, проявляющие различную патогенность в условиях южного садоводства. Выделены отечественные сорта сливы домашней, проявляющие полевую устойчивость (Балкарская, Предгорная) и толерантность (Кабардинская ранняя, Чернослив адыгейский и др.) к вирусу шарки сливы в условиях Краснодарского края. Впервые при микроразмножении сливы в культуре *in vitro* использованы соли янтарной кислоты. Усовершенствован способ клонального микроразмножения разных сортов сливы, на основе использовавшихся в культуре *in vitro* янтарной кислоты и ее солей (сукцинаты калия и натрия), позволяющих повысить выход качественных растений до 83 %.

**Практическая значимость полученных результатов.** Выделены сорта сливы домашней с полевой устойчивостью и толерантные к вирусу шарки сливы в условиях южного садоводства. Разработан метод картограмм для изучения распространения вируса шарки в насаждении, позволяющий оценить динамику распространения и выделить очаги инфекции. Разработан прием клонального микроразмножения сливы домашней на основе использования янтарной кислоты и ее солей, рекомендуемый для получения более качественных микрорастений сливы, позволяющий снизить себестоимость микрорастений на 80 руб. (142,1 руб.) и повысить рентабельность производства до 75,9 %. Практическая новизна подтверждена свидетельствами о регистрации баз данных №2017620325 «Физиолого-биохимические параметры органов и тканей сливы домашней...» и №2018620111 «Качественные показатели микрорастений сливы домашней...».

**Методология исследований.** Теоретической и методологической основой работы явились научные труды отечественных и иностранных исследователей. Используются общепринятые и оригинальные полевые,

лабораторные и статистические методы. Для достижения поставленной цели использован метод клонального микроразмножения.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Результаты исследований восприимчивости сортов сливы домашней к вирусу шарки, позволившие выделить сорта сливы с полевой устойчивостью, толерантные и восприимчивые к вирусу шарки сливы.

2. Разработанный метод картограмм, на основе особенностей распространения вируса шарки сливы в границах определенного участка, позволяет выделить основные очаги инфекции, динамику распространения вируса.

3. Оценка эффективности использования янтарной кислоты и ее солей на различных этапах размножения сливы домашней в культуре *in vitro*.

4. Оптимизированный способ клонального микроразмножения сортов сливы домашней на основе установленных особенностей применения янтарной кислоты, сукцинатов калия и натрия позволяет повысить эффективность и безопасность (экологичность) размножения сортов сливы домашней.

**Степень достоверности и апробация результатов исследований.**

Основные положения диссертационной работы доложены на заседаниях Учёного совета ФГБНУ СКФНЦСВВ (2010-2015 гг.) и научно-практических конференциях молодых учёных «Научное обеспечение агропромышленного комплекса» (Краснодар, 2011, 2012, 2014 гг.); международной дистанционной научно-практической конференции молодых ученых «Параметры адаптивности многолетних культур в современных условиях развития садоводства и виноградарства» (Краснодар, 2012 г.).

**Личное участие автора.** Диссертационная работа является обобщением научных исследований, проведенных в 2010–2017 гг. при личном участии автора. Соискателем проведены полевые исследования по изучению вируса шарки на культурной сливе, осуществлен сбор и обработка полученной в ходе выполнения работы исходной информации, осуществлена диагностика вируса шарки сливы методом ПЦР-анализа, а также проведены исследования по применению янтарной кислоты и ее солей в ходе клонального микроразмножения сливы.

**Публикации результатов исследований.** Основные материалы исследований опубликованы в 18 печатных работах, в т.ч. 5 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 1 статья, опубликованная в зарубежном журнале, включенном в международную базу цитирования Scopus, получены свидетельства на две базы данных.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, рекомендаций производству, приложений. Работа изложена на 160 страницах основного текста, содержит 33 таблицы, 14 рисунков. Список использованной литературы включает 285 источников, в том числе 113 на иностранных языках.

## 2 ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ, И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в Прикубанской зоне садоводства Краснодарского края на базе коллекционного участка сливы ОПХ «Центральное» в 2010-2014 гг., исследования по клональному микроразмножению сливы домашней проводились в лаборатории вирусологии ФГБНУ СКФНЦСВВ в 2012-2017 гг., диагностика вируса шарки сливы – в лаборатории генетики и молекулярной биологии ФГБНУ СКФНЦСВВ в 2012-2017 гг.

**Объекты исследований:** 29 сортов сливы домашней различного эколого-географического происхождения.

Предмет изучения - влияние вируса шарки сливы на растения сливы различного эколого-географического происхождения и эффективность янтарной кислоты, сукцината калия и натрия при микроразмножении сливы домашней. Эти вещества оказывают влияние на ростовую активность растений, малотоксичны, экономичны, экологически чистые и ранее не испытаны в технологии клонального микроразмножения сливы домашней.

**Условия исследований.** ОПХ «Центральное» находится в границах Прикубанской зоны южного садоводства. Период активной вегетации в зоне исследований составляет 190-200 дней. Возобновление вегетации обычно наступает в третьей декаде марта – начале апреля. Для зоны характерны сильные годовые колебания температуры, в период исследований температурный минимум доходил до минус 20,8 °С, а максимум до + 39,6 °С. Лето жаркое, средняя температура за июль составляет 22-25 °С, а максимальные значения могут повышаться до 40 °С и выше. Сумма активных температур составляет 3200-3600 °С. Осадков выпадает от 630 мм до 760 мм в год.

**Методы исследований.** Идентификация вируса шарки сливы проводилась визуальным методом по наличию симптомов вируса шарки на листьях и плодах сливы домашней, с последующим тестированием с помощью ОТ-ПЦР в лабораторных условиях. Визуальное выделение симптомированных вирусом шарки сливы растений проводили в период вегетации: вторая декада мая – вторая декада июня. Распространение вируса шарки сливы (*PPV*) в границах участка сада оценивалось методом картограмм, разработанным сотрудниками лаборатории вирусологии СКФНЦСВВ (Бунцевич, Костюк (Винтер), Данилюк, 2010, 2014). Диагностика на вирусоносительство проводилась методом ОТ-ПЦР с праймерами и реакционными смесями, разработанными в ООО «Агродиагностика». Для ПЦР-анализа образцы отбирали в два срока: в период вегетации и в период покоя. В мае-июне отбирались листья как с симптомами вируса шарки, так и у бессимптомных растений. В период покоя - конец ноября, отбирались приросты текущего года с тех же деревьев. Определение штаммового состава вируса шарки осуществлялось в лаборатории вирусологии ВНИИСБ (г. Москва) под руководством В.К. Вишниченко.

Оценку степени поражения листьев и плодов сортов сливы домашней вирусом шарки проводили по «Программе и методике сортоизучения

плодовых, ягодных и орехоплодных культур» (Мичуринск, 1973), (Мичуринск, 1980), (Орел, 1999), методу Т.Ф. Бивол, Т.Д. Вередеревской, Х. Кеглера и В.А. Кукурузак (1984), основанному на визуально определяемой интенсивности симптомов на листьях и плодах.

Содержание пигментов в листьях сливы домашней (суммы хлорофиллов а и b, каротинов) определяли спектрофотометрически на приборе UNICO 2800 UV/VIS согласно общепринятой методике В.Ф. Гавриленко (1975).

Оценка биохимических показателей плодов проведена по «Методическим указаниям по химико-технологическому сортоиспытанию овощных, плодовых и ягодных культур для консервной промышленности» (Москва, 1993).

Клональное микроразмножение осуществляли по общепринятым методикам Корнацкого С.А. 1991, В.А. Высоцкого, 1998 г., Е.Н. Джигадло, 2005 г. и др. Введение в культуру *in vitro* проводили, начиная с фазы выхода почек из периода покоя – с марта по июнь. В качестве эксплантов использовали апексы молодых активно вегетирующих побегов сливы. На этапе микроразмножения с испытанием препаратов группы янтарной кислоты использовали среду Мурасиге-Скуга (MS). В качестве структурообразующего элемента сред применяли агар-агар бактериологический, в качестве источника углеводного питания – сахарозу (20-30 г/л). Экспланты культивировали при температуре + 21...+23 °С, освещении 3-3,5 тыс. люкс при фотопериоде 16/8. Длительность субкультивирования – 4 недели.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета прикладных программ Microsoft Office (Excel) и Stat Soft STATISTICA 7.0., используя Анова одно- и двухфакторный дисперсионный анализ.

### **3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1 Особенности распространения вируса шарки сливы (*Plum pox potyvirus*) в условиях Прикубанской зоны Краснодарского края**

В период 2011-2013 гг. проводился вирусологический мониторинг в границах одного участка сада сливы. Общая площадь участка составляла 0,35 га, площадь 1-го блока – 0,17 га, площадь 2-го блока – 0,18 га. Схема посадки 6x4 м. Год закладки насаждения – 1995. Для оценки динамики распространения вируса шарки (*PPV*) в насаждении применялся разработанный метод картограмм (Бунцевич, Винтер и др., 2010, 2014). Для построения картограммы в журнал заносится схема насаждения с обозначением направлений сторон света, кварталов, блоков, рядов и мест всех деревьев насаждения. Ежегодно деревья с симптомами вируса шарки отмечаются на схеме, считается распространение вируса шарки в границах исследуемого участка.

Так, в 2011 г. в среднем распространение вируса шарки в насаждении составляло 29,1 %, по сорту Кабардинская ранняя – 35,7 %, по сорту Стенлей – 18,4 %. К 2013 г. распространение вируса шарки на сорте Кабардинская ранняя возросло на 2,6 % и составило 44,5 %, на сорте Стенлей на 2,1 % и составило 24,2 %. Ежегодно ареал распространения вируса увеличивался на 3,3-5,3 %. Перенос вируса шарки сливы на опытном участке в большей степени имел вертикальное направление (между деревьями вдоль ряда), в меньшей степени

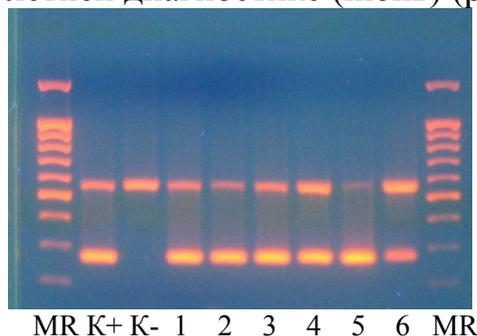
горизонтальное (между соседними рядами). Распространение вируса во втором блоке выше на 17 %, чем в первом. Симптомированные растения расположены в основном множественными очагами (представленными несколькими деревьями) и дальнейшее распространение вируса шарки в насаждении проходит в границах основных очагов вируса. За время эксплуатации сада сливы, более 20 лет, практически 50 % деревьев сливы сорта Кабардинская ранняя и 25 % сорта Стенлей имели визуальные симптомы вируса шарки на листьях. Однако, в связи с тем, что сорта сливы Стенлей и Кабардинская ранняя являются толерантными к вирусу шарки, сад успел выработать свой потенциал. Поэтому восприимчивость сортов к вирусу шарки сливы необходимо учитывать при закладке новых насаждений

### 3.2 Штаммовый состав вируса шарки сливы

В Прикубанской зоне южного садоводства распространены штаммы вируса шарки сливы *PPV-D* (*Dideron*), *PPV-W* (*Winona*) и *PPV-M* (*Marcus*). Самый распространенный штамм *PPV-D*, который идентифицирован у большинства симптомированных растений, составил 61 % от общего количества образцов. Большая часть сортов, инфицированных штаммом *PPV-D*, имела симптомы вируса шарки сливы на листьях (Герцог, Краснодарская, Стенлей, Гилберт, Чачакская поздняя). Для штаммов *PPV-M* и *PPV-W* более характерна латентная форма болезни, без проявления типичных симптомов вируса шарки сливы на листьях и плодах. В условиях Прикубанской зоны южного садоводства штамм *PPV-M* существует совместно с другими штаммами вируса шарки *PPV-D* и *PPV-W*. Обнаружен штамм только в сортах интродуцентах.

### 3.3 Определение сроков тестирования и проявления симптомов вируса шарки сливы на растениях в условиях Прикубанской зоны садоводства Краснодарского края

У сортов Кабардинская ранняя, Венгерка юбилейная, Стенлей, Ренклюд Альтана, Гитлане, Чачакская улучшенная и Мелитопольская вирус шарки сливы был тестирован при летней диагностике (июнь) (рис. 1).



Примечание: MR-маркерная линейка; K+ -положительный контроль; 1-6 – номера образцов.

Рисунок 1 - Тестирование листьев сливы методом ПЦР в традиционном варианте с использованием универсальных праймеров P1/P2

У сортов Кабардинская ранняя, Ренклюд Альтана, Гитлане, Венгерка юбилейная, Чачакская улучшенная при диагностике в период покоя результат тестирования оказался отрицательным, хотя в период вегетации на листьях

отмечались чёткие симптомы шарки сливы, и летняя диагностика растительного материала (листья) показала наличие вируса шарки.

Таким образом, в Краснодарском крае диагностику на вирус шарки сливы (PPV) методом ПЦР эффективней проводить в период вегетации растений, когда для диагностики отбираются молодые листья и части растений.

Визуальную диагностику вируса шарки сливы в условиях Краснодарского края следует начинать со 2 декады мая, когда симптомы вируса шарки проявляются на листьях у большинства сортов. У сортов Кабардинская ранняя, Герцог, Краснодарская, Кубанский карлик, Мелитопольская, Прикубанская, Ренклад Альтана, Чернослив адыгейский, Турчанка, Стенлей, Чачакская улучшенная симптомы вируса начинают проявляться уже в 1-й декаде мая, у сортов Геркулес и Чачакская поздняя симптомы проявляются ко 2-й декаде мая.

В ходе исследований по результатам визуальной и лабораторной диагностики методом ОТ-ПЦР выделены деревья сливы домашней 12-ти сортов, свободные от вируса шарки (Стенлей, Кабардинская ранняя, Дорита, Анна Шпет, Ренет Харитоновна, Прикубанская, Венгерка душистая, Предгорная, Гилберт, Мелитопольская, Блюфри, Плотная), часть из которых включена в процесс клонального микроразмножения.

**3.4 Адаптационные особенности сортов сливы домашней при инфицировании вирусом шарки.** От восприимчивости растений зависит проявление симптомов на листьях и плодах сливы, качество и количество урожая. В результате проведенных исследований установлено, что в условиях Краснодарского края к группе сильновосприимчивых сортов (4 балла поражения) можно отнести сорта Герцог, Геркулес, Краснодарская, у которых симптомы вируса шарки визуально отмечались на 50 % листьев дерева (табл. 1).

Таблица 1 - Восприимчивость сортов сливы к вирусу шарки (по признаку проявления симптомов на листьях), 2011-2013 гг.

Сильно-восприимчивые (4 балла)	Средне-поражаемые (3 балла)	Устойчивые (толерантная форма)		Устойчивые (полевая устойчивость) (0 баллов) без симптомов
		1 балл	2 балла	
Герцог	Турчанка	Кабардинская ранняя	Стенлей	Балкарская
Геркулес	Чачакская улучшенная	Ренклад Альтана	Мелитопольская	Предгорная
Краснодарская		Чернослив адыгейский	Прикубанская	
			Кубанский карлик	
			Чачакская поздняя	

К группе средне поражаемых вирусом шарки сортов (3 балла) отнесены Турчанка и Чачакская улучшенная, у которых пятна на листьях четко

проявлялись и занимали до 25 % поверхности листа. На плодах были пятна поверхностные, не проникающие внутрь плода.

По результатам оценки, к сортам, проявляющим толерантность к вирусу шарки сливы, отнесены сорта Кабардинская ранняя, Чернослив адыгейский. Проявление симптоматики вируса шарки на листьях сливы, составляло в среднем 1 балл, пятна на листьях единичные. К этой же группе отнесены сорта Стенлей, Мелитопольская, Кубанский карлик, Прикубанская, Чачакская поздняя, у которых в среднем поражение составило 2 балла, симптомированные листья занимали до 10 % от общего количества листьев, пятна хорошо заметные. Хотя у сорта Стенлей все чаще встречались листья с поражением листьев в 4 балла. Симптомы вируса шарки на плодах отмечались только на плодах сорта Ренклод Альтана и Мелитопольская, при этом пятна на плодах были поверхностные, к концу созревания маскировались под общей окраской плода.

По данным, полученным в условиях Прикубанской зоны южного садоводства, сорт Ренклод Альтана проявил себя, как толерантный к вирусу шарки сливы. Симптомы вируса на листьях и плодах в среднем составляли 1 балл поражения (единичные пятна на листьях и поверхностный рисунок на плодах).

Анализ полученных данных позволил установить, что в период проведения исследования симптомы вируса шарки на листьях и плодах сортов Балкарская и Предгорная не проявлялись, таким образом, мы их отнесли к группе сортов, проявляющих высокую полевую устойчивость к вирусу шарки сливы по данному признаку.

В результате сравнительного анализа урожая инфицированных и здоровых вирусом шарки растений сортов сливы домашней выявлено, что урожайность деревьев, инфицированных вирусом шарки, в среднем ниже на 5,4 - 38,6 %, чем здоровых, в зависимости от сорта.

Установлено, что у сорта Стенлей, который считается эталонным толерантным сортом вирусу шарки сливы, снижение урожайности в среднем составляло 2,7 % или 0,5 т/га.

Сорта Гилберт, Кабардинская ранняя, Ренклод Альтана, Мелитопольская нами были отнесены к потенциально толерантным к вирусу шарки. Урожайность инфицированных деревьев снижалась в среднем у сорта Гилберт на 5,4 % или на 0,3 т/га, у сорта Кабардинская ранняя на 7,4 % или 1,2 т/га и составляла 14,9 т/га, у сорта Ренклод Альтана на 6,2 % или 0,6 т/га и составляла 9,1 т/га.

У сорта Мелитопольская урожайность снижается в среднем на 14,6 % или 1,3 т/га и составляет 7,6 т/га. У сортов Чачакская улучшенная, Венгерка юбилейная, Кубанский карлик снижение урожайности в среднем не превышало 30 %. У сорта Чачакская улучшенная инфицированные вирусом шарки деревья дают на 25 % меньше урожая, чем здоровые. У сорта Венгерка юбилейная урожайность снижается на 27 %, у сорта Кубанский карлик на 29,4 %. В среднем количество собранных плодов снижается на 1,1-2,0 т/га.

Более сильное влияние на урожайность, наряду с другими факторами, вирус шарки оказывает на сорта Стринова и Дорита. У инфицированных растений урожайность сорта Стринова снижается на 37,3 % или 2,5 т/га, у сорта Дорита на 40 % или 1,8 т/га. Их мы отнесли к группе сортов восприимчивых к вирусу шарки сливы.

Инфицирование вирусом шарки сливы растений отражается на их физиолого-биохимических показателях.

Так, у инфицированных вирусом шарки сливы растений отмечено снижение содержания в листьях хлорофиллов «а» и «b». У растений, зараженных штаммами *PPV-D*, *PPV-W* вируса шарки сливы, количество хлорофилла «а» в листьях снизилось от 19,1 до 37 %. При инфицировании одновременно двумя штаммами вируса *PPV-M*, *PPV-W* (сорт Мелитопольская) содержание хлорофилла в листьях больных растений снижается на 40,5 %. В среднем содержание хлорофилла «а» снизилось на 29,3 %.

Содержание хлорофилла «b» среднем по сортам снизилось на 35,5 %. У сорта Мелитопольская, инфицированного двумя штаммами вируса шарки *PPV-D* и *PPV-M*, содержание хлорофилла «b» снижается на 29,8 %, у сортов Стенлей, Кабардинская ранняя, Ренклюд Альтана, инфицированных штаммом *PPV-D*, и Чачакская поздняя при инфицировании *PPV-W* на 30,7-44,3 %.

По содержанию каротиноидов в листьях сливы выявлены некоторые особенности. Так, у инфицированных растений сортов Ренклюд Альтана, Чачакская поздняя и Мелитопольская выявлено увеличение количества каротиноидов по сравнению со здоровыми растениями. Наибольшее увеличение количества каротиноидов отмечено у сорта Мелитопольская, в котором были идентифицированы сразу два штамма вируса шарки *PPV-D* и *PPV-M*, содержание пигмента увеличилось на 50,9 %.

У сорта Ренклюд Альтана, инфицированного штаммом *W*, количество каротиноидов в листьях, заражённых вирусом шарки растений, увеличилось на 33,6 %, у сорта Чачакская поздняя, инфицированного штаммом *PPV-W*, на 25,7 % по сравнению со здоровыми растениями.

У сортов Стенлей, инфицированного штаммом *PPV-D*, количество каротиноидов в листьях, заражённых вирусом шарки растений, уменьшилось на 25,4 %, у сорта Кабардинская ранняя, инфицированного штаммом *PPV-W*, на 12,9 % по сравнению со здоровыми растениями.

Таким образом, у сортов сливы Ренклюд Альтана, Чачакская поздняя, Мелитопольская отмечена более сильная реакция в форме снижения уровня каротиноидов на заражение вирусом шарки сливы, чем у сортов Стенлей и Кабардинская ранняя.

По результатам исследований биохимического состава плодов разных сортов сливы установлено, что независимо от складывающихся погодных условий в период проведения исследований, в плодах, инфицированных вирусом шарки растений, происходит снижение количества сухих веществ на 2,3 %, сахаров на 0,9-1,3 %, антоцианов на 2,2 до 28,2 мг/100 г.

### 3.5 Усовершенствование способа клонального микроразмножения сливы домашней. Подбор эффективных и безопасных стерилизаторов для санации эксплантов сливы домашней при введении в культуру.

Применение диагностики вируса шарки современным методом ОТ-ПЦР позволило выделить свободные от вируса растения сортов сливы для дальнейшего их введения в культуру *in vitro* и микроразмножения. На этапе введения эксплантов в культуру *in vitro* использованы несколько вариантов обработок (рис. 2).

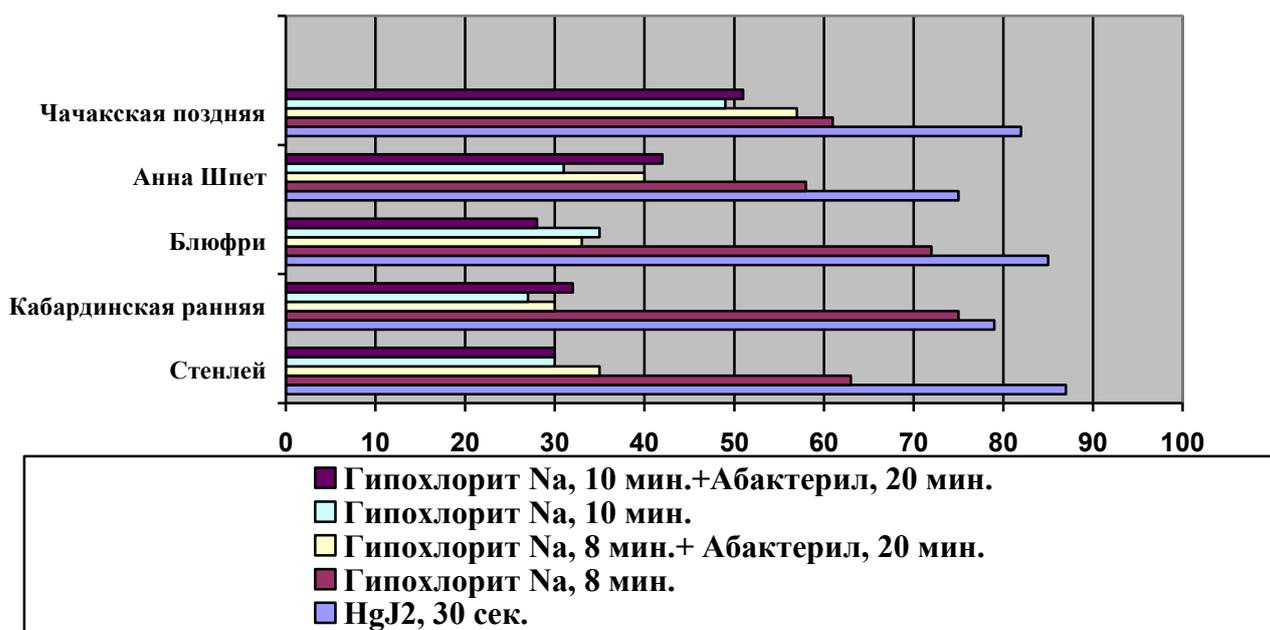


Рисунок 2 – Процент выхода стерильных эксплантов сливы домашней (2013-2015 гг.)

Наибольший выход жизнеспособных эксплантов отмечен в стандартном варианте с обработкой йодидом ртути – 82 %, при этом гибель эксплантов от инфекции самая низкая – 9 %, некроз эксплантов составляла – 9 %. В варианте с обработкой 10 %-м раствором гипохлорита натрия количество жизнеспособных эксплантов на 16 % ниже, чем в стандартном варианте и составляла в среднем по сортам 68 %, количество инфицированных эксплантов 12 %, значительно увеличился некроз эксплантов до 12 %. Однако, в виду его низкой токсичности для человека, данный вариант рекомендуется к использованию.

Раствор гипохлорита натрия в экспозиции 10 минут оказался еще более токсичным для растительных тканей, выход жизнеспособных эксплантов составлял 34 %, что ниже стандарта на 48 %. Количество эксплантов, погибших в результате токсичности препарата, составило 51 %.

Вариант с двухступенчатой обработкой с использованием дезинфицирующего средства Абактерил показал наименьшую эффективность – 39 % жизнеспособных эксплантов. Кроме того, данный способ стерилизации эксплантов является более длительным и трудоемким.

### Оптимизация сроков введения сливы в культуру *in vitro*.

Установлено, что регенерационная способность эксплантов сливы домашней различных сортов на этапе изоляции, зависит от срока изоляции и генотипа сорта (табл. 2).

Таблица 2 – Регенерация эксплантов сливы, при введении в культуру *in vitro* в различные месяцы, % (в среднем за 2013-2015 гг.)

Сорт сливы	Март (3-я декада) контроль	Апрель (1 декада)	Май (1 декада)	Июнь (1 декада)
Стенлей	45	68	84	79
Кабардинская ранняя	57	73	82	65
Блюффри	49	61	75	83
Анна Шпет	53	78	78	66
Чачакская поздняя	51	69	62	64

Благоприятными сроками для интродукции меристем сливы в культуру *in vitro* является период активного роста побегов апрель-май, когда для введения в культуру отбираются молодые, растущие побеги сливы. В этот период уровень регенерации меристем составлял в среднем 70-76 %, в июне отмечалось снижение приживаемости. Для сорта Чачакская поздняя март менее благоприятен для введения в культуру, в остальные месяцы регенерация меристем была примерно на одном уровне 62-69 %. У сорта Блюффри приживаемость меристем повышалась с каждым месяцем от 49 % в марте до 83 % в июне (табл. 2).

Для микроразмножения сливы *in vitro* была выбрана среда Мурасиге-Скуга, принятая за стандарт, на которой отмечался самый высокий коэффициент размножения (отношение суммы сформированных побегов к числу исходных эксплантов) растений-регенерантов: Стенлей – 1:12,5, Кабардинская ранняя – 1:7,5, Блюффри – 1:9,3.

### Ростовые реакции растений на этапе мультипликации эксплантов сливы в культуре *in vitro* на препараты группы янтарной кислоты.

Янтарная кислота используется в сельском хозяйстве как регулятор роста. Она стимулирует физиологические процессы в растениях, это в свою очередь способствует увеличению биомассы надземной части и развитию корневой системы (Гущина, 2009). Целью нашей работы являлось определение эффективности использования янтарной кислоты и ее производных в культуре *in vitro*. В качестве основы выбрана питательная среда по прописи Мурасиге-Скуга (1962). На первом этапе работы экспериментальные препараты сукцинат калия, сукцинат натрия, янтарная кислота изучались на протяжении 3-х пассажей в концентрации 2; 4; 5 мг/л при микроразмножении сорта Стенлей. В качестве стандарта использована среда с 6-БАП 1 мг/л.

Коэффициент размножения на средах с экспериментальными БАВ в концентрации 4 мг/л был наибольший: с янтарной кислотой – 1:7,4, с

сукцинатом натрия – 1:6,9, сукцинатом калия – 1:6,2, в контрольном варианте с 6-БАП – 1:9.

Длина микропобегов в варианте с концентрацией веществ 4 мг/л, достигала 11,7 мм с сукцинатом натрия, 14,3 мм с янтарной кислотой и 14,7 мм с сукцинатом калия (контроль 11,8 мм). В вариантах с концентрацией веществ 2 и 5 мг/л длина микропобега варьировала в пределах 8,3-10,9 мм.

Количество листьев в варианте с концентрацией веществ 4 мг/л было 11,3 шт. на среде с сукцинатом натрия, в вариантах с янтарной кислотой и сукцинатом калия – 10,5 и 10,2 листовых пластинки на растение.

В вариантах с концентрацией веществ 2 мг/л количество листьев было ниже на 25-34 %, чем в стандарте. При концентрации янтарной кислоты - 5 мг/л наблюдалось каллусообразование (17 %).

Таким образом, по всем показателям, характеризующим состояние микрорастений сливы, близким по показателям к стандарту 6-БАП 1 мг/л оказался вариант в концентрации веществ 4 мг/л, который выбран для дальнейших исследований.

На следующем этапе работы янтарная кислота и сукциаты калия и натрия были испытаны при микроразмножении 5 сортов сливы домашней, в качестве самостоятельных веществ и в сочетании с 6-БАП. В качестве контроля использованы стандартно применяемые стимуляторы роста: 6-БАП – 1 мг/л, ГК- 0,5 мг/л, ИМК – 1 мг/л (по этапам микроразмножения).

При сравнении препаратов группы янтарной кислоты и 6-БАП установлено, что соли янтарной кислоты оказывают стимулирующее влияние на мультипликацию побегов. Наиболее высокий коэффициент размножения отмечен на среде с янтарной кислотой, в среднем он составлял 1:2,2, на средах с сукцинатами натрия и калия – 1:1,8 и 1:1,9. На среде с цитокинином 6-БАП коэффициент размножения в среднем за пассаж составлял 1:3,6.

Изучив изменение коэффициентов размножения в динамике по пассажам, мы наблюдали, что на средах с БАВ происходило постепенное увеличение коэффициента размножения до третьего пассажа, а затем – снижение (рис. 3).

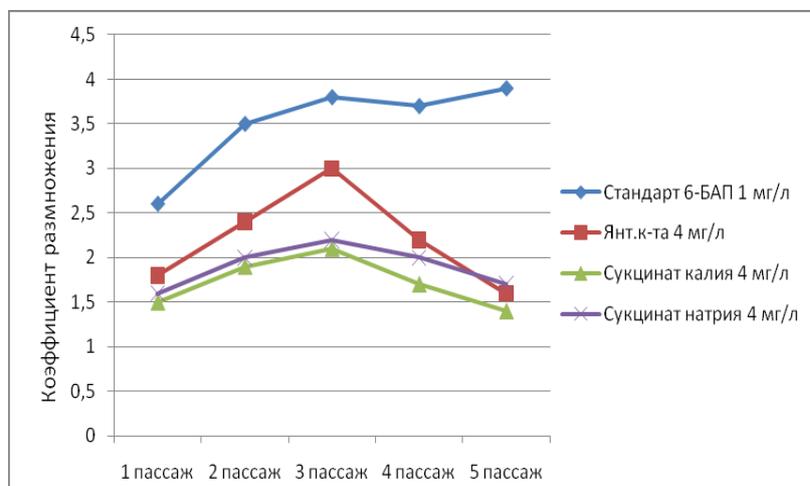


Рисунок 3 – Динамика изменения коэффициента размножения сливы на средах с экспериментальными веществами (в среднем по сортам), 2013-2015 гг.

В контрольном варианте постепенное повышение коэффициента размножения происходило с первого по пятый пассаж.

Таким образом, накопление янтарной кислоты в растениях и перенасыщение ею снижают мультипликацию побегов.

Тем не менее, БАВ на основе янтарной кислоты имеют положительное влияние на процесс мультипликации и могут быть использованы при микроклональном размножении сливы домашней.

Установлено, что наибольшее влияние на длину микропобегов сливы домашней оказывают сукцинат калия и сукцинат натрия (рис. 4).



Рисунок 4 – Влияние препаратов группы янтарной кислоты на рост микропобегов сливы домашней

Длина побегов в среднем по сортам составляла 17,4 мм и 17,0 мм, на среде с янтарной кислотой длина побегов – 14,4 мм, на уровне стандартного варианта – 14,3 мм.

Выявлены некоторые сортовые особенности: у сортов Стенлей, Блюфри, Анна Шпет, Чачакская поздняя образовывались более длинные побеги, чем у сорта Кабардинской ранней.

Выход микропобегов сливы, достигших длины более 15 мм, в варианте с сукцинатом натрия составлял 78 %, в варианте с сукцинатом калия – 83 %, в варианте с янтарной кислотой 66 %, в контрольном варианте БАП+ГК – 52 %.

Выявленная особенность влияния сукцинатов калия и натрия на рост микропобегов сливы домашней при микроразмножении позволяет использовать данные вещества на этапе, предшествующем ризогенезу, для получения побегов длиной более 15-20 мм, укоренение которых проходит более эффективно.

Одной из основных характеристик ростовых процессов является формирование облиственности. Выявлено, что при внесении в среду янтарной кислоты в количестве 4 мг/л на микропобеге образовывалось большее количество листьев. В среднем на одном растении насчитывалось 9,2 листовых пластинки по сравнению со стандартом – 7 шт. На средах с сукцинатом калия и

натрия на микропобегах сливы формировалось по 6,5 и 6 листьев соответственно.

шт.

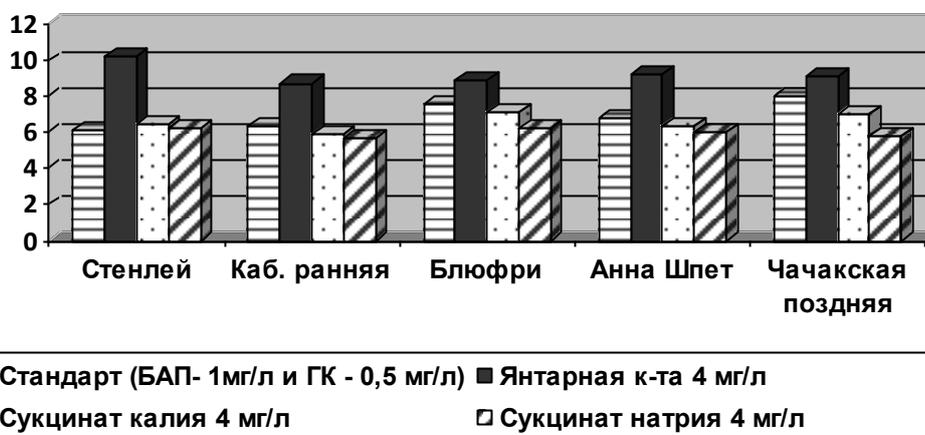


Рисунок 5 - Количество листьев у эксплантов сливы домашней на средах с применением ростовых веществ группы янтарной кислоты (шт.)

К негативным явлениям клонального микроразмножения относится хлороз тканей, ухудшающий состояние микрорастений, тем самым, нанося ущерб микроразмножению. В наших исследованиях в стандартном варианте (6-БАП 1 мг/л) хлоротическую окраску листьев имели от 10 до 27 % микропобегов в зависимости от сорта. При добавлении в питательную среду янтарной кислоты (4 мг/л) количество хлоротичных побегов было существенно ниже и составляло 5-7 %, на средах с сукцинатами калия и натрия в среднем около 9 %.

Одной из частых проблем микроразмножения является витрификация побегов (стекловидность). В нашем исследовании явление витрификации тканей микропобегов сливы, развившихся на питательных средах с янтарной кислотой, сукцинатами калия и натрия отсутствовало полностью, тогда как в стандартном варианте с использованием 6-БАП (1 мг/л) уровень витрификации микропобегов в среднем составлял 12 %.

**Применение БАВ на основе янтарной кислоты совместно со стандартными ростовыми веществами.** В процессе микроразмножения сливы сорта Стенлей был исследован вариант применения БАВ группы янтарной кислоты и 6-БАП. Проведена оценка влияния солей янтарной кислоты на процесс размножения при одновременном внесении их в питательную среду со стандартными ростовыми веществами (табл. 3).

В результате исследований от ожидаемого эффекта аккумуляирования ростовой активности препаратов 6-БАП и янтарной кислоты, сукцинатов калия и натрия, выражающийся в коэффициенте размножения, наблюдалось снижение результативности процесса размножения на 20-38 %. Данный результат может свидетельствовать о различной природе ростовой активности 6-БАП и изучаемых БАВ и некотором антагонистическом влиянии препаратов на процессы мультипликации при совместном их использовании.

Таблица 3 - Анализ микропобегов сливы домашней на среде со стандартными ростовыми веществами и БАВ группы янтарной кислоты, 2013-2015 гг.

Вариант	Коэффициент размножения, ед.	Длина микропобегов (высота) в мм	Число листьев, шт.	Хлороз, %	Витрификация, %	Общее состояние растений в баллах по 5 б. шкале
6-БАП 1 мг/л, ГК 0,5 мг/л (стандарт)	3,7	20,9	7,9	27	9	4,2
6-БАП 1 мг/л, ГК 0,5 мг/л + янтарная кислота 4 мг/л	2,8	22,1	10,4	9	0	4,6
6-БАП 1 мг/л, ГК 0,5 мг/л + сукцинат калия 4 мг/л	2,3	25,4	8,1	12	0	4,1
6-БАП 1 мг/л, ГК 0,5 мг/л + сукцинат натрия 4 мг/л	2,4	24,7	7,7	15	0	4,2
НСР <sub>05</sub>		2,32	1,79			

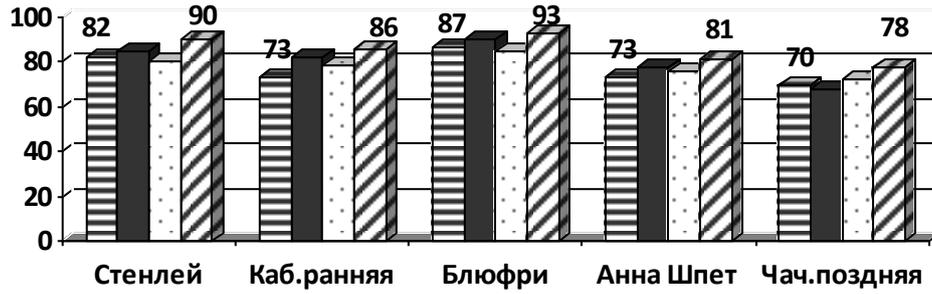
Введение в среду янтарной кислоты и ее солей оказывало положительное влияние на образование листьев и рост микропобегов. В варианте с янтарной кислотой на растении образовывалось 10,4 шт. листьев по сравнению со стандартом 7,9 шт. На средах с добавлением сукцината калия и сукцината натрия на микропобегах формировалось по 8,1 и 7,7 листовых пластинок соответственно. На средах с сукцинатом калия и натрия микропобеги сливы имели более сильный рост и достигали 25,4 и 24,7 мм в длину, по сравнению со стандартом 20,9 мм и янтарной кислотой 22,1 мм.

Добавление в питательную среду янтарной кислоты оказывает благоприятное воздействие на общее состояние микропобегов сливы, в вариантах с БАВ отсутствуют стекловидные побеги и ниже уровень хлороза растений.

**Эффективность использования препаратов группы янтарной кислоты на этапе ризогенеза микропобегов сливы домашней *in vitro*.**

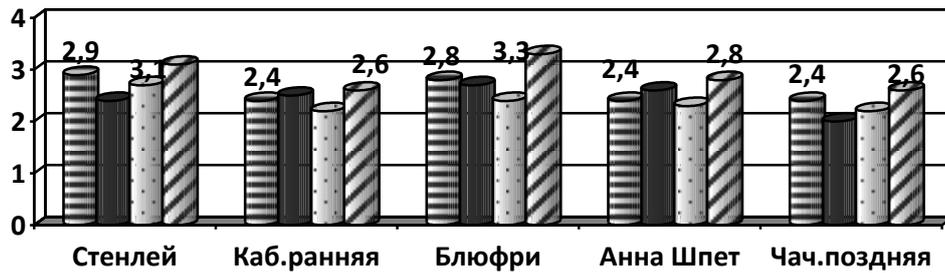
Препараты группы янтарной кислоты испытаны в сочетании со стандартным индуктором корнеобразования ИМК.

Установлено, что введение в питательную среду янтарной кислоты и сукцинатов калия и натрия, в целом, улучшает процессы корнеобразования. Укореняемость микрорастений сливы в вариантах опыта была на 5-13 % выше, чем в контроле, в зависимости от сорта. Наибольший процент укорененных растений отмечался в варианте с ИМК и сукцинатом натрия у сортов Кабардинская ранняя – 86 %, Стенлей – 90 %, Блюффри – 93 % (рис. 6).

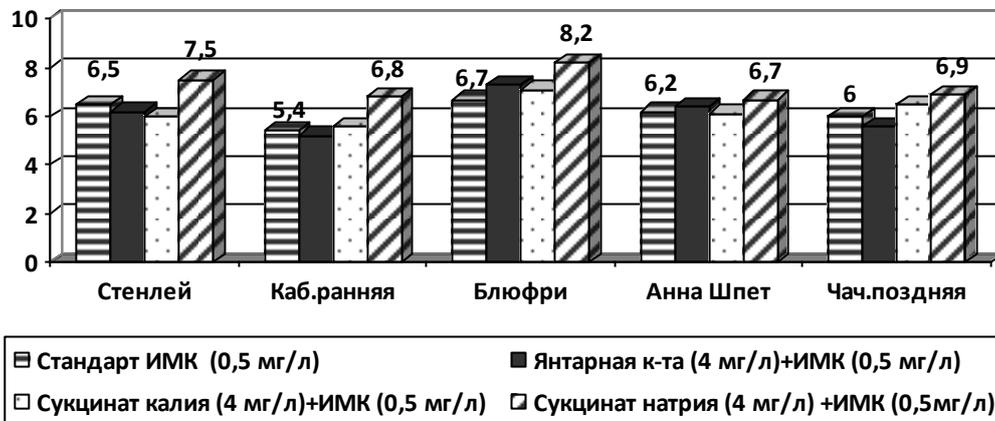


Процент растений с корнями

шт.



Количество корней, шт



Суммарная длина корней, см

Рисунок 6 – Показатели корнеобразования при введении в среду веществ группы янтарной кислоты в концентрации (4 мг/л)

Сукцинат натрия, в общем, оказывает положительное влияние на растения в период ризогенеза. По таким показателям, как количество образовавшихся корней и их суммарная длина, а также длина микропобегов и количество листьев на них данный вариант превосходил контроль. Доля растений с 3 корешками возрасла, и средний показатель увеличился на 8-18 % у сортов Стенлей, Кабардинская ранняя и Чачакская поздняя, у сортов Анна Шпет и Блюфри на 17-18

Соответственно увеличилась суммарная длина корней на 8-26 % в зависимости от сорта. У сорта Анна Шпет длина корней больше, чем в контроле на 0,5 см, у Стенлей и Чачакская поздняя на 1,0 и 0,9 см, у Кабардинской ранней и Блюфри на 1,4 и 1,5 см.

### **3.6. Экономическая эффективность предлагаемого приема клонального микроразмножения сливы домашней *in vitro* сливы домашней с использованием БАВ на основе янтарной кислоты.**

Расчет экономической эффективности использования БАВ на основе янтарной кислоты при клональном микроразмножении сливы домашней на примере сорта Стенлей (табл. 4).

Таблица 4 - Экономическая эффективность производства микрорастений сливы с использованием препаратов группы янтарной кислоты

Показатели	Традиционный способ	Рекомендуемый прием	Отклонение, +/-
Материальные затраты на производство, руб./шт, всего,	26,9	18,8	-8,1
в том числе: компоненты питательной среды, руб.	14,9	10,2	-4,7
стимуляторы роста, руб.	0,5	0,04	-0,46
электроэнергия, вода и др.	11,5	8,6	-2,9
Амортизация оборудования, руб.	23,0	16,3	-7,3
Прочие расходы	172,2	107,0	-65,2
Себестоимость производства, руб./шт	222,1	142,1	-80
Цена реализации, руб./шт	300	250	-50
Прибыль от реализации, руб./шт	77,9	107,9	+30
Рентабельность производства, %	35,1	75,9	+40,8

При введении эксплантов сливы домашней в культуру *in vitro* в оптимальный для сорта срок, при использовании БАВ группы янтарной кислоты, повышающих эффективность отдельных этапов клонального микроразмножения сливы домашней (добавление в среду янтарной кислоты для усиления облиственности; использование сукцинатов калия и натрия на этапе, предшествующем укоренению; добавление сукцината натрия на этапе ризогенеза) и снижающих затраты, усовершенствованный прием в целом позволяет снизить себестоимость производства единицы посадочного материала на 80 руб. (36 %) до 142,1 руб/шт. и повысить рентабельность производства на 40,8 % (до 75,9 %).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено, что в Краснодарском крае вирус шарки сливы представлен 3 штаммами: *PPV-D*, *PPV-M*, *PPV-W*, наибольшая частота встречаемости выявлена у штамма *PPV-D*.
2. Разработан метод картограмм для графического отображения особенностей распространения вируса шарки сливы в границах определенного участка. Были выделены основные очаги инфекции, распространение вируса в насаждении происходит, преимущественно, между деревьями вдоль ряда, ежегодно распространение вируса шарки в насаждении увеличивается на 3,3-5,3 %.
3. Установлено, что полевой устойчивостью к вирусу шарки сливы обладают отечественные сорта сливы Предгорная и Балкарская, толерантность к вирусу проявляют сорта сливы Кабардинская ранняя, Стенлей, Ренклюд Альтана, Чернослив адыгейский, Мелитопольская, Кубанский карлик, Прикубанская, Чачакская поздняя.
4. Установлено, что для санации эксплантов сливы домашней при клональном микроразмножении раствор гипохлорита натрия (1:9) в экспозиции 8 минут позволяет получить 58-75 % жизнеспособных эксплантов, и, при проведении работ по стерилизации эксплантов, является более безопасным и экологичным.
5. Установлено, что наиболее благоприятным сроком интродукции эксплантов сливы исследуемых сортов сливы домашней в культуру *in vitro* является период активного роста побегов – 1-2 декады мая, когда эффективность регенерации микропобегов наиболее высокая – 62-84 %.
6. Выявлено, что БАВ группы янтарной кислоты при клональном микроразмножении сливы проявляют цитокининовую активность. При использовании янтарной кислоты, сукцината калия и сукцината натрия в концентрации 4 мг/л коэффициент размножения (за 3 пассажа) составляет у янтарной кислоты 1:7,4, сукцината натрия 1:6,9 и сукцината калия 1:6,2. На среде с добавлением стандартно используемого цитокинина 6-БАП коэффициент размножения равен 1:9. Количество листьев, образующихся на средах с БАВ, превышает контрольный вариант на 12-25 % и достигает 10,2–11,3 шт. на растение (в контроле 9,1 шт.). Длина микропобегов достигает 11,7-14,7 мм, что на 22-24 % ниже, чем в контрольном варианте (11,8 мм).
7. Установлено, что на средах с БАВ группы янтарной кислоты происходит постепенное увеличение коэффициента размножения до третьего пассажа, а затем он снижается. В контрольном варианте постепенное повышение коэффициента размножения идет с первого по пятый пассаж.
8. Выявлено, что при использовании янтарной кислоты, сукцината калия и сукцината натрия в качестве ростового вещества отдельно от стандартных ростовых веществ, коэффициент размножения выше, в среднем на 32 %, чем при совместном их применении.

9. Установлено, что на рост микропобегов сливы *in vitro* в большей степени влияют сукцинат калия и сукцинат натрия в концентрации 4 мг/л, способствующие увеличению длины микропобегов на 19-22 %.

10. Выявлено, что добавление в питательную среду янтарной кислоты в концентрации 4 мг/л способствует увеличению количества листьев на микропобегах сливы домашней на 32-37 % и составляет в среднем 9,2 шт.

11. Установлено, что сукцинат натрия в концентрации 4 мг/л оказывает положительное влияние на эффективность ризогенеза сливы, укореняемость побегов увеличивается на 6-13 %, повышается количество корней на 8-18 %, их суммарная длина увеличивается на 8-26 %.

12. Установлено, что при микроразмножении сливы домашней увеличению рентабельности производства мериклонов в среднем на 40,8 % способствует введение эксплантов в культуру *in vitro* в 1-2 декаде мая, использование в качестве стерилизатора раствора йодида ртути (0,1 %-й р-р), применение препаратов группы янтарной кислоты в концентрации 4 мг/л на этапах микроразмножения, сукцината натрия в концентрации 4 мг/л на этапе ризогенеза.

### РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

научно-исследовательским учреждениям и специализированным лабораториям, выпускающим безвирусный посадочный материал

При закладке новых промышленных насаждений сливы домашней использовать сорта с полевой устойчивостью Предгорная, Балкарская и толерантные к вирусу шарки сорта Кабардинская ранняя, Стенлей, Ренклюд Альтана, Чернослив адыгейский, Мелитопольская, Кубанский карлик, Прикубанская, Чачакская поздняя.

Применять метод картограмм для анализа распространения вируса шарки сливы (определения очагов, тенденций к расширению ареала, направления распространения вируса шарки сливы в насаждении), с целью принятия мер по ограничению распространения вируса.

При клональном микроразмножении сортов сливы Стенлей, Кабардинская ранняя, Блюфри, Анна Шпет и Чачакская поздняя рекомендуется:

- тестирование исходных растений методом ПЦР в условиях Краснодарского края проводить в мае-июне;
- изолирование эксплантов сортов сливы домашней в культуру *in vitro* проводить в период интенсивного роста побегов в 1 декаде мая;
- использовать в качестве стерилизующего агента 0,1 % раствор  $HgJ_2$  (30 секунд), или как менее токсичный для человека раствор гипохлорита натрия (1:9, 8 минут);
- БАВ группы янтарной кислоты использовать на этапе мультипликации микропобегов сливы домашней в концентрации 4 мг/л, не более 3 пассажей;
- вводить сукцинаты калия или натрия в концентрации 4 мг/л на этапе, предшествующему укоренению;
- добавлять сукцинат натрия в концентрации 4 мг/л дополнительно к ИМК на этапе укоренения.

### Список публикаций по теме диссертации

#### *Научные статьи в журналах, рекомендуемых ВАК РФ*

1. Костюк (Винтер), М.А. Изучение патогенеза вируса шарки сливы (PPV) с учётом особенностей сортов и условий среды / М.А. Костюк (Винтер), Л.Л. Бунцевич, Е.Н. Беседина, С.Н. Щеглов // Плодоводство и ягодоводство России. – 2014. – Т. XXXIX. – С. 115-118.

2. Костюк (Винтер), М.А. Изучение препарата Л-1, янтарной кислоты и ее солей в качестве стимуляторов роста эксплантов растений *in vitro* / Л.Л. Бунцевич, Е.Н. Беседина, М.А. Костюк (Винтер) // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания [Электронный ресурс]. – 2015. – №4 (8). – С. 64-69. – Режим доступа: [http://платформа-апк.рф/sites/default/files/journal/jurnal\\_no\\_4\\_na\\_sait.pdf](http://платформа-апк.рф/sites/default/files/journal/jurnal_no_4_na_sait.pdf)

3. Костюк (Винтер), М.А. Воздействие ранее не применявшихся в клональном микроразмножении регуляторов роста на микропобеги сливы *in vitro* / Л.Л. Бунцевич, А.Т. Киян, Е.Н. Беседина, М.А. Костюк (Винтер) // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета [Электронный ресурс]. – 2016. – № 115. – С. 1039-1046. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2016/01/pdf/65.pdf>

4. Костюк (Винтер), М.А. Физиолого-биохимические особенности листьев сливы и снижение качества плодов при заражении вирусом шарки (PPV) / Л.Л. Бунцевич, Н.И. Ненько, М.А. Костюк (Винтер), В.В. Шестакова // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК-продукты здорового питания. – 2016. – № 5. – С. 38-42. – Режим доступа: [http://платформа-апк.рф/sites/default/files/zhurnal\\_2016\\_no\\_5.pdf](http://платформа-апк.рф/sites/default/files/zhurnal_2016_no_5.pdf)

5. Винтер, М.А. Влияние вируса шарки сливы (PPV) на содержание пигментов, белка, лигнина, воды в тканях листьев сливы домашней / Л.Л. Бунцевич, А.Т. Киян, Н.И. Ненько, М.А. Винтер, В.В. Шестакова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета [Электронный ресурс]. – 2017. – №127 (03). – 10 с. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2017/03/pdf/29.pdf>

*Статья в журнале, входящем в международную базу цитирования Scopus*

6. Vinter, M.A. Studying tolerance of prune (*Prunus domestica*) to the plum pox virus (PPV) by criterion "Efficiency of microshoots' regeneration" in controlled *in vitro* conditions / A. A. Batukaev, I. M. Vamatov, M. A. Vinter // Journal of Pharmaceutical sciences and research. – 2018. – V. 10 (1). – P. 59-64. <http://www.jpsr.pharmainfo.in/issue.php?page=101>

#### *Другие научные издания*

7. Костюк (Винтер), М.А. Вирусные и вирусоподобные болезни плодовых культур и оздоровление растений способом клонального микроразмножения *in vitro* / Л.Л. Бунцевич, М.А. Костюк (Винтер), М.С. Захарова, Ю.П. Данилюк, Р.С. Захарченко // Проблемы интенсивного садоводства: сб. науч. трудов. - Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2010. – С.191-193.

8. Костюк (Винтер), М.А. Метод картограмм в описании переноса визуально выявляемых вирусов/ Л.Л. Бунцевич, М.А. Костюк (Винтер), Ю.П. Данилюк // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2010. – №7. – 10 с.

9. Костюк (Винтер), М.А. Восприимчивость сортов сливы к вирусу шарки сливы / Л.Л. Бунцевич, М.А. Костюк (Винтер), Ю.П. Данилюк, Е.Н. Палецкая // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2011. – №10 (4).

10. Костюк (Винтер), М.А. Оценка сортов сливы на восприимчивость к вирусу шарки сливы (*Plum rox potyvirus*) / М.А. Костюк, Л.Л. Бунцевич // Научное обеспечение агропромышленного комплекса. Материалы V всероссийской научно-практической конференции молодых учёных. – Краснодар, 22-24 ноября 2011. - С. 209-211.

11. Костюк (Винтер), М.А. Диагностика вирусных и вирусоподобных болезней плодовых и ягодных культур в связи с особенностями патогенеза / Л.Л. Бунцевич, М.А. Костюк (Винтер), Е.Н. Палецкая // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. - №13. - 16 с. – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/archive/13/>

12. Костюк (Винтер), М.А. Влияние вируса шарки сливы (PPV) на урожайность в условиях Краснодарского края / М.А. Костюк (Винтер), Л.Л. Бунцевич // IV международная дистанционная научно-практическая конференция молодых ученых «Параметры адаптивности многолетних культур в современных условиях развития садоводства и виноградарства». - 15 мая по 15 июня 2012 г. Web-site ГНУ СКЗНИИСиВ, 8 с. <http://kubansad.ru/>

13. Костюк (Винтер), М.А. Мониторинг вируса шарки сливы с помощью метода картограмм / Л.Л. Бунцевич, Е.Н. Беседина, М. А. Костюк (Винтер) // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2014. - №29 (5). – 8 с. – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/archive/29/>

14. Костюк (Винтер), М.А. Распространение шарки сливы (*Plum Rox potyvirus*) / М.А. Костюк, Л.Л. Бунцевич // Научное обеспечение агропромышленного комплекса. Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных. – Краснодар, 2-4 декабря 2014 г. – С. 306-307.

15. Костюк (Винтер), М.А. Ростовые реакции эксплантов сливы *in vitro* при использовании препаратов группы янтарной кислоты / Л.Л. Бунцевич, Е.Н. Беседина, М.А. Костюк (Винтер) // Плодоводство и виноградарство Юга [Электронный ресурс]. – Краснодар, 2015. – № 36(06). – 8 с. – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/15/06/14.pdf>

16. Костюк (Винтер), М.А. Физиолого-биохимические и анатомические характеристики листьев сливы, связанные с инактивацией вируса шарки сливы (PPV) / Л.Л. Бунцевич, Н.И. Ненько, Г.К. Киселева, М.А. Костюк, Е.Н. Беседина // Дифференцированные технологии управления устойчивостью агроэкосистем плодовых культур и винограда. Научные труды ФГБНУ СКЗНИИСиВ. – Краснодар, 2016. – Т. 9. – С. 216-219.

17. Костюк (Винтер), М.А. Клональное микроразмножение сливы домашней *in vitro* / Л.Л. Бунцевич, М.А. Костюк (Винтер) // Ресурсосберегающие технологии в садоводстве и виноградарстве. Научные труды ФГБНУ СКЗНИИСиВ. – Краснодар, 2017. – Т. 12. – С. 70-78.

18. Костюк (Винтер), М.А. Стерилизация эксплантов в технологии производства оздоровленного посадочного материала сливы домашней // М.А. Костюк (Винтер), Л. Л. Бунцевич // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – Краснодар, 2017. – № 44(02). – 9 с. – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/15/03/17.pdf>